Downloaded from nbr.khu.ac.ir at 15:46 IRST on Monday January 21st 2019

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فلاونوئیدی و فنلی عصاره‌های اتانولی، آبی، استونی و متانولی سیزده گیاه دارویی

ایوب مزارعی، سید محسن موسوی نیک و لیلا فهمیده*

دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۲۳/ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۱۰/ چاپ: ۱۳۹۶/۱۲/۲۸

گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه زابل، زابل، ایران
*مسئول مکاتبات: l.fahmideh@uoz.ac.ir

چکیده. ترکیبات فنولیک، به‌ویژه آنهایی که منشأ گیاهی دارند به‌دلیل ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، بخش اساسی رژیم غذایی انسان را تشکیل می‌دهند. آنتی‌اکسیدان‌ها قادرند سیستم‌های زیستی (اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها، لیپیدها و لیپوپروتئین‌ها) دربرابر رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن محافظت کنند. برخی گیاهان دارویی حاوی مقادیر زیادی از آنتی‌اکسیدان‌ها هستند که مصرف آنها می‌تواند بر سلامتی انسان مؤثر باشد. هدف این تحقیق، بررسی تأثیر روش استخراج غرقابی بر میزان استخراج ترکیب‌های فنلی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی سیزده گیاه دارویی (آویشن شیرازی، کلپوره همدانی، بومادران شیرازی، بومادران، آویشن کوهی، بنه، برنجاسف، کاکوتی، درمنه، بابونه، زعفران، زوفا و افسنطین) در چهار حلال استخراجی (آب، متانول، استون و اتانول) است. براساس نتایج این تحقیق حلال متانولی بیشترین و حلال آبی کمترین میزان ترکیب‌های فنولی، فلاونوئیدی و قدرت مهار رادیکال‌های آزاد را نشان داد. براساس نتایج، میزان فنول و فلاونوئید در عصارهٔ متانولی گیاه آویشن شیرازی بیشترین و در عصارهٔ آبی گیاه افسنطین کمترین مقدار بوده است. نتایج آزمون به‌دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) نشان داد که بیشترین و کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌ترتیب در عصارهٔ متانولی گیاه آویشن شیرازی و عصارهٔ آبی گیاه افسنطین بود؛ بنابراین، می‌توان گفت انتخاب نوع حلال تأثیر زیادی بر میزان استخراج ترکیب‌های فنلی، فلاونوئیدی و مهار رادیکال‌های آزاد دارد.

واژه‌های کلیدی. آویشن شیرازی، استخراج غرقابی، افسنطین، رادیکال‌های آزاد

Assessments of phenolic, flavonoid and antioxidant activity of aqueous, alcoholic, methanol and acetone extracts of thirteen medicinal plants

Ayoub Mazarie, Seyed Mohsen Mousavi-Nik & Leila Fahmideh*
Received 11.02.2017/ Accepted 31.12.2017/ Published 19.03.2018

Department of Plant Breeding and Biotechnology, Agriculture Faculty, University of Zabol, Zabol, Iran
*Correspondent author: l.fahmideh@uoz.ac.ir

Abstract. Phenolic compounds, especially those with plant origin, constitute an essential part of the human diet due to their antioxidant properties. Antioxidants protect biological systems (nucleic acids, proteins, lipids, lipoproteins) against free radicals and reactive oxygen species. Some medicinal plants contain so high amounts of antioxidants that their use can be considerably effective for human health. The aim of this study was to evaluate the effect of flooding extraction method on phenolic compounds, flavonoids and the level of free radical scavenging properties of medicinal plants including Thyme, Hamadani Yarrow, Shirazi mountain thyme, Yarrow, Chamomile, Saffron corm hyssop Sagebrush, wormwood, *Artemisia* and *Ziziphora clinopodioiedes*, in four extraction solvents including water, methanol, acetone and ethanol. The results showed that methanol and water solvents had the highest and the lowest total phenolic, flavonoid and antioxidant activity, respectively. The results also showed that methanol extraction of Shirazi thyme and water extraction of Wormwood plant had the highest and the lowest phenol and flavonoids contents, respectively. The results of trapping the free radicals of DPPH indicated that the methanol extract of Shirazi thyme and aqueous extract of wormwood had the highest and the lowest inhibition activities, respectively. Therefore, the selection of solvent type can affect the rate of the extraction of phenolic compounds, flavonoids and antioxidant activity.

Keywords *Artemisia absinthium*, flooding extraction, free radicals, *Zataria multiflora*

.

Downloaded from nbr.khu.ac.ir at 15:46 IRST on Monday January 21st 2019

مقدمه

ترکیبات فنلی به فنل‌های ساده، اسیدهای فنلی، مشتقات هیدروکسی سینامیک و فلاونوئیدها طبقه بندی می‌شوند. محققان عملکرد بسیاری از ترکیبات فنلی به‌منزلهٔ ترکیبات آنتی‌اکسیدان قوی گزارش کرده‌اند (Serrano *et al*., 2006). به‌دلیل ویژگی‌های سلامتی‌بخش آنتی‌اکسیدان‌ها و نقش آنها در پیش‌گیری از بیماری‌ها، علاقه محققان به بررسی حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در محصولات کشاورزی به‌ویژه میوه‌ها و سبزیجات به‌طور چشم‌گیری افزایش یافته است. افزودن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در برخی محصولات به‌منظور جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها باعث افزایش زمان ماندگاری آنها می‌شود و از فرایند اکسیداسیون، که از عوامل بیماری‌هایی همچون سرطان است، پیشگیری و از این طریق بر سلامت انسان تأثیر می‌گذارند (Shi *et al*., 2005).

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیب‌هایی هستند که با جذب رادیکال آزاد و ممانعت از ادامهٔ اکسیداسیون، از فساد، تغییر رنگ یا تُند شدن لیپیدها جلوگیری می‌کنند. به‌خصوص آنتی‌اکسیدان‌هایی که بنیان حلقوی فنلی حاوی گروه OH را دارا هستند، نقش مهمی در جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدها دارند (Mahdavi *et al*., 1995). به‌عبارتی، آنتی‌اکسیدان‌ها در غلظت پایین اکسیداسیون لیپیدها را به‌تأخیر می‌اندازند یا مانع آن می‌شوند (Choe & Min, 2009; Kamkar *et al*., 2010). اخیراً عوارض نامطلوبی از مصرف آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی گزارش شده است، به‌طوری‌که در حیوانات آزمایشگاهی باعث سرطان‌زایی و آسیب کبدی شده است (Hwang *et al*., 2001)؛ بنابراین، جست‌وجو برای جایگزینی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی به بررسی آنتی‌اکسیدان‌های متعددی از منابع گیاهی منجر شده است. مطالعات نشان داده است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی بعضی از میوه‌ها و سبزیجات به مقدار کل ترکیب‌های فنلی آنها بستگی دارد (Mour *et al*., 2001). فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیب‌های فنلی در گیاهان عمدتاً به‌دلیل ویژگی‌های اکسایش-کاهش و ساختار شیمیایی آنهاست که نقش مهمی را در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، فلزات انتقالی و مولکول‌های اکسیژن یگانه و سه‌گانه بازی می‌کنند. این ویژگی‌ها با تأثیرات مفید آنتی‌اکسیدان‌های فنلی روی سلامت ارتباط دارند که به‌دلیل تأثیرات بازدارندگی‌شان درمقابل پیشرفت بسیاری از بیماری‌های وابسته به تنش-اکسایش، همچون بیماری‌های قلبی-عروقی، سندرم رودهٔ التهابی و بیماری آلزایمر است (Ahmadi *et al*., 2007).

