Research Article–مقاله پژوهشی

Comparison of total phenolic compounds and antioxidant activity of *Thuja orientalis* leaf and short stem extracts isolated from Tehran and Noshahr

Mitra Ghasabian Dezfooli[1], Seyed Mohammad Mahdi Hamdi[1*], Bahare Nowruzi[2]

1. Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Aim and Background: Plant bioactive substances are a valuable source of various medicines that play an important role in human health. Increasing resistance to different antibiotics has increased the importance of using plant extracts as they have potential sources of antioxidants. Antioxidant compounds of plant origin can protect the body from damage caused by oxidative stress. Recently, the use of natural antioxidants derived from medicinal plants has had medicinal and medical applications. Comparison of the antioxidant activity and total phenolic compounds of *Thuja orientalis* leaf extracts isolated from the three heights (1, 2, and 3 meters) of Noshahr and Tehran.

Material and Methods: In this experimental study, the leaves of *Thuja orientalis* were collected in spring from Tehran and Noshahr cities at three heights (1, 2, and 3 meters). Subsequently, the methanolic and aqueous extracts were prepared and their antioxidant activities were evaluated using DPPH and FRAP methods. In addition, the content of the phenolic extract of the extracts was measured by the Folin-Succtile method.

Results: The results of this study showed that both aqueous and the methanolic extracts of *T. orientalis* exhibited significant total antioxidant activities at a height of 3 meteres. The methanolic extract of *T. orientalis* collected from Tehran and Noshahr in height of 2 meters showed the howest amounts of antioxidant activity. Moreover, the highest and lowest amounts of total phenolic compounds were belonged to aqueous and the methanolic extracts of *T. orientalis* collected from Noshahr.

Conclusion: The results of this study showed that the leaf extract of the *C. orientalis* can be used as an promising source for the synthesis of antioxidant compounds.

Keywords: Air pollution**,** Antioxidant activity, DPPH, FRAP, *Thuja orientalis*, total phenolic compounds, Iau Science.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-11-24]

Corresponding author:
Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
Email: m.hamdi@iauctb.ac.ir

مقایسه میزان فنل تام و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره برگ و شاخه‌های کوتاه‌گونه سرو خمره‌ای (*Thuja orientalis*) جدا شده از تهران و نوشهر

میترا قصابیان دزفولی[۱]، سید محمد مهدی حمدی*[۱]، بهاره نوروزی[۲]

۱. گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی، تهران، ایران
۲. گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: مواد زیست فعال گیاهی، منبعی با ارزش از انواع داروهایی هستند که نقش مهمی در سلامت انسان‌ها ایفا می‌کنند. افزایش مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های مختلف، اهمیت استفاده از عصاره های گیاهی را با دارا بودن منابع بالقوه آنتی اکسیدانی، روز افزون کرده است. ترکیبات آنتی اکسیدانی با منشا گیاهی، می‌توانند بدن را از آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو محافظت کنند. امروزه استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی مشتق از گیاهان دارویی دارای کاربردهای دارویی و پزشکی می‌باشد. مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی و فنول تام عصاره برگ گونه سرو خمره‌ای (*Thuja orientalis*) جمع‌آوری شده از شهرهای تهران و نوشهر از سه ارتفاع یک، دو و سه متری گونه می‌باشد.

مواد و روش‌ها: ابتدا برگ و شاخه‌های کوتاه گونه *سرو خمره‌ای* در فصل بهار از تهران و نوشهر جمع‌آوری شدند. با استفاده از روش ماسراسیون عصاره متانولی و آبی آن تهیه و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن با استفاده از روش های DPPH و FRAP بررسی شد. در این بررسی محتوای تام فنولی عصاره گیاهی با روش فولین‌سیوکالتیو اندازه گیری شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که عصاره آبی و متانولی گونه جمع آوری شده از تهران در بخش بالایی گونه یعنی ارتفاع ۳ متری دارای بیشترین میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی است و کمترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی را عصاره های متانولی تهران و نوشهر در ارتفاع دو متر به خود اختصاص داد. همچنین نتایج حاصل از اندازه گیری فنل تام نشان داد که عصاره آبی نوشهر در ارتفاع یک متری بیشترین میزان و عصاره آبی تهران در ارتفاع یک و دو متری کمترین میزان را نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد عصاره برگ گیاه *سرو خمره‌ای* می‌تواند به‌عنوان منبع قابل قبولی برای تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدان استفاده کرد واز طرفی آلاینده‌های هوا تا حدود زیادی در افزایش این ترکیبات در گیاه می‌تواند نقش داشته باشد.

واژگان‌کلیدی: آلاینده‌های هوا، گیاه سرو خمره‌ای، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، DPPH، FRAP، فنل تام، Iau Science.

مقدمه

مطالعه رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌ها در زیست شناسی، انقلاب پزشکی ایجاد می‌کند که نوید عصر جدیدی از مدیریت سلامت و بیماری را می‌دهد. از پیشگیری از واکنش‌های اکسیداتیو در غذاها، داروها و لوازم آرایشی و بهداشتی گرفته تا نقش گونه‌های اکسیژن فعال ((ROSدر بیماری‌های دژنراتیو مزمن از جمله سرطان، خود ایمنی، التهابی، قلبی عروقی و نورودژنراتیو (مانند بیماری آلزایمر، بیماری پارکینسون، سندروم مولتیپل اسکلروزیس)، و چالش‌های پیری همچنان از مشکلات مرتبط با روش‌های مورد استفاده در ارزیابی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در داخل بدن پدیدار می‌شوند (۱). یکی ازعوارض جانبی این واکنش‌ها تولید رادیکال های آزاد و اکسیژن فعال نظیر آنیون سوپراکسید (O_2^-)، رادیکال هیدروکسیل(OH•) و رادیکال پراکسی (ROO•) می‌باشد (۲). تخریب اکسیداتیو ناشی از فعالیت این مولکول‌ها موجب بروز و پیشرفت بیماری‌هایی از قبیل سرطان، بیماری قلبی- عروقی، دیابت، آلزایمر، التهاب، پیری و ... در انسان می‌شود (۳،۴). از دیگر آسیب‌های عمده‌ای که رادیکال‌های آزاد در آن‌ها دخالت دارند، عبارتند از اختلالات عصبی، آب مروارید و مشکلات ریوی نظیر آسم (۶-۵). تاکنون

نویسنده مسئول:
گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی، تهران، ایران
پست الکترونیکی: m.hamdi@iauctb.ac.ir
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۱/۱۵

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-11-24]

آنتی‌اکسیدان‌های مختلف مصنوعی زیادی مانند بوتیل-هیدروکسی‌تولوئن (BHT)[1]، اسیداسکوربیک L[2] و بوتیل-هیدروکسی‌آنیزول (BHA)[3] روانه بازار شدند، بدلیل اثرات تغذیه‌ای نامناسب و سرطان‌زا بودن این ترکیبات و همچنین تمایل مصرف‌کنندگان به استفاده از ترکیبات طبیعی، کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موردتوجه محققین قرار گرفته‌است (۷). آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی فرار و حساس به گرما هستند و برای ثبات و پایداری مواد غذایی مطلوب نیستند. از طرفی استفاده از آنها سلامتی انسان را تهدید می‌کند و باعث بروز سرطان می‌شود (۸). در سال‌های اخیر، مطالعات نشان داده است که رژیم غذایی حاوی ترکیبات گیاهی، نقش محافظتی بسیاری، در مقابل بیماری‌های مختلف دارند. تقریبا ۹۰ درصد همه انواع سرطان‌ها، توسط فاکتورهای محیطی از جمله نوع رژیم غذایی ایجاد می‌شوند و یک سوم مرگ های سرطانی در آمریکا فقط با تغییر رژیم غذایی کاهش پیدا کرده است. این نتایج نشان می‌دهد که ترکیبات مؤثره در میوه و سبزیجات و انواع گیاهان فقط در جلوگیری از سرطان مؤثره نیستند، بلکه روی بیماری‌های زمینه ای دیگر مثل مشکلات قلبی-عروقی نیز مؤثرند. با توجه به اینکه اهمیت فعالیت آنتی‌اکسیدانی موجود در میوه و سبزیجات مثل اسیدهای فنلی و فلاونوییدها بیشتر از ویتامین C، E یا بتاکاروتن می‌باشد؛ لذا کنترل رژیم غذایی غنی از میوه‌ها و سبزیجات، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را بطور قابل ملاحظه‌ای افزایش می دهد (۹).

فعالیت آنتی اکسیدانی به‌طور مستقیم قابل اندازه گیری نمی باشد. فعالیت آن به‌طور غیر مستقیم و از طریق کنترل اکسیداسیون توسط آنتی‌اکسیدان سنجیده می‌شود. اجزای تشکیل دهنده یک واکنش اکسیداسیون شامل سوبسترا، ماده اکسیدان، یک شروع کننده واکنش اکسیداسیون، مواد حد واسط و محصولات نهایی می‌باشد. اندازه گیری هر یک از اجزاء می‌تواند برای تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی استفاده شود (۱۰).

