

استاندارد سازی مقادیر تانن‌های هیدرولیز شونده، ترکیبات پلی فنولیک و اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی ژل گیاه *Aloe vera L.* در روش‌های مختلف

*علی قادری

**حسین صبوری فرد

***خدیجه احمدی

****امید عباس‌زاده

****امیر قربان‌زاده

چکیده

ژل و عصاره گیاه دارویی صبرزرد (*Aloe vera 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

* استادیار، گروه علوم کشاورزی، دانشگاه فنی و حرفه‌ای، تهران، ایران (نویسنده مسئول).

Ghaderi885@yahoo.com

** دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

*** دانشجوی دکتری گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیروان، استان خراسان رضوی، ایران.

**** گروه علوم باغبانی- علوم و مهندسی باغبانی- گیاهان دارویی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

**** گروه علوم باغبانی- علوم و مهندسی باغبانی- گیاهان دارویی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

هیدروالکلی ژل صبرزرد، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در سال ۱۳۹۸ اجرا شد. این پژوهش در گلخانه‌ای واقع در روستای دهشک از توابع شهر مشهد استان خراسان رضوی انجام شد. از ژل‌برگ‌های صبرزرد عصاره متانولی تهیه شد. سنجش میزان فنل و فلاونوئید به روش اسپکترومتری صورت گرفت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره ژل با استفاده از رادیکال آزاد DPPH اندازه‌گیری شد. طبق نتایج به‌دست‌آمده از تعیین مقادیر متابولیت‌های ثانویه و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، مقدار فنل کل در عصاره هیدروالکلی ژل صبرزرد ۹۰/۰۴ میکرواکی والان گرم گالیک اسید 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. عصاره ژل هیدروالکلی ژل صبرزرد با دارابودن شاخص IC_{50} 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 فاکتورهای اندازه‌گیری‌شده نشان داد سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سه روش DPPH، FRAP و BCB با محتوای فنل کل، فلاونوئید کل و تانن کل همبستگی مثبت معناداری داشت. نتایج این مطالعه نشان داد ژل صبرزرد دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا می‌باشد و همچنین با میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی رابطه مستقیم دارد.

واژه‌های کلیدی: *Aloe vera L.*، تانن، آنتی‌اکسیدان، فنل، فلاونوئید، DPPH.

مقدمه

جنس Aloe متعلق به خانواده Liliaceae است و یک گونه بومی ایران Aloe littoralis Baker دارد که معمولاً در مناطق جنوبی کشور از جمله استان هرمزگان و بوشهر می‌روید [۱]. گیاه دارویی *Aloe vera* با نام صبرزرد، صبرتلخ یا شاخ‌بزی 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. در نوشته‌های کهن مصری آمده است که در ۱۵۰۰ سال قبل از میلاد مسیح از صبرزرد جهت رفع عفونت‌ها، ناراحتی‌های پوستی و به عنوان مسهل استفاده می‌کرده‌اند [۲]. گونه‌های دیگر از جمله *Aloe vera* L. (صبرزرد 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 زیتنی 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 [۳].

در حال حاضر محصولات مختلف صبرزرد در صنایع مختلف غذایی (انواع نوشابه‌ها، کمپوت، دوغ و...)، صنایع آرایشی و بهداشتی (انواع کرم‌ها، لوسیون‌ها، شامپوها، صابون‌ها، شوینده‌ها و...) و صنایع دارویی (کپسول، قرص جوشان و...) استفاده می‌شود [۴]. ژل یا عصاره گیاه به عنوان مسهل، ضد عفونی‌کننده معده، تقویت‌کننده دستگاه گوارش، تهیه پماد سوختگی - به دلیل خاصیت بازسازی سلول‌های از دست‌رفته بدن در زمان سوختگی، در درمان دیابت، رفع سوختگی بر اثر آفتاب‌زدگی و از جهت آرایشی، بهداشتی در تهیه کرم‌های نرم‌کننده، انواع شوینده‌های آرایشی و بهداشتی کاربرد دارد [۵].

