

## بررسی اثر حلال عصاره گیری بر میزان فنل، فلاونوئید و فعالیت

### آنتی اکسیدانی برخی گیاهان دارویی بومی ایران

بهمن فاضلی نسب<sup>۱\*</sup>، نسرین مشتاقی<sup>۲</sup>، محمد فروزنده<sup>۱</sup>

- (۱) گروه زراعت و اصلاح نباتات، پژوهشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران  
 (۲) گروه بیوتکنولوژی و بهداشت، دانشگاه کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، فراسان رضوی، مشهد، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۳/۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۸

#### چکیده

**مقدمه:** امروزه جهت استخراج مواد آنتی اکسیدانی گیاهی از حلال های متفاوتی استفاده می شود که هر کدام قابلیت خاصی در استخراج این مواد دارند لذا در تحقیق حاضر سعی شد تا برخی گیاهان دارویی از مناطق رویشی متفاوت ایران جمع اوری و بر اساس اکثربت حلال های پر کاربرد نیز مورد ارزیابی قرار گیرند تا علاوه بر شناسایی بهترین گیاه دارویی، بتوان بهترین حلال جهت استخراج مواد آنتی اکسیدانی معروف کرد.

**مواد و روش ها:** به منظور بررسی نوع حلال عصاره گیری (آبی، هیدروالکلی، استونی و متانلی) بر میزان مواد آنتی اکسیدانی برخی گیاهان دارویی بومی مناطق مختلف ایران از جمله کاکوتی، شکرشفا، زعفران، بومادران، یونه کوهی، نعناع کوهی، زوفا، آویشن کوهی، شاه تره و کلپوره، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. از DPPH برای سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی استفاده شد.

**یافته های پژوهش:** نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که نوع عصاره و برهمنکش عصاره و گیاه بر خواص آنتی اکسیدانی، محتوای فنل و فلاونوئید تاثیر متفاوتی داشته است ( $P < 0.01$ ). بیشترین میزان فلاونوئید در عصاره آبی (۴۷/۴۸ mg/g DW)، هیدروالکلی (۴۷/۴۸ mg/g DW، متانلی) (۲۷۷/۴۸ mg/g DW) و استونی (۱۷۱/۹۸ mg/g DW) و هم چنین بیشترین میزان فنل در عصاره آبی (۱۵/۳۳ mg/g DW)، هیدروالکلی (۲۰/۱۸ mg/g DW)، متانلی (۵۱/۴۷ mg/g DW) و استونی (۳۱/۵۹ mg/g DW) مربوط به گیاه دارویی بومادران منطقه ایلام بوده است. بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی بر اساس آزمون DPPH در عصاره آبی (۱۶ μg/ml) درصد در غلظت (۱۶ μg/ml) در عصاره هیدروالکلی (۳۴/۴۹) در عصاره هیدروالکلی (۶۴ μg/ml) درصد در غلظت (۶۴ μg/ml) متعلق به نعناع کوهی منطقه کاشمر و سپس بومادران منطقه ایلام، در عصاره استونی (۶۲/۰۰) درصد در غلظت (۶۴ μg/ml) متعلق به نعناع کوهی منطقه کاشمر و سپس کلپوره کاشمر و بومادران ایلام و در نهایت در عصاره متانلی (۹۵/۶۳۳) درصد در غلظت (۱۶ μg/ml) متعلق به بومادران منطقه ایلام بوده است.

**بحث و نتیجه گیری:** نتایج این تحقیق نشان داد که مهم ترین حلال جهت استخراج مواد فنلی و بررسی خاصیت اکسیدانی، متانل بوده و موثرترین گیاه از لحاظ حضور مواد و خاصیت آنتی اکسیدانی، بومادران منطقه ایلام بوده است.

#### واژه های کلیدی: عصاره گیاهی، بومادران، شکرشفا، نعناع، زوفا

\* نویسنده مسئول: گروه زراعت و اصلاح نباتات، پژوهشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

Email: Bfazeli@uoz.ac.ir

Copyright © 2019 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

## مقدمه

ایران یکی از غنی ترین منابع گیاهان دارویی جهان به شمار می رود که دارای تنوع بالای شرایط زیستگاهی برای انواع این گیاهان است. گیاهان دارویی، غنی از متابولیت های ثانویه و دارای ماده موثره اساسی بسیاری از داروهای هستند که این متابولیت ها و مواد موثره اگر چه اساساً با هدایت فرآیندهای ژنتیکی ساخته می شوند، ولی ساخت آن ها به طور بارزی تحت تاثیر عوامل محیطی قرار می گیرد. به طوری که عوامل محیطی باعث تغییراتی در رشد گیاهان دارویی و نیز در مقدار و کیفیت مواد موثره آن ها نظیر آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها و روغن های فرار می گردد(۱).

آنتری اکسیدان های طبیعی مرکبات و سبزی ها، بازدارنده رشد بیماری های بالینی مهم بوده و برخی تحقیقات، رابطه بین مصرف میوه ها و سبزی ها با کاهش بیماری های مزمن تأیید نموده اند. اگر چه میوه ها و سبزی ها از نظر ترکیبات آنتری اکسیدانی و فعالیت آنتری اکسیدانی متنوع هستند اما آن هایی که فعالیت آنتری اکسیدانی بالا دارند معمولاً حاوی آنتری اکسیدان های بیشتری هستند. از طرفی مواد آنتری اکسیدانی کاربردهای زیادی علاوه بر درمان و پیشگیری از بیماری های سلطانی و تصلب شرايين داشته مثلاً از ترکیبات آنتری اکسیدانی طبیعی برگ زیتون جهت افزایش انبارمانی چربی ها و روغن ها، از عصاره پوست بادام زمینی به دلیل فعالیت آنتری اکسیدانی جهت نگهداری چیپس های سبز زمینی و غیره استفاده شده است(۲).

فرآیند اکسیداسیون و تولید رادیکال های آزاد و (Reactive Oxygens گونه های فعال اکسیژن ROS Species) بخش لازمی از حیات بوده که در واکنش های بیولوژیک مهمی شرکت دارند. رادیکال های آزاد و ROS تنها زمانی مفید هستند که در زمان و مکان درستی تولید شوند، در غیر این صورت می توانند مضر باشند. استرس اکسیدانتیو ناشی از تولید بیش از اندازه رادیکال های آزاد و ذرات فعال اکسیژن و ضعیف شدن سیستم های آنتری اکسیدانی به علت برداشت کم آن ها یا تولید کم آنتری اکسیدان های

اندوژن و یا افزایش استفاده از آن ها است. بسیاری از بیماری های مزمن در ارتباط با استرس اکسیدانتیو است. به منظور جلوگیری از آسیب ROS در بدن موجودات زنده، سیستم های آنتری اکسیدان قوی و پیچیده ای وجود دارد(۳).

گیاهان از هزاران سال پیش نقش بسیار مهمی در حفظ سلامتی و بهبود کیفیت زندگی انسان ها داشته اند. گیاهان دارویی دارای خواص مفیدی هستند که از جمله می توان به خاصیت ضد باکتریایی، ضد انگلی، ضد قارچی و آنتری اکسیدانی آن ها اشاره کرد. طی سال های اخیر فرآورده های گیاهی (متabolیت های ثانویه) به دلیل دسترسی آسان، راحتی کاربرد و اثرات جانبی کمتر در مقایسه با فرآورده های شیمیایی برای درمان اکثر بیماری های انسان و حیوانات مورد استفاده قرار می گیرند(۴). از طرفی متabolیت های ثانویه مشتق از گیاهان مانند فنل و فلاونوئید تام، دارای پتانسیل قوی برای پاک سازی رادیکال های آزاد می باشند که در تمام قسمت های مختلف گیاهی مانند برگ، میوه، دانه، ریشه و پوست وجود دارند بنا بر این با توجه به شیوع بالای بیماری های مزمن و فرسایشی منطقی است که برای تامین آنتری اکسیدان های مورد نیاز بدن از گیاهان استفاده شود و به خصوص گیاهانی که فنل و فلاونوئید تام بالایی داشته باشند. در نتیجه برای تامین آنتری اکسیدان های طبیعی مورد نیاز بدن، مصرف گیاهان با ترکیبات فنلی بالا توصیه می شود(۵).

ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها دارای خواص بیولوژیکی متعددی مانند خاصیت آنتری اکسیدانی، به دام انداختن رادیکال های آزاد و خاصیت ضدالتهاب می باشند(۴). این ترکیبات باعث جلوگیری یا به تاخیر انداختن آسیب های اکسیدانتیو در چربی ها و دیگر مولکول های مهم شده و از به وجود آمدن سرطان و بیماری های کرونر قلب جلوگیری می کنند. ترکیبات فنلی جز ترکیباتی هستند که در تمام گیاهان شامل میوه جات، سبزی ها، غلات و... وجود دارند. این ترکیبات جزو متabolیت های ثانویه گیاهان هستند. به طور طبیعی بالغ بر ۸۰۰۰ ترکیب فنلی مختلف با تاثیرهایی از قبیل دخالت در ساخت دیواره سلولی، دخیل در مکانیسم دفاعی گیاه و دخیل در خصوصیات

تحقیق بتواند مبنای برای تحقیقات بعدی در این مورد باشد تا با کمترین هزینه و زمان ممکن‌هه، مواد فنلی را با بیشترین میزان در گیاهان مختلف استخراج و مقایسه کرد.

### مواد و روش‌ها

به منظور بررسی و تاثیر نوع حلال و عصاره گیاهی بر میزان فنل، فلاونوئید و خواص آنتی اکسیدانی، آزمایشی به صورت کاملاً تصادفی در سه تکرار در آزمایشگاه بیوتکنولوژی و مهندسی ژنتیک پژوهشکده زیست فناوری کشاورزی دانشگاه زابل در سال ۱۳۹۶ انجام گرفت. گیاهان مورد نظر از مناطق رویشی متفاوت جمیع آوری (جدول شماره ۱)، سپس در آزمایشگاه گیاه شناسی، شناسایی و مورد ارزیابی قرار گرفتند. نمونه‌ها در دمای اتاق و شرایط سایه خشک و با آسیاب برقی به شکل پودر درآمد. برای عصاره گیری، مقدار ۱۰ گرم از بافت پودر شده مورد نظر هر گیاه (جدول شماره ۱) در ۱۰۰ میلی لیتر محلول (آب قطر (۱۰۰ سی سی)، هیدروالکل (۷۰ سی سی الکل و ۳۰ سی سی آب مقطر)، استون (۱۰۰ سی سی) و متانول (۱۰۰ سی سی)) خیسانده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق و بر روی شیکر نگهداری گردید. پس از طی شدن زمان مورد نظر، عصاره‌ها صاف، سپس حلال در دمای کمتر از ۴۰ درجه سانتی گراد توسط دستگاه روتاری تغییظ و باقی مانده بعد از خشک شدن توسط دستگاه انکوباتور (دمای ۳۷ درجه سانتی گراد) برای انجام آزمایش ها درون پتربی دیش های استریل شده در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری گردید. ضمناً جهت اندازه گیری مقدار فنل کل و فلاونوئید، ۱۰۰ میلی گرم پودر عصاره در ۱ میلی لیتر DMSO حل شد.

میوه مانند رنگ، عطر، طعم و مزه در گیاهان وجود دارد. هم چنین ترکیبات فنلی به عنوان شاخص‌هایی برای مراحل فیزیولوژیکی در طول رشد میوه نیز در نظر گرفته می‌شوند (۶).

تحقیقات نشان داده منبع دریافت فنل‌ها و فلاونوئیدها در نقاط مختلف جهان به نوع رژیم غذایی مردم منطقه وابسته است. برای مثال در کشورهایی هم چون ژاپن و چین مصرف چای سبز تامین کننده این ترکیبات مورد نیاز بدن هست در حالی که این مواد در کشورهای غربی با مصرف سبب و پیاز و در کشورهای شرقی با مصرف سبزی‌ها و مواد غذایی تخمیری تامین می‌شوند (۷). در کشور ایران به طور جامع نوع خاص استفاده از انواع مواد حاوی آنتی اکسیدان وجود ندارد اما با تبلیغات مختلف کارهایی از جمله مصرف سبزی‌ها به صورت خام و پخته، برگ گیاهان و درختان مختلف (به صورت دم نوش، عرقیات، انسس، عصاره، مریا، شربت، ترشی، مواد شوینده (از جمله سدر) و حتی مصرف به صورت دلمه و غیره) صورت گرفته که پیرو تحقیقات مختلف باید از اندام‌های مختلف گیاهان که دارای نوع خاص مواد آنتی اکسیدانی بوده استفاده خاصی از آن‌ها شود.

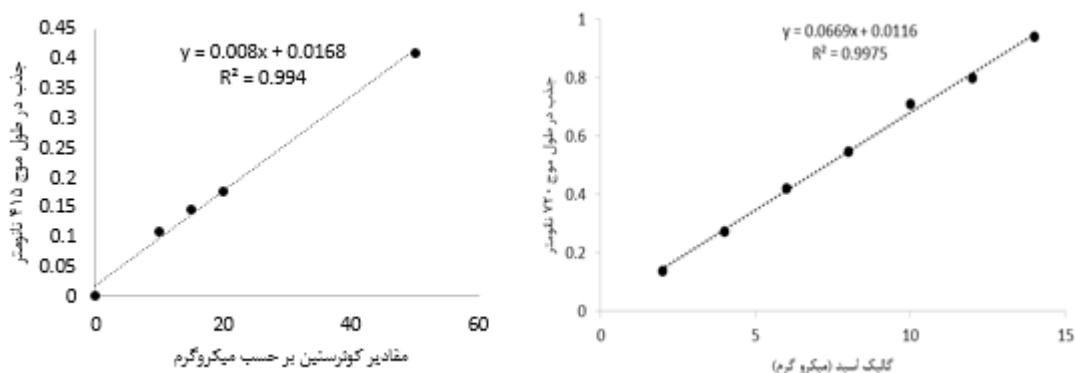
امروزه جهت استخراج مواد موثره گیاهی از حلال‌های متفاوتی استفاده می‌شود که هر کدام دارای مزایا و معایب خاص خود می‌باشند و چون ماده موثره تحت تاثیر عوامل مختلفی از جمله نوع گیاه، شرایط رویش، نوع حلال، روش استخراج، مرحله رشدی گیاه و غیره بوده (۸) لذا در تحقیق حاضر سعی شد تا گیاهان مختلف از مناطق رویشی متفاوت جمع آوری و بر اساس حلال‌های مختلفی نیز مورد ارزیابی قرار گیرند تا علاوه بر شناسایی بهترین گیاه دارویی با بالاترین میزان مواد فنلی و خواص آنتی اکسیدانی بتوان تاثیر هر کدام عوامل تاثیرگذار بر مواد فنلی مشخص و این

