دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد بیست و پنجم، شماره یکم، ۱۳۹۷
http://jopp.gau.ac.ir

گزارش کوتاه علمی

تأثیر روش‌های مختلف خشک کردن (طبیعی و آون) بر زمان خشک کردن و برخی متابولیت‌های ثانویه گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.)

***کیانوش حسن‌زاده[1]، خدایار همتی[2] و مژده مهدی‌پور[1]**

[1]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گیاهان دارویی، گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،
[2]دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۳/۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۱۶

چکیده

سابقه و هدف: بادرنجبویه گیاهی دارویی است که اسانس آن کاربرد فراوانی در صنایع دارویی، غذایی و بهداشتی داشته و همچنین دارای ترکیب اسید رزمارینیک می‌باشد، که امروزه بر علیه ویروس ایدز و درمان این بیماری مورد استفاده قرار می‌گیرد. خشک کردن یکی از قدیمی‌ترین روش‌های نگهداری محصولات کشاورزی بعد از برداشت می‌باشد، این فرآیند شامل حذف رطوبت با استفاده از عمل تبخیر تا حد رسیدن به یک آستانه خاص بوده تا بتوان محصول را برای مدت طولانی انبار کرد و فعالیت‌های آنزیمی، ریزجانوران و مخمرها را که در آن موجب فساد شده را متوقف نمود. در فرآیند خشک کردن با توجه به نوع مواد مؤثره (آلکالوئید، اسانس، فلاونوئید و ...)، باید روش مناسبی را برای آن انتخاب نمود. علاوه‌بر تأثیر فرآیند خشک کردن بر مدت ماندگاری محصولات، نتایج برخی مطالعات نیز نشان داده است که روش مورد استفاده برای خشک کردن تأثیر بسزایی بر عملکرد و محتوای متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی دارد.

مواد و روش‌ها: به‌منظور بررسی تأثیر روش‌های مختلف خشک کردن بر زمان خشک کردن و برخی متابولیت‌های ثانویه گیاه دارویی بادرنجبویه، آزمایشی به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار به اجرا درآمد. که شامل خشک کردن در دماهای مختلف در آون (۳۰، ۳۵، ۴۰، ۴۵، ۵۰، ۵۵، ۶۰ درجه سانتی‌گراد) و روش طبیعی (خشک کردن در سایه، آفتاب و اتاق) مورد مقایسه قرار گرفتند. در روش‌های مختلف، خشک کردن نمونه‌ها تا زمانی که وزن آن‌ها به محتوای رطوبتی ۰/۱ بر پایه وزن خشک (یا ۱۰ درصد بر پایه وزن تر) برسد، ادامه داشت. از نمونه‌های خشک شده جهت استخراج اسانس (درصد اسانس) و عصاره متانولی جهت اندازه‌گیری برخی متابولیت‌های ثانویه شامل میزان فنل کل، مقدار اسید رزمارینیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی استفاده گردید. اسانس از نمونه‌های خشک شده به روش تقطیر با آب و مقدار اسید رزمارینیک توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، فعالیت آنتی‌اکسیدانتی توسط DPPH و میزان فنل کل از روش فولین سیوکالتو استفاده گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد بیشترین درصد اسانس (۰/۳۸ درصد) و فعالیت آنتی‌اکسیدانتی (۸۳/۱۹ درصد) در خشک کردن با آون ۳۰ درجه سانتی‌گراد حاصل گردید. بیشترین فنل کل (۵۸/۷۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) با آون ۴۰ درجه سانتی‌گراد و اسید رزمارینیک (۳۹/۷۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) با استفاده از روش خشک کردن در اتاق حاصل گردید. در دمای ۶۰ درجه

*مسئول مکاتبه: medicinalplants7@gmail.com

سانتی‌گراد آون کمترین مقدار درصد اسانس (۰/۲۲ درصد)، فعالیت آنتی‌اکسیدانتی (۲۰/۵۸ درصد) و اسید رزمارینیک (۰/۲۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) حاصل شد. در روش‌های مختلف خشک کردن، با افزایش دمای آون (۶۰ درجه سانتی‌گراد)، کاهش متابولیت‌های ثانویه و دماهای ۴۰-۳۰ درجه سانتی‌گراد باعث افزایش متابولیت‌های ثانویه اندازه‌گیری شده در بادرنجبویه گردید.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق اگر هدف از خشک کردن گیاه دارویی بادرنجبویه، به‌دست آوردن میزان بالای اسانس باشد، خشک کردن با آون در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد توصیه می‌گردد، ولی اگر هدف دستیابی به میزان بالای اسید رزمارینیک باشد، خشک کردن در اتاق و دماهای ۴۵-۴۰ درجه سانتی‌گراد آون توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، اسید رزمارینیک، بادرنجبویه، DPPH، HPLC