طبق آزمایش‌های فیتوشیمیایی صبرزرد، ژل صبرزرد سرشار از آلکالوئیدها، تانن‌ها، فلاونوئیدها، استرول‌ها، تری‌ترپن‌ها، اوس‌ها، هولوزیدها، موسیلاژها و متابولیت‌های

کاهش‌دهنده ترکیبات است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی آزمایشگاهی نشان داد که عصاره تانن صبرزرد دارای فعالیت ضد رادیکالی می‌باشد [۶]. گیاه صبرزرد 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 [۷]. این اثرات از ترکیبات فعال زیستی موجود در صبرزرد از جمله فلاونوئیدها، ترپنوئیدها، تانن‌ها، استروئول‌ها، اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها، آنتراکینون‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی اعمال می‌شود [۸]. تحقیقات اخیر نشان داده است 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 [۹].

ترکیبات فنلی فراوان‌ترین متابولیت‌های ثانویه در گیاهان‌اند. ترکیبات فنلی گروه بزرگ و از نظر شیمیایی متنوعی‌اند که از اسیدهای فنلی ساده تا پلیمرهای بسیار بزرگ و پیچیده تانن‌ها و لیگنین‌ها و همچنین رنگدانه‌های فلاونوئید را شامل می‌شوند [۱۰]. فنل‌ها به دلیل توانایی مهار خود می‌توانند مستقیماً بر اثر آنتی‌اکسیداتیو دخیل باشند. مکانیسم عمل ترکیبات فنلی گیاه عمدتاً شامل فعالیت مهار رادیکال آزاد، خصوصیات کلات‌کنندگی فلز، توانایی تنظیم بیان ژن و نقش کوآنتی‌اکسیدانی است [۱۱]. 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 مسئله و به دلیل شناسایی سمیت در بسیاری از مواد آنتی‌اکسیدانی مصنوعی و محدودیت مصرف آنها، یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به‌ویژه از گیاهان و استفاده از آنها به‌خصوص در صنایع غذایی و دارویی بسیار مطلوب است. به علت شرایط اقلیمی کشورمان، در بیشتر مناطق، گونه‌های گیاهی مانند صبرزرد 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، تانن کل عصاره ژل هیدروالکلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی صبرزرد سنجش شد.

(۱) مواد و روش‌ها

به منظور بررسی ارزیابی مقادیر تانن‌های هیدرولیز شونده و تغلیظ شده، ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی ژل صبرزرد، 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 صبرزرد از گلخانه جمع‌آوری شد. برگ‌های دارای ظاهری سبزرنگ، گوشتی، با لبه‌های دندانه‌دار بودند. به منظور بالابردن 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 بی‌رنگ 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 ساخت کشور سوئد، در شیشه‌های تیره‌رنگ که قبلاً استریل و اتوکلاو شده بودند، ریخته و داخل یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد تا انجام آزمون‌ها نگهداری گردید [۱۲]. تمامی مواد شیمیایی و استانداردها از شرکت‌های مرک آلمان (Merck (Darmstadt, Germany)) و سیگما آمریکا (Sigma (St. Louis, MO, USA)) تهیه شدند.

تهیه عصاره هیدروالکلی ژل صبر زرد: مقدار توزین شده‌ای از ژل صبرزرد 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 اندازه ای 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 عصاره های خشک ژل صبرزرد به ویال های شیشه ای که وزن آنها مشخص بود، منتقل و مجدداً وزن شد و تا هنگام تحقیقات بعدی در فریزر الکترواستیل ساخت ایران در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری گردید [۱۲].

سنجش فنل کل: میزان فنل کل با روش فولین سیوکالتو تعیین شد. ابتدا با استفاده از اسیدگالیک به عنوان استاندارد یک منحنی کالیبراسیون رسم شد. غلظت های مختلف گالیک اسید در آب تهیه شد. ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه (غلظت های 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 کردن کامل محتویات لوله ها و بعد از گذشت ۴۰ دقیقه در دمای اتاق، جذب هر نمونه در طول موج ۷۲۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV/vis مدل Cecil ساخت کشور انگلستان اندازه گیری شد. میزان فنل کل هر نمونه با توجه به نمودار استاندارد بر حسب معادل گالیک اسید بیان گردید [۱۳].

