

2.2. Phytochemical analysis

The phytochemical components of the three solvent extracts were analyzed for the following compounds using standard methods:

2.2.1. Test for tannins

2 mg of each sample was dissolved in 10–15 drops of methanol then mixed with 5 mL of distilled water. Ferric chloride solution was then added dropwise to the solution (Shah and Seth, 2010).

2.2.2. Test for saponins

5 mg of each sample was dissolved in 10–15 drops of methanol then mixed with 5 mL of distilled water. The solution was boiled, cooled, and then shaken vigorously afterwards. Frothing of the solutions indicated the presence of saponins (Trease and Evans, 1989).

2.2.3. Test for terpenoids

2 mg from each sample were dissolved in 2 mL of CHCl_3 , followed by addition of concentrated H_2SO_4 . The occurrence of a reddish brown interface between the two layers indicated the presence of terpenoids (Shah and Seth, 2010).

2.2.4. Test for flavonoids

2 mg of each sample was dissolved using 1 M NaOH. Afterwards, the solution was observed for changes from its initial color to a yellow or orange hue which indicated the presence of flavonoids. The resulting colorless solution upon the addition of 1 M HCl further confirms the presence of flavonoids (Harborne, 1998).

2.2.5. Test for cardiac glycosides

2 mg of each sample was dissolved in 10–15 drops of methanol, followed by addition of 2 mL of distilled water. One percent (1%) FeCl_3 was then added dropwise, followed by addition of 1 mL concentrated H_2SO_4 . The formation of a brown ring confirmed the presence of cardiac glycosides (Harborne, 1998).

2.2.6. Test for steroids

2 mg of each extract was dissolved in 2 mL acetic anhydride, followed by addition of 2 mL of 1 M H_2SO_4 . The change in color of the solution to green or blue indicates the presence of steroids (Shah and Seth, 2010).

2.2.7. Test for alkaloids

5 mg of the extract was dissolved in 10–15 drops of methanol, then mixed with 2 mL distilled water. This was followed by addition of three drops of Wagner's reagent (2 g of I_2 and 6 g of KI dissolved in 100 mL of distilled water). The formation of blue-black precipitate confirmed the presence of alkaloids (Shah and Seth, 2010).

اجزای فیتوشیمیایی از سه عصاره حلال برای ترکیبات زیر با استفاده از روش های استاندارد مورد تجزیه و تحلیل^۱ قرار گرفت:

۲.۲.۱ آزمایش تانن ها

۲ میلی گرم از هر نمونه در ۱۰ الی ۱۵ قطره از متانول حل شده و سپس با ۵ میلی لیتر از آب مقطر مخلوط شد. سپس محلول فریک کلراید به صورت قطره قطره به محلول افزوده شد (شاه و ست، ۲۰۱۰).

۲.۲.۲ آزمایش ساپونین ها

۵ میلی گرم از هر نمونه در ۱۰ الی ۱۵ قطره از متانول حل شده و سپس با ۵ میلی لیتر از آب مقطر^۲ مخلوط شد. محلول جوشانده، خنک شده و سپس به شدت تکان داده شد. کف حاصل از محلول ها حاکی از وجود ساپونین ها است (Trease and Evans, 1989).

۲.۲.۳ آزمایش تریپنوئیدها

۲ میلی گرم از هر نمونه^۳ در ۲ میلی لیتر از CHCl_3 حل شد، و با افزودن H_2SO_4 غلیظ پیگیری شد. وقوع یک خط اتصال قهوه ای مایل به قرمز بین دو لایه حاکی از وجود تریپنوئیدها است (شاه و ست، ۲۰۱۰).

۲.۲.۴ آزمایش فلاونوئیدها

۲ میلی گرم از هر نمونه با استفاده از یک مول NaOH حل شد. پس از آن، محلول به منظور تغییر رنگ از رنگ اولیه به زرد یا رنگ نارنجی مشاهده شد که حاکی از وجود فلاونوئیدها

¹ Analysis

² Distilled water

³ Sample

هستند. محلول بی رنگ حاصل با افزودن یک مول از HCl بیشتر موید وجود فلاونوئیدها است (Harborne, 1998).

۲.۲.۵ آزمایش گلیکوزیدهای قلبی

۲ میلی گرم از هر نمونه در ۱۰ الی ۱۵ قطره از متانول حل شد، و به واسطه افزودن ۲ میلی لیتر آب مقطر پیگیری شد. سپس یک درصد (۱ درصد) $FeCl_3$ بصورت قطره قطره افزوده شد، بواسطه افزودن ۱ میلی لیتر از H_2SO_4 غلیظ پیگیری شد. تشکیل یک حلقه قهوه ای وجود گلیکوزیدهای قلبی را تأیید کرد⁴ (Harborne, 1998).

۲.۲.۶ آزمایش استروئیدها

۲ میلی گرم از هر عصاره در ۲ میلی لیتر از استیک آنهیدرید حل شد، با افزودن ۲ میلی لیتر از یک مول H_2SO_4 پیگیری شد (شاه و ست، ۲۰۱۰).

۲.۲.۷ آزمایش آکالوئیدها

۵ میلی گرم از عصاره در ۱۰ الی ۱۵ قطره از متانول حل شد، سپس با ۲ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شد. با افزودن سه قطره از معرف واگنر پیگیری شد (۲ گرم از I_2 و ۶ گرم از KI در ۱۰۰ میلی لیتر از آب مقطر حل شد). تشکیل رسوب آبی-سیاه وجود آکالوئیدها را تأیید کرد (شاه و ست، ۲۰۱۰).