تغيرات المحتوى الكلي للفينولات والفلافونوئيدات في المستخلصات المائية من أوراق المليسة الطازجة خلال مراحل النمو

محمد غياث ناصر الدين[1] و ملك الجبة[2] و ريتا منصور[3]

تاريخ الإيداع 2014/08/26
قبل للنشر في 2014/12/24

الملخص

عُيِّن في هذه الدراسة المحتوى الكلي للفينولات والفلافونوئيدات لمنقوع أوراق المليسة الطازجة بطريقة النقع دون غليان، والنقع المستمر خلال مراحل النمو؛ وذلك في شهر أيار (الذي يوافق أعلى معدل للنمو)، وفي شهر تموز (منتصف الموسم)، وفي شهر تشرين الأول (طور الإزهار الكامل)، كما درس تأثير زمن النقع بالطريقتين المذكورتين أعلاه في محتوى الفينولات والفلافونوئيدات المتحررة من الأنسجة النباتية. أظهرت النتائج أن أعلى محتوى للفينولات هو في شهر تموز (30.10 ± 2.64 1g\GE mg مليسة)، في حين تقل كميتها بنسبة % 40-41 تقريباً في طوري النمو والإزهار لدخولها في التفاعلات الاستقلابية. كما لوحظ تقارب محتوى الفلافونوئيدات (3.07 ± 0.03 1g\QE mg مليسة) في شهري أيار وتموز في حين يقل محتواها في شهر تشرين الأول بنسبة % 36.6-40 لتركزها في الأزهار. وبيّنت النتائج أنَّ محتوى الفينولات والفلافونوئيدات المتحررة من منقوع الأوراق بطريقة النقع المستمر أعلى من منقوعها بطريقة النقع دون غليان. إذْ يزداد التركيز في المنقوع بازدياد الزمن ($sig > 0.05$) لكن تقل نسبة هذا الازدياد مع انخفاض درجة الحرارة. أمَّا بالنسبة إلى طريقة النقع المستمر فإن الزيادة تكون كبيرة، إلا أن تركيز كلٍ من الفينولات والفلافونوئيدات يقل بعد 15 دقيقة بسبب تفككها الحراري.

الكلمات المفتاحية: نبات المليسة (Lippie citriodora)، المحتوى الكلي للفينولات(TP)، المحتوى الكلي للفلافونوئيدات (TF)، النقع المستمر، النقع دون غليان.

(1) طالب ماجستير، (2) أستاذة، قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة دمشق، سورية.
(3) مدّرسة، قسم العلوم الأساسية، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سورية.

Fluctuations of the total phenols and flavonoids of aqueous extracts of Lippia Citriodora fresh leave's during growth stages

M. G. Naser Al-Deen(1); M. Al-Joubbeh(2) and R. Mansoor(3)

Received 26/08/2014

Accepted 24/12/2014

ABSTRACT

In this study, the total content of phenols and flavonoids of infusion of Lippia Citriodora fresh leave's, which prepared in two method: infusion and continuous infusion, are determined in three stages of growth: in May, which approves the highest rate of growth, July, mid-season, and October, full bloom. The effect of the time of soaking on the concentration of phenols and flavonoids free from plant tissue is studied. The results showed that the highest content of phenols is in July (30.1 ± 2.64 mg GE/1 g per plant), while decrease in May and October about 40-41% of the concentration due to entry in the metabolic reactions of phasic growth and flowering. As noted the convergence of content of flavonoids (3.07±0.03 mg QE/1 g per plant) in May and July, while decreased in October about 36.6-40% of the concentration due to its function in flowers.

It was also noted that continuous infusion has the higher concentration of phenols and flavonoids than infusion without boiling.

Where infusion without boiling phenols and flavonoids concentration's increase with time but the increasing proportion decreases with low temperature (sig>0.05). As for the increase, is large for continuous infusion, but the concentration of each of the phenols and flavonoids decrease after 15 minutes because of the thermal decomposition.

Key word: Lippia Citriodora (lemon verbena), Total phenol (TP), Total flavonoid (TF), Continuous infusion, Infusion (without boiling).

(1) MCS., Student, (2)Prof., Department of Chemistry , Faculty of Sciences, Damascus University, Syria.
(3) Assistant Prof., Department of Sciences, Faculty of Agricultural, University of Damascus, Syria.