روش‌های متعددی برای تعیین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی وجود دارد؛ از جمله روش‌های TRAP[3]،ORAC و CBA (بر اساس ساز و کار انتقال اتم هیدروژن)، FRAP[3]، TEAC و DPPH[4] (بر اساس ساز و کار روش انتقال الکترون) و روش سامانه بتاکاروتن–لینولئیک اسید (در اثر واکنش بتاکاروتن با رادیکال حاصل از اکسایش لینولئیک اسید افت رنگ زرد بتاکاروتن مشاهده می‌شود). در کنار این روش‌های تقریبا سنتی، در سال‌های اخیر روش‌های دستگاهی مانند DSC نیز در تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی و پیشرفت اکسیداسیون مطرح شده است. در این مطالعه از روش DPPH[5] و FRAP[6] جهت تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی استفاده شده است: DPPH، یک رادیکال آزاد ناپایدار است که می‌تواند یک الکترون یا رادیکال هیدروژن قبول کند و به یک مولکول خنثی و پایدار تبدیل شود. به واسطه‌ی وجود الکترون منفرد دارای جذب قوی در ناحیه ۵۱۷ نانومتر است و به محض اینکه در حضور آنتی اکسیدان قرار گیرد، تک الکترون به صورت جفت الکترون در می‌آید. جذب نسبت به تعداد الکترون دریافتی به صورت وابسته به غلظت کاهش می یابد و رنگ این ترکیب از بنفش به زرد تغییر می‌کند. عمل احیاء DPPH و کاهش جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر در دمای اتاق (۲۵ درجه سلسیوس) و پس از گذشت ۵ دقیقه از شروع واکنش صورت می‌گیرد. با استفاده از تغییر جذب در این واکنش می‌توان توانایی مولکول‌های مختلف را به عنوان مهارکننده رادیکال سنجید. مزیت این روش این است که در زمان کوتاهی می توان تعداد زیادی نمونه را اندازه‌گیری نمود و از حساسیت کافی برخوردار است (۱۱). روش FRAP، بر اساس احیاء آنالوگ یون فریک به نام (TPTZ) Fe^{+3} در pH پایین در محیط اسیدی بنا شده است. ماده آنتی اکسیدان با دادن الکترون به این یون آن را به کمپلکس یون فرو (TPTZ) Fe^{2+} تبدیل می کند. این یون، رنگ آبی در محلول داشته و در ۵۹۳ نانومتر جذب نوری دارد. نتایج به صورت افزایش در جذب نوری بدست آمده و می‌تواند به صورت میکرومولار Fe^{2+} معادل یا به صورت نسبی در مقایسه با یک آنتی‌اکسیدان استاندارد بیان شود. در واقع، در این روش، به جای خنثی سازی رادیکال آزاد که در روش DPPH بررسی می‌شود، احیای یون آهن مورد بررسی قرار می‌گیرد. مزیت این روش، سنجش غلظت کل آنتی اکسیدان موجود در نمونه بدون توجه به ساختار شیمیایی آن می باشد. همچنین حساسیت آن بسیار بالاست و می‌توان به صورت خودکار در دستگاه‌های آزمایشگاه کلینیکی آن را اجراء نمود (۱۲).

در کشور ایران، به‌علت تنوع آب و هوایی و داشتن شرایط اکولوژی منحصر به فرد، زمینه رشد و نمو گیاهان حاوی مواد مؤثره و داروئی فراهم است. یکی از این گیاهان، سرو خمره‌ای

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-11-24]

[1] Butylated hydroxytoluene
[2] L-ascorbic acid
[3] Butylated hydroxyanisole
[4] diphenyl-l-picrylhydrazyl-2,2
[5] diphenyl-l-picrylhydrazyl-2,2
[6] Ferrie Reducing Ability of Plasma

(*Thuja orientalis*) از خانواده Cupressaceae[1] است که به نام نوش یا سرو خمره‌ای نیز معروف است. زیستگاه این گونه در ایران، استان‌های شمال و شمال غرب و تا حدودی مرکز و جنوب ایران (فارس) به صورت بومی وکاشتنی می‌باشد.

این گونه، گیاهی همیشه سبز، به ارتفاع ۳ تا ۱۸ متر دارای برگ‌های فلسی بروی شاخه های کوتاه واجد غدد رزین و حاوی اسانس‌های مورد استفاده برای درمان عفونت‌های قارچی، سرطان، خال‌ها و کرم‌های انگلی است. ترکیبات موجود در برگ‌ها دارای خاصیت ضد تب، رطوبت، دیورتیک، افزایش دهنده قاعدگی، نرم‌کننده، خلط‌آور، تب‌بر، و اشتهاآور دارند. از روغن‌های ضروری این گیاه، به طور سنتی به عنوان یک دافع حشرات طبیعی و محافظ چوب، استفاده می‌شود. آلفا توجون[2] به عنوان یک حشره‌کش و یک عامل داروئی ضدکرم برای درمان کرم‌های انگلی استفاده می‌شود.

با این‌حال، آلفا توجون ماده سمی است که سیگنال‌های عصبی مغز را مختل می‌کند. مصرف روغن‌های ضروری برگ-های این گیاه تواند باعث مرگ شود (۱۳).

عصاره های گیاهی سرشار از ترکیبات فعال زیستی مختلف هستند که اثرات آنتی‌اکسیدانی دارند، مانند فنولیک‌ها، کاتچین‌ها، فلاونوئیدها، کورستین و آنتوسیانین. ثابت شده است که استفاده از ترکیب‌های مختلف فن‌آوری‌های استخراج، اثر هم افزایی دارد یا به عنوان یک مکمل عمل می‌کند. نتایج حاضر نشان می‌دهد که به طور انتقادی فن‌آوری‌های استخراج مرسوم و سبز را در استخراج ترکیبات فعال زیستی از زیست توده گیاهی و استفاده از آن‌ها در گوشت به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد تجزیه و تحلیل قرار داده است(۳۰).

با توجه به وجود طیف وسیعی از فعالیت‌های بیولوژیکی ارزشمند در این گونه و از آنجایی که تا کنون هیچگونه فعالیتی در زمینه اندازه گیری آنتی اکسیدانی این گونه بومی ایران در دو منطقه جغرافیایی مختلف صورت نگرفته است، انجام این تحقیق و نتایج حاصل از آن، می‌تواند گامی مهم در معرفی گونه های بالقوه بومی از لحاظ دارویی باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌ها

برگ‌ها و شاخه‌های گونه سرو خمره‌ای در فصل بهار از شهرهای تهران و نوشهر در سه ارتفاع یک، دو و سه متری گیاه جمع‌آوری شدند. تهران دارای آب و هوای کوهستانی و معتدل و میزان آلودگی در حد ناسالم و رطوبت ۴۰ تا ۶۰ درصد و ارتفاع حدود ۱۴۰۰ متر از سطح دریا ونوشهر دارای آب وهوای معتدل و مرطوب خزری و هوای تقریبا پاک وسالم و رطوبت ۶۰ تا ۸۰ درصد و ارتفاع حدود صفر از سطح دریا می‌باشد. ابتدا توسط متخصص گیاه‌شناسی، شناسایی شد و پس از جمع‌آوری گونه مورد نظر به مدت ۱۰ روز در سایه خشک و به‌صورت پودر درآورده شد. پس از آن جهت آزمایش مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه عصاره گیاهی

عصاره متانولی

تهیه عصاره متانولی، عصاره‌گیری به روش خیساندن و با حلال متانول انجام شد. به این منظور، ۱۰۰ گرم از گیاه به دکانتور منتقل شده، با متانول پوشانده شد. بعد از ۴۸ ساعت حلال از دکانتور خارج شده و حلال تازه جایگزین آن گردید. این عمل سه بار تکرار شد. عصاره‌ها در روز آخر توسط دستگاه روتاری اوپوریتور[3] تغلیظ و در دستگاه آون خلاء و در دمای ۴۰ درجه سلسیوس خشک گردید.

عصاره آبی

عصاره‌گیری به روش خیساندن و با حلال آب مقطر انجام شد. به این منظور، ۱۰۰ گرم از گیاه به دکانتور منتقل شده، با آب مقطر پوشانده شد. به دلیل احتمال رشد باکتری یا قارچ در نمونه آبی، فاصله برداشت عصاره ها ۲۴ ساعت بود که پس از هر ۲۴ ساعت، به عصاره حاصل چند قطره کلروفرم اضافه شد تا از رشد میکروب جلوگیری شود. عصاره‌ها در روز سوم توسط دستگاه روتاری اوپوریتور تغلیظ و پس از ۱۲ ساعت قرار دادن در فریزر (دمای حدود ۲۰- درجه سلسیوس)، سپس توسط دستگاه فریز درایر[4] خشک گردیدو بعد در دستگاه آون خلاء و در دمای ۴۰ درجه سلسیوس خشک گردید.

[1] Cupressaceae
[2] α -thujone
[3] Rotary evaporator
[4] freeze dryer

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-11-24]

اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی
سنجش اثر مهار رادیکال آزاد با DPPH

در این روش برای مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی بین نمونه‌ها، از تعیین مقدار IC50 استفاده گردید که برابر غلظتی از عصاره یا نمونه است که سبب مهار ۵۰ درصدی DPPH می‌شود. هرچه درصد غلظت مهار IC50 به درصد غلظت مهار IC50 کنترل مثبت مورد استفاده، نزدیک‌تر باشد، فعالیت آنتی-اکسیدانی آن قوی‌تر است. در این آزمایش، از BHA (یک آنتی اکسیدان صناعی استاندارد) به عنوان کنترل مثبت با غلظت های مختلف استفاده شد. برای محاسبه IC_{50} استاندارد BHA، غلظت های مختلف از آن را تهیه کرده و با محاسبه درصد اکسیداسیون آن‌ها منحنی رسم شد و با استفاده از فرمول بدست آمده میزان IC_{50} محاسبه گردید. همچنین، در این مطالعه، بر اساس آزمون و خطا، مطالعه بر روی سه غلظت از عصاره‌های مختلف انجام و غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره آبی و متانولی تهیه شد. میزان جذب هر لوله ۳۰ دقیقه بعد از اضافه شدن محلول DPPH، با دستگاه اسپکتروفوتومتر UV در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. در انتها میزان مهار رادیکال آزاد با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{Radical scavenging activity (\%)} = 100\times [1 - \left(\frac{(AS-AC)}{AB}\right)]$$

AS = میزان جذب نمونه، AC = میزان جذب کنترل، AB میزان جذب بلانک

روش FRAP

در روش FRAP، گزارش به صورت معادل فروس سولفات آهن خواهد بود که قادر به احیای یون آهن است. بنابراین، قبل از اندازه‌گیری میزان جذب نمونه‌ها در برابر محلول فرپ، نمودار کالیبراسیونی از سولفات آهن رسم گردید. برای این کار، غلظت های مختلفی از سولفات آهن (۱۲۵ تا ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) تهیه گردید، سپس میزان ۱/۵ میلی لیتر معرف آماده FRAP را به لوله‌های آزمایش اضافه و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری شد.۵۰ میکرولیتر از هر غلظت به لوله های مربوطه اضافه و ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری گردید.

