Karafan
Quarterly Scientific Journal of Technical and Vocational University
Winter 2022, Vol. 18, No. 4, p. 145-158
Journal homepage: https://karafan.tvu.ac.ir/?lang=en
TVU
doi:10.48301/KSSA.2021.279158.1454 :20.1001.1.23829796.1400.18.4.9.4

Original Research

E-ISSN: 2538-4430
ISSN: 2382-9796

The Effect of Different Solvents on the Percentage of Free Radical Scavenging DPPH and Antioxidant Activity of Native Medicinal Plants in Jiroft City

Tayyebeh Sataie Mokhtari[1], Fatemeh Shahdadi[2], Ali Salehi Sardoei[3*]

[1]Assistant Professor, Department of Chemistry, Jiroft Branch, Islamic Azad University, Jiroft, Iran.
[2]Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran.
[3] PhD Student, Department of Horticulture, Faculty of Plant Production, University of Agriculture and Natural Resources, Gorgan, Iran.

ARTICLE INFO

Received: 04.12.2021
Revised: 08.28.2021
Accepted: 09.18.2021

Keyword:
Anti-Radical Properties
DPPH
Extract
Habitat
IC_{50}
Medicinal plants

***Corresponding Author:**
Ali Salehi Sardoei
Email:
alisalehisardoei@gau.ac.ir

ABSTRACT

In the current century, extensive research has been carried out on medicinal plants, and drugs of natural origin have opened new horizons for the community of doctors, pharmacists and researchers. The aim of this study was to investigate the effect of different solvents on the percentage of free radical scavenging DPPH and antioxidant activity of native medicinal plants in Jiroft city and six native plants (*Achillea millefoliom*, *Thymus vulgaris*, *Satureja hortensis*, *Ziziphora Clinopodioides*, *Mentha piperita* and *Rosmarinus officinalis*) were sampled for testing. Extraction of the aerial parts of plants was performed using 80% methanol, 50% ethanol, acetone 100% and hexane 100% solvents. The extraction time was 24 hours at ambient temperature using a stirrer. The amount of antioxidant activity was measured using 2 and 2 diphenyl-1-pyrrolidrazyl, DPPH free radical inhibitory concentration. Among the studied solvents in all six plants, the extracts extracted with 80% methanol solvent had the highest and the hexane solvent had the lowest free radical adsorption. Among the studied plants, peppermint extract with all four solvents (methanol IC_{50}: 20.9 ppm, ethanol IC_{50}: 34ppm, acetone IC_{50}: 44.2ppm, and hexane IC_{50}: 49.19ppm) had the highest antiradical activity and Ziziphora Clinopodioides (methanol IC_{50}: 1090.78ppm, ethanol IC_{50}: 1209.3ppm, acetone IC_{50}: 1439.23ppm and hexane IC_{50}: 1898.7ppm) had the lowest anti-radical activity. The findings of the present study showed that all the 6 studied medicinal plants had anti-radical properties and using 80% methanol extracts of these plants can be used as an antioxidant in various industries.

© 2022 Technical and Vocational University, Tehran, Iran. This article is an open-access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

کارافن
فصلنامه علمی دانشگاه فنی و حرفه‌ای
زمستان ۱۴۰۰، دوره ۱۸، شماره ٤، ۱۵۸-۱٤۵
آدرس نشریه: https://karafan.tvu.ac.ir/
doi:10.48301/KSSA.2021.279158.1454
20.1001.1.23829796.1400.18.4.9.4
شاپای الکترونیکی: ۲۵۳۸-۴۴۳۰
شاپای چاپی: ۲۳۸۲-۹۷۹۶

مقاله پژوهشی

تأثیر حلّال‌های مختلف بر میزان درصد مهار رادیکال آزاد DPPH و فعالیت آنتی-اکسیدانی گیاهان دارویی بومی شهرستان جیرفت

طیبه ستایی مختاری[۱]، فاطمه شهدادی[۲]، علی صالحی ساردویی[۳*]

۱- استادیار، گروه شیمی، واحد جیرفت، دانشگاه آزاد اسلامی، جیرفت، ایران.
۲- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران.
۳- دانشجوی دکتری، گروه باغبانی، دانشکده تولیدات گیاهی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران.

اطلاعات مقاله

دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۰۱/۲۳
بازنگری مقاله: ۱۴۰۰/۰۶/۰۶
پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۰۶/۲۷

کلید واژگان:
خواص ضدرادیکالی
عصاره‌گیری
رویشگاه جیرفت
DPPH
IC_{50}

***نویسنده مسئول:** علی صالحی ساردویی
پست الکترونیکی:
alisalehisardoei@gau.ac.ir

چکیده

در قرن حاضر، تحقیقات گسترده‌ای در مورد گیاهان دارویی انجام شده و داروهایی با منشأ طبیعی افق‌های جدیدی را برای جامعه پزشکان، داروسازان و پژوهشگران گشوده است. هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر حلال‌های مختلف بر میزان درصد مهار رادیکال آزاد DPPH و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی بومی شهرستان جیرفت می‌باشد. در این پژوهش، شش گیاه دارویی بومی شهرستان جیرفت (آویشن، مرزه، نعناع فلفلی، کاکوتی کوهی، رزماری و بومادران) آزمایش شدند. عصاره‌گیری از قسمت‌های هوایی گیاهان با استفاده از حلال‌های متانول ۸۰ درصد، اتانول ۵۰ درصد، استون و هگزان (۱۰۰ درصد) انجام شد. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش ۲ و ۲ دی فنیل- ۱- پیکریل هیدرازیل، درصد مهار رادیکال آزاد DPPH اندازه‌گیری شد. از بین حلال‌های موردمطالعه در هر شش گیاه، عصاره‌های استخراج شده با حلال متانول ۸۰ درصد، بیشترین و حلال هگزان کمترین میزان جذب رادیکال آزاد بود. از بین گیاهان موردمطالعه، نعناع فلفلی در استخراج با هر چهار حلال (حلال متانول IC_{50}:20.9 ppm، اتانول IC_{50}:34ppm، استون IC_{50}:44.2ppm و هگزان IC_{50}:49.19ppm) دارای کمترین IC_{50} و گیاه کاکوتی کوهی (حلال متانول IC_{50}:1090.78ppm، اتانول IC_{50}:1209.3ppm، استون IC_{50}:1439.23ppm و هگزان IC_{50}:1898.7ppm) دارای بالاترین مقدار بود. همچنین نتایج نشان داد که تمامی شش گیاه دارویی مورد پژوهش، خواص ضدرادیکالی دارند و عصاره الکلی متانولی ۸۰ درصد این گیاهان می‌توانند در صنایع مختلف به عنوان مواد آنتی‌اکسیدان طبیعی استفاده شوند.