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. کوئرستین برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد. یک میلی لیتر از نمونه با یک میلی لیتر از محلول متانولی آلومینوم 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 کوئرستین (QE) بیان شد [۱۴]. 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 ۰/۴٪ 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 [۱۴].

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 [۱۵].

$$\text{رابطه ۱:} \quad \text{درصد مهار} = \frac{B_0 - B_1 \times 100}{B_0}$$

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

روش احیاکنندگی فریک (FRAP): در این روش ویژگی الکترون‌دهندگی آنتی‌اکسیدان‌ها در pH پایین موجب احیای کاتیون فریک به فروس می‌شود. بنابراین قادرند کمپلکس بی‌رنگ فریک-تری‌پیریدیل-تریازین را به کمپلکس آبی‌رنگ فروس‌تری‌پیریدیل-تریازین تبدیل نمایند. به منظور تهیه محلول استوک ۳/۱ گرم استات سدیم و ۱۶ میلی‌لیتر اسیداستیک گلاسیال در یک لیتر آب مقطر حل شد و اسیدیته محلول در حدود ۳/۶ تنظیم شد (بافراستات) سپس ۳۱ میلی‌گرم 2,4,6-Tri(2-) TPTZ (pyridyl)-s-triazine در ۱۰ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک 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 ۲۵ 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 -که حاوی ۲/۵ میلی‌لیتر عصاره و ۶ میلی‌لیتر بافر فسفات بود- 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 وزن‌تر بیان گردید [۱۶].

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 توئین 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 صفرکردن 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:

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

رابطه ۲:

$$t = 120 = \text{جذب آنتی‌اکسیدان در زمان } t = 0 = \text{جذب کنترل در زمان } t = 0$$

هرچه قدرت ماده آنتی‌اکسیدان بیشتر باشد، رنگ‌بری 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 به عنوان کنترل مثبت به کار رفتند [۱۷].

تجزیه و تحلیل آماری: برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزارهای JMP 8 (SAS Campus Drive, Cary, NC 27513) و Sigma Plot 12.0 استفاده شد. مقایسه میانگین با آزمون LSD در سطح احتمال ۰.۰۵ انجام شد.

نتایج

کالیبراسیون فنل کل

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

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

شماره لوله	۱	۲	۳	۴	۵	۶
غلظت محلول	۱	۲	۳	۴	۵	۶
اسیدگالیک (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵	۳۰
جذب در طول موج ۷۲۵ نانومتر	۰.۱۰	۰.۲۰	۰.۳۰	۰.۴۰	۰.۵۰	۰.۶۰

(۲) کالیبراسیون فلاونوئید کل

میزان فلاونوئیدهای موجود در عصاره هیدروالکلی ژل صبرزرد 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 میلی لیتر) بود.

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

شماره لوله	۱	۲	۳	۴	۵	۶
غلظت محلول کوئرستین (میکروگرم بر میلی لیتر)	۱۰	۲	۳۰	۵۰	۶	۸
جذب در طول موج ۴۳۰	۰/۲۲	۳	۱/۴۱	۱/۶۰	۷	۸
نانومتر	۰/۳	۰	۰	۰	۰/۰	۰/۵

۳) کالیبراسیون تانن کل

میزان تانن‌های موجود در عصاره هیدروالکلی ژل صبرزرد 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 میلی لیتر) بیشترین جذب (۱/۲۰) مشاهده گردید.

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

شماره لوله	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸
غلظت محلول کاتشین (میکروگرم بر میلی لیتر)	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
جذب در طول موج ۵۰۰ نانومتر	۰/۴	۰/۵	۰/۰	۰/۱	۰/۱	۰/۲	۰/۱	۰/۲

نتایج آزمون‌های فیتوشیمیایی: مقادیر فنل کل، فلاونوئید کل و تانن کل عصاره

هیدروالکلی ژل صبرزرد در جدول ۴ نشان داده شده است. بر این اساس، مقدار فنل کل در عصاره هیدروالکلی ژل صبرزرد ۹۰/۰۴ میکرواکی والان گرم اسیدگالیک بر میلی گرم وزن خشک ژل، مقدار فلاونوئید کل ۶۶/۲۵ میکرواکی والان گرم کوئرستین بر میلی گرم وزن خشک ژل و مقدار تانن کل، ۸۷/۴۳ میکرواکی والان گرم کاتشین بر میلی گرم وزن خشک ژل بود.

