

ارزیابی محتوای فنل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره حاصل از برگ و گل سیاه ولیک (*Crataegus elbursensis* L.)

لیلا مهدی زاده^۱، محمد مقدم^{۲*}

^۱ دانشجوی دکترای تخصصی، رشته علوم و مهندسی باغبانی، گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه

فردوسی مشهد

^۲ نویسنده مسئول دکترای تخصصی رشته علوم و مهندسی باغبانی، گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی،

دانشگاه فردوسی مشهد

* نویسنده مسئول: m.moghadam@um.ac.ir; moghaddam75@yahoo.com

چکیده

به منظور بررسی میزان ترکیبات فنلی و ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ و گل گیاه سیاه ولیک (*Crataegus elbursensis* L.)، پژوهشی در دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. در این آزمایش میزان کلروفیل‌ها، کاروتنوئید، فنل و فلاونوئید کل، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و درصد بازدارندگی عصاره حاصل از برگ و گل سیاه ولیک مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد بیشترین میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید در برگ‌های حاصل از این گیاه مشاهده شد. در حالی که بیشترین میزان فنل و فلاونوئید کل در گل‌های حاصل از این گیاه مشاهده شد. نتایج بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد با افزایش غلظت عصاره تا ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل برگ و گل افزایش یافت. در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر فعالیت عصاره گل بیشتر از عصاره برگ بود. کمترین میزان EC₅₀ متعلق به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT بود و عصاره گل و برگ به ترتیب در مراتب بعدی قرار داشتند. بیشترین میزان EC₅₀ و در نتیجه کمترین توانایی در مهار رادیکال‌های آزاد به عصاره برگ تعلق داشت. بنابراین با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، برگ‌ها و گل‌های این گیاه می‌توانند به عنوان منبع فنل و آنتی‌اکسیدان در صنایع مختلف استفاده شوند.

واژه‌های کلیدی: رنگیزه‌های فتوسنتزی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل، ولیک

مقدمه

ولیک نام متداول تمام گونه‌های گیاهی متعلق به جنس *Crataegus* است که عضوی از خانواده گل‌سرخیان (Rosaceae) می‌باشد و جهت درمان بیماری‌های دستگاه گوارش و مشکلات قلبی، به عنوان غذا و در طب سنتی، در آمریکا، اروپا و چین مورد استفاده است. سیاه ولیک (*Crataegus elbursensis* L.) فراوان‌ترین گونه ولیک بومی ایران بوده که به فراوانی در جنگل‌های نواحی شمال کشور یافت می‌شود (Ghahreman, 2007). امروزه با توجه به اثرات نامطلوب آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی بر بدن، یافتن منابع آنتی‌اکسیدانی با منشاء طبیعی و جایگزینی آن با انواع سنتزی، به میزان زیادی مورد توجه محافل علمی قرار گرفته است (Shahidi and Ambigaipalan, 2015). ترکیبات فنلی گیاهی به‌عنوان متابولیت‌های ثانویه و جزء آنتی‌اکسیدان‌های فنلی در نظر گرفته می‌شوند. اثرات سلامت بخش برخی فنل‌های گیاهی، برای تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان بسیار حائز اهمیت است. جهت استخراج ترکیبات فنلی از محصول تازه عموماً حلال‌هایی مانند متانول، اتانول، استون، پروپانول، اتیل‌استات و دی‌متیل‌فرم‌آلدهید استفاده شده است (Pham et al., 2015). تاکنون گزارشی مبنی بر استخراج ترکیبات زیست فعال موجود در برگ ولیک بومی ایران (*C. elbursensis*) در منابع علمی وجود ندارد. لذا در این تحقیق میزان کلروفیل، کاروتنوئید، فنل و فلاونوئید کل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی برگ و گل این گیاه بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق برگ‌ها و گل‌های گیاه ولیک جمع‌آوری شده از جنگل شصت کلاته (واقع در شهرستان گرگان، استان گلستان) در فصل بهار خشک گردیدند و تا زمان آزمایش در کیسه‌های محافظ به هوا و رطوبت در فریزر با دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا ترکیبات فنلی موجود در آن‌ها دچار آسیب نگردند. در زمان آزمایش، نمونه‌های خشک شده آسیاب شدند. عصاره گیاهی با روش خیساندن در حلال متانول ۸۰٪ تهیه گردید. میزان کلروفیل و کاروتنوئید برگ‌ها و گل‌های سیاه ولیک، میزان کل ترکیبات فنلی موجود در عصاره‌ی استخراجی از برگ‌ها و گل‌های ولیک با روش فولین سیوکالتو، مقدار کل ترکیبات فلاونوئیدی موجود به روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش مهار رادیکال آزاد DPPH ارزیابی گردید. تجزیه و تحلیل نتایج به دست آمده با استفاده از نرم افزار Minitab 17 انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل a (۱۳/۱۵ میلی‌گرم بر گرم بافت خشک)، کلروفیل b (۶/۰۴ میلی‌گرم بر گرم بافت خشک)، کلروفیل کل (۲۹/۷۵ میلی‌گرم بر گرم بافت خشک) و کاروتنوئید (۱۰/۵۶ میلی‌گرم بر گرم بافت خشک) در برگ‌های حاصل از این گیاه مشاهده شد (جدول ۱).

