مقاله پژوهشی

بررسی و مقایسه عملکرد آنتی‌اکسیدانتی و تعیین محتوای تام فنلی اسانس و عصاره الکلی-آبی گیاه اناریجه (*Pimpinella Affinis*)

فاطمه اسماعیلی[۱]، حسین تاجیک[۲]، تورج مهدی زاده[*۳]، مهسا مایلی[٤]

تاریخ دریافت ۱۳۹۶/۰۲/۰۳ تاریخ پذیرش ۱۳۹۶/۰۴/۰۱

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: امروزه با توجه به اثرات نامطلوب آنتی‌اکسیدانت‌های سنتزی، تمایل زیادی به استفاده از گیاهان به دلیل دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانتی وجود دارد. این مطالعه نیز، باهدف بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانتی گیاه اناریجه *(Pimpinella affinis)*به‌عنوان جایگزینی برای آنتی‌اکسیدانت‌های سنتزی انجام گردید.

مواد و روش کار: محتوای تام فنلی با استفاده از روش فولین سیوکالتو اندازه‌گیری شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانتی اسانس و عصاره آبی - الکلی در غلظت‌های مختلف با استفاده از سه روش، مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS و ارزیابی قدرت احیاکنندگی در مقایسه با BHT مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: میزان فنل کل اسانس و عصاره اناریجه به ترتیب برابر با ۴/۲۵±۵۳/۱۴ و ۱/۱۲±۳۷/۶۸ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره بود. در روش DPPH عصاره اثر مهاری قابل‌توجهی از خود نشان داد و اختلاف معنی‌داری با اسانس داشت ($p\leq ۰/۰۵$). در ارزیابی قدرت احیاکنندگی نیز با افزایش غلظت اسانس و عصاره، شاهد افزایش در قدرت احیاکنندگی آهن بودیم. در آزمون ABTS بیشترین فعالیت آنتی رادیکالی اسانس و عصاره مربوط به غلظت ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اناریجه به ترتیب با درصد بازدارندگی ۲۴درصد و ۹۲درصد بود که در مقایسه با BHT بازدارندگی کم‌تری نشان دادند.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج به‌دست‌آمده در این مطالعه نشان داد که اسانس و عصاره الکلی-آبی اناریجه دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانتی بوده و پس از انجام تحقیقات جامع‌تر می‌توانند در صنایع غذایی و دارویی مورداستفاده واقع شوند.

کلیدواژه‌ها: اناریجه، اسانس، اثرات آنتی‌اکسیدانتی، عصاره الکلی آبی، فنل کل

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و هشتم، شماره پنجم، ص ۳۲۰-۳۱۱، مرداد ۱۳۹۶

آدرس مکاتبه: ارومیه، پردیس نازلو، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی. تلفن: ۰۴۴۳۱۹۴۲۶۷۳

Email: T.mehdizadeh@urmia.ac.ir

مقدمه

بیماری‌های مزمن در جهان به‌سرعت در حال افزایش می‌باشد. رادیکال‌های آزاد که با مولکول‌های زیستی مانند پروتئین‌ها و DNA و ... واکنش می‌دهند منجر به بیماری‌هایی مزمن همچون سرطان و دیابت می‌گردند (۱). علاوه بر تأثیر رادیکال‌های آزاد بر بیومولکول‌ها، این ترکیبات ازجمله عوامل مهم اکسیدکننده مواد غذایی خصوصاً چربی‌ها و روغن‌ها بوده (۲) و باعث اثرات نامطلوب ارگانولپتیکی و از بین رفتن ویتامین‌ها و اسیدهای چرب ضروری می‌شوند. از طرفی با توجه به تأثیر نامطلوب چربی اکسیدشده بر سلامت انسان (۳، ۴)، استفاده از آنتی‌اکسیدانت‌ها که ترکیباتی هستند که از طریق واکنش با رادیکال‌های آزاد آن‌ها را خنثی می‌کنند و در نتیجه سبب جلوگیری یا کاهش اثرات مخرب آن‌ها در بدن می‌شوند، برای مهار شکل‌گیری این ترکیبات، ضروری به نظر می‌رسد. آنتی‌اکسیدانت‌ها می‌توانند سنتزی یا با منشأ طبیعی باشند (۱). اخیراً استفاده از افزودنی‌های سنتتیک ازجمله بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT)، بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA) و تری بوتیل هیدروکینون (TBHQ) در محصولات غذایی، به دلیل اثرات نامطلوبی که بر سلامتی دارند دارای محدودیت می‌باشد و به همین دلیل تمایل

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی ، دانشگاه ارومیه

[۲] استادیار، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

[۳] استاد، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه (نویسنده مسئول)

[٤] دانشجوی کارشناسی ارشد بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی ، دانشگاه ارومیه

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-20]

