

بررسی اثر روش خشک کردن و نوع حلال بر خصوصیات آنتی اکسیدانی و ترکیب شیمیایی عصاره‌ی میوه انجیر معابد (*Ficus religiosa*)

محمد امین مهرنیا^{۱*}، نسیم دهقان^۲، مختار حیدری^۳

۱- استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی

خوزستان، ملاثانی، ایران

۳- دانشیار، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۷/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۰/۱۴)

چکیده

با توجه به اثرات مضر آنتی اکسیدان‌های سنتزی استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی که عمدتاً از منابع گیاهی استخراج می‌شوند، علاوه بر ایجاد پایداری در محصولات مورد استفاده موجب حذف اثرات نامطلوب رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی می‌گردد. در این تحقیق تاثیر روش های مختلف خشک کردن و نوع حلال بر میزان استخراج ترکیبات شیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه انجیر معابد مورد بررسی قرار گرفت. در ابتدا میوه‌ها به دو روش آون گذاری (دمای ۴۰ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد) و مایکروویو (توان ۴۰۰ و ۷۰۰ وات) خشک شده و عصاره‌گیری با استفاده از دو حلال متانول و اتانول انجام گرفت. جهت بررسی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصاره‌های استخراج شده به ترتیب از دو روش فولین سیوکالتیو و کلرید آلومینیوم استفاده شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراج شده با استفاده از رادیکال‌های DPPH و ABTS مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج دو آزمون DPPH و ABTS نشان داد که کمترین مقدار IC₅₀ در هر دو آزمون مربوط به روش خشک کردن با آون (دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد) و استخراج با حلال متانول (غلظت ۱۱/۱۵۰ ppm در آزمون DPPH و غلظت ۹/۲۲۲ ppm در آزمون ABTS) و بیشترین مقدار IC₅₀ مربوط به نمونه خشک شده توسط مایکروویو با توان ۴۰۰ وات و استخراج عصاره اتانولی (غلظت ۱۴۵/۴۵۵ ppm در آزمون DPPH غلظت ۱/۵۰۰ ppm در آزمون ABTS) بود. همچنین بیشترین مقدار ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی مربوط به عصاره‌ی متانولی و خشک شده توسط آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد بود. این مقادیر برای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی به ترتیب ۱۰۳۲ mg/g معادل گالیک اسید بر گرم عصاره و ۳۱/۶۳ کوئرستین بر گرم عصاره بود.

کلید واژگان: آنتی‌اکسیدان طبیعی، انجیر معابد، ترکیبات فنولی، ترکیبات فلاونوئیدی

۱- مقدمه

است [۶] این درخت به عنوان انجیر هندی نیز شناخته شده؛ و یک درخت همیشه سبز است از نواحی مربوط به جنگل‌های هیمالیا به سمت جنوب هند پراکنده شده است [۷]، (شکل ۱). گیاهان با تولید متابولیت‌های ثانویه که گروه بزرگی از ترکیبات آلی هستند، علاوه بر این که گیاه را در مقابل میکروارگانیسم حفظ می‌کند می‌توانند توسط انسان نیز به عنوان دارو مصرف می‌شود [۸]. صدها گیاه دارویی برای درمان بیماری‌های مختلف از زمان‌های قدیم استفاده شده‌اند. انجیر معابد دارای جایگاه مهمی در میان منابع گیاهی بوده و تقریباً هر بخش از این درخت یعنی برگ، پوست، دانه‌ها و میوه‌ها در تهیه داروهای گیاهی استفاده می‌شود. خواص درمانی این درخت در درمان طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها می‌تواند به دلیل غنی بودن آن در ترکیبات زیست فعال یعنی فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، تانن‌ها، ساپونین‌ها، فنول‌ها و غیره مربوط شود. خواص آنتی بیوتیکی، ضد دیابتی، بهبود زخم، ضد التهابی و ضد درد آن را گیاهی محبوب ساخته است [۹]. برگ‌های این درخت حاوی ترکیبات شیمیایی مانند فلاونوئیدها، تریپنوئیدها، تانن و غیره است که در درمان بیماری‌های مثل سسکسه، استفراغ، سوزاک و غیره موثر هستند [۶]. میوه و دانه‌های این درخت، ملین و خنک است. پودر میوه‌های خشک شده آن در آب جهت درمان آسم به کار می‌رود [۱۰].

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیبات شیمیایی هستند که در فرآیند اکسایش به عنوان یک عامل بازدارنده‌ی زنجیره‌ی تشکیل رادیکال‌های آزاد و یا به عنوان گیرنده‌ی اکسند‌های محیطی مانند اکسیژن وارد عمل شده و فرآیند اکسیداسیون را کند یا متوقف می‌کنند [۱]. آنتی-اکسیدان‌ها عمدتاً به دو دسته‌ی سنتزی و طبیعی تقسیم می‌شوند [۲]. آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی بیشترین کاربرد را در صنعت غذا دارند. ولی با بررسی‌های انجام شده و اثبات اثرات نامطلوب این آنتی‌اکسیدان‌ها بر سلامت انسان استفاده از آن در بسیاری از کشورها محدود شده است. به همین دلیل امروزه استفاده از منابع طبیعی، که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند مورد توجه پژوهشگران واقع شده است [۳]. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی مانند: تانن‌ها، فنول‌ها، فلاونوئیدها، اسیدآسکوربیک، کارتنوئیدها و کوئرستین در گیاهان وجود دارند که در قسمت‌های مختلف گیاه از جمله، برگ، پوست، ساقه، ریشه، میوه و ... پراکنده شده اند [۴].

