



Standardization of amounts of hydrolyzable tannins, polyphenolic compounds and antioxidant effects of hydroalcoholic extract of plant gel *Aloe vera* L. in different methods

Ali Ghaderi^{1*} | Khadijah Ahmadi² | Omid Abbaszadeh³ | Amir Gurbanzadeh⁴

1. Assistant Professor, Department of Medicinal Plants, Iqbal University Lahore.

2. Ph.D. student in Crop Physiology, Shahid University.

3. Doctoral student of medicinal plants, Islamic Azad University, Shirvan branch.

4. Master of Medicinal Plants, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.

* Corresponding Author Email: Ghaderi885@yahoo.com

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received: 21/11/2023
Accepted: 21/01/2024

Keywords:

DPPH,
Tannin,
Aloe vera,
Phenol,
Flavonoid.

EXTENDED ABSTRACT

Introduction: *Aloe vera* (L.) Burm. f. (Asphodelaceae) is a tropical, drought-resistant, and perennial succulent native to Africa that later spread to other parts of the world. *Aloe vera* gel and extract have many biological and physiological properties. Aloe has shown antitumor, antimicrobial, antiviral, anti-inflammatory, antioxidant, hypocholesterolemic, hypoglycemic, antiulcerogenic, immunomodulatory, analgesic, dermal protection, wound healing, burn healing, and frostbite healing activities. Aloe is widely used as an active ingredient in laxative and antiobesity preparations and as a moisturizer, emollient, or wound-healing agent in pharmaceuticals, sunscreen, and other cosmetic formulations. Due to the climatic conditions of Iran, in most regions, plant species such as Sabzard with important therapeutic properties, it is necessary to conduct plant studies and understand their mechanism of action. Therefore, the aim of this research was to determine the amounts of total phenol, total flavonoid and total tannin in the hydroalcoholic gel extract of *Aloe vera* medicinal plant and the antioxidant activity of *Aloe vera* gel extract was measured by three methods.

Cite this article: Ghaderi, Ali; Ahmadi, Khadijah; Abbaszadeh, Omid & Gurbanzadeh, Amir (2024). Standardization of amounts of hydrolyzable tannins, polyphenolic compounds and antioxidant effects of hydroalcoholic extract of plant gel *Aloe vera* L. in different methods. *Journal of Phytoallexins*, 1(1).



© The Author(s).

Publisher: Shahed University

Materials and Methods: In this study, in order to determine the amounts of total tannin, total phenol, total flavonoid and antioxidant of *Aloe vera* L. hydroalcoholic extract, an experiment was conducted in a completely randomized design with three replications in 2019. This research was conducted in a greenhouse located in Dehshak village of Mashhad, Razavi



Khorasan province. The leaves of Sabr Zard medicinal plant were collected from the greenhouse. The leaves had a green, fleshy appearance, with jagged edges. In order to improve the sanitary conditions in the laboratory and the disinfection process, first the leaves were washed with 25% chlorine solution, and after drying the leaves, the gel extraction stage began. The outer skin of the leaf was cut and separated by a sterile blade, and the middle gel attached to the lower layer of the leaf was identified. Then, the pulp along with the colorless mucilage gel contained in it, was separated from the lower shell that was attached to it by a sterile razor and also a sterile spoon. It was homogenized by a centrifuge (3500 rpm) and to prevent oxidation and spoilage, after weighing with a scale, it was poured into sterilized and autoclaved dark glasses. Inside the refrigerator, the temperature was kept at 4°C until the tests were performed. Methanolic extract was prepared from yellow aloe leaf gel. The amount of phenol and flavonoids was measured by spectrometry and the antioxidant activity of the gel extract was measured using DPPH free radical. Based on the results of determining the amount of secondary metabolites and antioxidant activity, the amount of total phenol in the hydroalcoholic extract of yellow aloe vera gel was 90.04 µg gallic acid per mg/ml dry weight of the gel, the total flavonoid content was 66.25 µV/g Quercetin per mg dry weight of the gel and total tannin content were 87.43 µg/catechin g / mg dry weight of the gel. Hydroalcoholic gel extract of yellow *Aloe vera* gel with IC₅₀ index of 31.31 µg/ml has high antioxidant activity. JMP 8 (SAS Campus Drive, Cary, NC 27513) and Sigma Plot 12.0 software were used for statistical analysis. Mean comparison was done with LSD test at 5% probability level.

Results and Discussion: The results of antioxidant activity in FRAP and BCB methods also confirmed the high potential of this plant in inhibiting oxidants. The correlation between the measured levels of antioxidant activity of extracts with other measured factors showed that the measurement of antioxidant activity in the three methods of DPPH, FRAP and BCB with the content of total phenol, total flavonoids and total tannins had a significant positive correlation. Results of this study showed that yellow *Aloe vera* gel has high antioxidant activity and is also directly related to the amount of phenolic and flavonoid compounds. As a result, by identifying and using more bioactive compounds of yellow patience gel, it is possible to avoid wasting large amounts of natural antioxidants of this important medicinal plant. Most polyphenols are very important among antioxidant phytochemical compounds due to their reductive property and free radical trapping action. A large number of natural antioxidant compounds in yellow patience, such as ascorbic acid, carotenoids, flavonoids, glutathione peroxidase, phenolics, superoxide dismutase, tannin, and vitamins C and E. Mechanically as a reduction of oxidative stress, cell destruction and Physiological reduction and biochemical changes also work. Because tannins have benzene rings in their molecule, they have some kind of hydrophobic properties, so it seems that the most suitable solvents for extracting tannins are those that have hydrophilic properties. Meanwhile, in order to extract maximum compounds containing tannin, methanol and acetone have the highest efficiency compared to aqueous solvents.

Conclusion: The type, amount and percentage of polyphenols is a sign of the desired quality of plants. These compounds have the role of defense against plant pathogens, influencing the metabolism of carbohydrates and also have a possible role in photosynthesis. The medicinal effects of yellow patience plant gel are mainly related to the amount of their phenolic compounds.

استانداردسازی مقادیر تانن‌های هیدرولیز شونده، ترکیبات پلی‌فنولیک و اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی ژل گیاه (*Aloe vera* L.) در روش‌های مختلف

علی قادری^{۱*} | خدیجه احمدی^۲ | امید عباس‌زاده^۳ | امیر قربان‌زاده^۴

۱. استادیار گروه گیاهان دارویی، دانشگاه اقبال لاهوری.

۲. دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشگاه شاهد.

۳. دانشجوی دکتری گیاهان دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیروان.