فرایندهای استخراج ترکیبات فنلی، عامل اصلی در ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهان است و تغییرپذیری ناشی از فرایند استخراج به تفاوت در پیوندهای درونی این ترکیبات و به خصوص به قطبیت مولکول‌های تشکیل دهنده حلال بستگی دارد. به‌همین‌جهت در فرایند استخراج عواملی چون حلال و زمان استخراج بسیار مهم هستند (Hayouni *et al*., 2007)، اما دما، قدرت استخراج‌کنندگی حلال، زمان و روش استفاده‌شده برای استخراج عصاره را بسیار تحت تاثیر قرار می‌دهند (Betancourt, 2008).

هدف از انجام این تحقیق بررسی تأثیر حلال‌های آبی، اتانولی، استونی و متانولی بر میزان فنل، فلاونوئید و خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آویشن شیرازی، کلپوره همدانی، بومادران شیرازی، بومادارن، آویشن کوهی، بنه، برنجاسف، کاکوتی، درمنه، بابونه، زعفران، زوفا و افسنطین در محیط آزمایشگاهی است.

مواد و روش ها

در این مطالعه نمونه‌های گیاهی مورد نظر (جدول ۱) از مناطق مختلف جمع‌آوری شد و برای انجام آزمایش‌های مورد نظر به پژوهشگاه زیست‌فناوری دانشگاه زابل منتقل شد. به‌منظور تهیهٔ عصاره‌های آبی، اتانولی، استونی و متانولی (۷۶درصد) قسمت‌های مطالعهٔ گیاهان در سایه خشک و سپس با آسیاب به‌صورت پودر درآمد. عصاره‌گیری به‌روش خیساندن انجام شد. برای این منظور، ابتدا پنج گرم از تمام نمونه‌های گیاهی با ترازوی دیجیتالی وزن و به نسبت یک به ده در حلال‌های مورد نظر ریخته شد و پس از گذشت ۴۸ ساعت در دمای محیط روی شیکر عمل فیلتراسیون با استفاده از کاغذ صافی واتمن شمارهٔ یک و قیف ۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد منتقل شدند تا باقیمانده حلال حذف شود و رسوب خشک شده هریک از حلال ها بدست آمد. پس از خشک شدن، عصاره‌ها به وسیله تیغه فلزی از روی سطح پلیت‌های شیشه‌ای خراش داده شد و پودر حاصله در ظروف شیشه‌ای تیره‌رنگ تا زمان انجام آزمایش‌های بعدی در یخچال با دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند (Ebrahimzadeh *et al*., 2008).

تعیین میزان فنل کل: مقادیر فنل کل با روش فولین سیوکالتیو

Downloaded from nbr.khu.ac.ir at 15:46 IRST on Monday January 21st 2019

جدول ۱- اسامی گیاهان مورد استفاده.

Table 1. List of the used plants.

ردیف Row	نام فارسی Persian name	قست مورد استفاده used parts	تیره Family	نام علمی scientific name	منطقه جمع آوری the region gather
۱	افسنطین	برگ، سرشاخه های گلدار	Asteraceae	*Artemisia absinthium* L.	خراسان جنوبی- قاین
۲	اویشن شیرازی	برگ	Lamiaceae	*Zataria multiflora* Boiss.	فارس- فراشبند
۳	اویشن کوهی	برگ	Lamiaceae	*Thymus vulgaris* L.	سیستان و بلوچستان- سراوان
۴	بابونه	گل	Asteraceae	*Matricaria chamomilla* L.	خراسان جنوبی- قاین
۵	برنجاسف	اندم های هوایی	Asteraceae	*Artemisia vulgaris* L.	سیستان و بلوچستان- سراوان
۶	بنه	میوه	Anacardiaceae	*Pistacia atlantica* Desf.	کرمان- جیرفت
۷	بومادران	س‌رشاخه های گل دار	Asteraceae	*Achillea wilhelmsii* C. Koch	خراسان جنوبی- قاین
۸	بومادران شیرازی	سرشاخه های گل دار	Asteraceae	*Achillea eriophora* Boiss.	فارس- فراشبند
۹	درمنه	سرشاخه های برگ دار	Asteraceae	*Artemisia aucheri* L.	سیستان و بلوچستان- سراوان
۱۰	زعفران	گلبرگ	Iridaceae	*Crocus sativus* L.	خراسان رضوی- گناباد
۱۱	زوفا	برگ، سرشاخه های گلدار	Lamiaceae	*Hyssopus Officinalis* L.	خراسان جنوبی- قاین
۱۲	کاکوتی	برگ و شاخه	Lamiaceae	*Ziziphora clinopodioids* Lam.	خراسان رضوی- کاشمر
۱۳	کلپوره همدانی	برگ	Lamiaceae	*Teucrium polium* L.	فارس- فراشبند

اندازه‌گیری شد (Ordone, *et al*., 2008). عصاره با غلظت ۱ به ۱۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از هر عصاره با ۲۵ میلی‌لیتر واکنشگر ۰/۲ نرمال فولین سیوکالتیو مخلوط و به‌مدت ۵ دقیقه هم زده شد. سپس، ۲ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم ۲۰ درصد (۲۰ گرم نمک کربنات سدیم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب حل شد تا محلول ۲۰درصد کربنات سدیم تهیه شود) اضافه شد. جذب نمونه‌ها پس از ۲ ساعت قراردادن نمونه‌ها در دمای اتاق با دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۷۶۰ نانومتر در مقابل بلانک (متانولی، اتانولی، ،آبی و استونی) اندازه‌گیری شد. مقادیر فنل کل عصاره با استفاده از منحنی استاندارد براساس میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره اندازه‌گیری شد.