جدول شماره ۱. اسامی و مشخصات گیاهان دارویی مورد استفاده

نام گیاه	اسم علمی	محل رویش گیاه	قسمت مورد استفاده	ماده موثره
نعمان کوهی	Mentha asiatica	ایلام	برگ و شاخه	منتول
کاکوتی	Ziziphora persica	قائن	برگ و شاخه	ایزومتنون
شکرشفا(خارمیش)	Ostostegia persica	بوشهر	برگ و شاخه	مورین و کورستین
زعفران	Crocus sativus	قائن	گلبرگ	کروستین
بومادران	Achillea millefolium	ایلام	برگ	ماتریکارین
پونه کوهی	Mentha longifolia	کاشمر	برگ و شاخه	تیمول
نعمان کوهی	Mentha asiatica	قائن	برگ و شاخه	منتول
بومادران	Achillea millefolium	کاشمر	برگ و سرشاخه گل دار	ماتریکارین
نعمان کوهی	Mentha asiatica	کاشمر	برگ و شاخه	منتول
زوفا	Hyssopus officinalis	قائن	برگ و سرشاخه گل دار	پیونکامفن، آلفا و بتاپین، کامفن
آویشن وحشی	Thymus vulgaris	کاشمر	برگ	تیمول
شاه تره	Fumaria officinalis	کاشمر	برگ و شاخه	فومارین(پروتوبین)، فوماری لین، سیناکین
کلپوره همدانی	Teucrium polium	کاشمر	برگ	کاربوفیلن اکساید

درصد)، ۱۰۰ میکرولیتر محلول کلرید آلومینیوم(۱۰ درصد)، ۱۰۰ میکرولیتر محلول استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط بعد از گذشت ۴۰ دقیقه در طول موج ۴۱۵ نانومتر نسبت به بلانک اندازه گیری شد. بلانک حاوی تمام ترکیبات ذکر شده در بالا بود اما به جای عصاره، همان حجم مтанول ۸۰ درصد به آن اضافه شده بود. برای رسم منحنی استاندارد از کوئرستین استفاده شد(شکل شماره ۱). میزان فلاونوئید کل عصاره ها بر اساس میلی گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد(۱۰).

فنل کل: برای اندازه گیری محتوای فنل کل به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاه، ۲ میلی لیتر کربنات سدیم(۲ درصد)، ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتیو(-Folin Ciocalteu's) (۵۰ درصد) اضافه شد. بعد از گذشت نیم ساعت جذب آن ها در طول موج ۷۲۰ نانومتر نسبت به شاهد ثبت گردید. اسید گالیک به عنوان استاندارد برای رسم منحنی استاندارد به کار رفت(شکل شماره ۱). محتوای فنل کل عصاره ها بر اساس میلی گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد(۹). فلاونوئید کل: برای سنجش میزان فلاونوئید کل به ۵۰۰ میکرولیتر از هر عصاره ۱/۵ میلی لیتر مтанول(۸۰



شکل شماره ۱. منحنی استاندارد گالیک اسید(سمت راست) و کوئرستین(سمت چپ) جهت اندازه گیری مقدار فنل و فلاونوئید

اندازی رادیکال آزاد یا سنجش خواص آنتی اکسیدانی (فomول F (۱۱)) به کار رفت. ابتدا از عصاره

سنجه خواص آنتی اکسیدانی: رادیکال پایدار دی فنیل پیکریل هیدرازیل برای تعیین فعالیت به دام

(۵۱/۴۷۶ mg/g DW)، متانلی (۲۰/۱۸۰ mg/g DW) و استونی (۳۱/۵۹۵ mg/g DW) مربوط به گیاه دارویی بومادران از منطقه ایلام و سپس بومادران از منطقه کاشمر بوده است (جدول شماره ۴). حلال متانل بیشترین قابلیت در استخراج فنل از گیاهان دارویی داشته و سپس به ترتیب حلال های استونی، هیدروالکلی و آب این قابلیت را داشته‌اند. ضمناً مشخص شد که منطقه رویشی گیاهان دارویی تاثیر متفاوتی بر میزان فنل داشته، به طوری که نعناع و بومادران منطقه ایلام نسبت به منطقه کاشمر و قاین میزان فنل بیشتری داشته‌اند.

بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی بر اساس آزمون DPPH در عصاره آبی (۸/۲۹۶۹) درصد در غلظت  $\mu\text{g/ml}$  (۱۶) متعلق به بومادران منطقه ایلام (جدول شماره ۵)، در عصاره هیدروالکلی (۳۴/۴۹۸) درصد در غلظت  $\mu\text{g/ml}$  (۶۴) متعلق به نعناع کوهی منطقه کاشمر و سپس بومادران (۶۱/۵۷۲) درصد در غلظت  $\mu\text{g/ml}$  (۳۲) و بومادران ایلام (۶۱/۱۳۵) درصد در غلظت  $\mu\text{g/ml}$  (۱۶) (جدول شماره ۶) و نهایت در عصاره متانلی (۹۵/۶۳۳) درصد در غلظت  $\mu\text{g/ml}$  (۱۶) متعلق به بومادران منطقه ایلام بوده است (جدول شماره ۶). با افزایش غلظت عصاره میزان آنتی اکسیدانی بیشتر شده است.

نقش شرایط محیط زیست گیاهان دارویی بر خاصیت آنتی اکسیدانی بررسی و مشخص شد بومادران و نعناع منطقه ایلام نسبت به بومادران منطقه کاشمر و قاین خواص آنتی اکسیدانی بیشتری داشته‌اند. با توجه به این که در ارزیابی خاصیت آنتی اکسیدانی، گیاهان دارویی، قابل ارزش هستند که در میزان کمتری عصاره، خواص آنتی اکسیدانی بیشتری داشته باشند از طرفی با توجه به این که نحوه استفاده از گیاهان دارویی که به صورت دم نوش بوده و یا جهت تولید قرص و غیره از عصاره آبی استفاده می‌شود لذا در این تحقیق مشخص شد که بومادران منطقه ایلام مهم‌ترین گیاه در این مورد بوده است.

میلی گرم وزن نموده و در ۲۵ میلی لیتر متانول (۱۰۰ درصد) حل شد. سپس از این محلول سه غلظت ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و با DPPH (با غلظت ۱/۱ میلی مول) به حجم ۴ میلی لیتر رسانده و در دمای اتاق به مدت یک ساعت قرار داده و در نهایت جذب نوری را با طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. جهت کنترل مثبت (شاهد) می‌توان از اسکوربیک اسید استفاده نمود.

$$F = \frac{A_b - A_s}{A_b} * 100$$

$F = \frac{\text{Ab}}{\text{DPPH}}$  = مقدار به دام اندازی رادیکال جذب  
بلانک؛  $As =$  جذب نمونه یا استاندارد  
تجزیه و تحلیل داده‌ها، به منظور محاسبات آماری از نرم افزار Statistix vol.10 استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش حداقل تفاوت معنی دار (LSD) در سطح ۵ درصد انجام و هم چنین برای رسم شکل‌ها و نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

#### یافته‌های پژوهش

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نوع و غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی، هیدروالکلی، استونی و متانلی و اثر متقابل عصاره، گیاه و DPPH بر خواص آنتی اکسیدانی، فنل و فلاونوئید گیاهان دارویی مورد مطالعه معنی دار بود ( $P < 0.05$ ) (جدول شماره ۲).

بیشترین میزان فلاونوئید در عصاره آبی (۸۷/۶۵۰ mg/g DW)، هیدروالکلی (۱۴۷/۴۸ mg/g DW) و استونی (۱۷۱/۹۸ mg/g DW) مربوطه به گیاه دارویی بومادران منطقه ایلام و سپس بومادران منطقه کاشمر بود (جدول شماره ۴). در بین عصاره‌ها بیشترین میزان فلاونوئید در عصاره متانلی و سپس به ترتیب در عصاره‌های استونی، هیدروالکلی و در نهایت عصاره آبی به دست آمد. ضمناً تاثیر منطقه رویشی گیاهان دارویی نعناع و بومادران بر میزان فلاونوئید بررسی و در اکثر موارد اثر معنی دار بوده (جدول شماره ۳) و مشخص شد که بومادران و نعناع منطقه ایلام دارای فلاونوئید بیشتری نسبت به کاشمر و قائن بودند.

