

ارزیابی میزان فنل و فلاونوئید تام و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست درختان راش، ممرز، و صنوبر

❖ **رؤیا فضلی؛** دانشجوی کارشناسی ارشد صنایع خمیر و کاغذ دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
❖ **نورالدین نظرنژاد؛** استادیار گروه صنایع چوب و کاغذ دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
❖ **محمدعلی ابراهیمزاده؛** دانشیار گروه شیمی دارویی دانشگاه علوم پزشکی ساری، ساری، ایران

چکیده

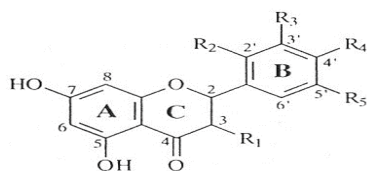
هدف این مطالعه، بررسی میزان فنول و فلاونوئید تام و بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی پوست درختان راش، ممرز، و صنوبر است. راش و ممرز از گونه‌های جنگلی شمال ایران، و صنوبر از گونه‌های دست‌کاشت است، ولی برخلاف فراوانی این درختان، اطلاعات بسیار کمی در مورد ترکیبات شیمیایی پوست آن‌ها و کاربردهای آن‌ها ارائه شده است. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی که از شیوع بیماری‌های مزمن و تخریب بسیاری از مواد غذایی جلوگیری می‌کنند، از پوست این گیاهان نیز قابل استخراج است. بدین سبب، عصاره استخراج‌شده از گیاهان، که باعث کاهش شیوع بیماری‌های مزمن می‌شود، در صنایع دارویی بسیار اهمیت دارد. پس از تهیه پوست این درختان، عصاره‌های استنی به روش سوکسوله استخراج شدند. ابتدا میزان فنول و فلاونوئید عصاره‌ها اندازه‌گیری و سپس برای ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراج‌شده، از دو روش دی فنیل پیکریل هیدرازیل و قدرت احیاکنندگی، استفاده شد. نتایج نشان داد که میزان فنول و فلاونوئید در پوست درخت ممرز بیشترین، و در راش کمترین مقدار بوده است. نتایج آزمون به‌دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل نشان داد که غلظت مهار ۵۰ درصد در عصاره استنی پوست درختان راش، ممرز، و صنوبر به ترتیب ۶۳/۰۷، ۳۳/۱۷، و ۸۶/۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده است. همچنین عصاره راش قدرت احیاکنندگی بیشتری در مقایسه با سایر گونه‌ها داشت.

واژگان کلیدی: راش، صنوبر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنول تام، ممرز.

مقدمه

پوست بسته به نوع گونه و موقعیت رشد، در حدود ۱۰ تا ۲۰ درصد ساقه درختان را تشکیل می‌دهد که این نسبت برای شاخه‌ها و قسمت‌های بالایی درخت بیشتر و حدود ۲۰ تا ۳۵ درصد است. طی عمل‌آوری چوب در صنایع گوناگون از جمله برای تولید خمیر کاغذ، کاغذ، تخته‌خرده چوب و... پوست از چوب جدا می‌شود که مقادیر زیادی از آن به‌عنوان ضایعات باقی می‌ماند و قسمت اصلی آن برای تولید انرژی سوزانده می‌شود. در گذشته، فقط پوست معدودی از گونه‌های بلوط و گردو برای استخراج ترکیبات تاننی به‌کار می‌رفت. امروزه، از پوست گونه‌های دیگر نیز استفاده می‌شود، ولی فقط مقادیر اندکی از پوست درخت به‌عنوان ماده اولیه برای تولید ترکیبات شیمیایی به‌کار می‌رود. چوب‌درون و پوست مقدار زیادی مواد استخراجی آروماتیک دارند. بیشتر آن‌ها ترکیب‌های فنولی‌اند و بسیاری از آن‌ها از ساختار فنیل پروپانی مشتق می‌شوند. از مهم‌ترین این ترکیبات فلاونوئیدها هستند که در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه محققان بوده‌اند (شکل ۱). ترکیبات فنولی یک گروه متابولیت‌های ثانویه آروماتیک گیاهی‌اند که به‌طور گسترده در سراسر گیاه پخش شده‌اند و تأثیرات بیولوژیکی متعددی چون فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدباکتریایی دارند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولیک در گیاهان عمدتاً به‌علت ویژگی‌های اکسایش-کاهش و ساختار شیمیایی آن‌هاست که نقش مهمی در خنثی‌کردن رادیکال‌های آزاد، احاطه‌کردن فلزات انتقالی، و فرونشاندن مولکول‌های اکسیژن یگانه و سه‌گانه از طریق تغییر مکان یا تجزیه پراکسیدها دارند. این ویژگی‌ها با تأثیرات مفید آنتی‌اکسیدان‌های فنولیک بر روی سلامت در ارتباط است که به‌دلیل تأثیرات بازدارندگی این ترکیبات در مقابل پیشرفت بسیاری از بیماری‌های وابسته به تنش چون بیماری‌های قلبی-عروقی، سندرم روده التهابی و بیماری آلزایمر است. فلاونوئیدها به‌شکل

آزاد و گلیکوزیدی یافت می‌شوند و بزرگ‌ترین گروه فنول‌های موجود در طبیعت را تشکیل می‌دهند.



