مقاله تحقیقی
مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۲، دوره ۶۸، شماره ۲، ۱۹۰- ۱۸۳
Original Article
Journal of Veterinary Research. 68,2:183-190, 2013

ارزیابی ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه مرزه (*Satureja hortensis L.*) و مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی آن با عصاره‌های آبی و الکلی

ابوالفضل کامکار[۱] فهیمه توریان[۲*] افشین آخوندزاده بستی[۱] علی میثاقی[۱] نبی شریعتی فر[۳]

۱) گروه بهداشت مواد غذایی و کنترل کیفی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران-ایران
۲) گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تخصصی فن آوریهای نوین آمل، آمل-ایران
۳) گروه بهداشت و ایمنی مواد غذایی، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران-ایران

(دریافت مقاله: ۲۰ آبان ماه ۱۳۹۱ ، پذیرش نهایی: ۱۶ بهمن ماه ۱۳۹۱)

چکیده

زمینه مطالعه: کاهش اثرات زیان بخش رادیکال های آزاد، در سامانه های بیولوژیکی و غذایی، توسط آنتی اکسیدان ها امری مهم تلقی می شود، لذا تأمین ذخایر آنتی اکسیدانی که بتواند بهداشت و ایمنی جامعه را در برداشته باشد ضروری بنظر می رسد. **هدف:** این تحقیق به منظور بررسی اثر آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره های مختلف گیاه *Satureja hortensis L.* انجام شد. **روش کار:** گیاه مرزه با استفاده از حلال های مختلف عصاره گیری شد و ترکیب شیمیایی اسانس گرفته شده از بخش های هوایی گیاه با GC/MS مورد آنالیز قرار گرفت، میزان دفاع آنتی اکسیدانی با استفاده از روش ۲ و ۲' دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) و تست بتا کاروتن - لینولئیک اسید، تعیین گردید. **نتایج:** ۳۲ ترکیب در مجموع ۹۸/۹۲ ٪ اسانس شناسایی شد و تیمول، کارواکرول، گاما ترپینن به ترتیب ترکیبات اصلی بودند. IC_{50} در آزمون DPPH، در عصاره های آبی، متانولی و اتانولی و اسانس مرزه به ترتیب ترتیب (۳۸/۴۶±۰/۱۲μg/mL، ۳۷/۷۳±۰/۱۷، ۳۰/۷۶ ±۰/۶۳ و ۹۶/۱۵±۰/۱۳) و در ممانعت از اکسیداسیون لینولئیک اسید در غلظت ۲g/L عصاره آبی، اتانولی، متانولی و اسانس به ترتیب ۸۰/۳، ۷۶/۲۵، ۷۴/۳ و ۵۲/۴۶٪، اثر مهاری را نشان دادند. در مورد BHT، مقادیر ۱/۹± ۴/۹ و ۸۸/۸۸٪ در آزمایش DPPH و تست بتا کاروتن گزارش گردید. نتایج در این مطالعه نشان داد تمامی تیمارها در مقایسه با کنترل، خاصیت آنتی اکسیدانی و جذب رادیکالی قوی ای از خود نشان دادند. بالاترین اثر جذب رادیکال ها برای عصاره اتانولی مشاهده شد. برای خاصیت آنتی اکسیدانی، عصاره آبی مرزه بیشترین میزان ممانعت کنندگی را نسبت به سایرین نشان داد. نتایج ما نشان داد خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره ها در هر دو روش به صورت معنی داری بیشتر از اسانس بود ($p<0/05$). **نتیجه گیری نهایی:** به نظر می رسد اسانس و عصاره های آبی و الکلی مرزه، می تواند به عنوان یک منبع آنتی اکسیدان طبیعی ارزان، قابل دسترس و بالقوه برای اهداف غذایی و دارویی مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: *Satureja hortensis L.*، اسانس، عصاره، فعالیت آنتی اکسیدانی

مقدمه

بدون شک توسل به گیاهان دارویی، قدیمی ترین رهیافت بشر برای درمان بیماری ها بوده و همواره ارتباط تنگاتنگی بین آدمی و گیاه وجود داشته است. بنابراین گیاهان را می توان به عنوان منبعی از مواد شیمیایی بالقوه مفید دانست که این مواد بالقوه مفید را می توان نه تنها به عنوان دارو بلکه به عنوان الگویی بی نظیر برای ساخت آنالوگ های طبیعی جایگزین مواد شیمیایی دانست (۲۹). در دهه های اخیر، در راستای حذف یا کاهش ترکیبات سنتزی، تحقیقات زیادی برای جایگزینی مواد شیمیایی با طبیعی انجام شده وگزارش های متعددی بیان شد که گیاهان دارویی، دارای ترکیباتی با خاصیت آنتی اکسیدانی و یا آنتی رادیکالی می باشند (۱۹). که گروه بزرگی از این ترکیبات، متابولیت های ثانویه گیاهان هستند با ساختمان های پلی فنلی که در مواجه گیاهان با گونه های فعال اکسیژن تولید می شوند (۲۳) و تقریباً در تمام گیاهان و تمام قسمت های آنها ساخته می شوند (۳۵). آنتی اکسیدان ها ترکیباتی هستند که به طور موثر و به طرق مختلف اثر زیانبخش رادیکال های آزاد را در سامانه های بیولوژیکی و غذایی کم می کند و موجب سمیت زدایی می شوند (۳۲).

رادیکال های آزاد، واکنش گرهای بسیار قوی هستند که در همه جا حضور دارند و می توانند منشأ داخلی یا خارجی داشته باشند و عمدتاً از اکسیژن و نیتروژن فعال به دست می آیند و می توانند با بیوملکول هایی نظیر پروتئین، DNA و....واکنش دهند و منجر به آسیب و یا مرگ سلولی وانواع بیماریها خصوصاً سرطان شوند (۱۳،۳۲). در کنار نقش آنها در سامانه های زیستی، در مواد غذایی سرشار از چربی غیر اشباع نیز با ایجاد روند اکسیداسیون خودبه خودی و تولید ترکیبات شیمیایی نامطلوب باعث کاهش کیفیت تغذیه ای، در نتیجه تندی، بد طعمی و بد رنگ ماده غذایی شوند. لذا با توجه به عوارض سوء رادیکال های آزاد استفاده از ترکیبات آنتی اکسیدان ضروری به نظر می رسد (۱).

