(مقاله پژوهشی)

بررسی خواص آنتی اکسیدانی و شناسایی ترکیبات شیمیایی عصاره های حاصل از برگ گیاه پرسیاوشان(*Adiantum capillus-veneris*)

محمد مهدی نعمت شاهی[1*]، امیرحسین الهامی راد[2]، نفیسه نعمت شاهی[3]، سید حسین استیری [2]

۱- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان ، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.

۲- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.

۳-دانشجوی دکتری زیست شناسی- فیزیولوژی گیاهی،گروه علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۹/۲۰ تاریخ پذیرش:۱۳۹۷/۱۰/۰۵

چکیده

دراین پژوهش ساختار اسیدهای چرب، اجزاء توکوفرولی، استرول ها و نوع ترکیبات فنلی عصاره های حاصل از برگ گیاه پرسیاوشان شناسایی شد و سپس تاثیرحلال‌های متانول و اتانول براستخراج ترکیبات پلی‌فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره استخراجی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اسید پالمتیک اسیدچرب اشباع غالب عصاره، گاما و بتا توکوفرول بیشترین ترکیبات توکوفرولی، سیتواسترول بالاترین میزان استرول ها و سیرینژیک اسید و هیدروکسی تیروزول ترکیبات فنلی غالب در عصاره برگ پرسیاوشان بودند. اندازه گیری ترکیبات فنلی نیز نشان داد که در عصاره های استخراج شده با هر دو حلال، با افزایش غلظت عصاره تا ۱۰۰۰ پی پی ام میزان ترکیبات پلی فنلی استخراج شده در عصاره متانولی و اتانولیبه ترتیب تا ۲۴۰/۶۵ و ۱۴۲/۴۰ میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره افزایش یافت، با این تفاوت که درصد استخراج این ترکیبات آنتی‌اکسیدانی توسط حلال متانول به طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از حلال اتانول بود. در مرحله بعد، با اندازه‌گیری فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در غلظت‌های مختلف عصاره‌های متانولی و اتانولی و مقایسه آن با آنتی‌اکسیدان سنتزیبوتیل هیدروکسی تولوئن(BHT)در غلظت ۲۰۰ پی پی ام، مشخص شد که افزایش خاصیتآنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی و اتانولی وابسته به غلظت می‌باشد، بدین معنی که با افزایش غلظت عصاره‌ها از ۲۰۰ پی پی ام تا ۱۰۰۰ پی پی ام، خاصیت آنتی‌اکسیدانی به طور چشمگیری افزایش یافت و در یک غلظت ثابت، عصاره استخراج شده با حلال متانول دارای فعالیت رادیکال گیرندگی بیشتری نسبت به عصاره اتانولی بود و هر دو عصاره فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT داشتند. به طورکلی‌نتایج این پژوهش‌نشان داد متانول حلال مؤثرتری در استخراج ترکیبات فنلی برگ گیاه پرسیاوشان می‌باشد. همچنین همبستگی مثبتی بین میزان ترکیبات فنلی با فعالیت ضد اکسایشی وجوددارد.

واژه های کلیدی: ترکیبات شیمیایی ، خواص آنتی‌اکسیدانی، عصاره، برگ پرسیاوشان.

* مسؤول مکاتبات : m.nematshahi67@gmail.com

۱-مقدمه

پرسیاوشان گیاهی علفی و پایا از خانواده سرخس*Polypodiales*، دارای ریزوم قهوه ای رنگ، باریک و گره دار و ریشه‌هایی نازک می باشد. یکی از مشخصه های اصلی گیاه پرسیاوشان، هاگینه‌هایی است که در قسمت نوک برگچه‌ها به صورت نقاط برجسته سبز یا قهوه‌ای مشاهده می‌شود (۲). محل رویش این گیاه بیشتر در اروپای جنوبی، کوههای آلپ و سواحل آتلانتیک و همچنین ایران می‌باشد و بیشتر در نواحی مرطوب وغنی از مواد آلی و در حاشیه جویبارها و رودخانه‌ها می روید و بسیار شبیه گشنیز سبز می‌باشد (۱۱). پرسیاوشان با داشتن مواد تشکیل دهنده متنوع، دارای خواص دارویی متعددی می باشد. موسیلاژ موجود در این گیاه دارای خاصیت نرم کنندگی سینه و اندام تنفس فوقانی بوده و موجب آسان شدن خروج خلط می‌شود(۳۶). در طب سنتی گیاه پرسیاوشان به عنوان داروی ضدسرفه، تب بر، خلط آور، مدر و در درمان بیماری های دستگاه تنفسی به صورت چای و در سرفه های شدید به شکل شربت مورد استفاده قرار می گرفته است (۲۹). فلاونوئیدهای موجود در گیاه (روتین و ایزو کوئرستین) دارای اثر ضدالتهاب، ضدآلرژی و وقفه دهنده رشد تومور بوده (۳۲) و افزون بر این دارای اثر حفاظتی عروق، آنتی ترومبوتیک، تاثیر گذاری بر هماتوکریت، زمان پروترومبین، زمان ترومبوپلاستین و حجم گلبولهای قرمز دارد (۱۱). علاوه بر این آثار ضد میکروبی، ضد قارچی و ضد ویروسی این گیاه مرتبط با فلاونوئیدهای ذکر شده موجود در آنمی باشد که در شرایط آزمایشگاهی به اثبات رسیده است (۳۶ و ۳۸). پرسیاوشان از لحاظ انتشار جغرافیایی، پراکندگی وسیعی در ایران دارد و در اکثر مناطق مرطوب و سایه دار دیده میشود (۲). زمان جمع آوری این گیاه اواخر بهار و اوایل تابستان (ماههای خرداد و تیر) می باشد و کلیه قسمت های اندام هوایی و ریزوم این گیاه مصرف دارویی دارد. ترکیبات شیمیایی موجود در آن شامل موسیلاژ، قند، کافئیک اسید، گالیک اسید و کاپیلارین می‌باشد (۲۹ و ۳۶). ترکیبات فنلی از جمله متابولیت های ثانویه گیاهان هستندکه ازهسته های آروماتیک و یکی از چندگروه OH ساخته شده اند و به فنل های ساده، فنلیک اسیدها،کومارین ها، فلاونوئیدها، تانن های متراکم، لیگنانها و لیگنین ها تقسیم می شوند.این ترکیبات به دلیل خصوصیات اکسایش خود میتوانند به عنوان عوامل کاهنده در پاکسازی اکسیژن یگانه دخالت کرده و به دلیل ساختار شیمیایی متنوع، تفاوت هایی رادرفعالیت ضد اکسایشی نشان دهند.ترکیبات فنلی به دلیل داشتن گروه های هیدروکسیلی ممکن است مستقیما بر فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه دخیل باشد (۱۳). مکانیسم عمل ترکیبات فنلی گیاه عمدتا شامل فعالیت مهارکنندگی رادیکالهای آزاد، خصوصیات چلات کنندگی فلزات و نقش آنتی اکسیدانی آن هاست (۲۷). فلاونوئیدها از ترکیبات پلی فنلی با وزن مولکولی کم، گروه بزرگی از این متابولیت هایثان ویه هستندکه تقریبا در همه گیاهان وجود دارند. تعداد و موقعیت گروه های هیدروکسیل فنلی فعالیت ضداکسایشی این ترکیبات راتحت تاثیرقرار میدهد (۱۹). مطالعات جدید حاکی از وجود ترکیباتی به نام آدیانتوسید[1]، تری ترپن اوکساید[2]، هیدروکسی آدیانتون[3]، فلاونوئیدها، آستراگالین[4] و تانن در گیاه پرسیاوشان می‌باشد (۳۸). به نظرمی رسدکه رابطه نزدیکی میان خاصیت آنتی اکسیدانی با مقادیر ترکیبات فنلی وجود داشته باشد(۶). مطالعات بسیاری در مورد ترکیبات آنتی اکسیدانی صورت گرفته وحتی تعدادی آنتی اکسیدان سنتزی نیز به بازارعرضه شده است که به دلیل دارا بودن سمیت، مصرف آن ها محدودگردیده است. به همین دلیل یافتن آنتی اکسیدانهای طبیعی به ویژه ازگیاهان واستفاده ازآن ها به خصوص در صنایع غذایی وداورویی بسیارمطلوب است تا علاوه برداشتن اثرات بیولوژیک وسیع، احتمال ایجاد اثرات جانبی و مسمومیت با آن ها به خصوص

