



## فصل نامه داروهای گیاهی

journal homepage: [www.ihd.iaushk.ac.ir](http://www.ihd.iaushk.ac.ir)



### اندازه گیری میزان ترکیبات فنولیک در کیک اسفنجی حاوی برگ گیاه بادرنجبویه

نداسادات نوری زاده\*<sup>۱</sup>، جواد کرامت<sup>۲</sup>، محمد حجت الاسلامی<sup>۱</sup>

۱. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران؛

۲. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران؛

\*مسئول مکاتبات (E-mail: [nnurizadeh@yahoo.com](mailto:nnurizadeh@yahoo.com))

| شناسه مقاله   | چکیده   |
|---|---|
| تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۱۱/۱۰<br>تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۱۲/۲۶<br>نوع مقاله: علمی - پژوهشی کوتاه<br>موضوع: گیاهان دارویی و صنایع غذایی | مقدمه و هدف: امروزه اکثر مصرف کنندگان مصرف غذاهای سالم تر را ترجیح می دهند. به این منظور صنعت و محققان به دنبال بهبود کیفیت، طعم، و تنوع محصولات می باشند. گیاهان دارویی و ادویه ها غنی از ترکیبات فنولیک می باشند و توجه صنعت غذا را به خود جلب کرده اند. زیرا می توانند کیفیت و ارزش تغذیه ای غذا را بهبود بخشند. بادرنجبویه نوعی گیاه دارویی آروماتیک بادوام است که حاوی ترکیبات فنولیک فراوان می باشد. از آن جا که بیشتر ماده موثره بادرنجبویه در برگ های آن است بهتر است که فقط برگ های آن مورد استفاده قرار گیرند تا میزان ماده موثره حاصله بیشتر باشد. در این تحقیق به بررسی اثر جایگزینی آرد با پودر برگ گیاه بادرنجبویه بر خواص کیک اسفنجی پرداخته شد. روش تحقیق: نمونه های کیک حاوی غلظت های مختلف گیاه (۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ درصد) به همراه نمونه شاهد مطابق با استاندارد تهیه کیک اسفنجی تولید گردید. سپس میزان ترکیبات فنولیک به وسیله دستگاه HPLC مورد ارزیابی قرار گرفت. |
| کلید واژگان:<br>✓ کیک اسفنجی<br>✓ گیاه بادرنجبویه<br>✓ ترکیبات فنولیک<br>✓ HPLC   | نتایج و بحث: نتایج نشان داد که افزودن گیاه تا سطح ۷/۵ درصد از نظر مصرف کننده قابل پذیرش است و این نوع کیک به عنوان محصولی با میزان ترکیبات فنولیک بیشتر قابل توصیه می باشد. توصیه کاربردی/صنعتی: در نهایت می توان توصیه کرد که جهت افزایش خواص سلامتی کیک، می توان از گیاه بادرنجبویه تا سطح ۷/۵ درصد استفاده کرد.  |

در این زمینه پرداختند. به دنبال این تحقیقات غذاهای فراسودمند

#### ۱. مقدمه

مطرح شدند. غذای فراسودمند به غذایی گفته می شود که علاوه بر ارزش تغذیه ای دارای اثرات دارویی و سلامتی برای مصرف کننده باشد (Grajek et al., 2005).

ترکیبات فنولیک دارای اثرات بیولوژیکی متعدد مانند جلوگیری از اکسیداسیون، محافظت از DNA در برابر آسیب اکسیداتیو، ضد موتاسیون، ضد ترومبوز می باشد. به علاوه ترکیبات فنولیک دارای خصوصیات آنتی اکسیدانی زیادی می باشند و مواد غذایی غنی از