آنتی اکسیدان ها به دو دسته شیمیایی (سنتزی) و طبیعی تقسیم بندی می شوند (۳۳). آنتی اکسیدان های شیمیایی که بیشترین استفاده را در صنعت غذا دارند و بیشتر با ساختمان فنلی هستند شامل PG، TBHQ، BHA، BHT بوده که برای به تأخیر انداختن اکسیداسیون چربی ها استفاده می شود. اما طبق پاره ای از بررسی های انجام شده،

*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۰۱۲۱-۲۲۷۱۰۵۵ نمابر: ۰۱۲۱-۲۲۷۱۰۵۴ Email: f.tooryan@umz.ac.ir

استفاده از این آنتی اکسیدان‌های سنتزی در بعضی از کشورها به علت اثرات نامطلوب آنها روی سلامتی افراد، دارای محدودیت می‌باشد. بنابراین امروزه استفاده ازگروه وسیعی از گیاهان دارویی و ترکیبات آروماتیک آنها به عنوان منابع طبیعی که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی هستند، مورد توجه محققین قرار گرفته است(۱۹).

گیاه (*Satureja hortensis L.*) با نام فارسی مرزه باغی و نام انگلیسی Summer Savory از خانواده گیاهی لامیاسه (نعناعیان) و از گونه‌هایی با خصوصیت آنتی اکسیدانی چشمگیر می‌باشد. برطبق منابع موجود چنین به نظر می‌رسد نخستین بار در ایتالیا اقدام به پرورش این گیاه شده باشد. مرزه باغی گیاهی علفی، یکساله معطر و دارویی است که به عنوان یکی از سبزیجات مطبوع معرفی شده و کمی تندمزه است و مدت‌هاست که از آن به عنوان ادویه و طعم دهنده موادغذایی، در صنایع کنسرو و نوشابه و فرآوری تکه‌های گوشت و انواع سوسیس استفاده می‌شود(۱۲،۲۵). میزان اسانس در اندام‌های هوایی مرزه بسته به شرایط اقلیمی محل رویش گیاه متفاوت و بین ۲-۱٪ می‌باشد. مرزه به حالت وحشی در اماکن خشک، نواحی سنگلاخی ومزارع شنی اغلب نواحی جنوب اروپا و جنوب غربی آسیا مانند ایران و نیزدر سیبری می‌روید. اثرات درمانی این گیاه متفاوت است ازجمله :دارای خواص بادشکن و خلط آور است، برای بسیاری از اختلالات مجاری گوارشی شامل تهوع، اسهال، سوءهاضمه و بی اشتهایی مفید است، برای درمان دردهای عضلانی، گرفتگی عضلات نیز استفاده می‌شود(۳). این گیاه در بررسی‌های آزمایشگاهی اثرات ضد باکتریایی، ضد قارچی، آنتی اکسیدانی و آرام‌بخشی (مسکن) خواب آوری از خود نشان داده است (۳،۱۲).

روش‌های متعددی جهت ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی و آنتی رادیکالی مواد طبیعی وجود دارد که بیشتر آنها نقش مکمل یکدیگر را دارند. در این تحقیق به منظور ارزیابی گیاه مرزه تابستانی، ازدو روش به دام‌اندازی رادیکال‌های ۲و۲' ـ دی فنیل ۱ـ پیکریل هیدرازیل (DPPH) و (۷) تست بتا کاروتن ـ لینولئیک اسید استفاده شد که دوروش فوق در صنایع غذایی بسیار مطلوب می‌باشد(۱۷).

در مطالعات Souri و همکاران در سال ۲۰۰۴ (۳۴)، Cavar و همکاران در سال ۲۰۰۸ (۶)، Gulluce وهمکاران در سال ۲۰۰۳ (۱۶) با استفاده از تست‌های مختلفی که هریک کاستی‌ها وبرتری‌های خود را دارند، فعالیت آنتی اکسیدانی خوبی را برای اسانس و عصاره مرزه گزارش کردند (۳۱). به رغم فراوانی این گیاه، اطلاعات کمی در خصوص خواص آنتی اکسیدانی گیاه *Satureja hortensis L.* گزارش شده بنابراین لزوم توجه علمی به این موضوع حائز اهمیت بوده وتحقیق حاضر به بخشی از آن می‌پردازد. هدف از این مطالعه دروهله اول شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس و سپس بررسی فعالیت آنتی رادیکالی و آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره‌های گیاه مذکور با روش‌های آزمایشگاهی (*Invitro*) می‌باشد تا به این وسیله بتوان این مواد را به عنوان جایگزین یا مکمل آنتی اکسیدان‌های سنتزی پیشنهاد کرد.

مواد و روش کار

مواد گیاهی: گیاه مرزه در شهریور سال ۱۳۸۸ از منطقه واوان جمع آوری و توسط دکتر غلامرضا امین (دانشکده داروسازی دانشگاه تهران) با شماره هرباریوم (TEH-۶۷۱۷)، مورد تأیید قرار گرفت و پس از خشک شدن در سایه به صورت پودر درآمد. سپس عمل اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر به مدت ۳ساعت و عصاره گیری به روش سوکسله به مدت ۴۸ انجام شد و تا زمان انجام آزمایش اسانس و عصاره در یخچال $4^{o}C$+ نگهداری گردید (۳۱).

روغن: روغن آفتابگردان تصفیه شده، بوزدایی و رنگبری شده، بدون آنتی اکسیدان از کارخانه نینا تهیه شد.

مواد شیمیایی: تمام مواد شیمیایی و حلال‌ها مورد استفاده با درصد خلوص بالا، از شرکت مرک (آلمان) ورادیکال آزاد $DPPH^{o}$، بتا کاروتن، لینولئیک اسید، بوتیلیتد هیدروکسی تولوئن (BHT) و بوتیلیتد هیدروکسی آنیزول (BHA) از شرکت سیگما (آمریکا) خریداری شدند.

