ارزیابی و مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی، محتوای فنل و فلاونوئید عصاره گیاه دارویی *Artemisia annua* L. تحت تاثیر روش‌های مختلف خشک‌کردن

آتنا محمدی نیا سماکوش[1]، حسین مرادی[2]*، مجتبی اسمعیل زاده[1]، فاطمه دواتگر[1]

[1]دانشجوی کارشناسی‌ارشد، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

[2]استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

تاریخ دریافت: ۰۰/۶/۲۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۰۰/۹/۲٤

چکیده

خشک‌کردن یکی از مهم‌ترین فرآیندهای پس از برداشت گیاهان دارویی است. در این تحقیق جهت مطالعه تاثیر روش‌های مختلف خشک‌کردن بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فیتوشیمیایی سرشاخه‌های گلدار و برگ‌های درمنه‌خزری، آزمایشی بر پایه طرح کاملا تصادفی با چهار تیمار و ده تکرار در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال ۱۳۹۸ اجرا شد. اندام‌های‌هوایی گیاه درمنه‌خزری در دی ماه از رویشگاه طبیعی از منطقه شیرگاه مازندران (ارتفاع ۲۳۸ متر از سطح دریا) تهیه شد. بخش‌های مختلف گیاه با استفاده از چهار روش سایه-آفتاب، آون (دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد)، حرارت غیرمستقیم (دمای ۲۸-۳۲ درجه‌سانتی‌گراد) و ماکروویو، توان ۵۲۰ وات خشک شدند. استخراج عصاره به روش خیساندن با متانول صورت گرفت. در مرحله اول آزمایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH)، فنل‌کل (فولین سیوکالتو) و فلاونوئید (آلومینیوم‌کلرید) تمام نمونه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد تفاوت معنی‌داری بین روش‌های مختلف خشک‌کردن وجود دارد. بالاترین محتوای آنتی‌اکسیدان‌کل در سرشاخه‌های گلدار (۷۰/۹۲ درصد) وبرگ (۷۰/٦٦ درصد) در تیمار حرارت غیرمستقیم مشاهده گردید. بیش‌ترین میزان فنل‌کل (به‌ترتیب ۲/٥٦و ۳/۰۹ میلی‌گرم گالیک‌اسید در ۱۰۰ گرم ماده خشک) متعلق به نمونه خشک شده توسط روش‌های سایه-آفتاب و حرارت غیرمستقیم بود. بالاترین میزان فلاونوئیدکل (به‌ترتیب ۱/٤٥ و ۳/۷۳ میلی‌گرم کوئرستین در۱۰۰ گرم ماده خشک) مربوط به نمونه حرارت غیرمستقیم و ماکروویو بود. کم‌ترین میزان فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی سرشاخه‌های‌گلدار و برگ در نمونه‌های خشک شده در آون با دمای ٤٥ درجه مشاهده شد. در مرحله دوم آزمایش، بهترین نمونه از نظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل و فلاونوئید انتخاب شده و خصوصیات آن توسط کروماتوگرافی بررسی شد. بیشترین ترکیب موجود در عصاره شامل Arteannuic acid (۱٥/٦۳درصد) بود. به‌طور کلی خشک‌کردن به روش حرارت غیرمستقیم باعث حفظ ترکیبات آنتی‌اکسیدانی شده و روش‌های دیگر ممکن است باعث کاهش و یا حتی تخریب این‌گونه ترکیبات شوند.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، درمنه خزری، خشک‌کردن، فنل و فلاونوئیدکل.

*نویسنده مسئول: h.moradi@sanru.ac.ir

مقدمه

گیاه درمنه خزری با نام علمی (*Artemisia annua* L.) متعلق به خانواده (Asteraceae)، گیاهی دارویی و معطر است. این گیاه بومی شرق آسیا ، به ویژه چین، کره جنوبی و هند است (Wu et al., 2017) و به‌عنوان یک گیاه دارویی در نقاط مختلف آسیا، آفریقا، اروپا و آمریکا کشت می‌شود (Gupta et al., 2002). تحقیقات نشان داده است که درمنه خزری دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدقارچی، ضدباکتریایی و ضدمیکروبی می‌باشد (Hashemi et al., 2016). نام محلی این گیاه سرجارو است، و اندام‌های مورد استفاده در آن سرشاخه‌های گلدار و برگ‌ها هستند. جوشانده و دمکرده این گیاه دارای خواص ضد نفخ، شکم درد، ضد انگل، مسکن دردهای گوارشی، ضد رماتیسم و فعالیت‌های ضد دیابتی است (Munyangi et al., 2019; Itelima et al., 2017; Guo et al., 2018) از زمان‌های قدیم این گیاه به عنوان یک گیاه دارویی برای درمان بیماری های متعدد در پزشکی سنتی چینی مورد استفاده قرار گرفته‌است (Brown, 2010). در اواخر دهه ۱۹۸۰ خواص ضدسرطانی و ویژگی‌های ضد توموری این گیاه نیز گزارش شد (Zheng et al., 2020). ترکیب عمده تشکیل دهنده درمنه خزری شامل سزکوئی ترپنوئیدها، فلاونوئیدها، کومارین‌ها، پروتئین‌ها و استروئیدها می‌باشد. ترکیب شیمیایی اصلی گیاه آرتمیزینین است (Ikram and Simonsen, 2018) بیش از ۶۰۰ ماده فیتوشیمیایی به عنوان مواد تشکیل‌دهنده موجود در اسانس *A. annua* شناسایی شده‌اند اما ترپنوئیدها و سزکویی ترپنوئیدها (artemisine, artemisinine, artesimic acid, phytol, arteannuin B, Beta-amyrin)، کومارین‌ها (scopoletin, tomentin A, coumarin)، فلاونوئیدها (apigenin, chrysosplenetin, rhamnazin, luteolin, naringenin, capillartemisin B, rutin, quercetin)، فنولیک اسید 4-(4-hydroxycoumarin, hydroxycinnamic acid, caffeic acid)، استروئیدها (β-sitosterol stigmasterol, daucosterol)، آلدهیدها و کتون‌ها (4-caprylaldehyde, isopropylbenzaldehyde, hexanol 2-docosanone)، استرها (salicylic acid, α-bergamotol acetate, xanthoxylin, cynarine) از جمله ترکیبات فیتوشیمیایی اصلی آن می‌باشند (Segneanu et al., 2021). آرتمیزینین وترکیبات مشتق شده از آن، علاوه بر فعالیت ضد مالاریا معمولی خود می توانند رادیکال‌های آزاد با واکنش پذیری بالا را تشکیل دهند و دارای خواص دارویی متنوعی از جمله فعالیت ضد سرطانی هستند (Gao et al., 2020). همچنین تحقیقات نشان می دهد که ترکیبات کومارین (esculetin, scopoletin) موجود در عصاره گیاه درمنه خزری دارای خواص ضد باکتری است (Silue et al., 2018). در تحقیقی که توسط مشاتی و همکاران (Mashati et al., 2017) انجام گرفت برای اولین بار اثر کشندگی و آپوپتوتیک عصاره بخش‌های هوایی گیاه درمنه خزری بر روی رده‌های سلولی لوسمی لنفوبالستیک حاد نشان داده شده است. آن‌ها بیان داشتند که از عصاره درمنه خزری می‌توان به عنوان ماده‌ای با اثر مهاری در برابر سلول‌های لوسمی لنفوبالستیک حاداستفاده نمود. براساس پژوهش‌صورت‌گرفته توسط حسینی‌پول و همکاران (Hosseini Pool et al., 2014)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه درمنه خزری با میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی کل رابطه مستقیم دارد. مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها باعث کاهش خطر ابتلابه بیماری سرطان و آلزایمر می‌گردد. گیاهان هنوز به عنوان منبع اصلی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در نظر گرفته می شوند که می‌توانند سرنخی برای توسعه داروهای جدید باشند (Shokri et al., 2018). از زمان‌های قدیم،

