



تأثیر نوع حلال بر قدرت آنتی اکسیدانی، میزان فنل و فلاونوئید گیاه *Postia puberula*

پروانه همتی حسن گاویار^۱، حمزه امیری^{*}

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه لرستان، خرم آباد

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	هدف از این مطالعه بررسی تأثیر نوع حلال بر قدرت آنتی اکسیدانی و میزان فنل و فلاونوئید گیاه <i>Postia puberula</i> متعلق به خانواده آستراره است. جهت بررسی اثرات آنتی اکسیدانی، میزان، فنل و فلاونوئید، عصاره های اتانولی، متانولی، آبی و هیدروالکلی تهیه شد. بررسی اثرات آنتی اکسیدانی با دو روش ۲ و ۲ دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) و بتاکاروتن- لینولئیک اسید صورت گرفت. جهت سنجش محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی به ترتیب از شاهدهای گالیک اسید و کوئرستین استفاده شد. نتایج نشان داد که نوع حلال مورد استفاده در عصاره گیری می تواند بر فعالیت آنتی اکسیدانی، میزان فنل و فلاونوئید مؤثر باشد، به طوری که عصاره هیدروالکلی بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی را در هر دو روش داشت، همچنین بیشترین میزان فنل در عصاره هیدروالکلی و بیشترین میزان فلاونوئید در عصاره اتانولی مشاهده شد.
تاریخ دریافت: ۹۹/۰۱/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۰/۲۲	
کلمات کلیدی: DPPH بتاکاروتن - لینولئیک اسید فنل، فلاونوئید، اتانول، متانول.	
DOI: 10.52547/fsct.18.04.02	
* مسئول مکاتبات: amiri_h_lu@yahoo.com	

۱- مقدمه

گیاهان از هزاران سال پیش نقش بسیار مهمی در حفظ سلامتی و بهبود کیفیت زندگی انسان‌ها داشته‌اند. گیاهان دارویی دارای خواص مفیدی هستند که از جمله می‌توان به خاصیت ضد باکتریایی، ضد انگلی، ضد قارچی و آنتی اکسیدانی آنها اشاره کرد. طی سال‌های اخیر فرآورده‌های گیاهی (متابولیت‌های ثانویه) به دلیل دسترسی آسان، راحتی کاربرد و اثرات جانبی کمتر در مقایسه با فرآورده‌های شیمیایی برای درمان اکثر بیماری‌های انسان و حیوانات مورد استفاده قرار می‌گیرند، از طرفی متابولیت‌های ثانویه مشتق از گیاهان مانند فنل و فلاونوئید تام، دارای پتانسیل قوی برای پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد هستند که در تمام قسمت‌های مختلف گیاهی مانند برگ، میوه، دانه، ریشه و پوست وجود دارند بنابراین با توجه به شیوع بالای بیماری‌های مزمن و فرسایشی، منطقی است که برای تأمین آنتی اکسیدان‌های مورد نیاز بدن از گیاهان استفاده شود و به خصوص گیاهانی که محتوای فنل و فلاونوئید تام بالایی داشته باشند. در نتیجه برای تأمین آنتی اکسیدان‌های طبیعی مورد نیاز بدن، مصرف گیاهان با ترکیبات فنلی بالا توصیه می‌شود [۱].

مصرف آنتی اکسیدان‌های سنتزی در حیوانات آزمایشگاهی باعث ایجاد سرطان و مشکلات کبدی شده است. به همین دلیل تقاضای قابل توجهی از طرف کارخانجات مواد غذایی و دارویی جهت استفاده از مشتقات گیاهی به عنوان آنتی اکسیدان‌های غیر سمی در سیستم‌های غذایی مطرح شده است [۲]. آنتی اکسیدان‌ها برای استفاده در سیستم غذایی باید ارزان و غیر سمی باشند و در غلظت‌های پایین اثر کنند [۳ و ۴].

ایران یکی از غنی‌ترین منابع گیاهان دارویی جهان به شمار می‌رود که دارای تنوع بالای شرایط زیستگاهی برای انواع این گیاهان است [۱]. مطالعات قبلی نشان داده است که مقدار پلی فنل‌ها در گیاهان و فعالیت آنتی اکسیدانی آن‌ها به هر دو فاکتورهای بیولوژیکی (ژنوتیپ، اندام و آنتورنی) و شرایط محیطی (شوری، تنش آبی و نور) بستگی دارد [۵ و ۶]. حلالیت ترکیبات فنلی توسط نوع حلال (قطبیت) استفاده شده، درجه پلیمریزه شدن فنل‌ها و تعاملات بین آن‌ها اداره می‌شود [۶ و ۷]. به عنوان مثال؛ مشاهده شده است که متانول مطلق در مقایسه با آب برای

استخراج پلی فنل‌ها از پساب‌های کشاورزی و در مقایسه با استون ۵۰٪ برای استخراج فنل‌ها از گندم مؤثرتر است، بنابراین امروزه جهت استخراج مواد مؤثره گیاهی از حلال‌های مختلفی استفاده می‌شود [۶ و ۸].

