

Effect of the Solvent Type on Phenolic and Flavonoid Substances and Antioxidant Properties of Leaves of 15 Medicinal Plants in Roodān Region of Southern Iran

Mojib Salehi Balashahri^{1*}, Azar Davari², Bahman Fazeli Nasab^{3,4}

¹ Dept of Agriculture, Islamic Azad University, Roodān Branch, Roodān, Iran

² Dept of Plant Production and Genetics, Faculty Of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran

³ Dept of Agronomy and Plant Breeding, Agricultural Research Institute, University of Zabol, Zabol, Iran

⁴ Dept of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Article Info

Article type:

Research article

Article History:

Received: 02 January 2021

Revised: 23 January 2021

Accepted: 23 June 2021

* Correspondence to:

Mojib Salehi Balashahri
Dept of Agriculture, Islamic Azad
University, Roodān Branch, Roodān,
Iran
Email: m.salehibalash@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: Phenolic compounds and flavonoids have several biological properties, such as antioxidant properties, trapping free radicals, and anti-inflammatory properties. Different solvents have different capabilities in extracting phenolic materials and antioxidant properties. This study aimed to investigate and compare the different plants in the south of Iran regarding phenolic content and antioxidant properties; moreover, it was attempted to evaluate the effect of the solvent type on the mentioned issues.

Material & Methods: A total of 15 genotypes of medicinal plants (*Ficus religiosa* L, *Terminalia catappa*, *Ficus carica*, *Cordia myxa*, Black mulberry, *Grewia asiatica*, *Psidium guajava*, *Mangifera 1*, *Mangifera 2*, *Eucalyptea*, *Syzygium cumini*, *Ziziphus 1*, *Citrullus colocynthis*, *Ziziphus 2*, *Punica granatum*) were obtained from Roodān region (Hormozgan Province in Iran) and were also evaluated based on two types of methanolic and acetone extracts in terms of antioxidant properties, as well as phenolic and flavonoid substances in a factorial design in a completely randomized format with three replications. Data were analyzed using Statistic software (version 10), and the means were compared using the least significant difference at a 1% probability level.

Findings: The results of the analysis of variance showed that the mutual effect of the plant and antioxidant properties (based on the DPPH) for acetone and methanolic extracts was significant at a 1% probability level. In the use of acetone solvent, the highest amount of phenol was in eucalyptus (7.43 mg/gFW), followed by *Syzygium cumini* (Java Plum) (6.52 mg/gFW). Furthermore, the highest amount of flavonoids was in mango 1 (23.21 mg/gFW), followed by *Terminalia catappa* (Indian-almond) (18.75 mg/gFW) and eucalyptus (15.36 mg/gFW). The most antioxidant properties were in *Psidium guajava* (Guava) (85.24%), followed by *Ziziphus mauritiana* 1 (Jujube 1) (82.68%) and *Terminalia catappa* (Indian-almond) (82.31%). In the use of methanol solvent, the highest amount of phenol was in *Syzygium cumini* (Java Plum) (7.82 mg/gFW), followed by eucalyptus (7.34 mg/gFW). In addition, the highest amount of flavonoids was in *Terminalia catappa* (Indian-almond) (mangroves) and mango 1 (24.46 mg/gFW and 25.06 mg/gFW, respectively) and then *Grewia asiatica* (Phalsa) (16.07 mg/gFW) and *Ziziphus mauritiana* 1 (Jujube 1) (13.51 mg/gFW). The highest antioxidant properties were obtained from *Terminalia catappa* (Indian-almond) (82.07%), pomegranate (78.97%), and *Ziziphus mauritiana* 1 (Jujube 1) (78.16%).

Discussion & Conclusion: The most critical solvent for the extraction of phenol and Flavonoid substances with high oxidative properties is acetone. The most useful plants in terms of the presence of materials and antioxidant properties were *Terminalia catappa* (Indian-almond) and *Ziziphus mauritiana* (Jujube).

Keywords: DPPH, *Psidium guajava*, *Syzygium cumini*, *Terminalia catappa*, *Ziziphus mauritiana*

How to cite this paper

Salehibalashahri M, Davari A, Fazelinasab B. Effect of the Solvent Type on Phenolic and Flavonoid Substances and Antioxidant Properties of Leaves of 15 Medicinal Plants in Roodān Region of Southern Iran. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 2022;29(5): 1-11.



تأثیر نوع حلال بر میزان مواد فنلی، فلاونوئیدی و خواص آنتی‌اکسیدانی برگ پانزده گیاهان دارویی منطقه رودان واقع در جنوب ایران

مجید صالحی بالاشهری^۱ ID، آذر داوری^۲، بهمن فاضلی نسب^۳ ID

^۱ گروه کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رودان، هرمزگان، ایران
^۲ گروه ژنتیک و تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولیعصر رفسنجان، رفسنجان، ایران
^۳ گروه پژوهشی زراعت و اصلاح نباتات، پژوهشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
^۴ گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۱۳

تاریخ داوری: ۱۳۹۹/۱۱/۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۰۲

نویسنده مسئول:

مجید صالحی بالاشهری

گروه کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی،

واحد رودان، هرمزگان، ایران

Email:

m.salehibalash@gmail.com

m

مقدمه: ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها خواص بیولوژیکی متعددی مانند خاصیت آنتی‌اکسیدانی، به دام انداختن رادیکال‌های آزاد و خاصیت ضدالتهاب دارند. حلال‌های مختلف قابلیت متفاوتی در استخراج مواد فنلی و خواص آنتی‌اکسیدانی دارند؛ بنابراین، در این تحقیق سعی شد ضمن بررسی و مقایسه گیاهان گوناگون حوزه جنوب کشور از لحاظ محتوای فنلی و خواص آنتی‌اکسیدانی، تأثیر نوع حلال بر موارد یادشده نیز بررسی گردد.

مواد و روش‌ها: تعداد ۱۵ ژنوتیپ (انجیر معابد، لوز [گارم زنگی]، انجیر، سپستان، شاه‌توت، فالسا، گواوا، انبه ۱، انبه ۲، اکالیپتوس، جمبو، کنار ۱، هندوانه ابوجهل، کنار ۲، انار) از گیاهان دارویی جنوب کشور، بر اساس دو نوع عصاره متانلی و استونی از لحاظ میزان خواص آنتی‌اکسیدانی و مواد فنلی و فلاونوئیدی در طرحی به‌صورت فاکتوریل، در قالب کاملاً تصادفی و در سه تکرار ارزیابی شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Statistic vol.10 و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۱ درصد انجام گردید.