مقدمه

بادرنجبویه (برگ لیمو) با نام علمی (*Melissa officinalis* L.) از خانواده نعناعیان، گیاهی علفی، چند ساله با ساقه چهار گوش به ارتفاع ۶۰-۴۰ سانتی‌متر می‌باشد. از خواص درمانی آن می‌توان اثرات آرام بخش، درمان ناراحتی‌های عصبی، درمان بیماری آلزایمر، بیماری‌های معده، قلبی، روده‌ای، طعم دهنده غذا، بهبود هضم، تهیه داروهای نیروزا و ضد تبخال را نام برد. گزارش‌هایی از اثر ضد ویروس ایدز اسید رزمارینیک موجود در آن نیز منتشر شده است (۹، ۱۱، ۶).

خشک کردن[1] یکی از قدیمی‌ترین روش‌های نگهداری محصولات کشاورزی بعد از برداشت می‌باشد. این فرآیند شامل حذف رطوبت با استفاده از عمل تبخیر تا حد رسیدن به یک آستانه خاص بوده تا بتوان محصول را برای مدت طولانی انبار نمود و فعالیت‌های آنزیمی، ریزجانداران و مخمرها را که در آن موجب فساد شده را متوقف کرد (۴). در فرآیند خشک کردن با توجه به نوع مواد مؤثره موجود در گیاه دارویی (آلکالوئید، اسانس، فنل، فلاونوئید و...)، باید روش مناسبی را برای آن انتخاب نمود. معمولا اندام‌های مختلف گیاهان پس از جمع‌آوری حاوی مقادیر فراوانی رطوبت (۸۰-۶۰ درصد)، می‌باشند، که باید این میزان رطوبت را بسته به نوع اندام گیاه دارویی مورد استفاده به ۱۴-۱۰ درصد کاهش داد (۱۱، ۵، ۳). از طرف دیگر خشک کردن این گیاهان، تغییرات فیزیکی و شیمیایی را در آن‌ها به‌همراه دارد. در برخی موارد، فرآیند خشک کردن بر افزایش عملکرد اسانس بعضی از گیاهان معطر مؤثر است. چنین فرآیندی در برگ درخت چای (*Melalecua alternifolia*) وجود دارد. در این گیاه، افزایش اسانس پس از برداشت در نتیجه تغییر مقدار رطوبت نیست، بلکه به‌دلیل تولید اسانس بعد از برداشت و در جریان خشک کردن آن است. چنین افزایشی نیز در گونه‌ای اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulensis*) و گل بابونه رومی (*Anthemis nobilis* var. flora plena) گزارش شده است. همچنین خشک کردن سبب تغییراتی در اجزای تشکیل دهنده اسانس برخی از گیاهان دارویی می‌گردد. تحقیقات نشان می‌دهد خشک کردن بادرنجبویه سبب افزایش مقادیر ترکیباتی مانند میرسن، لیمونن، گاماترپینن و اکتانال و کاهش کامفن، لینالول، ژرانیول استات و نرال در مقایسه با گیاه تازه می‌گردد (۱۱).

با توجه به اهمیت خشک کردن در گیاهان دارویی، ادویه‌ای و معطر و استفاده از گیاه دارویی