جدول ۱- میزان کلروفیل و کاروتنوئید برگ و گل سیاه ولیک.

بخش گیاه	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید
برگ	۱۳/۱۵ ± ۰/۸۷ ^a	۶/۰۴ ± ۰/۰۲ ^a	۲۹/۷۵ ± ۲/۵۵ ^a	۱۰/۵۶ ± ۱/۸ ^a
گل	۱/۱۲ ± ۰/۱۴ ^b	۱/۴۵ ± ۰/۲۳ ^b	۳/۳ ± ۰/۶۵ ^b	۰/۷۳ ± ۰/۱۵ ^b

حروف غیرمشابه در هر ستون بیان‌گر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد است.

هم‌چنین نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که بیشترین میزان فنل کل (۶/۱۴ میلی‌گرم بر حساب گالیک اسید بر گرم عصاره)، فلاونوئید کل (۲۴/۳۸ میلی‌گرم بر حساب کوئرستین بر گرم عصاره) در گل‌های حاصل از این گیاه مشاهده شد (جدول ۲).

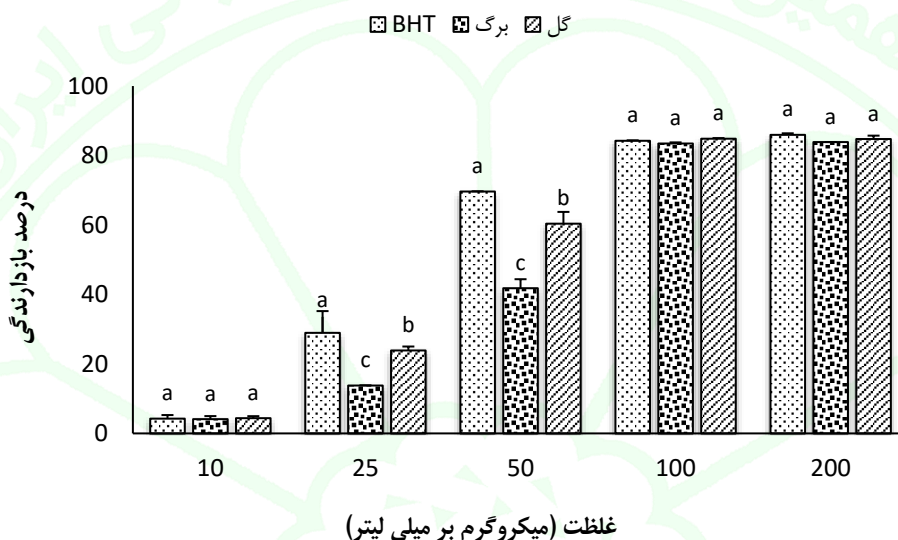
جدول ۲- محتوای فنل و فلاونوئید کل برگ و گل سیاه ولیک.

