

## Effect of maceration time and type of solvent on the content of phenolic compounds and antioxidant activity of *Digitalis purpurea L*

Afsoon Rezaie Allolo <sup>1</sup> , Mohsen Sanikhani <sup>1\*</sup> , Azizollah Kheiry <sup>1</sup> , Maliheh Yaghoobi <sup>2</sup> 

<sup>1</sup> Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

<sup>2</sup> Dept of Engineering, Faculty of Chemical Engineering, University of Zanjan, Zanjan, Iran

---

### Article Info

### A B S T R A C T

**Article type:**

Research article

**Introduction:** The extraction of chemical compounds from plants is influenced by various factors, such as methodology and duration of extraction, sample preparation, and the type and concentration of solvent used. This study was performed to investigate the effect of extraction time and type of solvent on the contents of phenolic compounds, flavonoids, and antioxidant activity of *Digitalis purpurea L.* plant.

**Article History:**

Received: Jul. 9, 2023

Revised: Sep. 30, 2023

Accepted: Nov. 8, 2023

Published Online: Jan. 21, 2024

**Material & Methods:** An experiment based on a completely randomized design in a factorial arrangement with three replications was conducted at the Horticulture Laboratory at the University of Zanjan, Zanjan, Iran, in 2021. The experimental treatments included two levels of extraction duration (24 and 48 h) as the main factor, and two levels of methanol, ethanol, and acetone solvents (100% and 80%), compared with the control (distilled water), as sub-factors. Extraction of purple foxglove leaf powder was done by macerating 24 or 48 h using two levels of methanol, ethanol, or acetone as solvents (100%, 80%, and distilled water for the control). Evaluation of phenolic compounds, flavonoids, and antioxidant activity was performed. The resulting data were analyzed in SAS software version 9, and mean comparisons were performed by Duncan's Multi-Range Tests at the 1% and 5% probability levels. To determine the correlation between parameters, Pearson's correlation coefficient was checked using SPSS version 20 software.

**Results:** The results showed that there was a significant difference between 24 and 48 h of maceration to extract chemical compounds ( $P<0.01$ ). The highest amounts of total phenol (24.75 mg GAE/g dw) and antioxidant activity (71.36%) were obtained in 80% acetone extract, and the maximum flavonoid content (6.03 mg Q/g dw) was achieved in 80% ethanol and 48 h maceration time. Generally, increasing the maceration time from 24 h to 48 h caused a significant rise in the extraction of phenolic compounds, flavonoids, and antioxidant activity. Moreover, there was a positive correlation between flavonoid content ( $P=0.86$ ) and phenolic content ( $P=0.82$ ) with antioxidant activity.

**Discussion & Conclusion:** According to the results, increasing the extraction time and also utilizing hydroalcoholic solvents were more effective in extracting these compounds than pure alcohols.

**Keywords:** Antioxidant, Flavonoid, Methanol, Acetone, Phenol, *Digitalis purpurea L*

---

### ➤ How to cite this paper

Rezaie-allolo A, Sanikhani M, Kheiry A, Yaghoobi M. Effect of maceration time and type of solvent on the content of phenolic compounds and antioxidant activity of *Digitalis purpurea L*. Journal of Ilam University of Medical Sciences. 2024;31(6): 11-22.

---



© The Author(s)

Publisher: Ilam University of Medical Sciences

## بررسی اثر مدت زمان عصاره گیری و نوع حلال بر میزان ترکیبات فلی و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه گل انگشتانه ارغوانی (Digitalis purpurea L.)

afsoon razaiiعلولو<sup>۱</sup>, محسن ثانی خانی<sup>\*۱</sup>, عزیزاله خیری<sup>۱</sup>, مليحه یعقوبی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

<sup>۲</sup> مرکز مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

### اطلاعات مقاله

#### چکیده

نوع مقاله: پژوهش

**مقدمه:** استخراج ترکیبات شیمیایی از گیاهان تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند روش و مدت زمان عصاره گیری، نحوه آماده سازی نمونه ها، نوع و غلظت حلال استفاده شده قرار دارد. این تحقیق به منظور بررسی اثر مدت زمان عصاره گیری و نوع حلال بر مقادیر ترکیبات فلی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه گل انگشتانه ارغوانی انجام شد.

**مواد و روش ها:** آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه دانشگاه زنجان در سال ۱۴۰۰ اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل دو سطح مدت زمان عصاره گیری (۲۴ و ۴۸ ساعت) به عنوان عامل اصلی و دو سطح حلال های متابول، اتانول و استون (۱۰۰ و ۸۰ درصد) به همراه شاهد (آب مقطر) به عنوان عامل های فرعی به کاربرده شدند. ارزیابی میزان ترکیبات فل کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی انجام گردید. تجزیه داده های حاصل با استفاده از نرم افزار SAS vol.9 و مقایسه میانگین داده ها از طریق آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال یک و پنج درصد تجزیه و تحلیل شدند. برای تعیین همبستگی میان مؤلفه ها، ضریب همبستگی پرسون با استفاده از نرم افزار SPSS vol.20 بررسی گردید.

**یافته های پژوهش:** نتایج نشان داد که میان دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت عصاره گیری برای استخراج ترکیبات شیمیایی تفاوت معنی داری وجود داشت ( $P<0.01$ ). بیشترین میزان فل کل (۲۴/۷۵ میلی گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک) و فعالیت آنتی اکسیدانی (۷۱/۳۶ درصد) با عصاره استونی ۸۰ درصد و بیشترین مقدار فلاونوئید کل (۶۰/۰۳ میلی گرم کوثرستین بر گرم وزن خشک) با عصاره حاصل از حلال اتانول ۸۰ درصد با ۴۸ ساعت زمان عصاره گیری بدست آمد. در کل، افزایش مدت زمان عصاره گیری از ۲۴ به ۴۸ ساعت روند افزایشی معنی داری را در استخراج ترکیبات فل کل، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی اکسیدانی موجب شد؛ همچنین همبستگی مثبتی میان محتواهای فلاونوئیدی ( $P=0.86$ ) و فلی ( $P=0.82$ ) با فعالیت آنتی اکسیدانی وجود داشت.

**بحث و نتیجه گیری:** با توجه به نتایج، افزایش مدت زمان عصاره گیری و نیز استفاده از حلال های هیدروالکلی نسبت به الكل های خالص در استخراج این ترکیبات مؤثر تر عمل می کنند و می تواند برای رسیدن به یک بازدهی خوب از لحاظ استخراج ترکیبات فلی به کار گرفته شوند.