المقدمة

الاسم العلمي لنبات المليسة هو Lippie citriodora (Lemon verbena)، ينتمي للفصيلة الفربينية من جنس الليبياLippia الذي يشتمل على 200 صنف من الأعشاب والشجيرات والأشجار الصغيرة، تنتشر هذه الأصناف وتتوزع بشكل أساسي في أنحاء بلدان أمريكا الجنوبية والوسطى وإفريقية الاستوائية (Pascual *et al.*, 2001; Terblanche´ *et al.*, 1996) والموطن الأصلي للمليسة في أمريكا الجنوبية في تشيلي والأرجنتين والبيرو والأورغوي وقد نُقلت إلى أوروبا في أواخر القرن السابع عشر، حيث انتشرت في جنوب أوروبا خاصة إيطاليا وإسبانيا وفي جنوب إفريقية وفي المغرب. يستخدم نبات المليسة في الطب الشعبي لعلاج الربو والتشنجات والبردية والإسهال وانتفاخ البطن والقلق والأرق (Hellemon, 1986; Newal *et al.*, 1996; Graça *et al.*, 1996) كما يوصى به مسكناً ومضاداً للالتهاب وخافضاً للحرارة (Pascual *et al.*, 2001)، وتم التأكد من خواصه المهدئة والمسكنة بطرائق دوائية إذْ يعود الفعل المسكن لها لوجود مادة verbascoside التي عُزلت من النبات بالاستخلاص بالميتانول ثم بخلات الإتيل (Nakamura *et al.*, 1997)، التي تعدُّ من أهم البولي فينولات الرئيسة ولاسيّما الفلافونوئيدات الموجودة في شاي الأعشاب المحضر من المليسة التي تعد إلى جانب زيتها الأساسي هي المسؤولة عن هذه الخصائص (Carnat *et al.*, 1999; Santos-Gomes *et al.*, 2005). كما تستخدم أوراقها في صناعة العطور وكإضافات إلى الأغذية والأطعمة (Pascual *et al.*, 2001).

مع قلة الدراسات المنجزة في تعيين محتوى البولي فينولات للمنقوع المحضر من أوراق المليسة، فقد أظهرت غناها بها ولاسيّما الإيريديودات Iridoids والحموض الفينولية Phenolic acids والفلافونوئيدات flavonoids (ولاسيّما الفلافونات flavones) والفينيل بروبانوئيدات phenylpropanoids ومشتقاتها التي تمتلك فعلاً مضاداً للتأكسد، وقدرةً على تثبيط الجذور الحرة (Vinha *et al.*, 2013; Portmann *et al.*, 2012; Bilia *et al.*, 2007; Carnat *et al.*, 1999; Skaltsa,1988)، وفعالية مضادة للالتهاب وعلاجاً للسرطانات والزهايمر، ويعود هذا لوجود المركب الرئيس للفلافونوئيدات فيها Luteolin 7-diglucuronide (Sawmiller *el at.*, 2014; Carnat *et al.*,1995) ومع ذلك لم يسبق أن حددت دراسة التغير في مقدار محتوى الفينولات والفلافونوئيدات في منقوع أوراقها خلال مراحل النمو.

تزرع المليسة في سورية ويستخدم منقوعها في الطبين الشعبي والعربي كما يفضل الناس تحضير شاي الأعشاب من أوراقها خلال السنة وذلك قبل وقت الإزهار، لذلك هَدَفَ هذا البحث إلى تعيين المحتوى الكلي الفينولات والفلافونوئيدات ومقارنته بالطريقة الطيفية في منقوع أوراق المليسة الطازجة المحضرة بطريقة النقع المستمر وطريقة النقع دون غليان خلال مراحل النمو، إذْ حُصدت الأوراق الطازجة في الطور الخضري في شهر أيار (الذي يوافق

أعلى معدل نمو للنبات)، وشهر تموز (منتصف الموسم)، وفي طور الإزهار الكامل من شهر تشرين الأول، وعيّن الزمن اللازم للنقع بالطريقتين المذكورتين أعلاه الذي يحقق أعلى محتوى منها؛ ودُرسَ هذا التغير إحصائياً.

مواد البحث وطرائقه

جمع العينات: جمعت عينات النبات من منطقة العدوي في مدينة دمشق في بداية شهر أيار. نقلت بأحواضها (أصصها) إلى الحديقة التجريبية في قسم الكيمياء من كلية العلوم في جامعة دمشق. وجُمعت الأوراق الطازجة من أحواض النبات المليسة من حديقة الجامعة؛ وذلك في شهر أيار (أعلى معدل نمو للنبات) (Argyropoulou *et al.*, 2007) إذْ بلغ طول أفرع النبات 50 cm تقريباً وشهر تموز (منتصف الموسم) وشهر تشرين الأول (الإزهار الكامل) إذْ جُمعت الأوراق عند الساعة 7:30 صباحاً من الأيام 21 – 30 من كل شهر حصاد من العام 2013.

