

مقایسه خواص آنتی اکسیدانی عصاره های آبی و متانولی میوهی گیاه عروسک پشت پرده (*Physalis alkekengi*) در شرایط آزمایشگاهی

۱- محدثه حاجی قاسمی ۲- مصطفی گواهی ۳- مجتبی رنجبر

- ۱- گروه زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران
- ۲- گروه نانو زیست فناوری، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران
- ۳- گروه زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران

Email: mohighasemi68@yahoo.com

Email: m.govahi@ausmt.ac.ir

Email: ranjbarf@ausmt.ac.ir

چکیده

گیاهان دارویی منابع طبیعی ارزشمندی هستند که امروزه مورد توجه کشورهای پیشرفته جهان قرار گرفته و به عنوان مواد اولیه جهت تبدیل به داروهای بی خطر برای انسان تلقی می شوند. ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی از ترکیبات بسیار مهم گیاهان هستند که دارای اثرات آنتی اکسیدانی می باشند. عصاره میوه گیاه عروسک پشت پرده دارای فعالیت های بیولوژیکی گسترده با ظرفیت آنتی اکسیدانی بالا است. هدف از انجام این تحقیق مقایسه خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره آبی و متانولی میوهی گیاه عروسک پشت پرده می باشد. میزان فنل کل در میوه عروسک پشت پرده در عصاره های آبی و متانولی به ترتیب $10/67 \pm 1/12$ و $13/40 \pm 1/75$ (میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره) و میزان فلاونوئید کل در عصاره های آبی و متانولی به ترتیب $2/36 \pm 1/75$ و $3/71 \pm 1/75$ (میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره) به دست آمد. همچنین نتایج نشان داد که غلظت عصاره ها و آنتی اکسیدان سنتزی تأثیر معنی داری بر مهار رادیکال آزاد DPPH دارد ($P < 0.05$).

کلمات کلیدی: آنتی اکسیدان، میوه گیاه عروسک پشت پرده، عصاره متانولی، عصاره آبی

مقدمه

آنتی اکسیدان ها ترکیب هایی هستند که با جذب رادیکال آزاد و ممانعت از ادامه ی اکسیداسیون، از فساد و تغییر رنگ لیپیدها جلوگیری می کنند. به خصوص آنتی اکسیدان هایی که بنیان حلقوی فنلی حاوی گروه OH را دارا هستند، نقش مهمی در جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدها دارند. به عبارتی، آنتی اکسیدان ها در غلظت پایین اکسیداسیون لیپیدها را به تأخیر می اندازند یا مانع آن می شوند. آنتی اکسیدان ها به دو صورت طبیعی و سنتزی وجود دارند. ترکیبات فنولی TBHQ، BHT و BHA متداول ترین آنتی اکسیدان های سنتزی هستند.

اخیراً عوارض نامطلوبی از مصرف آنتی اکسیدان های سنتزی گزارش شده است، به طوری که در حیوانات آزمایشگاهی باعث سرطان زایی و آسیب کبدی شده است؛ بنابراین، جستجو برای جایگزینی آنتی اکسیدان های سنتزی به بررسی آنتی اکسیدان های متعددی از منابع گیاهی منجر شده است. مطالعات نشان داده است که ترکیبات آنتی اکسیدانی طبیعی مانند ترکیبات میوه ها،

سبزیجات، ادویه‌ها، برگ‌ها ریشه و پوست درختان به‌عنوان منابع بالقوه آنتی‌اکسیدانت‌های طبیعی استخراج شده‌اند که این ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به مقدار کل ترکیبات فنولی آنها بستگی دارد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی منابع بالقوه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در گیاهان هستند. فرآیندهای استخراج ترکیبات فنولی، عامل اصلی در ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهان است و تغییرپذیری ناشی از فرآیند استخراج به تفاوت در پیوندهای درونی این ترکیبات و به‌خصوص به قطبیت مولکول‌های تشکیل دهنده حلال بستگی دارد. به‌همین جهت در فرآیند استخراج، عواملی چون حلال و زمان استخراج بسیار مهم هستند، اما دما، قدرت استخراج کنندگی حلال، زمان و روش استفاده شده برای استخراج عصاره را بسیار تحت تأثیر قرار می‌دهند [۹].

