مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره پونه (*Mentha longifolia*) ایرانی در شرایط آزمایشگاهی

ابوالفضل کامکار[1]، نبی شریعتی‌فر[2]*، امیرحسین جمشیدی[3]، اشکان جبلی‌جوان[4]، طناز صادقی[5]، محمدمهدی ضیغم‌منفرد[6]

۱- دانشیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران
۲- متخصص بهداشت مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران
۳-استادیار فارماکوگنوزی، معاونت غذا و داروی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران
٤- استادیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان
٥- دانش‌آموخته دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران
٦- دستیار تخصصی، گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران
*آدرس مکاتبه: تهران، خیابان انقلاب اسلامی، خیابان فخررازی، معاونت غذا و دارو، طبقه دوم
تلفن: ٦٦٤٦٦٠٦٢ (۰۲۱)، نمابر: ٦٦٤٦٩١٢٣ (۰۲۱)
پست الکترونیک: nshariatifar@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۹/۵/۲۰ **تاریخ تصویب:** ۹۰/۱/۱٦

چکیده

مقدمه: امروزه گیا هان دارویی به عنوان منابع طبیعی که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی هستند، مورد توجه محققین برای استفاده در سامانه های غذایی و بیولوژیک قرار گرفته اند.

هدف: این تحقیق به منظور بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصارهای آبی و الکلی گیاه پونه ایرانی به عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی انجام شده است.

روش بررسی: در این مطالعه آزمایشگاهی، اسانس گیاه با دستگاه طیف نگار جرمی GC/MS تجزیه و اجزای شیمیایی عمده‌ی آن شناسایی شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس وعصاره‌های آبی و الکلی در غلظت‌های مختلف با استفاده از دو روش ۲ و ۲'- دی‌فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن بررسی و با آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیلیتد هیدروکسی تولوئن (BHT (Butylated Hydroxy Toluene مقایسه شد.

نتایج: نتایج نشان داد که اجزاء اصلی اسانس پونه به ترتیب عبارتند از: سیس پی پریتون اپوکسید (Cis piperitone epoxide) (۲۸/۲۳ درصد)، آلفا ترپینه ال (Alpha-terpineol) (۱۸/٦٤ درصد)، منتون (Menthone) (۱۰/۹۷ درصد)، پوله گون (Pulegone) (۹/۷۳ درصد) و پی پریتون اکساید (Cis piperitone epoxide) (۸/۷۳ درصد) IC_{50} اسانس پونه ٥ ± ۱۷٦٥ میکروگرم بر میلی‌لیتر، عصاره آبی پونه ۱/۲ ± ۱۰۰، عصاره اتانولی ۰/۵۸ ± ۵۳/۸ و عصاره متانولی ۰/۵ ± ۵۰ به ترتیب تعیین شد، در حالی که این پارامتر برای BHT، ۰/۲۵ ± ٤/۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. در روش بی‌رنگ شدن بتاکاروتن فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس ٦۰ درصد و برای عصارهای آبی، اتانولی و متانولی به ترتیب ۷۳/۲۷، ۸۹/۸۸، ۸٤/۷۹ درصد و برای BHT ۰/۹ ± ۹۵ درصد تعیین شد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که عصاره‌های پونه دارای اثر آنتی‌اکسیدانی قویی هستند و می‌توانند پس از آزمایش‌های تکمیلی در سامانه غذایی به کار روند.

گل‌واژگان: فعالیت آنتی‌اکسیدانی، اسانس، عصاره، پونه ایرانی، آنالیز GC/MS

[Downloaded from jmp.ir on 2024-09-21]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.27.3]

مقدمه

در سال‌های اخیر ثابت شده است که رادیکال‌های آزاد مهم‌ترین عوامل اکسیدکننده مواد غذایی می‌باشند که باعث اکسیداسیون چربی‌ها و روغن‌ها و تندی آنها می‌شوند [۱،۲] به علاوه محصولاتی که از اکسیداسیون لیپیدها حاصل می‌شوند، می‌توانند روی دیگر اجزای موجود در ماده غذایی نیز تأثیر منفی داشته باشند، به طوری‌که علاوه‌بر اثرات نامطلوب ارگانولپتیک در محصولات غذایی با از بین بردن ویتامین‌ها و اسیدهای چرب ضروری بدن و ایجاد ترکیبات سمی می‌توانند منجر به اثرات نامطلوب از قبیل بیماری‌های التهابی، دیابت ملیتوس، ایسکمی قلبی و مغزی، سرطان، نقص ایمنی و پیری در بدن انسان شوند [۲،۳،٤،٥،٦]. از این‌رو استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها به منظور کندکردن سرعت اکسیداسیون در مواد غذایی ضروری به نظر می‌رسد، که اگر به طور صحیح و مناسب استفاده شوند می‌توانند باعث افزایش عمر محصولات غذایی در طی دوره استفاده از آنها شوند [۷].