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

نمونه	فنل کل ^۱	فلاونوئید کل ^۲	تانن کل ^۳
عصاره هیدروالکلی ژل صبر زرد	۹۰/۰۴	۶۶/۲۵	۸۷/۴۳

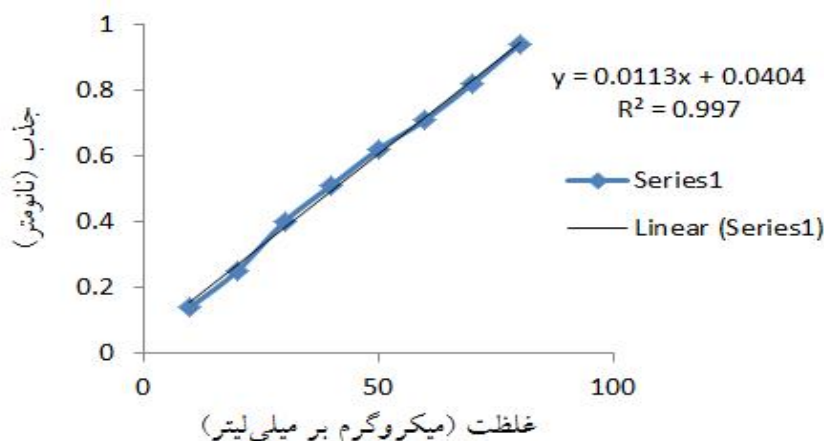
۱. بر حسب میکرواکی والان گرم گالیک اسید بر میلی گرم وزن خشک ژل صبرزرد؛
 ۲. بر حسب میکرواکی والان گرم کوئرستین بر میلی گرم وزن خشک ژل صبرزرد؛
 ۳. بر حسب میکرواکی والان گرم کاتشین بر میلی گرم وزن خشک ژل صبرزرد.
 تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی استانداردها: بر اساس نتایج حاصل، شاخص IC₅₀ در روش DPPH در VitC برابر ۷/۰۴ میکروگرم بر میلی لیتر بوده که پایین تر از استاندارد BHT می باشد (۸/۱۵ میکروگرم بر میلی لیتر)؛ از این رو فعالیت آنتی اکسیدان VitC نسبت به استاندارد BHT بیشتر بود. در روش FRAP نیز فعالیت آنتی اکسیدان در استاندارد VitC بالاتر (۱۴/۳۰ میلی مولار بر گرم) از BHT (۱۲/۱۰ میلی مولار بر گرم) به دست آمد. فعالیت آنتی اکسیدان استاندارد VitC در روش بتاکاروتن لینولئیک اسید (BCB) نیز بیشتر (۱۹/۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر) از BHT (۱۵/۶۲ میکروگرم بر میلی لیتر) بود (جدول ۵).

جدول ۵- فعالیت آنتی اکسیدانی استانداردهای BHT و Vit C

نمونه	IC ₅₀ (DPPH)	(FRAP)	(BCB)
BHT	۸/۱۵	۱۲/۱۰	۱۵/۶۲

				Vit C
۱۹/۴۰	۱۴/۳۰	۷/۰۴		
<p>IC₅₀: میکروگرم بر میلی لیتر، FRAP: میلی مولار بر گرم، BCB: میکروگرم بر میلی لیتر، BHT: دی فنیل پیکریل هیدرازیل.</p> <p>تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH: درصد بازداری نمونه را در روش DPPH (میکروگرم بر میلی لیتر) نشان می دهد. با افزایش غلظت، درصد بازداری عصاره در ژل افزایش یافت؛ به طوری که در بالاترین غلظت بازداری $98/01 \pm 2/03$ میکروگرم بر میلی لیتر و در پایین ترین غلظت $9/50 \pm 0/10$ میکروگرم بر میلی لیتر بود.</p> <p>جدول ۶- بررسی درصد بازداری نمونه ها در روش DPPH (میکروگرم بر میلی لیتر)</p>				
۲۰	۱۰	۵	۲/۵	نمونه
$50/80 \pm 1/10$	$35/10 \pm 1/40$	$20/12 \pm 1/20$	$13/50 \pm 0/10$	عصاره
۱۰۰	۸۰	۶۰	۴۰	نمونه
$98/12 \pm 2/03$	$90/01 \pm 2/03$	$82/50 \pm 1/20$	$68/50 \pm 1/040$	عصاره