گیاهان خانواده آسترace در سرتاسر جهان پراکنده شده‌اند و بیشتر در مناطق خشک و نیمه خشک با دمای پایین گسترش دارند. جنس پستیا متعلق به خانواده آسترace دارای دو گونه است که انحصاری ایران هستند. *Postia puberula* گیاهی بوته‌ای است و زیستگاه آن جنوب ایران است. گونه *Postia puberula* درختچه‌هایی متوسط با شاخه‌هایی منشعب -قاعده محکم و ضخیم و تقریباً بدون کرک، ساقه دارای برگ و تا ارتفاع ۴۰ سانتیمتر طول داشته و معمولاً در محل گره دارای کرک‌های پشمی است. برگ‌ها تقریباً به طول ۳ سانتیمتر و عرض ۷ میلیمتراند و حالت سرنیزه‌ای نوک‌تیز دارند، جام، ۴ میلیمتر طول دارد، گل‌ها معمولاً هرمافروdit‌اند. میوه فندقه ممکن است حالت زگیل‌دار باشد (سه وجهی) یا ممکن است حالت زائده دار کوچک باشد [۹]. تاکنون مطالعه‌ای با هدف بررسی تأثیر نوع حلال بر قدرت آنتی اکسیدانی و میزان فنل و فلاونوئید *Postia puberula* صورت نگرفته است و این پژوهش اولین مطالعه در این خصوص محسوب می‌شود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- جمع‌آوری نمونه

گیاه مورد نظر در فصل بهار (فروردین) از ارتفاعات ۱۰ کیلومتری شمال غرب کوه‌دشت استان لرستان جمع‌آوری گردید (شکل شماره ۱). بعد از حذف ضایعات به مدت یک ماه در سایه و در دمای اتاق با تهویه مناسب خشک گردید.



Fig 1 View of *Postia puberula* (Boiss. & Hausskn.)

۲-۲-روش استخراج عصاره

۵ گرم از نمونه خردشده (برگ و ساقه) داخل یک کیسه با منافذ ریز ریخته شد. کیسه داخل ظرف شیشه‌ای درب دار قرار گرفت و تا حدی که سطح کیسه کاملاً پوشانده شود، روی آن حلال (متانول خالص، اتانول خالص، آب مقطر و هیدروالکل) (اتانول ۵۰ درصد) ریخته شد. در پایان کار پس از بستن در شیشه و پیچاندن فویل ظرف حاوی عصاره به مکان تاریک انتقال داده شد. پس از سه شبانه روز (۷۲ ساعت) عصاره استخراج شده صاف شد و به یخچال 4°C - انتقال یافت و مجدداً به ظرف اولیه حاوی کیسه حلال اضافه شد در ادامه کلیه مراحل بیان شده تکرار گردید، در مجموع طی ۹ شبانه روز، عمل اضافه کردن حلال و صاف کردن عصاره سه بار انجام شد. ۱ عصاره‌های مورد نظر با کاغذ صافی صاف شدند، سپس عمل تغلیظ با استفاده از دستگاه روتاری شرکت IKA مدل RV06-ML و پمپ خلأ STEROUAO صورت گرفت.

۲-۳-بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف

۲-۳-۱-روش DPPH

در این روش اسپکتروفوتومتری، از رادیکال‌های آزاد DPPH به عنوان معرف استفاده می‌شود و فعالیت اتم‌های هیدروژن و الکترون عصاره‌ها از طریق بی‌رنگ شدن محلول بنفش پرننگ DPPH اندازه‌گیری می‌شود. از عصاره‌های خشک شده اندام‌های مختلف محلولی با غلظت یک میلی گرم بر میلی لیتر تهیه شد، سپس به منظور بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی، محلول ۰/۰۰۴٪ از DPPH تهیه شد (محلول حاصل، به رنگ بنفش پرننگ است). سپس برای هر نمونه سه لوله آزمایش آماده گردید و در هر لوله ۵۰ میکرولیتر از عصاره و یک میلی لیتر محلول DPPH اضافه شد، در ادامه لوله‌ها به مکان تاریک انتقال یافتند، پس از ۳۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری در دمای اتاق جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. در این روش از BHT به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. با استفاده از فرمول زیر درصد مهار محاسبه گردید.

$$I\% = (A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}} / A_{\text{blank}})$$

در این رابطه A_{blank} جذب واکنش کنترل منفی (دارای تمام

معرف‌ها به جز غلظت مشخص از عصاره مورد نظر) است و A_{sample} جذب نمونه مورد نظر در مخلوط واکنشی است ([۱۰]).