سپس شدت رنگ حاصل در طول موج ۵۹۳ نانومتر در مقابل بلانک (۵۰ میکرولیتر حلال عصاره (آب یا متانول) + ۱/۵ میلی‌لیتر FRAP) خوانده شد. بر اساس غلظت‌های مختلف استاندارد (سولفات فرو)، میزان جذب در طول موج ۵۹۳ نانومتر خوانده شد و منحنی کالیبراسیون رسم گردید. قبل از شروع کار برای تعیین میزان جذب نمونه‌های عصاره، ۵ میلی گرم از هر عصاره را در بالن ژوژه و با متانول (عصاره متانولی) یا آب مقطر (عصاره آبی) به حجم ۱۰ میلی لیتر رساندیم تا غلظت ۵۰۰ میکروگرم در میلی لیتر تهیه شود (این غلظت با آزمون و خطا به دست می آید). در واقع بهترین غلظت برای کار، غلظتی است که میزان جذب نمونه بین ۰/۱ تا ۰/۹ باشد). روش کار مانند بالا انجام شد و به جای غلظت‌های مختلف سولفات آهن، از غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر هر عصاره استفاده شد.

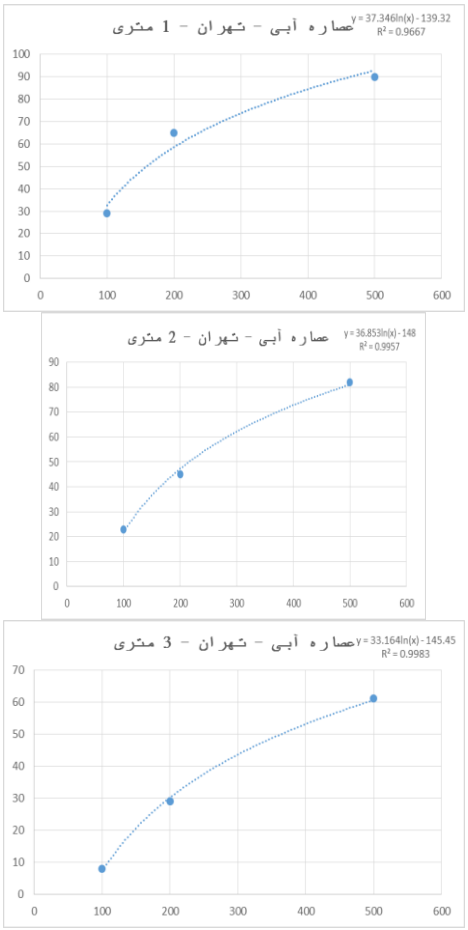
اندازه‌گیری محتوای تام فنولی عصاره گیاهی با روش فولین‌سیوکالتیو

میزان فنول تام نمونه، بر حسب یک ترکیب فنولیک گزارش می شود. در این مطالعه از گالیک اسید استفاده شد و بنابراین، گزارش میزان فنول، بر حسب گالیک اسید می‌باشد. برای رسم منحنی کالیبراسیون گالیک اسید، غلظت های مختلفی (۲۵ تا ۱۵۰ میکروگرم در میلی لیتر) از آن تهیه شد و بر اساس روش زیر، میزان جذب غلظت‌های مختلف اندازه‌گیری شد و منحنی کالیبراسیون بر اساس ترسیم خط غلظت در برابر جذب به دست آمد. برای تعیین مقدار فنول در عصاره ها، میزان جذب غلظتی از آن محاسبه شد و در صورت مناسب بودن میزان جذب (باید در محدوده جذب منحنی کالیبراسیون باشد)، تایید می‌شد. بر این اساس، غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره‌های آبی و متانولی مناسب تشخیص داده شد. این غلظت از هر نمونه تهیه و معرف فولین به نسبت ۱ به ۱۰ با آب مقطر رقیق شد. سپس سدیم بی‌کربنات ۷/۵ درصد (وزنی/حجمی) در آب مقطر تهیه گردید. در سه لوله موارد زیر تهیه شد. برای لوله بلانک نیز به جای عصاره از حلال آن استفاده شد. غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره آبی و متانولی تهیه و معرف فولین به نسبت ۱ به ۱۰ با آب مقطر رقیق شد. سپس سدیم بی‌کربنات ۷/۵ درصد (وزنی/حجمی) در آب مقطر تهیه گردید. در سه لوله موارد زیر تهیه شد. برای لوله بلانک نیز به جای معرف فولین از آب مقطر استفاده شد و سپس جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-11-24]

آنالیز داده‌ها

آنالیزهای آماری داده‌های حاصل از هر آزمایش با نرم افزار SPSS (نسخه ۱۶) و Excel انجام شد. تمام داده‌ها حاصل از نتایج سه تکرار است. تفاوت معنی‌دار بین عوامل اندازه‌گیری شده با آنالیز واریانس یک طرفه باحدوداطمینان ۹۵ درصد و مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی انجام گردیده شده و نتایج مربوط به مقایسه‌ها به صورت نمودار با برنامه Excel نشان داده شد.

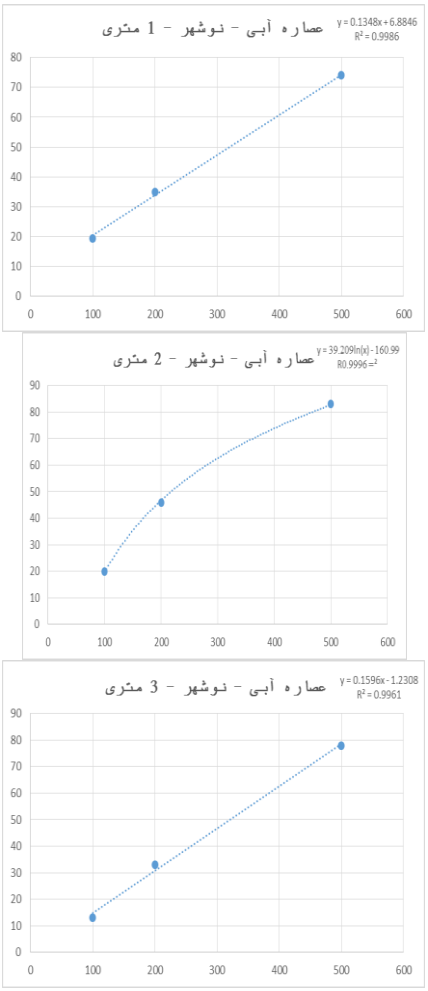


شکل ۱. درصد مهار (محور Y) در برابر غلظت (محور X) نمونه عصاره آبی گیاه تهران- ۱ متری. در هر نمودار، معادله خط و ضریب همبستگی (R^2) محاسبه شده است.

نتایج

نتایج حاصل از اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره آبی نمونه جمع آوری شده از تهران و نوشهر بر اساس میزان مهار رادیکال آزاد DPPH

میزان IC50 عصاره آبی نمونه جمع آوری شده تهران از ارتفاع یک متری، برابر ۱۵۹ µg/ml، از ارتفاع دو متری برابر ۲۱۴ µg/ml و از ارتفاع سه متری برابر ۳۵۸ µg/ml تعیین گردید (شکل ۱). میزان IC50 عصاره جمع آوری شده از نوشهر از ارتفاع یک متری برابر ۳۱۹ µg/ml، از ارتفاع دو متری برابر ۲۱۷µg/ml و از ارتفاع سه متری برابر ۳۲۱ µg/ml تعیین گردید (شکل ۲).

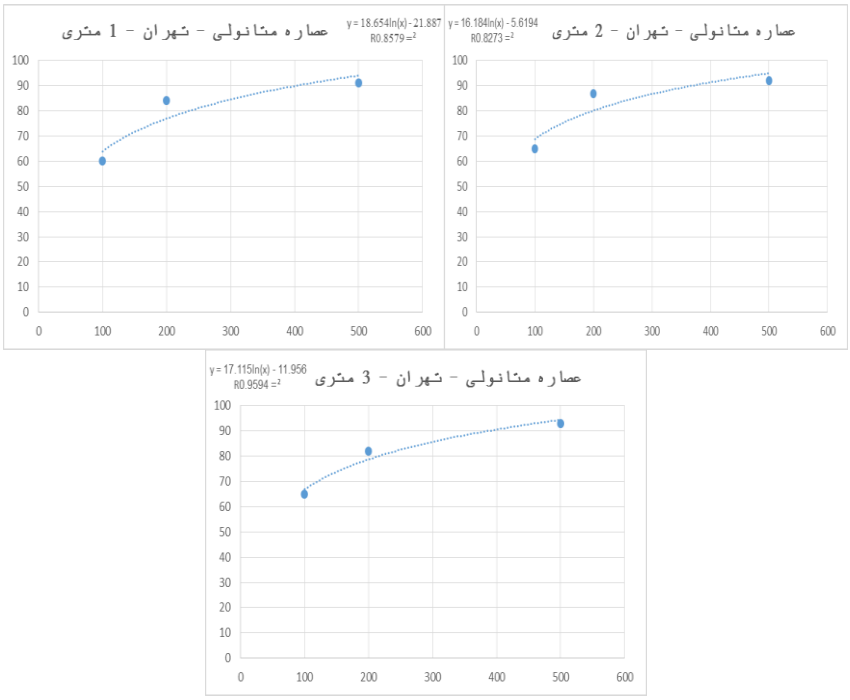


شکل ۲. درصد مهار (محور Y) در برابر غلظت (محور X) نمونه عصاره آبی گیاه نوشهر- ۱ متری. در هر نمودار، معادله خط و ضریب همبستگی (R^2) محاسبه شده است.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-11-24]