1-Adiantosid
2-Triterpene Oxide
3-hydroxy Adianton
4- Astragalin

درغلظت‌های کنترل شده کاهش یابد(۲۴). به طورکلی، برای استخراج پلی فنل‌ها ازگیاهان، ازآب وحلال‌های آلی مانند اتانول، متانول، است نودیاتیلاتراستفاده می گردد (۴۰و۴۲). در این میان تفاوت‌های آشکاری بین مقادیرترکیبات فنلی در عصاره های مختلف مشاهده می شودکه ناشی از نوع آماده سازی نمونه، روش ومدت زمان استخراج وخواص فیزیکوشیمیایی حلال های به کار رفته می باشد. در تحقیقی محتوای ترکیبات فنلی عصاره آلو(بخارا، طرقبه، شمس و تبریزی) تحت تاثیرحلال های مختلف (متانول، اتانول، استون و آب) اندازه گیری گردید. نتایج نشان داد در بین حلال های مورد استفاده بیشترین میزان استخراج در تمام نمونه ها مربوط به متانول وکمترین میزان مربوط به آب بود (۳). در پژوهشی دیگر اثرحلالهای مختلف (آب، استون، اتانول و هگزان) برراندمان استخراج، محتوای فنلی کل و فعالیت ضد اکسایشی عصاره غلاف نخود فرنگی مورد بررسی قرارگرفته است. نتایج نشان داد بیشترین میزان ترکیبات فنلی و فعالیت ضد اکسایشی مربوط به عصاره استخراج شده با حلال اتانول بود (۱۲). با توجه به تاثیر ویژه شرایط محیطی برمتابولیت‌های ثانویه گیاهان، بررسی ترکیبات وخواص ضد اکسایشی درهرمنطقه ضروری به نظرمی رسد. ازطرفی بهینه سازی روش استخراج و حلالهای مورد استفاده که باعث جداسازی نوع خاصی از ترکیبات شیمیایی می گردد یک عامل تعیین کننده و تاثیرگذار دراندازه گیری فعالیت ضداکسایشی عصاره های گیاهی است. بررسی دقیق منابع داخل کشورنشان می دهد تاکنون پژوهشی در زمینه تعیین میزان ترکیبات فنلی وخواص آنتی‌اکسیدانی عصاره بخش های مختلف گیاه پرسیاوشان تحت تاثیرحلال های مختلف صورت نگرفته است. لذا دراین تحقیق ترکیبات شیمیایی عصاره برگ گیاه پرسیاوشان شناسایی گردید و تاثیرحلال های متانول و اتانول بر میزان استخراج ترکیبات پلی فنلی برگ گیاه پرسیاوشان بررسی شده و در نهایت خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره ها در غلظت های مختلف اندازه گیری و با اثر آنتی‌اکسیدان سنتری بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) مقایسه گردید.

۲- مواد و روش ها

۲-۱-مواد

برگ های گیاه پرسیاوشان از شهرستان سبزوار تهیه گردید، قسمتهای زائدآن جدا شده و بلافاصله پس از شستشو خشک شد. سایرمواد مورد استفاده شامل اتانول، متانول، معرففولین سیوکالتیو، اسیدگالیک، کربناتسدیم، ۲و۲دیفنیل۱- پیکریل هیدرازیل بودکه از شرکت های معتبر مرکوسیگما تهیه گردیدند. تهیه عصاره برگ گیاه پرسیاوشان به روش ماسراسیون برگ های گیاه پرسیاوشان از بازار محلی شهرستان سبزوار از یک نوع واریته تهیه گردید و قسمت های زائد آن جدا شده و بلافاصله پس از شستشو خشک گردید. برای استخراج عصاره های متانولی و اتانولی، برگ های پاک شده با آسیاب(کنوودمدلCG 100) خرد شده و پس از الک کردن برای تهیه عصاره های متانولی و اتانولی به طور جداگانه با حلال های متانول و اتانول به نسبت ۱۰: ۱ وزنی- حجمی (یک گرم برگ گیاه پرسیاوشان با ۱۰ میلی لیتر حلال) مخلوط گردیده و به طور مجزا در شیکر با دور ۲۵۰ دور بر دقیقه به مدت ۲۴ ساعت دردمای محیط قرار گرفت. پس از آن تحت شرایط خلاء توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف گردید. حال به منظور حذف حلال های متانول و اتانول و استخراج عصاره ها به وسیله تبخیر کننده چرخان (مدل Laborata 4000) تحت خلا دردمای ۳۵ درجه سانتی گراد تغلیظ و در نهایت عصاره های متانولی و اتانولی به طور جداگانه توسط خشک کن تحت خلاء دردمای ۴۰ درجه سانتی گراد خشک شده و تا زمان استفاده در ظرف سربسته و غیر قابل نفوذ به هوا در دمای ۴ درجه سانتی گراد قرار گرفتند (۱).

۲-۲-آزمایشات

شناسایی ترکیبات شیمیایی عصاره برگ گیاه پرسیاوشان

ساختاراسیدهای چرب عصاره برگ گیاه پرسیاوشان با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گاز- مایع[1]، شناسایی

1-Gas-liquid Chromatography

اجزاء توکوفرولی و ترکیبات فنلی به کمک دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا[1] (HPLC) مدل KNAUER-RI-DUV-D و میزان استرول‌های عصاره برگ گیاه پرسیاوشان با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی[2] (GC) مدلVarian- CP3800 توسط آزمایشگاه رهپویان دانش کولاک (تهران، ایران) تعیین گردید.

۲-۳- اندازه گیری میزان کل ترکیبات فنلی عصاره ها

اندازه گیری میزان کل ترکیبات فنلی عصاره های متانولی و اتانولی برگ گیاه پرسیاوشان براساس منحنی استاندارد اسید گالیک طبق روش استویلوا و همکاران (۲۰۰۷) انجام شد. ابتدا محلول های استاندارد از عصاره‌های متانولی و اتانولی برگ گیاه پرسیاوشان به طور جداگانه با حلال های متانول و اتانول در غلظت های مختلف ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام و نمونه شاهد آماده گردید. سپس به لوله‌های آزمایش فویل پیچ شده به طور مجزا، ۰/۵ میلی لیتر محلول استاندارد عصاره های متانولی و اتانولی برگ گیاه پرسیاوشان، ۲/۵ میلی لیتر معرف فولین سیوکالتیو۰/۲ نرمال و پس از ۱۰ دقیقه ۲ میلی لیتر محلول کربنات سدیم ۷/۵ درصد اضافه گردید. پس از گذشت یک ساعت در دمای اتاق، جذب آن در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد و از روی معادله منحنی استاندارد (برای اسید گالیک به عنوان استاندارد) میزان کل ترکیبات فنلی بر حسب میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره تعیین گردید(۳۹).