۲-۳-۲-روش بتاکاروتن - لیتولیک اسید

اسیدهای چرب غیر اشباع از جمله لیتولیک اسید در برابر روند اکسیداسیون، بسیار حساس هستند، از این رو مهار اکسیداسیون این ماده به عنوان یک روش با ارزش در تعیین فعالیت آنتی-اکسیدانی، مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این روش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، با میزان مهار اکسیداسیون لیتولیک اسید و جلوگیری از ایجاد ترکیبات فرار و هیدروپراکسیدهای کونژوگه، مورد سنجش قرار می‌گیرد. ابتدا یک استوک از محلول بتاکاروتن لیتولیک اسید تهیه شد، بدین صورت که ۵/۰ میلی گرم بتاکاروتن را در ۱ میلی لیتر کلروفرم حل نموده، ۲۵ میکرولیتر لیتولیک اسید و ۲۰۰ میلی گرم توتین ۴۰ به آن اضافه نموده، سپس کلروفرم آن را به طور کامل تبخیر شد و در پایان ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر اشباع از اکسیژن همراه با تکان شدید به آن اضافه گردید. از عصاره‌های مختلف، محلولی با غلظت‌های ۱ میلی گرم بر میلی لیتر تهیه شد. جهت بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی مقدار ۵۰ میکرولیتر از عصاره‌های مختلف به ۲۵۰۰ میکرولیتر از محلول بتاکاروتن - لیتولیک اسید اضافه گردید. جذب نمونه‌ها در لحظه صفر و همچنین بعد از دو ساعت انکوبه شدن در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر (Bio Tek, U.S.A) در طول موج ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$AA\% = (1 - DR_s / DR_c) \times 100$$

$$DR = \ln(a/b) \times 1/t$$

که $AA\%$ میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی برحسب درصد و DR_s و DR_c به ترتیب سرعت بی‌رنگ شدن بتاکاروتن در مخلوط واکنشی حاوی نمونه و بدون نمونه است. a جذب نمونه در لحظه صفر و b جذب نمونه بعد از ۱۲۰ دقیقه و t برابر ۱۲۰ دقیقه است [۱۱].

۲-۴-سنجش ترکیبات فنلی

به منظور سنجش ترکیبات فنلی از Folin-Ciocalteu به عنوان معرف و از گالیک اسید به عنوان استاندارد استفاده گردید. از عصاره‌های مختلف محلول‌هایی با غلظت ۲ میلی گرم بر میلی لیتر تهیه گردید و از گالیک اسید محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف

۳-نتایج

۳-۱- بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های

مختلف

۳-۱-۱- روش DPPH

نتایج حاصل از مقایسه میانگین فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های مختلف نشان داد که عصاره هیدروالکلی بالاترین قدرت آنتی اکسیدانی و عصاره آبی کم‌ترین قدرت آنتی اکسیدانی را دارند. قدرت آنتی اکسیدانی عصاره‌های اتانولی و آبی در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری را نشان دادند و تفاوت‌شان با BHT نیز معنی‌دار بود، عصاره هیدروالکلی نیز تفاوت معنی‌داری با عصاره اتانولی نشان داد اما تفاوتش با BHT معنی‌دار نبود، عصاره متانولی تفاوت معنی‌داری را با عصاره آبی و BHT نشان داد. به طور کلی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های مختلف مطابق ترتیب روبروست: عصاره آبی > عصاره اتانولی > عصاره متانولی > عصاره هیدروالکلی > BHT (شکل ۲ و جدول ۱).

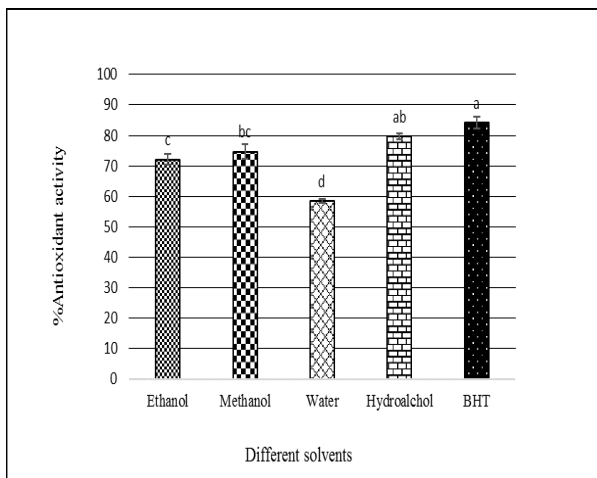


Fig 2 Free radical scavenging of ethanolic, methanolic, aqueous and hydroalcoholic extracts of *Postia puberula* compared with BHT by DPPH assays. The values presented are mean \pm SD (n=3). Different letters indicate significant differences at $P < 0.05$ among treatments.