شکل ۱. ساختمان کلی فلاونوئیدها

نقش رادیکال‌های آزاد در ایجاد بسیاری از بیماری‌ها به اثبات رسیده است [۱]. واکنش‌های بیوشیمیایی متعددی در بدن، اکسیژن فعال تولید می‌کنند که توانایی تخریب مولکول‌ها را دارند. مواد آنتی‌اکسیدانی این اثر زیان‌بخش رادیکال‌های آزاد را بلوکه می‌کند. این ترکیبات موجب به‌دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد و سمیت‌زدایی می‌شوند. در مقایسه با گیاهان آنتی‌اکسیدان‌ها طبیعی هستند [۲]. آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی معایبی دارد که برخی از آن‌ها، آسیب کبدی و سرطان است [۳]. بنابراین، وجود آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی قوی با اثربخشی بیشتر یک ضرورت جدی است. از این رو، امروزه بسیاری از متخصصان تغذیه برای تأمین آنتی‌اکسیدان‌های مورد نیاز بدن، این مواد را از گیاهان و پوست درختان استخراج می‌کنند که عوارض جانبی کمتر و اثربخشی بیشتری دارند [۴].

پوست درخت راش اثر قابض و تب‌بر دارد و در گذشته به‌عنوان اشتهاآور مصرف می‌شده و در سال‌های اخیر در درمان روماتیسم، نقرس، و بیماری‌های پوستی مصرف شده است [۵]. پوست درخت ممرز به‌علت داشتن تانن اثر قابض دارد و به‌صورت غرغره برای رفع گلودرد استفاده می‌شود و نیز اثر مقوی و تب‌بر دارد [۵].

محققان با استخراج ترکیبات فنولی از پوست اوکالیپتوس و ارزیابی تأثیرات آنتی‌اکسیدانی آن، توانستند تأثیر درجه حرارت و غلظت حلال‌ها را روی بازده استخراج، مقدار فنول تام، و قدرت آنتی‌اکسیدانی

درون سریع تر رخ می دهد [۱۴]. هاسلر و همکاران با روش HPLC پلی فنولها و فلاونوئیدهای متنوعی را در عصاره پوست درخت کاج شناسایی کردند و با بررسی اثر دما و زمان بر کارایی استخراج با اتانول دریافتند که در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد و زمان ۹۰ دقیقه بازده اسید گالیک حداکثر است [۱۵]. در یک بررسی مقدار ترکیبات فنولی تام عصاره متانولی میوه بلوط گونه کوئرکوس روبرو و کوئرکوس کریس به ترتیب ۰/۲۲۳ و ۰/۲۲۹ میلی گرم معادل اسید گالیک در میلی گرم عصاره گزارش شد. [۱۶]

میزان متابولیت های ثانویه گیاهی مانند فنول و فلاونوئید تام و ویژگی آنتی اکسیدانی آنها به عوامل متعددی از قبیل آب و هوا، گونه، روش استخراج، و روش اندازه گیری آنتی اکسیدان بستگی دارد [۱۷]. از آنجا که اثر آنتی اکسیدانی متابولیت های پوست درختان راش، ممرز، و صنوبر تاکنون گزارش نشده است، هدف این تحقیق اندازه گیری فلاونوئیدها، محتوای تام فنولی، و خصلت آنتی اکسیدان این ترکیبات در محیط آزمایشگاهی بوده است تا امکان به کارگیری پوست این درختان برای تولید دارو فراهم شود.

روش شناسی

تهیه عصاره: نمونه های پوست از کارخانه صنایع چوب و کاغذ مازندران تهیه شد و پس از انتقال به آزمایشگاه در هوای آزاد خشک شدند. سپس بدون جدا کردن پوست درونی و بیرونی با آسیاب آزمایشگاهی به پودر تبدیل شدند. عصاره گیری با استفاده از استن و با روش سوکسوله انجام شد. حلال در خلأ تبخیر و با فریزدرایر خشک شد.

