بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی برخی از گیاهان تیره گل سرخ به عنوان جایگزین آنتی اکسیدان‌های سنتزی در صنایع غذایی

سعیده خادمی[a] *، شاهین مردانی نژاد[b]

[a] استادیار گروه زیست شناسی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[b] استادیار دانشکده فنی مهندسی، واحد مبارکه، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۴/۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۶/۲۶

چکیده

مقدمه: در حال حاضر شناسایی ترکیبات آنتی اکسیدان با ارزش دارویی و اثرات جانبی کم در طب پیشگیری و صنایع غذایی روند رو به گسترشی دارد. این تحقیق با هدف مقایسه قدرت آنتی اکسیدانی ۵ گونه تیره گل سرخ با آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHT، BHA و همچنین ویتامین C انجام شد

مواد و روش‌ها: محتوای فنلی برگ و گلبرگ گل محمدی، دانه، میوه و برگ درخت به، دانه و برگ بادام، برگ و میوه هلو، میوه و برگ درخت سیب پس از عصاره گیری به کمک واکنش گر فولین و فعالیت آنتی اکسیدانی با روش مهار رادیکال آزاد DPPH و نیتریک اکساید اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: محتوای فنلی نمونه ها بین ۰/۴۱ ± ۰/۵۱–۰/۸۹±۰/۵۳ ۳۵ معادل میلی گرم اسید گالیک در گرم وزن خشک متغیر بود. بیشترین محتوای فنلی مربوط به برگ گل محمدی (*Rosa damascena* Mill) و در رتبه بعدی متعلق به برگ به (*Cydonia oblonga* Mill) بود. غلظت مهار ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد و نیتریک اکساید عصاره‌ها به ترتیب بین ۰/۹۱ ± ۷۷/۴۲–۹۶/۴±۱۴۸۴/۲ و ۲۰۳/۷۶±۱۵۷۲/۴۶–۳/۳۹±۲۳۳/۲۴ میکرو گرم در میلی لیتر متغیر بود. هر چند عصاره گلبرگ گل محمدی، میوه به، دانه به و دانه بادام از فعالیت آنتی اکسیدانی خوبی برخوردار بودند اما بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره‌های برگ گل محمدی و برگ به مشاهده شد . اختلاف معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۱$) بین توانایی مهار رادیکال های آزاد عصاره های برگ گل محمدی و برگ به با آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHT، BHA و Vit C مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که فعالیت آنتی اکسیدانی با محتوای فنلی رابطه مستقیم دارد و عصاره‌های برگ و گلبرگ گل محمدی، برگ، میوه و دانه درخت به و همچنین دانه بادام می‌توانند جایگزین مناسبی برای آنتی اکسیدان‌های سنتزی باشند.

واژه‌های کلیدی: *رادیکال آزاد، رادیکال نیتریک اکساید، ظرفیت آنتی اکسیدانی، محتوای فنلی*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: S.Khademi@shahryariau.ac.ir