۳-۱-۲- روش بتا کاروتن-لینولئیک اسید

بررسی نتایج حاصل از مقایسه میانگین عصاره‌های مختلف نشان داد که بالاترین قدرت آنتی اکسیدانی مربوط به عصاره

تهیه شد برای هر محلول سه لوله آزمایش آماده شد و در هر لوله ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره‌ها یا گالیک اسید با ۱۵۰۰ میکرولیتر Folin-Ciocaltue ۰/۱ رقیق شده و ۱۰۰۰ میکرولیتر آب مقطر مخلوط شد، بعد از یک دقیقه ۱۵۰۰ میکرولیتر محلول سدیم کربنات ۲۰٪ اضافه شد در ادامه نمونه‌ها به مدت دو ساعت به مکانی تاریک در دمای اتاق منتقل شدند و سپس جذب آن‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه میکروپلیت‌ریدر قرائت گردید [۱۲]، در نهایت میزان فنل موجود در عصاره‌ها با استفاده از معادله حاصل از نمودار استاندارد، برحسب میکروگرم گالیک اسید بر میلی گرم وزن خشک عصاره گزارش شد.

Absorbance: 0.0021 Gallic acid (μ g) + 0.0022
($r^2 = 0.987$)

۲-۵- سنجش ترکیبات فلاونویدی

جهت اندازه‌گیری ترکیبات فلاونویدی از کلرید آلومینیوم به عنوان معرف و از کوثرسیتین به عنوان استاندارد استفاده شد. از عصاره‌های مختلف محلول‌هایی با غلظت ۲ میلی گرم بر میلی لیتر تهیه گردید، و از کوثرسیتین محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف تهیه شد، سپس برای هر محلول سه لوله آزمایش آماده گردید و در هر لوله ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره مورد نظر با ۱۵۰۰ میکرولیتر متانول، ۱۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰٪، ۱۰۰ میکرولیتر استات پتاسیم یک مولار و ۲۸۰۰ میکرولیتر آب مقطر مخلوط شد، نمونه‌ها به مدت ۴۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفتند سپس جذب آن‌ها با استفاده از دستگاه میکروپلیت‌ریدر در طول موج ۴۲۰ نانومتر قرائت گردید [۱۳]. در نهایت میزان فلاونوید موجود در عصاره‌ها با استفاده از معادله حاصل از نمودار استاندارد، برحسب میکروگرم کوثرسیتین بر میلی گرم وزن خشک عصاره گزارش شد.

Absorbance: 0.0091 quercetin (μ g) + 0.0206
($r^2 = 0.995$)

۲-۶- مطالعات آماری

کلیه آزمایش‌ها به صورت یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار کاملاً مستقل انجام شد، تعیین سطح معنادار بودن تفاوت‌ها از طریق تجزیه واریانس یک طرفه در بسته نرم‌افزاری Mini Tab، نسخه ۱۶ با آزمون Tukey مورد بررسی قرار گرفت. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

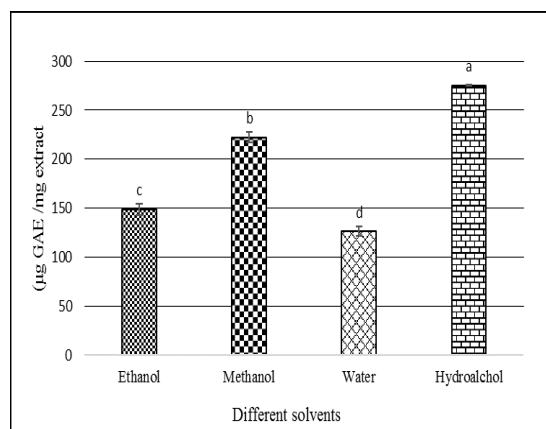


Fig 4 Phenol contents of ethanolic, methanolic, aqueous and hydroalcoholic extracts of *Postia puberula*. The values presented are mean \pm SD (n=3). Different letters indicate significant differences at $P < 0.05$ among treatments.

۳-۳-سنجش فلاونوئید

نتایج حاصل از مقایسه میانگین عصاره‌های مختلف نشان داد که عصاره‌های اتانولی و متانولی در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم دارند، تفاوت عصاره‌های هیدروالکلی و آبی نیز معنی‌دار است. بیشترین میزان فلاونوئید در عصاره اتانولی و کم‌ترین مقدار آن در عصاره هیدروالکلی مشاهده شد. ترتیب محتوای ترکیبات فلاونوئیدی عصاره‌های مختلف به صورت زیر است:

عصاره هیدروالکلی > عصاره آبی > عصاره متانولی > عصاره اتانولی (شکل ۵ و جدول ۱).

