مقایسه ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف برگ گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) حاصل از دو روش استخراج غرقابی و استخراج به کمک امواج مایکروویو و تاثیر آن بر پایداری اکسایشی روغن سویا

سحر کبیری[۱]، سیده زهرا سید النگی[۲]*

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر

۲.دانشیار، گروه شیمی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر

(تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۲۹ ، تاریخ پذیرش: ۹۴/۴/۳)

چکیده

هدف از این پژوهش استخراج ترکیبات فنولی برگ گیاه بادرنجبویه، *Melissa officinalis*، با دو روش استخراج غرقابی و مایکروویو و حلال‌های آب، متانول ۸۰٪ و اتانول ۵۰٪ در زمان‌های مختلف بود. مقدار فنول کل توسط روش فولین سیوکالتو سنجش شد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با آزمون‌های مهار رادیکال DPPH، قدرت احیاکنندگی آهن و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بررسی گردید. در هر دو روش، عصاره اتانولی بیش‌ترین و عصاره آبی کم‌ترین راندمان را در استخراج ترکیبات فنولی دارا بودند. هم‌چنین نتایج نشان داد با افزایش زمان اشعه دهی در روش استخراج به کمک امواج ماکروویو، میزان استخراج نیز افزایش یافته، اما در روش غرقابی میزان استخراج ترکیبات فنولی تا زمان ۱۸، ساعت روند افزایشی داشته و از آن به بعد کاهش یافته است. راندمان استخراج در روش استخراج با امواج ماکروویو نسبت به روش غرقابی بالاتر بود. نتایج بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف نشان داد کم‌ترین EC_{50} در آزمون‌های مهار رادیکال DPPH، قدرت احیاکنندگی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل مربوط به عصاره اتانولی استخراج شده با ماکروویو بود. درنهایت عصاره اتانولی حاصل از ماکروویو که بهترین عملکرد را داشت، در سه سطح ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ppm، به روغن سویای فاقد آنتی‌اکسیدان اضافه و با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در دو سطح ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm مقایسه گردید. نتایج آزمون اندیس پراکسید و تیوباربیتوریک اسید نشان داد که با گذشت زمان، اکسیداسیون به خوبی مهار می‌گردد و غلظت ۱۰۰۰ ppm عصاره، اثر بیش‌تری در مهار اکسیداسیون داشته و نسبت به BHT در هر دو غلظت بهتر عمل کرده است.

واژه‌های کلیدی: گیاه بادرنجبویه، ماکروویو، غرقابی، آنتی‌اکسیدان، ترکیبات فنولی.

* نویسنده مسئول: zalangi@gmail.com

Archive of SID

www.SID.ir

۱- مقدمه

یکی از سامانه‌های غذایی، روغن‌ها می‌باشند که مصرف بالایی در رژیم غذایی روزانه دارند. فرایند اکسیداسیون و تخریبات اکسیداسیونی که منجر به ایجاد بد طعمی، کاهش کیفیت و افت ارزش تغذیه‌ای روغن‌ها و چربی‌ها می‌شود، یکی از مهم‌ترین مشکلات صنعت روغن محسوب می‌گردد. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که گسترش بد طعمی و فساد روغن‌ها و چربی‌ها را با توسعه زمان پایداری به تاخیر می‌اندازند [۱]. با توجه به مشکلات و اثرات جانبی نامطلوب ناشی از مصرف آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، در سال‌های اخیر، تمایل روز افزونی به استفاده از ترکیب‌های گیاهی به عنوان منابع جدید حاوی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در صنایع غذایی وجود دارد، به همین دلیل نیز تحقیقات گسترده‌ای در زمینه دستیابی به ترکیب‌های گیاهی به عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و تدوین دانش فن، کاربرد آن‌ها در مواد غذایی مختلف در سطح جهان انجام می‌گیرد [۲]. روغن سویا یکی از روغن‌های گیاهی شاخص است که اهمیت آن به دلیل فراوانی، ارزانی و کیفیت خوب آن است. آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی که بیش‌ترین استفاده را در صنعت غذا دارند شامل BHT، BHA، TBHQ و پروپیل گالات بوده که سرطان‌زایی و اثرات منفی این ترکیب‌ها بر سلامتی انسان در تحقیقات متعدد نشان داده شده است [۴-۳]. بنابراین، امروزه استفاده از گروه وسیعی از گیاهان دارویی و ترکیب‌های آروماتیک آن‌ها به عنوان منابع طبیعی که دارای خاصیت ضداکسیداسیونی هستند، مورد توجه محققین قرار گرفته است [۵]. بادرنجبویه یا *Melissa officinalis*، یکی از قدیمی‌ترین و رایج‌ترین گیاهان دارویی است که متعلق به خانواده نعناعیان (*Lamiaceae*) می‌باشد. بوی لیمو از مشخصات این گیاه است و به همین دلیل به آن *Lemon balm* هم گفته‌می‌شود. در مطالعات متعددی که بر روی این گیاه انجام گرفته خواص گوناگونی برای آن به اثبات رسیده است. از رایج‌ترین این خواص می‌توان به آرام‌بخشی، آنتی‌اکسیدانی، ضد اسپاسمی، ضد نفخ، ضد باکتری، ضد ویروسی و ضد التهابی آن اشاره کرد [۷-۶]. از ترکیبات فنولیک بادرنجبویه می‌توان به رزمارینیک اسید، تانن، فلاونوئیدهایی هم‌چون اپی‌ژنین-۷-اکسید-گلوکوزید، لوتئولین-۷-اکسید-گلیکوزید و سه فلاونول شامل رامنوسیترین، رامنازین و ایزوکوئرسیترین اشاره کرد [۹-۸]. نتایج مطالعات اخیر نشان داد که عصاره گیاه بادرنجبویه حاوی اسید رزمارینیک، تری ترپنوئیدها، اولینولیک اسید و اسید اورسال است که از فعالیت گاما-آمینو بوتریک اسید ترانس آمیناز (GABA-T) ممانعت می‌کنند [۱۰]. بوتا و همکاران (۲۰۱۳)، اثر عصاره برگ گیاه بادرنجبویه را با بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT) در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن آفتابگردان، مقایسه نمودند [۱۱]. عصاره بادرنجبویه در سه سطح ۲۰۰، ۶۰۰ و ppm ۱۰۰۰ و BHT در یک سطح ppm ۲۰۰ به روغن آفتابگردان تصفیه شده عاری از مواد افزودنی اضافه گردید. عصاره بادرنجبویه در مقدار ppm ۲۰۰ در جلوگیری از اکسیداسیون تقریباً مشابه BHT بود، ولی در مقادیر ۶۰۰ و ppm ۱۰۰۰ کاهش معناداری در نتایج مشاهده گردید. هرودیز و همکاران (۲۰۰۲)، به بررسی استخراج آنتی‌اکسیدان از برگ گیاه بادرنجبویه با اتانول پرداختند. میزان حلال و دما بر استخراج و غلظت آنتی‌اکسیدان‌ها در عصاره مورد مطالعه قرار گرفت و سپس سینتیک آن‌ها تعیین شد [۱۲]. نتایج نشان داد که اتانول حلال مناسبی برای استخراج کارنوسیک اسید از برگ گیاه می‌باشد به طوری که ۹۱ درصد آن استخراج شد؛ در حالی‌که تنها ۲۸ درصد اورسلیک اسید و ۷۷ درصد اولنولیک اسید استخراج گردیدند. لوسیان و همکاران (۲۰۱۳) با غنی‌سازی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بادرنجبویه از طریق استخراج با مایع فشار بالا و آنزیم، به این نتیجه دست یافتند که استفاده از آنزیم‌ها موجب شکسته شدن دیواره سلولی شده و هم‌چنین باعث می‌شود مواد زیستی بالقوه موجود در دیواره سلولی در اختیار حلال قرار گیرد [۱۳]. برای این منظور از آنزیم‌های مختلفی مانند سلولز، زایلاناز و پکتیناز به تنهایی و یا در ترکیب استفاده شد. شرایط مختلف استخراج با مایع فشار بالا نیز با استفاده از آب و اتانول به عنوان حلال مورد آزمایش قرار گرفت. بهترین نتایج در این زمینه با استفاده از آب به عنوان حلال استخراج در ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌دست آمد. انسی و همکاران (۲۰۱۳)، با بررسی اثرات زمان و نسبت ماده خشک به حلال در استخراج ترکیبات فنولی

Archive of SID

www.SID.ir

عصاره آبی بادرنجبویه به دو روش ماکروویو و اولتراسوند به این نتیجه رسیدند که بیش‌ترین ترکیبات فنولی و اثر آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصاره حاصل از امواج ماکروویو، ۵ دقیقه و نسبت ۱:۳۰ حلال:ماده خشک، می‌باشد [۱۴]. در راستای بررسی پتانسیل آنتی‌اکسیدانی مواد موثره موجود در گیاهان معطر، این تحقیق به ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف برگ بادرنجبویه، عصاره‌های آبی، متانولی و اتانولی حاصل از روش‌های غرقابی و ماکروویو، در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT می‌پردازد. سپس پایداری اکسایشی بهترین عصاره حاصل را بر روغن سویا مورد بررسی قرار می‌دهد.

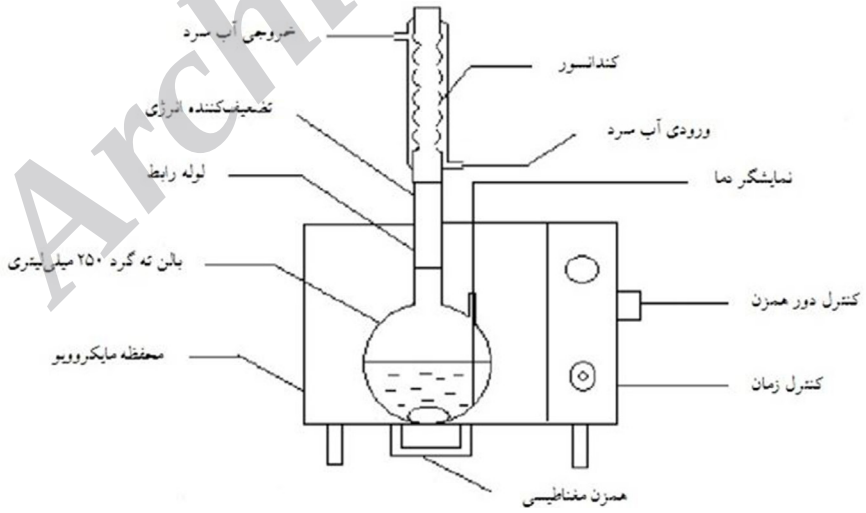
۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

برای انجام این پژوهش برگ گیاه بادرنجبویه از بازار خریداری شد. بعد از تمیز نمودن و خشک کردن در آون با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد، با استفاده از آسیاب پودر شده و از الک با مش ۴۰ عبور داده شد. در نهایت در بسته‌های مقاوم به هوا و رطوبت بسته‌بندی شده و تا انجام آزمایشات بعدی در فریزر ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. روغن سویای تصفیه شده فاقد هرگونه افزودنی نیز از کارخانه عالیا گلستان کردکوی تهیه گردید.