المواد الكيميائية المستخدمة: Folin –Ciocalteu (Sigma Aldrish)، حمض الغاليك (97.5–102.5% ,Sigma)، كربونات الصوديوم اللامائية (99% ,Tekkim)، كلوريد الألمنيوم اللامائي (‎>98% ,Merck)، خلات الصوديوم اللامائية (99–101% ,Panreac)، حمض الخل الثلجي (99.5–100.5% ,Panreac)، ميتانول (99.99% ,Panreac)، كورستين (≤ 98% ,Aldrish Sigma)، ماء ثنائي التقطير في تحضير المحاليل جميعها. (نقاوة المواد وفق ماورد على عبوات المواد الموجودة داخل المخبر).

الأجهزة المستخدمة: جهاز قياس الامتصاص الضوئي-T80+UV/Vis Spectrometer المرئي وفوق البنفسجي المزود بمثبت لدرجة الحرارة PTC-2 .PG Instruments Ltd ومتصل بحاسب آلي مزود ببرنامج Peltier temperature controller UV WIN Spectrophotometer software Ver 5.1.1 إذْ ثبتت درجة الحرارة للقياسات كلّها عند الدرجة (24°C).

تحضير منقوع المليسة:

1– النقع المستمر Continuous infusion: يغلى 100 ml من الماء ثنائي التقطير (100°C)، ثم يضاف 5g من أوراق النبات الطازجة فيها، ونستمر بالغلي مدة 5، 10، 15، 20 دقيقة.

2– النقع دون غليان infusion : يغلى 100 ml من الماء ثنائي التقطير (100°C)، ثم ينقع 5 g من أوراق النبات الطازجة فيها مدة 5، 10، 15، 20 دقيقة.

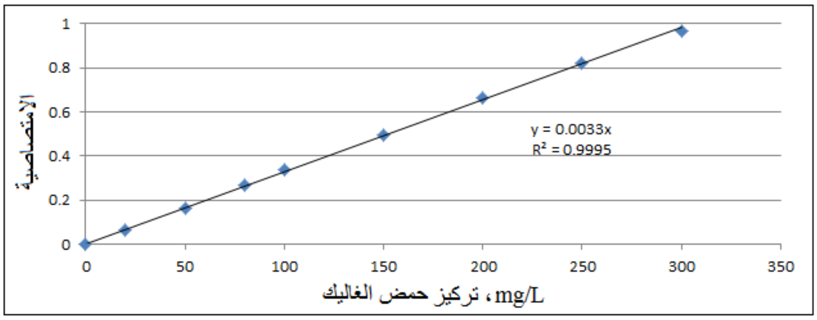
(تم مراعاة تحضير العينات تطبيقاً لتحضير مشروب المليسة في سورية إذْ تؤخذ كمية من أوراق المليسة، وتنقع في إناء يحوي 1 L من الماء المغلي دون غليان أو مع غليان).

ترشح العينات المائية المستخلصة في بالون معايرة، ثم يتمم حجمها حتى 100 ml بماء ثنائي التقطير. وتحفظ المستخلصات في الثلاجة عند الدرجة (20 °C-) حتى وقت التحليل.

تعيين المحتوى الكلي للفينولات (TP):

وضع 50 μL من المستخلص المائي المحضر في أنبوب اختبار، وأكمل الحجم حتى 0.5 ml، بماء ثنائي التقطير، ثم أضيف 0.25 ml من كاشف الفولين، وترك المحلول مدة 3 دقائق، ثم أضيف 1.25 ml من محلول كربونات الصوديوم اللامائية (w/v، 7%). حرك الأنبوب وترك في مكان مظلم حتى لا يتخرب الكاشف في درجة حرارة الغرفة °C (23±2) مدة 40 دقيقة. وبعد ذلك قيست امتصاصية المحلول عند طول موجة الامتصاص الأعظمي λmax=764nm (Maksimovic *et al.*, 2005). قُرئتْ قيم التراكيز بالاستفادة من سلسلة عيارية محضرة بالطريقة ذاتها باستخدام تراكيز مختلفة من حمض الغاليك (Ga)

منحنى المعايرة: حل 100 mg من حمض الغاليك بماء ثنائي التقطير في بالون معايرة 50 ml، ثم حضرت سلسلة عيارية من حمض الغاليك بحسب التراكيز mg/L (20, 50, 100, 150, 200, 250, 300) وأكمل الحجم لكل تركيز حتى 50 ml بماء ثنائي التقطير. وبعد ذلك قيست الامتصاصية عند طول الموجة الأعظمي λ_{max} = 764nm وذلك بالنسبة إلى العينة الشاهدة (لشكل1).