انجیر معابد با نام علمی *Ficus religiosa* از خانواده Moraceae [۵] بوده که نام علمی این درخت خود از دو کلمه‌ی *Ficus* به معنای انجیر و *Religiosa* به معنای مذهب مشتق شده و نشان دهنده‌ی اهمیت آن در ادیان هندو و بودایی



Fig 1 Ficus religiosa Tree and fruit

لیپیدها شود باعث جلوگیری و یا کند شدن نکروز و همچنین بهبود عروق نیز می‌شود. نتایج میلندا و همکاران [۱۲] نشان داد که عصاره متانولی برگ انجیر معابد حاوی مقادیر بالایی از فنول کل و فلاونوئید است. پژوهش چوداری و همکاران [۱۳] نشان

چارد و همکاران [۱۱] با بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و بهبود زخم عصاره اتانولی برگ درخت انجیر معابد به این نتیجه رسیدند که عصاره مورد نظر با فعالیت آنتی‌اکسیدانی علاوه بر مهار رادیکال‌های آزادی که ممکن است موجب پرواکسیداسیون

صورت خالص استفاده شد.

۲-۲-۱- استخراج عصاره با روش خیساندن

جهت انجام این آزمایش از روش رحمن و همکاران [۱۵] استفاده شد. پودر میوه‌های خشک شده با نسبت ۱ به ۴ (وزنی-حجمی) با حلال مورد نظر (اتانول و متانول) مخلوط و به وسیله دستگاه شیکر (مدل KS260B- IKA-WERKE) به مدت ۲۴ ساعت هم‌زده شد. مخلوط حاصل از کاغذ صافی (واتمن شماره ۴۲) عبور داده شد و سپس جهت جداسازی حلال آلی به دستگاه تبخیرکننده‌ی چرخان (مدل 13882R Type A- OSK) منتقل و در نهایت برای خشک کردن کامل به آون (دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد) انتقال یافت.

۲-۲-۲- اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی میوه انجیر معابد

ترکیبات شیمیایی میوه انجیر معابد (درصد پروتئین، خاکستر، چربی، رطوبت) با استفاده از روش‌های استاندارد AOAC [۱۶] اندازه‌گیری شد.

۲-۲-۳- اندازه‌گیری میزان کربوهیدرات کل

کربوهیدرات کل با استفاده از رابطه ۱ محاسبه گردید [۱۷].
(درصد چربی + درصد پروتئین + درصد خاکستر + درصد رطوبت) - ۱۰۰ = درصد کربوهیدرات کل (۱)

۲-۲-۴- تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش

کاتیون زدایی ABTS^۴

این آزمون با روش رابردز و همکاران [۱۸] با اندکی تغییرات انجام گرفت. برای تهیه کاتیون ABTS محلول استوک ۷ میلی-مولار ABTS و پتاسیم پرسولفات ۴۵/۲ میلی-مولار تهیه و مخلوط حاصل به مدت ۱۶ ساعت در دمای اتاق و محل تاریک نگهداری شد. ۹/۳ میلی‌لیتر از محلول حاصل و ۱/۰ از عصاره رقیق شده (با غلظت ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ ppm) مخلوط و پس از گذشت ۵ دقیقه در طول موج ۷۳۴ نانومتر خوانده شد. در مجاورت آنتی‌اکسیدان موجود در نمونه‌ها رادیکال ABTS⁰⁺ کاهش یافته و به ABTS تبدیل می‌شود که طی این واکنش

داد که عصاره‌های استخراجی اتانولی و آبی پوست درخت انجیر معابد عصاره آبی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری است. نتایج پژوهش سلطانا و همکاران [۱۴] بر روی میوه خشک شده انجیر معابد نشان داد که میوه‌ی این درخت نیز دارای خاصیت آنتی-اکسیدانی است. با توجه به پژوهش‌های انجام گرفته بر روی قسمت‌های مختلف این درخت و خواص کم نظیر آن، پژوهش حاضر به منظور بررسی اثر روش‌های مختلف خشک کردن و روش‌های مختلف عصاره‌گیری میوه درخت انجیر معابد در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی انجام گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد شیمیایی

ABTS^۲، DPPH^۱ و کوترسیتین از شرکت سیگما آلمان، گالیک اسید و آلومینیوم کلراید از شرکت Uni_chem، کربنات سدیم و نیتريت سدیم از شرکت سامچون کره، معرف فولین سیوکالتو، BHT^۳، اسید سولفوریک، سود، کاتالیزور(اکسیدسلنیوم، سولفات مس) و اسید بوریک از شرکت مرک آلمان، اتانول، متانول و n_ هگزان از شرکت‌های معتبر ایرانی.