تجزیه اسانس با GC/MS: اسانس به دست آمده پس از آب‌گیری با سولفات سدیم بدون آب توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) تجزیه شد و با استفاده از محاسبه‌ی ضرایب بازداری هر یک از اجزای تفکیک شده و طیف جرمی آنها و مقایسه با استاندارد، ترکیبات تشکیل دهنده ی اسانس شناسایی شد.

دستگاه کروماتوگرافی استفاده شده از نوع Agilent ۶۸۹۰ با ستون به طول ۳۰m، قطر داخلی ۰/۲۵mm وضخامت لایه ۰/۲۵μm از نوع 5MS-HP بود. برنامه دمایی ستون به این نحو تنظیم گردید: دمای ابتدایی آون $50^{o}C$، توقف در این دما به مدت افزایش ۵ دقیقه، گرادیان دمایی $3^{o}C$ در دقیقه، دما تا $240^{o}C$ با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا $300^{o}C$ و ۳ دقیقه توقف در این دما. دمای اتاقک تزریق $290^{o}C$ بود واز گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان (فلو) ۰/۸mL در دقیقه استفاده گردید. طیف سنج جرمی مدل Agilent ۵۹۷۳ با ولتاژ ۷۰eV، روش یونیزاسیون (EI) و دمای منبع یونیزاسیون $220^{o}C$ بود.

بررسی خاصیت آنتی رادیکالی به روش $DPPH^{o}$: استفاده از رادیکال پایدار ۲و۲' ـ دی فنیل ۱ـ پیکریل هیدرازیل $DPPH^{o}$ به عنوان معرف جهت بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس‌های گیاهی، کاربرد زیادی دارد. در این آزمون، رادیکال چربی دوست $DPPH^{o}$ با آنتی اکسیدان‌هایی که دهنده‌ی هیدروژن می‌باشند، واکنش داده و به شکل کاهش یافته در می‌آید و رنگ محلول از بنفش تیره به زرد روشن تبدیل شده و در نتیجه میزان جذب در طول موج ۵۱۷nm- ۵۱۵ کاهش می‌یابد (۳۱). برای انجام این تست، ۵۰μL از غلظت‌های مختلف اسانس و عصاره در متانول به ۵mL محلول ۰/۰۰۴٪ DPPH در متانول اضافه گردید. بعد از ۳۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری در دمای اتاق جذب نوری نمونه‌ها در

طـول مـوج ۵۱۷nm بـر علیـه بلانـک قـرائت شـد. درصد بـازدارنـدگـی رادیکال‌های آزاد از طریق رابطه زیر محاسبه گردید(۲۷).

$$I\% = (Ablank - Asample / Ablank) \times 100$$

کـه در ایـن رابطـه Ablank، جـذب نـوری کنتـرل منفی (دارای تمام معـرف‌هـا بـه جز غلظت مشخص از اسانس و عصاره مورد نظر) می‌باشد. Asample میزان جذب نوری غلظت‌های مختلف اسانس و عصاره را بیان مـی‌کنـد. بـه جهـت بـررسـی بهتر فعالیت آنتی رادیکالی، از فاکتور IC_{50} استفـاده شـد کـه بیـان‌گـر غلـظتی از عصاره و یا اسانس که قادر به کاهش غلـظت رادیکـال آزاد DPPH اولیـه بـه ۵۰٪ مقـدار اولیـه اسـت که توسط نمـودارمحـاسبـه گـردیـد. در ایـن آزمـایش به عنوان کنترل مثبت از آنتی اکسیـدان سنتـزی بـوتیلیتـد هیـدروکسـی تولوئن استفاده گردید و کلیه آزمایش‌ها دو بار تکرار شدند.

تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره‌های مرزه به روش بی رنـگ شـدن بتـاکـاروتـن - لینـولئیـک اسید: در این روش فعالیت آنتی اکسیدانی، با آزمون بی رنگ شدن بتاکاروتن مورد سنجش قرار می‌گیرد. به این صورت که مواد ناشی از اکسیداسیون اسید لینولئیک با بتاکاروتن بر هم کنش داده و سبب کاهش رنگ شده و در نتیجه میزان جذب در طول مـوج ۴۹۰nm کـاهـش مـی یابد (۱۰). در این آزمایش ۰/۵mg بتاکاروتن در ۱mL کلروفرم حل شد و سپس ۲۵μL لینولئیک اسید و ۲۰۰mg توئین ۴۰ به آن اضافه گردیده و کاملاً مخلوط شد. سپس با استفاده از دستگاه تبخیر در خلاء کلروفرم به طور کامل تبخیر گردید و ۱۰۰mL آب مقطر اشباع شده از اکسیژن (۳۰دقیقه تحت فشار ۱۰۰mL در دقیقه) همراه با تکان شدید به آن اضافه شد. ۲۵۰۰μL از محلول تهیه شده فوق به لوله آزمایش منتقل شد و ۳۵۰μL از عصاره و اسانس (غلظت ۲g/L در اتانول HPLC grade) به لوله آزمـایش اضـافـه گـردید. بعد از ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری در دمای اتاق جذب نوری نمونه‌ها در ۴۹۰nm اندازه‌گیری شد. همین روش برای BHT به عنوان کنترل مثبت و کنترل منفی فاقد آنتی اکسیدان یا اسانس و عصاره (فقط حاوی ۳۵۰μL اتانول) می‌باشد به کار برده شد و میزان فعالیت آنتی اکسیـدانـی، از مقـایسـه جذب نوری نمونه‌ها با زمان صفر و از روی میزان پایداری رنگ زرد بتا کاروتن به درصد مورد سنجش قرار گرفت (۲۷).

آنـالیـز آمـاری: تجـزیـه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS به روش آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و رسم نمودارها با نرم افزار Excel صورت گرفت. تمامی نتایج به صورت میانگین دو تکرار ± انحراف استاندارد بیان شده است.