تعیین محتوای فلاونوئیدی عصاره: میزان محتوای فلاونوئید عصاره با روش رنگ‌سنجی ارزیابی شد (Chang *et al*., 2002). عصاره با غلظت ۱۰ mg/ml تهیه شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره در ۱/۵ میلی‌لیتر متانول حل و ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد به آن اضافه شد. سپس، ۰/۱ میلی‌لیتر محلول پتاسیم استات ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر به این مخلوط اضافه شد و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. جذب مخلوط حاصل در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. میزان فلاونوئید با استفاده از منحنی استاندارد براساس میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره گزارش شد.

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی: ۲و۲- دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) یک ترکیب رادیکالی پایدار با رنگ بنفش است که با احیاشدن توسط عناصرالکتروندهنده یا هیدروژن (ترکیبات آنتی‌اکسیدانی) به دی فنیل پیکرین هیدرازیل زرد رنگ تبدیل می‌شود. توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون توسط ترکیبات و عصاره‌های مختلف در این آزمون با میزان بی‌رنگ-کردن یا کاهش میزان جذب نوری محلول بنفش DPPH در متانول سنجیده می‌شود. بدین‌ترتیب که ۵۰ میکرولیتر از عصاره، با ۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۰۴ درصد DPPH حل‌شده در متانول مخلوط شد. بعد از ۳۰ دقیقه گرم‌خانه‌گذاری در دمای اتاق، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با استفاده از فرمول ذیل محاسبه شد.

$$Sc (\%) = [(A0-As)/A0] \times 100$$

A0=جذب کنترل (حاوی تمامی واکنشگرها به غیر از نمونهٔ آزمایش)

As = جذب نمونهٔ آزمایش

Sc% = درصد مهار رادیکال آزاد (Burits & Bucar, 2000).

تجزیه و تحلیل آماری: این آزمایش به‌صورت فاکتوریل درقالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای این آزمایش شامل تعداد گیاه (۱۳ سطح) و انواع حلال (۴ سطح) بودند. پس از اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل، میزان به‌دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد و میزان ترکیبات فلاونوئیدی کل، تجزیهٔ

Downloaded from nbr.khu.ac.ir at 15:46 IRST on Monday January 21st 2019

واریانس و مقایسهٔ میانگین (با روش دانکن) با استفاده از نرم‌افزارهای EXCEL و SAS 9.1 انجام شد.

نتایج

براساس نتایج تجزیهٔ واریانس اثر نوع حلال، گیاه و اثر متقابل حلال در گیاه برای مقدار کل ترکیبات فنلی، فلاونوئید کل و مهار رادیکال‌های آزاد، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند (جدول ۲).

نتایج مقایسه میانگین

مقدار ترکیبات فنلی: با مقایسهٔ میانگین مقدار ترکیبات فنلی عصاره‌های حاصل از حلال‌های مختلف، بیشترین مقدار ترکیبات فنلی به‌ترتیب در عصاره‌های متانولی (۷۶درصد) و کمترین در حلال آبی مشاهده شد (شکل 1A). نتایج مقایسهٔ میانگین مقدار ترکیبات فنلی عصاره‌های حاصل از گیاهان مختلف در شکل 1B نشان می‌دهد که نوع گیاه استفاده شد. جهت استخراج تأثیر معنی‌داری (در سطح یک درصد) برمقدار ترکیبات فنلی دارد. در بین گیاهان بررسی شده، بیشترین مقدار ترکیبات فنلی به‌ترتیب در گیاهان آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*)، کلپوره همدانی (*Teucrium polium*)، بومادران شیرازی (*Achillea eriophora*)، بومادارن (*Achillea wilhelmsii*)، آویشن کوهی (*Thymus vulgaris*)، بنه (*Pistacia atlantica*)، برنجاسف (*Artemisia vulgaris*)، کاکوتی (*Ziziphora clinopo-dioids*)، درمنه (*Artemisia aucheri*)، بابونه (*Atricaria chamomilla*)، زعفران (*Crocus sativus*)، زوفا (*Hyssopus officinalis*)، و افسنطین (*Artemisia absinthium*) به‌دست آمد و ترکیبات فنلی از این نظر اختلاف معنی‌داری داشتند. بیشترین و کمترین مقدار ترکیبات فنلی به‌ترتیب مربوط به گیاه آویشن شیرازی و افسنطین بود.

در بررسی اثر متقابل حلال و گیاه (شکل ۲)، تیمار متانولی گیاه آویشن با میانگین ۰/۵۷± ۵۲/۴۸ (میلی گرم معادل اسید گالیک به گرم نمونهٔ خشک) بیشترین میزان استخراج ترکیب‌های فنلی را داشت و کمترین میزان استخراج ترکیبات فنلی نیز به تیمار حلال آبی گیاه افسنطین با میانگین ۰/۵±۳/۰۷ (میلی گرم معادل اسید گالیک به گرم نمونهٔ خشک) مربوط بود.

ترکیبات فلاونوئیدی: اثر نوع حلال به‌کاررفته در استخراج ترکیب‌های فلاونوئیدی در سطح احتمال یک درصد مؤثر و معنی‌دار بود، به‌طوری‌که حلال متانولی با میزان استخراج ۱۸۱/۵۴±۳/۰۴ (میلی‌گرم معادل کوئرستین به گرم نمونهٔ خشک) بیشترین قدرت استخراج‌کنندگی ترکیب‌های فلاونوئیدی را نسبت به بقیهٔ حلال‌ها داشته است. همچنین، کمترین قدرت استخراج مربوط به استفاده از آب با میزان استخراج ۴۴/۱۵±۲/۴۸ (میلی گرم معادل کوئرستین به گرم نمونه خشک) برای استخراج این دسته از ترکیب‌ها بوده است (شکل a -۳). نتایج بررسی‌ها نشان داد که میزان فلاونوئید در گیاهان تحت مطالعه ۲/۷ ± ۶۸/۴۰-۳/۱۳±۱۷/۳۲ بود. در این میان، گیاه افسنطین (*Artemisia absinthium*) کمترین و گیاه آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) بیشترین میزان را داشتند (شکل 3B).

اثر متقابل حلال و گیاه برمیزان استخراج فلاونوئید کل در شکل ۴ آمده است. عصارهٔ آبی گیاه *Artemisia absinthium* به ترتیب کمترین میزان استخراج و عصارهٔ متانولی گیاه *Zataria multiflora* بیشترین میزان استخراج را نسبت به بقیهٔ گیاهان بررسی‌شده داشتند.

میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی: نتایج مقایسهٔ میانگین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی حلال‌های مختلف نشان داد که نوع حلال به‌کاررفته تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهان مختلف داشت. در شکل ۶ اثر متقابل نوع حلال و گیاه نشان داده شده است. حلال آبی گیاه افسنطین کمترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و تیمارمتانولی گیاه آویشن شیرازی بیشترین میزان فعالیت را نسبت به سایرگیاهان تحت بررسی داشتند. عصاره‌های گیاهان مختلف داشت. در حلال‌های مورد بررسی، بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به ترتیب مربوط به حلال متانولی (٪۷۶) و حلال آبی بود (شکل 5A). با توجه به نتایج مقایسه میانگین فعالیت آنتی‌اکسیدانی شکل 5B مشخص شد که گیاه افسنطین (*Artemisia absinthium*) کمترین میزان و گیاه آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) بیشترین میزان به‌دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد را دارا بودند.