یافته‌ها: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل گیاه و خواص آنتی‌اکسیدانی (بر اساس DPPH) برای عصاره استونی و متانولی، در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. در استفاده از حلال استونی، بیشترین میزان فنل در اکالیپتوس (mg/gFW43/7) و سپس جمبو (mg/gFW52/6)، فلاونوئید در انبه ۱ (mg/gFW21/23) و سپس لوز (گارم زنگی) (mg/gFW75/18) و اکالیپتوس (mg/gFW36/15) و بیشترین خواص آنتی‌اکسیدانی در گواوا (۸۵/۲۴) درصد) و سپس کنار ۱ (۸۲/۶۸ درصد) و لوز (گارم زنگی) (۸۲/۳۱ درصد) به‌دست آمد. در استفاده از حلال متانلی، بیشترین میزان فنل از جمبو (mg/gFW82/7) و سپس اکالیپتوس (mg/gFW34/7)، فلاونوئید از لوز (گارم زنگی) و انبه ۱ (به ترتیب mg/gFW46/24 و mg/gFW06/25) و سپس فالسا (mg/gFW07/16) و کنار ۱ (mg/gFW51/13) و بیشترین خواص آنتی‌اکسیدانی از لوز (گارم زنگی) (۸۲/۰۷ درصد) و سپس انار (۷۸/۹۷ درصد) و کنار ۱ (۷۸/۱۶ درصد) حاصل شد.

بحث و نتیجه‌گیری: حلال استون مؤثرترین حلال در استخراج موادی فنلی و فلاونوئیدی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاست و کنار و لوز (گارم زنگی) مؤثرترین گیاهان از لحاظ میزان مواد فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند.

واژه‌های کلیدی: گارم زنگی، جمبو، گواوا، کنار، DPPH

استناد: صالحی بالاشهری، مجید؛ داوری، آذر؛ فاضلی نسب، بهمن. تأثیر نوع حلال بر میزان مواد فنلی، فلاونوئیدی و خواص آنتی‌اکسیدانی برگ پانزده گیاهان دارویی منطقه رودان واقع در جنوب ایران. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام، دی ۱۴۰۰؛ ۲۹(۵): ۱-۱۱.



متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی مانند اسانس (عطرمايه)ها و عصاره‌های گیاهی از نظر آثار ضد میکروبی‌شان بررسی شده‌اند (۱) و تخمین زده شده است که دست کم یک سوم همه فرآورده‌های دارویی منشأ گیاهی دارند یا پس از استخراج از گیاه تغییر شکل یافته‌اند (۲)، به طوری که از این مواد علاوه بر جلوگیری از رشد باکتری‌ها و کپک‌های آلوده‌کننده مواد غذایی، به منظور افزایش عمر نگهداری غذاهای فرایند شده در سیستم غذایی و نیز افزایش عمر نگهداری میوه‌ها و سبزی‌ها استفاده گردیده است (۳).

گزارش‌ها بیانگر آن است که بسیاری از عطرمايه‌های گیاهی اثر بازدارندگی چشمگیری بر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا دارند و مشخص شده است که اغلب عطرمايه‌های گیاهی استخراج شده از گیاهان دارویی دارای خواص ضدقارچی، ضدانگل، ضدباکتری و ضد ویروس هستند؛ بنابراین، عطرمايه‌های گیاهی در زمینه‌های فارماکولوژیکی، داروشناسی گیاهی، میکروبیولوژی پزشکی و کلینیکی، فیتوپاتولوژی و نگهداری مواد غذایی، میوه‌ها و سبزی‌ها شدیداً غربالگری و استفاده شده‌اند. داروهای گیاهی نزد مردم مقبولیت بیشتری در مصرف دارند. این دلایل علت افزایش موج جدید مطالعات گسترده جهانی و معرفی آثار ضدباکتری گیاهان مختلف در سال‌های اخیر بوده است. از سویی، مصرف مدام و بی‌رویه ترکیبات دارویی شیمیایی باعث ایجاد پدیده مهم مقاومت نسبت به میکروارگانیسم‌ها می‌شود و با ایجاد این پدیده، اثر داروها ضعیف و یا خنثی می‌گردد و در نهایت، سبب افزایش مقدار مصرف دارو و تمایل به استفاده از ترکیبات با فرمولاسیون جدیدتر و قوی‌تر می‌شود؛ همچنین ایراد دیگر استفاده از این داروها افزایش آثار جانبی آن‌هاست که به ایجاد بیماری‌هایی منجر می‌گردد که از بیماری اولیه خطرناک‌تر است (۴،۵).

تحقیقات نشان داده، منبع دریافت فنل‌ها و فلاونوئیدها

در نقاط مختلف جهان به نوع رژیم غذایی مردم منطقه وابسته است؛ برای مثال، در کشورهایی همچون ژاپن و چین، مصرف چای سبز تأمین‌کننده این ترکیبات مورد نیاز بدن است، در حالی که این مواد در کشورهای غربی، با مصرف سیب و پیاز و در کشورهای شرقی، با مصرف سبزی‌ها و مواد غذایی تخمیری تأمین می‌شوند (۶). در کشور ایران، به طور جامع نوع خاص استفاده از انواع مواد حاوی آنتی‌اکسیدان وجود ندارد؛ اما با تبلیغات مختلف کارهایی از جمله مصرف سبزی‌ها به صورت خام و پخته، برگ گیاهان و درختان مختلف (به صورت دم‌نوش، عرقیات، عطرمايه، عصاره، مربا، شربت، ترشی، مواد شوینده از جمله سدر و حتی مصرف به صورت دلمه و غیره) صورت گرفته که پیرو تحقیقات گوناگون، باید از اندام‌های مختلف گیاهان که نوع ویژه‌ای از مواد آنتی‌اکسیدانی دارند، از آن‌ها استفاده خاصی بشود. گزارش شده است که گیاهان حاوی ترکیب‌های فلاونوئیدی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی از خود نشان می‌دهند (۷). این فعالیت آنتی‌اکسیدانی عمدتاً مربوط به توانایی این ترکیب‌ها به دادن الکترون یا اتم‌های هیدروژن است و به همین سبب، از نظر دارویی اهمیت دارند (۸). از سویی، متابولیت‌های ثانویه در همه قسمت‌های مختلف گیاهی مانند برگ، میوه، دانه، ریشه و پوست موجودند و حتی گزارش شده است که بخش‌های بذر و پوست برخی میوه‌ها از فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری حتی نسبت به گوشت برخوردارند؛ به عنوان نمونه، بذرهای انگور و پوست انار فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به گوشت دارند و غنی از پروآنتوسیانیدین هستند که مهارکننده نیرومند رادیکال‌های فعال اکسیژن است (۹)؛ بنابراین، با توجه به شیوع بالای بیماری‌های مزمن و فرسایشی منطقی است که برای تأمین آنتی‌اکسیدان‌های مورد نیاز بدن از گیاهان استفاده شود و به ویژه گیاهانی که فنل و فلاونوئید تام بالایی داشته باشند (۱۰، ۱۱)؛ در نتیجه، برای تأمین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد نیاز بدن، مصرف گیاهان با

