زیست‌شناسی گیاهی ایران، سال ششم، شماره بیست و دوم، زمستان ۱۳۹۳، صفحه ۱-۱۴
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۰۶/۰۹
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۳/۰۲/۲۲
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۳/۰۶/۱۰
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۳/۰۸/۲۱

همبستگی بین فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنلی در دو گونه ترب شیر (*Leontice armeniaca* و *L. leontopetalum*)

سمیرا شوکت یاری و رشید جامعی *
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

چکیده

در پژوهش حاضر، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برگ‌های خشک و غدد زیرزمینی خشک و تازه *Leontice armeniaca* و *L. leontopetalum* اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که در هر دو گونه محتوای فنل، فلاونوئید کل و قدرت آنتی‌اکسیدانی در برگ‌ها از غدد زیرزمینی بیشتر و نیز در *L. leontopetalum* بیشتر از *L. armeniaca* بود. برگ و ریشه *L. leontopetalum* به ترتیب بیشترین و کمترین قدرت احیاکنندگی را نشان دادند. درصد خنثی‌سازی رادیکال برای *L. armeniaca* در هر دو اندام بیشتر از گونه دیگر بود. محتوای فنل و فلاونوئید کل و نیز فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در تمامی آزمایش ها در نمونه‌های خشک غدد زیرزمینی هر دو گونه بیشتر از نمونه‌های تازه بود. همبستگی مثبت و معنی‌دار بین محتوای فنل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و قدرت احیاکنندگی (به ترتیب ۰/۸۹۵ و r=۰/۹۳۷) و همچنین بین محتوای فلاونوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و قدرت احیاکنندگی (به ترتیب ۰/۸۵۹ و r=۰/۹۶) مشاهده شد ($P<0.01$). اما بین مقادیر این ترکیبات و فعالیت خنثی‌سازی رادیکال سوپر اکسید همبستگی معنی‌دار (به ترتیب ۰/۳۲۷ و r=۰/۲۶۶) به دست نیامد. در مقایسه نمونه‌های خشک و تازه، افزایش محتوای ترکیبات فنلی به افزایش قدرت آنتی اکسیدانی و احیاکنندگی غدد زیرزمینی منجر شد اما با افزایش مقدار این ترکیبات، فعالیت خنثی‌سازی رادیکال سوپر اکسید افزایش نیافت. بنابراین، ترکیبات فنلی می‌توانند در قدرت احیاکنندگی و آنتی‌اکسیدانی هر دو گونه نقش داشته باشند. در حالی که فعالیت خنثی‌سازی رادیکال سوپر اکسید تنها مربوط به ترکیبات فنلی نیست. به نظر می‌رسد که این گیاه می‌تواند یکی از منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی باشد.

واژه‌های کلیدی: فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فلاونوئید، فنل، ترب شیر (*Leontice* L.)

مقدمه

مطالعات متعدد نشان داده است که مصرف محصولات گیاهی نظیر میوه و سبزی نقش مهمی در به تعویق انداختن فرآیند پیری و پیشگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی، سرما خوردگی و بیماری‌های عصبی مثل آلزایمر دارد (Liu, 2004).

*نویسنده مسؤول: نشانی پست الکترونیک: r.jamei@urmia.ac.ir، شماره تماس: ۰۴۴۳۲۷۵۵۲۹۵

رادیکال‌های آزاد، مولکول‌های ناپایدار و بسیار واکنش‌پذیری هستند که در طول فرآیند اکسیداسیون در سیستم‌های زیستی تشکیل می شوند و باعث آسیب به مولکول‌های زیستی از جمله پروتئین ها، لیپیدها، لیپوپروتئین‌ها و DNA می‌شود (Farber, 1994). از مهم ترین تأثیرات تخریبی آنها پراکسیداسیون چربی و در نتیجه تخریب غشأ سلولی است (Bast *et al*., 1991). مواد غذایی که حاوی مقادیر فراوان آنتی‌اکسیدان هستند برای سلامت انسان مفید هستند و بدن انسان را در برابر این آثار محافظت می کنند (Berger, 2006). مطالعات اخیر نشان داده است که پلی فنل ها، فلاونوئیدها، ترپن‌ها و انواع عصاره گیاهی فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهند و برای حفظ سلامتی و حفاظت در مقابل بسیاری از بیماری ها مفید هستند (Jimoh *et al*., 2010). آنتی‌اکسیدان‌ها از عمل رادیکال‌های آزاد که موادی فعال و ویرانگر هستند جلوگیری و آنها را خنثی می‌سازند و به این ترتیب از یک سو باعث کاهش خطر ابتلا به بیماری های قلبی-عروقی می شوند و از سوی دیگر از پیشرفت سرطان‌ها جلوگیری می کنند Proteggente *et al*., 2002)؛ (Pham-Huy *et al*., 2008). مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان ها که خاصیت ضد پیری دارند و باعث حفظ سلامتی می‌شوند شامل ویتامین‌های C، E کاروتنوئیدها و پلی فنل‌ها هستند (Proteggente *et al*., 2002). مطالعات نشان داده است که مصرف میوه‌ها و سبزیجات موجب کاهش خطر بروز بیماری‌های مزمن نظیر سرطان، بیماری‌های تخریب سیستم عصبی نظیر پارکینسون و آلزایمر، التهاب و پیری پوست می‌شود (Ames, 1983). امروزه تحقیقات زیادی برای یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از منابع گیاهی صورت گرفته است.