۲-۲- روش‌ها

این پژوهش در زمستان سال ۱۳۹۷ در آزمایشگاه شیمی مواد دانشکده‌ی علوم دام و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام گرفت. میوه انجیر مورد مطالعه در این پژوهش از درختان انجیر معابد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، در مهرماه همان سال جمع‌آوری شد. خشک کردن میوه‌ها با دو روش استفاده از آون مدل Parsian Teb (دمای ۴۰ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد) و مایکروویو مدل NN-ST75W-Panasonic (توان ۴۰۰ و ۷۰۰ وات) انجام گرفت و برای عصاره‌گیری از حلال‌های اتانول و متانول به

- 1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl
- 2,2'-Azino-Bis(3-ethylbenzothiazoline-6-Sulphonic Acid)
- Butylated hydroxytoluene

4. 2,2'-Azino-Bis(3-ethylbenzothiazoline-6-Sulphonic Acid)

UV اندازه گیری شد. و در نهایت با استفاده از منحنی استاندارد، فعالیت نمونه بر حسب معادل میلی گرم گالیک اسید در واحد وزن عصاره بیان شد [۲۰].

۲-۲-۷- آزمون ترکیبات فلاونوئیدی

محتوای فلاوون کل توسط کاربرد رنگ سنجی آلومینیوم تری-کلرید به روش حسین و رحمان [۲۱] و زیشن و همکاران [۲۲] با مقدار اندکی اصلاح اندازه گیری شد. ۱ میلی لیتر از محلول عصاره نمونه‌ها با غلظت ۰/۱ میلی گرم بر میلی لیتر با ۱/۲۵ میلی-لیتر آب مقطر و ۷۵ میکرولیتر نیتريت سدیم ۵٪ مخلوط، و بعد از مدت زمان ۶ دقیقه ۱۵۰ میکرولیتر آلومینیوم تری کلرید ۱۰٪ به آن اضافه شد، پس از گذشت ۵ دقیقه ۱ میلی لیتر سود ۱ مولار به آن افزوده (محلول صورتی رنگ) و بلافاصله جذب نمونه در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه گیری شد. برای رسم منحنی استاندارد از محلول کوئرستین با غلظت ۰/۰۲۱ تا ۰/۱۲۶ میلی-گرم بر میلی لیتر استفاده گردید. محتوای فلاوون کل بر حسب میلی گرم کوئرستین بر اکی والان بیان شد.

۲-۳- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها در سه تکرار و با استفاده از نرم افزار SPSS-20، در قالب آزمون دانکن و سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت و برای ترسیم نمودارها از نرم افزار Excel 2016 استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

مقدار ترکیبات شیمیایی میوه انجیر معابد (در ۱۰۰ گرم ماده خشک) در جدول ۱ گزارش شده است. نتایج ورما و گوینا [۲۳] مقدار کربوهیدرات ۶۸/۳۳، خاکستر ۴/۴۴، رطوبت ۱۸/۸ و چربی را ۰/۱۴۳ در میوه خشک شده انجیر معابد نشان داد که با نتایج پژوهش حاضر متفاوت بود.

شدت رنگ کاهش می‌یابد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی از رابطه ۲ بدست آمد.

$$2) \text{ Radical scavenging activity} \% = A_0 - A_1 / A_0 \times 100$$

A_0 : جذب شاهد

A_1 : جذب نمونه

۲-۲-۵- سنجش قدرت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از مهار

رادیکال آزاد DPPH⁵

به منظور ارزیابی پتانسیل آنتی‌اکسیدانی، به روش مهار رادیکال آزاد DPPH از روش برنولدویلیامز و همکاران [۱۹] با اندکی تغییرات استفاده شد. برای انجام این آزمایش محلول ۰/۱ میلی-مولار از DPPH در متانول تهیه شد. ۳ میلی لیتر از محلول حاصل به ۱ میلی لیتر از عصاره رقیق اضافه گردید. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ ثانیه به خوبی تکان داده شد و پس از ۱۵ تا ۳۰ دقیقه قرار دادن در تاریکی جذب مخلوط با دستگاه اسپکترومتر UV در طول موج ۵۱۵ نانومتر خوانده شد. درصد به دام اندازی رادیکال آزاد با استفاده از رابطه ۱ محاسبه و در پایان نتایج آزمون بر پایه IC_{50}^6 بیان شد.

۲-۲-۶- اندازه گیری ترکیبات فنولی تام با استفاده از

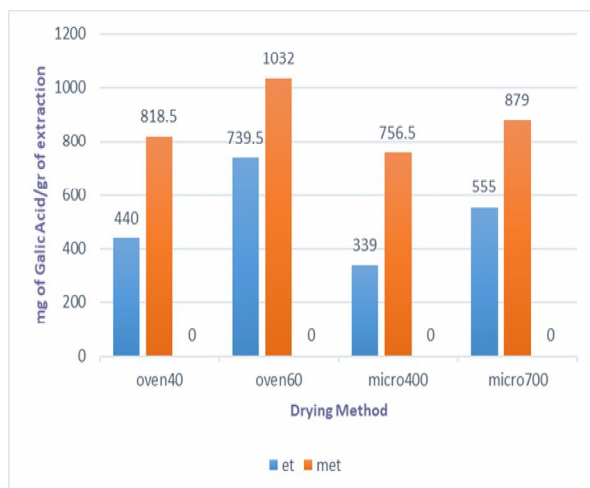
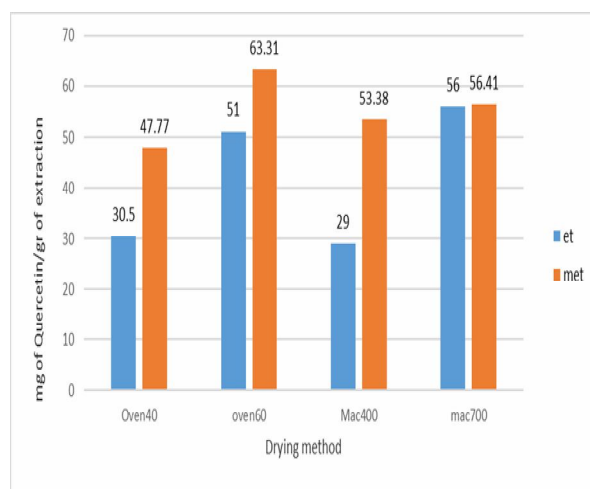
روش Folin- Ciocalteu