اندازه گیری محتوای تام فنولی و فلاونوئیدها

مقادیر فنول تام با روش فولین سیو-کالتیو اندازه گیری شد [۱۸]. عصاره با غلظت ۱۰ mg/ml تهیه شد. ۰/۵ میلی لیتر از هر عصاره با ۲/۵ میلی لیتر واکنش گر ۰/۲ نرمال فولین سیو-کالتیو مخلوط و به مدت ۵ دقیقه هم زده شد. سپس ۲ میلی لیتر محلول کربنات سدیم

بررسی کنند [۶]. محققان دیگری مواد استخراجی پوست صنوبر را با آب داغ استخراج و سپس با چهار حلال گوناگون، چهار نمونه عصاره جداسازی کردند و در نهایت اثر آنتی اکسیدانی این نمونه ها را با سه روش DPPH، فسفومولیدنم، و کانولاویل ترموکیدان بررسی کردند [۷]. تحقیقات نشان داد که ترکیبات پوست و برگ درختان بلوط بسیار مشابه اند. مقدار تانن پوست درخت بلوط ۱۳ تا ۱۴ درصد و مقدار گالیک اسید ۱/۶ درصد گزارش شده است [۸]. محققان از سه حلال متانول، آب، و استون برای استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی برگ های شاه توت استفاده کردند و دریافتند که حلال متانول بیشترین میزان ترکیبات فنولی (۹/۳۲ گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم عصاره خشک) را استخراج می کند [۹]. ولیوگلو و مازا فلاونوئیدهای گلبرگ گل محمدی را با HPLC جداسازی و اندازه گیری و ترکیباتی مانند کامفرول، کوئرستین، و گالاکتوز را شناسایی کردند [۱۰]. هاسلر ۳۳ نوع فلاونوئید را در گیاه ژنکیوبیلوبا با روش HPLC با فاز معکوس شناسایی کرد و نتیجه گرفت که ترکیبات فنولی استخراج شده به شرایط رویشگاه بستگی دارد [۱۱]. در پژوهشی، آب، متانول، و اتیل استات را برای استخراج ترکیبات فنولی پوست و دانه انار استفاده کردند و نتایج این تحقیق نشان داد که حلال متانول بیشترین بازده استخراج را دارد [۱۲]. ۱۰ ترکیب مونو و دی گلیکوزید فلاونول در فلاونوئیدهای برگ ممرز شناسایی شده و پیشنهاد شده است که برای افزایش کارایی عمل استخراج، باید عوامل مؤثر در این مسیر را شناسایی کرد و بهبود بخشید [۱۳]. ولیوگلو و مازا توزیع فنول تام در راش با چوب درون قرمز و بدون چوب درون قرمز را بررسی کردند. نتایج نشان داد که در نمونه فاقد چوب درون قرمز مقدار فنول از پوست به سمت مغز افزایش می یابد، ولی در نمونه دارای چوب درون قرمز، مقدار فنول فقط تا مرز چوب درون زیاد می شود. از این رو، دریافت شد که در این بافت ها شکل گیری و تجمع فنول شدیدتر است یا فنول های خاصی تجمع یافته اند. به علاوه، تبدیل فنولها در بافت بدون چوب درون قرمز تا مرز چوب

[۲۴]. ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی‌مولار DPPH به ۱ میلی‌لیتر از عصاره اضافه شد و مخلوط حاصل به خوبی تکان داده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در اتاق تاریک قرار داده شد. سپس جذب مخلوط توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر UV در ۵۱۷ نانومتر با بلانک متانول قرائت شد. آسکوربیک اسید به عنوان استاندارد استفاده شد. در نهایت، مقدار به‌دام‌اندازی رادیکال DPPH با فرمول زیر محاسبه شد:

$$A_B = \text{جذب بلانک} = \left(\frac{A_B - A_S}{A_B} \right) \times 100$$

$A_S = \text{جذب نمونه یا استاندارد}$

تعیین قدرت احیاکنندگی

احیای آهن به‌عنوان معیاری برای قابلیت الکترون‌دهی به‌کار می‌رود که مکانیسم مهمی در اکسایش ترکیبات فنولی است [۲۵]. میزان قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها از طریق روش ین و چن در مطالعات قبلی ارزیابی شد [۲۶]. از این رو، عصاره با غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تهیه و با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار با $\text{pH} = 6.5$ و ۲/۵ میلی‌لیتر محلول ۱ درصد پتاسیم فری سیانید $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$ مخلوط شد. مخلوط مذکور در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه نگاه‌داری شد؛ سپس ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول تری‌کلرواستیک اسید به نمونه‌ها اضافه شد تا واکنش متوقف شود. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتی‌فیوژ ۳۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. سپس ۲/۵ میلی‌لیتر از قسمت بالای محلول با ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ درصد فریک کلراید (FeCl_3) به آن اضافه شد و بلافاصله جذب محلول در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت شد. آسکوربیک اسید با غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به‌عنوان استاندارد استفاده شد. افزایش جذب در مخلوط واکنش به مفهوم افزایش قدرت احیاکنندگی است.