جنس *Leontice* L. متعلق به تیره شیرپنجه (Podophyllacceae) با نام فارسی ترب شیر گیاهی علفی چند ساله، بدون کرک، با غده‌های زیرزمینی، شاخه‌های افراشته، برگ‌های نسبتا گوشتی، متناوب یا گاهی متقابل، طوقه‌ای یا ساقه‌ای است (Maroofi, 2007) و منبعی غنی از آلکالوئید است (Gresser *et al*., 1993) همچنین دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و آنتی کولین استرازی است (Kolak *et al*., 2011). مطالعات Kolak و همکاران (۲۰۱۱) وجود ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در غدد زیرزمینی *L. leontopetalum* را نشان داده است. تحقیقات دیگر وجود فلاوون‌ها در برگ‌ها و ساقه‌های این گونه را نشان می‌دهد (Cubukeu and Yazagan, 1974). فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان به ویژگی‌های مختلفی بستگی دارد که از آن جمله می‌توان به: ژنوتیپ، شرایط محیطی، اقلیم، فصل رشد، موقعیت جغرافیایی، نوع خاک و عوامل دیگری نظیر شرایط نگهداری و روش‌های خشک شدن اشاره کرد (Madrau *et al*., 2009؛ Boateng *et al*., 2008). فرآیندهایی مانند خشک کردن، ذخیره‌سازی، قطعه کردن، بسته‌بندی و ... ممکن است محتوای فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاهان را تحت تأثیر قرار دهد (Rodrigues *et al*., 2009؛ Pérez-Gregorio *et al*., 2011). تاکنون مطالعه‌ای در مورد اندازه‌گیری و مقایسه ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های خشک و تازه این گیاه با روش حاضر در ایران انجام نشده است. با توجه به اهمیت دارویی ترکیبات آنتی‌اکسیدان، مطالعه حاضر به بررسی میزان همبستگی بین فعالیت‌های

آنتی‌اکسیدان و محتوای فنلی غدد زیرزمینی تازه و خشک در برگ‌های دو گونه از جنس *Leontice* پرداخته است.

مواد و روش‌ها

تهیه گیاه: در این تحقیق، غدد زیرزمینی و برگ‌های *L. leontopetalum* از اطرف سد قشلاق، ارتفاع ۱۵۰۰ متر و *L. armeniaca* از جاده قدیم ماموخ، ارتفاع ۲۰۰۰ متر هر دو واقع در شهرستان سنندج در اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۰ جمع آوری شدند. نمونه های جمع‌آوری شده توسط گیاه‌شناسان هرباریوم مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع سنندج شناسایی و تأیید شد.

مواد شیمیایی: مواد شیمیایی و حلال‌های استفاده شده در این پژوهش از شرکت Merck آلمان با درصد خلوص بالا تهیه شد.

آماده‌سازی نمونه ها: نمونه های برگ در سایه و دمای اتاق خشک شدند. غدد زیرزمینی پس از شستشو با آب با هدف تهیه نمونه های خشک و تازه به دو گروه ۱ و ۲ تقسیم شدند. نمونه های گروه ۱، در دمای اتاق و تاریکی (متوسط دمای محیط ۳۰ درجه سانتیگراد) به مدت یک هفته خشک شدند. نمونه‌های گروه ۲ به قطعات کوچک تقسیم و توسط آسیاب همگن و برای عصاره‌گیری آماده شدند (Hossain *et al*., 2010).

عصاره‌گیری: همه نمونه‌های خشک و تازه (۱ گرم برگ، ۷ گرم غده زیرزمینی) بلافاصله با متانول (به‌ترتیب ۱۶ و ۲۸ میلی‌لیتر) به عنوان حلال به مدت ۱۲ ساعت روی شیکر مغناطیسی با استفاده از مگنت و در دمای اتاق، عصاره گیری شدند. محلول حاصل با کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شد و پس از سانتریفیوژ به مدت ۳۰ دقیقه در دور g۳۰۰۰، محلول رویی برای اندازه‌گیری‌ها استفاده شد. عصاره‌ها تا زمان آزمایش در فویل پیچیده شده، در فریزر ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند (Syvacy and Sokmen, 2004).

تعیین محتوای فنل کل: محتوای فنل کل با استفاده از معرف فولین-سیوکالتئو اندازه گیری شد (Oki *et al*., 2002). بر اساس این روش، ۱ میلی‌لیتر از محلول فولین – سیوکالتئو به ۱میلی‌لیتر از محلول نمونه اضافه گردید. پس از سه دقیقه، ۱ میلی‌لیتر از محلول کربنات سدیم ۱۰ درصد به آن اضافه شد. جذب مخلوط ۱ ساعت بعد در طول موج ۷۵۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر UV/Vis (مدل S2100، شرکت WPA، انگلستان) ثبت شد. محتوای فنل کل بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید (GAE) بر گرم نمونه با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید بیان شد.

تعیین محتوای فلاونوئید کل: محتوای فلاونوئید کل با استفاده از معرف کلرید آلومینیوم اندازه گیری شد (Sakanaka *et al*., 2005). مقدار ۱ میلی‌لیتر عصاره گیاهی به بالن ۱۰ میلی‌لیتری حاوی ۵ میلی‌لیتر آب دیونیزه منتقل گردید و ۰/۳میلی‌لیتر نیترات سدیم ۰/۰۵ به آن اضافه شد و پس از ۵ دقیقه، ۰/۳ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد نیز به مخلوط اضافه گردید. پس از ۶ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم ۱ مولار به آن افزوده و با آب دو بار تقطیر به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. جذب محلول بلافاصله در طول موج ۵۱۰ نانومتر خوانده شد. محتوای فلاونوئیدی بر حسب میلی‌گرم کاتچین بر گرم نمونه بیان گردید. کاتچین به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد.

اندازه گیری توان آنتی اکسیدانی احیای آهن فریک (FRAP): اساس این روش بر کاهش کمپلکس تری پیریدیل تری آزین-فریک به شکل رنگی آن (ferrous) در حضور آنتی-اکسیدان ها است. به طور خلاصه، معرف FRAP (ferric reducing antioxidant power) شامل: محلول TPTZ (۲،۴،۶- تری پیریدیل- S تری آزین) ۵ میلی لیتر (۱۰ میلی‌مول بر لیتر کلریدریک اسید ۴۰ میلی‌مول بر لیتر)، کلرید آهن ($FeCl_3$) ۵ میلی‌لیتر (۲۰ میلی‌مول بر لیتر) و بافر استات ۵۰ میلی‌لیتر (۰/۳ مول بر لیتر و اسیدیته ۳/۶) است که به صورت تازه آماده شده و تا ۳۷ درجه سانتیگراد حرارت داده شده است. ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه با ۳ میلی‌لیتر معرف FRAP مخلوط شد و جذب مخلوط واکنش پس از انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه در طول موج ۵۹۳ نانومتر خوانده شد. میزان فعالیت آنتی اکسیدانی بر حسب میکرومول Fe^{+2} بر گرم نمونه با استفاده از منحنی استاندارد $FeSO_4$ بیان شد (Benzie and Strain, 1996).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش قدرت احیاکنندگی: توانایی عصاره ها برای کاهش آهن سه ظرفیتی با روش Yildirim و همکاران (۲۰۰۱) تعیین شد. مقدار ۱ میلی‌لیتر از عصاره با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات (۰/۲ مولار، اسیدیته ۶/۶) و ۲/۵ میلی‌لیتر فری سیانید پتاسیم ($K_3Fe(CN_6)$) ۱۰ گرم بر لیتر) مخلوط شد، پس از آن مخلوط در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه گردید. سپس ۲/۵ میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید (۱۰۰ گرم بر لیتر) افزوده و مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰g سانتریفیوژ گردید. سرانجام ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر کلرید فریک (۱ گرم بر لیتر) مخلوط شد و جذب در طول موج ۷۰۰ نانومتر خوانده شد. بالاترین جذب، بیشترین میزان قدرت احیاکنندگی را نشان می‌دهد.