© 2022 Technical and Vocational University, Tehran, Iran. This article is an open-access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

مقدمه

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که سرعت اکسیداسیون چربی‌ها را کاهش می‌دهند. آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند اکسیداسیون را مهار کنند یا به تأخیر اندازند ولی کیفیت یک محصول اکسیدشده را بهبود نمی‌بخشند. آنتی‌اکسیدان‌ها با دادن اتم هیدروژن به رادیکال آزاد تشکیل شده، از گسترش واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداسیون جلوگیری می‌کنند؛ بدین‌ترتیب کارایی و درجه تأثیر یک آنتی‌اکسیدان به سهولت جدا شدن اتم هیدروژن از آن مربوط می‌شود [۱]. آنتی‌اکسیدان‌ها در غلظت‌های کم، قادر به پیشگیری یا به تأخیر انداختن اکسیداسیون ناشی از رادیکال‌های آزاد می‌باشند و به این ترتیب روند پیشرفت بیماری‌های قلبی و عرقی، سرطان‌ها و غیره را کند یا متوقف می‌سازند. امروزه استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی بسیار رواج یافته است لیکن مطالعات متعدد حاکی از سمیت این آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشد [۲]. بیشتر گیاهانی که حاوی مشتقات فنلی هستند قابلیت‌های آنتی‌اکسیدانی بالایی را نیز از خود نشان می‌دهند [۲]. تحقیقات نشان داده‌اند که کمیت و کیفیت آنتی‌اکسیدان‌های پلی‌فنلی گیاهان دارویی به‌طور معنی‌داری بیشتر از دیگر محصولات است [۳]. در سال‌های اخیر، تحقیقات در مورد آنتی‌اکسیدان‌های سالم و طبیعی به‌ویژه آنتی‌اکسیدان‌های حاصل از منابع گیاهی افزایش یافته است. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به‌صورت گسترده در بسیاری از غذاها مثل دانه‌های روغنی، مغزها، آجیل‌ها، غلات، حبوبات، سبزی‌ها، میوه‌ها، گیاهان بوته‌ای، ادویه‌ها، چای و گوشت وجود دارند [۴]. آنتی‌اکسیدان‌ها به دو دسته تقسیم می‌شوند: آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی شامل ترکیبات شیمیایی مختلفی از قبیل توکوفرول‌ها، کاروتنوییدها، ترکیبات فنولیک، آمینواسیدها، پپتیدها، پروتئین‌های هیدرولیز شده، فیتات‌ها، فسفولیپیدها، ویتامین‌ها و آنزیم‌ها هستند. از این میان توکوفرول‌ها، فلاوونوییدها و اسیدهای فنولیک مهم‌تر می‌باشند [۵]. به نظر می‌رسد که رابطه نزدیکی میان خاصیت آنتی‌اکسیدانی با مقادیر ترکیبات فنلی وجود داشته باشد [۲]. مطالعات بسیاری در مورد ترکیبات آنتی‌اکسیدان صورت گرفته و حتی تعدادی آنتی‌اکسیدان سنتزی نیز به بازار عرضه شده است که به دلیل دارا بودن سمیت، مصرف آنها محدود گردیده است. به همین دلیل یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به ویژه از گیاهان و استفاده از آنها به‌خصوص در صنایع غذایی و دارویی بسیار مطلوب است تا علاوه بر داشتن تأثیرات بیولوژیک وسیع، احتمال ایجاد اثرات جانبی و مسمومیت با آن‌ها به‌خصوص در غلظت‌های کنترل شده کاهش بیابد [۵]. شایان ذکر است که هیچ روش مورد آزمایشی به‌تنهایی برای بررسی اثر آنتی‌اکسیدان کافی نیست و ترکیب چند روش متفاوت، انتخاب خوبی برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدان عصاره‌های مختلف می‌باشد [۶]. به‌طور کلی، برای استخراج پلی‌فنل‌ها از گیاهان، از آب و حلال‌های آلی مانند اتانول، متانول، استن و دی اتیل اتر استفاده می‌گردد [۷]. در این میان، تفاوت‌های آشکاری بین مقادیر ترکیبات فنلی در عصاره‌های مختلف مشاهده می‌شود که ناشی از نوع آماده‌سازی نمونه، روش و مدت زمان استخراج و خواص فیزیکوشیمیایی حلال‌های به‌کار رفته می‌باشد. در تحقیقی که بر گیاه *Jack Etlingeraelatior* انجام گرفت تأثیرات حلال‌های آلی متانول، استن (۵۰ درصد، ۹۰ درصد و ۱۰۰ درصد حجمی) و آب بر میزان ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی ارزیابی گردید و اختلاف معنی‌داری بین نتایج به دلیل نوع حلال به‌کار رفته و ویژگی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در گیاه گزارش شد [۸]. در مطالعه تأثیرات گروه‌های مختلف حلال (آب، متانول، اتانول، استن، اتیل استات، پترولئوم اتر، هگزان) بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی، مقادیر فنل کل پوست بنه و بازده استخراج آن‌ها تفاوت معنی‌دار حاصل به قطبیت، ویسکوزیته و فشار بخارهای ویژه هریک از حلال‌ها نسبت داده شد [۹]. از این رو معرفی یک نوع حلال با غلظت مشخص که دارای حداکثر عملکرد در استخراج ترکیبات فنلی باشد و بتواند بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را در مورد گیاه معینی نشان دهد کار ساده‌ای نخواهد بود. انتخاب حلال مناسب برای استخراج ترکیبات فنولی باید به نکاتی مانند هزینه، قابلیت دسترسی، بی‌خطر بودن، ویژگی‌های اختصاصی برخی از ترکیبات فنولی و خصوصیات فیزیک و شیمیایی

ماتریکس گیاهی توجه کرد [۱۰]. هدف از انجام این پژوهش، بررسی تأثیر حلال‌های مختلف بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی بومی شهرستان جیرفت (آویشن، مرزه، نعناع فلفلی، کاکوتی کوهی، رزماری و بومادران) بود.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه: در این تحقیق، شش گیاه دارویی بومی شهرستان جیرفت شامل (آویشن، مرزه، بومادران، کاکوتی کوهی، رزماری و نعناع فلفلی) برای انجام آزمایش‌ها نمونه‌برداری شد.

مواد شیمیایی: مواد شیمیایی مورداستفاده در این تحقیق شامل متانول ۸۰ درصد، اتانول ۸۰ درصد، استون، هگزان (۱۰۰ درصد)، معرف DPPH بودند. تمامی مواد شیمیایی از شرکت مرک (Merck) آلمان و حلال‌ها با بالاترین خلوص تهیه شدند.

جمع‌آوری و خشک‌کردن نمونه‌های گیاهی: گونه‌های مورد نظر از مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد شهرستان جیرفت به‌طور تصادفی در اواخر بهار و ابتدای تابستان برداشت شد. اندام‌های هوایی برای عصاره‌گیری در سایه و در دمای محیط خشک شد و توسط یک آسیاب خانگی پودر و در کیسه‌های دربدار پلاستیکی تا زمان مصرف در فریزر (دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد.