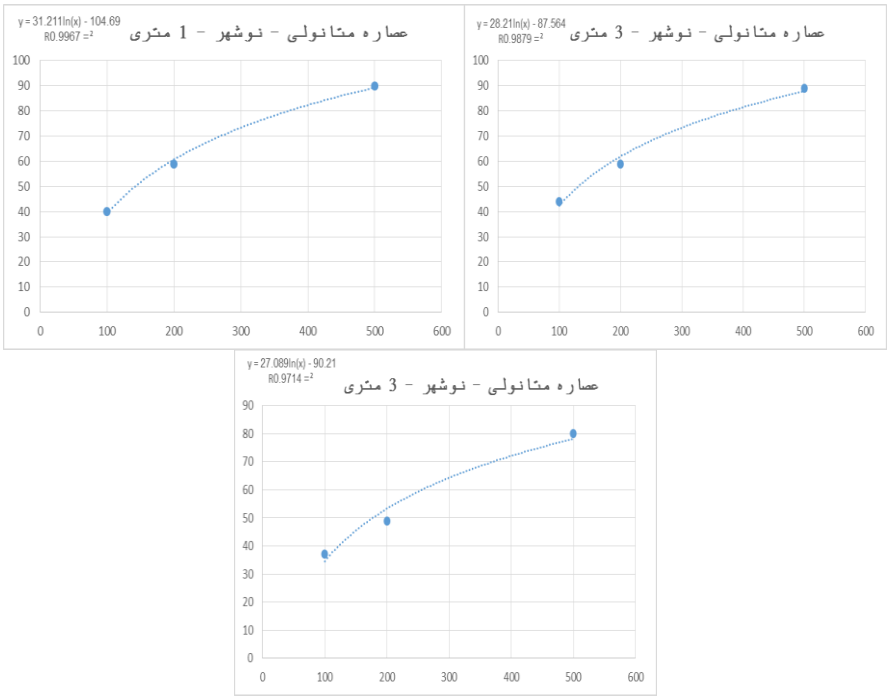
نتایج حاصل از اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی بر اساس میزان مهار رادیکال آزاد DPPH

بر اساس نتایج به دست آمده از آزمون DPPH، میزان IC50 عصاره جمع‌آوری شده از ارتفاع یک متری تهران برابر µg/ml ۴۷، از ارتفاع دو متری برابر µg/ml ۳۱ و از ارتفاع سه متری برابر ۳۷µg/ml تعیین گردید (شکل سه). میزان IC50 عصاره یک متری نوشهر برابر µg/ml ۱۴۱، از ارتفاع دو متری برابر µg/ml ۱۳۱ و از ارتفاع سه متری برابر µg/ml ۱۷۵ تعیین گردید (شکل چهار). علاوه بر آن، درصد مهار رادیکال آزاد عصاره های آبی و متانولی در جدول به صورت مقایسه ای نشان داده شد (شکل پنج). نتایج حاصل از رسم نمودار لگاریتمی درصد مهار کنندگی رادیکال DPPH توسط ترکیب استاندارد BHA، نشان داد که میزان IC50 ترکیب BHA برابر ۷/۶۲ میکروگرم بر میلی لیتر است (شکل شش).

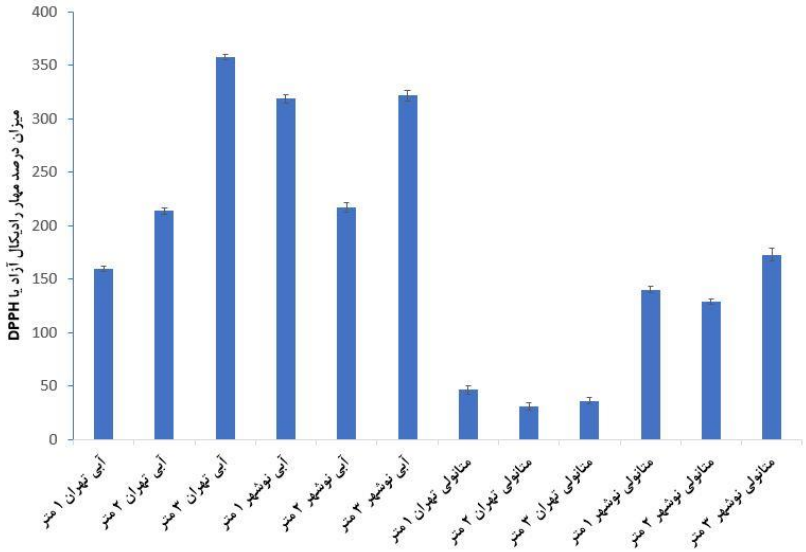


شکل ۳. درصد مهار (محور Y) در برابر غلظت (محور X) نمونه عصاره متانولی گیاه تهران- ۱ متری. در هر نمودار، معادله خط و ضریب همبستگی (R^2) محاسبه شده است.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-11-24]

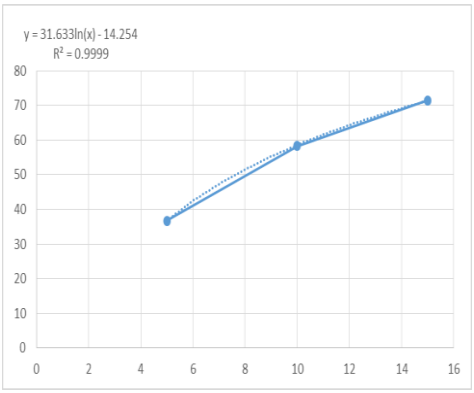


شکل ۴. درصد مهار (محور Y) در برابر غلظت (محور X) نمونه عصاره متانولی گیاه نوشهر- ۱ متری. در هر نمودار، معادله خط و ضریب همبستگی (R^2) محاسبه شده است.



شکل ۵. مقایسه درصد مهار رادیکال آزاد عصاره های آبی و متانولی با روش DPPH. میزان میانگین بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر در هر نمودار نشان داده شده است.

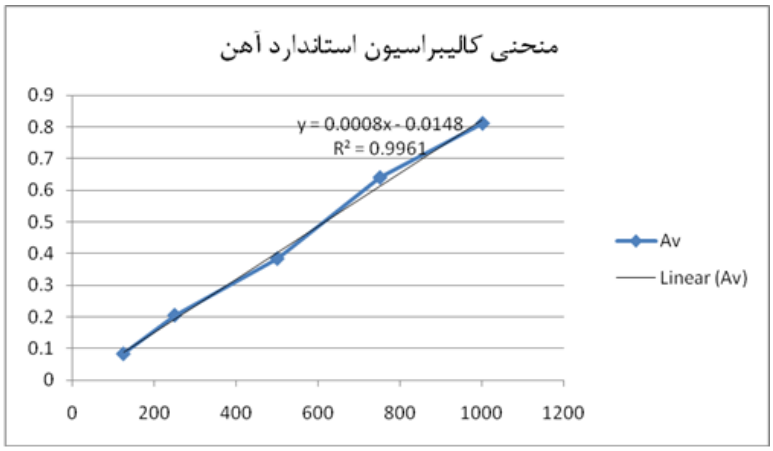
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-11-24]



شکل ۶. نمودار لگاریتمی درصد مهار کنندگی رادیکال DPPH توسط ترکیب استاندارد BHA. در هر نمودار، معادله خط و ضریب همبستگی (R^2) محاسبه شده است. با توجه به نمودار فوق، میزان IC_{50} ترکیب BHA برابر ۷/۶۲ میکروگرم بر میلی لیتر محاسبه گردید.

نتایج حاصل از بررسی اثر آنتی اکسیدانی عصاره به روش FRAP

منحنی کالیبراسیون استاندارد آهن بر اساس میزان جذب غلظت‌های مختلف سولفات آهن رسم گردید (شکل ۷). نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی استانداردهای آهن نشان داد که هرچه جذب بیشتر باشد، قدرت احیاکنندگی بیشتر است و در نتیجه خاصیت آنتی اکسیدانی قوی‌تری گزارش می‌شود. به عبارتی میزان جذب نور با قدرت احیاء رابطه مستقیم دارد (جدول ۲). نتایج حاصل از اندازه گیری میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بر حسب منحنی کالیبراسیون استاندارد، نشان داد که تفاوت معنی‌دار بین میزان مهار یون آهن در عصاره‌های مختلف آبی و متانولی واقع در ارتفاع یک، دو و سه متر تهران و نوشهر وجود دارد (شکل ۸، جدول ۳).



شکل ۷. منحنی کالیبراسیون استاندارد آهن. محور X نشان دهنده غلظت سولفات فرو و محور Y نشان دهنده میزان جذب می‌باشد. در نمودار، معادله خط و ضریب همبستگی (R^2) محاسبه شده است.

جدول ۲. حاصل از بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی استانداردهای آهن

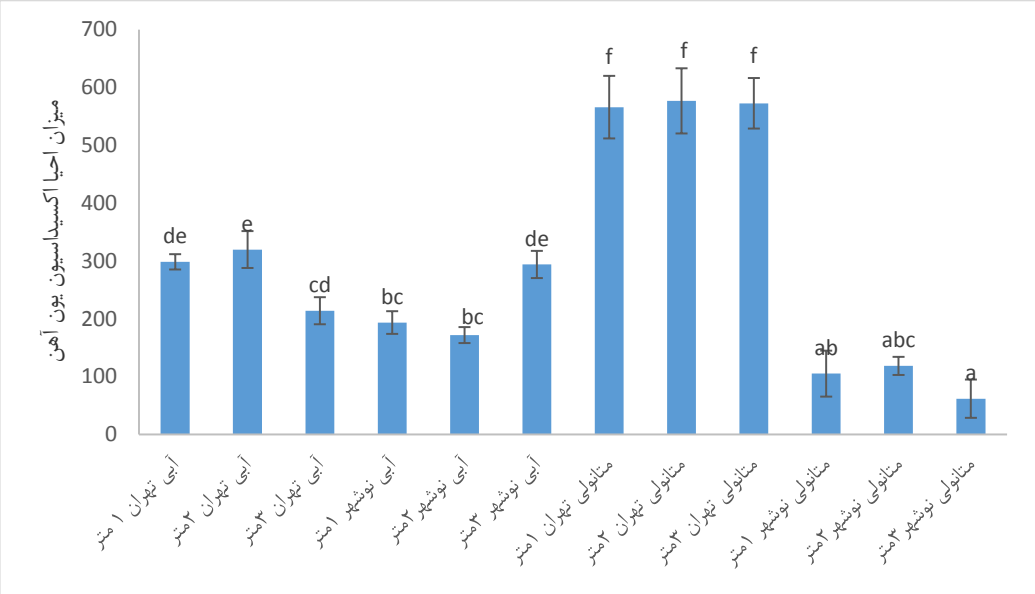
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-11-24]

Concentration (µmol/lit)	125	250	500	750	1000
Absorbance	0.083	0.215	0.388	0.628	0.811
	0.082	0.214	0.386	0.629	0.810
	0.087	0.188	0.379	0.663	0.811
Average	0.084	0.206	0.384	0.640	0.811
SD	0.00265	0.01531	0.00473	0.01993	0.00058

جدول ۳. فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر حسب میزان مهار اکسیداسیون یون آهن، حاصل از قرار دادن میزان جذب نمونه‌ها در منحنی کالیبراسیون سولفات فرو معادل میکرو مول آهن در هر گرم عصاره. نتایج برحسب میکروگرم بر میلی لیتر و به صورت Means ± SD نشان داده شده است.