بیشترین میزان فنل در عصاره‌های آبی (۱۵/۳۳۲ mg/g DW)، هیدروالکلی

جدول شماره ۲. ارزیابی نوع و غلظت‌های عصاره بر میزان فل و فلاونئید و همچنین خواص آنتی اکسیدانی گیاهان دارویی مورد استفاده

ارزیابی نوع عصاره در میزان فل و فلاونئید								منابع تغییرات
عصاره متابولی		عصاره استونی		عصاره هیدروالکلی		عصاره آبی		
فل	فل	فل	فل	فل	فل	فل	فل	نوع گیاه
۸۰.۹۹/۴۸***	۴۷۹/۵۵***	۲۶۶۰/۴۹***	۸۹/۱۰***	۳۰.۴۶/۱۲***	۲۹/۸۱***	۲۴۵۸/۱۶***	۴۱/۵۸***	۱۲
۵/۲۲	۰/۸۸۴	۱۴/۱۷	۰/۶۵	۱۱/۵۵	۰/۲۳	۳/۷۲	۷/۶۷	۲۶
								کل
ارزیابی نوع و غلظت‌های مختلف عصاره بر خواص آنتی اکسیدانی								
عصاره متابولی		عصاره استونی		عصاره هیدروالکلی		عصاره آبی		منابع تغییرات
فل	فل	فل	فل	فل	فل	فل	فل	درجه آزادی
۶۶۲/۴۴۷***	۴۲۶/۹۰.۵***		۱۴۵/۴۷۷***		۳۳/۳۵۸۷***		۱۲	(P)
۰/۱۷۶*	۱/۳۳۵***		۰/۴۵۵***		۰/۱۷۶۰***		۲	غلظت عصاره مورد استفاده (C)
۱۷۲/۲۱۱***	۱۲۶/۲۳۷***		۴۴/۷۷۴***		۱۱/۹۹۸۸***		۲۴	P * C
۰/۰۴۰	۰/۰۴۰		۰/۰۴۰		۰/۰۱۴۴		۷۸	خطا
								کل

\*\* و \* به ترتیب معنی داری در سطح یک و پنج درصد

جدول شماره ۳. ارزیابی اثر منطقه رویشی گیاهان دارویی نعناع و بومادران بر میزان مواد فلی و خواص آنتی اکسیدانی

گیاه دارویی بومادران											منابع تغییرات	
DPPH	فل	فل	DPPH	فل	فل	DPPH	فل	DPPH	فل	فل		
۲۸۸/۴۱***	۳۲۸/۱۹***	۱/۹۶ns	۱۹۳/۰۷***	۵۷/۸۱ns	۳۵/۴***	۶۴/۴۵***	۱۲۷/۱۹ns	۷/۵۴*	۱۱۰/۲۱***	۷/۸۷*	۳/۳۰۶*	۲
۵/۷۲	۲/۹	۰/۷۸	۴/۵۸	۳۱/۱۲	۱/۲۲	۱/۶۹	۱۷/۰۳	۰/۸۳	۲/۹	۰/۰۸۷	۰/۳۷	۲۴
												کل
گیاه دارویی نعناع												
DPPH	فل	فل	DPPH	فل	فل	DPPH	فل	DPPH	فل	فل	درجه آزادی	منابع تغییرات
۱۴۲/۱۲ns	۱۳۰.۲/۶۲***	۱۹/۳***	۹۷/۷۳ns	۱۵۹/۲۴*	۳/۰.۵ns	۴۰/۱ns	۲۹۰/۴۶***	۱/۱۴***	۱۸/۳۶*	۱۲۰/۶۴***	۳/۲۵***	۲
۷۹/۹۱	۳/۰۸	۰/۹	۵۹/۵۴	۲۳/۸۶	۰/۶۱	۲۱/۰۸	۴/۰۴	۰/۰۴۷	۴/۵	۲/۶۴	۰/۱۱	۲۴
												کل

\*\* و \* به ترتیب معنی داری در سطح پنج و یک درصد و غیر معنی دار ns

جدول شماره ۴. مقایسه میانگین نقش عصاره گیاهی بر میزان فتل و فلاونوئید

نوع عصاره بر میزان فلاونوئید				نوع عصاره بر میزان فتل				نام گیاه و منطقه رویشی
متانلی	استونی	هیدروالکلی	آبی	متانلی	استونی	هیدروالکلی	آبی	
۱۷۷/۹۸g	۱۴۰/۷۳de	۹۴/۱۹۲f	۳۵/۱۵۰f	۲۷/۳۴f	۱۹/۰۴۴f	۱۴/۳۹۱e	۱۰/۳۹۵f	عنان کوهی(ایلام)
۲۰۲/۴۴d	۱۵۵/۰۷b	۱۱۵/۱۱d	۶۷/۱۹۲c	۴۱/۵۹c	۲۴/۲۳۶cd	۱۶/۳۵۴c	۱۲/۹۵۱c	کاکوتی(قائن)
۱۲۶/۹۰j	۹۷/۳۱۷h	۶۲/۰۶۷j	۱۵/۹۴۲i	۲۰/۱۹۰ij	۱۶/۴۰۴g	۱۱/۴۹۱g	۶/۳۴۳j	شکرشفا بوشهر
۱۸۴/۶۱f	۱۴۶/۲۳cd	۹۹/۲۷۵f	۴۱/۲۱۷e	۳۳/۶۹۳e	۲۱/۰۱۷e	۱۴/۵۲۰e	۱۱/۹۱۶	زعفران(قائن)
۷۷/۴۸a	۱۷۱/۹۸a	۱۴۷/۴۸a	۸۷/۶۵۰a	۵۱/۴۷۶a	۳۱/۵۹۵a	۲۰/۱۸۰a	۱۵/۳۳۲a	بومادران(ایلام)
۱۲۲/۹۴k	۸۸/۴۰..i	۵۷/۴۸۳j	۱۴/۳۵۸i	۱۸/۸۲۵j	۱۴/۳۹۱h	۱۰/۳۳۰h	۴/۶۵۴۷k	پونه کوهی(کашمر)
۱۶۵/۳۶h	۱۳۷/۶۵e	۸۱/۰۲۵g	۳۰/۲۳۳g	۲۵/۰۱۸g	۱۷/۷۴۴fg	۱۳/۸۲۸ef	۹/۷۴۶۹g	عنان کوهی(قائن)
۲۶۲/۶۹b	۱۶۸/۷۸a	۱۳۸/۷۸b	۸۵/۳۵۸ab	۵۰/۳۳۰a	۲۶/۷۳۷b	۱۷/۹۳۸b	۱۳/۸۴۸b	بومادران(کاشمر)
۱۳۷/۲۸i	۱۲۶/۸۲f	۷۴/۹۴۲h	۲۲/۵۶۷h	۲۲/۷۷۳h	۱۷/۰۵۶g	۱۳/۱۵۵f	۸/۳۵۶۸h	عنان کوهی(کاشمر)
۱۳۴/۳۶i	۱۰۷/۰۷g	۶۸/۲۲۳i	۱۹/۹۸۳h	۲۰/۰۴۰i	۱۶/۶۹۳g	۱۲/۱۹۳g	۷/۴۶۴۹i	زوفا(قائن)
۲۱۷/۸۲c	۱۵۵/۸۶b	۱۲۵/۷۳c	۸۳/۴۸۳b	۴۷/۹۶۸b	۲۵/۴۱۲bc	۱۶/۴۹۳c	۱۳/۰۷۵c	اوشن وحشی(کاشمر)
۱۱۸/۱۱i	۸۲/۷۷۵i	۴۷/۴۰..k	۱۳/۰۶۷i	۱۷/۲۱۶k	۱۲/۷۴۱i	۸/۶۸۰..i	۳/۰۷۰..i	شاه تره(کاشمر)
۱۹۰/۲۸e	۱۴۹/۹۸bc	۱۰۶/۸۲e	۵۷/۶۵۰d	۳۷/۱۹۱d	۲۲/۸۸d	۱۵/۴۰..d	۱۲/۰۳۴d	کلپوره(کاشمر)

حروف مشترک بیانگر نبود تفاوت معنی دار در میانگین تیمار است.