۲-۲-استخراج ترکیبات فنولی به روش غرقابی و ماکروویو

در روش غرقابی، پودر برگ بادرنجبویه در ۶ زمان، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۸، ۲۱ و ۲۴ ساعت و با ۳ حلال آب، متانول ۸۰ درصد و اتانول ۵۰ درصد با نسبت ۱:۵۰، استخراج و میزان ترکیبات فنولی موجود در عصاره بلافاصله اندازه‌گیری گردید. در روش استخراج با کمک امواج ماکروویو، یک ماکروویو خانگی سامسونگ مدل سی اف ۳۱۱۰ ان-۵، در آزمایشگاه با انجام اصلاحاتی طراحی گردید (شکل ۱). در این روش همانند روش غرقابی، پودر بادرنجبویه و حلال با نسبت ۱:۵۰ در داخل بالن استخراج ریخته شد. همزمان با هم خوردن محتویات داخل بالن به کمک همزن مغناطیسی، اشعه دهی در طی زمان‌های مختلف، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲ و ۱۵ دقیقه صورت گرفت. بعد از پایان اشعه‌دهی و سرد شدن بالن، عصاره حاصل با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شد و میزان ترکیبات فنولی موجود در عصاره بلافاصله اندازه‌گیری گردید [۱۵].



شکل (۱) اصلاحات انجام شده بر روی یک ماکروویو خانگی

Archive of SID

www.SID.ir

۲-۳- اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنولی عصاره‌های مختلف گیاه بادرنجبویه

میزان کل ترکیبات فنولی با روش فولین سیوکالتو با روش اسلینکارد و سینگلتون (۱۹۷۷)، اندازه‌گیری شد[۱۶]. جهت رسم منحنی استاندارد از اسید گالیک استفاده گردید. میزان کل ترکیبات فنلی موجود در عصاره بر حسب اسید گالیک و با استفاده از معادله به‌دست آمده از منحنی استاندارد محاسبه و نتایج بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک در هر گرم عصاره بیان شد. آزمایش‌ها در سه تکرار انجام و میانگین آن‌ها گزارش شد.

۲-۴- آزمون‌های ارزیابی آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف گیاه بادرنجبویه

توانایی مهار رادیکال آزاد به روش شیمادا و همکاران (۱۹۹۲)، توانایی عصاره‌ها برای احیاء آهن سه ظرفیتی توسط روش یلدریم و همکاران (۲۰۰۱) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌ها، به روش پرایتو و همکاران (۱۹۹۹) اندازه‌گیری شد [۱۹-۱۷]. برای اندازه‌گیری پیشرفت اکسیداسیون روغن در روزهای مختلف، میزان اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید از طریق آزمون گرمخانه‌گذاری تعیین گردید [۲۰]. (AOAC، ۱۹۹۰).

۲-۵- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل نتایج مربوط به آزمون‌های شیمیایی در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت و مقایسه‌ی میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها در سه تکرار و با استفاده از نرم افزار SAS و رسم نمودارها با نرم‌افزار EXCEL انجام گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- استخراج ترکیبات فنولی

مقدار کل ترکیبات استخراج شده گیاه بادرنجبویه توسط حلال‌های مصرفی آب، متانول ۸۰ درصد و اتانول ۵۰ درصد، پس از ۲۴ ساعت جهت انتخاب شرایط بهینه استخراج با هم مقایسه شدند.

نتایج آنالیز واریانس و مقایسه میانگین مقدار کل ترکیبات فنولی تیمارهای مختلف در روش استخراج نشان داد که اثر حلال، زمان و اثر متقابل در استخراج ترکیبات فنولی برای روش استخراج غرقابی در سطح احتمال ($p<۰/۰۵$) معنادار است (مطابق جدول ۱). بیش‌ترین ترکیبات فنولی مربوط به اتانول به میزان ۶۱/۲۸۱ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم نمونه خشک بوده و آب دارای کم‌ترین کارایی بود که در بهترین حالت مقدار آن به ۳۸/۳۴۸ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم نمونه خشک رسید.

با افزایش زمان استخراج به بیش از ۲۰ ساعت، پینلو و همکاران (۲۰۰۵)، با کاهش میزان ترکیبات فنولی مواجه

جدول (۱) تاثیر نوع حلال و زمان بر میزان ترکیبات فنولی (میلی‌گرم گالیک اسید در گرم نمونه خشک عصاره) گیاه بادرنجبویه به روش غرقابی

غلظت (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	حلال		
	اتانول ۵۰ درصد	متانول ۸۰ درصد	آب
۳	۵۵/۴۹۸ ± ۰/۱۲^{a}	۴۳/۴۵۴ ± ۰/۲۸^{g}	۳۵/۳۳۱ ±۰/۲۳^{l}
۶	۵۵/۱۰۸ ± ۰/۲۱^{b}	۴۵/۲۶۱ ± ۰/۳۳^{h}	۳۵/۴۶۸ ±۰/۳۷^{l}
۹	۵۷/۸۹۱ ± ۰/۳۸^{c}	۴۹ /۱۸۱ ± ۰/۳۹^{i}	۳۶/۱۸۴ ±۰/۲۴^{m}
۱۲	۶۰/۵۱۱ ±۰/۱۴^{d}	۵۱/۳۹۴ ± ۰/۱۷^{j}	۳۶/۴۳۸ ±۰/۲۷^{n}
۱۸	۶۱/۲۸۱ ± ۰/۳۶^{e}	۵۵/۳۸۴ ± ۰/۲۶^{a}	۳۸/۳۴۸ ±۰/۳۷^{o}
۲۱	۵۶/۵۶۱ ± ۰/۴۷^{f}	۵۴/۳۴۱ ± ۰/۲۸^{k}	۳۸/۲۹۸ ±۰/۳۱^{o}
۲۴	۵۶/۴۷۱ ± ۰/۵۰^{f}	۵۱ /۴۴۴ ± ۰/۲۴^{j}	۳۷/۴۴۴ ±۰/۱۷^{p}

حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنادار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

Archive of SID

www.SID.ir

شدند و این امر را ناشی از تجزیه حرارتی یا پلی‌مریزاسیون دانستند که ممکن است بر اندازه‌گیری کمی تجزیه‌ای تاثیرگذار باشد [۲۱]. نتایج به‌دست آمده توسط این محققین با نتایج حاصل از این بررسی مطابقت داشت و نشان داد تاثیر تیمار حرارتی بر میزان افزایش ترکیبات فنولی تا زمان ۱۸ ساعت استخراج معنی‌دار و قابل‌توجه بود.

همان‌طور که از جدول ۲ مشاهده می‌گردد، با استفاده از تمامی حلال‌ها، با افزایش زمان استفاده از ماکروویو به صورت معناداری ($p<۰/۰۵$) میزان استخراج ترکیبات فنولی افزایش می‌یابد. هم‌چنین مشابه حالت غرقابی بیش‌ترین میزان استخراج ترکیبات فنولی مربوط به حلال اتانول بوده که بیش‌ترین میزان آن به مقدار ۷۵/۸۰۴ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم نمونه خشک، مربوط به زمان ۱۵ دقیقه و کم‌ترین مقدار به میزان ۴۸/۶۲۱ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم نمونه خشک، مربوط به استفاده از آب به عنوان در همان زمان ۱۵ دقیقه بود.

در روش غرقابی و ماکروویو، به ترتیب عصاره استخراج شده با اتانول طی ۱۸ ساعت به میزان ۶۱/۲۸۱ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم نمونه خشک و ۱۵ دقیقه اشعه دهی به میزان ۷۵/۸۰۴ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم نمونه خشک، بهترین تیمارها بودند. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر نوع روش در استخراج ترکیبات فنولی معنادار است ($p<۰/۰۵$).

در بین دو روش، ماکروویو، ترکیبات فنولی بیش‌تری در یک زمان کوتاه استخراج نمود. بنابراین می‌تواند جایگزین روش غرقابی شود. اشعه دهی به کمک ماکروویو، با افزایش ناگهانی دما و فشار داخلی تخریب دیواره سلولی را تسریع کرده و خروج ترکیبات از داخل بافت به درون حلال را افزایش می‌دهد [۲۲].

جدول (۲) تاثیر نوع حلال و زمان بر میزان ترکیبات فنولی گیاه (میلی‌گرم گالیک اسید در گرم نمونه خشک عصاره) بادرنجبویه به روش ماکروویو

غلظت (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	حلال		
	اتانول ۵۰ درصد	متانول ۸۰ درصد	آب
۲	$۶۱/۸۱۵ \pm ۰/۱۵^{a}$	$۵۱/۰۸۶ \pm ۰/۱۸^{g}$	$۳۵/۹۶۳ \pm ۰/۲^{k}$
۴	$۶۸/۱۴۸ \pm ۰/۱^{b}$	$۵۴/۷۸۱ \pm ۰/۳۱^{h}$	$۴۰/۸۵۵ \pm ۰/۳۱^{l}$
۶	$۷۰/۳۹۵ \pm ۰/۱۴^{c}$	$۶۰/۱۱۹ \pm ۰/۴۱^{i}$	$۴۵/۱۸۸ \pm ۰/۲۹^{m}$
۸	$۷۱/۰۳۵ \pm ۰/۴۵^{cd}$	$۶۴/۹۷۴ \pm ۰/۲۷^{j}$	$۴۵/۸۰۶ \pm ۰/۱۷^{mn}$
۱۰	$۷۱/۶۳۲ \pm ۰/۱۶^{d}$	$۶۷/۷۶۶ \pm ۰/۲۴^{b}$	$۴۶/۰۱۴ \pm ۰/۳۵^{n}$
۱۲	$۷۳/۰۶۱ \pm ۰/۳۱^{e}$	$۶۸/۵۰۶ \pm ۰/۱۸^{b}$	$۴۷/۵۱۶ \pm ۰/۲۹^{o}$
۱۵	$۷۵/۸۰۴ \pm ۰/۱۱^{f}$	$۷۰/۲۷۲ \pm ۰/۲۹^{c}$	$۴۸/۶۲۱ \pm ۰/۱۱^{p}$

حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنادار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

بازده بالاتر استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در روش ماکروویو نسبت به روش‌های غرقابی در استخراج آنتراکینون‌ها از ریشه‌های *موریندا سیتریفولیا* [۲۳] و استخراج کافئین از برگ‌های چای سبز [۲۴] به اثبات رسیده است.