تعیین درصد خنثی‌سازی رادیکال سوپر اکسید: برای سنجش درصد خنثی‌سازی رادیکال آنیون سوپر اکسید، رادیکال‌های آنیون سوپر اکسید، به وسیله یک سیستم اتواکسیداسیون پیروگالول ایجاد شدند (Jing and Zhao, 1995). مقدار ۹ میلی‌لیتر از محلول بافر تریس-کلریدریک اسید (۵۰ میلی‌مول بر لیتر، اسیدیته=۸/۲) به لوله آزمایش اضافه شد و لوله آزمایش به مدت ۲۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۲۵ درجه سانتیگراد انکوبه گردید. ۴۰ میکرولیتر از محلول پیروگالول (۴۵ میلی‌مول بر لیتر پیروگالول در کلریدریک اسید ۱۰ میلی‌مول بر لیتر)، که قبلا در ۲۵ درجه سانتیگراد انکوبه شده بود، با استفاده از یک سرنگ میکرولیتری به قسمت بالایی لوله آزمایش تزریق و مخلوط شد. مخلوط به مدت سه دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد انکوبه گردید و بلافاصله ۱ قطره آسکوربیک اسید ۱ مولار برای پایان دادن به واکنش به درون مخلوط چکانده شد. جذب مخلوط پس از ۵ دقیقه در طول موج ۴۲۰ نانومتر به عنوان A_0 ثبت شد که A_0 سرعت اتواکسیداسیون پیروگالول را نشان می‌دهد. سرعت اتواکسیداسیون A_1 از همان روش بالا گرفته شد با این تفاوت که به بافر تریس ۲۰ میکرولیتر از عصاره افزوده شد. همزمان یک شاهد (بلانک) از مواد واکنش دهنده به عنوان A_2 در نظر گرفته شد. درصد خنثی‌سازی رادیکال سوپر اکسید از

رابطه ۱ محاسبه گردید.

رابطه ۱: $[A_0-(A_1-A_2)\times100] / A_0$

تحلیل داده‌ها: همه آزمایش‌ها در قالب سه تکرار انجام شد. نتایج به صورت مقادیر میانگین ± انحراف معیار (SD) بیان شد. تفاوت بین نمونه‌ها با آنالیز واریانس یک سویه (ANOVA) در سطح آماری P<0.05 بررسی شد. همبستگی بین محتوای فنلی و فلاونوئیدی کل با فعالیت های آنتی‌اکسیدانی آهن کاهیده، قدرت کاهیدگی و خنثی سازی رادیکال سوپر اکسید توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶/۰ و آزمون پیرسون محاسبه گردید.

نتایج

محتوای فنل کل، فلاونوئید کل و فعالیت های آنتی اکسیدانی: جدول ۱ محتوای فنل و فلاونوئید کل، توان آنتی اکسیدانی احیای آهن فریک (FRAP)، قدرت احیاکنندگی و درصد خنثی سازی رادیکال سوپر اکسید را در نمونه‌های گروه‌های ۱ و ۲ نشان می‌دهد. سنجش محتوای فنل و فلاونوئید کل نشان داد که مقدار این دو ماده در برگ های هر دو گونه بیشتر از غدد زیرزمینی است و بیشترین مقدار فنل و فلاونوئید در برگ و غدد زیرزمینی *L. leontopetaiom* مشاهده شد. بیشترین و کمترین محتوای فنل و فلاونوئید کل به ترتیب در برگ *L. leontopetalum* و غده زیرزمینی تازه *L. armeniaca* مشاهده شد (جدول ۱). معنی‌داری بین محتوای فنل همه نمونه ها دیده شد (P<0.05) این امر در مورد محتوای فلاونوئید کل نیز صدق می کرد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی احیای آهن فریک در برگ‌ها بیشتر از غدد زیرزمینی خشک بود که این حالت در هر دو گونه مشهود بود. تفاوت معنی داری بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی احیای آهن فریک در تمام نمونه‌ها وجود داشت (P<0.05). مقایسه نتایج به دست آمده نشان داد که بیشترین ظرفیت آنتی اکسیدانی احیای آهن بر اساس آزمون یاد شده در برگ (۶۰۱/۶±۴/۵۱) و در غدد زیرزمینی خشک (۱۵۱/۴± ۷/۱۰۷ میکرومول آهن بر گرم) هر دو متعلق به *L. leontopetalum* است (جدول ۱). قدرت احیاکنندگی در گونه *L. leontopetalum* در برگ‌ها بیشتر از غدد زیرزمینی خشک بود اما در *L. armeniaca* از نظر قدرت احیاکنندگی تفاوت معنی‌داری در برگ‌ها و غدد زیرزمینی وجود نداشت (P<0.05). در مطالعه حاضر، برگ و ریشه *L. leontopetalum* به ترتیب بیشترین (۱/۱۴۱) و کمترین (۰/۸۸۹) قدرت احیاکنندگی را نشان دادند (جدول ۱).