زیادی به استفاده از آنتی‌اکسیدانت‌های طبیعی به‌منظور حفظ مواد غذایی وجود دارد (۵-۹). گیاهان دارای مواد شیمیایی نظیر فلاونوئیدها، تانن، اسیدهای فنولیک، ترپنوئیدها بوده که منبع بالقوه‌ای از آنتی‌اکسیدانت‌های طبیعی به شمار می‌روند. این ترکیبات آنتی‌اکسیدانتی دارای فعالیت ضدالتهابی و ضد سرطانی می‌باشند (۱۰، ۱۱). در سال‌های اخیر مطالعات زیادی در مورد بسیاری از منابع آنتی‌اکسیدانتی با منشأ گیاهی انجام شده است. از میان این آنتی‌اکسیدان‌ها، ترکیبات مستخرج از بسیاری از گیاهان معطر نشان داده‌اند که در به تأخیر انداختن روند پراکسیداسیون لیپیدی در روغن و غذاهای چرب مؤثر بوده و همین امر توجه محققان زیادی را برای شناسایی این آنتی‌اکسیدانت‌های طبیعی به خود معطوف ساخته است (۹). گیاه انارجه با نام علمی *پیمپینلا آفینیس*[1] در ایران قسمت‌های شمال، شمال غرب، غرب، مرکز و شمال شرق پراکنده است. انارجه از خانواده چتریان است (۱۲). انارجه ازجمله گیاهان دارای خواص آنتی‌اکسیدانتی می‌باشد (۱۳). در طب سنتی نیز نقش این گیاه به‌عنوان ضد نفخ، ضدعفونی‌کننده، ضداسپاسم و ادرارآور به اثبات رسیده است (۱۴). همچنین این گیاه دارای خاصیت ضدسرطانی نیز می‌باشد (۱۳). به دلیل خودرو بودن و ارزان بودن استفاده از این گیاه به‌عنوان یک عامل طعم‌دهنده در صنایع غذایی دارای صرفه اقتصادی می‌باشد. مطالعات انجام شده در مورد گونه‌های دیگر *پیمپینلا* نشان داده که این گیاه دارای خواص آنتی‌اکسیدانتی می‌باشد (۱۳، ۱۵). همچنین خواص ضد قارچی آن علیه فوزاریوم (۱۶) و اثرات ضد میکروبی اسانس آن علیه باکتری‌های مختلف به اثبات رسیده است (۱۷). در تحقیق سلمانیان و همکاران (۱۸) نشان داده شد که عصاره گیاه انارجه حاوی مقادیر قابل‌توجهی از ترکیبات فنول، فلاونوئید و کاروتنوئید با خاصیت بالای آنتی‌اکسیدانتی می‌باشد. همچنین بررسی‌ها نشان داده است که اسانس انارجه شامل ترکیباتی مانند آلفا پینن ۰/۸درصد کومین الکل ۵۵/۶درصد، کارواکرول ۰/۹درصد، ترپینولن ۱۴/۹درصد، لیمونن ۷/۸درصد می‌باشد (۱۹). در تحقیق دیگری علاوه بر این ترکیبات جایجیرن، پری جایجیرن و جرماکرن نیز جداسازی شده است (۱۷). فاکتورهای مختلفی مانند دمای استخراج، زمان، روش استخراج و نیز نوع حلال مورد استفاده تأثیر بسزایی بر ترکیبات و محتوی عصاره‌های گیاهی داشته و در این میان تأثیر نوع حلال به علت قطبیت آن و تمایل ترکیب با مواد مختلف مؤثرتر است (۲۰). در صنایع داروئی و غذایی از عصاره یا اسانس یک گیاه بسته به ویژگی‌های عملکردی آن استفاده می‌شود. با توجه به اینکه گیاه انارجه ازجمله گیاهان پراکنده، بومی و دسترس در ایران بوده و به‌صورت سنتی به‌عنوان گیاه داروئی و طعم‌دهنده مورد استفاده قرار می‌گیرد، لذا با در نظر گرفتن این مهم و اینکه اطلاعات کمی در خصوص خواص آنتی‌اکسیدانتی اسانس گیاه انارجه و مقایسه آن با روش‌های مختلف با عصاره گزارش‌شده بنابراین لزوم توجه و بررسی مقایسه‌ایی دقیق علمی آن از نکته نظر استفاده کاربردی آن حائز اهمیت می‌باشد. لذا این مطالعه باهدف بررسی و مقایسه اثر آنتی‌اکسیدانتی اسانس و عصاره آبی-الکلی گیاه انارجه در شرایط آزمایشگاهی با روش‌های مختلف انجام گرفته است.

مواد و روش کار

مواد شیمیایی: تمام مواد شیمیایی، حلال‌ها و معرف مورد استفاده از شرکت مرک (آلمان) و سیگما (آمریکا) خریداری شدند.

تهیه نمونه گیاه و استخراج اسانس: گیاه انارجه در فصل بهار از شهر آمل جمع‌آوری‌شده و تشخیص گیاه موردنظر توسط گیاه‌شناس انجام گرفت. اندام‌های هوایی گیاه پس از شستشو و خشک‌کردن در سایه جهت اسانس گیری با روش تقطیر با آب و توسط دستگاه کلونجر به مدت ۲ ساعت مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه عصاره آبی- الکلی: ساقه و برگ گیاه در سایه و دمای محیط خشک گردید. سپس توسط آسیاب به‌صورت پودر درآمده و از الک به‌اندازه ۶۰ مش[2] عبور داده شد. ۲۰۰ گرم پودر در یک لیتر اتانول خالص و آب به نسبت ۷۰ به ۳۰ حل‌شده و به مدت ۲۴ ساعت در روتاری شیکر با دور Rpm۱۵۰ قرار داده شد و بعدازآن از کاغذ واتمن شماره ۴۱ عبور داده شد و سپس برای حذف حداقل ۹۰ درصد حلال در دستگاه روتاری قرار گرفت و درنهایت برای تغلیظ نهایی در آون ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و تا زمان انجام آزمایش در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی:

به‌منظور بررسی محتوای تام فنلی گیاه از روش فولین سیوکالتو[3] استفاده شد. در این روش محلول فولین سیوکالتو به‌عنوان معرف و اسید گالیک که یک نوع اسید فنولی می‌باشد به‌عنوان استاندارد جهت رسم منحنی استفاده شد. به این صورت که غلظت‌های مختلف اسانس و عصاره گیاه و گالیک اسید تهیه شد. سپس به ۵۰۰ میکرولیتر از آن، آب مقطر، معرف فولین سیوکالتو و سدیم کربنات (۷/۵درصد) اضافه گردید. بعد از گذشت ۱۲۰ دقیقه میزان جذب نوری نمونه‌ها در مقایسه با شاهد، توسط دستگاه

[1] Pimpinella affinis

[2] Mesh

[3] Folin-Ciocalteu

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-20]

اسپکتوفتومتر در طول‌موج ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد اسید گالیک به‌منظور تعیین میزان فنل کل ترسیم شد و میزان فنل برحسب میلی‌گرم گالیک اسید به ازای هر گرم عصاره تعیین شد (۲۱).