الشكل (1) منحنى معايرة حمض الغاليك

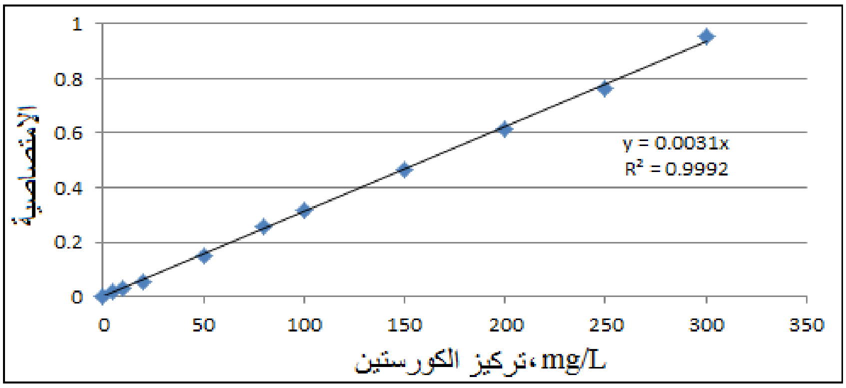
تعيين المحتوى الكلي للفلافونوئيدات (TF):

وضع 100 μL من المستخلص المائي في أنبوب اختبار، وأضيف إليه 1.4 ml من الماء ثنائي التقطير، و0.5 ml من كاشف الفلافونوئيدات الذي يحضر بحل 133 mg من كلوريد الألمنيوم اللامائي، و400 g من خلات الصوديوم اللامائية في 100 ml من محلول الاستخلاص (140 ml من الإيتانول، و50 ml ميتانول، و10 ml من حمض الخل الثلجي)، يحرك الأنبوب ويترك في مكان مظلم في درجة حرارة الغرفة °C(23±2) مدة 30 دقيقة. بعد ذلك قيست امتصاصية المحلول عند طول موجة الامتصاص الأعظمي

$\lambda_{max} = 415$ nm (Portmann *et al.*, 2012). قُرئت قيم التراكيز بالاستفادة من سلسلة عيارية محضرة بالطريقة نفسها باستخدام تراكيز مختلفة من الكورستين(Qu).

منحنى المعايرة:

حل 100 mg من الكورستين في الميتانول في بالون معايرة 50 ml، ثم حضرت سلسلة عيارية من الكورستين بحسب التراكيز mg/L (5, 10, 20, 50, 100, 150, 200, 250, 300)، أكمل الحجم لكل تركيز بالميتانول 70% حتى 50ml. وبعد ذلك قيستِ الامتصاصية عند طول الموجة الأعظمي λ_{max}=415nm بالنسبة إلى العينة الشاهدة (الشكل 1).



الشكل (2) منحنى معايرة الكورستين

الدراسة الإحصائية:

يعبّر عن النتائج كلّها [المتوسط±الانحراف المعياري(SD)] حيث تجرى التجارب بتكرارية n=4 لكل عينة. تعالج القيم إحصائياً باستخدام برنامج الحزم الإحصائية للعلوم الاجتماعية IBM SPSS Statistics 20(Sciences Statistica lPackage for the Social).

يُجرى اختبار univariate للقيم المحسوبة لمعرفة تأثير عامل الزمن في كمية الفينولات والفلافونوئيدات، إذْ يعبّر الاختلاف المعنوي ($sig<0.05$) عن وجود تأثير لزمن الاستخلاص في المحتوى الكلي للفينولات والفلافونوئيدات. أمَّا ($sig > 0.05$) عن عدم وجود تأثير للعامل الزمني باستخدام معادلة Bonferroni. فدُرسَ الارتباط بين محتوى الفينولات والفلافونوئيدات وزمن الاستخلاص باستخدام تحليل الانحدار.

النتائج والمناقشة

لوحظ في هذا البحث وجود تغيرات في محتوى الفينولات والفلافونوئيدات خلال مراحل النمو لاختلاف الحالة الفيزيولوجية للمليسة خلال أطوار نموها، إذْ يتضح من الجدول [1] أن أعلى محتوى للفينولات في المستخلصات المائية المحضرة من أوراق المليسة وفق