عموماً برای اندازه گیری ترکیبات فنولی از روش Folin-Ciocalteu استفاده می‌شود. این روش به عنوان یک روش مکمل برای بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی انجام گرفت. بر این اساس ۱ میلی لیتر عصاره با غلظت ۰/۱ میلی گرم بر میلی لیتر با ۲/۵ میلی لیتر معرف فولین - سیکالتو (به نسبت ۱۰ : ۱ با آب مقطر رقیق شده) مخلوط شد و پس از مدت ۲/۵ دقیقه در دمای اتاق ۲ میلی لیتر محلول کربنات سدیم ۷/۵ درصد به آن اضافه گردید. بعد از یک ساعت تاریک‌خانه گذاری در دمای اتاق، میزان جذب نوری در طول موج ۷۲۵ نانومتر توسط اسپکترومتر

5. 1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl
6. Half Maximal Inhibitory Concentration

Table 1 Chemical components of *Ficus religiosa*

Fat (%)	Ash (%)	Protein (%)	Moisture (%)	Total carbohydrates	Sample
16.6 ± 0.06	9.5 ± 0.5	11.42 ± 0.37	3.53 ± 0.22	48.89	Ficus religiosa

**Fig 2** Effect of different drying and extraction methods on total phenolic compounds**Fig 3** Effect of different drying and extraction methods on the amount of flavonoid compounds

۲-۳- آزمون DPPH

یکی از پرکاربردترین روش‌های بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی استفاده از رادیکال آزاد DPPH است. شکل ۴ و ۵ به ترتیب نتایج حاصل از آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH را در غلظت‌های مختلف عصاره‌های اتانولی و متانولی تهیه شده از میوه‌های انجیر معابد خشک (با چهار روش خشک شدن، آن با

۳-۱- درصد ترکیبات فنل کل و فلاونوئید در

میوه انجیر معابد

ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی نقش مهمی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پرواکسیدانی عصاره‌های گیاهی دارند [۲۴]. شکل ۲ تاثیر روش‌های مختلف خشک کردن و عصاره‌گیری را بر مقدار فنول کل نشان می‌دهد. در این شکل بیشترین مقدار فنول کل مربوط به عصاره‌ی نمونه‌ی خشک شده توسط آن دمای ۶۰ و استخراج توسط حلال متانول 1032 mg/gEx (معادل گالیک اسید بر گرم عصاره) بود. در آزمون ترکیبات فنولی بین عصاره‌های متانولی نمونه‌های خشک شده در آن ۴۰ درجه سانتی‌گراد و مایکروویو توان ۷۰۰ وات تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد وجود نداشت و کمترین میزان فنول کل مربوط به عصاره‌ی اتانولی نمونه‌ی خشک توسط مایکروویو توان ۴۰۰ وات بود. شکل ۳ تاثیر روش‌های مختلف خشک کردن و عصاره‌گیری بر میزان ترکیبات فلاونوئید را نشان می‌دهد بیشترین مقدار فلاونوئید $63/31 \text{ mg/gEx}$ (معادل کوئرستین بر گرم عصاره) مربوط به عصاره‌ی متانولی نمونه‌ی خشک شده توسط آن دمای ۶۰ بود. در آزمون مقدار فلاونوئید بین عصاره‌های اتانولی نمونه‌های خشک شده توسط مایکروویو توان ۴۰۰ وات با آن ۴۰ درجه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. نتایج ورما و همکاران [۲۳] مقدار ترکیبات فنولی کل میوه انجیر معابد خشک در متانول را بیشتر از اتانول، به ترتیب $10/35$ و $7/33$ میکروگرم گالیک اسید بر میلی گرم نمونه و میزان فلاونوئید را در عصاره متانولی و اتانولی به ترتیب $43/66$ و $42/66$ میلی گرم کاتچین بر میلی گرم نمونه گزارش کردند. تارینی و همکاران [۷] با انجام آزمون‌ها بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی میوه انجیر معابد گونه‌ی *Ficus benghalensis* مقدار فنول و فلاونوئید کل را به ترتیب $421/54 \mu\text{g/mg}$ و $150/54 \mu\text{g/mg}$ نشان داد. گالاتی و همکاران [۲۵] میزان ترکیبات فنول کل در میوه انجیر هندی را $746 \mu\text{g/ml}$ بیان کردند.