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانتی: بررسی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانتی با سه روش زیر صورت گرفت:

الف: روش DPPH [۴]: در این تست اندازه‌گیری میزان بی‌رنگ شدن محلول بنفش ۲ و ۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل یا (DPPH) در متانول از طریق توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون در عصاره‌ها و ترکیبات مختلف انجام می‌گیرد. معرف مورد استفاده در این روش ۲ و ۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل یا (DPPH) می‌باشد. به این صورت که به ۵۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره و اسانس محلول ۰/۰۰۴ درصد ۲ و ۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل یا (DPPH) در متانول اضافه گردید. سپس بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در یک مکان تاریک در دمای اتاق، جذب نوری نمونه‌ها در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. در بازدارندگی رادیکال‌های آزاد از رابطه زیر محاسبه شد:

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

در این فرمول A_{blank} میزان جذب نوری کنترل (که حاوی تمام مواد به‌استثنای اسانس و عصاره می‌باشد) را نشان می‌دهد و A_{sample} بیانگر قدرت جذب نوری غلظت‌های مختلف عصاره و اسانس گیاه اناریجه می‌باشد. در این تست از آنتی‌اکسیدانت سنتزی BHT به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد (۲۲).

ب: ارزیابی قدرت احیاکنندگی [۵] **:** برای این منظور یک میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره، اسانس و آنتی‌اکسیدانت سنتزی BHT با یک میلی‌لیتر فسفات بافر و یک میلی‌لیتر فروسیانید پتاسیم مخلوط شدند و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس‌تری کلریک اسید افزوده شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۶۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. درنهایت به آن آب مقطر و فریک کلراید اضافه شد. میزان جذب نوری بعد از گذشت مدت‌زمان ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، در طول‌موج ۷۰۰ نانومتر قرائت گردید (۲۳).

ج: ارزیابی قدرت مهارکنندگی رادیکال ABTS[۶]: این آزمون با استفاده از روش روبرتا و همکاران (۲۴) با اندکی تغییرات انجام شد. ابتدا محلول‌های پایه شامل ABTS (۷ میلی مولار) و پتاسیم پرسولفات (۲/۴۵ میلی مولار) تهیه شد و در ادامه محلول اصلی $ABTS^{\bullet+}$ به‌وسیله مخلوط کردن دو محلول پایه به مقدار مساوی با یکدیگر تهیه شده و در ادامه این مخلوط در دمای اتاق و محیط تاریک به مدت ۱۶ ساعت به‌منظور تکمیل واکنش نگهداری شد. محلول تهیه شده برای رسیدن جذب نوری به (۰/۲±) ۰/۷ در طول‌موج ۷۳۴ نانومتر با اتانول رقیق شد. به ۲ میلی‌لیتر از محلول تازه تهیه شده ABTS میزان ۰/۲ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف اسانس، عصاره و BHT اضافه شد و بعد از نگهداری به مدت ۶ دقیقه در تاریکی، جذب نوری نمونه‌ها در ۷۳۴ نانومتر اندازه‌گیری شده و درصد بازدارندگی نمونه‌ها از رابطه زیر محاسبه گردید و به‌صورت ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی معادل اسید آسکوربیک گزارش شد.

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

در این فرمول A_{blank} میزان جذب نوری کنترل را نشان می‌دهد و A_{sample}بیانگر قدرت جذب نوری غلظت‌های مختلف عصاره و اسانس گیاه می‌باشد.

تجزیه‌وتحلیل آماری: تمام آزمون‌ها سه بار تکرار گردیدند و تحت نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام پذیرفت. نتایج $p\leq 0.05$ ازنظر آماری معنی‌دار فرض شدند. برای بررسی رابطه بین آزمایش‌های آنتی‌اکسیدانتی. و فنل کل از ضریب و همبستگی پیرسون استفاده شد. برای رسم منحنی‌ها از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

یافته‌ها

ازآنجاکه عامل اصلی وجود خاصیت آنتی رادیکالی در گیاهان، ترکیبات فنلی موجود در آن‌ها می‌باشد (۵) میزان فنل کل گیاه اناریجه تعیین گردید. منحنی استاندارد اسید گالیک به‌منظور تعیین میزان فنل کل در شکل شماره ۱ ترسیم شد.

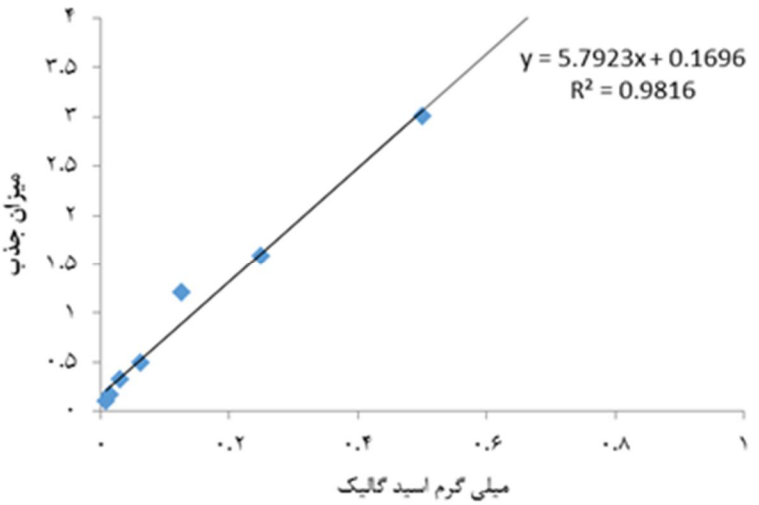
نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که عصاره آبی-الکلی گیاه اناریجه حاوی ۳۷/۶۸درصد و اسانس گیاه اناریجه حاوی ۵۳/۱۴درصد ترکیبات فنولیک معادل گالیک اسید بر گرم نمونه گیاه می‌باشد همان‌طوری که ملاحظه می‌شود اسانس به‌صورت معنی‌داری دارای میزان فنل تام بیشتری نسبت به عصاره الکلی-آبی این گیاه است. با توجه به جدول شماره ۱ مشاهده شد که بین میزان فنل تام اسانس و عصاره الکلی-آبی اناریجه با میزان اثرات آنتی‌اکسیدانتی آن‌ها در روش DPPH همبستگی معنی‌داری وجود دارد و میزان همبستگی آن برای عصاره در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار است.

