

بررسی اثر حلال عصاره گیری بر میزان فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی برخی گیاهان دارویی بومی ایران

بهمن فاضلی نسب^{۱*}، نسرين مشتاقی^۲، محمد فروزنده^۱

۱) گروه زراعت و اصلاح نباتات، پژوهشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۲) گروه بیوتکنولوژی و به نژادی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، نر(سان 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 آوری و بر اساس اکثریت حلال های پرکاربرد نیز مورد ارزیابی قرار گیرند تا علاوه بر شناسایی بهترین گیاه دارویی، بتوان بهترین حلال جهت استخراج مواد آنتی اکسیدانی معرفی 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، پونه کوهی، نعنای کوهی، زوفا، آویشن کوهی، شاه تره و کلیپوره، 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 پژوهشی: نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که نوع عصاره و برهمکنش عصاره و گیاه بر خواص آنتی اکسیدانی، محتوای فنل و فلاونوئید تاثیر متفاوتی داشته است ($P < 0.01$). بیشترین میزان فلاونوئید در عصاره آبی ($87/65 \text{ mg/g DW}$)، هیدروالکلی ($147/48 \text{ mg/g DW}$)، متانلی ($277/48 \text{ mg/g DW}$) و استونی ($171/98 \text{ mg/g DW}$) و هم چنین بیشترین میزان فنل در عصاره آبی ($15/33 \text{ mg/g DW}$)، هیدروالکلی ($20/18 \text{ mg/g DW}$)، متانلی ($51/47 \text{ mg/g DW}$) و استونی ($31/59 \text{ mg/g DW}$) مربوط به گیاه دارویی بومادران منطقه ایلام بوده است. بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی بر اساس آزمون DPPH در عصاره آبی (۸/۲۹ درصد در غلظت $16 \mu\text{g/ml}$) متعلق به بومادران منطقه ایلام، در عصاره هیدروالکلی (۳۴/۴۹ درصد در غلظت $64 \mu\text{g/ml}$) متعلق به نعنای کوهی منطقه کاشمر و سپس بومادران منطقه ایلام، در عصاره استونی (۶۲/۰۰۹ درصد در غلظت $64 \mu\text{g/ml}$) متعلق به نعنای کوهی منطقه کاشمر و سپس کلیپوره کاشمر و بومادران ایلام و در نهایت در عصاره متانلی (۹۵/۶۳۳ درصد در غلظت $16 \mu\text{g/ml}$) 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، نعنای کوهی، 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 داروها 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).

آنتی 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 تائید نموده اند. اگر چه میوه ها و سبزی ها از نظر ترکیبات آنتی اکسیدانی و فعالیت آنتی اکسیدانی متنوع هستند اما آن هایی که فعالیت آنتی اکسیدانی بالا دارند معمولاً حاوی آنتی اکسیدان های بیشتری هستند. از طرفی مواد آنتی اکسیدانی کاربردهای زیادی علاوه بر درمان و پیشگیری از بیماری های سرطانی و تصلب شرایین داشته مثلاً از ترکیبات آنتی اکسیدانی طبیعی برگ زیتون جهت افزایش انبارمانی چربی ها و روغن ها، از عصاره پوست بادام زمینی به دلیل فعالیت آنتی اکسیدانی جهت نگهداری چیپس های سیب زمینی و غیره استفاده شده است(۲).

فرآیند اکسیداسیون و تولید رادیکال های آزاد و گونه های فعال اکسیژن (Reactive Oxygens Species) ROS بخش لازمی از حیات بوده که در واکنش های بیولوژیکی 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 اکسیداتیو ناشی از تولید بیش از اندازه رادیکال های آزاد و ذرات فعال اکسیژن و ضعیف شدن سیستم های آنتی اکسیدانی به علت برداشت کم آن ها یا تولید کم آنتی اکسیدان های

اندوژن و یا افزایش استفاده از آن ها است. بسیاری از بیماری های مزمن در ارتباط با استرس اکسیداتیو است. به منظور جلوگیری از آسیب ROS، در بدن موجودات زنده، سیستم های آنتی 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 آنتی اکسیدانی آن ها اشاره کرد. طی سال های اخیر فرآورده های گیاهی(متابولیت 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 متابولیت 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 آنتی 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 آنتی 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 آنتی اکسیدانی، به دام انداختن رادیکال های آزاد و خاصیت ضدالتهاب می باشند(۴). این ترکیبات باعث جلوگیری یا به تاخیر انداختن آسیب های اکسیداتیو 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 متابولیت 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 مبنایی برای تحقیقات بعدی در این مورد باشد تا با کمترین هزینه و زمان ممکنه، مواد فنلی را با بیشترین میزان در گیاهان مختلف استخراج و مقایسه کرد.