نمونه عصاره	مقدار فعالیت آنتی اکسیدانی در روش FRAP، گزارش شده بر حسب Fe µmol /500µg of extract ± SD
آبی تهران – ۱ متری	۲۹۸/۵ ± ۱۳/۲۳
آبی تهران – ۲ متری	۳۱۹/۷۵ ± ۳۱/۹۰
آبی تهران – ۳ متری	۲۱۳/۹۲ ± ۲۳/۴۰
آبی نوشهر – ۱ متری	۱۹۳/۵ ± ۱۹/۶۴
آبی نوشهر – ۲ متری	۱۷۱/۸۳ ± ۱۳/۸۲
آبی نوشهر – ۳ متری	۲۹۳/۹۱ ± ۲۳/۵۲
منانولی تهران – ۱ متری	۵۶۶ ± ۵۴/۰۸
متانولی تهران – ۲ متری	۵۷۶/۸۳ ± ۵۶/۳۶
متانولی تهران – ۳ متری	۵۷۲/۶۶ ± ۴۳/۷
متانولی نوشهر – ۱ متری	۱۰۵/۱۶ ± ۳۹/۷۳
متانولی نوشهر – ۲ متری	۱۱۸/۵ ± ۱۵/۶۶
متانولی نوشهر – ۳ متری	۶۱/۸۳ ± ۳۳/۱۲

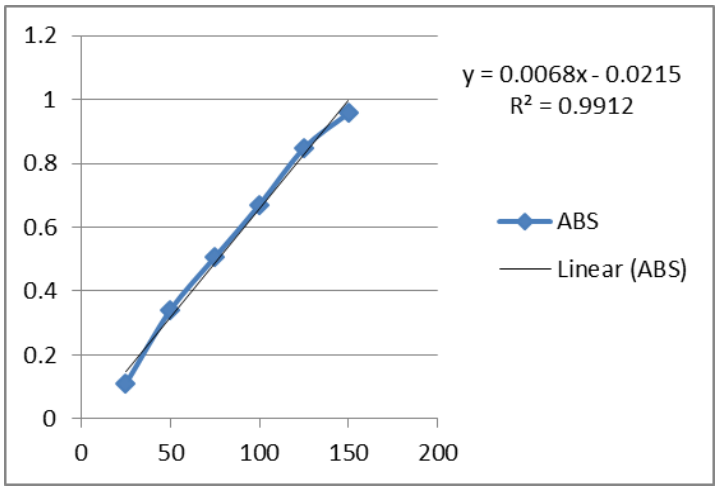
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-11-24]



شکل ۸. میزان مهار اکسیداسیون یون آهن برحسب منحنی کالیبراسیون استاندارد آهن. حروف مختلف نشان داده شده روی هر نمودار، نشان دهنده این است که تفاوت معنی داری در میزان مهار اکسیداسیون در مورد عصاره های جدا شده از مناطق مختلف وجود دارد. این درحالیست که حضور حروف یکسان، عدم تفاوت معنا دار را نشان می‌دهد.

نتایج حاصل از بررسی میزان فنل تام

منحنی کالیبراسیون بر اساس میزان جذب غلظت‌های مختلف اسیدگالیک رسم گردید (شکل ۹). نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان فنول تام بر حسب منحنی کالیبراسیون استاندارد گالیک اسید، نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین میزان فنول در عصاره‌های مختلف آبی و متانولی، واقع در ارتفاع یک، دو و سه متر تهران و نوشهر وجود دارد (جدول ۴ و شکل ۱۰). هم چنین نتایج آنتی اکسیدانی با میزان فنل تام در جدول ۵ آورده شده است.

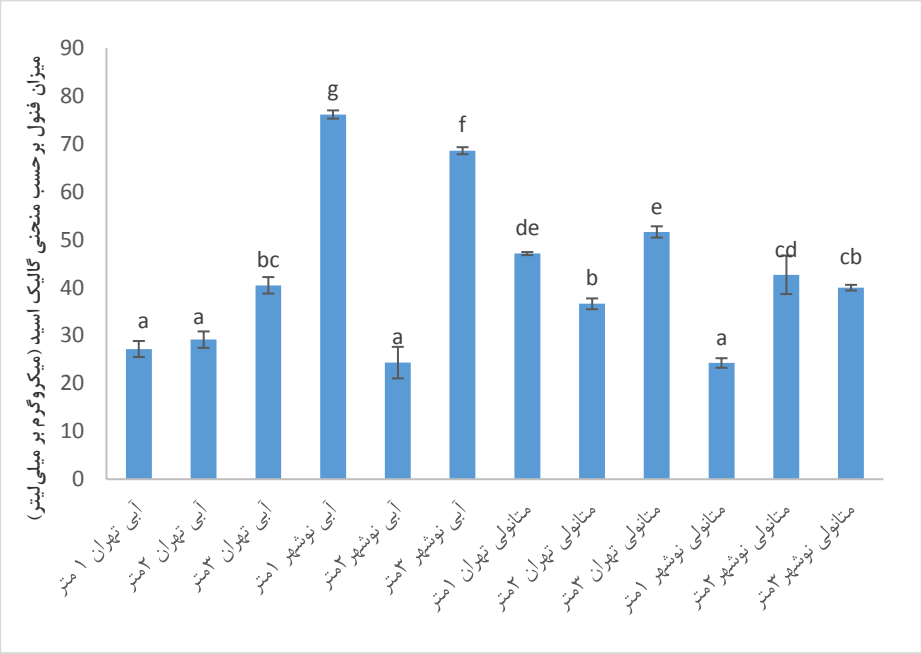


شکل ۹: منحنی کالیبراسیون حاصل از جذب استاندارد گالیک اسید در روش تعیین مقدار فنول با استفاده از معرف فولین‌سیوکالتو. در نمودار، معادله خط و ضریب همبستگی (R^2) محاسبه شده است. محور X، غلظت گالیک اسید (بر حسب میکروگرم در میلی‌لیتر) و محور Y، میزان جذب در ۷۶۵ نانومتر را نشان می‌دهد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-11-24]

جدول۴. مقدار ترکیبات فنولیک موجود در نمونه‌های مختلف عصاره آبی و متانولی در روش تست فولین‌سیوکالتیو بر حسب میکروگرم بر میلی متر و به صورت Means ± SE نشان داده شده است..

نمونه عصاره	مقدار فنول تام بر حسب ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره‌های آبی و متانولی بیان شده به صورت میانگین ± انحراف از استاندارد
آبی تهران – ۱ متری	۲۷/۱۸ ± ۱/۶۷
آبی تهران – ۲ متری	۲۹/۱۴ ± ۱/۷۱
آبی تهران – ۳ متری	۴۰/۴۷ ± ۱/۷۲
آبی نوشهر – ۱ متری	۷۶/۱۳ ± ۰/۸۶
آبی نوشهر – ۲ متری	۲۴/۳۴ ± ۳/۲۹
آبی نوشهر – ۳ متری	۶۸/۵۷ ± ۰/۷۴
متانولی تهران – ۱ متری	۴۷/۱۰ ± ۰/۳۲
متانولی تهران – ۲ متری	۳۶/۶۱ ± ۱/۱۳
متانولی تهران – ۳ متری	۵۱/۶۱ ± ۱/۱۸
متانولی نوشهر – ۱ متری	۲۴/۲۶ ± ۱/۰۰
متانولی نوشهر – ۲ متری	۴۲/۶۷ ± ۴/۰۲
متانولی نوشهر – ۳ متری	۳۹/۹۸ ± ۰/۵۹



شکل ۱۰. میزان فنول تام بر حسب منحنی کالیبراسیون استاندارد گالیک اسید. حروف مختلف نشان داده شده روی هر نمودار، نشان دهنده این است که تفاوت معنی داری در میزان فنل در مورد عصاره های جدا شده از مناطق مختلف وجود دارد. این درحالی است که حضور حروف یکسان، عدم تفاوت معنا دار را نشان می‌دهد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-11-24]

جدول ۵. مقایسه فنول تام و فعالیت آنتی‌اکسیدانی روش FRAP و DPPH در تهران و نوشهر

نمونه عصاره	FRAP، بر حسب فروسولفات Fe µmol/500µg of extract ± SD	IC50 به روش DPPH	فنول تام بر حسب گالیک اسید GAE µg/500µg of extract ± SD
آبی تهران – ۱ متری	۲۹۸/۵± ۱۳/۲۲	۱۵۹	۲۷/۱۸ ± ۱/۶۷
آبی تهران – ۲ متری	۳۱۹/۷۵±۳۱/۸۹	۲۱۴	۲۹/۱۴ ± ۱/۷۱
آبی تهران – ۳ متری	۲۱۳/۹۱±۲۳/۳۹	۳۵۸	۴۰/۴۷ ± ۱/۷۲
آبی نوشهر – ۱ متری	۱۹۳/۵±۱۹/ ۶۴	۳۱۹	۷۶/۱۳ ± ۰/۸۶
آبی نوشهر – ۲ متری	۱۷۱/۸۳±۱۳/۸۲	۲۱۷	۲۴/۳۴ ± ۳/۲۹
آبی نوشهر – ۳ متری	۲۹۳/۹۱±۲۳/۵۲	۳۲۱	۶۸/۵۷ ± ۰/۷۴
متانولی تهران – ۱ متری	۵۶۶±۵۴/۰۸	۴۷	۴۷/۱۰ ± ۰/۳۲
متانولی تهران – ۲ متری	۵۷۶/۸۳±۵۶/۳۶	۳۱	۳۶/۶۱ ± ۱/۱۳
متانولی تهران – ۳ متری	۵۷۲/۶۶±۴۳/۷۰	۳۷	۵۱/۶۱ ± ۱/۱۸
متانولی نوشهر – ۱ متری	۱۰۵/۱۶±۳۹/۷۳	۱۴۱	۲۴/۲۶ ± ۱/۰۰
متانولی نوشهر – ۲ متری	۱۱۸/۵±۱۵/۶۶	۱۳۱	۴۲/۶۷ ± ۴/۰۲
متانولی نوشهر – ۳ متری	۶۱/۸۳± ۳۳/۱۲	۱۷۵	۳۹/۹۸ ± ۰/۵۹