[4] 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

[5] Reducing Power

[6] 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-20]



شکل (۱): منحنی استاندارد اسید گالیک

جدول (۱): مقایسه مقادیر فنل کل عصاره الکلی - آبی و اسانس اناریجه و میزان همبستگی میان فنول کل و مقادیر فعالیت آنتی‌اکسیدانتی.

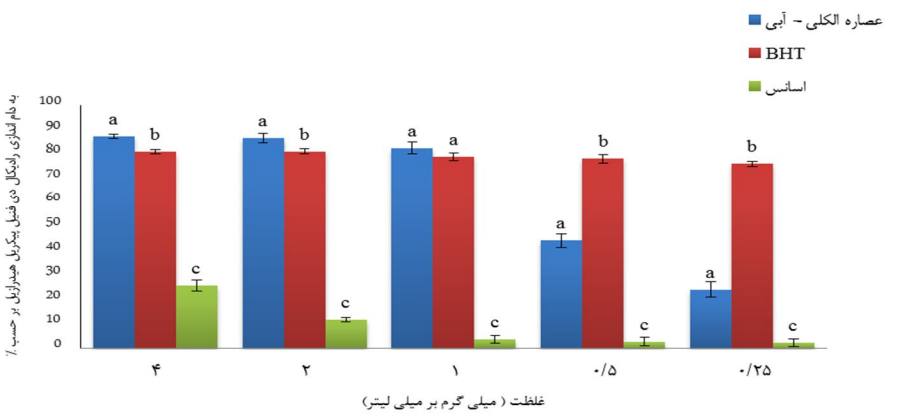
		سنجش آنتی‌اکسیدانتی بروش DPPH	
میلی‌گرم گالیک اسید / گرم عصاره		مقدار Significant(P)	R^{****}
مقدار فنل کل عصاره الکلی- آبی	^{a*} ۳۷/۱±۶۸/۱۲	۰/۰۳۸^{xx}	۰/۷۶۵
مقدار فنل کل اسانس	^{b} ۵۳/۴±۱۴/۲۵	۰/۰۰۳^{xxx}	۰/۹۷۰

*حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است (p<۰/۰۵).

^{xx} همبستگی در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار است.

^{xxx} همبستگی در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار است.

**** Pearson's r

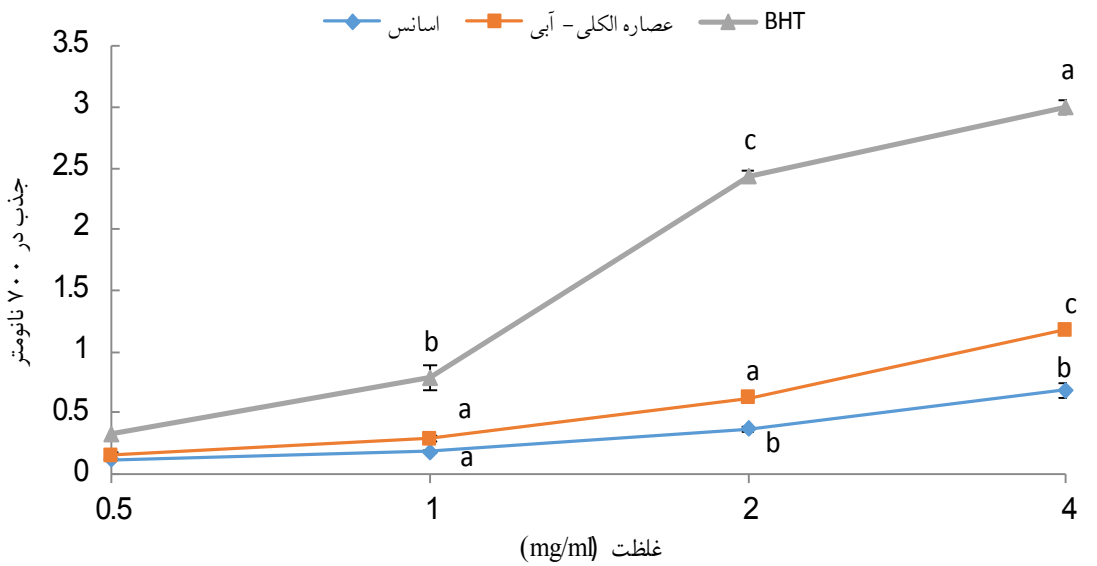


شکل (۲): میزان به دام اندازی رادیکال DPPH غلظت‌های مختلف عصاره الکلی- آبی و اسانس اناریجه در مقایسه با BHT. حروف غیرمشابه در هر غلظت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است (p<۰/۰۵).

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-20]

در روش DPPH میزان جذب نشان‌دهنده مقدار باقی‌مانده DPPH است که هر چه این مقدار بیشتر باشد بیانگر فعالیت کم آنتی‌اکسیدانت‌ها در حذف رادیکال آزاد می‌باشد. غلظت‌های مختلف اسانس، عصاره و BHT و درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH در شکل ۱ آورده شده است همان‌گونه که مشاهده می‌شود در این آزمون با افزایش غلظت اسانس و عصاره الکلی-آبی، مهار رادیکال DPPH با قدرت بیشتری صورت گرفته و در همه‌ی غلظت‌ها اختلاف معنی‌داری بین اسانس و عصاره وجود دارد (p<۰/۰۵) همچنین قدرت مهارکنندگی در عصاره بیشتر از اسانس می‌باشد. قدرت مهارکنندگی عصاره در غلظت‌های ۱ و ۲ و ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر حتی از آنتی‌اکسیدانت سنتزی BHT نیز بیشتر بود که این اختلاف در دو غلظت آخر بیشتر معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۵).

نتایج به‌دست‌آمده در آزمایش ارزیابی قدرت احیاکنندگی که در شکل شماره ۳ آمده است همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود در محدوده غلظت تعیین‌شده میزان جذب برای اسانس ۰/۶۸۸-۰/۱۱۲ و برای عصاره الکلی-آبی ۱/۱۷۵-۰/۱۵۰ بوده که در مقایسه بین عصاره و اسانس گیاه انارجه در غلظت‌های بالا اختلاف معنی‌داری وجود دارد به این معنی که عصاره گیاه انارجه خاصیت آنتی‌اکسیدانتی بیشتری را نسبت به اسانس نشان داد. این محدوده جذب برای BHT۳ -۰/۳۲۲ ۰ بوده که بیانگر قدرت احیاکنندگی قوی‌تر آن در مقایسه با اسانس و عصاره الکلی-آبی انارجه است.