عصاره	فنل کل (میلی‌گرم بر حساب گالیک اسید بر گرم عصاره)	فلاونوئید کل (میلی‌گرم بر حساب کوئرستین بر گرم عصاره)
برگ	۱۸۲/۵۳ ± ۰/۵۶ ^b	۲۴/۳۸ ± ۰/۵۱ ^b
گل	۲۰۹/۹۶ ± ۶/۱۴ ^a	۲۵/۸۱ ± ۰/۵۳ ^a

حروف غیرمشابه در هر ستون بیان‌گر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد است.

علاوه بر این در محدوده غلظت ۱۰-۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، درصد فعالیت مهارکنندگی آنتی‌اکسیدان سنتزی، عصاره برگ و عصاره گل به ترتیب ۴/۲۳-۸۵/۹۶ درصد، ۴/۱۱-۸۳/۸۷ درصد و ۴/۳۹-۸۴/۷۵ درصد اندازه‌گیری شد (شکل ۱). در غلظت‌های میانی (۲۵ و ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) فعالیت عصاره گل بیشتر از عصاره برگ بود؛ اما قابل رقابت با آنتی‌اکسیدان سنتزی نبود. در این بررسی مقادیر EC₅₀ برای عصاره برگ و گل ولیک تعیین و با آنتی‌اکسیدان سنتزی مقایسه گردید (جدول ۳). کمترین میزان EC₅₀ متعلق به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT بود و عصاره گل و برگ به ترتیب در مراتب بعدی قرار داشتند. بیشترین میزان EC₅₀ و در نتیجه کمترین توانایی در مهار رادیکال‌های آزاد به عصاره برگ تعلق داشت. زیرا این عصاره از محتوای فنل و فلاونوئید

کمتری نسبت به عصاره گل برخوردار بود. تفاوت‌های مشاهده شده بین EC_{50} عصاره‌های ولیک در این تحقیق را می‌توان به تفاوت در مقادیر و نوع ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی آن‌ها نسبت داد.



شکل ۱- درصد فعالیت مهارکنندگی آنتی‌اکسیدان سنتزی، عصاره برگ و عصاره گل سیاه ولیک.

جدول ۳- مقایسه میانگین EC_{50} عصاره‌های برگ و گل سیاه ولیک و آنتی‌اکسیدان سنتزی.

نمونه	EC_{50} (میکروگرم در میلی لیتر)
آنتی‌اکسیدان سنتزی	۳۷/۹۷ ^c
برگ	۶۲/۰۵ ^a
گل	۴۲/۸۹ ^b

حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد است.

کلروفیل و کاروتنوئیدها، یک گروه از ترکیبات طبیعی محلول در چربی می‌باشند که توسط گیاهان سنتز می‌شوند و یک گروه عمده و اصلی از ریز ترکیبات مغذی در رژیم غذایی انسان به شمار می‌آیند. در گیاهان این ترکیبات دارای ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی هستند که ناشی از ساختار شیمیایی آن‌ها است (Müller *et al.*, 2011). علاوه بر این، محتوای فنل کل پارامتر مهمی از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل است و به طور گسترده جهت ارزیابی عصاره‌های آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده قرار می‌گیرد. فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH عصاره‌های گیاهی وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت اثر مهارکنندگی شدت می‌گیرد (سلیمانیان و همکاران، ۱۳۹۲). تعیین محتوای فنل کل می‌تواند به عنوان سنجشی غیرمستقیم از پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی در نظر گرفته شود و تنوع گسترده‌ای در اثر بخشی ترکیبات مختلف فنلی به عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی وجود دارد (Mohsen and Ammar, 2009). بر مبنای تحقیقات انجام شده، میزان ترکیبات فنلی موجود در بافت‌های گیاهی و نیز در گونه‌های مختلف گیاهان تابع تغییرات فصلی، مکان جغرافیایی، شرایط خاک، فاکتورهای ژنتیکی، فاز رویشی، بخش مورد استفاده گیاه، عملیات پس از برداشت و شرایط نگهداری می‌باشد (Rumbaoa *et al.*, 2009). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که میزان ترکیبات فنولی عصاره‌های برگ و گل سیاه ولیک، به طور مستقیم فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در واقع عصاره‌ای که حاوی مقادیر بیشتری از ترکیبات فنلی باشد، در غلظت‌های پایین بیشتری در مهار رادیکال‌های آزاد از خود نشان می‌دهد که این موضوع در مورد