biau.ac.ir

مقدمه

حیات ما بر روی زمین با حضور اکسیژن امکان پذیر می‌شود و در طی اکسیداسیون مواد غذایی انرژی آزاد می‌شود. با این وجود اکسیژن های واکنش گر[1] تولید می‌گردند که قادرند به موجود زنده آسیب برسانند . مصرف آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در میوه و سبزی رژیم غذایی، نقش مثبتی در حفظ وضعیت سلامت بدن انسان ایفا می کند. تولید منظم و کنترل شده اکسیژن های فعال موجب پایداری تعادل واکنش های اکسایش و احیاء می‌گردند که این امری ضروری برای حفظ سلامت فیزیولوژیکی ارگانیسم های زنده است (Andres *et al*., 2001). شواهد زیادی از نقش رادیکال‌های آزاد در سرطان، پیری، بیماری های قلبی عروقی، آلزایمر، بیماری های التهابی و نظایر آن در انسان گزارش شده است (Duduku *et al*., 2010). علاوه بر استفاده دارویی از آنتی‌اکسیدان‌ها، امروزه این مواد به عنوان نگهدارنده در صنایع غذایی، لوازم آرایشی، لاستیک سازی و نظایر آن استفاده می شوند. در صنایع غذایی رادیکال‌های آزاد مسئول اکسیداسیون لیپیدها هستند. آنتی اکسیدان‌های سنتزی، با رادیکال های آزاد که لیپیدها را اکسید می کنند واکنش داده و خود به رادیکال تبدیل می شوند و باعث نگهداری مواد غذایی و حفظ مواد آرایشی و دارویی نیز می شوند (Salganik, 2001). گرچه این مواد در مهار استرس های اکسیداتیو موثرند اما آزمایشات متعدد به سمی بودن و سرطان زا بودن آن ها تأکید دارد (Slinkard & Singelton, 1977) در برخی تحقیقات به اثرات سمی آنتی اکسیدان های سنتزی بر کبد اشاره شده است (Andres *et al*., 2001). نیتریک اکساید دارای کارکردهای سلولی فراوانی از جمله تنظیم رشد و چرخه سلولی، تمایز و نقش های فیزیولوژیکی بسیاری هم چون تنظیم فشار خون، لخته شدن خون و انعطاف سیناپسی می‌باشد. بسیاری فرایندها از جمله انواع سوختگی، عفونت‌ها و آسیب های کبدی منجر به تولید بیش از حد و غیر طبیعی نیتریک اکساید می‌گردند. از این رو حذف نیتریک اکساید اضافه، اثرات سودمندی در حفظ سلامت بدن دارد (Shah *et al*., 2004). یکی از راه کارهای مهم برای کاستن از تولید بیش از حد نیتریک اکساید، بهره‌گیری از مهار کننده های نیتریک اکساید است . کوئرستین یک فلاونوئید طبیعی است که به منظور مهار نیتریک اکسید استفاده می گردد اما اثر سرطان زایی آن گزارش شده است (Dunnik & Hailey, 1992). در یک دهه اخیر تحقیقات زیادی برای استفاده از آنتی اکسیدان های طبیعی به جای آنتی اکسیدان های سنتزی در حال انجام است . تیره گل سرخ در طب سنتی از جایگاه مهمی برخودار است . خواص آنتی‌اکسیدانی تیره گل سرخ در مقایسه با سایر تیره ها مانند نعناع کمتر مطالعه شده است، گیاهان با خواص آنتی اکسیدانی بسیار بالا مانند رز چینی در برخی از تحقیقات، گزارش و به صورت تجاری به فروش می رسد. مطالعات انجام شده در کشور بر روی گیاهان این تیره، بیشتر محدود به نوع ترکیبات فنلی می باشد. با توجه به ارتباط نزدیک محتوای فنلی و خاصیت آنتی اکسیدانی (Erkan *et al*., 2008; Heim *et al*., 2002) می‌توان پیش بینی کرد گیاهی که مقدار ترکیبات فنلی آن بالا است ازخاصیت آنتی اکسیدانی مطلوبی برخوردار است . تحقیقی با هدف تعیین محتوای فنل و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی برگ درخت به در مقایسه با چای سبز انجام شد که نتایج حاصله به قدرت آنتی‌اکسیدانی بالای برگ درخت به، اشاره داشت اما این توان در مقایسه با چای سبز کمتر گزارش شد (Farhoosh *et al*., 2007) در مطالعه دیگر میزان فلاونوئیدهای (کامفرول و کوئرستین) گونه‌های گل محمدی بررسی شد، نتایج این تحقیق نشان داد تمامی ژنوتیپ های این گیاه از محتوای فنلی بالایی برخوردارند (Jaymand *et al*., 2010). در این راستا این تحقیق با مقایسه قدرت آنتی‌اکسیدانی بر مبنا ی مهار رادیکال های آزاد و نیتریک اکساید، ۵ گونه تیره گل سرخ با قدرت آنتی اکسیدان های سنتزی BHT، BHA و همچنین ویتامین C به هدف امکان استفاده از این گیاهان به عنوان جایگزین مناسب و کم خطر به جای آنتی اکسیدان های سنتزی انجام شد.

مواد و روش‌ها

-تهیه و عصاره گیری نمونه های گیاهی

قسمت های مورد استفاده در طب سنتی ۵ گونه تیره گل سرخ شامل برگ و گلبرگ گل محمدی[2]، دانه، میوه و

[1] Reactive Oxygen Species (ROS)

[2] *Rosa damascena* Mill

برگ درخت به[1]، دانه و برگ بادام[2]، برگ و میوه هلو[3]، میوه و برگ درخت سیب [4] از رویشگاه های طبیعی شهرقدس جمع‌آوری شدند و با آب مقطر شسته و به مدت ۷۲ ساعت در آون تحت دمای ۴۰ درجه سانتی گراد خشک شدند . نمونه‌های خشک شده به کمک آسیاب مدل IKA universal mill ساخت کشور آلمان خرد و پودر شدند . در این روش طی سه مرحله متوالی و طی ۲۴ ساعت نمونه‌های پودر شده با متانل عصاره گیری شدند. در مرحله اول عصاره‌گیری، ۲ گرم پودر نمونه گیاهی با ۷ میلی لیتر متانل مخلوط و برای تسریع عملیات استخراج به مدت دو ساعت روی شیکر قرار گرفت . پس از این مدت مخلوط صاف شده و تفاله مجددا با هفت میلی لیتر متانل مخلوط و به مدت ۲ ساعت عمل تکرار شد. در انتها تفاله مرحله دوم به شش میلی‌لیتر متانل مخلوط و در دمای اتاق به مدت ۲۰ ساعت نگهداری و صاف شد . محلول‌های صاف شده سه مرحله با هم مخلوط شده و به کمک روتاری در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد تغلیظ شدند . و به کمک فریز درایر خشک شدند . عصاره‌ها تا زمان آزمایش در دمای ۵۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند (Duduku *et al*., 2010). کلیه مواد شیمیایی با درجه خلوص بالا از شرکت مرک و سیگما تهیه شدند.

-سنجش محتوای فنلی نمونه ها

برای سنجش محتوای فنلی عصاره های متانلی از واکنش گر فولین سیوکالتیو استفاده شد در این روش به ۱۰ میلی‌گرم از پودر عصاره خشک شده از هر نمونه گیاهی ۱ میلی لیتر متانل اضافه و به کمک ورتکس خوب به هم زده شد، سپس به ۴۰ میکرولیتر از این عصاره، ۲۰۰ میکرولیتر معرف فولین اضافه و با ورتکس خوب به هم زده شد، ۳۱۶۰ میکرولیتر آب دو بار یونیزه به آن اضافه و پس از ۵ دقیقه ۶۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم به آن اضافه شد . پس از ۱۵ ثانیه ورتکس، نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه به مدت ۹۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شدند و جذب نمونه ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه گیری شد (Singleton *et al*., 1999). منحنی استاندارد بر اساس مقادیر ۵۰µg/ml، ۱۰۰ ، ۱۵۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ گالیک اسید ترسیم شد و میزان ترکیبات فنلی گیاه معادل میلی گرم گالیک اسید در یک گرم عصاره خشک محاسبه شد ($mgGAEg^{-1}extract$).

- سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی

فعالیت آنتی اکسیدانی بر اساس روش های مختلفی انجام می گردد که از بهترین روش های سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی توانایی مهار رادیکالی بخصوص رادیکال های آزاد می‌باشد. روش سنجش مهار رادیکال‌های آزاد DPPH[5] به عنوان یکی از رایج ترین روش های سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می باشد که از مزایای آن، عدم وابستگی به قطبیت نمونه می باشد (Kartal *et al*., 2007). این روش توسط Blois در سال ۱۹۵۸ برای اولین بار گزارش شد (Blois, 1958). در این روش DPPH یک رادیکال آزاد پایدار با اتم مرکزی نیتروژن است که با احیاء توسط فرایندهای گرفتن هیدروژن یا الکترون رنگ آن از ارغوانی به زرد تبدیل می شود. ترکیب هایی که قابلیت انجام این عمل را دارند به عن وان آنتی اکسیدان مطرح می شوند (Brand-Williams *et al*., 1995). از طرفی بجز اکسیژن‌های واکنش گر، رادیکال نیتریک اکساید در حالات پاتولوژیک از جمله التهاب و سرطان نیز نقش دارند (Lee *et al*., 2003). لذا گیاه یا محصولات گیاهی که بتوانند از تشکیل نیتریک اکساید جلوگیری کنند، قادرند به عنوان یک جایگاه مهم در مهار این بیماری ها مورد توجه قرار گیرند و فعالیت به دام اندازی این ترکیب می تواند برای توقف واکنش های زنجیره ای ناشی از تولید بیش از حد نیتریک اکساید در سیستم سلامت انسان بکار گرفته شود . روش سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی بر اساس مهار رادیکال‌های نیتریک بر این مبنا استوار است که سدیم نیتروپروساید در محلول‌های آبی در اسیدیته فیزیولوژیک به آهستگی نیتریک اکساید تولید می کند که با اکسیژن محیط وارد واکنش می شود و یون نیتریت تولید می کند. یون نیتریت تولید شده در حضور واکنشگر گریس مورد سنجش قرار می گیرد . بدلیل انجام واکنش در محیط های آبی از ویتامین C به عنوان آنتی اکسیدان سنتزی و شاهد استفاده می‌شود. لذا در استفاده از این دو روش سنجش، در شرایطی که روش اجرا به قطبیت نمونه وابستگی ندارد (روش مهار

[1] *Cydonia oblonga* Mill [2] *Amygdalus communis* L [3] *Prunus persica* L [4] *Malus domestica* Borkh
[5] 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

رادیکال‌های آزاد) و همچنین در شرایطی که مهار رادیکال‌ها به قطبیت نمونه بستگی دارد (روش مهار رادیکال‌های نیتریک پراکساید) به عنوان معیار توانایی آنتی اکسیدانی نمونه‌های گیاهی مورد بررسی قرار گرفت.

-سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی بر مبنای خاصیت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH:

در این روش ۲ میلی‌گرم از پودر هر عصاره در ۲ میلی‌لیتر متانل حل شد و غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم به حجم ۲ میلی لیتر تهیه از هر نمونه تهیه و در لوله آزمایش ریخته شد، ۲ میلی‌لیتر DPPH متانلی با غلظت ۹۰ میکرومولار به هر لوله اضافه و به کمک ورتکس به مدت ۱۵ ثانیه خوب بهم زده شد، سپس هر ۵ دقیقه در طول موج ۵۱۷ نانومتر جذب خوانده شد. نمونه‌ها در تاریکی نگهداری شدند و آخرین جذب هر نمونه در ۳۰ دقیقه اندازه‌گیری شد. کنترل مثبت لوله حاوی رادیکال آزاد بدون عصاره بود . جهت محاسبه درصد مهار رادیکال های آزاد از رابطه زیر استفاده شد.

$$\text{درصد بازداری} = \frac{\text{جذب عصاره در ۵۱۷} - \text{جذب کنترل در ۵۱۷}}{\text{جذب کنترل در ۵۱۷}}$$

برای مقایسه فعالیت مهار رادیکال های آزاد عصاره‌ها با آنتی اکسیدان های سنتزی از مفهوم IC_{50}[1] استفاده شد. IC_{50} غلظتی از عصاره است که برای به دام اندازی ۵۰ درصد رادیکال ها مورد نیاز است. بدلیل مهار سریع رادیکال‌ها توسط آنتی اکسیدان های سنتزی در شاخص مهار ۵۰ درصدی از غلظت ۴۰-۲/۵ میکروگرم در میلی لیتر از آن‌ها استفاده شد (Molynexu, 2004).

-سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی بر اساس مهار رادیکال نیتریک اکساید

در این روش ۱ میلی گرم از پودر عصاره هر نمونه در ۱ میلی لیتر متانل حل شد و با ورتکس خوب به هم زده شد و از آن غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم به حجم ۱ میلی لیتر تهیه و هر کدام به طور جداگانه در لوله آزمایش ریخته شدند به هر کدام از لوله ها یک میلی لیتر سدیم نیتروپروساید با غلظت ۱۰ میکرو مولار اضافه شد . سپس یک میلی لیتر بافر فسفات با اسیدیته ۷/۴ به لوله‌ها اضافه و لوله ها به مدت ۶۰ دقیقه در زیر نور قرار گرفتند . بعد از سپری شدن زمان انکوباسیون، یک میلی لیتر واکنش‌گر گریس (شامل سولفانیل آمید ۱٪، نفتیل اتیلن دی آمین دی هید روکلرید ۱٪ در اسید فسفریک ۲٪) به هر لوله آزمایش اضافه شد . جذب مخلوط در طول موج ۵۴۶ نانومتر در مقابل شاهد قرائت شد . کنترل مثبت، لوله حاوی رادیکال نیتریک اکساید بدون عصاره بود (Sreejayan, 1997). جهت محاسبه درصد مهار رادیکال‌های نیتریک اکساید از رابطه روبرو استفاده شد.

$$\text{درصد بازداری} = \frac{\text{جذب عصاره در ۵۴۶} - \text{جذب کنترل در ۵۴۶}}{\text{جذب کنترل در ۵۴۶}}$$

برای مقایسه فعالیت مهار رادیکال های نیتریک اکساید عصاره‌ها با ویتامین C از مفهوم IC_{50} (۵۰ درصد بازدارندگی) استفاده شد.

-تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها پس از جمع آوری با استفاده از نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تمامی اندازه‌گیری‌ها ۳ بار تکرار شده و کلیه اطلاعات به صورت Mean ± SD گزارش گردید. آنالیز واریانس یک سویه (ANOVA) برای مقایسه میانگین ها بکار رفت و برای مقایسه بین گروه ها از تست دانکن استفاده شد . نتایج با احتمال $P<0.01$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

محتوای فنلی عصاره های گیاهی در محدوده ۳۵/۵۳-۰/۵۱۴ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در گرم وزن خشک عصاره متغیر بود . بیشترین محتوای فنلی مربوط به برگ گل محمدی[2] و کمترین مقدار مربوط به میوه سیب[3] بود. (جدول ۱) برای محاسبه محتوای فنلی از منحنی استاندارد اسید گالیک استفاده شد ($Y=0.000448X+0.0079$, $r^2=0.996$).

[1] The half maximal inhibitory concentration (IC_{50})

[2] *Rosa damascena* Mill

[3] *Malus domestica* Borkh

بر اساس روش مهار رادیکال های آزاد DPPH، مقدار IC_{50} نمونه‌های گیاهی بین ۱۴۸۴/۲±۹۶/۴- ۷۷/۴۲±۰/۹۱ میکروگرم در میلی‌لیتر متغیر بود. نتایج نشان داد با افزایش غلظت عصاره در تمامی نمونه های گیاهی رادیکال‌های آزاد در حد معنی داری مهار شدند . اختلاف معنی داری در سطح یک درصد بین عصاره برگ و گلبرگ گل محمدی، برگ، میوه و دانه درخت به و همچنین دانه بادام با آنتی اکسیدان های سنتزی BHT وBHA مشاهده نشد. کمترین فعالیت مهار رادیکال آزاد مربوط به برگ بادام بود (جدول ۲).

بر اساس روش مهار رادیکال های نیتریک اکساید، مقدار مهار ۵۰ درصدی این رادیکال توسط عصارهای گیاهی در محدوده ۱۵۷۲/۴۶±۲۰۳/۷۶-۲۳۳/۲۴±۳/۳۹ میکروگرم در میلی‌لیتر متغیر بود. نتایج نشان داد با افزایش غلظت عصاره در تمامی نمونه های گیاه ی رادیکال های نیتریک اکساید در حد معنی‌داری مهار شدند (جدول ۳).

جدول ۱- محتوای فنلی عصاره های گیاهی

گیاه	اندام	محتوای فنلی معادل میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک عصاره
Malus domestica Borkh.	برگ درخت سیب	۳/۴۶۶±۰/۷۸۳ [b]
	میوه درخت سیب	۰/۵۱۴±۰/۴۱۱ [a]
Prunus persica L	برگ درخت هلو	۸/۰۸۰±۰/۸۰۵ [d]
	میوه درخت هلو	۷/۷۴۶±۰/۷۸۳ [b]
Amygdalus communis L	برگ درخت بادام	۵/۹۲۲± ۰/۸۴۴[c]
	دانه درخت بادام	۷/۷۰۷± ۰/۵۶۱ [cd]
Mill *Rosa damascena*	برگ گل محمدی	۳۵/۵۳± ۰/۸۹۳[j]
	گلبرگ گل محمدی	۱۳/۸۸۳±۱/۱۱۶ [f]
Mill *Cydonia oblonga*	برگ درخت به	۳۳/۳۵۵±۰/۵۶۱ [h]
	دانه درخت به	۱۰/۷۸۳±۰/۷۴۷ [e]
	میوه درخت به	۲۳/۳۵۰±۱/۰۰۵ [g]

جدول ۲- درصد مهار رادیکال های آزاد توسط غلظت های ۴۰۰-۲۵ میکروگرم در میلی لیتر عصاره متانلی نمونه های گیاهی و مهار ۵۰ درصد رادیکال های آزاد