۲۰ درصد با غلظت ۷۵ گرم در لیتر اضافه شد. جذب نمونه‌ها پس از ۲ ساعت قراردادن نمونه‌ها در دمای اتاق با دستگاه اسپکتروفوتومتر ماورای بنفش در ۷۶۰ نانومتر در مقابل بلانک (متانول) اندازه‌گیری شد. مقادیر فنول تام عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر اساس میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره اندازه‌گیری شد.

میزان محتوای فلاونوئید عصاره با روش رنگ‌سنجی ارزیابی شد [۱۹]. عصاره با غلظت ۱۰ mg/ml تهیه شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره در ۱/۵ میلی‌لیتر متانول حل و ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد به آن اضافه شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر محلول پتاسیم استات ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر به این مخلوط اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگاه‌داری شد. جذب مخلوط حاصل در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر دوگانه مرئی-ماورای بنفش اندازه‌گیری شد. میزان فلاونوئید با استفاده از منحنی استاندارد بر اساس میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره گزارش شد.

برای بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی از دو روش استاندارد شامل رادیکال DPPH و قدرت احیا استفاده شد. اساس روش نخست به‌دام‌اندازی رادیکال‌های DPPH (دی فنیل پیکریل هیدرازیل) بر مبنای توانایی هیدروژن‌دهی است [۲۰]. این روش به‌منظور ارزیابی فعالیت رادیکال آزاد به‌کار می‌رود و از مزایای آن عدم وابستگی به قطبیت نمونه است [۲۱].

در روش دوم، قدرت احیاکنندگی مواد موجود در نمونه با احیای آهن ۳ به آهن ۲ با توانایی در دادن الکترون سنجیده می‌شود [۲۰]. احیای آهن اغلب به‌عنوان شاخص فعالیت الکترون‌دهی به‌کار می‌رود که مکانیسم مهمی در عمل آنتی‌اکسیدانی مواد فنولی است [۲۲].

ارزیابی میزان توانایی به‌دام‌اندازی رادیکال DPPH

رادیکال پایدار دی فنیل پیکریل هیدرازیل برای تعیین فعالیت به‌دام‌اندازی رادیکال آزاد به‌کار رفت [۲۳].

آنالیز آماری

داده‌ها پس از جمع‌آوری با نرم‌افزار SPSS بررسی و تحلیل شدند. برای بررسی نتایج و مقایسه میانگین عصاره‌های استنی از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه استفاده شد. تمام اندازه‌گیری‌ها برای هر گونه سه بار تکرار و مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شد.

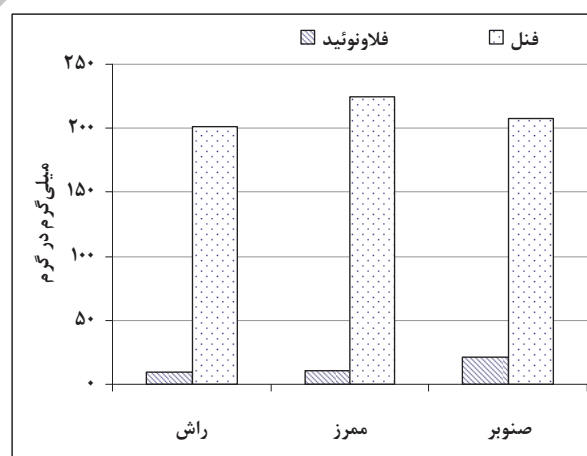
نتایج و بحث

بررسی‌ها نشان داده است که عصاره‌های گیاهان غنی از فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی، با کاهش استرس اکسیداتیو باعث آثار محافظتی سلول‌ها می‌شوند. فنل‌ها و پلی‌فنل‌ها به‌طور گسترده در بسیاری از مواد غذایی با منشأ گیاهی یافت می‌شوند و تأثیرات

آنتی‌اکسیدانی بسیار بالایی دارند. محتوای تام فنولی با روش فولین-سیو-کالتیو به صورت میلی گرم اسیدگالیک در گرم عصاره بر اساس معادله خط منحنی استاندارد ($R_p=0,9898, Y=0,0058X$) محتوای تام فنولی برای عصاره استنی پوست راش، ممرز، و صنوبر $201/2$ ، $224/2$ ، و 208 میلی‌گرم اسیدگالیک در گرم عصاره به دست آمد. مقدار فنول تام نمونه‌ها به ترتیب بیشترین به کمترین مقدار ممرز، صنوبر، و راش بود. محتوی فلاونوئید تام نمونه‌ها نیز به روش رنگ‌سنجی ارزیابی شد و بر مبنای معادله خط ($R_p=0,868$)، $Y=0,358X-0,464$ برای راش، ممرز، و صنوبر به ترتیب $9/6$ ، $10/8$ ، و $20/9$ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره بود (جدول ۱).