درصد خنثی‌سازی رادیکال سوپر اکسید در هر دو گونه در برگ‌ها بیشتر از اندام زیرزمینی خشک بود و همچنین درصد خنثی‌سازی در گونه *L. armeniaca* در هر دو اندام بیشتر از گونه دیگر بود. بیشترین میزان خنثی‌سازی رادیکال سوپر اکسید در برگ *L. armeniaca* (۶۴/۳۶±۰/۳۶ درصد) و کمترین میزان در غدد زیرزمینی *L. leontopetalum* (۲۷/۸۹±۰/۱۰۵ درصد) مشاهده شد (جدول ۱).

همان طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود در تمام آزمایش‌های انجام شده بین غدد زیرزمینی تازه و خشک شده در دمای اتاق، تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (P<0.05). محتوای فنل و فلاونوئید کل در نمونه‌های خشک *L. leontpetalum* (به ترتیب ۴۱/۵۶ میلی گرم گالیک اسید و ۰/۴۲۸ میلی گرم کاتچین بر

یک گرم نمونه) بیشتر از نمونه خشک *L. armeniaca* (۲۹/۱۳ میلی‌گرم گالیک اسید و ۰/۲۵۹ میلی‌گرم کاتچین بر یک گرم نمونه) بود. در مطالعه حاضر، الگوی میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی احیای آهن فریک از بیشترین به کمترین عبارت بود از: بیشترین و کمترین میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی احیای آهن فریک به ترتیب در برگ *L. leontopetalum* و غده زیرزمینی تازه *L. armeniaca* مشاهده گردید.

جدول ۱- محتوای فنل و فلاونوئید کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی احیای آهن فریک، قدرت احیاکنندگی و درصد خنثی‌سازی رادیکال‌های سوپر اکسید عصاره‌های متانولی غدد زیرزمینی خشک و تازه و برگ‌های خشک *L. leontopetalum* و *L. armeniaca*: مقادیر، میانگین سه تکرار ± SD است. حروف یکسان در هر ستون، بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال P<0.05 است. a، b، c و d: حروف انگلیسی کوچک در هر ستون برای مقایسه غدد زیرزمینی خشک و برگ‌های خشک است (گروه ۱). A، B، C و D: حروف انگلیسی بزرگ در هر ستون برای مقایسه غدد زیرزمینی خشک و تازه است (گروه ۲).

گونه	اندام	محتوای فنل کل (میلی‌گرم بر گرم)	محتوای فلاونوئید کل (میلی‌گرم بر گرم)	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی احیای آهن فریک (میکرومول آهن بر گرم)	قدرت احیاکنندگی (جذب در ۷۰۰ نانومتر)	خنثی‌سازی رادیکال سوپر اکسید (درصد)
L. leontopetalum	ریشه خشک	۴۱/۵۶±۰/۸۹cA	۰/۴۲±۰/۰۰۶cA	۱۵۱/۴±۷/۱۰۷cA	۰/۸۸۹±۰/۰۳۷bA	۲۷/۸۹±۰/۱۰۵dC
	ریشه تازه	۳۱/۳۲±۰/۴۴B	۰/۰۷±۰/۰۰C	۸۹/۸±۴/۸۴ B	۰/۶۳±۰/۰۰B	۱۰/۱±۵/۲۸D
	برگ خشک	۱۷۱/۹۱±۱/۷۶۲a	۲/۶±۰/۰۲۹b	۶۰۱/۶±۲۴/۵۱a	۱/۱۴۶±۰/۰۵۵a	۵۴/۵±۰/۴۴ c
L. armeniaca	ریشه خشک	۲۹/۱۳±۰/۶dC	۰/۲۵۹±۰/۱۰۳dB	۷۳/۸±۵/۳۳dC	۰/۹۱±۰/۰۰۶aA	۶۰/۱۸±۰/۵۹۶bA
	ریشه تازه	۲۳/۴±۶/۸۱D	۰/۰۳±۰/۰۰D	۲۶/۲±۰/۳۴D	۰/۶۹±۰/۰۱B	۵۲/۶۱±۸/۵۷B
	برگ خشک	۸۸/۴±۲/۵۶b	۱/۴۴±۰/۰۲۳a	۴۹۸/۴±۴۲/۶۸b	۰/۹۱۵±۰/۰۰۳b	۶۴/۳۶±۰/۳۶a

جدول ۱ نشان می‌دهد که در هر دو گونه مورد مطالعه قدرت احیاکنندگی عصاره های غدد زیرزمینی خشک شده به طرز معنی دار بیشتر از غدد زیرزمینی تازه است. قدرت احیاکنندگی نمونه‌های تازه و خشک *L. leontopetaium* به ترتیب ۰/۶۳۸ و ۰/۸۸۹ و *L. armeniaca* به ترتیب ۰/۶۹ و ۰/۹۱ بود. جدول ۱ نشان می‌دهد که نمونه‌های خشک درصد جذب رادیکال آزاد بالاتری نسبت به نمونه های تازه داشتند به بیان دیگر، توانایی نمونه‌ها برای جذب رادیکال‌های آزاد پس از خشک کردن افزایش یافت. فعالیت خنثی سازی رادیکال سوپر اکسید به ترتیب بیشترین به کمترین عبارت بود از: بیشترین و کمترین فعالیت خنثی‌سازی رادیکال سوپراکسید به ترتیب در برگ *L. armeniaca* و غده زیرزمینی تازه *L. leontopetalum* مشاهده گردید.

همان طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود همبستگی معنی‌دار بین محتوای فنل و فلاونوئید کل/ ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و قدرت احیاکنندگی وجود دارد.

جدول ۳ نشان می دهد که در مطالعه حاضر همبستگی مثبت و معنی‌داری بین محتوای فنل کل و فلاونوئید کل غدد زیرزمینی خشک و تازه با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و قدرت احیاکنندگی وجود دارد. در این مطالعه، ارتباط بین محتوای فنل و فلاونوئید کل با فعالیت خنثی‌سازی رادیکال سوپر اکسید یک همبستگی منفی غیرمعنی‌دار است بدین معنی که با افزایش محتوای فنلی و فلاونوئیدی ظرفیت خنثی‌سازی رادیکال سوپر اکسید افزایش نیافت.