طريقتي النقع (نقع مستمر، نقع دون غليان) التي جمعت في شهر تموز، في حين تقل كميتها في كل من شهري أيار ثم تشرين الأول. وقد يعزى تناقص كمية الفينولات في أوراق المليسة في شهر أيار لدخولها في تشكيل الأنسجة الفسيولوجية للنبات على حساب نمو الساق والأوراق، إذْ لوحظ حقلياً أنه في شهر أيار الذي يوافق أعلى معدل للنمو، أن طول الساق بين كل عقدتين ورقتين (5.5±0.29 cm)، وتراوح أبعاد الورقة (الطول 4.9±0.12 cm، العرض 1.35±0.17 cm) في حين تقل طول المسافة بين كل عقدتين ورقيتين خلال شهر تموز إلى (1.93±0.30 cm) وتراوح أبعاد الورقة (الطول 5.98±0.33 cm، العرض 1.33±0.17 cm)، وقد يعود ذلك لعمر الأوراق ونضوجها، إذْ لا تكون الأوراق كلّها مكتملة النضج في شهر أيار في حين تكون أكثر نضجاً في تموز ومن ثمَّ يؤدي ذلك إلى تراكم أكبر للفينولات فيها (Gershenzon *et al.*, 2000; Argyropoulou *et al.*, 2007). كما تتناقص كمية الفينولات في شهر تشرين الأول، الذي يوافق الإزهار الكامل، عن شهر تموز تقريباً بنسبة 40% للنقع المستمر وبنسبة 41% للنقع دون غليان؛ وذلك عند زمن النقع 15 دقيقة، وقد يعود ذلك لدخول الفينولات في تركيب الأنسجة الخلوية للعناقيد الزهرية لنبات المليسة، فعملية الانتقال من الطور الخضري إلى طور الإزهار حرجة ومعقدة (Batygina *et al.*, 2003; Dudai *et al.*, 2001). وتتساوى تقريباً نسبة الفينولات في كل من شهري أيار وتشرين الأول، كما يظهر الجدول عند زمن النقع 15 دقيقة.

الجدول (1) محتوى الفينولات بطريقتي النقع المستمر والنقع دون غليان لأوراق المليسة باختلاف أزمنة النقع. يعبّر عن النتيجة: المتوسط ± SD (GE mg \ 1g مليسة).

العينة		زمن النقع (min)			
الشهر	طريقة النقع	5	10	15	20
أيار	النقع المستمر	0.23 ± 13.13[a]	0.29 ± 14.20[b]	**0.49 ± 14.96[c]**	0.17 ± 14.68[b,c]
	النقع دون غليان	0.25 ± 12.06[a]	0.81 ± 13.24[b,c]	0.16 ± 13.66[b,c]	**0.14 ± 14.54[c]**
تموز	النقع المستمر	0.43 ± 17.80[a,b]	0.57 ± 20.81[a,b]	**2.64 ± 30.10[c]**	4.19 ± 25.78[b,c]
	النقع دون غليان	0.24 ± 15.72[a]	0.47 ± 20.14[b]	1.47 ± 22.88[c]	**1.51 ± 23.34[c]**
تشرين الأول	النقع المستمر	0.19 ± 11.79[a]	0.28 ± 12.38[a]	**0.63 ± 14.66[b]**	0.15 ± 14.26[b]
	النقع دون غليان	0.67 ± 10.97[a]	0.73 ± 11.55[a]	0.27 ± 13.50[b]	**0.94 ± 14.12[b]**

[a,b,c] تدل الأحرف المختلفة على وجود فرق معنوي في تركيز TP خلال زمن النقع. (n=4). GE: مكافئ غرامي لحمض الغاليك. (α= 0.05) عند مجال الثقة 95%

كما لوحظ من الجدول (1) أيضاً أن محتوى الفينولات المستخلصة بطريقة النقع المستمر لأوراق المليسة كان أكبر من محتواها بطريقة النقع دون غليان، وهذا يتوافق مع دراسة (Alhafez, 2014) بالنسبة إلى منقوع الشاي الأبيض والأخضر والأسود وفق طريقتي النقع.

كما يتضح من الجدول أيضاً، ازدياد في كمية الفينولات في طريقة النقع دون غليان مع الزمن (sig <0.05) وذلك حتى 10 دقائق ثم تقل نسبة هذا التزايد مع الزمن لانخفاض درجة الحرارة. في حين أن ثبات درجة الحرارة في أثناء تحضير المستخلص بطريقة النقع المستمر ($100^{O}C$) يزيد من انتباج خلايا الأنسجة النباتية، ومن ثمّ من تحرر أكبر للفينولات منها،

لكن يلاحظ تناقص كميتها بعد 15 دقيقة (sig <0.05) بطريقة النقع المستمر وقد يعود ذلك لحدوث تفكك داخل المركبات نتيجة لتفكك الروابط الجزيئية حرارياً مع الزمن.