انسی و همکاران (۲۰۱۳)، با بررسی اثرات زمان و نسبت ماده خشک به حلال در استخراج ترکیبات فنولی عصاره آبی ملیسا[۱] به دو روش ماکروویو و اولتراسوند، به این نتیجه رسیدند که در استخراج ماکروویو، بالاترین محتوای کل فنولی در مدت زمان ۵ دقیقه و در نسبت ۱:۳۰ ماده جامد به حلال مشاهده شد [۱۴]. در استخراج اولتراسوند، بالاترین محتوای کل فنولی مربوط به زمان ۲۰ دقیقه و در نسبت ۱:۳۰ ماده جامد به حلال و با قدرت ۵۰ درصد بود. عصاره‌های به‌دست آمده از ماکروویو و اولتراسوند، در شرایط بهینه، به‌ترتیب با استخراج معمولی و خیساندن مقایسه شدند. بالاترین محتوای کل فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره در استخراج ماکروویو مشاهده شد. علاوه

۱. Melissa

Archive of SID

www.SID.ir

بر این، روش ماکروویو زمان استخراج را ۸۵ درصد کاهش داد. لازم به ذکر است که برای روش‌های ماکروویو و اولتراسوند زمان استخراج به‌ترتیب ۲۰-۵ و ۳۰-۵ دقیقه و برای هر دو روش نسبت ماده جامد به حلال ۱:۱۰، ۱:۲۰ و ۱:۳۰ در نظر گرفته شد. برای استخراج اولتراسوند، دو قدرت ۵۰ و ۸۰ درصد به‌کار گرفته شد. این نتایج با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی داشت.

۳-۲- ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

۳-۲-۱- روش غرقابی

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که نوع و غلظت عصاره‌ها و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی تاثیر معناداری روی مهار رادیکال DPPH دارد ($p<0/05$). فعالیت آنتی‌رادیکالی در همه نمونه‌ها وابسته به غلظت بود. جدول ۳ میزان مهار رادیکال DPPH در حضور غلظت‌های مختلف گیاه بادرنجبویه حاصل از استخراج روش غرقابی با حلال‌های مختلف را نشان می‌دهد. در بین عصاره‌ها، عصاره اتانولی بالاترین فعالیت آنتی‌رادیکالی را دارا بود که حتی در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر فعالیت مهارکنندگی بالاتری نسبت به BHT داشت (به طور معناداری در سطح ۵ درصد) و در غلظت‌های ۲۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اختلاف معناداری با BHT نداشت. در تمامی غلظت‌ها، فعالیت مهار رادیکال آزاد عصاره‌های آبی و متانولی کم‌تر و یا برابر BHT و عصاره اتانولی بوده است.

همان‌طور که مشاهده می‌گردد، در غلظت ppm ۱۲/۵ عصاره آبی و متانولی فعالیت آنتی‌رادیکالی کم‌تری نسبت به BHT و عصاره اتانولی داشته ولیکن فعالیت آنتی‌رادیکالی عصاره آبی و متانولی با هم برابر هستند. در غلظت ppm ۲۵، به‌ترتیب فعالیت آنتی‌رادیکالی به صورت BHT آبی> عصاره متانولی> عصاره اتانولی بوده است. بالاتر بودن فعالیت مهارکنندگی را می‌توان به محتوای فنولی نسبت داد، زیرا در عصاره اتانولی حاصل از گیاه بادرنجبویه، بالاترین مقدار ترکیبات فنولی وجود داشته است.

جدول (۳) مقایسه میانگین درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH غلظت‌های مختلف عصاره‌های برگ بادرنجبویه و BHT (روش غرقابی)

غلظت (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	حلال			
	BHT	اتانول ۵۰ درصد	متانول ۸۰ درصد	آب
۱۲/۵	$۱۸۱/۸۹ \pm ۰/۱^{Aa}$	$۱۳/۸۸ \pm ۰/۵^{Ab}$	$۹/۹۳ \pm ۰/۲۹^{Ac}$	$۸/۷۱ \pm ۰/۴۵^{Ac}$
۲۵	$۲۳/۰۱ \pm ۰/۱۵^{Bc}$	$۳۹/۹۲ \pm ۰/۱^{Ba}$	$۳۸/۶۶ \pm ۰/۳۵^{Bb}$	$۲۲/۶۷ \pm ۰/۴۱^{Bc}$
۵۰	$۶۲/۱۱ \pm ۰/۳۱^{Cb}$	$۷۶/۸۹ \pm ۰/۱۶^{Ca}$	$۵۰/۸۹ \pm ۰/۱۷^{Cc}$	$۴۰/۴۱ \pm ۰/۱۶^{Cd}$
۱۰۰	$۹۰/۶۵ \pm ۰/۲۹^{Da}$	$۸۲/۷۶ \pm ۰/۴۵^{Db}$	$۶۸/۴۱ \pm ۰/۲^{Dc}$	$۵۲/۶۹ \pm ۰/۱^{De}$
۲۰۰	$۹۴/۹۷ \pm ۰/۱۶^{Da}$	$۹۴/۱۲ \pm ۰/۱۴^{Ea}$	$۸۷/۵۸ \pm ۰/۱۸^{Eb}$	$۸۶/۹۳ \pm ۰/۲^{Eb}$
۵۰۰	$۹۶/۸۲ \pm ۰/۲^{Da}$	$۹۵/۰۳ \pm ۰/۳۱^{Ea}$	$۹۲/۱۱ \pm ۰/۱۵^{Fb}$	$۹۵/۰۵ \pm ۰/۳۵^{Fa}$

حروف مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد می‌باشد. حروف بزرگ مقایسه بین ردیف‌ها را نشان می‌دهد.
حروف کوچک مقایسه بین ستون‌ها را نشان می‌دهد.

۳-۲-۲- روش ماکروویو

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که نوع و غلظت عصاره‌ها و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی تاثیر معناداری روی مهار رادیکال آزاد DPPH داشت ($p<0/05$). همان‌طور که در جدول ۴ مشاهده می‌شود، عصاره اتانولی در همه غلظت‌ها فعالیت بالاتری نسبت به سایر عصاره‌ها داشت. هم‌چنین عصاره‌های الکلی در غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ ppm، فعالیت مهاری بالاتری نسبت به BHT داشتند و در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ ppm، BHT نسبت به عصاره‌ها فعالیت آنتی‌رادیکالی بهتری داشته است. در غلظت ۵۰۰ ppm، همه عصاره‌ها فعالیت آنتی‌رادیکال یکسانی از خود نشان دادند.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول (۴) مقایسه میانگین درصد مهارکنندگی رادیکال **DPPH** غلظت‌های مختلف عصاره‌های برگ بادرنجبویه و **BHT** (روش ماکروویو)

غلظت (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	حلال			
	BHT	اتانول ۵۰ درصد	متانول ۸۰ درصد	آب
۱۲/۵	۱۸/۸۹ ± ۰/۱^{Ad}	۱۳/۸۸ ± ۰/۱۴^{Aa}	۹/۹۳ ± ۰/۱۵^{Ab}	۸/۷۱ ± ۰/۴۱^{Ac}
۲۵	۲۳/۰۱ ± ۰/۱۵^{Bc}	۳۹/۹۲ ± ۰/۳۵^{Ba}	۳۸/۶۶ ± ۰/۲^{Bb}	۲۲/۶۷ ± ۰/۳۵^{Bb}
۵۰	۶۲/۱۱ ± ۰/۳۱^{Cc}	۷۶/۸۹ ± ۰/۴۱^{Ca}	۵۰/۸۹ ± ۰/۱۷^{Cb}	۴۰/۴۱ ± ۰/۲^{Cd}
۱۰۰	۹۰/۶۵ ± ۰/۲۹^{Da}	۸۲/۷۶ ± ۰/۳۱^{Da}	۶۸/۴۱ ± ۰/۱۶^{Db}	۵۲/۶۹ ± ۰/۱۸^{Db}
۲۰۰	۹۴/۹۷ ± ۰/۱۶^{Da}	۹۴/۱۲ ± ۰/۱۴^{Eb}	۸۷/۵۸ ± ۰/۳۵^{Ec}	۸۶/۹۳ ± ۰/۳۱^{Ed}
۵۰۰	۹۶/۸۲ ± ۰/۲^{Da}	۹۵/۰۳ ± ۰/۱^{Eb}	۹۲/۱۱ ± ۰/۱^{Fb}	۹۵/۰۵ ± ۰/۱۴^{Fb}

حروف مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد می‌باشد. حروف بزرگ مقایسه بین ردیف‌ها را نشان می‌دهد.
حروف کوچک مقایسه بین ستون‌ها را نشان می‌دهد.