اخیراً با پی بردن به سمیت و سرطان‌زایی بسیاری از آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک، توجه محققان به شناسایی آنتی‌اکسیدان‌های گرفته شده از منابع طبیعی معطوف شده است [۸،۹].

گیاهان با ترکیبات فنلی و ترکیبات دیگر، دارای پتانسیل آنتی‌اکسیدانی هستند. از زمانی که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات و عصاره‌های طبیعی توسط طیف وسیعی از روش‌ها شناسایی شده‌اند، این مسأله که کدام یک از این آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی دارای بازده بیشتری هستند، مطرح شده است [۱۰].

با توجه به بومی بودن گیاه پونه در ایران، دسترسی آسان و ارزان و مصرف غذایی و دارویی این گیاه از زمان‌های دور در کشور این مطالعه می‌تواند مقدمه‌ای جهت استفاده عملی از اسانس و عصاره‌های این گیاه در صنایع غذایی باشد تا بدین طریق هم امکان استفاده از یک منبع سهل‌الوصول و مقرون به صرفه فراهم شود و هم از هدر رفتن محصول و خسارت‌های ناشی از آن جلوگیری شود و در نهایت گامی جهت اعتلای بهداشت و ایمنی غذایی جامعه برداشته شود.

هدف از این مطالعه، بررسی ترکیب اسانس و ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره‌های پونه ایرانی و مهار رادیکال‌های آزاد توسط آن با استفاده از دو روش رادیکال ۲ و ′۲- دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) و بی‌رنگ شدن بتا کاروتن است.

مواد و روش‌ها

تهیه گیاه

گیاه پونه در مرداد ماه از منطقه شهمیرزاد سمنان جمع‌آوری و به مدت ده روز در سایه خشک شد، نمونه موردنظر توسط گیاه شناس مورد تائید قرار گرفت.

تهیه اسانس پونه

اسانس پونه از سر شاخه‌های گلدار گیاه و با روش تقطیر در بخار آب (Steam distillation) تهیه شد و تا زمان انجام آزمایش در یخچال ٤- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

تهیه عصاره‌ها

مقدار ۵۰ گرم پودرگیاه خشک شده در سایه به صورت جداگانه با ۲۵۰ میلی‌لیتر متانول، اتانول، و آب مقطر به روش سوکسله و پرکولاسیون عصاره‌گیری شد. پس از صاف کردن به وسیله کاغذ واتمن شماره یک، با روش تبخیر در خلاء در٤٠ درجه سانتی‌گراد خشک شده و تا زمان انجام آزمایش در یخچال ٤ + درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

مواد شیمیایی

تمام مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده در این تحقیق از شرکت مرک (آلمان) و رادیکال آزاد DPPH، بتا کاروتن و لینولئیک اسید از شرکت سیگما (آمریکا) خریداری شدند و

[Downloaded from jmp.ir on 2024-09-21]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.27.3]

دارای بالاترین درصد خلوص بودند.

تجزیه اسانس

آنالیز اسانس توسط دستگاه گازکروماتوگراف متصل به طیف‌نگار جرمی (GC/MS) با مشخصات ستون Column:Hp-50 (0.25mm×0.2µm×30m) MSD: Hp 5793 در بخش آنالیز دانشکده شیمی دانشگاه صنعتی شریف انجام شد. برای این منظور ابتدا اسانس گیاه با سولفات سدیم بدون آب، آب‌گیری وپس از تزریق به دستگاه GC/MS با استفاده از ضرایب بازداری هریک از اجزای تفکیک شده و طیف جرمی آنها و مقایسه با استاندارد، ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس شناسایی شد. دمای آون از ٤٠ درجه سانتی‌گراد تا ٢٥٠ درجه سانتی‌گراد با سرعت ٢/٥ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت. از گاز هلیوم باسرعت جریان ١/١ میلی‌لیتر در دقیقه و از انرژی یونیزاسیون ٧٠ الکترون ولت استفاده شد.