مواد و روش ها

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 جمع آوری (جدول شماره ۱)، سپس در آزمایشگاه گیاه شناسی، شناسایی و مورد ارزیابی قرار گرفتند. نمونه ها 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 ۷۰ و ۳۰ سی سی آب مقطر)، استون (۱۰۰ سی سی) و متانل (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، عصاره ها صاف، سپس حلال در دمای کمتر از ۴۰ درجه سانتی گراد توسط دستگاه روتاری تغلیظ و باقی مانده بعد از خشک شدن توسط دستگاه انکوباتور (دمای ۳۷ درجه سانتی گراد) برای انجام آزمایش ها درون پتری دیسک 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 دارند. هم چنین ترکیبات فنلی به عنوان شاخص هایی برای مراحل فیزیولوژیکی در طول رشد میوه نیز در نظر گرفته می شوند (۶).

تحقیقات نشان داده منبع دریافت فنل ها 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 سیب و پیاز و در کشورهای شرقی با مصرف سبزی ها و مواد غذایی تخمیری تامین می شوند (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 سبزی ها به صورت خام و پخته، برگ گیاهان و درختان مختلف (به صورت دم نوش، عرقیات، اسانس، عصاره، مربا، شربت، ترشی، مواد شوینده) (از جمله سدر) و حتی مصرف به صورت دلمه و غیره) صورت گرفته که پیرو تحقیقات مختلف باید از اندام های مختلف گیاهان که دارای نوع خاص مواد آنتی اکسیدانی بوده استفاده خاصی از آن ها شود.

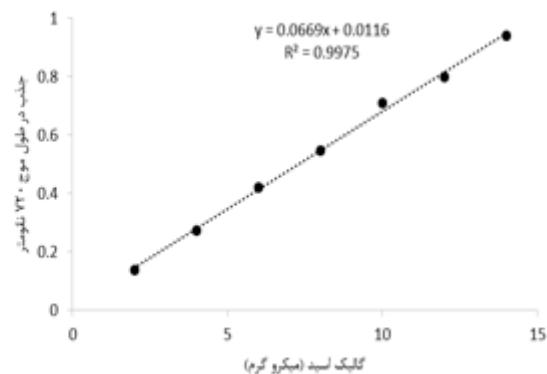
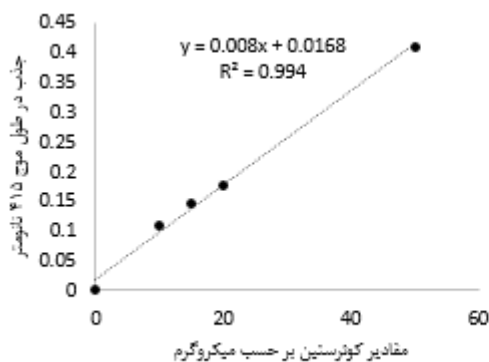
امروزه جهت استخراج مواد موثره گیاهی از حلال های متفاوتی استفاده می شود که هر کدام دارای مزایا و معایب خاص خود می باشند و چون ماده موثره تحت تاثیر عوامل مختلفی از جمله نوع گیاه، شرایط رویش، نوع حلال، روش استخراج، مرحله رشدی گیاه و غیره بوده (۸) لذا در تحقیق حاضر سعی شد تا گیاهان مختلف از مناطق رویشی متفاوت جمع آوری و بر اساس حلال های 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
نعناع کوهی	Mentha asiatica	ایلام	برگ و شاخه	منتول
کاکوتی	Ziziphora persica	قائن	برگ و شاخه	ایزومنتون
شکرشفا(خارمیش)	Otostegia 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
نعناع کوهی	Mentha asiatica	قائن	برگ و شاخه	منتول
بومادران	Achillea millefolium	کاشمر	برگ و سرشاخه گل دار	ماتریکارین
نعناع کوهی	Mentha asiatica	کاشمر	برگ و شاخه	منتول
زوفا	Hyssopus officinalis	قائن	برگ و سرشاخه گل دار	پینوکامفن، آلفا ویتاپنین، کامفن
آویشن وحشی	Thymus vulgaris	کاشمر	برگ	تیمول
شاه تره	Fumaria officinalis	کاشمر	برگ و شاخه	فومارین(پروتوپین)، فوماری لین، سیناکتین
کلپوره همدانی	Teucrium polium	کاشمر	برگ	کاریوفیلان 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 متانول 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 متانول (۸۰