ومقارنة بكمية الفلافونوئيدات التي تعدُّ المليسة غنية بها ولاسيّما الفلافونات(flavones)، (الجدول2)، فإن كميتها تبقى ثابتة تقريباً في كل من شهري أيار وتموز حتى مرحلة الإزهار إذْ يلاحظ تناقص في محتوى الفلافونوئيدات تقريباً بنسبة 40% تقريباً للنقع المستمر وبنسبة (36.6%) تقريباً للنقع دون غليان؛ وذلك عند زمن النقع (15 دقيقة)، وقد يعزى هذا التناقص لتركزها بالأزهار إذْ تمنح الفلافونات اللون الأبيض للأزهار، في حين تمنح الأنتوسيانات اللون الوردي (Farman,1990; Mato *et al.*, 2000; Noori, 2012)، ولها دور في تهيئة الملقحات وانتشار البذور (Field *et al.*, 2001). كما تقوم الفلافونوئيدات في الأوراق بتعزيز الحالة الفسيولوجية للنبات إذْ تقوم بحمايته من الإشعاعات فوق البنفسجية، ومن الالتهابات الفطرية والميكروبات التي قد تهاجم النبات في هذا الطور وبردع الحشرات أو جذبها. فضلاً عن ذلك تشارك بنقل الطاقة والتنفس والتحكم في عملية التمثيل الضوئي، والتشكل وتحديد الجنس (Cushnie *et al.*, 2005).

الجدول (2) محتوى الفلافونوئيدات بطريقتي النقع المستمر ودون غليان لأوراق المليسة باختلاف أزمنة النقع. يعبّر عن النتيجة: المتوسط±SD (mg QE\g 1 مليسة).

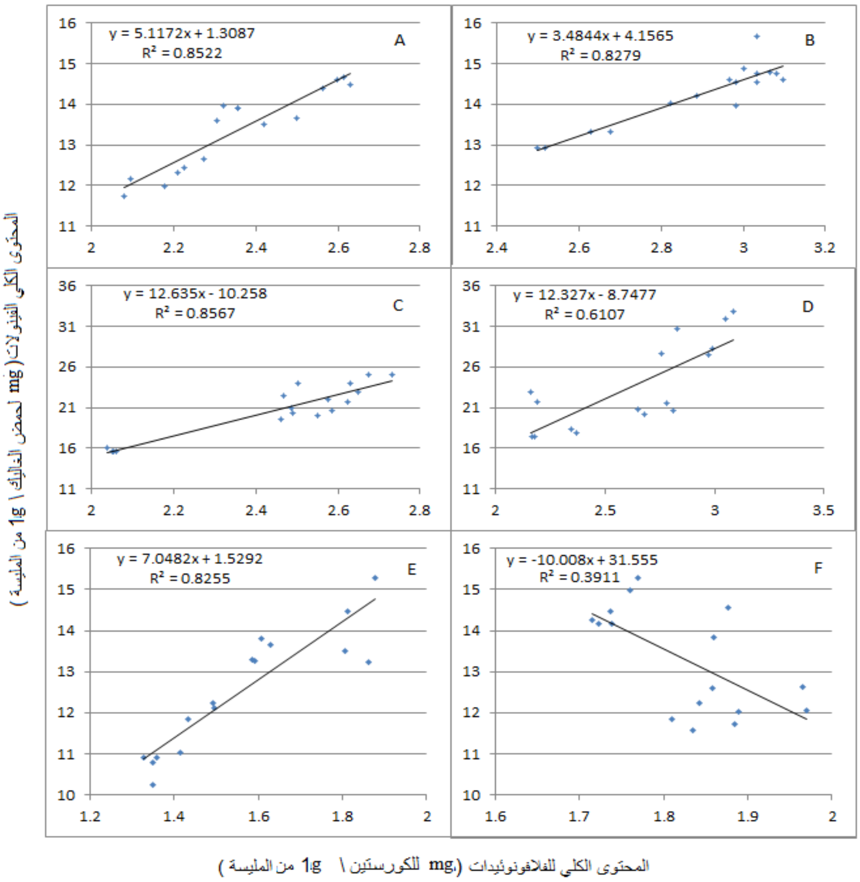
العينة		زمن النقع (min)			
الشهر	**طريقة النقع**	**5**	**10**	**15**	**20**
أيار	النقع المستمر	0.09 ± 2.58^{a}	0.07 ± 2.97^{b}	**0.03 ± 3.07^{c}**	0.02 ± 3.01^{b,c}
	النقع دون غليان	0.06 ± 2.14^{a}	0.06 ± 2.29^{b}	0.08 ± 2.40^{b}	**0.02 ± 2.60^{c}**
تموز	النقع المستمر	0.11 ± 2.26^{a}	0.08 ± 2.76^{b,c}	**0.05 ± 3.02^{b,c}**	0.36 ± 2.49^{a}
	النقع دون غليان	0.01 ± 2.05^{a}	0.06 ± 2.50^{b}	0.08 ± 2.52^{b}	**0.06 ± 2.65^{c}**
تشرين الأول	النقع المستمر	0.04 ± 1.85^{a}	**0.07 ± 1.92^{a}**	0.06 ± 1.82^{a,b}	0.01 ± 1.73^{b}
	النقع دون غليان	0.04 ± 1.39^{a}	0.09 ± 1.42^{a}	0.02 ± 1.60^{b}	**0.04 ± 1.84^{c}**