ترکیبات فنلی بالا توصیه می‌گردد (۱۲).

ایران یکی از غنی‌ترین منابع گیاهان دارویی جهان به‌شمار می‌رود که تنوع بالای شرایط زیستگاهی برای انواع این گیاهان دارد (۱۳؛ ۱۴). گیاهان دارویی غنی از متابولیت‌های ثانویه و دارای ماده مؤثر اساسی بسیاری از داروها هستند که این متابولیت‌ها و مواد مؤثر اگرچه اساساً با هدایت فرایندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند؛ اما ساخت آن‌ها به‌طور بارزی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد، به‌طوری‌که عوامل محیطی باعث تغییراتی در رشد گیاهان دارویی و نیز در مقدار و کیفیت مواد مؤثر آن‌ها نظیر آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها و روغن‌های فرار می‌گردد (۱۷-۱۵).

امروزه، برای استخراج مواد مؤثر گیاهی از حلال‌های متفاوتی استفاده می‌شود که هرکدام مزایا و معایب خاص خود را دارند و چون ماده مؤثر تحت تأثیر عوامل گوناگونی از جمله نوع گیاه، شرایط رویش، نوع حلال، روش استخراج، مرحله رشدی گیاه و... بود (۱۸)؛ بنابراین، در تحقیق حاضر سعی شد تا گیاهان مختلف از منطقه رودان جمع‌آوری و بر اساس حلال‌های گوناگونی نیز ارزیابی شوند تا علاوه بر شناسایی بهترین گیاه دارویی با بالاترین میزان مواد فنلی و خواص آنتی‌اکسیدانی، بتوان تأثیر هرکدام از عوامل تأثیرگذار بر مواد فنلی را مشخص کرد و این تحقیق بتواند مبنایی برای تحقیقات بعدی در این باره باشد تا با کمترین هزینه و زمان ممکن، مواد فنلی را با بیشترین میزان در گیاهان مختلف استخراج و مقایسه نمود.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد گیاهی و عصاره متانولی و استونی: در این تحقیق، ۱۵ ژنوتیپ از گیاهان گرمسیری (جدول شماره ۱) منطقه رودان جنوب کشور ایران جمع‌آوری و در آزمایشگاه گیاه‌شناسی دانشگاه زابل شناسایی گونه شد و بر اساس دو نوع عصاره متانولی و استونی، از لحاظ میزان خواص آنتی‌اکسیدانی و مواد فنلی و فلاونوئیدی در آزمایشی به‌صورت فاکتوریل، در قالب کاملاً تصادفی و در
















سه تکرار ارزیابی گردید.

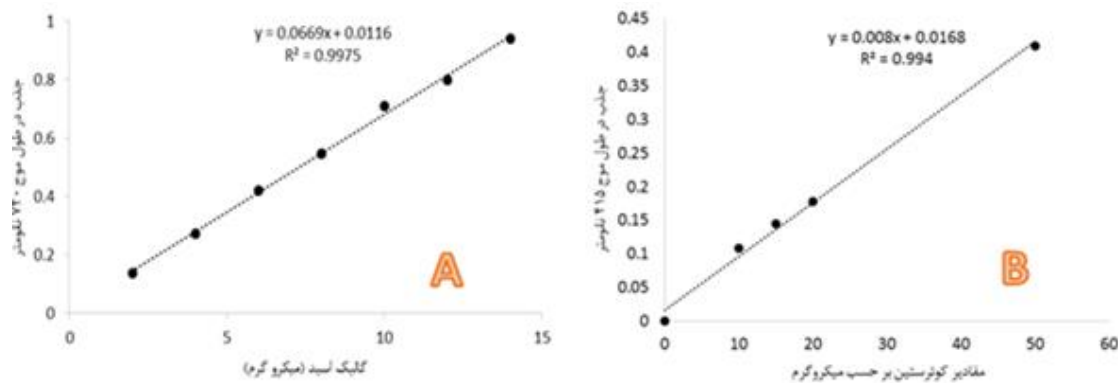
مقدار ۱۰ گرم برگ خشک‌شده در سایه و مجاورت هوا از گیاهان مورد بررسی، آسیاب و سپس در ۱۰۰ سی‌سی محلول (استون یا متانول) خیسانده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. پس از طی شدن زمان مدنظر، عصاره‌ها صاف، سپس حلال در دمای کمتر از ۴۰°C توسط دستگاه روتاری تبخیر و باقیمانده پس از خشک شدن، برای انجام آزمایش‌ها در یخچال با درجه حرارت ۰-۴°C نگهداری گردید. پس از خشک شدن عصاره، ۱۰۰ میلی‌گرم پودر عصاره را در ۱ سی‌سی متانل یا DMSO حل و برای اندازه‌گیری مقدار فنل کل و فلاونوئید نگهداری شد (۱۹).

اندازه‌گیری فنل کل: برای اندازه‌گیری محتوای فنل کل، به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاه، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم (۲ درصد)، ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتیو (۵۰ درصد) اضافه شد. پس از گذشت نیم ساعت، جذب آن‌ها در طول موج ۷۲۰ نانومتر نسبت به شاهد ثبت گردید. اسید گالیک به‌عنوان استاندارد برای رسم منحنی استاندارد به کار رفت. محتوای فنل کل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد (۲۰).

