نشریه علمی ترویجی فناوری گیاهان دارویی ایران
دوره ۰۲- شماره ۰۲- پیاپند ۰۳-پاییز و زمستان۱۳۹۸

بررسی تأثیر شرایط تهیه دمنوش پونه کوهی بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فلزهای سنگین آن

Effect of infusion preparation condition of pennyroyal on the level of antioxidant activity and its heavy metals

نازیلا زینالی نامدار[۱]، مهدی قره خانی[۱*]

۱. گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

تاریخ دریافت:۱۳۹۸/۰۷/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۳۰

چکیده

زینالی نامدار، ن. قره خانی، م. . بررسی تأثیر شرایط تهیه دمنوش پونه کوهی بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فلزهای سنگین آن **نشریه علمی ترویجی فناوری گیاهان دارویی ایران، دوره ۰۲- شماره ۲- پیاپند ۳ ۰ پاییز و زمستان ۱۳۹۸: صفحه ۱۱٤-۱۰۰.**

دمنوش‌های گیاهی یکی از رایج‌ترین نوشیدنی‌های مورد استفاده در دنیا می‌باشند. این دمنوش‌ها حاوی ترکیبات فنولی، فلزی و عناصر موثر بر سلامتی انسان هستند. دانستن مقادیر ترکیبات مفید و فلزهای سنگین موجود در این دمنوش‌ها برای افراد بسیار مهم می‌باشد. به‌همین دلیل هدف از این مطالعه تهیه دمنوش از گیاه پونه کوهی و بررسی تأثیر روش تهیه (غرقابی و فراصوت) برای زمان‌های مختلف (۵ و ۱۵ دقیقه) بر میزان ترکیبات فنولی، توانایی به دام اندازی رادیکال آزاد (DPPH) و فلزهای سنگین آن (آرسنیک، سرب و کادمیوم) در قالب طرح کاملا تصادفی بود. نتایج تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از آزمایش نشان داد که روش تهیه دمنوش بر میزان تمامی پارامترهای مورد مطالعه معنی‌دار داشت (P <۰/۰۵). نتایج نشان داد که افزایش زمان هر دو روش (فراصوت و غرقابی) میزان ترکیبات فنولی و توانایی به دام اندازی رادیکال آزاد DPPH دمنوش ها را افزایش داد که میزان این افزایش زمانی که از فراصوت استفاده شد، بیشتر بود. بیشترین میزان سرب در بین دمنوش‌ها (۰/۰٦ ppm) به نمونه حاصل از ۱۵ دقیقه به روش غرقابی تهیه شده بود، تعلق داشت. بیشینه و کمینه میزان کادمیوم در نمونه‌ها نیز به ترتیب به نمونه حاصل از ماده اولیه و ۵ دقیقه غرقابی اختصاص داشت. میزان تمامی فلزهای سنگین اندازه‌گیری شده در این مطالعه کمتر از میزان استاندارد تعریف شده برای فلزهای سنگین دمنوش‌های گیاهی و میوه‌ای بود. در نهایت با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان بیان داشت که استفاده از ۱۵ دقیقه فراصوت بهترین روش تهیه دمنوش پونه کوهی بود.