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی

بررسی خاصیت انتی رادیکالی به روش DPPH

توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون در ترکیبات و عصاره‌های مختلف در این تست بامیزان بی‌رنگ کردن محلول بنفش ٢ و ٢- دی فنیل- ١-پیکریل هیدرازیل یا (DPPH) در متانول مورد سنجش قرار می‌گیرد. در این روش [١١] به عنوان ترکیب رادیکالی پایدار از ٢ و ٢- دی فنیل-١- پیکریل هیدرازیل یا DPPH سیگما-الدریچ (*Sigma, Aldrich*) به عنوان معرف استفاده شد. بدین‌ترتیب که ٥٠ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف اسانس و عصارهای آبی، اتانولی، متانولی در متانول به ٥ میلی‌لیتر محلول ٠/٠٠٤ درصد ٢ و ٢- دی‌فنیل-١- پیکریل هیدرازیل یا DPPH در متانول اضافه شد. بعد از ٣٠ دقیقه گرمخانه‌گذاری در دمای اتاق، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ٥١٧ نانومتر بر علیه بلانک خوانده شد. درصد مهار رادیکال‌های آزاد ٢ و ٢- دی فنیل-١- پیکریل هیدرازیل یا DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$I\% = (A_{blank} - A_{sample} / A_{blank}) \times 100$$

در این فرمول A_{blank} میزان جذب نوری کنترل منفی (که تمامی مواد به استثنای اسانس و یا عصاره‌ها را دارد) را نشان می‌دهد و A_{sample} بیانگر جذب نوری غلظت‌های مختلف اسانس و عصاره‌ها پونه می‌باشد. پس از آن غلظتی از اسانس و یا عصاره‌های پونه که دارای درصد مهار رادیکالی ٥٠ درصد بود یا (IC_{50}) توسط نمودار محاسبه شد. بدیهی است که هر چه این عدد کوچک‌تر باشد قدرت آنتی‌اکسیدانی یا مهار رادیکال‌های آزاد، بیشتر می‌باشد. در این تست به عنوان کنترل مثبت از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT استفاده شد و کلیه آزمایش‌ها سه بار تکرار شدند.

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی پونه به روش بی‌رنگ شدن بتا کاروتن

اساس این روش، بی‌رنگ شدن بتا کاروتن است که سازوکار آن، واکنش بتاکاروتن با رادیکال آزاد تولید شده در نتیجه‌ی تشکیل هیدرو پر اکساید از لینولئیک اسید می‌باشد. سرعت بی‌رنگ شدن بتا کاروتن در حضور آنتی‌اکسیدان‌ها کاهش می‌یابد، به همین منظور از این روش برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس وعصارهای پونه استفاده شد.

در این روش فعالیت آنتی‌اکسیدانی با میزان مهار اکسیداسیون لینولئیک اسید و جلوگیری از ایجاد ترکیبات فرار و هیدروپراکسیدهای کونژوگه، مورد سنجش قرار می‌گیرد [١٢] ابتدا یک محلول پایه از بتا کاروتن– لینولئیک اسید (Sigma, Aldrich) به صورت زیر تهیه شد:

٠/٥ میلی‌گرم بتاکاروتن در ١ میلی‌لیتر کلروفرم (HPLC grade) حل شد و سپس ٢٥ میکرولیتر لینولئیک اسید و ٢٠٠ میلی‌گرم توئین ٤٠ مرک (Merck) به آن اضافه شد. سپس با روش تبخیر در خلاء کلروفرم خارج شده و ١٠٠ میلی‌لیتر آب مقطر اشباع شده از اکسیژن (٣٠ دقیقه تحت فشار ١٠٠ میلی‌لیتر در دقیقه) همراه با تکان شدید به آن اضافه شد.

٢/٥ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده فوق به لوله آزمایش منتقل شد و ٣٥٠ میکرولیتر از اسانس و یا عصارها (غلظت ٢

[Downloaded from jmp.ir on 2024-09-21]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.27.3]

گرم در لیتر در اتانول) داخل لوله آزمایش ریخته شد. تمامی این مراحل در مورد BHT به عنوان کنترل مثبت و بلانک (فقط حاوی ۳۵۰ میکرولیتر اتانول) انجام شد. پس از ٤٨ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای اتاق، جذب نوری نمونه‌ها در ٤٩٠ نانومتر خوانده شد و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، از مقایسه جذب نوری نمونه‌ها با زمان صفر و از روی میزان پایداری رنگ زرد بتاکاروتن به درصد موردسنجش قرار گرفت و کلیه آزمایش‌ها سه بار تکرار شدند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها با استفاده از فرمو ل زیر محاسبه شد.

$$I\% = (A_{sample} - A_{control} / A_{control(0)} - A_{control}) \times 100$$

I٪= درصد بازدارندگی

A_{sample}= جذب نمونه بعد از زمان موردنظر

$A_{control}$ = جذب کنترل بعد از زمان موردنظر

$A_{control(0)}$ = جذب کنترل در زمان صفر

تجزیه وتحلیل آماری

اطلاعات به دست آمده به صورت میانگین ± انحراف معیار (Mean±SD) بیان شده و به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و به دنبال آن از آزمون توکی استفاده شد. p<۰/۰۵ مرز معنی‌دار بودن اطلاعات در نظر گرفته شد.

نتایج

در این تحقیق قدرت مهار رادیکال‌های آزاد و همچنین توانایی بازداری اکسیداسیون لیپید توسط اسانس و عصاره‌های آبی و الکلی گیاه پونه ایرانی (*Mentha longifolia*) به روش آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. توانایی مهار رادیکال آزاد توسط ازمایش ۲ و ۲- دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل یا DPPH ارزیابی شد. در این آزمایش با افزایش غلظت اسانس و عصاره‌ها، مهار رادیکال‌ها با قدرت بیشتری صورت گرفت. غلظتی از اسانس و عصاره‌ها که ۵۰ درصد مهار رادیکالی را سبب می‌شوند (IC_{50}) در جدول شماره ۱ در مقایسه با بوتیلیتد هیدروکسی تولوئن آورده شده است. مقدار IC_{50} اسانس پونه ایرانی ۵ ± ۱۷٦۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، عصاره آبی ۱/۲ ± ۱۰۰، عصاره اتانولی ۰/۵۸ ± ۵۳/۸ و عصاره متانولی ۰/۵ ± ۵۰ بود. در این آزمایش‌ها BHT به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد، مقدار IC_{50} بوتیلیتد هیدروکسی تولوئن ۰/۲۵ ± ٤/۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. قدرت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره‌ها در این تست نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT، ضعیف‌تر بود (p<۰/۰۵). در این ارتباط اثرات ضدرادیکالی عصاره‌های مختلف با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نداشته (p>۰/۰۵) ولی به صورت معنی‌دار برتر از اسانس بود (p<۰/۰۰۱). بر اساس اطلاعات موجود در نمودار شماره ۱ در ممانعت از اکسیداسیون لینولئیک اسید در سیستم بتا کاروتن – لینولئیک اسید در غلظت ۲ گرم در لیتر، ۱/۸ ± ٦۰، ۱/۲ ± ۷۳/۲۷، ۰/۹ ± ۸۹/۸۸، ۱/۷ ± ۸٤/۷۹ درصد اثر مهاری به ترتیب توسط اسانس، عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گیاه پونه ایرانی به دست آمد. همچنین در ارتباط با آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیلیتد هیدروکسی تولوئن ۰/۹ ± ۹۵ درصد اثر مهاری در آزمایش بتا کاروتن – لینولئیک اسید حاصل شد. همان‌گونه که دیده می‌شود قدرت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره‌های در این تست نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT، ضعیف‌تر بود. این اختلاف بین عصاره‌های مختلف با یکدیگر و BHT معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵) ولی اسانس به صورت معنی‌دار از بقیه گروه‌ها اثرات آنتی‌آکسیدانی ضعیف‌تری نشان داد (p<۰/۰۵). همچنین ترکیبات تشکیل‌دهنده‌ی اسانس پونه ایرانی در جدول شماره ۲ آمده است. با توجه به این جدول می‌توان دریافت که در اثر آنالیز GC/MS، ۳۹ ترکیب در اسانس شناسایی شده و این ترکیبات در مجموع ۹۱/۷ درصد از اسانس را تشکیل می‌دادند. اجزای اصلی اسانس پونه را ترکیبات اکسیژن‌دار مونوترپنی تشکیل می‌دانند که به ترتیب: سیس پی‌پریتون اپوکسید (Cis piperitone epoxide) (۲۸/۲۳ درصد)، آلفا ترپینه ال (Alpha-terpineol) (۱۸/٦٤ درصد)، منتون (Menthone) (۱۰/۹۷ درصد)، پوله‌گون (Pulegone) (۹/۷۳ درصد) و پی‌پریتون اکساید (Cis piperitone epoxide) (۸/۷۳ درصد) است.

[Downloaded from jmp.ir on 2024-09-21]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.27.3]

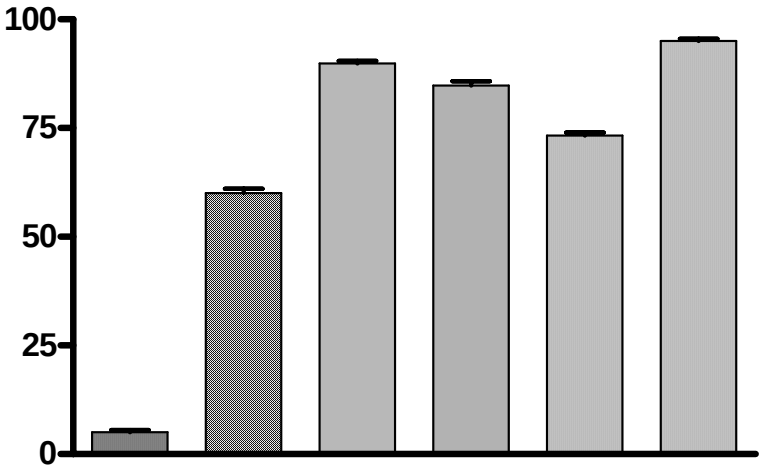
جدول شماره ۲- ترکیبات شیمیایی اسانس پونه ایرانی

ردیف	زمان به دقیقه	اندیس کواتز (kI)	ترکیب شیمیایی	درصد
۱	۱۱/۹	۹۳۹	Alpha-pinene	۰/۱۱
۲	۱۲/٤۱	۹۷٦	Sabinene	۰/۱٥
۳	۱۲/٥۷	۹۷۹	pinene–Beta	۰/٤۰
٤	۱۲/۸۳	۹۹۱	myrcene–Beta	۰/۲۱
٥	۱۳/۰٥	۹۹۲	3-octanol	۰/۲٤
٦	۱٤/۳۱	۱۰۳۱	1-8-cineole	۰/۱٥
۷	۱٤/٦٦	۱۰٤۰	Trans-ocimene	۰/۲۰
۸	۱٥/۰۸	۱۰٦۰	Delta-terpinene	۰/٦۲
۹	۱٥/۳۷	۱۰٦۹	Cis-sabinene-hydrate	۰/۳۲
۱۰	۱٦/۰۲	۱۰۸۷	Terpinolene	۰/۳۷
۱۱	۱٦/۳۱	۱۰۷۹	Linalool	۰/۳٥
۱۲	۱۷/۸	۱۱۳۸	Trans-sabinol	۰/۱٥
۱۳	۱۷/۹۲	۱۱٤٦	Camphor	۲/۷۳
۱٤	۱۸/۲۲	۱۱٥۳	Menthone	۱۰/۹۷
۱٥	۱۹/۳۳	۱۱۸۸	Alpha -terpineol	۱۸/٦٤
۱٦	۱۹/۹۳	۱۲۳٥	Pulegone	۹/۷۳
۱۷	۲۱/۲۸	۱۲٤۰	Carvone	۱/۰۸
۱۸	۲۱/۹٤	۱۲٥۲	Cis piperitone epoxide	۲۸/۲۳
۱۹	۲۲/٥۷	۱۲۹۰	Thymol	۰/۷٦
۲۰	۲۲/۷٥	۱۳۰۸	Cis-pino carvyl acetate	۰/۲۲
۲۱	۲۳/۱٤	۱۳٤۲	Piperitenone	۰/۷۷
۲۲	۲٤/۹۹	۱۳٥۲	Thymol acetate	۰/۷٥
۲۳	۲٥/۰۷	۱۳٦۳	Piperitenone oxide	۸/۷۳
۲٤	۲٦/۱۷	۱۳۸۰	Granyl acetone	۰/۱۱
۲٥	۲٦/٥۲	۱٤۱۸	Beta-caryophyllene	۰/٦۸
۲٦	۲٦/۹٥	۱٤۳۲	Beta-copaene	۰/۳۷
۲۷	۲۷/۱۷	۱٤٥٤	Alpha -caryophyllene	۰/۸٦
۲۸	۲۷/۸۲	۱٤۷۸	Gamma -muurolene	۰/۲۲
۲۹	۲۸/۰۲	۱٥۰۰	Bicyclo germacrene	۰/۸۳
۳۰	۲۸/۱٤	۱٥۰۸	Beta -bisabolene	۰/۰٤
۳۱	۲۸/۲٥	۱٥۱٤	Alpha -cadinene	۰/۱۱

[Downloaded from jmp.ir on 2024-09-21]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.27.3]

ادامه جدول شماره ۲- ترکیبات شیمیایی اسانس پونه ایرانی

ردیف	زمان به دقیقه	اندیس کواتز (kI)	ترکیب شیمیایی	درصد
۳۲	۲۸/۳۷	۱۵۲۲	Delta -cadinene	۰/۲٦
۳۳	۲۸/٤٥	۱۵۲۰	Cis- calamenene	۰/۳٥
۳٤	۲۹/۲٥	۱٥٤۱	Gamma- Cadinene	۰/۲٤
۳٥	۲۹/٤۰	۱٥٦۳	Nerolidol	۰/۲۸
۳٦	۲۹/۹٤	۱٥۷۸	Spathulenol	۰/٦۰
۳۷	۳۱/۰۹	۱٥۸۰	Caryophyllene oxide	۰/۷٤
۳۸	۳۳/۹۸	۱٦۰۷	Beta -Atlantol	۰/۰٤
۳۹	۳٦/۹٦	۱٦۰۸	Humulene epoxide II	۰/۱۰



نمودار شماره ۱- از راست به چپ اثر BHT، عصاره آبی پونه، عصاره متانولی پونه، عصاره اتانولی پونه، اسانس پونه و کنترل در ممانعت از اکسیداسیون لینولئیک اسید به درصد آورده شده است. اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس با (p<۰/۰٥) ضعیف‌تر از عصاره‌ها و BHT می‌باشد.

جدول شماره ۱- اثر اسانس، عصاره‌های آبی، متانولی و اتانولی پونه، کنترل مثبت BHT در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH

نمونه	DPPH. IC50 (µg/ml)
اسانس پونه	۱۷٦٥ ± ٥[a]
عصاره آبی	۱۰۰ ± ۱/۲۰[b]
عصاره متانولی	٥۰ ± ۰/٥۰[b]
عصاره اتانولی	٥۳/۸ ± ۰/٥۸[b]
BHT	٤/۹ ± ۰/۲٥[c]

*داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار آمده است و داده‌های با حروف لاتین متفاوت با هم اختلاف معنی‌دار دارند (p<۰/۰٥).

[Downloaded from jmp.ir on 2024-09-21]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.27.3]

بحث

ترکیبات اصلی جدا شده از اسانس پونه ایرانی با نمونه‌هایی که محققان کشورهای دیگر [۹،۱۳،۱٤] کار کردند، شباهت زیادی داشت. تفاوت مهم و چشمگیری که در اسانس پونه ایرانی نسبت به آنها مشاهده شد، مقدار قابل توجه آلفا ترپینه ال بود. این الکل مونوترپنی در اسانس پونه ایرانی ۱۰ الی ۲۰ برابر بیشتر دیده شد. تفاوت مهم دیگر مقدار کم پوله گون در اسانس ایرانی است که به عنوان مثال در مقایسه با اسانس پونه در کشور ترکیه [۹]، این ترکیب در اسانس پونه ایرانی ٤ برابر کمتر دیده شد. با توجه به سمی بودن پوله گون [۱۵،۱٦،۱۷،۱۸]، برتری اسانس پونه در ایران نسبت به اسانس جدا شده از کشورهای دیگر به خوبی مشخص می‌باشد. در این تحقیق همان گونه که مشاهده می‌شود، توانایی مهار رادیکال‌های آزاد توسط اسانس نسبت به BHT ضعیف‌تر می‌باشد ولی اگر با کار مشابه‌ای که در مورد این اسانس در کشور ترکیه انجام شده است [۹] مقایسه‌ای انجام شود، دیده می‌شود که اسانس ایرانی حدود ٦ برابر قوی‌تر از نمونه جدا شده از کشور ترکیه قدرت مهار رادیکالی دارد. با توجه به مطالب بالا و مقادیر IC_{50} اسانس و عصاره‌های پونه می‌توان نتیجه‌گیری کرد که اسانس و عصاره‌ها فعالیت آنتی‌رادیکالی نسبتاً خوبی دارند. سوئیت (Sweetie) و همکارانش [۱۹] IC_{50} عصاره اتانولی نعناع *Mentha spicata* را معادل ۲۸/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر و بوتیلیتد هیدروکسی تولوئن را برابر با ۱/ ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر اعلام نمودند.

در ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی پونه *Mentha longoifolia* توسط گلوس (Golluce) و همکارانش [۹] با روش دی پی پی اچ میزان IC_{50} عصاره متانولی ۷٤/٤ میکروگرم در میلی‌لیتر اعلام شد.

در مطالعه کامکار (Kamkar) در آزمایش مهار رادیکال آزاد، غلظت مهاری ۵۰ درصد عصاره اتانولی شوید، ۳٤۰ میکروگرم در میلی‌لیتر اعلام شد. در ارتباط با بوتیلیتد هیدروکسی تولوئن، مقدار ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر اعلام شد [۲۱].

در سال ۲۰۰۱، پترسون (Peterson) و همکاران فعالیت آنتی‌اکسیدانی جو دو سر را با دو روش DPPH و بی‌رنگ شدن بتا کاروتن اندازه‌گیری کرده و میزان ترکیبات فنولیک کل عصاره را تعیین کردند. این محققین نشان دادند بین میزان ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده ارتباط خوبی وجود دارد [۲۲] در سال ۲۰۰۲، پورتاس – مجیا (Puertas-Mejia) و همکاران، برای پونه کوهی فعالیت بالایی مشاهده کردند [۲۳]. در مطالعه گلوس و همکاران [۹] روی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی پونه *Mentha longoifolia* در تست بتا کاروتن – لینولئیک اسید قدرت مهاری عصاره ۲٤ درصد با غلظت ۲ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر اعلام شد.