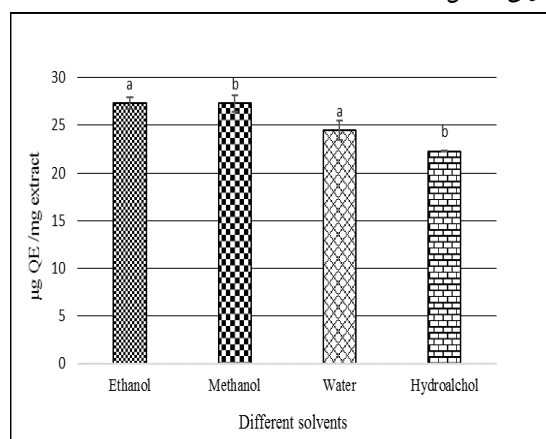


Fig 5 Flavonoid content of ethanolic, methanolic, aqueous and hydroalcoholic extracts of *Postia puberula*. The values presented are mean \pm SD (n=3). Different letters indicate significant differences at $P < 0.05$ among treatments.

هیدروالکلی و کم‌ترین قدرت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصاره متانولی است. نتایج نشان داد که تفاوت قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی، آبی و هیدروالکلی معنی‌دار است، همچنین عصاره اتانولی تفاوت معنی‌داری با عصاره هیدروالکلی دارد اما تفاوتش با عصاره متانولی و آبی معنی‌دار نیست. قدرت آنتی‌اکسیدانی BHT تفاوت معنی‌داری با عصاره‌های متانولی و هیدروالکلی دارد اما تفاوتش با عصاره‌های اتانولی و آبی معنی‌دار نیست. ترتیب قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف و شاهد BHT، به صورت زیر است.

عصاره متانولی > عصاره اتانولی > BHT > عصاره آبی > عصاره هیدروالکلی (شکل ۳ و جدول ۱).

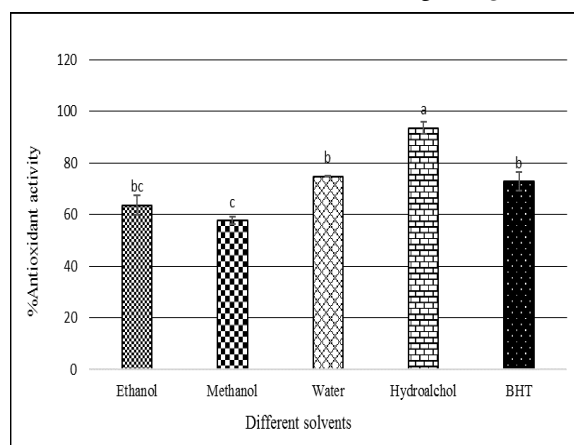


Fig 3 Antioxidant activity of ethanolic, methanolic, aqueous and hydroalcoholic extracts of *Postia puberula* compared with BHT by β -carotene-linoleic acid assay. The values presented are mean \pm SD (n=3). Different letters indicate significant differences at $P < 0.05$ among treatments.

۳-۲-سنجش فنل

نتایج این بررسی نشان داد که میزان فنل عصاره هیدروالکلی از سایر عصاره‌ها بیشتر است و تفاوت آن با سایر عصاره‌ها در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار است، کم‌ترین میزان فنل نیز در عصاره آبی مشاهده شد. محتوای ترکیبات فنلی همه عصاره‌ها در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم دارند. ترتیب محتوای ترکیبات فنلی عصاره‌های مختلف به صورت زیر است:

(عصاره آبی > عصاره اتانولی > عصاره متانولی > عصاره هیدروالکلی) (شکل ۴ و جدول ۱).

Table 1 Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of different solvents of *Postia puberula*

	Antioxidant activity		Phenol ($\mu\text{g GAE}$ /mg extract)	Flavonoid ($\mu\text{g QE}$ /mg extract)
	DPPH (%Inhabitation)	% β -carotene linoleic acid		
Ethanol	72.07 ± 1.86^c	63.65 ± 3.81^{bc}	149.1 ± 5.64^c	27.33 ± 0.65^a
Methanol	74.63 ± 2.43^{bc}	57.75 ± 1.33^c	222.5 ± 1.33^b	27.3 ± 0.86^b
Water	58.49 ± 0.76^d	74.85 ± 0.06^b	126.3 ± 4.92^d	24.49 ± 1.01^a
Hydroalcohol	79.58 ± 0.94^{ab}	93.58 ± 2.3^a	126.3 ± 0.41^a	22.28 ± 0.03^b
BHT	84.25 ± 1.84^a	72.92 ± 3.68^b		

Same letter indices have not statistically significant \pm standard error (n = 3; p > 0.05)

