

تاثیر روش های مختلف عصاره گیری بر خاصیت آنتی اکسیدانی گیاه *Lemon balm (Melissa officinalis)*

سمیه محمدی*^۱، خدیجه کیارستمی^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه الزهراء، تهران، ۲- استاد یار دانشگاه الزهراء، تهران

چکیده

رزمارینیک اسید (RA) یک ترکیب فنلی است که در برخی اعضای خانواده Lamiaceae یافت می شود. رزمارینیک اسید دارای خواص زیستی متعددی مانند: ضد باکتری، آنتی اکسیدانی، ضد جهش، ضد تومور و جاروب کنندگی رادیکال آزاد است. امروزه از RA در صنایع دارویی و بهداشتی، پزشکی و غذایی استفاده می شود. روش های مختلف استخراج و نوع حلال بر میزان رزمارینیک اسید استخراج شده و فعالیت آنتی اکسیدانی موثر است. در این پژوهش از دو حلال اتانل و متانل برای عصاره گیری از گیاه *Lemon balm* استفاده شد. سپس فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها با روش DPPH بررسی و میزان رزمارینیک اسید تعیین گردید و مشخص شد که فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوای رزمارینیک اسید عصاره متانلی در مقایسه با اتانلی بیشتر است.

واژه های کلیدی: رزمارینیک اسید، عصاره گیری، فعالیت آنتی اکسیدانی، DPPH

Abstract

Rosmarinic acid (RA) is a phenolic compound that found in some member of lamiaceae family. RA Contain of biological properties such: antibacterial, antioxidant, antimutagen, antitumor and free radical scaving. Recently, RA was used in Industrys such: medicinal and sanitary Industry and food Industry. Different methods of extraction and solvent extraction on the contact of RA and antioxidant activity is effectiv. In this is work use of methanol and etanol solvents for extraction of *Lemon balm*. Antioxidant activity of extract was determined with DPPH and rosmarinic acid assey and this shown that antioxidant activity of metanolic extract is more than etanolic extract.

مقدمه:

رزمارینیک اسید، استر کافئیک اسید و ۳ و ۴ دی هیدروکسی فنیل لاکتیک اسید می باشد. این ترکیب فنلی مهم معمولاً در گیاهان خانواده Lamiaceae و Boraginaceae یافت می شود. گیاه *Lemon balm* یکی از اعضای خانواده Lamiaceae است که بعنوان یک گیاه دارویی شناخته شده است و دارای مقادیر بالایی رزمارینیک اسید و سایر ترکیبات فنلی است. مطالعات مختلفی بر روی RA انجام شد و نتایج نشان دادند که RA دارای خواص زیستی متعددی مانند: آنتی اکسیدان، قابض کننده، ضد باکتری، ضد جهش، ضد تومور و جاروب کننده رادیکال آزاد است. گونه های فعال اکسیژن با اکسید کردن اسید های چرب و و پروتئین ها و همچنین آسیب های اکسیداتیو به DNA و RNA (Devasagayam) و همکاران (۲۰۰۳) موجب آسیب به سلول های گیاهی و همچنین سلول های بدن انسان می شوند. بیماری هایی مانند آلزایمر، بیماری های قلبی و عروقی، بیماری های تنفسی در اثر رادیکال های آزاد ایجاد می شوند که مصرف آنتی اکسیدان های طبیعی خطر ابتلا به این بیماری ها را کاهش می دهد. آنتی اکسیدان ها رادیکال های آزاد و فعالیت شان را خنثی می کنند (Sies و همکاران ۱۹۹۶). در این پژوهش، فعالیت آنتی اکسیدانی دو عصاره متانلی و اتانلی در گیاه *Lemon balm* با استفاده از تکنیک DPPH بررسی شد.

مواد و روش ها:

۱. تهیه عصاره های اتانلی و متانلی

0.1 gr پودر خشک گیاهی یک بار با 20 ml متانل ۸۰٪ و یک بار با 20 ml اتانل ۸۰٪ مخلوط شده و به مدت یک ساعت در بن ماری ۷۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. پس از عصاره گیری، عصاره های صاف شده در پتری خشک می شود. سپس مجدداً عصاره متانلی را با 3cc متانل و عصاره اتانلی را با 3cc اتانل حل شد عصاره های حاصل بعد از صاف شدن برای سنجش های رزمارینیک اسید و DPPH استفاده می شوند.

۲. سنجش رزمارینیک اسید

جذب عصاره ها در 333 nm توسط دستگاه اسپکتوفتومتر خوانده شد. سپس با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت رزمارینیک اسید تعیین شد (Lopez - Arnaldo et al. 1995).

۳. سنجش DPPH

1 ml محلول DPPH به همراه غلظت های از 0-100 μ l عصاره در لوله های آزمایش ریخته و در نهایت با متانل مطلق به حجم نهایی 3 ml رسانده شد و بعد از ۱۵ دقیقه قرار دادن در تاریکی و در حال شیک، جذب نمونه ها خوانده شد. سپس با استفاده از فرمول زیر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها بدست می آید:

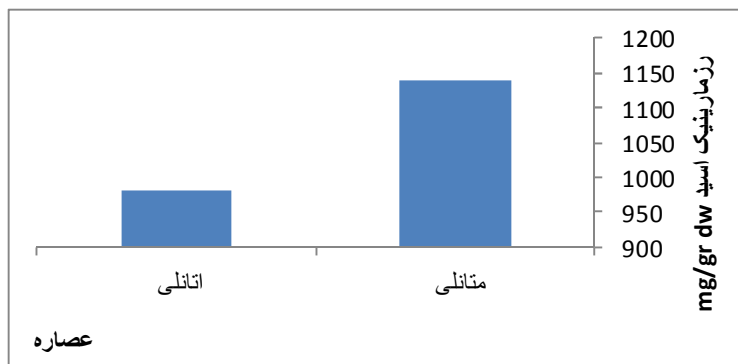
$$\text{فعالیت آنتی اکسیدانی} = (A_0 - A_1) / A_0$$