۴. کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

* ایمیل نویسنده مسئول: Ghaderi885@yahoo.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی	ژل و عصاره گیاه دارویی صبر زرد، <i>Aloe vera</i> L. دارای خواص متعدد بیولوژیک و فیزیولوژیک می‌باشد و در صنایع مختلف دارویی، غذایی و آرایشی و بهداشتی استفاده می‌شود. در این تحقیق به منظور تعیین مقادیر تانن کل، فنل کل، فلاونوئید کل و آنتی‌اکسیدان عصاره هیدروالکلی ژل صبر زرد، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در سال ۱۳۹۸ اجرا شد. از ژل برگ‌های صبر زرد عصاره متانولی تهیه شد. سنجش میزان فنل و فلاونوئید به روش اسپکتروفتومتری صورت گرفت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره ژل با استفاده از رادیکال آزاد DPPH اندازه‌گیری شد. طبق نتایج بدست آمده از تعیین مقادیر متابولیت‌های ثانویه و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، مقدار فنل کل در عصاره هیدروالکلی ژل صبر زرد ۹۰/۰۴ میکرو اکی‌والان گالیک اسید بر میلی‌گرم وزن خشک ژل، مقدار فلاونوئید کل ۶۶/۲۵ میکرو اکی‌والان گرم کوئرستین بر میلی‌گرم وزن خشک ژل و مقدار تانن کل، ۸۷/۴۳ میکرو اکی‌والان گرم کاتشین بر میلی‌گرم وزن خشک ژل بود. عصاره ژل هیدروالکلی ژل صبر زرد با دارا بودن شاخص IC50 معادل ۳۱/۳۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر دارای فعالیت آنتی‌اکسیدان بالایی است. نتایج حاصل از فعالیت آنتی‌اکسیدانی در روش FRAP و BCB نیز مؤید پتانسیل بالای این گیاه در مهار اکسیدان‌ها بود. بررسی همبستگی بین مقادیر سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با دیگر عامل‌های اندازه‌گیری شده نشان داد که سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سه روش DPPH، FRAP و BCB با محتوای فنل کل، فلاونوئید کل و تانن کل همبستگی مثبت معنی‌داری داشت. ژل صبر زرد دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشد و همچنین با میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی رابطه مستقیم دارد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۳۰	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۰۱	
واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، صبر زرد، فنل، فلاونوئید.	

استناد: قادری، علی؛ احمدی، خدیجه؛ عباس‌زاده، امید؛ قربان‌زاده، امیر (۱۴۰۳). استانداردهای مقادیر تانن‌های هیدرولیز شونده، ترکیبات پلی‌فنولیک و اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی ژل گیاه (*Aloe vera* L.) در روش‌های مختلف. دوفصلنامه گیاه‌پاد، ۱(۱)، ۱-۱۲.



حق مؤلف © نویسندگان.

ناشر: دانشگاه شاهد

مقدمه

گیاه دارویی *Aloe vera* با نام صبر زرد، صبر تلخ یا شاخ بزی که در استان بوشهر با نام‌های محلی گل سگله، گل قبر یا چادروا شناخته می‌شود یکی از گونه‌های مهم دارویی است که در نواحی گرم و خشک از جمله سواحل جنوبی کشور می‌روید. گیاه صبر زرد از زمان‌های قدیم برای درمان بسیاری از امراض به کار می‌رفته است. در نوشته‌های کهن مصری آمده است که در ۱۵۰۰ سال قبل از میلاد مسیح از صبر زرد جهت رفع عفونت‌ها، ناراحتی‌های پوستی و به‌عنوان مسهل استفاده می‌کرده‌اند (Yazdani et al., 2006). گیاه صبر زرد متعلق به تیره *Liliaceae* گیاهی است بوته‌ای، دائمی با ارتفاع ۹۰-۷۰ سانتی‌متر، برگ‌ها ضخیم و گوشتی و سر نیزه‌ای شکل فاقد دمبرگ، حاشیه برگ دارای خارهای نوک تیز بوده و برگ‌ها به صورت قاعده‌ای قرار گرفته و به رنگ سبز یا مایل به قرمز هستند. گل‌ها روی گل آذین سنبله‌ای به طول ۱ تا ۱/۵ متر ظاهر می‌شود. گل در گونه *A. vera* زرد رنگ است و در فصل زمستان ظاهر می‌شود میوه به صورت کپسول است (Zhong et al., 2017). جنس *Aloe* یک گونه بومی ایران با نام علمی *A. littoralis* Baker دارد که معمولاً در مناطق جنوبی کشور از جمله استان هرمزگان و بوشهر می‌روید. گونه‌های دیگر از جمله *A. vera* L. (صبر زرد طبی) به ایران وارد شده است. این گیاهان در اصل بومی مناطق استوایی و جنوبی آفریقا، ماداگاسکار و عربستان هستند. ولی به نقاط دیگر دنیا نیز راه یافته‌اند. در ضمن تعدادی از گونه‌های زینتی آن به صورت وسیعی در اروپا و آمریکا برای استفاده از برگ آن و تزئین باغ‌ها، پارک‌ها و منازل کاشته می‌شوند. اکثر گونه‌های آن مصرف دارویی دارند (Nazeam et al., 2017).

در حال حاضر محصولات مختلف صبرزرد در صنایع مختلف غذایی (انواع نوشابه‌ها، کمپوت، دوغ و غیره)، صنایع آرایشی و بهداشتی (انواع کرم‌ها، لوسیون‌ها، شامپوها، صابون‌ها، شوینده‌ها) و صنایع دارویی (کپسول، قرص جوشان) استفاده می‌شود (Iqbal & Ahmed, 2021). همچنین عصاره ی استنی گیاه صبر زرد می‌تواند به عنوان عامل ضد قارچی مؤثرتری بر مهار رشد آفاتوکسن داشته باشد (Babaei et al., 2015). ژل و یا عصاره گیاه به‌عنوان مسهل، ضد عفونی کننده معده، تقویت کننده دستگاه گوارش، تهیه پماد سوختگی (به دلیل خاصیت بازسازی سلول‌های از دست رفته بدن در زمان سوختگی)، درمان دیابت، رفع سوختگی در اثر آفتاب‌زدگی و از جهت آرایشی، بهداشتی در تهیه کرم‌های نرم کننده، انواع شوینده‌های آرایشی و بهداشتی کاربرد دارد (Kumar et al., 2017). طبق اظهارات Adams و همکاران (۲۰۰۰) کروموزوم پایه این گونه $X = 7$ بود و اساساً ساختار ژنومی آنها از یک کروموزوم بلند ساب متاساتریک، سه کروموزوم بلند اکروساتریک و سه کروموزوم کوتاه اکروساتریک تشکیل شده است و همه نمونه‌ها با داشتن ۱۴ کروموزوم دیپلوئید می‌باشند.

طبق آزمایشات فیتوشیمیایی، ژل صبرزرد سرشار از آلکالوئیدها، تانن‌ها، فلاونوئیدها، استرول‌ها، تریترپن‌ها، اوس‌ها، هولولزیدها، موسیلاژها و متابولیت‌های کاهش دهنده ترکیبات است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی آزمایشگاهی نشان داد که عصاره تانن صبر زرد دارای فعالیت ضد رادیکالی می‌باشد (Benzidia et al., 2019). گیاه صبر زرد دارای اثرات دارویی زیادی مانند آنتی‌اکسیدان، محافظت از بیماری‌های گوارشی، ضد دیابت، محافظ قلب، محافظت از پوست، محافظت از استخوان، ضد سرطان، ضد میکروب، پری بیوتیک و محافظت از پوست است (Sánchez et al., 2020). این اثرات از طریق ترکیبات فعال زیستی موجود در صبر زرد از جمله فلاونوئیدها، تریپنوئیدها، تانن‌ها، استرول‌ها، اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها، آنتراکینون‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی اعمال می‌شود (Marzanna & Dziedzic, 2019). تحقیقات اخیر نشان داده است که افزایش مصرف غذاهای سرشار از آنتی‌اکسیدان‌ها و پلی‌فنول‌ها مانند ویتامین C، بتاکاروتن، کوئرستین و کامفرول می‌تواند ایمنی بدن را در برابر عفونت‌های ویروسی افزایش دهد (Levy et al., 2020). ترکیبات فنلی فراوان‌ترین متابولیت‌های ثانویه در گیاهان هستند. ترکیبات فنلی گروه بزرگ و از نظر شیمیایی متنوع هستند که از اسیدهای فنلی ساده تا پلی‌مرهای بسیار بزرگ و پیچیده تانن‌ها و لیگنین‌ها و همچنین رنگدانه‌های فلاونوئید را شامل می‌شوند (Domingues Passero et al., 2014). فنل‌ها به دلیل توانایی مهار خود می‌توانند مستقیماً در اثر آنتی‌اکسیداتیو دخیل باشد. مکانیسم عمل ترکیبات فنلی گیاه عمدتاً شامل فعالیت مهار رادیکال آزاد، خصوصیات کلات کنندگی فلز، توانایی تنظیم بیان ژن و نقش کوآنتی‌اکسیدانی