۴- بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که با تغییر نوع حلال، قدرت آنتی اکسیدانی گیاه نیز تغییر می کند به طوری که قدرت آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی از سایر عصاره ها بالاتر است. در تحقیق مشابهی که توسط Medini و همکاران در سال ۲۰۱۴ روی گیاه *Limonium delicatulum* صورت گرفت تأثیر حلال بر قدرت آنتی اکسیدانی تأیید شد به طوری که قدرت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی از سایر عصاره ها بالاتر گزارش شده است [۶]. همچنین نتایج حاصل از مطالعات انجام شده روی *Limnophila aromatic* توسط DO و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان داد که قدرت آنتی اکسیدانی عصاره آبی گیاه از سایر عصاره های مورد مطالعه بیشتر است [۱۴]. Hossain و همکاران در سال ۲۰۱۵ بیان کردند که قدرت آنتی اکسیدانی گیاهان ممکن است تحت تأثیر نوع حلال مورد استفاده قرارگیرد و بیشترین قدرت آنتی اکسیدانی در مطالعه آن ها که روی گیاه *Merremia borneensis* صورت گرفت مربوط به عصاره هیدروالکلی بود [۱۵]. در روش بتا کاروتن لینولئیک اسید در پژوهش حاضر قدرت آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی از سایر عصاره ها و حتی BHT نیز بالاتر بود. قدرت آنتی اکسیدانی عصاره آبی نیز از BHT بالاتر بود اما سایر عصاره ها نسبت به BHT قدرت آنتی اکسیدانی پایین تری را نشان دادند، این نتایج تأثیر نوع حلال بر قدرت آنتی اکسیدانی را تأیید کرد، این نتایج با نتایج حاصل از پژوهش های انجام شده توسط Medini و همکاران در سال ۲۰۱۴ روی گیاه *Limonium delicatulum* مطابقت داشت [۶]. از این نظر که نتایج تحقیق آن ها نیز نوع حلال را بر قدرت آنتی اکسیدانی موثر دانسته به طوری که قدرت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی از سایر عصاره ها بالاتر گزارش شده است.

همچنین Hossain و همکاران در سال ۲۰۱۵ بیان کردند که قدرت آنتی اکسیدانی گیاهان ممکن است تحت تأثیر نوع حلال مورد استفاده قرار گیرد [۱۵] به طوری که بیشترین قدرت آنتی اکسیدانی در مطالعه آن ها مربوط به عصاره هیدروالکلی بود. نتایج این پژوهش نشان داد که میزان فنل در عصاره هیدروالکلی از سایر عصاره ها بالاتر است و نوع حلال مورد استفاده در عصاره گیری بر میزان فنل مؤثر بوده است. این نتایج با نتایج مطالعاتی که توسط فاضلی نسب و همکاران در سال ۱۳۹۸، Medini و همکاران در سال ۲۰۱۴، Hamady Roby و همکاران در سال ۲۰۱۳، DO و همکاران در سال ۲۰۱۴، Hossain و همکاران در سال ۲۰۱۵ و نیز گواهی و همکاران در سال ۱۳۹۸ مشابهت دارد، از این نظر که در همه مطالعات مذکور، نوع حلال بر میزان فنل اثرگذار بوده است، [۱، ۶، ۱۴، ۱۶، ۱۷]. در این مطالعه مشخص شد که میزان فلاونوئید در عصاره اتانولی از سایر عصاره ها بالاتر است و نوع حلال مورد استفاده در عصاره گیری بر میزان فلاونوئید اثرگذار است. نتایج حاصل از پژوهش حاضر با بررسی های انجام شده توسط فاضلی نسب و همکاران در سال ۱۳۹۸، Medini و همکاران در سال ۲۰۱۴، DO و همکاران در سال ۲۰۱۴، Hossain و همکاران در سال ۲۰۱۵، گواهی و همکاران در سال ۱۳۹۸ و نیز Jamzad و همکاران در سال ۲۰۱۳ مشابهت دارد زیرا در همه این پژوهش ها نوع حلال مورد استفاده در عصاره گیری بر میزان فلاونوئید اثرگذار بوده است [۱، ۶، ۱۴، ۱۶-۱۸].

بدیهی است که ارزش غذایی، خواص دارویی و قدرت آنتی اکسیدانی گیاهان به ترکیبات موجود در گیاه بستگی دارد که از جمله مهم ترین این ترکیبات می توان به فنل ها و فلاونوئیدها اشاره کرد. استخراج ترکیبات فنلی از مواد گیاهی تحت تأثیر

۵- سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه لرستان به دلیل حمایت مالی از انجام این پژوهش تشکر می‌کنند.