**واژه های کلیدی:** آنتی اکسیدان، فلاونوئید، متابول، استون، فل کل، گل انگشتانه

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۱۸

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۷/۰۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۱۷

تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۱۱/۰۱

نویسنده مسئول:

محسن ثانی خانی

گروه باغبانی، دانشکده

کشاورزی، دانشگاه زنجان،

زنجان، ایران

Email:

sani@znu.ac.ir

**استناد:** رضایی علولو افسون، ثانی خانی محسن، خیری عزیزاله، یعقوبی ملیحه. بررسی اثر مدت زمان عصاره گیری و نوع حلال بر میزان ترکیبات فلی و

فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه گل انگشتانه ارغوانی (Digitalis purpurea L.). مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام، بهمن (۳۱): ۱۴۰۲ (۶): ۱۱-۲۲.



### محققان گزارش شده است (۵).

در مطالعه‌ای که بر گونه‌های مختلفی از جنس Digitalis صورت گرفت، نتایج نشان داد که میزان ترکیبات فنلی D. lamarckii و subsp. ferruginea D. ferruginea میزان فل کل (به ترتیب ۳۶/۶ و ۳۵/۷ میلی گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک) مشابه داشتند؛ اما از لحاظ میزان فلاونوئید، گونه D. lamarckii میزان فلاونوئید بالاتری ۴۴/۹۹ میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) نسبت به گونه D. ferruginea subsp ferruginea (۲۰/۷۸ میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) نشان داد (۶).

ترکیبات فنلی نوع بالا و توزیع گسترده‌ای در گیاهان دارند. خاصیت آنتی‌اکسیدانی فنل‌ها ناشی از توانایی احیاکنندگی و ساختار شیمیایی آن‌ها است که قدرت خنثی کردن رادیکال‌های آزاد و نیز مبارزه با گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) از طریق ایجاد کمپلکس با یون‌های فلزی را به این ترکیبات می‌دهد؛ همچنین مهار واکنش‌های اکسایش چربی با اهدا کردن الکترون به رادیکال‌های آزاد توسط این ترکیبات صورت می‌گیرد (۷). ROS‌ها در صورت کنترل نشدن به سبب واکنش پذیری بالا و فعالیت‌های مخربی که نسبت به پروتئین‌ها، DNA و لیپیدها دارند، از طریق پراکسیداسیون لیپیدها و پروتئین‌ها موجب آسیب بافت‌ها، جهش‌های ژنی و درنهایت، ایجاد انواع بیماری‌ها مانند آذایمر، دیابت نوع یک، فشارخون بالا و سرطان می‌گردد (۸، ۹). گزارشی مبنی بر گسترده‌گی و فعالیت بیولوژیکی متنوعی از جمله خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضدالتهابی فلاونوئیدها و سایر ترکیبات فنلی در گیاهان توسط پژوهشگران ارائه شده است (۱۰) و از سویی، این ترکیبات نقش احیاکننده، شلاته‌کننده فلزات و دهنده هیدروژن دارند؛ بنابراین، دارای آثار آنتی‌اکسیدانی به علت تأثیر احیاکنندگی هستند (۱۱).

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که فرایند اکسیداسیون را مهار و عمر ماده اکسیدشونده را طولانی تر می‌کنند؛ همچنین این ترکیبات در غلظت‌های پایین قادر به مهار فرایند اکسیداسیون ناشی از ROS‌ها هستند (۸). آنتی‌اکسیدان‌ها دارای فعالیت‌هایی مانند افزایش قدرت

گل انگشتانه ارغوانی با نام علمی Digitalis purpurea L. از خانواده میمون (Scrophulariaceae)، گیاهی است بوته‌ای، استوار، دوساله و به ندرت ممکن است سه تا چهار سال عمر کند. منشأ این گیاه اروپا گزارش شده است و در جنگل‌ها، بیشه‌زارها و نواحی مرطوب می‌روید (۱). در سال اول رویش، برگ‌های طوفه‌ای تخم مرغی شکل تشکیل می‌شود و در سال دوم رویش، گیاهان پس از گذراندن سرمازی زمستان به ساقه می‌روند و گل تولید می‌کنند (۱). برگ‌ها حاوی ماده مؤثره از نوع گلیکوزیدهای قلبی (۰/۳ تا ۰/۴ درصد) است. مهم‌ترین آن‌ها عبارت‌اند از: گلیکوزید آ و ب (Digitoxin)، دیجیتوکسین (A& B Glycosides) جیتوکسین (Gitaloxin) و جیتالوکسین (Gitaloxin). برگ‌ها همچنین حاوی مقداری متفاوتی ساپونین به نام‌های دیجیتونین (Digonin)، جیتونین (Digitonin) و تیجونین (Tigtonin) هستند (۱).

علاوه بر نقش بسیار مهم گلیکوزیدهای قلبی حاصل از گیاهان جنس Digitalis در طب مدرن، برخی از گونه‌های Digitalis در طب سنتی ترکیه به عنوان مدر، محرک و مقوی استفاده می‌شوند و از لحاظ درمانی بسیار حائز اهمیت هستند (۲).

با توجه به اینکه برخی از گیاهان مهم‌ترین منابع آنتی‌اکسیدانی‌اند، تحقیق در این زمینه بسیار مورد توجه و روزبه‌روز در حال افزایش است. گیاهانی که حاوی آنتی‌اکسیدان‌های بالا هستند، توانایی حفاظت از سلول‌ها در برابر آسیب‌های حاصل از تنفس اکسیداتیو را دارند (۳). استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در صنایع دارویی، پزشکی و کشاورزی رواج فراوانی پیدا کرده است که آثار سمی این ترکیبات انکارنشدنی است؛ بنابراین، دست یافتن به آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با مشاً گیاهی و کاربرد آن‌ها در زمینه‌های ذکر شده به علت داشتن آثار بیولوژیک گسترده و عوارض جانبی کمتر در مقدارهای کنترل شده، بسیار مطلوب است (۴). وجود یک رابطه معکوس میان سطح مواد آنتی‌اکسیدانی موجود در بدن و بیماری‌های انسانی توسط

آنی اکسیدان‌های پلاسمما و کاهش ابتلا به بیماری‌های مانند بیماری‌های قلبی و سرطان می‌شوند. متابولیت‌های ثانویه حاصل از قسمت‌های مختلف (ریشه، برگ، میوه و پوست) گیاهان مانند فنل و فلاونوئیدها، قدرت پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد را دارند (۱۲).