۲-٤- ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره های متانولی و اتانولی برگ گیاه پرسیاوشان با بررسیقدرت رادیکال گیرندگیDPPH[3]

در این روش از ترکیب رادیکالی پایدار DPPH، به عنوان معرف استفاده شد. بدین ترتیب به طور جداگانه ۲ میلی لیتر از غلظت‌های مختلف ۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره های متانولی و اتانولی برگ گیاه پرسیاوشان به ۲ میلی لیتر محلول ۰/۰۰۴ درصد DPPH در متانول اضافه گردید. بعد از ۹۰ دقیقه تاریک‌گذاری در دمای اتاق، جذب نوری نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر در مقایسه با نمونه شاهد قرائت گردید. اندازه گیری فعالیت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (۲۳).

رابطه(۱)

$$I\% = \frac{A_{blank} - A_{sample}}{A_{blank}} \times 100$$

A_{Blank} جذب نوری نمونه شاهد که فاقد عصاره را نشان می دهد و A_{Sample} میزان جذب نوری غلظت‌های مختلف عصاره را بیان می کند. در این آزمایش از آنتی اکسیدان سنتزی BHT به میزان۲۰۰ پی پی ام در حلال متانول برای مقایسه استفاده گردید.

۲-۵- تجزیه و تحلیل آماری

جهت بررسی نتایج، از طرح آماری کاملا تصادفی استفاده شد. اطلاعات با استفاده از نرم افزار آماری SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها با یکدیگر و با نمونه شاهد نیز با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۹۵ درصد با همین نرم افزار انجام گردید. برای ترسیم نمودارها نیز از نرم افزار Microsoft Excel 2010 استفاده گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱-شناسایی ترکیبات شیمیایی عصاره برگ گیاه پرسیاوشان

۳-۱-۱-ساختار اسیدهای چرب

ساختار اسیدهای چرب عصاره برگ گیاه پرسیاوشان به تفکیک در جدول ۱ نشان داده شده است. طبق نتایج بدست آمده اسید پالمتیک (۳۱/۴۸ درصد)، اسید اولئیک (۱۸/۱۴ درصد)، اسید لینولنیک (۱۵/۶۹ درصد) و اسید آراشیدیک (۱۴/۶۴ درصد) عمده ساختار اسیدهای چرب تشکیل دهنده عصاره برگ گیاه پرسیاوشان بودند. میزان اسیدهای چرب غیر اشباع (تک غیر اشباعی و چند غیر اشباعی) عصاره برابر ۴۶/۶۸ درصد و اسیدهای چرب اشباع برابر ۵۱/۶۶ درصد

1-High-performance liquid Chromatography
2-Gas Chromatography
3-2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate

بود. همچنین نسبت PUFA/SFA عصاره برگ گیاه پرسیاوشان که معمولا به عنوان معیاری از غیر اشباع بودن روغن ها و چربی ها و تمایل آن‌ها به خود اکسایش لیپیدی در نظر گرفته می شود (۳۴)، برابر ۰/۴۶ بود که حاکی از بالاتر بودن اشباعیت روغن این گیاه و در نتیجه مقاومت بالاتر آن در برابر اکسیداسیون می باشد.

جدول ۱- ساختار اسیدهای چرب عصاره برگ گیاه پرسیاوشان

نوع اسیدچرب	میزان (درصد)
اسید لوریک ($C_{12:0}$)	۰/٤۰
اسید میریستیک ($C_{14:0}$)	۱/۰۳
اسید پالمیتیک ($C_{16:0}$)	۳۱/٤۸
اسید پالمیتولئیک($C_{16:1}$)	۲/۱۷
اسید استئاریک ($C_{18:0}$)	۲/٤۹
اسید اولئیک ($C_{18:1}$)	۱۸/۱٤
اسید لینولئیک($C_{18:2}$)	۸/۰۵
اسید لینولنیک($C_{18:3}$)	۱۵/٦۹
اسید آراشیدیک($C_{20:0}$)	۱٤/٦٤
اسید بهنیک($C_{22:0}$)	۰/۹۷
اسید لیگنوسریک($C_{24:0}$)	۰/٦۵
اسیدهای چرب اشباع (SFA)	۵۱/٦٦
اسیدهای چرب تک غیراشباعی(MUFA)	۲۲/۹٤
اسیدهای چرب چندغیراشباعی(PUFA)	۲۳/۷٤
نسبت PUFA/SFA	۰/٤٦
سایر اسید های چرب	۲/٦۳

۳-۱-۲- تعیین استرول ها و اجزاء توکوفرولی

توکوفرول‌ها اجزا بسیار مهم بخش صابونی ناشونده روغن‌های گیاهی به شمار می آیند. این ترکیبات دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند و این امر سبب ارزش فوق العاده آن‌ها در خصوص سلامتی انسان می‌شود (۳۷). همان-گونه که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، عصاره برگ گیاه پرسیاوشان به عنوان منبع ارزشمندی از توکوفرول‌ها می باشد و در این بین آلفا توکوفرول و گاما و بتاتوکوفرول به ترتیب با مقدار ۷۲۳/۶ و ۷۶۹/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم دارای بیشترین مقادیر و دلتا توکوفرول با میزان ۳/۲> میلی گرم بر کیلوگرم کمتر از دو نوع دیگر می باشد (جدول ۲). نعمت شاهی و همکاران (۱۳۹۶) نیز با شناسایی ترکیبات شیمیایی عصاره های حاصل از بخشهای مختلف گیاه علف کبکی (*Bongardia chrysogonum*) به نتایج مشابهی دست پیدا کردند. نتایج بررسی آن ها نشان داد آلفاتوکوفرول در بخش برگ، بذر و گل دارای بیشترین مقادیر و دلتا توکوفرول در هر سه بخش گیاه کمتر از ۳/۴ میلی گرم بر کیلوگرم می باشد. آن ها همچنین گزارش دادند که میزان آلفاتوکوفرول در عصاره برگ گیاه علف کبکی به میزان قابل ملاحظه ای بیشتر از دو بخش بذر و گل بود و میزان بتا و گاماتوکوفرول در عصاره گل گیاه علف کبکی بیشتر مشاهده شد(۱). استرول‌های گیاهی که به فیتواسترول معروف هستند، بیش از ۵۰ درصد ترکیبات غیرصابونی را تشکیل می‌دهند (۸). اخیرا مطالعات نشان داده است فیتواسترول‌ها خواص ضدالتهابی، ضدمیکروبی، ضدقارچی دارند (۱۴). ترکیبات استرولی عصاره برگ گیاه پرسیاوشان در جدول ۳ آورده شده است. مقدار کل ترکیبات استرولی در عصاره برگ گیاه پرسیاوشان ۱۵۶۴/۵۱ میلی گرم بر کیلوگرم اندازه گیری گردید. همان طور که ملاحظه می گردد بالاترین میزان به سیتواسترول با مقدار ۷۶/۴۶ درصد تعلق داشت و پس از آن کلسترول ۱۶/۴۷ درصد، کامپسترول ۳/۲۵ درصد، دلتا ۵-اوناسترول ۱/۹۷درصد، استیگما استرول۰/۹۸ درصد و کلروسترول ۰/۸۷ درصد بودند. ترکیبات فنلی عصاره برگ گیاه پرسیاوشان در جدول ۴ آمده است.