اندازه‌گیری فلاونوئید کل: برای سنجش میزان فلاونوئید کل، به ۵ میکرولیتر از هر عصاره، ۱ میلی‌لیتر متانول (۸۰ درصد)، ۶۵ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلراید (۱۰ درصد)، ۶۵ میکرولیتر محلول استات پتاسیم ۱ مولار و ۱/۸۶۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط پس از گذشت ۴۰ دقیقه، در طول موج ۴۱۵ نانومتر نسبت به بلانک اندازه‌گیری گردید. بلانک حاوی تمام ترکیبات یادشده در بالا بود؛ اما به‌جای عصاره، همان حجم متانول (۸۰ درصد) به آن اضافه گردیده است. برای رسم منحنی استاندارد از کوئرستین استفاده شد. میزان فلاونوئید کل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه گزارش گردید (۱۹). در این پژوهش از این روش بهره گرفته شد.

جدول شماره ۱. مشخصات گیاه‌شناسی، محل جمع‌آوری و شکل برگ گیاهان استفاده‌شده

شکل برگ	محل جمع‌آوری	اسم علمی	خانواده	ژنوتیپ
	دهبارز	<i>Ficus religiosa</i> L	Moraceae	انجیر معابد
	کمیز	<i>Terminalia catappa</i>	Combretaceae	لوز (گارم زنگی)
	کمیز	<i>Ficus carica</i>	Moraceae	انجیر
	بیکاه	<i>Cordia myxa</i>	Boraginaceae	سپستان،
	دهبارز	Black mulberry	Moraceae	شاه‌توت
	دهبارز	<i>Grewia asiatica</i>	Malvaceae	فالس
	کمیز	<i>Psidium guajava</i>	Myrtaceae	گواوا
	بیکاه	<i>Mangifera</i>	Anacardiaceae	انبه ۱
	دهبارز	<i>Mangifera</i>	Anacardiaceae	انبه ۲
	خیرآباد	Eucalyptae	Myrtaceae	اکالیپتوس
	خراجی	<i>Syzygium cumini</i>	Myrtaceae	جمبو
	کمیز	<i>Ziziphus</i>	Rhamnaceae	کنار ۱
	بیکاه	<i>Citrullus colocynthis</i>	Cucurbitaceae	هندوانه ابو جهل
	اسلام‌آباد	<i>Ziziphus</i>	Rhamnaceae	کنار ۲
	برنطین	<i>Punica granatum</i>	Lythraceae	انار



شکل شماره ۱. منحنی استاندارد؛ گالیک اسید برای اندازه‌گیری مقادیر فنل (A)؛ کوئرستین برای اندازه‌گیری مقادیر فلاونوئید (B)

استفاده از حداقل تفاوت معنادار (LSD) در سطح ۱ درصد انجام گردید.

یافته‌ها

عصاره استونی: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که خواص آنتی‌اکسیدانی، فنل، فلاونوئید تام و اثر متقابل گیاه و DPPH برای عصاره استونی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بودند (جدول شماره ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که عصاره استونی گیاه اکالیپتوس بیشترین میزان فنل (۷/۴۳۵۰ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ)، گیاه انبه ۱ بیشترین میزان فلاونوئید (۲۳/۲۱۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) و گواوا (با میزان ۸۳/۱۷۱ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) بیشترین میزان خواص آنتی‌اکسیدانی را داشتند (جدول شماره ۳).

عصاره متانولی: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که خواص آنتی‌اکسیدانی، فنل، فلاونوئید تام و اثر متقابل گیاه و DPPH برای عصاره متانولی در سطح احتمال ۱ درصد

ارزیابی میزان توانایی به‌دام‌اندازی رادیکال یا سنجش خواص آنتی‌اکسیدانی: رادیکال پایدار دی‌فنیل پیکریل هیدرازیل برای تعیین فعالیت به‌دام‌اندازی رادیکال آزاد به کار رفت. ابتدا از عصاره ۴۰ میلی‌گرم را وزن و در ۲۵ سی‌سی متانول حل می‌کنیم و سپس از این محلول سه غلظت ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میکرولیتر برمی‌داریم و با DPPH (با غلظت ۰/۱ میلی‌مول) به حجم ۴ سی‌سی می‌رسانیم و پس از آن، در دمای اتاق به مدت ۱ ساعت می‌گذاریم و در نهایت، جذب نوری را با طول‌موج ۵۱۷ نانومتر انجام می‌دهیم. برای کنترل مثبت (شاهد) می‌توان از اسکوربیک اسید استفاده کرد (۲۱).

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

F. مقدار به‌دام‌اندازی رادیکال DPPH؛ Ab. جذب بلانک؛ As. جذب نمونه یا استاندارد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: به‌منظور محاسبات آماری از نرم‌افزار Statistic vol.10 استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با

جدول شماره ۲. تجزیه واریانس خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره استونی گیاهان دارویی

میانگین مربعات		درجه آزادی	منابع تغییرات
Mean of Square	Sum of Square		
۲۳۹۰/۶۰**	۳۳۴۶۸/۳	۱۴	Plant
۲۷۷۰/۳۳**	۵۵۴۰/۷	۲	Concentra
۳۹۷/۷۶**	۱۱۱۳۷/۴	۲۸	Plant*Concentra
۱/۴۴	۱۲۹/۶	۹۰	Error
	۵۰۲۷۶/۰	۱۳۴	Total

ns، **، * به ترتیب معنادار نبودن، معنادار در سطح ۵ و ۱ درصد

جدول شماره ۳. ارزیابی میزان فنل، فلاونوئید و خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره استونی گیاهان دارویی