استخراج ترکیبات شیمیایی گیاهان با استفاده از تکنیک خیساندن، روشی است که با کاربرد حلال‌هایی با قطیعت‌های متفاوت انجام می‌گیرد و موجب استخراج طیف گسترده‌ای از مواد شیمیایی می‌گردد (۱۳) که در این روش، حلال به-کار گرفته شده تأثیر معنی‌داری بر میزان ترکیبات استخراج شده دارد (۱۴). برای استخراج پلی‌فلل‌ها از گیاهان از آب و حلال‌های آلی مانند میانول، اتانول، استون و دی‌اتیل اتر استفاده می‌شود که تفاوت فراوانی میان مقادیر این ترکیبات در عصاره‌های مختلف مشاهده می‌گردد که این امر به علت تفاوت در نحوه آماده‌سازی نمونه‌ها، نوع و غلظت حلال و مدت زمان عصاره گیری است (۱۵).

خاصیت آنی اکسیدانی ترکیبات فنلی در عصاره و عطر مایه گیاهان دارویی مختلف از اهمیت بالایی برخوردار است؛ اما از آنجاکه عصاره‌های حاصل از گروه‌های مختلف حلال (آب، میانول، اتانول، استون، هگزان و...) میزان ترکیبات فنلی و نیز خاصیت آنی اکسیدانی متفاوتی دارند و این تفاوت به علت قطیعت، ویسکوزیته و فشار بخارهای ویژه هر حلال است (۱۶)، هیچ روش آزمایشی به تنها یکی برای بررسی اثر آنی اکسیدانی گیاهان کافی نیست و ترکیب چند روش متفاوت انتخاب مناسبی برای ارزیابی فعالیت آنی اکسیدانی عصاره‌های مختلف خواهد بود (۱۷). به طور کلی، برای استخراج پلی‌فلل‌ها از گیاهان از آب و حلال‌های آلی مانند اتانول، میانول، استون و دی‌اتیل اتر استفاده می‌شود که در این میان، تفاوت‌های آشکاری میان مقادیر ترکیبات فنلی در عصاره‌های مختلف مشاهده می‌گردد که ناشی از نحوه آماده‌سازی نمونه‌ها، روش و مدت زمان عصاره گیری و خواص فیزیکی و شیمیایی حلال‌های به کاررفته است (۱۵). در تحقیقی که بر روی گیاه Etlingera elatior Jack انجام گرفت، آثار حلال‌های آلی

مانول، استون (۵۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد) و آب بر میزان ترکیبات فنلی و خاصیت آنی اکسیدانی ارزیابی شد که اختلاف معنی‌داری میان نتایج به سبب نوع حلال به کاررفته در ترکیبات آنی اکسیدانی موجود در گیاه گارش گردید (۱۸). در مطالعه‌ای روی پوست بهن (Pistacia atlantica subsp. Mutica)، آثار گروه‌های مختلف حلال (آب، میانول، اتانول، استون، اتیل‌استات و هگزان) بر خاصیت آنی اکسیدانی و مقدار فنل کل بررسی شد و تفاوت معنی‌داری در بازده استخراج این ترکیبات مشاهده گردید که این اختلاف به قطیعت، ویسکوزیته و فشار بخارهای ویژه هر یک از حلال‌ها نسبت داده شد (۱۶)؛ بنابراین، معرفی یک نوع و غلظت مشخصی حلال و نیز مدت زمان عصاره گیری برای دست‌یابی به بیشترین میزان ترکیبات فنلی با بیشترین میزان فعالیت آنی اکسیدانی، کار ساده‌ای نخواهد بود؛ به همین سبب، این تحقیق برای تعیین بهترین مدت زمان عصاره گیری، نوع و غلظت حلال‌های مناسب استخراج و دست‌یابی به بالاترین مقدار این ترکیبات زیست‌فعال از گیاه دارویی گل انگشتانه ارجاعی انجام گرفت.

## مواد و روش‌ها

این تحقیق در تابستان سال ۱۴۰۰، به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان صورت گرفت. برای انجام آزمایش، ابتدا نمونه‌های گیاهی از برگ‌های گیاهان کشت شده در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه زنجان تهیه شد و سپس نمونه‌ها در شرایط سایه کاملاً خشک گردید و آسیاب شد و برای عصاره گیری به روش خیساندن آماده گردید. در روش خیساندن، از حلال‌های میانول ۱۰۰ و ۸۰ درصد (۸۰ میلی‌لیتر میانول + ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطّر)، اتانول ۱۰۰ و ۸۰ درصد (۸۰ میلی‌لیتر اتانول + ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطّر) و استون ۱۰۰ و ۸۰ درصد (۸۰ میلی‌لیتر استون + ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطّر) همراه شاهد (آب مقطّر) استفاده شد. برای این منظور، ۵ گرم از پودر برگ با ۵۰ میلی‌لیتر از حلال‌ها به صورت جداگانه با نسبت ۱۰:۱ (وزنی/حجمی) مخلوط گردید و به طور جداگانه یک گروه از فالکون‌ها به مدت ۲۴

اسپکتروفوتومتر؛ X: میزان فل کل تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی: فعالیت آنتی اکسیدانی با استفاده از روش مهار رادیکال آزاد ۱-۲, ۲-diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) بر اساس واکنش رادیکال های آزاد پایدار DPPH با ترکیبات دهنده هیدروژن مانند فل ها استوار است. ابتدا محلول ۰/۱ میلی مولار از DPPH تهیه شد؛ سپس ۱/۵ میلی لیتر عصاره به همراه ۱/۵ میلی لیتر از DPPH به لوله آزمایش ریخته شد. جذب آن پس از ۳۰ دقیقه قرار گرفتن در اتاق تاریک، در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. درصد مهار رادیکال DPPH با استفاده از معادله زیر محاسبه شد (۲۲).

$$(Ac-As)/Ac^*100 = \text{معادله شماره } (۳)$$

Ac: میزان جذب برای نمونه شاهد مثبت؛ As: میزان جذب نمونه گیاهی تجزیه و تحلیل آماری: داده های حاصل با استفاده از نرم افزار SAS vol.9 و آمار توصیفی (مقایسه میانگین) داده ها از طریق آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال پنج درصد تجزیه و تحلیل شدند. برای بررسی همبستگی میان مؤلفه ها از ضریب همبستگی پیرسون با کمک نرم افزار SPSS vol.20 استفاده شد.