جدول ۲- ترکیبات توکوفرولی عصاره برگ گیاه پرسیاوشان

ترکیبات توکوفرولی	مقادیر (میلی گرم بر کیلوگرم)
دلتا توکوفرول	<۳/۲
گاما و بتا توکوفرول	۷٦۹/۲
آلفاتوکوفرول	۷۲۳/٦

جدول ۳- میزان استرول‌های عصاره برگ گیاه پرسیاوشان

اجزاء استرولی	مقادیر (درصد)
کلسترول	١٦/٤٧
کامپسترول	۳/۲۵
استیگما استرول	۰/۹۸
کلروسترول	۰/۸۷
سیتواسترول	٧٦/٤٦
دلتا ۵- اوناسترول	۱/۹۷

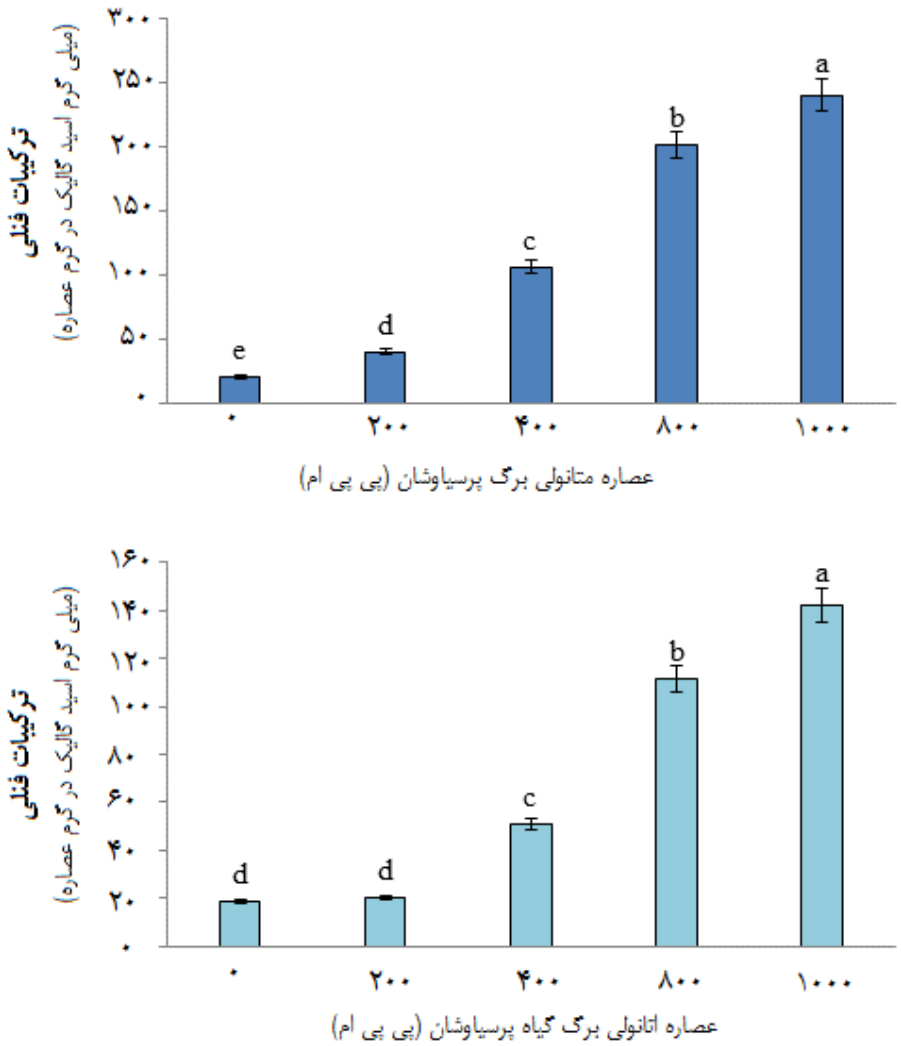
۳-۱-۳- میزان کل ترکیبات فنلی عصاره های متانولی و اتانولی برگ گیاه پرسیاوشان

ترکیبات فنلی گروه بزرگی از مواد طبیعی گیاهی شامل فلاونوئیدها، تانن ها، آنتوسیانین ها و ... می‌باشند که معمولا در میوه ها، سیزیجات، برگ ها، ، دانه ها، ریشه ها و در سایر قسمت های گیاه دیده می شوند. این ترکیبات طیف گسترده ای از اثرات مطلوب زیستی از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی دارند که در زمینه های مختلف از جمله موادغذایی، شیمی، داروسازی و پزشکی می‌تواند بسیار مورد توجه قرار گیرد (۲۱). ترکیبات فنلی با داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و گیرندگی رادیکالهای آزاد می‌توانند نقش مهمی در نگه‌داری محصولات غذایی و حفظ سلامتی انسان ایفا نمایند (۱۷).در پژوهش حاضر عصاره برگ گیاه پرسیاوشان به عنوان یک منبع طبیعی آنتی‌اکسیدانی، به روش ماسراسیون استخراج و میزان کل ترکیبات فنلی آن مورد ارزیابی قرار گرفت. طبق نتایج آنالیز واریانس مشخص شد در هر دو نوع استخراج با حلال های متانول و اتانول، تغییر غلظت عصاره برگ گیاه پرسیاوشان تاثیر معنی داری بر میزان ترکیبات پلی فنلی اندازه گیری شده داشت ($p<۰/۰۵$). نتایج اندازه گیری مقدار ترکیبات پلی فنلی موجود در غلظت های مختلف عصاره های متانولی و اتانولی برگ این گیاه در شکل ۱ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می شود با افزایش غلظت عصاره متانولی برگ گیاه پرسیاوشان از ۲۰۰ پی پی ام تا ۱۰۰۰ پی پی ام میزان ترکیبات فنلی موجود در عصاره افزایش یافت، به طوری که با افزایش غلظت‌های مختلف عصاره متانولی میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از ۳۹/۴۵ میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره در غلظت ۲۰۰ پی پی ام تا ۲۴۰/۶۵ میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره در غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره متانولی برگ گیاه پرسیاوشان افزایش یافت و این افزایش در تمام غلظت های عصاره نسبت به غلظت ماقبل، در سطح احتمال ۹۵ درصد معنی دار بود ($p<۰/۰۵$). در مورد عصاره اتانولی نیز روند مشابهی بدست آمد، بدین معنی که با افزایش غلظت عصاره اتانولی بر میزان ترکیباتفنلی افزوده شد و تفاوت قابل ملاحظه ای در میزان ترکیبات فنلی استخراج شده ملاحظه شد. طبق نتایج با افزایش غلظت عصاره اتانولی برگ گیاه پرسیاوشان میزان ترکیبات فنلی از ۲۰/۰۳ میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره در غلظت ۲۰۰ پی پی ام عصاره تا ۱۴۲/۴۰ میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره در غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره تغییر پیدا کرد. همان طور که از نتایج مشخص است در غلظت ثابتی از عصاره، میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی استخراج شده با حلال متانول تقریبا دو برابر عصاره استخراج شده با حلال اتانول می باشد. مقدار این ترکیبات برای غلظت های ۴۰۰ پی پی ام و ۸۰۰ پی پی ام عصاره متانولی به ترتیب ۱۰۶/۲۰۶ و ۲۰۱/۸۰ میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره به دست آمد در حالی که برای عصاره اتانولی ۵۰/۹۲ و ۱۱۱/۲۰۶ میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره اندازه گیری شد که نشان دهنده استخراج بیشتر ترکیبات فنلی برگ گیاه پرسیاوشان با حلال متانول نسبت به حلال اتانول می باشد. در بین ترکیبات فنلی عصاره بالاترین میزان به سیرینژیک اسید ۱/۸۶ درصد تعلق داشت و پس از آن هیدروکسی تیروزول ۱/۲۱ درصد بود (جدول ۴). مطالعات HPLC انجام شده روی ترکیبات فنلی گوشت و پوست ارقام مختلف سیب توسط خانی زاده و همکاران (۲۰۰۷) نشان دهنده وجود تفاوت هایی در میزان تجمع ترکیبات فنلی در بخش های مختلف میوه بود. عوامل متعددی مقدار ترکیبات فنلی موجود در بافت های گیاهی را تحت تاثیر قرار می دهند که از آن جمله می توان به فاکتورهای ژنتیکی، میزان تابش نور خورشید، شرایط خاک، درجه رسیدگی در زمان برداشت، شرایط محیطی و آب و هوایی، عملیات پس از برداشت، مقدار و شرایط نگه داری اشاره کرد (۲۰). نوع ترکیبات فیتوشیمیایی هرگیاه ومدت زمان استخراج می تواند نقش مهمی درانتخاب نوع حلال وغلظت آن داشته باشد. به طورکلی، برای استخراج پلی فنلهای گیاهان، ازآب وحلالهای آلی مانند اتانول، متانول، استن ودی اتیل اتراستفاده می گردد (۱۵، ۴۰ و ۴۲). دراین میان تفاوتهای آشکاری بین مقادیرترکیبات فنلی درعصاره‌های