استفاده از گیاهان دارویی برای درمان بیماری‌ها، قرن‌ها مورد استفاده قرار گرفته است. امروزه بخش عظیمی از داروهای مصرفی شیمیایی هستند اما با این وجود تخمین زده شده است که حدوداً یک سوم فرآورده‌های دارویی منشأ گیاهی دارند. گیاه عروسک پشت پرده (*Physalis alkekengi*) یکی از اعضای خانواده *Solanaceae* است و به‌طور گسترده در اروپا و آسیا (به ویژه در قسمت شمال شرقی چین) رشد می‌کند. این گیاه دارای میوه‌های شیرین با اسیدیته کم و به‌طور سنتی به‌عنوان گیاه دارویی استفاده می‌شود. عصاره میوه این گیاه شامل بسیاری از متابولیت‌های ارزشمند از جمله فیسالین‌ها، کاروتنوئیدها، آلکالوئیدها و فلاونوئیدها بوده است. اخیراً گزارش شده است که عصاره میوه این گیاه دارای خواص دارویی فراوانی، مانند ضد التهابی، اثرات ضد سرطانی، آنتی‌اکسیدانی، کاهش قند خون و اثرات ضد درد است [۸].

مواد و روش‌ها:

در این مطالعه نمونه‌های مورد نظر از بازار تجریش تهران به‌صورت خشک شده خریداری شد. به‌منظور تهیه عصاره‌های آبی و متانولی (۸۰٪) ابتدا میوه‌ی خشک شده پودر شده و عصاره‌گیری به‌روش خیساندن انجام شد. برای این منظور، ابتدا ده گرم از میوه‌ی خشک شده گیاه فیسالیس با ترازوی دیجیتالی وزن و به‌نسبت ۱ به ۱۰ در حلال‌های مورد نظر ریخته شد و پس از گذشت ۷۲ ساعت در درون انکوباتور شیکردار عمل فیلتراسیون با استفاده از کاغذ صافی واتمن باقی‌مانده‌ی حلال جدا شد. پس از خشک کردن عصاره‌ها به‌وسیله تیغه فلزی از روی سطح پلیت‌های شیشه‌ای خراش داده شد و پودر حاصله برای انجام آزمایش‌های بعدی در ظروف شیشه‌ای با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

تعیین میزان فنول کل: مقادیر فنول کل با روش فولین سیوکالتیو اندازه‌گیری شد. عصاره با نسبت ۱ به ۱۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از هر عصاره با ۲۵ میلی‌لیتر واکنش‌گر ۰/۲ نرمال فولین سیوکالتیو مخلوط و به‌مدت ۵ دقیقه هم زده شد. سپس ۲ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم ۲۰ درصد اضافه شد. جذب نمونه‌ها در دمای اتاق با دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۷۶۰ نانومتر در مقابل بلانک (متانولی و آبی) اندازه‌گیری شد [۱۲].

تعیین محتوای فلاونوئید کل: میزان محتوای فلاونوئید عصاره با روش رنگ‌سنجی ارزیابی شد عصاره با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره در ۱/۵ میلی‌لیتر متانول حل و ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد به آن اضافه شد.

سپس، ۰/۱ میلی لیتر محلول پتاسیم استات ۱ مولار و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر به این مخلوط اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. جذب مخلوط حاصله در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد [۲].