آنتی‌اکسیدان‌ها برای درمان بیماری‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گرفتند و با گذشت زمان محبوبیت بیشتری پیدا کردند. امروزه یکی از کاربردهای آنتی اکسیدان‌ها را می‌توان کاهش عفونت‌های دهان و دندان دانست (Kumar et al., 2021). ترکیبات آنتی‌اکسیدانی زیادی در گیاهان وجود دارند که ازجمله آن‌ها می‌توان به ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها و بنزوئیک‌اسید اشاره کرد (Lindsay and Astley, 2002). ترکیبات فنلی یکی از گسترده‌ترین ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در طبیعت هستند که اهمیت فیزیولوژیکی زیادی در گیاهان دارند. ویژگی آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات ناشی ازقدرت احیاکنندگی و ساختار شیمیایی آن‌ها است که باعث خنثی کردن رادیکال‌های آزاد و جلوگیری ازاکسیداسیون لیپیدها می‌شود (Ahmadi et al., 2007). متابولیت‌های ثانویه مانند ترکیبات فنلی علاوه بر محافظت از گیاهان، در سلامت انسان نیز نقش مهمی ایفا می کنند ودارای خواص ضد میکروبی، ضد التهاب و ضد تومورهستند (Albergaria et al., 2020). ترکیبات فنلی بیشتر به زیر گروه‌های مختلفی از جمله کومارین‌ها، فلاونوئیدها، اسیدهای فنولیک و تانن‌ها تقسیم می‌شوند. فلاونوئیدها به طور گسترده در غذاها و نوشیدنی‌های با منشاء گیاهی (مانند میوه‌ها و سبزیجات) یافت می‌شوند (Delgado et al., 2019). فلاونوئیدها ترکیبات زیست فعالی هستند که حدود ٦٠ درصد از ترکیبات پلی فنلی موجود در گیاهان را تشکیل داده و به وفور در میوه‌ها، سبزی‌ها، دانه‌ها و مغزها یافت می‌شوند (Shahbazi et al., 2013). خشک کردن یکی از روش‌های قدیمی نگهداری گیاهان است که از رشد میکروب‌ها و بروز تغییرات بیوشیمیایی خاص در گیاه جلوگیری کرده و برویژگی‌های ظاهری و آروماتیکی گیاه تاثیر می‌گذارد (Rabeta and Lai, 2013;Chong and Lim,2012) با وجود مزایای بسیار، خشک کردن نامناسب می‌تواند منجر به تجزیه متابولیت‌های حساس به حرارت و در نتیجه کاهش کیفیت اسانس یا عصاره استخراج شده از گیاه گردد (Ganjloo et al., 2019). نتایج بسیاری از مطالعات حاکی از آن است که استفاده از تکنیک‌های مختلف خشک کردن می‌تواند تاثیرات متفاوتی بر بازده استخراج و ترکیبات شیمیایی اسانس و عصاره داشته باشد به طوری که روش خشک کردن مناسب برای یک گیاه میتواند برای گیاه دیگر نامناسب باشد (Ghasemi Pirbalouti et al., 2017). روش‌های مختلفی برای خشک کردن گیاهان وجود دارد که از جمله آن‌ها می‌توان به خشک کردن با امواج ماکروویو، خشک کردن انجمادی، خشک کردن با هوای داغ، نورخورشید، سایه و خشک کردن در آون اشاره کرد. هر یک از این روش‌ها مزایا و معایب خاص خود را دارند (Hassanpouraghdam et al., 2010). روش‌های مختلف خشک کردن می‌تواند فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه را تغییردهد (Sultana et al., 2007). روش خشک کردن طبیعی (سایه و آفتاب) گرچه قدمتی بسیار طولانی دارد، اما به دلیل سادگی و ارزان بودن هنوز به‌عنوان روشی عملی و کاربردی در بسیاری از کشورها حتی کشورهای پیشرفته استفاده می‌شود (Lotfi et al., 2014). در مطالعه ای گل‌های سایه خشک شده گیاه آرنیکا حاوی بیشترین مقدار فنل کل بودند و پس از آن خشک کردن با آون (در دمای ٤٠ درجه سانتی‌گراد) مطلوب ترین روش برای حفظ سایر متابولیت‌های ثانویه اصلی از جمله فلاونوئید کل، روتین، لوتئولین و آپیژنین بود (Asadi et al., 2020). نتایج مومیوند و همکاران (Mumivand et al., 2020) در بررسی بر روی شمعدانی عطری نشان داد که تیمارهای خشک کردن در سایه محصور و سایه هوای آزاد و نمونه تازه بیش ترین میزان فنل کل، فلاونوئید کل و بیشترین

فعالیت آنتی اکسیدانی را دارا بودند. کم ترین میزان نیز برای اغلب صفات مورد مطالعه در تیمار خشک کردن در آفتاب کامل و خشک کردن در ماکروویو مشاهده گردید. بوستانی و آصفی (Bostani and Asefi,2020) بیان کردند که در بین نمونه‌های تیمارشده، نمونه خشک شده در سایه در مقایسه با نمونه‌های خشک شده با آون و مایکروویو، تغییرات کمتری در از بین رفتن پلی فنل‌ها ریحان داشته است و استفاده از آون با دمای بالا منجر به از دست رفتن بیشتر پلی فنل‌ها شد . قبائی و همکاران (Ghabaei et al., 2018) خشک کردن در سایه را بهترین روش برای بدست آوردن بالاترین مقدار ترکیبات مواد مؤثره در سرخارگل دانستند. خرم‌دل و همکاران (Khorramdel et al., 2014) گزارش کردند که، بالاترین درصد اسانس آویشن، بابونه، بادرنجبویه، ترخون و نعنا فلفلی در روش خشک کردن در سایه به ترتیب برابر با ۰/۷، ۰/۹، ۲/۹، ۲/۹، ۳/۳ درصد بدست می‌آید و افزایش درجه آون از ۳۰ به ۶۰ درجه سانتی گراد باعث کاهش درصد و اجزای اسانس این گیاهان می شود. همچنین آن ها گزارش کردند بالاترین محتوای تیمول در آویشن، کامازولن در بابونه، سیترونلول در بادرنجبویه، استراگول در ترخون و منتول در نعناع فلفلی به ترتیب ۵۴/۷، ۷/۶، ۵۳/۵، ۶۹/۸ و ۶۷/۱ درصد در روش خشک کردن در سایه بود. یکی دیگر از روش‌های رایج خشک کردن، خشک کردن در آون است که به عنوان روشی کاربردی طی چند سال گذشته بسیار مورد استفاده قرار گرفته است (Lotfi et al., 2014). راحمی کاریزکی و همکاران(karizaki rahemi et al., 2020) بیان داشتند که بیشترین میزان اسانس گیاه مرزه در روش خشک کردن در سایه و کمترین میزان برای مقدار اسانس در روش خشک کردن با آون در دمای ۶۰ و ۷۵ درجه سانتی‌گراد با صفر گرم اسانس مشاهده شد. پس از روش خشک کردن در سایه، بیشترین مقدار اسانس گیاه مرزه در روش مایکروویو ۹۰ وات و در آفتاب به‌دست آمد . سفیدکن وهمکاران (Sefidkon et al., 2006) در تحقیقی نشان دادند که بیشترین میزان اسانس مرزه به ترتیب در روش‌های خشک کردن به وسیله آون (۴۵درجه سلسیوس) و سایه و آفتاب به دست آمد. کیهانی و همکاران (Keyhani et al., 2014) نشان دادند که بازده اسانس، مقدار تیمول ومجموع ترکیبات فنلی اسانس مرزه سهندی (*Satureja sahendica* Bornm) در دو روش خشک کردن با آون در دمای ۳۰ و ۴۰ درجه سلسیوس و سایه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نداشته اما خشک کردن در آون با دمای ۵۰ درجه سلسیوس سبب تولید بازده اسانس پایین‌تر شد و میزان دو ترکیب فنلی تیمول و کارواکرول از بقیه بیشتر بود. یکی از روش‌های نوین در جهت خشک کردن گیاهان استفاده از امواج ماکروویو است. این روش سرعت نسبتا بالایی داشته و اخیرا توجه محققان بسیاری از کشورها را به خود جلب کرد است. نتایج تحقیق عبادی و همکاران (Ebadi et al., 2011) نشان داد که خشک کردن گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.) با استفاده ازتوان‌های پایین مایکروویو از این جهت که زمان خشک کردن را کاهش داده و میزان اسانس و اجزای آن را به صورت قابل ملاحظه‌ای حفظ می‌کند می‌تواند روش مناسبی برای خشک کردن این گیاه باشد. در تحقیقی دیگر تاثیر روش‌های مختلف خشک کردن (خشک کردن با هوای گرم ۶۰ درجه سلسیوس، ماکروویو، تحت خلا و روش ترکیبی جابجایی- ماکروویو تحت خلا) روی ترکیبات فرار مرزنجوش (*Origanum vulgar*) بررسی گردید. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که روش ماکروویو- تحت خلاء بهترین روش خشک کردن مرزنجوش بود و قادر به