عصاره‌های ولیک بویژه عصاره گل آن صادق بود. از این رو، این عصاره را می‌توان به‌عنوان منبعی بالقوه از ترکیبات فعال زیستی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا در نظر گرفت و به‌عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان سنتزی به صنعت غذا و دارو معرفی نمود.

منابع

- سلیمانیان، ش.، صادقی ماهونک، ع.ر.، جامسون، م. و طباطبایی عمید، ب. ۱۳۹۲. شناسایی و اندازه‌گیری اسیدهای فنولی، فعالیت مهارکنندگی رادیکال و قدرت احیاکنندگی آهن عصاره‌های اتانولی و متانولی زولنگ. نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی. ۲: ۱۹۳-۲۰۴.
- قهرمان، ا.، ۱۳۸۷. فلور رنگی ایران، مرکز تحقیقات جنگل‌ها و مراتع ایران. تهران.
- Shahidi, F. and Ambigaipalan, P. 2015. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of Functional Foods*, 18: 820-897.
- Pham, H.N.T., Nguyen, V.T., Vuong, Q.V., Bowyer, M.C. and Scarlett, C.J. 2015. Effect of extraction solvents and drying methods on the physicochemical and antioxidant properties of *Helicteres hirsuta* Lour. leaves. *Technologies*, 3(4): 285-301.
- Müller, L., Fröhlich, K. and Böhm, V. 2011. Comparative antioxidant activities of carotenoids measured by ferric reducing antioxidant power (FRAP), ABTS bleaching assay (α TEAC), DPPH assay and peroxy radical scavenging assay. *Food chemistry*, 129(1): 139-148.
- Mohsen, S.M. and Ammar, A.S. 2009. Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Food Chemistry*, 112(3): 595-598.
- Rumbaoa, R.G.O., Cornago, D.F. and Geronimo, I.M. 2009. Phenolic content and antioxidant capacity of Philippine potato (*Solanum tuberosum*) tubers. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22: 546-550.

Evaluation of total phenol and flavonoides and antioxidant activity of *Crataegus elbursensis* L. leaves and flowers extract

Leila Mehdizadeh¹, Mohammad Moghadam^{*2}

¹PhD Student, Horticulture Science and Engineering, Department of Horticulture and Green Space Engineering, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

²Author of PhD in Horticultural Science and Engineering, Department of Horticultural Science and Green Space Engineering, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

*Corresponding author: m.moghadam@um.ac.ir; moghaddam75@yahoo.com

Abstract

In order to investigate the phenolic compounds and evaluation of antioxidant activity of *Crataegus elbursensis* leaves and flowers, a research was performed in Ferdowsi University of Mashhad. In this experiment chlorophylls, carotenoids, total phenol and flavonoids contents, antioxidant activity and preventive percentage of *C. elbursensis* leaves and flowers extract were evaluated. The results of this experiments showed that the highest chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, and carotenoids content were observed in the leaves of this plant. Whereas the highest total phenol and flavonoids were observed in the flowers of this plant. The results of evaluating antioxidant activity showed that with increasing the concentration of extract up to 200 μ g/mL, antioxidant activity of leaves and flowers were increased. At 25 and 50 μ g/mL the activity of the flower extract was higher than the leaves. The lowest EC₅₀ was belonged to synthesis antioxidant BHT and flower and leave extract were in the following order, respectively. The highest EC₅₀ and so the lowest free radicals control ability was belonged to leave extract. Therefore, according to the results of this study, the leaves and flowers of this plant can be used as the source of phenol and antioxidant in different industries.

Keywords: Antioxidant activity, *Crataegus elbursensis*, Photosynthetic pigments, Total phenol