گیاه	اندام	۲۵ (µg/ml)	۵۰ (µg/ml)	۱۰۰ (µg/ml)	۲۰۰ (µg/ml)	۴۰۰ (µg/ml)	مهار ۵۰٪ رادیکال آزاد µg/ml
Malus domestica Borkh.	برگ سیب	۱/۵۹±۰/۲۸	۲/۹۹±۰/۱۹	۳/۹۶±۰/۴۵	۹/۰۷±۰/۱۹	۱۰/۳۴±۰/۴۸	۱۱۸۰/۵۲±۶۲/۶۳[e]
	میوه سیب	۰/۹۶±۰/۰۳	۱/۸۴±۰/۴۱	۴/۵۸±۰/۲۱	۹/۲۵±۰/۲۴	۱۳/۶۴±۰/۴۲	۱۰۴۹/۲۵ ±۱۹/۰۰۱[d]
Prunus persica L	برگ هلو	۵/۸۱±۰/۵۱	۸/۸۳±۰/۲۵	۱۱/۳۶±۰/۸۹	۲۲/۳۴±۰/۷۵	۷۲/۲۸±۰/۷۸	۶۵۹/۷۳±۴۶/۴۷[c]
	میوه هلو	۳/۵۴±۰/۴۷	۵/۸۱±۰/۱۵	۷/۳۸±۰/۴	۱۲/۱±۰/۰۸	۱۳/۲۸±۰/۵۸	۱۰۲۶/۲۳±۵۰/۳۶[d]
Amygdalus communis	برگ بادام	۱/۱۰±۰/۱۸	۲/۵۲±۰/۹۱	۴/۹۶±۰/۵۲	۹/۱۳±۰/۱۴	۱۳/۶۰±۰/۵۳	۱۴۸۴/۲±۹۶/۴[f]
	دانه بادام	۴/۱۶±۰/۰۵	۶/۹۴±۰/۱۴	۳۲/۴۸±۰/۳۲	۶۱/۴۷±۰/۵۰	۷۸/۶۳±۰/۵۸	۱۴۰/۸۶±۲۲/۰۴[b]
Rosa damascena Mill	برگ گل محمدی	۱۴/۵۲±۰/۹۶	۳۱/۱۱±۱/۱۱	۵۱/۵۶±۱/۰۳	۸۸/۵۸±۰/۹۶	۸۹/۲۹±۰/۳۶	۸۷/۳۷±۴/۹۸[ab]
	گلبرگ	۹/۹۲±۰/۴۱۱	۱۶/۵۴±۰/۴۸	۲۸/۸۹±۰/۳۲	۶۴/۵۲±۰/۴۷	۸۶/۹۶±۰/۱۳	۱۵۶/۷۴±۵/۹۷[b]
Cydonia oblonga Mill	برگ به	۱۵/۲۸±۰/۴۱	۲۲/۱۱±۰/۳۱	۶۹/۵۱±۰/۷۴	۸۴/۵۷±۰/۸۱	۸۶/۴۱±۱/۸۵	۷۷/۴۲±۰/۹۱[ab]
	دانه به	۹/۹۷±۰/۳۰	۱۷/۸۳±۰/۷۹	۲۶/۲۴±۰/۸۳	۶۰/۳۹±۰/۴۰	۷۲/۲۸±۰/۴	۱۶۹/۸۶±۱۱/۳[b]
	میوه به	۳/۵۴±۰/۴۷	۵/۸۱±۰/۱۵	۷/۳۸±۰/۴	۱۲/۱±۰/۸	۱۳/۲۸±۰/۵۸	۱۴۱/۶۷±۶/۱۸۵[b]
BHT*		۷/۱۲±۱/۵۹	۱۳/۸۳±۰/۷۶	۲۸/۴۷±۱/۳۴	۴۹/۸۲±۰/۴	۷۷/۸۹±۲/۲۶	۲۳/۴۱±۱/۸[a]
BHA*		۱۶/۴۱±۱/۱۲	۲۷/۳۲±۱/۲۶	۵۵/۶۹±۱/۰۰	۷۹/۵۱±۰/۴۴	۸۷/۵۵±۱/۱۴	۱۲/۱۲± ۱۲/۹۲[a]

- به دلیل مهار سریع رادیکال‌ها از غلظت ۲/۵ تا ۴۰ میکروگرم در میلی لیتر برای آنتی اکسیدان‌های سنتزی استفاده شد.

jfm.sroiau.ac.ir

جدول ۳- درصد مهار رادیکال‌های نیتریک اکساید در غلظت های ۴۰۰-۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر عصاره متانلی نمونه‌های مورد بررسی و مهار ۵۰ درصد این رادیکال ها