حفظ‌بیشترین مقدار این مواد موثره بود (Figiel et al., 2010). احمدی و همکاران (Ahmadi et al., 2011) با مطالعه تاثیر روش‌های مختلف خشک کردن (سایه، آفتاب و درجه حرارت‌های ۳۰ و ٤٠ درجه سلسیوس) بر کمیت و کیفیت اسانس گل محمدی بیان کردند که اگر چه بین روش‌های مختلف خشک کردن تاثیر معنی‌داری مشاهده نشد، ولی بالاترین محتوای سیترونلول و ژرانیول (مهم ترین اجزای بهبود دهنده کیفیت اسانس) و کم‌ترین ترکیبات مومی و سنگین (کاهش‌دهنده کیفیت اسانس) در تیمار خشک کردن در شرایط سایه به دست آمد. البته تاثیر روش‌های مختلف خشک کردن بر مواد موثره، باتوجه به درجه حرارت مورد استفاده، طول دوره خشک کردن و نوع گونه گیاهی متفاوت است (Yazdani et al., 2006). با توجه به اهمیت تاثیر روش‌های مختلف خشک کردن بر کمیت و کیفیت ترکیبات موثره گیاهان دارویی و ادویه‌ای، و اینکه تاکنون مطالعه‌ای کمی در رابطه با روش خشک کردن درمنه خزری انجام شده است، در این مطالعه ما به بررسی تاثیر روش‌های مختلف خشک کردن بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و برخی از خصوصیات فیتوشیمیایی گیاه دارویی درمنه خزری پرداختیم.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: این پژوهش در پائیز و زمستان سال ۱۳۹۸ برپایه طرح کاملا تصادفی با چهار تیمار و ده تکرار در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد. ابتدا نمونه‌های گیاهی به دو شکل سرشاخه‌های گلدار و برگ‌ها از منطقه سوادکوه شمالی با مختصات (٣٦ درجه و ١١ دقیقه تا ٣٦درجه و ٢٢ دقیقه عرض شمالی و ٥٢ درجه و ٤٤ دقیقه تا ٥٢ درجه و ٥٣ دقیقه طول شرقی و ارتفاع ٢٣٨ متر از سطح دریا) جمع‌آوری شدند. سپس نمونه‌ها پس از تمیز شدن به چهارشیوه خشک شدند: ١.خشک شدن با دستگاه آون (در دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد به مدت ٢٤ ساعت) ، ٢. باحرارت غیرمستقیم (مجاورت با بخاری، دردمای ٣٢-٢٨ درجه سانتی‌گراد)، ٣. روش سایه -آفتاب و ٤. مایکروویو (میزان انرژی٥٢٠ وات که برای سرشاخه‌های گلدار ٤ دوره ٤٠ ثانیه‌ای و برای برگ ٣ دوره ٤٠ ثانیه‌ای) صورت پذیرفت. از آنجایی که زمان برداشت نمونه‌ها یکسان بوده است، بنابراین پیش فرض اولیه، داشتن رطوبت مشابه در تمامی نمونه‌ها بوده که با توزین اولیه نمونه‌های تازه گیاهی ثبت گردید. سپس نمونه‌ها تحت تاثیر تیمارهای مختلف خشک شدن قرار گرفتند . بطوریکه ملاک اصلی در خشک شدن نمونه‌های گیاهی مقدار آب موجود در آن‌ها در نظر گرفته شد که در مرحله توزین نهایی به ثبت رسید.

عصاره‌گیری: برای عصاره‌گیری یک گرم از بافت خشک گیاه در ده میلی‌لیتر متانول به مدت ٧٢ ساعت خیسانده شد. سپس به مدت١٠ دقیقه و در ١٠٠٠٠دور بردقیقه سانتریفیوژ شد (Kadhim et al., 2016). از محلول شفاف بالایی برای اندازه‌گیری صفات آنتی‌اکسیدان، فنل و فلاونوئید همچنین آنالیز ترکیبات با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی با طیف سنج جرمی (GC/MS) استفاده شد.

اندازه گیری قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH: برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره ی درمنه خزری از رادیکال‌های پایدار٢ و٢-دی فنیل ١-پیکریل هیدرازیل (DPPH) استفاده شد. به یک میلی‌لیتر از عصاره، یک میلی‌لیتر محلول ٠/١ میلی‌مولار DPPH اضافه شد و به‌مدت ١٥ دقیقه در مکان تاریک قرار داده شد. سپس جذب محلول در طول موج ٥١٧ نانومتر قرائت شد و میزان درصد مهار رادیکال آزاد آن با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

در این فرمول، Ac جذب کنترل و Asجذب نمونه می‌باشند (Ebrahimzadeh et al., 2009).

Inhibition (%) =[(Ac-As)/Ac]×100

تعیین محتوای فنل کل : میزان کل ترکیبات فنلی با روش فولین سیوکالتو اندازه گیری شده و نتایج بر حسب میلی گرم اسید گالیک در گرم بافت خشک بیان شدند (Slinkard et al., 1977). در این روش، ۲۰ میکرولیتر از عصاره درون لوله آزمایش با ۱/۱۶۰ میلی لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو مخلوط شدند. بعد از گذشت ۱ تا ۸ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم (۲۰ ٪ وزنی/ حجمی) به محتوای لوله آزمایش افزوده شد. لوله‌های آزمایش بعد از تکان دادن، درون حمام آب با دمای ٤٠ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از گذشت ۳۰ دقیقه جذب آن‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٧٦٥ نانومتر خوانده شد.

تعیین محتوای فلاونوئید: برای تعیین مقدار فلاونوئیدهای کل از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم استفاده شد (Chang et al., 2002). به نیم میلی‌لیتراز عصاره، ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید. سپس در دمای اتاق به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند و جذب آن‌ها در ٤١٥ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. میزان فلاونوئید کل بر اساس میلی‌گرم کوئرستین برگرم بافت خشک بیان شد.

شناسایی ترکیبات موجود در عصاره نمونه برتر: برای شناسایی ترکیبات عصاره نمونه برتر از دستگاه گاز کروماتوگرافی مدل Technologies-٧٨٩٠A Agilent متصل به طیف سنج جرمی مدل Agilent Technologies-٥٩٧٥C با مشخصات ستون HP- 5MS، طول ۳۰ متر، قطر بیرونی ۰/۲۵ میلی‌متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. برنامه دمایی ستون به این نحو تنظیم‌گردید که دمای ابتدایی آون ۱۰۰ درجه سلسیوس و با گرادیان حرارتی ۱۰ درجه سلسیوس در دقیقه افزایش دما تا ۲۸۰ درجه سلسیوس و توقف به‌مدت ۵ دقیقه، به دنبال آن با گرادیان حرارتی ۳ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه دما تا ۲۸۰ درجه افزایش و به مدت ۵ دقیقه در این دما توقف داشته است.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با ده تکرار انجام شد. نتایج حاصل به کمک نرم افزارآماری SPSS نسخه١٦ تجزیه و تحلیل شدند. همچنین مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس نشان داد تاثیر روش‌های مختلف خشک کردن بر میزان آنتی‌اکسیدان، فنل و فلاونوئید کل در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱).

جدول ۱: تجزیه واریانس اثر روش‌های مختلف خشک کردن بر محتوای آنتی‌اکسیدان، فنل و فلاونوئید

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین‌مربعات					
		فنل سرشاخه گلدار	فنل برگ	آنتی‌اکسیدان سرشاخه گلدار	آنتی‌اکسیدان برگ	فلاونوئید سرشاخه گلدار	فلاونوئید برگ
خشک کردن	۳	۳/۹۳۹*	۳/۱۲۲*	۲۷۵/۸۵*	۵۳۳/۷۰۹*	۰/۳٦۱*	۲/٦٨١*
خطا	٤	۰	۷/۱۷٤٥	۰/۰۱۱	۰/۰۵	۰/۰۰۲	۰/۰٦۲
کل	۸						

* معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪

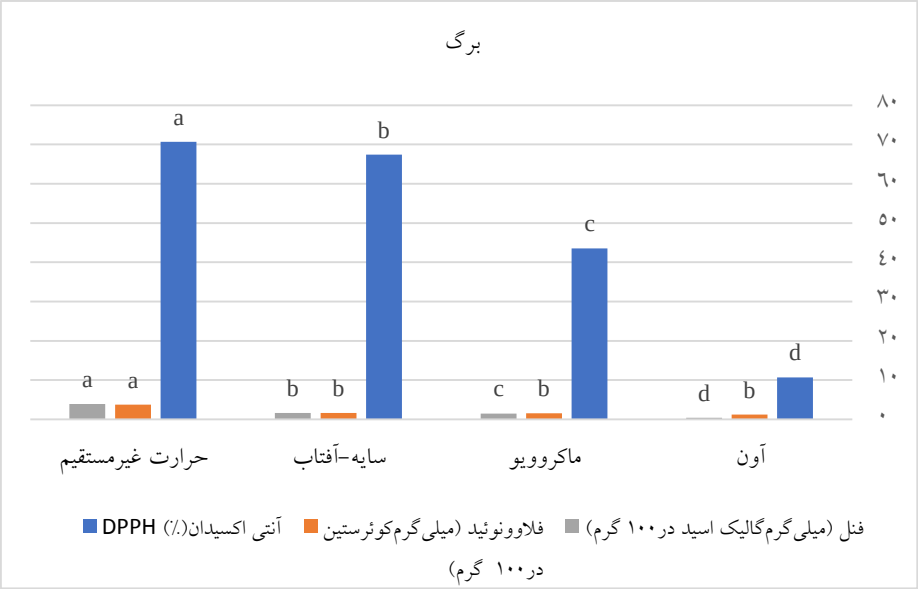
با توجه به شکل ۱ بیش‌ترین میزان آنتی‌اکسیدان سرشاخه‌های گلدار (۷۰/۹۲ درصد) به وسیله خشک کردن حرارت غیرمستقیم بدست آمد. بیش‌ترین میزان فنل نیز (۲/۵٦ میلی‌گرم در گرم بافت خشک) در روش سایه- آفتاب و حرارت غیرمستقیم حاصل شد. حداکثر میزان فلاونوئید (۱/٤٥ میلی‌گرم درگرم بافت خشک) در روش حرارت غیرمستقیم و ماکروویو مشاهده گردید. به طور کلی نیز کم‌ترین میزان آنتی‌اکسیدان (٤٤/۹۰ درصد)، فنل (۰/٥٦ میلی‌گرم در گرم بافت خشک) و فلاونوئید (۰/٤٨ میلی‌گرم درگرم بافت خشک) موجود به وسیله خشک کردن در آون حاصل شد. در واقع حرارت غیرمستقیم نسبت به روش‌های دیگر، از نظر حفظ خصوصیات مطلوب فیتوشیمیایی عملکرد بهتری داشت.

شکل ۱: مقایسه میانگین داده‌های اثر روش‌های مختلف خشک کردن بر محتوای آنتی‌اکسیدان، فلاونوئید و فنل سرشاخه‌های گلدار گیاه دارویی درمنه خزری

با توجه به نتایج حاصل از شکل۲، می‌توان گفت که حرارت غیرمستقیم روی سه صفت آنتی‌اکسیدان (۷۰/٦٦ درصد) فنل (۳/۰۹ میلی‌گرم در گرم بافت خشک) و فلاونوئید نسبت به دیگر صفت‌ها بیش ترین تاثیر را داشته و یکی از روش‌های اصلی برای خشک کردن این گیاه دارویی محسوب می‌شود. استفاده از آون نسبت به سایر روش‌ها منجر به تخریب و کاهش ترکیبات آنتی‌اکسیدان (۱۰/۷۰درصد)، فنل (۰/۳۹ میلی‌گرم در گرم بافت خشک) و فلاونوئید (۱/۱۸ میلی‌گرم در گرم بافت خشک) شد که علت این امررا می‌توان مدت زمان حرارت‌دهی طولانی و دمای نسبتا بالای مورد استفاده در این روش دانست.

جدول ۲: نتایج حاصل از کروماتوگرافی گازی (GC/MS) در نمونه برگ خشک شده به روش حرارت غیر مستقیم

ردیف	زمان (time)	ترکیب شناسایی شده	درصد در عصاره
۱	۳/۲۷	silane, ethy	۱/٦۲
۲	٤/٤۱	oxime-, methoxy-phenyl	۱/٤۳
۳	٥/٥۸	eucalyptol	۲/٤٤
٤	٥/۸٤	1,2-cyclopentanedione, 3-methyl	۱/۱۳
٥	۷/۳۰	camphor	۷/۸۹
٦	۷/٤۱	bicyclo[2.2.1]heptan-2-one	۱/٤٦
۷	۷/٥٥	pinocarvone	۲/۹٤
۸	۸/٦۱	5-hydroxymethylfurfural	۲/۳۱
۹	۹/٦۷	2-methoxy-4-vinylphenol	٤/۲۷
۱۰	۱۱/۳٥	Coumarin	۱/۳٥
۱۱	۱۱/۹۳	adamantane	۱/۱۱
۱۲	۱۲/۲٥	2-hydroxy-1-(1'-pyrrolidiyl)-1-b	۱/٤۸
۱۳	۱۲/۸۳	acetic acid, (4-chloro-2-methyl)	۱/۳۳
۱٤	۱۲/۹٤	caryophyllene oxide	۱/٥٦
۱٥	۱۳/۰۱	bicyclo[4.1.0]heptane	۱/۳۲
۱٦	۱۳/۱۲	(z)-6-pentadecen-9-yne	۱/٥٦
۱۷	۱۳/۷۲	aromadendrene	٤/۲۷
۱۸	۱۳/۸۳	Maltoxazine	۱/٥
۱۹	۱۳/۹٤	Caparratriene	۱/٤٤
۲۰	۱٤/۲٤	trans-Carveol	۱/٥۱
۲۱	۱٥/۲۳	1-(3,5-dimethoxyphenyl)pent-1-ene	۲/٥۱
۲۲	۱٥/۳۰	1-methyl-5-t-butyluracil	۲/۳٥
۲۳	۱٥/۳٦	hirsuten - nor-ketone	٤/۸۱
۲٤	۱٦/۰۸	arteannuic acid	۱٥/٦۳
۲٥	۱۷	n-hexadecanoic acid	۱/۸۳
۲٦	۱۷/۲٥	scopoletin	۲/٦۹
۲۷	۱۷/٤۹	5-hydroxy-2-methoxy-3,8-dimethyl	۲/۳۷
۲۸	۱۷/٦۸	americanolide D	۲/٥
۲۹	۱۷/۹۷	deoxyartemisinin	۱/۹۰
۳۰	۱۸/۲٦	arteannuin b	۹/۸۸
۳۱	۱۸/٤۰	phytol	۲/٦۷
۳۲	۱۸/٦٥	9-octadecenoic acid	۲/٥۲
۳۳	۲۰/۲٦	cyclooctene, 3-(1-methylethenyl)	۱/٤۰
۳٤	۳۱/٥٤	beta.-amyrone	۱/۷٦



شکل ۲: مقایسه میانگین داده‌های اثر روش‌های مختلف خشک کردن بر محتوای آنتی‌اکسیدان، فلاونوئید و فنل برگ گیاه دارویی درمنه خزری

با توجه به نتایج حاصل از آزمایش اول، روش خشک کردن حرارت غیر مستقیم بیشترین قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد ، محتوای فنل کل و محتوای فلاونوئید را نشان داد . لذا نمونه برتر جهت آزمایش دوم مورد استفاده قرار گرفت (شکل۲) و نتایج حاصل از کروماتوگرافی گازی (GC/MS)، بیشترین میزان ترکیبات شامل arteannuic acid و arteannuin b به ترتیب به میزان۱۵/۶۳ و ۹/۸۸ درصد بود. همچنین علاوه بر دو ترکیب ذکر شده، deoxyartemisinin (۱/۹۰ درصد) نیز از دیگر مشتقات آرتمیزینین محسوب می‌شود. حضور کومارین(۱/۳۵)، کامفور(۷/۸۹) و اکالیپتول(۲/۴۴) نشان‌دهنده وجود نسبت بالایی از ترکیبات فرار در این نمونه می‌باشد. که اکثر ترکیبات بدست آمده جز ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی هستند.