۳-۲-۳- مقایسه میانگین $EC_{۵۰}$ برای عصاره‌های مختلف بادرنجبویه و BHT به روش مهار رادیکال‌های DPPH

برای مقایسه فعالیت ضدرادیکالی عصاره‌ها از فاکتوری تحت عنوان $EC_{۵۰}$ استفاده می‌گردد. طبق تعریف، $EC_{۵۰}$ به غلظتی از عصاره اطلاق می‌گردد که در آن ۵۰ درصد از رادیکال‌های DPPH مهار شوند. با توجه به مقادیر ارائه شده در جدول ۵، BHT با $EC_{۵۰}$ معادل با ۳۴/۷۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر فعالیت مهاری بالاتری نسبت به عصاره‌های متانولی و آبی داشت. در بین عصاره‌ها، عصاره اتانولی کم‌ترین $EC_{۵۰}$ (۳۲/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و در نتیجه بالاترین فعالیت آنتی‌رادیکالی را داشت و عصاره آبی کم‌ترین فعالیت آنتی‌رادیکالی را دارا بود (۸۱/۶۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر). همان‌طور که بیان شد این تفاوت در مقادیر $EC_{۵۰}$ به دلیل اختلاف در مقادیر فنول عصاره‌ها می‌باشد [۲۵]. این محققان گزارش کردند که نمونه‌هایی با مقادیر پلی‌فنول بالاتر، $EC_{۵۰}$ کم‌تری را نشان دادند. در استخراج ماکروویو، عصاره اتانولی در بین عصاره‌ها کم‌ترین $EC_{۵۰}$ معادل ۲۶/۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر و در نتیجه بالاترین فعالیت آنتی‌رادیکالی را دارا بود. هم‌چنین عصاره آبی کم‌ترین فعالیت آنتی‌رادیکالی (۵۲/۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر) را بین عصاره‌ها داشت.

همان‌طورکه در جدول ۵ مشاهده می‌شود، فعالیت آنتی‌رادیکالی عصاره‌های مختلف با هم متفاوت است که تفاوت در فعالیت آنتی‌رادیکالی را به دلایل مختلف می‌توان نسبت داد. به دلیل ساختار پیچیده عصاره‌ها بیان

جدول (۵) مقایسه میانگین $EC_{۵۰}$ (میکروگرم در میلی‌لیتر) برای عصاره‌های مختلف بادرنجبویه و BHT حاصل از استخراج غرقابی و ماکروویو در روش مهار رادیکال‌های آزاد DPPH

نمونه	$EC_{۵۰}$ (غرقابی)	$EC_{۵۰}$ (ماکروویو)
آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT	۳۴/۷۷ ± ۰/۱۸^{a}	۳۴/۷۷ ± ۰/۱۸^{a}
عصاره اتانولی ۵۰ درصد	۳۲/۲۵ ± ۰/۱^{a}	۲۶/۸ ± ۰/۳۱^{b}
عصاره متانولی ۸۰ درصد	۴۷/۹۱ ± ۰/۱۴^{b}	۳۰/۰۶ ± ۰/۱۵^{c}
عصاره آبی	۸۱/۶۳ ± ۰/۲^{c}	۵۲/۹۰ ± ۰/۱^{d}

*حروف کوچک مقایسه بین ردیف‌ها در هر ستون را نشان می‌دهد.

Archive of SID

www.SID.ir

همبستگی میان فعالیت آنتی‌رادیکالی و ترکیبات موجود در عصاره‌ها به آسانی امکان‌پذیر نیست که می‌توان به تفاوت در نوع و مقدار ترکیبات مؤثر موجود در آن‌ها نسبت داد. تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در ساختار آنتی‌اکسیدان به طور معمول فاکتور تعیین‌کننده نیست. موقعیت گروه‌های هیدورکسیل، حضور گروه‌های عاملی دیگر مانند پیوندهای دوگانه و ترکیب گروه‌های هیدروکسیل و گروه‌های کتونی نقش مهمی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی ایفا می‌کند.

پریرا و همکاران (۲۰۰۹)، در بررسی مهار رادیکال آزاد DPPH در عصاره‌های آبی، متانولی و اتانولی گیاه بادرنجبویه، دریافتند که عصاره اتانولی قدرت مهار رادیکال آزاد بیش‌تری دارد. آن‌ها دریافتند که در میان ترکیبات خالص، کورستین بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را دارا می‌باشد [۲۶]. نتایج این محققین با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارد.

۳-۳- ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به روش قدرت احیاءکنندگی آهن سه ظرفیتی

۳-۳-۱- روش غرقابی

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که نوع و غلظت عصاره‌ها و آنتی‌اکسیدان سنتزی تأثیر معناداری روی نیروی احیاکنندگی عصاره‌ها داشت ($p<0/05$). در همه نمونه‌ها قدرت احیاکنندگی آهن وابسته به غلظت بود. افزایش غلظت از ۲۵ به ۶۰۰ ppm در هر یک از عصاره‌ها و آنتی‌اکسیدان سنتزی، با افزایش نیروی احیاکنندگی آهن همراه گردید که این افزایش ترکیبات فنولی با افزایش غلظت ارتباط داده می‌شود (جدول ۶).

در میان عصاره‌ها، در اکثر غلظتها عصاره اتانولی بالاترین و عصاره آبی کم‌ترین قدرت احیاکنندگی را دارا بود. BHT نسبت به عصاره‌های آبی، متانولی و اتانولی بادرنجبویه، بالاترین قدرت احیاکنندگی را داشت و هیچ یک از عصاره‌ها قابل رقابت با BHT نبودند. در غلظت ۲۵ ppm نیروی احیاکنندگی به صورت متانولی ≅ اتانولی ≅ آبی < BHT می‌باشد. در این غلظت، BHT نیروی احیاکنندگی بالاتری را نسبت عصاره‌ها داشت، ولیکن قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها با هم اختلاف معناداری را نشان نداد. در غلظت ۵۰ ppm بین دو عصاره متانولی و آبی اختلاف معناداری دیده نشد و BHT نیروی احیاکنندگی بالاتری را در این غلظت نشان داد. در سایر غلظت‌ها نیروی احیاکنندگی BHT و سپس اتانول بالاتر از سایر عصاره‌ها می‌باشند.

جدول (۶) مقایسه میانگین قدرت احیاکنندگی غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاه بادرنجبویه و BHT (روش غرقابی)

غلظت (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	حلال			
	BHT	اتانول ۵۰ درصد	متانول ۸۰ درصد	آب
۲۵	$۰/۲۸ \pm ۰/۱۴^{Aa}$	$۰/۲۲ \pm ۰/۱۵^{Ab}$	$۰/۲۱ \pm ۰/۱۸^{Ab}$	$۰/۲۲ \pm ۰/۲^{Ab}$
۵۰	$۰/۴۱ \pm ۰/۲^{Ba}$	$۰/۲۷ \pm ۰/۴۵^{Ab}$	$۰/۲۵ \pm ۰/۳۵^{Ac}$	$۰/۲۴ \pm ۰/۱۷^{Ac}$
۱۰۰	$۱/۵۳ \pm ۰/۳۵^{Ca}$	$۰/۴۶ \pm ۰/۱^{BCb}$	$۰/۳۲ \pm ۰/۲^{ABc}$	$۰/۲۵ \pm ۰/۳۵^{Ad}$
۲۰۰	$۱/۶۸ \pm ۰/۱۸^{Da}$	$۰/۵۷ \pm ۰/۱۷^{Cc}$	$۰/۴۱ \pm ۰/۴۱^{Bd}$	$۰/۴۰ \pm ۰/۱۸^{Bd}$
۴۰۰	$۲/۱۳ \pm ۰/۱^{Ea}$	$۰/۸۳ \pm ۰/۳۱^{Db}$	$۰/۶۴ \pm ۰/۱۵^{Cc}$	$۰/۴۵ \pm ۰/۲^{Bd}$
۶۰۰	$۲/۳۶ \pm ۰/۱۶^{Fa}$	$۱/۰۲ \pm ۰/۱^{Dc}$	$۰/۸۴ \pm ۰/۱۷^{Dd}$	$۰/۷۶ \pm ۰/۱^{Cd}$
۸۰۰	$۲/۵۷ \pm ۰/۲^{Ga}$	$۱/۲۳ \pm ۰/۲^{Eb}$	$۱/۱۰ \pm ۰/۱^{Ec}$	$۱/۱۳ \pm ۰/۴۱^{Dc}$

حروف مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد می‌باشد. حروف بزرگ مقایسه بین ردیف‌ها را نشان می‌دهد.
حروف کوچک مقایسه بین ستون‌ها را نشان می‌دهد.

Archive of SID

www.SID.ir

۳-۳-۲- روش ماکروویو

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که نوع و غلظت عصاره‌ها و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی تأثیر معناداری روی قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها داشت ($p<۰/۰۵$). با توجه به جدول ۷ در میان عصاره‌ها، در اکثر غلظت‌ها عصاره اتانولی بالاترین و عصاره آبی کم‌ترین قدرت احیاکنندگی را دارا بود. BHT بالاترین قدرت احیاکنندگی را داشت و هیچ یک از عصاره‌ها قابل رقابت با BHT نبودند. در غلظت ppm ۲۵ عصاره‌های اتانولی، متانولی و آبی، در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ppm ۴۰۰ عصاره‌های متانولی و آبی، در غلظت ppm ۲۰۰ عصاره‌های آبی و اتانولی و در غلظت ppm ۶۰۰ عصاره‌های اتانولی، متانولی و آبی اختلاف معناداری را با یکدیگر نشان ندادند. در غلظت‌های ۲۰۰ و ppm ۴۰۰ قدرت احیاکنندگی عصاره متانولی بیش‌تر از اتانولی بوده، اما در سایر غلظت‌ها قدرت احیاکنندگی اتانول بیش‌تر از متانول بوده است.

جدول (۷) مقایسه میانگین قدرت احیاکنندگی غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاه بادرنجبویه و BHT (روش ماکروویو)

غلظت (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	BHT	حلال		
		اتانول ۵۰ درصد	متانول ۸۰ درصد	آب
۲۵	۰/۲۸ ± ۰/۳۵^{Aa}	۰/۲۴ ± ۰/۴۵^{Ab}	۰/۲۴ ± ۰/۲^{Ab}	۰/۲۳ ± ۰/۱۷^{Ab}
۵۰	۰/۴۱ ± ۰/۱۷^{Ba}	۰/۳۹ ± ۰/۳۱^{Bb}	۰/۲۷ ± ۰/۴۱^{Ac}	۰/۲۶ ± ۰/۳۱^{Ac}
۱۰۰	۱/۵۳ ± ۰/۲^{Ca}	۰/۶۱ ± ۰/۱۵^{Cb}	۰/۴۱ ± ۰/۱۷^{Bc}	۰/۴۰ ± ۰/۱۵^{Bc}
۲۰۰	۱/۶۸ ± ۰/۴۱^{Da}	۰/۷۲ ± ۰/۱۵^{CDc}	۰/۸۳ ± ۰/۱^{Cb}	۰/۱۷ ± ۰/۴۵^{Cc}
۴۰۰	۲/۱۳ ± ۰/۰۱۶^{Ea}	۰/۸۳ ± ۰/۱^{Dc}	۱/۰۰ ± ۰/۱۶^{Db}	۰/۸۳ ± ۰/۱^{Db}
۶۰۰	۲/۳۶ ± ۰/۱^{Fa}	۱/۱۶ ± ۰/۱۷^{Eb}	۱/۱۳ ± ۰/۱۸^{Eb}	۱/۱۲ ± ۰/۱۶^{Eb}
۸۰۰	۲/۵۷ ± ۰/۱۵^{Ga}	۱/۴۲ ± ۰/۱^{Fb}	۱/۲۶ ± ۰/۲^{Fc}	۱/۱۲ ± ۰/۱^{Ed}

حروف مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد می‌باشد. حروف بزرگ مقایسه بین ردیف‌ها را نشان می‌دهد.
حروف کوچک مقایسه بین ستون‌ها را نشان می‌دهد.