واژه کلیدی: پونه کوهی، دمنوش، فراصوت، فلزهای سنگین، قدرت آنتی‌اکسیدانی

* آدرس پست الکترونیکی نگارنده مسئول: m.gharekhani@iaut.ac.ir

مقدمه

استفاده از گیاهان دارویی و فرآورده‌های حاصل از آن‌ها نقش این گیاهان را در چرخه اقتصادی پراهمیت کرده است به طوری‌که مصرف رو به ازدیاد آن‌ها تنها به کشورهای در حال توسعه محدود نشده است، بلکه اخیراً در کشورهای توسعه یافته نیز جایگاه ویژه‌ای به خود اختصاص داده است. کشور ما به لحاظ تنوع جغرافیایی و اقلیمی، گونه‌های گیاهی متنوعی در آن انتشار دارند. در این میان فلور غنی ایران بیش از ۷۵۰۰ گونه گیاهی را در بر می‌گیرد که تعداد بسیار زیادی از آن‌ها را گیاهانی تشکیل می‌دهند که به دلایلی دارویی نامیده می‌شوند (Omid Bigi, 2003). دمنوش‌های گیاهی یکی از رایج‌ترین نوشیدنی‌های مورد استفاده در دنیا می‌باشد. این دمنوش‌ها حاوی ترکیبات فنولی، فلزی و عناصرموثر بر سلامتی انسان هستند (Salahinejad et al., 2009). از اثرات مفید دمنوش می‌توان به اثرات آنتی‌اکسیدانی، تقویت سیستم ایمنی و اثرات محافظتی در برابر انواع سرطان‌ها شامل ریه، پروستات، سینه و کاهش سطح کلسترول خون اشاره کرد (Luczaj and Skrzydlewska, 2005؛ Fujitaand Yamagami, 2008). پونه کوهی (Menthe Longifoia) از خانواده Lamiaceae و جنس Mentha است که از گونه‌های مختلف و تعداد بسیار زیادی واریته تشکیل شده است (Zenali, 2004). ترکیب اصلی این گیاه شامل پولگون[1]، منتون[2]، ایزومنتون[3]، مانتول[4]، هسپریدین[5]، پیپریتون[6]، پیپریتول[7] می‌باشد (Pajohesh et al., 2010). ویژگی‌های درمانی پونه کوهی در برطرف کردن اختلالات گوارش، استفراغ و اختلالات کبدی به اثبات رسیده است. همچنین ویژگی‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی گونه‌های متعدد این گیاه به خوبی مشخص شده است (Guiluce et al., 2007). تکنیک‌های کلاسیک برای استخراج با حلال مواد موثره از ترکیبات گیاهی به نوع حلال انتخابی، حرارت و همزدن وابسته است. این روش‌ها عبارتند از: روش غرقابی، سوکسله، خیساندن و پرکولاسیون با یک مخلوط آب- الکل یا چربی داغ. در مدتی که مواد گیاهی با حلال در تماس است، انتقال جرم ترکیب مورد نظر از ماده غذایی به حلال

[1]- Pulgone
[2]- Mentone
[3]- Iso Mentone
[4]- Menthol
[5]- Hesperidin
[6]- Piepriton
[7]- Piepritol

صورت می‌گیرد. زمان استخراج در این روش‌ها بایستی به حد کافی باشد تا حلال به خوبی حداکثر مقدار ماده را استخراج کند (Wang, and Weller, 2006). فراصوت یک فرایند جدید می‌باشد که در زمینه‌های مختلف علوم تغذیه به کار گرفته شده است (Kadam et al., 2015؛ Samaram et al., 2015). فراصوت به امواجی گفته می‌شوند که فرکانس آنها بیش از ۲۰-۱۸ کیلوهرتز باشد (Arends et al., 2003). روش استخراج با کمک فراصوت به دلیل بهره‌وری بالاتر و مصرف انرژی و آب کمتر، در حال تبدیل شدن به جایگزینی مناسب برای روش‌های سنتی استخراج می‌شود (Shirsath et al., 2012). اثر افزایشی امواج فراصوت بر سرعت استخراج مواد گیاهی به شکستن سلول‌ها و انتشار محتویات آنها به محیط استخراج ارتباط دارد (Lingyun et al., 2007). کاربرد فراصوت به طور کلی شامل فرایندهایی می‌شود که می‌توانند باعث افزایش سرعت، بهبود کیفیت و یا ایمنی و کاهش زمان فرایند شود (Virot et al., 2010).

