Archive of SID

بررسی فعالیت ضد اکسایشی و میزان ترکیبات فنولی عصاره بابونه (*Chamomilla recutita L*)

آرش آبایی[a]، مهدی محمدیان [b*]، صنم جابری پور [c]

[a] دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، تهران، ایران

[b] دانشجوی دکتری علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، تهران، ایران

[c] دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۲/۳۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۸/۲۸

چکیده

مقدمه: امروزه گرایش زیادی برای استفاده از افزودنی‌های با منشا طبیعی در صنعت غذا به عنوان جایگزین افزودنی های سنتزی وجود آمده است. در این میان ترکیبات استخراج شده از گیاهان مورد توجه واقع شده‌اند. گیاه بابونه با نام علمی *Chamomilla recutita L.* به نام بابونه آلمانی شناخته می‌شود. بخش مورد استفاده این گیاه یک ساله، گل آن است که قرن هاست به عنوان گیاهی دارویی در بخش‌هایی از خاورمیانه و اروپا به شکل دمنوش استفاده می‌شود.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش عصاره‌ی آبی گیاه بابونه استخراج و میزان ترکیبات پلی فنلی و توانایی ضد رادیکالی آن در شرایط مختلف فرایند حرارتی (۱۲۰-۷۰ درجه سلسیوس، ۵ یا ۱۵ دقیقه)، تغییرات pH (۲/۶ و ۵/۶) و طی نگهداری (۰ الی ۲۵ روز) ارزیابی شد.

یافته‌ها: فرایند حرارتی از ۷۰ تا ۱۲۰ درجه سلسیوس در pH برابر با ۵/۶ یا ۲/۶ برای مدت زمان‌های ۵ و ۱۵ دقیقه، تغییر معنی داری در میزان کل ترکیبات پلی فنل عصاره ایجاد نکرد ($p > ۰/۰۵$) اما اسیدی کردن pH عصاره از ۵/۶ به ۲/۶ باعث کاهش ۱۰ درصدی میزان پلی فنل‌ها شد. فرایند حرارتی باعث کاهش فعالیت ضد اکسایشی عصاره شد و مدت زمان حرارت دهی رابطه مستقیمی با این کاهش داشت. طی نگهداری عصاره‌ی بابونه برای مدت ۲۵ روز میزان ترکیبات فنلی کل در نمونه عصاره‌ی دارای pH طبیعی (۵/۶) افزایش یافت که به علت آزاد شدن برخی ترکیبات فنلی که در پیوند با سایر اجزا هستند مرتبط دانسته شد.

نتیجه گیری: نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که پلی فنل‌های موجود در عصاره‌ی آبی گیاه بابونه نسبت به فرایند حرارتی مقاوم هستند. اما قدرت ضد اکسایشی عصاره با اعمال حرارت کاهش می‌یابد. با این وجود می‌توان اظهار نمود که ترکیبات فنلی موجود در عصاره این گیاه مقاومت حرارتی بالایی دارند و پس از فرایند پاستوریزاسیون خاصیت ضد اکسایشی قابل توجهی از خود نشان می‌دهند. همچنین ترکیبات فنلی این گیاه در برابر نگهداری طولانی مدت در pH اسیدی مقاوم بودند.

واژه‌های کلیدی: *ترکیبات پلی فنلی، فرایند مواد غذایی، فعالیت ضد اکسایشی، گیاه بابونه*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: m.mohamadian@ut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

امروزه گرایش زیادی برای استفاده از افزودنی‌های با منشا طبیعی در صنعت غذا به وجود آمده است. در این میان ترکیبات استخراج شده از گیاهان مورد توجه واقع شده‌اند. در سال‌های اخیر محققین به دنبال جایگزین کردن ترکیبات ضد اکسایشی سنتزی رایج در صنعت غذا مثل هیدروکسی تولوئن بوتیله شده (BHT)، هیدروکسی آنیزول بوتیله شده (BHA) و ترت بوتیل هیدروکینون (TBHQ) با ترکیبات ضد اکسایشی طبیعی هستند زیرا آزمایشاتی که روی حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفته نشان داده که اگر ترکیبات ضد اکسایشی سنتزی بیشتر از مقدار مشخصی مصرف شوند سرطان زا بوده و همچنین سبب آسیب به کبد و ایجاد اثرات منفی بر عملکرد آنزیم‌های کبدی می‌شوند (Branen, 1975; Williams *et al.*, 1999). در صورت جایگزینی ترکیبات ضد اکسایشی سنتزی با انواع طبیعی آن‌ها درفرمولاسیون مواد غذایی می‌توان از اثرات جانبی نامطلوبی که در اثر مصرف این ترکیبات ایجاد می‌شود پیشگیری کرد.