بحث

تاثیر روش خشک کردن بر محتوای ترکیبات آنتی اکسیدانی، فنلی و فلاونوئیدی کل عصاره درمنه خزری

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس حاکی از تاثیر معنی‌دار ($p<0.05$) روش‌های مختلف خشک کردن بر محتوای ترکیبات آنتی اکسیدانی، فنلی و فلاونوئیدی کل عصاره ی اندام هوایی درمنه خزری بود (جدول ۱). طبق نتایج بدست آمده بالاترین محتوای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به ترتیب مربوط به عصاره‌ی به دست آمده از اندام‌های هوایی خشک شده (سرشاخه‌های گلدار و برگ‌ها) به روش حرارت غیرمستقیم به ترتیب ۷۰/۹۲ درصد و ۷۰/۶۶ درصد بود. در حالی که کم ترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به روش خشک کردن با آون بود(شکل۱و۲). به طور کلی با افزایش دما طی فرایند خشک کردن، قدرت احیاکنندگی عصاره کاهش می یابد. که دلیل این امر می تواند ناشی از اثر تخریبی دما بر ترکیبات فنلی باشد، زیرا این ترکیبات تاثیر مستقیمی بر قدرت احیاکنندگی عصاره دارد (Gao et al., 2000; Hayat et al., 2019). با توجه به نتایج مقایسه میانگین (شکل ۱و۲) بالا ترین میزان فلاونوئید کل (۱/۴۵و ۳/۷۳ میلی گرم کوئرستین در

۱۰۰ گرم ماده خشک) به‌ترتیب مربوط به نمونه حرارت غیر مستقیم و ماکروویو بود. نتایج نشان داد با قرار دادن نمونه‌های گیاهی در آون(دمای۴۵ درجه سانتی گراد) میزان فلاونوئید کل آنها کاسته شد. به‌نحوی که در بین تمامی روش‌ها کم‌ترین میزان فلاونوئید کل در تیمار خشک کردن در آون (به‌ترتیب ۰/۴۸ و ۱/۱۸ میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰۰گرم ماده خشک) بدست آمد. به‌طور کلی می توان نتیجه گرفت در روش‌های خشک کردن با قرار گرفتن نمونه‌های گیاهی در معرض درجه حرارت بالا میزان فنل و فلاونوئید کاهش یافت به طوری که در این بررسی کم ترین میزان فنل و فلاونوئید کل در نمونه ی خشک شده در آون مشاهده شد. نتایج این تحقیق با مطالعه ی مومیوند و همکاران (Mumivand et al., 2020) مطابقت داشت. در بررسی ایشان روی گیاه شمعدانی عطری، خشک کردن در آون و توان‌های بالای ماکروویو باعث کاهش میزان ترکیبات فنلی ، فلاونوئیدی و آنتی اکسیدانی گردید. نتایج‌هامرونی سلامی و همکاران (Hamrouni et al., 2012) نشان داد که توان۸۰۰ وات ماکروویو سبب افزایش میزان فنل و فلاونوئید کل شد. آن‌ها بیان کردند که با افزایش قدرت ماکروویو از ۶۰۰ به ۸۰۰ وات، میزان فنل کل به طور معنی داری افزایش یافت. در پژوهش ارسلان و همکاران (Arslan et al., 2010) کم ترین میزان فنل کل مربوط به نمونه‌های خشک شده در آون بود در حالی که نمونه‌های خشک شده در تیمار آون- ماکروویو و پس از آن تیمار آفتاب بیش ترین میزان فنل کل را داشتند. این محققان بیان کردند که علت این افزایش احتمالا به خاطر آزادسازی ترکیبات فنلی طی خشک کردن است و علت کاهش ترکیبات فنلی در آون را به دمای بالا نسبت دادند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان به ویژگی‌های مختلفی از جمله ژنوتیپ، اقلیم، فصل رشد، موقعیت جغرافیایی، نوع خاک، شرایط نگهداری و نحوه خشک کردن بستگی دارد (Asekun et al., 2007). خشک کردن یکی‌ازقدیمی‌ترین روش‌های نگهداری‌پس از برداشت‌تا زمان استفاده‌یافرآوری گیاهان دارویی است (Omidbaigi, 2005). در تحقیقات پیشین گزارش شده است که خشک کردن نمونه‌های تازه ، محتوای ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی اکسیدانی را در خانواده ی نعناعیان افزایش می‌دهد (Hossain et al., 2010). در این تحقیق کم ترین میزان فنل، فلاونوئید وفعالیت رادیکال DPPH، در روش خشک کردن در آون بدست آمد، به‌طورکلی سرعت خشک کردن گیاه بستگی به نوع اندام گیاه، دما و سرعت تهویه دارد. هرچه دما بیشتر باشد وتهویه با سرعت بیشتر انجام شود عمل خشک کردن سریع تر صورت می‌گیرد. اگر از دمای بسیار بالا وسرعت تهویه خیلی زیاد استفاده کنیم رطوبت از قسمت‌های خارجی گیاه حذف شده اما در قسمت‌های میانی همچنان مرطوب باقی می ماند به طوری که قسمت‌های خارجی به سرعت خرد شده وبه صورت قهوه ای و برشته در آمده ورطوبت در قسمت‌های میانی باقی می ماند که باعث فاسد شدن گیاه و کاهش یا حتی از بین رفتن ماده موثره می‌شود. در این رابطه گزارش شده است استفاده از روش‌های گرمایی در خشک کردن مانند ماکروویو و آون می تواند سبب کاهش ترکیبات فنلی کل در برگ‌های گیاه زنجبیل شود (Chan et al., 2009). الارا و همکاران (Alara et al., 2019) بیان داشتند که با افزایش توان ماکروویو (۴۰۰ به ۷۰۰ وات) ترکیبات فنلی موجود در گیاه ورنونیا (*Vernonia amygdalina*) به‌دلیل تخریب اسیدهای فنولیک در توان‌های بالا کاهش پیدا می‌کند. همچنین نتایج مشابهی در تحقیقات حیات و همکاران (Hayat et al., 2019) نشان داد که با افزایش دمای آون (۱۰۰ به ۱۵۰درجه سانتی‌گراد) و ماکروویو (۳۰۰

به ۷۰۰ وات) ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در گیاه رازیانه کاهش پیدا می کند. مطالعات زیادی نشان می‌دهد که دمای خشک شدن بر میزان مواد موثره در گیاه تأثیر می‌گذارد. هنگامی که دما افزایش می‌یابد، برخی از ترکیبات شیمیایی کاهش، در حالی که برخی دیگر افزایش می‌یابندو یااینکه هیچ روند مشخصی را نشان نمی‌دهند (Blanco et al., 2002). در طی پژوهشی بیان شده است که روش‌های مختلف خشک کردن به طور قابل توجهی ، محتوای فنل کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای اسیدرزمارینیک گیاه بادرنجبویه تاثیر می‌گذارد. بطوری که با افزایش دمای آون (٦٠ درجه سانتی‌گراد) و خشک‌کردن درآفتاب سبب کاهش متابولیت‌های ثانویه گردید (Hassanzadeh et al., 2018) طاهری و همکاران (Taheri et al., 2001) گزارش کردند که با توجه به رشد سریع باکتری‌ها احتمالا جمعیت آن‌ها در ساعات اولیه افزایش یافته و به مرور با خشک‌تر شدن محیط در ساعات بعدی باکتری‌ها دچار پلاسمولیز شده‌اند و از طرف دیگر دمای ٤٥ درجه آون در حدی بالا نبود که مانع رشد باکتری‌ها شود و بیشتر به انکوبه شدن آن‌ها کمک کرده است، که این نتایج می تواند دلیل کاهش ماده موثره ی گیاه درمنه خزری در روش خشک کردن توسط آون را به درستی توجیه کند. ترکیبات فنلی ویژگی‌های احیایی دارند که به آنها این اجازه را می دهد که به عنوان احیا کننده و دهنده ی هیدروژن و کاهنده‌ی اکسیژن‌های منفرد وارد عمل شوند (Henriques et al., 2012). مقادیر مختلف فنل در گیاهان می‌تواند بر خواص آنتی‌اکسیدانی تاثیر گذار باشد زیرا ترکیبات فنلی در گیاهان منبع خوبی از آنتی اکسیدان‌های طبیعی هستند (Amin et al., 2012). بالاترین مقدار ترکیبات فنل، فلاونوئید و آنتی اکسیدان در روش خشک کردن در حرارت غیر مستقیم (مجاورت بخاری) و در مرحله بعد روش سایه-آفتاب مشاهده شد. اطلاعات محدودی در مورد اثر روش خشک کردن پس از برداشت *Artemisia annua* بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه وجود دارد (Ferreira and Luthria, 2010). روش خشک کردن سایه- آفتاب در جهت حفظ بیش‌ترین ماده ی موثره و کم ترین تغییرات رنگ روش مناسبی است. در پژوهشی تاثیر روش‌های مختلف خشک کردن شامل سایه، آفتاب، آون (دمای ٦٠ و ٤٠ درجه سلسیوس)، ماکروویو و خشک کن انجمادی روی ویژگی‌های کمی و کیفی دو گونه ریحان مطالعه شد. نتایج پژوهش نشان داد بیش ترین ماده ی موثره و ترکیبات اسانس در روش سایه و بعد خشک کن انجمادی بدست آمد (Ghasemi Pirbalouti et al., 2013). برای خشک کردن گیاه درمنه خزری ماکروویو نمی‌تواند به‌عنوان روش مناسب مورد استفاده قرار گیرد و به علت تاثیرات نامطلوبی که بر روی ماده موثره و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی گیاه می‌گذارد. کوتاه بودن زمان خشک کردن، یکی از مزایای مهم خشک کردن با امواج مایکروویو می باشد. با این حال، نتایج برخی تحقیقات در مورد گیاهان نشان می دهند که روش مایکروویو با وجود خشک کردن سریع و حفظ رنگ مناسب مواد گیاهی، روش مناسبی برای خشک کردن نمی باشد، زیرا باعث کاهش قابل توجه روغن‌های فرّار گیاه می‌گردد (Ebadi et al., 2013).