بحث

گیاهان ترکیبات متعددی دارند که ساختارهای گوناگونی را

Downloaded from nbr.khu.ac.ir at 15:46 IRST on Monday January 21st 2019

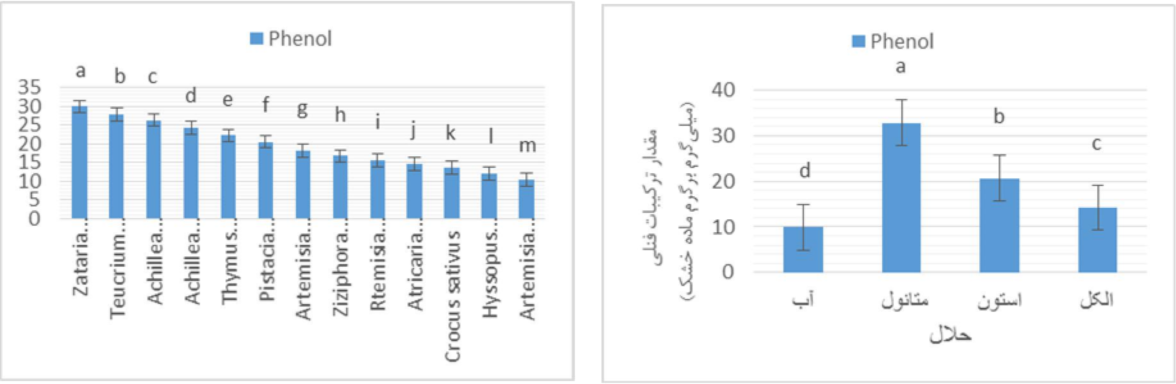
جدول ۲- تجزیه واریانس مقدار فنل کل، فلاونوئید و مهار رادیکال های آزاد.

Table 2. Analysis of variance of total phenolics, flavonoids and free radical scavenging.

منابع تغییر	درجه آزادی	فنل کل	فلاونوئید	DPPH
حلال	۳	۳۸۹۶/۵۰**	۱۳۴۴۸۲/۹**	۲۹۲۵۶/۶**
گیاه	۱۲	۴۷۴/۶**	۱۶۲۶۰/۹**	۴۸۴/۳۴**
حلال* گیاه	۳۶	۶۴/۲۱**	۵۱۷/۷۲**	۱۰/۹۰**
خطا	۱۰۴	۰/۳۸	۱/۷	۱/۶۸
ضریب تبیین		۰/۹۹	۰/۹۸	۰/۹۷
ضریب تغییرات		۳/۱۸	۲/۵۰	۲/۵۰

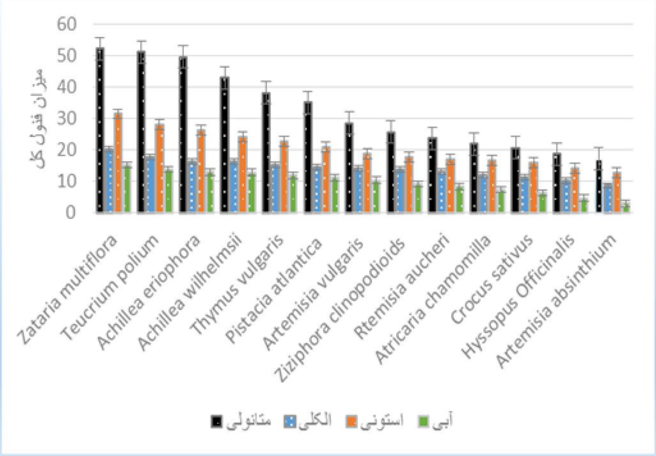
* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد و ns در سطح پنج درصد معنی‌دار نیست.

* and ** are significantly different in 5% and 1% respectively, and ns is not significantly different.



شکل ۱- A: تغییرات مقدار ترکیبات فنلی کل حاصل از حلال‌های مختلف، **B:** تغییرات مقدار ترکیبات فنلی کل حاصل از گیاهان.

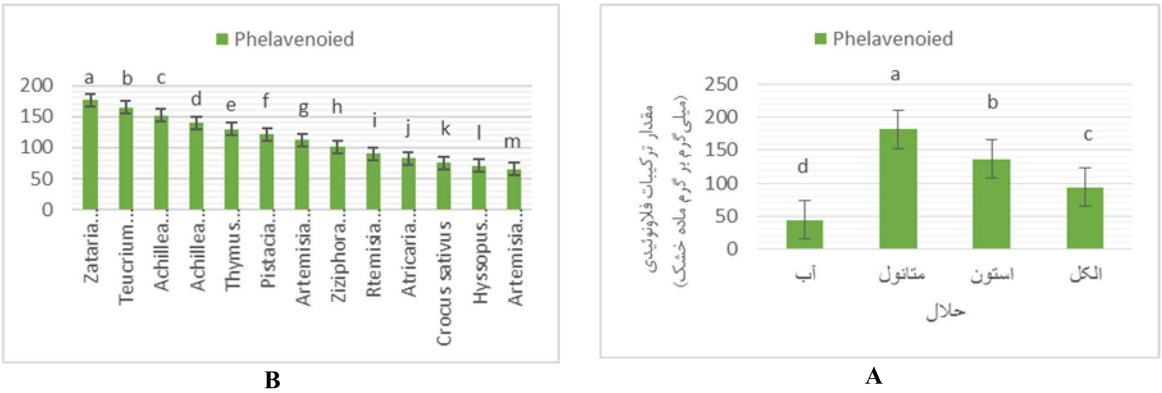
Fig. 1. A: Changes the amount of total phenolic compounds derived from various solvents, **B:** Change the value of total phenolic compounds derived from plants.