A_0 = جذب نمونه بلانک بدون عصاره

A_1 = جذب نمونه ها در حضور عصاره

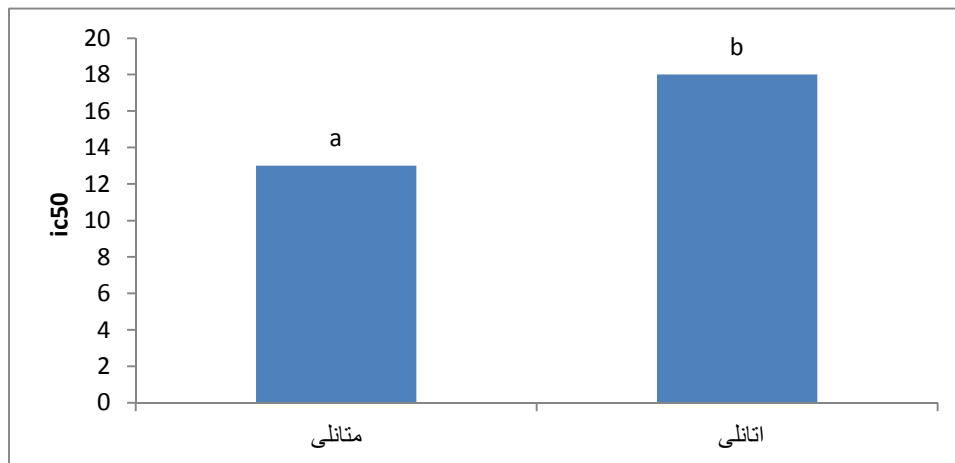
نتیجه:

نتایج نشان داد میزان رزمارینیک اسید خارج شده از گیاه توسط عصاره متانلی نسبت به عصاره اتانلی بیشتر بود (شکل ۱). حلال متانلی به علت بالاتر بودن قطبیت آن توانسته است میزان رزمارینیک اسید بیشتری را نسبت به حلال اتانلی خارج کند.



شکل ۱. مقدار رزمارینیک اسید برحسب $\text{mg.gr}^{-1}\text{dw}$ در عصاره های متانلی و اتانلی.

همچنین با انجام سنجش DPPH مشخص شد که عصاره متانلی در مقایسه با عصاره اتانلی دارای فعالیت اکسیدانی بالاتری است (شکل ۲).



شکل ۲. بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های اتانلی و متانلی برحسب میکرولیتر عصاره .

در این شکل فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها برحسب μl عصاره نشان داده شد. همانطور که مشاهده می شود عصاره متانلی در حجم پایین تری نسبت به عصاره اتانلی به عدد ۵۰ رسیده است. پس دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری است.

بحث:

نتایج بالا نشان دادند که میزان رزمارینیک اسید عصاره متانلی از عصاره اتانلی بیشتر است. عصاره متانلی به علت بالاتر بودن قطبیت حلال غلظت بالاتری از ترکیبات پلی فنلی (مانند رزمارینیک اسید) را از گیاه Lemon balm استخراج کرده است و باعث افزایش میزان جذب می شود. سینک موثری و جاپاپراکاشا (۲۰۰۲ و ۲۰۰۳) عنوان کردند که استفاده از حلال متانل، اتانل، استون و آب در استخراج ترکیبات پلی فنلی به وسیله روش سوکسله در ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی به ترتیب ۵۲، ۴۶، ۱۶ و ۴ درصد بوده است، به همین دلیل بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی در ارتباط با عصاره متانلی است.

مهمترین فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های Mengkudu را به روش تیوسیانات فریک و غیره مورد آزمایش قرار داد و نتیجه گیری کرد که عصاره متانلی بالاترین راندمان را دارد. رادیکال DPPH یک رادیکال آزاد آلی پایدار است که در ناحیه 515-528 nm دارای جذب است و ترکیب مناسبی جهت بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی یک ماده است. با استفاده از این روش در آزمایش بالا مشخص شد که فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانلی در مقایسه با اتانلی بالاتر است. اسماعیلی و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های مختلف گیاه مریم گلی سهندی به روش DPPH به این نتیجه رسیدند که فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانلی از اتانلی بیشتر است.

منابع:

- محمدعلی اسماعیلی، محمدرضا کنعانی، علی سنبلی، حبیب الله صادقی، نواز کریمیان پور (۲۰۰۹)، بررسی اثر مهاری مریم گلی سهندی بر آسیب های بافتی ایجاد شده تحت تاثیر مصرف الکل در رت
- صدیقه یزدان پناه، امیر ارجمند، هاشم پور آذرنگ، مهدیه محمدی جعفری (۱۳۸۷)، بررسی مقاومت حرارتی عصاره آنتی اکسیدانی پوست خارجی انار در روغن آفتابگردان

3. N,Niciforovic ,V,mihailovic, S,Solojic, A,stojkovic, D,pavlovic Muratspahic (Antioxidant activity of selected plant species: potential new sources of natural antioxdants (2010)
4. Lopez - Arnaldo . et al .1995. Determination of rosmarinic acid in plant cell cultures by complexation with Fe^{2+} ions