گیاه	عصاره استونی		
	فنل	فلاونوئید	خواص آنتی‌اکسیدانی
انجیر معابد	۶/۰۸۹۷C	۱۰/۴۱۷H	۶۹/۵۹۳E
لوز (گارم زنگی)	۳/۵۰۳۷G	۱۸/۷۵۰B	۶۴/۱۸۷F
انجیر	۴/۱۳۱۵E	۱۳/۰۳۶FG	۲۶/۷۰۷J
سپستان	۱/۵۱۵۷J	۴/۸۸۱۰JK	۴۲/۵۲۰H
شاه‌توت	۰/۵۵۹۰K	۶/۱۹۰۵J	۵۵/۷۷۲G
فالسا	۳/۵۶۳۵FG	۴/۵۸۳۳K	۷۶/۳۰۱B
گواوا	۳/۹۳۷۲EF	۱۴/۵۸۳CDE	۸۳/۱۷۱A
انه ۱	۳/۳۲۴۴GH	۲۳/۲۱۴A	۷۶/۰۵۷BC
انه ۲	۲/۲۷۸۰I	۱۵/۴۱۷CD	۷۵/۱۶۳C
اکالیپتوس	۷/۴۳۵۰A	۱۵/۵۳۶C	۷۰/۳۶۶E
جمبو	۶/۵۲۳۲B	۷/۶۱۹۰I	۷۰/۲۰۳E
کنار ۱	۲/۹۶۵۶H	۱۴/۱۶۷DEF	۷۳/۵۳۷D
هندوانه ابوجهل	۱/۲۹۱۵J	۶/۱۹۰۵J	۳۷/۵۶۱I
کنار ۲	۴/۶۵۴۷D	۱۱/۹۶۴G	۷۰/۱۲۲E
انار	۲/۲۹۳۰I	۱۳/۹۲۹EF	۷۲/۵۶۱D

معنی ۱۳-دار بودند (جدول شماره ۴). عصاره متانولی گیاه جمبو (با میزان ۷/۸۲۳۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) بیشترین میزان فنل، عصاره متانولی گیاهان انه ۱ و لوز (گارم زنگی) (به ترتیب با میزان ۲۵/۰۶۰ و ۲۴/۴۲۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) بیشترین میزان فلاونوئید و گیاه کنار ۱ (با میزان ۷۷/۵۰۷ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) بیشترین میزان خواص آنتی‌اکسیدانی از عصاره متانولی را داشتند (جدول شماره ۵). بهترین سطح DPPH برای عصاره استونی گیاه گواوا با سطح ۱۰ درصد، مقدار ۸۵/۲۴۴ و ۸۴/۶۳۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ بالاترین میزان را داشت (جدول شماره ۶). بهترین سطح DPPH برای عصاره متانولی با میزان ۶۶/۶۹۵ میکروگرم در لیتر، سطح ۲۰ درصد بود. برای عصاره متانولی لوز (گارم زنگی) با سطح ۱۰ درصد، DPPH به میزان ۸۲/۰۷۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ و انار با سطح ۲۰ درصد، DPPH به میزان ۸۷/۹۷۸ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ، بالاترین میزان را داشتند (جدول شماره ۶).

معنی ۱۳-دار بودند (جدول شماره ۴). عصاره متانولی گیاه جمبو (با میزان ۷/۸۲۳۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) بیشترین میزان فنل، عصاره متانولی گیاهان انه ۱ و لوز (گارم زنگی) (به ترتیب با میزان ۲۵/۰۶۰ و ۲۴/۴۲۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) بیشترین میزان فلاونوئید و گیاه کنار ۱ (با میزان ۷۷/۵۰۷ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) بیشترین میزان خواص آنتی‌اکسیدانی از عصاره متانولی را داشتند (جدول شماره ۵). بهترین سطح DPPH برای عصاره استونی با میزان ۷۱/۳۶۶ میکروگرم در لیتر، سطح ۱۰ درصد بود. مقایسه

جدول شماره ۴. تجزیه واریانس خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی گیاهان دارویی

میانگین مربعات		درجه آزادی	منابع تغییرات
Mean of Square	Sum of Square		
۱۳۱۷/۵۶**	۱۸۴۴۵/۹	۱۴	Plant
۴۷/۳۸**	۹۴/۸	۲	Consentra
۳۳۳/۸۹**	۹۳۴۹/۰	۲۸	Plant*Consentra
۱/۵۳	۱۳۷/۴	۹۰	Error
	۲۸۰۲۷/۱	۱۳۴	Total

ns, *, ** به ترتیب معنادار نبودن، معنادار در سطح ۵ و ۱ درصد

جدول شماره ۵. ارزیابی میزان فنل، فلاونوئید و خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی گیاهان دارویی

گیاه	عصاره متانولی		
	فلاونوئید	فنل	خواص آنتی‌اکسیدانی
انجیر معابد	۵/۷۱۴۳FG	۴/۷۴۴۴D	۶۴/۵۵۳H
لوز (گارم زنگی)	۲۴/۴۶۴A	۵/۶۴۱۳C	۷۲/۲۹۸C
انجیر	۴/۵۲۳۸D	۰/۳۰۰۴I	۳۹/۵۶۶J
سپستان	۸/۵۱۱۹E	۱/۵۴۵۶H	H۶۳/۹۵۷
شاه‌توت	۵/۸۹۲۹F	۰/۳۳۴۸I	۶۷/۷۵۱G
فالسا	۱۶/۰۷۱B	۰/۵۲۹۱I	۷۱/۹۳۲CD
گواوا	۱۲/۵۶۰CD	۳/۹۰۷۳E	۷۰/۳۴۵E
انبه ۱	۲۵/۰۶۰A	۵/۰۲۸۴D	۵۴/۰۰۷I
انبه ۲	۱۵/۰۰۰B	۲/۰۲۳۳G	۷۵/۸۴۲B
اکالیپتوس	۱۱/۳۶۹D	۷/۳۴۵۳B	۶۸/۹۵۱F
جمبو	۷/۷۳۸۱E	۷/۸۲۳۶A	۶۴/۷۳۱H
کنار ۱	۱۳/۵۱۲C	۱/۶۰۵۴H	۷۷/۵۰۷A
هندوانه ابوجهل	۵/۲۳۸۱FG	۱/۳۹۶۱H	۳۸/۴۴۴J
کنار ۲	۸/۰۹۵۲E	۳/۱۳۰۰F	۷۱/۱۱۹DE
انار	۷/۲۶۱۹E	۱/۵۹۰۴H	۷۵/۵۳۲B

جدول شماره ۶. ارزیابی اثر متقابل خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه* عصاره گیاهان دارویی