گیاه	اندام	۲۵ (µg/ml)	۵۰ (µg/ml)	۱۰۰ (µg/ml)	۲۰۰ (µg/ml)	۴۰۰ (µg/ml)	مهار ۵۰٪ نیتریک اکساید (µg/ml)
Malus domestica Borkh.	برگ سیب	۲/۵۴±۰/۱	۸/۱۵±۰/۴۳	۱۲/۰۱±۰/۵	۱۸/۳۳±۱/۰۹	۲۱/۵۶±۰/۳۹	۱۳۶۱/۷۹±۶۴/۰۲^{f}
	میوه سیب	۱/۸۹±۰/۵۱	۷/۳۹±۱/۰۲	۱۲/۲۵±۰/۲۹	۱۶/۱۳±۰/۷۲	۱۸/۲۸±۰/۱۵	۱۵۷۲/۴۶±۲۰۳/۷۶^{g}
Prunus persica L	برگ هلو	۶/۸۲±۰/۲۳	۱۳/۴۸±۰/۴۵	۱۹/۵۶±۰/۵۶	۲۹/۷۵±۰/۳	۳۳/۳±۰/۹۲	۶۰۰/۵۹±۱۸/۳۶^{d}
	میوه هلو	۵/۰۵±۰/۲۳	۱۲/۳۶±۰/۳۶	۱۵/۶۶±۰/۴۹	۲۵/۵۳±۱/۰۱	۲۸/۸۴±۱/۲۹	۷۴۸/۶۸±۴۹/۷۲^{d}
Amygdalus communis L	برگ بادام	۲/۱۷±۰/۲۵	۹/۰۲±۰/۵	۱۶/۳۱±۰/۷۴	۲۲/۰۵±۰/۴۵	۳۳/۱±۱/۴۱	۱۱۴۸/۳۳±۷۲/۰۳۷^{e}
	دانه بادام	۸/۳۳±۰/۳۹	۱۷/۰۴±۰/۴۳	۱۶/۵۲±۰/۶۱	۳۹/۳۸±۰/۸۱	۵۰/۸۱±۰/۶	۳۸۰/۸±۶/۴۳^{b}
Rosa damascena Mill	برگ گل محمدی	۸/۲۲±۰/۳	۲۶/۸۴±۱/۶۹	۳۴/۹۸±۰/۵۵	۵۱/۷۸±۱/۷۹	۶۶/۷±۰/۴۸	۲۴۴/۳۵±۳/۳۹a^{b}
	گلبرگ	۸/۰۱±۰/۸	۱۵/۰۲±۰/۵	۳۰/۹±۰/۶۶	۳۷/۹۷±۰/۴۲	۵۴/۲۵±۱	۳۳۶/۴۵±۴/۷۱^{ab}
Cydonia oblonga Mill	برگ به	۹/۰۵±۰/۱	۲۸/۸۴±۲/۱۵	۳۶/۴۷±۰/۹۸	۵۳/۲۸±۱/۰۹	۶۸/۳۹±۱/۰۲	۲۳۳/۲۴±۵/۵۷^{ab}
	دانه به	۶/۱۲±۰/۴۲	۱۱/۳۱±۰/۹۹	۲۵/۵۳±۰/۷۸	۳۱/۲۸±۱/۱۵	۴۶/۹۵±۱/۱۲	۴۰۷/۰۱±۱۱/۰۴^{bc}
	میوه به	۶/۳۰±۰/۸۴	۱۲/۴۸±۰/۸۱	۲۸/۰۷±۰/۵۴	۳۳/۶۵±۱/۴۴	۴۸/۱۲±۱/۵	۳۸۹/۱۶±۱۰/۸۹^{b}
Vit C		۱۰/۰۳±۰/۷۵	۳۱/۶۲±۰/۵۴	۴۰/۱۷±۱/۰۳	۶۳/۸۱±۰/۶۷	۷۲/۳۸±۱/۲	۱۹۴/۵۲±۶/۳۵^{a}

عصاره های نمونه‌های گیاهی با غلظت بالاتری قادر به مهار ۵۰ درصد رادیکال های نیتریک اکساید نسبت به رادیکال های آزاد بودند که در جداول ۲ و۳ نشان داده شده است. اختلاف معنی داری در سطح یک درصد بین عصاره برگ و گلبرگ گل محمدی، برگ، میوه و دانه درخت به و همچنین دانه بادام با ویتامین C مشاهده نشد.

بحث

سنجش محتوای فنلی حاکی از برتری عصاره برگ گل محمدی ۰/۸۹۳ ±۳۵/۵۳ و در رتبه بعدی عصاره برگ درخت به ۰/۵۶۱±۳۳/۳۵۵ معادل میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک عصاره، نسبت به سایر عصاره ها بود . محتوای فنلی عصاره میوه به، گلبرگ گل محمدی، دانه به و بادام به ترتیب قابل توجه بود. برگ گل محمدی و برگ درخت به، به ترتیب با غلظت ۸۷/۳۷±۴/۹۸ و ۷۷/۴۲±۰/۹۱ میکروگرم در میلی لیتر، میوه به با ۱۴۱/۶۷±۶/۱۸۵، و دانه بادام با ۱۴۰/۸۶±۲۲/۰۴، گلبرگ گل محمدی با ۱۵۶/۷۴±۵/۹۷و دانه به ۳۸۰/۸±۶/۴۳ میکروگرم در میلی‌لیتر قادر به مهار ۵۰ درصد رادیکال های آزاد بودند که این توانایی در حد معنی داری نسبت به سایر عصاره‌ها بیشتر بود. برگ به، برگ و گلبرگ گل محمدی به ترتیب با ۲۳۳/۲۴±۵/۵۷، ۲۴۴/۳۵±۳/۳۹ و ۳۳۶/۴۵±۴/۷۱ میکروگرم در میلی لیتر، دانه بادام، میوه به و دانه به، به ترتیب با ۳۸۰/۸±۶/۴۳، ۳۸۹/۱۶±۱۰/۸۹ و ۴۰۷/۰۱±۱۱/۰۴ میکروگرم در میلی لیتر نسبت به سایر عصاره‌ها توانایی بیشتری در مهار ۵۰ درصد رادیکال های نیتریک اکساید در حد معنی داری داشتند.