عصاره‌گیری از نمونه‌ها: حدود ۱۰ گرم اندام خشک‌شده گیاه با ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال مخلوط شد. حلال‌های مورداستفاده شامل اتانول ۵۰ درصد، متانول ۸۰ درصد، هگزان و استون بودند. عصاره‌گیری به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط و با استفاده از دستگاه هم‌زن شیشه انجام شد. بعد از اتمام زمان استخراج عصاره‌ها با کاغذ صافی (واتمن شماره یک) فیلتر شدند و مایع فیلتر حاصل از هر ۴ حلال توسط دستگاه تبخیرکننده چرخشی (*Rotary*) در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تا خروج کامل حلال استخراجی تغلیظ شد و در دمای محیط و در تاریکی خشک شد [۱۱].

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش به دام‌اندازی رادیکال دی‌پی‌پی‌اچ (DPPH): ۲و۲- دی فنیل۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) رادیکالی چربی‌دوست است که جذب بیشینه در طول موج ۵۱۷ نانومتر را دارد. توانایی عصاره‌ها برای جذب رادیکال‌های DPPH طبق روش ابراهیم‌زاده و همکاران [۱۲] تعیین شد.

ابتدا غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ قسمت در میلیون از اسانس‌ها تهیه شد. یک میلی‌لیتر از محلول متانولی یک میلی‌مولار DPPH با ۳ میلی‌لیتر محلول عصاره در متانول (۴۰۰-۵۰ میکروگرم عصاره خشک) مخلوط و به‌شدت ورتکس شد. و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی نگه‌داری شد و جذب در ۵۱۷ نانومتر خوانده شد و فعالیت برحسب درصد نسبی DPPH طبق معادله ۱ به‌دست می‌آید.

$$\text{درصد DPPH} = \frac{\text{درصد جذب شاهد} - \text{درصد جذب نمونه}}{\text{درصد جذب شاهد}} \times ۱۰۰$$

برای مقایسه فعالیت عصاره‌ها از مفهوم IC_{50} استفاده شد. IC_{50} غلظتی از عصاره است که برای به دام‌اندازی ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد موردنیاز می‌باشد. برای محاسبه IC_{50} با استفاده از نرم‌افزار Slide write تابعی بین جذب نمونه و غلظت عصاره برازش شد و با استفاده از معادله به‌دست‌آمده IC_{50} تعیین شد. مقدار IC_{50} با فعالیت ضدرادیکالی عصاره رابطه عکس دارد [۱۳].

روش آنالیز آماری

مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت. آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS (2001) انجام شد.

نتایج

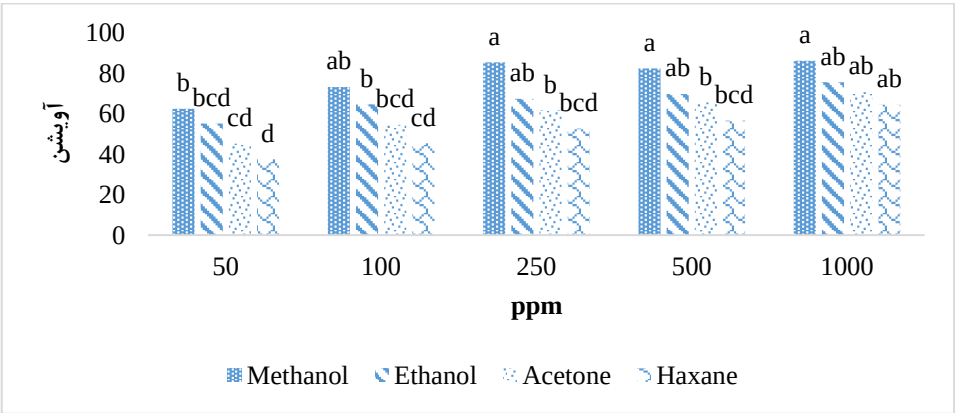
با توجه به شکل‌های (۱ تا ۶)، درصد حذف رادیکال آزاد DPPH در غلظت ppm ۱۰۰۰ عصاره‌ها بیشتر است و این میزان با رقیق شدن عصاره‌ها کاهش می‌یابد و غلظت ppm ۱۰۰ دارای کمترین میزان درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH در عصاره همه گیاهان است. شکل یک تا شش، نتایج مربوط به درصد حذف رادیکال آزاد DPPH عصاره‌های اتانولی، متانولی، استونی و هگزانی شش گیاه موردمطالعه در غلظت‌های مختلف را نشان می‌دهد.

از شاخص IC_{50} به‌منظور بیان اثرات مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در روش DPPH استفاده گردید. بر این اساس هرچه مقدار IC_{50} کمتر باشد قدرت بازداری عصاره بیشتر بوده است.

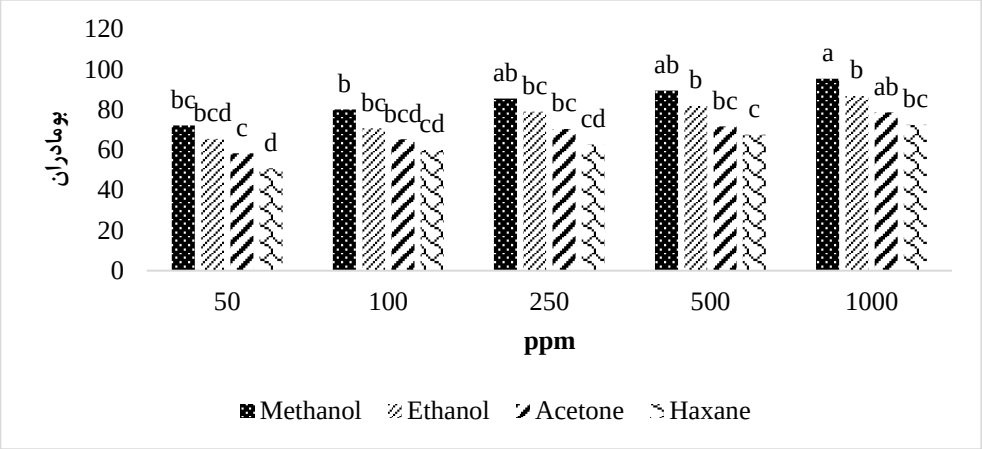
میزان IC_{50} را در شش گیاه را در استخراج با چهار حلال موردمطالعه نشان می‌دهد. مطابق داده‌های این جدول، کمترین IC_{50} مربوط به گیاه نعناع فلفلی در استخراج با حلال متانول ۸۰ درصد و بیشترین IC_{50} مربوط به گیاه کاکوتی کوهی در استخراج با حلال هگزان بود (شکل۱-۶).

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از مقایسه میانگین تیمارهای مختلف حلال بر گیاهان آویشن، نعناع فلفلی، مرزه، بومادران، رزماری و کاکوتی بیشترین تأثیر بر صفت IC_{50} در تیمار هگزان مشاهده شد و کمترین میزان بر صفت موردنظر در همه گیاهان، تیمار متانول با سایر تیمارها تفاوت را نشان داد؛ به‌طوری که می‌توان از تیمار هگزان به‌طور گسترده در استخراج صفت IC_{50} استفاده کرد (شکل۱-۶).