جدول شماره ۵. مقایسه میانگین غلظت های مختلف عصاره آبی و هیدروالکلی بر خواص آنتی اکسیدانی گیاهان دارویی مورد مطالعه

عصاره هیدروالکلی(µg/ml)			عصاره آبی(µg/ml)			نام گیاه و منطقه رویشی
۶۴	۳۲	۱۶	۶۴	۳۲	۱۶	
۲۴/۸۹۱V	۲۶/۲۰۱S	۲۷/۵۱P	./.....n	./.....n	./.....n	عنان کوهی(ایلام)
۲۰/۰۸۷f	۲۱/۳۹۷c	۲۲/۷۰..a	./.....n	./.....n	./.....n	کاکوتی(قائن)
۲۵/۷۶۴T	۲۷/۰۷۴Q	۲۹/۲۵۸L	./.....n	./.....n	./.....n	شکرشفا بوشهر
۲۸/۸۲۱M	۳۰/۱۳۱J	۳۱/۴۴۱G	./.....n	۱/۳۱۰..k	۲/۶۲۰..h	زعفران(قائن)
۳۱/۰۰۴H	۳۳/۱۸۸D	۳۴/۰۶۱B	۳/۰۵۶۸g	۵/۶۷۶۹d	۸/۲۹۶۹a	بومادران(ایلام)
۳۱/۸۳۴b	۲۲/۱۴۴Z	۲۴/۴۵۴W	./.....n	./.....n	./.....n	پونه کوهی(کاشمر)
۲۰/۰۶۱P	۲۱/۳۹۷c	۲۳/۵۸۱Y	./.....n	./.....n	./.....n	عنان کوهی(قائن)
۲۷/۹۴۸O	۲۸/۳۸۴N	۳۰/۰۵۸I	./.....n	۰/۴۳۶Vm	۱/۷۴۶۷j	بومادران(کاشمر)
۳۴/۴۹۸A	۱۸/۳۴۱j	۱۹/۶۵۱g	۷/۴۲۳۶c	./.....n	./.....n	عنان کوهی(کاشمر)
۴۹/۶۹۱K	۳۱/۰۰۴H	۳۲/۳۱۴F	۰/۸۷۳۲l	۲/۱۸۳۴f	۴/۸۰۳۵f	زوفا(قائن)
۲۴/۰۱۷X	۲۵/۲۲۸U	۲۶/۶۳۸R	./.....n	./.....n	./.....n	اوشن وحشی(کاشمر)
۱۸/۷۷۷i	۱۹/۲۱۴h	۲۰/۵۲۴e	./.....n	۰/۸۷۳۴l	./.....n	شاه تره(کاشمر)
۳۲/۷۵۱E	۳۲/۶۴۴C	۱۷/۹۰۴k	۵/۲۴۰..e	۷/۸۶۰..b	./.....n	کلپوره(کاشمر)

حروف مشترک بیانگر نبود تفاوت معنی دار در میانگین تیمار است.

جدول شماره ۶. مقایسه میانگین غلظت های مختلف عصاره استونی و متانلی بر خواص آنتی اکسیدانی گیاهان دارویی مورد مطالعه

عصاره استونی(µg/ml)			عصاره متانلی(µg/ml)			نام گیاه و منطقه رویشی
۶۴	۳۲	۱۶	۶۴	۳۲	۱۶	
۷۶/۴۱۹W	۷۸/۶۰۳U	۸۱/۲۲۳Q	۴۷/۵۹۸V	۴۸/۹۰۸S	۵۰/۲۱۸P	عنان کوهی(ایلام)
۶۵/۹۳۹h	۶۸/۵۵۹e	۷۲/۰۵۲b	۳۷/۹۹۱g	۴۱/۰۴۸d	۴۳/۶۶۸a	کاکوتی(قائن)
۷۹/۰۳۹T	۸۰/۳۴۹R	۸۳/۸۴۳O	۴۸/۴۷۲T	۴۹/۷۸۲Q	۵۱/۰۹۲N	شکرشفا بوشهر
۸۴/۷۱۶N	۸۷/۲۳۶K	۸۹/۹۶۵H	۵۱/۵۲۸M	۵۷/۲۰..J	۵۷/۶۴۲I	زعفران(قائن)
۹۰/۰۸۳.G	۹۳/۴۵..D	۹۵/۶۳۳A	۵۸/۵۱۵G	۵۹/۳۸۹F	۶۱/۱۳۵C	بومادران(ایلام)
۷۰/۰۳۰..d	۷۲/۹۲۶a	۷۵/۰۴۶X	۴۱/۹۲۱C	۴۴/۱۰..Z	۴۶/۷۲۵W	پونه کوهی(کاشمر)
۶۷/۶۸۶f	۷۱/۱۷۹c	۷۳/۷۹۹Z	۴۰/۱۷۵e	۴۲/۷۹۵b	۴۴/۹۷۸Y	عنان کوهی(قائن)
۸۲/۰۶۰..P	۸۵/۵۹..M	۸۸/۲۱۰J	۵۰/۶۵۵O	۵۱/۹۶۵L	۵۶/۷۶۹K	بومادران(کاشمر)
۹۳/۸۸۶C	۶۲/۴۴۵m	۶۵/۰۶۶..i	۶۲/۰۰..A	۳۴/۴۹۸l	۳۷/۱۱۸h	عنان کوهی(کاشمر)
۸۶/۴۶۳L	۸۹/۰۸۳I	۹۱/۷۰..F	۵۷/۲۰..J	۵۸/۰۷۹H	۶۰/۶۹۹D	زوفا(قائن)
۷۴/۶۷۲Y	۷۷/۲۹۳V	۷۹/۴۷۶S	۴۵/۸۵۲X	۴۸/۰۳۵U	۴۹/۳۴۵R	اوشن وحشی(کاشمر)
۶۲/۸۸۲I	۶۴/۱۹۲j	۶۶/۸۱۲g	۳۵/۸۰..j	۳۶/۲۴۵i	۳۹/۳۰..f	شاه تره(کاشمر)
۹۲/۵۷۶E	۹۴/۷۶..B	۶۳/۳۱۹k	۶۰/۲۶۲E	۶۱/۵۷۲B	۳۵/۳۷۱k	کلپوره(کاشمر)

حروف مشترک بیانگر نبود تفاوت معنی دار در میانگین تیمار است.

معنی دار بوده و بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره متانول و کمترین میزان را در عصاره آبی به دست آورده است. در تحقیق حاضر نیز مشخص شد که محیط رویش گیاهان دارویی نعناع و بومادران بر روی مواد فنلی و فلاونوئیدی تاثیر داشته است در تحقیقی گزارش شده که عصاره اتیل استاتی میکروبی *Mentha spicata* بیشترین مقدار ترکیبات فنلی و آنتی اکسیدانی را نسبت به عصاره آبی، کلروفرم و هگزانی آن دارد(۱۶). در تحقیقی(۱۷) خاصیت ضد میکروبی اسانس و عصاره های آبی و متانلی گونه *Achillea sintenisii* بر روی ۱۲ گونه باکتری و دو مخمیر به صورت مقایسه ای مورد بررسی قرار داده و به این نتیجه رسیدند که عصاره آبی گیاه هیچ فعالیت ضد میکروبی نداشته در حالی که عصاره متانلی و اسانس آن فعالیت ضد میکروبی قابل قبولی داشته است. در تحقیقی دیگر اثر ضد میکروبی عصاره آبی و الکلی زعفران بررسی و به این نتیجه رسیدند که عصاره الکلی موثرتر از عصاره آبی بوده است(۱۸).