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی: اساس روش استفاده شده بر مبنای احیاء رادیکال آزاد DPPH به وسیله آنتی اکسیدانها در غیاب سایر رایکالهای آزاد در محیط می باشد که نتیجه این عمل باعث ایجاد رنگ در محیط می شود و شدت آن با دستگاه طیفسنجی قابل اندازه گیری است. غلظت های مختلف از عصاره ها به همراه ۱ میلی لیتر از DPPH ۰/۱ میلی مولار و ۱ میلی لیتر متانول تهیه گردید. بعد از ۳۰ دقیقه قرار دادن در دمای اتاق، جذب نوری نمونه ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با DPPH در مقابل بلانک توسط دستگاه UV- Vis قرائت شد. درصد مهار رایکالهای آزاد با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$RSA = (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}} \times 100\%$$

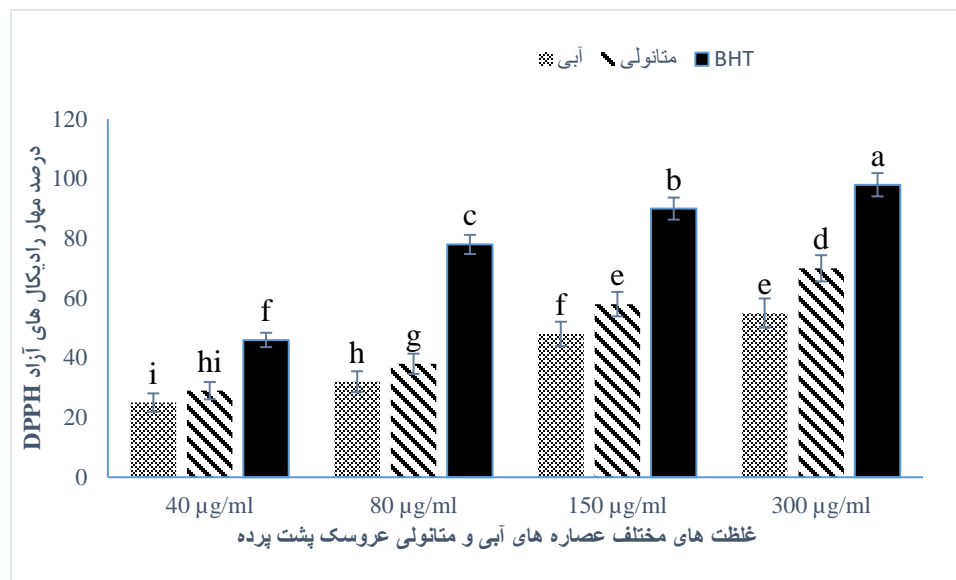
در این معادله RSA میزان مهارکنندگی رادیکال DPPH، A_{control} میزان جذب شاهد و A_{sample} میزان جذب نمونه را بیان می کند.

آنالیز آماری: آزمایش ها در سه تکرار انجام شد. آنالیز واریانس با استفاده از (ANOVA) یکطرفه و مقایسه میانگین ها توسط آزمون دانکن در نرم افزار SPSS در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج:

میزان فنول کل و فلاونوئید کل

میزان کل ترکیبای فنولی به روش فولین سیوکالتو و بر اساس منحنی استاندارد گالیک اسید تعیین شد. مقایسه میانگین داده های فنول کل و فلاونوئید کل عصاره میوه گیاه عروسک پشت پرده حاکی از تفاوت معنی دار این ترکیبات در حلال های مختلف می باشد ($P < 0.05$). نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که میزان فنل کل در عصاره های آبی و متانولی به ترتیب 10.67 ± 1.12 میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره و 13.40 ± 1.75 میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره می باشد. همچنین مقدار فلاونوئید کل در عصاره های آبی و متانولی به ترتیب 2.36 ± 1.75 و 3.71 ± 1.75 میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره می باشد.