۳-۳-۳- مقایسه میانگین $EC_{۵۰}$ برای عصاره‌های مختلف بادرنجبویه و BHT به روش قدرت احیاکنندگی آهن سه ظرفیتی

به‌طور معمول برای مقایسه قدرت احیاکنندگی از فاکتوری تحت عنوان $EC_{۵۰}$ استفاده می‌گردد. طبق تعریف، $EC_{۵۰}$ به غلظتی از عصاره اطلاق می‌گردد که در طول موج ۷۰۰ نانومتر جذبی معادل ۰/۵ داشته باشد. بنابراین هر چه این غلظت کم‌تر باشد، نشان‌د هنده قدرت احیاکنندگی بالاتر عصاره است. مقادیر $EC_{۵۰}$ عصاره‌ها در جدول ۸ آورده شده است. در استخراج غرقابی و ماکروویو، هر سه عصاره مستخرج از بادرنجبویه قدرت احیاکنندگی ضعیف‌تری نسبت به BHT از خود نشان دادند. مقایسه بین $EC_{۵۰}$ عصاره غرقابی و عصاره حاصل از امواج ماکروویو نشان داد که عصاره‌های حاصل از امواج ماکروویو $EC_{۵۰}$ کم‌تری دارند. بنابراین قدرت

جدول (۸) مقایسه میانگین $EC_{۵۰}$ (میکروگرم در میلی‌لیتر) برای عصاره‌های مختلف بادرنجبویه و BHT حاصل از استخراج غرقابی و ماکروویو در روش قدرت احیاکنندگی

نمونه	$EC_{۵۰}$ (غرقابی)	$EC_{۵۰}$ (ماکروویو)
آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT	۵۳/۵۳±۰/۲۹^{a}	۵۳/۵۳±۰/۲۹^{a}
عصاره اتانولی ۵۰ درصد	۱۵۰/۶۴±۰/۵^{b}	۹۲/۱۶±۰/۱۷^{b}
عصاره متانولی ۸۰ درصد	۲۵۱/۲۳±۰/۲۷^{c}	۱۱۳/۰۵±۰/۵۵^{c}
عصاره آبی	۳۴۱/۶۰±۰/۴۱^{d}	۱۲۸/۳۶±۰/۳۵^{d}

*حروف کوچک مقایسه بین ردیف‌ها در هر ستون را نشان می‌دهد.

Archive of SID

www.SID.ir

احیاکنندگی آهن III بیش‌تری را از خود نشان دادند.
پریرا و همکاران (۲۰۰۷)، با بررسی نیروی احیاکنندگی عصاره آبی شش رقم مختلف برگ گردو (لارا، پاریزین، ملانایز، فرانکوت، مایته و ماربوت) گزارش کردند که قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها به غلظت وابسته بود که مطابق با نتایج این پژوهش است. مقدار $EC_{۵۰}$ این عصاره‌ها به ترتیب ۰/۱۹، ۰/۲۰۱، ۰/۲۰۶، ۰/۲۰۸، ۰/۲۱۵ و ۰/۲۲۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است [۲۷].
محققان دیگری قدرت احیاکنندگی عصاره‌های گیاهی مختلف را بررسی کردند. در بررسی قدرت احیاکنندگی عصاره آبی سه واریته برگ فندق (بولوبلر، فرتایل در کوتارد و داویانا) توسط اولیویرا و همکاران (۲۰۰۷)، $EC_{۵۰}$ این عصاره‌ها به ترتیب ۰/۲۲۴، ۰/۱۹۹ و ۰/۲۲۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش شد و مطابق با نتایج این پژوهش با افزایش غلظت قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها افزایش یافت [۲۸].

۳-۴- ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به روش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل

۳-۴-۱- روش غرقابی

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اختلاف معناداری بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها وجود دارد ($p<۰/۰۵$). با توجه به جدول ۹ در میان عصاره‌ها، عصاره اتانولی بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را نشان داد، به طوری که در غلظت‌های ۳۰۰، ۴۰۰ و ppm ۵۰۰ ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی از BHT نیز بالاتر بوده است.در غلظت ppm ۵۰، عصاره‌های متانولی و اتانولی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برابری دارند ولیکن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها از BHT کم‌تر و از عصاره آبی بیش‌تر می‌باشد. در غلظت ppm ۱۰۰، عصاره اتانولی از متانولی و آبی بیش‌تر بوده و لیکن با BHT برابر می‌باشد. در غلظت ppm ۲۰۰ ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل به صورت آب < اتانول< متانول< BHT می‌باشد. با افزایش میزان غلظت عصاره‌ها در هر ستون، میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل افزایش یافت. در حلال BHT بین غلظت‌های ۳۰۰ و ۴۰۰ اختلاف معناداری دیده نمی‌شود، اما در سایر غلظت‌ها اختلاف معنادار وجود دارد. در حلال اتانول بین غلظت‌های ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ با افزایش غلظت اختلاف معنادار دیده نمی‌شود. در حلال‌های متانول و آب بین غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ اختلاف معنادار وجود ندارد ولی در سایر غلظت‌ها با افزایش غلظت، اختلاف معنادار وجود دارد.

جدول (۹) مقایسه میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاه بادرنجبویه و BHT، روش غرقابی

غلظت (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	حلال			
	BHT	اتانول ۵۰ درصد	متانول ۸۰ درصد	آب
۵۰	$۰/۳۵ \pm ۰/۳۱^{Aa}$	$۰/۳۳ \pm ۰/۱۶^{Ab}$	$۰/۳۲ \pm ۰/۵۵^{Ab}$	$۰/۲۸ \pm ۰/۱۵^{Ac}$
۱۰۰	$۰/۵۶ \pm ۰/۱۸^{Ba}$	$۰/۵۵ \pm ۰/۱^{Ba}$	$۰/۴۵ \pm ۰/۳۵^{Bb}$	$۰/۴۰ \pm ۰/۱۸^{Bc}$
۲۰۰	$۰/۷۸ \pm ۰/۲^{Ca}$	$۰/۷۴ \pm ۰/۴۱^{Cb}$	$۰/۵۸ \pm ۰/۱۸^{Cc}$	$۰/۵۴ \pm ۰/۲^{Cd}$
۳۰۰	$۰/۸۸ \pm ۰/۴۱^{Db}$	$۰/۹۷ \pm ۰/۳۵^{Da}$	$۰/۶۴ \pm ۰/۲۲^{Cc}$	$۰/۶۰ \pm ۰/۱۸^{Cd}$
۴۰۰	$۰/۹۰ \pm ۰/۱۵^{Db}$	$۰/۹۸ \pm ۰/۲^{Da}$	$۰/۸۳ \pm ۰/۴۵^{Dc}$	$۰/۷۹ \pm ۰/۳۱^{Dd}$
۵۰۰	$۱/۰۲ \pm ۰/۳۱^{Ea}$	$۱/۰۳ \pm ۰/۱^{Da}$	$۱/۰۱ \pm ۰/۱۵^{Eb}$	$۰/۹۲ \pm ۰/۴۵^{Ec}$

حروف مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد می‌باشد. حروف بزرگ مقایسه بین ردیف‌ها را نشان می‌دهد.
حروف کوچک مقایسه بین ستون‌ها را نشان می‌دهد.

Archive of SID

www.SID.ir

۳-۴-۲- روش ماکروویو

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اختلاف معناداری بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌ها وجود دارد ($p<۰/۰۵$). همان‌طور که در جدول ۱۰ مشاهده می‌شود، عصاره آبی کم‌ترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل را دارد. در بین عصاره‌ها، عصاره اتانولی در همه غلظت‌ها فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به عصاره‌های آبی و متانولی داشت. عصاره اتانولی نسبت به BHT، به استثنای غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، فعالیت بالاتری را نشان داد. در تمامی غلظت‌ها، عصاره متانولی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری از عصاره آبی داشت. در غلظت ۵۰ بین عصاره اتانولی و متانولی، در غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰۰ بین عصاره اتانولی و BHT اختلاف معناداری در سطح ۵ درصد دیده نشد.

جدول (۱۰) مقایسه میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاه بادرنجبویه و BHT (روش ماکروویو)

غلظت (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	حلال			
	BHT	اتانول ۵۰ درصد	متانول ۸۰ درصد	آب
۵۰	۰/۳۵ ± ۰/۳۱ ^{Aa}	۰/۴۸ ± ۰/۱۷ ^{Aa}	۰/۴۶ ± ۰/۲ ^{Ab}	۰/۴۶± ۰/۱۷ ^{Ab}
۱۰۰	۰/۵۶ ± ۰/۱۸ ^{Ba}	۰/۶۷ ± ۰/۱ ^{Ba}	۰/۶۳ ± ۰/۱۸ ^{Bb}	۰/۵۴ ± ۰/۲ ^{Bc}
۲۰۰	۰/۷۸ ± ۰/۲ ^{Ca}	۰/۷۶ ± ۰/۳۱ ^{Cb}	۰/۷۰ ± ۰/۱۵ ^{Cc}	۰/۶۳ ± ۰/۴۵ ^{Cd}
۳۰۰	۰/۸۸ ± ۰/۴۱ ^{Db}	۰/۹۸ ± ۰/۵۵ ^{Da}	۰/۷۸ ± ۰/۲ ^{Dc}	۰/۷۱ ± ۰/۱ ^{Dd}
۴۰۰	۰/۹۰ ± ۰/۱۵ ^{Db}	۱/۰۴ ± ۰/۱۵ ^{Da}	۰/۸۴ ± ۰/۳۵ ^{Dc}	۰/۸۳ ± ۰/۱۸ ^{Ec}
۵۰۰	۱/۰۲ ± ۰/۳۱ ^{Ea}	۱/۳۴ ± ۰/۲۲ ^{Ea}	۱/۰۶ ± ۰/۱ ^{Eb}	۰/۹۲ ± ۰/۱۷ ^{Fc}

حروف مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد می‌باشد. حروف بزرگ مقایسه بین ردیف‌ها را نشان می‌دهد.
حروف کوچک مقایسه بین ستون‌ها را نشان می‌دهد.