محتوای فنلی برگ و میوه سیب چندان بالا نبود که در فعالیت آنتی اکسیدانی نیز این مسئله مشهود بود . فعالیت آنتی اکسیدانی گیاهان مورد بررسی در این تحقیق با مقدار محتوای فنل موجود در آن‌ها متناسب بود و همبستگی قوی و معنی‌دار بین آن‌ها مشاهده شد به طوری که بین محتوای فنلی با معیار مهار ۵۰ درصدی رادیکال های آزاد و نیتریک پراکساید به ترتیب ارتباط قوی منفی r= -0.703 و r= -0.712 در سطح معنی دار یک درصد مشاهده شد. این مطلب بیانگر آن است که عصاره هایی که از محتوای فنلی بالاتری برخوردارند با غلظت کمتری قادرند رادیکال های آزاد و نیتریک اکساید را مهار کنند و به عبارتی از توان آنتی‌اکسیدانی بالاتری برخوردارند. در تحقیقی که بر روی چند گونه گیاهی بومی مازنداران از تیره نعنا انجام شد به ارتباط میزان محتوای فنلی و توان آنتی اکسیدانی این گیاهان اشاره شده است (Fathi-Azad *et al*., 2010) که در تحقیق حاضر این همبستگی قوی بین محتوای فنلی و توان آنتی اکسیدانی حاصل شد . در مطالعات دیگر محتوای فنلی اس انس برگ گل محمدی (۴۷۸/۳۴±۱۹/۹۱ $mgGAEg^{-1}$) بیش از اسانس گلبرگ این گیاه(۲۳۳/۵۶±۷/۲۵ $mgGAEg^{-1}$) گزارش شده است

jfm.srbiau.ac.ir

(Gokturk& Baydar, 2013). البته تحقیق حاضر که بر روی عصاره متانلی برگ و گلبرگ گل محمدی انجام شد نیز حاکی از برتری محتوای فنلی عصاره برگ (۳۵/۵۳±۰/۸۹۳ $mgGAEg^{-1}$) نسبت به عصاره گلبرگ گل این گیاه (۱۳/۸۸۳±۱/۱۱۶ $mgGAEg^{-1}$) در حد معنی داری بود. در تحقیق انجام شده توسط کومار و همکاران درصد مهار رادیکال های آزاد توسط عصاره گلبرگ گل محمدی در غلظت ۱۰۰ میکروگرم در لیتر درحدود ۴۳ درصد گزارش شد (Kumar *et al*., 2009). در تحقیق حاضر عصاره این گیاه در غلظت ۱۰۰ میکروگرم در لیتر توانایی مهار ۲۸/۸۹±۰/۳۲ درصد رادیکال های آزاد را داشت که این تفاوت می تواند ناشی از اختلاف متابولیت‌های ثانویه این گیاه در مکان های مختلف پرورش آن باشد و توانایی مهار رادیکال آزاد برگ این گیاه در منابع موجود گزارشی مشاهده نشد، تحقیق حاضر نشان داد که توانایی عصاره برگ این گیاه در غلظت ۱۰۰ میکروگرم در لیترتوانایی مهار ۵۱/۵۶±۱/۰۳ درصد رادیکال های آزاد را دارد که این توانایی و محتوای فنلی برگ این گیاه در منابع موجود چندان مورد ارزیابی قرار نگرفته بود.

در تحقیقات انجام شده در سال ۲۰۰۷ و ۲۰۱۱ قدرت مهار ۵۰ درصدی رادیکال‌های آزاد توسط BHT به ترتیب در حدود ۱۹/۸±۰/۵ و ۱۸/۱۶±۰/۳۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر برآورد شد که بسیار نزدیک به نتیجه حاصل در این تحقیق (۲۳/۴±۱/۸ µg/ml) بود که اختلاف معنی داری با نتایج حاصل نداشت (Gulluce *et al*., 2007; Seephonkai *et al*., 2011).

توانایی مهار رادیکال نیتریک اکساید در مورد تمامی نمونه های گیاهی مورد بررسی برای اولین بار در این تحقیق صورت گرفت و گزارشی در این خصوص در منابع موجود مشاهده نشد. همچنین بررسی توانایی آنتی‌اکسیدانی بسیاری از نمونه‌های گیاهی مورد بررسی در این تحقیق از جمله برگ گل محمدی در منابع موجود مشاهده نشد . در حالی که در تحقیق حاضر قدرت آنتی اکسیدانی این نمونه‌ها بررسی شد و نتایج حاصل نشان داد برخی از این نمونه‌ها از جمله برگ گل محمدی از توان آنتی اکسیدانی بالایی برخوردارند و این مسئله می تواند از اهمیت فراوانی در کاربرد برگ این گیاه در صنایع غذایی داشته باشد. نتایج حاکی از همبستگی قوی بین توانایی مهار رادیکال های آزاد و نیتریک اکساید عصاره های گیاهی مورد بررسی با محتوای فنلی در این گیاهان بود . عصاره‌های این گیاهان با غلظت بالاتری قادر به مهار ۵۰ درصد رادیکال های نیتریک اکساید نسبت به رادیکال های آزاد بودند، به طوری که عصاره برگ درخت به و برگ گل محمدی که توانایی آنتی اکسیدانی بالایی نشان دادند به ترتیب با ۷۷/۴۲±۰/۹۱ و ۸۷/۳۷±۴/۹۸ میکروگرم در میلی‌لیتر قادر به مهار نیمی از را دیکال‌های آزاد بودند در حالی که همین عصاره‌ها با ۲۳۳/۲۴±۵/۵۷ و ۲۴۴/۳۵±۳/۳۹ میکروگرم در میلی لیتر قادر به مهار نیمی از رادیکال های نیتریک اکساید بودند و لازم است این مسئله در دز مصرفی این ترکیبات طبیعی به عنوان جایگزین آنتی اکسیدان‌های سنتزی در نظر گرفته شود.