نمودار ۱- مقایسه میانگین درصد مهار رادیکال های آزاد DPPH غلظت های مختلف عصاره های آبی و متانولی و آنتی اکسیدانی

فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

گیاهان برای بقا در مقابل تغییرات محیط اکسیداتیو اطرافشان، از طیف متنوعی از مولکولها با ساختارها و اعمال متفاوت جهت پاکسازی رادیکالهای آزاد استفاده می کنند، به همین دلیل معمولاً در ارزیابی فعالیت های آنتی اکسیدانی عصاره های گیاهی، از سیستم های مدل متفاوتی نیز استفاده می شود در مطالعه حاضر از روش به دام اندازی رادیکال آزاد DPPH استفاده شده است. نمودار ۱، میزان کاهش جذب DPPH را در غلظت های مختلف عصاره های آبی، متانولی و آنتی اکسیدان سنتزی BHT نشان می دهد. نتایج مقایسه میانگین ها نشان داد که غلظت های عصاره های آبی، متانولی و آنتی اکسیدان سنتزی تأثیر معنی داری بر مهار رادیکال DPPH دارد ($P < 0.05$). فعالیت ضد رادیکالی در عصاره های آبی و متانولی گیاه عروسک پشت پرده و همچنین BHT به غلظت وابسته بود به طوری که با افزایش غلظت عصاره ها بر حسب میکرو گرم بر میلی لیتر، درصد مهارکنندگی عصاره های آبی و متانولی به طور قابل ملاحظه ای افزایش یافت. در تمامی فعالیت غلظت هاب مورد بررسی، آنتی اکسیدان سنتزی BHT فعالیت ضد رادیکالی بالاتری را به خود اختصاص داد. میزان IC_{50} عصاره های آبی، متانولی و BHT به ترتیب ۲۵۳/۷، ۱۳۶/۴ و ۴۳/۱ میکرو گرم بر میلی لیتر تعیین شد.

بحث:

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که با تغییر نوع حلال، قدرت آنتی اکسیدانی گیاه نیز تغییر می کند به طوری که قدرت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی از عصاره ی آبی بالاتر است. در تحقیق مشابهی که توسط مدینی و همکاران در سال ۲۰۱۴ روی گیاه *delicatulum* صورت گرفت تأثیر حلال بر قدرت آنتی اکسیدانی تأیید شد به طوری که قدرت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی از سایر عصاره ها بالاتر گزارش شده. همچنین نتایج حاصل از مطالعات انجام شده روی گیاه *Limonium delicatulum* توسط دو و

همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان داد که قدرت آنتی اکسیدانی عصاره آبی گیاه از سایر عصاره‌های مورد مطالعه بیشتر است. حسین و همکاران در سال ۲۰۱۵ بیان کردند که قدرت آنتی اکسیدانی گیاهان ممکن است تحت تأثیر نوع حلال مورد استفاده قرار گیرد و بیشترین قدرت آنتی اکسیدانی در مطالعه آنها که روی گیاه *Merremia borneensis* صورت گرفت مربوط به عصاره هیدروالکلی بود. این نتایج با نتایج حاصل از پژوهش‌های انجام شده توسط مدینی و همکاران در سال ۲۰۱۴ روی گیاه *delicatulum* *Limonium* از نظر تأثیر نوع حلال بر قدرت آنتی اکسیدانی مطابقت داشت. به طوری که قدرت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی از عصاره هی آبی بالاتر گزارش شده است. همچنین حسین و همکاران در سال ۲۰۱۵ بیان کردند که قدرت آنتی اکسیدانی گیاهان ممکن است تحت تأثیر نوع حلال مورد استفاده قرار گیرد. به طوری که بیشترین قدرت آنتی اکسیدانی در مطالعه آنها مربوط به عصاره هیدروالکلی بود. نتایج این پژوهش نشان داد که میزان فنل در عصاره هیدروالکلی از سایر عصاره ها بالاتر است و نوع حلال مورد استفاده در عصاره گیری بر میزان فنل مؤثر بوده است. این نتایج با نتایج مطالعاتی که توسط فاضلی نسب و همکاران در سال ۱۳۹۸، Hamady Roby Medini و همکاران در سال ۲۰۱۴، دو و همکاران در سال ۲۰۱۴ و نیز گواهی و همکاران در سال ۱۳۹۸ مشابهت دارد، از این نظر که در همه مطالعات مذکور، نوع حلال بر میزان فنول اثرگذار بوده است [۳، ۴، ۶، ۱۰، ۱۳]. در این مطالعه مشخص شد که میزان فلاونوئید در عصاره متانولی از عصاره آبی بالاتر است و نوع حلال مورد استفاده در عصاره گیری بر میزان فلاونوئید اثرگذار است. نتایج حاصل از پژوهش حاضر با بررسی های انجام شده توسط فاضلی نسب و همکاران در سال ۱۳۹۸، مدینی و همکاران در سال ۲۰۱۴، دو و همکاران در سال ۲۰۱۴، گواهی و همکاران در سال ۱۳۹۸ و نیز جم زاد و همکاران در سال ۲۰۱۳ مشابهت دارد زیرا در همه این پژوهش ها نوع حلال مورد استفاده در عصاره گیری بر میزان فلاونوئید اثرگذار بوده است [۳، ۴، ۷، ۱۰ و ۱۳].