شکل ۲- اثرمتقابل حلال و گیاه بر مقدار ترکیبات فنلی کل

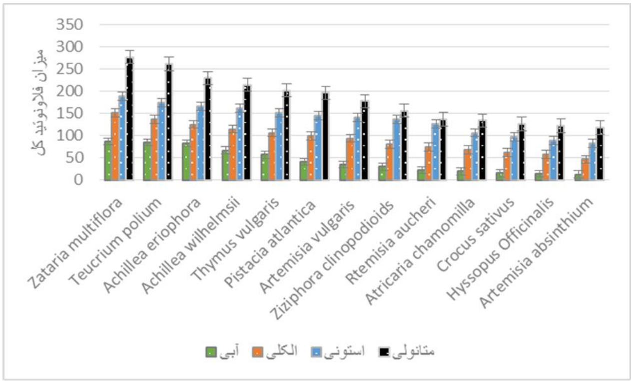
Fig. 2. Effect of interaction of solvent and plant on total phenolic compounds

Downloaded from nbr.khu.ac.ir at 15:46 IRST on Monday January 21st 2019



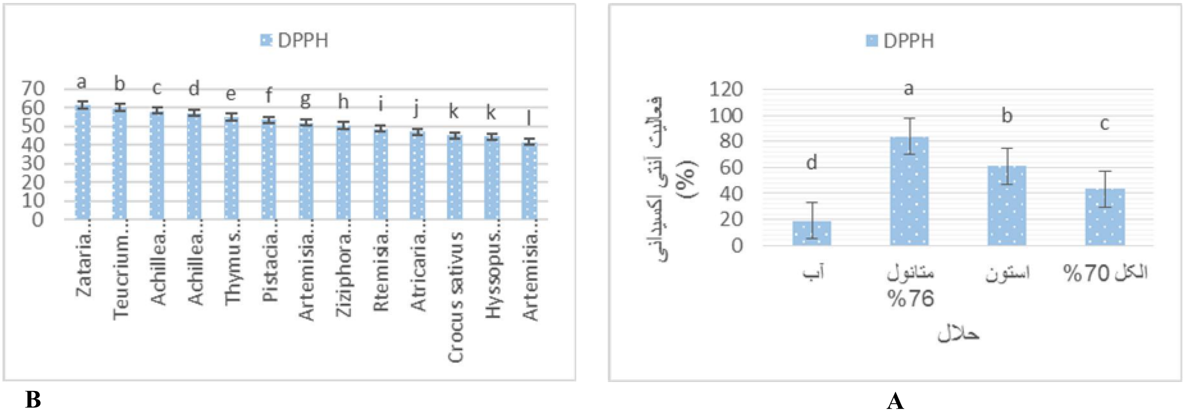
شکل ۳- A: تغییرات مقدار ترکیبات فلاونوئیدی کل حاصل از حلال‌های مختلف، **B:** تغییرات مقدار ترکیبات فلاونوئیدی کل حاصل از گیاهان.

Fig. 3. A: Changes of the amount of total flavonoid compounds obtained from different solvents, **B:** The changes in the value of total flavonoid compounds derived from plants.



شکل ٤- اثر متقابل گیاه و نوع حلال بر مقدار ترکیبات فلاونوئیدی کل.

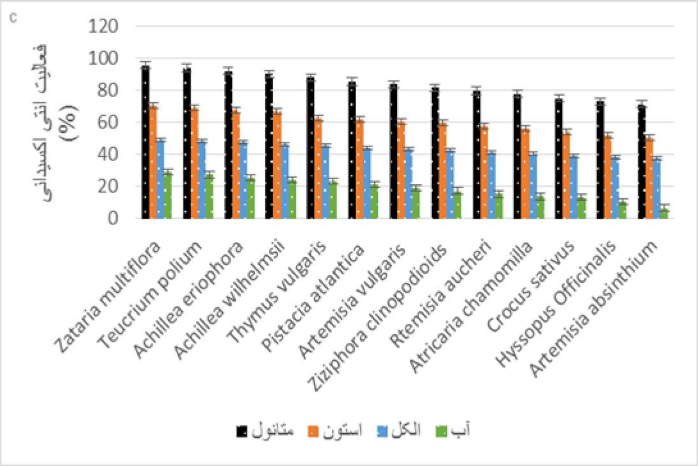
Fig. 4. Effect of interaction of solvent and plant on total flavonoid compounds.



شکل ۵- A: میزان فعالیت آنتی اکسیدانی حاصل از عصاره‌های مختلف، **B:** میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان مختلف.

Fig. 5. A: The amount of antioxidant activity caused by various solvent, **B:** The antioxidant activity of different plants.

Downloaded from nbr.khu.ac.ir at 15:46 IRST on Monday January 21st 2019



شکل ٦- اثرمتقابل گیاه و نوع حلال بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی.

Fig. 6. Interaction between the plant and the type of solvent on the antioxidant activity.

شامل می‌شوند. استخراج این ترکیبات به عوامل متعددی وابسته است که مهم‌ترین آنها حلال و روش استخراج است. انتخاب حلال و روش استخراج به قسمت‌های مختلف یک گیاه و نیز مواد تشکیل‌دهندهٔ آن وابسته 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 درجهٔ حلالیت این مواد تأثیرگذار است (Samsam Shariat, 1993). Khalili و Ebrahimzadeh (2015) فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان را به حضور ترکیبات فنلی در آنها نسبت دادند. ترکیبات فنلی شامل فنل‌های ساده (با یک حلقهٔ آروماتیک دارای دست‌کم یک گروه هیدروکسی) با دو بخش فنلی هستند که فلاونوئیدها را تشکیل می‌دهند. Fallah و همکاران (2012) در گزارشی بیان کردند ترکیبات فنلی تقریباً در تمام بخش‌های گیاه وجود دارند و در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک مانند رشد سلولی، جوانه‌زنی دانه و رسیدن میوه نقش دارند. از مهم‌ترین ویژگی-های که به این گروه نسبت داده می‌شود، خاصیت آنتی‌اکسیدانی است که به آنها امکان ازدست‌دادن هیدروژن و به‌دام‌انداختن رادیکال آزاد را می‌دهد. علاوه‌براین پلی‌فنل‌ها فعالیت‌های بیولوژیکی متفاوتی، ازجمله فعالیت ضد قارچی، ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد التهاب، ضد آلرژی و گشادکننده عروق دارند (Khalili & Ebrahimzadeh, 2015).

فلاونوئیدها نیز گروه بزرگی از ترکیبات فنلی با بیش از ۳۰۰۰ ساختار و یکی از مهم‌ترین ترکیبات ثانویهٔ گیاهان هستند که بیشتر در گیاهان دارویی با مقادیر مختلف یافت می‌شوند. حدود ۴۰۰۰ نوع ترکیب متعلق به گروه فلاونوئیدها در گیاهان وجود دارند که طی مسیر سنتز فنل پروپانوئید در گیاه سنتز می‌شوند و غالباً شامل فلاون، فلاونول و آنتوسیانین‌ها هستند (Morello *et al.*, 2005; Siriamornpus & Suttajit, 2010).