نتیجه‌گیری

هر چند عصاره برگ گل محمدی و برگ درخت به، در مقادیر کمتر نسبت به سایرعصاره ها قادر به مهاری رادیکال‌های آزاد و نیتریک اکساید بودند با این وجود اختلاف معنی داری بین توانایی مهار رادیکال های آزاد و نیتریک اکساید عصاره های برگ و گلبرگ گل محمدی، برگ، میوه و دانه درخت به و همچنین دانه بادام با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مشاهده نشد، از این رو بدلیل خطرات سرطان زایی آنتی اکسیدان های سنتزی این عصاره‌ها به عنوان جایگزین مناسبی برای این مواد نگهدارنده سنتزی پیشنهاد می گردند که با توجه به بومی این گیاهان، م ی توان از آن ها به عنوان منبع غنی و در دسترس، در صنایع غذایی و داروسازی استفاده کرد.

سپاس‌گزاری

بدین وسیله از حوزه معاونت پژوهشی و فن آوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس که فرصت انجام این طرح پژوهشی را فراهم نمودند صمیمانه قدردانی می‌گردد.

منابع

Andres, M., Cruz, J., Dominguez, M., Sineiro, J. & Dominguez, H. (2001). Natural

jfn.srbiau.ac.ir

antioxidants from residual sources. Food Chemistry, 72, 145-171.

Blois, M. S. (1958). Antioxidant Determinations by the use of a stable free radical. Nature, 4617, 1199-1200.

Brand-williams, W., Cuvelier, M. & Bersel, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmitted Wissenschaft and Technology, 28, 25-30.

Duduku, K., Rosalam, S. & Rajesh, N. (2010). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. Food and Bioproducts Processing. FBP, 157, 17 (Article in press).

Dunnik, J.K. & Hailey, J. (1992). Toxicity and carcinogenicity studies of quercetin, a natural component of foods, Toxicol Sci, 19(3), 423-431.

Erkan, N., Ayranci, G. & Ayranci, E. (2008). Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract,blackseed *(Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. Food Chemistry, 110, 76–82.

Farhoosh, R., Golmovahhed, G. & Khodaparast, M. (2007). Antioxidant activity of various extracts old tea leaves and black tea wastes *(Camellia sinensis* L.). Food chemistry, 100(1), 231-236.

Fathi-Azad, F., Jamshidi, M., Ahmadi, H., Zadeh, S. & Mazandarani, M. (2010). Comparison of phenolic compounds and antioxidant activity of some indigenous plant species in Mazandaran, Medicinal plants, 34,177-181.

Gokturk, N. & Baydarb, H. (2013). Phenolic compounds, antiradical activity and antioxidant capacity of oil-bearing rose (*Rosa damascena* Mill.) extracts. Industrial Crops and Products, 41, 375– 380.

Gulluce, M., Sahing, F., Sokmen, M., Ozer, H., Daferera, D., Sokmen, A., Polissiou, M. & Ozkan, H. (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from Mentha longifolia L. ssp. Longifolia Food Chemistry, 103, 1449–1456.

Heim, K., Tagliaferro, A. & Bobilya, D. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. JNB, 13, 572–584.

Jaymand, K., Rezaei, M. B., Asare, M. H., Oghdaei, S.R. & Moshki zadeh, S. (2010). Evaluation Flavonoid composition of rose species *Rosa damascena* Mill .JMP, 36, 161-168.

Kartal, N., Sokmen, M., Tepe, B., Daferea, D., Polissiou, M. & Sokmen, A. (2007). Investigaition of the antioxidant properties of Ferula orientalis L. using a suitable extraction procedure. Food Chemistry, 100(2), 584-589.

Kumar, N., Bhandari, P., Singh, B. & Bari, S. (2009). Antioxidant activity and ultra-performance LC electrospray ionization quadrupole time of flight mass spectrometry for phenolics based fingerprinting of Rose species: *Rosa damascena*, *Rosa bourboniana* and *Rosa brunonii*. Food and Chemistry Toxicology, 47, 361-367.

Molyneux, P. (2004). The use of stable free radical diphenylpicryl hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. Sci. Technol, 26(2), 211-219.

Salganik, R. (2001). The Benefits and hazards of antioxidants: controlling apoptosis and other protective mechanisms in cancer patients and the human population. Am. J. Clin. Nutr, 5, 464S–472.

Seephonkai, P., Samchai, S., Thongsom, A., Sunaart, S., Kiemsanmuang, B. & Chakuton, K. (2011). DPPH radical scavenging activity and total phenolics of Phellinus mushroom extracts collected from northeast of Thailand. Chinese Journal of Natural Medicines, 9 (6), 0441−0445.

Singleton, VL. Orthofer, R. & Lamuela, R. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu readent. Methods Enzymol, 299, 152-178.

Shah, V., Lyford, G., Gores, G. & Farrugia, G. (2004). Nitric oxide in gastrointestinal heaith and disease. Gastroenterology, 126, 903-913.

Slinkard, K. & Singelton, V. L. (1977). Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. Am J Enology Viticulture, 28(1), 49-55.

Sreejayan, R. M. (1997). Nitric oxide scavenging by curcuminoids. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 49, 105-107.

jftn.srbiau.ac.ir