فصلنامه علمی – پژوهشی بیولوژی کاربردی

مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی پوست میوه بادنجان، استخراج‌شده به دو روش گرمایی و تحت امواج مایکروویو

غلامرضا نجفی[۱]، مریم اخباری[۲]، زهرا آقامیری[۲]

۱) گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران

۲) دانشگاه کاشان، پژوهشکده اسانس‌های طبیعی

چکیده

در این پژوهش، خواص آنتی اکسیدانی پوست میوه بادنجان (*Solanum melongena* L.) کاشته شده در ایران (مزارع اطراف کاشان) برای اولین بار اندازه‌گیری شدند. نتایج، نشان دهنده فعالیت چشمگیر آنتی اکسیدانی در نمونه مورد مطالعه بود. به منظور بررسی اثر امواج مایکروویو بر کمیت و خواص کیفی عصاره، راندمان و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های استخراج شده از روش سوکسله و استخراج با کمک امواج مایکروویو مقایسه شدند. فعالیت آنتی اکسیدانی با استفاده از روش مهار رادیکال آزاد DPPH (۲و۲- دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل) با استاندارد BHT (بوتیل هیدروکسی تولوئن) تعیین شد. نتایج نشان دادند که هر دو نمونه عصاره‌های استخراج شده در مقایسه با آنتی اکسیدان استاندارد BHT توانایی بالایی در مهار رادیکال آزاد دارند؛ مواد فعال آنتی‌اکسیدانی با راندمان بالایی تحت امواج مایکروویو قابل استخراج می‌باشند؛ این امواج، در زمان‌های کوتاه، اثر تخریبی بر مواد آنتی‌اکسیدان موجود در گیاه نداشته و راندمان استخراج نیز در دو روش مورد مطالعه تفاوت چشمگیری ندارد.

کلمات کلیدی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی، رادیکال‌آزاد DPPH، استخراج با کمک مایکروویو، پوست میوه بادنجان، *Solanum melongena*

۱- مقدمه

جایگاه گیاهان دارویی در سلامت جامعه به طور عام و ارزش گیاهان دارویی و معطر در ایران به طور خاص بر کسی پوشیده نیست. گیاهان را می‌توان اساس فیتوشیمی و داروسازی، پایه طعم‌دهنده‌های کم نظیر در صنایع غذایی و عامل منحصر به فرد خوش بوکنندگی در صنایع بهداشتی دانست [۱].

استفاده روزافزون مردم جهان از مواد مؤثره و فرآورده‌های گیاهی را می‌توان به دلایل ذیل دانست [۲]:

۱. عدم امکان سنتز سریع برخی ترکیب‌های مؤثره موجود در گیاهان به دلیل ساختمان شیمیایی بسیار پیچیده

۲. تأثیر مطلوب گیاهان دارویی به دلیل وجود مواد مکمل در کنار ترکیب‌های اصلی روی متابولیسم بدن

۳. کاربرد گسترده ترکیب‌های طبیعی در صنایع بهداشتی، به دلیل عدم امکان سنتز برخی از آن‌ها به طریق شیمیایی

٤. استفاده قابل توجه از مواد مؤثره گیاهان در صنایع غذایی به منظور ایجاد طعم، رنگ و بو

مهم ترین ترکیبات استخراج شده‌ی گیاهان اجزاء عصاره یا اسانس می‌باشد که توسط استخراج حلالی و یا با روش‌های تقطیر جداسازی می‌شوند.