^{a,b,c} تدل الأحرف المختلفة على وجود فرق معنوي في تركيز TF خلال زمن النقع. (n=4). QE: مكافئ غرامي للكورستين. (α= 0.05) عند مجال الثقة 95%

كما يلاحظ من الجدول (2) أيضاً أن محتوى الفلافونوئيدات المستخلصة بطريقة النقع المستمر لأورق المليسة كان أكبر من محتواها بطريقة النقع دون غليان، وهذا يتوافق مع دراسة (Alhafez, 2014) بالنسبة إلى منقوع الشاي الأبيض والأخضر والأسود وفق طريقتي النقع، وازدياد محتوى الفلافونوئيدات في طريقة النقع دون غليان مع ازدياد زمن النقع (sig <0.05). في حين أن ثبات درجة الحرارة في أثناء تحضير المستخلص بطريقة النقع المستمر (100°C) يحرر كمية أكبر من الفلافونوئيدات، لكن تتناقص بمحتواها بعد 15 دقيقة بطريقة النقع المستمر. وقد يعود ذلك لحدوث تفكك للمركبات مع الزمن. يخالف المستخلص المحضر بطريقة النقع المستمر في طور الإزهار في شهر تشرين الأول في سلوكه بقية المستخلصات المائية إذْ يبدأ تناقص كمية الفلافونوئيدات بعد 10 دقائق، وقد

يعـزى لوظائفهـا الفيزيولوجيـة خـلال مرحلـة الإزهـار الحرجـة التـي يمـر بهـا النبـات .(Batygina *et al.*, 2003)

ويعبّر الشكل (3) عن الارتباط بين الفينولات والفلافونوئيدات لكل مستخلص إذْ يلاحظ تناقص هذا الارتباط بين الفينولات والفلافونوئيدات في النقع المستمر لدخول عوامل أخرى كالحرارة والتفكك الحراري للمركبات فضلاً عن المرحلة الفيزيولوجية التي يمر بها النبات، ويتضح ذلك في مرحلة الإزهار، ولاسيّما مع تناقص الفلافونوئيدات بالنسبة إلى بقية الأشهر.



الشكل (3) الارتباط الخطي بين محتوى الفينولات والفلافونوئيدات، باستخدام تحليل الانحدار A: النقع دون غليان لشهر أيار، B: النقع المستمر لشهر أيار، C: النقع دون غليان لشهر تموز، D: النقع المستمر لشهر تموز، E: النقع دون غليان لشهر تشرين الأول، F: النقع المستمر لشهر تشرين الأول.

الاستنتاجات والتوصيات

تحتوي أوراق المليسة على نسبة عالية من الفينولات والفلافونوئيدات، ويفضل جمع أوراقها قبل طور الإزهار، وخاصة في شهر تموز؛ وذلك لتحضير منقوع أكثر غنىً بالفينولات وفي شهر أيار وذلك لتحضير منقوع أكثر غنىً بالفلافونوئيدات. تؤدي درجة الحرارة والزمن دوراً مهماً في محتوى الفينولات والفلافونوئيدات المتحررة، ومن ثمَّ فللحصول على أعلى تركيز ممكن منها يفضل غلي الأوراق مدة 15 دقيقة عند تحضير منقوع أوراق المليسة بطريقة النقع المستمر، في حين يفضل نقع الأوراق مدة 20 دقيقة عند تحضير منقوعها بطريقة النقع دون غليان (الشاي).

References

Alhafez, M., Kheder, F., AlJoubbeh, M. 2014. Polyphenols, flavonoids and (-)-epigallocatechin gallate in tea leaves and in their infusions under various conditions, Nutrition & Food Science, 44(5): 455-463.

Argyropoulou, C., Daferera, D., Tarantilis, P. A., Fasseas, C., Fasseas, M. 2007. Chemical composition of the essential oil from leaves of Lippia citriodora H.B.K. (Verbenaceae) at two developmental stages. Biochemical Systematics and Ecology, 35: 831-837.

Batygina, T. B., Vasilyna, V. E. 2003. Periodization in the development of flowering plant reproductive structures: critical periods, Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica, 45(1): 27–36.

Bilia, A. R., Giomi, M.; Innocenti, M., Gallori, S., Vincieri, F. F. 2007. HPLC DAD –ESI–MS analysis of the constituents of aqueous preparations of verbena and lemon verbena and evaluation of the antioxidant activity, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 46: 463–470

Carnat, O., Carnat, A. P, Chavignon, O., Heitz, A., Wylde, R., Lamaison, J. L. 1995. Luteolin 7-diglucuronid, the major fl avonoid compound from Aloysia triphylla and Verbena officinalis. Planta Med., 61: 490-491.