در عصاره آبی بین تمام غلظت‌ها اختلاف معنادار دیده شد، این در حالی است که در سایرحلال‌ها در بین غلظت‌های ۳۰۰ و ۴۰۰ اختلاف معناداری وجود نداشت. در پژوهش عربشاهی و اروج (۲۰۰۷)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌های متانولی، استونی، آبی و BHT به ترتیب ۱/۳۹۳، ۱/۳۸۶، ۰/۶۶ و ۳/۹۲۱ معادل آلفاتوکوفرول در گرم عصاره بود و بیانگر ارتباط مستقیم میان مقدار ترکیبات فنولی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بوده است [۲۹].

۳-۴-۳- مقایسه میانگین $EC_{۵۰}$ برای عصاره‌های مختلف بادرنجبویه و BHT به روش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل

به‌طور معمول برای مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌های مختلف از فاکتوری تحت عنوان $EC_{۵۰}$ استفاده می‌گردد. طبق تعریف $EC_{۵۰}$ به غلظتی از عصاره اطلاق می‌گردد که در طول موج ۶۹۵ نانومتر جذبی معادل ۰/۵ داشته باشد. همان‌طور که در جدول ۱۱ مشاهده می‌گردد، در استخراج غرقابی بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصاره اتانولی بود که نسبت به BHT قوی‌تر عمل کرد. عصاره اتانولی فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به BHT داشت. تفاوت مشاهده شد بین $EC_{۵۰}$ عصاره‌های مختلف را می‌توان به تفاوت در مقادیر ترکیبات فنولی آن‌ها نسبت داد. همان‌طور که مشاهده شد، مقادیر $EC_{۵۰}$ در آزمون‌های مختلف متفاوت بوده است. این اختلاف در نتایج حاصله بیانگر این است که طبیعت فیزیکوشیمیایی فنول‌های موجود در عصاره مهم‌تر از محتوای فنولی کل اندازه‌گیری شده توسط روش فولین سیوکالتیو در ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد.

هم‌چنین این مطلب نشان می‌دهد که تفاوت در فعالیت آنتی‌اکسیدانی در روش‌های مختلف (روش فولین سیوکالیتو، سنجش مهار رادیکال DPPH، سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل و قدرت احیاکنندگی) به مقدار زیادی به طبیعت آب‌دوست و آب‌گریز فنول‌های موجود و نسبت آن‌ها وابسته می‌باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول (۱۱) مقایسه میانگین $EC_{۵۰}$ (میکروگرم در میلی‌لیتر) برای عصاره‌های مختلف بادرنجبویه و BHT حاصل از استخراج غرقابی و ماکروویو در روش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل

نمونه	$EC_{۵۰}$ (غرقابی)	$EC_{۵۰}$ (ماکروویو)
آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT	۹۸/۰۹ ±۰/۱۷[a]	۹۸/۰۹ ±۰/۱۷[a]
عصاره اتانولی ۵۰ درصد	۹۴/۱۱ ±۰/۱[b]	۶۷/۱۳ ±۰/۲۲[b]
عصاره متانولی ۸۰ درصد	۱۴۱/۹۲ ±۰/۱۸[c]	۷۵/۰۵ ±۳۱/۰[c]
عصاره آبی	۱۸۳/۰۶ ±۰/۴۱[d]	۹۰/۰۸ ±۰/۵۵[d]

*حروف کوچک مقایسه بین ردیف‌ها در هر ستون را نشان می‌دهد.

سنجش DPPH به طور اساسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی فنول‌های محلول در آب را سنجش می‌کند، بنابراین وقتی دو عصاره در روش DPPH نتایج مشابهی دادند نشان‌دهنده این است که مقدار مولکول‌های آب دوست مشابه دارند [۳۰]. علاوه‌بر این روش‌های مختلف تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی وابسته به شرایط واکنش، نوع سوبسترا، نوع آزمون و نوع آنتی‌اکسیدان می‌باشد [۳۱]. مقدار فنول کل دارای همبستگی و ارتباط مستقیم با فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. بنابراین فعالیت آنتی‌اکسیدانی منعکس‌کننده مقدار ترکیبات فنولی است.

۳-۵- بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی حاصل از امواج ماکروویو در روغن سویا

از آن‌جا که عصاره اتانولی مستخرج به روش مایکروویو درتمامی قسمت‌های آنتی‌اکسیدانی فعالیت بالاتری از خود نشان داد، جهت بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره بادرنجبویه در روغن سویا، این عصاره انتخاب گردید و ارزیابی اثر عصاره اتانولی در پایداری روغن سویا در آزمون گرم‌خانه‌گذاری (دمای ۶۳ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۶ روز) با اندازه‌گیری عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید انجام شد.

۳-۵-۱- عدد پراکسید

جدول ۱۲ اعداد پراکسید را در مجموع روزهای صفر تا ۱۶ نشان می‌دهد. در بررسی میانگین اعداد پراکسید مشخص شد که نمونه شاهد در تمامی روزها دارای بالاترین مقدار عدد پراکسید بوده و تفاوت معناداری با تیمارهای دیگر داشت. تا روز چهارم، کم‌ترین میزان اندیس پراکسید در غلظت ppm ۱۰۰۰ و از روز چهارم به بعد کم‌ترین میزان این اندیس در BHT-۲۰۰ دیده شد. غلظت‌های ۵۰۰ و ppm ۱۰۰۰ عصاره بهتر از BHT-۱۰۰ اکسیداسیون را به تأخیر انداخته است. با افزایش زمان نگه‌داری نمونه‌ها در شرایط اکسیداسیون، اعداد پراکسید افزایش یافته است. نمونه شاهد که حاوی هیچ آنتی‌اکسیدانی نبوده بیش‌ترین مقدار عدد پراکسید را در همه روزها دارا بود. در واقع افزایش در مقدار پراکسید را می‌توان به تشکیل هیدروپراکسیدها نسبت داد. پراکسید محصول اولیه اکسیداسیون مواد چرب است. اثر غلظت نیز در مهار اکسیداسیون معنادار بوده و با افزایش غلظت در همه آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و طبیعی، اکسیداسیون بیش‌تر به تاخیر افتاد.

۳-۵-۲- عدد تیوباربیتوریک اسید

با توجه به مقادیر اندیس تیوباربیتوریک اسید ارائه شده در جدول ۱۳ نیز مشخص شد که نمونه شاهد در همه غلظت‌ها دارای بالاترین مقدار این اندیس بود که اختلاف معناداری با تیمارها داشت ($p<۰/۰۵$). بالاترین مقدار اندیس تیوباربیتوریک اسید در همه روزها مربوط به نمونه شاهد و نیز پایین‌ترین مقدار آن در تمام روزها مربوط به غلظت ppm ۱۰۰۰ بود. غلظت ppm ۵۰۰ عصاره اختلاف معناداری با هر دو غلظت BHT نشان نداد. غلظت ppm ۱۰۰۰ عصاره بهتر از BHT در هر دو غلظت عمل کرده است. اثر غلظت نیز در مهار اکسیداسیون معنادار بوده و با افزایش غلظت در همه آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و طبیعی، اکسیداسیون بیش‌تر به تاخیر افتاد. غلظت ۱۰۰۰ عصاره نسبت به غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰، عدد تیوباربیتوریک اسید کم‌تری در تمام روزهای آزمایش داشت که نشان‌دهنده فعالیت

Archive of SID

www.SID.ir

جدول (۱۲) مقایسه میانگین اعداد پراکسید روغن سویا حاوی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی بادرنجبویه در مقایسه با روغن حاوی BHT و شاهد در آزمون گرم‌خانه‌گذاری، دمای ۶۳ درجه سانتی‌گراد و ۱۶ روز