گیاه بابونه با نام علمی *Chamomilla recutita L.* به نام بابونه آلمانی شناخته می‌شود (Braun & Cohen, 2015). بخش مورد استفاده این گیاه یک ساله، گل آن است که قرن هاست به عنوان گیاهی دارویی در بخش‌هایی از خاورمیانه و اروپا به شکل دمنوش استفاده می‌شود (Braun & Cohen, 2015; McKay & Blumberg, 2006; Harbourne *et al.*, 2009). خواص دارویی و سلامت بخش گیاه بابونه عمدتا به دو گروه از ترکیبات زیست فعال موجود در گل‌های بابونه نسبت داده می‌شود که شامل روغن معطر (اسانس) و پلی فنول‌های موجود در بابونه است. فلاونوییدها، عمده‌ترین پلی فنل‌های موجود در بابونه هستند (Braun & Cohen, 2015). اخیرا، محققین از روش کروماتوگرافی با کارایی بالای لایه نازک[1] (HPTLC) برای سنجش کمی آپیجنین[2]، کامازولن[3] و بیسابولول[4] در گیاهان گل مینا (*Tanacetum parthenium*)، بابونه آلمانی (*Matricaria recutita*) و گل اشرفی (*Calendula officinalis*) استفاده کردند. محققین همچنین خواص ضد اکسایشی این ترکیبات را با استفاده از روش DPPH بررسی کردند. نتایج نشان داد که بیسابولول و کامازولن اجزای اصلی تشکیل دهنده‌ی روغن‌های اسانسی گل‌های بابونه هستند و این دو ترکیب در گل‌های بابونه و گل اشرفی به مقدار بیشتری وجود داشتند. همچنین مشخص شد که ترکیب آپیجنین فقط در گیاه بابونه وجود دارد. نتایج حاصل از بررسی خاصیت ضد اکسایشی نشان داد که عصاره‌ی حاصل از گل‌ها و برگ بابونه نسبت به سایر گیاهان، بیشترین خاصیت ضد اکسایشی را دارا بود (Agatonovic-Kustrin *et al.*, 2015).

تحقیقات صورت گرفته در زمینه استخراج عصاره گیاه بابونه نشان می‌دهد که عصاره‌ی آبی این گیاه نسبت به عصاره اتانولی فعالیت ضد اکسایشی بالاتری از خود نشان می‌دهد (Mohammad *et al.*, 2004). استخراج عصاره گیاه بابونه با کمک دی‌اکسید کربن فوق بحرانی نیز می‌تواند باعث افزایش کارایی استخراج برخی ترکیبات زیست فعال از جمله ماتریسین[5] شود (Diaz-Reinoso *et al.*, 2006). عصاره‌ی گل‌های بابونه به عنوان یک منبع غنی از ترکیبات زیست فعال، می‌تواند در فرمولاسیون غذاهای فراسودمند به ویژه در تهیه نوشیدنی‌های سلامتی بخش به کار رود. با وجود گزارش‌های متعدد درباره استخراج عصاره‌ی گل بابونه، تاکنون گزارشی در مورد تاثیر فرایندهای حرارتی و یا تغییر pH بر میزان ترکیبات فنلی و فعالیت ضد اکسایشی عصاره‌ی بابونه منتشر نشده است. بنابراین، هدف پژوهش حاضر امکان سنجی استفاده از پلی فنل‌های استخراج شده از گیاه بابونه به عنوان ترکیبات ضد رادیکالی و زیست فعال در فرمولاسیون غذاهای تیمار شده با حرارت و همچنین غذاهای اسیدی بود.

مواد و روش‌ها

- مواد

گل‌های بابونه از موسسه‌ی جهاد کشاورزی همدان خریداری شدند. کیت اندازه گیری فعالیت ضد اکسایشی به شماره‌ی C S0790 از شرکت Sigma – Aldrich، امریکا تهیه شد. معرف فولین- سیوکالتو[6] (مخلوط فسفومولیبدات و فسفوتنگستات) و اسید گالیک از شرکت Merck، آلمان

[1] High Performance Thin Layer Chromatography
[2] Apigenin
[3] Chamazulene
[4] Bisabolol
[5] Matricine
[6] Folin- Ciocalteu

www.SID.ir

Archive of SID

خریداری شدند. سایر مواد شیمیایی نیز با درجه خلوص آزمایشگاهی و از شرکت Merck آلمان تهیه گردیدند.

- تهیه عصاره آبی بابونه

به منظور استخراج عصاره آبی بابونه ابتدا گل‌های خشک شده با حذف خاشاک و ساقه و برگ‌ها کاملا پاک و سپس آسیاب شدند. میزان ۵۰ گرم پودر گل خشک شده در یک فلاسک شیشه‌ای درب دار ریخته شد و یک لیتر آب مقطر در حال جوش به آن اضافه گردید. سپس فلاسک به مدت یک شب در یک تکان دهنده انکوباتوری (مدل Gallenkamp Orbital شرکت Rankin Biomedical امریکا) با سرعت ۸۰ دور در دقیقه در دمای محیط نگهداری شد. عصاره‌ی حاصل طی دو مرحله ابتدا با کاغذ صافی و سپس با کاغذ واتمن شماره ۱ صاف شد و محلول زیر صافی عصاره‌ی اولیه نامیده شد. عصاره‌ی اولیه در خشک کن تصعیدی (مدل Lyovac GT 3 شرکت Leybold – Heraeus، آلمان) خشک گردید و پودر عصاره خشک شده در ۴ درجه‌ی سلسیوس نگهداری شد. برای هر آزمون مقدار مناسب از عصاره خشک شده در آب دوبار تقطیر حل شد و به نام عصاره بازسازی شده مورد استفاده قرار گرفت (Mohammad *et al.*, 2004).

