

(مقاله پژوهشی)

تعیین میزان و مقایسه ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های آبی، متانولی، اتانولی و هگزانی حاصل از اندام های مختلف گیاه دارویی برازمبل (*Perovskia abrotanoides* Karel.)

حسن بیات^{۱*}، مرتضی علیرضایی نقنדר^۲، محمد حسین امینی فرد^۱

۱-استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

۲-دانش آموخته دکتری علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۰۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۹/۲۰

چکیده

برازمبل (*Perovskia abrotanoides* Karel.) یکی از گیاهان بومی باارزش دارویی و دارای مقادیر قابل توجهی از ترکیبات آنتی اکسیدانی است که به علت خواص ضد میکروبی، کاربرد زیادی در بین اهالی بومی شمال شرق ایران دارد. هدف این پژوهش اندازه گیری و مقایسه ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره های حاصل از حلال های (متانول، اتانول، هگزان و آب)، غلظت های (۰، ۳۱/۲۵، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ پی پی ام) و اندام های مختلف (گل، ساقه و برگ) گیاه برازمبل بود. بدین منظور اندام هوایی گیاهان در مرحله ی اوج گلدهی از رویشگاه جمع آوری و به سه بخش گل، ساقه و برگ تفکیک شدند. نتایج حاصله از سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی نشان داد که در میان عصاره های مختلف بیشترین و کمترین فعالیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنلی به ترتیب مربوط به عصاره های متانولی و هگزانی است. در تمامی حلال های مورد استفاده، با افزایش غلظت عصاره از ۳۱/۲۵ تا ۲۵۰ پی پی ام، میزان فعالیت آنتی اکسیدانی نیز افزایش یافت و با افزایش غلظت از ۲۵۰ به ۵۰۰ پی پی ام، کاهش جزئی در فعالیت آنتی اکسیدانی مشاهده شد. همچنین مقدار ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره های گل بیشترین و در عصاره های ساقه کمترین بود. سنجش فاکتور IC_{50} در میان عصاره های مختلف و مقایسه آن با محلول حاوی استاندارد آسکوربیک اسید حاکی از آن بود که بیشترین اثر بازدارندگی بعد از آسکوربیک اسید، در عصاره های متانولی حاصل شد. بطور کلی نتایج نشان داد که گیاه برازمبل و مخصوصاً گل ها غنی از ترکیبات فنلی می باشد و متانول به عنوان بهترین حلال جهت استخراج ترکیبات فنلی و آنتی اکسیدانی می باشد.

واژه های کلیدی: برازمبل، ترکیبات فنلی، عصاره های گیاهی، فعالیت آنتی اکسیدانی.

۱- مقدمه

از عصاره‌ها و اسانس‌های حاصل از گیاهان دارویی به عنوان ترکیباتی طبیعی در محافظت از مواد غذایی و داروهای گیاهی استفاده می‌شود. تحقیقات متعدد نشان می‌دهد که گیاهان دارویی منابعی غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها، گلیکوزیدها، آلکالوئیدها و... می‌باشند که به صورت پیش ماده‌های غیر فعال در بافت‌های گیاهی ذخیره می‌شوند (۹). ترکیبات فنلی یکی از گسترده‌ترین گروه‌های مواد شیمیایی در گیاهان بوده و دارای اهمیت فیزیولوژیکی قابل ملاحظه‌ای می‌باشند و به نظر می‌رسد که اساس مولکولی محافظت کنندگی ترکیبات فنلی در گیاهان، وابسته به ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و توانایی حذف رادیکال‌های آزاد توسط آن‌ها می‌باشد. تجمع ترکیبات فنلی با توجه به مرحله رشد، نمو و واکنش به تنش‌های محیطی کاملاً متفاوت بوده و میزان آن‌ها در نتیجه توازن بین بیوسنتز و تجزیه آن‌ها می‌باشد (۲۳). شواهد علمی نشان می‌دهد تنش اکسیداتیو که در نتیجه عدم توازن بین سطوح ملکول‌های اکسیدکننده و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی رخ می‌دهد می‌تواند منجر به ایجاد تغییرات بیوشیمیایی و در نتیجه بروز بیماری‌ها و ناهنجاری‌ها در انسان شده و به زیست مولکول‌های اصلی نظیر چربی‌ها، پروتئین‌ها و DNA آسیب برساند. امروزه مشخص شده است که جهش‌زایی و دیگر اثرات منفی گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در بیماری‌های مختلف انسان نقش دارند. در دو دهه اخیر تأکید فراوانی بر جایگاه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی شده است. آنتی‌اکسیدان‌ها به دلیل ویژگی حذف رادیکال‌های آزاد به طور مستقیم ضد جهش‌زایی و ضدسرطان می‌باشند (۳۸). آنتی‌اکسیدان‌ها از عوامل اصلی خنثی کننده رادیکال‌های آزاد که موادی فعال و مضر برای انسان هستند، می‌باشند. لذا تأمین ذخایر