جدول ۲- همبستگی بین محتوای فنل کل با محتوای فلاونوئید کل فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی احیای آهن فریک قدرت احیاکنندگی و خنثی‌سازی رادیکال سوپر اکسید در غدد زیرزمینی خشک و برگ‌های *L. lentopetalum* و *L. armenaca*. ** ضریب همبستگی معنی‌دار در سطح P<0.01.

	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی احیای آهن فریک	قدرت احیاکنندگی	فعالیت خنثی‌سازی رادیکال سوپر اکسید
محتوای فنل کل	** r=۰/۹۳۷	** r=۰/۸۹۵	r= ۰/۲۶۶
محتوای فلاونوئیدی کل	** r=۰/۹۶	** r=۰/۸۵۹	r= ۰/۳۲۷

جدول ۳- همبستگی بین محتوای فنل کل با فلاونوئید کل با فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی احیای آهن فریک قدرت احیاکنندگی و خنثی‌سازی رادیکال سوپر اکسید درنمونه‌های خشک و تازه غدد زیرزمینی *L. lentopetalum* و *L. armenaca*. * ضریب همبستگی معنی‌دار در سطح P<0.05 و ** ضریب همبستگی معنی‌دار در سطح P<0.01.

	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی احیای آهن فریک	قدرت احیاکنندگی	فعالیت خنثی‌سازی رادیکال سوپر اکسید
محتوای فنل کل	** r= ۰/۹۸۷	* r= ۰/۵۸۴	r= −۰/۵۳۶
محتوای فلاونوئید کل	** r= ۰/۸۳۵	** r= ۰/۸۹۸	r= −۰/۰۳

بحث

اغلب مطالعاتی که تاکنون پیرامون ترکیبات شیمیایی، خواص دارویی و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در جنس *Leontice* L. انجام شده است، بر گونه *L. leontopetalum* متمرکز بوده است. بر اساس نتایج گزارش شده از تحقیقات مختلف مشخص شده است که بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاهی برای خنثی سازی رادیکال های آزاد با استفاده از روش‌های متفاوت نظیر ABTS، DPPH و FRAP همواره نتایج یکسان به دست نمی‌دهد. عواملی نظیر: نوع رادیکال، حلال و روش استخراج بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی تأثیر دارند (Cao and Prior, 1998؛ Zheng and Wang, 2001؛ Jimoh *et al*., 2010). بنابراین، در پژوهش حاضر از دو یا سه روش در ارزیابی بهتر خواص عصاره‌ها استفاده شد. سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با روش FRAP (ظرفیت آنتی اکسیدانی احیای آهن فریک) انجام شد. مطالعات نشان داده است که پلی فنل‌هایی که قدرت آنتی‌اکسیدانی بالایی دارند مسؤول بخش عمده فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها هستند (Pourmorad *et al*., 2006). در پژوهش حاضر، گیاه *Leontice* از خود فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد که با مطالعات پیشین همخوانی دارد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی جنس *Leontice* می تواند در ارتباط با حضور ترکیبات آلکالوئیدی، فنلی، فلاونوئیدی (Kolak *et al*., 2011) و فلاون‌ها (Cubukeu and Yazagan, 1974) در این گیاه باشد. بر اساس بررسی‌های Kolak و همکاران (۲۰۱۱) عصاره آبی غدد زیرزمینی *L. leontopetalum* نسبت به عصاره‌های متانولی و آلکالوئیدی، در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری دارد. یکی از ترکیبات موجود در جنس *Leontice* ترکیبات فلاونوئیدی است و تحقیقات نشان داده است که ساقه و برگ *L. leontopetalum* حاوی ترکیبات narcissin و glucside-3-quercetin است (Cubukeu and Yazagan, 1974).

Gulcine و همکاران (۲۰۰۶) با بررسی غدد زیرزمینی *L. smirnowii* بیان کرده‌اند که عصاره خام و مونودسموزوئیدهای این گیاه فعالیت آنتی‌اکسیدانی وابسته به غلظت قابل توجهی از خود نشان می‌دهند. گزارش‌ها نشان دادند که در گیاهانی مانند: بارهنگ و عروسک پشت پرده (*Physalis alkekengi*) بین محتوای فنل و فلاونوئید و سنجش FRAP ارتباط مثبت و معنی‌داری وجود دارد (Mirzaei *et al*., 2011؛ Hoshani *et al*., 2012).

بنابراین با توجه به ارتباط مستقیم و مثبت بین محتوای فنل و فلاونوئید کل و سنجش FRAP در جنس *Leontice* (جدول ۲)، احتمالا توانایی آنتی‌اکسیدانی با روش FRAP می‌تواند به این ترکیبات مرتبط شود. اغلب پلی فنل‌ها در بین ترکیبات فیتوشیمیایی آنتی اکسیدان به علت ویژگی کاهیدگی و عمل به دام انداختن رادیکال آزاد حایز اهمیت هستند (Deepa *et al*., 2007).

محتوای فنل و فلاونوئید کل و FRAP در برگ ها بیشتر از غدد زیرزمینی بود و این در مورد هر دو گونه معنی دار بود.تفاوت معنی داری در هر سه آزمایش بین تمام نمونه‌ها دیده شد ($P<0.05$). وجود تفاوت معنی دار در دو اندام مختلف گیاه نشان داد که توانایی آنتی اکسیدان‌ها در اندام‌های مختلف متفاوت است. بدین ترتیب با توجه به محتوای ترکیبات و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی بافت‌های استفاده شده در پژوهش حاضر، به منظور مقابله با اکسیدان‌های مختلف بافت مناسب می‌تواند استفاده شود.