- تعیین میزان ماده خشک عصاره اولیه

میزان حدود ۲ گرم از عصاره اولیه در یک پلیت شیشه‌ای با وزن مشخص، توزین شد و برای مدت ۲ ساعت در آون با دمای ۹۵ درجه‌ی سلسیوس قرار داده شد. سپس پلیت از اون خارج شده و پس از سرد کردن در دسیکاتور دوباره توزین گردید. اختلاف وزن دو توزین پلیت بیانگر مقدار ماده‌ی خشک موجود در عصاره اولیه است که بر اساس درصد ماده خشک عصاره اولیه بیان می‌گردد (Davidov-Pardo *et al.*, 2011).

- تیمار حرارتی عصاره بابونه

عصاره بازسازی شده با ۲/۱ درصد ماده خشک (برابر با میزان ماده خشک عصاره اولیه) در آب دوبار تقطیر تهیه شد. سپس حجم‌های مساوی از این عصاره بازسازی شده به وسیله دستگاه ترموبلاک در دماهای ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درجه سلسیوس و در حمام روغن در دماهای ۱۰۰ و ۱۲۰ درجه سلسیوس هر کدام به مدت ۵ و ۱۵ دقیقه حرارت داده شدند.

- تیمار اسیدی عصاره‌ی بابونه

ابتدا pH عصاره بازسازی شده (۲/۱ درصد ماده خشک) با pH متر اندازه‌گیری شد و سپس عصاره با چند قطره اسید کلریدریک ۱۲ مولار (برای جلوگیری از تغییر غلظت) تا pH ۲/۶ اسیدی شد. این عصاره اسیدی طبق روش ذکر شده در تیمار حرارتی از ۷۰ تا ۱۲۰ درجه سلسیوس به مدت ۵ یا ۱۵ دقیقه حرارت داده شد.

- تعیین میزان ترکیبات فنلی کل در عصاره بابونه

مقدار ترکیبات فنلی کل به روش فولین- سیوکالتو بر اساس روش اصلاح شده آن اندازه‌گیری شد (Singleton & Rossi, 1965). در این روش ۳۰ میکرولیتر عصاره بازسازی شده با ۲/۱ درصد ماده خشک با ۲/۳۷ میلی لیتر آب دوبار تقطیر مخلوط شد و ۱۵۰ میکرولیتر محلول فولین— سیوکالتو به آن اضافه گردید. نمونه‌ها به مدت ۸ دقیقه در دمای محیط قرار داده شدند و سپس ۴۵۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم ۲۰ درصد به آن ها اضافه گردید و پس از ۷۰ دقیقه نگهداری در دمای محیط (۳۰ درجه‌ی سلسیوس)، به وسیله اسپکتروفتومتر (UV/Visible مدل Lambda 25 شرکت Perkin Elmer Precisely، امریکا) شدت جذب در طول موج ۷۶۰ نانومتر در مقابل شاهد خوانده شد. نتایج بر اساس منحنی درجه‌بندی ($y = ۰/۰۰۵۴۹ + ۰/۰۰۱۲۲x$) ($r^2 = 99.9\ \%$) معادل میلی گرم اسید گالیک در لیتر بیان گردید.

- تعیین میزان فعالیت ضد اکسایشی پودر عصاره بابونه

میزان فعالیت ضد اکسایشی عصاره به وسیله کیت ویژه اندازه‌گیری شد. در این کیت، اندازه‌گیری فعالیت ضد اکسایشی بر مبنای تشکیل رادیکال فریل میوگلوبین از مت میوگلوبین در حضور پراکسید هیدروژن است که معرف ABTS [۲و ´ ۲ – آزینو- بیس (۳- اتیل بنزتیازولین – ۶- سولفونیک اسید)] را اکسید کرده و رادیکال $ABTS^{\bullet+}$ که یک ترکیب محلول سبز رنگ است تشکیل می‌دهد و

www.SID.ir

Archive of SID

این ترکیب رنگی به روش اسپکتروفتومتری در ۴۰۵ نانومتر قابل تشخیص است.