آنتی‌اکسیدان، به منظور کاهش آثار تنش اکسایشی امری مهم تلقی می‌شود. اثرات سمی آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی از یک طرف و استقبال مصرف کنندگان از مواد افزودنی طبیعی از سوی دیگر، تمایل به استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی را بیشتر نموده است (۳۴). این آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیبات پلی فنلی هستند که در تمامی گیاهان و قسمت‌های آنها از قبیل برگ، ساقه، میوه، ریشه، بذر و غیره یافت می‌شوند. اثرات حفاظتی میوه‌جات و سبزیجات در برابر بیماری‌های مزمن تا حدودی به حضور آنتی‌اکسیدان‌ها در این دسته از مواد غذایی نسبت داده می‌شود. امروزه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی که از گیاهان و ادویه‌جات به دست می‌آید به دلیل وجود خواص آنتی‌اکسیدانی آن‌ها، به شکل گسترده‌ای مورد ارزیابی قرار می‌گیرند (۱۱). جنس *Perovskia L.* متعلق به تیره نعناعیان است که ۷ گونه مختلف آن از جمله *Perovskia abrotanoides* در ایران به صورت طبیعی می‌رویند. *P. abrotanoides* با نام فارسی برازمل و نام محلی گل کبود در خراسان، به عنوان گیاه دارویی معطر از پراکنش وسیعی در استان‌های اصفهان، خراسان، گلستان و مازندران برخوردار است (۶ و ۳۳). برازمل گیاهان دارویی است که علاوه بر داشتن جنبه‌های زینتی (به دلیل داشتن گل‌های فراوان بنفش رنگ و زیبا)، از سالیان دور به سبب خواص ضد میکروبی بالا به طرق مختلف مورد استفاده بوده است. اندام‌های هوایی و زمینی این گیاه حاوی ترکیبات مونوترپنی^۱ و سسکوئتریپنی^۲ بوده و اسانس آن دارای ترکیباتی همچون کامفور^۳، ۱-ا و ۸-سنیئول^۴ و آلفا کادینول^۵ است (۲۴). اسانس این گیاه حاوی ترکیبات ضد باکتریایی است. همچنین دی‌ترین‌های تخلیص شده از این گیاه، نوعی سم سلولی و ضد پلاسومودیوم است. ضماد تهیه شده از

- 1- Monoterpene
- 2 - Sesquiterpene
- 3 -Camphor
- 4 -1,8-Cineole
- 5 - α -Cadinol

ساییدن ریشه این گیاه در آب، روغن، کنجد و موم در درمان بیماری لیشمانیا مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۰، ۲۹ و ۳۳). همچنین این گیاه دارای خواص ضد التهابی و بهبود سریع زخم‌ها است (۲۰). ترکیبات آنتی‌اکسیدانی قابل توجه در این گیاه باعث کاهش آسیب‌های بافتی و سلولی می‌شود (۱۷). از دیگر ویژگی‌های دارویی آن می‌توان به آثار مثبت در درمان نارسائی‌های قلب، هپاتیت و سیروز کبدی (۵)، و عملکرد ویژه آن در ایجاد سمیت سلولی پاتوژن‌ها، ویروس‌ها و سلول‌های سرطانی (۱۲ و ۲۴) اشاره کرد. فلاونوئیدها، ترکیبات فنلی و آنتوسیانین موجود در سرشاخه‌های گلدار *P. abrotanoides* به دلیل کثرت مواد مؤثره فوق دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی قوی، ضد التهاب و ضد درد است (۲۱). ترکیبات فنلی موجود در برازمل، مهم‌ترین ترکیبات ضد التهابی، ضد اسپاسم و ضد درد در رماتیسم، آرتریت و اسپاسم عضلانی هستند (۱۵). به دلیل اهمیت بالای غذایی و دارویی ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانهای طبیعی، اندازه‌گیری این ترکیبات در گیاهان مختلف مورد توجه محققین بسیاری بوده است. بعلاوه تعیین کارآمدترین حلال جهت عصاره‌گیری و متعاقباً دستیابی به حداکثر راندمان مواد مؤثره مذکور، از اهداف کلیدی طرح این آزمایشات بوده است (۱، ۲۶، ۳۱، ۳۶، ۳۷). در پژوهش انجام شده بر روی ۱۳ گیاه مختلف، اثر پنج حلال آب، متانول، اتانول، استون و هگزان در استخراج عصاره و میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که حلال‌های قطبی آب و متانول بیشترین بازده استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی را داشتند (۲۶). در آزمایشی دیگر، حلال‌هایی با قطبیت متفاوت (استون، اتانول، متانول) جهت عصاره‌گیری از دانه‌های جو مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بیشترین راندمان عصاره‌گیری و ترکیبات فنلی مربوط به عصاره‌ی متانولی است (۳۷). در پژوهشی دیگر پنج حلال استون، اتانول، بوتانول، متانول، اتیل استات را جهت عصاره‌گیری از گندم سیاه به منظور بررسی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده

قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بیشترین راندمان استخراج مربوط به عصاره‌ی متانولی وجود داشت (۳۶). مطالعاتی که تاکنون بر روی گونه‌های مختلف برازمل انجام شده بیشتر به بررسی خواص درمانی، توان آنتی‌اکسیدانی اسانس و یا ترکیبات مؤثره آن پرداخته‌اند. از آنجاییکه استفاده حداقلی از مواد افزودنی به عنوان نگهدارنده، طعم‌دهنده یا آنتی‌اکسیدان، جهت جلوگیری از تاثیر نامطلوب احتمالی ضروری است، بنابراین شناسایی موثرترین اندام گیاهی، حلال مورد استفاده و غلظت دارای اثر مورد نظر، از اهمیت بالایی برخوردار است. با توجه به عدم مطالعه جامع و همزمان در زمینه فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی این گیاه، در این مطالعه قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد و میزان ترکیبات فنلی موجود در غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی، متانولی، اتانولی و هگزانی حاصل از اندام‌های هوایی گیاه دارویی برازمل مورد بررسی قرار می‌گیرد تا راه‌گشای مطالعات بعدی برای تعیین مؤثرترین غلظت برای کاربردهای مختلف صنایع دارویی و غذایی باشد.