عملکرد این ترکیبات در گونه‌های مختلف گیاهی به فصل زراعی، زمان برداشت و نحوه استخراج بستگی دارد (Olatunya and Akintayo, 2017). دمای بالا و تشعشعات خورشید اثر منفی بر ترکیبات شیمیایی گیاه داشته و باعث کاهش ترکیبات موجود عصاره، ویتامین‌ها و سایر ترکیبات گیاه می‌شود (Ozcan et al., 2005). محققان زیادی روش خشک کردن در سایه را نسبت به روش‌های دیگر از لحاظ حفظ ترکیبات موجود در اسانس برتر دانستند که

ازجمله آن‌ها می‌توان به تحقیقات عزیزی و همکاران (Azizi et al., 2009) در بابونه آلمانی، عبادی و همکاران (Ebadi et al., 2013) در ریحان و چالشکان و همکاران (Caliskan et al., 2017) درنعناع فلفلی اشاره کرد. تحقیقات انجام شده بر روی گیاه اکالیپتوس نشان داد، ترکیبات اصلی این گیاه شامل، ۱و۸ سینوئل و آلفا- پینن می‌باشد و بیش ترین مقدار ۱و۸ – سینئول در روش خشک کردن در سایه و با روش تقطیر با آب بدست آمده است (Fathi and Sefidkon,2012). بلانکو و همکاران (Blanco et al., 2002) دریافتند که با افزایش دمای آون از ٦٠ درجه سانتی‌گراد به ۸۰ درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب محتوای منتول افزایش و محتوای ۱، ۸ سینول و سیترونل در گیاه نعناع (*M. piperita* L.) کاهش می‌یابد. به‌طورکلی با افزایش دما میزان، ترکیبات مونوترپنی موجود در گیاه به تدریج کاهش می‌یابد در حالی که سزکوئی‌ترپن‌ها به نسبت قابل توجهی افزایش پیدا می‌کنند که ممکن است به دلیل وزن مولکولی پایین مونوترپن‌ها در مقایسه با سزکوئی‌ترپن‌ها باشد، که در دمای بالاتر سریع‌تر از اندام‌های گیاه خارج می‌شوند. عظیم‌زاده و همکاران (Azimzadeh et al., 2015) بیان داشتند که بیشترین و کم‌ترین درصد اسانس درگیاه گل مکزیکی (*Agastache foeniculum*)، به‌ترتیب مربوط به روش خشک کردن در سایه و ماکروویو بود زیرا با این که روش خشک کردن در ماکروویو، روشی سریع بوده و سبب حفظ رنگ گیاه می‌شود ولی باعث کاهش قابل توجه ترکیبات شیمیایی در گیاه نیز می‌گردد. که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد. نتایج تحقیقات پیشین نشان داد که دمای بالا (٦٠درجه سانتی‌گراد) برای خشک کردن آویشن و مریم گلی مناسب نیست و باعث کاهش شدید ترکیبات فراردر آن‌ها می‌شود که به دلیل از بین رفتن مونوترپن‌های غیراکسیژنه می‌باشد (Venskutonis,1997). دیاس و همکاران (Dias et al., 2011) اعلام کردند که استفاده از آون در خشک کردن گیاه نعناع فلفلی می‌تواند باعث تسریع در روند خشک‌کردن در مقایسه با روش سایه شود که در سایر مطالعات نیز نتایج مشابه بوده و سرعت خشک شدن گیاه با افزایش دمای آون از ۵۰و٦٠ به ۷۰ درجه سانتی گراد، افزایش یافت، در صورتی که این نتایج با نتیجه بدست آمده در گیاه درمنه‌خزری مطابقت نداشت این گیاه در روش خشک کردن در آون دارای کم‌ترین میزان مواد موثره بود که این کاهش ترکیبات در عصاره می‌تواند مربوط به دمای بالای آون و تبخیر ترکیبات فرار به همراه رطوبت در هنگام خشک شدن باشد، درپژوهشی که توسط میرمصطفایی و همکاران (Mirmostafaee et al., 2014) انجام شد علت کارآمدی روش سایه در مقایسه با آون در خصوص کاهش آلودگی باکتریایی را شاید بتوان به این ترتیب توضیح داد که آون دارای محیط بسته ، با تهویه بسیار محدود و بدون جریان هوا بود که این امر موجب افزایش تجمع بخار آب در داخل دستگاه در ساعات ابتدایی خشک شدن در آون گردید و به این ترتیب، با تقطیر آب شرایط مساعدی را برای رشد و تکثیر باکتری‌ها فراهم کرد.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج بدست آمده در این تحقیق نشان داد که روش‌های مختلف خشک کردن بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنل کل و محتوای فلاونوئید گیاه دارویی درمنه خزری اثر معنی‌داری دارد. خشک کردن به‌دلیل تاثیر در میزان مواد موثره گیاهی، کیفیت گیاه دارویی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. روش خشک کردن به وسیله حرارت غیرمستقیم (مجاوت بخاری) یکی از ساده‌ترین و کم‌هزینه‌ترین روش‌های خشک کردن گیاهان می‌باشد. طبق

نتـایج ایـــن آزمـــایش، بهتـــرین روش خشـک‌کـردن برای گیـاه درمنه خزری، روش خشـــک‌کـــردن بـه وسیله ی حرارت غیـرمسـتقیم اسـت کـه در تعـدادی صفات نتیجه مطلـوب داشـت. بعـد از روش خشـک کـردن در حرارت غیر مستقیم، بترتیب روش خشـــک کـردن در سایه-آفتاب و ماکروویو نتـــایج مطلـوبی را نشان داد.

References

1.Ahmadi, F., Kadivar, M. and Shahedi, M. 2007. Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Mozaff. in model and food systems. Food chemistry, 105(1): 57-64.

2. Ahmadi, K., Sefidkon, F. and Asareh, M. 2008. The effects of different drying methods on essential oil content and composition of three genotypes of *Rosa damascena* Mill. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 24(2): 162-176.

3.Amin, Z.A., Abdulla, M.A., Ali, H.M., Alshawsh, M.A. and Qadir, S.W. 2012. Assessment of in vitro antioxidant, antibacterial and immune activation potentials of aqueous and ethanol extracts of *Phyllanthus niruri*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 92(9):1874-1877.

4.Alara, O.R., Abdurahman, N.H., Abdul Mudalip, S.K. and Olalere, O.A. 2019. Effects of microwave-assisted extraction parameters on the recovery yield and total phenolic content of *Vernonia amygdalina* leaf extracts with different methods of drying. Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products, 14(1).

5.Arslan, D., Ozcan, M.M. and Okyay Menges, H. 2010. Evaluation of drying methods with respect to drying parameters, some nutritional and colour characteristics of peppermint (*Mentha* × *piperita L.*). Energy Conver and Manage, 51: 2769- 2775.

6.Asadi, M., Nejad Ebrahimi, S., Hatami, M. and Hadian, J. 2020. Changes in secondary metabolite contents of *Arnica chamissonis* Less. in response to different harvest time, flower developmental stages and drying methods. J. Med. Plants, 19 (76) :69-88.

7.Asekun, O.T., Grierson, D.S. and Afolayan, A.J. 2007. Effects of drying methods on the quality and quantity of the essential oil of *Mentha longifolia* L subsp. Capensis. Food Chemistry, 101(3): 995-998.

8. Azimzadeh, Z., Hassani, A. and Esmaiili, M. 2015. Effect of different drying methods on the essential oil content and composition of Anise hyssop (*Agastache foeniculum* [Pursh] Kuntze). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 31(5):789-800.

9.Azizi, M.A., Rahmati, M., Ebadi, T. and Hasanzadeh Khayyat, M. 2009. The effects of different drying methods on weight loss rate, essential oil and chamazolene contents of chamomile (*Matricaria recutita*) flowers. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 25(2):182-92.

10.Besbes, S., Blecker, C., Deroanne, C., Bahloul, N., Lognay, G. and Drira, N. E. 2004. Date seed oil: phenolic, tocopherol and sterol profiles. Journal Food Lipids, 11: 5- 251.