ترکیبات ضد اکسایشی از تولید رادیکال کاتیونی جلوگیری کرده و شدت رنگ متناسب با افزایش غلظت ترکیب ضد اکسایشی کاهش می‌یابد. ترولوکس[1]™ (۶-هیدروکسی-۲و۵ و ۷و۸ – تترامتیل کرومان – ۲-کربوکسیلیک اسید) یک مشتق محلول در آب ویتامین E می‌باشد که به عنوان ماده ضد اکسایش استاندارد در این کیت به کار رفته است و فعالیت ضد اکسایشی بر مبنای معادل میلی مول غلظت ترولوکس گزارش می‌شود (Re *et al.*, 1999). نمونه‌ها در پور پلیت ۹۶ چاهکی آماده سازی شدند. معادله‌ی خط رگرسیون برای منحنی استاندارد به شرح زیر به دست آمد (R^2= 99.9%).

$$y = ۰/۸۴۲ - ۱/۶۹x$$

در این معادله y شدت جذب و x غلظت ترولوکس به میلی مول است. بنابراین برای تعیین میزان فعالیت ضد اکسایشی بر مبنای معادل ترولوکس از فرمول زیر استفاده شده است.

$$x = \frac{\text{شدت جذب} - 0{,}842}{-1{,}69}$$

- پایداری عصاره بابونه طی نگهداری

برای اندازه‌گیری میزان پایداری عصاره بابونه طی نگهداری، ۱۰میلی لیتر عصاره بازسازی شده با ۲/۱ درصد ماده خشک در آب دوبار تقطیر تهیه شد. سپس این عصاره به دو بخش تقسیم شده و یک قسمت آن با pH طبیعی در دمای محیط (۳۰ درجه سلسیوس) نگهداری شد. قسمت دوم با چند قطره اسید کلریدریک ۱۲ نرمال تا pH ۲/۶ پایین آورده شده و در دمای محیط نگهداری شد. از این دو عصاره بازسازی شده در زمان‌های صفر، ۴، ۱۲، ۱۹ و ۲۵ روز نمونه برداری شده و میزان ترکیبات فنلی کل به روش فولین- سیوکالتو اندازه‌گیری شد.

- تجزیه و تحلیل آماری

اختلاف بین تیمارهای مختلف، بر اساس طرح آماری کاملا تصادفی با استفاده از تحلیل واریانس (ANOVA) در سطح احتمال ۵٪ تعیین شد. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام گرفت. داده‌های ارایه شده میانگین ± انحراف معیار تکرارها (حداقل ۳ تکرار) می باشند.

یافته‌ها

- ترکیبات فنلی کل عصاره بابونه

عصاره تهیه شده به رنگ زرد مایل به قهوه‌ای و دارای بوی خاص بابونه بود. میزان ماده خشک موجود در عصاره‌ی اولیه ۲/۱ درصد وزنی/وزنی به دست آمد. برای تعیین میزان ترکیبات فنلی کل در عصاره خشک شده و بررسی اثر دما بر آن‌ها، عصاره خشک شده با غلظت ۲/۱ درصد وزنی/ وزنی بازسازی شد. بر این اساس مقدار ترکیبات فنلی کل در عصاره‌ی اولیه و عصاره بازسازی شده به ترتیب ۵۱۶ و ۵۱۵ میلی گرم در لیتر معادل اسید گالیک بود. به این ترتیب فرایند خشک کردن با خشک کن تصعیدی تاثیری بر میزان ترکیبات فنلی کل نداشت.

- تاثیر حرارت دهی و اسیدی کردن عصاره بابونه بر میزان ترکیبات فنلی کل

در جدول ۱ تاثیر حرارت دهی عصاره‌ی بازسازی شده در pH طبیعی آن که برابر ۵/۶ است و در pH اسیدی ۲/۶ نشان داده شده است. حرارت دهی عصاره به مدت ۵ یا ۱۵ دقیقه در pH طبیعی آن تاثیری بر میزان ترکیبات فنلی کل نداشت (p>0.05). همچنین حرارت دهی در pH ۲/۶ به مدت ۵ یا ۱۵ دقیقه نیز اختلاف معنی‌داری را در غلظت کل ترکیبات فنلی نشان نداد.

- تاثیر حرارت دهی عصاره بابونه بر فعالیت ضد اکسایشی

همان طور که گفته شد عصاره بابونه دارای فعالیت ضد اکسایشی می‌باشد که این فعالیت به طور عمده به ترکیبات پلی فنلی موجود در آن نسبت داده می‌شود. میزان فعالیت ضد اکسایشی در عصاره اولیه معادل ۱/۷۰ میلی مول ترولوکس بوده و پس از خشک کردن تصعیدی میزان فعالیت در عصاره بازسازی شده معادل ۱/۶۶ میلی مول ترولوکس به دست آمد. بنابراین خشک کردن تاثیری بر

[1] Trolox

www.SID.ir

Archive of SID

میزان فعالیت ضد اکسایشی نداشته است. برای بررسی اثر حرارت بر فعالیت ضد اکسایشی، عصاره بازسازی شده در دماهای ۷۰، ۸۰ و ۹۰، ۱۰۰ و ۱۲۰ درجه سلسیوس به مدت ۵ یا ۱۵ دقیقه حرارت دهی شد. در جدول ۲ تاثیر حرارت دهی بر فعالیت ضد اکسایشی عصاره بازسازی شده نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، با حرارت دهی از ۷۰ تا ۱۲۰ درجه سلسیوس، میزان فعالیت ضد اکسایشی کاهش پیدا کرد و این کاهش فعالیت با مدت زمان حرارت دهی رابطه مستقیم داشت. این شرایط حرارت دهی مشابه شرایطی است که برای پاستوریزاسیون و استریلیزاسیون مواد غذایی به کار می رود.