### یافته های پژوهش

یافته های حاصل از تجزیه واریانس داده ها نشان داد که مدت زمان عصاره گیری، نوع حلال و برهم کش آنها بر میزان فل کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی (DPPH) گیاه دارویی گل انگشتانه ارغوانی معنی دار بود ( $P<0.01$ ) (جدول شماره ۱).

ساعت و گروهی دیگر به مدت ۴۸ ساعت در دمای معمولی آزمایشگاه روی شیکر (با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه) قرار گرفت؛ سپس همه عصاره ها با استفاده از کاغذ واتمن شماره یک صاف و با دور (RCF=2910 rpm) به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند و مایع رویی برای سنجش های بعدی استفاده گردید (۱۹).

سنجش فل کل: میزان فل کل بر اساس روش فولین سیو کالتو با استفاده از گالیک اسید به عنوان استاندارد به روش میدا و همکاران (۲۰۰۵) اندازه گیری شد. به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره صاف شده ۲ میلی لیتر کربنات سدیم ۲ درصد، ۵۰ میلی لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیو کالتو در دمای اتاق نگهداری شدند. میزان جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت گردید. با قرار دادن مقدار جذب نمونه ها در معادله مربوط به منحنی استاندارد (معادله شماره ۱)، مقدار فل کل موجود در عصاره ها محاسبه شد. در نهایت، داده ها بر اساس معادل میلی گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک گیاه محاسبه گردید (۲۰).

$$\text{معادله شماره } (۱) \quad Y = 0.0161x + 0.3289$$

Y: عدد جذب نمایش داده شده در دستگاه

اسپکتروفوتومتر؛ X: میزان فل کل سنجش فلاونوئید کل: به ۰/۵ میلی لیتر عصاره صاف شده ۱/۵ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد و مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری گردید. میزان جذب نور در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد. با قرار دادن مقدار جذب نمونه ها در معادله مربوط به منحنی استاندارد (معادله شماره ۲)، مقدار فلاونوئید کل موجود در عصاره ها محاسبه گردید و محتوای فلاونوئید بر حسب معادل اکی والان های کوئرستین بر گرم وزن خشک محاسبه شد (۲۱).

$$\text{معادله شماره } (۲) \quad Y = 0.0392x + 0.013$$

Y: عدد جذب نمایش داده شده در دستگاه

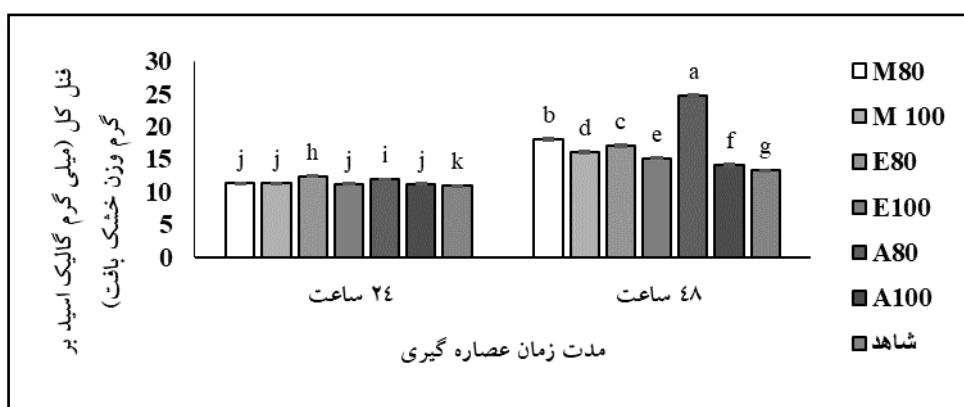
**جدول شماره ۱.** تجزیه واریانس اثر ساده و متقابل مدت زمان عصاره گیری و حلال‌های متابول (M)، اتانول (E) و استون (A) بر میزان فل کل، فلانوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه گل انگشتانه ارغوانی.

میانگین مریعات				منابع تغییرات
فعالیت آنتی‌اکسیدانی	فلانوئید کل	فل کل	درجه آزادی	
۳۳۸۹/۵۹**	۳۳/۳۸**	۳۰۹/۶۲**	۱	زمان (ساعت)
۱۲۶/۸۸**	۳/۱۷**	۲۵/۶۱**	۶	حال
۲/۲۳**	۰/۳۵**	۱۸/۶۹**	۶	زمان * حال
۰/۱۰	۰/۰۴	۰/۰۱	۲۸	خطا
۰/۵۸	۵/۸۶	۰/۹۴		ضریب تغییرات (در صد)

\*\* به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال یک و پنج درصد، تجزیه و تحلیل داده‌ها با آزمون چند دامنه Duncan. \* زمان (ساعت): مدت زمان عصاره گیری نمونه‌ها، حالات شامل متابول (M)، اتانول (E) و استون (A)، زمان \* حال: اثر متقابل مدت زمان عصاره گیری و حالات.

که نشان داد، با افزایش مدت زمان عصاره گیری و نیز استفاده از هیدروالکل‌ها، میزان ترکیبات فلی در عصاره‌ها افزایش یافت و به طور کلی، استون ۸۰ درصد بهترین عملکرد را نسبت به سایر هیدروالکل‌ها و آب کمترین تأثیر را در آزادسازی فل کل نشان داد (شکل شماره ۱).

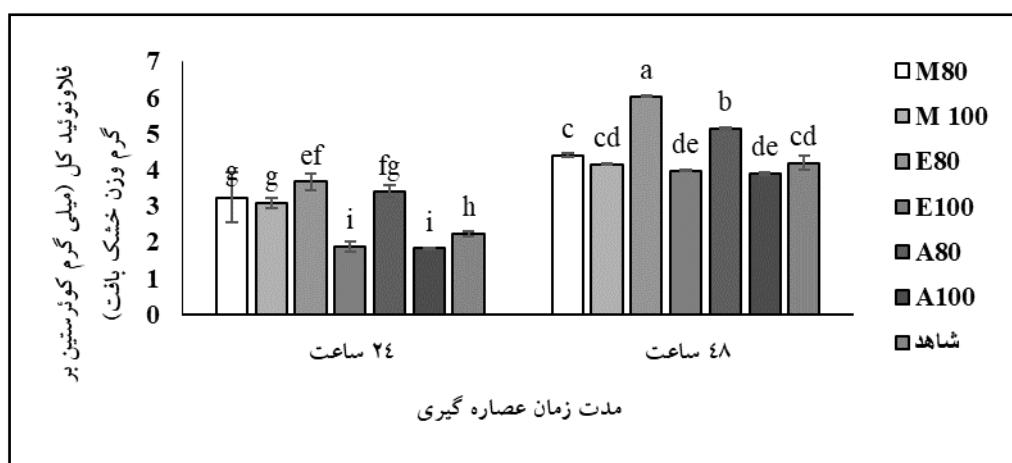
فل کل: بیشترین محتوای فل کل (۲۴/۷۵ میلی گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک) و کمترین مقدار آن (۱۰/۹۵ میلی گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک) به ترتیب مربوط به عصاره استونی ۸۰ درصد با مدت زمان ۴۸ ساعت عصاره گیری و عصاره آبی با مدت زمان ۲۴ ساعت عصاره گیری بود.