باتوجه به اینکه در حال حاضر مواد اولیه دارویی در ایران ساخته نمی‌شود و نیاز به واردات این کالاها وجود دارد، صنعت داروسازی کشور به چنین موادی نیاز ضروری دارد. استفاده از منابع گیاهی دارویی داخلی یکی از راه‌های برطرف نمودن این نیاز است که از دیر زمان در ایران به طور سنتی رواج داشته است. انجام آزمون‌هایی جهت تعیین فعالیت بیولوژیکی عصاره یا اسانس گیاهان در آزمایشگاه اولین قدم در راه شناخت خواص درمانی گیاهان محسوب می‌شود. پر واضح است که وجود منابع غنی گیاهان در ایران که بسیاری از آنها هنوز از نظر خواص دارویی و درمانی ناشناخته‌اند و قدمت استفاده‌ی سنتی و خانگی به یادگار مانده از اطباء و دانشمندان این مرز و بوم، توجه بیش از پیش به استفاده‌ی علمی از این منابع ارزشمند را می‌طلبد.

اهمیت فراوان گیاهان در کاربردهای غذایی، دارویی و صنایع وابسته و حتی دیگر صنایع از جمله نساجی و غیره و از طرفی وجود گونه‌های ارزشمند گیاهی در ایران، از یک سو و عدم انجام پژوهشهای تخصصی بر روی گیاهان بومی ایران در حد قابل قبول از سوی دیگر، معرفی و بررسی کاربردها و خواص آنها را بسیار ارزشمند ساخته است. همچنین معرفی بهترین حلال عصاره‌گیری که منجر به استخراج بیشترین مواد مؤثره در راستای هدف مورد نظر باشد، در بهینه‌سازی و استفاده کاربردی از گیاه نقش ویژه‌ای دارد.

استفاده از روشهای مدرن استخراج بیشتر شامل روشهایی است که در آن از روشهای غیر گرمایی در استخراج متابولیتها از گیاه استفاده می‌شود.

استفاده از امواج مایکروویو به منظوراستخراج مؤثرتر عصاره در سالهای اخیر مورد توجه قرار گرفته است [۳]. گیاه بادنجان یکی از سبزیجات پر کاربرد با سابقه مصرف چند هزار ساله در سرتاسر جهان به شمار می رود. ترکیبات عمده موجود در گوشت میوه این گیاه عبارتند از: ترکیبات فنولیک و آسکوربیک اسید [۳و٤] این گیاه غنی از ترکیبات فلاونوئیدی است که در کاهش خطر سکته، سرطان ریه و بیماری‌های قلبی و عروقی مؤثر است [۳]. این گیاه از میان ۲۵ سبزی مختلف مصرفی متداول و ٤ نوع قارچ بررسی‌شده از نظر میزان آنتوسیانین و اسید آسکوربیک اول و از نظر خاصیت آنتی اکسیدانی DPPH و نیز میزان ترکیبات فلانوئیدی دوم شناخته شده است [۷-٥]. در مطالعه دیگری از میان ۱۲۰گونه سبزی خواص آنتی‌اکسیدانی با استفاده از ٤ روش آزمایشی مختلف (ABTS, DPPH ,ILP, SOS) بادنجان جزء ۱۰ گیاه برتر شناخته شده است [٦].

علی‌رغم استفاده فراوان و قدمت این گیاه، اطلاعات بسیار کمی در خصوص فعالیت آنتی اکسیدانی و یا

سایر خواص بیولوژیک این گیاه در منابع علمی گزارش شده و مقالات علمی ارائه شده در این زمینه نیز بسیار اندک است. با توجه به وجود ترکیبات بسیار ارزشمند آنتوسیانین در پوست گیاه بادنجان و با در نظر گرفتن اینکه این قسمت از گیاه به عنوان زباله دور ریخته میشود، کشف خواص ارزشمند آن و دست یابی به روشی که ترکیبات مؤثر موجود در آن را به نحو مطلوبی استخراج کند نه تنها جالب است بلکه لازم و ضروری است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- آماده سازی گیاه مورد استفاده

الف) میوه گیاه *Solanum melongena* از مزارع اطراف کاشان در پاییز ۸۸ جمع‌آوری شد به منظور عصاره‌گیری توسط روش‌های مختلف و بهینه‌سازی پارامترهای مؤثر براستخراج و بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به آزمایشگاه منتقل گردید.