جدول ۱- تاثیر حرارت دهی عصاره بازسازی شده بابونه در pH ۵/٦ و pH ۲/٦ به مدت ۵ و ۱۵ دقیقه بر ترکیبات فنلی کل

ردیف	pH	زمان (دقیقه)	دما (درجه ی سلسیوس)	غلظت فنل (میلی گرم اسید گالیک در لیتر)
۱	۵/۶	۵	۷۰	۵۳۲/۱ ± ۶/۱[a]
۲	۵/۶	۵	۸۰	۵۳۴/۰ ± ۶/۲[a]
۳	۵/۶	۵	۹۰	۵۳۵/۲ ± ۵/۸[a]
۴	۵/۶	۵	۱۰۰	۵۴۱/۸ ± ۴/۴[a]
۵	۵/۶	۵	۱۲۰	۵۳۳/۶ ± ۸/۰[a]
۶	۵/۶	۱۵	۷۰	۵۳۳/۹ ± ۴/۰[a]
۷	۵/۶	۱۵	۸۰	۵۳۶/۱ ± ۵/۵[a]
۸	۵/۶	۱۵	۹۰	۵۳۶/۹ ± ۶/۶[a]
۹	۵/۶	۱۵	۱۰۰	۵۴۸/۱ ± ۲/۴[a]
۱۰	۵/۶	۱۵	۱۲۰	۵۴۰/۳ ± ۵/۱[a]
۱۱	۲/۶	۵	۷۰	۴۹۴/۳ ± ۵/۸[b]
۱۲	۲/۶	۵	۸۰	۴۹۶/۷ ± ۵/۸[b]
۱۳	۲/۶	۵	۹۰	۴۹۹/۰ ± ۹/۸[b]
۱۴	۲/۶	۵	۱۰۰	۵۰۵/۴ ± ۹/۵[b]
۱۵	۲/۶	۵	۱۲۰	۵۰۴/۷ ± ۶/۲[b]
۱۶	۲/۶	۱۵	۷۰	۴۹۵/۶ ± ۱۰/۰[b]
۱۷	۲/۶	۱۵	۸۰	۴۹۷/۸ ± ۶/۵[b]
۱۸	۲/۶	۱۵	۹۰	۵۰۲/۰ ± ۳/۴[b]
۱۹	۲/۶	۱۵	۱۰۰	۵۰۸/۶ ± ۳/۷[b]
۲۰	۲/۶	۱۵	۱۲۰	۵۰۴/۵ ± ۶/۸[b]

نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده و اعداد دارای حروف بالا نویس یکسان از نظر آماری اختلاف معنی داری با هم ندارند ($p > ۰/۰۵$).

جدول ۲- اثر حرارت دهی عصاره بابونه بر فعالیت آنتی اکسیدانی

زمان (دقیقه)	دما (درجه سلسیوس)	فعالیت ضد اکسایشی (میلی مول ترولوکس)
۵	۷۰	۱/۵۴۷ ± ۰/۰۳۷[a]
	۸۰	۱/۳۲۴ ± ۰/۰۶۶[b]
	۹۰	۱/۲۸۱ ± ۰/۰۱۷[c]
	۱۰۰	۱/۱۰۱ ± ۰/۰۳۲[d]
	۱۲۰	۱/۰۲۱ ± ۰/۰۵۰[e]
۱۵	۷۰	۱/۴۷۷ ± ۰/۰۳۴[d]
	۸۰	۱/۰۵۲ ± ۰/۰۴۱[e]
	۹۰	۰/۷۶۴ ± ۰/۰۵۲[f]
	۱۰۰	۰/۶۵۷ ± ۰/۰۱۳[g]
	۱۲۰	۰/۴۳۹ ± ۰/۰۴۸[h]

نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده و اعداد دارای حروف بالانویس متفاوت از نظر آماری تفاوت معنی‌داری دارند ($p < ۰/۰۵$).

www.SID.ir

Archive of SID

- تاثیر نگهداری بر میزان ترکیبات فنلی کل

طی نگهداری عصاره بابونه بازسازی شده میزان ترکیبات فنلی کل در نمونه عصاره دارای pH طبیعی (۵/۶) افزایش یافت، در حالی که میزان این ترکیبات در نمونه عصاره اسیدی تر در pH ۲/۶ ثابت باقی ماند و تغییر معنی‌داری نداشت. در جدول۳ تاثیر نگهداری در pHهای ۵/۶ و ۲/۶ بر میزان ترکیبات فنلی کل در عصاره بابونه گزارش شده است.