1- Drying

بادرنجبویه در صنایع داروسازی، صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی این آزمایش جهت بررسی روش‌های مختلف خشک کردن (طبیعی و آون) بر زمان خشک کردن، درصد اسانس و برخی متابولیت‌های ثانویه (فنل کل، میزان اسید رزمارینیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی) گیاه دارویی بادرنجبویه انجام شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر روش‌های مختلف خشک کردن بر زمان خشک کردن و برخی متابولیت‌های ثانویه گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.)، آزمایشی به‌صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۰ تیمار (روش‌های مختلف خشک کردن) و سه تکرار در سال ۱۳۹۲ به اجرا درآمد. نشاء گیاه بادرنجبویه در اواخر فروردین ماه ۱۳۹۲ در زمینی به تعداد ۳ کرت به ابعاد ۳ مترمربع در مزرعه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان مورد کشت قرار گرفتند. هر سه کرت در شرایط مساوی از لحاظ کوددهی و آبیاری بودند و وجین علف‌های هرز با دست انجام گردید. به‌منظور انجام آزمایش‌های تحقیقاتی خشک کردن در اواسط مرداد ماه در مرحله قبل از گلدهی سرشاخه‌ها از ارتفاع ۵ سانتی‌متری بالای خاک در ساعت ۱۱ تا ۱۲ ظهر برداشت و به سرعت به آزمایشگاه گروه علوم باغبانی منتقل شدند و برگ‌ها را از ساقه‌ها جدا کرده و تیمارهای موردنظر روی آن‌ها اعمال گردید. تیمارها شامل خشک کردن در دمای آون (۳۰، ۳۵، ٤٠، ٤٥، ٥٠، ٥٥، ٦٠ درجه سانتی‌گراد) و خشک کردن به‌طور طبیعی که شامل: خشک کردن در سایه (با میانگین دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد)، خشک کردن در آفتاب (با میانگین دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد) و خشک کردن در اتاق (با میانگین دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد) بود. میزان رطوبت ماده گیاهی بر پایه وزن تر و یا وزن خشک محاسبه می‌شود، به‌طوری که میزان رطوبت بر پایه وزن تر که به‌صورت درصد بیان می‌شود، از رابطه ۱ محاسبه و میزان رطوبت بر پایه وزن خشک که به‌صورت یک نسبت بیان می‌شود، از رابطه ۲ تعیین می‌گردد (۱۹). از نمونه‌های خشک شده جهت استخراج اسانس به روش تقطیر با آب (۱۱،۲) و عصاره متانولی جهت اندازه‌گیری برخی متابولیت‌های ثانویه شامل: فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH[1] (۷)، میزان فنل کل به روش فولین سیوکالتو[2] (۸) و مقدار اسید رزمارینیک با استفاده از HPLC[3] (۱)، استفاده گردید.

میزان رطوبت بر پایه وزن تر (۱ = وزن رطوبت/ (وزن ماده خشک + وزن رطوبت) ×۱۰۰

میزان رطوبت بر پایه وزن خشک (۲ = وزن رطوبت/ وزن ماده خشک

پس از جمع‌آوری و تنظیم مشاهدات؛ برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار MSTATC و میانگین داده‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه گردیدند. برای ترسیم جدول‌ها و نمودارها از نرم‌افزارهای Word و Excel استفاده گردید.

1- 2,2- Diphenyl-1-picryl hydrazyl
2- Folin ciocalteu
3- High performance liquid chromatography