پوست میوه جدا شده و در شرایط معمولی، دور از نور و حرارت به مدت ۷۲ ساعت خشک و سپس آسیاب و عمل عصاره‌گیری بر روی وزن مشخصی از گیاه انجام شد.

۲-۲- استخراج عصاره از نمونه‌های گیاهی

عصاره‌گیری از پوست گیاه، توسط دستگاه سوکسله و مایکروفر خانگی توسط حلال آب انجام گرفت.

۲- ۲- ۱- عصاره‌گیری به روش سوکسله

۵ گرم از گیاه مذکور به صورت پودر شده توسط ترازوی آنالیتیکی توزین گردید و داخل کارتوش ریخته و به مخزن دستگاه سوکسله منتقل شد. سپس ۳۷۵ میلی لیتر حلال آب داخل بالن ریخته شد و عمل عصاره‌گیری بعد از اطمینان از برقراری جریان آب سرد در مبرد دستگاه، به مدت ۱۵ ساعت انجام گرفت. محلول به دست آمده پس از صاف شدن، به وسیله‌ی روتاری (تبخیر کن دوار) در دمای ٦٠ الی ٧٠ درجه‌ی سانتی گراد تغلیظ گردید، تا به حجم ٤ الی ٥ میلی لیتر رسید. عصاره تغلیظ شده برای خشک شدن کامل به پتری دیش منتقل و ابتدا در آون تهویه در دمای ٣٥ الی ٤٠ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ٢٤ ساعت نگهداری شد تا بقیه‌ی حلال تبخیر گردید. سپس به آون خلأ برای حذف باقیمانده‌ی مواد فرار موجود در عصاره به مدت ٢٤ ساعت منتقل شد. عصاره‌ی بدست آمده به وسیله‌ی اسپاتول تراشیده و به ظروف درب دار و غیرقابل نفوذ منتقل گردید و به منظور جلوگیری از تجزیه و یا از بین رفتن مواد مؤثره‌ی موجود در عصاره تا انجام آزمایش‌های بعدی در یخچال نگهداری شد.

۲- ۲- ۲- عصاره‌گیری تحت امواج مایکروویو

میزان ۳ گرم از گیاه بصورت پودر شده توسط ترازوی آنالیتیکی توزین گردید. سپس ٥٤ میلی لیتر حلال آب به ارلن اضافه و ظرف حاوی گیاه و حلال در مدت زمان ۲۵ دقیقه تحت امواج مایکروویو با توان ۹۰۰ وات قرار داده شد. در حین انجام کار، حجم حلال ثابت نگه داشته می‌شد. محلول بدست آمده پس از صاف شدن توسط روتاری تغلیظ گردید و برای خشک شدن کامل در آون تهویه و آون خلأ قرار گرفت. عصاره‌ی بدست آمده، پس از خشک شدن توسط اسپاتول تراشیده و داخل ظرف دربدار در یخچال نگه‌داری شد.

۲-۳- اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی

۲- ۳- ۱- رسم منحنی استاندارد BHT

با توجه به این که در این آزمون از BHT به‌عنوان شاهد مثبت (استاندارد خارجی) استفاده شده است، ابتدا منحنی استاندارد I٪ برحسب Log C- برای BHT رسم می‌شود. به این منظور برای رسم منحنی مذکور به طریق زیر اقدام شد:

الف) تهیه محلول‌های BHT

ساخت محلول استوک BHT با غلظت ۰/۰۰۲ g/ml:

برای این منظور ۰/۰۲ گرم از BHT در بالن ۱۰ میلی لیتری ریخته و با اتانول به حجم رسانده شد. و سایر غلظت‌ها با رقیق‌سازی متوالی در بالن‌های ۵ میلی‌لیتری تهیه گردید.