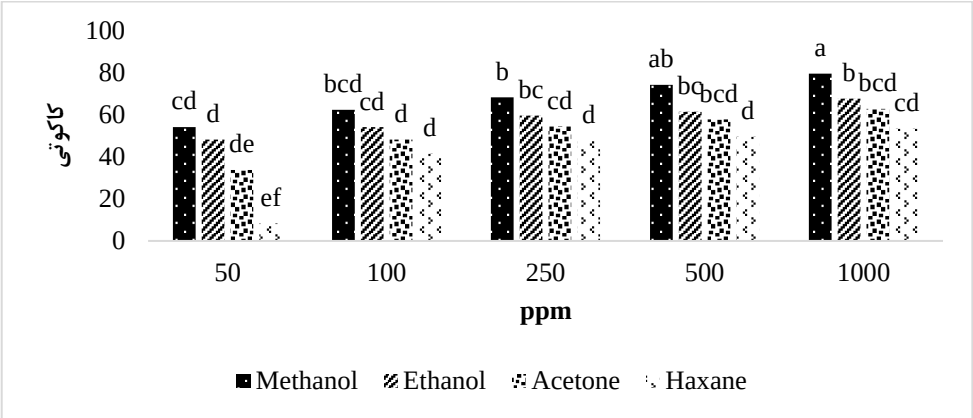
در میان حلال‌های مورد استفاده نیز متانول ۸۰ درصد بهترین بازده را در روش DPPH نشان داد. براساس نتایج شکل (۷، ۸، ۹) می‌توان گفت درصد مهارکنندگی DPPH با کاهش غلظت حلال‌ها، رابطه مستقیم دارد.



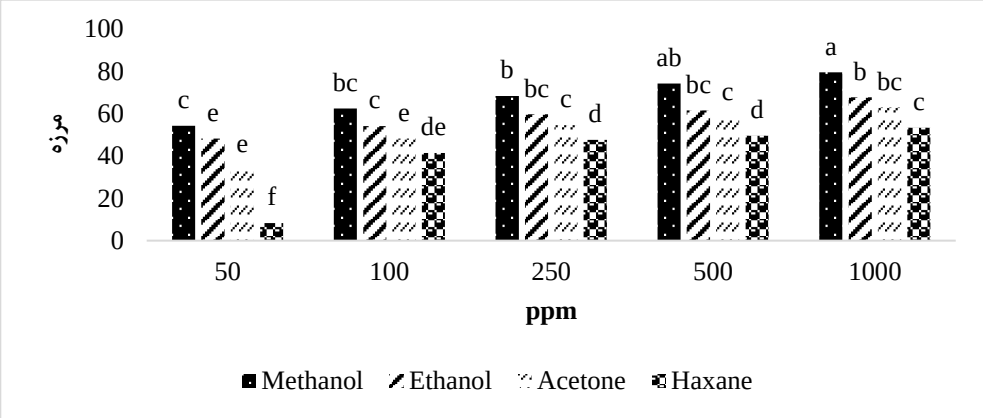
شکل ۱. درصد حذف رادیکال آزاد DPPH عصاره گیاه آویشن در غلظت‌های مختلف حلال‌ها



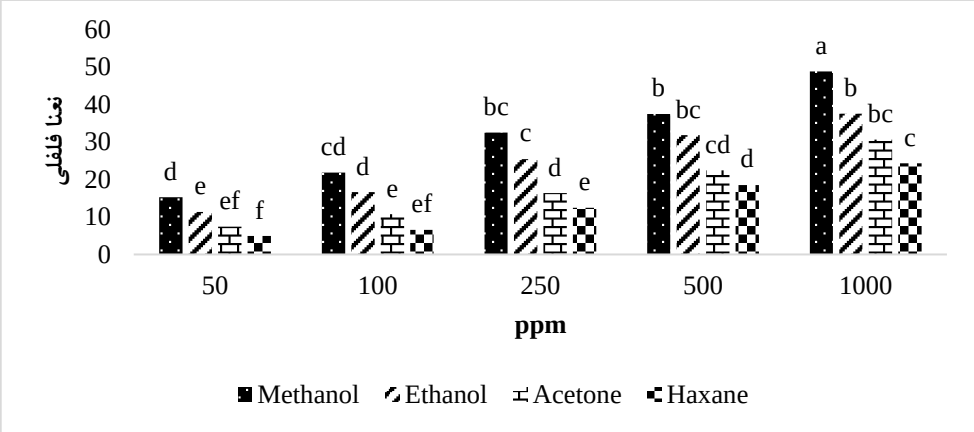
شکل ۲. درصد حذف رادیکال آزاد DPPH عصاره گیاه بومادران در غلظت‌های مختلف حلال‌ها



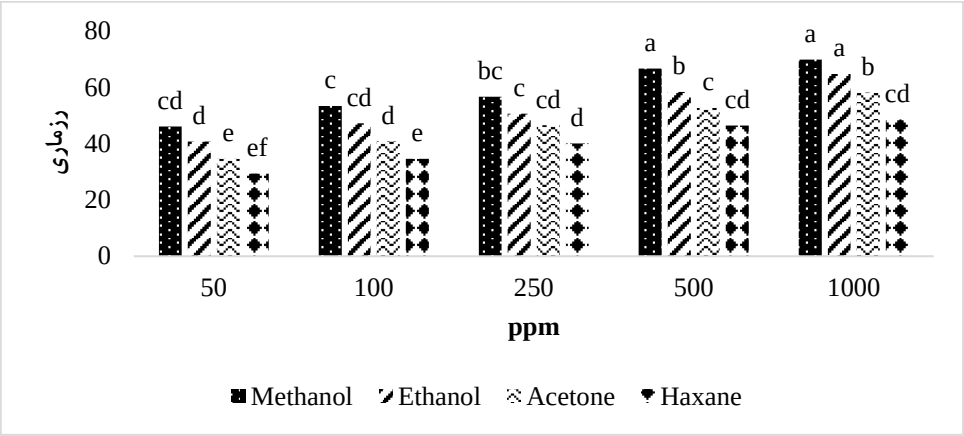
شکل ۳. درصد حذف رادیکال آزاد DPPH عصاره گیاه کاکوتی در غلظت‌های مختلف حلال‌ها



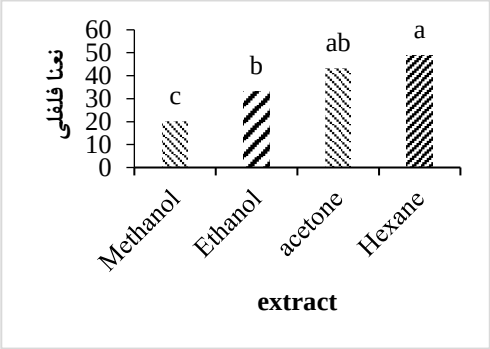
شکل ۴. درصد حذف رادیکال آزاد DPPH عصاره گیاه مرزه در غلظت‌های مختلف حلال‌ها