است (Bauer & Zarkovic, 2015). استفاده از گیاهان دارویی در طب ایرانی قدمت بسیار طولانی دارد و امروزه استفاده از گیاهان دارویی به علت سازگاری بهتر با فیزیولوژیک بدن، داشتن عوارض جانبی کم‌تر، در درمان بیماری‌های مختلف رو به افزایش است. از این رو، با توجه به اهمیت این مساله، و به دلیل شناسایی سمیت در بسیاری از مواد آنتی‌اکسیدانی مصنوعی و محدودیت مصرف آن‌ها، یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به ویژه از گیاهان و استفاده از آن‌ها به خصوص در صنایع غذایی و دارویی بسیار مطلوب است. به علت شرایط اقلیمی کشورمان، در بیشتر مناطق، گونه‌های گیاهی مانند صبر زرد با خواص درمانی مهم، انجام مطالعات گیاهی و شناخت مکانیسم عمل آنها ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین هدف از این پژوهش تعیین مقادیر فنل کل، فلاونوئید کل و تانن کل عصاره ژل هیدروالکلی گیاه دارویی صبر زرد بود و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره ژل صبر زرد با سه روش سنجش شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی مقادیر تانن‌های هیدرولیز شونده و تغلیظ شده، ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی ژل صبر زرد، ارزیابی به صورت طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در سال ۱۳۹۸ انجام گرفت. این پژوهش در گلخانه‌ای واقع در روستای دهشک از توابع مشهد، استان خراسان رضوی انجام شد. برگ‌های گیاه دارویی صبر زرد، از گلخانه جمع‌آوری شد. برگ‌ها دارای ظاهری سبز رنگ، گوشتی، با لبه‌های دندانه‌دار بودند. به منظور بالا بردن شرایط بهداشتی در آزمایشگاه و عمل ضد عفونی ابتدا برگ‌ها با محلول کلرین ۲۵ درصد شسته و پس از خشک شدن برگ‌ها، مرحله استخراج ژل آغاز شد. قسمت بالایی نوک (که حاوی مقدار بسیار جزئی ژل است) و انتهای هر برگ بریده و کنار گذاشته شد. در ادامه پوسته خارجی برگ به وسیله تیغ استریل برش و جدا گردید و ژل میانی متصل به لایه زیرین موجود در برگ، مشخص گردید. سپس پالپ به همراه ژل موسیلاژ بی رنگ موجود در آن، توسط تیغ استریل و هم‌چنین قاشق استریل، از پوسته زیرین که به آن متصل بود، جدا شد و با دستگاه سانتریفیوژ (۳۵۰۰ دور در دقیقه، ساخت شرکت Nikai ژاپن) به صورت همگن و یکنواخت شد و برای جلوگیری از اکسیداسیون و فساد، بعد از توزین توسط ترازوی (مدل Mottler ساخت کشور سوئد)، در شیشه‌های تیره رنگ که قبلاً استریل و اتوکلاو شده بودند ریخته و داخل یخچال دمای ۴ درجه سلسیوس تا انجام آزمون‌ها نگهداری گردید (Heim et al., 2002). تمامی مواد شیمیایی و استانداردها از شرکت های مرک آلمان^۱ و سیگما آمریکا^۲ تهیه شدند.

تهیه عصاره هیدروالکلی ژل صبر زرد: مقدار توزین شده‌ای از ژل صبر زرد موجود در یخچال در ارلن ۱۰۰ میلی لیتر ریخته و به آن متانول ۷۰ درصد اضافه گردید. در ارلن را با پارافیلیم پوشانده و به مدت ۲۴ ساعت به روی شیکر قرار داده شد. سپس با کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شده و مجدداً متانول به آن‌ها اضافه گردید. این عمل سه مرتبه تکرار شد. محلول ژل صاف شده به مدت ۷۲ ساعت در زیر هود آزمایشگاه قرار داده شد تا حذف حلال تا اندازه‌ای صورت گیرد. پس از گذشت این زمان برای تغلیظ و حذف بیشتر حلال از دستگاه فریز درایینگ (مدل Heto ساخت کشور دانمارک) استفاده گردید. سپس عصاره‌های خشک ژل صبر زرد به ویال‌های شیشه‌ای که وزن آن‌ها مشخص بود منتقل و مجدداً وزن شد و تا هنگام تحقیقات بعدی در فریزر الکترواستیل (ساخت ایران) در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری گردید (Heim et al., 2002).

سنجش فنل کل: میزان فنل کل با روش فولین سیو کالتو تعیین شد. ابتدا با استفاده از اسید گالیک به عنوان استاندارد یک منحنی کالیبراسیون رسم شد. غلظت‌های مختلف گالیک اسید در آب تهیه شد. ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه (غلظت‌های مختلف اسید گالیک یا عصاره) به لوله آزمایش منتقل و توسط آب مقطر حجم آن به ۰/۵ میلی لیتر رسانده شد، سپس به ترتیب ۰/۲۵ میلی لیتر از معرف فولین سیوکالتو و ۱/۲۵ میلی لیتر سدیم کربنات ۲۰٪ به هر لوله افزوده شد. بعد از مخلوط

1. Merck (Darmstadt, Germany)

2. Sigma (St. Louis, MO, USA)

کردن کامل محتویات لوله‌ها و بعد از گذشت ۴۰ دقیقه در دمای اتاق، جذب هر نمونه در طول موج ۷۲۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر UV/vis (مدل Cecil ساخت کشور انگلستان) اندازه‌گیری شد. میزان فنل کل هر نمونه با توجه به نمودار استاندارد بر حسب معادل گالیک اسید بیان گردید (Wang et al., 2011).

سنجش فلاونوئید کل: میزان فلاونوئیدهای عصاره بر اساس تشکیل کمپلکس فلاونوئید-آلومینیم تعیین گردید این کمپلکس دارای جذب ماکزیمم در طول موج ۴۳۰ نانومتر است. کوئرتستین برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد. یک میلی‌لیتر از نمونه با یک میلی‌لیتر از محلول متانولی آلومینیوم کلراید ۲٪ مخلوط گردید و بعد از انکوباسیون به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق جذب مخلوط واکنش در طول موج ۴۳۰ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. محتوای فلاونوئیدها بر حسب معادل کوئرتستین (QE) بیان شد (Djeridane et al., 2006).