بحث

- ترکیبات فنلی کل عصاره بابونه

مقدار ترکیبات فنلی کل به دست آمده در این پژوهش برابر با مقداری است که توسط Harbourne و همکاران (۲۰۰۹) برای استخراج در ۱۰۰ درجه سلسیوس (۱۳ میلی‌گرم در گرم) گزارش شده اما بیشتر از مقداری است که توسط Carnat و همکاران (۲۰۰۴) برای دمنوش بابونه گزارش شده است. Carnat و همکاران (۲۰۰۴) مقدار ترکیبات فنلی کل را ۳۴۰ میلی گرم در لیتر گزارش کرده‌اند که به ترتیب شامل حدود ۲۳۶ میلی‌گرم در لیتر فلاونوییدها و حدود ۱۰۵ میلی‌گرم در لیتر مشتقات هیدروکسی سینامینی بود.

- تاثیر حرارت دهی و اسیدی کردن عصاره بابونه بر میزان ترکیبات فنلی کل

نتایج این بخش (جدول ۱) با یافته‌های Palencia-Pacheco و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت دارد. آن‌ها دریافتند که حرارت‌دهی ادویه‌های آکای[1] در ۸۰ درجه سلسیوس تا ۶۰ دقیقه تاثیری بر میزان پلی فنل‌های غیر آنتوسیانینی موجود در این ادویه‌ها شامل فلاون‌های گلیکوزیدی، مشتق‌های فلاونول و اسید فنولیک ندارد و میزان این ترکیبات تقریبا ثابت باقی مانده است. اسیدی‌تر کردن عصاره در پژوهش حاضر باعث کاهش ۱۰ درصدی میزان کل ترکیبات فنلی شد. این کاهش میزان ترکیبات فنلی کل در pH اسیدی احتمالا ناشی از تخریب و تجزیه ترکیبات فنلی در شرایط بسیار اسیدی می‌باشد. شرایطی که در اغلب نوشابه‌های گازدار و نیز در معده وجود دارد. Svehlikova و همکاران (۲۰۰۴) نیز کاهش میزان دو مشتق آپیجنین – ۷– گلیکوزید به نام‌های آپیجنین –۷– O– (''۶ – مالونیل)– گلیکوزید و آپیجنین –۷– O– (''۴ – استیل، ''۶ – مالونیل)– گلیکوزید را طی نگهداری به مدت ۳۰ روز در pH ۲ در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در عصاره بابونه گزارش نمودند.

- تاثیر حرارت دهی عصاره بابونه بر فعالیت ضد اکسایشی

یافته‌های این بخش (جدول ۲) با نتایج Davidov-Pardo و همکاران (۲۰۱۱)، مطابقت دارد. آن‌ها دریافتند که با حرارت دهی، میزان فعالیت ضداکسایشی عصاره هسته انگور کاهش می‌یابد. همچنین Svehlikova و

جدول ۳- تاثیر نگهداری بر میزان ترکیبات فنلی کل در عصاره بابونه

pH	زمان (روز)	غلظت (میلی گرم اسید گالیک در لیتر)
۲/۶	صفر	۵۰۸/۶ ± ۹/۲[a]
	۴	۵۰۶/۲ ± ۸/۵[a]
	۱۲	۵۱۴/۸ ± ۴/۶[a]
	۱۹	۵۱۹/۰ ± ۱۲/۸[a]
	۲۵	۵۰۹/۹ ± ۸/۲[a]
۵/۶	صفر	۵۱۵/۰ ± ۵/۹[b]
	۴	۵۲۶/۳ ± ۸/۰[c]
	۱۲	۵۵۶/۲ ± ۵/۵[d]
	۱۹	۵۸۰/۲ ± ۶/۳[e]
	۲۵	۵۹۳/۹ ± ۴/۵[f]

نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده و اعداد دارای حروف بالانویس متفاوت از نظر آماری تفاوت معنی‌داری دارند ($p<0/05$).

[1] Açai

www.SID.ir

Archive of SID

همکاران (۲۰۰۴) دریافتند که با افزایش دما میزان تخریب فلاونوییدها در عصاره بابونه افزایش می‌یابد. از میان ترکیبات فنلی موجود در عصاره بابونه فعالیت ضد اکسایشی آن عمدتا به فلاونوییدها و به طور ویژه به آپیجنین ۷-گلیکوزید و مشتقات آن نسبت داده می‌شود، بنابراین با تخریب فلاونوییدها میزان فعالیت ضد اکسایشی هم کاهش می‌یابد و هر چه شدت حرارت دهی بیشتر باشد، در نتیجه میزان تخریب هم بیشتر بوده و فعالیت ضد اکسایشی با شدت بیشتری کاهش می‌یابد (Srivastava *et al.*, 2009).