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

اندازی رادیکال آزاد یا سنجش خواص آنتی اکسیدانی فرمول F (۱۱) به کار رفت. ابتدا از عصاره ۴۰

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

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 ۰/۱ 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) می توان از اسکوربیک اسید استفاده نمود.

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

F = مقدار به دام اندازی رادیکال DPPH; Ab=جذب

بلانک; As=جذب نمونه یا استاندارد

تجزیه و تحلیل داده ها: به منظور محاسبات آماری از نرم افزار Statistix vol.10 استفاده شد. مقایسه میانگین ها با استفاده از روش حداقل تفاوت معنی دار (LSD) در سطح ۵ درصد انجام و هم چنین برای رسم شکل ها و نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

یافته های پژوهش

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نوع و غلظت های مختلف عصاره های 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)، متانلی (۲۷۷/۴۸ mg/g DW) و استونی (۱۷۱/۹۸ mg/g DW) مربوطه به گیاه دارویی بومادران منطقه ایلام و سپس بومادران کاشمر بود (جدول شماره ۴). در بین عصاره ها بیشترین میزان فلاونوئید در عصاره متانلی و سپس به ترتیب در عصاره های استونی، هیدروالکلی و در نهایت عصاره آبی به دست آمد. ضمناً تاثیر منطقه رویش گیاهان دارویی نعنای و بومادران بر میزان فلاونوئید بررسی و در اکثر موارد اثر معنی دار بوده (جدول شماره ۳) و مشخص شد که بومادران و نعنای منطقه ایلام دارای فلاونوئید بیشتری نسبت به کاشمر و قاین بودند.

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

بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی بر اساس آزمون DPPH در عصاره آبی (۸/۲۹۶۹) درصد در غلظت (۱۶ μg/ml) متعلق به بومادران منطقه ایلام (جدول شماره ۵)، در عصاره هیدروالکلی (۳۴/۴۹۸) درصد در غلظت (۶۴ μg/ml) متعلق به نعنای کوهی منطقه کاشمر و سپس بومادران منطقه ایلام (۳۴/۰۶۱) درصد در غلظت (۱۶ μg/ml) (جدول شماره ۵)، در عصاره استونی (۶۲/۰۰۹) درصد در غلظت (۶۴ μg/ml) متعلق به نعنای کوهی منطقه کاشمر و سپس کلپوره کاشمر (۶۱/۵۷۲) درصد در غلظت (۳۲ μg/ml) و بومادران ایلام (۶۱/۱۳۵) درصد در غلظت (۱۶ μg/ml) (جدول شماره ۶) و نهایت در عصاره متانلی (۹۵/۶۳۳) درصد در غلظت (۱۶ μg/ml) 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 نعنای منطقه ایلام نسبت به بومادران منطقه کاشمر و قاین خواص آنتی اکسیدانی بیشتری داشته اند. 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 می شود لذا در این تحقیق مشخص شد که بومادران منطقه ایلام مهم ترین گیاه در این مورد بوده است.