ب) تهیه محلول DPPH

میزان ۰/۰۱ گرم از DPPH (خلوص ۱۰۰ درصد) با ترازوی آنالیتیکی توزین و در بالن ژوژه ۵۰ میلی لیتری تیره رنگ (به دلیل جلوگیری از امکان تخریب DPPH توسط نور) ریخته و توسط متانول مرک با درجه خلوص بالا به حجم رسانده شد، میزان جذب این محلول باید بیش از ۰/۷ باشد. محلول DPPH حاصل دارای رنگ ارغوانی است و به طور خود به خود با گذشت زمان در اثر احیا به رنگ زرد تغییر پیدا می‌کند. بنابراین بهتر است این محلول به دور از نور و در یخچال و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود. نکته دیگر این است که DPPH یک رادیکال آزاد است و رعایت نکات ایمنی در هنگام کار با آن ضروری می‌باشد. همچنین به دلیل از بین رفتن ماهیت این ماده در اثر ماندن در حضور نور بهتر است سعی شود بعد از تهیه بلافاصله مورد مصرف قرار گیرد.

ج) تهیه محلول نهایی نمونه استاندارد

میزان ۱ میلی‌لیتر از هر یک از محلول‌های BHT تهیه شده به بالن ژوژه ۵ میلی‌لیتری تیره منتقل و سپس میزان ۱ میلی‌لیتر از محلول DPPH به هر یک از بالن‌های حاوی محلول BHT اضافه، به حجم رسیده و سپس همگن شد.

د) اندازه‌گیری جذب محلولهای نهایی و رسم نمودار

بعد از تهیه محلول‌های مورد نیاز، بالن ژوژه‌های تهیه شده به مدت ۵۰ دقیقه در فضای تاریک نگه‌داری می‌شوند و در طول این مدت محلول‌ها را تکان داده تا به‌طور کامل همگن شوند. سپس جذب هریک از محلول‌ها توسط اسپکتروفتومتر UV/VIS در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد.

ه) تهیه محلول نهایی نمونه عصاره

۰/۰۱ گرم از DPPH وزن شده و با متانول به حجم ۵۰ سی سی رسانده شد ۱ سی سی از این محلول در بالن ژوژه ۵ میلی لیتری ریخته شده و به حجم رسانده شد. این محلول شاهد نام دارد، ۱ میلی‌لیتر از محلول نمونه (عصاره آبی) با محلول DPPH مخلوط شد و به حجم ۵ سی سی رسانده شد.

سپس این محلول در دمای اتاق و در تاریکی برای ٤٥-٤٠ دقیقه نگهداری شد و جذب آن در ۵۱۷ نانومتر خوانده شد.

۳- نتایج و بحث

نتایج حاصل از راندمان استخراج و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های استخراج شده با دو روش گرمایی و تحت امواج مایکروویو در ادامه آمده است. مقایسه این نتایج، معیاری از میزان کارآیی امواج مایکروویو در مقایسه با روش معمول سوکسیله در استخراج ترکیبات مؤثر آنتی‌اکسیدان از نمونه می‌باشد.

راندمان حاصل از استخراج عصاره را به منظور مقایسه کمیت استخراج در دو روش مورد بحث در جدول ۳-۱ آمده است.

جدول ۳-۱- راندمان حاصل از استخراج عصاره‌ی پوست میوه بادنجان با حلال آب به روش‌های مختلف

روش استخراج	زمان	راندمان عصاره‌گیری (٪)
سوکسله	hr۱۵	۳۱/۷۳
تحت امواج مایکروویو	min۲۵	۳۰/۱۲

با توجه به راندمان‌ها می‌توان گفت که کمیت عصاره‌گیری از روش سوکسیله با استفاده از یک منبع حرارتی تفاوت چندانی با استخراج با کمک امواج مایکروویو ندارد بنابراین استفاده از این منبع مدرن انرژی در این مورد اثر منفی در کمیت استخراج ندارد.

به منظور مقایسه کیفیت عصاره استخراج شده، همچنان‌که اشاره شد، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها از نظر مهار رادیکال آزاد DPPH برای نمونه‌ها در مقایسه با استاندارد BHT ارزیابی شد.