منحنی رگرسیون خط درصد بازداری نمونه در روش DPPH در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج حاصل از محاسبه IC₅₀ در روش DPPH بر اساس منحنی رگرسیون خط درصد بازداری، در جدول ۷ آمده است. هرچه درصد بازداری نمونه بیشتر باشد، شاخص IC₅₀ کمتر و در نتیجه فعالیت آنتی اکسیدان بالاتر است. بر اساس نتایج، شاخص IC₅₀ حاصل عصاره هیدروالکلی ژل صبرزرد برابر $31/31$ میکروگرم بر میلی لیتر بود.

شکل ۴- منحنی تعیین IC_{50} جدول ۷- نتایج حاصل از محاسبه IC_{50} در روش DPPH

IC ₅₀ (DPPH)	نمونه
۳۱/۳۱	عصاره هیدروالکلی ژل صبر زرد

 IC_{50} : میکروگرم بر میلی لیتر

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

جدول ۸- بررسی درصد بازدارندگی نمونه‌ها در روش **FRAP**

نمونه	۲/۵	۵	۱۰	۲۰	۴۰	۶۰	۸۰
عصاره هیدروالکلی	±۰/۲	±۰/۴	±۰/۱	±۰/۳	±۰/۳	±۰/۲	±۰/۱
ژل صبر زرد	۹/۲	۱۴/	۲۳/	۴۰/	۵۸/	۷۷/۳	۹۵/

FRAP: میلی مولار بر گرمتعیین 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 پایین ترین غلظت ۵/۱۲ و در بالاترین غلظت ۸۹/۱۲ میکروگرم بر میلی لیتر بود (جدول ۹).

جدول ۹- بررسی درصد بازداری نمونه‌ها در روش BCB

نمونه	۲/۵	۵	۱۰	۲۰	۴۰	۶۰	۸۰
عصاره هیدروالکلی	۳±۰/۲	۲±۰/۱	۱±۰/۱	۵±۰/۳	۳±۰/۱	۲±۰/۱	۱±۰/۳
ژل صبرزد	۵/	۱۰/	۱۶/	۴۱/	۵۶/	۶۸/	۸۹/

BCB: میکروگرم بر میلی لیتر

۴) بررسی همبستگی بین پارامترهای اندازه‌گیری شده

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

جدول ۱۰- همبستگی بین پارامترهای مختلف اندازه‌گیری شده در عصاره

هیدروالکلی ژل صبر زرد

BCB	FRAP	DPPH	تانن کل	فلاونوئید کل	فنل کل	
۱	۰/۲۰۴ ^{ns}	۰/۱۳۶ ^{ns}	۰/۰۲۲*	۰/۰۱۰*	۰/۰۳۲*	BCB
	۱	۰/۱۱۲ ^{ns}	۰/۰۴۰*	۰/۰۳۱*	۰/۰۴۱*	FRAP
		۱	۰/۰۱۳*	۰/۰۴۲*	۰/۰۱۱*	DPPH
			۱	۰/۰۲۵*	۰/۰۳۰*	تانن کل
				۱	۰/۰۱۵*	فلاونوئید کل
					۱	فنل کل