زمان / تیمار	نمونه شاهد	غلظت ۲۵۰	غلظت ۵۰۰	غلظت ۱۰۰۰	BHT -۱۰۰	BHT -۲۰۰
صفر	۰/۹ ± ۰/۰۲^{Aa}	۰/۲ ± ۰/۰۱^{Aa}	۰/۱ ± ۰/۰۲^{Aa}	۰/۱ ± ۰/۰۲^{Aa}	۰/۲ ± ۰/۰۱^{Aa}	۰/۱ ± ۰/۰۳^{Aa}
روز دوم	۱۵/۷۰ ± ۰/۲^{Ba}	۲/۰۱ ± ۰/۵^{Ab}	۱/۹۹ ± ۰/۱^{Ab}	۱/۹۶ ± ۰/۱۵^{Ab}	۲/۰۱ ± ۰/۱۱^{Ab}	۱/۹۹ ± ۰/۲^{Ab}
روز چهارم	۳۱/۱۴ ± ۰/۱۷^{Ca}	۴/۰۲ ± ۰/۱^{Ab}	۳/۹۹ ± ۰/۲^{Ab}	۳/۹۳ ± ۰/۲^{Ab}	۴/۰۲ ± ۰/۲۲^{Ab}	۳/۹۹ ± ۰/۵^{ABb}
روز ششم	۴۰/۶۵ ± ۰/۱^{Da}	۱۱/۷۰ ± ۰/۱۵^{Bbc}	۱۴/۳۳ ± ۰/۴۱^{Bb}	۹/۵۵ ± ۰/۳۱^{Bc}	۱۵/۱۳ ± ۰/۳۱^{Bb}	۸/۴۴ ± ۰/۴۱^{Bc}
روز هشتم	۴۹/۸۹ ± ۰/۲۱^{Ea}	۱۹/۳۹ ± ۰/۳۱^{Cc}	۲۴/۶۷ ± ۰/۱۶^{Cbc}	۱۵/۱۷ ± ۰/۱۷^{Ccd}	۲۶/۲۳ ± ۰/۱۵^{Cb}	۱۲/۸۹ ± ۰/۱^{BCd}
روز دهم	۷۵/۹۳ ± ۰/۱۷^{Fa}	۲۹/۷۵ ± ۰/۱^{Dcd}	۳۱/۲۳ ± ۰/۳۵^{Dbc}	۲۵/۰۲ ± ۰/۵^{Dde}	۳۴/۹۷ ± ۰/۲^{Db}	۲۱ ± ۰/۱۷^{Ce}
روز دوازدهم	۱۰۱/۹۷ ± ۰/۳۵^{Ga}	۴۰/۱۲ ± ۰/۲^{Ebc}	۳۷/۸ ± ۰/۱۸^{Ecd}	۳۴/۸۷ ± ۰/۳۵^{Ede}	۴۳/۷۲ ± ۰/۴۱^{Eb}	۲۹/۱۱ ± ۰/۲^{De}
روز چهاردهم	۱۷۷/۷۳ ± ۰/۵^{Ha}	۹۵/۰۶ ± ۰/۱۷^{Fb}	۸۱/۲۲ ± ۰/۵^{Fc}	۷۶/۴۵ ± ۰/۱۶^{Fd}	۸۵/۷۷ ± ۰/۱۶^{Fc}	۶۸/۰۷ ± ۰/۵۵^{Ee}
روز شانزدهم	۲۵۳/۴۹ ± ۰/۱^{Ia}	۱۵۰/۰۱ ± ۰/۴۱^{Gb}	۱۲۴/۶۴ ± ۰/۱^{Gc}	۱۱۸/۰۴ ± ۰/۵۵^{Gd}	۱۲۷/۸۳ ± ۰/۲۲^{Ge}	۱۰۷/۰۳ ± ۰/۱۵^{Ff}

حروف مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد می‌باشد. حروف بزرگ مقایسه بین ردیف‌ها را نشان می‌دهد.
حروف کوچک مقایسه بین ستون‌ها را نشان می‌دهد.

جدول (۱۳) مقایسه میانگین اعداد تیوباربیتوریک اسید روغن سویا حاوی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی بادرنجبویه در مقایسه با روغن حاوی BHT و شاهد در آزمون گرم‌خانه‌گذاری، دمای ۶۳ درجه سانتی‌گراد و ۱۶ روز

زمان / تیمار	نمونه شاهد	غلظت ۲۵۰	غلظت ۵۰۰	غلظت ۱۰۰۰	BHT -۱۰۰	BHT -۲۰۰
صفر	۰/۰۲۲ ± ۰/۰۱^{Aa}	۰/۰۲۱ ± ۰/۰۱^{Aa}	۰/۰۲۱ ± ۰/۰۲^{Aa}	۰/۰۲۰ ± ۰/۰۱^{Aa}	۰/۰۲۱ ± ۰/۰۳^{Aa}	۰/۰۲۲ ± ۰/۰۲^{Aa}
روز دوم	۰/۰۴۲ ± ۰/۴۱^{Ba}	۰/۰۳۱ ± ۰/۴۱^{ABa}	۰/۰۳۱ ± ۰/۵^{ABa}	۰/۰۲۷ ± ۰/۱۵^{Aa}	۰/۰۳۴ ± ۰/۵^{ABa}	۰/۰۳۰ ± ۰/۴۵^{ABa}
روز چهارم	۰/۰۶۳ ± ۰/۲^{Ca}	۰/۰۴۱ ± ۰/۲^{Bb}	۰/۰۴۱ ± ۰/۱۷^{Bb}	۰/۰۳۴ ± ۰/۱۸^{Ab}	۰/۰۴۷ ± ۰/۳۱^{Bb}	۰/۰۴۰ ± ۰/۱۵^{Bb}
روز ششم	۰/۱۳۵ ± ۰/۱۵^{Da}	۰/۰۸۵ ± ۰/۵^{Cb}	۰/۰۸۲ ± ۰/۴۱^{Cbc}	۰/۰۶۸ ± ۰/۱^{Bc}	۰/۰۸۵ ± ۰/۲^{Cb}	۰/۰۸ ± ۰/۱۸^{Cc}
روز هشتم	۰/۲۰۸ ± ۰/۱۶^{Ea}	۰/۱۳ ± ۰/۱^{Db}	۰/۱۱۷ ± ۰/۳۵^{Dbc}	۰/۱۰۲ ± ۰/۲^{Cc}	۰/۱۲۳ ± ۰/۴۱^{Db}	۰/۱۲ ± ۰/۱^{Db}
روز دهم	۰/۲۵۹ ± ۰/۳۵^{Fa}	۰/۱۵۱ ± ۰/۱۷^{Eb}	۰/۱۲۸ ± ۰/۱^{DEc}	۰/۱۰۷ ± ۰/۵^{Cc}	۰/۱۲۹ ± ۰/۳۱^{Dc}	۰/۱۲۴ ± ۰/۲^{Dc}
روز دوازدهم	۰/۳۱۱ ± ۰/۲^{Ga}	۰/۱۷۳ ± ۰/۵۵^{Fb}	۰/۱۴ ± ۰/۳۱^{Ec}	۰/۱۳۶ ± ۰/۴۵^{CD}	۰/۱۳۶ ± ۰/۱۶^{Dc}	۰/۱۱۱ ± ۰/۱۷^{Dd}
روز چهاردهم	۰/۴۲ ± ۰/۵^{Ha}	۰/۲۲۴ ± ۰/۱^{Gb}	۰/۱۸۷ ± ۰/۲^{Fc}	۰/۱۵۷ ± ۰/۱۷^{Dd}	۰/۱۹۸ ± ۰/۱۵^{Ec}	۰/۱۷۱ ± ۰/۳۱^{Ed}
روز شانزدهم	۰/۵۲۹ ± ۰/۱^{Ia}	۰/۲۷۵ ± ۰/۳۱^{Hb}	۰/۲۳۴ ± ۰/۱۵^{Gc}	۰/۲۰۳ ± ۰/۲^{Ed}	۰/۲۶۱ ± ۰/۱۸^{Fb}	۰/۲۳۱ ± ۰/۳۵^{Fc}

حروف مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد می‌باشد. حروف بزرگ مقایسه بین ردیف‌ها را نشان می‌دهد.
حروف کوچک مقایسه بین ستون‌ها را نشان می‌دهد.

آنتی‌اکسیدانی بیش‌تر آن در غلظت‌های بالاتر می‌باشد. تمامی نمونه‌های مورد بررسی از نظر عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اختلاف معناداری با نمونه شاهد داشتند. بنابراین تمامی نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان در برابر اکسیداسیون پایدارتر از نمونه شاهد بودند. آنتی‌اکسیدان‌ها طی مدت زمان خاصی فعال باقی مانده و با گذشت زمان به تدریج از درجه تاثیر آن‌ها کاسته می‌شود که دلیل آن می‌تواند نگه داشتن نمونه‌ها در شرایط اکسیداسیون و حرارت باشد. به همین خاطر با افزایش زمان نگه‌داری نمونه‌های روغن در شرایط اکسیداسیون، میزان عدد پراکسید افزایش یافت.

Archive of SID

www.SID.ir

به‌طور کلی هر قدر که درجه غیراشباع روغن‌ها بیش‌تر باشد، روغن آمادگی بیش‌تری برای اکسیداسیون دارد. وقتی که میزان پراکسید به حد معینی برسد تغییرات مختلفی صورت گرفته و مواد فرار آلدهیدی و کتونی ایجاد می‌شوند که در ایجاد بو و طعم نامطبوع مواد چرب مؤثر می‌باشند و باعث بالا رفتن اندیس تیوباربیتوریک می‌گردد.

بنابراین در روزهای پایانی، از تجزیه پراکسیدها، مالون دی آلدهیدها تولید می‌شوند که بیانگر مراحل ثانویه اکسیداسیون می‌باشد. آلدهیدهای فرار عامل اصلی بدطعمی روغن هستند. از آن‌جا که مالون آلدهید از تجزیه هیدروپراکسیدها حاصل می‌گردد، بنابراین در روزهای ابتدایی مقدار تیوباربیتوریک اسید پایین است، اما بعد از گذشت زمان که مقدار محصولات اولیه اکسیداسیون افزایش یافته است و شروع به تجزیه شدن کردند که مقدار این اندیس نیز افزایش یافت. این شاخص نیز مانند عدد پراکسید با افزایش غلظت عصاره‌ها کاهش یافت، زیرا با افزایش غلظت مقدار ترکیبات فنولی افزایش یافته که منجر به گروه‌های فعال برای مهار رادیکال آزاد می‌گردد. فاراگ و همکاران (۲۰۰۵)، با بررسی اثر عصاره برگ زیتون در غلظت ppm ۸۰۰ بر اکسیداسیون روغن آفتابگردان، نتایج مشابهی را گزارش کردند [۳۲].

در این زمینه محمدی و همکاران (۲۰۱۴) به مطالعه اندازه‌گیری ترکیب فنولی، رزمارینیک اسید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی بادرنجبویه با استفاده از روش DPPH و اثر آنتی‌اکسیدانی آن در روغن سویا با استفاده از دستگاه رنسیمت پرداختند. نتایج آن‌ها نشان داد که عصاره غنی از ترکیب فنولی و رزمارنیک اسید بوده و عصاره می‌تواند باعث ثبات روغن سویا شود [۳۳].

نتایج به‌دست آمده با یافته‌های بوتا و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت دارد [۱۱]. آن‌ها با بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی بادرنجبویه در سه سطح ۲۰۰، ۶۰۰ و ppm ۱۰۰۰ در روغن آفتابگردان در طی فرایندهای حرارتی ماده غذایی دریافتند که اکسیداسیون روغن آفتابگردان با استفاده از عصاره بادرنجبویه طبیعی بهبود می‌یابد.

۴- نتیجه‌گیری

در این پژوهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه بادرنجبویه مورد بررسی و خصوصیات آنتی‌اکسیدانی آن به روش‌های مختلف مورد مطالعه قرار گرفت. به منظور استخراج ترکیبات فنولی از سه حلال آب، متانول ۸۰ درصد و اتانول ۵۰ درصد در ۷ زمان مختلف ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۸، ۲۱ و ۲۴ ساعت برای روش غرقابی و ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲ و ۱۵ دقیقه برای روش ماکروویو استفاده شد. نتایج حاکی از آن بود که با افزایش زمان استخراج تا ۱۸ ساعت، بیش‌ترین میزان ترکیبات فنولی استخراج گردید. در بین عصاره‌های مختلف، اتانول بیش‌ترین میزان استخراج ترکیبات فنولی را در هر دو روش استخراج به خود اختصاص داد. نتایج نشان داد که در مورد روش ماکروویو با افزایش زمان اشعه‌دهی، میزان استخراج افزایش یافت. در مقایسه دو روش استخراج مشخص شد که روش استخراج با امواج ماکروویو راندمان بالاتری نسبت به روش غرقابی دارد، به‌طوری که در مورد همه حلال‌های مصرفی، میزان استخراج ترکیبات فنولی در تیمار ماکروویوی بالاتر است و عصاره اتانولی که با ماکروویو استخراج شده بود با ۷۵/۸۰۴ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم نمونه خشک بالاترین میزان ترکیبات فنولی را به خود اختصاص داد. در ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف با سه آزمون مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و قدرت احیاءکنندگی، مشخص گردید عصاره اتانولی با بالاترین مقدار ترکیبات فنولی در هر سه آزمون، بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کم‌ترین میزان EC_{50} را دارا بود. به منظور بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه بادرنجبویه در روغن سویا، عصاره اتانولی حاصل از امواج ماکروویو در سه سطح ۲۵۰، ۵۰۰ و ppm ۱۰۰۰و آنتی‌اکسیدانی سنتزی BHT در دو سطح ۱۰۰ و ppm ۲۰۰ به روغن اضافه گردیدند. اندازه‌گیری اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید نمونه‌های روغن در طی شانزده روز گرم‌خانه‌گذاری در شرایط اکسیداسیون تسریع یافته، حاکی از آن بود که عصاره‌های حاصل از گیاه بادرنجبویه در تمامی غلظت‌های مورد بررسی توانستند اکسیداسیون را نسبت به نمونه‌ی شاهد به خوبی مهار کنند. در روزهای آغازین تفاوت معنی‌داری در مقادیر پراکسید و تیوباربیتوریک اسید تیمارها مشاهده نشد، اما با گذشت زمان، اکسیداسیون به‌خوبی مهار گردید. با در نظر گرفتن فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالقوه و مقادیر غنی از فنول و فلاونوئیدهای گیاه بادرنجبویه،

Archive of SID

www.SID.ir

می‌توان از آن در موادغذایی مختلف به جای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و سایر نگه‌دارنده‌های شیمیایی جهت به تاخیر انداختن پراکسیداسیون لیپید استفاده نمود.

۵- تشکر و قدردانی

بدین وسیله از دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر تقدیر و تشکر می گردد.

منابع

[1] Yanishlieva-Maslarova, N.V. (2001). Inhibiting oxidation, in: Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gorden, M. (Eds.), *Antioxidants in Food*.Woodhead Publishing Ltd. ,Cambridge, UK, pp 22-70.

[2] Martinez-Tome, M., Jimenez, A., Ruggieri, S., Frega, N., Strabbioli, R., Murcia, M. (2001). Antioxidant properties of mediterranean spices compared with common food additives. *J. Food Protec.*, 64, 1412-1419.

[3] Kahl, R., Kappus, H. (1993). Toxicity of synthetic antioxidants BHT and BHA in comparison with natura antioxidants vitamin E. *Z. Lebensm. Unters. Forsch*., 196, 329- 338.

[4] Namiki, M. (1990). Antioxidants, antimutagens in food. *J. Crit. Rev. Food Sci. Nutr*., 29(4), 273-300.

[5] Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V. (2004). Use of different methods for testing antioxidative of oregano essential oil. *J. Food Chem.*, 85, 633-640.

[6] Koch-Heitzmann, I., Schultze, W. (1984). Melissa officinalis L. an old medicinal plant with new therapeutic action. *Dtsc Apothek Ztg*., 124, 2137-2145.

[7] Lamaison, J.L., Petitjean-Freytet, C., Duband, F., Carnat, A.P. (1991). Rosemarinic acid content and antioxidant activity of French lamiaceae. *Fitoterapia*, 62, 166-171.

[8] Patora, J., Klimek, B. (2002). Flavonoids from lemon balm (Melissa officinalis L., Lamiaceae). *Acta Pol Pharm*., 59(2), 139-143.

[9] De Carvalho, N.C., Correa-Angeloni, M.J., Leffa, D.D., Moreira, J., Nicolau, V., De Aguiar Amaral, P., *et al.* (2011). Evaluation of the genotoxic and antigenotoxic potential of Melissa officinalis in mice. *Genet Mol. Biol.*, 34(2), 290-297.

[10] Ibarra, A., Feuillere, N., Roller, M., Lesburgere, E., Beracochea, D. (2010). Effects of chronic administration of Melissa officinalis L. extract on anxiety-like reactivity and on circadian and exploratory activities in mice. *Phytomedicine,* 17(6), 397-403.

[11] Buta, N., Popa, N., Roman, L., Bordea, G., Bordea, A., Bordea, N. (2013). The antioxidant effect of Melissa officinalis extract regarding the sunflower oil used in food thermal aplications. *J. Agroal. Proc. Technol.*, 19(2), 276-279.

[12] Herodez, S.S., Hadolin, M., Skerget, M., Knez, Z. (2003). Solvent extraction study of antioxidants from Balm (Melissa officinalis L.) leaves. *Food Chem.*, 80, 275-282.

[13] Miron, T. L., Herrero, M., Ibáñez, E. (2013). Enrichment of antioxidant compounds from Lemon Balm (Melissa officinalis) by pressurized liquid extraction and enzyme- assisted extraction. *J. Chromatogr. A*., 1288, 1-9.

[14] Ince, A.E., Sahin, S., Sumnu, S.G. (2013). Extraction of phenolic compounds from melissa using microwave and ultrasound. Turk. *J. Agric. For*., 37, 69-75.

[15] Rafiee, Z., Jafari, S., Alami, M., Khomeiri, M. (2012). Antioxidant effect of microwave-assisted extracts of olive leaves on sunflower oil. *J. Agr. Sci. Tech*., 14, 1497-509.

[16] Slinkard, K., Singleton, V.L. (1977). Total phenol analysis; automation and comparison with manual methods. *Am. J. Enol. Viticul.*, 28, 49-55.

Archive of SID

www.SID.ir

Puntel, R.L., Da Silva, G.N.S., Heinzmann, B.M. (2009). Antioxidant effects of different extracts from Melissa officinalis, Matricaria recutita and Cymbopogon citratus. *Neurochem. Res.*, 34(5), 973-83.

[27] Pereira, J.A., Oliveira, I., Sousa, A., Valento, P., Andrade, P.B., Ferreira, I.C.F.R., Ferreres, F., Bento, A., Seabra, R., Estevinho, L. (2007). Walnut (*Juglans regia L.*) leaves: Phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. *Food Chem. Toxicol.*, 45(11), 2287- 2295.

[28] Olivera, I., Sousa, A., Valentao, P., Andrade, P., Ferreira, F., Bento, A., Seabra, R., Estevinho, L., Pereira, J.A. (2007). Hazel (Corylus avellana) leaves as source of antimicrobial and antioxidant compounds. *Food Chem.*, 105, 1018-1025.

[29] Arabshahi-Delouee, S., Urooj, A. (2007). Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (Morus indica L.) leaves. *Food Chem*., 102(4), 1233-1240.

[30] Chun, S.S., Vattem, D.A., Lin, Y.T., Shetty, K. (2005). Phenolic antioxidants from clonal oregano (Origanum vulgare) with antimicrobial activity against Helicobacter pylori. *Process Biochem.*, 40, 809-816.

[31] Contini, M., Baccelloni, S., Massantini, R., Anelli, G. (2008). Extraction of natural antioxidants from hazelnut (Corylus avellana L.) shell and skin wastes by long maceration at room temperature. *Food Chem.*, 110, 659-669.

[32] Farag, R.S., Mahmoud, E.A., Basuny, A.M. (2007). Use crude olive leaf juice as a natural antioxidant for the stability of sunflower oil during heating. *Int. J. Food Sci. Tech*., 42, 107-115.

[33] Mohamadi, S., Kiarostami, K., Nazem Bokaii, Z. (2014). The Study of antioxidant property of metanolic extracts of Melissa officinalis L. and Salvia officinalis L. on stability of soybean oil. *J. Agroal. Proc. Technol.*, 20(4), 293-297.

[17] Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., Nakamura, T. (1992). Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. Agr. Food Chem., 40, 945-948.

[18] Yildirim, A., Mavi, A., Kara, A.A. (2001). Determination of antioxidant and antimicrobial activities of Rumex crispus L. extracts. *Agr. Food Chem.*, 49, 4083-4089.

[19] Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant promising extraction tool for medicinal plant research. *J. Food Chem.*, 92, 144-151.

[20] AOAC. (1990). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, 15th ed. Washington, DC., USA.

[21] Pinelo, M., Del Fabbro, P., Marzocco, L., Nunez, M.J., Vicoli, M.C. (2005). Optimization of continuous phenol extraction from Vitis vinifera byproducts. *Food Chem.*, 92, 109-117.

[22] Zhang, Y., Yang, L., Zu, Y., Chen, X., Wang, F., Liu, F. (2010). Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage. *J. Food Chem.*, 118(3), 656-662.

[23] Hemwimon, S., Pavasant, P., Shotipruk, A. (2007). Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of Morinda citrifolia. *Sep. Purif. Technol*, 54, 44–50.

[24] Pan, X., Niu, G., Liu, H. (2003). Microwave-assisted extraction of tea polyphenols and tea caffeine from green tea leaves. *Chem. Eng. Process.*, 42(2), 129-133.

[25] Barreira, J.C.M., Ferreira, I.C.F.R., Oliveira, M.B.P.P., Pereira, J.A. (2008). Antioxidant activities of the extracts from chestnut flower, leaf, skins and fruit. *Food Chem.*, 107(3), 1106-1113.

[26] Pereira, R.P., Fachinetto, R., De Souza Prestes, A.,

Archive of SID

www.SID.ir