بررسی اثر ملال عصاره گیری بر میزان فنل، فلاونوئید و ...- بهمن فاضلی نسب و همکاران

جدول شماره ۲. ارزیابی نوع و غلظت های عصاره بر میزان فنل و فلاونوئید و هم چنین خواص آنتی اکسیدانی گیاهان دارویی مورد استفاده

ارزیابی نوع عصاره در میزان فنل و فلاونوئید										درجه آزادی	منابع تغییرات
میانگین مربعات								عصاره آبی	عصاره هیدروالکلی		
عصاره متانلی		عصاره استونی		عصاره استونی		عصاره استونی					
فلاونوئید	فنل	فلاونوئید	فنل	فلاونوئید	فنل	فلاونوئید	فنل	فلاونوئید	فنل		
۸۰۹۹/۴۸**	۴۷۹/۵۵**	۲۶۶۰/۶۹**	۸۹/۱۰**	۳۰۴۶/۱۲**	۲۹/۸۱**	۲۴۵۸/۱۶**	۴۱/۵۸**	۱۲	نوع گیاه		
۵/۲۲	۰/۸۸۴	۱۴/۱۷	۰/۶۵	۱۱/۵۵	۰/۲۳	۳/۷۲	۷/۶۷	۲۶	خطا		
								۳۸	کل		

ارزیابی نوع و غلظت های مختلف عصاره بر خواص آنتی اکسیدانی										درجه آزادی	منابع تغییرات
میانگین مربعات								عصاره آبی	عصاره هیدروالکلی		
عصاره متانلی		عصاره استونی		عصاره استونی		عصاره استونی					
فلاونوئید	فنل	فلاونوئید	فنل	فلاونوئید	فنل	فلاونوئید	فنل	فلاونوئید	فنل		
۶۶۲/۴۴۷**	۴۲۶/۹۰۵**			۱۴۵/۴۷۷**		۳۲/۳۵۸۷**		۱۲	گیاه (P)		
۰/۱۷۶*	۱/۳۲۵**			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		
								۱۱۶	کل		

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

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

گیاه دارویی بومادران												درجه آزادی	منابع تغییرات
میانگین مربعات										عصاره آبی	عصاره هیدروالکلی		
عصاره متانلی		عصاره استونی		عصاره استونی		عصاره استونی		عصاره استونی					
DPPH	فلاونوئید	فنل	DPPH	فلاونوئید	فنل	DPPH	فلاونوئید	فنل	DPPH	فلاونوئید	فنل		
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	منطقه رویشی
۵/۷۲	۲/۹	۰/۷۸	۴/۵۸	۳۱/۱۲	۱/۲۲	۱/۶۹	۱۷/۰۳	۰/۸۳	۲/۹	۰/۸۷	۰/۳۷	۲۴	خطا
										۲۶	کل		

گیاه دارویی نعنای												درجه آزادی	منابع تغییرات
میانگین مربعات										عصاره آبی	عصاره هیدروالکلی		
عصاره متانلی		عصاره استونی		عصاره استونی		عصاره استونی		عصاره استونی					
DPPH	فلاونوئید	فنل	DPPH	فلاونوئید	فنل	DPPH	فلاونوئید	فنل	DPPH	فلاونوئید	فنل		
۱۴۲/۱۲ns	۱۳۰۲/۶۲**	۱۹/۳**	۹۲/۷۳ns	۱۵۹/۲۴*	۳/۰۵ns	۴۰/۱ns	۲۹۰/۴۶**	۱/۱۴**	۱۸/۳۶*	۱۲۰/۶۴**	۳/۲۵**	۲	منطقه رویشی
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	خطا
										۲۶	کل		