۲- مواد و روش‌ها

اندام هوایی گیاه برازمل در اواسط آبان ماه ۹۵ (در مرحله اوج گلدهی) از محل رویشگاه طبیعی گیاه در بیلاقات اطراف مشهد (روستای نقندر) واقع در استان خراسان رضوی جمع‌آوری شد و گیاهان از آلودگی‌ها پاک شده و به بخش‌های گل، برگ و ساقه تفکیک شدند. سپس گیاهان خرد شده و عصاره‌های مختلف حاصل از اندام‌های گل، برگ و ساقه با نسبت ۱ به ۷ به ترتیب از گیاه و حلال از روش خیساندن (بر روی شیکر بمدت ۲۴ ساعت) بدست آمدند. پس از انجام عمل عصاره‌گیری، حلال موجود در عصاره‌های حاصله با استفاده از دستگاه روتاری حذف گردید تا پودر خالص بدست آید. نمونه‌های حاصله جهت اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوی فنلی تام، تا زمان شروع اندازه‌گیری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد یخچال نگهداری

۲-۲- تعیین ترکیبات فنلی

محتوی فنلی تام نمونه‌ها با استفاده از معرف فولین سیوکالتو^۲ مطابق با روش سینگلتن و روسی^۳ (۱۹۶۵)، با کمی تغییر اندازه‌گیری شد (۳۲). ۰/۱ میلی لیتر از عصاره متانولی هر کدام از نمونه‌ها (حاصل از اندام‌های مختلف) به لوله‌های آزمایش انتقال یافتند. سپس ۴/۵ میلی لیتر آب مقطر و ۰/۱ میلی لیتر معرف فولین سیوکالتو به هر کدام از لوله‌های آزمایش اضافه شد. پس از ۳ دقیقه ۰/۳ میلی لیتر محلول دو درصد Na_2CO_3 به لوله‌های آزمایش اضافه شد. سپس لوله‌ها کمی تکان داده شده و به مدت یک ساعت در تاریکی نگهداری شدند. برای رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف گالیک اسید (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میکرو گرم بر میلی لیتر) استفاده شد و مطابق با روشی که برای آماده سازی عصاره های گیاهی جهت اندازه‌گیری فنل انجام شد، عملیات آماده سازی غلظت‌های استاندارد صورت گرفت و در نهایت عدد جذب در طول موج ۷۶۰nm توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. غلظت ترکیبات فنلی نمونه‌ها پس از رسم نمودار استاندارد گالیک اسید بر اساس میلی گرم گالیک اسید در گرم وزن نمونه بیان گردید.

۲-۳- ارزیابی میزان عملکرد آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با

استفاده از روش IC_{50}

پس از تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی هر کدام از تیمارها، منحنی کالیبراسیون ترسیم شد و سپس از روی معادله خط، غلظت مهار ۵۰ درصد (IC_{50}) برای ترکیب استاندارد آسکوربیک اسید و عصاره‌های آبی، متانولی، اتانولی و هگزانی در غلظت مختلف از عصاره (۰، ۳۱/۲۵، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰) محاسبه گردید و در نهایت IC_{50} بدست آمده از ترکیب استاندارد و عصاره‌ها با هم مورد مقایسه قرار گرفتند.

شدند. آزمایش فاکتوریل بر مبنای طرح کاملاً تصادفی شامل ۳ فاکتور اندام‌های مختلف (گل، برگ و ساقه)، حلال‌های مختلف عصاره‌گیری (آب، متانول، اتانول و هگزان) و ۶ غلظت مختلف از عصاره (۰، ۳۱/۲۵، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ پی.پی.ام) با سه تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. عدد جذب نمونه عصاره‌ها در طول موج‌های مختلف توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Bio Quest, CE 2502, UK) قرائت گردید.

۲-۱- تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش DPPH توضیح داده شده توسط تکائو^۱ و همکاران (۱۹۹۴)، با کمی تغییر تعیین شد (۳۵). در این روش، فعالیت مهار رادیکال DPPH توسط عصاره نمونه با روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۱۷ نانومتر تعیین شد. به بخشی از پودر حاصله متانول اضافه گردید تا محلول استوک با غلظت ۵۰۰ پی.پی.ام به دست آید. سپس محلول با غلظت‌های ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵ و ۳۱/۲۵ تهیه گردید. برای هر نمونه ۱ سی سی از عصاره (حاصل از هر حلال و اندام‌های مختلف) که قبلاً تهیه شده بود و با ۴ سی سی (۴۰۰۰ میکرولیتر) محلول متانولی DPPH با غلظت ۰.۰۰۴ درصد، مخلوط و در نهایت پس از آن که نمونه‌ها ۳۰ دقیقه تحت شرایط تاریکی بودند میزان جذب نور در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها با استفاده از معادله ۲ محاسبه شد.

$$I\% = (A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}} / A_{\text{blank}}) 100$$

در این معادله A_{blank} میزان جذب نوری شاهد را نشان می‌دهد و A_{sample} بیانگر جذب نوری غلظت‌های مختلف عصاره‌های تهیه شده می‌باشد.