**شکل شماره ۱.** اثر متقابل مدت زمان عصاره گیری و متابول (M)، اتانول (E) و استون (A) بر میزان فل کل. علامت بارهای روی ستون‌ها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده نبود اختلاف معنی‌دار میان تیمارها است.

کوئرستین بر گرم وزن خشک) در عصاره اتانولی ۸۰ درصد با ۴۸ ساعت عصاره گیری و کمترین میزان آن (۱/۸۲ میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) در عصاره استونی ۱۰۰ درصد با مدت زمان ۲۴ ساعت عصاره گیری مشاهده شد (شکل شماره ۲).

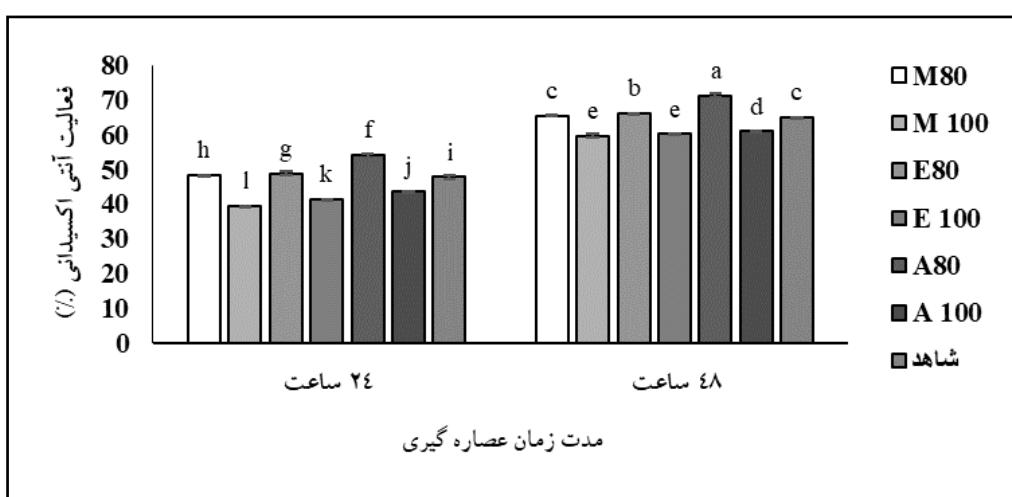
فلانوئید کل: بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، با افزایش مدت زمان عصاره گیری از ۲۴ به ۴۸ ساعت و کاهش درصد الکل‌ها از ۱۰۰ به ۸۰ درصد، میزان فلانوئید کل در همه عصاره‌ها افزایش پیدا کرد، به طوری که بیشترین قابلیت استخراج ترکیبات فلانوئیدی با (۶۰/۳ میلی گرم



شکل شماره ۲. اثر متقابل مدت زمان عصاره گیری و متابول (M)، اتانول (E) و استون (A) بر میزان فلاونوئید کل. علامت بارهای روی ستون‌ها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده نبود اختلاف معنی‌دار میان تیمارها است.

بیشترین مقدار آن ( $71/36$  درصد) در عصاره استونی ۸۰ درصد با  $48$  ساعت عصاره گیری به دست آمد که نسبت به کمترین مقدار آن ( $39/36$  درصد) از عصاره متابولی ۱۰۰ درصد با مدت زمان  $24$  ساعت عصاره گیری، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال  $1$  درصد نشان داد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی: مطابق با نتایج نشان داده شده در شکل شماره ۳ و بر اساس آزمون DPPH، افزایش غلظت الكل‌ها از  $80$  به  $100$  درصد موجب کاهش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره‌های هیدرووالکلی نسبت به عصاره آبی شد. به طور کلی، با افزایش مدت زمان عصاره گیری از  $24$  به  $48$  ساعت، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش پیدا کرد و



شکل شماره ۳. اثر متقابل مدت زمان عصاره گیری و متابول (M)، اتانول (E) و استون (A) بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی. علامت بارهای روی ستون‌ها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده نبود اختلاف معنی‌دار میان تیمارها است.

آنتی‌اکسیدانی با فلاونوئید کل ( $P=0.86$ ) نشان‌دهنده وجود همبستگی مثبت میان این دو شاخصه بود (جدول شماره ۲).

بررسی ضریب همبستگی پرسون میان میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی با فل کل ( $P=0.82$ ) و نیز میان فعالیت

**جدول شماره ۲.** بررسی ضریب همبستگی پیرسون میان متغیرهای فل کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه دارویی گل انگشتانه ارغوانی.

DPPH	فلاؤنوئید کل	فل کل	متغیر
		۱	فل کل
	۱۰/۷۴**		فلاؤنوئید کل
۱	۰/۸۶**	۰/۸۲**	DPPH

\*\*، \*\* به ترتیب معنی داری در سطح احتمال یک و پنج درصد، بررسی ضریب همبستگی با Pearson Correlation

فیتوشیمیابی مختص هر گیاه و مدت زمان استخراج است. طبق گزارش های محمدی و همکاران، بیشترین میزان ترکیبات فلی استخراج شده از پوست خرمalo مربوط به عصاره اتانولی بود (۲۶). در مطالعه‌ای که روی گیاه گل زنجبیلی قرمز (Etlingera elatior Jack) انجام شد، نتایج نشان داد که بیشترین میزان ترکیبات فلی از عصاره استونی ۵۰ درصد به دست آمد (۱۸)؛ همچنین نتایج تحقیقی نشان داد که میزان ترکیبات فلی عصاره استونی، اتانولی و متابولی به ترتیب حاوی بالاترین میزان ترکیبات فلی هستند (۲۷). تفاوت موجود در میزان ترکیبات فلی کل در عصاره‌های مختلف را می‌توان به نحوه آماده‌سازی نمونه‌ها، روش‌های استخراج و مدت زمان استخراج مربوط دانست؛ اما مهم‌ترین علت این امر قطیعی و ویسکوزیته پایین حلال در آزادسازی ترکیبات فلی است (۱۵).