اندازه‌گیری تانن کل (هیدرولیز شونده و تغلیظ شده): ۰/۵ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف کاتشین (یا محلول عصاره) با ۱/۵ میلی‌لیتر محلول متانولی وانیلین ۴٪ و ۰/۷۵ میلی‌لیتر HCl غلیظ مخلوط شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد و جذب آن در طول موج ۵۰۰ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. محتوای تانن کل بر حسب معادل کاتشین (CE) بیان شد (Djeridane et al., 2006).

آزمون‌های تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی: تعیین فعالیت مهار رادیکال DPPH: دو میلی‌گرم از نمونه با یک میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH (۰/۲ میلی‌مولار) مخلوط شد و این مخلوط به شدت تکان داده شد، سپس همه نمونه‌ها در دمای اتاق و تاریکی به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری و جذب آن‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. درصد رنگبری محلول DPPH طبق رابطه ۱ محاسبه شد (Arbaayah et al., 2013).

رابطه ۱:

$$\text{درصد مهار} = \frac{B_0 - B_1 \times 100}{B_0}$$

B_1 = جذب مخلوط واکنش، B_0 = جذب محلول کنترل منفی، ویتامین C و BHT به عنوان کنترل مثبت.

روش احیاءکنندگی فریک (FRAP): در این روش ویژگی الکترون‌دهندگی آنتی‌اکسیدان‌ها در pH پایین موجب احیاء کاتیون فریک به فروس می‌شود. بنابراین قادرند کمپلکس بی‌رنگ فریک-تری‌پیریدیل-تریازین را به کمپلکس آبی رنگ فروس-تری‌پیریدیل-تریازین تبدیل نمایند. به منظور تهیه محلول استوک ۳/۱ گرم استات سدیم و ۱۶ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیسیال در یک لیتر آب مقطر حل شد و اسیدیته محلول در حدود ۳/۶ تنظیم شد (بافر استات) سپس ۳۱ میلی‌گرم TPTZ^۱ در ۱۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۴۰ میلی‌مولار حل شد و به منظور تهیه محلول ۲۰ میلی‌مولار کلرید آهن، ۵/۴۱ گرم کلرید آهن در یک لیتر آب مقطر حل گردید. برای تهیه محلول استاندارد از سولفات آهن استفاده شد که ۰/۲۷۸ گرم سولفات آهن در یک لیتر آب مقطر حل شد و در نهایت محلول‌های استاندارد ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار بر لیتر تهیه گردید. محلول نهایی FRAP با مخلوط کردن ۲/۵ میلی‌لیتر بافر ۲/۵ میلی‌لیتر TPTZ و ۲/۵ میلی‌لیتر کلرید آهن آماده شد. سپس ۲۵۰ میکرولیتر از محلول کار داخل ظروف پیلت ریخته شد و به آن ۱۰ میکرولیتر از عصاره (حاوی ۲/۵ میلی‌لیتر عصاره و ۶ میلی‌لیتر بافر فسفات) اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس میزان جذب در طول موج ۵۹۳ نانومتر خوانده شد و در نهایت با رسم منحنی کالیبراسیون میزان آنتی‌اکسیدان کل به دست آمد و بر اساس معادل میلی‌مول آهن در ۱۰۰ گرم وزن تر بیان گردید (Razali et al., 2012).

روش رنگبری بتا-کاروتن-لینولئیک اسید (BCB): یک میلی‌لیتر از محلول بتاکاروتن (۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر در کلروفرم) به دو میلی‌گرم لینولئیک اسید و ۱۰۰ میلی‌گرم توئین ۴۰ اضافه شد. برای تهیه امولسیون A، کلروفرم در درجه حرارت ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه تبخیر شد، سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به محلول اضافه گردید و به مدت یک دقیقه در

سونیکاتور در محلول حل شد. امولسیون دوم یا امولسیون B، شامل ۲۰ میلی‌گرم لینولئیک اسید، ۲۰۰ میلی‌گرم توین ۴۰ و ۵۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه است. ۲۰۰ میکرولیتر از هر یک از غلظت‌های عصاره یا BHT و Vit C به ۵ میلی‌لیتر امولسیون A در لوله‌های آزمایش اضافه شد. نمونه کنترل فاقد آنتی‌اکسیدان و شامل ۲۰۰ میلی‌لیتر متانول و پنج میلی‌لیتر امولسیون A بود. برای صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر UV/Vis، از ۲۰۰ میلی‌لیتر متانول و پنج میلی‌لیتر امولسیون B استفاده شد. جذب در زمان صفر و بعد از ۱۲۰ دقیقه در طول موج ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید. فعالیت آنتی‌اکسیدانی (درصد مهار) نمونه‌ها طبق رابطه ۲ محاسبه شد:

$$\text{درصد مهار} = \frac{(AA(120) - AC(120))}{(AC(0) - AC(120))} \times 100$$

$$A_{C(0)} = \text{جذب کنترل در زمان } t=0, A_{A120} = \text{جذب آنتی‌اکسیدان در زمان } t=120$$

هرچه قدرت ماده آنتی‌اکسیدان بیش‌تر باشد رنگ بری بتاکاروتن کم‌تر است، یعنی هرچه رنگ بتاکاروتن بیش‌تر حفظ شود، جذب نمونه بالاتر و در نتیجه خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیش‌تر است. مواد آنتی‌اکسیدان Vit C و BHT نیز به‌عنوان کنترل مثبت بکار رفتند (Medini et al., 2014).

تجزیه و تحلیل: برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزارهای (SAS Campus Drive, Cary, NC 27513) JMP 8 و Sigma Plot 12.0 استفاده شد. مقایسه میانگین با آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

نتایج

کالیبراسیون فنل کل

میزان فنل کل موجود در عصاره هیدروالکلی ژل صبر زرد بر حسب اسید گالیک که یک ترکیب فنلی خالص می‌باشد و به روش فولین سیوکالتو و از روی منحنی کالیبراسیون اسید گالیک، محاسبه شد. جذب‌های مربوط به غلظت‌های مختلف اسید گالیک در طول موج ۷۲۵ نانومتر در جدول (۱) آمده است.

کالیبراسیون فلاونوئید کل: میزان فلاونوئیدهای موجود در عصاره هیدروالکلی ژل صبر زرد بر حسب فلاونوئید خالص کوئرستین و از روی منحنی کالیبراسیون آن محاسبه گردید. جذب‌های مربوط به غلظت‌های مختلف کوئرستین در طول موج ۴۳۰ نانومتر در جدول ۲ آمده است. بالاترین میزان جذب استاندارد (۱/۵) مربوط به بیش‌ترین غلظت محلول کوئرستین (۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بود.