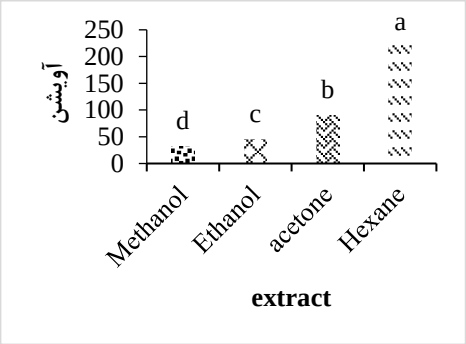


شکل ۵. درصد حذف رادیکال آزاد DPPH عصاره گیاه نعناع فلفلی در غلظت‌های مختلف حلال‌ها

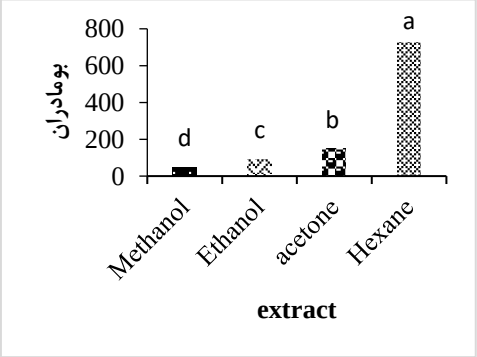


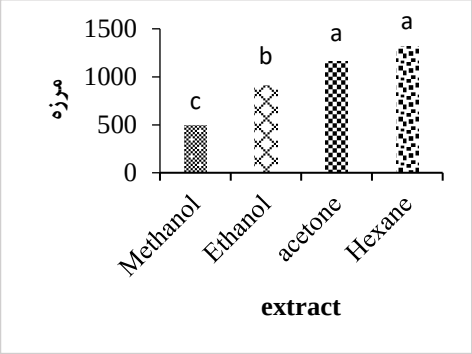
شکل ۶. درصد حذف رادیکال آزاد DPPH عصاره گیاه رزماری در غلظت‌های مختلف حلال‌ها



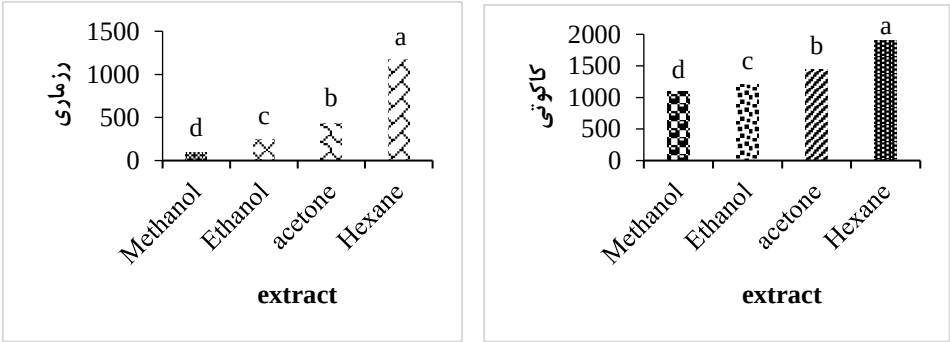


شکل ۷. تأثیر حلال‌های مختلف بر میزان IC50 (ppm) عصاره‌های گیاه نعنافلفلی و آویشن





شکل ۸. تأثیر حلال‌های مختلف بر میزان IC50 (ppm) عصاره‌های گیاه مرزه و بومادران



شکل ۹. تأثیر حلال‌های مختلف بر میزان IC50 (ppm) عصاره‌های گیاه کاکوتی و رزماری

بحث

رادیکال‌های آزادی که در فرایند پراکسیده شدن چربی‌ها شرکت می‌کنند نقش مهمی در ایجاد بیماری‌هایی مثل سرطان و بیماری‌های قلبی عروقی ایفا می‌کنند. رادیکال DPPH به‌طور گسترده برای تعیین توانایی فرونشاندن رادیکال‌های آزاد فراورده‌های طبیعی مختلف استفاده می‌شود و به‌عنوان یک ترکیب مدل برای رادیکال‌های آزاد آغازکننده در لیپیدها پذیرفته شده است [۱۴]. در این پژوهش، عصاره گیاه نعناع فلفلی در استخراج با هر چهار حلال دارای بالاترین میزان ترکیبات فنولی و درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH نسبت به بقیه عصاره‌ها است و عصاره کاکوتی کوهی میزان ترکیبات فنولی کل و درصد حذف رادیکال آزاد DPPH کمتری را دارا بودند. رابطه زیادی بین فعالیت گیرندگی رادیکال با میزان ترکیبات فنولی در میوه‌ها گزارش شده است [۱۵]. در همه گیاهان موردمطالعه حلال متانول بیشترین فعالیت ضدرادیکالی و حلال هگزان کمترین فعالیت ضدرادیکالی را نشان داد. این به دلیل این است که غالب ترکیبات آنتی‌اکسیدانی قطبی می‌باشند. درجه قطبیت حلال‌های مختلف میزان استخراج ترکیبات فنولی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. ترکیبات فنولی عصاره‌های حاصل از حلال‌های مختلف از نظر مقدار ترکیبات فنولی کل، نوع ترکیبات استخراج شده و میزان فعالیت ضداکسایشی، متفاوتند. حلالیت ترکیبات فنولی بسته به نوع حلال، درجه پلیمریزاسیون آنها و برهم‌کنش آنها با سایر ترکیبات موجود در بافت‌های گیاهی متفاوت است؛ برای مثال حلال‌های غیرقطبی نظیر استون و هگزان معمولاً برای استخراج ترکیبات فنولی چربی‌دوست مناسب به‌نظر می‌رسند. در کل حلال‌های متانول و اتانول به‌صورت مخلوط با آب (۴۰-۸۰ درصد) توانایی بیشتری نسبت به حالت خالص الکل‌ها در استخراج ترکیبات فنولی از بافت‌های گیاهی دارند [۷]. پیسچل و همکاران[1] [۱۶] با بررسی تأثیر پنج حلال آب، متانول، اتانول، استون و هگزان در استخراج عصاره از سیزده نوع ضایعات میوه و سبزی و واحدهای فراوری مواد گیاهی نشان دادند مطابق انتظار حلال‌های قطبی آب و متانول، بیشترین بازده استخراج را به بار آورد. همچنین مشاهده شد عصاره‌های متانولی و اتانولی بالاترین میزان ترکیبات فنولی را داشتند که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. ترکمن و همکاران [۱۷] به‌منظور استخراج ترکیبات فنولی از چای، از حلال‌های استون، متانول و اتانول به‌صورت خالص و مخلوط با آب استفاده کردند. نتایج حاکی از آن بود که مقدار ترکیبات فنولی در حالت خالص حلال کمتر از ترکیب آب بود به‌گونه‌ای که حلال‌های استون، متانول و اتانول به‌ترتیب حاوی کمترین میزان این ترکیبات بودند. با افزودن ۵۰ درصد آب به حلال‌های نامبرده، کارایی حلال‌ها در استخراج ترکیبات فنولی به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای افزایش یافت. مقدار ترکیبات فنولی کل در استون ۵۰ درصد > اتانول

[1] Peschel et al.