مختلف مشاهده گردیدکه ناشی از نوع آماده سازی نمونه،روش ومدت زمان استخراج وخواص فیزیکوشیمیایی حلالهای به کاررفته باشد.درپژوهشی که توسط جیوانی و همکاران (۲۰۱۱) بر روی گیاه *EtlingeraelatiorJack* انجام گرفت، اثرات حلالهای آلی متانول، استن(۵۰ درصد،۹۰ درصد و۱۰۰درصد حجمی) و آب برمیزان ترکیبات فنلی وخاصیت آنتی‌اکسیدانی ارزیابی شد، اختلاف معنی داری بین نتایج به دلیل نوع حلال به کاررفته وویژگی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود درگیاه گزارش شد (۱۶). یائووهمکاران (۲۰۰۷)به وسیله حلالهای با قطبیت متفاوت(استون، اتانول، متانول)عصاره دانه های جو را استخراج کردند.نتایج تحقیقات آنها نشان داد که بالاترینراندمان عصاره گیری مربوط به عصاره متانولی است (۴۳). در مطالعه ای تاثیرگروههای مختلف حلال(آب، متانول، اتانول، استن، اتیل استات، پترولیوماتر، هگزان) برخواص آنتی‌اکسیدانی، مقادیرفنل کل پوست بنه و بازده استخراج آنها تفاوت معنی داری حاصل گردید و این تفاوت به قطبیت، ویسکوزیته وفشاربخارهای ویژه هریک ازحلال ها نسبت داده شد (۳۳). کالیژاکا و همکاران (۱۹۹۵) تحقیقی بر روی اثر حلالهای مختلف بر استخراج ترکیبات فنلی هسته انگوراز حلال های آب، اتانول خالص، اتانول ۷۵ درصد، استون ۷۵ درصد، متانول، n بوتانول، دی اتیل اتر،اتیل استات وترکیبی از دی اتیل اترواتیل استات انجام داد. نتایج شناسایی ترکیبات با دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا نشان داد که متانول به عنوان بهترین حلال برای استخراج(+) کاتچین، (-) اپی کاتچین و اپی کاتچین گالات می باشد، همچنین استون ۷۵ درصد بیشترین پروآنتوسیانیدین را استخراج نموده است. اتانول ۷۵ درصد سبب استخراج حداکثری مقادیراسید گالیک شده است و در مجموع استون ۷۵ درصد ترکیبات فنلی بیشتری را استخراج کرده است (۱۸). پکیک و همکاران (۱۹۹۷) نیزعصاره انگور را به وسیله حلال های استون-آب و اتیل استات-آب استخراج کردند. نتایج نشان داد که پروآنتوسیانیدین نمی تواند درغیاب آب به خوبی استخراج شود وافزایش آب به حلال راندمان استخراج را بالا می برد.اما افزایش بیش ازحدآب سبب کاهش انتخابی بودن استخراج می شود. نتیجه کلی نشان دادکه اتیل استات حاوی۱درصدآب به طورکاملا انتخابی پر وآنتوسیانیدین ها را استخراج می‌کند (۳۰). پشل وهمکاران(۲۰۰۶) نیز با بررسی اثرپنج حلال آب، متانول،اتانول، استون وهگزان در استخراج عصاره از۱۳ نوع پسماند میوه و سبزی و واحدهای فرآوری موادگیاهی،گزارش نمودند مطابق انتظار حلالهای قطبی آب و متانول بیشترین بازده استخراج را داشتند (۳۱).

جدول ٤- ترکیبات فنلی عصاره برگ گیاه پرسیاوشان.

ترکیبات فنلی	مقادیر (درصد)
هیدروکسی تیروزول	۱/۵۲
تیروزول	۰/۱۳٤
وانیلیک اسید	۰/۲۰۳
سیرینژیک اسید	۱/۸٦
سینامیک اسید	۰/۱۲۵
آپی ژنین	۰/۰۱٦۲



نمودار ۱- مقادیر ترکیبات فنلی در غلظت های مختلف عصاره های متانولی و اتانولی برگ گیاه پرسیاوشان

(حروف غیر مشابه بر روی ستون هایرسم شده نشان دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح $p<۰/۰۵$ می باشد)

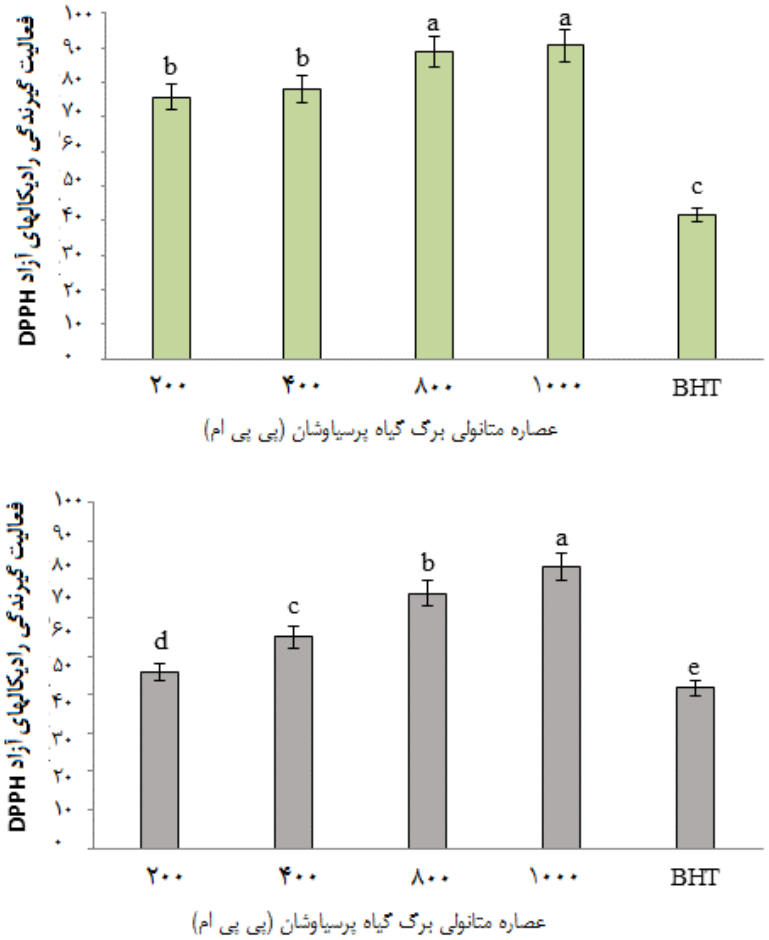
۳-۱-٤- ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره های متانولی و اتانولی برگ گیاه پرسیاوشان با بررسی قدرت رادیکال گیرندگیDPPH