در این روش توانایی عصاره‌های گیاهی (به عنوان آنتی اکسیدان) در دادن الکترون به رادیکال ۲، ۲- دی فنیل- پیکریل هیدرازیل (DPPH) (با تغییر رنگ محلول متانولی DPPH از بنفش به زرد) سنجیده می‌شود. از بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) به عنوان استاندارد استفاده شد و نتایج بدست آمده از عصاره‌ها برحسب معادل BHT محاسبه‌و گزارش شد.

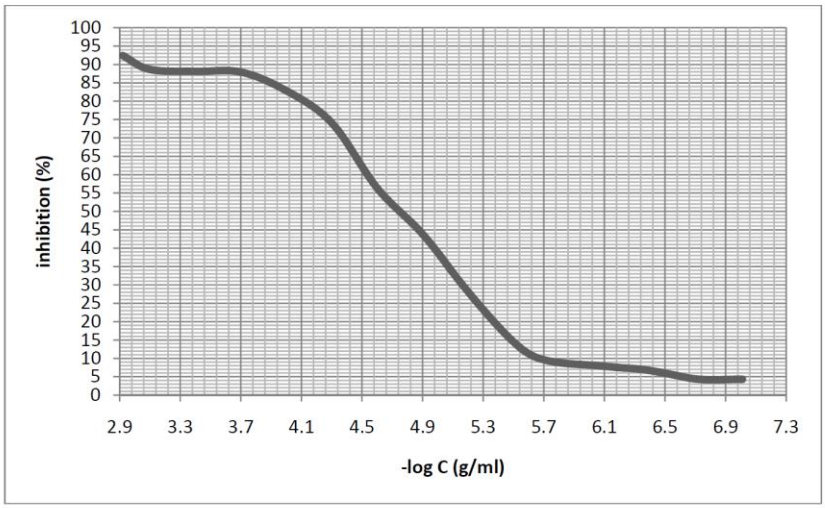
I٪ مطابق رابطه زیر محاسبه می‌شود:

$$I\% = \left[\frac{(A_b - A_s)}{A_b}\right] \times 100$$

A_b: جذب شاهد

A_s: جذب نمونه

I٪ به دست آمده با نمودار استاندارد BHT در غلظت مشابه با عصاره مقایسه و گزارش شد. منحنی درصد مهار بر حسب منفی لگاریتم غلظت BHT در شکل ۳-۱ آمده است.



شکل ۳-۱- منحنی درصد مهار BHT بر حسب منفی لگاریتم غلظت

همچنان که مشاهده می‌شود، نمودار در محدوده درصد مهار از ۸ تا ۸۵٪ که مربوط به غلظت‌های ۰/۰۰۳ تا ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد خطی است. بنابراین غلظت ۰.۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره تهیه و درصد مهار برای آن محاسبه شد. نتایج درصد مهار اندازه‌گیری شده برای عصاره‌ها و استاندارد BHT در جدول ۳-۲ آمده است.

ردیف	روش استخراج	٪ I C= (0.1 mg/ml)
۱	سوکسله	%۸۵/۶۹
۲	مایکروویو	%۸۹/۱۱
۳	BHT	%۸۲/۸۵

جدول ۳-۲- درصد مهار عصاره‌های پوست میوه بادنجان استخراج شده به روش‌های مختلف و استاندارد BHT

باتوجه به درصد مهار به دست آمده، هر دو نمونه عصاره توانایی مهار رادیکال آزاد بالاتری نسبت به BHT دارا بودند و عصاره استخراج شده با کمک امواج مایکروویو نیز دارای توان بالاتری نسبت به عصاره استخراج شده از روش گرمایی سوکسیله بوده است. هر چند تفاوت مشاهده شده چندان بارز نیست اما به خوبی اثبات می‌کند که تا آنجا که به میزان مواد موثره آنتی‌اکسیدان مربوط است، امواج

مایکروویو اثرات تخریبی بر روی عصاره نداشته و از نظر فعالیت آنتی اکسیدانی، عصاره به دست آمده از روش مایکروویو دارای کیفیت مطلوب می‌باشند.

۴- نتیجه‌گیری

به طور خلاصه می‌توان گفت که نتایج این پژوهش، وجود فعالیت چشمگیر آنتی‌اکسیدانی را در عصاره‌های مورد مطالعه اثبات کرده و نشان می‌دهد که عصاره‌های مذکور از نظر فعالیت آنتی اکسیدانی برابر و یا حتی بهتر از BHT عمل می‌کنند. بررسی اثر امواج مایکروویو در استخراج وجود اثرات تخریبی این امواج را از نظر کمی و کیفی (تا آنجا که به خواص آنتی‌اکسیدانی مربوط می‌شود) در زمانهای کوتاه رد می‌کند. نتایج تحقیقاتی از این نوع لزوم توجه بیش از پیش به منابع ارزشمند طبیعی موجود در کشور، توجه به روش‌های استخراج ترکیبات مؤثره و لزوم به‌کارگیری منابع انرژی مدرن (از جمله امواج مایکروویو) را اثبات می‌کند.

تقدیر و تشکر

این مقاله با حمایت مادی و معنوی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم از طرح پژوهشی با همین عنوان استخراج و به چاپ رسیده است.

منابع

۱. امید بیگی، رضا، *تولید و فرآوری گیاهان دارویی*، انتشارات آستان قدس رضوی، چاپ اول، جلد اول، ۱۳۸۴.

۲. صمصام شریعت، سیدهادی، *عصاره‌گیری و استخراج مواد مؤثر گیاهان دارویی و روش‌های شناسایی و ارزشیابی آن‌ها*، انتشارات مانی، اصفهان، چاپ اول، ۱۳۷۱.

3. Zhendong Y, Weiwei Z, *Optimization of microwave-assisted extraction of anthocyanins from purple corn (Zea mays L.) cob and identification with HPLC–MS.* Innovative Food Science and Emerging Technologies, 11:470–476, **2010**.

4. Kwon, YI., et al., *In vitro studies of eggplant (Solanum melongena) phenolics as inhibitors of key enzymes relevant for type 2 diabetes and hypertension Bioresource Technology*, 99, 2981–2988, **2008**.

5. Charlotta T, *Overview of Modern Extraction Techniques for Food and Agricultural Samples*, Uppsala University, Sweden, ACS Symposium Series, Vol. 926, pp 3–19, **2006**.

6. Bor, JY, et al., *Evaluation of antioxidant activity and inhibitory effect on nitric oxide production of some common vegetables*. Journal of agricultural food chemistry, 54(5):1680-6, **2006**.

7. Kwon, YI., et al., *In vitro studies of eggplant (Solanum melongena) phenolics as inhibitors of key enzymes relevant for type 2 diabetes and hypertension Bioresource Technology*, 99, 2981–2988, **2008**.

Effect of extraction solvent on antioxidant properties of extract of Solanum melongena

Gholam Reza Najafi, Maryam Akhbari, Zahra Aghamiri

Abstract:

In this research, antioxidant activity of the peel of fruits from *Solanum melongena* L., cultivated in Iran, was evaluated for the first time. The results, exhibited significant antioxidant activity in the studied sample. To evaluate quantitative and qualitative effects of microwave irradiations on the extracted sample, yields and antioxidant activities of the extracts, prepared by soxhlet and microwave assisted method were compared. Antioxidant activity was evaluated via DPPH method with BHT as standard. The results showed that both extracts have high potential to scavenge free-radical compared with BHT standard antioxidant; these active antioxidants are extracted under microwave irradiations with high yield; these irradiations have no destructive effect on antioxidant compounds of the plant, during a short time, and also yields of extractions of the mentioned methods are not highly different.

Key words:

Antioxidant, Extract, Eggplant, Solanum melongena