جدول ۱- جذب‌های مربوط به غلظت‌های مختلف اسید گالیک در طول موج ۷۲۵ نانومتر

Table 1- Absorbances related to different concentrations of gallic acid at a wavelength of 725 nm

Tube number	1	2	3	4	5	6
Gallic acid solution concentration (µg/mg)	5	10	20	40	80	100
Absorption at 725 nm	0.10	0.14	0.25	0.43	0.72	0.90

جدول ۲- جذب‌های مربوط به غلظت‌های مختلف کوئرستین در طول موج ۴۳۰ نانومتر

Table 2- Absorbances related to different concentrations of quercetin at 430 nm wavelength

Tube number	1	2	3	4	5	6
Quercetin solution concentration (µg/ml)	10	20	30	50	60	80
Absorption at 430 nm	0.22	0.70	0.41	0.60	0.33	0.85

کالیبراسیون تانن کل: میزان تانن‌های موجود در عصاره هیدروالکلی ژل صبر زرد بر حسب کاتشین از روی منحنی کالیبراسیون آن محاسبه می‌گردد. جذب‌های مربوط به غلظت‌های مختلف کاتشین در طول موج ۵۰۰ نانومتر در جدول ۳ آمده است. بر این اساس، در بالاترین غلظت محلول استاندارد کاتشین (۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بیشترین جذب (۱/۲۰) مشاهده گردید.

جدول ۳- جذب‌های مربوط به غلظت‌های مختلف کاتشین در طول موج ۵۰۰ نانومتر

Table 3- Absorbances related to different concentrations of catechin at a wavelength of 500 nm

Tube number	1	2	3	4	5	6	7	8
Catechin solution concentration (µg/mg)	10	20	30	40	50	60	70	80
Absorption at 500 nm	0.14	0.25	0.40	0.51	0.62	0.71	0.82	0.94

آزمون‌های فیتوشیمیایی: مقادیر فنل کل، فلاونوئید کل و تانن کل عصاره هیدروالکلی ژل صبر زرد در جدول ۴ نشان داده شده است. بر این اساس، مقدار فنل کل در عصاره هیدروالکلی ژل صبر زرد ۹۰/۰۴ میکرواکی والان گرم اسید گالیک بر میلی‌گرم وزن خشک ژل، مقدار فلاونوئید کل ۶۶/۲۵ میکرواکی والان گرم کوئرستین بر میلی‌گرم وزن خشک ژل و مقدار تانن کل، ۸۷/۴۳ میکرواکی والان گرم کاتشین بر میلی‌گرم وزن خشک ژل بود.

جدول ۴- مقادیر فنل کل، فلاونوئیدکل و تانن کل عصاره هیدروالکلی ژل صبر زرد

Table 4- Amounts of total phenol, total flavonoids and total tannins of the hydroalcoholic extract of yellow patience gel

Sample	Total phenol (µEquivalents gr of gallic acid per mg of DW)	Total flavonoid (µEquivalents gr of quercetin per mg of DW)	Total tannin (µEquivalents gr of catechin per mg of DW)
Hydroalcoholic extract of yellow patience gel	90.04	66.25	87.43

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی استانداردها: بر اساس نتایج حاصل، شاخص IC_{50} در روش DPPH در VitC برابر ۷/۰۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده که پایین‌تر از استاندارد BHT می‌باشد (۸/۱۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، از این رو، فعالیت آنتی‌اکسیدان VitC نسبت به استاندارد BHT بیش‌تر بود. در روش FRAP نیز فعالیت آنتی‌اکسیدان در استاندارد VitC بالاتر (۱۴/۳۰ میلی‌مولار بر گرم) از BHT (۱۲/۱۰ میلی‌مولار بر گرم) به‌دست آمد. فعالیت آنتی‌اکسیدان استاندارد VitC در روش بتاکاروتن لینولئیک اسید (BCB) نیز بیش‌تر (۱۹/۴۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) از BHT (۱۵/۶۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بود (جدول ۵).

جدول ۵- فعالیت آنتی‌اکسیدانی استانداردهای BHT و Vit C

Table 5- Antioxidant activity of BHT and Vit C standards

Sample	(BCB)	(FRAP)	IC_{50} (DPPH)
BHT	15.62	12.10	8.15
Vit C	19.40	14.30	7.04

IC_{50} : میکروگرم بر میلی‌لیتر، FRAP: میلی‌مولار بر گرم، BCB: میکروگرم بر میلی‌لیتر، BHT: دی‌فنیل‌پیکریل‌هیدرازیل
 IC_{50} : µg per ml, FRAP: mM per gr, BCB: µg per ml, BHT: diphenylpicrylhydrazyl

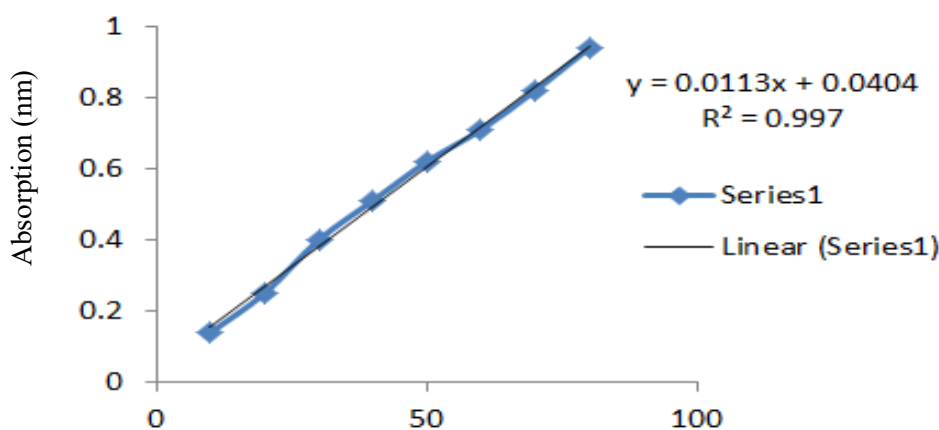
تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH: درصد بازداری نمونه را در روش DPPH (میکروگرم بر میلی‌لیتر) نشان می‌دهد، با افزایش غلظت، درصد بازداری عصاره در ژل افزایش یافت، به طوری که در بالاترین غلظت بازداری ۹۸/۰۱±۲/۰۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر و در پایین‌ترین غلظت ۹/۵۰±۰/۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (جدول ۶).

جدول ۶- بررسی درصد بازداری نمونه‌ها در روش DPPH (میکروگرم بر میلی‌لیتر)

Table 6- Examining the inhibition percentage of the samples in the DPPH method ($\mu\text{g per ml}$)

Sample	2.5	5	10	20
extract	0.10 \pm 13.5	20.12 \pm 1.2	35.10 \pm 1.4	50.80 \pm 1.1
Sample	40	60	80	100
extract	68.5 \pm 1.04	82.50 \pm 1.20	90.01 \pm 2.03	98.12 \pm 2.03

منحنی رگرسیون خط درصد بازداری نمونه در روش DPPH در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج حاصل از محاسبه IC_{50} در روش DPPH بر اساس منحنی رگرسیون خط درصد بازداری، در جدول ۷ آمده است. هر چه درصد بازداری نمونه بیشتر باشد شاخص IC_{50} کمتر و در نتیجه فعالیت آنتی‌اکسیدان بالاتر است. بر اساس نتایج، شاخص IC_{50} حاصل عصاره هیدروالکلی ژل صبر زرد برابر ۳۱/۳۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود.

شکل ۱- منحنی تعیین IC_{50} Fig. 1- IC_{50} determination curveجدول ۷- نتایج حاصل از محاسبه IC_{50} در روش DPPHTable 7- The results of IC_{50} calculation in the DPPH method

Sample	IC_{50} (DPPH)
Hydroalcoholic extract of yellow patience gel	31.31

IC_{50} : میکروگرم بر میلی‌لیتر

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش FRAP: بر اساس یافته‌های جدول ۸ درصد بازداری عصاره هیدروالکلی ژل صبر زرد، وابسته به غلظت بود. به طوری که، با افزایش غلظت، درصد بازداری نمونه از ۹/۲۲ به ۹۵/۱۳ میلی‌مولار بر گرم افزایش یافت.