جدول ۱. میزان فنول و فلاونوئید تام و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در عصاره استنی پوست راش، ممرز، و صنوبر

آزمایش‌ها	راش	ممرز	صنوبر
فنول تام	$201/2 \pm 0/25$	$224/2 \pm 0/25$	$208 \pm 0/31$
فلاونوئید تام	$9/6 \pm 0/12$	$10/8 \pm 0/1$	$20/9 \pm 0/21$
دی فنیل پیکریل هیدرازیل	$63/07 \pm 0/15$	$33/17 \pm 0/12$	$86/3 \pm 0/06$
توان احیاکنندگی	$2/42 \pm 0/002$	$2/139 \pm 0/003$	$2/292 \pm 0/004$



شکل ۲. میزان فنول و فلاونوئید تام عصاره‌های استنی راش، ممرز، و صنوبر (میلی‌گرم در گرم عصاره)

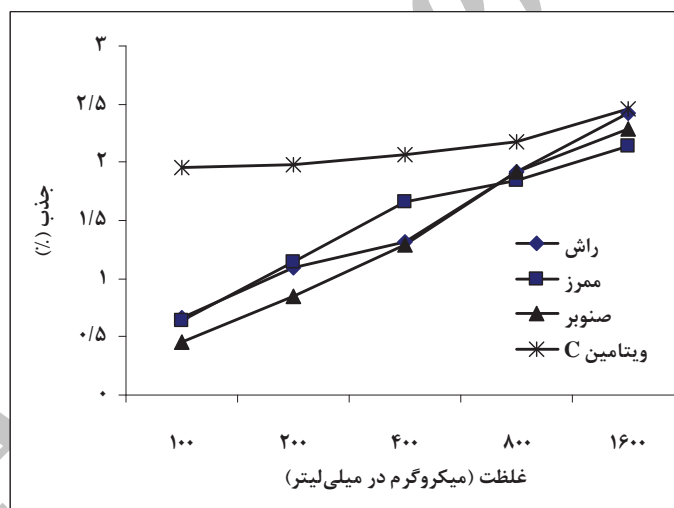
فعالیت به‌دام‌اندازی رادیکال DPPH

رادیکال DPPH یک رادیکال آزاد پایدار با اتم مرکزی نیتروژن است که با احیاشدن و تولید مولکول پایدار DPPH-H¹ از ارغوانی به زرد تغییر رنگ می‌دهد. غلظت مهار ۵۰ درصد در IC₅₀ عصاره استنی راش، ممرز، و صنوبر به ترتیب ۳۳/۱۷، ۶۳/۰۷، و ۸۶/۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. فعالیت به‌دام‌اندازی رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل در عصاره صنوبر بیشترین و در عصاره ممرز کمترین مقدار را دارد. تجزیه واریانس داده‌ها نیز نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین آزمون DPPH نمونه‌ها دیده شد ($p < 0/001$).

قدرت احیاکنندگی عصاره

قدرت احیاکنندگی، توانایی الکترون‌دهندگی

آنتی‌اکسیدان را نشان می‌دهد. اگر ترکیبی این ویژگی را داشته باشد، باعث کاهش ترکیبات حدواسط اکسیدشده می‌شود. به این ترتیب، باعث شکستن زنجیر این واکنش می‌شود و به‌عنوان آنتی‌اکسیدان اولیه و ثانویه عمل می‌کند. در روش قدرت احیاکنندگی، جذب نور با قدرت احیاکنندگی رابطه مستقیم دارد. شکل ۲ منحنی غلظت-جذب را در عصاره استنی سه گونه نشان می‌دهد. شکل نشان می‌دهد که قدرت احیاکنندگی تمام عصاره‌ها با افزایش غلظت زیاد می‌شود. همچنین قدرت احیاکنندگی ممرز در غلظت‌های پایین بیشتر از گونه‌های دیگر است؛ در حالی که در غلظت‌های بالا قدرت احیاکنندگی راش بیشتر از همه است. بر طبق آنالیز واریانس داده‌ها، مقادیر در آزمون قدرت احیاکنندگی تا سطح ۰/۰۰۱ معنی‌دار است.



شکل ۳. بررسی قدرت احیاکنندگی عصاره استنی پوست درختان راش، ممرز، و صنوبر در غلظت ۱۰۰-۱۶۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر

(ویتامین C به‌عنوان نمونه شاهد به‌کار گرفته شد)

و شاید بتوان گفت که خاصیت آنتی‌اکسیدانی این درختان مربوط به ترکیبات فنولی موجود در آن بوده است. فنول‌ها و ترکیبات پلی‌فنولی مانند فلاونوئیدها به‌طور گسترده در محصولات غذایی و دارویی یافت شده و نشان داده شده است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی چشمگیری دارند [۲۷].