غذا در ابتدا فقط به عنوان منبع انرژی مطرح بود اما در دهه گذشته دانش زیادی درباره نقش غذا در بهبود سلامتی بشر حاصل شد. مصرف کنندگان به ارتباط بین غذا و سلامتی بیشتر پی بردند و تقاضای آن ها در زمینه تولید غذا به طور قابل ملاحظه ای تغییر یافت. امروزه غذاها فقط به عنوان برطرف کننده گرسنگی و تأمین کننده مواد مغذی لازم برای انسان ها نیستند بلکه از بیماری های مربوط به غذا جلوگیری کرده و توانایی ذهنی و فیزیکی مصرف کنندگان را بهبود می دهد (Siro et al., 2008). تحقیقات علمی به عملکرد غذا

که همراه با سیترال<sup>۳</sup> (۳۰-۱۰ درصد) است. سیترال در حقیقت حاوی دو ترکیب به نام‌های سیترال a (ژرانیال<sup>۴</sup>) و سیترال b (نرال<sup>۵</sup>) است که به نسبت ۴ به ۳ وجود دارند. بادرنجبویه علاوه بر این حاوی حدود ۴ درصد اسید رزمارینیک (که به عنوان تانن نعنایان شناخته می‌شود)، اسیدهای فنولیک، تری‌ترین‌ها گلیکوزیدهای مونوترپن و فلاونوئیدها می‌باشد (Safaiekhoram et al., 2010).

اگر چه ترکیبات شیمیایی شامل ژرانیول<sup>۶</sup> (بوی رز) و لینالول<sup>۷</sup> (بوی سنبل) در خوش بویی آن نقش دارند اما بو و طعم لیمویی آن به میزان زیادی مربوط به سیترال و سیترونلال می‌باشد. بادرنجبویه دارای تانن‌ها است که تند و تیز و گس‌کننده و دارای اثرات ضد ویروسی هستند و انگول استات<sup>۸</sup> که یکی از ترکیبات مسئول اثر ضد اسپاسمی بادرنجبویه می‌باشد (Meyers, 2007). هم‌چنین این گیاه دارای یک ماده تلخ، کامفر، قندهای مختلف، مواد رزینی و مواد پکتیکی می‌باشد (Farhani & Najafi, 2012). این گیاه حاوی ۳۲ درصد فیبر در ۹۱ درصد ماده خشک می‌باشد (Nobakht & Moghaddam, 2012).

این گیاه به فرم‌های پودر خشک شده، عصاره و یا در فرآورده های گیاهی رسمی مورد استفاده قرار می‌گیرد و تا به حال هیچ گونه عارضه جانبی از این گیاه به فرم دارو و یا گیاه خشک آن گزارش نشده است. این گیاه، جزء گیاهان دارویی ایمن می‌باشد و در لیست GRAS<sup>۹</sup> قرار دارد (Scientific Opinion, 2010).

بادرنجبویه نوعی گیاه دارویی آروماتیک بادوام است و برگ آن به علت طعم و آرومای لیمویی به طور گسترده در غذا استفاده می‌شود (Safaiekhoram et al., 2010). بادرنجبویه، گیاه دارویی آشپزخانه ای شگفت‌آوری است که به عنوان چاشنی در انواع مختلف غذاها از نوشیدنی‌ها تا پیش غذا، غذای اصلی و دسرها کاربرد دارد (Meyers, 2007).

ترکیبات فنولیک دارای خواص دارویی می‌باشند (Shalashvili et al., 2012).

سالیانه مقدار زیادی پراکسید و گونه‌های دیگری از اکسیژن فعال در بدن انسان‌ها تولید شده و باعث ایجاد بیماری‌های زیادی می‌شوند مکانیسم‌های دفاعی متعددی مانند سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون اثر آن‌ها را در بدن خنثی می‌کند. اما این سیستم محافظت کافی در برابر بیماری‌ها ایجاد نمی‌کند. به همین دلیل استفاده از مواد غذایی حاوی ترکیبات فنولیک در این زمینه حائز اهمیت می‌باشد. گیاهان دارویی و ادویه‌ها غنی از ترکیبات فنولیک می‌باشند و توجه صنعت غذا را به خود جلب کرده‌اند زیرا می‌توانند کیفیت و ارزش تغذیه‌ای غذا را بهبود بخشند (Shahidi, 2007).

بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) گیاهی علفی، پایا، پرشاخه و پرپشت و از خانواده نعنائیان<sup>۱</sup> می‌باشد. برگ‌های گیاه بیضی یا قلبی شکل، متقابل و دنداندار با دندان‌های فاصله‌دار از هم است. برگ‌ها ممکن است نرم یا مقداری کرکین باشد. منشأ این گیاه شرق مدیترانه و جنوب اروپا گزارش شده است. طبیعت این گیاه گرم و خشک است (Meyers, 2007). رنگ برگ‌ها معمولاً در سطح فوقانی سبز تیره و در سطح تحتانی سبز روشن می‌باشد. ساقه‌ها چهار گوش و مستقیم هستند و به ندرت اتفاق می‌افتد که به صورت خوابیده روی زمین قرار بگیرند و ریشه‌ها به رنگ قهوه ای و از روی استولون‌ها خارج می‌شوند. برگ‌ها پس از برداشت برای جلوگیری از خشک شدن باید به سرعت با خشک‌کن‌های الکتریکی و با دمای ۴۵-۵۰ درجه خشک شوند. از آن جا که بیشتر ماده موثره بادرنجبویه در برگ‌های آن است بهتر است که فقط برگ‌های آن مورد استفاده قرارگیرند تا میزان ماده موثره حاصله بیشتر باشد (Farhani & Najafi, 2012).

بادرنجبویه شامل روغن‌های فرار، ترکیبات فنولیک روغن‌های فرار، مشتق کافئیک اسید (رزمارینیک اسید)، فلاونوئیدها، فنولیک اسید و اسیدهای تری‌ترین می‌باشد که دو ترکیب آخر به عنوان آنتی‌اکسیدان شناخته شده‌اند (Herodes et al., 2002).

بادرنجبویه شامل حداقل ۰/۰۵ درصد اسانس روغنی است و ماده موثره اصلی این گیاه سیترونلال<sup>۲</sup> (حدود ۳۰-۴۰ درصد) است

۳-Citral

۴-Geraniol

۵-Neral

۶-Geraniol

۷-Linalool

۸-Eugenol acetate

۹-Generally Recognized as Safe

۱-Lamiaceae

۲-Citronellal

تنظیم شد. ستون مورد استفاده C18 reverse-phase ساخت کشور کره جنوبی با طول ۱۵ سانتیمتر و قطر داخلی ۴/۶ میلی متر که اندازه ذرات آن ۵ میکرومتر بود. ظرفیت لوپ مورد استفاده و مقدار نمونه تزریق شده ۲۰ میکرولیتر بود.

### ۲-۳-۲. کالیبراسیون محلول استاندارد خارجی (تیروزول و سیرینجیک اسید)<sup>۱۱</sup>

۰/۰۳ گرم تیروزول و ۰/۱۵ گرم سیرینجیک اسید به بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری منتقل شد و با محلول متانول / آب (۲۰/۸۰) حجمی- حجمی به حجم رسانده شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از آن به بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری منتقل شد و دوباره با محلول متانول / آب (۲۰/۸۰) حجمی- حجمی به حجم رسانده شد. غلظت نهایی محلول شامل ۰/۰۳ میلی گرم بر میلی لیتر سیرینجیک اسید و ۰/۱۵ میلی گرم بر میلی لیتر تیروزول است.

### ۲-۳-۳. آماده سازی محلول استاندارد داخلی (سیرینجیک اسید)

۰/۱۵ گرم سیرینجیک اسید در بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری ریخته شد و با محلول متانول / آب (۲۰/۸۰) حجمی- حجمی به حجم رسانده شد. سپس ۱ میلی لیتر از محلول به بالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتری منتقل شد و با محلول متانول / آب (۲۰/۸۰) حجمی- حجمی به حجم رسانده شد. در نهایت غلظت نهایی محلول ۰/۱۵ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد.