برای سنجش قدرت احیاکنندگی، تبدیل Fe^{+3} به Fe^{+2} در حضور عصاره‌های متانولی اندازه‌گیری شد. در حضور ترکیبات احیاکننده، کمپلکس‌های فری سیانید به شکل Fe^{+2} احیا می‌شوند (Soares *et al*., 2009). همان طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود بین قدرت احیاکنندگی و محتوای فنل و فلاونوئید کل (به ترتیب ۰/۸۵۹، ۰/۸۹۵=r) همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده شد ($P<0.01$). در نتیجه، این احتمال وجود دارد که ترکیبات فنلی مسؤول ویژگی‌های احیاکنندگی در گیاهان باشند. ترکیبات فنلی دارای قدرت احیاکنندگی هستند. به بیان دیگر، این ترکیبات با اهدا الکترون یا اتم‌های هیدروژن واکنش‌های زنجیری تشکیل رادیکال‌های آزاد را می‌شکنند و با پیش‌سازهای پر اکسید واکنش داده، از تشکیل پر اکسید جلوگیری می‌کنند (Kumaran and Joel Karunakaran, 2007). بنابراین، برگ *L. leontopetalum* که بیشترین قدرت احیاکنندگی را دارد احتمالا بیشترین میزان ترکیبات احیاکننده و پلی فنل‌ها را دارد. در این روش، جذب نوری نمونه ها رابطه مستقیمی با توان احیاکنندگی دارد یعنی جذب نوری بیشتر بیانگر خاصیت احیاکنندگی بیشتر است و بدون واحد اندازه‌گیری است. مطالعات نشان داد که بین محتوای ترکیبات فنلی و توان احیاکنندگی در گیاهانی نظیر بارهنگ و درمنه همبستگی مثبت وجود دارد و با افزایش محتوای ترکیبات فنلی قدرت احیاکنندگی افزایش می‌یابد. این ترکیبات می‌توانند مسؤول فعالیت احیاکنندگی عصاره‌های گیاهی باشند (Mirzaei *et al*., 2010; 2011). بر اساس گزارش‌های Gulcine و همکاران (۲۰۰۶) عصاره خام و مونودسموزوئیدهای غدد زیرزمینی *L. smirnowii* با افزایش محتوای فنلی قدرت احیاکنندگی بالایی نشان دادند. بر اساس مطالعات

Kolak و همکاران (۲۰۱۱) عصاره آبی، متانولی و آلکالوئیدی غدد زیرزمینی *L. leontopetalum* از نظر قدرت احیاکنندگی یون مس غیرفعال است که با نتایج حاصل از پژوهش حاضر همخوانی ندارد. این موضوع می‌تواند به علت تفاوت اقلیم، نوع خاک، ارتفاع محل رویش، روش‌های استخراج و اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان‌ها باشد (Cao and Prior, 1998).

در پژوهش حاضر، فعالیت رادیکال سوپر اکسید توسط عصاره متانولی با استفاده از سیستم اتواکسیداسیون پیروگالول بررسی شد. آنیون سوپر اکسید باعث تولید رادیکال‌های خطرناک و مضر هیدروکسیل و اکسیژن منفرد می‌شود که هر دوی این رادیکال‌ها در تنش اکسیداتیو شرکت می‌کنند. همچنین سوپر اکسید می‌تواند با نیتریک اسید واکنش داده و تشکیل پراکسی نیتریت را بنماید (Halliwell, 1997). درصد خنثی‌سازی رادیکال در هر دو گونه در برگ‌ها بیشتر از اندام زیرزمینی است و همچنین درصد خنثی سازی برای گونه *L. armeniaca* در هر دو اندام بیشتر از گونه دیگر است.

همان طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود بین درصد خنثی‌سازی رادیکال سوپر اکسید و محتوای فنل و فلاونوئید کل (به ترتیب ۰/۳۲۷، r=۰/۲۶۶) همبستگی معنی‌داری مشاهده نشد ($P<0.01$). از آنجا که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تنها به محتوای فنل و فلاونوئید عصاره بستگی ندارد، بایستی رابطه بین فعالیت خنثی سازی این رادیکال با محتوای سایر آنتی‌اکسیدان ها نیز بررسی شود. میزان خنثی‌سازی رادیکال می‌تواند علاوه بر این ترکیبات، مربوط به سایر ترکیبات گیاهی نظیر آلکالوئیدها، کاروتنوئید، کلروفیل و غیره باشد (Pokorny, 2007).

فرآیند خشک کردن تأثیر شایان توجهی بر میزان ترکیبات فنلی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی احیای آهن فریک، قدرت احیاکنندگی و فعالیت خنثی‌سازی رادیکال سوپر اکسید نمونه‌ها نشان داد. محتوای ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها در تمامی آزمایش‌های انجام شده پس از خشک شدن، افزایش نشان داد (جدول ۱) این افزایش احتمالا در ارتباط با محتوای رطوبت نمونه‌ها است. بافت‌های گیاهی ممکن است در حین خشک کردن شکننده‌تر شوند که به تجزیه سریع‌تر دیواره سلولی طی مراحل استخراج (آسیاب کردن و همگن‌سازی) منجر می‌شود. در نتیجه سلول می‌تواند ترکیبات فنلی بیشتری طی این مراحل به درون حلال آزاد کند. احتمال دیگر این است که چون آنزیم‌ها در نمونه های تازه هنوز فعال هستند، نمونه‌های تازه ممکن است ترکیبات آنتی اکسیدان را به علت تجزیه آنزیمی از دست بدهند (Hossain *et al.*, 2010). برخی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان موجود در نمونه‌های تازه ممکن است ناپایدار باشد یا توسط آنزیم‌ها تخریب شوند. بنابراین پیشنهاد می‌شود از نمونه های خشک برای استخراج استفاده شود. در نمونه های خشک آنزیم‌ها به علت کاهش مقدار آب، غیرفعال هستند، بنابراین مقدار ترکیبات فنلی و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در عصاره‌ها حفظ می‌شود (Suhaj, 2006). محتوای ترکیبات فنلی و آنتی اکسیدانی شش جنس از تیره Larniaceae توسط Hossain و همکاران (۲۰۱۰) بررسی شد. بر اساس مشاهدات آنها خشک کردن نمونه‌های تازه، محتوای ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی اکسیدانی را افزایش می‌دهد. مطالعات

نشان می‌دهد که عمل خشک کردن، میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی خرما را کاهش می‌دهد (Shahdadi *et al*., 2011).

نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان می‌دهد که با افزایش ترکیبات فنلی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و قدرت احیاکنندگی نیز افزایش می‌یابد. احتمالا ترکیبات فنلی در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها نقش مهمی دارند. برخی از مطالعات گذشته ارتباط قابل توجهی بین محتوای ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی در میوه‌جات و سبزیجات گزارش کرده‌اند (Velioglu *et al*., 1998). بر اساس جدول ۳ بین درصد خنثی سازی رادیکال سوپر اکسید با محتوای فلاونوئیدی (r=-۰/۰۳) رابطه‌ای مشاهده نشد. به بیان دیگر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی فقط به ترکیبات فنلی مربوط نیست بلکه به سایر ترکیباتی که طی فرآیند خشک شدن تولید می‌شوند نیز مربوط است (Pokorny, 2007). بین فعالیت خنثی‌سازی رادیکال سوپر اکسید و محتوای فنل کل (r=-۰/۵۳۶) همبستگی معنی داری مشاهده نشد. این نشان می‌دهد که افزایش در محتوای ترکیبات فنلی نقشی در میزان خنثی‌سازی رادیکال سوپر اکسید ندارد. پلی فنل‌ها تنها عوامل خنثی‌کننده رادیکال‌ها در عصاره نیستند. طبق بررسی Kolak و همکاران (۲۰۱۱) و Hoshani و همکاران، (۲۰۱۲) خنثی‌سازی رادیکال‌ها می‌تواند توسط ترکیبات دیگر نظیر کاروتنوئید و آلکالوئید انجام شود. به هر حال، بررسی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی این گیاه برای کاربردهای دارویی نیازمند مطالعات بیشتر و وسیع‌تر است.

جمع‌بندی

به طور خلاصه محتوای فنل کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و خنثی سازی رادیکال سوپر اکسید در برگ‌ها از غدد زیرزمینی بیشتر بود که در مورد در هر دو گونه معنی‌دار بود. بیشترین محتوای این ترکیبات و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گونه *L. leontopetalum* مشاهده شد. عصاره‌های این جنس در تمامی آزمایش‌ها سطوح مختلفی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان دادند که این مسأله استفاده از آن در طب سنتی را توجیه می‌کند. بنابراین شاید این گیاه بتواند یکی از منابع آنتی‌اکسیدان های طبیعی باشد. خشک کردن نمونه‌ها در هوای آزاد باعث افزایش محتوای فنل کل، فلاونوئید کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، قدرت کاهیدگی و فعالیت خنثی‌سازی رادیکال شد. ارتباط مثبت و معنی‌دار بین محتوای فنل کل با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و قدرت کاهیدگی نشان داد که ترکیبات فنلی می‌توانند نقش کلیدی در قدرت کاهیدگی و آنتی‌اکسیدانی هر دو گونه داشته باشند. هرچند این ترکیبات با فعالیت خنثی سازی رادیکال سوپر اکسید در این مطالعه ارتباطی نداشتند. فرآیند خشک کردن می‌تواند روشی سودمند برای افزایش ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان باشد.

سپاسگزاری

تحقیق حاضر در آزمایشگاه بیوشیمی گروه زیست‌شناسی دانشگاه ارومیه انجام شده است. از معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه به خاطر حمایت‌های مالی و از سرکار خانم مهندس ندا فرناد و آقای یاسر بهرامی برای راهنمایی در انجام امور آزمایشگاهی سپاسگزاری می‌شود.

منابع

Ames, B. N. (1983) Dietary carcinogens and anticarcinogens: oxygen radicals and degenerative diseases. Science 221: 1256-1264.

Bast, A., Haenen, G. R. and Doelman, C. J. (1991) Oxidants and antioxidants: state of the art. American Journal of Medicine 91(3c): 2S-13S.

Benzie, I. F. F. and Strain, J. J. (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of Antioxidant Power: the FRAP assay. Analytical Biochemistry 239: 70-76.

Berger, M. M. (2006) Nutritional manipulation of oxidative stress: review of the evidence. Nutrition Clinque et Metabolisme 20(1): 48-53.

Boateng, J., Verghese, M., Walker, L. T. and Ogutu, S. (2008) Effect of processing on antioxidant contents in selected dry beans (*Phaseolus* spp. L.). LWT - Food Science and Technology 41: 1541-1547.

Cao, G. and Prior, R. L. (1998) Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. Clinical Chemistry 44(6): 1309-1315.

Cubukeu, B. and Yazagan, A. (1974) Isolation of isorhamntin-3-rutinoside (narcissin) and quercetin-3-glucoside from leaves and stems of *Leontice leontopetalum*. Natural Products 37: 537-538.

Deepa, N., Kaura, Ch., Georgea, B., Singhb, B. and Kapoor, H. C. (2007) Antioxidant constituents in some sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) genotyps during maturity. LWT - Food Science and Technology 40: 121-129.

Farber, J. L. (1994) Mechanisms of cell injury by activated oxygen. Environmental Health Perspectives 102(10): 17-24.

Gresser, G., Bachman, P., Wittet, L. and Czygan, F. C. (1993) Distribution and taxonomic significance of Quinolizidine alkaloids in *Leontice leontopetalum* and *L. ewersmannii* (Berberidaceae). Journal of Biochemical Systematics and Ecology 21(6/7): 679-685.

Gulcine, I., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A. and Elias, R. (2006) Screening of antiradical and antioxidant activity of monodesmosides and crude extract from *Leontice smirnowii* tuber. Phytomedicine 13(5): 343-351.

Halliwell, B. (1997) Antioxidants and human disease: a general introduction. Nutrition Reviews 55(1): S44-S49.

Hoshani, M., Mianabadi, M., Aghdasi, M. and Azim Mohseni, M. (2012) An investigation of antioxidant activity of *Physalis alkekengi* methanolic extracts in different phenolegical stages Journal of Plant Biology 14: 101-114 (in Persian).

Hossain, M., Barry-Ryan, C., Martin-Diana, A. B. and Brunton, N. (2010) Effect of drying method on the antioxidant capacity of six Larniaceae herbs. Food Chemistry 123 : 85-91.

Jimoh, F. O., Adedapo, A. A., Afolayan, A. J. (2010) Assessing the polyphenolic, nutritive and biological activities of acetone, methanol and aqueous extracts of *Rumex sagittatus* Thunb. African Journal of Pharmacy and Pharmacology 4(9): 629-635.

Jing, T. Y. and Zhao, X. Y. (1995) The improved pyrogallol method by using terminating agent for superoxide dismutase measurement. Progress in Biochemistry and Biophysics 22: 84-86.