بحث

آنتی‌اکسیدان‌هایی که در حال حاضر استفاده می‌شوند، اساساً دارای ساختمان فنولی با یک یا چند عامل هیدروکسیل هستند. فنول‌ها یکی از مهمترین گروه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بوده و غنی‌سازی غذاهای فراوری شده با این ترکیبات، باعث محافظت آنها در برابر اکسایش می‌شود که به معنی حفظ کیفیت محصول است و از تشکیل فراورده‌های سمی اکسایش جلوگیری می‌شود (۱۴). ترکیبات فنولی تقریباً در تمام گیاهان وجود دارند و وقتی گیاهان به عنوان مواد غذایی مورد مصرف انسان قرار می‌گیرند این ترکیبات فیتوشیمیایی به ورود آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به رژیم غذایی انسان کمک می‌کنند. در واقع منشاء بسیاری از ترکیبات دارای خواص درمانی از گیاهان، به سبب متابولیسم ثانویه در آن‌ها می‌باشد (۱۵). همچنین ترکیبات فنولی دارای تاثیرات بیولوژیکی متعددی همچون فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدباکتریایی هستند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولیک در گیاهان عمدتاً به دلیل ویژگی‌های اکسایش-کاهش[1] و ساختار شیمیایی آنها است که می‌توانند نقش‌های مهمی را در خنثی‌کردن رادیکال‌های آزاد، احاطه کردن فلزات انتقالی و فرونشاندن[2] مولکول‌های اکسیژن یگانه[3] و سه‌گانه[4] از طریق تغییر مکان یا تجزیه پراکسیدها داشته باشند. این ویژگی‌ها با تاثیرات مفید آنتی‌اکسیدان‌های فنولیک بر روی سلامت در ارتباط است که به دلیل تاثیرات بازدارندگی این ترکیبات در مقابل پیشرفت بسیاری از بیماری‌های وابسته به تنش-اکسایشی، همچون بیماری‌های قلبی-عروقی، سندرم التهاب روده و بیماری آلزایمر است (۱۶). مکانیسم‌های دفاع آنتی اکسیدانی مختلف، نقش مهمی در حذف ROS و پراکسیداسیون لیپیدها دارند و بنابر این سلول‌ها را در مقابل اثرات سمی ROS ها و پراکسیداسیون لیپیدها محافظت کننده محسوب می شوند. در واقع ترکیبات آنتی اکسیدانی، موادی هستند که از اکسیداسیون سلولی مواد قابل اکسید جلوگیری می کنند یا آن ها را به تاخیر می‌اندازند یا و یا کیفیت غذاها را از زوال اکسیداتیو لیپیدها حفظ می‌کنند. این ترکیبات اثراتشان را توسط از بین بردن ROS اعمال می‌کنند و فعال کننده پروتئین‌های سمیت زدا هستند یا از تولید ROS ها جلوگیری می‌کنند (۱۷). در این بررسی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و متانولی گونه *Thuja orientalis* در سیستم آزمایشگاهی در دو منطقه جغرافیایی

[1] Redox
[2] Quenching
[3] Singlet
[4] Triplet

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-11-24]

مختلف و در سه ارتفاع بررسی شد و همچنین توانایی آنتی-اکسیدانی این گیاه با آنتی اکسیدان‌های در دسترس تجاری موجود در بازار مقایسه شد. باتوجه به نتایج بدست آمده از این مطالعه، نتایج نشان می‌دهد که عصاره برگ گیاه *Thuja orientalis* دارای ترکیب فنولی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشد. بنابراین، می‌توان از این گیاه به عنوان منبع گیاهی دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در صنایع غذا و دارو استفاده کرد. با توجه به اینکه هرچه میزان درصد مهارکمتر باشد، فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتراست. در اینجا میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی تهران، در ارتفاع دو متری با داشتن درصد مهار برابر با ۳۱ میکروگرم بر میلی لیتر، بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی را دارد و عصاره آبی تهران در ارتفاع سه متر با داشتن درصد مهار برابر با ۳۵۸ میکروگرم بر میلی لیتر، کمترین میزان فعالیت را دارا بود. نتایج حاصل از اندازه گیری فنل تام نشان داد که عصاره آبی نوشهر در ارتفاع یک متری بیشترین میزان و عصاره آبی تهران در ارتفاع یک و دو متری کمترین میزان را نشان می‌دهد دراین تست طبق نتایج و درصد مهارهای بدست آمده مشخص شد که در مجموع عصاره‌های متانولی، فعالیت بیشتری از خود نشان دادند و همچنین عصاره‌های تهران فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری را با اختلاف معنا دار نسبت به عصاره های نوشهر نشان دادند. باتوجه به اینکه هرچه میزان احیا بیشتر باشد فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتراست، عصاره متانولی تهران در ارتفاع یک، دو و سه با تفاوت معناداری نسبت به سایر عصاره-ها، بیشترین میزان فعالیت را داشت و عصاره متانولی نوشهر در ارتفاع یک، دو و سه متری، کمترین میزان فعالیت را با تفاوت معنادار نسبت به عصاره های متانولی تهران نشان داد. به‌علاوه میزان ترکیبات فنول تام گیاه، براساس روش تست فولین سیوکالتیو و احیاء معرف فولین توسط ترکیبات فنولی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ، اندازه گیری گردید. نتایج نشان داد که میزان محتوای فنولی گیاهان با اثر آنتی‌اکسیدانی آنها رابطه مستقیم دارد، چرا که ترکیبات فنولیک، به دلیل امکان پایداری ترکیب حاصل از اهدای یک الکترون، از مهمترین ترکیبات دارای قابلیت الکترون‌دهی به رادیکال‌های آزاد هستند. این در حالی است که عصاره متانولی نوشهر در ارتفاع یک متری، عصاره آبی نوشهر در ارتفاع دومتری، عصاره آبی تهران در ارتفاع یک و دو متری کمترین میزان ترکیبات فنولی را با تفاوت معناداری داشت. نتایج حاصل از این مطالعه با مطالعات انجام شده در زمینه میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه‌های مختلف جمع آوری شده از مناطق مختلف اما ازخانواده گیاه مطالعه شده در پژوهش حاضر، مقایسه گردید. در پژوهشی که NizamوMushfiq در زمینه فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و الکلی برگ‌های *Thuja orientalis* انجام دادند(۱۸)، در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم، عصاره‌های آبی و الکلی *T. orientalis* هیدرولیز DNA را به ترتیب ۷۲/۸۵۹ ٪ و ۶۵/۳۱۲ ٪ مهار کردند. عصاره‌های آبی و الکلی این گیاه همچنین ۲-آمییدنوپروپان دی هیدروکلرید القاکننده همولیز گلبول قرمز خون را به ترتیب به مقدار ۶۹/۳۰ ٪ و ۵۴/۵۵ ٪ مهار کرد. قدرت کاهش و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی بیشتر از عصاره الکلی بود که علت چنین خصوصیتی را حضور مقدار بالای ترکیبات فنولیکی در عصاره آبی اعلام کردند (Nizam and Mushfiq, 2007) که با نتایج ما تا حدود با نتایج این بررسی مغایرت دارد ، با توجه به اینکه متابولیت های با حلقه فنلی بیشتر در حلال‌های الکلی حل می‌شوند بهترین نتیجه استفاده از این حلال‌ها می‌تواند باشد به طوری-که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های الکلی در مطالعه حاضر، بیشتر از عصاره آبی گزارش گردید. در مطالعه‌ای که ژانگ و همکارانش در سال ۲۰۱۱ در زمینه فعالیت آنتی-اکسیدانی و ضدالتهابی انجام دادند (۱۹)، بالاترین سطح ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی را به ترتیب برابر با ۹۱/۳۳ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره و ۱۵۱/۸۶ میلی‌گرم کوئرسین در گرم عصاره گزارش کردند. همچنین نتایج، همبستگی خطی مثبتی بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای تام فنول و فلاونوئید نشان داد که این ترکیبات احتمالاً همان آنتی‌اکسیدان‌های اصلی در فعالیت‌های مشاهده شده باشند. همچنین فعالیت ضدالتهابی عمده‌ای در مهار تولید منواکسید نیتروژن با مقادیر غلظت مهاری ۵۰ (IC50) یافتند. نتایج حاصل از این مطالعه بالاترین سطح فنولی تام را برابر با ۷۶/۱۳ میکروگرم گالیک اسید در ۵۰۰ میکروگرم عصاره که مربوط به عصاره آبی در نوشهر بود، نشان داد که در مقایسه با نتایج حاصل از ژانگ و همکارانش در سال ۲۰۱۱ میزان کمتری است، این نتایج حاکی از آن است که می توان با جستجو و تحقیق در گیاهان دیگر به میزان بالاتری از ترکیبات آنتی اکسیدانی و فنلی دست یافت. پژوهشی دیگری توسط سانگ هو و همکاران در سال ۲۰۰۹ انجام شد، آنها به بررسی فلاونوئیدهای برگ‌های گیاه سرو خمره‌ای (*Thuja orientalis*)که مهار کننده آلدوز ردوکتاز بود، پرداختند، آنها به این نتیجه دست یافتند که اتیل‌استات مشتق از سرو خمره ای ، اثرات آنتی‌اکسیدانی و همچنین اثرات مهاری بر روی