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش BCB: در این روش هم مطابق دو روش قبلی، درصد بازداری نمونه، وابسته به غلظت بود و با افزایش غلظت افزایش یافت، به طوری که درصد بازداری نمونه در پایین‌ترین غلظت ۵/۱۲ و در بالاترین غلظت ۸۹/۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (جدول ۹).

جدول ۸- بررسی درصد بازدارندگی نمونه‌ها در روش FRAP

Table 8- Examining the inhibition percentage of the samples in the FRAP method

Sample	2.5	5	10	20	40	60	80
Hydroalcoholic extract of yellow patience gel	9.2±0.2	14.1±0.4	23.1±0.1	40.1±0.3	58.2±0.3	77.3±0.2	95.1±0.1

FRAP: mM/gr

جدول ۹- بررسی درصد بازدارندگی نمونه‌ها در روش BCB

Table 9- Examining the inhibition percentage of samples in the BCB method

Sample	2.5	5	10	20	40	60	80
Hydroalcoholic extract of yellow patience gel	5.3±0.2	10.2±0.1	16.1±0.1	41.5±0.3	56.3±0.1	68.2±0.1	89.1±0.3

BCB: mM/ml

بررسی همبستگی بین پارامترهای اندازه‌گیری شده

بررسی همبستگی بین مقادیر سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با دیگر فاکتورهای اندازه‌گیری شده نشان می‌دهد که سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سه روش DPPH، FRAP و BCB با محتوای فنل کل، فلاونوئید کل و تانن کل همبستگی مثبت معنی‌داری در سطح ۵ درصد دارد ($R^2 = 0.985$).

جدول ۱۰- همبستگی بین پارامترهای مختلف اندازه‌گیری شده در عصاره هیدروالکلی ژل صبر زرد

Table 10- Correlation between different parameters measured in the hydroalcoholic extract of yellow patience gel

	Total phenol	Total flavonoid	Total tannin	DPPH	FRAP	BCB
BCB	0.032*	0.010*	0.022*	0.136 ^{ns}	0.204 ^{ns}	1
FRAP	0.041*	0.031*	0.040*	0.112 ^{ns}	1	
DPPH	0.011*	0.042*	0.013*	1		
Total tannin	0.030*	0.025*	1			
Total flavonoid	0.015*	1				
Total phenol	1					

^{ns} و * به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۵ درصد معنی‌دار

^{ns} and * are respectively non-significant and significant at the 5% significance level

بحث

در پژوهش حاضر مقادیر ترکیبات فنل کل، فلاونوئید کل و تانن کل در عصاره هیدروالکلی ژل صبر زرد بیانگر این بود که ژل این گیاه حاوی مقادیر بالایی از متابولیت‌های ثانویه است. همبستگی میان روش‌های مختلف اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مقادیر فنل کل، فلاونوئید کل و تانن کل، نتایج نشان داد که جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد در عصاره هیدروالکلی ژل صبر زرد با استفاده از روش DPPH همبستگی مثبت معنی‌داری با محتوای هر سه ترکیب فوق داشته است. مفهوم این است که نقش ترکیبات پلی‌فنلی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH اساسی است. همچنین اندازه‌گیری خاصیت آنتی‌اکسیدانی از طریق مهار لینولثیک اسید (روش BCB)، نشان داد که عصاره هیدروالکلی ژل صبر زرد دارای توانایی بازدارندگی پراکسیداسیون لیپید می‌باشد. روش FRAP که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها را بر اساس توانایی

احیاکنندگی آهن می‌سجد در حقیقت تخمین خاصیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات قابل حل در آب را نشان می‌دهد. با توجه به ارتباط مثبت بین سنسج FRAP و محتوای فنل کل، فلاونوئید کل و تانن کل در این گیاه احتمالاً سطح بالای این ترکیبات در ژل برگ می‌تواند یک دلیل اصلی برای قدرت احیایی بالا در گیاه باشد. اکثر پلی‌فنل‌ها در بین ترکیبات فیتوشیمیایی آنتی‌اکسیدان به علت خصوصیت احیایی و عمل به دام انداختن رادیکال آزاد بسیار مهم هستند. تعداد زیادی ترکیبات آنتی‌اکسیدان طبیعی در صبر زرد مانند اسید آسکوربیک، کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها، گلوکاتایون پراکسیداز، فنولیک‌ها، سوپراکسید دیسموتاز، تانن و ویتامین C و E. به‌طور مکانیکی به‌عنوان کاهش دهنده تنش اکسیداتیو، تخریب سلولی و هم‌چنین کاهش فیزیولوژیکی و تغییرات بیوشیمیایی عمل می‌کند (Iqbal & Ahmad, 2021).

در پژوهشی که توسط Radha و Laxmipriya (۲۰۱۵) صورت گرفت رابطه خطی مثبتی میان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی با فعالیت‌های بیولوژیکی مانند فعالیت آنتی‌اکسیدانی، گزانتین اکسیداز (XO)، تیروزیناز، آنتی‌کلینسترز و فعالیت ضد التهابی در عصاره ژل صبر زرد گزارش شد که با نتایج حاصل از مطالعه ما نیز مطابقت داشت. Suhartati Djarkasi و همکاران (۲۰۲۱) دریافته‌اند که ژل صبر زرد دارای غلظت‌های بالایی از ترکیبات فنلی مانند فلاونوئیدها و اسیدهای ارگانیک هستند. تجزیه متابولیکی این ترکیبات بیانگر ارزش بیش از حد آن در طب سنتی بود و توانسته منابعی از ترکیباتی را که دارای کاربردهای زیستی هستند و در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرند را شناسایی نماید که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مشابه بود. ویتامین C و آنتی‌اکسیدان‌های موجود در ژل صبر زرد ممکن است جایگزین مناسبی برای میان وعده‌ها در زمان همه‌گیری باشد زیرا آنتی‌اکسیدان‌ها و ویتامین C می‌توانند ایمنی و پاسخ ضد التهابی را بهبود بخشند. هم‌چنین پری بیوتیک‌های خوبی برای میکروبیوم روده است که نقش خوبی در سیستم ایمنی بدن ایفا می‌کند (Suhartati Djarkasi et al., 2021). طبق پژوهش Benzidia و همکاران (۲۰۱۹) صبر زرد سرشار از آلکالوئیدها، تانن‌ها، فلاونوئیدها، استرول‌ها، تری‌ترین‌ها، اوس‌ها، هولوسیدها، موسیلاژها و متابولیت‌های کاهش دهنده ترکیبات است در حالی که ساپونین‌ها و کومارین‌ها وجود ندارد. نتیجه ترکیبات اصلی استخراج تانن‌های گیاه صبر زرد عبارت بودند از: اسید پالمیتیک (۱۱/۹۱ درصد)، فیتول (۱۴/۴۰ درصد)، اسید لینولنیک (۱۶/۵۹ درصد)، دی‌یزوکتیل فتالات (۸۴/۱۱ درصد). ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد که عصاره تانن گیاه صبر زرد فعالیت ضد رادیکالی متوسطی دارد.