۵۰ درصد > متانول ۵۰ درصد > آب بود. یو و همکاران[1] [۱۸] گزارش کردند مقدار ترکیبات فنولی از پوسته بادام‌زمینی توسط اتانول (۸۰ درصد)، متانول (۸۰ درصد) و آب به‌ترتیب ۸۹/۹، ۹۰/۱ و ۵۶/۷ میلی‌گرم در هر گرم عصاره بود. این پژوهشگران، اتانول و متانول را به‌صورت مخلوط با آب به‌عنوان کاراترین حلال‌ها در استخراج ترکیبات فنولی معرفی کردند. نتایج به‌دست‌آمده در این بررسی با تحقیق حاضر مطابقت داشتند. در بررسی دیگری به‌منظور استخراج ترکیبات فنولی از برگ توت‌فرنگی، از چهار حلال آب، متانول، اتانول و دی‌اتیل اتر استفاده شد. نتایج نشان داد نوع حلال مورداستفاده تأثیر معنی‌داری بر میزان استخراج ترکیبات فنولی داشت و حلال اتانول با ۹۲/۶۶ و حلال دی‌اتیل اتر با ۱۴/۹۳ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در گرم عصاره به‌ترتیب بیشترین و کمترین میزان استخراج را به خود اختصاص دادند [۱۹]. محسن و عمار [۲۰] برای استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی کاکل ذرت از ۹ حلال مختلف با قطبیت متفاوت استفاده کردند و گزارش کردند میزان ترکیبات فنولی عصاره‌های اتانولی، متانولی و آبی به‌ترتیب حاوی ۰/۱۵۷، ۰/۱۱۲ و ۰/۰۷۳ درصد می‌باشد. آن‌ها تفاوت‌های مشاهده‌شده بین عصاره‌های مختلف را با تفاوت در قطبیت حلال مورداستفاده مرتبط دانستند و گزارش کردند حلال‌های با درجه قطبیت پایین مثل هگزان و استون نسبت به حلال‌های قطبی توانایی کمتری در استخراج ترکیبات فنولی دارند. در مطالعه‌ای [۲۱] غلظت ۵۰ میکرو لیتر بر میلی‌لیتر عصاره متانولی، استونی، الکلی و آبی آویشن به‌ترتیب دارای فعالیت جذب رادیکال آزاد DPPH ۸۲/۲، ۶۵/۵، ۴۶/۴ و ۲۰ درصد بودند. همچنین در مطالعه ایشان درصد جذب رادیکال آزاد DPPH در عصاره‌های متانولی، استونی، اتانولی و آبی بومادران به ترتیب ۸۵/۴، ۷۰/۶، ۵۰/۳ و ۲۲/۲ درصد گزارش شد که بالاتر از نتایج کسب‌شده در مطالعه حاضر است. در مطالعه‌ای به روی جاروب کردن رادیکال‌های آزاد عصاره‌های آنتی‌اکسیدانی پوست فندق که به وسیله حلال‌های مختلفی استخراج شدند نیز مشخص گردید که عصاره متانولی هرچند راندمان استخراج بالاتری نسبت به عصاره‌های اتانولی داشت اما دارای ترکیبات فنلی و قدرت رادیکال گیرندگی کمتری نسبت به عصاره به‌دست‌آمده از حلال اتانول بود [۲۲]. پیسچل و همکاران [۱۶] با بررسی تأثیر پنج حلال آب، متانول، اتانول، استون و هگزان در استخراج عصاره از ۱۳ نوع ضایعات میوه و سبزی و واحدهای فراوری مواد گیاهی نشان دادند مطابق انتظار و مشابه نتایج ما حلال‌های قطبی آب و متانول، بیشترین بازده استخراج را داشتند. لیو و همکاران[2] [۲۳] به وسیله حلال‌های با قطبیت متفاوت (استون، اتانول، متانول) عصاره دانه‌های جو را استخراج کردند. نتایج تحقیقات آن‌ها نشان داد که بیشترین راندمان عصاره‌گیری مربوط به عصاره متانولی است که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. محمدی و همکاران [۲۴] در نتایج بررسی‌های خود روی میزان ترکیبات فنلی و قدرت آنتی‌اکسیدانی پوست میوه خرمالو نشان دادند که عصاره اتانولی از مقدار ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی، بیشتری نسبت به عصاره متانولی برخوردار بوده‌است [۲۲]، که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی نداشت. در مطالعه‌ای در مورد حذف رادیکال‌های آزاد عصاره‌های آنتی‌اکسیدانی پوست فندق که به وسیله حلال‌های مختلفی استخراج شده بودند، عصاره متانولی با راندمان استخراج بالاتر نسبت به عصاره‌های اتانولی، دارای ترکیبات فنلی و قدرت رادیکال‌گیرندگی کمتری نسبت به عصاره به‌دست‌آمده از حلال اتانول بود که باز هم با نتایج ما مطابقت نداشت [۲۴]. استفاده صحیح از گیاهان دارویی مستلزم شناخت ترکیب‌های شیمیایی موجود در آن‌هاست؛ زیرا وجود ترکیب‌های شیمیایی است که باعث اثر درمانی گیاه می‌گردد [۲۵].

معمولاً برای مقایسه فعالیت ضدرادیکالی عصاره‌های مختلف از فاکتوری تحت عنوان IC_{50} استفاده می‌گردد. طبق تعریف IC_{50} به غلظتی از عصاره اطلاق می‌گردد که در آن ۵۰ درصد از رادیکال‌های آزاد DPPH موجود در محیط واکنش مهار شوند؛ بنابراین هرچه این غلظت کمتر باشد نشان‌دهنده فعالیت آنتی‌رادیکالی بالاتر عصاره‌هاست. فاضلی‌نسب و همکاران [۲۶] میزان IC_{50} عصاره هیدروالکلی بومادران و آویشن را به‌ترتیب ۶۵/۴۲ و ۳۵/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر

[1] Yu et al.
[2] Liu & Yao

به‌دست آوردند. پژوهش هاشمی و همکاران [۲۷] نشان داد که غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره گیاه نعناع فلفلی دارای ۵۲/۹۳ درصد توانایی جذب رادیکال آزاد DPPH را دارا بود. عبدی و همکاران [۲۸] میزان IC_{50} عصاره آبی برگ نعناع فلفلی را ۶۰/۴ پی‌پی‌ام گزارش کردند. در مطالعه حسینی و همکاران [۲۹] اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی (IC_{50}=84/94µg/ml) و اتیل استاتی(IC_{50}=725µg/ml) رزماری بالا بود. در مطالعه فاضلی‌نسب و همکاران [۲۶] میزان IC_{50} عصاره هیدروالکلی رزماری ۸۰/۹۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. فعالیت ضدرادیکالی عصاره‌های رزماری مربوط به وجود ترکیبات قطبی چون رزمارینیک اسید و سایر اسیدهای فنلی است. براساس مطالعات انجام‌شده فنل‌های اصلی عصاره رزماری که این فعالیت را نشان می‌دهند شامل کارنوزیک، کارنوزول و رزمارینیک اسید هستند [۳۰]. رزمارینیک اسید طی مدت کوتاهی با DPPH واکنش می‌دهد و در مدت ۱۰ دقیقه به حالت پایدار می‌رسد درحالی‌که سرعت واکنش کارنوزیک اسید کمتر است و نیازمند حدود ۳۰ دقیقه زمان برای رسیدن به حالت پایدار می‌باشد [۳۱]. کامکار و همکاران [۳۲] میزان IC_{50} عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی مرزه را به‌ترتیب ۳۸/۴۶، ۳۷/۷۳ و ۳۰/۷۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند که کمتر از نتایج گزارش‌شده در این پژوهش بود. گولوک و همکاران[1] [۳۳] IC_{50} عصاره متانولی مرزه را ۲۳/۶۷ پی‌پی‌ام گزارش کردند. شفیعی دستجردی و مزوجی [۳۴] میزان IC_{50} عصاره‌های اتانولی، متانولی و متانول-آبی (۷۰ درصد) کاکوتی کوهی از استان البرز، منطقه چالوس و استان تهران را به‌ترتیب ۴۰۰/۴۴، ۲۳۴/۹۴، ۱۰۶/۱۸- ۳۸۲/۰۵، ۲۰۷/۴۴، ۱۲۰/۹۷ و ۳۶۷/۸۸، ۲۹۳/۵۹، ۲۷/۹۱ پی‌پی‌ام به دست آوردند. در مطالعات مختلفی که برای تعیین خواص ضدرادیکالی گیاهان موردمطالعه انجام‌شده نتایج متفاوتی گزارش شده است. تفاوت در میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌رادیکالی عصاره‌های مختلف را می‌توان به عوامل مختلفی مانند اختلاف رقم، شرایط آب و هوایی منطقه، شرایط کشت، شرایط نگهداری و خشک‌کردن، شرایط متفاوت آزمایشی از قبیل نوع حلال، زمان استخراج، نوع هم زدن و غیره نسبت داد. اما به دلیل ساختار پیچیده عصاره‌ها بیان همبستگی میان فعالیت آنتی‌رادیکالی و ترکیبات موجود در عصاره‌ها به آسانی امکان‌پذیر نیست که می‌توان به تفاوت در نوع و مقدار ترکیبات مؤثر موجود در آنها نسبت داد. تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در ساختار یک ملکول آنتی‌اکسیدان معمولاً فاکتور تعیین‌کننده فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن نیست. موقعیت گروه‌های هیدروکسیل فنولی، حضور گروه‌های عاملی دیگر در مولکول کامل مانند پیوندهای دوگانه و ترکیب گروه‌های هیدروکسیل و گروه‌های کتونی، نقش مهمی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی ایفا می‌کند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های طبیعی معمولاً به توانایی آنها برای دادن هیدروژن نسبت داده می‌شود.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که تفاوت در نوع و خلوص حلال‌ها بـر میـزان استخراج ترکیبات فنولیک تأثیر می‌گذارند؛ به‌طوری کـه ارزیابی میزان توانایی به‌دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد عصاره‌های گیاهان دارویی مورد استفاده نشان داد که عصاره نعناع فلفلی و سپس آویشن، بیش‌ترین نقش را در مهار رادیکال‌های آزاد داشتند. با افزایش غلظت، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها بیشتر شد. بین حلال‌های موردمطالعه، حلال متانول ۸۰ درصد بیشترین توانایی را در جذب رادیکال آزاد DPPH نشان داد و کمترین توانایی جذب رادیکال آزاد DPPH مربوط به حلال هگزان بود. بر این اساس می‌توان از متانول ۸۰ درصد به‌عنوان بهترین حلال در جذب رادیکال آزاد DPPH گیاهان دارویی استفاده کرد [۱۵].

[1] Gulluce et al.

References

[1] Fatemi, S. (2021). *Food Chemistry*. Publishing Joint Stock Company. https://www.adinehbook.com/gp/product/9643250202

[2] Davarynejad, G., Taghizadeh, S. F., & Asili, J. (2017). Effect of Different Solvents on Total Phenolic Contents and Antioxidant Activity of Zizyphus jujube Miller Fruits. *Journal of Horticultural Science*, *31*(1), 158-166. https://doi.org/10.22067/jhorts4.v0i0.47986

[3] Rimpapa, Z., Toromanović, J., Tahirović, I., Sapcanin, A., & Sofić, E. (2007). Total content of phenols and anthocyanins in edible fruits from Bosnia. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, *7*(2), 117-120. https://doi.org/10.17305/bjbms.2007.3064

[4] Akoh, C. C., & Min, D. B. (2008). *Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology* (Third ed.). CRC Press, Taylor & Francis. https://books.google.com/books?id=sPglndmgXU8C

[5] Milos, M., Mastelic, J., & Jerkovic, I. (2000). Chemical composition and antioxidant effect of glycosidically bound volatile compounds from oregano (Origanum vulgare L. ssp. hirtum). *Food Chemistry*, *71*(1), 79-83. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00144-8

[6] Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., & Milos, M. (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry*, *85*(4), 633-640. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.07.024

[7] Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M., & Hamdi, M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian Quercus coccifera L. and Juniperus phoenicea L. fruit extracts. *Food Chemistry*, *105*(3), 1126-1134. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.02.010

[8] Wijekoon, M. M. J. O., Bhat, R., & Karim, A. A. (2011). Effect of extraction solvents on the phenolic compounds and antioxidant activities of bunga kantan (Etlingera elatior Jack.) inflorescence. *Journal of Food Composition and Analysis*, *24*(4), 615-619. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.09.018

[9] Rezaie, M., Farhoosh, R., Iranshahi, M., Sharif, A., & Golmohamadzadeh, S. (2015). Ultrasonic-assisted extraction of antioxidative compounds from Bene (Pistacia atlantica subsp. mutica) hull using various solvents of different physicochemical properties. *Food Chemistry*, *173*, 577-583. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.081

[10] Zhou, K., & Yu, L. (2004). Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation. *LWT - Food Science and Technology*, *37*(7), 717-721. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.02.008

[11] Arabshahi-Delouee, S., & Urooj, A. (2007). Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (Morus indica L.) leaves. *Food Chemistry*, *102*(4), 1233-1240. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.013

[12] Ebrahimzadeh, M. A., Nabavi, S. M., Nabavi, S. F., Bahramian, F., & Bekhradnia, A. R. (2010). Antioxidant and free radical scavenging activity of H. officinalis L. var. angustifolius, V. odorata, B. hyrcana and C. speciosum. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, *23*(1), 29-34. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20067863 /