نتایج

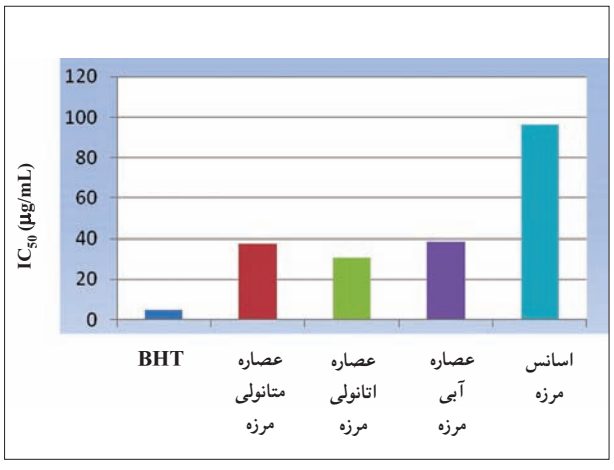
بررسی ترکیب شیمیایی اسانس: اسانس مرزه توسط روش تقطیر با دستگاه کلونجر بدست آمد. بازده اسانس ۱/۹۱٪ وزنی - وزنی بود. درصد ترکیبات تشکیل دهنده اسانس در جدول ۱ آورده شده است. بر اساس آنالیز بـوسیلـه GC/MS، ۳۲ تـرکیـب در مجـمـوع ۹۸/۹۲٪ در اسـانـس (*L.*

جدول ۱. مواد تشکیل دهنده‌ی اسانس مرزه تابستانی. (t*:traces (<0/1%.

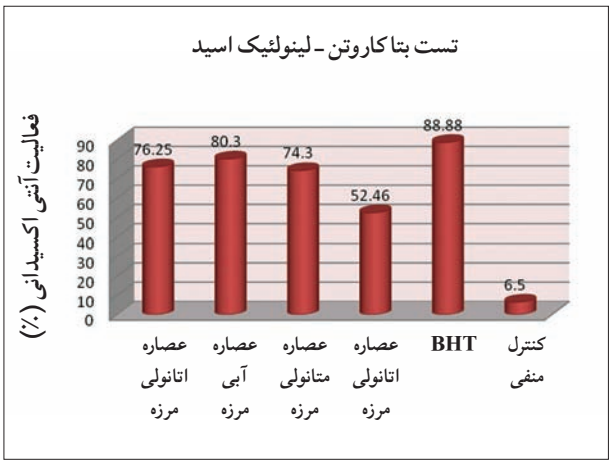
ردیف	ترکیب شیمیایی	اندیس کواتز (kI)	درصد
۱	α-Thujene	۹۲۹	۱/۲۴
۲	α -pinene	۹۳۷	۰/۷۱
۳	Camphene	۹۵۰	t
۴	Sabinene	۹۹۱	t
۵	β - pinene	۹۸۴	۰/۳۵
۶	β - myrcene	۹۹۳	۱/۶۸
۷	α -Phellandrene	۱۰۴۰	۰/۳۳
۸	d-3-Carene	۱۰۱۱	t
۹	α -Terpinene	۱۰۲۱	۳/۹۶
۱۰	β -Phellandrene	۱۰۳۲	۰/۵۵
۱۱	1-8cineole	۱۰۳۷	t
۱۲	γ -Terpinene	۱۰۵۹	۲۴/۷۲
۱۳	α -Terpinolene	۱۱۴۶	t
۱۴	Cis-sabinene hydrate	۱۰۶۷	t
۱۵	Linalool	۱۱۰۴	t
۱۶	Borneol	۱۱۶۴	t
۱۷	ρ -Cymene	۱۱۸۵	۷/۵۵
۱۸	Alpha-Terpineol	۱۱۹۰	t
۱۹	Cis-Dihydro carvone	۱۱۹۵	t
۲۰	Carvacrol methyl ether	۱۲۴۵	۰/۱
۲۱	thymol	۱۲۹۰	۲۹/۱
۲۲	carvacrol	۱۲۹۹	۲۶/۶
۲۳	thymol acetate	۱۳۵۲	۰/۳
۲۴	Carvacrol acetate	۱۳۷۱	۰/۱
۲۵	T-Caryophyllene	۱۴۱۵	۰/۵۲
۲۶	Aromadendrene	۱۴۳۲	t
۲۷	Neryl acetone	۱۴۳۶	t
۲۸	α - Humulene	۱۴۵۲	t
۲۹	β -Ionone	۱۴۸۳	*t
۳۰	β -bisabolene	۱۵۰۸	۰/۹۹
۳۱	Spathulenol	۱۵۷۴	۰/۱۲
۳۲	α -bisabolol	۱۶۸۱	t

Satureja hortensis) شنـاسـایـی شد. ترکیبات عمده آن عبارت اند از: تیمول (۲۹/۱٪)، کارواکرول (۲۶/۶٪)، گاماترپینن (۲۴/۷۲٪) و پاراسیمن (۷/۵۵٪)، کـه چـهـار تـرکیـب فـوق بیـش از ۸۷/۹۷٪ اسـانـس را تشکیـل مـی‌دهـنـد، البته ترکیباتی مثل آلفا ترپینن، بتامیرسن و آلفاتوجن نیز به میزان بسیار کمتر ترکیبات اسانس مرزه تابستانی را تشکیل می‌دادند.

حـذف رادیکال‌های آزاد با استفاده از روش DPPH°: با استفاده از روش اسپکتروفتومتری، جذب که بیانگر مقدار DPPH° باقی مانده است، بعد از ۳۰ دقیقه اندازه گیری می‌شود. هرچه این مقدار بیشتر باشد، فعالیت آنـتـی اکـسـیـدان‌هـا در حـذف رادیـکـال آزاد کـمـتـر بوده است. بنابراین، مـیـزان DPPH° بـاقـی مـانـده بـه طور معکوس با فعالیت حذف کنندگی رادیکال آنتی اکسیدان در ارتباط است (۲۰). در تمامی نمونه‌ها با افزایش غلظت، فعالیت به دام اندازی رادیکال افزایش می‌یابد. غلظتی از اسانس و عصاره که ۵۰٪ مهار رادیکالی را منجر شد در نمودار ۱ در مقایسه با بوتیلیتد هیدروکسی تولوئن آورده شده است.