شکل (۳): میزان قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها و اسانس انارجه در مقایسه با BHT. حروف غیرمشابه در هر غلظت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است. (p<۰/۰۵)

در آزمون ABTS نیز رادیکال کاتیون‌های ABTS با آنتی‌اکسیدانت‌ها یا دیگر گونه‌های رادیکالی که دهنده‌ی هیدروژن می‌باشند، واکنش داده و به شکل کاهش یافته درمی‌آید در نتیجه از طریق تعیین میزان این کاهش، جذب در طول‌موج ۷۳۴ نانومتر، می‌توان به درصد بازدارندگی آنتی‌اکسیدانت موردنظر پی برد. همان‌طور که از جدول ۳ مشخص است از غلظت ۰/۲۵ تا ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، یک رابطه مستقیم بین غلظت اسانس و عصاره انارجه و قدرت آن‌ها در مهار رادیکال ABTS وجود داشته و با افزایش غلظت اسانس و عصاره در این محدوده غلظت، قدرت آنتی رادیکالی آن افزایش یافته است، به‌گونه‌ای که در غلظت ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره انارجه با بازدارندگی ۹۲ درصدی در مقایسه با BHT اثر خوبی از خود نشان داده است ولی میزان بازدارندگی اسانس نسبت به عصاره و BHT به‌صورت معنی‌داری ضعیف‌تر بوده است. در جدول ۲ ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی معادل آسکوربیک اسید نیز آورده شده است.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-20]

جدول (۲): درصد بازدارندگی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل آسکوربیک اسید غلظت‌های مختلف عصاره الکلی - آبی، اسانس اناریجه و BHT

غلظت (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)		ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی معادل آسکوربیک اسید (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	درصد بازدارندگی
۰/۲۵	عصاره	^{aA} ۰/۰±۰۱/۰۰	^{aA} ۱۲/۲±۳۸/۵۵
	اسانس	^{bA} ۰/۰±۰۴/۰۰	^{bA} ۳/۰±۱۳/۴۷
	BHT	^{cA} ۰/۰±۱۹/۰۲	^{cA} ۹۳/۲±۵۳/۴۷
۰/۵	عصاره	^{aB} ۰/۰±۰۳/۰۰	^{aB} ۲۴/۲±۲۰/۴۶
	اسانس	^{bB} ۰/۰±۰۱/۰۰	^{bB} ۶/۱±۴۲/۲۹
	BHT	^{cA} ۰/۰±۱۹/۰۰	^{cA} ۹۴/۶±۶۶/۳۹
۱	عصاره	^{aC} ۰/۰±۰۷/۰۰	^{aC} ۴۵/۷±۶۶/۰۱
	اسانس	^{bC} ۰/۰±۰۱/۰۰	^{bC} ۹/۰±۵۶/۸۵
	BHT	^{cA} ۰/۰±۱۹/۰۲	^{cA} ۹۵/۵±۷۳/۴۵
۲	عصاره	^{aC} ۰/۰±۰۸/۰۱	^{aC} ۵۵/۴±۴۰/۱۳
	اسانس	^{bD} ۰/۰±۰۱/۰۰	^{bD} ۱۲/۱±۲۲/۳۱
	BHT	^{cA} ۰/۰±۲۰/۰۲	^{cA} ۹۸/۲±۹۳/۳۲
۴	عصاره	^{aD} ۰/۰±۱۴/۰۲	^{aD} ۹۲/۴±۳۸/۱۳
	اسانس	^{bE} ۰/۰±۰۳/۰۰	^{bE} ۲۴/۲±۹۲/۳
	BHT	^{cA} ۰/۰±۲۰/۰۴	^{cA} ۱۰۰/۰±۰/۰

در هرستون حروف کوچک غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح$p\leq0.05$ بین عصاره، اسانس و BHT در غلظت یکسان می‌باشد.

حروف بزرگ غیرمشابه نیز نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین غلظت‌های مختلف یک ترکیب در سطح $p\leq0.05$ می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

گیاهانی که حاوی ترکیبات فنلی هستند جز آنتی‌اکسیدانت‌های طبیعی محسوب می‌شوند. فنل‌ها ترکیبات گیاهی بسیار مهمی هستند که توانایی مهار رادیکال‌ها توسط آن‌ها به دلیل گروه هیدروکسیل موجود در آن‌ها می‌باشد (۲۵). ترکیبات آنتی‌اکسیدانتی فراوانی در گیاهان وجود دارد بنابراین خاصیت آنتی‌اکسیدانتی گیاهان با روش‌های متعددی موردبررسی قرار می‌گیرد. ترکیبات حاوی فلاونوئید و سولفور، دی آلیل سولفید، تری سولفید و آلیل سیستئین به‌عنوان ترکیبات مؤثر در ویژگی‌های بیولوژیکی گیاه اناریجه گزارش شده‌اند (۲۶، ۲۷). در مطالعه حاضر فعالیت آنتی‌اکسیدانتی اسانس و عصاره گیاه اناریجه به سه روش DPPH، ABTS و قدرت احیاکنندگی ارزیابی گردید. این بررسی نشان داد که میزان ترکیبات فنلی در عصاره الکلی-آبی گیاه معادل ۳۷/۶۸ میلی‌گرم بر گرم بود درحالی‌که این میزان برای اسانس ۵۳/۱۴ میلی‌گرم بر گرم می‌باشد. نتایج مشابهی نیز در مطالعه‌ایی که بر روی برگ گیاه ویتکس انجام شد به‌دست آمد. به‌طوری‌که محتوای فنل تام اسانس برگ ویتکس به‌طور معنی‌داری بیشتر از عصاره هیدرو الکلی آن بود (۲۸). علت بالا بودن میزان ترکیبات فنلی در اسانس در مقایسه با عصاره را می‌توان به تفاوت در نوع روش تهیه و استخراج، ماهیت شیمیایی آن‌ها و نیز متفاوت بودن ترکیبات مؤثره هرکدام از آن‌ها مرتبط دانست. گولیسین و همکارانش گزارش کردند که بین میزان ترکیبات فنلی و اثر آنتی‌اکسیدانتی عصاره گیاهی ارتباط مستقیمی وجود ندارد به‌طوری‌که میزان فنل عصاره اتانولی بیشتر از عصاره آبی بوده ولی اثر آنتی‌اکسیدانتی عصاره اتانولی نسبت به آبی کم‌تر می‌باشد (۱۳). در مطالعه‌ای دیگر، که بر روی ۲۸ محصول گیاهی انجام شد مشخص گردید که در بسیاری از موارد بین میزان فنل و بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانتی همبستگی وجود ندارد در دلیل این امر بیان‌شده که احتمالاً فاکتورهای دیگری در فعالیت آنتی‌اکسیدانتی نقش دارند (۲۹). در این مطالعه میزان ترکیب فنلی برای عصاره متانولی گیاه اناریجه ۵۴۷/۳۷ میلی‌گرم بر گرم به‌دست آمد (۳۰). در مطالعه‌ای دیگر میزان ترکیبات کل فنولی برای عصاره اتانولی اناریجه فنل تام برابر با ۴۴/۴۴ میلی‌گرم بر گرم گزارش شده است (۱۸). علت این تفاوت علاوه بر مرتبط بودن به نوع حلال‌های مورد استفاده و نیز