[13] Dasgupta, N., & De, B. (2007). Antioxidant activity of some leafy vegetables of India: A comparative study. *Food Chemistry*, *101*(2), 471-474. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.003

[14] Dorman, H. J., Koşar, M., Kahlos, K., Holm, Y., & Hiltunen, R. (2003). Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from Mentha species, hybrids, varieties, and cultivars. *J Agric Food Chem*, *51*(16), 4563-4569. https://doi.org/10.1021/jf034108k

[15] Rumbaoa Sanchez, R. G., Cornago, D., & Geronimo, I. (2009). Phenolic content and antioxidant capacity of Philippine potato (Solanum tuberosum) tubers. *Journal of Food Composition and Analysis*, *22*, 546-550. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.11.004

[16] Peschel, W., Sánchez-Rabaneda, F., Diekmann, W., Plescher ,A., Gartzía, I., Jiménez, D., Lamuela-Raventós, R., Buxaderas, S., & Codina, C. (2006). An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. *Food Chemistry*, *97*(1), 137-150. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.03.033

[17] Turkmen, N., Sari, F., & Velioglu, Y. S. (2006). Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin–Ciocalteu methods. *Food Chemistry*, *99*(4), 835-841. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.08.034

[18] Yu, J., Ahmedna, M., & Goktepe, I. (2005). Effects of processing methods and extraction solvents on concentration and antioxidant activity of peanut skin phenolics. *Food Chemistry*, *90*(1), 199-206. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.048

[19] Oliveira, I., Coelho, V., Baltasar, R., Pereira, J. A., & Baptista, P. (2009). Scavenging capacity of strawberry tree (Arbutus unedo L.) leaves on free radicals. *Food and Chemical Toxicology*, *47*(7), 1507-1511. https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.03.042

[20] Mohsen, S. M., & Ammar, A. S. M. (2009). Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Food Chemistry*, *112*(3), 595-598. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.014

[21] Mazaraie, A., Mousavi-Nik, S. M., & Fahmideh, L. (2018). Assessments of phenolic, flavonoid and antioxidant activity of aqueous, alcoholic, methanol and acetone extracts of thirteen medicinal plants. *Nova Biologica Reperta*, *4*(4), 299-309. https//:doi.org/10.29252/nbr.4.4.299

[22] Locatelli, M., Travaglia, F., Coïsson, J. D., Martelli, A., Stévigny, C., & Arlorio, M. (2010). Total antioxidant activity of hazelnut skin (Nocciola Piemonte PGI): Impact of different roasting conditions. *Food Chemistry*, *119*(4), 1647-1655. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.08.048

[23] Liu, Q., & Yao, H. (2007). Antioxidant activities of barley seeds extracts. *Food Chemistry*, *102*(3), 732-737. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.051

[24] Mohamadi, M., Pourfallah, Z., & Elhami Rad, A. (2012). Determination of total phenolic compound contents and antioxidant capacity of persimmon skin. *Food Hygiene*, *2*(1), 41-51. http://jfh.iaut.ac.ir/article_517368.html?lang=en

[25] Kolahi, M., Mokhtari, B., & Mirzaee, N. (2016). A Phytochemical Study and Comparison of the Effect of Pomegranate Extracts Spongy Tissue on Colon Cancer Cells Caco-2. *Jundishapur Scientific Medical Journal*, *15*(2), 201-215. https://jsmj.ajums.ac.ir/article_47315_b554ae5e5394c6097afc601865ceff00.pdf

[26] Fazeli Nasab, B., Rahnama, M., & Mazarei, A. (2017). Correlation between Antioxidant Activity and Antibacterial Activity of Nine Medicinal Plant Extracts. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*, *27*(149), 63-78. http://jmums.mazums.ac.ir/article-1-8860-fa.html

[27] Hashemi, M., Zare, M. A., Naghebi, S., M, R., & Hassanzadeh Azar, H. (2015). Evaluation of Chemical Composition, Antibacterial, Antifungal and Antioxidant Properties of Sage, Peppermint and Oregano. *Medical Laboratory Journal*, *9*(3), 47-55. https://www.magiran.com/paper/1452366

[28] Abdi, G., Shokrpour, M., Salami, S. A., & Bertea, C. M. (2018). The effect of dehydration stress on functional properties, antioxidant capacity and metabolites of peppermint (Mentha piperita L.). *Iranian Journal of Horticultural Sciences (Iranian Agricultural Sciences)*, *49*(3), 715-727. https://doi.org/10.22059/IJHS.2017.238562.1291

[29] Hosseini, N., Malekirad, A., Changizi Ashtiani, S., & Nazemi, M. (2012). Free Radicals Scavenging Activity of Essential Oils and Different Fractions of Methanol Extract of Zataria Multiflora, Salvia Officinalis, Rosmarinus Officinalis, Mentha Pulegium and Cinnamomum Zeylanicum. *The Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*, *20*(1), 28-38. http//:jssu.ssu.ac.ir/article-1-1906-en.html

[30] Elmastaş, M., Dermirtas, I., Isildak, O., & Aboul-Enein, H. Y. (2006). Antioxidant Activity of S-Carvone Isolated from Spearmint (Mentha Spicata L. Fam Lamiaceae). *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, *29*(10), 1465-1475. https://doi.org/10.1080/10826070600674893

[31] Yesil-Celiktas, O., Girgin, G., Orhan, H., Wichers, H., Bedir, E., & Fazilet, V.-s. (2007). Screening of free radical scavenging capacity and antioxidant activities of Rosmarinus officinalis extracts with focus on location and harvesting times. *European Food Research and Technology*, *224*(4), 443-451. https://doi.org/10.1007/s00217-006-0306-0

[32] Kamkar, A., Torian, F., Akhondzadeh Basti, A., Misaghi, A., & Shariatifar, N. (2013). Evaluation of chemical composition of safflower essential oil (Satureja hortensis L) and comparison of its antioxidant activity with aqueous and alcoholic extracts *Journal of Veterinary Research*, *68*(2), 183-190. https://www.magiran.com/paper/1140916

[33] Güllüce, M., Sökmen, M., Daferera, D., Ağar, G., Ozkan, H., Kartal, N., Polissiou, M., Sökmen, A., & Sahin, F. (2003). In vitro antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of herbal parts and callus cultures of Satureja hortensis L. *Journal Agriculture Food Chemestry*, *51*(14), 3958-3965. https://doi.org/10.1021/jf0340308

[34] Shafiee Dastjerdi, L., & Mazoji, A. (2016). Antioxidant Activity and Total Phenols Content of Different Solvent Extracts of Ziziphora clinopodioides from Three Geographical Locations in Iran. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, *8*(11), 243-248. https://www.jocpr.com/abstract/antioxidant-activity-and-total-phenols-content-of-different-solvent-extracts-of-ziziphora-clinopodioides-from-three-geog-8487.html