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

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

نام گیاه و منطقه رویشی	نوع عصاره بر میزان فنل			نوع عصاره بر میزان فلاونوئید		
	آبی	هیدروالکلی	استونی	متانلی	آبی	هیدروالکلی
نعناع کوهی(ایلام)	۱۰/۳۹۵f	۱۴/۳۹۱e	۱۹/۰۴۴f	۳۷/۳۴۰f	۳۵/۱۵۰f	۹۴/۱۹۲f
کاکوتی(قائن)	۱۲/۹۵۱c	۱۶/۳۵۴c	۲۴/۲۳۶cd	۴۱/۵۹۰c	۶۷/۱۹۲c	۱۱۵/۱۱d
شکرشفا(بوشهر)	۶/۳۴۳aj	۱۱/۴۹۱g	۱۶/۴۰۴g	۲۰/۱۹۰ij	۱۵/۹۴۲i	۶۲/۰۶۷j
زعفران(قائن)	۱۱/۲۹۱e	۱۴/۵۲۰e	۲۱/۰۱۷e	۳۳/۶۹۳e	۴۱/۳۱۷e	۹۹/۲۷۵f
بومادران(ایلام)	۱۵/۳۳۳a	۲۰/۱۸۰a	۳۱/۵۹۵a	۵۱/۴۷۶a	۸۷/۶۵۰a	۱۴۷/۴۸a
پونه کوهی(کاشمر)	۴/۶۵۴۷k	۱۰/۳۳۰h	۱۴/۳۹۱h	۱۸/۸۲۵j	۱۴/۳۵۸i	۵۷/۴۸۳j
نعناع کوهی(قائن)	۹/۷۴۶۹g	۱۳/۸۲۸ef	۱۷/۷۴۴fg	۲۵/۰۱۸g	۳۰/۲۳۳g	۸۱/۰۲۵g
بومادران(کاشمر)	۱۳/۸۴۸b	۱۷/۹۳۸b	۲۶/۷۳۷b	۵۰/۳۳۰a	۸۵/۳۵۸ab	۱۳۸/۲۸b
نعناع کوهی(کاشمر)	۸/۳۵۶۸h	۱۳/۱۵۵f	۱۷/۰۵۶g	۲۲/۲۷۲h	۲۲/۵۶۷h	۷۴/۹۴۲h
زوفال(قائن)	۷/۴۶۴۹i	۱۲/۱۹۳g	۱۶/۶۹۳g	۲۰/۶۰۴i	۱۹/۹۸۳h	۶۸/۲۳۳i
آویشن وحشی(کاشمر)	۱۳/۰۷۵c	۱۶/۴۹۳c	۲۵/۴۱۲bc	۴۷/۹۶۸b	۸۳/۴۸۳b	۱۲۵/۷۳c
شاه تره(کاشمر)	۳/۰۷۰۳l	۸/۶۸۰۶i	۱۲/۷۴۱i	۱۷/۲۱۶k	۱۳/۰۶۷i	۴۷/۴۰۰k
کلپوره(کاشمر)	۱۲/۰۳۴d	۱۵/۴۰۷d	۲۲/۸۸۶d	۳۷/۱۹۱d	۵۷/۶۵۰d	۱۰۶/۸۲e

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

نام گیاه و منطقه رویشی	عصاره آبی(µg/ml)			عصاره هیدروالکلی(µg/ml)		
	۱۶	۳۲	۶۴	۱۶	۳۲	۶۴
نعناع کوهی(ایلام)	۰/۰۰۰۰n	۰/۰۰۰۰n	۰/۰۰۰۰n	۲۷/۵۱۱P	۲۶/۲۰۱S	۲۶/۸۹۱V
کاکوتی(قائن)	۰/۰۰۰۰n	۰/۰۰۰۰n	۰/۰۰۰۰n	۲۲/۷۰۷a	۲۱/۳۹۷c	۲۰/۰۸۷f
شکرشفا(بوشهر)	۰/۰۰۰۰n	۰/۰۰۰۰n	۰/۰۰۰۰n	۲۹/۲۵۸L	۲۷/۰۷۴Q	۲۵/۷۶۴T
زعفران(قائن)	۲/۶۲۰۱h	۱/۳۱۰۰k	۰/۰۰۰۰n	۳۱/۴۴۱G	۳۰/۱۳۱J	۲۸/۸۲۱M
بومادران(ایلام)	۸/۲۹۶۹a	۵/۶۷۶۹d	۳/۰۵۶۸g	۳۴/۰۶۱B	۳۳/۱۸۸D	۳۱/۰۰۴H
پونه کوهی(کاشمر)	۰/۰۰۰۰n	۰/۰۰۰۰n	۰/۰۰۰۰n	۲۴/۴۵۴W	۲۳/۱۴۴Z	۲۱/۸۳۴b
نعناع کوهی(قائن)	۰/۰۰۰۰n	۰/۰۰۰۰n	۰/۰۰۰۰n	۲۳/۵۸۱Y	۲۱/۳۹۷c	۲۰/۹۶۱d
بومادران(کاشمر)	۱/۷۴۶۷j	۰/۴۳۶۷m	۰/۰۰۰۰n	۳۰/۵۶۸I	۲۸/۳۸۴N	۲۷/۹۴۸O
نعناع کوهی(کاشمر)	۰/۰۰۰۰n	۰/۰۰۰۰n	۰/۰۰۰۰n	۷/۴۳۳۶c	۱۹/۶۵۱g	۱۸/۳۴۱j
زوفال(قائن)	۴/۸۰۳۵f	۲/۱۸۳۴i	۰/۸۷۳۴l	۲۲/۳۱۴F	۳۱/۰۰۴H	۲۹/۶۹۴K
آویشن وحشی(کاشمر)	۰/۰۰۰۰n	۰/۰۰۰۰n	۰/۰۰۰۰n	۲۶/۶۳۸R	۲۵/۳۲۸U	۲۴/۰۱۷X
شاه تره(کاشمر)	۰/۰۰۰۰n	۰/۸۷۳۴l	۰/۰۰۰۰n	۲۰/۵۲۴e	۱۹/۲۱۴h	۱۸/۷۷۷i
کلپوره(کاشمر)	۰/۰۰۰۰n	۷/۸۶۰۳b	۵/۲۴۰۲e	۱۷/۹۰۴k	۳۳/۶۲۴C	۳۲/۷۵۱E