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-20]

روش استخراج، به محل جغرافیایی، فصل جمع‌آوری و سن گیاه نیز مربوط است که منجر به تفاوت در میزان ترکیبات فنلی مؤثر می‌شود (۳۱). نوع روش استخراج نیز در این مورد مؤثر است به‌عنوان‌مثال در یک مطالعه توسط شکوه صارمی و همکاران تأثیر روش استخراج عصاره اناریجه با روش‌های مختلف شامل مسریشن، اولتراسوند و روش سیال فوق بحرانی موردمطالعه قرار گرفت و نتایج نشان داد که بیشترین کارایی را روش استخراج با سیال فوق بحرانی دارد (۳۲). در بررسی توانایی جمع‌آوری رادیکال‌های DPPH اسانس اناریجه اثر ضد رادیکالی از خود نشان داده است اما توانایی مهار رادیکال‌های آزاد توسط اسانس نسبت به عصاره و BHT ضعیف‌تر می‌باشد. در مورد اثر مهارکنندگی عصاره، با افزایش غلظت، شاهد افزایش در مهار رادیکال آزاد DPPH بودیم که میزان این مهارکنندگی در غلظت‌های ۲ و ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌طور معنی‌داری از آنتی‌اکسیدانت سنتزی BHT بیشتر می‌باشد. سلمانیان و همکاران درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH را برای BHT و عصاره در محدوده غلظت ۳۰۰-۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ترتیب ۸۵/۷۷-۴/۲۳ و ۸۰/۸۲-۲/۹۴ درصد گزارش کردند (۱۸). علت بالا بودن قدرت آنتی‌اکسیدانتی عصاره در مقایسه با اسانس علاوه بر تفاوت ماهیت شیمیایی، در برخی موارد به علت ایجاد حالت هم‌افزایی بین ترکیبات تشکیل‌دهنده یک عصاره نیز مربوط می‌شود که منجر به افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانتی کلی آن می‌شود. از نکته نظر استفاده کاربردی در مطالعه عطایی صالحی و همکاران در بررسی اثر عصاره گیاه اناریجه در پایدارسازی روغن کانولا طی شرایط ذخیره‌سازی گزارش گردید که گیاه اناریجه به‌عنوان یک منبع غنی از ترکیبات فنلی و توکوفرولی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانتی می‌باشد (۳۱). در مطالعه‌ای که بر روی بررسی اثر آنتی‌اکسیدانتی عصاره دانه رازیانه بر پایداری روغن آفتابگردان انجام گردید غلظت‌های ۲۵۰ و ۳۰۰ ppm از عصاره دانه رازیانه نسبت به آنتی‌اکسیدانت سنتزی BHT و BHA فعالیت آنتی‌اکسیدانتی بالاتری را در روغن آفتابگردان از خود نشان داده‌اند (۳۳). در ارزیابی قدرت احیاکنندگی، میزان رنگ بستگی به میزان احیا شدن Fe^{3+} به Fe^{2+} توسط آنتی‌اکسیدانت‌های موجود در اسانس و عصاره گیاه دارد که هر چه میزان آنتی‌اکسیدانت موجود بیشتر باشد، میزان احیا شدن و تولید Fe^{2+} نیز بیشتر بوده و در نتیجه رنگ آبی ایجادشده اسانس و عصاره بیشتر شده و عدد جذب نوری بزرگ‌تری به‌دست خواهد آمد. در مقایسه بین اسانس و عصاره الکلی-آبی اناریجه و BHT اختلاف معنی‌داری وجود داشت. قدرت احیاکنندگی در غلظت ۴ میلی‌گرم برای اسانس، عصاره الکلی-آبی و BHT به ترتیب ۱/۰،۱۷۵/۶۸۸، ۳ می‌باشد که بیشترین میزان قدرت احیاکنندگی مربوط به BHT بوده و عصاره نیز نسبت به اسانس با اختلاف معنی‌داری دارای قدرت احیاکنندگی بالاتری بود. در مطالعه‌ای که بر روی اثر آنتی‌اکسیدانتی گیاه اناریجه انجام شده، اعلام کردند که این گیاه از فعالیت احیاکنندگی خوبی برخوردار است. در بررسی گولیسین بر فعالیت آنتی‌اکسیدانتی گیاه *pimpinella anisum*، میزان جذب و احیاکنندگی عصاره متانولی و آبی با افزایش غلظت، روند افزایشی داشته است ولی قدرت احیاکنندگی هر دو عصاره به‌صورت معنی‌داری نسبت به BHA و BHT کم‌تر می‌باشد (۱۳). که این نتایج با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. در روش ABTS از غلظت ۰/۲۵ تا ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، یک رابطه مستقیم بین غلظت‌های اسانس و عصاره الکلی-آبی اناریجه و قدرت مهار رادیکال‌های ABTS وجود داشت و در غلظت‌های بالا دارای قدرت آنتی رادیکالی بیشتری می‌باشند به‌گونه‌ای که بیشترین درصد بازدارندگی در مورد اسانس و عصاره در غلظت ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب ۲۴درصد و ۹۲درصد بود. درصد بازدارندگی اسانس و عصاره از BHT کم‌تر بود ولی عصاره دارای درصد بازدارندگی قابل‌توجهی می‌باشد که قابل‌رقابت با آنتی‌اکسیدانت سنتزی BHT در غلظت ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است.