### ۲-۳-۴. آماده سازی نمونه

۱/۰۲۰۷ گرم از نمونه آسیاب و به لوله در پیچ دار ۱۰ میلی لیتری منتقل شد، سپس ۱ میلی لیتر از محلول استاندارد داخلی به آن افزوده شد و با قراردادن درب لوله به مدت ۳۰ دقیقه تکان داده شد بعد از آن، ۵ میلی لیتر محلول متانول / آب (۲۰/۸۰) حجمی- حجمی اضافه کرده و به مدت ۱ دقیقه دیگر تکان داده سپس به مدت ۱۵ دقیقه در حمام اولتراسونیک در دمای محیط قرار داده و بعد از آن به مدت ۲۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ کرده، در نهایت، فاز رویی را با کمک سرنگ ۵ میلی لیتری و با فیلتر PVDF ۰/۴۵ میکرومتری فیلتر شد. بعد از اعمال برنامه شویش دستگاه، ۲۰ میکرولیتر از محلول استاندارد خارجی

لذا باتوجه به ارزش دارویی و غذایی بادرنجبویه، تحقیق حاضر با هدف افزودن این گیاه در تهیه کیک اسفنجی به مرحله اجرا درآمد.

## ۲. مواد و روش ها

### ۲-۱. آماده سازی گیاه بادرنجبویه

گیاه بادرنجبویه مورد نیاز از شرکت دارویی زردبند تهران خریداری شد. ابتدا چوب و ساقه های اضافی از برگ های خشک شده جدا گردید. سپس به منظور پودر و یکنواخت شدن سایز ذرات، برگ ها آسیاب گردید.

### ۲-۲. آماده سازی خمیر کیک

مواد اولیه مورد استفاده در این تحقیق مطابق با جدول ۱ می باشد. مواد مورد استفاده در تهیه کیک طی چهار مرحله مخلوط و آماده سازی شد. در مرحله اول شکر و روغن تا زمان رسیدن به رنگ روشن (حدود ۱۰ دقیقه) مخلوط شده، در مرحله دوم تخم مرغ طی ۵ قسمت اضافه و (حدود ۵ دقیقه) مخلوط شد. در مرحله سوم مواد پودری و جامد اضافه و مخلوط گردید در این مرحله گیاه بادرنجبویه به میزان ۵، ۲/۰، ۵، ۷/۵ و ۱۰ درصد جایگزین آرد گردید و در مرحله آخر نیز آب به منظور یکنواخت شدن خمیر اضافه و مخلوط شد. بعد از آماده سازی، خمیر در قالب های کیک پر و در فر صنعتی با دمای ۲۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. پس از پخت و سرد شدن در دمای محیط، کیک ها توسط دستگاه درپوشش سلفون بسته بندی شدند (Peyghambaroust *et al.*, 2012).

### ۲-۳. اندازه گیری ترکیبات فنولیک

میزان ترکیبات فنولیک گیاه و نمونه حاوی ۷/۵ درصد گیاه بادرنجبویه به عنوان بالاترین درصد قابل قبول از نظر مصرف کننده توسط دستگاه HPLC مورد ارزیابی قرار گرفت.

### ۳-۱-۳. ویژگی های دستگاه HPLC<sup>۱۰</sup>

مدل دستگاه مورد استفاده Young Lin Acme 2000 دارای دو پمپ و دو دتکتور UV و photodiode UV بوده که اولی در طول موج ۲۸۰ نانومتر و دومی در طول موج ۲۰۰-۴۰۰ نانومتر

۱۱- Syringic acid

10- High Performance Liquid Chromatography

W syr. Acid: وزن سینرجیک اسید  
A syr.acid: سطح زیر منحنی استاندارد داخلی  
W: وزن نمونه.

در طول موج ۲۸۰ نانومتر به دستگاه تزریق شد و میزان  $^{12}RF$  مطابق معادلات ۱ و ۲ برای ۱ میکروگرم از تیروزول و ۱ میکروگرم سیرینجیک اسید محاسبه شد.