فلاؤنوئیدها ترکیبات دی‌فنیل پروپانوئیدی هستند که تقریباً در همه گیاهان یافت می‌شوند و نقش‌های فراوانی در گیاهان عالی از جمله دفاع در برابر نور ماوراءبینش، پاتوژن‌ها و علفخواران دارند. نقش ویژه آن‌ها در گیاهان، ایجاد رنگ و ثبیت نیتروژن در گیاهانی است که زندگی همزیستی دارند. آثار سلامت فلاؤنوئیدها بیشتر در نتیجه خصوصیات آنتی اکسیدانی و توانایی کلات‌کنندگی (توانایی احیاکنندگی آهن) آن‌ها است. نقش فلاؤنوئیدها به عنوان عوامل ضدقارچی، ضدبacterیایی، ضدviroسوی، آنتی اکسیدانت، بازدارنده آنزیمی و عوامل موتاژنی سمی به اثبات رسیده است (۲۸).

در مطالعه حاضر، افزایش مدت زمان عصاره‌گیری موجب افزایش و بر عکس، افزایش غلظت حلالها موجب

## بحث و نتیجه‌گیری

ترکیبات فلی از تنوع بالا و توزیع وسیعی در گیاهان برخوردار هستند. این ترکیبات خاصیت آنتی اکسیدانی ناشی از قدرت احیاکنندگی و ساختار شیمیابی دارند که به این ترکیبات قدرت خشی کردن رادیکال‌های آزاد و نیز مبارزه با ROSها از طریق ایجاد کمپلکس با یون‌های فلزی را می‌دهد؛ همچنین این ترکیبات با اهداف کردن الکترون به رادیکال‌های آزاد، واکنش‌های اکسایش چربی را مهار می‌کنند (۷).

در پژوهش حاضر، کاربرد هیدروالکل‌ها و آب مقطر نسبت به الکل‌های خالص، میزان استخراج بالایی از ترکیبات فلی را در هر دو مدت زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت عصاره‌گیری نشان دادند و بالاترین میزان فل کل (۲۴/۷۵ میلی‌گرم گالیک-اسید بر گرم وزن خشک) مربوط به عصاره استونی ۸۰ درصد با ۴۸ ساعت عصاره‌گیری بود. بسیاری از محققان گزارش کردند که هیدروالکل‌ها نسبت به الکل‌های خالص، برای استخراج ترکیبات فلی بسیار مؤثرتر عمل می‌کنند (۲۳) که علت این امر را به نفوذ بیشتر آب و افزایش پدیده اسمز نسبت داده‌اند که موجب افزایش قابلیت حل شدن فل و درنتیجه، افزایش استخراج آن می‌شود (۲۴). در تحقیقی، تأثیر تیمار حلال‌های متابول، اتانول و استون (۵۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد) و آب مقطر بر میزان ترکیبات فلی میوه عناب (Ziziphus jujuba Miller) بررسی شد و نتایج نشان داد که استون ۵۰ درصد در استخراج ترکیبات فلی و فلاونوئیدی بهترین عملکرد را در میان سایر حلال‌ها داشته و در همه موارد، آب از حداقل قابلیت استخراج برخوردار بوده است (۲۵).

از مهم‌ترین عواملی که در انتخاب نوع حلال و غلظت آن می‌تواند نقش داشته باشد، نوع ترکیبات

(۳۳). در عصاره‌گیری به روش خیساندن، افزایش زمان استخراج به سبب اینکه فرصت کافی برای انتشار مقدار مناسبی از حلال به داخل سلول‌ها و به دنبال آن، خروج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند فلکل‌ها و فلاونوئیدها از محل استقرارشان را فراهم می‌کند، بازدهی روش استخراج را افزایش می‌دهد (۳۴). استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از مواد گیاهی به حلالیت این ترکیبات در حلال‌های مختلف بستگی دارد. علاوه بر این، قطیبیت حلال‌های استفاده شده نقش مهمی را در افزایش حلالیت این ترکیبات ایفا می‌کند (۳۵). گیاهانی که ترکیبات فلکلی بالایی دارند، از فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی نیز برخوردار هستند؛ بنابراین، توجه به روند استخراج ترکیبات فلکلی که از عوامل مهم در تعیین خصوصیات آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی به شمار می‌رود، ضروری است (۳۱، ۱۰).

نتایج مشابهی با نتایج پژوهش حاضر در تحقیقات مختلف گزارش شده است؛ از جمله در تحقیقی که روی گیاه سنا انجام شده بود، بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی از عصاره استونی به دست آمد (۳۲) که در بررسی حاضر نیز استون ۸۰ درصد نسبت به سایر حلال‌ها، افزایش معنی‌داری را در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها موجب شد؛ همچنین در تحقیق انجام گرفته بر دانه‌های جو با حلال‌های اتانولی، مثانولی و استونی، عصاره استونی بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نسبت به عصاره‌های اتانولی و مثانولی نشان داد (۳۷) که با نتایج تحقیق حاضر همسو بود. در تحقیقی که بر خواص آنتی‌اکسیدانی گونه‌های مختلف لامیاسه صورت گرفت، نتایج نشان داد که میزان ترکیبات فلکلی و درنتیجه، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اتانولی نسبت به عصاره مثانولی بیشتر بود (۳۶). در مطالعه‌ای که برپوست فندق با استفاده از حلال‌های مختلف انجام گرفت، نتایج نشان داد، با اینکه عصاره مثانولی از لحاظ استخراج ترکیبات فلکلی بازدهی بالاتری داشت؛ اما عصاره اتانولی از لحاظ قدرت به داماندازی رادیکال‌های آزاد فعالیت بیشتری نشان داد (۳۷) که در تحقیق حاضر نیز، عصاره‌های اتانولی نسبت به عصاره‌های مثانولی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی داشتند.