از مقایسه یافته‌های مربوط به میزان کل ترکیبات پلی فنل و فعالیت ضد اکسایشی چنین برمی‌آید که حرارت دهی عصاره بابونه تاثیری بر میزان کل ترکیبات فنلی ندارد، اما سبب کاهش فعالیت ضد اکسایشی می‌گردد. دلیل این پدیده را می‌توان ناشی از این امر دانست که با حرارت دهی عصاره بابونه، احتمالا همه ترکیبات فنلی موجود در عصاره رفتار یکسانی از خود نشان نمی‌دهند. Ayusuk و همکاران (۲۰۰۹) در تحقیقی در مورد تاثیر تیمار حرارتی بر ویژگی‌های ضد اکسایشی سس «تام - خا[1]» و گیاهان و ادویه‌های به کار رفته در آن دریافتند که در اثر حرارت دهی در ۱۰۰ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۰ تا ۳۰ دقیقه، میزان ترکیبات فنلی کل مثلا در گالانگال[2]- نوعی ادویه از خانواده زنجبیل - افزایش یافته در حالی که مقدار آن ها در فلفل قرمز کاهش می‌یابد. این احتمال نیز وجود دارد که حرارت دهی سبب تخریب و آبکافت بعضی از فلاونوییدها و تبدیل آن‌ها از شکل گلیکوزیدی به شکل آگلیکونی شود. چنین تغییر ساختاری توسط Deng و همکارن (۲۰۱۱) گزارش شد که مشاهده کردند حرارت‌دهی و بودادن برگ‌های نونی[3] سبب تبدیل شکل گلیکوزیدی فلاونوییدها به شکل آگلیکونی آن‌ها شده و این تبدیل کاملا بستگی به زمان و دمای حرارت دهی دارد. به علاوه ممکن است برخی ترکیبات فنلی پلیمریزه و یا اپیمریزه[4] شوند. چنین تغییراتی در ساختار پلی فنل‌های مختلف توسط Davidov-Pardo و همکاران (۲۰۱۱)، در عصاره هسته انگور گزارش شد. آن‌ها مشاهده کردند که برخی از ترکیبات فنلی مانند کاتچین در اثر حرارت دهی بدون تغییر باقی می‌مانند، برخی از اپیمرهای کاتچین مانند اپی‌کاتچین در اثر حرارت دهی عصاره کاهش یافته و گالوکاتچین در اثر اپیمریزه شدن اپی‌گالوکاتچین افزایش یافته است. همچنین میزان اسید گالیک روند افزایشی داشته است. با این حال ترکیبات فنلی که فعالیت ضد اکسایشی بیشتری داشته‌اند نسبت به ترکیبات فنلی با فعالیت ضد اکسایشی کمتر، در اثر حرارت تخریب بیشتری داشته‌اند که سبب شده در مجموع فعالیت ضد اکسایشی کاهش یابد.

- تاثیر نگهداری بر میزان ترکیبات فنلی کل

روند افزایشی میزان ترکیبات فنلی کل در pH طبیعی عصاره طی ۲۵ روز نگهداری در دمای محیط (۵ ± ۲۵ درجه‌ی سلسیوس) نشان می‌دهد که میزان ترکیبات فنلی قابل اندازه‌گیری با گذشت زمان افزایش یافته است. زیرا احتمالا برخی ترکیبات فنلی در عصاره در پیوند با سایر ترکیبات محلول در آب موجود در عصاره هستند که با گذشت زمان اتصال آن‌ها شکسته شده و این ترکیبات قابلیت اندازه گیری پیدا کرده‌اند. اما وقتی عصاره در شرایط بسیار اسیدی در pH ۲/۶ نگهداری شد، با توجه به تخریب و کاهشی که در اثر شرایط بسیار اسیدی در ترکیبات فنلی رخ می‌دهد، این کاهش و آن افزایش یکدیگر را خنثی کرده، میزان ترکیبات فنلی کل بدون تغییر باقی ماند. اثر نگهداری طولانی مدت عصاره بابونه توسط Srivastava و همکاران (۲۰۰۹) بررسی شد. آن‌ها گزارش کردند که طی نگهداری طولانی عصاره آبی بابونه، رسوب جزیی در نمونه‌ها دیده شد و غلظت شکل آزاد آگلیکونی آپیجنین در رسوب افزایش یافت. همچنین نتایج اندازه‌گیری ترکیبات فنلی با کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) توسط این محققین نشان داد که شدت پیک آپیجنین-۷-گلوکزید پس از نگهداری کاهش می‌یابد و پیک‌های دیگری در زمان تاخیر ۱/۴ تا ۱/۸ دقیقه مشاهده شدند. همچنین شدت پیک آپیجنین-۷-گلوکوزید در محلول استاندارد این ترکیب که در شرایطی مشابه شرایط عصاره آبی نگهداری شده بود کاهش یافته و شدت پیک مربوط به آپیجنین افزایش یافت. این یافته‌ها ثابت می‌کند که با نگهداری میزان شکل آگلیکونی افزایش می‌یابد.