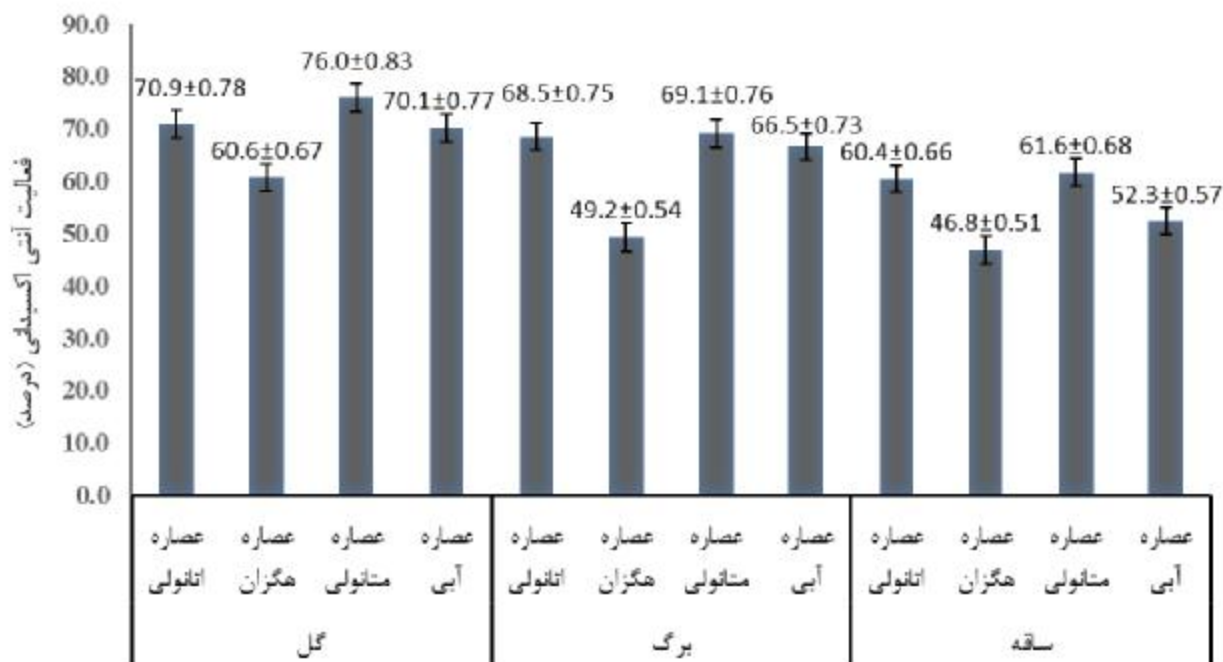
۲-۴- تجزیه داده‌ها

تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار JMP8 انجام شد و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2013 ترسیم شدند. برای تعیین IC₅₀ از نرم‌افزار Graph Pad Prism 6 استفاده گردید.

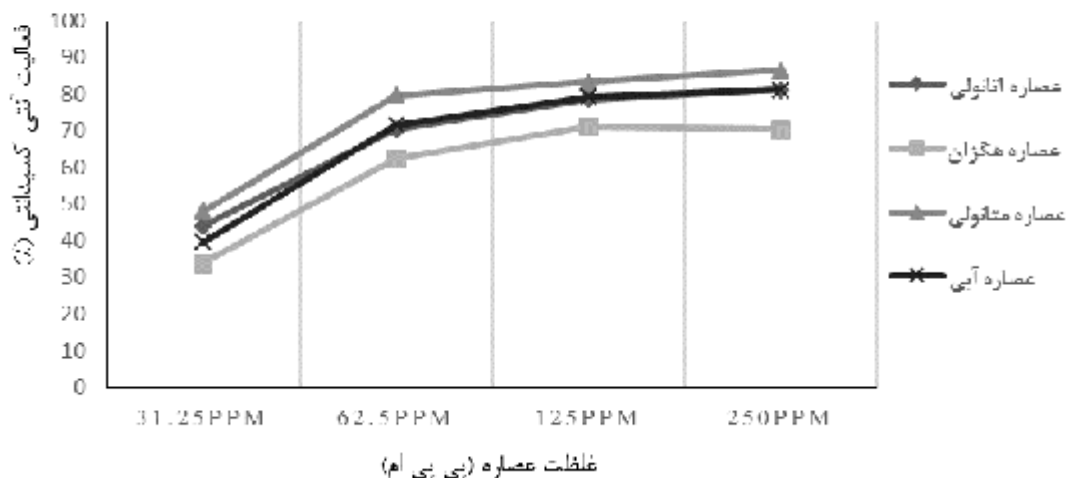
۳- نتایج و بحث

نتایج به دست آمده از سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت‌های مختلف حاصله از حلال‌های عصاره‌گیری مختلف نشان می‌دهد که در میان عصاره‌های مختلف بیشترین کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به ترتیب در عصاره‌های متانولی و هگزانی به دست آمد (شکل ۱). مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی در میان اندام‌های مختلف نشان داد که بیشترین و کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به ترتیب در عصاره‌های حاصل از گل و ساقه به دست آمد (شکل ۱). در تمامی حلال‌های عصاره‌گیری با افزایش غلظت عصاره از ۳۱.۲۵ به ۲۵۰ پی‌پی‌ام، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش نشان داد (شکل ۲). بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش، میزان ترکیبات فنلی و خواص آنتی‌اکسیدانی تحت تأثیر نوع حلال مورد استفاده برای عصاره‌گیری قرار گرفت. از بین حلال‌های مختلف مورد استفاده، بهترین کارایی استخراج برای صفات فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوی فنلی تام به حلال متانول

اختصاص داشت و عصاره هگزانی عملکرد ضعیف‌تری در ارتباط با مهار رادیکال‌های آزاد از خود نشان داد. مطابق با نتایج این آزمایش، پیشل^۱ و همکاران (۲۰۰۶)، اثر پنج حلال آب، متانول، اتانول، استون و هگزان در استخراج عصاره از ۱۳ نوع ضایعات میوه و سبزی و واحدهای فرآوری مواد گیاهی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که حلال‌های قطبی آب و متانول بیشترین بازده استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی را داشتند (۲۶). در پژوهشی دیگر، حلال‌هایی با قطبیت متفاوت (استون، اتانول، متانول) جهت عصاره‌گیری و اندازه‌گیری ترکیبات فنلی از دانه‌های جو استفاده شدند و نتایج نشان داد که بیشترین راندمان عصاره‌گیری و ترکیبات فنلی مربوط به عصاره‌ی متانولی است (۳۷). نتایج مشابهی از آزمایش بر روی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی گندم سیاه تحت تأثیر عصاره‌گیری با حلال‌های مختلف (استون، اتانول، بوتانول، متانول، اتیل استات) گزارش شد، از آن جایی که که بیشترین راندمان استخراج مربوط به عصاره‌ی متانولی بود (۳۶). مطابق با نتایج پژوهش‌های فوق، اگر چه انتظار میرفت که مقادیر محتوی فنلی تام در عصاره‌های حاصل حلال‌های قطبی همچون آب بیشتر از عصاره‌های هگزانی باشد اما در تحقیق پیش رو، میزان محتوی فنلی تام عصاره‌های آبی در مقایسه با عصاره‌های هگزانی کمتر (ولی غیر معنی‌دار) بود.