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

(۵) بحث

در پژوهش حاضر مقادیر ترکیبات فنل کل، فلاونوئید کل و تانن کل در عصاره هیدروالکلی ژل صبرزد 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 جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد در عصاره هیدروالکلی ژل صبرزد با استفاده از روش DPPH همبستگی مثبت معناداری 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 لینولئیک اسید (روش BCB)، نشان داد عصاره هیدروالکلی ژل صبرزد دارای توانایی بازدارندگی پراکسیداسیون لیپید می‌باشد. روش FRAP که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها را بر اساس توانایی احیاکنندگی آهن می‌سنجد، درحقیقت تخمین خاصیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات قابل حل در آب را نشان می‌دهد. با توجه به ارتباط مثبت بین سنجش FRAP و محتوای فنل کل، فلاونوئید کل و تانن کل در این گیاه احتمالاً سطح بالای این ترکیبات در ژل‌برگ می‌تواند یک دلیل اصلی برای قدرت احیایی بالا در گیاه باشد. اکثر پلی‌فنل‌ها در بین ترکیبات فیتوشیمیایی آنتی‌اکسیدان به علت خصوصیت احیایی و عمل به‌دام‌انداختن رادیکال آزاد بسیار مهم‌اند. تعداد زیادی ترکیبات آنتی‌اکسیدان طبیعی در صبرزد مانند اسیدآسکوربیک، کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها، گلوکوتانیون پراکسیداز، فنولیک‌ها، سوپراکسید دیسموتاز، تانن و ویتامین C و E. به طور مکانیکی به عنوان کاهش‌دهنده تنش اکسیداتیو، تخریب سلولی و همچنین کاهش فیزیولوژیکی و تغییرات بیوشیمیایی عمل می‌کند [۱۸].

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 صبرزرد گزارش شد که با نتایج حاصل از مطالعه ما نیز مطابقت داشت. Suhartati Djarkasi و همکاران (۲۰۲۱) دریافتند که ژل صبرزرد دارای غلظت‌های بالایی از ترکیبات فنلی مانند فلاوونوئیدها و اسیدهای ارگانیک‌اند. آنالیز متابولیکی این ترکیبات بیانگر ارزش بیش از حد آن در طب سنتی بود و توانسته منابعی از ترکیباتی را که دارای کاربردهای زیستی‌اند و در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرند، شناسایی نماید که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مشابه بود. ویتامین C و آنتی‌اکسیدان‌های موجود در ژل صبرزرد ممکن است جایگزین مناسبی برای میان‌وعده‌ها در زمان همه‌گیری باشد؛ زیرا آنتی‌اکسیدان‌ها و ویتامین C می‌توانند ایمنی و پاسخ ضد التهابی را بهبود بخشند. همچنین پری‌بیوتیک‌های خوبی برای میکروبیوم روده است که نقش خوبی در سیستم ایمنی بدن ایفا می‌کند [۱۹]. طبق پژوهش Benzidia و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که صبرزرد سرشار از آلکالوئیدها، تانن‌ها، فلاوونوئیدها، استرول‌ها، تری‌ترپن‌ها، اوس‌ها، هولوسیدها، موسیلاژها و متابولیت‌های کاهش‌دهنده 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)، اسیدلینولنیک (۱۶/۵۹ درصد) و دی‌یزوکتیل فتالات (۸۴/۱۱ درصد). فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد عصاره تانن گیاه صبر زرد فعالیت ضد رادیکالی متوسطی دارد.

دانشمندان معتقدند فعالیت آنتی‌اکسیدانی این مواد به علت فعالیت احیاکنندگی و جذب رادیکال‌های اکسیژن می‌باشد. بررسی‌های بیشتر در خصوص عصاره اتانولی ژل این گیاه نشان داد این عصاره، حاوی مولکول‌های کم‌وزن دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی‌اند. علاوه بر آن عصاره متانولی و عصاره آبی حاوی پلی‌ساکاریدهای گوناگونی‌اند که آنها نیز می‌توانند فعالیت آنتی‌اکسیدانی داشته باشند [۲۰]. در تحقیقات متعددی رابطه مستقیمی بین مقادیر فنل کل و فعالیت مهار رادیکال DPPH

وجود دارد. در مطالعه دیگری که جهت ارزیابی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی صبرزرد 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 [۲۱]. در مطالعه دیگری نیز که بر روی قدرت مهار رادیکال DPPH عصاره متانولی ژل صبرزرد 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 [۲۲].