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

نام گیاه و منطقه رویشی	عصاره استونی(µg/ml)			عصاره متانلی(µg/ml)		
	۱۶	۳۲	۶۴	۱۶	۳۲	۶۴
نعناع کوهی(ایلام)	۵۰/۲۱۸P	۴۸/۹۰۸S	۴۷/۵۹۸V	۸۱/۲۳۳Q	۷۸/۶۰۳U	۷۶/۴۱۹w
کاکوتی(قائن)	۴۲/۶۶۸a	۴۱/۰۴۸d	۳۷/۹۹۱g	۷۲/۰۵۲b	۶۸/۵۵۹e	۶۵/۹۳۹h
شکرشفا(بوشهر)	۵۱/۰۹۲N	۴۹/۷۸۲Q	۴۸/۴۷۲T	۸۳/۸۴۳O	۸۰/۳۴۹R	۷۹/۰۳۹T
زعفران(قائن)	۵۷/۶۴۲I	۵۷/۲۰۵J	۵۱/۵۲۸M	۸۹/۹۶۵H	۸۷/۳۳۶K	۸۴/۷۱۶N
بومادران(ایلام)	۶۱/۱۳۵C	۵۹/۳۸۹F	۵۸/۵۱۵G	۹۵/۶۳۳A	۹۳/۴۵۰D	۹۰/۸۳۰G
پونه کوهی(کاشمر)	۴۶/۷۲۵W	۴۴/۱۰۵Z	۴۱/۹۲۱c	۷۵/۵۴۶X	۷۲/۹۲۶a	۷۰/۳۰۶d
نعناع کوهی(قائن)	۴۴/۹۷۸Y	۴۲/۷۹۵b	۴۰/۱۷۵e	۷۳/۷۹۹Z	۷۱/۱۷۹c	۶۷/۶۸۶f
بومادران(کاشمر)	۵۶/۷۶۹K	۵۱/۹۶۵L	۵۰/۶۵۵O	۸۸/۲۱۰J	۸۵/۵۹۰M	۸۲/۰۹۶P
نعناع کوهی(کاشمر)	۳۷/۱۱۸h	۳۴/۴۹۸I	۳۴/۰۰۹A	۶۵/۰۶۶i	۶۲/۴۴۵m	۹۳/۸۸۶C
زوفال(قائن)	۶۰/۶۹۹D	۵۸/۰۷۹H	۵۷/۲۰۵J	۹۱/۷۰۳F	۸۹/۰۸۳I	۸۶/۴۶۳L
آویشن وحشی(کاشمر)	۴۹/۳۴۵R	۴۸/۰۳۵U	۴۵/۸۵۲X	۷۹/۴۷۶S	۷۷/۲۹۴V	۷۴/۶۲۷Y
شاه تره(کاشمر)	۳۹/۳۰۱f	۳۶/۲۴۵i	۳۵/۸۰۸j	۶۶/۸۱۲g	۶۴/۱۹۲z	۶۲/۸۸۲l
کلپوره(کاشمر)	۳۵/۳۷۱k	۶۱/۵۷۲B	۶۰/۲۶۲E	۶۳/۳۱۹k	۹۴/۷۶۰B	۹۲/۵۷۶E