۶- منابع

- [1] Fazeli-nasab, B., Moshtaghi, N., & Forouzandeh, M. (2019). Effect of solvent extraction on phenol, flavonoids and antioxidant activity of some Iranian native herbs. *Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences*, 27(3), 14-26. (In Persian).
- [2] Esmailzadeh Bahabadi, S., & Yosefzaei, F. (2018). Effect of different solvents on extraction of phenolic and flavonoid compounds and antioxidant activity of *Citrullus colocynthis*. *Food Science and Technology*, 74(15), 313-320. (In Persian).
- [3] Kiokias, S., Varzakas, T., & Oreopoulou, V. (2008). In vitro activity of vitamins, flavonoids, and natural phenolic antioxidants against the oxidative deterioration of oil-based systems. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48, 78-93.
- [4] Shahidi, F. and Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820-897.
- [5] Del Bano, M. J., Lorente, J., Castillo, J., Benavente-García, O., Del Rio, J. A., Ortuño, A., ... & Gerard, D. (2003). Phenolic diterpenes, flavones, and rosmarinic acid distribution during the development of leaves, flowers, stems, and roots of *Rosmarinus officinalis*. Antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(15), 4247-4253.
- [6] Medini, F.; Fellah, H.; Ksouri, R.; Abdelly, C. (2014) Total phenolic, flavonoid and tannin contents and antioxidant and antimicrobial activities of organic extracts of shoots of the plant *Limonium delicatulum*. *Journal of Taibah University for Science* 8(3) 216-224, 2014.
- [7] Tomson, L., Kruma, Z., & Galoburda, R. (2012). Comparison of different solvents and extraction methods for isolation of phenolic

حلالیت در حلال‌های عصاره‌گیری، نوع حلال، درجه قطبیت فنل‌ها، تعاملات فنل‌ها با دیگر ترکیبات و شکل‌گیری کمپلکس‌های نامحلول است [۶ و ۱۹]. تفاوت در قطبیت حلال‌ها و استخراج آنتی اکسیدان‌ها ممکن است تفاوت بین بازده عصاره‌ها و فعالیت آنتی اکسیدانی را توضیح دهد. علاوه بر این درجه قطبیت نقش کلیدی را در حلالیت ترکیبات فنلی ایفا می‌کند [۶ و ۲۰]. بنابراین تعریف یک روش استاندارد برای استخراج فنل‌های گیاهی دشوار است. حلال‌های کم‌تر قطبی عموماً برای استخراج فنل‌های لیپوفیلیک و حلال‌های قطبی برای فنل‌های هیدروفیلیک، مناسب در نظر گرفته می‌شوند [۶ و ۲۱]. فعالیت آنتی اکسیدانی گیاهان از فنل‌های آن‌ها مشتق می‌شود، فنل‌ها از لحاظ ساختاری از یک حلقه آروماتیک، یک و یا بیشتر از یک استخلاف هیدروکسیل تشکیل شده‌اند. فعالیت آنتی اکسیدانی این مولکول‌ها ناشی از توانایی آن‌ها برای جاروب کردن رادیکال‌های آزاد، دادن اتم‌های هیدروژن یا الکترون یا کلات کردن کاتیون‌های فلزی است [۶ و ۲۲].

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در هر دو روش مربوط به عصاره هیدروالکلی است، بیشترین میزان فنل نیز مربوط به عصاره هیدروالکلی است اما بیشترین میزان فلاونوئید در عصاره اتانولی مشاهده شد. این نتایج و همچنین نتایج حاصل از پژوهش‌هایی که در بالا بیان شد در وهله اول نشان می‌دهد که نوع حلال مورد استفاده بر قدرت آنتی اکسیدانی و میزان فنل و فلاونوئید مؤثر است و همین‌طور ارتباط مستقیمی بین قدرت آنتی اکسیدانی و میزان ترکیبات فنلی وجود دارد در نتیجه قدرت بالای آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی احتمالاً در ارتباط با ترکیبات فنلی آن است، برخی از مطالعات، رابطه مستقیمی بین میزان فنل و فلاونوئید و قدرت آنتی اکسیدانی را نشان داده‌اند اما در برخی موارد نیز رابطه مستقیمی بین قدرت آنتی اکسیدانی و میزان فنل و فلاونوئید وجود ندارد، این نتایج بیان می‌کند که گیاهان دارای ترکیبات متعددی هستند که هر کدام دارای ساختاری متفاوت می‌باشند. استخراج این ترکیبات به یکسری عوامل بستگی دارد که یکی از مهم‌ترین آن‌ها نوع حلال و روش استخراج است. انتخاب حلال برای هر دسته از ترکیبات گیاهی بسیار مشکل خواهد بود؛ زیرا همراه با این ترکیبات، مواد دیگری نیز وجود دارد که بر درجه حلالیت این مواد تأثیرگذار است [۱۶ و ۲۳].

- compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops and Products*, 43, 827– 831.
- [17] Govahi, M., Ghorbani, F., Ranjbar, M., Rahaiee, S., & Azizi, H. (2019). Evaluation of antioxidant and antibacterial activity, and determination of phenolic and flavonoid content of aqueous and methanolic extracts of *Scutellaria peginensis*. *Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences*, 27(3), 91-100. . (In Persian).
- [18] Jamzad, M.; Hafez-Taghva, P.; Kazembakgloo, A.; Jamzad, Z. (2014). Chemical composition of essential oil, total flavonoid content and antioxidant activity of *Salvia dracocephaloides* Boiss. from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 17(6), 1203-1210, 2014.
- [19] Gálvez, M., Martín-Cordero, C., Houghton, P. J., & Ayuso, M. J. (2005). Antioxidant activity of methanol extracts obtained from *Plantago* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1927-1933.
- [20] Naczka, M., & Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(5), 1523-1542.
- [21] Alothman, M., Bhat, R., & Karim, A. A. (2009). Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry*, 115(3), 785-788.
- [22] Amarowicz, R., Pegg, R. B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., & Weil, J. A. (2004). Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, 84(4), 551-562.
- [23] Samsamshariat SH. Extraction of effective components of herbal medicine determination and evaluation methods. 1th ed. Mani Pres Esfahan Publication. (1993). Iran P.12 -3 (In Persian).
- compounds from horseradish roots (*Armoracia rusticana*). *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 64, 903-908.
- [8] Nazzaro, M., Mottola, M. V., La Cara, F., Del Monaco, G., Aquino, R. P., & Volpe, M. G. (2012). Extraction and characterization of biomolecules from agricultural wastes. *Chemical Engineering Transactions*, 12, 1164-1169.
- [9] Ghahraman, A. (1993). *Cromophytes of Iran (Plant Systematics)*, Volume II, Tehran University Press (In Persian).
- [10] Tepe, B.; Sokmen, M.; Akpulat, H.A.; Sokmen, A. (2006). Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey, *Food Chemistry*, 97, 200-204.
- [11] Li, X.; Wang, Z. (2009) Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil in leaves of *Salvia miltiorrhiza* Bunge, *Journal of Essential Oil Research*, 5, 476-488,.
- [12] Amiri, H. (2009). The in vitro antioxidative properties of the essential oils and methanol extracts of *Satureja macrosiphonia* Bornm. *J. Natural. Product. Research*. 25, 232-243.
- [13] Karamian, R.; Azizi, A.; Asadbegy, M; Pakzad, R. (2014) Essential oil composition and antioxidant activity of the methanol extracts of three *Phlomis* species from Iran. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 4, 343-353.
- [14] Do, Q.D.; Angkawijaya, A.E.; Tran-Nguyen, P.L.; Huynh, L.H.; Soetaredjo, F.E.; Ismadji, S. and Ju, Y.H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of food and drug analysis* 22(3) 296-302
- [15] Hossain, M. A., Shah, M. D. (2015). A study on the total phenols content and antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of endemic plant *Merremia borneensis*. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(1), 66-71.
- [16] Hamedy Roby, M.H.; Sarhan, M.A.; Selim, Kh.A.H.; Khalel, Kh.I. (2013). Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic



The effect of extraction solvent on antioxidant activity, total phenol content and total flavonoid content of *Postia puberula*

Hemmati Hassan Gavyar, P.¹, Amiri, H.^{1*}

1. Department of Biology, Faculty of Science, Lorestan University, Khoram-Abad, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p>Article History:</p> <p>Received 2020/ 04/ 07 Accepted 2021/ 01/ 11</p> <p>Keywords:</p> <p>DPPH, β-carotene/linoleic, Phenol content, Flavonoid content, Different solvents.</p> <p>DOI: 10.52547/fsct.18.04.02</p> <p>*Corresponding Author E-Mail: amiri_h_lu@yahoo.com</p>	<p>This study was carried out to evaluation of solvent type on antioxidant potential and phenol and flavonoid contents of <i>Postia puberula</i> belonging to the Astraceae family. Ethanolic, methanolic, aqueous and hydroalcoholic extracts were prepared for evaluation of the antioxidant activities and phenol and flavonoids contents. The antioxidant effects were tested by two methods, 2,2-diphenyl 1-picryl hydrazyl (DPPH) and beta-carotene-linoleic acid. Gallic acid and quercetin were used as controls for phenolic and flavonoid compounds, respectively. The results showed that the solvent type could be effective on antioxidant activity, phenol and flavonoid content, so that the hydroalcoholic extract had the highest antioxidant activity in both methods, also, the highest phenol and flavonoid contents were observed in the hydroalcoholic and ethanolic extracts, respectively.</p>