جدول ۱. مواد اولیه به کاررفته در نمونه‌ها

| مواد اولیه   | درصد براساس وزن آرد |
|--------------|---------------------|
| آب           | ۲۵                  |
| روغن         | ۵۷                  |
| شکر          | ۷۲                  |
| تخم مرغ      | ۷۲                  |
| شیر خشک      | ۲                   |
| پکینگ پودر   | ۱/۳۴                |
| وانیل        | ۰/۵                 |
| پودر آب پنیر | ۴                   |

### ۲-۴. تجزیه آماری

در این تحقیق به منظور مقایسه تأثیر جانشینی آرد با گیاه بادرنجبویه از طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار، تجزیه واریانس و سپس آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد به کمک نرم‌افزار SPSS و پیرایش ۱۷ استفاده شد.

### ۳. نتایج و بحث

جدول ۲ میزان ترکیبات فنولیک کل در گیاه و نمونه حاوی ۷/۵ درصد گیاه بادرنجبویه را نشان می‌دهد. نتایج تجزیه واریانس حاکی از اختلاف معنی دار بین تیمارهای آزمایش بود. به طوری که در بین تیمارها، بالاترین میزان ترکیبات فنولیک از افزودن ۷/۵ درصد گیاه بادرنجبویه به کیک اسفنجی به دست آمد.

جدول ۲. میزان ترکیبات فنولیک کل در نمونه شاهد و ۷/۵ درصد گیاه

| نوع نمونه                 | گیاه  | کیک حاوی ۷/۵٪ |
|---------------------------|-------|---------------|
| ترکیبات فنولیک کل (mg/kg) | ۸۶۳۰۰ | ۴۹۷           |

لو و هم‌کاران (Lu et al., 2010) نشان دادند که افزودن چای سبز به کیک خصوصیات آنتی‌اکسیدانی کیک را افزایش می‌دهد و علت بهبود خصوصیات آنتی‌اکسیدانی کیک چای سبز را به ترکیبات فنولیک مخصوصاً انواع کاتچین‌های موجود در چای سبز نسبت دادند.

بالسترا و هم‌کاران (Balestra et al., 2011) با افزودن پودر زنجبیل به نان میزان ترکیبات فنولیک در سطح ۴/۵ درصد را به سه برابر افزایش دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که میزان ترکیبات فنولیک در سطح همه کیک‌های بیشتر از مغز آن‌ها بود و این نتیجه را به افزایش آزاد شدن ترکیبات فنولیک در سطح و دسترسی بیشتر آن‌ها هنگام استخراج نسبت دادند.

معادله ۱

$$RF_{syr} = \frac{\text{مساحت زیر سطح منحنی سینرجیک اسید}}{\text{(میکرو گرم) وزن سینرجیک اسید}}$$

معادله ۲

$$RF_{tyr} = \frac{\text{مساحت زیر سطح منحنی تیروزول}}{\text{(میکرو گرم) وزن تیروزول}}$$

از طریق معادله ۳ میزان  $RRF_{syr/tyr}$  می‌شود.

معادله ۳

$$RRF_{syr/tyr} = \frac{RF_{syr}}{RF_{tyr}}$$

سپس ۲۰ میکرولیتر از محلول نمونه تهیه شده در طول موج ۲۸۰ نانومتر به دستگاه تزریق شد.

میزان ترکیبات فنولیک کل در گیاه، و بالاترین درصد قابل قبول (۷/۵ درصد) مطابق با معادله ۴ محاسبه گردید:

معادله ۴

$$(A) = \frac{(\sum A) \times 1000 \times RRF_{syr/tyr} \times (W_{syr. acid})}{(A_{syr. acid}) \times (W)}$$