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

بحث و نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که حلال ها تاثیر متفاوتی در استخراج مواد فنلی و فلاونوئیدی داشتند به طوری که متانل 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 متانل، 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 متانل ۵۰ درصد و استخراج تانن با متانل 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 هیدروالکلی 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، متانل 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،

معنی دار بوده و بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره متانل و کمترین میزان را در عصاره آبی به دست آوردند. در تحقیق حاضر نیز مشخص شد که محیط رویش گیاهان دارویی نعنای و بومادران بر روی مواد فنلی و فلاونوئیدی تاثیر داشته است

در تحقیقی گزارش شده که عصاره ایتیل استاتی *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 مخمر 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 اند. در تحقیقی دیگر اثر ضد میکروبی عصاره آبی و الکی زعفران بررسی و به این نتیجه رسیدند که عصاره الکی 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 striata*) بر روی کاندیدا آلبیکانس (*Candida albicans*) در شرایط آزمایشگاهی بررسی و به این نتیجه رسیدند که عصاره الکی گیاه تشنه داری بی تاثیر بوده زیرا این عصاره الکی 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 IC50 عصاره آبی آرتمزیا ولگاریس (*Artemisia vulgaris*)، بیشتر از عصاره هیدروالکلی درمنه (*Artemisia*) ذکر شده است (۲۰).

گزارش شده که فعالیت آنتی اکسیدانی با خاصیت

F. officinalis نسبت به گونه های *F. thuretii*، *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 ۶۶ درصد بوده است. بیشترین خواص آنتی اکسیدانی بومادران ۸۴ درصد گزارش شده (۲۵) که با تحقیق حاضر (از ۸۲ تا ۹۵ درصد) مشابهت 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 مشابهت داشت.

در تحقیقی (۲۷) اثر آنتی اکسیدانی چند گونه زوفا بررسی و به این نتیجه رسیدند که گونه *H. officinalis* بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی نسبت به گونه *O. basilicum* و *T. chamaedrys* داشته است در تحقیق حاضر فقط گونه *H. officinalis* بررسی و خاصیت آنتی اکسیدانی آن در سطح بالا و در محدوده ۸۶ 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 فنل 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 دارند 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 فنل 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 مهارکنندگی عصاره افزایش می یابد (۲۱). در تحقیقی گزارش شده بود عصاره برگ گیاه علف مار با داشتن بیشترین محتوی فلاونوئیدی و فنلی در بین 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 فنل در عصاره آبی (۱۵/۳۳)، عصاره هیدروالکلی (۲۰/۱۸۰)، عصاره استونی (۳۱/۵۹) و عصاره متانلی (۵۱/۴۷) و بالاترین میزان فلاونوئید را در عصاره آبی (۸۷/۶۰)، عصاره هیدروالکلی (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 ترتیب برابر ۸۹/۳ درصد و ۶۱/۶ درصد بوده است که با تحقیق حاضر (با خواص آنتی اکسیدانی ۷۲/۰۵۲ درصد در عصاره متانلی) مشابهت داشت. بررسی خواص آنتی اکسیدانی نعنای 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 مشابهت 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

قابلیت در استخراج مواد فنلی و فلاونوئیدی بوده و در تحقیقی دیگر گزارش شده که متانل 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 متانلی 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 متانلی جهت ارزیابی مواد فیتوشیمیایی گیاهی استفاده شود.

سپاسگزاری

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

نتایج این تحقیق نشان داد بیشترین میزان فلاونوئید و فنل در تمامی عصاره ها به خصوص عصاره متانلی به ترتیب $277/48$ mg/g DW و

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. Khazae FA, Etebarian HR, Roustae 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

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/jhorts4.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, Sayyedlangi 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. *Phytherap Res Int J Dev Toxicol* 2004; 18: 451-56. doi: 10.1002/ptr.1438
18. Baranikarbasaki 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 Uni Medical 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, Zaiter 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, Hanganu 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 chamaedrrys*. *Molecules* 2014; 19: 5490-507. doi: 10.3390/molecules19055490
28. Ozer Z, Kılıc T, Carık 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 Prod2013; 66: 339-42.

30. Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda 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^{1*}, Moshtaghi N², Forouzandeh M¹

(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