Plant	عصاره استونی			عصاره متانولی		
	عصاره			عصاره		
	۱۰	۲۰	۳۰	۱۰	۲۰	۳۰
انجیر معابد	۸۰/۳۶۶C	۶۵/۱۲۲MN	۶۳/۲۹۳NO	۶۷/۵۶۱MNO	۶۵/۶۱۰PQRS	۶۰/۴۸۸T
لوز (گارم زنگی)	۸۲/۳۱۷B	۶۷/۳۱۷KL	۴۲/۹۲۷T	۸۲/۰۷۳A	۶۹/۴۳۱JKLM	۶۵/۳۸۹QRS
انجیر	۵۵/۲۴۴Q	۳۹/۳۹۰U	۱۴/۵۱۲Y	۹/۶۴۰a	۶۷/۲۴۷NOPQ	۴۱/۸۱۲X
سپستان	۴۵/۰۰۰S	۶۰/۳۶۶P	۲۲/۱۹۵X	۷۲/۲۴۲GH	۶۴/۶۹۲RS	۵۴/۹۳۶U
شاه‌توت	۴۸/۱۷۱R	۶۲/۳۱۷O	۵۶/۸۲۹Q	۶۹/۵۷۰IJKL	۶۸/۲۹۳KLMNO	۶۵/۳۸۹QRS
فالسا	۷۷/۹۲۷D	۷۷/۹۲۷D	۷۳/۰۴۹FG	۷۰/۹۶۴GHIJ	۶۸/۶۴۱KLMN	۷۶/۱۹۰CDE
گواوا	۸۵/۲۴۴A	۸۴/۶۳۴A	۷۹/۶۳۴CD	۷۰/۲۶۷HIJK	۶۸/۲۹۳KLMNO	۷۲/۴۷۴FG
انبه ۱	۸۳/۶۵۹AB	۶۹/۶۳۴IJ	۷۴/۸۷۸EF	۶۳/۹۹۵S	۵۱/۲۲۰V	۴۶/۸۰۶W
انبه ۲	۷۳/۲۹۳FG	۷۷/۸۰۵D	۷۴/۳۹۰EF	۷۶/۱۹۰CDE	۷۷/۰۰۳BCD	۷۴/۳۳۲EF
اکالیپتوس	۷۳/۶۵۹EFG	۶۸/۲۹۳JKL	۶۹/۱۴۶IJK	۶۹/۵۷۰IJKL	۶۸/۹۹۰JKLMN	۶۸/۲۹۳KLMNO
جمبو	۷۴/۰۲۴EFG	۷۰/۰۰۰IJ	۶۶/۵۸۵LM	۶۷/۹۴۴LMNO	۶۰/۵۱۱T	۶۵/۷۳۸PQRS
کنار ۱	۸۲/۶۸۳B	۶۹/۶۳۴IJ	۶۸/۲۹۳JKL	۷۸/۱۶۵BC	۷۷/۹۳۳BC	۷۶/۴۲۳CD
هندوانه ابوجهل	۵۸/۷۸۰P	۲۹/۷۵۶V	۲۴/۱۴۶W	۱۹/۶۲۸Z	۳۵/۶۵۶Y	۶۰/۰۴۶T
کنار ۲	۷۵/۲۴۴E	۷۰/۸۵۴HI	۶۴/۲۸۶N	۷۵/۲۶۱DE	۷۱/۵۴۵GHI	۶۶/۵۵۱OPQR
انار	۷۴/۸۷۸EF	۷۰/۳۶۶I	۷۲/۴۳۹GH	۷۷/۳۵۲BC	۷۸/۹۷۸B	۷۰/۲۶۷HIJK

بحث و نتیجه‌گیری

سپس جمبو (mg/gFW52/6)، فلاونوئید در انبه ۱ (mg/gFW21/23) و سپس لوز (گارم زنگی) (mg/gFW75/18) و اکالیپتوس (mg/gFW36/15) و

این پژوهش نتایج نشان داد که حلال استونی باعث بیشترین استخراج فنل در اکالیپتوس (mg/gFW43/7) و

و فلاونوئید کل بهترین عملکرد را در میان سایر حلال‌ها داشته است؛ اما استخراج آنتوسیانین با متانل ۵۰ درصد و استخراج تانن با متانل ۱۰۰ درصد بالاترین بازده استخراج را داشتند. در همه موارد، آب کمترین قابلیت استخراج متابولیت‌های ثانویه در میان سایر حلال‌ها را داشت (۲۵) در تحقیق حاضر نیز، عصاره متانولی از بیشترین بازده در استخراج مواد فنی و فلاونوئیدی برخوردار بود.

در پژوهش دیگری، نوع حلال عصاره‌گیری (آبی، هیدروالکلی، استونی و متانلی) بر میزان فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی برخی گیاهان دارویی بومی مناطق مختلف ایران بررسی شد و به این نتیجه رسیدند که متانول مهم‌ترین حلال برای استخراج مواد فنی و بررسی خاصیت اکسیدانی بوده است (۲۴). در تحقیق حاضر نیز، با آنکه عصاره متانولی بیشترین بازده را در استخراج مواد فنی و فلاونوئیدی داشت؛ اما بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی از عصاره استونی به دست آمد؛ پس بسته به هدف از آزمایش، باید نوع عصاره کاربردی را انتخاب کرد.

در پژوهشی، میزان فنل و فلاونوئید تام و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست درختان راش، ممرز و صنوبر بررسی شد و نتایج آزمون به دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد دی‌فنیل پیکریل هیدرازیل نشان داده است که غلظت مهار ۵۰ درصد در عصاره استونی پوست درخت صنوبر با میزان ۸۶/۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر بیشتر از درخت راش و ممرز بوده است (۲۶)، هرچند در تحقیق دیگری، متانول مهم‌ترین حلال برای استخراج مواد فنی و بررسی خاصیت اکسیدانی گزارش شده است (۲۴). در تحقیق حاضر، بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی از عصاره استونی به دست آمده است. از سویی نیز گزارش شده است که اختلاف میانگین‌های ترکیبات فنی و فلاونوئیدی تام عصاره‌ها تحت تأثیر سه عامل جمعیت، روش استخراج و نوع حلال، معنادار است (۱۸) که پیشنهاد می‌شود بسته به هدف از آزمایش، باید نوع گیاه دارویی و همچنین نوع عصاره کاربردی را بررسی و انتخاب کرد.

گزارش شده است که عصاره نعناع علاوه بر اینکه بیشترین ترکیبات فنی و فلاونوئیدی را دارد، بیشترین فعالیت

بیشترین خواص آنتی‌اکسیدانی در گواوا (۸۵/۲۴ درصد) و سپس کنار ۱ (۸۲/۶۸ درصد) و لوز (گارم زنگی) (۸۲/۳۱ درصد) شده است. حلال متانلی سبب استخراج بیشترین میزان فنل در جمبو (۸۲/۷) و سپس اکالیپتوس (۸۲/۳۱) و فلاونوئید در لوز (گارم زنگی) و انبه ۱ به ترتیب mg/gFW46/24 و mg/gFW06/25 و پس از آن، فالسا (۸۲/۱۶) و کنار ۱ (۸۲/۱۳) و بیشترین خواص آنتی‌اکسیدانی در لوز (گارم زنگی) (۸۲/۰۷ درصد) و سپس انار (۷۸/۹۷ درصد) و کنار ۱ (۷۸/۱۶ درصد) گردیده است.

استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های تجاری مشکلات مختلفی را برای حیوانات و استفاده‌کنندگان از فرآورده‌های حیوانی ایجاد می‌کند که شامل مسمومیت‌های احتمالی در اثر مصرف دارو، باقی ماندن دارو در بافت‌ها و پیدایش سویه‌های مقاوم به عوامل ضدباکتریایی است (۲۲). گیاهان از هزاران سال پیش نقش بسیار مهمی در حفظ سلامتی و بهبود کیفیت زندگی انسان‌ها داشته‌اند. گیاهان دارویی خواص مفیدی دارند که از جمله می‌توان به خاصیت ضدباکتریایی، ضدانگلی، ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی اشاره کرد (۲۳). امروزه، فرآورده‌های گیاهی به سبب دسترسی آسان، راحتی کاربرد و آثار جانبی کمتر در مقایسه با فرآورده‌های شیمیایی، برای درمان بیشتر بیماری‌های انسان و حیوانات استفاده می‌شوند (۲۴). با توجه به افزایش سطح تقاضای عمومی برای استفاده از مرغ ارگانیک و عاری از آنتی‌بیوتیک در چرخه غذایی انسان، استفاده از مواد ضد میکروبی با پایه گیاهی می‌تواند در کنترل بیماری‌های طیور نقش باارزشی ایفا کند. بدین منظور، نتایج مطالعه اخیر نشان داد که کنار و لوز (گارم زنگی) مؤثرترین گیاهان از لحاظ حضور مواد و خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده‌اند.

در تحقیقی، تأثیر تیمار حلال‌های متانول، اتانول، استون (۵۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد) و آب مقطر بر روی میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (فنل کل، تانن‌ها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها) میوه عناب (*Ziziphus jujube* Miller) بررسی شد و به این نتیجه رسیدند که استون ۵۰ درصد در استخراج ترکیبات فنل

مهندسی ژنتیک و نشانگرهای مولکولی قادر است کارایی گیاهان را به عنوان منابع تجدیدپذیر، برای تولید دارو افزایش دهد (۳۱-۳۳)؛ در نتیجه، استفاده صحیح از گیاهان دارویی، شناخت و بررسی متابولیت‌های ثانویه و ترکیبات آن‌ها بسیار مهم است.

نتایج این تحقیق نشان داد که متانول مهم‌ترین حلال برای استخراج مواد فنلی و استون برای بررسی خاصیت اکسیدانی است و کنار و لوز (گارم زنگی) مؤثرترین گیاهان از لحاظ حضور مواد و خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند.

تشکر و قدردانی

هزینه انجام این پژوهش توسط معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودان با شماره مجوز ۱۵/۲/۳۲۰۸ تأمین شده است؛ بنابراین، از زحمات این دانشگاه تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که تضاد منافی در این مطالعه وجود ندارد.

کد اخلاق: IR.UOZ.REC.1399.008

References

- Fazelinasab B, Fooladvand Z. A review on Iranian *Carum copticum* L. composition and biological activities. *European Med Plant* 2016; 12: 1-8. doi.10.9734/EJMP/2016/17584
- Mehrabi AA, Fazelinasab B. In vitro culture of *Allium scorodoprasum* spp. *Rotundum callus* induction somatic embryogenesis and direct bulblet formation. *Intl J Agri Crop Sci* 2012; 4: 1-7.
- Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *Int J Food Microbiol* 2004; 94: 223-53. doi.10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022
- Fooladvand Z, Fazelinasab B. Antibacterial activities of *stachys Lavandulifolia* vahl. extract against eight bacteria. *J Herb Drug Int Med* 2014; 5: 13-8.
- Beigomi M, Biabangard A, Rohani R. Evaluation of antimicrobial effects of *Rosemary* and *Withania somnifera* methanol extract prepared by ultrasound waveform on *Escherichia coli* biofilm isolated from urinary tract infection. *Mic Environ* 2021; 1: 17-25. doi.10.54458/mev.v1i01.6670
- Wach A, Pyrzynska 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
- Sharma R, Samant S, Sharma P, Devi S. Evaluation of antioxidant activities of *Withania somnifera* leaves growing in natural habitats of Northwest Himalaya India. *J Med Plant Res* 2012; 6: 657-61. doi.10.5897/JMPR11.257
- Shrivastava A, Roy S. Cucurbitaceae a ethnomedicinally important vegetable family. *J Med Plant Stud* 2013; 1: 16-20.
- Bagchi D, Bagchi M, Stohs SJ, Das DK, Ray SD, Kuszynski CA, et al. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract importance in human health and disease prevention. *Toxicology* 2000; 148: 187-97. doi.10.1016/S0300-483X(00)00210-9
- Mirzaei A, Mohammadi J, Mirzaei N, Mirzaei M. The antioxidant capacities and total phenolic contents of some medicinal plants in Iran. *J Fasa Uni Med Sci* 2011; 1: 160-67.
- Mathew S, Abraham TE. In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. *Food Chem Toxicol* 2006; 44: 198-206. doi.10.1016/j.fct.2005.06.013

آنتی‌اکسیدانی نیز داشته است (۲۷) و همچنین رابطه مستقیم میان فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی عصاره رزماری با محتوای فنلی (۲۸) و ترکیبات پلی‌فنلی عصاره متانولی چند گیاه بومی مازندران با فعالیت آنتی‌اکسیدانی تأیید شده است (۲۹). در کل، بر اساس اینکه رابطه مستقیم و مثبتی میان میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدان وجود دارد (۲۴). در تحقیق حاضر نیز مشاهده شد گیاهانی مانند کنار و لوز (گارم زنگی) که دارای بیشترین میزان ترکیبات فنلی بوده‌اند، بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را نیز داشته‌اند.

بعضی از گیاهان دارویی زیستگاه‌های طبیعی محدودی دارند و بسته به شرایط محیطی و جغرافیایی محل رویش گیاه، جمع‌آوری آن‌ها با مشکلاتی مواجه است (۳۰). غلظت پایین این ترکیبات در گیاه، محدودیت منابع طبیعی، تخریب روزافزون جنگل‌ها، مراتع و فضای سبز، نابودی گونه‌های متنوع گیاهی و جانوری، مشکلات مرتبط با اهلی کردن و کشت زراعی این گیاهان، توجه محققین را به استفاده از راهکارهای بیوتکنولوژی برای افزایش تولید و بهره‌وری گیاهان دارویی معطوف کرده است. بیوتکنولوژی با بهره‌گیری از علوم مختلف مانند بیولوژی، بیوشیمی، ژنتیک و... و با استفاده از راهکارهای کشت سلول‌ها، اندام‌ها،

12. Sottero B, Leonarduzzi G, Testa G, Gargiulo S, Poli G, Biasi F. Lipid Oxidation Derived Aldehydes and Oxysterols between Health and Disease. *European J Lip Sci Technol* 2018; 2:1700047. doi.10.1002/ejlt.201700047
13. Jahantigh M, ahmadi H. Analysis of the antimicrobial activity of Ashurak extracts prepared with different solvents on *Klebsiella pneumoniae* and *Shigella dysentery* isolated from poultry faeces. *Mic Environ* 2021; 1: 54-62. doi. 10.54458/mev.v1i01.6673
14. Shahraki-Mojahed L, Behzadmehr R, Beigomi Z. Antimicrobial effects of ethanol methanol and ethyl acetate *Teucrium polium* and *Citrullus colocynthis* extract on *Pseudomonas aeruginosa*. *Mic Environ* 2021; 1: 26-32. doi.10.54458/mev.v1i01.6671
15. Karabulut F, Parray JA, Mir MY. Emerging trends for Harnessing plant metabolome and microbiome for sustainable food production. *Mic Environ* 2021; 1: 33-53 doi. 10.54458/mev.v1i01.6672
16. Parray JA, Ali U, Mir MY, Shameem N. A high throughputs and consistent method for the sampling and isolation of endophytic bacteria allied to high altitude the medicinal plant *Arnebia benthamii*. *Mic Environ* 2021; 1: 1-6. doi.10.54458/mev.v1i01.6668
17. Shafi S, Bandh SA, Shameem N. Interpreting proteobacteria diversity through 16S rRNA analysis in Manasbal lake Kashmir. *Mic Environ* 2021; 1: 7-16. doi. 10.54458/mev.v1i01.6669
18. 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. (Persian)
19. Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J Food Drug Analy* 2002; 10: 178-82.
20. 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: 571-77. doi.10.1016/j.foodchem.2004.10.006
21. Ebrahimzadeh MA, Hosseinimehr SJ, Hamidinia A, Jafari M. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Feijoa sallowiana* fruits peel and leaves. *Pharmacol Online* 2008; 1: 7-14.
22. Javed M, Durrani F, Hafeez A, Khan R, Ahmad I. Extract of plant mixture on carcass quality of broiler chicks. *Arpn J Agri Biol Sci* 2006; 1: 115-21.
23. Stickel F, Schuppan D. Herbal medicine in the treatment of liver diseases. *Dig Liv Dis* 2007; 39: 293-304.
24. Fazelinasab B, Moshtaghi N, Forouzandeh M. Effect of solvent extraction on phenol flavonoids and antioxidant activity of some Iranian native herbs. *Sci J Ilam Uni Med Sci* 2019; 27: 14-26 doi. 10.29252/sjimu.27.3.14
25. Davarynejad G, Taghizadeh S, Asili J. Effect of different solvents on total phenolic contents and antioxidant activity of *Zizyphus jujube* Miller Fruits. *J Horticul Sci* 2017; 31: 158-66. doi. 10.22067/jhorts4.v0i0.47986
26. 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.
27. radiation-processed lamb meat. *Food Chem* 2007; 100: 451-58. doi. 10.1016/j.foodchem.2005.09.066
28. Elmastas M, Dermirtas I, Isildak O, Aboulenein HY. Antioxidant activity of *S carvone* isolated from spearmint *Mentha spicata* L. *Fam Lamiaceae*. *J Liq Chromatograph Rel Technol* 2006; 29: 1465-75. doi.10.1080/10826070600674893
29. Fathiazad F, Ahmadiashtiani H, Rezazadeh S, Jamshidi M, Mazandarani M, Khaki A. Study on phenolics and antioxidant activity of some selected plant of Mazandaran province. *J Med Plant* 2010; 9: 177-83.
30. medicinal properties of mastic. *Int J Adv Biol Biomed Res* 2014; 2: 2155-61.
31. Hadizadeh H, Mohebodini M, Esmaeilpoor B, Chamani E. studies on callus induction and regeneration of medicinal plant chicory *Cichorium intybus* L. from Leaf and Petiole Explants. *J Horticul Sci* 2015; 29: 621-30. doi.10.22067/jhorts4.v29i4.32672
32. Fazelinasab B, Masour O, Mehdi A. Estimate of callus induction and volume immature and mature embryo culture and respons to in vitro salt resistance in presence of NaCl and ABA in salt tolerant wheat cultivars. *Int Agri Crop Sci* 2012; 4: 8-16.
33. Rasouli H, Fazeli-Nasab B. Structural validation and homology modeling of LEA 2 protein in bread wheat. *Am Eurasian J Agri Environ Sci* 2014; 14: 1044-48. doi. 10.5829/idosi.aejaes.2014.14.10.12424