11.Blanco, M.C.S.G., Ming, L.C., Marques, M.O.M. and Bovi, O .A. 2002a. Drying temperature effects in peppermint essential oil content and composition. Latin-American Symposiwn on the Production of Medicinal, Aromatic and Condiments Plants. Acta Hortic, 569: 1.

12.Bostani, S. and Asefi, N. 2021. The effect of drying process on the physiochemical characteristics and quality of Basil leaf leaves. Journal of Food Technology and Nutrition, pp. 5-16.

13. Brown, G.D. 2010. The biosynthesis of artemisinin (Qinghaosu)and the phytochemistry of *Artemisia annua* L. (Qinghao). Molecules, 15(11): 7603–7698.

14.Caliskan, T., Maral, H., Prieto, L.M.V.G., Kafkas, E. and Kirici, S. 2017. The influence of different drying

methods on essential oil content and composition of peppermint (*Mentha piperita* L.) in cukurova conditions. indian journal of pharmaceutical education and research, 51(3): 518-521.

15. Chan, E.W.C., Lim, Y.Y., Wong, S.K., Lim, K.K., Tan, S.P., Lianto, F.S., Martinov, M., Oztekin, S. and Muller, J. 2007. Medicinal and aromatic crops. CRC Press, United States of America. 320 p.
16. Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M. and Chern, JC. 2002. Estmation of total flavonoid content in proplis by two complementary colorimetric methods. Food Drug Anal, 10: 178-182.
17. Chong, K. L. and Lim, Y.Y. 2012. Effects of drying on the antioxidant properties of herbal tea from selected *Vitex* species. Journal of Food Quality, 35(1): 51-59.
18. Delgado, A. M., Issaoui, and M. Chammem, N. 2019. Analysis of main and healthy phenolic compounds in foods. J. AOAC Int, 102: 1356–1364.
19. Dias, R.A., Souza, P.S. and Alsin, O. L.S. 2011. Drying and total tannins extraction of Spearmint *(Mentha* x *vilosa Hudson)*. Revista Agrarian Dourados, 4(12): 123-133.
20. Ebadi, M.T., Rahmati, M., Azizi, M., Khayyat, M.H. and Dadkhah, A. 2013. The effects of different drying methods on drying time, essential oil content and fresh sample. Journal of Medicinal Plants, 16(61): 68-78.
21. Efferth, T. 2017. From ancient herb to modern drug: *Artemisia annua* and artemisinin for cancer therapy. Seminars inCancer Biology, 46: 65–83.
22. Ebrahimzadeh, M. A., Nabavi, S. F. and Nabavi, S. M. 2009. Antioxidant activity of leaves and inflorescence of *Eryngium caucasicum* Trautv . at flowering stage. Pharmacognocy Research, 1(6): 435-439.
23. Fathi, E. and Sefidkon, F. 2012. Influence of drying and extraction methods on yield and chemical composition of the essential oil of *Eucalyptus sargentii*. Journal of Agricultural Science and Technology, 14(5): 1035-1042.
24. Ferreira, J.F., Luthria, D.L. 2010. Drying affects artemisinin, dihydroartemisinic acid, artemisinic acid, and the antioxidant capacity of *Artemisia annua* L. leaves. Journal of agricultural and food chemistry, 58(3): 1691–1698..
25. Figiel, A., Szumny, A., Gutiérrez-Ortíz, A. and Carbonell-Barrachina, Á.A. 2010. Composition of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) as affected by drying method. Journal of Food Engineering, 98(2): 240-247.
26. Gao, X., Bjok, L., Trajkovski, V. and Uggla, M. 2000. Evaluation of antioxidant activities of rosehip ethanol extracts in different test systems. Journal Agriculture and Food Chemistry, 80: 2021- 7.
27. Gao, F., Sun, Z., Kong, F. and Xiao, J. 2020. Artemisinin-derived hybrids and their anticancer activity. European journal of medicinal chemistry, 188, 112044.
28. Ganjloo, A., Bimakr, M. and Ghorbani, M. 2019. Study the effect of different drying methods and solvent type on kinetics of phenolic compounds extraction from green pea pod and evaluation of its antiradical activity. Journal of Food Reseach, 29(2): 29–45.
29. Ghabaei, T., Nazirzadeh, S. and Nourafcan, H. 2019. Effect of different drying methods on quantity and quality of active substances of Purple coneflower (*Echinacea purpureae* L.), Journal of Medicinal Herbs, "J. Med Herb" (Formerly known as Journal of Herbal Drugs or J. Herb Drug), 9(3): 115-120.
30. Ghasemi Pirbalouti, A., Mahdad, E. and Craker, L. 2013. Effects of drying methods on qualitative and quantitative properties of essential oil of two basil landraces. Journal of Food Chemistry, 141: 2440- 2449.
31. Ghasemi Pirbalouti, A., Salehia, S. and Craker, L. 2017. Effect of drying methods on qualitative and quantitative properties of essential oil from the aerial parts of coriander. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 4: 35–40.

32. Gupta, S.K., Singh, P., Bajpai, P., Ram, G., Singh, D., Gupta, M.M., Jain, D.C., Khanuja, S.P. and Kumar. 2002. morphogenetic variation for artemisinin and volatile oil in *Artemisia annua* L. Industrial crop and products, 16: 217-224.
33. Guo, Y., Fu, W., Xin, Y., Jinlei, B., Huifang, P., Liujun, F., Jie, L., Liping, L., Yujin, M. and Hongwei, J. 2018.
34. Hamrouni Sellami, I., Zohra rahali, F., Bettaieb Rebey, I., Bourgou, S., Limam, F. and Marzouk, B. 2012. Total phenolics, flavonoids, and antioxidant activity of Sage (*Salvia officinalis* L.) plants as affected by different drying methods. Food Bioprocess Technology, 5: 2978–2989.
35. Hashemi, M., Ehsani, A., Aminzare, M. and Hassanzadazar, H. 2016. Antioxidant and antifungal activities of essential oils of *Origanum vulgare* ssp. Gracile flowers and leaves from Iran. Journal of food quality and hazards control, 3(4): 134-140.
36. Hassanzadeh, K., Hemmati, K. and Mehdipour, M. 2018. Effects of different drying methods (Technical Report: Natural method and oven) on drying time and some secondary metabolites of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). Journal of Plant Production (Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources), 25 (1): 137-143.
37. Hassanpouraghdam, M. B., Hassani, A., Vojodi, L. and Farsad-Akhtar, N. 2010. Drying method affects essential oil content and composition of Basil (*Ocimum basilicum* .). Journal of Essential Oil Bearing Plants, 13(6): 759-766.
38. Hayat, K., Abbas, S., Hussain, S., Shahzad, S. A. and Tahir, M. U. 2019. Effect of microwave and conventional oven heating on phenolic constituents, fatty acids, minerals and antioxidant potential of fennel seed. Industrial Crops and Products, 140: 111610.
39. Henriques, F., Guiné, R. and João Barroca, M. 2012. Chemical properties of pumpkin dried by different methods. Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju inutricionizam, 7(1-2): 98-105.
39. Hossain, M.B., Barry-Ryan, C., Martin-Diana, A.B. and Brunton, N.P. 2010. Effect of drying method on the antioxidant capacity of six Lamiaceae herbs. Food Chemistry, 123(1): 85-91.
40. Hosseini Nejad, M., Shahidi, F. and Malekzadeh, Gh.R .2002. Evaluation of quality characteristics and microbial contamination of dried saffron samples by microwave method. Journal of Agricultural Sciences and Industries, 16(2): 51- 57.
41. Hosseini Pool, S. F. and Pourshamsian, Kh. 2014. Investigation of antioxidant properties of Caspian artemisia *Artemisia annua* L harvested from Tonekabon. the first National Congress of Biology and Natural Sciences of Iran, Tehran.
42. Ikram Nur, K.B.K. and Simonsen, H.T. 2018. A review of biotechnological artemisinin production in plants. Frontiers in Plant Science, vol. 8.
43. Itelima, J.U. 2017. Phytochemical, antimicrobial and anti-diabetic properties of *Artemisia annua* L. (Sage Wort) and *Plectranthus neochilus* Schltr. (Blue Coleus). Journal of Biotechnology & Biomaterials, 7:43.
44. Kadhim, M.J., Sosa, A.A. and Hameed, I.H. 2016. Evaluation of anti-bacterial activity and bioactive chemical analysis of *Ocimum basilicum* using Fourier transform infrared (FT-IR) and gas chromatographymass spectrometry (GC-MS) techniques. Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy, 8(6): 127-146.
45. Keyhani, A., Sefidkon, F. and Monfared, A. 2014. The effect of drying and distillation methods on essential oil content and composition of *Satureja sahendica* Bornm. Iranian Journal of medicinal and aromatic plants, 30(2): 239-249.
46. Khorramdel, S., Shabahang, J. and Asadi, G. A. 2013. Effect of drying methods on drying time, essential oil quantitative and qualitative of some of medicinal plants. Eco- phytochemical Journal of Medical Plants, 1(1): 36-48.