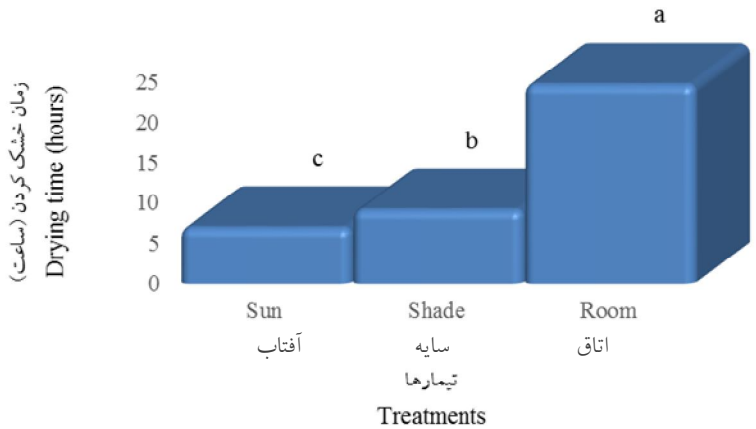
نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر اثر معنی‌دار (P<۰/۰۱) روش‌های مختلف خشک کردن (طبیعی و آون) بر تمامی صفات مورد مطالعه بود (جدول ۱). در روش خشک کردن طبیعی زمان موردنیاز برای رسیدن به محتوای رطوبت ۰/۱۰ بر پایه وزن خشک به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت، به‌طوری که این زمان برای خشک کردن در شرایط آفتاب ۳/۵ برابر کمتر از زمان خشک کردن در شرایط اتاق و ۲/۷ برابر کمتر در شرایط سایه بود (شکل ۱). همچنین مشاهده شد در روش خشک کردن در دماهای مختلف در آون کمترین زمان خشک کردن در دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد آون برابر با ٤/۱ ساعت و بیشترین زمان خشک کردن در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد آون با ۱۲/۳ ساعت بود و یا به‌عبارتی زمان صرف شده برای خشک شدن برگ گیاه دارویی بادرنجبویه در دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد ۳ برابر کمتر از زمان خشک شدن برگ گیاه بادرنجبویه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد بود. گرچه زمان خشک کردن در آون دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد و شرایط آفتاب نسبت به سایر دماها و روش‌ها کمتر بود ولی باعث کاهش مقدار اسانس، میزان فنل کل، اسید رزمارینیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نمونه‌های خشک شده گردید. بیشترین درصد اسانس در تیمار خشک کردن در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به میزان ۰/۳۹ درصد و کمترین مقدار آن مربوط به تیمار خشک کردن در دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد آون به مقدار ۰/۲۲ درصد حاصل گردید (جدول ۲). در تحقیقی آرگیوپولوس و مولر (۲۰۱۱)، در بررسی محتوای اسانس و روغن‌های فرار بادرنجبویه، کمترین کاهش در اثر خشک کردن در دماهای ۳۰ و ٤۰ درجه سانتی‌گراد مشاهده گردید، در حالی‌که دمای بالای ۵۰ درجه سانتی‌گراد، کاهش قابل توجه اسانس را به‌همراه داشت و این کاهش در دماهای بالاتر تشدید گردید. بر اساس آزمون مقایسه میانگین‌ها (جدول ۳)، در این آزمایش بیشترین مقدار فنل کل به تیمار خشک کردن در دمای ٤۰ درجه سانتی‌گراد به مقدار ۵۸/۷۷ میلی‌گرم بر گرم، وزن خشک و کمترین مقدار آن به روش خشک کردن در آفتاب به مقدار ۸/٤٤ میلی‌گرم برگرم، وزن خشک برگ به‌دست آمد. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد در بین تیمارهای مختلف به‌کار رفته، تیمار خشک کردن در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد با ۸۳/۱۹ درصد بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و تیمار دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد با ۲۰/۵۸ درصد کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را از خود نشان دادند. که کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد می‌تواند به علت تجزیه و کاهش ترکیبات فنلی و اسانس گیاه در این دما باشد. بر اساس نتایج به‌دست آمده از جدول مقایسه میانگین داده‌ها، بادرنجبویه خشک شده در شرایط اتاق به میزان ۳۹/۷۸ میلی‌گرم بر گرم، وزن خشک برگ دارای بیشترین مقدار اسید رزمارینیک و تیمار خشک کردن در دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد به مقدار ۰/۲٦ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک، کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند (شکل ۸). در تحقیقی بر روی بادرنجبویه بیشترین میزان محتوای اسید رزمارینیک موجود در نمونه‌ها در دمای ۳۰ و ٤۰ درجه سانتی‌گراد مشاهده گردید و با افزایش دمای خشک کردن (بالای ٤۵ درجه سانتی‌گراد)، میزان آن به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (۲).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه یافته‌ها نشان داد که دما و روش‌های مختلف خشک کردن به طور قابل توجهی بر زمان خشک کردن، درصد اسانس، محتوای فنل کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای اسید رزمارینیک برگ بادرنجبویه اثر می‌گذارد. به‌طوری که با افزایش

دمای آون (٦٠ درجه سانتی‌گراد) و خشک کردن در آفتاب سبب کاهش و دماهای ٤٠-٣٠ درجه سانتی‌گراد باعث افزایش متابولیت‌های ثانویه بادرنجبویه گردید. از این رو اگر هدف از خشک کردن گیاه بادرنجبویه به‌دست آوردن میزان بالای اسانس باشد، خشک کردن در دمای ٣٠ درجه سانتی‌گراد توصیه می‌گردد، ولی اگر هدف دستیابی به میزان بالای اسید رزمارینیک باشد خشک کردن در اتاق و دماهای ٤٥-٤٠ درجه سانتی‌گراد توصیه می‌گردد.



شکل ١- مدت زمان لازم برای رسیدن به محتوای رطوبتی ٠/١٠ (بر پایه وزن خشک) در روش طبیعی (آفتاب، سایه و اتاق).

Figure 1. The time required to reach a moisture content 0.10 (on a dry weight basis) in the natural method (sun, shade and room).

جدول ١- تجزیه واریانس زمان خشک کردن و برخی از متابولیت‌های ثانویه بادرنجبویه.

Table 1. Analysis of variance for drying time and some secondary metabolites of Lemon balm.

منبع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی D.F.	میانگین مربعات M.S.				
		مدت زمان خشک کردن Drying time	درصد اسانس Content Essential oil	فنل کل Total phenol	فعالیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant activity	میزان اسید رزمارینیک Content Rosmarinic acid
بلوک Block	2	0.009 n.s.	0.000 n.s.	0.015 n.s.	18.718 n.s.	0.002 n.s.
روش خشک کردن Drying methods	9	101.713**	0.00821**	1321.960**	1282.678**	410.732**
خطا Error	18	0.007	0.003	0.005	15.272	0.001
ضریب تغییرات C.V.%		0.89	1.94	0.18	7.30	0.26

n.s. و ** به‌ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌دار شدن در سطح ١ درصد می‌باشد.

n.s. and **: not significant, significant at the 1% probability levels, respectively.