در هر دو مورد عصاره‌های اتانولی و متانولی بالاترین درصد مهارکنندگی مربوط به نمونه‌ی خشک شده توسط آن ۶۰ درجه سانتی‌گراد و پس از آن نمونه‌ی خشک شده توسط مایکروویو با توان ۷۰۰ وات بود که می‌توان دلیل آن را به زمان کمتر برای خشک شدن نمونه‌ها (توان ۷۰۰، ۱۵ دقیقه، توان ۴۰۰، ۳۰ دقیقه، آن ۶۰، ۲۴ ساعت و آن ۴۰، ۴۸ ساعت) و در نهایت تخریب کمتر ترکیبات موثره نسبت داد.

شکل ۶ مقایسه مقدار IC_{50} (غلظتی که در آن ۵۰ درصد رادیکال-های آزاد DPPH مهار می‌شود) عصاره‌های (متانولی و اتانولی) استخراج شده از میوه‌های انجیر معابد خشک شده و BHT به عنوان استاندارد را نشان می‌دهد. بین تمامی نمونه‌ها در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار وجود داشت. در این آزمون کمترین IC_{50} در غلظت ۱۵۰/۱۱ ppm مربوط به عصاره متانولی نمونه‌ی خشک شده توسط آن ۶۰ درجه سانتی‌گراد و پس از آن نمونه حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT با IC_{50} مساوی ۱۷۰/۷ در مرتبه دوم قرار داشت. بیشترین IC_{50} با مقدار ppm ۴۵۵/۱۴۵ مربوط به عصاره خشک شده توسط مایکروویو ۴۰۰ وات و استخراج اتانولی بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ممکن است به دلیل وجود ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی موجود در عصاره باشد. همان‌گونه که در آزمون ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی نیز مشاهده می‌شود بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به نمونه ای است که بیشترین ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی را دارد. به طور کلی بین دو روش استخراج عصاره، عصاره‌های متانولی بهترین عملکرد را در مهار رادیکال آزاد داشتند. در پژوهشی براجمی و همکاران [۲۶] از چهار حلال هگزان، کلروفرم، اتیل استات و متانول جهت استخراج عصاره برگ زیتون استفاده کردند نتایج این پژوهش حاکی از آن بود که حلال متانول به‌طور معناداری بازده فلاونوئید بالاتری نسبت به سه حلال دیگر دارد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. سلطانا و همکاران [۱۴] روش‌های مختلف عصاره‌گیری (عصاره‌گیری با اتانول و متانول خالص و اتانول و متانول ۸۰ درصد) را بر روی میوه انجیر معابد با انجام آزمون DPPH محتوی فنولی و فلاونوئیدی کل بررسی کردند. نتایج این پژوهش نشان داد که بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصاره استخراج شده با متانول ۸۰ درصد بود. یافته‌های تاریخی و همکاران [۷] بر روی

دماهای ۴۰ و ۶۰، مایکروویو با توان ۴۰۰ و ۷۰۰ وات) به همراه نمونه‌ی استاندارد BHT را نشان می‌دهد. همان‌گونه که در نمودارها نیز مشاهده می‌شود با افزایش غلظت نمونه‌ها میزان درصد مهار رادیکال آزاد افزایش یافته است به عبارتی افزایش غلظت باعث افزایش تجمع ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در نمونه‌ها و نهایتاً افزایش مهار رادیکال آزاد شده است.

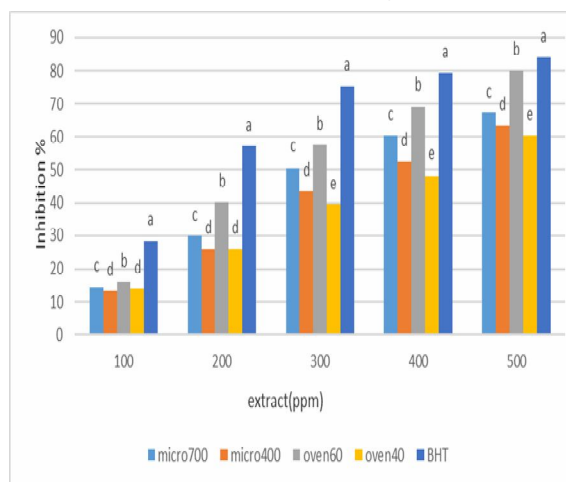


Fig 4 Diagram of DPPH radical scavenging activity by different concentrations of ethanolic extract of *Ficus religiosa*. Different letters indicate significant differences between groups ($p < 0.05$).

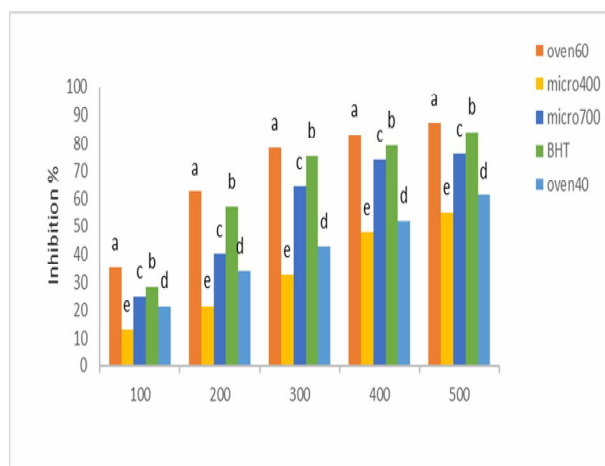


Fig 5 Diagram of DPPH radical scavenging activity by different concentrations of methanolic extract of *Ficus religiosa*. Different letters indicate significant differences between groups ($p < 0.05$).