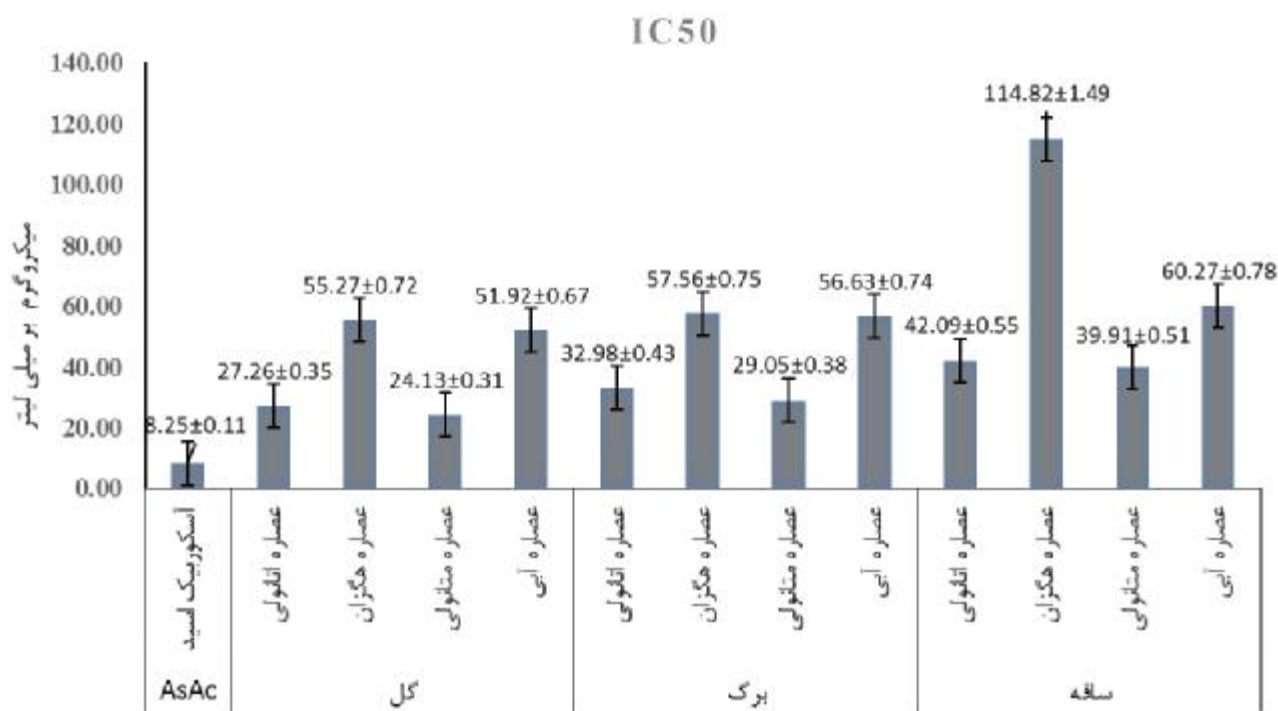
شکل ۱- بررسی میانگین فعالیت آنتی اکسیدانی تحت تأثیر حلال های مختلف (متانول، اتانول، آب و هگزان) و اندام های مختلف (گل، برگ و ساقه) در گیاه برازمبل *Perovskia abrotanoides* Karel



شکل ۲- مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی غلظت های مختلف عصاره های متانولی، اتانولی، هگزانی و آبی گیاه برازمبل *Perovskia abrotanoides* Karel

میزان فنل کمتر بود، میزان IC_{50} بیشتر بود. هر چه میزان IC_{50} کمتر باشد اثر آنتی‌اکسیدان بیشتر است زیرا قدرت مهار اکسیداسیون با غلظت کمتری انجام می‌گیرد. مقدار IC_{50} در نمونه‌های گیاه براز مبل در مقایسه با آسکوربیک اسید استاندارد در سطح قابل قبولی وجود داشت که این موضوع به اهمیت بالای گیاه براز مبل در فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی تأکید دارد. در این آزمایش، با افزایش غلظت عصاره از ۳۱/۲۵ تا ۲۵۰ پی‌پی‌ام در تمامی حلال‌های عصاره‌گیری، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت و با افزایش بیشتر غلظت، کاهش جزئی در مقادیر صفات مذکور مشاهده شد. مشابه با این تحقیق، نتایج مطالعه بر روی عصاره‌های آبی و الکی گلبرگ زعفران نیز حاکی از افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره با افزایش غلظت عصاره می‌باشد. در این مطالعه عصاره‌های الکی (متانولی و اتانولی) فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی بیشتری در مقایسه با عصاره‌های آبی نشان دادند (۱).

سنجش فاکتور IC_{50} در میان عصاره‌های مختلف و مقایسه آن با محلول حاوی استاندارد آسکوربیک اسید حاکی از آن بود که بیشترین غلظت مهار ۵۰ درصد بعد از آسکوربیک اسید، در عصاره‌های متانولی حاصل شد. همچنین کمترین غلظت مهار ۵۰ درصد در عصاره‌های هگزانی بدست آمد. تفاوت معنی‌داری در مقادیر IC_{50} در عصاره‌های حاصل از اندام‌های مختلف نیز به دست آمد. عصاره‌های گل کمترین و عصاره‌های ساقه بیشترین میزان غلظت مهار ۵۰ درصد را نشان دادند (شکل ۳). هرچه میزان غلظت مهار ۵۰ درصد بالاتر باشد نشان دهنده کم بودن قدرت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد یعنی غلظت‌های بالاتر عصاره توانسته اند ۵۰ درصد رادیکال آزاد DPPH را مهار کنند (شکل ۵). همانطور که نتایج نشان می‌دهد، در تیمارهایی که صفات فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل برتری داشتند، ارتباط متناظری با مقادیر IC_{50} نیز برقرار بود چرا که کمترین مقدار IC_{50} به عصاره‌های متانولی اختصاص داشت و مطابق انتظار در تیمارهایی که فعالیت آنتی‌اکسیدانی و