نتیجه‌گیری

[1] Tom-Kha Paste [2] Galangal [3] Noni Leaves [4] Epimerisation

www.SID.ir

Archive of SID

مهار واکنش‌های اکسیداتیو در مواد غذایی از مهمترین مسائلی است که در حوزه صنعت غذا به آن پرداخته می‌شود. در این میان ترکیبات پلی فنلی ضد رادیکال موجود در عصاره برخی گیاهان بعنوان گزینه‌ای مناسب برای جایگزینی ضداکسایش‌های سنتزی رایج در فرمولاسیون مواد غذایی مطرح هستند. از این رو بررسی قدرت ضد اکسایشی ترکیبات پلی فنل موجود در عصاره‌ی گیاهان و مقاومت این ترکیبات نسبت به شرایط فرایند و نگهداری مواد غذایی حائز اهمیت می‌باشد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که پلی فنل‌های موجود در عصاره آبی گیاه بابونه نسبت به فرایند حرارتی مقاوم هستند. اما قدرت ضد اکسایشی عصاره با اعمال حرارت کاهش می‌یابد. با این وجود می‌توان اظهار نمود که ترکیبات فنلی موجود در عصاره این گیاه مقاومت حرارتی بالایی دارند و پس از فرایند پاستوریزاسیون خاصیت ضد اکسایشی قابل توجهی از خود نشان می‌دهند. همچنین ترکیبات فنلی این گیاه در برابر نگهداری طولانی مدت در pH اسیدی مقاوم بودند. پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی رفتار پلی‌فنل‌های گیاه بابونه به طور مستقیم در مواد غذایی بررسی شود چراکه قطعا ماتریکس مواد غذایی محیط‌های پیچیده‌ای بوده و ممکن است خواص پلی فنل‌های این گیاه را تحت تاثیر قرار دهند.

منابع

Agatonovic-Kustrin, S., Ortakand, D. B., Morton, D. W. & Yusof, A. P. (2015). Rapid evaluation and comparison of natural products and antioxidant activity in calendula, feverfew, and German chamomile extracts. *Journal of Chromatography A*, 1385, 103-110.

Ayusuk, S., Siripongvutikorn, S., Thummaratwasik, P. & Usawakesmanee, W. (2009). Effect of heat treatment on antioxidant properties of Tom-Kha paste and herbs/spices used in Tom-Kha paste. *Kasetsart Journal (Natural Science)*, 43(5), 305-312.

Branen, A. L. (1975). Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 52(2), 59-63.

Braun, L. & Cohen, M. (2015). *Herbs and Natural Supplements, Volume 2: An Evidence-Based Guide* (Vol. 2). Elsevier Health Sciences.

Carnat, A., Carnat, A. P., Fraisse, D., Ricoux, L. & Lamaison, J. L. (2004). The aromatic and polyphenolic composition of Roman camomile tea. *Fitoterapia*, 75(1), 32-38.

Davidov-Pardo, G., Arozarena, I. & Marín-Arroyo, M. R. (2011). Stability of polyphenolic extracts from grape seeds after thermal treatments. *European Food Research and Technology*, 232(2), 211-220.

Deng, S., West, B. J. & Jensen, C. J. (2011). Thermal degradation of flavonol glycosides in noni leaves during roasting. *Advance J Food Sci Technology*, 3(2), 155-159.

Díaz-Reinoso, B., Moure, A., Domínguez, H. & Parajó, J. C. (2006). Supercritical CO2 extraction and purification of compounds with antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(7), 2441-2469.

Harbourne, N., Jacquier, J. C. & O'Riordan, D. (2009). Optimisation of the extraction and processing conditions of chamomile (Matricaria chamomilla L.) for incorporation into a beverage. *Food Chemistry*, 115(1), 15-19.

McKay, D. L. & Blumberg, J. B. (2006). A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (Mentha piperita L.). *Phytotherapy Research*, 20(8), 619-633.

Mohammad Al-Ismail, K. & Aburjai, T. (2004). Antioxidant activity of water and alcohol extracts of chamomile flowers, anise seeds and dill seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(2), 173-178.

Pacheco-Palencia, L. A., Duncan, C. E. & Talcott, S. T. (2009). Phytochemical composition and thermal stability of two commercial açai species, Euterpe oleracea and Euterpe precatoria. *Food chemistry*, 115(4), 1199-1205.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9), 1231-1237.

Singleton, V. L. & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.

Srivastava, J. K., Pandey, M. & Gupta, S. (2009). Chamomile, a novel and selective COX-2 inhibitor with anti-inflammatory activity. *Life sciences*, 85(19), 663-669.

Švehlíková, V., Bennett, R. N., Mellon, F. A., Needs, P. W., Piacente, S., Kroon, P. A. & Bao, Y. (2004). Isolation, identification and stability of acylated derivatives of apigenin 7-O-glucoside from chamomile (Chamomilla recutita [L.] Rauschert). *Phytochemistry*, 65(16), 2323-2332.

Williams, G. M., Iatropoulos, M. J. & Whysner, J. (1999). Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives. *Food and Chemical Toxicology*, 37(9), 1027-1038.

www.SID.ir