(A): مجموع سطح زیر منحنی فنولیک‌ها

Response Factors - ۱۲

- Acta Biochimica Polonica-English Edition.*, 52: 665-671.
- Herodež, Š. S., Hadolin, M., Škerget, M. and Knez, Ž. 2003. Solvent extraction study of antioxidants from Balm (*Melissa officinalis* L.) leaves. *Food Chemistry.*, 80: 275-282.
- Lu, T.M., Lee, C.C., Mau, J.L and Lin, S.D. 2010. Quality and antioxidant property of green tea sponge cake. *Food Chemistry.*, 119: 1090-1091.
- Meyers, M. 2007. *Lemon Balm: An herb society of America guide.*
- Nobakht, A. and Moghaddam, M. 2012. The effects of using different levels of lemon balm medicinal plant on performance, egg traits, blood biochemical parameters and immunity cells of laying hens. *Journal of Agricultural Research.*, 7(11): 1682-1686.
- Peyghambaroust, H., Nourmohamadi, A. and Asgaroladi, G. 2012. Production of low calorie cakes replacing sucrose by oligofructose and erytrol. *Journal of Food Science and Technology.*, 7(10) 85-92.
- Safaiekhoram, M., jafarnia, S. and khosroshahi, S. 2010. *The world's most important medicinal plants. Iran's green farm training complex.*, 132-133.
- Scientific Opinion. 2010. Scientific opinion on the use of oregano and lemon balm extracts as a food additive. *European Food Safety Authority.*, 8(2): 1514.
- Shahidi, F. 2007. Nutraceuticals and functional foods in health promotion and disease risk reduction. In based on keynote presentation at IUFOST Conference held in conjunction with Fi Asia/China, Shanghai.
- Shalashvili, A., Ugrehelidze, D., Mitaishvili, T., Targamadze, I. and Zambakhidze, N. 2012. Phenolic compounds of wines from Georgian autochthonous grapes, rhatsiteli and saperavi, prepared by Georgian technology. *Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences.*
- Siro, I., Kapolna, E., Kapolna, B. and Lugasi, Andrea. 2008. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance. *Appetite.*, 51: 456-467.
- Stanolevic, D., Comic, L., Stefanovic, O. and Solujic, S. 2010. In vitro synergistic antibacterial activity of *Melissa officinalis* and some preservatives. *Journal of Agricultural Research.*, 8(1): 109-115.
- آلشیمیا (Alshimaa, 2012) به بررسی خصوصیات فیزیکی-شیمیایی و حسی کیک غنی شده با درصدهای مختلف گیاه مرزنجوش پرداختند. در این تحقیق مرزنجوش در سطوح ۱، ۲ و ۳ درصد جایگزین آرد شد. تفاوت معنی‌داری از نظر خواص حسی (رنگ، بافت و پذیرش عمومی) یافت نشد. درحالی که طعم و بوی محصولات تفاوت معنی‌داری با شاهد داشت. نمونه شاهد روشن‌تر و زردتر از دیگر کیک‌ها بود. ترکیبات فنولیک مرزنجوش با HPLC اندازه‌گیری شد. به طور کلی نتایج نشان داد که کیک مرزنجوش به عنوان محصولی با خصوصیات آنتی‌اکسیدانی بیشتر می‌تواند توسعه یابد (Alshimaa, 2012).
- #### ۴. نتیجه گیری
- افزودن گیاه بادرنجبویه به کیک تا سطح ۷/۵ درصد تأثیر نامطلوب قابل توجهی بر خواص حسی محصول نداشت. در ضمن ترکیبات فنولیک کیک را نیز افزایش داد. با این توضیح می‌توان گفت که جهت افزایش خواص سلامتی کیک، می‌توان از گیاه بادرنجبویه تا سطح ۷/۵ درصد به آن اضافه کرد.
- #### ۵- تشکر و قدردانی
- از همکاری مدیر و کارکنان محترم شرکت کیک و کلوچه خوئی، تشکر و قدردانی می‌شود.
- #### ۶. منابع
- Alshimaa, A.H. 2012. Physico-chemical and sensory properties of cakes supplemented with different concentration of marjoram. *Journal of Basic and Applied Sciences.*, 6(13): 463-470.
- Balestra, F., Cocci, E., Pinnavaia, G. and Romani, s. 2011. Evaluation of antioxidant, rheological and sensorial properties of wheat flour dough and bread containing ginger powder. *Journal of Food Science and Technology.*, 44: 700-705.
- Farhani, T. and Najafi, T. 2012. Balm. Rashedin publication.
- Grajek, W., Olejnik, A. and Sip, A. 2005. Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods.