دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "تحقیقات کاربردی اکوفیزیولوژی گیاهی"
دوره ششم، شماره اول، بهار و تابستان ۹۸
http://arpe.gonbad.ac.ir

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ گیاه پونه آبی (*Mentha aquatic* L.) از منطقه سه هزار تنکابن

رویا ثابت مقدم[1*]، راحله سلطانمرادی[2]، بابک باباخانی[3]
[1]کارشناس ارشد، فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن
[2]کارشناس ارشد، میکروبیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم دارویی
[3]استادیار، فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن
تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۷/۹ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۱۷

چکیده

مقدمه: پونه آبی (*Menth aquatica*) گیاه دارویی چند ساله و متعلق به خانواده نعناعیان می‌باشد. خاصیت آنتی اکسیدانی این گونه را می‌توان به حضور گروه‌های فنلی مانند فلاونوئیدها، اسیدهای فنلی، تانن‌ها و دی‌ترپن‌های فنلی نسبت داد. هدف از این مطالعه ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ گیاه پونه آبی به‌عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی انجام شد.

مواد و روش‌ها: عصاره آبی، اتانولی و متانولی برگ گیاه پونه آبی با استفاده از دستگاه سوکسله در شرایط کشت درون شیشه‌ای تهیه شد. سپس به‌منظور سنجش میزان ترکیبات فنلی از روش فولین سیوکالتیو، سنجش فلاونوئید توسط اسپکتروفتومتر و فعالیت آنتی‌کسیدانی از طریق رادیکال‌های آزاد DPPH استفاده شد.

نتایج: نتایج نشان داد که عصاره اتانولی، دارای محتوای فنلی (۷۱۴/۶۴ میکرو اکی‌والان گالیک اسید بر گرم) بیشتری نسبت به محتوای فلاونوئیدی (۴۰۳/۱۶ میکرو اکی‌والان کوئرسیتین بر گرم) بود. هم‌چنین عصاره اتانولی دارای بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بین سه حلال مورد بررسی بود؛ اما در مقایسه با نمونه شاهد (اسیدآسکوربیک) فعالیت آنتی‌اکسیدانی ضعیف تری نشان داد.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این پژوهش نشان داد که عصاره اتانولی گیاه پونه آبی دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی بالایی بوده و می توانند به‌عنوان یک منبع بالقوه آنتی‌اکسیدان در نظر گرفته شوند.

واژه‌های کلیدی: پونه آبی، عصاره، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، رادیکال‌های آزاد

*نویسنده مسئول: Royasabet58@gmail.com

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-07-12]

مقدمه

آنتی‌اکسیدان‌های موجود در رژیم غذایی به لحاظ محافظت بدن در مقابل استرس اکسیداتیو و حفظ سلامت حائز اهمیت هستند. اخیراً توجه به ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی با اثربخشی بیشتر به‌منظور استفاده در صنایع دارویی و غذایی به‌دلیل عوارض ناخواسته آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی افزایش یافته است. ترکیبات فنلی از جمله متابولیت‌های ثانوی گیاهان هستند که به‌عنوان مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به‌شمار می‌آید. این ترکیبات از هسته‌های آروماتیک و یک یا چند گروه OH ساخته شده‌اند و به فنل‌های ساده، اسیدها فنولیک، فلاونوئیدها، تانن‌های متراکم، لیگنان‌ها و لیگنین‌ها تقسیم می‌شوند (Karaman *et al*., 2010). ترکیبات فنلی دارای فعالیت بیولوژیکی متنوع از جمله اثرات آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌میکروبی، ضدالتهابی و بازکننده عروق می‌باشد. فعالیت آنتی‌اکسیدان ترکیبات فنلی و نقش مفید آن‌ها در بیماری‌های کرونری، سرطان و بیماری‌های دژنراتیو مغز وابسته به سن بررسی شده است (Sassi *et al*., 2008). اثر آنتی‌اکسیدان این ترکیبات به‌دلیل اثر احیاکنندگی آن‌هاست. آن‌ها به عنوان احیاکننده، دهنده هیدروژن و شلاته‌کننده فلزات عمل می‌کنند. بررسی‌ها نشان داده‌اند که، دریافت خوراکی آنتی‌اکسیدان‌ها از طریق مواد غذایی نقش موثری در حفظ و ارتقا سلامت دارد. به عنوان مثال ابتلا به بیماری عروق کرونر و برخی از سرطان‌ها با میزان مصرف غذاهای غنی از پلی‌فنل‌ها رابطه معکوس دارد. این مطالعات منجر به توجه خاص به منابع طبیعی به منظور یافتن مولکول‌های آنتی‌اکسیدان شده است.

گیاهان منبع غنی از ترکیبات فنلی هستند که در تمام اندام‌های گیاهان یافت می‌شود. بنابراین، این ترکیبات جزء مهمی از رژیم غذایی انسان را تشکیل می‌دهند (Siahpoosh and Amraee, 2011). گزارش شده گیاهانی با سطوح بالای آنتی‌اکسیدان، در برابر آسیب‌های اکسیداتیو مقاومت می‌کنند. توانایی بافت‌های گیاهی برای تجهیز کردن دفاع آنزیماتیک در مقابل پراکسید کنترل نشده لیپید، شاید مهم‌ترین مقاومت آن‌ها در برابر این قضیه باشد. اولین سلاح آنتی‌اکسیدان داخل سلولی گیاه به شدت به وضعیت متابولیکی خود وابسته بوده و دائماً به نوسانات محیطی پاسخ می‌دهند (Ahmad *et al*., 2008).

پونه آبی با نام علمی *Mentha aquatica* نوعی گیاه معطر متعلق به خانواده Lamiacae و جنس *Mentha* است. جنس *Mentha* در فلور ایران ۶ گونه را به خود اختصاص داده است. گونه‌های این جنس به‌طور کلی تحت عنوان نعناع و پونه در ایران معروف می‌باشند. پونه آبی بومی مناطق شمال کشور است که در حاشیه جریان آب-های ملایم و کم‌عمق یافت می‌شود. برگ‌های این گیاه به‌عنوان سبزی خوراکی و عامل طعم‌دهنده مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Jemzad, 2012). گیاهان خانواده نعناع به‌دلیل غنی بودن از ترکیبات فنلی توجه محققان زیادی را به خود جلب نموده‌اند. قسمت‌های مختلف این گیاه دارای تانن، مواد رزینی، پکتیکی، قند و اسانس است (NatureGate, 2013).

پراکاش و همکاران (Prakash *et al*., 2001) گزارش نمودند که، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی متنوعی در گونه‌های مختلف خانواده نعنائیان وجود دارد و اغلب بین محتوای این ترکیبات و خاصیت آنتی‌اکسیدانی این گونه‌ها رابطه‌ای مستقیم وجود دارد. سینگ و همکاران (Sing *et al*., 2015) فعالیت‌های ضدباکتری و آنتی اکسیدانی عصاره *Mentha Piperita* L. را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج آن حاکی از قوی بودن فعالیت آنتی اکسیدانی *Mentha Piperita* L. بود. با توجه به بومی بودن گیاه پونه، دسترسی آسان، قیمت ارزان و هم‌چنین

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-07-12]

ارزش غذایی و دارویی بالا این گیاه (Jemzad, 2012)، هدف از این مطالعه ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ گیاه پونه آبی از منطقه سه هزار تنکابن بود. این مطالعه می‌تواند مقدمه‌ای جهت استفاده علمی از عصاره این گیاه در صنایع غذایی باشد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش بخش‌های هوایی (برگ) گیاه پونه آبی در مرحله رویشی در اواسط تیر ۱۳۹۴ از منطقه سه هزار تنکابن جمع‌آوری گردید. نام و جنس این گیاه در هرباریوم دانشگاه آزاد واحد تنکابن مورد تائید قرار گرفت. برگ‌های گیاه از ساقه جدا شده و سپس در مجاورت جریان هوا و در دمای اتاق بر روی پارچه‌ای تمیز پهن گردیدند و دور از نور مستقیم خورشید و بدون رطوبت و در سایه خشک شدند. پس از خشک شدن آن ها را آسیاب نموده و نمونه برای عصاره‌گیری آماده گردید.

مقدار ۴۰ گرم پودر گیاه خشک شده در سایه، به‌صورت جداگانه با ۵۰۰ میلی‌لیتر متانول، اتانول و آب مقطر به روش سوکسله عصاره‌گیری شد. پس از اتمام کار عصاره‌های به دست آمده در خلاء و در دمای محیط به مدت ۴ روز خشک شده و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شدند (Roozitalab, 2012). جهت رقیق‌سازی عصاره‌ها یک گرم از عصاره مورد نظر به لوله حاوی ۴ میلی‌لیتر دی‌متیل‌سولفوکساید اضافه شد؛ سپس ۲ میلی‌لیتر از آن برداشته شد و به لوله دوم انتقال داده شد. این عمل تا لوله آخر تکرار گردید به این ترتیب از عصاره‌های مورد نظر به‌صورت جداگانه رقت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه گردید (Roozitalab, 2012).

جهت تعیین میزان ترکیبات فنلی عصاره‌ها از روش فولین سیوکالتیو استفاده شد. ابتدا ۲/۵۰ میلی‌لیتر از محلول عصاره با ۲/۵ میلی‌لیتر واکنشگر ۰/۲ نرمال فولین سیوکالتیو ترکیب شده و به مدت ۵ دقیقه ورتکس گردیدند، سپس ۲ میلی‌لیتر محلول کربنات‌سدیم یک مولار اضافه گردید. جذب نمونه‌ها پس از ۱۵ دقیقه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد و نتایج به‌صورت میکرواکی‌والان اسید گالیک بر گرم عصاره بیان شدند (Roozitalab, 2012).

جهت تعیین مقدار فلاونوئید موجود در عصاره‌ها از روش رنگ‌سنجی کلریدآلومینیوم استفاده شد. ابتدا ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول عصاره به ۱/۵ میلی‌لیتر متانول و ۰/۱ میلی‌لیتر کلریدآلومینیوم ۱۰ درصد و ۰/۱ استات‌پتاسیم یک مولار و در نهایت ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شدند، و در مرحله آخر جذب ترکیب مورد نظر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۵ نانومتر خوانده شد. میزان فلاونوئید براساس میکرواکی‌والان کوئرستین بر گرم عصاره گزارش گردید (Iwalokun *et al.*, 2003).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به روش DPPH اندازه‌گیری شدند (Brand-Williams *et al.*, 1995). برای این منظور ابتدا محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف (۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) از عصاره در حلال متانول آماده شدند. سپس ۲ میلی‌گرم DPPH با غلظت ۱ میلی‌مولار به لوله‌ها اضافه گردید. بعد از ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی مطابق فرمول زیر به‌صورت درصد محاسبه شد.

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-07-12]

$$IC_{50}= [(A_{DPPH} - A_{extract}) / A_{DPPH}] \times 100$$

A_{DPPH}: جذب کنترل (شامل تمامی عوامل مثل DPPH و حلال ولی بدون عصاره)

$A_{extract}$: جذب عصاره مورد آزمایش

IC_{50}: عبارتند از غلظتی از عصاره که ۵۰ درصد به دام‌اندازی رادیکال آزاد در آن صورت می‌گیرد.

این آزمایش به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام گرفت. داده‌ها بدست آمده با استفاده از آزمون آنالیز واریانس، تجزیه و تحلیل شدند. هم‌چنین مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت. تمامی سنجش‌ها به‌صورت میانگین ± اشتباه معیار گزارش شدند. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

در پژوهش حاضر نتایج بدست آمده از جدول آنالیز واریانس تأثیر نوع حلال بر میزان فنل کل نشان داد که بین نوع حلال و میزان فنل کل اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد وجود دارد (جدول ۱). با بررسی مقایسه میانگین تأثیر نوع حلال بر میزان فنل کل مشاهده شد که بیشترین میزان فنل کل به ترتیب مربوط به عصاره اتانولی و آبی با مقادیر ۷۱۴/۶۴ و ۳۹۱/۲۵ میکرواکی والان گالیک اسید بر گرم عصاره خشک بود (شکل ۱).

هم‌چنین بررسی نتایج حاصل از آنالیز واریانس تأثیر نوع حلال بر میزان فلاونوئید در گیاه پونه آبی نشان داد که بین نوع حلال و میزان فلاونوئید اختلاف معناداری در سطح ۱ درصد وجود دارد (جدول ۱). بیشترین و کمترین میزان فلاونوئید به ترتیب مربوط به عصاره اتانولی و آبی به ترتیب با مقادیر ۴۰۳/۱۶ و ۸۷/۵۳ میکرواکی والان کوئرسیتین بر گرم عصاره خشک در گیاه پونه آبی بود (شکل ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر نوع حلال بر میزان فنل کل و فلاونوئید در گیاه پونه آبی

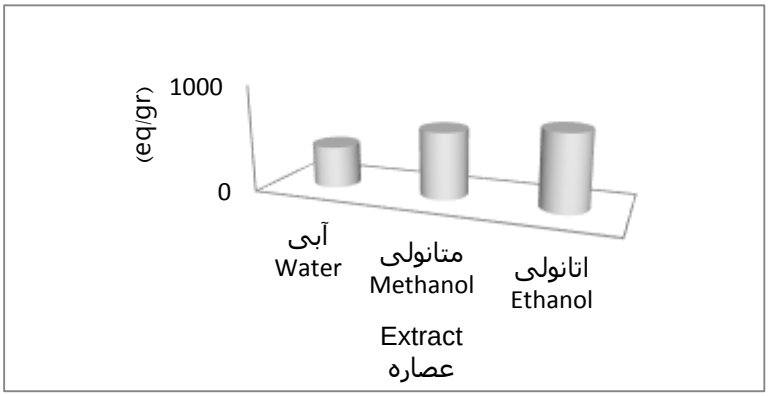
Table 1- Analysis of variance (MS) of the effect of solvent type on total phenol and flavonoids in *Mentha aquatica*

منبع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی DF	فلاونوئید Flavonoid		فنل کل Total phenol	
		میانگین مربعات MS	نسبت F F ratio	میانگین مربعات MS	نسبت F F ratio
حلال Solvent	2	75024	7342**	88335	3059**
خطا Error	6	1.02		0.6	

ns، * و **: به‌ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد.

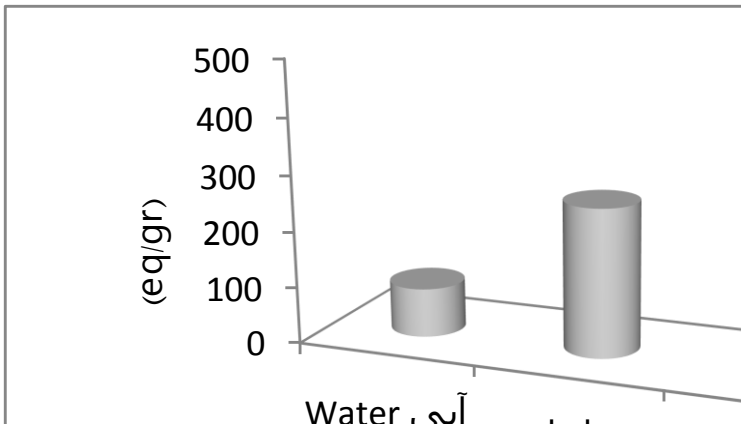
ns, * and **: non-significant difference, significant difference at the level of five and one percent probability, respectively.

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-07-12]



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر نوع حلال بر میزان فنل کل در گیاه پونه آبی

Figure 1- Mean comparison of effect of solvent type on total phenol content in *Mentha aquatica*



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر نوع حلال بر میزان فلاونوئید در گیاه پونه آبی

Figure 2- Mean comparison of effect of solvent type on the amount of flavonoids in *Mentha aquatica*

در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه پونه آبی به روش DPPH نتایج بدست آمده از جدول تجزیه واریانس نشان داد که بین نوع حلال، غلظت و اثر متقابل نوع حلال و غلظت و درصد مهار رادیکال آزاد DPPH اختلاف معناداری در سطح ۱ درصد وجود دارد (جدول ۲). نتایج بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی سه عصاره آبی، متانولی و اتانولی گیاه پونه در حضور نمونه شاهد اسیدآسکوربیک در شکل ۳ آمده است بر همین اساس نتایج نشان داد که عصاره اتانولی دارای بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بین سه حلال مورد بررسی می‌باشد. اما در مقایسه با نمونه اسیدآسکوربیک فعالیت آنتی‌اکسیدانی ضعیف‌تری دارد.

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-07-12]

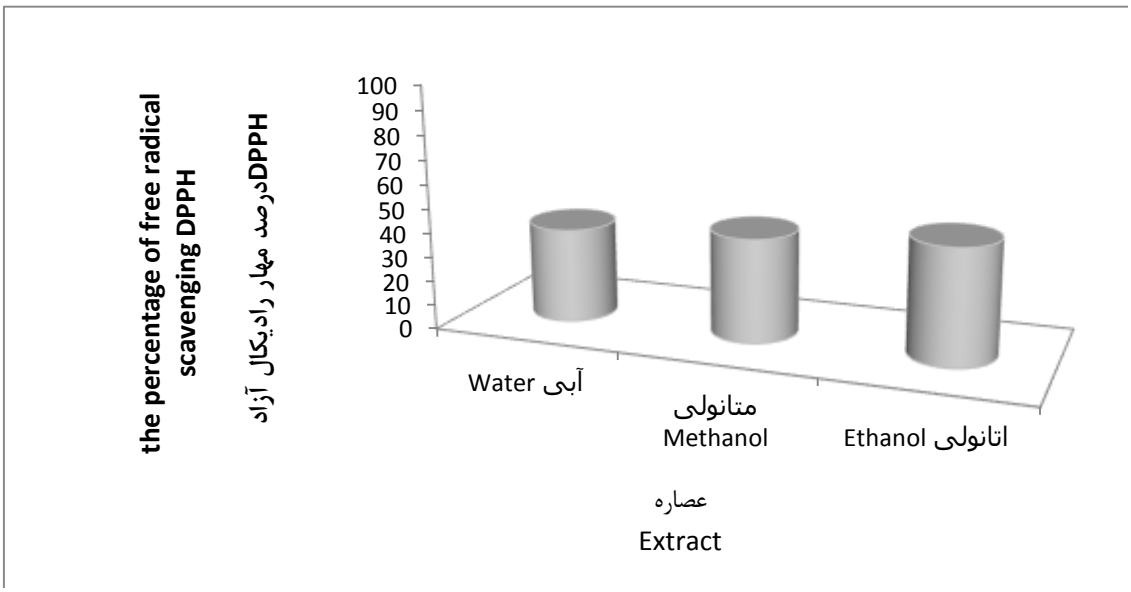
جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر نوع و غلظت حلال بر درصد مهار رادیکال آزاد DPPH

Table 2- Analysis of variance (ANOVA) of type and concentration solvent on the percentage of DPPH free radical containment

منبع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی DF	میانگین مربعات MS	نسبت F F ratio
حلال Solvent	3	1289**	2723
غلظت Concentration	5	982**	2075
حلال × غلظت Solvent × Concentration	15	16.4**	34.7
خطا Error	48	-	2.1

ns، * و **: به‌ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد.

ns, * and **: non-significant difference, significant difference at the level of five and one percent probability, respectively.



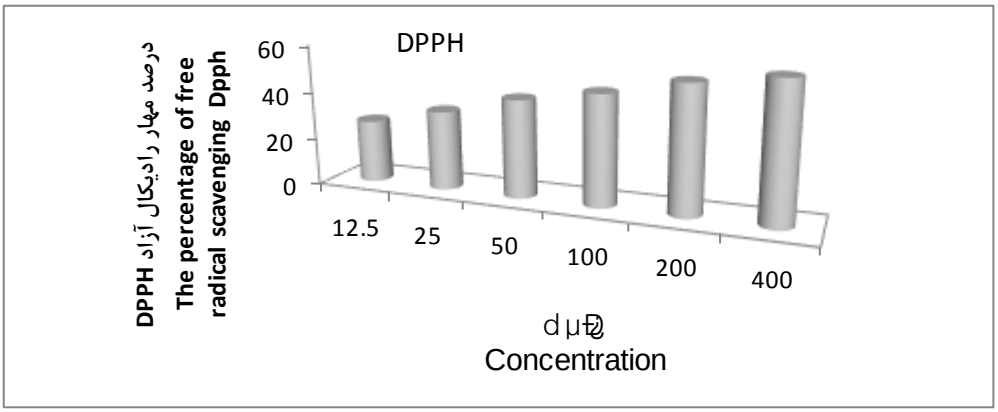
شکل ۳- مقایسه میانگین تأثیر نوع نمونه بر درصد مهار رادیکال آزاد DPPH

Figure 3- Mean comparison of effect of the solvent type on the DPPH free radical inhibitor

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی بین غلظت‌های مختلف نمونه های مورد بررسی که شامل سه عصاره آبی، متانولی و اتانولی گیاه پونه آبی و یک نمونه شاهد اسیدآسکوربیک (۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ میکروگرم بر میلی لیتر) بود، نشان داد که با افزایش غلظت از ۱۲/۵ به ۴۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بر درصد مهار رادیکال آزاد

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-07-12]

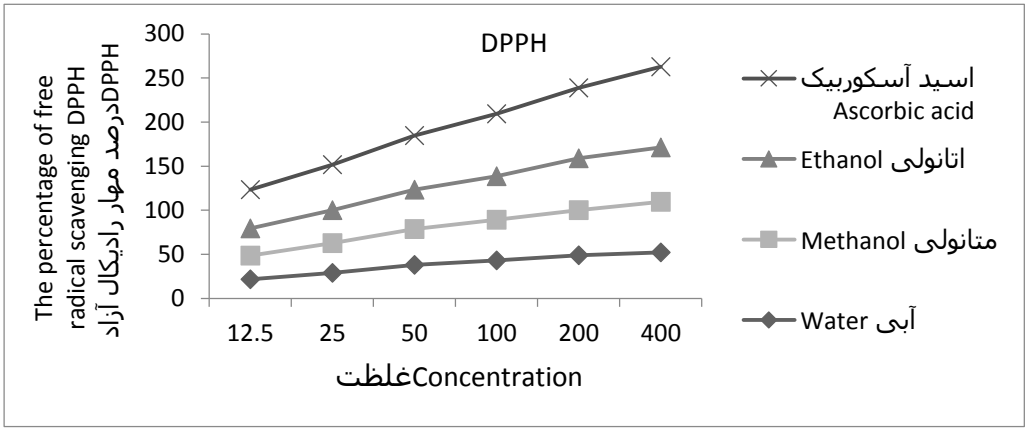
DPPH افزوده گردید. بطوری که بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بود (شکل ۴).



شکل ۴- مقایسه میانگین تأثیر غلظت حلال بر درصد مهار رادیکال آزاد DPPH

Figure 4- Mean comparison of effect of solvent concentration on the percentage of DPPH-free radical inhibitors

همچنین اسیدآسکوربیک در تمامی غلظت‌ها فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به عصاره‌های آبی، متانولی و اتانولی از خود نشان داد. در بین عصاره‌ها عصاره اتانولی در غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و عصاره آبی در غلظت ۱۲/۵ میکروگرم بر میلی لیتر کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در روش DPPH از خود نشان دادند (شکل ۵).



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل نوع نمونه و غلظت حلال بر درصد مهار رادیکال آزاد DPPH

Figure 5- Mean comparison of effect interactions between the sample type and the solvent concentration on the DPPH free radical scavenging percentage

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-07-12]

جدول ۳- مقایسه میانگین میزان فنل کل، فلاونوئید و IC_{50} در گیاه پونه آبی

Table 3- Mean comparison of total phenol, flavonoid and IC_{50} values in *Mentha aquatic*

عصاره Extract	فنل کل Total phenolic (µega/gr)	فلاونوئید Flavonoid (µega/gr)	IC_{50} (µg/ml)
آبی Water	0.28 ± 391.25 c	0.7 ± 87.53 c	300.54 ± 1.8
متانولی Methanol	0.7 ± 652.46 b	0.4 ± 262.92 b	1.3 ± 240.45
اتانولی Ethanol	0.3 ± 714.64 a	0.4 ± 403.16 a	1.4 ± 170.77

ns، * و **: به‌ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد.

ns, * and **: non-significant difference, significant difference at the level of five and one percent probability, respectively.

نتایج همبستگی بین ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد که بین میزان فنل کل و فلاونوئید، فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH و میزان فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد (جدول ۴).

جدول ۴- همبستگی بین صفات مورد بررسی

Table 4- Correlation between studied traits

	DPPH	فنل کل Total phenolic	فلاونوئید Flavonoids
DPPH	-		
فنل کل Total phenolic	0.919 **	-	
فلاونوئید Flavonoids	0.962 **	0.962 **	-

ns، * و **: به‌ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد.

ns, * and **: non-significant difference, significant difference at the level of five and one percent probability, respectively.

بحث

در دهه های اخیر به دلیل بروز مقاومت‌های دارویی، به گیاهان دارویی به عنوان مخازن طبیعی توجه شده است. استفاده از گیاهان دارویی به لحاظ پایین بودن عوارض جانبی آن نسبت به داروهای شیمیایی از گذشته های دور برای درمان انواع بیماریها مورد توجه مردم بوده و در سالهای اخیر روند روبه رشدی پیدا کرده است (Cowan, 1999).

آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بیشتر در گیاهانی موجود می‌باشند که حاوی ترکیبات فنلی هستند. محتوای فنلی و ترکیبات گیاه به فاکتورهای ژنتیکی و محیطی وابسته میباشند. ترکیبات آنتی اکسیدان فراوانی در گیاهان موجود

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-07-12]

میباشند و شناسایی تک تک آنها کاری دشوار میباشد. این ترکیبات به دلیل ماهیت آبدوستی خود در واکوئل‌ها (و بخشی از دیواره سلولی) جای گرفته‌اند. جایی که اغلب رادیکال‌های آزاد (به استثنای H_2O_2) به آسانی قادر به نفوذ به آنجا نیستند (Cooper-Driver and Bhattacharya, 1998). بنابراین ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره ها با سنجشهای متعدد ارزیابی میشود. در این تحقیق علاوه بر اندازه گیری محتوای تام فنلی و فلاونوئیدی گیاه به روش رنگسنجی، ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه به وسیله روش روبش رادیکالهای آزاد DPPH صورت گرفت.

تست DPPH یکی از قدیمی‌ترین روش‌های سنجش غیرمستقیم خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که برای یافتن ترکیبات دهنده هیدروژن در مواد طبیعی پیشنهاد شده است. این تست اختصاصی عمل می‌کند و به خصوص با ترکیباتی که حاوی گروه هیدروکسیل می باشند، واکنش می‌دهد (Roginsky and Lissi, 2005).

تعداد زیاد مطالعات انجام شده در مورد استخراجات گیاهی نشان میدهد که عصاره‌های گیاهی اثرات دوگانه آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی دارند که مشابه مطالعه ما در این زمینه بود. عموماً جهت استخراج، فنل‌ها از منابع گیاهی حلال‌های الکلی به صورت مخلوط با آب، مورد استفاده قرار میگیرند. همچنین استفاده از امواج فراصوت به علت تخریب غشای سلول و افزایش نفوذ حلال به داخل، سبب خروج میزان بیشتری از ترکیبات فنلی به محیط حلال می‌شوند. در نتیجه بازده استخراج و میزان کل ترکیبات فنلی عصاره افزایش می‌یابد (Trabelsi *et al*., 2010, Biesaga, 2011).

در پژوهش حاضر، بیشترین میزان تام فنلی مربوط به عصاره اتانولی پونه آبی (*Mentha aquatica*)، معادل ۱۲۱/۴۹ میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم عصاره خشک و کمترین میزان تام فنلی مربوط به عصاره آبی *Mentha aquatica*، معادل ۶۶/۵۱ میلی گرم گالیک اسید در هر گرم عصاره خشک محاسبه شد. همچنین همبستگی مثبتی بین محتوای تام فنلی و اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها مشاهده شد. مزیت عصاره اتانولی نسبت به عصاره آبی، استخراج مقدار بیشتری از ترکیبات پلی فنلی می‌باشد. همچنین، کاربرد عصاره‌های اتانولی به طور محسوسی مقدار فلاونوئیدهای محلول را افزایش داده بود که انعکاس آن در افزایش خاصیت بازدارندگی، نقش آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فوق را به خوبی اثبات می کرد. این پدیده از آنجا حائز اهمیت است که عصاره‌های آبی فاقد آثار سوء ناشی از حضور حلال‌های سمی و خطرناک نظیر متانول و اتانول هستند و به راحتی در صنایع غذایی، دارویی و نوشیدنی ها قابل استفاده می باشند. در حالی که عصاره‌های هیدروالکلی بیشتر برای مصارف غیرخوراکی (مصرف در پمادها و استعمال خارجی) می‌تواند کاربرد داشته باشد.

در مطالعه‌ای روی پونه سای گربه‌ای یا نعناع گربه‌ای مشاهده شد که محتوای تام ترکیبات فنلی آن معادل ۲/۲۶ درصد گالیک اسید در عصاره بود (Adiguzel *et al*., 2009) که به مراتب از گیاه مورد مطالعه ما کمتر می باشد. در تحقیقی دیگر روی *M. Piperita* مشخص شد که میزان محتوی تام فنلی ۱۳/۴ میلی گرم گالیک اسید در هر گرم پودر عصاره تعیین گردید (Ebrahimzadeh *et al*., 2010) که به مراتب از گیاه ما پایین تر میباشد.

در مطالعه دیگری که روی گیاه اوجی صورت گرفت، میزان محتوای تام فنلی مربوط به عصاره متانولی، ۷۹/۵۳ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره تعیین شد (Salmaniyan *et al*., 2013). که به مراتب از گیاه مورد مطالعه ی ما کمتر بود. این اختلافات میتواند به روش استخراج و ویژگی های گیاهان از جمله رویشگاه و فصل برداشت

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-07-12]

ارتباط داشته باشد. علاوه بر تاثیر شرایط محیطی، زمان برداشت، عملیات پس از برداشت و شرایط نگهداری، میزان و نیز نوع ترکیبات فنلی در گونه‌های مختلف یک جنس نیز متفاوت است (Antolovich *et al*., 2000).

در این مطالعه محتوای تام فلاونوئیدی موجود در عصاره اتانولی، متانولی و آبی *Mentha aquatic* به ترتیب معادل ۱۲۱/۸۵، ۷۹/۴۶ و ۲۶/۴۵ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره خشک اندازه‌گیری شد، که میزان محتوای تام فلاونوئیدی عصاره اتانولی نسبت به عصاره آبی بیشتر بود. این مسئله به دلیل قدرت حلالیت متفاوت حلال برای استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با قطبیت‌های مختلف می‌باشد (Marinova and Yanishlieva, 1997). نتایج بدست آمده در این پژوهش با تحقیقات Senol و همکاران مطابقت دارد (Şenol *et al*., 2010).

در یک بررسی که توسط مولدوان و همکارانش (Moldovan *et al*., 2014) روی *M. x rotundifolia*، *M. spicatasubsp.Crispata*، *M. suaveolens var* و *M. X piperita var. Officinalis f. Pallescens* صورت گرفت، مشخص شد که میزان محتوای تام فلاونوئیدی آن‌ها به ترتیب برابر با ۹/۷۸، ۸/۶۲، ۷/۶۰ و ۹/۶۷ گرم کوئرستین در هر صد گرم گیاه بود که با تبدیل واحدها مشخص شد که به مراتب از گیاه ما بالاتر بوده است.

بنابراین بسته به نوع روش عصاره‌گیری و حلال مورد استفاده، میزان استخراج مواد مؤثره در جمعیت پونه آبی ممکن است کاهش یا افزایش یابد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها نیز به تبع آن کمتر یا بیشتر شود. همانطور که نتایج نشان داد نوع حلال تأثیر بسزایی در میزان استخراج ترکیبات مؤثره گیاه داشت. حلال‌های قطبی به کار رفته مانند اتانول، متانول و آب توانایی بیشتری برای استخراج ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی داشتند. ارجحیت حلال های هیدروالکلی برای استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی میتواند ناشی از حضور اشکال گلیکوزیدی و قطبی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی حل شده در این حلال‌ها باشد که در خاصیت آنتی اکسیدانی گیاه فوق نقش مؤثری دارند. معمولاً ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی پس از سنتز در نتیجه پیوند با قندها در یک یا چند جایگاه مخصوص به صورت محلول در آمده و در واکوئل ها ذخیره میگردند. در بخش بررسی اثرات آنتی اکسیدانی از روش فعالیت روبش رادیکال DPPH استفاده شد. غلظتی از عصاره گیاه یا آسکوربیک اسید به عنوان ماده استاندارد که توانایی ۵۰ درصد از رادیکال آزاد DPPH را دارا بودند (IC_{50}) به دست آمد. باید توجه داشت در این شرایط هر چه مقدار IC_{50} کوچکتر باشد، خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتر خواهد بود. در این مطالعه مقادیر IC_{50} به دست آمده برای عصاره آبی، متانولی و اتانولی گیاه *Mentha aquatic* به ترتیب برابر با ۳۰۰/۵۴، ۲۴۰/۴۵ و ۱۷۰/۷۷ میکروگرم در میلی لیتر و در مورد آسکوربیک اسید ۲۳/۸۳ میکروگرم در میلی لیتر بود. نتایج همبستگی بین ترکیبات فنلیک و فعالیت آنتی اکسیدانی نشان داد که بین میزان تام فنل و فلاونوئید، تام فنل و فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH همبستگی مثبت و معناداری وجود دارد.

در مطالعه کامکار و همکارانش (Kamkar *et al*., 2011) نتایج ارزیابی فعالیت پاد اکسایشی عصاره متانولی و اسانس واریته پولگیوم نعناع ایرانی حاکی از آن بود که با افزایش غلظت عصاره فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH افزایش یافته و این فعالیت نسبت به اسانس بیشتر بود. در مطالعه گلوس و همکارانش (Golluce *et al*., 2007)، میزان DPPH عصاره متانولی *Menthalongifoliassp.*، ۴/۵۷ میکروگرم بر میلی لیتر به دست آمد که به مراتب بیشتر از مطالعات ما در این زمینه بود.

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-07-12]

در مطالعه کامکار و همکارانش (Kamkar *et al*., 2011) میزان عصاره آبی، متانولی و اتانولی گیاه *Mentha longifolia* به ترتیب معادل ۱۰۰، ۵۰ و ۵۳/۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد که در مقایسه با گیاه مورد مطالعه ما اثر آنتی اکسیدانی قویتری داشتند. در ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی عصاره متانولی پونه *Mentha longoifolia* توسط گلوس و همکارانش با روش DPPH میزان IC_{50} عصاره متانولی ۷۴/۴ میکروگرم در میلی لیتر اعلام شد که در مقایسه با گیاه مورد مطالعه ما، اثر آنتی‌اکسیدانی ۳ برابر قویتری داشتند. در مطالعه‌ای دیگر روی عصاره هیدروالکلی گیاه *Mentha aquatic* و *Malva sylvestris* میزان IC_{50} به ترتیب ۲۹ و ۶۰۶ میکروگرم در میلی لیتر بود که عصاره هیدروالکلی گیاه *Mentha aquatic* به مراتب از گیاه ما قویتر می‌باشد (Conforti *et al*., 2008).

در مطالعه صبورا و همکاران (Sabura *et al*., 2014) بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در روش DPPH مربوط به عصاره متانولی اندازه گیری شد که در مطالعه ما بالاترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به عصاره اتانولی اندازه گیری شد. مزیت عصاره اتانولی نسبت به عصاره آبی و متانولی، استخراج مقدار بیشتری از ترکیبات پلی فنلی میباشد. این بدین معناست که آنها بیشتر روی دیواره سلولی و تخریب دانه ها موثرند که باعث استخراج پلی فنلها از آنها میشود. عاملی که باعث میشود عصاره های الکلی کاربردی تر از عصاره آبی باشند، آنزیم پلی فنل اکسیداز است که باعث از بین بردن پلی فنل ها درون عصاره های آبی میگردد، در حالی که در متانول و اتانول این آنزیم غیرفعال می‌باشد.

نتایج تائیدکننده آن است که گونه نعناع می‌تواند به عنوان یک منبع مطلوب از پلی‌فنل‌ها با خواص آنتی اکسیدانی مورد استفاده قرار گیرد. ارزیابی اثر آنتی‌اکسیدانی این گیاه با استفاده از رادیکال‌های آزاد DPPH روشی آسان، سریع و دقیق برای تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌های آبدوست آن‌ها بود. پایین بودن ارزش IC_{50} عصاره‌های آبدوست، اهمیت محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی پونه آبی را خاطر نشان ساخت. از سوی دیگر با بررسی محتوای تام فنلی و فلاونوئیدی گیاه مشخص شد که گیاه حاوی ترکیبات فنلی بیشتری نسبت به ترکیبات فلاونوئیدی می‌باشد. همچنین میزان ترکیبات فنلی در مقایسه با سایر گونه‌های جنس پونه، در تعدادی از مطالعات بیشتر و در تعدادی از موارد کمتر مشاهده شد. بنابراین برای دستیابی به حداکثر خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه پونه آبی، باید با توجه به نوع جمعیت و نوع بهره‌برداری، از روش استخراج و حلال مناسب استفاده کرد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از معاونت محترم و مسئولان آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن به خاطر همکاری صمیمانه در انجام این تحقیق کمال تشکر و قدردانی را دارند.

منابع

Adiguzel A., Ozer H., Sokmen M., Gulluce M., Sokmen A., Kilic H., Sahin F. 2009. Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of Nepeta cataria. Polish Journal of Microbiology, 58 (1): 69-76.

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-07-12]

Ahmad P., Sarwat M., Sharma S. 2008. reactive oxygen species, antioxidants and signaling in plants. Journal of Plant Biology, 51 (3): 167-173.

Antolovich M., Prenzler P., Robards K., Ryan D. 2000. Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruit. Analyst, 125: 989-1009.

Benavente-Garcia O., Castillo J., Marin F.R., Ortuno A., Del Rio J.A. 1997. Uses and properties of citrus flavonoids. Journal Agricultural Food Chemistry, 45: 4505-4515.

Biesaga M. 2011. Influence of extraction methods on stability of flavonoids. Journal Chromatography A, 1218: 2505-2512.

Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Food Science and Technology, 28: 25-30.

Conforti F., Sosa S., Marrelli M., Menichini F., Giancarlo A., Uzunov D., Tubaro A. 2008. In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of Mediterranean dietary plants. Journal of Ethnopharmacology, 116: 144-151.

Cooper-Driver G.A., Bhattacharya M. 1998. Role of phenolics in plant evolution. Phytochemistry, 49: 1165-1174.

Cowan M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Reviews, 12(4):564-82.

Ebrahimzadeh M.A., Nabavi S.F., Nabavi S.M., Eslami B. 2010. Antioxidant and antihemolytic activities of M. piperita. Pharmacologyonline, 1: 744-52.

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

Iwalokun R.A., Gbenle G., Adewole T.A., Smith S.I., Akinsinde K.A., Omonigbehin E.O. 2003. Effects of Ocimum gratissimum L essential oil at subinhibitory concentrations on virulent and multidrug-resistant Shigella strains from Lagos, Nigeria. Acta Pathologyica Microbiologica Immunologica Scandinavica, 3:477-482.

Jemzad Z. 2012. Flora Iran. Publishing Research Institute of Forests an Rangelands, 76: Pp.1-1066. (In Persian).

Kamkar A., Shariatifar N., Jamshidi A.H., Jebeli Javan A. 2011. Study the antioxidant activity of essential oil of oregano extract (*Mentha longifolia*) in vitro Iran. Journal of Medicinal Plants, 11(1): 149-185.

Karaman S., Tutem E., Bas-Kan K.S., Apak R. 2010. Comparison of total antioxidant antioxidant capacity andphenolic composition of some apple juices with combined. HPLC-CUPRAC assay. Food Chemistry, 120:1201-9.

Marinova EM., Yanishlieva N. 1997. Antioxidative activity of extracts from selected species of the family Lamiaceae in sunflower oil. Food Chemistry, 58(3): 245-8.

Moldovan R.I., Oprean R., Benedec D., Hanganu D., Duma M., Oniga I., Vlase L. 2014. LC-MS Analysisanalysis, Antioxidant antioxidant and Antimicrobial antimicrobial Activities activities for five Species species of Mentha Cultiveated in Romania. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures, 9(2): 559-566.

NatureGate A. 2013. Water mint: Mentha aquatic, 12-13.

Prakash A., Rigelhof F., Miller E. 2001. Antioxidant activity. Available from: http://www._ medallionlabs.com/downloads/antiox_acti_.pdf. (Accessed11May2012).

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-07-12]

Prior R.L., Wu X., Schaich K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacityand phenolics in foods and dietary supplements. Agriculture and Food Chemistry, 53(10): 4290-302.

Roginsky V., Lissi E.A. 2005. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. Food Chemistry, 92: 235 – 54.

Roozitalab A. 2012. Evaluation of the antimicrobial activity of antioxidant plant compounds. M.Sc thesis in plant physiology. Islamic Azad University Tonekabon Branch.

Saboura A., Ahmadi A., Zeynali A., Parsa M. 2014. Comparison Betweenthe Contents ofPhenolicandFlavonoid CompoundsandAerial PartAntioxidant Activity inScutellaria pinnatifidain Two NorthIranian Populations. University of Medical Sciences, 13(3): 249-66.

Salmaniyan S.H., Sadeghi Mahonak A., Khamiri M., Mastri Farahani M. 2013. Phenolic acids, microbial and anti-radical activity of methanol extract of leaves of Ogee. Journal of Nutrition and Food Technology, 2(8): 145-154.

Sassi A.B., Harzallah-skhiri F., chraief I., Bourgougnon N., Hammami M., Aouni M. 2008. Chemical composition and antimicrobial activities of the essential ail of (Tunisian) chrysanthemum trifurcatum (dest) Batt. and Trab flowerheads. Elsevier Journal, 11:324-339.

Senol F.S., Orhan I., Yilmaz G., Iek M., Şener B. 2010. Acetylcholin esterase, butyrylcholinesterase, and tyrosinase inhibition studies and antioxidant activities of 33 Scutellaria L. taxa from Turkey. Food and Chem Toxicol, 48: 781-8.

Siahpoosh A., Amraee F. 2011. Antioxidant Capacity of Various Extracts of Asteragalus Morinus Boiss Aerial Parts. Journal Shahid Sadoughi University Medical Sciences, 19(4):437-44.

Trabelsi N., Megdiche W., Ksouri R., Falleh H., Oueslati S., Soumaya B., et al. 2010. Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte Limoniastrum monopetalum leaves. Food Science and Technology, 43: 632- 639.

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-07-12]