47.Kumar, M., Prakash, S., Radha. Kumari, N., Pundir, A., Punia, S., Saurabh, V., Choudhary, P., Changan, S., Dhumal, S., Pradhan, P. C., Alajil, O., Singh, S., Sharma, N., Ilakiya, T., Singh, S. and Mekhemar, M. 2021. Beneficial role of antioxidant secondary metabolites from medicinal plants in maintaining oral health. Antioxidants, 10(7):10-61.

48.Lotfi, M. and Mokhtari, F. 2015. Comparison of the effect of microwave drying, stove and natural drying methods on *Satureja hortensis*. International Conference on Research in Engineering, Science and Technology.

49.Mashati, P., Esmaeili, S., Dehghan Nayeri, N., Darvishi, M. and Gharehbaghian, A. 2017. The effect of methanolic extract of aerial parts of *Artemisia annua* on proliferation and apoptosis of acute lymphoblasticleukemia cell lines, Nalm-6 and Reh. Sci J Iran Blood Transfus Organ. 14 (1) :34-42.

50. Mir Mostafaei, S., Azizi, M., Bahraini, M., Arvi, H. and Orujalian, f. 2014. The effects of different drying methods on drying speed, essential oil and microbial load in Peppermint. Journal of plant production (Journal of Agricultural Sciences and Industries Resources), 20(4): 133-147.

51.Mumivand, H., Rezaei Nejad, A., taghipour, S., Sepahvand, K. and Moradi, B. 2020. Effect of different drying methods on drying time and some phytochemical characteristic of Pelargonium (*Pelargonium graveolens*). Journal Of Horticultural Science, 33(4): 655-668.

52.Munyangi, J., Cornet-Vernet, L. and Idumbo, M. 2019. *Artemisia annua* and *Artemisia afra tea* infusions vs artesunate–amodiaquine (ASAQ) in treating *Plasmodium falciparum* malaria in a large scale, double blind, randomized clinical trial. Phytomedicine, 57:49–56.

53.Omidbeigi, R. 2005. Production and processing of medicinal plants, Behnashr Pub. 347 P. (in Farsi).

54.Omidbeigi, R. 2005. Production and processing of medicinal plants. Volume II, Behnashr Pub. 438 P. (in Farsi).

55.Olatunya, A.M. and Akintayo, E.T. 2017. Evaluation of the effect of drying on the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of peels from three species of citrus group. International Food Research Journal, 24(5): 1991-1997.

56.Ozcan, M., Arslan, D. and Ünver, A. 2005. Effect of drying methods on the mineral content of basil (*Ocimum basilicum* L.). Journal of Food Engineering, 69(3): 375-379.

57.Rabeta, M.S. and Lai, S.Y. 2013. Effects of drying fermented and unfermented tea of *Ocimum tenuiflorum* Linn. On the antioxidant capacity. International Food Research Journal, 20(4): 1601-1608.

58.Rahemi karizaki, A., rassam, G., Faranarzi, K., alavian petroodi, M. and khalili aghdam, N. 2020. Investigation of the effect of harvest time and different drying methods on qualitative and quantitative traits of Savory medicinal plant (*Satureja hortensis*). Journal of Medicinal Plants Biotechnology, 6(1):70-83.

59. Safidkon, F., Abbasi, Kh. and Bakhshi Khaniki, Gh. L. 2006. Influence of drying and extraction method on yield and chemical composition of the essential oil of *Satureja hortensis*. Food Chemistry, 99(1): 19-23.

60.Segneanu, Adina-Elena., Catalin, N., Marin Ioan, O. F., Ghirlea, Catalin, V.I. Feier, Cornelia Muntean, and Ioan Grozescu. 2021. "*Artemisia annua* growing wild in romania—a metabolite profile approach to target a drug delivery system based on magnetite nanoparticles" *Plants* , 11: 22-45.

61.Shahbazi, R., Davoodi, H. and Esmaeili, S. 2013. The anticancer effects of flavonoids: involvement of P13K/ Akt signaling pathway. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 7(4): 1-10.

62.Shokri, Z., Khoshbin, M., Koohpayeh, A., Abbasi, N., Bahmani, F., Rafieian-kopaei, M. and Beyranvand, F. 2018. Thyroid diseases: pathophysiology and

new hopes in treatment with medicinal plants and natural antioxidants. nternational Journal of Green Pharmacy, 12.

63. Slinkard, K. and singleton, V. 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. American journal of enology and viticulture, (28): 49-55.

64. Sultana, B., Anwar, F. and Przybylski, R. 2007. Antioxidant activity of phenolic components present in barks of *Azadirachta indica*, *Terminalia arjuna*, *Acacia nilotica*, and *Eugenia jambolana Lam*. trees. Food Chemistry, 104(3): 1106-1114.

65. Taheri, R. 2001. Biological factors affecting corrosion of steel by sulfate-reducing bacteria. M.Sc. Thesis, Faculty of Science, University of Tehran, Tehran, Iran. (In Persian)

66. Venskutonis, P.R. 1997. Effect of drying on the volatile constituents of thyme (*Thymus vulgaris*) and sage (*Salvia officinalis*). Food Chemistry, 52(9): 219-277.

67. Wu, Y., Jiang, X., Zhang, L. and Zhou, Y. 2017. Chemical composition and biological activities of volatile oils in different periods of growth of *Artemisia annua* L. from China. J. Essent. Oil-Bear. Plants 20: 1320-1330.

68. Yazdani, D., Shahnazi, S., Jamshidi, A., Rezazadeh, S. and Mojab, F. 2006. Study on variation of essential oil quality and quantity in dry and fresh herb of Thyme and Tarragon. Journal of Medicinal Plants, 1(17): 7-15.

69. Zheng, W.R., Li, E.C., Peng, S. and Wang, X. S. 2020. Tu youyou winning the Nobel Prize: Ethical research on the value and safety of traditional Chinese medicine. Bioethics, 34(2): 166–171.

Evaluation of antioxidant activity, phenol content and flavonoid extract of *Artemisia annua* L. Under the influence of different drying methods

Mohammadi Nia Samakoush, A.[1], Moradi, H.[2]*, Esmailzadeh, M.[1], Davatgar, F.1

[1]MSc. student, Faculty of Crop Sciences, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran.

[2]Assistant Professor, Department of Horticulture, Faculty of Crop Sciences, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran.

Received: 11-9-2021; Accepted: 15-12-2021

Abstract

Drying is one of the most important post-harvest processes for medicinal plants. to study the effect of different drying methods on the antioxidant and phytochemical activity of flowering branches and leaves of *Artemisia annua*, an experiment based on a completely randomized design with four treatments and ten replications was conducted at Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University in 2020. Aerial parts of the plant were obtained from natural habitat in Shirgah region of Mazandaran (238 meters above sea level) in January. Different parts of the plant were dried using four methods: shade - sun, oven (45°C), indirect heating (28-32 ° C) and microwave (520 w). All extracts were prepared by soaking in methanol. In the first stage, antioxidant activity (DPPH), phenolic (Folin–Ciocâlteu) and flavonoid (aluminum chloride) content were evaluated for all samples. The results showed that there was a significant difference between different drying methods. The highest content of total antioxidants was observed in flowering branches (70.92%) and leaves (70.66%) for indirect heat sampels. The highest amount of total phenol (2.56 and 3.09 mg gallic acid per 100g of dry matter, respectively) belonged to the samples dried using sun-shade and indirect heat. The highest total flavonoid content was also found in samples dried under indirect heating and microwave (1.45 and 3.73 mg of quercetin per 100g of dry matter, respectively). The lowest amount of total phenol, total flavonoids and antioxidant activity were observed in oven-dried flowering and leafy branches at 45°c. In the second stage of the experiment, the best sample regarding antioxidant activity, phenol and flavonoid was chosen and evaluated using chromatography. The most composition of the extract was arteannuic acid (15.63%). In general, indirect heat drying could preserve antioxidant and bioactive compounds more effectively, while other methods may reduce or even degrade these compounds.

***Keywords*:** *Artemisia annua* L., Antioxidant, Drying, Extraction, flavonoid contents.

*Corresponding author: h.moradi@sanru.ac.ir