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-11-24]

rhAKR2 و AGE را نشان داد، در این میان، کوئرسیترین بعنوان ترکیب فعال شناخته شد و از این رو آنها یک ماده فعال استاندارد برای توسعه محصولات طبیعی برای غذا یا دارو ارائه کردند (۲۰). در این پژوهش، ترکیبات فنولی تام و فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه نیز مورد بررسی قرار گرفت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه با افزایش غلظت عصاره افزایش یافت که این نتایج در مواردی با نتایج حاصل از تحقیق حاضر، هم راستا می‌باشد. مطالعه دیگری توسط دوبی و همکاران در سال ۲۰۰۹ که به ارزیابی و استخراج آنتی‌اکسیدان در شرایط آزمایشگاهی بر عصاره اتانولی سرو خمره ای پرداختند، نشان دادند که فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی با IC50 برابر با ۱۵۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود و فعالیت آن با کورکومین قابل مقایسه بود. این در حالی است که در تحقیق حاضر، میزان IC50 عصاره های حاصل از گیاه مورد مطالعه در تهران و نوشهر با استاندارد تفاوت معناداری داشت. (Dubey and Barta, 2009). در سال ۲۰۱۰، لیی و همکارانش عصاره استخراج شده از سرو خمره‌ای را توسط دستگاه GC و GC-Mass به روش hydrodistillation مورد آنالیز قرار دادند و مشخص کردند که ترکیبات روغنی در طول تنه گیاه با هم اختلاف دارند و بخصوص اینکه در حالت درخت و درختچه اختلاف معناداری بین آنها وجود دارد. همچنین معلوم شد که عصاره این گیاه علاوه بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی-باکتریایی دارای فعالیت ضدقارچی نیز بودند که بر روی ۶ گونه قارچ بیماریزای انسانی این فعالیت را اثبات کردند (۲۱). یوگش و علی در سال ۲۰۱۴، فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره مخروط سرو خمره‌ای و عصاره دانه‌های *Prunus armeniaca* را با روش فعالیت پراکندگی رادیکال آزاد DPPH محاسبه کردند. پتانسیل آنتی‌اکسیدانی این محصولات در گوشت مرغ خام طی ذخیره در یخچال (۴ ± ۱ درجه سلسیوس) نیز مورد بررسی قرار گرفت. فنول تام در عصاره مخروط سرو خمره‌ای و عصاره دانه‌های *Prunus armeniaca* به ترتیب ۰/۰۴ ± ۷/۸۰ و ۱/۰۴ ± ۱/۹۲ میلی-گرم گزارش گردید. همچنین فعالیت DPPH قابل توجهی (۱/۹۲٪ ۲۵/۲۲٪ و ۰/۳۲٪ ۲۴/۹۹٪) نیز در هر دو گیاه یافت گردید (۲۲). در سال ۲۰۱۲، سیرواستاوا و همکارانش با تحقیق درباره خواص بیولوژیک *Thuja* مشخص کرد که *Thuja* گیاهی همیشه سبزی است که در طب سنتی و هموپاتی کاربرد دارد و به‌صورت تجربی در امراض تنفسی، التهاب مثانه، مشکلات پوستی، سرطان رحم و آمنوره و برخی بیماری‌های دیگر کاربرد دارد. در این گونه، ترکیبات فعالی در آن شناسایی شده است که می‌تواند در بهبود بیماری‌های میکروبی و انگلی کاربرد داشته باشد و همچنین می‌تواند به-عنوان یک ترکیب ضدسرطان، ضدالتهاب و آنتی‌اکسیدان کاربرد داشته باشد (۲۳). در مطالعه جاسوجا و همکارانش در سال ۲۰۱۳ تحت عنوان تحقیق فیتوشیمیایی، ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی بر برگ‌های سرو خمره‌ای ، نتایج نشان داد که عصاره متانولی (۷۰٪ عصاره متانولی) در غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، بالاترین اثر آنتی‌اکسیدانی (مهار ۸۵/۲۵ ٪) دارد و عصاره‌های خام (عصاره اتانولی و متانولی) فعالیت مهاری ($P \leq ۰/۰۵$) در برابر دو باکتری گرم مثبت و منفی نشان دادند (۲۴). درحالیکه در این تحقیق، فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه در غلظت‌های بالاتر نیز مورد بررسی قرار گرفت و در هر دو عصاره‌های آبی و متانولی گیاه، با افزایش غلظت عصاره فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش یافت. در پژوهش اسبورن و همکاران در سال ۲۰۱۰ مطالعه ای در زمینه ایزوکوئرسیترین، مؤثرترین آنتی‌اکسیدان در گیاه سرو خمره ای انجام شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که ایزوکوئرسیترین بعنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی عمل می کند و مقدار غلظت مهاری ۵۰ (IC50) برابر با ۱/۰۴ میکرومول گزارش شد (۲۵) که در مقایسه با نتایج این پژوهش، عصاره متانولی تهران در ارتفاع دو متری، با مقدار غلظت مهاری ۵۰ (IC50) برابر ۳۱ میکروگرم بر میلی لیتر، فعالیت آنتی-اکسیدانی قابل توجهی است. الشارکاوی و همکاران در سال ۲۰۱۷ طی تحقیقی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی سرو خمره‌ای s رشد یافته در مصر و عربستان سعودی را بررسی کردند و با توجه به نتایجی که بدست آوردند، بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی و سیتوتوکسیک گیاه *Thuja* که در عربستان سعودی رشد می‌کند، با میزان بالای آن برخی ترکیبات غنی از گیاه سعودی و فقدان در گیاه مصری ارتباط دارد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که گیاه در دو منطقه می‌تواند به عنوان یک منبع بالقوه بزرگ برای محصولات بهداشت طبیعی محسوب شود، در حالی که گیاه عربستان با انباشت مقدار بالای روغن ضروری با شرایط شدید سازگار است (۲۶)، که در مقایسه با این تحقیق هم ترکیبات فنول تام و هم فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دو منطقه در ایران مورد بررسی قرار گرفت که فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی از خود نشان داد. در سال ۱۳۹۱، آقاسی‌زاده شعرباف به بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌همولیزی عصاره‌های مختلف سرو خمره‌ای پرداخت، طبق نتایج عصاره‌گیری در حلال اتانول و متانول در استخراج ترکیبات فلاونوئیدی و فنلی موثرتر بوده

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-11-24]

و این عصاره‌ها بیشترین تاثیر را در مهار همولیز گلبول قرمز نشان دادند. همچنین عصاره‌های متانولی و اتانولی گیاه تویا در آزمایش‌های اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاترین فعالیت را از خود نشان دادند. در نتیجه عصاره گونه (*Thuja orientalis*) می‌تواند به عنوان منبع آنتی‌اکسیدان طبیعی در پیشگیری یا درمان بسیاری از بیماری‌هایی که عامل آن اکسیداسیون درسلول باشد، استفاده گردد (۲۷)در مطالعه حاضر که به بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل تام عصاره‌های آبی و متانولی گیاه پرداخته شد، عصاره متانولی بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان داد. در پژوهشی دیگر که توسط سینگ دوهان و همکاران در سال ۲۰۱۲ انجام گرفت، پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گوناگون ریشه سرو خمره ای را در شرایط آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار دادند، تمام عصاره‌ها، فعالیت وابسته به غلظت قابل توجهی را نشان دادند. علاوه بر این، در میان عصاره‌های مختلف، عصاره متانول در DPPH، در حداکثر غلظت به ترتیب ۷۴/۳٪، ۵۱/۵۹٪ و ۹۹/۹۹٪ گزارش گردید (۲۸) که در این مطالعه نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشابه مطالعه سینگ دوهان با افزایش غلظت، افزایش گزارش شد. در مطالعه‌ای که توسط لی و همکاران در سال ۲۰۱۰ انجام گرفت، عصاره استخراج شده از سرو خمره‌ای توسط دستگاه GC-Mass به روش hydrodistillation مورد آنالیز قرار گرفت و مشخص شد که ترکیبات روغنی در طول تنه گیاه با هم اختلاف دارند و علی‌الخصوص اینکه در حالت درخت و درختچه اختلاف معنی‌داری بین آنها وجود دارد. همچنین مشخص شد که عصاره این گیاه علاوه بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی دارای فعالیت ضدقارچی نیز می‌باشد که برروی ۶ گونه قارچ بیماریزای انسانی این فعالیت به اثبات رسیده است (۲۹). در این مطالعه گرچه به فعالیت‌های ضدباکتریایی و ضدقارچی این گیاه توجهی نشد، اما مشخص شد که در هر دو منطقه مورد مطالعه عصاره‌های آبی و متانولی این گیاه دارای فعالیت آنتی-اکسیدانی می‌باشند و محتوای فنل تام به نسبت مناسبی دارند. از آنجایی که تا کنون تحقیقی در مورد ترکیبات فعال زیستی این گیاه در ایران انجام نگرفته است، لذا نتایج حاصل از این تحقیق می تواند زمینه ساز معرفی گونه های دارویی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی از ایران تلقی گردد. باتوجه به نتایج حاصله، عصاره آبی دارای کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود و عصاره متانولی دارای بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی گزارش گردید که در این بین عصاره متانولی تهران به‌علت داشتن درصد مهار مناسب‌تر و داشتن بالاترین میزان مهار اکسیداسیون یون آهن و میزان متوسط فنول تام، بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را به همراه داشت. با توجه به این که گونه های گیاهی در پاسخ به شرایط محیطی متابولیت های ثانویه را می‌سازند، هرچه عوامل محیطی نامساعد تر و میزان تنش های محیطی بیشتر باشد، میزان این مواد از جمله مواد آنتی اکسیدانی در گیاه بیشتر خواهد بود. در این نمونه‌های مورد بررسی در تهران در مقایسه با نوشهر میزان تنش های محیطی از جمله آلودگی هوا، آلودگی صوت، آلودگی آب باعث تنش های بیشتر و میزان رادیکال های آزاد در محیط و جذب آن توسط گیاه زیادتر و بنابراین تولید و تجمع آنتی‌اکسیدان بیشتر خواهد بود. بخشی از این آنتی‌اکسیدان ساخته شده در گیاه در جهت خنثی سازی این رادیکالهای آزاد مصرف می شود و بنابر این در نمونه ۳ متری در مقایسه با ۲ متری کمتر است. از طرفی میزان تولید فنل که پیش ساز چوب در این گیاهان و پاسخی به سردی هوا محسوب می شود در نمونه های نوشهر زیادتر است. با توجه به نتایج حاصل شده از این مطالعه، شناسایی محتوای ترکیبات بیوشیمیایی مسئول در ایجاد خواص آتی اکسیدانی این گیاه به کمک LC-MS، HPLC و NMR گامی دیگر در جهت معرفی گونه های گیاهی دارویی بومی ایران است.