در مطالعه حاضر، بررسی ضریب همبستگی پیرسون

کاهش میزان استخراج ترکیبات فلاونوئیدی شد. بالاترین مقدار فلاونوئید کل از عصاره اتانولی ۸۰ درصد با مدت زمان ۴۸ ساعت عصاره‌گیری به دست آمد که نسبت به کمترین مقدار آن که از عصاره استونی ۱۰۰ درصد با ۲۴ ساعت عصاره‌گیری حاصل شد، تفاوت معنی‌داری را نشان داد که محققان مختلف علت این تفاوت مشاهده شده در میان عصاره‌های مختلف را به تفاوت در قطیبیت حلال‌ها و حلالیت این ترکیبات در حلال‌های مختلف نسبت داده‌اند و بیان شده است که قطیبیت حلال‌ها در افزایش حلالیت این ترکیبات نقش مهمی دارند (۲۹). در پژوهشی، در عصاره‌گیری با حلال‌های مختلف در گیاه چای، استون ۵۰ درصد نسبت به اتانول و مثانول، به عنوان مؤثرترین حلال در استخراج ترکیبات شیمیایی این گیاه گزارش گردید که علت تفاوت مشاهده شده در میان عصاره‌های مختلف به تکنیک عصاره‌گیری و مدت زمان عصاره‌گیری نسبت داده شد (۱۸). افزایش دو برابری میزان فلاونوئید کل در گیاه گزنه با افزایش مدت زمان خیساندن با حلال کلروفرم نسبت به روش ماکروویو و فرآصوت از سوی قره‌خانی و همکاران (۱۳۸۹) گزارش گردیده است (۳۰) که در پژوهش حاضر نیز، افزایش مدت زمان عصاره‌گیری (مدت زمان خیساندن) از ۲۴ به ۴۸ ساعت، موجب افزایش معنی‌داری در میزان استخراج ترکیبات فلاونوئیدی شد.

در مطالعه حاضر، افزایش غلظت الکل‌ها از ۸۰ به ۱۰۰ درصد موجب کاهش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره‌های هیدرووالکلی نسبت به عصاره‌آبی گردید؛ اما به طور کلی، با افزایش مدت زمان عصاره‌گیری از ۲۴ به ۴۸ ساعت، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها افزایش پیدا کرد و بیشترین مقدار آن (۷۱/۳۶ درصد) در عصاره استونی ۸۰ درصد با ۴۸ ساعت عصاره‌گیری به دست آمد. روند افزایشی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با افزایش مدت زمان عصاره‌گیری را می‌توان با این علت توجیه کرد که در روش خیساندن، استخراج ماده مؤثره از بافت‌های گیاهی بر اساس پدیده نفوذ حلال به داخل بافت‌های گیاهی و انتشار حلال به همراه مواد حل شده در آن به داخل حلال صورت می‌گیرد

در این پژوهش مطالعه‌ای روی انسان و حیوان انجام نشده و بدون کد اخلاق است.

میان متغیرهای فتل کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد که محتوای فتلی و فلاونوئیدی عصاره‌های حاصل از حلال‌های مختلف با میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها همبستگی مثبت دارد که این امر به علت خاصیت کاهشی ترکیبات فنلی است که به عنوان عامل کاهنده و دهنده هیدروژن و جداکننده اکسیژن ایفای نقش می‌کند (۳۸). تاکنون مطالعه‌ای درباره تأثیر حلال‌های مختلف و مدت‌زمان عصاره‌گیری بر استخراج ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی گل انگشتانه ارغوانی انجام نگرفته است. با توجه به روند افزایشی معنی‌داری که در استخراج ترکیبات مدنظر با افزایش مدت‌زمان خیساندن از ۴۸ ساعت به ۲۴ ساعت مشاهده شد، به‌نظر می‌رسد برای رسیدن به میزان ترکیبات مؤثره با خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا از گیاه گل انگشتانه ارغوانی، به زمان حداقل ۴۸ ساعت نیاز باشد. درمجموع، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که افزایش مدت‌زمان عصاره‌گیری و نیز استفاده از حلال‌های هیدروالکلی نسبت به الکل‌های خالص، در استخراج این ترکیبات مؤثرتر عمل می‌کنند و می‌تواند برای رسیدن به یک بازدهی خوب از لحاظ استخراج ترکیبات فنلی به کار گرفته شوند. یکی از محدودیت‌های مهم پیش‌آمد در این مطالعه کاهش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با افزایش غلظت حلال‌ها بود که پیشنهاد می‌شود، برای تعیین بهترین غلظت حلال‌های مختلف برای استخراج عصاره‌های با بالاترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، پژوهش‌های بیشتری توسط محققان انجام گیرد.

## سپاس‌گزاری

نویسنده‌گان از همه کسانی که در این پژوهش همکاری داشتند، تشکر می‌کنند.

## تعارض منافع

بدین وسیله نویسنده‌گان اظهار می‌دارند که هیچ تعارض منافعی درباره این تحقیق وجود ندارد. همه نویسنده‌گان در طراحی، اجرا و نگارش تمام بخش‌های تحقیق حاضر مشارکت داشته‌اند.

## کد اخلاقی

۱. مقاله  
۲. انتشار  
۳. پژوهش  
۴. ایام  
۵. نمایش  
۶. انتشار  
۷. پژوهش  
۸. ایام  
۹. نمایش  
۱۰. /  
۱۱. نمایش  
۱۲. ایام  
۱۳. پژوهش  
۱۴. انتشار  
۱۵. مقاله