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست آمده، عصاره استنی ممرز دارای مقادیر بالاتری از فنول تام، و عصاره استنی صنوبر دارای مقادیر بیشتری از فلاونوئید تام در مقایسه با سایر گونه‌ها بود

نظر را توجیه می کند. با توجه به نتایج به دست آمده بر طبق جدول ۲ طی آزمون آنالیز واریانس دریافتیم که در دو تست آنتی اکسیدانی مورد بررسی، مقادیر تا سطح ۰/۰۰۱ معنی دار است ($p < 0/001$).

افزایش سطح فلاونوئیدها در رژیم غذایی، به کاهش برخی بیماری ها در انسان منجر می شود [۲۸]. میزان فنول و فلاونوئید تام در این بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی موجود در عصاره های تهیه شده از پوست درختان مورد

جدول ۲. آنالیز واریانس ویژگی های مورد بررسی

معنی داری	F مقدار	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	آزمایش ها
۰/۰۰۰	۴۶/۳۷۵	۱۲۷۱/۴۰۸	۴	۵۰۸۵/۶۳۳	DPPH صنوبر
۰/۰۰۰	۵۳/۰۱۳	۱/۶۸۷	۴	۶/۷۴۸	صنوبر قدرت احیا
۰/۰۰۰	۵۱/۲۲۲	۱۷۷۴/۷۳۲	۴	۷۰۹۸/۹۳۰	DPPH راش
۰/۰۰۰	۵۶/۱۸۳	۱/۴۴۳	۴	۵/۷۷۱	راش قدرت احیا
۰/۰۰۰	۳۷/۵۱۶	۲۴۵/۵۰۸	۴	۹۸۲/۰۳۳	DPPH ممرز
۰/۰۰۰	۵۱/۶۲۰	۱/۰۵۹	۴	۴/۲۳۵	ممرز قدرت احیا

به سبب افزایش تعداد گروه های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال انتقال هیدروژن به رادیکال های آزاد، و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می یابد [۳۲]. دو گونه بلوط کوثرکوس کریس و کوثرکوس روبرور از نظر میزان مهار رادیکال های آزاد DPPH در غلظت های گوناگون ارزیابی و مشخص شد که با افزایش غلظت عصاره متانلی از ۱۲/۵-۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر درصد مهار رادیکال های آزاد به طور چشمگیری افزایش می یابد [۱۶].

سنجش قدرت احیاکنندگی در عصاره ها ناشی از احیای آهن ۲ به آهن ۳ با انتقال الکترون است. میزان کمپلکس آهن با اندازه گیری میزان تشکیل رنگ آبی پروس در ۷۰۰ نانومتر قابل اندازه گیری است [۳۳]. حضور عوامل احیاکننده (آنتی اکسیدان ها) منجر به احیای کمپلکس های فری سیانید و تبدیل آن ها به فرم فروس می شود که بسته به ظرفیت احیاکنندگی عصاره های مورد بررسی با تغییر رنگ محلول از زرد

ترکیباتی که رنگ رادیکال آزاد DPPH را با گرفتن هیدروژن یا الکترون از رنگ ارغوانی به زرد تبدیل کنند، ترکیبات با قابلیت آنتی اکسیدانی اند [۲۹] بر این اساس، مدل به دام اندازی رادیکال پایدار DPPH برای ارزیابی توانایی به دام اندازی رادیکال آزاد در نمونه های گوناگون استفاده می شود [۳۰]. اندازه گیری میزان مهار رادیکال های آزاد DPPH از روش های معتبر، دقیق، آسان، و مقرون به صرفه با قابلیت تکرارپذیری بالاست که در بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های گیاهی در شرایط آزمایشگاهی به کار می رود [۳۱]. بر پایه درصد مهار به دست آمده مشخص شد که عصاره استنی پوست صنوبر فعالیت بیشتری از عصاره پوست دو گونه دیگر از خود نشان می دهد. نتایج آزمون DPPH نشان داد که توانایی عصاره های گونه های راش، ممرز، و صنوبر در مهار رادیکال های آزاد به غلظت عصاره ها بستگی دارد و با افزایش غلظت فعالیت ضدرادیکالی آن ها افزایش می یابد. در غلظت های بیشتر، ترکیبات فنولی

دارد. اثر این عصاره مانند تأثیر اسید آسکوربیک است. این نتیجه حاکی از آن است که برای رسیدن به قدرت احیاکنندگی، غلظت مورد نیاز از عصاره استنی راش معادل همان غلظت از ویتامین ث می‌باشد. چون قابلیت احیاکنندگی عصاره راش بالاست، می‌توان نتیجه گرفت که این عصاره‌ها با کمک انتقال الکترون باعث پایان یافتن واکنش‌های زنجیره‌ای می‌شود. عصاره استنی راش، ممرز، و صنوبر در دو مدل مورد مطالعه، سطوح گوناگونی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان دادند و منابع مفیدی برای تأمین منابع طبیعی آنتی‌اکسیدانی‌اند. نتایج این تحقیق نشان داد که ترکیبات فنولی حاصل از پوست درختان راش، ممرز، و صنوبر در صنعت داروسازی هم به‌کار می‌رود.