دانشمندان معتقدند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی این مواد به علت فعالیت احیا کنندگی و جذب رادیکال‌های اکسیژن می‌باشد. بررسی‌های بیشتر در خصوص عصاره اتانولی ژل این گیاه نشان داد که این عصاره، حاوی مولکول‌های کم وزن دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی هستند، علاوه بر آن عصاره متانولی و عصاره آبی حاوی پلی‌ساکاریدهای گوناگونی هستند که آن‌ها نیز می‌توانند فعالیت آنتی‌اکسیدانی داشته باشند (Kujundžic et al., 2014). در تحقیقات متعددی رابطه مستقیمی بین مقادیر فنل کل و فعالیت مهار رادیکال DPPH وجود دارد. در مطالعه دیگری که جهت ارزیابی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی صبر زرد صورت گرفت نیز رابطه خطی میان میزان ترکیبات فنل کل موجود در عصاره‌ها و قدرت مهار رادیکال DPPH وجود داشت. در این مطالعه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها در روش DPPH وابسته به دوز بود و با افزایش غلظت، اثر مهارکنندگی بیشتری مشاهده شد (Himesh et al., 2011). در مطالعه دیگری نیز که روی قدرت مهار رادیکال DPPH عصاره متانولی ژل صبر زرد انجام گرفت، عصاره مذکور دارای $IC_{50} = 23/76 \pm 0/80$ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که کاملاً قابل مقایسه با ترکیب آنتی‌اکسیدان BHT است (Hazrati et al., 2012).

در تحقیق دیگری نیز که روی ژل گیاه صبر زرد انجام شد رابطه مستقیمی بین محتوای فنلی عصاره و قدرت روبشگری رادیکال DPPH مشاهده گردید (Fedorova & Zarkovic, 2017). در مطالعه‌ای که روی عصاره‌های مختلف ژل گیاه صبر زرد انجام شد، با افزایش قطبیت عصاره‌ها، محتوای فنلی و فلاونوئیدی عصاره‌ها و نیز قدرت مهار رادیکال DPPH افزایش می‌یابد به طوری که بیش‌ترین شاخص آنتی‌اکسیدان مربوط به عصاره هیدروالکلی ۵۰ درصد اتانول-آب با $IC_{50} = 14/48 \pm 0/02$ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (Shimpo et al., 2014). طبق مطالعه Yebpella و همکاران (۲۰۱۱)، گیاه

صبر زرد اثر آنتی‌اکسیدانی مطلوبی از خود نشان داده است که رابطه مستقیمی بین ترکیبات فنلی کل موجود در گیاه و اثر آنتی‌اکسیدانی مشاهده شده است. همچنین در مطالعه دیگری که روی عصاره‌های مختلف گیاه ژل گیاه صبر زرد انجام شد، رابطه خطی میان محتوای ترکیبات فنلی عصاره‌های مختلف و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده گردید (Fallah et al., 2012). طبق گزارش Liu و همکاران (۲۰۱۲) استخراج تانن از عصاره متانولی ژل گیاه صبر زرد عملکرد بهتری نسبت به سایر حلال‌ها داشته است. نتایج حاصل نشان می‌دهند که تانن‌ها به دلیل دارا بودن حلقه‌های بنزنی در مولکول خود، نوعی ویژگی آبریزی دارند، از این رو به نظر می‌رسد که مناسب‌ترین حلال برای استخراج تانن‌ها، حلال‌هایی هستند که خاصیت آبدوستی دارند. در این میان و به منظور استخراج حداکثری ترکیبات حاوی تانن، متانول و استون بالاترین بازده را در مقایسه با حلال‌های آبی دارا می‌باشند. نوع، میزان و درصد پلی‌فنل‌ها نشانه‌ای از کیفیت مطلوب گیاهان است. این ترکیبات نقش دفاع در برابر عوامل بیماری‌زای گیاهی، تأثیرگذار در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و همچنین نقش احتمالی در فتوسنتز را دارا هستند. اثرات دارویی ژل گیاه صبر زرد به صورت عمده با میزان ترکیبات فنلی آن‌ها در ارتباط است. میزان و نوع مواد مؤثره گیاهان دارویی با هدایت هر دو عامل ژنتیکی و محیطی مشخص می‌شود (Zarinpanjeh et al., 2012). Choi و همکاران (۲۰۱۳) بیان کردند که میزان پلی‌فنل‌ها، برای عصاره اتانولی ژل صبر زرد ۱۰۰/۲۶ میکروگرم بر گرم وزن خشک ژل بود. در مطالعه‌ای که به روی عصاره اتانولی ژل صبر زرد انجام شد میزان تانن کل ۲۴۰ میکروگرم بر گرم وزن خشک ژل اندازه‌گیری شد (Misawa et al., 2012). بنابر نتایج مشاهده شده در این تحقیق و مقایسه آن‌ها با نتایج حاصل از روش‌های دیگر مشخص می‌شود که ماهیت ترکیبات مورد بررسی و قدرت انحلال آن‌ها در فازهای آبی و آلی با توجه به سیستم مورد استفاده، در نتایج بدست آمده در یک تحقیق آنتی‌اکسیدان اثر دارد و مطالعات دیگر نیز این مطلب را تأیید می‌کنند.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که عصاره هیدرو الکلی ژل صبر زرد به دلیل دارا بودن مقادیر قابل ملاحظه‌ای از ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و تاننی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی دارد. در نتیجه با شناسایی و کاربرد بیشتر ترکیبات زیست فعال ژل صبر زرد می‌توان از هدر رفتن مقادیر انبوهی آنتی‌اکسیدان طبیعی این گیاه مهم دارویی جلوگیری کرد.

References

- Adams, S. P., Leitch, L. J., Benntt, M. D., Chase, M. W., & Leitch, A. R. (2000). Ribosomal DNA evolution and phylogeny in *Aloe* (*Asphodelaceae*). *American Journal of Botany*, 87, 1578-1583.
- Arbaayah, H. H., & Umi, K. Y. (2013). Antioxidant properties in the oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) and split gill mushroom (*Schizophyllum commune*) ethanolic extracts. *Mycosphere*, 4(4), 661-673.
- Babaei, A., Manafi, M., & Hadith Tawafi, H. (2015). Effect of the leaf extract of *Aloe vera* on Growth, production of alatoxin b1 and profile of extracellular proteins of *Aspergillus flavus* in vitro. *Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology)*, 28(1), 35-44.
- Bauer, G., & Zarkovic, N., (2015). Revealing mechanisms of selective, concentration-dependent potentials of 4-hydroxy- 2-nonenal to induce apoptosis in cancer cells through inactivation of membrane-associated catalase. *Free Radical of Biological Medicine*, 81, 128-144.
- Benzidia, B., Barbouchi, M., Hammouch, H., Belahbib, N., Zouarhi, M., Erramli, H., Daoud, N. A., Badrane, N., & Hajjaji, N. (2019). Chemical composition and antioxidant activity of tannins extract from green rind of *Aloe vera* (L.) Burm. F. *Journal of King Saud University-Science*, 31(4), 1175-1181.