عصاره های گیاهی به علت دارا بودن ترکیبات فنلی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ظرفیت بالایی برای اهدای اتم هیدروژن یا الکترون و الکترون آزاد می باشند (۷). استفاده از رادیکال پایدار DPPH یکی از روش های معتبر، دقیق، آسان و مقرون به صرفه با تکرار پذیری بالا می باشد که جهت بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس ها و عصاره های گیاهی در شرایط آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می گیرد (۴۵). با افزایش غلظت و یا درجه هیدروکسیلاسیون ترکیبات فنلی، فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH افزایش می یابد که به عنوان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نظر گرفته می شود (۹). از این رو در این آزمون، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره ها بر حسب درصد کاهش میزان جذب نوریمحلول های DPPH در حضور عصاره های فنلی نسبت به محلول فاقد عصاره بیان می گردد (۳۵). با بررسی تاثیرغلظت های مختلف عصاره متانولی و اتانولی برگ گیاه پرسیاوشان بر فعالیترادیکال گیرندگی DPPH مشاهده شد که در عصاره های استخراج شده با

حلال های متانول و اتانول، با افزایش غلظت عصاره برگ گیاه پرسیاوشان، فعالیت مهارکنندگی رادیکالهای آزاد توسط عصاره به طور چشمگیری افزایش یافت به طوری که در عصاره استخراج شده با حلال متانول، فعالیت رادیکال گیرندگی عصاره از ۷۸/۶۴ درصد در غلظت ۲۰۰ پی پی ام تا ۹۰/۶۰ درصد در غلظت۱۰۰۰ پی پی ام افزایش یافت (شکل ۲)، این در حالی بود که در عصاره استخراج شده با حلال اتانول، خاصیت آنتی‌اکسیدانی از ۴۵/۹۵ درصد تا ۷۳/۲۶ درصد تغییر پیدا کرد (شکل ۲) و این موضوع نشان می دهد که فعالیت عصاره برگ گیاه پرسیاوشان استخراج شده با حلال های متانول و اتانول، به صورت وابسته به مقدار افزایش می یابد. همان طور که مشاهده می گرددر یک غلظت ثابت، خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره استخراج شده با حلال متانول بطور قابل ملاحظه ای بیشتر از عصاره استخراج شده با حلال اتانول می باشد که با نتایج اندازه گیری ترکیبات فنلی کاملا مطابقت دارد. فعالیت آنتی رادیکالی آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۲۰۰ پی پی ام برابر ۴۱/۷۰ درصد اندازه گیری شد که در مقایسه با عصاره برگ پرسیاوشان که با حلال متانول استخراج گردید به طور قابل توجهی فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتری داشت. البته نسبت به فعالیت رادیکال گیرندگی عصاره استخراج شده با حلال اتانول نیز فعالیت آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در سطح کمتری قرار داشت ولی این اختلاف نسبت به عصاره متانولی کمتر بود که به دلیل حضور ترکیبات فنلی بیشتر در عصاره متانولی نسبت به عصاره اتانولی برگ گیاه پرسیاوشان می باشد. مطالعات نشان می دهدکه بالا بودن ترکیبات فنلی می تواند دلیل عمده ای بر بالا بودن فعالیت آنتی اکسیدانی بعضی از عصاره ها ازجمله عصاره‌های قطبی باشد.زیرا براساس شواهد موجو د ارتباط مثبتی بین میزان ترکیبات فنلی و قدرت آنتی اکسیدانی گیاهان وجود دارد.ازطرف دیگر به نظرمی رسد ترکیبات فنلی که به صورت گسترده در گیاهان یافت می‌شوند و فعالیت آنتی اکسیدانی بالاییدارند بیشترازطریق عصاره های گیاهی آن ها قابل استخراج باشد (۴ و ۲۶). حلالیت ترکیبات فنلی بسته به نوع حلال، درجه پلیمریزاسیون و برهمکنش آن ها با سایر ترکیبات موجود در بافت های گیاهی متفاوت است. در مجموع حلال های اتانول و متانول به صورت مخلوط با آب توانایی بیشتری نسبت به حالت خالص در استخراج ترکیبات فنلی از بافت های گیاهی دارند (۴۱). استفاده از آب به عنوان حلال استخراج، یک محیط کاملا قطبی ایجاد می کند که در آن برخی از ترکیبات فنلی با درجه قطبیت پایین به میزان کمتری استخراج می شوند. افزودن آب به حلال های آلی با تشکیل یک محیط نسبتا قطبی همراه بوده و بنابراین از استخراج مقادیر بیشتری از ترکیبات فنلی در این شرایط اطمینان حاصل می گردد. علاوه بر این عصاره آبی حاوی مقادیر زیادی از ناخالصی‌هایی نظیر اسیدهای آلی، پروتئین ها و قندهای محلول می باشد که می توانند در تشخیص و تعیین مقدار ترکیبات فنلی تداخل ایجاد نمایند (۵). با توجه به این موارد علت میزان بالای استخراج ترکیبات فنلی در عصاره های متانولی نسبت به عصاره های اتانولی توجیه می گردد. پژوهش های فراوانی در زمینه استخراج ترکیبات فنلی و اندازه گیری خواص آنتی‌اکسیدانی آن ها از گیاهان مختلف انجام شده است که تفاوت در قطبیت حلال های مورد استفاده جهت استخراج و حلالیت ترکیبات فنلی در آن ها را دلیل اصلی تفاوت در مقدار ترکیبات فنلی عصاره استخراج شده با حلال های مختلف ذکر شده است (۲۸ و ۳۷). محمدی وهمکاران(۲۰۱۲)درنتایج بررسیهای خود برمیزان ترکیبات فنلی وقدرت آنتی‌اکسیدانی پوست میوه خرمالونشان دادندکه عصاره متانولی ازمقدارترکیبات فنلی بیشتری نسبت به عصاره اتانولی برخورداراست.همچنین عصاره متانولی از راندمان استخراج بالاتری برخوردار بود (۲۵). قادری قهفخری وهمکاران(۲۰۱۲)بیان نمودندکه بیشترین مقدار ترکیبات فنلی به ترتیب درعصاره های متانولی(۸۰ درصد)، اتانولی (۷۰ درصد) وآبی یک واریته بلوط[1]حاصل گردید وعصاره های حاصل، ازاین نظراختلاف معنی داری داشتند. همچنین مقایسه میزان ترکیبات فنلی عصاره ها نشان داد،عصاره ی استونی، اتانولی

1-*Q.branti var.persica*

ومتانولی به ترتیب حاوی بیشترین مقدارترکیبات فنلی و پروآنتوسیانیدین هستند. طبق نتایج آن ها، تفاوتهای موجود درمقادیرفنل کل درعصاره های گوناگون به واسطه نحوه آماده سازی نمونه ها وروش ها ی استخراج است (۱۰). اماآنچه از این نتایج به دست آمد این است که قطبیت و ویسکوزیته بالای حلال درآزادسازی مقادیرترکیبات فنلی موثرند (۴۲). ژوو و همکاران (۲۰۰۴) در بررسی عصاره سبوس گندم و نیز تورکمنوهمکاران(۲۰۰۶) در پژوهشی که بر روی عصاره های مختلف چای صورت گرفت، استون۵۰ درصد رابه عنوان موثرترین حلال گزارش کردند. این محققان عنوان کردند که این تفاوت ممکن است ناشی از اختلاف در روشهای آماده سازی عصاره و زمان عصاره گیری باشد (۴۲ و ۴۴). درمطالعه ای که برروی کنترل کردن رادیکال های آزاد عصاره های آنتی‌اکسیدانی پوست فندق که به وسیله حلال های مختلفی مورد استخراج رارگرفته بودند نیز مشخص گردیدکه عصاره متانولی هر چندراندمان استخراج بالاتری نسبت به عصاره های اتانولی داشت اما دارای ترکیبات فنلی وقدرت رادیکال گیرندگی کمتری نسبت به عصاره به دست آمده ازحلال اتانول بود(۲۲). یائووهمکاران(۲۰۰۷) نیزبه وسیله حلال های با قطبیت متفاوت(استون، اتانول، متانول)عصاره دانه های جورا استخراج کردند. نتایج تحقیقات آنها نشان دادکه بیشترین راندمان عصاره گیری مربوط به عصاره متانولی است (۴۳).