## References

- Omid baigi R. Production and Processing of Medicinal Plants. 2nd ed. Astan Quds Publication. 2008; P. 304-6. (Persian)
- Benli M, Yigit N, Geven F, Guney K, Bingol U. Antimicrobial activity of endemic Digitalis lamarckii Ivan from Turkey. Indian J Exp Biol 2009; 47: 218-21.
- Kumaran A, Karunakaran RJ. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of Coleus aromaticus. Food Chem 2006; 97:109-14. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.03.032.
- Milos H. Value-Function Approximations for Partially Observable Markov Decision Processes. JAIR 2011; 2000: 33-94. doi:10.48550/arXiv.1106.0234.
- Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P, Vidal N. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extract containing phenolic compounds. Food Chem 2006; 97: 654-60. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.04.028.
- Katanic J, Ceylan R, Matic S, Boroja T, Zengin G, Aktumsek A, et al. Novel perspectives on two Digitalis species: Phenolic profile, bioactivity, enzyme inhibition, and toxicological evaluation. S Afr J Bot 2017;109: 50-57. doi: 10.1016/j.sajb.2016.12.004.
- Ahmadi F, Kadivar M, Shahedi M. Antioxidant activity of Kelussia odoratissima Moza in model and food systems. Food Chem 2007; 105: 57-64. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.03.056.
- Chirag P, Tyagi S, Halligudi N, Yadav J, Pathak S, Singh S, et al. Antioxidant activity of herbal plants: a recent review. JDDT 2013; 1: 1-8.
- Ismail M, Ismail H I, Chan KW, Mariod AA. Phenolic content and antioxidant activity of Cantaloupe (*Cucumis melo*) methanolic extracts. Food Chem 2010; 119: 643-47. doi: 10.11648/j.ijnfs.20160501.13.
- Jamshidi M, Ashtiani HR, Rezazade Sh, Fathiazad F, Mazandarani M, Khaki A. Evaluation and Comparison of phenolic compounds and antioxidant activity of some plant species in mazandaran. J Med Plants 2010; 9: 177-82. doi: 20.1001.1.2717204.2010.9.34.19.7.
- Safi Z, Saeidi K, Lorigooini Z, Shirmardi HA. Evaluation of total phenols and antioxidant activity of Mullein (*Verbascum songaricum*) ecotypes. J Shahrekord Univ Med Sci 2016; 17: 68-75. (Persian)
- Mathew S, Abraham TE. In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. Food Chem 2006;44: 198-206. doi: 10.1016/j.fct.2005.06.013.
- Pokorny J, Yanislieva N, Gordom M. Antioxidants in food-Practical Applications. Wood head Publishing Ltd and CRC Press LLC.2001; P. 140.
- Rafaela GM, Gloria Lobo M, Monica G. The effect of extraction temperature, time and number of steps on the antioxidant capacity of methanolic banana peel extracts. Sep Purif Technol 2010; 71: 347-355. doi: 10.1016/j.seppur.2009.12.022.
- Hayouni E, Abedrabba M, Bouix M, Hamdi M. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. Food Chem 2007; 105:1126-34. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.02.010.
- Rezaie M, Farhoosh R, Iranshahi M, Sharif A, Golmohamadzadeh S. Ultrasonic-assisted extraction of antioxidative compounds from Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *mutica*) hull using various solvents of different physicochemical properties. Food Chem 2015; 173:577-83. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.10.081.
- Kulusic T, Radonic A, Katalinic V, Milos M. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. Food Chem 2004;85: 633-40. doi: 10.1016/j.foodchem.2003.07.024.
- Jeevani MM, Bhat R, Karim AA. Effect of extraction solvents on the phenolic compounds and antioxidant activities of bunga kantan (*Etlingera elatior* Jack.) inflorescence. J Food Compos Anal 2011; 24:615-19. doi: 10.1016/j.jfca.2010.09.018.
- Lin M, Tsai M, Wen K. Supercritical fluid extraction of flavonoids from *Scutellaria Radix*. J Chromatogr A 1999; 830: 387-95. doi:10.1016/S0021-9673(98)00906-6.
- 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 scavenging activity. Food Chem 2005; 91: 571-77. doi: 10.1016/j.foodchem.2004.10.006.
- Chang C, Yang M, Wen H, Chern J. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. JFDA 2002; 10: 178-82. doi:10.38212/2224-6614.2748.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT 1995; 28:25-30. doi:10.1016/S0023-6438 (95)80008-5.
- Vilkhu K, Raymond M, Simons L, Bates D. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry A

- review. IFSET 2007; 9: 161-69. doi: 10.1016/j.ifset.2007.04.014.
24. Nirmal SA, Patel AP, Bhawar SB, Pattan SR. Antihistaminic and antiallergic actions of extracts of *Solanum nigrum* berries: Possible role in the treatment of asthma. J Ethnopharmacol 2012; 142: 91-97. doi: 10.1016/j.jep.2012.04.019.
  25. Davarynejad G, Taghizadeh S, Asili J. Effect of different solvents on total phenolic contents and antioxidant activity of *Zizyphus jujube* Miller fruits. J Hortic Sci 2017; 31: 158-66. doi: 10.22067/jhortsciv.0i0.47986.
  26. Mohamadi M, Elhamirad AH, Pourfallah Z. Determination of total phenolic compound contents and antioxidant capacity of persimmon skin. Food Sci 2012; 2: 41-55. (In Persian).
  27. Liu Q, Yao H. Antioxidant activities of barley seeds extracts. Food Chem 2007; 102:732-37. doi: 10.12691/jfnr-7-2-7.
  28. Medica-Saric M, Jasprica I, Smolcic-Bubalo A, Mornar A. Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoids and phenolic acids. Croat Chem Acta 2004; 77: 361-66.
  29. Silva EM, Souza JNS, Rogez H, Rees JF, Larondelle Y. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. Food Chem 2007; 101:1012-18. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.02.055.
  30. Gharekhani M, Ghorbani M, Ebrahimzadeh MA, Jaafari SM, Sadeghi Mahoonak AR. Compare different methods of phenolic and flavonoid compounds extraction from *Urtica dioica* L. Iran J Med Aroma Plants 2010; 26: 389-405. (In Persian).
  31. Pourmorad F, Hosseiniimehr SJ, Shahabimajd N. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. Afr J Biotechnol 2006; 1142-45.
  32. Masoko D, GaloloS S, Mokgotho MP, Eloff JN, Howard RL, Mampara LJ. Evaluation of the antioxidant, antibacterial and antiproliferative activities of the acetone extract of the roots of sennaitulical (fabaceae). JTCA 2010; 7:138-48. doi:10.4314/AJTCAM.V7I2.50873.
  33. Ghasemi K, Ghasemi Y, Ebrahimzadeh MA. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 Citrus specis peels and tissues. Pak J Pharm Sci 2009; 22: 277-81.
  34. Mandal V, Mohan Y, Hemalatha S. Microwave assisted extraction, an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. Phcog Rev 2007; 1: 8-14.
  35. Kamkar A, Jebelli Javan A, Asadi F, Kamalinejad M. The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. Food Chem Toxicol 2010; 48: 1796-800. doi: 10.1016/j.fct.2010.04.003.
  36. Khanavi M, Hajimahmoodi M, Cheraghi-Niroomand M, Kargar Z, Ajani Y, Hadjiakhoondi A, et al. Comparison of the antioxidant activity and total phenolic contents in some *Stachys* species. Afr J Biotechnol 2009; 8:1143-47.
  37. Locatelli M, Travaglia F, Coisson JD, Martelli A, Stevigny C, Arlorio M. Analytical methods total antioxidant activity of hazelnut skin (NocciolaPiemonte PGI): Impact of different roasting conditions. Food Chem 2010;119: 1647-55. doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2009.08.048.
  38. Chang ST, Wu JH, Wang SY, Kang PL, Yang NS, Shyur LF. Antioxidant activity of extracts from *Acacia confusa* bark and heartwood. J Agric Food Chem 2001; 49; 3420-24. doi: 10.1021/jf0100907.