نتیجه‌گیری

مقایسه کلی میزان فنول تام و FRAP و DPPH عصاره تهران و نوشهر در سه ارتفاع یک، دو و سه متری در جدول ۴ نشان داده شده است. نتیجه حاصل از مقایسات آماری نشان داد که عصاره آبی و متانولی تهران در ارتفاع ۳ متری دارای بیشترین میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی در دو روش DPPH و FRAP به ترتیب بود. این در حالی است که کمترین میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی را با این دو روش، عصاره های متانولی تهران و نوشهر در ارتفاع دو متر به خود اختصاص داد. همچنین نتایج حاصل از اندازه گیری فنل تام نشان داد که عصاره آبی نوشهر در ارتفاع یک متری بیشترین میزان و عصاره آبی تهران در ارتفاع یک و دو متری کمترین را نشان داد. در این میان، عصاره متانولی نوشهر در ارتفاع یک متری دارای کمترین میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی و فنلی گزارش گردید. با توجه به اینکه هرچه میزان درصد مهارکمتر باشد فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتراست. در اینجا میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی تهران با ارتفاع دومتر با داشتن درصد مهار برابر با ۳۱ میکروگرم بر میلی لیتر بیشترین فعالیت انتی

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-11-24]

اکسیدانی را دارد و عصاره آبی تهران با ارتفاع سه متر با داشتن درصد مهار برابر با ۳۵۸ میکروگرم بر میلی لیتر کمترین میزان فعالیت را داشت. دراین تست طبق نتایج ودرصد مهارهای بدست آمده مشخص شد که در مجموع عصاره های متانولی فعالیت بیشتری از خود نشان دادند و همچنین عصاره‌های تهران فعالیت آنتی‌اکسیدانی شان بیشتراز گیاه نوشهر بود.

میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش احیاء یون آهن (FRAP) (باتوجه به اینکه هرچه میزان احیا بیشتر باشد فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتراست) عصاره متانولی تهران با ارتفاع دومتر با داشتن میزان احیاء ۵۶/۳۶±۵۷۶/۸۳ میکرومول آهن در ۵۰۰ میکروگرم عصاره که تفاوت معنا داری با گیاه متانولی تهران یک متر و سه متر نداشت، بیشترین میزان فعالیت را داشت و عصاره متانولی نوشهر در ارتفاع سه متر باداشتن میزان احیاء ۳۳/۱۲ ±۶۱/۸۳ میکرومول آهن در ۵۰۰ میکروگرم عصاره که تفاوت معناداری با عصاره متانولی نوشهر یک مترو دومتر نداشت کمترین میزان فعالیت را داشت. به‌علاوه میزان ترکیبات فنول تام گیاه براساس روش تست فولین سیوکالتیو بیشترین میزان فنول تام مربوط به عصاره آبی نوشهر در ارتفاع ۱ متری بودکه با داشتن میزان فنول ۰/۸۶ ± ۷۶/۱۳ میکروگرم گالیک‌اسید در ۵۰۰ میکروگرم عصاره گیاه بیشترین میزان فنول را دارا بود وبعداز آن عصاره آبی نوشهر در ارتفاع سه متر که تفاوت معناداری با یکدیگر داشتند بیشترین فنول را داشت. عصاره متانولی نوشهردر ارتفاع یک متر کمترین میزان فنول را داشت که تفاوت معناداری با عصاره آبی تهران یک متر و عصاره آبی تهران دومتر وآبی نوشهر دومتر نداشت.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-11-24]

منابع

1- Okezie IA. 2003. Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of the bioactive component in plant foods; Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis Journal 523-524:9-20.
2- Kähkönen, M., A. Hopia and H. Vuorela. Cancer cause control. Food chemistry **47**, 1999
3- Liu, R. H. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. The American journal of clinical nutrition **78**(3), 2003
4- Zheng, G., Y. Lin and Y. Yazaki. Tannin analysis of Acacia mearnsii bark-a comparison of the hide-powder and Stiasny methods. ACIAR Proceedings Series, Australian Centre for International Agricultural ReResearch1991.
5- Kehler, J, C. Smith. Free radical in biology: sources, reactivities and roles in the etiology of human disease. Natural Antioxidants in Human Health and Disease .Academie Press, San Diego **23**(6), 1994
6- Greene, L. S. Asthma and oxidant stress: nutritional, environmental, and genetic risk factors. Journal of the American College of Nutrition **14**(4), 1995
7- Medina-Meza, I. G., C. Barnaba and G. V. Barbosa-Cánovas. Effects of high pressure processing on lipid oxidation: A review. Innovative Food Science & Emerging Technologies **22**, 2014
8- Faller, A. and E. Fialho. The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking. Food Research International **42**(1), 2009
9- Packer, L. Human Health, Carotenoids and the Pharmanex® BioPhotonic Scanner. Member Pharmanex® Scientific Advisory Board, December **20**, 2002
10- Tsao, R. and Z. Deng. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. Journal of chromatography B **812**(1-2), 2004
11- Tsao, R. and R. Yang. Lutein in selected Canadian crops and agri-food processing by-products and purification by high-speed counter-current chromatography. Journal of Chromatography A **1112**(1-2), 2006
12- Benzie, I. F. and J. J. Strain. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Analytical biochemistry **239**(1), 1996
13- Nakuleshwar Dut Jasuja, Suresh K. Sharma, Richa Saxena, Juoti Chaoudhery, Ramavatar Sharma and Shuresh C. Joshi. Antibacterial, antioxidant, phytochemical investigation of *Thuja orientalis* leaves , Journal of medicinal plant research **725**(25):1886-1893, 2013
14- Pirbalouti, A. G., F. Malekpoor, A. Salimi and A. Golparvar. Exogenous application of chitosan on biochemical and physiological characteristics, phenolic content and antioxidant activity of two species of basil (Ocimum ciliatum and Ocimum basilicum) under reduced irrigation. Scientia Horticulturae **217**, 2017
15- Sahreen, S., M. R. Khan and R. A. Khan. Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of Carissa opaca fruits. Food chemistry **122**(4), 2010
16- Lee, J. C. and K. T. Lim. Effects of cactus and ginger extracts as dietary antioxidants on reactive oxidant and plasma lipid level .Food Science and Biotechnology **9**(2), 2000
17- El Jemli M, Kamal R, Marmouzi I, Doukkali Z, Bouidida E.H, Touati D, Nejjari R, Guesseabi L.E, Cherrah Y, Alaoui K. Chemical composition, acute toxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of Moroccan Tetraclinis articulata L. Journal of Traditional and Complementary Medicine **4**, 2016
18- I Nizam and M Mushfiq, Antioxidant activity of water and alecol exstracts of *Thuja orientalis* leaves. Oriental Pharmacy Experimental Medicine **7**(1), 2007
19- Zhang, L., A. S. Ravipati, S. R. Koyyalamudi, S. C. Jeong, N. Reddy, P. T. Smith, J. Bartlett, K. Shanmugam, G. Münch and M. J. Wu. Antioxidant and anti-inflammatory activities of selected medicinal plants containing phenolic and flavonoid compounds. Journal of agricultural and food chemistry **59**(23), 2011
20- Lee, E. H., D.-G. Song, J. Y. Lee, C.-H. Pan, B. H. Um and S. H. Jung. Flavonoids from the leaves of Thuja orientalis inhibit the aldose reductase and the formation of advanced glycation endproducts. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry **52**(5), 2009
21- Lei, H., Y. Wang, C. Su, F. Liang, W. Su, M. Hui, P. Shaw and Y. Luo. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of Thuja sutchuenensis, a critically endangered species endemic to China. Natural product communications **5**(10), 2010

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-11-24]

22- Yogesh K1, Ali J. Antioxidant potential of thuja (Thuja occidentalis) cones and peach (Prunus persia) seeds in raw chicken ground meat during refrigerated (4 ± 1 °C) storage. J Food Sci Technol. 2014 Aug;51(8):1547-53.
23- Srivastava, P., P. Kumar, D. Singh and V. Singh. Biological properties of Thuja orientalis Linn. Adv Life Sci **2**(2), 2012
24- Jasuja, N. D., S. K. Sharma, R. Saxena, J. Choudhary, R. Sharma and S. C. Joshi. Antibacterial, antioxidant and phytochemical investigation of Thuja orientalis leaves. Journal of Medicinal Plants Research **7**(25), 2013
25- Jung, S. H., B. J. Kim, E. H. Lee and N. N. Osborne. Isoquercitrin is the most effective antioxidant in the plant Thuja orientalis and able to counteract oxidative-induced damage to a transformed cell line (RGC-5 cells .(Neurochemistry international **57**(7), 2010
26- Elsharkawy, E. R., H. Aljohar and M. Abd El Raheim. Comparative Study of Antioxidant and Anticancer Activity of Thuja orientalis Growing in Egypt and Saudi Arabia. BRITISH JOURNAL OF PHARMACEUTICAL RESEARCH **15**(5), 2017 .
27- Sherbaf M.A. Antioxidant and antihomolis survey of differents extracts Thuja orientalis. Mazandaran University, Faculty of Sciences. M.S. Thesis
28- Saharan, P., J. S. Duhan and S. K. Gahlawat. Antioxidant potential of various extracts of stem of thuja orientalis: in vitro study. International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology **3**(4), 2012
29- Lee, Y. J., S. M. Hwang, J. J. Yoon, S. M. Lee, E. H. Kyung, J. S. Kim, D. G. Kang and H. S. Lee. Inhibitory effect of Thuja orientalis on TNF-α-induced vascular inflammation. Phytotherapy Research **24**(10), 2010.
30- Alzaidi MA, Pavan K., Mohammad Rashdi I, Shokri J., Mohammad Faris A. and Aziz Qurni S. 2021. Green Extraction of Bioactive Compounds from Plant Biomass and Their Application in Meat as Natural Antioxidant. Antioxidants Journal **10**(9).

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-11-24]