آزمون نیز همانند آزمون DPPH کمترین مقدار IC_{50} مربوط نمونه‌ی خشک شده توسط آون ۶۰ درجه سانتی‌گراد و عصاره استخراجی متانولی و بود. بیشترین مقدار IC_{50} مربوط نمونه‌ی خشک شده توسط مایکروویو توان ۴۰۰ وات و عصاره د $\mu\text{g/ml}$ ۱۳/۶۹ عصاره در مقابل نمونه‌ی کنترل اسیدآسکوربیک با مقدار $\mu\text{g/ml}$ ۴/۲۱ نشان داد.

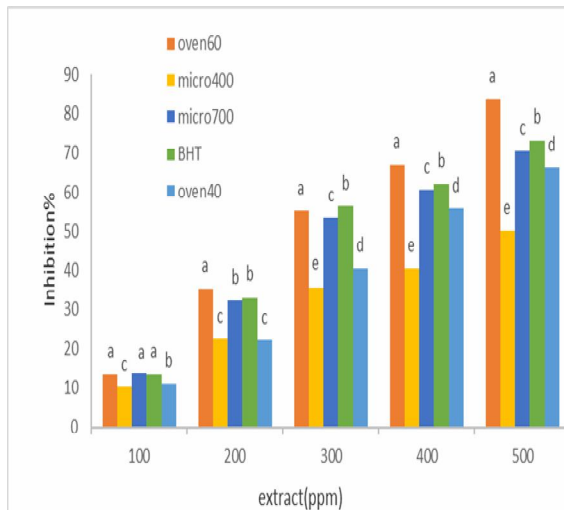


Fig 7 Percentage diagram of ABTS radical scavenging activity by different concentrations of methanolic extract of *Ficus religiosa*. Different letters indicate significant differences between groups ($p < 0.05$).

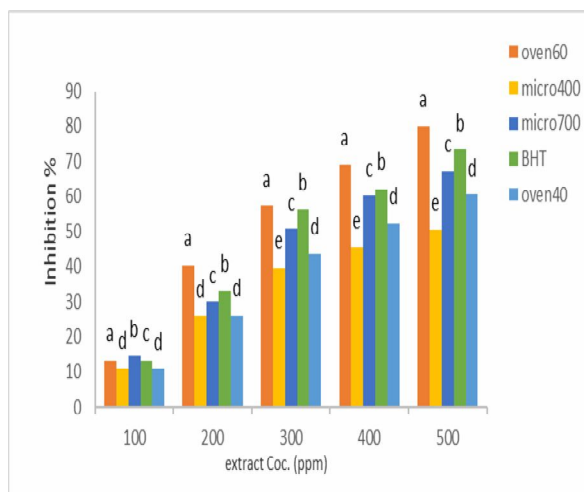


Fig 8 Percentage activity chart of ABTS radical inhibition by different concentrations of ethanolic extract of *Ficus religiosa*. Different letters indicate significant differences between groups ($p < 0.05$).

عصاره اتانولی میوه انجیر معابد گونه‌ی *Ficus benghalensis* IC_{50} را در آزمون DPPH، $\mu\text{g/mL}$ ۳۲/۲۰ عصاره در مقابل نمونه اسیدآسکوربیک با IC_{50} مساوی $\mu\text{g/mL}$ ۱۱/۹۸ بود. بگیال کاشمی و همکاران [۲۷] مقدار IC_{50} را برای عصاره اتانولی میوه انجیر *Ficus racemosa* L در برابر برگ درخت انجیر $\mu\text{g/mL}$ ۱/۴۲ و در گزارش کردند.