سپاس‌گزاری

از مسئولان محترم مرکز تحقیقات علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی مازندران به‌سبب حمایت مالی از این تحقیق سپاس‌گزاری می‌شود.

به درجات گوناگونی از رنگ‌های سبز و آبی همراه است [۳۴]. افزایش جذب در این طول موج حاکی از افزایش قابلیت احیاکنندگی است و رنگ آبی ایجادشده با قدرت الکترون‌دهی آنتی‌اکسیدان‌های مورد آزمایش رابطه خطی دارد [۳۵]. در عصاره‌های گوناگون از نظر قدرت احیاکنندگی با افزایش غلظت میزان جذب به‌طور چشمگیری افزایش می‌یابد. طی فرایند استخراج، اسید اسکوربیک، که حلالیت بالایی در آب و حلال‌های الکلی دارد، همراه با ترکیبات فنولی وارد عصاره می‌شود که خود اهداکننده الکترون بوده و بنابراین درصد بیشتری از یون‌های آهن سه‌ظرفیتی با جذب الکترون احیا می‌شود و شدت جذب محلول افزایش می‌یابد [۳۶]. همچنین در مقایسه با نمونه شاهد، یعنی ویتامین ث، می‌بینیم که هرچند در غلظت‌های پایین قدرت مهارکنندگی هر سه نمونه کمتر است، ولی در غلظت زیاد، به‌خصوص در گونه راش، قدرت مهارکنندگی تقریباً برابری با نمونه شاهد داشته است. به بیان دیگر، عصاره پوست راش قدرت احیاکنندگی بهتری در مقایسه با سایر گونه‌ها

References

- [1]. Kumaran, A., and Karunakaran, R.J. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chemistry*, 97: 109-114.
- [2]. Yen, G.C., and Duh, P.D. (1995). Antioxidant activity of methanolic extracts of Peanut hulls from various cultivars. *Journal of the American Oil Chemist Society*, 72: 1065-1067.
- [3]. Ito, N., Fukushima, S., Hagiwara, A., Shibata, M., and Ogiso, T. (1983). Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. *Journal of the National Cancer Institute*, 70: 343-7.
- [4]. Rice Evans, C. (2004). Flavonoids and isoflavones (absorption, metabolism and bioactivity). *Free Radical Biology and Medicine*, 36: 827-8.
- [5]. Torkaman, J., and Seyam, S.H. (2009). Measurement of tannin in tree barks of Oak, Beech, Alder, Hornbeam and Black walnut. *Journal of Medicinal Plant*, 8(29): 58-63.
- [6]. Vazquez, G., Santos, J., Freire, M.S., Antorrena, G., and Gonzalez, J. (2012). Extraction of antioxidants from eucalyptus bark. *Wood Science Technology*, 46: 443-457.
- [7]. Niokhor Diouf, P., and Stevanovic, Tatjana. (2009) Antioxidant properties and polyphenol contents of trembling aspen bark extracts. *Cloutier Alain*, 43: 457-470.
- [8]. Motavaslian, M. (1998). Measurement of Oak seed as medicine and nutrient. PhD thesis, Faculty of pharmacy, University of Tehran, 112 pp.
- [9]. Arabshahi, D.S., and Urooj, A. (2007). Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry leaves. *Food Chemistry*, 102: 1233-1240.
- [10]. Velioglu, Y.S., and Mazza, G. (1991). Characterization of flavonoids in petals of *rosa damascene* by HPLC and spectral analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39: 463-467.
- [11]. Hasler, A. (1992). Botanical, analytical and pharmacological aspect of *Ginkgo biloba*. *Schweiz Apoth*, 128(12): 341-347.
- [12]. Singh, S., Shimada, K., and Singh, R.b. (2002). In vitro methods of assay of antioxidants (an overview). *Food Reviews International*, 24: 392-415.
- [13]. Jeong, J., Chang, C., Chen, Z., and Park, T. (2007). Systematic aspects of foliar flavonoids in *Subsect-Carpinus* (*Carpinus*, *Betulaceae*). *Biochemical Systematics and Ecology*, 35 (9): 606-613.
- [14]. Albert, L., Hofmann, T., I.Nemeth, Zs., Retfalvi, T.J., Koloszar, Sz., and Csepregi, I. (2005). Radial Variation of total phenol content in beech (*Fagus Sylvania L.*) wood with and without red heartwood. *European Journal of wood and wood products*, 61(3): 227-230.
- [15]. Jerez, M., Pinelo, M., Sineiro, J., and Jose, M. (2006). Influence of extraction conditions on phenolic yields from pine bark (assessment of procyanidins polymerization degree by thiolysis). *Food chemistry*, 94 (3): 406-414.
- [16]. Rakic, S., Petrovic, S., Kukic, J., Jadranin, M., Tesevic, V., Povrenovic, D., and Siler Marinkovic, S. (2007). Influence of thermal treatment on phenolic compounds and antioxidant properties of oak acorns from Serbia. *Food Chemistry*, 104: 830-834.