در تحقیق دیگری نیز که روی ژل گیاه صبرزرد انجام شد، رابطه مستقیمی بین محتوای فنلی عصاره و قدرت روبشگری رادیکال DPPH مشاهده گردید [۲۳]. در مطالعه‌ای که روی عصاره‌های مختلف ژل گیاه صبرزرد 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 [۲۴]. طبق مطالعه‌ای که Yebpella و همکاران (۲۰۱۱)، گیاه صبرزرد 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 صبرزرد انجام شد، رابطه خطی میان محتوای ترکیبات فنلی عصاره‌های مختلف و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده گردید [۲۵].

Liu و همکاران (۲۰۱۲) نیز گزارش کردند که استخراج تانن از عصاره متانولی ژل گیاه صبرزرد عملکرد بهتری نسبت به سایر حلال‌ها داشته است. نتایج حاصل نشان می‌دهند تانن‌ها به دلیل دارا بودن حلقه‌های بنزنی در مولکول خود، نوعی ویژگی آبگریزی دارند؛ از این رو به نظر می‌رسد 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 بر متابولیسم کربوهیدرات‌ها و همچنین نقش احتمالی در فتوسنتز را دارند. اثرات دارویی ژل گیاه صبرزرد 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 [۲۶]. Choi و همکاران (۲۰۱۳) بیان کردند که میزان پلی‌فنل‌ها برای عصاره اتانولی ژل صبرزرد ۱۰۰/۲۶ میکروگرم بر گرم وزن خشک ژل بود. در مطالعه‌ای که روی عصاره اتانولی ژل صبرزرد انجام شد، میزان تانن کل ۲۴۰ میکروگرم بر گرم وزن خشک ژل اندازه‌گیری شد [۲۷]. بنا بر نتایج مشاهده‌شده 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 به‌دست‌آمده در یک تحقیق آنتی‌اکسیدان اثر دارد و مطالعات دیگر نیز این مطلب را تأیید می‌کنند.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد عصاره ژل هیدروالکلی ژل صبرزرد با دارابودن شاخص IC_{50} 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. همچنین عصاره هیدروالکلی ژل صبرزرد به دلیل دارابودن مقادیر قابل ملاحظه‌ای از ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و تاننی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی دارد. سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سه روش FRAP، DPPH و BCB با محتوای فنل کل، فلاونوئید کل و تانن کل همبستگی مثبت معناداری داشت. در نتیجه با شناسایی و کاربرد بیشتر ترکیبات زیست فعال ژل صبرزرد می‌توان از هدررفتن مقادیر انبوهی آنتی‌اکسیدان طبیعی این گیاه مهم دارویی جلوگیری کرد.

Reference

1. Rechinger, K.H. 1982. *Lallemantia (Labiatae)* in Rechinger Flora Iranica No. 150: Akademische Druck-und Verlagsanstalt, Graz–Austria.
2. Yazdani D, Rezaei M, Kianbakht S and, Khosravani S. 2006. A Review on Different Aspects of *Aloe vera* L. Journal Med. Plants, 5(19):1-8
3. Nazeam JA, Gad HA, El-Hefnawy HM and Singab AB. 2017. Chromatographic separation and detection methods of *Aloe arborescens* Miller constituents: A systematic review. Journal of Chromatography and Analytical, 1058: 57–67.
4. Iqbal F and Ahmed A. 2021. Antibacterial activity of *Aloe barbadensis* Mill. Polish Journal of Environmental Studies, 30(4): 3637-3643.
5. Kumar S, Yadav M, Yadav A and Yadav JP. 2017. Impact of spatial and climatic conditions on phytochemical diversity and in vitro antioxidant activity of Indian *Aloe vera* (L.) S Afr J Botany. 111:50-59.
6. Benzidia B., Barbouchi M., Hammouch H., Belahbib N., Zouarhi M., Erramli H., Daoud, NA., Badrane N. and Hajjaji N.; "Chemical composition and antioxidant activity of tannins extract from green rind of *Aloe vera* (L.) Burm. F." 2019, Journal of King Saud University-Science, 31(4), pp.1175-1181.
7. Sánchez M, González-Burgos E, Iglesias I and Gómez-Serranillos MP. 2020. Pharmacological update properties of *Aloe vera* and its major active constituents. Molecules, 25(6): 1–37.
8. Marzanna H and Dziedzic K. 2019. Hęś 2019_Article_AloeVera L Web Natural Sources of A 1: 255–265.
9. Levy E, Delvin E, Marcil V and 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.
10. Domingues Passero LF., Laurenti MD., Santos-Gomes G., Soares Campos BL., Sartorelli P., Lago G. and Henrique J.; "Plants used in traditional medicine: extracts and secondary