در اکثر تحقیقات ذکر شده عصاره آبی کمترین تاثیر در استخراج مواد فنلی داشته اما تحقیقات متفاوت تری نیز ارائه شده که عصاره آبی را بیشتر از برخی حلال ها موثرتر دانسته اند به طوری که در تحقیقی(۱۹) اثر مهاری عصاره گیاه تشنه داری(*Scrophularia*) *Candida striata* (بر روی کاندیدا آلبیکنس) (*Candida albicans*) در شرایط آزمایشگاهی بررسی و به این نتیجه رسیدند که عصاره الکلی گیاه تشنه داری بی تاثیر بوده زیرا این عصاره الکلی حاوی ترکیبات ضد قارچی نیست؛ اما عصاره آبی گیاه تشنه داری در بالاترین غلظت دارای اثر مهاری ضعیفی بوده که ناشی از وجود ترکیبات موثر در تشنه داری است در نتیجه پیشنهاد کردند که از سایر عصاره ها مانند عصاره فنلی در مطالعات دیگر استفاده شود. در پژوهشی دیگر میزان فنل و فلاونوئید عصاره آبی آرتمزیا ولگاریس (*Artemisia vulgaris*)، کمتر از عصاره هیدروالکلی درمنه اما میزان IC<sub>50</sub> عصاره آبی آرتمزیا ولگاریس (*Artemisia vulgaris*)، بیشتر از عصاره هیدروالکلی درمنه (*Artemisia*) ذکر شده است(۲۰).

گزارش شده که فعالیت آنتی اکسیدانی با خاصیت

## بحث و نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که حلال ها تاثیر متفاوتی در استخراج مواد فنلی و فلاونوئیدی داشتند به طوری که متانول و آب به ترتیب باعث استخراج بیشترین و کمترین میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی شده اند. ضمناً از نظر میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و هم چنین خاصیت آنتی اکسیدانی، گیاه بومادران منطقه ایلام دارای بیشترین مقدار بوده و با افزایش غلظت عصاره خاصیت آنتی اکسیدانی نیز بیشتر شده است.

در تحقیقی(۱۲) تاثیر تیمار حلال های متانول، اتانول، استون(۵۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد) و آب مقطر بر روی میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی(فنل کل، تانن ها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین ها) میوه عناب(*Ziziphus jujube Miller*) بررسی شد و به این نتیجه رسیدند که استون ۵۰ درصد در استخراج ترکیبات فنل و فلاونوئید کل بهترین عملکرد را در میان سایر حلال ها داشته است. استخراج آنتوسیانین، با متانول ۵۰ درصد و استخراج تانن با متانول ۱۰۰ درصد دارای بالاترین بازده استخراج بوده است. در تمامی موارد آب از حداقل قابلیت استخراج متابولیت های ثانویه در بین سایر حلال ها برخوردار بوده است. در تحقیقی تاثیر بیشتر عصاره هیدرووالکلی نسبت به عصاره اتانولی برگ و شاخه گیاه مورد بر باکتری های مختلف گزارش شده است(۱۳).

در تحقیقی(۱۴) استخراج ترکیبات فنلی برگ گیاه بادرنجبویه(*Melissa officinalis*) با دو روش استخراج(غرقابی و ماکروویو) و حلال های(آب، متانول ۸۰ درصد و اتانول ۵۰ درصد) در زمان های مختلف بررسی و به این نتیجه رسیدند که در هر دو روش، عصاره اتانولی بیشترین راندمان و عصاره آبی کمترین راندمان را در استخراج ترکیبات فنلی دارا بوده است. در تحقیقی(۱۵) مقایسه محتوای ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی اکسیدانی اندام هوایی دو جمعیت گیاه بشقابی سنبله ای در شمال ایران بررسی و به این نتیجه رسیدند که اختلاف میانگین های ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی تام عصاره ها تحت تاثیر سه عامل جمعیت، روش استخراج و نوع حلال،

*F. thuretii* F. officinalis نسبت به گونه های *F. schrammii* و *F. rostellata* *F. kralikii* خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتری داشته است. در تحقیق حاضر گونه *F. officinalis* بررسی و خاصیت آنتی اکسیدانی آن در سطح بالا و در محدوده پایین ۶۲ تا ۶۴ درصد بوده است. بیشترین خواص آنتی اکسیدانی بومادران ۸۴ درصد گزارش شده (۲۵) که با تحقیق حاضر (از ۸۲ تا ۹۵ درصد) مشابه داشت. بیشترین میزان خواص آنتی اکسیدانی پونه کوهی از ۶۰ درصد در غلظت ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر در عصاره استونی تا ۸۰ درصد با همین غلظت در عصاره آلفا-توکوفرول گزارش شده (۲۶) که با تحقیق حاضر که بیشترین میزان خواص آنتی اکسیدانی (۷۵ درصد) در عصاره متانلی با غلظت ۱۶ میلی گرم در میلی لیتر به دست آمده مشابه داشت.

در تحقیقی (۲۷) اثر آنتی اکسیدانی چند گونه زوفا بررسی و به این نتیجه رسیدند که گونه *H. officinalis* T. chamaedrys و *O. basilicum* نسبت به گونه *H. officinalis* داشته است در تحقیق حاضر فقط گونه *H. officinalis* در سطح بالا و در محدوده ۶۴ تا ۹۱/۷ درصد بوده است. در تحقیقی بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی کلپوره همدانی را ۸۰ درصد در غلظت ۲۰ میکرولیتر گزارش دادند (۲۸) در صورتی که در تحقیق حاضر این مقدار ۹۴ درصد در غلظت ۳۲ میلی گرم بوده است در کل با توجه به این که فلکل ها و ترکیبات پلی فنلی مانند فلاونوئیدها به طور گسترده در محصولات غذایی و دارویی یافت شده و نشان داده شده است که فعالیت آنتی اکسیدانی چشمگیری دارد و از طرفی افزایش سطح فلاونوئیدها در رژیم غذایی منجر به کاهش برخی بیماری ها در انسان منجر می شود (۲۹) و با در نظر گرفتن اثرات منفی آنتی اکسیدان های سنتزی و نیز با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق می توان بومادران منطقه ایلام را به عنوان جانشینی برای آنتی اکسیدان های سنتزی پیشنهاد نمود. ضمناً در اکثر تحقیقات انجام شده و هم چنین تحقیق حاضر عصاره متانلی دارای بیشترین

ضد میکروبی همبستگی مثبتی دارد و اصولاً خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره ها با افزایش غلظت ترکیبات فلکل کل زیاد شده و این توانایی بستگی به تعداد حلقه های آروماتیکی و ماهیت گروه های جا به جا شونده هیدروکسیل دارد به طوری که در غلظت های بیشتر، ترکیبات فنلی به سبب افزایش تعداد گروه های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال انتقال هیدروژن به رادیکال های آزاد و به دنبال آن قدرت مهار کنندگی عصاره افزایش می یابد (۲۱). در تحقیقی گزارش شده بود عصاره برگ گیاه علف مار با داشتن بیشترین محتوی فلاونوئیدی و فنلی در بیان عصاره های میوه و ساقه، بیشترین میزان درصد فعالیت آنتی اکسیدانی را داشته است (۸). در تحقیق حاضر نیز گیاه بومادران منطقه ایلام بالاترین میزان فلکل در عصاره آبی (۱۵/۳۳)، عصاره هیدرووالکلی (۲۰/۱۸۰)، عصاره استونی (۳۱/۵۹) و عصاره متانلی (۵۱/۴۷) و بالاترین میزان فلاونوئید را در عصاره آبی (۸۷/۶۰)، عصاره هیدرووالکلی (۱۴۷/۴۸)، عصاره استونی (۱۷۱/۹۸) و عصاره متانلی (۲۷۷/۴۸) داشته و بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی نیز داشته است.