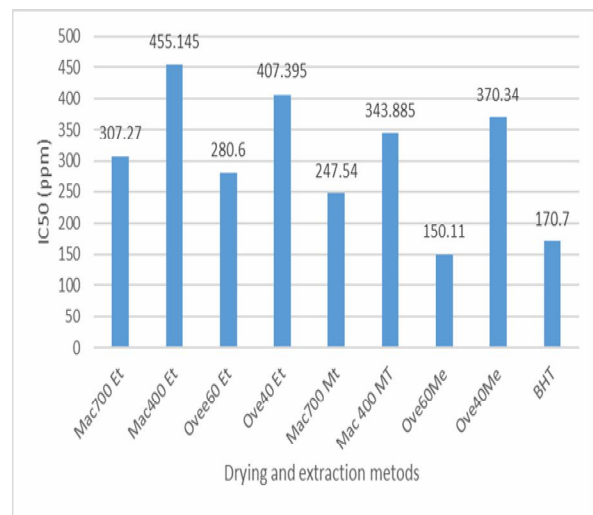


Fig 6 Effect of different drying and extraction methods on IC_{50} -DPPH

۳-۳-۳ آزمون ABTS

خشک کردن با دمای بالا باعث سرعت تخریب آنزیم‌ها در زمان کمتر و همچنین کاهش ضایعات ترکیبات فرار، تخریب حرارتی و پلیمریزاسیون می‌شود [۲۸] که آزمون ABTS انجام رفته نیز گویای این مطلب می‌باشد. شکل ۷ و ۸ به ترتیب نمودار درصد مهار رادیکال آزاد ABTS توسط غلظت‌های تهیه شده از دو عصاره‌ی متانولی و اتانولی است. در این آزمون همان‌گونه که مشاهده می‌شود بین روش‌های مختلف خشک کردن در هر دو نوع عصاره‌گیری در مرتبه اول آون ۶۰ درجه سانتی‌گراد و پس از آن مایکروویو با توان ۷۰۰ بالاترین قدرت مهار رادیکال آزاد را داشتند. شکل ۹ مقایسه مقدار IC_{50} عصاره‌ها در آزمون ABTS را نشان می‌دهد. نتایج تحلیل و آنالیز آزمون ABTS بین نمونه‌ی کنترل BHT و نمونه‌ی عصاره اتانولی خشک شده توسط آون ۶۰ درجه سانتی‌گراد تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. در این

۵- تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به جهت تامین مالی پژوهش حاضر صمیمانه تقدیر و تشکر می نمایند.

۶- منابع

- [1] Aydeniz, B., & Yilmaz, E. (2012). Enrichment of frying oils with plant phenolic extracts to extend the usage life. *European journal of lipid science and technology*, 114(8), 933-941.
- [2] Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(10), 4113-4117.
- [3] Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., & Milos, M. (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food chemistry*, 85(4), 633-640.
- [4] Chanwitheesuk, A., Teerawutgulrag, A., & Rakariyatham, N. (2005). Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. *Food chemistry*, 92(3), 491-497.
- [5] Pandit, R., Phadke, A., & Jagtap, A. (2010). Antidiabetic effect of *Ficus religiosa* extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology*, 128(2), 462-466.
- [6] Bhalerao, S. A., & Sharma, A. S. (2014). Ethenomedicinal, phytochemical and pharmacological profile of *Ficus religiosa* Roxb. *Int J Curr Microbiol App Sci*, 3(11), 528-538.
- [7] Tharini, P., Sivaraj, C., Arumugam, P., & Manimaran, A. (2018). Antioxidant activities and GCMS analysis fruits of *Ficus benghalensis* L. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(4), 518-523.
- [8] Wink, M. (2010). Annual plant reviews, functions and biotechnology of plant secondary metabolites (Vol. 39). John Wiley & Sons.

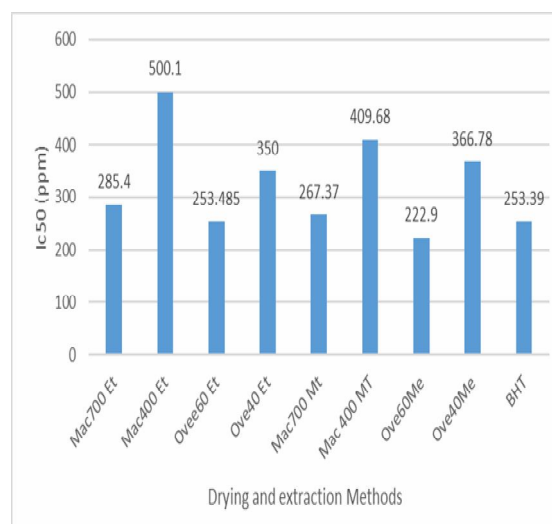


Fig 9 Effect of different drying and extraction methods on IC₅₀-ABTS

نتایج بررسی آتارا و موهینی [۲۹] بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های تهیه شده از پوست، میوه و برگ درخت *Ficus microcarpa* با انجام آزمون‌های DPPH و ABTS و بی‌رنگ کردن بتا کاروتن نشان داد که عصاره متانولی تهیه شده از پوست این گونه از درخت دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری از میوه و برگ است. تارینی و همکاران [۶] IC₅₀ را برای آزمون ABTS، برای عصاره اتانولی میوه انجیر معابد گونه‌ی *Ficus benghalensis* ۱۳/۶۹ µg/ml عصاره در مقابل اسیدآسکوربیک ۴/۲۱ µg/mL نشان دادند.

۴- نتیجه‌گیری

با توجه به پژوهش حاضر و پژوهش‌های پیشین در رابطه با وجود ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و آنتی‌اکسیدانی قسمت‌های مختلف این درخت می‌توان میوه این درخت را به عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدان طبیعی در صنایع غذایی و دارویی دانست. با این حال فعالیت آنتی‌اکسیدانی این میوه در بررسی‌های آزمایشگاهی به اثبات رسیده است که مکانیسم عملکردی آن نیاز به تحقیقات با دقت و تعمق بیشتر دارد.