هرچند که نتایج این تحقیق نشان‌دهنده بالاتر بودن قدرت آنتی‌اکسیدانتی عصاره نسبت به اسانس بود ولی نیاز به انجام آزمایشات تکمیلی‌تر مانند روش‌های تعیین فلاونوئیدها، اندازه‌گیری توان آنتی‌اکسیدانتی به روش احیاء آهن یون آهن (III)، روش رنگ بری بتاکاروتن و سایر روش‌ها نیز برای بررسی دقیق‌تر توصیه می‌گردد. از طرفی تحقیق بر روی کارایی این گیاه بر مهار اکسیداسیون در مدل‌های غذایی نیز بسیار می‌تواند سودمند باشد.

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق مشخص شد که اسانس و عصاره الکلی-آبی اناریجه دارای اثر آنتی‌اکسیدانتی قابل‌ملاحظه‌ای در مقایسه با BHT می‌باشند. همچنین مشخص شد که به‌غیراز میزان ترکیبات فنلی در سایر آزمون‌های انجام گرفته عصاره اناریجه به‌طور معنی‌داری قدرت بالاتری را نشان داد. ضمن اینکه پیشنهاد می‌شود که تأثیر سایر عوامل مانند روش‌های مختلف عصاره گیری مانند فراصوت، مایکروویو و دی‌اکسید کربن فوق بحرانی و غیره و نیز روش‌های نوین اسانس گیری مانند روش استخراج با کمک دی‌اکسید کربن نیز به‌منظور تکمیل این تحقیق انجام شود، لیکن این یافته‌ها در کنار تحقیقاتی که منجر به استخراج مواد مؤثره این گیاه شود، می‌تواند زمینه را برای کاربرد بیشتر در پزشکی و بیماری‌های مزمن مرتبط با استرس اکسیداتیو مانند: سرطان، بیماری‌های قلبی و عروقی و دیابت فراهم نموده و نیز به‌عنوان مواد نگه‌دارنده طبیعی در صنایع غذایی و داروئی مورد استفاده قرار گیرند.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-20]

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه که با حمایت مادی و معنوی خود در اجرای این تحقیق همکاری صمیمانه داشتند، کمال تشکر و قدردانی می‌شود.

References:

1. Jayathilake C, Rizliya V, Liyanage R. Antioxidant and free radical scavenging capacity of extensively used medicinal plants in Sri Lanka. Procedia Food Sci 2016; 6:123-36.
2. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. Am J Clin Nutr 1993; 57(5): 715S-724S.
3. Estévez M, Cava R. Effectiveness of rosemary essential oil as an inhibitor of lipid and protein oxidation: Contradictory effects in different types of frankfurters. Meat Sci 2006; 72(2): 348-55.
4. Tomaino A, Cimino F, Zimbalatti V, Venuti V, Sulfaro V, De Pasquale A, et al. Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. Food Chem 2005; 89(4): 549-54.
5. Barlow SM. Toxicological aspects of antioxidants used as food additives. Food antioxidants: Springer; 1990. p. 253-307.
6. Brand-Williams W, Cuvelier M-E, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Sci Technol 1995; 28(10: 25-30.
7. Namiki M. Antioxidants/antimutagens in food. Crit Rev Food Sci Nutr 1990; 29(4): 273-300.
8. Pokorný J. Natural antioxidants for food use. Trends Food Sci Technol 1991; 2: 223-7.
9. Kulisic T, Radonic A, Katalinic V, Milos M. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. Food Chem 2004; 85(4): 633-40.
10. Dawidowicz AL, Wianowska D, Baraniak B. The antioxidant properties of alcoholic extracts from Sambucus nigra L. (antioxidant properties of extracts). LWT - Food Sci Technol 2006; 39(3): 308-15.
11. Lee J-Y, Hwang W-I, Lim S-T. Antioxidant and anticancer activities of organic extracts from Platycodon grandiflorum A. De Candolle roots. J Ethnopharmacol 2004; 93(2): 409-15.
12. Besharati-Seidani A, Jabbari A, Yamini Y. Headspace solvent microextraction: a very rapid method for identification of volatile components of Iranian Pimpinella anisum seed. Analytica Chimica Acta 2005; 530(1): 155-61.
13. Gülçın İ, Oktay M, Kıreçcı E, Küfrevıoğlu Öİ. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (Pimpinella anisum L.) seed extracts. Food chem 2003; 83(3): 371-82.
14. Tabanca N, Ma G, Pasco DS, Bedir E, Kirimer N, Baser K, et al. Effect of essential oils and isolated compounds from Pimpinella species on NF‐KB: a target for antiinflammatory therapy. Phytother Res 2007; 21(8): 741-5.
15. Tepe B, Akpulat HA, Sokmen M, Daferera D, Yumrutas O, Aydin E, et al. Screening of the antioxidative and antimicrobial properties of the essential oils of Pimpinella anisetum and Pimpinella flabellifolia from Turkey. Food Chem 2006; 97(4): 719-24
16. Adel M, Safari R, Nematollahi A, Ghiasi M, Nafian Dehkordi I. Evaluation of antifungal activity of essential oils of Eryngium campestre, Cuminum cyminum, Pimpinella affinis and Allium sativum on Fusarium solani isolated from ornamental aquarium fish. J appl ichthyol 2015; 2(4): 23-32.
17. Mohammadreza V-r. Chemical composition and antimicrobial activity of Pimpinella affinis Ledeb. essential oil growing in Iran. Int J Green Pharm 2008; 3(8): 913-5.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-20]