در تحقیقی (۲۲) بیشترین خواص آنتی اکسیدانی گیاه دارویی کاکوتی حاصل از عصاره متانلی و اسانس به تریب برابر ۸۹/۳ درصد و ۶۱/۶ درصد بوده است که با تحقیق حاضر (با خواص آنتی اکسیدانی ۷۲/۰۵۲ درصد در عصاره متانلی) مشابه داشت. بررسی خواص آنتی اکسیدانی نعناع کوهی گونه *Mentha asiatica* در تحقیق حاضر برای اولین بار بوده و با بررسی های انجام شده منبعی در این مورد پیدا نشد. بیشترین میزان خواص آنتی اکسیدانی شکرشفا (۹۱/۵۳) درصد گزارش شده (۲۳) که با تحقیق حاضر (۸۳/۸۴) درصد مشابه داشت. بیشترین میزان خواص آنتی اکسیدانی زعفران ایتالیا ۷۶ درصد بوده (۱۱) که کمتر از خواص آنتی اکسیدانی زعفران قائن (۸۹/۹۶) درصد گزارش شده که نشان دهنده تاثیر محیط و شاید گونه گیاهی بر این خواص آنتی اکسیدانی بوده هر چند در عین حال میزان بالایی نیز داشته است در تحقیقی (۲۴) اثر آنتی اکسیدانی چند گونه شاه تره ارزیابی و به این نتیجه رسیدند که گونه

۵۱/۴۷۶ mg/g DW آنتی اکسیدانی بر اساس آزمون DPPH در عصاره متانولی (۹۵/۶۳۳) درصد در غلظت ml/ $\mu$ g/ml) متعلق به بومادران منطقه ایلام بوده است. ضمناً مهم ترین حلال جهت استخراج مواد فنلی و بررسی خاصیت اکسیدانی، متانول بوده و موثرترین گیاه از لحاظ حضور مواد و خاصیت آنتی اکسیدانی، بومادران منطقه ایلام بوده است.

### سپاسگزاری

این پژوهش با امکانات پژوهشکده زیست فناوری کشاورزی دانشگاه زابل و با کد اخلاقی ۹۶۰۱۰۰۱۳ انجام شده است. بدین وسیله از خدمات این پژوهشکده تشکر و قدردانی می‌گردد.

### References

1. Davari A, Solouki M, Fazelinasab B. Effects of jasmonic acid and titanium dioxide nanoparticles on process of changes of phytochemical and antioxidant in genotypes of *Satureja hortensis* L. *Eco Phytochem J Med Plant* 2018; 5: 1-20.
2. Fazelinasab B, Mirzaei N. [Evaluation of total phenol and flavonoid content in a wide range of local and imported plants]. *J Ilam Uni Med Sci* 2018; 26: 141-54. (Persian) doi: 10.29252/sjimu.26.2.141
3. Mozdastan S, Ebrahimzadeh MA, Khalili M. [Comparing the impact of different extraction methods on antioxidant activities of myrtle *Myrtus communis* L.]. *J Mazandaran Uni Med Sci* 2015; 25: 10-24. (Persian)
4. Fazelinasab B, Rahnama M, Mazarei A. [Correlation between Antioxidant Activity and Antibacterial Activity of Nine Medicinal Plant Extracts]. *J Mazandaran Uni Med Sci* 2017; 27(149): 63-78. (Persian)
5. Sottero B, Leonarduzzi G, Testa G, Gargiulo S, Poli G, Biasi F. Lipid oxidation derived aldehydes and oxysterols between health and disease. *European J Lipid Sci Technol* 2018; 1700047. doi: 10.1002/ejlt.201700047
6. Khazaee FA, Etebarian HR, Roustaei A, Alizadeh A. Study of changes in peroxidase enzyme and total phenol in golden delicious apple fruits inoculated with an antagonistic isolate of *pseudomonas fluorescens* and penicillium expansum the causal agent of apple blue mould. *Seed Plant Prod J* 2011; 26: 419-33. doi: 10.22092/sppj.2017.110417
7. Wach A, Pyrzyńska K, Biesaga M. Quercetin content in some food and herbal samples. *Food Chem* 2007; 100: 699-704. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.10.028
8. Rashedi H, Amiri H, Gharezi A. [Assessment of phytochemical and antioxidant properties of the *Capparis spinosa* L. Khuzestan province]. *J Qazvin Uni Med Sci* 2015; 18: 11-07. (Persian)
9. Meda A, Lamien CE, Romito M, Millogo J, Nacoulma OG. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem* 2005; 91: 571-7. doi: 10.1016/j.foodchem.2004.10.006
10. Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J Food Drug Analys* 2002; 10: 178-82.
11. Baba SA, Malik AH, Wani ZA, Mohiuddin T, Shah Z, Abbas N, Ashraf N. Phytochemical analysis and antioxidant activity of different tissue types of *Crocus sativus* and oxidative stress alleviating potential of saffron extract in plants bacteria and yeast. *South Af J Botan* 2015; 99: 80-87. doi: 10.1016/j.sajb.2015.03.194

قابلیت در استخراج مواد فنلی و فلاونوئیدی بوده و در تحقیقی دیگر گزارش شده که متانول و اتانول در بین حلال های رایج جهت عصاره گیری مواد گیاهی، برای ترکیبات قطبی و غیر قطبی دارای بیشترین کارایی می باشند؛ بنا بر این هر نوع اندازه گیری با عصاره متانولی می تواند باعث استخراج ترکیبات قطبی و غیر قطبی و در نتیجه خواص آنتی اکسیدانی بیشتر شود (۳۰). لذا پیشنهاد می گردد که در تحقیقات آتی صرفاً از عصاره متانولی جهت ارزیابی مواد فیتوشیمیایی گیاهی استفاده شود.

نتایج این تحقیق نشان داد بیشترین میزان فلاونوئید و فنل در تمامی عصاره ها به خصوص عصاره متانولی به ترتیب ۲۷۷/۴۸ mg/g DW و