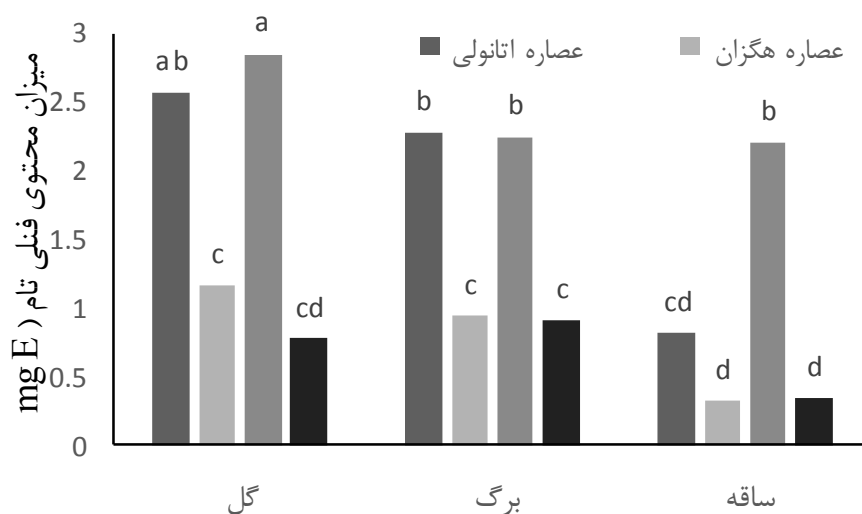


شکل ۳- مقایسه مقادیر IC_{50} (حداقل غلظت بازدارنده) عصاره‌های حاصل از گل، برگ و ساقه گیاه براز مبل

Perovskia abrotanoides Karel

اینحال میزان فنول در عصاره های آبی (به جز عصاره آبی ساقه) کمتر بود. همچنین محتوی فنلی تام در عصاره های گل در مقایسه با عصاره های برگ و ساقه، بیشترین بود (شکل ۴).

بررسی مقادیر فنل در حلال های مختلف عصاره گیری نشان داد که بیشترین مقادیر فنل به ترتیب در عصاره های حاصل از حلال متانول به دست آمد. اگر چه تفاوت معناداری بین عصاره های هگزانی و آبی در میزان فنول وجود نداشت، با



شکل ۴- مقایسه میانگین محتوی فنلی تام در عصاره های متانولی، اتانولی، هگزانی و آبی حاصل از گل، برگ و ساقه گیاه برآزمیل

Perovskia abrotanoides Karel

گزارشات حاکی از آن است که علاوه بر روش انتخاب شده جهت بررسی قدرت آنتی اکسیدان عصاره ها، نوع و قطبیت حلال مورد استفاده (۱۶)، غلظت های به کاررفته و خصوصیات طبیعی و فیزیکوشیمیایی ترکیبات مورد مطالعه نیز بر ظرفیت آنتی اکسیدانی مؤثر می باشد (۲۳). به نظر می رسد که فعالیت آنتی اکسیدانی بالا در عصاره های متانولی در ارتباط مستقیمی با قابلیت حلال در استخراج ترکیبات فنلی باشد، چرا که براساس شواهد موجود ارتباط مثبتی بین میزان ترکیبات فنلی و قدرت آنتی اکسیدانی گیاهان وجود دارد که از طریق عصاره های گیاهی آن ها قابل استخراج است (۱۴ و ۲۵). در این آزمایش در میان اندام های مختلف گیاه برآزمیل، بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی و مقدار ترکیبات فنلی کل، در عصاره های گل دیده شد. یکی دیگر از عوامل تاثیرگذار بر

در این مطالعه اغلب عصاره هایی با ترکیبات فنلی بالاتر، دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری نیز بودند. تحقیقات نشان داده اند که اکثر گیاهانی که حاوی مشتقات فنلی هستند قابلیت های آنتی اکسیدانی بالایی را نیز از خود نشان می دهند (۱۹) و ارتباط مثبت و معنی دار فعالیت آنتی اکسیدانی مواد گیاهی با محتویات ترکیبات فنلی آن ها به اثبات رسیده است (۱۰، ۱۸ و ۳۱). ترکیبات فنلی توانایی زیادی برای پاک سازی رادیکال های آزاد را دارند و این توانایی بیشتر بستگی به تعداد حلقه های آروماتیک و ماهیت گروه های هیدروکسیل دارد (۱۳). در پژوهشی بر روی گیاه روناس صخره زنی نیز گزارش داده شد که عصاره های متانولی در مقایسه با عصاره های حاصل از حلال های دیگر، دارای بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوی فنلی تام بودند (۴).

۵- منابع

۱. افزاره، ز.، بلندی، م.، خورشیدی، م. و محمدی نافچی، ع. ۱۳۹۳. بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و الکیلی (متانول، اتانول) گلبرگ زعفران. زراعت و فناوری زعفران، دوره ۲، شماره ۳، ۲۳۶-۲۳۱.
۲. امید بیگی، ر. تولید و فراوری گیاهان دارویی ۱۳۹۳. انتشارات آستان قدس.
۳. خلاصی اهوازی، ل.، غلامعلی، ح.، ذوفن، پ. و اکبرلو، م. ۱۳۹۵. تأثیر عوامل محیطی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گونه گیاهی *L. Gundelia tournefortii* در مراحل مختلف رویشی. مرتع، دوره ۱۰، شماره ۲، ۲۴۶-۲۳۷.
۴. صالح آبادی، س. و مهربان سنگ آتش، م. ۱۳۹۴. بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و سنجش میزان فنل تام و فلاونوئید عصاره‌های متانولی، دی کلرومتانی و اتیل استاتی اندام هوایی گیاه روناس صخره زی *Rubia florida*. مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، دوره ۷، شماره ۱، ۱۱۰-۱۱۲.
۵. مازندرانی، م.، بیک محمدی، م. و بیات، ه. ۱۳۸۸. اتنوفارماکولوژی و بررسی مهمترین مواد موثره ثانوی گیاه برازمل *Perovskia abrotanoides* Karel در رویشگاه‌های طبیعی استان‌های گلستان و خراسان شمالی. فیزیولوژی محیطی گیاهی (پژوهش‌های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران)، دوره ۴، شماره ۴، ۷۷-۶۹.
۶. مظفریان، و. ۱۳۹۳. فرهنگ نامهای گیاهان ایران. انتشارات فرهنگ معاصر.
۷. مهرپور، م.، کاشفی، ب. و مقدم، م. ۱۳۹۵. بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی اندام‌های