Valikhah و همکاران (2008) بیان کردند روند استخراج ترکیبات فنلی فاکتوری مهم در تعیین ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره است. دما، حلال، زمان عصاره‌گیری، قدرت استخراج و روش استخراج تأثیر بارزی در محتویات عصاره خواهد گذاشت. این تفاوت‌ها به تمایل این ترکیبات به حلال مورد نظر برای عصاره‌گیری و مخصوصاً قطبیت آن وابسته است. نتایج این تحقیق نشان داد بین میزان مواد فنلی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در چهار عصاره (متانولی، استونی، الکلی و آبی) اختلاف معنی‌داری وجود دارد به‌طوری‌که در بین عصاره‌ها حداکثر میزان فنل و فلاونوئید و میزان به-دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد از عصارهٔ متانولی به‌دست آمد درحالی‌که کمترین مقدار فنل و فلاونوئید از عصارهٔ آبی حاصل شد. این نتایج با مطالعهٔ Sadeghi و همکاران (2014) مطابقت دارد. آنها در گزارشی بیان کردند میزان ترکیبات فنلی فلاونوئیدی در عصارهٔ متانولی زولنگ نسبت عصارهٔ اتانولی آن بیشتر است و همچنین این عصاره از فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری برخوردار است و میزان EC_{50} در آزمون مهارکنندگی رادیکال آزاد برای عصارهٔ متانولی ۱۱۹/۶۶ بر میلی‌لیتر و برای آنتی‌اکسیدان سنتزی

Downloaded from nbr.khu.ac.ir at 15:46 IRST on Monday January 21st 2019

۴۲/۱۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. همچنین نتایج مطالعهٔ Alamholo و Nazeri (2015) نیز نشان داد که عصارهٔ متانولی نسبت به عصارهٔ اتانولی کارایی بیشتری دارد و عصارهٔ متانولی گل سیاه گینه در غلظت ۰/۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بیشترین درصد مهار رادیکال آزاد را داشت و بیشترین میزان فنل و فلاونوئید مربوط به عصارهٔ متانولی ریشه به‌ترتیب برابر mgGAE/g ۲/۶۹ ± ۱۱۱/۸ و mgQ/g ۰/۳۵ ± ۲/۲۵ بود.

درحالی‌که در مطالعه‌ای که Fallah و همکاران (2012) انجام دادند، نتایج نشان داد عصارهٔ متانولی حاوی مقدار زیادی ترکیبات پلی‌فنلی نسبت به عصارهٔ اتانولی است و عصارهٔ اتانولی فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به عصارهٔ متانولی نشان داد. اما نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصارهٔ متانولی و سپس عصارهٔ استونی و الکلی و آبی است. نتایج مطالعهٔ AbbasVali و همکاران (2016) نشان داد که مناسب‌ترین حلال استون است، درحالی‌که نتایج این تحقیق نشان داد که حلال متانولی در تمام تیمارها نسبت به حلال استونی مناسب‌تر است. همچنین، نتایج این تحقیق، نتایج مطالعات قبلی را، مبنی بر این‌که متانول برای استخراج مواد ضدمیکروبی از گیاهان دارویی در مقایسه با دیگر حلال‌ها از جمله آب، اتانول و هگزان بهتر است، تأیید می‌کند (Karaman *et al.*, 2003; Zgoda & Porter, 2001). بنابراین، می‌توان گفت در صورت استفاده از متانول به‌عنوان حلال استخراجی، در میزان استخراج ترکیب‌های فنلی تأثیر معنی‌داری مشاهده خواهد شد. محققان تفاوت‌های مشاهده‌شده بین عصاره‌های مختلف را به تفاوت در قطبیت حلال‌های به‌کاررفته مرتبط می‌دانند. استخراج ترکیبات فنلی از مواد گیاهی به حلالیت این ترکیبات در حلال‌های مختلف بستگی دارد. به‌علاوه قطبیت حلال‌های به‌کاررفته را در افزایش حلالیت این ترکیبات نقش کلیدی دارد (Hayouni *et al.*, 2007).

در این مطالعه، حداکثر میزان فنل و فلاونوئید از گونهٔ آویشن شیرازی و کمترین میزان آنها از گونه افسنطین حاصل شد. Hakkinen و Terronen (2000) بیان کردند که میزان ترکیبات فنلی گیاهان در مناطق مختلف تحت تأثیر تفاوت‌های ژنتیکی، اختلافات آب و هوایی و جغرافیایی مانند ارتفاع در مناطق مختلف قرار دارد و این نشان‌دهندهٔ تأثیر این عوامل بر میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی کل گیاهان دارویی است، بنابراین، تفاوت در میزان این ترکیبات در مطالعهٔ حاضر نیز می‌تواند ناشی از عوامل ذکرشده باشد.

اساس روش DPPH بر پایهٔ بی‌رنگ‌شدن محلول DPPH است که به‌وسیلهٔ آنتی‌اکسیدان‌های موجود در عصاره انجام می‌شود و این عمل از طریق مهار رادیکال‌های آزاد صورت می‌پذیرد. مدل به‌دام‌اندازی رادیکال پایدار DPPH به‌طور گسترده برای ارزیابی توانایی به‌دام نداختن رادیکال‌های آزاد در نمونه‌های مختلف به‌کار می‌رود (Lee *et al.*, 2003). در این مطالعه، عصارهٔ گیاه آویشن شیرازی نسبت به بقیهٔ گیاهان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری از خود نشان داد و گیاه افسنطین نسبت به بقیهٔ گیاهان فعالیت کمتری داشت؛ بنابراین، تفاوت در فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ گیاهان تحت مطالعه با بقیهٔ گیاهان فوق‌الذکر می‌تواند ناشی از تفاوت در میزان فنل و ترکیبات مؤثر آنها باشد و ازآنجایی‌که قابلیت احیاکنندگی عصارهٔ گیاه آویشن شیرازی بسیار بالا بود، می‌توان نتیجه گرفت که این عصاره با دادن الکترون سبب پایان واکنش‌های زنجیره‌ای می‌شود (Lee *et al.*, 2003). Bahrami-Karkevandi و همکاران (2011) بیان کردند با افزایش غلظت ترکیبات فنلی تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش افزایش می‌یابد، درنتیجه، احتمال دادن هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد. نتایج بقیهٔ پژوهشگران نیز نشان داد که وجود مقادیر بالاتری از ترکیبات فنلی در عصاره با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالای آن مرتبط است (Thi & Hwang, 2014; Piluzza & Bullitta, 2011). بالابودن ترکیبات فنلی دلیل اصلی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها است، زیرا براساس شواهد موجود، ارتباط مثبتی بین ترکیبات فنلی و قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاهان وجود دارد (Mazandarani *et al.*, 2011; Rahimi & Ramezani, 2017).