12. Davarynejad G, Taghizadeh S, Asili J. Effect of different solvents on total phenolic contents and antioxidant activity of *Zizyphus jujube* Miller fruits. *J Horticulture Sci* 2017; 31: 158-66. doi: 10.22067/jhortsc4.v0i0.47986
13. Amensour M, Bouhdid S, Fernandezlopez J, Idaomar M, Senhaji NS, Abrini J. Antibacterial activity of extracts of *Myrtus communis* against food-borne pathogenic and spoilage bacteria. *Int J Food Prop* 2010; 13: 1215-24.
14. Kabiri S, Sayyedalangi SZ. Comparison of antioxidant effect of different extracts from *Melissa officinalis* leaves with immersion and microwave assisted extractions and its oxidative stability on soybean oil. *Innova Food Technol* 2015; 2: 23-38. doi: 10.22104/jift.2015.201
15. Saboura A, Ahmadi A, Zeinali A, Parsa M. Comparison between the contents of phenolic and flavonoid compounds and aerial part antioxidant activity in *Scutellaria pinnatifida* in two NorthIranian populations. *J Rafsanjan Uni Med Sci* 2014; 13: 249-66.
16. Conforti F, Sosa S, Marrelli M, Menichini F, Statti GA, Uzunov D, Tubaro A, Menichini F, Della Loggia R. In vivo anti inflammatory and invitro antioxidant activities of Mediterranean dietary plants. *J Ethnopharmacol* 2008; 116: 144-51. doi: 10.1016/j.jep.2007.11.015
17. Sokmen A, Sokmen M, Daferera D, Polissiou M, Candan F, Unlu M, Akpulat HA. The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and methanol extracts of *Achillea biebersteini* Afan. *Phytotherap Res Int J Dev Toxicol* 2004; 18: 451-56. doi: 10.1002/ptr.1438
18. Baranikarasaki F, Hossenzadeh H, Fazlibazzaz BS, Hoda V, Ghazvini K, Ajami BAM. Evaluation of antimicrobial effects of aqueous and alcoholic extracts of saffron on oral pathogenic microbes *Streptococcus mutans*, *lactobacillus*, *candida albicans*. *J Mashhad Dental Sch* 2016; 40: 203-12. doi: 10.22038/jmds.2016.7010
19. Havasian MR, Panahi J, Pakzad I, Davoudian A, Jalilian A, Zamanian Azodi M. Study of Inhibitory effect of alcoholic and aqueous extract of *Scrophularia striata* tashne dari on candida albicans invitro. *Pejouhesh Pezeshki Res Med* 2013; 36: 19-23.
20. Ahmadvand H, Amiri H, Dalvand H, Bagheri S. Various antioxidant properties of essential oil and hydroalcoholic extract of *Artemisa persica*. *J Birjand Uni Med Sci* 2014; 20: 416-24.
21. Baba SA, Malik SA. Determination of total phenolic and flavonoid content antimicrobial and antioxidant activity of a root extract of *Arisaema jacquemontii* Blume. *J Taibah Uni Sci* 2015; 9: 449-54. doi: 10.1016/j.jtusci.2014.11.001
22. Amiri H. [Composition and antioxidant activity of the essential oil and methanolic extract of *Ziziphora clinopodioides* Lam in preflowering stage]. *J Kerman UniMedical Sciences* 2015; 16: 79-86. (Persian)
23. Tofighi Z, Alipour F, Hadavinia H, Abdollahi M, Hadjiakhoondi A, Yassa N. Effective antidiabetic and antioxidant fractions of *Otostegia persica* extract and their constituents. *Pharm Biol* 2014; 52: 961-6. doi: 10.3109/13880209.2013.874463
24. Ivanov I, Vrancheva R, Marchev A, Petkova N, Aneva I, Denev P, et al. Antioxidant activities and phenolic compounds in Bulgarian *Fumaria* species. *Int J Curr Microbiol App Sci* 2014; 3: 296-306.
25. Becker L, Zaïter A, Petit J, Zimmer D, Karam MC, Baudelaire E, et al. Improvement of antioxidant activity and polyphenol content of *Hypericum perforatum* and *Achillea millefolium* powders using successive grinding and sieving. *Ind Crop Prod* 2016; 87: 116-23. doi: 10.1016/j.indcrop.2016.04.036
26. Ertas A, Goren AC, Hasimi N, Tolan V, Kolak U. Evaluation of antioxidant cholinesterase inhibitory and antimicrobial properties of *Mentha longifolia* subsp. *noeana* and Its secondary metabolites. *Rec Nat Prod* 2015; 9:123-7.
27. Vlase L, Benedec D, Hangau D, Damian G, Csillag I, Sevastre B, et al. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities and phenolic profile for *Hyssopus officinalis*, *Ocimum basilicum* and *Teucrium chamaedrys*. *Molecules* 2014; 19: 5490-507. doi: 10.3390/molecules19055490
28. Ozer Z, Kılıç T, Carikc S, Yılmaz H. Investigation of phenolic compounds and antioxidant activity of *Teucrium polium* L. decoction and infusion. *Balıke Uni Fen Bilimleri Enstitüsü Derg* 2018; 20: 212-18.

29. Fazli R, Nazarnezhad N, Ebrahimzadeh MA. Evaluation of phenols and flavonoids and antioxidant activity of the bark of beech, hornbeam, and pine. *J Forest Wood Prod* 2013; 66: 339-42.
30. Balouiri M, Sadiki M, Ibnsouda SK. Methods for invitro evaluating antimicrobial activity a review. *J Pharmaceut Analys* 2016; 6: 71-9. doi: 10.1016/j.jpha.2015.11.005



## Effect of Solvent Extraction on Phenol, Flavonoids and Antioxidant Activity of some Iranian Native Herbs

Fazelinasab B<sup>1\*</sup>, Moshtagh N<sup>2</sup>, Forouzandeh M<sup>1</sup>

(Received: January 28, 2019)

Accepted: May 22, 2019)

### Abstract

**Introduction:** Nowadays, different solvents are used to extract plant antioxidants. Each solvent has a special ability to extract antioxidants materials. Accordingly, in this research, some medicinal herbs were collected from different vegetation zones of Iran and evaluated based on the majority of useful solvents. The best solvent for the extraction of antioxidants can be identified and used to determine the best herbal medicine.

**Materials & Methods:** In order to investigate the type of solvent extraction on the amount of antioxidant material of some indigenous medicinal plants of different regions of Iran such as *Mentha asiatica*, *Ziziphora persica*, *Otostegia persica*, *Crocus sativus*, *Achillea millefolium*, *Mentha longifolia*, *Hyssopus officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Fumaria officinalis* and *Teucrium polium*, were done the experiment in The factorial based on a completely randomized design with three replications. DPPH was used to measure antioxidant activity.

**Findings:** Results showed that the extract (hydro, hydroalcoholic, acetone and methanolic) and the interaction of extract and plant on antioxidant properties had a different effect on phenol and flavonoid content ( $P<0.05$ ). The highest flavonoids in the aqueous extract (87.6 mg/gDW), hydroalcoholic (147.48 mg/gDW), methanolic (277.48 mg/gDW) and acetone (171.98 mg/gDW) and also, the highest

amount of phenol in aqueous extracts (15.33 mg / gDW), hydroalcoholic (20.18 mg/gDW), methanolic (51.47 mg/gDW) and acetone (31.59 mg/gDW) were found the *Achillea millefolium* from Ilam. The highest antioxidant activity based on DPPH test in aqueous extract (8.29% at a concentration of 16 µg/ml) belonged to the *Achillea millefolium* from Ilam, In hydroalcoholic extract (34.49% at a concentration of 64 µg/ml) was belonged to *Mentha asiatica* in Kashmar and then *Achillea millefolium* in Ilam, In the extract of Estonia (62.009% at a concentration of 64 µg/ml) was belonged to *Mentha asiatica* of Kashmar and then *Teucrium polium* of Kashmar and *Achillea millefolium* of Ilam, Finally, in the methanolic extract (95.633% at a concentration of 16 µg/ml), was belonged to the *Achillea millefolium* of Ilam. *Ethics code:* 96010013

**Discussion & Conclusions:** In general, the results of this study showed that the most important solvent for the extraction of phenolic substances and the evaluation of oxidative properties was a methanol solution and the most effective plant with more substances and antioxidant activities were *Achillea millefolium* from Ilam region.

**Key words:** plant extract, *Achillea millefolium*, *Otostegia persica*, *Mentha asiatica*, *Hyssopus officinalis*

1. Research Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Zabol, Zabol, Iran

2. Dept of Biotechnology and Plant Breeding, Ferdowsi University of Mashhad, Khorasan-e-Razavi, Mashhad, Iran

\*Corresponding author Email: Bfazeli@uoz.ac.ir