Carnat, A., Carnat, A.P., Fraisse, D., Lamaison, J. L. 1999. The aromatic and polyphenolic composition of lemon verbena tea. Fitoterapia, 70: 44-49.

Cushnie, T. P. T., Lamb, A. J. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. International Journal Of Antimicrobial Agents, 26: 343-356.

Dudai, N., Larkov, O., Ravid, U., Putievsky, E., Lewinsohn, E. 2001. Developmental control of monoterpene content and composition in Micromeria fruticosa (L.) Druce. Ann. Bot., 88: 349-354.

Farman, M. 1990. Isolation and characterization of flavonoids from Indigofera hebepetala, Quaid-i- A Azam University, Islamabad.

Field, T. S., Lee, D. W., Holbrook, N. M. 2001. Why leaves turn red in autumn, The role of anthocyanins in senescing leaves of Red-Osier Dogwood, Plant Physiol., 127: 566–574.

Gershenzon, J., McConkey, M. E., Croteau, R. B. 2000. Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. Plant Physiol. 122:205-213.

GraÇa, J. A. B., Henriques, J. M. L., Medina, G., Monteiro, L., Oliveira, L. C.; Pereira, T. G., Ramilo, M. T., 1996. Guia prático de remédiose tratamentos naturais. Selecções do Reader's Digest, Lisboa, Portugal, p 150.

Hellemont, J . V. 1986. Compendium de phytotherapie. Service Scientifique de l'APB, Bruxeles , Belgium, pp. 234-235.

Maksimovic, Z; Malencˇic, D; Kovacˇevic, N. 2005. Polyphenol contents and antioxidant activity of Maydis stigma extracts, Bioresource Technology, 96: 873–877.

Mato, M., Onozaki, T., Ozeki, Y., Higeta, D., Itoh, Y., Yoshimoto, Y., Ikeda, H., Yoshidac, H., Shibata, M. 2000. Flavonoid biosynthesis in white-flowered Sim carnations (Dianthus caryophyllus), Scientia Horticulturae, 84:333-347.

Nakamura, T., Okuyama, E., Tsukada, A., Yamazaki, M., Satake, M.; Nishibe, S., DEYAMA, T., Moriya, A.; Maruno, M., Nishimura, H. 1997. Acteoside as the analgesic principle of cedron (Lippia triphylla), a Peruvian medicinal plant. Chemistry Pharmaceutical Bulletin, 45: 499-504 .

Newal, C. A., Anderson, L. A., Phillipson, J. D. 1996. Herbal medicines. A guide for health-care professionals. The pharmaceutical press, London, U.K., p. 179.

Noori, M. 2012. Flavonoids in some Iranian Angiosperms, In: Rao, V., editor. Phytochemicals – A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health, Croatia. pp.151-166. HTTP://www.intechopen.com

Pascual, M. E., Slowin, K.; Carretero, E., Mata, D. S., Villar, A. 2001. Lippia: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. Journal of Ethnopharmacology, 276: 201-214.

Portmann, E., Nigro, M. M. L., Reides, C. G., Llesuy, S., Ricco, R . A., Wagner, M. L., Gurni, A. A., Carballo, M. A. 2012. Aqueous Extracts of Lippia turbinata and Aloysia citriodora (Verbenaceae): Assessment of Antioxidant Capacity and DNA damage, International Journal of Toxicology, 31(2): 192-202.

Santos-Gomes, P. C., Ferreira, M. F., Vicente, A. M. S. 2005. Composition of the Essential Oils from Flowers and Leaves of Vervain [Aloysia triphylla (L'Herit.) Britton] Grown in Portugal. Journal of Essential Oil Research 17:73 -78 .

Sawmiller, D, Li, S., Shahaduzzaman, M., Smith, A. J., Obregon, D., Giunta, B., Borlongan, C. V., Sanberg, P. R., Tan, J. 2014. Luteolin reduces Alzheimer's disease pathologies induced by traumatic brain injury, Int. J. Mol. Sci. 15(1): 895-904.

Skaltsa, H; Shammas, G. 1988. Flavonoids from Lippia citriodora. Planta Med., 54: 465 .

Terblanche, F. C., Kornelius, G. 1996. Essential oil constituents of the genus Lippia (Verbenaceae)-A literature review. Journal of Essential Oil Research 8: 471–485.

Vinha, A. F., Barreira, S. V. P., Castro, A., Machado, M. 2013. Comparison Between the Phytochemical and Antioxidant Properties of Plants Used in Plant Infusions for Medicinal Purposes, Journal of Agricultural Science, 5(11): 11-19.bn