- metabolites exhibiting antileishmanial activity", 2014, *Current Clinical Pharmacology*; 9, pp.187–204.
11. Bauer G. and Zarkovic N.; "Revealing mechanisms of selective, concentration-dependent potentials of 4-hydroxy- 2-nonenal to induce apoptosis in cancer cells through inactivation of membrane-associated catalase", 2015, *Free Radical of Biological Medicine*; 81, pp.128–144.
 12. Kelly E. Heim, Anthony R. Tagliaferro, Dennis J. Bobilya; *Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships*, 2002, *Journal of Nutritional Biochemistry* 13, 572–584.
 13. Yebpell GG, Adeyemi Hassan MM, Hammuel C, Magomya AM, Agbaji AS and Okonkwo EM. 2011. Phytochemical screening and comparative studies of antimicrobial activity of *Aloe vera* various extracts. *African Journal of Microbiology Research*, 5:1182-1187.
 14. Choi HC., Kim SJ., Son KY., Oh. BJ. and Cho BL.; "Metabolic effects of *Aloe vera* gel complex in obese prediabetes and early non-treated diabetic patients: Randomized controlled trial", 2013, *Nutrition*; 11, pp.22-29.
 15. Liu K, Park C, Li S, Lee KW, Liu H, He L, Soung NK, Ahn JS, Bode AM and Dong Z. 2012. Aloe-emodin suppresses prostate cancer by targeting the mTOR complex 2. *Carcinogenesis*, 33: 1406–1411.
 16. Arbaayah, H.H. and UmiKalsom, Y. Antioxidant Properties in the Oyster Mushrooms (*Pleurotus* spp.) and Split Gill Mushroom (*Schizophyllum commune*) Ethanolic Extracts. 2013, *Mycosphere*, 4, 661-673.
 17. Radha MH and Laxmipriya NP. 2015. Evaluation of biological properties and clinical effectiveness of *Aloe vera*: A systematic review. *Journal of Traditional Complementary Medicine*, 5: 21–26.
 18. 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.
 19. Suhartati Djarkasi GS, Luluhan LE, Sumual MF, Mayulu N and 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.
20. Rezaei B, Kamkar J and Mozafarian V. 1996. Knowledge of *Aloe vera* plant and its medicinal and chemical compounds. National Forests and Rangelands Research Institute, P: 29 - 14.
 21. Himesh S, Sarvesh S, Kaushelendra M, Singhai AK and Neelesh Ch. 2011. Qualitative and quantitative profile of aloin isolated from *Aloe vera*. International Research Journal of Pharmacy, 2: 121-122.
 22. Hazrati S, Tahmasebi Z and Babaei A. 2012. Enhancing yield and aloin concentration of *Aloe vera* plants by simultaneous application of N and benzyladenine. Journal of Medicinal Plant Research, 6: 1834-1841.
 23. Fedorova M and Zarkovic N. 2017. Preface to the special issue on 4-hydroxynonenal and related lipid oxidation products. Free Radical of Biological Medicine, 111: 1-18.
 24. Shimpo K, Chihara T, Kaneko T, Beppu H, Wakamatsu K, Shinzato M, Yukitake J and 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.
 25. Fallah H., Kianbakht S., Hajiaghaee R., Afkhami AM., Bonakdaran A and Hashem, DF. 2012. *Aloe Vera* leaf gel 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.
 26. Zarinpanjeh N, Oladzad Abbass Abadi A and Omidi 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.
 27. Misawa E, Tanaka M, Nomaguchi K, Nabeshima K, Yamada M and 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.
 - 28.