در سال ۲۰۰٤، کولیسیک وهمکاران فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس پونه کوهی را با استفاده از دو روش بتا کاروتن، ۲ و ′۲–دی فنیل–۱– پیکریل هیدرازیل (DPPH) بررسی کردند [۲٤]. در سال ۲۰۰٦ بامداد (Bamdad) و همکاران، فعالیت آنتی‌اکسیدانی زیره سیاه را با دو روش بتا کاروتن، ۲ و ′۲–دی فنیل–۱–پیکریل هیدرازیل (DPPH) مطالعه و نشان دادند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره، مربوط به ترکیبات فنولیک است [۲۵].

پژوهش‌ها نشان می‌دهد که بالا بودن ترکیبات فنلی دلیل عمده بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی بعضی از عصاره‌ها از جمله عصاره‌های متانولی و اتانولی باشد. زیرا بر اساس شواهد موجود ارتباط مثبتی بین میزان ترکیبات فنلی و قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاهان وجود دارد. از طرف دیگر به نظر می‌رسد که ترکیبات فنلی که به صورت گسترده در گیاهان یافت می‌شوند و قدرت آنتی‌اکسیدانی بالایی دارند بیشتر از طریق عصاره‌های گیاهی در مقایسه با اسانس آنها قابل استخراج باشد [۳۲ – ۲٦]. نقش کلیدی ترکیب‌های فنلی به عنوان حذف‌کننده‌های رادیکال‌های آزاد در چندین مقاله گزارش شده است [۳۵ – ۳۳] از گیاهان لازم به ذکر است که ترکیبات فنلی به صورت مؤثری به عنوان دهنده هیدروژن عمل نموده لذا به عنوان یک آنتی‌اکسیدان مؤثر عمل می‌کنند، در ضمن شاید

[Downloaded from jmp.ir on 2024-09-21]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.27.3]

پایین بودن میزان ترکیبات غیرقطبی در گیاهان دلیل پایین بودن میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های تهیه شده با حلال‌های غیرقطبی باشد [۹].

نتیجه‌گیری

در این تحقیق نشان داده شد که اسانس و عصاره‌های آبی و الکلی پونه ایرانی (*Mentha longifolia*) دارای اثر آنتی‌اکسیدانی است که در این ویژگی نسبت به کارهای مشابه محققان دیگر قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتری را نشان داده است. لذا برای استفاده عملی این ترکیبات در صنعت، توصیه می‌شود تحقیقات بیشتری در زمینه ارزیابی قدرت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره در مدل‌های غذایی انجام شود.

منابع

1. Henry C and Heppell N. Nutritional losses and gains during processing: future problems and issues. *Proc. Nutr. Soc*. 2002; 61: 145 - 8.

2. Robards K, Kerr A and Patsalides E. Rancidity and its measurement in edible oils and snack foods. A Review *Analyst* 1988; 113: 213 - 24.

3. Benzie I F F, Lipid peroxidation: A review of causes, consequence, measurement and dietary influences. *Int. J. Food Sci. Nutr*. 1996; 47: 233 - 61.

4. Estevez M and Cava R. Effectiveness of rosemary essential oil as inhibitor of lipid and protein oxidation: contradictory effects in different types of frankfurters. *Meat Sci*. 2006; 72: 348 - 56.

5. Tamaino A, Cimino F, Zimbalatti V, Venuti V, Salfaro V, Pasquale A D and Saija A. Influence of heating on antioxidant activity and chemical composition of some spice essential oil. *Food Chem*. 2005; 89: 549 - 54.

6. Antolovich M, Prenzler P D, Patsalides E, Mcdonald S and Robards K. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst* 2002; 127: 183 - 98.

7. Ames B M, Dietry carcinogens and anticarcinogenes Oxygen radical and degenerative disease. *Sci*. 1983; 221: 1256 - 63.

8. Zhang H, Chen F, Wang X and Yao H Y.Evaluation of antioxidant activity of parsley (*petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents. *Food Res. Int*. 2006; 39: 833 - 9.

9. Golluce M, Sahin F, Sokmen M, Ozer H, Daferera D, Sokmen A, Polissiou M, Adiguzel A and Ozken H. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol exteract from *Mentha longifolia* L.ssp. longifolia. *Food Chem*. 2007; 103: 1449 - 56.

10. Watson DH. Food Chemical Safty vol 2, Additives. First published. Wood Head Publishing Limited. 2002, 12: 283 - 92.

11. Burits M and Bucar F. Antioxidant activity of Nigella *sativa* essential oil. *Phytotheraphy Res.* 2000; 14: 323 – 8.

12. Dapkevicius A, Venskutonis R, Van Beek T A and Linssen P H. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in *Lithuania. J. Sci. Food. Agri*. 1998; 77: 140 – 6.