Kolak, U., Habekirglu, I., Boga, M., Ozgokce, F., Unal, M., Choudhary, M. I. and Ulubelen, A. (2011) Phytochemical investigation of *Leontice leontopetalum* subsp. *ewersmannii* with antixidant and anticholinestrase activities. Records of Natural Products 5(4): 309-311.

Kumaran, A. and Joel Karunakaran, R. (2007) *In vitro* antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. LWT - Food Science and Technology 40: 344-352.

Liu, R. H. (2004) Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. Journal of Nutrition 134: 3479S-3485S.

Madrau, M. A., Piscopo, A., Sanguinetti, A. M., Del Cargo, A., Poiana, M., Romeo, F. V. and Piga, A. (2009) Effect of drying temperature on polyphenolic content and antioxidant activity of apricots. European Food Research and Technology 228: 441-448.

Maroofi, H. (2007) Podophyllaceae. In: Flora Iranica (Ed. Rechinger, K. H.) vol. 56. Akademische Druck-U Verlagsanstalt, Graz.

Mirzaei, A., Akbartabar, M., Sadeghi, H. and Sharifi, B. (2010) The Antioxidant activities and total phenolic of *Artemisia martima*, *Achillea millefolium* and *Matricaria recutica.* 15(3): 243-252 (in Persian).

Mirzaei, A., Mohammadi, J., Mirzaei, N. and Mirzaei, M. (2011) The antioxidant capacities and total phenolic contents of some medicinal plants in Iran. Journal of Fasa University of Medical Sciences 3(1): 104-111 (in Persian).

Oki, T., Masuda, M., Kobayashi, M., Nishiba, Y., Furuta, S., Suda, I. and Sato, T. (2002) Polymeric procyanidins as radical- scavenging components in red-hulled rice. Agricultural and Food Chemistry 50(26): 7524-7529.

Pérez-Gregorio, M. R., Regueiro, J., González-Barreiro, C., Rial-Otero, R. and Simal-Gándara, J. (2011) Changes in antioxidant flavonoids during freeze-drying of red anions and subsequent storage. Food Control 22: 1108-1113.

Pham-Huy, L. A., He, H. and Pham-Huy, C. (2008) Free radicals, antioxidants in disease and health. International Journal of Biomedical Science 4(2): 89-96.

Pokorny, J. (2007) Are natural antioxidants better and safer than synthetic antioxidant?. European Journal of Lipid Science and Technolgy 109(6): 629-642.

Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J. and Shahabimajd, N. (2006) Antioxidant activity, phenol and favonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. African Journal of Biotechnology 5(11): 1142-1145.

Proteggente, A. R., Pannala, A. S., Paganga, G., Van Buren, L., Wagner, E., Wiseman, S., Van De Put, F., Dacombe, C., Rice-Evans, C. A. (2002) The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. Free Radical Research 36: 217-233.

Rodrigues, A. S., Pérez-Gregorio, M. R., García-Falcón, M. S. and Simal-Gándara, J. (2009) Effect of curing and cooking on flavonols and anthocyanins in traditional varieties of onion bulbs. Food Research International 42(9): 1331-1336.

Sakanaka, S., Tachibana, Y. and Okada, Y. (2005) Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (kakinoha-cha). Food Chemistry 89: 569-575.

Shahdadi, F., Mirzaei, H., Maghsoudlou, Y., Ghorbani, M. and Daraei Garmakhany, A. (2011) Effect of drying process on the phenolic-compounds content and antioxidant activity of two varieties of date-palm fruit Kaluteh and Mazafati. Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology 3: 67-74 (in Persian).

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* (*Agaricus blazei* Murril) in two stages of maturity. Food Chemistry 112: 775-781.

Suhaj, M. (2006) Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. Journal of Food Composition and Analysis 19: 531-537.

Syvacy, A. and Sokmen, M. (2004) Seasonal change in antioxidant activity, total phenolic and anthocyanine constituent of the stems of two *Morus* species (*Morus alba* L. and *Morus nigra* L.). Journal of Plant Growth Regulation 44(3): 251-256.

Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L. and Oomah, B. D. (1998) Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits and vegetables and grain products. Agricultural and Food Chemistry 46: 4113-4117.

Yildirim, A., Mavi, A. and Kara, A. A. (2001) Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. Agricultural and Food Chemistry 49(8): 4083-4089.

Zheng, W. and Wang, Y. S. (2001) Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. Agricultural and Food Chemistry 49*:* 5165-5170.

Correlation between antioxidant activities and phenolic content of *Leontice armeniaca* and *L. leontopetalum*

Samira Shokatyari and Rashid Jamei *

Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran

Abstract

In this study, the total phenol and flavonoid contents and antioxidant activities of dried leaves and fresh and dried tubers of *Leontice armeniaca* and *L. leontopetalum* were determined using ferric reducing antioxidant power (FRAP), reducing power and superoxide radical scavenging percentage. The results revealed that in both species, the content of total phenolic, total flavonoid and FRAP of leaf were greater than tuber. The order of total phenolic and total flavonoid contents and FRAP of *leontopetalum* was significantly higher than *armeniaca* ($P<0.05$). The highest reducing power was found in leaves of *L. leontopetalm* and the lowest was found in its tubers. Free radical superoxide scavenging activity in leaves and tubers of *L. armeniaca* were higher than *L. leontopetalum*. The dried tubers of both species had higher phenolic content, FRAP, reducing power and superoxide radical scavenging activity than fresh tubers. The high positive correlations were observed between total phenol and flavonoid content / FRAP and reducing power. But, this compound did not show any significant correlation with superoxide radical scavenging activity. The increase of total phenolic content affected the FRAP and reducing power values, however, there was no effect on superoxide radical scavenging activity. This meant that phenolic compounds played a key role in antioxidant capacity and reducing power in the two species, while its superoxide radical scavenging was not only attribute to phenolic compound. So drying could be an effective method for increasing phenolic compound and antioxidant capacity. Also results obtained from this study showed that *Leontice* could be a source of natural antioxidant.

Key words: Antioxidant activity, Flavonoid, Phenol, *leontice*

* Corresponding Author: r.jamei@urmia.ac.ir