- Choi, H. C., Kim, S. J., Son, K. Y., Oh, B. J., & Cho, B. L. (2013). Metabolic effects of *Aloe vera* gelcomplex in obese prediabetes and early non-treated diabetic patients: *Randomized controlled trial. Nutrition*, 11, 22-29.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006) Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97, 654-660.
- Domingues Passero, L. F., Laurenti, M. D., Santos-Gomes, G., Soares Campos, B. L., Sartorelli, P., Lago, G., & Henrique, J. (2014). Plants used in traditional medicine: extracts and secondary metabolites exhibiting antileishmanial activity. *Current Clinical Pharmacology*, 9, 187-204.
- Fallah, H., Kianbakht, S., Hajiaghae, R., Afkhami, A. M., Bonakdaran, A., & Hashem, D. F. (2012). *Aloe Vera* leaf jel in treatment of advanced type 2 diabetes mellitus needing insulin therapy: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Journal of Medicinal Plants*, 11, 19-27.
- Fedorova, M., & Zarkovic, N. (2017). Preface to the special issue on 4-hydroxynonenal and related lipid oxidation products. *Free Radical of Biological Medicine*, 111, 1-18.
- Hazrati, S., Tahmasebi, Z., & Babaei, A. (2012). Enhancing yield and aloin concentration of *Aloe vera* plants by stimutaneous application of N and benzyladenine. *Journal of Medicinal Plant Research*, 6, 1834-1841.
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10), 572-584.
- Himesh, S., Sarvesh, S., Kaushelendra, M., Singhai, A. K., & Neelesh, Ch. (2011). Qualitative and quantitative profile of aloin isolated from *Aloe vera*. *Inernational Research Journal of Pharmacy*, 2, 121-122.
- Iqbal, F. & Ahmed, A. (2021). Antibacterial activity of *Aloe barbadensis* Mill. *Polish Journal of Environmental Studies*, 30(4), 3637-3643.
- Iqbal, H. (2012). Comparative efficacy of *Aloe vera* and *Tamarix aphylla* against cutaneous leishmaniasis. *International Journal of Basic Medicine Science and Pharmacology*, 2, 55-67.
- Kujundžić, M., Popović, M., Pajurin, L., Špoljarić, D., Mihelić D., Špiranec, K., & Crnjac i G. Mršić, J. (2014): Utvrđivanje jedinstvenog identifikacijskog profila praseta na osnovi izuzetog otiska rila (*planum rostrale*). *Zbornik radova veterinarski dani Opatija, Hrvatska, str.* 181-191.
- Kumar, S., Yadav, M., Yadav, A., & Yadav, J. P. (2017). Impact of spatial and climatic conditions on phytochemical diversity and in vitro antioxidant activity of Indian *Aloe vera* (L.) Burm.f. *South African Journal of Botany*, 111, 50-59.
- Levy, E., Delvin, E., Marcil, V., & Spahis, S. (2020). Can phytotherapy with polyphenols serve as a powerful approach for the prevention and therapy tool of novel coronavirus disease 2019 (COVID-19)? *American Journal of Physiology -Endocrinology and Metabolism*, 319(4), E689-E708.
- Liu, K., Park, C., Li, S., Lee, K. W., Liu, H., He, L., Soung, N. K., Ahn, J.S., Bode, A. M., & Dong, Z. (2012). Aloe-emodin suppresses prostate cancer by targeting the mTOR complex 2. *Carcinogenesis*, 33, 1406-1411.
- Marzanna, H., & Dziedzic, K. (2019). Heś 2019 Article *AloeVera* L. Web Natural Sources of A. 1, 255-265.

- Medini, F., Fellah, H., Ksouri, R., & Abdelly, C. (2014). Total phenolic, flavonoid and tannin contents and antioxidant and antimicrobial activities of organic extracts of shoots of the plant *Limonium delicatulum*. *Journal of Taibah University for Science*, 8(3), 216 -224.
- Misawa, E., Tanaka, M., Nomaguchi, K., Nabeshima, K., Yamada, M. & Toida, T. (2012). Oral ingestion of *Aloe Vera* phytosterols alters hepatic gene expression profiles and ameliorates obesity-associated metabolic disorders in Zucker diabetic fatty rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 799-806.
- Nazeam, J. A., Gad, H. A., El-Hefnawy, H. M., & Singab, A. B. (2017). Chromatographic separation and detection methods of *Aloe arborescens* Miller constituents: A systematic review. *Journal of Chromatography and Analytical*, 1058, 57–67.
- Radha, M. H., & Laxmipriya, N. P. (2015). Evaluation of biological properties and clinical effectiveness of *Aloe vera*: A systematic review. *Journal of Traditional Complementary Medicine*, 5, 21–26.
- Razali, N., Mat-Junit, S., Abdul-Muthalib, A. F., Subramaniam, S., & Abdul-Aziz, A., (2012). Effects of various solvents on the extraction of antioxidant phenolics from the leaves, seeds, veins and skins of *Tamarindus indica* L. *Food Chemistry*, 131(2), 441-448.
- Rezaei, B., Kamkar, J., & Mozafarian, V. (1996). Knowledge of *Aloe vera* plant and its medicinal and chemical compounds. *National Forests and Rangelands Research Institute*, P, 29 - 14.
- Sánchez, M., González-Burgos, E., Iglesias, I., & Gómez-Serranillos, M. P. (2020). Pharmacological update properties of *Aloe vera* and its major active constituents. *Molecules*, 25(6), 1–37.
- Shimpo, K., Chihara, T., Kaneko, T., Beppu, H., Wakamatsu, K., Shinzato, M., Yukitake, J., & Sonoda, S., (2014). Inhibitory effects of low-dose aloe-emodin on the development of colorectal tumors in min mice. *Journal of Cancer Prevention*, 15, 5587–5592.
- Suhartati Djarkasi, G. S., Luluhan, L.E., Sumual, M. F., Mayulu, N., & Nurkolis, F. (2021). Antioxidant capacity of snack cookies made from *Mango* and *Aloe Vera* fermentation. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 25(6), 6631–6635.
- Wang, S., Melnyk, J. P., Tsao, R. & Marcone, M. F. (2011). Review how natural dietary antioxidants in fruits, vegetables and legumes promote vascular health. *Food Research International*, 44, 14–22.
- Yazdani, D., Rezaei, M., Kianbakht, S., & Khosravani, S. (2006). A Review on Different Aspects of *Aloe vera* L. *Journal Med. Plants*, 5(19), 1-8.
- Yebpella, G. G., Adeyemi Hassan, M. M., Hammuel, C., Magomya, A. M., Agbaji, A. S., & Okonkwo, E. M. (2011). Phytochemical screening and comparative studies of antimicrobial activity of *Aloe vera* various extracts. *African Journal of Microbiology Research*, 5, 1182-1187.
- Zarinpanjeh, N., Oladzad Abbass Abadi, A., & Omid, M. (2012). Effects of plant growth regulators and vitamin combinations on callus induction, somatic embryogenesis and plantlet production of *Aloe vera* L. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 20, 181-191.
- Zhong, H., Xiao, M., Zarkovic, K., Zhu, M., Sa, R., Lu, J., Tao, Y., Chen, Q., Xia, L., & Cheng, S. (2017). Mitochondrial control of apoptosis through modulation of cardiolipin oxidation in Hepatocellular Carcinoma: A Novel Link between Oxidative Stress and Cancer. *Free Radical Biology Medicine*, 176, 67–76.