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده تحت تأثیر زمان خشک کردن و روش‌های مختلف خشک کردن (طبیعی و آون).

Table 2. Mean comparison for measured traits under effect of drying time and different drying methods.

میزان اسید رزمارینیک (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) Content Rosmarinic acid (mg/gDW)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (درصد) Antioxidant activity (%)	فنل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) Total phenol (mg/gDW)	درصد اسانس Content Essential oil (%)	مدت زمان خشک کردن (ساعت) Drying time (hours)	تیمارها Treatments
39.78^{a}	60.22^{c}	51.33^{d}	0.3267^{c}	24.60^{a}	اتاق (Room)
2.109^{h}	33.13^{e}	8.449^{j}	0.2767^{f}	7.00^{f}	آفتاب (Sun)
9.911^{e}	77.69^{ab}	57.81^{b}	0.3267^{c}	9.133^{d}	سایه (Shade)
7.311^{f}	83.19^{a}	45.98^{g}	0.3867^{a}	12.33^{b}	آون (Oven) 30°C
14.71^{d}	71.86^{b}	46.49^{f}	0.3433^{b}	10.23^{c}	آون (Oven) 35°C
15.44^{c}	60.50^{c}	58.77^{a}	0.3133^{d}	8.23^{e}	آون (Oven) 40°C
17.36^{b}	49.34^{d}	55.40^{c}	0.2867^{e}	7.10^{f}	آون (Oven) 45°C
5.352^{g}	43.52^{d}	50.03^{e}	0.2533^{g}	6.63^{g}	آون (Oven) 50°C
1.506^{i}	35.20^{e}	11.15^{h}	0.2333^{h}	5.36^{h}	آون (Oven) 55°C
0.2650^{j}	20.58^{f}	9.552^{i}	0.2200^{i}	4.06^{i}	آون (Oven) 60°C

حروف مشترک در هر ستون نماینگر عدم تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

Means with at least one similar letter in each column have no signification difference Duncan's test at %5 of probability level.

منابع

1. Angelov, P. and Condoret., J.S. 2007. Optimization of operational conditions of ethanol extraction of Rosmarinic acid from lemon balm (*Melissa officinalis* L.). Chemistry Book 5. University of Plovdiv, Bulgaria, Pp: 71-76.
2. Argyropoulos, D. and Müller, J. 2011. Effect of convective drying on quality of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). Proc. Food Sci. 1: 1932–1939.
3. Arsalan, D. and Ozcan, M.M. 2008. Evaluation of drying methods with respect to drying rosemary leaves. Energy Con. Mana. J. 49: 5.1258-1264.
4. Azizi, M., 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. Iran. J. Medic. Arom. Plants. 25(2): 182-192. (In Persian)
5. Brovelli, E.A., Li, Y. and Chui, K. 2003. Image analysis reflects drying conditions of *Echinacea purpurea* Herb. J. Herb Spi. Medic. Plants. 10: 2.19-24.
6. Chen, H., Chen, F., Zhang, Y-L. and Song, J-Y. 1999. Production of lithospermic acid B and rosmarinic acid in hairy root cultures of *Salvia miltiorrhiza*. J. Indu. Micr. Biot. 22: 133–138.
7. Ebrahimzadeh, M.A., Navai, S.F. and Dehpour, A.A. 2011. Antioxidant activity of hydroalcholic extract of *Ferula gummosa* Boiss roots. US Nati. Lib. Med. Nati. Inst. Heal. 15: 6. 658-664.
8. Ebrahimzadeh, M.A., Pourmorad, F. and Bekhradnia, A.R. 2008. Iron chelating activity screening, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran. Afr. J. Biotechnol. 7: 3188-92.

9.Hassanzadeh, K., Hemmati, Kh. and Alizadeh, M. 2016. Effect of organic fertilizers and salicylic acid on the yield and some secondary metabolites of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). J. Plant Prod. Res. 23: 1.107-130. (In Persian)
10.Martinov, M., Oztekin, S. and Muller, J. 2007. Drying: 85-97. In: Oztekin, S. and Martinov, M., (Eds.). Medicinal and Aromatic Crops. CRC Press, United States of America, 320p.
11.Omidbaigi, R. 2010. Approaches to Production and Processing of Medicinal plants. Beh nashr Press, 347p. (In Persian)