13. Ghoulami S, Idrissi Aand Fkih-Tetouani S. Phytochemical study of *Mentha longifolia* of Morocco. *Fitoterapia*. 2001; 72: 596 – 8.

14. Kokkini S, Karousou R and Lanaras T. Essential oils of spearmint (Carvone-rich) plants from the island of Crete (Greece). *Biochem. Sys. Eco.* 1995; 23: 425 – 30.

15. Gordon WP, Forte AJ, McMurtry RJ, Gal J and Nelson SD .Hepatotoxicity and pulmonary toxicity of pennyroyal oil and its constituent terpenes in the mouse. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1982; 65: 413 - 24.

[Downloaded from jmp.ir on 2024-09-21]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.27.3]

16. Gordon WP, Huitric AC, Seth CL, McClanahan RH and Nelson SD. The metabolism of the abortifacient terpene, (R)-(+)-pulegone, to a proximate toxin, menthofuran. *Drug Metab. Dispos*. 1987; 15: 589 - 94.

17. Thomassen D, Knebel N, Slattery JT, McClanahan RH and Nelson SD. Reactive intermediates in the oxidation of menthofuran by cytochromes P-450. *Chem. Res. Toxicol*. 1992; 5: 123 - 30.

18. Thomassen D, Slattery JT and Nelson SD. Menthofuran-dependent and independent aspects of pulegone hepatotoxicity: roles of glutathione. *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 1990; 253: 567 - 72.

19. Sweetie R, Kanatt RC, Arun S. Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation – processed lamb meat. *Food Chem*. 2007; 100: 451 - 8.

20. Kamkar A.The study of antioxidant activity of essential oil and extract of Iranian *Anethum graveolens. J. ofogh-Danesh* 2009; 15 (2): 11 - 7**.**

21. Peterson DM, Emmons CL and Hibbs A. phenolic antioxidant activity in pearling fractions of oat groats. *J. Cereal Sci.* 2001; 3397 - 103.

22. Puertas-Mejia M, Hillebrand S, Stashenko E, and Winterhater P. In vitro radical scavenging activity of essential oils from Columbian plants and fractions from oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil. *FLav and Frager*. *J*. 2002; 17; 380 - 4.

23. Kulisic T, Radonic A, Katalinic V and Milos M. Use of different methods for testing antioxiative activity of oregano essential oil. *Food Chem*. 2004; 85: 633 - 40.

24. Bamdad F, Kadivar M and Keramat J. Evaluation of phenolic content and antioxidant activity of Iranian caraway in comparison with clove and BHT using model systems and vegetable oil. *Int. J. of Food Sci. and Technol*. 2006; 41: 7 - 20.

25. Candan F, Unlu M, Tepe B, Daferera D, Polissiou M, Sokmen AH, Akpulat A. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). *J. Ethnophama.* 2003; 87: 215 - 20.

26. Bahramikia S, Yazdanparast R. Antioxidant and free radical scavering activities of different fractions of Anethum graveolens leaves using in vitro models. *Pharmacol Online* 2008; 2: 219 - 233.

27. Chatchawan C, Soottawat B, Jakul H, Nattiga S. Antioxidant components and properties of five long- grained rice bran extracts from commercial available cultivars in Thailands. *Food Chem*. 2008; 111: (3) 636 - 41.

28. Karpinska M, Borowski J, Danowska-Oziewicz M. The use of natural antioxidants in ready- to- serve food. *Food Chem*. 2001; 72: 5 - 9.

29. Senji S, Yuuya I. Comparison of antioxidant properties of persimmon vinegar and some other commercial vinegar in radical-scavenging assays and on lipid oxidation in tuna homogenates. *Food Chem*. 2008; 107 (2): 739 - 44.

30. Yadegarinia D, Gachkar L, Rezaei MB, Taghizadeh M, Astaneh SA, Rasooli I. Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. *Phytochem*. 2006; 67: 1249 - 55.

31. Muret K, Sevgi K, Sengul K, Esra U, Cemalettin B, Fedra V. Biological activities, chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chem*. 2007; 100 (2): 534 - 26.

32. Katalinic V, MIlos M, Kulisic T, Jukic M. Sceerning of 70 medical plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chem*. 2006; 94: 550 - 77.

33. Theriault M, Caillet S, Kermash S, Lacroix M. Antioxidant, antiradical and atimutagenic activity

[Downloaded from jmp.ir on 2024-09-21]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.27.3]

of phenolic compounds present in maple products. *Food Chem*. 2006; 98: 490 - 501.

34. Aeschbach R, LoÉliger J, Scott BC, Murcia A, Butler J, Halliwell B and Aruoma OI. Antioxidant action of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol. *Food Chem. Toxicol*. 1994; 32: 31 - 6.

[Downloaded from jmp.ir on 2024-09-21]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.27.3]