- Analysis: Changes in Official Methods of Analysis Made at the Annual Meeting. Supplement (Vol. 15). Association of Official Analytical Chemists.
- [17] Taskin, M. & Erdal, S. 2011. Utilization of waste loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) kernel extract for a new cheap substrate for fungal fermentations. *Rom Biotechnol Lett*, 1(16), 5872-5880.
- [18] Robards, K., Prenzler, P.D., Tucker, G., Swatsitang, P. and Glover, W., 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food chemistry*, 66(4), 401-436.
- [19] Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C.L.W.T., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- [20] Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- [21] Hossain, M. A., & Rahman, S. M. (2011). Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of tropical fruit pineapple. *Food Research International*, 44(3), 672-676.
- [22] Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry*, 64(4), 555-559.
- [23] Verma, I., & Gupta, R. K. (2015). Estimation of phytochemical, nutritional, antioxidant and antibacterial activity of dried fruit of sacred figs (*Ficus religiosa*) and formulation of value added product (Hard Candy). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 4(3), 257.
- [24] Prochazkova, D., Bousova, I., & Wilhelmova, N. (2011). Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*, 82(4), 513-523.
- [25] Galati, E. M., Mondello, M. R., Giuffrida, D., Dugo, G., Miceli, N., Pergolizzi, S., & Taviano, M. F. (2003). Chemical
- [9] Kumar, A., Sandeep, D., Tomer, V., Gat, Y., & Kumar, V. (2018). *Ficus religiosa*: A wholesome medicinal tree. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(4), 32-37.
- [10] Kaur, A., Rana, A. C., Tiwari, V., Sharma, R., & Kumar, S. (2011). Review on ethanomedicinal and pharmacological properties of *Ficus religiosa*. *Journal of applied pharmaceutical science*, 1(08), 06-11.
- [11] Charde, R. M., Dhongade, H. J., Charde, M. S., & Kasture, A. V. (2010). Evaluation of antioxidant, wound healing and anti-inflammatory activity of ethanolic extract of leaves of *Ficus religiosa*. *Int J Pharm Sci Res*, 19(5), 73-82.
- [12] Melinda, K. P., Rathinam, X., Marimuthu, K., Diwakar, A., Ramanathan, S., Kathiresan, S., & Subramaniam, S. (2010). A comparative study on the antioxidant activity of methanolic leaf extracts of *Ficus religiosa* L, *Chromolaena odorata* (L.) King & Robinson, *Cynodon dactylon* (L.) Pers. and *Tridax procumbens* L. *Asian Pacific Journal Of Tropical Medicine*, 3(5), 348-350.
- [13] Choudhari, A. S., Suryavanshi, S. A., Ingle, H., & Kaul-Ghanekar, R. (2011). Evaluating the antioxidant potential of aqueous and alcoholic extracts of *Ficus religiosa* using ORAC assay and assessing their cytotoxic activity in cervical cancer cell lines. *Biotechnol Bioinfo Bioeng*, 1(4), 443-450.
- [14] Sultana, B., Anwar, F., & Ashraf, M. (2009). Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*, 14(6), 2167-2180.
- [15] Rehman, Z., Habib, F., Shah, W. H. (2004). Utilization of potato peels extract as a natural antioxidant in soybean oil. *Food Chem*, 1(85), 215-220.
- [16] Association of Official Analytical Chemists. (1990). *Official Methods of*

- phytochemical analysis, antioxidant and antibacterial activity of *Ficus racemosa* L. leaf and fruit extracts against wound pathogens. *Vegetos*, 32(1), 58-63.
- [28] Keinanen, M., & Julkunen-Tiitto, R. (1996). Effect of sample preparation method on birch (*Betula pendula* Roth) leaf phenolics. *Journal of agricultural and Food Chemistry*, 44(9), 2724-2727.
- [29] Uttara, J., & Mohini, U. (2008). Evaluation of antioxidant activity of aqueous extract bark of *Ficus glomerata*. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 1(4), 537-538.
- characterization and biological effects of Sicilian *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. fruit juice: antioxidant and antiulcerogenic activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(17), 4903-4908.
- [26] Brahmi, F., Mechri, B., Dabbou, S., Dhibi, M. & Hammami, M. 2012. The effect of phenolics compounds with different polarities as antioxidants from olive leaves depending on seasonal variations. *Industrial crops and products*, (38), 146-152.
- [27] Bagyalakshmi, B., Nivedhitha, P., & Balamurugan, A. (2019). Studies on

Effect of drying method and solvent type on antioxidant properties and chemical composition of sacred fig (*Ficus religiosa*)

Mehrnia, M. A.^{1*}, Dehghan. N², Heidary, M.³

1. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
2. Graduated M.Sc. Department of Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University OF Khuzestan, Mollasani, Iran
3. Associate Professor, Department of Associated professor, Department of Horticulture, Faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

(Received: 2019/10/18 Accepted:2020/01/04)

Due to detrimental effects of synthetic antioxidants, application of natural antioxidants which mainly are extracted from botanical sources, in addition to stabilizing food products will reduce undesirable effects of free radicals and synthetic antioxidants. In this research effect of drying methods and solvent type were evaluated on chemical composition and antioxidant activity of sacred fig. at first fruits were dried in oven (40 and 60 °C) and microwave (400 and 700 W) and two solvents of methanol and ethanol were used for extraction. Total phenol and flavonoid content were measured with folin ciocalteu and aluminum chloride methods respectively. Antioxidant activity were measured using DPPH and ABTS methods. Results showed that the lowest IC₅₀ value was for 60 °C oven and methanol solvent (150.11 ppm for DPPH and 222.9 ppm for ABTS) and the highest value was observed in 400 W microwave and ethanol solvent (455.145 ppm in DPPH and 500.1 ppm for ABTS). The highest total phenol and flavonoid content was seen in extract of 60 °C and methanolic solvent (1032 mg GAE/g extract and 63.31 mg QE/g extract).

Keywords: Natural antioxidants, Sacred fig, Total phenolics, Flavonoid content

* Corresponding Author E-Mail Address: Mehrnia@asnrkh.ac.ir