Urooj و Arabshahi (2006) ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی، استونی و آبی برگ شاه‌توت را بررسی کردند. نتایج نشان داد که بیشترین مقدار ترکیبات فنلی به‌ترتیب درعصاره متانولی>استونی>آبی بود. همچنین، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی، استونی، آبی و BHT به ترتیب ۱/۳۹۳، ۱/۳۸۶، ۰/۶۶، و ۳/۹۲۱ معادل میکرومول آلفا توکوفرول

Downloaded from nbr.khu.ac.ir at 15:46 IRST on Monday January 21st 2019

در گرم عصاره بود. این نتایج با نتایج تحقیق حاضر، از نظر وجود ارتباط بین مقدار ترکیبات فنلی عصاره‌ها با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنها، مطابقت داشت. نتایج Mirzaie و همکاران (2010) نشان داد که بهترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به درمنه مربوط بود و الگوی فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH، توان آنتی‌اکسیدانی معادل ترولکس که براساس ربایش رادیکال نسبتاً پایدار سبز آبی ABTS[3] است که به یک محصول بی‌رنگ تبدیل می‌شود. شدت کاهش رنگ نشان‌دهندهٔ مقدار رادیکال ABTS+ است که توسط آنتی‌اکسیدان‌ها مهار شده است و میزان آن با دستگاه طیف‌سنج نوری اندازه گرفته می‌شود (Re *et al*., 1998). این روش را می‌توان برای اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان‌های محلول در آب و چربی یا مواد ناخالص و عصاره‌های غذایی در نظر گرفت. جواب این روش براساس عدد ترلکس مطرح می‌شود که برمبنای مقایسهٔ ظرفیت ربایش آنتی‌اکسیدانی نسبت به ترلکس است. روش TEAC به سه ترکیب شیمیایی K2S2O8, ABTS, TROLOX وابسته است (Mariken *et al*., 2003; Gliszynska-Swiglo, 2006) و قدرت احیاکنندگی به‌ترتیب از بیشترین به کمترین مقدار مربوط به درمنه، بابونه و بومادران بود، درحالی‌که نتایج این تحقیق نشان داد فعالیت آنتی‌اکسیدانی بومادران از درمنه و بابونه بیشتر است و در مقایسهٔ گیاهان تحت مطالعه با یکدیگر، بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌ترتیب مربوط به عصارهٔ متانولی آویشن شیرازی، کلپوره همدانی و سپس، بومادران بود.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش با گزارش‌های قبلی مبنی بر ارتباط مستقیم اجزای فنلیک با فعالیت آنتی‌اکسیدانی مطابقت داشت. به‌طورکلی می‌توان نتیجه گرفت که انتخاب نوع حلال تأثیر زیادی بر میزان استخراج ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی دارد (Gharehkhani *et al*., 2012) و ازطرفی، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی به‌میزان زیادی تحت تأثیر ماهیت حلال، زمان استخراج و تعامل این دو عامل است. بااین‌حال، قدرت استخراج حلال مهم‌ترین فاکتور مؤثر بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی محصول است (Sadeghi *et al*., 2014). در این مطالعه، با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از ارزیابی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهان مختلف استخراج شده با حلال‌های متفاوت، می‌توان گفت که از بین حلال‌های مختلف به‌کاررفته (استونی، متانولی، اتانولی و آبی) حلال متانولی عملکرد بهتری در ارتباط با استخراج فنل، فلاونوئید و میزان مهار رادیکال‌های آزاد داشت، درحالی‌که حلال آبی عملکرد ضعیف‌تری نسبت به بقیهٔ حلال‌ها نشان داد. در بین گیاهان به‌کاررفته نیز بیشترین مقدار فنل و فلاونوئید و میزان فعالیت به‌دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد متعلق به گیاه آویشن شیرازی بود، درحالی‌که افسنطین کمترین مقدار را نشان داد.

سپاسگزاری

از همکاری آزمایشگاه تحقیقات گیاهان دارویی پژوهشکدهٔ زیست‌فناوری کشاورزی دانشگاه زابل تشکر و قدردانی می‌شود.

REFERENCES

Abbas Vali, M., Esmaeili Kutmehr, M., Moshtaghi, H. and Escanderi, M.H. 2016. Evaluation of antibacterial extracts of acetone, ethanol and methanol leave four varieties of oleo in Iranian on the *E. coli*. – J. Food Microbio. 2: 67-77.

Ahmadi, F., Kadivar, M. and Shahedi, M. 2007. Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Moza. in model and food systems. – J. Food Chem. 105: 57-64.

Alam Hollo, M. and Nazeri, S. 2015. Assessments of antioxidant and antibacterial activity of extracts alcoholic of flower and root *Dendrostellera lesserti* on some human pathogenic bacteria. – J. Med Sci. 21: 277-285.

Alamhulu, M. and Nazeri, S. 2015. Investigation antibacterial and antioxidant activities of alcoholic extracts of flower and root *Dendrostellera lesserti* on some human pathogenic bacteria. – Sci. J. Hamadan Univ. Med. Sci. 21: 277-285.

Arabshahi, D.S. and Urooj, A. 2006. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. – J. Food Chem. 102: 1233-1240.

Bahrami-Karkevandi, M., Moshtaghian, S.J., Mahzoni, P., Adibi, S. and Kazemi, S. 2011. The effects of hydroalcoholic extract of *Artemisia aucheri* on bleomycin induced pulmonary fibrosis in rats. – J. Med. Sci. 12: 33-40.

Betancourt, A.O. 2008. Analysis, extraction and recovery of poly-3- hydroxybutyrate in the biomass. – University of Quebec at Montreal Thesis, pp 45-55.

Burits, M. and Bucar, F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. – Phyto. Res.14: 323-328.

Chang, Y.L., Kim, D.O., Lee, K.W., Lee, H.J., Lee, C.Y. 2002. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. – J. of Agri. and Food Chem. 50: 3713-3717.

Choe, E. and Min, B.D. 2009. Mechanisms of antioxidants in the oxidation of food. – Rev. in Food Sci. and Food Safety 8: 345-358.

Downloaded from nbr.khu.ac.ir at 15:46 IRST on Monday January 21st 2019

Ebrahimzadeh, M.A., Hosseinimehr, S J., Hamidinia, A. and Jafari, M. 2008. Antioxidant, and free radical scavenging activity of *Feijoa sallowiana* fruits peel and leaves. – Pharmacology 1: 7-14.

Fallah, H., Ksouri, R., Lucchessi, M.E., Abdelly, C.H. and Magné, C.H. 2012. Ultrasound-assisted extraction: effect of exraction time and solvent power onvthe levels of polyphenols and antioxidant activity of *Mesembryanthemum edule* L. Aizoaceae shoots. – Tro. J. of Pharm. Res. 11: 243-249.

Gharehkhani, M., Ghorbani, M., Ebrahimzadeh, M.A., Gafari, S.M. and Sadeghimahonak, A.R. 2012. Comparison of different methods of extraction of phenolic compounds and flavonoids of *Urtica dioica* L. – Quarterly Sci. Res. of Med. and Aromatic Plants. 26: 389-405.