نمودار ۲- تاثیر غلظت های مختلف عصاره های متانولی و اتانولی برگ گیاه پرسیاوشان بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد (DPPH)

(حروف غیر مشابه بر روی ستون های رسم شده نشان دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح $p<۰/۰۵$ می باشد)

٤- نتیجه گیری

نتایج شناسایی ترکیبات شیمیایی عصاره برگ گیاه پرسیاوشان نشان داد که اسید پالمتیک اسیدچرب غالب اشباع و اسید اولئیک و اسید لینولنیک اسیدهای چرب غالب غیراشباع عصاره برگ گیاه پرسیاوشان را تشکیل می دهند. همچنین مشخص شد در بین ترکیبات توکوفرولی، گاما و بتا توکوفرول از بیشترین مقادیر برخوردار بودند. بالاترین میزان استرول ها نیز به سیتواسترول و پس از آن کلسترول تعلق داشت. شناسایی ترکیبات فنلی نیز نشان داد که سیرینژیک اسید و هیدروکسی تیروزول ترکیبات فنلی غالب در عصاره برگ پرسیاوشان بودند. نتایج اندازه گیری ترکیبات فنلی عصاره های استخراج شده با حلال های متانول و اتانول با استفاده از تست فولین ، معادله و منحنی استاندارد اسیدگالیک نشان داد که در عصاره های استخراج شده با حلال های متانول و اتانول، با افزایش غلظت عصاره برگ گیاه پرسیاوشان میزان ترکیبات پلی فنلی استخراج شده و در نتیجه فعالیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد DPPH به طور معنی داری افزایش یافت، با این تفاوت که درصد استخراج ترکیبات فنلی و خواص آنتی‌اکسیدانی توسط حلال متانول به طور قابل ملاحظه ای بیشتر از حلال اتانول بود. در یک غلظت ثابت، عصاره استخراج شده با حلال متانول دارای فعالیت رادیکال گیرندگی بیشتری نسبت به عصاره اتانولی بود و عصاره های متانولی و اتانولی فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT داشتند. براساس نتایج این پژوهش، عصاره برگ گیاه پرسیاوشان با توجه به مقادیربالای ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره های متانولی و اتانولی حاصل از آن نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT، به عنوان یک منبع گیاهی غنی ازآنتی‌اکسیدان های طبیعی معرفی می گردد. همچنین می توان گفت که متانول، حلال مناسب‌تری برای استخراج ترکیبات فنلی موجود در برگ گیاه پرسیاوشان نسبت به حلال اتانول می باشد.

٥- منابع

۱. نعمت شاهی، م. م. ۱۳۹٦. بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی وشناسایی ترکیبات شیمیایی عصاره های حاصل از بخشهای مختلف گیاه علف کبکی (*Bongardia chrysogonum*) و ارزیابی امکان استفاده ازآن جهت افزایش پایداری اکسیداتیو روغن آفتابگردان، پایان نامه دکتری تخصصی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار.

2. Amin, G. 2005. Popular medicinal plants of Iran: 1 ed. Vice-chancellorship of Research, TehranUniversity of Medical Sciences. IR. IRAN, p: 90.
3. Bahramiyan, F., Ghiassi Tarzi, B.,Yaghmaei, S. and Bahonar, A. 2012.Extraction of plum phenolic CompoundsUsing Different solvents, The AntimicrobialEffect of the Extracts on the growth of E.coli and S. aureus. *Food Technology &Nutrition*, 1(9): 73-80.
4. Chatchawan, C., Soottawat, B., Jakul, H., Nattiga, S. 2008. Antioxidant components and properties of five long- grained rice bran extracts from commercial available cultivars in Thailands. *Food Chemistry*, 111 (3): 636-641.
5. Chirinos, R., Rogez, H., Campos, D., Pedreschi, R., Larondelle, Y. 2007. Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (Tropaeolum tuberosum Ruiz and Pavon). *Separation and Purification Technology*, 55: 217-225.
6. Davarynejad, G. 2012. Investigation of Antioxidant Capacity and Some Bioactive Compounds of Iranian Pistachio (Pistachio veraL.) Cultivars. *Notulae Scientia Biologicae*, 4 (4): 62-66.
7. Demirci, B., Kosar, M., Demirci. F. 2007. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of Chaerophyllum libanoticum Boiss. et Kotschy. *J Agric Food Chem.* 105:1512–1517.

8. Fennema, O.R. 1996. Principles of Food Science.Part I. Food Chem.J. Marcel Dekker, New York.
9. Ferreres, F., Sousa, C., Valento, P., Seabra, R. M., Pereira, J. A., Andrade, P. B. 2007. Tronchuda cabbage (Brassica oleracea L. var. costata DC) seeds: phytochemical characterization and antioxidant potential. *Food Chemistry*, 101: 549-558.
10. Ghaderi,Gh., farokhi, M., Sadeghi, Mahoonak, A.R., Alami, M., Ghorbani, M., and Azizi, M.H. 2012. Determination of antiradical activity, reducing power and total antioxidant activity of phenolic extracts of Acorn Fruit (Q.brantiverpersica). *Journal of Research of Food Science and Technology*, 21(1): 93-104.
11. Gharavi, M.RA., Moatar, F. 1994.The acute and chronic effect of Adiantum capilus venerisL. Extract on hemoglobin, hematocrite, mean corpuscle volume, prothrombin time and partialthromboplastin time in rat. *J. Zanjan University Med. Sci*; 2: 6 - 13.
12. Gohorbani, M., Ganjloo, A., and Bimakr,M. 2017. Evaluation the effect of differentsolvents on total phenolic content andantioxidant activity of pea (Pisum sativumL.) pod Extract. Journal of Food Science andTechnology, 64(14):83-92.
13. Gulcin, I., Oktay, M., Kufrevioglu, I.Ö., and Aslan, A. 2002.Determination of antioxidant activity of Lichen Cetriariaislandca (L) Ach.*Journal of Ethnopharmacology*, 79:325-329.
14. Hafez Ghoran, S., Mighani, H., Ebrahimi, P. 2014. In-Vitro anti-bacterial activity of chloroform, ethyl acetate and hydroalcoholic extracts of Scilla persica Hausskn. Journal of Gorgan University of Medical Sciences; 16(1):106-113.
15. 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 Quercuscoccifera L. and Juniperusphoenicea L. fruit extracts. *Food Chemistry*, 105:1126–1134.
16. Jeevani Osadee Wijekoon, M.M., Bhat, R., and KarimA.A. 2011. Effect of extraction solvents on the phenolic compounds and antioxidant activities of bungakantan (Etlingeraelatior Jack.) inflorescence. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24:615–619.
17. Jimoh, F.O., Adedapo, A.A., Aliero, A.A andAfolayan, J. 2008. Polyphenolic Contents and Biological Activities of Rumex ecklonianus. *Pharm. Biol.* 46: 333 - 40.
18. Kallithraka, S., Viguera, C. G. and Bakker, J. 1995. Survey of Solvents for the extraction of grape seed phenolics. *Phytochemical analysis*, 6:265-267.
19. Karaman, S., Tutem, E., Bas-Kan, K. S.and Apak, R. 2010. Comparison of totalantioxidant capacity and phenoliccomposition of some apple juices withcombined HPLC-CUPRAC assay. *FoodChemistry*, 120: 1201-9.
20. Khanizadeh, S., Ding, L., Tsao, R., Rekika, D., Yang, R., Charies, M.T., Vigneault, C., and Rupasinghe, H.P.2007. Phytochemical distribution among selected advanced apple genotypes developed for fresh market and processing. *J Agri Food Environ Sci.* (E-journal), 1(2), (Accessible on line).
21. Koca, I., and Karadeniz, B. 2009. Antioxidantproperties of blackberry and blueberry fruits grownin the Black Sea Region of Turkey. *Sci. Hort.* 121: 447 – 50.
22. Locatelli, M., Travaglia, F., Coisson J.D., Martelli A., Stevigny C., and Arlorio, M.2010. Analytical methods total antioxidant activity of hazelnut skin (NocciolaPiemontePGI): Impact of different roasting conditions. *Food Chemistry*, 119:1647-1655.
23. McDonald, S., Prenzler, P. D.,Autolovich, M., and Robards, K. 2001.Phenolic content and antioxidant activity ofolive extracts. Food Chemistry, 73:73-84.
24. Milos, M., Mastelic, J., and Jerkovic, I. 2000. Chemical composition and