- [17]. Kumar Gupta, A., and Neelam, M. (2006). Hepatoprotective activity of aqueous ethanolic extract of chamomile capitula in paracetamol intoxicated albino rats. *American Journal of Pharmacology and Toxicology*, 1(1): 17-20.
- [18]. Ordone, A.A.L., Gomez, J.D., Vattuone, M.A. (2008). Antioxidant activities of *Sechium edule swartz* extracts. *Food Chemistry*, 97: 452-458.
- [19]. Chang, Y.L., Kim, D.O., Lee, K.W., Lee, H.J., Lee, C.Y. (2002). Vitamin C equivalent anti oxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 50(13):3713-3717.
- [20]. Chung, Y.C., Chien, C.T., Teng, K.Y., and Chou, S.T. (2006). Antioxidative and mutagenic properties of *Zanthoxylum ailanthoides* Sieb & zucc. *Food Chemistry*, 97: 418-425.
- [21]. Kartal, N., Sokmen, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., and Sokmen, A. (2007). Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. *Food Chemistry*, 100(2): 584-589.
- [22]. Hinneburg, I., Damien Dorman, H.J., and Hiltunen, R. (2006). Antioxidant activities of selected culinary herbs and spices. *Food Chemistry*, 97: 122-129.
- [23]. Ebrahimzadeh, M.A., Hosseinimehr, S.J., Hamidinia, A., and Jafari, M. (2008). Antioxidant and free radical scavenging activity of *Feijoa sallowiana* fruits peel and leaves. *Pharmacologyonline*, 1: 7-14.
- [24]. Ebrahimzadeh, M.A., Pourmorad, F., and Hafezi, S. (2008). Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turkish Journal of Biology*, 32: 43-49.
- [25]. Nabavi, S.M., Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.F., Hamidinia, A., and Bekhradnia, A.R. (2008). Determination of antioxidant activity, phenol and flavonoids content of *parrotia persica* Mey. *Pharmacologyonline*, 2: 560-567.
- [26]. Yen, G.C. and Chen, H.Y. (1995). Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(1):27-32.
- [27]. Van Acker, S.A.B.E., Van Den Berg, D.J., Tromp, M.N.J.L., Griffioen, D.H., Van Bennekom, W.P., and Van der Vijgh, W.J.F. (1996). Structural aspects of antioxidant activity of flavanoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(3): 331-342.
- [28]. Hertog, M.L.G., Feskens, E.J.M., Hollman, P.H.C., Katan, M.B., and Kromhout, D. (1993). Dietary antioxidants flavonoids and the risk of coronary heart disease (the Zutphen elderly study). *Lancet*, 342: 1007-1011.
- [29]. Brand Williams, W., Cuvelier, M., and Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 28: 25-30.
- [30]. Lee, S.E., Hwang, H.J., Ha, J.S., Jeong, H.S. and Kim, J.H. (2003). Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity. *Life Sciences*, 73: 167-179.
- [31]. Singh, S., and Singh, R.P. (2008). In Vitro Methods of Assay of Antioxidants (an overview). *Food Reviews International*, 24: 392-415.
- [32]. Sanchez Moreno, C., Larrauri, J.A., and 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.
- [33]. Benzie, I.F.F., Wai, Y., and Strain, J.J. (1999). Antioxidant (reducing) efficiency of ascorbate in

- plasma is not affected by concentration. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 10: 146–50.
- [34]. Soares, A.A., Souza, C.G.M, Daniel, F.M., Ferrari, G.P., Costa, S.M.G., and Peralta, R.M. (2009). Antioxidant activity and total phenolic content of *Agaricus brasiliensis* in two stages of maturity. *Food Chemistry*, 112: 775-781.
- [35]. Huang, D., Ou, B., and Prior, R.L. (200). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53: 1841.
- [36]. Arabshahi, D.S. (2006). Studies on selected plant extracts with reference to their nutritional and pharmacological characteristics. PhD thesis, University of Mysore, Department of studies in Food Science and Nutrition, 121pp.

Archive of SID