Gliszczynska-Swigło, A. 2006. Antioxidant activity of water soluble vitamins in the TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) and the FRAP (ferric reducing antioxidant power) assays. – J. Food Chem. 96: 131-136.

Hakkinen, S.H. and Torronen A.R. 2000. Content of flavonols and selected phenolic acids in Strawberries and *Vaccinium* species: influence of cultivar, cultivation site and technique. – Food Res. Int. 33: 517-524.

Hayouni, A., Abedrabba, M., Bouix, M. and Hamdi, M. 2007. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* and *Juniperus phoenicea* fruit extracts. – J. Food Chem. 105: 1126-1134.

Hwang, J.Y., Shue, Y.S. and Chang, H.M. 2001. Antioxidative activity of roasted and defatted peanut kernels. – Food Res. Int. 34: 639-647

Kamkar, A., Jebelli Javan, A., Asadi, F. and Kamalinejad, M. 2010. The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. – Food and Chem. Toxicol. 48: 1796-1800.

Karaman, I., Sahin, F. and Gullule, M. 2003. Antimicrobial activity of aqueous and methanol extraets of *Juniperus oxycedrus*. – J. Ethnopharmacol. 85: 231-235.

Khalili, M. and Ebrahimzadeh, M.A.A. 2015. Review on antioxidants and some of their common evaluation methods. – J. Mazandaran Univ. Med. Sci. 24: 188-208.

Lee, K.W., Kim, Y.J., Kim, D.O., Lee, H.J. and Lee, C.Y. 2003. Major phenolics in apple and their contribution to the total antioxidant capacity. – J. Agric. Food Chem. 51: 651-20.

Lee, S.E., Hwang, H.J., Ha, J.S., Jeong, H.S. and Kim, J. H. 2003. Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity. – Life Sci. 73: 167-179.

Lutza, M., Henrı´quez, C. and Escobar, M. 2011. Chemical composition and antioxidant properties of mature and baby artichokes (*Cynara scolymus*), raw and cooked. – J. Food Compos. Anal. 24: 49-54.

Mahdavi, D.L., Deshpande, S.S. and Salunkhe, D.K. 1995. Food antioxidant. – Marcel Dekker Inc., New York, USA, 746 pp.

Mariken, J.T.J., Sebastiaan Dallinga, J., Hans-Peter, V., Guido, R.M.M. and Aalt, B. 2003. A critical appraisal of the use of the antioxidant capacity (TEAC) assay in defining optimal antioxidant structures. – Food Chem. 80: 409-414.

Mazandarani, M., Makri, S. and Bajian, G.R. 2011. Evaluation of phytochemical and antioxidant activity in different parts of *Heracleum gorganicum* Rech. f. in Golestan Province, north of Iran. – J. Plant Physio. 2: 381-388.

Mirzaei A, Akbartabartori M, Sadeghi H, Sharifi B. 2010. The evaluation of total phenol and antioxidant activity yarrow, wormwood and chamomile. – Journal of Armaghane Danesh. 15: 243-252.

Morello, J.R, Romero, M.P., Ramo, T. and Motilva, M. J. 2005. Evaluation of 1-phenylalanine ammonia-lyase activity and phenolic profile in olive drupe (*Olea europaea*) from fruit setting period to harvesting time. – Plant Sci. 168: 65-72.

Mour, A., Sruz, G.M., Franco, D. and Dominguez, J. 2001. Natural antioxidant from residual sources – Food Chem. 72: 145-171.

Ordone, A.A.L., Gomez, J.D. and Vattuone, M.A. 2008. Antioxidant activities of *Sechium edule* Swartz extracts. – Food Chem. 97: 452-458.

Piluzza, G. and Bullitta, S. 2011**.** Correlations between phenolic content and antioxidant properties in twenty-four plant species of traditional ethnoveterinary use in the Mediterranean area. – Pharm. Biol. 49: 240-247.

Rahimi, M. and Ramezani, M. 2017. The effects of temperature on antioxidant activity, total phenolics and agronomic traits of two thyme species. – Nova Biologica Reperta. 4: 264-270.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. 1998. Antioxidant activity applying an improved antiradical action decolonization assay. – PII S0891-5849, 00315-3

Sadeghi, A.R., Salmaneian, Sh., Jamsun, M. and Tabatabai Amid, B. 2014. Identify and measure the phenolic acids, radical scavenging activity and reducing power iron methanol extracts and ethanol E*ryngium caucasicum.* – J. Res. and Innovation in Food Sci. and Tech. 2: 193-204

Samsam Shariat, Sh. 1993. Extraction of effective components of herbal medicine, determination and evaluation methods. – Mani Press. Esfahan. Iran. pp: 12 -13.

Serrano, J., Goñi, I. and Saura-Calixto, F. 2006. Food antioxidant capacity determined by chemical methods may underestimate the physiological antioxidant capacity. – Food Rev. Int. 40: 15-21.

Shi, J., Nawaz, H., Pohorly, J. and Mittal, G. 2005. Extraction of polyphenolics from plant material for functional foods engineering and technology. – Food Rev. Int. 21: 1-12.

Siriamompus, S. and Suttajit, M. 2010. Microchemicals compounds and antioxidant activity of different morphological part of thai wildpurslane (*Portulaca oleracea*). – Weed Sci. 58: 182-188.

Thi, N.D. and Hwang, E.S. 2014. Bioactive compound contents and antioxidant activity in Aronia (*Aronia*

Downloaded from nbr.khu.ac.ir at 15:46 IRST on Monday January 21st 2019

melanocarpa) leaves collected at different growth stages. – Prev. Nutr. Food Sci. 19: 204-212.

Vilkha, K., Mawson, R., Simons, L. and Bates, D. 2008. Application and opportunities for untrasound assisted extraction in food industry; a review. – Innov. Food Sci. and Emer. Tech. 9: 161-169.

Zgoda, L.R. and Porter, J.R.A. 2001. Convenient microdultion method for screening natural products against bacteria and fungi – Pharmaceut. Biol. 39: 54-221.

*****

How to cite this article:

Mazarie, A., Mousavi-Nik, S.M. and Fahmideh, L. 2018. Assessments of phenolic, flavonoid and antioxidant activity of aqueous, alcoholic, methanol and acetone extracts of thirteen medicinal plants. – Nova Biologica Rep. 4: 299-309.

مزارعی، ا.، موسوی‌نیک، س.م. و فهمیده، ل. ۱۳۹۶. بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فلاونوئیدی و فنلی عصاره‌های اتانولی، آبی، استونی و متانولی سیزده گیاه دارویی. –یافته‌های نوین در علوم زیستی ۴: ۳۰۹-۲۹۹.