25. Mohamadi, M., ElhamiRad, A.H., and Pourfallah Z. 2012.Determinationof total phenolic compound contents and antioxidant capacity of persimmon skin.Graduated of Food Science, 2(5): 41-55.
26. Muret, K., Sevgi, K., Sengul, K., Esra U., Cemalettin B, Fedra V. 2007. Biological activities, chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chem*; 100(2): 526-534.
27. Neergheen, S.V., Bahorun, T., Jen, S.L. and Arouma, I.O. 2007.Bioefficacy of Mauritian endemic medicinal plant: Assessment of their phenolic contents and antioxidant potential. *Pharmaceutical Biology*, 45:9-17.
28. Negi, P., Jayaprakasha., S. 2003. Antioxidant and antibacterial activities of Punica granatum peel extracts. *Journal of food science,* 68(4): 1473-1477.
29. Pan, C., Chen, Y.G., Ma, X.Y., Jiang, J.H., He, F., Zhang, Y.2011. Phytochemical Constituents and Pharmacological Activities of Plants from the Genus Adiantum: A Review. Trop. *J. Pharmaceut. Res*; 10 (5): 681 - 92.
30. Pekic, B. and Kovac, V. 1997. Study of the extraction of Proanthocyanidins from grape seeds. *Food Chemistry*, 61:201-206.
31. Peschel, W., Rabaneda, F., Diekmann, W., PlescherA.,GartzıaI.,Jimenez D.,Raventos L., Buxaderas S., and Codina, C.2006. Anindustrialapproachinthesearchofnat uralantioxidants from vegetable and fruit wastes. Food Chemistry, 97(1):137 –50.
32. Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J., Shahabimajd, N.2009. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian Medicinal Plants. *African J. Biotechnol*; 5: 1142 – 5.
33. Rezaie, M., Farhoosh, R., Iranshahi, M., Sharif, A., and Golmohamadzadeh, S. 2015. Ultrasonic-assisted extraction of antioxidative compounds from Bene (Pistaciaatlantica subsp. mutica) hull using various solvents of different physicochemical properties. *Food chemistry*, 173:577-583.
34. Sahin, F., Gulluce, M., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., Polissiou, M., Agar, G. and Ozer, H. 2004. Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare ssp vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control*, 15, pp 549-557.
35. Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J. A., Saura- Calixto. F. 1999. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. *Food Research International.* 32:407–412.
36. Seaman, T.2006.The antimicrobial and antimycobacterial activity of plants used for the treatment of respiratory ailments in Southern Africa and the isolation of anacardic acid from Ozoroa paniculosa M.Sc thesis, p: 20, 50.
37. Shon, M. Y., Kim, T. H., Sung. N. J. 2003. Antioxidants and free radical scavenging activity of Phellinus baumii extracts. *Food Chemistry*. 82: 593–597.
38. Singh, M., Singh, N., Khare, P.B., Rawat, A.K. S.2008. Antimicrobial activity of some important Adiantum species used traditionally in indigenous systems of medicine. *J. Ethnopharmacol*; 115: 327 - 9.
39. Stoilova, I., Krastanov, A., Stoyanova, A., Denev, P. and Gargova, S. 2007. Antioxidant actirity of ginger extract (Zingiber officinale). *Journal of Food chemistry*, 102: 764-70.
40. Sun, T., and Ho, H. 2005. Antioxidant activities of buckwheat extracts. Food Chemistry, 90:743–749.
41. Suzuki, M., Watanabe, T., Miura, A., Harashima, E., Nakagawa, Y., Tsuji. K. 2002. An extraction solvent optimum for analyzing polyphenol antioxidant effect of glycosidically bound volatile compounds from oregano (Origanum vulgar L. ssp. hirtum). *Food chemistry*, 71: 79-83.

contents by Folin-Denis assay. Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi. 49: 507-511.
42. Turkmen, N., Sari F., and Velioglu Y.S. 2006. Effects of extraction solvents on concentrationand antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. Food Chemistry, 99:835–841.
43. Yao, H., Qing, L. 2007. Antioxidant activities of barley seeds extracts. Food Chemistry, 102:732-737.
44. Zhou, K., and Yu L. 2004. Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation..Lebensmittel Wissenschaft und-Technology, 37:717–721.
45. Zou, T., Wang, D., Guo, H., Zhu. Y., Luo, X., Liu, F. 2012. Optimization of microwaveassisted extraction of anthocyanins from mulberry and identification of anthocyanins in extract using HPLC-ESI-MS. *J Food Sci.* 77(1):C46-50.

(Original Research Paper)

Study of Antioxidant Properties and Recognition of Chemical Compounds of Extracts from Adiantum Capillus-veneris Leaf

Mohammad Mehdi Nemat Shahi[1*], Amir Hossein Elhami Rad [2], Nafiseh Nemat Shahi [3], Hossein Estiri [2]

1- Young Researchers and Elite Club, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.
2- Department of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.
3- Ph.D Student of Biology-Plant Physiology, Department of Basic Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Received:11/12/2018 Accepted:26/12/2018

Abstract

Regarding the antioxidant properties of Adiantum capillus-veneris, identification of phytochemical compounds, extraction of phenolic compounds, and determination of inhibitory activity of free radicals of this plant seem necessary. Therefore, in this study, the structure of fatty acids, tocopherols, sterols, and phenols was identified. Then, the effect of methanol and ethanol solvents on extraction of polyphenolic compounds and antioxidant activity of Adiantum capillus-veneris leaf extract were investigated. The results of identification of the chemical compounds of the extract showed that palmitic acid was the predominant saturated fatty acid, gamma and beta tocopherols were the most abundant tocopherols, cytosterol the most abundant sterol, and syringic acid and hydroxytyrosol the main phenol of the leaf extract. Measurement of phenolic compounds showed that by increasing the concentration of extract up to 1000 ppm, the amount of polyphenolic extracted in methanol and ethanol solvents increased to 240.65 and 142.4 mg GA/g, respectively, but the extraction percentage of these antioxidants by methanol was significantly higher than ethanol. In the next step, the inhibitory activity of free radicals was measured at different concentrations of methanol and ethanol and compared with the synthetic antioxidant BHT at 200 ppm; it was found that increasing the antioxidant properties of methanolic and ethanolic extracts depend on concentration, meaning that by increasing the concentration of extracts from 200 ppm to 1000 ppm, the antioxidant activity increased significantly and at a constant concentration, the methanol-extracted extract had more radical scavenging activity than the ethanol-extracted extract and both extracts had more antioxidant activity than synthetic antioxidant BHT. Generally, the results of this study showed that methanol is a more effective solvent in extraction of phenolic compounds from Adiantum capillus-veneris leaves. There was also a positive correlation between the amount of phenols and antioxidant activity.

Keywords: Chemical Compounds, Antioxidant Properties, Extract, Adiantum Capillus-veneris Leaf.

* Corresponding Author: m.nematshahi67@gmail.com