متابولیت‌های ثانویه در گیاهان، نوع اندام‌های گیاهی است بطوری که میزان متابولیت‌های ثانویه در اندام‌های مختلف با یکدیگر متفاوت است. نتایج مطالعات بر روی گیاه آنگوزه (*Ferula assafoetida* L.) نشان می‌دهد که کیفیت و کمیت ترکیبات شیمیایی و عملکرد آنتی‌اکسیدانی آن‌ها بسته به نوع اندام متغیر است (۷). نتایج تحقیقات صورت گرفته بر روی اجزاء اسانس بدست آمده از برگ، گل و شاخه گیاه برازمل حاکی از آن است که نوع و مقادیر اجزاء اسانس حاصل از اندام‌های مختلف این گیاه با هم متفاوت هستند (۸ و ۳۰) و بنابراین عصاره‌های حاصل از اندام‌های مختلف این گیاه نیز دارای ترکیبات متفاوتی می‌باشند. از اینرو به نظر می‌آید مقادیر متفاوت ترکیبات فنلی و عملکرد آنتی‌اکسیدانی در اندام‌های مختلف گیاه برازمل به علت وجود انواع و مقادیر متفاوت ترکیبات ثانویه گیاهی در این اندام‌ها است.

۴- نتیجه‌گیری

در این آزمایش تلاش شد که در کاربرد حلال‌های مختلف حاصل از اندام‌های مختلف گیاه برازمل، حلالی با کارایی بیشتر جهت استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فنلی، شناسایی شود. بطور کلی نتایج نشان داد که گیاه برازمل و مخصوصاً گل‌ها غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌باشد و در میان حلال‌های مورد استفاده جهت عصاره‌گیری، متانول به عنوان بهترین حلال جهت استخراج ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. سنجش فاکتور IC_{50} (غلظت مهار ۵۰ درصد) در میان عصاره‌های مختلف و مقایسه آن با محلول حاوی استاندارد آسکوربیک اسید، حاکی از آن بود که بیشترین اثر بازدارندگی بعد از آسکوربیک اسید، در عصاره‌های متانولی وجود داشت. در مجموع نتایج حاکی از آن است که گیاه دارویی برازمل دارای پتانسیل بالایی از نظر وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فنلی می‌باشد که کاربرد این گیاه را در صنایع غذایی و دارویی به عنوان جایگزینی مناسب برای مواد نگهدارنده و سنتزی، توجیه پذیر می‌نماید.

- Afan (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 87:215-220.
15. Cetin, H., Erler, F. and Yanikoglu, A. 2007. A comparative evaluation of *Origanum onites* essential oil and its four major components as larvicides against the pine processionary moth, *Thaumetopoea wilkinsoni* Tams. *Pest Management Science*, 63(8):830-833.
 16. Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10:178-182.
 17. Devasena, T. and Menon, V.P. 2002. Enhancement of circulatory antioxidants by fenugreek during 1, 2-dimethylhydrazine-induced rat colon carcinogenesis. *Journal of Biochemistry, Molecular, Biology and Biophysics*, 6(4):289-292.
 18. Gardeli, C., Vassiliki, P., Athanasios, M., Kibouris, T. and Komaitis, M. 2008. Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry*, 107:1120-1130.
 19. Guo, C., Cao, G., Sofic, E. and Prior, R. 1997. High performance liquid chromatography coupled with colometric array detection of electroactive components in fruits and vegetables: Relationship to oxygen radical absorbance capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45:1787-1796.
 20. Jaafari, M.R., Hooshmand, M.R., Samiei, S. and Hosseinzade, H. 2007. Evaluation of leishmanicidal effect of *Perovskia abrotanoides* Karel. root extract by in vitro leishmanicidal assay using promastigotes of *Leishmania major*. *Pharmacology Online*, 1:299-303.
 21. Khaliq, S., Volk, F.J. and Frahm, A.W. 2007. Phytochemical investigation of *Perovskia abrotanoides*. *Planta Medica*, 73(1):77-83.
- Ferula assafoetida* L. مختلف گیاه دارویی
در دو رویشگاه طبیعی استان های سمنان و
خراسان. اکو فیتو شیمی گیاهان دارویی، دوره ۴،
شماره ۱، ۶۸-۵۶.
8. Aberoomand Azar, P., Larijani, K. and Kalantari, N. 2015. Volatile components of *Perovskia abrotanoides* and *Nepeta glomerulosa*. from Iran. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*, 9 (10):1686-1690.
 9. Ahmadi, F., Kadivar, M. and Shahedi, M. 2007. Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Mozaff. in model and food systems. *Food Chemistry*, 105(1):57-64.
 10. Alai, F.Q., Tawaha, K., El-Elimat, T., Syouf, M., El-Fayad, M., Abulaila, K., Nielsew, S.J., Wheatons, W.D., Falkinham, J.O. and Oberlies, N.H. 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of aqueous and methanolic extracts of Jordanian plants: an ICBG Project. *Natural Product Research*, 21:1121-1131.
 11. Andreja, H., Majda, H., Zeljko, K. and Davorin, B. 2000. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with α - tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. *Food chemistry*, 71(2):233-229.
 12. Aoyagi, Y., Takahashi, Y., Satake, Y., Takeya, K., Aiyama, R., Matsuzaki, T., Hashimoto, S. and Kurihara, T. 2006. Cytotoxicity of abietane diterpenoids from *Perovskia abrotanoides* and their semisynthetic analogue. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14:5285-5291.
 13. Aruoma, O.I. 1996. Assessment of potential prooxidant and antioxidant actions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73:1617-1625.
 14. Candan, F., Unlu, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, A.H. and Akpulat, A. 2003. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium*