18. Salmanian S, Sadeghi Mahonak A. Determination of total phenolic compounds, flavonoids, carotenoids and antioxidant activity of Anarijeh extract (Froriepia subpinnate). 3rd Iranian Agricultural Biotechnology Conference: Ferdowsi Mashhad University; 2012. (Persian)
19. Sohravardi N, Sohravardi F, Kazemi Tabar SK. Chemical composation of Eryngium bungei essential oil. National conferrence of Medicinal plants: Mazandaran Jahad Daneshgahi; 2011. (Persian)
20. Mozdastan S, Ebrahimzadeh MA, Khalili M. Comparing the Impact of Different Extraction Methods on Antioxidant Activities of Myrtle (Myrtus communis L.). JMUMS 2015; 25(127): 10-24. (Persian)
21. Ordoñez AAL, Gomez JD, Vattuone MA, lsla MI. Antioxidant activities of Sechium edule (Jacq.) Swartz extracts. Food Chem 2006; 97(3): 452-8.
22. Akowuah GA, Ismail Z, Norhayati I, Sadikun A. The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of Orthosiphon stamineus and evaluation of the free radical-scavenging activity. Food Chem 2005; 93(2): 311-7.
23. Yildirim A, Mavi A, Kara AA. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of Rumex crispus L. extracts. J. Agric. Food Chem 2001; 49(8): 4083-9.
24. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic Biol Med 1999; 26(9-10): 1231-7.
25. Hatono T, Edamatsu R, Hiramatsu M, Mori A, Fujita Y, Yasuhara T, et al. Effects of the interaction of tannins with co-existing substances. VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical and on DPPH radical. Chem Pharm Bull 1989; 37: 2016-21.
26. Özbek H, Güvenalp Z, Kuruüzüm-Uz A, Kazaz C, Demirezer LÖ. Phenylpropanoids, Sesquiterpenoids and Flavonoids from Pimpinella tragium Vill. subsp. lithophila (Schischkin) Tutin. Records of Natural Products 2016; 10(2): 207.
27. Tharun G, Pindi PK. Evaluation of antioxidant potential and antimicrobial activity of successive extracts of Pimpinella tirupatiensis. J Pharm Res 2013; 7(9): 817-22.
28. Ahmadvand h, amiri h, Ekbatan Hamadani s, Bagheri s. Antioxidant properties of leaves essential oil and hydroalcoholic extract Vitex pseudo-negundo. Yafteh. 2012; 14(2): 5-13. (Persian)
29. Velioglu Y, Mazza G, Gao L, Oomah B. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. J Agric Food Chem 1998; 46(10): 4113-7.
30. Ataei Salehi E, Esmaeilzadeh Kenari, R, Nasiri Takami, S. Antioxidant Effect of Pimppinella affinis Ledeb Plant Methanolic Extract on Stability of Canola Oil during Storage Condition. Iran J Food Sci Technol 2014;10(2). (Persian)
31. Liu X, Dong M, Chen X, Jiang M, Lv X, Yan G. Antioxidant activity and phenolics of an endophytic Xylaria sp. from Ginkgo biloba. Food chem 2007; 105(2): 548-54.
32. Shokoh Saremi E, Habibi Najafi MB, Hadad Khodaparast MH, Bahreini M. Effect of extraction method on antioxidant properties of affinis pimpinella. Iran J Food Sci Technol 2017; 14(69): 169-59. (Persian)
33. Tahami F BA, Ghiyasi Tarzi B,Mahasti P. Investigate the antioxidant extract of fennel seeds (Foeniculum vulgare) on the stability of sunflower oil. Food Sci Nutrition 2012; 10(1): 71-8. (Persian)

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-20]

Original Article

DETERMINATION AND COMPARISON OF ANTIOXIDANT ACTIVITY AND PHENOLIC CONTENT OF PIMPINELLA AFFINIS HYDROETHANOLIC EXTRACT AND ESSENTIAL OIL

Fatemeh Esmaeli[1], Hossein Tajik[2], Tooraj Mehdizadeh[3], Mahsa Mayeli [4]*

Received: 25 Apr, 2017; Accepted: 21 June, 2017

Abstract

Background & Aims: Due to the adverse effects of synthetic antioxidants, there is a great desire to use herbs because of its antioxidant properties. This study was performed to examine the antioxidant effects of (Pimpinella affinis) as an alternative to synthetic antioxidants.

Materials & Methods: Total phenolic, contents were measured with folin ciocalteu method. The antioxidant capacity of the extract and essential oil was assessed by DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical-scavenging activity and compared to synthetic antioxidant BHT. In addition, antioxidant capacity of extracts was also analyzed with ABTS (acid sulphonic-6-ethylbenzthiazoline-3-azinobis, 2, 2, cation radical method. Data were analyzed using Duncan's multiple tests and the analysis was carried out using SPSS.

Results: In testing percent of inhibition of free radicals (DPPH), the extract showed a significant inhibitory effect compared to the essential oil ($p<0.05$). Both extract and essential oil also showed iron reducing effect that was affected by the increase in the concentration. In ABTS test, most antiradical activity related to the concentration of 4 mg/ml with 24% and 92% inhibition, respectively when compared with BHT showed less inhibitory effect. And finally total phenolic content of essential oil and extract was 53.14±4.25 and 37.68±1.12 mg Gallic acid/g extract, respectively.

Conclusion: The results of this study showed that extract and essential oil of Pimpinella affinis have considerable antioxidant activity compared to synthetic antioxidant (BHT), and after conducting more comprehensive studies can be used in food and pharmaceutical industries.

Keywords: Pimpinella affinis, Extract, Essential oil, Antioxidant, Total phenol

Address: Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Nazloo Pardis, Urmia, Iran

Tel: +984431942673

Email: T.Mehdizadeh@urmia.ac.ir ; Tooraj.mehdizadeh@yahoo.com

SOURCE: URMIA MED J 2016: 28(5): 320 ISSN: 1027-3727

[1]M.Sc. Student of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Iran

[2]Assistant Professor, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Iran

[3]Professor, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Iran (Corresponding Author)

[4] M.Sc. Student of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Iran

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-20]