نمودار ۱. اثر اسانس وعصاره‌های آبی و الکلی مرزه تابستانی (*Satureja hortensis L.*) و کنترل مثبت BHT در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH°.



نمودار ۲. مقایسه ی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس وعصارهای مرزه با BHT به روش بی رنگ شدن بتاکاروتن غلظت‌ها بر حسب ۲g/L اتانول.

فاکتور IC_{50} در اسانس وعصاره‌های آبی ،متانولی و اتانولی مرزه در این مطالعه به ترتیب µg/mL ۹۶/۱۵±۰/۱۳، ۳۸/۴۶±۰/۱۲، ۳۷/۷۳±۰/۱۷ و ۳۰/۷۶ ±۰/۶۳ به دست آمد. میزان IC_{50} در BHT، به عنوان کنترل مثبت ۴/۹±۱/۹ برآورد شد. در نمونه ی کنترل منفی کاهشی درجذب دیده نشد. تمامی عصاره‌ها فعالیت آنتی اکسیدانی خوبی از خود نشان دادند و اختلاف معنی داری بین فعالیت این عصاره‌ها وجود نداشت ($p<۰/۰۵$) ولی اختلاف معنی داری بین نتایج به دست آمده برای عصاره‌ها با اسانس دیده شد و اسانس و عصاره‌های یاد شده نسبت به BHT فعالیت آنتی رادیکالی کمتری داشتند، در بین عصاره‌ها، عصاره‌ی اتانولی اثر ضد رادیکالی بهتری را نسبت به عصاره‌های آبی و متانولی دارا بود.

بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی با بی رنگ شدن بتاکاروتن: به منظور ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس وعصاره مرزه از این روش استفاده شد. سرعت بی رنگ شدن بتاکاروتن در حضور آنتی اکسیدان‌ها کاهش می‌یابد در این آزمایش از BHT به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس وعصاره مرزه در نمودار ۲ با آنتی اکسیدان سنتزی BHT مقایسه شده است.

بیش ترین اثر آنتی اکسیدانی در سامانه بی رنگ شدن بتاکاروتن مربوط به BHT در غلظت ۲g/L بود. به ترتیب ۸۰/۳، ۷۶/۲۵، ۷۴/۳، ۵۲/۴۶، ۸۸/۸۸ و۶/۵٪ اثر مهاری ،توسط عصاره آبی، عصاره اتانولی، عصاره متانولی ، اسانس مرزه، BHT وکنترل منفی گزارش گردید.

بحث

بررسی ترکیب شیمیایی اسانس: بر اساس آنالیز GC/MS، ۳۲ ترکیب در مجموع ۹۸/۹۲٪ در اسانس (*Satureja hortensis L.*) شناسایی شد. ترکیبات عمده آن عبارت اند از: تیمول، کارواکرول، گاماترپینن وپاراسیمن، که چهار ترکیب فوق بیشترین درصد اسانس را تشکیل می‌دهند. نتایج ما با کار Gulluse و همکاران در سال ۲۰۰۳ در ترکیه ،تقریباً موافق بود، آنها ۲۲ ترکیب برای اسانس مرزه باغی گزارش کردند. عمده ترین ترکیبات اسانس تیمول (۲۸/۹٪)، کارواکرول (۲۶/۱٪)، گاماترپینن (۲۱/۵٪)، پارا سیمن (۱۰٪)، آلفا پینن (۳٪)، آلفاترپینن (۲/۷٪) وبتا پینن (۲/۵٪) بود(۱۶). در مطالعه‌ای که توسط Adiguzel و همکاران در سال ۲۰۰۷ در مورد اسانس (*Satureja hortensis L.*) انجام گرفت عمده ترین ترکیبات اسانس عبارت بودند از: تیمول (۴۰/۵۴٪)، گاما ترپینن (۱۸/۵۶٪)، کارواکرول (۱۳/۹۸٪) وپارا سیمن (۸/۹۸٪)(۲). مطالعه Omidbeygi و همکاران در سال ۲۰۰۷، برروی خاصیت ضد قارچی مرزه باغی، ترکیب‌های عمده اسانس را کارواکرول (۲۴/۵۰٪)، تیمول (۲۳/۱۲٪)، گاماترپینن (۲۰/۷۲٪) و پارا سیمن (۶/۳۰٪) گزارش کردند (۲۶). بسیاری از محققین بیان کردند ترکیبات عمده گونه‌های جنس مرزه از مونوترپنهای فنلی مثل تیمول و کارواکرول می‌باشد که اغلب به همراه گاما ترپینن ،پارا سیمن و لینالول وجود دارند و این گروه از ترکیبات فنلی دارای خاصیت آنتی اکسیدانی و آنتی میکروبی هستند (۱۴،۲۱،۲۴،۲۸،۳۱،۳۶) که این یافته‌ها با نتایج ما مطابقت دارد. البته همانگونه که مشاهده می‌شود در مقدار ونوع این ترکیبات تفاوت‌هایی مشاهده می‌شود که دلایل مختلفی دارد، به طور کلی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس‌های گیاهی بر حسب منطقه جغرافیایی رویش، رقم، سن گیاه در هنگام تهیه اسانس، شرایط محیطی و فصلی، نوع کشت، زمان برداشت، روش خشک کردن و استخراج اسانس، اسانس‌گیری از اندام‌های مختلف ودر نهایت تفاوت ژنتیکی گیاه، می تواند تغییر کند (۵).

حذف رادیکال‌های آزاد با استفاده از روش DPPH°: فاکتور IC_{50} نسبت معکوسی با فعالیت آنتی اکسیدانی دارد. بدیهی است که هر چه این عدد کوچکتر باشد قدرت آنتی اکسیدانی یا مهار رادیکال‌های آزاد بیش تر می‌باشد بین نتایج به دست آمده برای عصاره‌ها با اسانس دیده شد و اسانس و عصاره‌های یاد شده نسبت به BHT فعالیت آنتی رادیکالی کمتری داشتند، در بین عصاره‌ها، عصاره‌ی اتانولی اثر ضد رادیکالی بهتری

را نسبت به عصاره‌های آبی و متانولی دارا بود. اسانس از همه ضعیف‌تر عمل کرد. در مطالعه Fazel و همکاران در سال ۱۳۸۶، با بررسی اثر حرارت برروی فعالیت آنتی رادیکالی اسانس‌های آویشن و مرزه، مقادیر IC_{50} را به ترتیب mg/mL ۸/۹ و ۵/۸ گزارش کردند(۱۵) که نسبت به IC_{50} اسانس مورد مطالعه μg/mL ۹۶/۱۵، فعالیت آنتی اکسیدانی متوسطی را نشان دادند.

Kamkar و همکاران در سال ۲۰۱۰، IC_{50} اسانس و عصاره پونه را به این صورت گزارش کردند، اسانس ۱۷۶۵±۵μg/mL، عصاره آبی پونه ۱۰۰±۲/۱، عصاره اتانولی ۵۳/۸±۰/۵۸ و عصاره متانولی ۵۰±۰/۵ (۱۸). Gulluce و همکاران در سال ۲۰۰۳ فعالیت آنتی رادیکالی اسانس و عصاره متانولی گیاه مرزه و کشت سلولی مرزه را با استفاده از تست DPPH° بررسی کردند، مقدار IC_{50} در مورد عصاره متانولی کشت سلولی ۲۳/۶۷±۰/۸۰μg/mL بود که قابل قیاس با آنتی اکسیدان سنتزی BHT، ۱۹/۸۰ ±۰/۵۰μg/mL بود و بیان کردند که با تغییرات شرایط کشت، می‌توان تولید مواد موثر در فعالیت آنتی اکسیدانی را افزایش داد (۱۶).

Bahramikia و همکاران در سال ۲۰۰۸، فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی گیاه (*Satureja hortensis L.*) را با استفاده از ۳ تست ABTS, DPPH° و FRAP مورد ارزیابی قرار داده و به ارتباط مستقیم میان غلظت و پتانسیل فعالیت آنتی اکسیدانی آن پی بردند، و بیان کردند با افزایش غلظت، فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش معنی‌داری می‌یابد (۴). Mata و همکاران در سال ۲۰۰۷ روی نعناع و پونه کار کردند، IC_{50} برای عصاره‌ی آبی ۵/۷ و برای عصاره‌ی اتانولی ۶۵/۲μg/mL و در مورد پونه، برای عصاره‌ی آبی و اتانولی به ترتیب ۸/۹μg/mL و ۲۴/۹μg/mL گزارش شد. نتایج به دست آمده در مورد عصاره‌های آبی دو گیاه مذکور در مقایسه با عصاره آبی گیاه مرزه از نظر فعالیت ضد رادیکالی بهتر بود ولی عصاره اتانولی مرزه نسبت به نعناع در سطح بالاتر ولی نسبت به پونه کمی ضعیف‌تر عمل کرده بود (۲۲).

Shahsavari و همکاران در سال ۲۰۰۸، میزان IC_{50} اسانس آویشن شیرازی را (mg/mL) ۲/۲۲±۰/۰۴ (۳۰) و Zhang و همکاران در سال ۲۰۰۶، ۸۰/۲۱ mg/mL برای اسانس جعفری تعیین کردند که این اعداد فعالیت آنتی رادیکالی ضعیف‌تر این اسانس‌ها را نسبت به اسانس مورد مطالعه نشان دادند (۳۷). با توجه به مطالب بالا و مقادیر IC_{50} اسانس و عصاره‌های مرزه نسبت به سایر گیاهان دارویی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که این گیاه فعالیت آنتی رادیکالی نسبتاً خوبی دارد و قوی‌تر بودن فعالیت آنتی رادیکالی عصاره‌ها به علت وجود ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی می‌باشد که نسبت به اسانس قابلیت استخراج بیشتر دارند (۱۸).

بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی با بی رنگ شدن بتا کاروتن: نتایج بیانگر این است که عصاره آبی اثر مهاری خوبی را در برابر اکسیداسیون از خود نشان داد و ظرفیت آنتی اکسیدانی نزدیکی با آنتی اکسیدان سنتزی BHT دارد و اثر مهاری اسانس از عصاره‌ها و BHT کمتر بود. البته ممکن است فعالیت آنتی اکسیدانی کم‌تر اسانس مورد مطالعه نسبت به آنتی اکسیدان سنتزی BHT، به علت حضور ناخالصی موجود در اسانس باشد (۳۱). در مطالعه‌ای Oke و همکاران در سال ۲۰۰۹، فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره متانولی گیاه Satureja cuneifolia Ten را با روش بی رنگ شدن بتا کاروتن اندازه‌گیری کرده و میزان ترکیبات فنلی را بدست آورده و قدرت مهاری عصاره متانولی و اسانس را به ترتیب ۹۵/۲±۰/۲ و ۰/۳± ۸۴/۵٪ اعلام کردند این محققین نشان دادند بین میزان ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی اکسیدانی ارتباط خوبی وجود دارد و فعالیت آنتی اکسیدانی بالای اسانس به علت حضور کارواکرول، پاراسیمن، تیمول و گاما ترپینن بود(۲۴). Souri و همکاران در ۲۰۰۴ بر اساس جلوگیری از پراکسیداسیون اسید لینولئیک، برای عصاره متانولی مرزه خواص آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به کوئرستین به عنوان کنترل مثبت گزارش کردند ولی نسبت به آلفا توکوفرول اثر مهاری کمتر بود(۳۴).

در مطالعه Gulluce و همکاران در سال ۲۰۰۳ فعالترین بخش از نظر ممانعت اکسیداسیون لینولئیک اسید، اسانس مرزه را با قدرت مهاری ۹۵٪ گزارش کردند، که تقریباً معادل قدرت مهار توسط BHT (۹۶٪) بود و برای عصاره درصد ممانعت ۹۰٪ گزارش شد. ولی در تحقیق ما چنین اثر ممانعت از اسانس دیده نشد و عصاره‌ها قویتر عمل کردند(۱۶). Kamkar و همکاران در سال ۲۰۱۰ فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی پونه را با روش بی رنگ شدن بتا کاروتن بررسی و اثر مهاری را بصورت اسانس < عصاره‌ها < BHT نشان دادند(۱۸).

با توجه به نتایج می‌توان گفت گیاه مرزه دارای خواص آنتی اکسیدانی خوبی نسبت به سایر گیاهان دارویی می‌باشد، و در هر دو تست DPPH° و بی رنگ شدن بتا کاروتن، نتایج آزمایش با هم مطابقت داشتند و عصاره‌ها اثر مهاری و آنتی اکسیدانی تقریباً یک سطح داشته و قوی‌تر از اسانس گیاه ظاهر شدند که این بیشتر در ارتباط با ترکیبات فنلی می‌باشد، که به صورت گسترده در گیاهان یافت می‌شوند و بیشتر از طریق عصاره‌های گیاهی در مقایسه با اسانس آنها قابل استخراج می‌باشند. البته ممکن است فعالیت آنتی اکسیدانی کم‌تر اسانس، نسبت به عصاره‌ها به علت حضور ناخالصی موجود در اسانس باشد که علاوه بر اجزای موثر ترکیب‌های دیگری نیز حضور داشته باشند و بر خاصیت آنتی اکسیدانی اثر بگذارند بنظر می‌رسد اگر خالص سازی صورت گیرد اثر آنتی اکسیدانی بهتری از اسانس مشاهده گردد (۳۱). محققان زیادی علت خواص آنتی اکسیدانی اسانس‌ها را به علت حضور ترکیباتی نظیر گاماترپینن، کارواکرول و تیمول می‌دانند (۸،۹،۱۱) که این ترکیبات از اجزای اصلی اسانس گیاه مرزه می‌باشند و خواص آنتی اکسیدانی اسانس را سبب می‌شوند (۶).

با توجه به خواص آنتی اکسیدانی این گیاه، این تحقیق می‌تواند نقطه شروعی برای آزمایش‌های تکمیلی در ارتباط با کاربرد اسانس و بخصوص عصاره‌ها در صنایع غذایی و دارویی باشد.

تشکر وقدردانی

بدینوسیله از حمایت‌های مالی معاونت محترم پژوهشی دانشکده دامپزشکی و معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تهران صمیمانه قدردانی می‌شود.

References

1. Abdalla, A., Roozen, J. (1999) Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion. Food Chem. 64: 323 - 329.
2. Adiguzel, A., Ozer, H., Kilic, H., Cetin, B. (2007) Screening of antimicrobial activity of essential oil and methanol extract of *Satureja hortensis* on foodborne bacteria and fungi. Czech J Food Sci. 25: 81-89.
3. Akhondzade, SH. (1379) Encyclopedia of Medicinal plants of Iran. Institute of medicinal plants jahad daneshgahi. Arjmand publication. Tehran, Iran.
4. Bahramikia, S., Yazdanparast, R., Nosrati, N. (2008) A comparision of antioxidant capacities of ethanol extracts of *Satureja hortensis* and *Artemisia Dracunculus* leaves. Pharmacologyonline. 2: 694-704 .
5. Burt, S. (2004) Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods (a review). Int J Food Microbiol. 94: 223-253.
6. Cavar, S., Maksimovic, M., Šolic, M., Jerkovic´-Mujkic´, A., Bešta, R. (2008) Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of two *Satureja* essential oils. Food Chem. 111: 648-653.
7. Chung, Y., Chien, C., Teng, K., Chou, S. (2006) Antioxidative and mutagenic properties of Zanthoxylum ailanthoides Sieb & zucc. Food Chem. 97: 418-425.
8. Daferera, D., Basil, N., Ziogas, M., Polissiou, G. (2000) GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. J Agric Food Chem. 48: 2576-2581.
9. Daferera, D.,Basil, N., Ziogas, M., Polissiou, G. (2003) The effectiveness of plant essential oils on *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. michiganensis. Crop Prot. 22: 39-44.
10. Dapkevicius, A., Venskutonis, R., VanBeek, T., Linssen, P. (1998) Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. J Sci Food Agric. 77: 140-146.
11. Didry, N., Dubreuil, L., Pinkas, M. (1993) Antibacterial activity of thymol, carvacrol and cinnamaldehyde alone or in combination. Pharmazie. 48: 301-304.
12. Dorman, H., Hiltunen, R. (2004) Fe (III) reductive and free radical-scavenging properties of summer savory (*Satureja hortensis L.*) extract and sub-fractions. Food Chem. 88: 193-199.
13. Espin, J., Soler-Rivas, C., Wichers, H. (2000) Characterisation of the total free radical scavenger capacity of vegetabale oils and oil fractions using 2, 2- diphenyl- 1- picrylhydrazyl radical. J Agric Food Chem. 48: 648 - 656.
14. Esqui´vel, M., Ribeiro, M., Bernardo-Gil, M.(1999) Supercritical extraction of savory oil: Study of antioxidant activity and extract characterization. J Supercrit Fluids. 14: 129-138.
15. Fazel, M., Omidbeygi, M., Barzegar, M., Naghdi-Badi, H. (2007) Influence of heating on antiradical activity of essential oils of thyme, summer sarvory and clove by 2, 2- diphenyl- 1-picrylhydrazyl (DPPH°). Method J Med Plants. 6: 54- 63.
16. Gulluce, M., Sokmen, M., Daferera, D., Agyar, G., Ozkan, H., Kartal, N., et al. (2003)In vitro anti-bacterial, antifungal and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of herbal parts and callus cultures of *Satureja hortensis L*. J Agric Food Chem. 51: 3958-3965.
17. Hinneburg, I., Dorman, D., Hiltunen, R. (2006) Antioxidant activities of selected culinary herbs and spices. Food Chem. 97: 122-129.
18. Kamkar, A., Jebelli, A., Asadi, F., Kamalinejad, M. (2010) The antioxidative effect of Iranian Mentha pulegium extracts and essential oil in sunflower oil. Food Chem Toxicol. 48: 1796-1800.

19. Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V. (2004) Use of different methods for testing antioxidative of oregano essntial oil. Food Chem. 85: 633 -640.
20. Molyneux, PH. (2004) The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J Sci Technol. 26: 211-219.
21. Novak, J., Bahoo, L., Mitteregger, U., Franz, C. (2006) Composition of individual essential oil glands of savory (*Satureja hortensis L*., Lamiaceae) from Syria. Flavour Fragr J. 21: 731-734.
22. Mata, A., Proenca, C., Ferreira, A., Serralheiro, M., Nogueira, J., Araujo, M. (2007) Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food species. Food Chem. 103: 778-786.
23. Muret, K., Sevgi, K., Sengul, K., Esra, U., Cemalettin, B., Fedra, V. (2007) Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. Food Chem. 100: 526-534.
24. Oke, F., Aslim, B., Ozturk, S., Altundag, S. (2009) Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of Satureja cuneifolia Ten. Food Chem.112: 874-879.
25. Omidbaigi, R. (1999) Production and Processing of Medicinal Plants. Vol. 2. Tarahan Nashr Publications. Tehran, Iran.
26. Omidbeygi, M., Barzegar, M., Hamidi, Z., Naghdibadi, H. (2007) Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. Food Control. 18: 1518-1523.
27. Sahin, F., Güllüce, M., Daferera, D., Sökmen, A., Sökmen, M., Polissiou, M., et al. (2004) Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. vulgare in the Eastern Anatolia region of Turkey. Food Control. 15: 549-57.
28. Sefidkon, F., Jamzad, Z. (2005) Chemical composition of the essential oil of three Iranian *Satureja* species (*S. mutica*, *S. macrantha* and *S.intermedia*). Food Chem. 91: 1-4.
29. Semnani, M., Saeedi, M., Mahdavi, M., Rahimi, F. (2007) Study and comparison of the antimicrobial activity of methanolic extracts of several species of Stachys and Phlomis. J Mazandaran Univ Med Sci. 57: 57-66.
30. Shahsavari, N., Barzegar, M., Sahari, M., Naghdibadi, H. (2008) Antioxidant activity and chemical characterization of essential oil of *Bunium persicum*. Plant Food Hum Nutr. 63: 183 - 188.
31. Shahsavari, N., Barzegar, M., Sahari, M.A., Naghdibadi, H. (2008) Antioxidant activity of essential oil of *Zataria multiflora* Boiss.) in soy oil. J Med Plants. 28: 56 - 68.
32. Shrififar, F., Moshafi, M., Mansouri, S. (2007) In vitro evalution of antibacterial and antioxidant of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. Food Control. 18: 800 -805.
33. Singh, G., Maurya, S., Delampasona, M. (2007) A comparison of chemical antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. Food Chem Toxicol. 45: 1650-1661.
34. Souri, E., Amin, G., Farsam, H., Andaji, S. (2004) The antioxidant activity of some commonly used vegetables in Iranian diet. Fitoterapia .75: 585-588.
35. Stoilova, A., Krastano, A., Dtoyanova, P., Senev, P., Farfova, S. (2007) Antioxidant activity of ginger extract (*Zingiber Officinale*). Food Chem. 102: 764-770.
36. Svoboda, K., Greenaway, R. (2003) Investigation of volatile oil glands of *Satureja hortensis L*. (summer savory) and phytochemical comparison of different varieties. Int J Aromather. 13: 196-202.
37. Zhang, H., Chen, F., Wang, X., Yao, H. (2006) Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identific-ation of its antioxidant constituents. Food Res Int. 39: 833-839.

Chemical composition of summer savory (*Satureja hortensis L.*) essential oil and comparison of antioxidant activity with aqueous and alcoholic extracts

Kamkar, A.[1], Tooryan, F.[2*], Akhondzadeh Basti, A.[1], Misaghi, A.[1], Shariatifar, N.[3]

[1]*Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran*

[2]*Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol-Iran*

[3]*Department of Food Safety Hygiene, School of Public Health, University of Tehran Medical Sciences (TUMS), Tehran-Iran*

(Received 10 November 2012 , Accepted 4 February 2013)

Abstract:

BACKGROUND: Reducing the detrimental effects of free radicals, in biological and food systems by antioxidants, is important, thus providing antioxidants is necessary issue in community health and food safety. **OBJECTIVES:** The aim of the present study was to determine antioxidant properties of the essential oil and various extracts obtained from summer savory. **METHODS:** Summer savory were extracted using different type solvents and chemical composition of hydro-distilled volatile oil from the aerial part of the plant and analyzed by GC/MS. the antioxidant activities were measured by 2, 2'- diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH°) free radical scavenging and β-carotene-linoleic acid assays. **RESULTS:** 32 compounds, which representing 98/92% of the essential oil, were detected as major components: (thymol, carvacrol and terpinene, respectively). While IC50 for DPPH radical-scavenging activity were 38.46± 0.12, 37.73 ±0.17, 30.76±0.63 µg/mL for water, methanol, and ethanol extracts, respectively, it was 96.15±0.13 µg/ml for essential Oil. 80.3, 76.25, 74.3 and, 52.46 % inhibition were shown for water, ethanol, methanol extracts and essential oil in β-carotene/linoleic acid assay, respectively. These parameters for BHT were 4.9±1.9 µg/mL and 88.88% for DPPH and β-carotene-linoleic acid tests, respectively. According to the results in this study, all treatments comparing with control ,displayed strong antioxidant and radical_scavenging properties. The highest radical scavenging effect was observed in ethanol extract.The aqueous extract exhibited the greatest inhibition compared with others. Meanwhile, in both assays the extracts had more antioxidant activity than the essential oil ($p<0.05$). **CONCLUSIONS:** It seems the extracts (aqueous and alcoholic) and essential oil, could be considered as a cheap, easily accessible and potential source of natural antioxidants for food and pharmaceutical purposes.

Key words: *Satureja hortensis L.*, antioxidant activity, essential oil, extract

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Ingredients of summer savory's essential oil.

Graph 1. Effect of aqueous and alcoholic extracts, essential oil of summer savory (*Satureja hortensis L.*) and BHT in scavenging of DPPH free radicals

Graph 2. A Comparison of the antioxidant activity among essential oil, and extracts of summer savory extracts and BHT based on carotene bleaching method. the concentration was (2g/L of ethanol).

***Corresponding author's email: f.tooryan@umz.ac.ir, Tel: 0121-2271055, Fax: 0121-2271054**