- composition of essential oil of *Perovskia abrotanoides* Karel. growing wild in Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 20(4):445-446.
31. Siddharthan, S., Yi-Zhong, C., Harold, C. and Mei, S. 2007. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food Chemistry*, 102:938-953.
 32. Singleton, V.L. Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16:144-158.
 33. Soosaraei, M., Fakhar, M., Hosseini Teshnizi, S., Ziaei Hezarjaribi, H. and Banimostafavi, E.S. 2017. Medicinal plants with promising antileishmanial activity in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Annals of Medicine and Surgery*, 21:63-80.
 34. Stoilova, A., Krastano, A., Dtoyanova, P., Senev, P. and Farfova, S. 2007. Antioxidant activity of ginger extract (*Zingiber officinale*). *Food Chemistry*, 102(3):764-770.
 35. Tekao, T., Watanabe, N., Yagi, I. and Sakata, K. 1994. A simple screening method for antioxidant and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shellfish. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 58:1780-1783.
 36. Ting, S. and Chi-Tang, H. 2005. Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food Chemistry*, 90:743-749.
 37. Yao, H. and Qing, L. 2007. Antioxidant activities of barley seeds extracts. *Food Chemistry*, 102:732-737.
 38. Zayzafoon, G., Odeh, A., Mohzia, Y. and Allaf, A.W. 2011. Measurements of essential oil extract and antioxidants in Syrian *Myrtus Communis* L. leaves using photochemiluminescence assay. *Helvia Polonica*, 57:5-19.
 22. Korkina, L.G. 2007. Phenyl propanoid compounds in plant response to different stress factors. *Acta Physiologia Plantarum*, 19:257-268.
 23. Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V. and Milosa, M. 2004. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry*, 85:633-640.
 24. Moallem, S.A. and Niapour, M. 2008. Study of embryotoxicity of *Perovskia abrotanoides*, an adulterant in folk-medicine, during organogenesis in mice. *Ethnopharmacology*, 117:108-114.
 25. Muret, K., Sevgi, K., Sengul, K., Esra, U., Cemalettin, B. and Fedra, V. 2007. Biological activities, chemical composition of three honeys of different types from *Anatolia*. *Food Chemistry*, 100(2):526-534.
 26. Peschel, W., Rabaneda, F., Diekmann, W., Plescher, A., Gartzia, I., Jimenez, D., Raventos, L., Buxaderas, S. and Codina, C. 2006. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. *Food Chemistry*, 97(1):137-150.
 27. Rechinger, K.H. 1982. *Flora Iranica*. Akademische Druck-u. Verlagsanstalt, Graz, 597p.
 28. Safaei-Ghomi, J. and Batooli, H. 2010. Determination of bioactive molecules from flowers, leaves, stems and roots of *Perovskia abrotanoides* karel growing in central Iran by nano scale injection. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 5(2):551-556.
 29. Sairafianpour, M., Christensen, J., Staerk, D., Budnik, B.A., Kharazmi, A., Bagherzadeh, K. and Jaroszewski, J.W.J. 2001. Leishmanicidal, antiplasmodial, and cytotoxic activity of novel diterpenoid 1, 2-quinones from *Perovskia abrotanoides*: new source of tanshinones. *Journal of Natural Products*, 64:398-403.
 30. Sajjadi, E.S., Mehregan, I., Khatamsaz, M. and Asghari, C.H. 2005. Chemical

(Original Research Paper)

Determination and Comparison of Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Water, Methanolic, Ethanolic and Hexane Extracts from Different Parts of *Perovskia abrotanoides* Karel.

Hassan Bayat^{1*}, Morteza Alirezaie Noghondar², Mohammad Hosein Aminifard¹

1- Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran.

2- Ph.D Graduated of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Received: 11/12/2018

Accepted: 24/08/2019

Abstract

Perovskia abrotanoides Karel. is one of native medicinally valuable plant, which is important for the presence of significant amount of antioxidant compounds, used for antimicrobial effects among indigenous people in Northeast of Iran. The objective of this study was to investigate the antioxidant activities (AA) and total phenolic content (TPC) and IC₅₀ (by using concentrations of 31.25, 62.5, 125, 250 and 500 ppm, as compared to the standard ascorbic acid) changes in different extraction solvents (methanol, ethanol, hexane and water), extract concentration and plant parts (flower, shoot and leaf) of *P. abrotanoides* Karel. The wild-growing plants were harvested at full flowering stage, in October 2016, dissected into flower, shoot and leaf tissues, which were dried. Dried and powdered plant materials were extracted by maceration using different solvents. The results showed, that the greatest and the lowest of TPC and AA was obtained in methanolic extract and hexane extract, respectively. Among the different organs, the highest and the lowest TPC and AA were obtained in flower and shoot, respectively. In all solvent extraction, with increasing of concentration from 31.25 to 250 ppm, AA was increased, but showed a slight decrease in the concentration of 500 ppm. The lowest IC₅₀ was observed in ascorbic acid followed by methanolic extract and the highest was obtained in hexane extract. Among different plant parts, the lowest and the highest IC₅₀ were observed in flower and shoot, respectively. It is concluded that *P. abrotanoides* Karel is a rich source of phenolic compounds. Methanol evaluated as the best solvent for extraction of antioxidant and phenolic compounds.

Keywords: Antioxidant Activity, Plant Extracts, *Perovskia abrotanoides* Karel, Total Phenolic Content.

* Corresponding Author: hassanbayat@birjand.ac.ir