بدیهی است که ارزش غذایی، خواص دارویی و قدرت آنتی اکسیدانی گیاهان به ترکیبات موجود در گیاه بستگی دارد که از جمله مهم‌ترین این ترکیبات می‌توان به فنل‌ها و فلاونوئیدها اشاره کرد. استخراج ترکیبات فنولی از مواد گیاهی تحت تأثیر حلالیت در حلال های عصاره‌گیری، نوع حلال، درجه قطبیت فنول‌ها، تعاملات فنل‌ها با دیگر ترکیبات و شکل گیری کمپلکس‌های نامحلول است [۵، ۱۰]. تفاوت در قطبیت حلال‌ها و استخراج آنتی اکسیدان‌ها ممکن است تفاوت بین بازده عصاره‌ها و فعالیت آنتی اکسیدانی را توضیح دهد. علاوه بر این درجه قطبیت نقش کلیدی را در حلالیت ترکیبات فنلی ایفا می‌کند، [۱۰، ۱۱] بنابراین تعریف یک روش استاندارد برای استخراج فنل های گیاهی دشوار است. حلال‌های با قطبیت کم‌تر عموماً برای استخراج فنل‌های لیپوفیلیک و حلال‌های قطبی برای فنل‌های هیدروفیلیک مناسب در نظر گرفته می‌شوند [۱۰]. فعالیت آنتی اکسیدانی گیاهان از فنل های آن‌ها مشتق می‌شود، فنل‌ها از لحاظ ساختاری از یک حلقه آروماتیک، یک و یا بیشتر از یک استخلاف هیدروکسیل تشکیل شده اند. فعالیت آنتی اکسیدانی این مولکول‌ها ناشی از توانایی آن‌ها برای جاروب کردن رادیکال‌های آزاد، دادن اتم‌های هیدروژن یا الکترون یا کلات کردن کاتیون‌های فلزی است [۱، ۱۰].

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به عصاره متانولی است، بیشترین میزان فنول و فلاونوئید نیز مربوط به عصاره متانولی است. این نتایج و همچنین نتایج حاصل از پژوهش‌هایی که در بالا بیان شد در وهله اول نشان می‌دهد که نوع حلال مورد استفاده بر قدرت آنتی اکسیدانی و میزان فنل و فلاونوئید مؤثر است و همین‌طور ارتباط مستقیمی بین قدرت آنتی اکسیدانی و میزان ترکیبات فنلی وجود دارد در نتیجه قدرت بالای آنتی اکسیدانی عصاره متانولی احتمالاً در ارتباط با ترکیبات فنلی آن است. نتایج بیان می‌کند که گیاهان دارای ترکیبات متعددی هستند که هر

کدام دارای ساختاری متفاوت می‌باشند. استخراج این ترکیبات به یکسری عوامل بستگی دارد که یکی از مهم‌ترین آن‌ها نوع حلال و روش استخراج است. انتخاب حلال برای هر دسته از ترکیبات گیاهی بسیار مشکل خواهد بود، زیرا همراه با این ترکیبات، مواد دیگری نیز وجود دارد که بر درجه حلالیت این مواد تأثیرگذار است [۱۳].

نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش با گزارش‌های قبلی مبتنی بر ارتباط مستقیم اجزای فنولیک با فعالیت آنتی‌اکسیدانی مطابقت داشت. به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که انتخاب نوع حلال تأثیر زیادی بر میزان استخراج ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی دارد و از طرفی، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی به میزان زیادی تحت تأثیر ماهیت حلال، زمان استخراج و غلظت است. با این حال، قدرت استخراج حلال مهم‌ترین فاکتور مؤثر بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی محصول است. در این مطالعه، با توجه به نتایج به دست آمده از ارزیابی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهان مختلف استخراج شده با حلال‌های متفاوت می‌توان گفت که از بین حلال‌های مختلف به کار رفته (متانولی و آبی) حلال متانولی عملکرد بهتری در ارتباط با استخراج فنل، فلاونوئید و میزان مهار رادیکال‌های آزاد داشت، در حالی که حلال آبی عملکرد ضعیف‌تری نسبت به حلال آبی نشان داد.

مراجع

Click or tap here to enter text.

- [1] Amarowicz, R., Pegg, R. B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., & Weil, J. A. (2004). Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, 84(4), 551–562. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00278-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00278-4)
- [2] Chang, Y. L., Kim, D. O., Lee, K. W., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2002). Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13), 3713–3717. <https://doi.org/10.1021/jf020071c>
- [3] Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismajji, S., & Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296–302. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>
- [4] Fazeli-nasab, B., Moshtaghi, N., & Forouzandeh, M. (2019). Effect of Solvent Extraction on Phenol, Flavonoids and Antioxidant Activity of some Iranian Native Herbs. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*, 27(3), 14–26. <https://doi.org/10.29252/sjimu.27.3.14>

- [5] Gálvez, M., Martín-Cordero, C., Houghton, P. J., & Ayuso, M. J. (2005). Antioxidant activity of methanol extracts obtained from *Plantago* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1927–1933. <https://doi.org/10.1021/jf048076s>
- [6] Govahi, M., Ghorbani, F., Ranjbar, M., Rahaiee, S., & Azizi, H. (2019). Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Activity, and Determination of Phenolic and Flavonoid Content of Aqueous and Methanolic Extracts of *Scutellaria pekinensis*. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*, 27(3), 91–100. <https://doi.org/10.29252/sjimu.27.3.91>
- [7] Jamzad, M., Hafez-Taghva, P., Kazembakgloo, A., & Jamzad, Z. (2014). Chemical Composition of Essential Oil, Total Flavonoid Content and Antioxidant Activity of *Salvia dracocephaloides* Boiss. from Iran. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 17(6), 1203–1210. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.958558>
- [8] Li, C. L., Huang, Y. Y., & Yu, S. Y. (2021). Study on Extraction of Flavonoe Coated in *Physalis alkekengi* L. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 766(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/766/1/012021>
- [9] Mazarie, A., Mousavi-Nik, S. M., & Fahmideh, L. (2018). Assessments of phenolic, flavonoid and antioxidant activity of aqueous, alcoholic, methanol and acetone extracts of thirteen medicinal plants. *Nova Biologica Reperta*, 4(4), 299-309. <https://dorl.net/dor/20.1001.1.24236330.1396.4.4.5.2>
- [10] Medini, F., Fellah, H., Ksouri, R., & Abdelly, C. (2014). Total phenolic, flavonoid and tannin contents and antioxidant and antimicrobial activities of organic extracts of shoots of the plant *Limonium delicatulum*. *Journal of Taibah University for Science*, 8(3), 216–224. <https://doi.org/10.1016/j.jtusci.2014.01.003>
- [11] Naczka, M., & Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. In *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* (Vol. 41, Issue 5, pp. 1523–1542). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.04.002>

- [12] Ordoñez, A. A. L., Gomez, J. D., Vattuone, M. A., & Isla, M. I. (2006). Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. *Food Chemistry*, 97(3), 452–458. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.024>
- [13] Roby, M. H. H., Sarhan, M. A., Selim, K. A. H., & Khalel, K. I. (2013). Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops and Products*, 43(1), 827–831. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.08.029>