درطی دودهه‌ی گذشته اصطلاح "فلزهای سنگین " به‌طور وسیعی مورد استفاده قرار گرفته است. فلزهای سنگین اغلب به گروهی از فلزها و شبه فلزات گفته می‌شود که با آلودگی و سمیت مرتبط می‌باشند. در واقع از این اصطلاح استفاده‌های متناقضی شده است. تاکنون تعریف این اصطلاح توسط هیچ منبع معتبری چون IUPAC[1] هم ارائه نگردیده است. بیش از ٦٠ سال است که از آن در شیمی استفاده می‌شود (Duffus, 2002). از نظر بیولوژیکی فلز سنگین به عناصری که دارای خاصیت سمی هستند، اطلاق می‌گردد. بر این اساس فلزاتی که در فهرست مواد سمی قرار می‌گیرند عبارتنداز : نیکل، منگنز، کادمیموم، کروم، کبالت، سرب و غیره (Dehghani, 2011). برخی محققین بیان داشتند نوع ماده اولیه و روش فراوری بر روی میزان فلزهای سنگین منتقل شده از گیاه به دمنوش حاصله تاثیر دارد که از این جمله می‌توان به مطالعات Jin و همکاران (۲۰۰۸) که مشخص کردند بخشی از میزان سرب برگ چای وارد دمنوش حاصله می‌شود و Raskin و همکارن (۱۹۹٤) که بیان داشتند، استفاده از روش غرقابی نیز منجر به ورود برخی از فلزهای سنگین در دمنوش حاصله می‌گردد، اشاره نمود. Morgan (۱۹۹۹) نیز بیان داشت که تمام مراحل فراوری ماده غذایی ممکن است بر میزان فلزهای سنگین

[1]- International Union of Pure and Applied Chemistry

موجود در ماده حاصله تاثیر بگذارد. Xia و همکاران (۲۰۰۶) تاثیر استخراج با فراصوت را بر روی کیفیت شیمیایی و حسی دمنوش‌های چای بررسی کردند و نتیجه گرفتند که روش استخراج به کمک فراصوت باعث افزایش بازده استخراج ترکیبات آروما در دمنوش‌ها شده و از نظر خواص حسی دمنوش‌های تولید شده با فراصوت بهتر از دمنوش‌های چای با روش معمول بوده است. Moghimi و همکاران (۲۰۱۸) بیان داشتند که با افزایش زمان فراصوت میزان ترکیبات فنولی و راندمان استخراج روغن از دانه سیاه دانه افزایش می‌یابد. مطالعات نشان می‌دهد که راندمان استخراج ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدانی به کمک فراصوت بیشتر از روش غرقابی می‌باشد. طبق مطالعه انجام گرفته روی گیاه پونه گاوی (*Flomidoschema parviflora*) برای استخراج ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدانی به کمک فراصوت متغیرهای دما، زمان، نوع حلال، نسبت حلال به نمونه و pH مورد بررسی قرار گرفت. بررسی‌های انجام گرفته نشان داد که موثرترین متغییر در این آزمون زمان می‌باشد، در نتیجه با افزایش زمان و دما میزان استخراج افزایش می‌یابد (Heydari Majd et al., 2013). هدف از این پژوهش بررسی تأثیر شرایط تهیه دمنوش پونه کوهی بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فلزهای سنگین آن بود.

مواد و روش‌ها

مواد

گیاه پونه کوهی (*Mentha longifoia*) اوایل خرداد ماه ۱۳۹۶ از گیاهان دارویی ناجیان شهرستان تبریز خریداری شد که از مناطق ارسباران و میشوداغی (مناطق جنگلی استان آذربایجان شرقی) جمع آوری شده بودند. مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق عبارتند از: متانول، معرف فولین- سیوکالته، کربنات سدیم، اسید گالیک، اسید اسکوربیک، DPPH[1] و نیتریک اسیدکه تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت مرک تهیه گردید.

آماده‌سازی نمونه

برگ‌های پونه کوهی، تحت شرایطی طبیعی محیطی و با استفاده از جریان هوای طبیعی در سایه خشک گردید. سپس این برگ‌ها با استفاده از دستگاه آسیاب به پودر تبدیل و در بسته‌های نیم کیلویی با دو لایه نایلونی و مقوایی به منظور جلوگیری از نفوذ هوا و رطوبت بسته‌بندی شد و تا زمان آزمایش در یخچال ٤+ درجه به

[1] - 2,2 – diphenly- 2- picryl hydrazyl eadical

سانتی‌گراد نگه‌داری گردید (Abotalebian, 2007).

روش‌های تهیه دمنوش از پونه کوهی

استخراج به روش غرقابی

به دو گرم از نمونه ۲۵۰ میلی لیتر آب جوش (۹۵ درجه سانتی‌گراد) اضافه گردید و سپس بر روی صفحه داغی با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای زمان‌های ۵ و ۱۵ دقیقه حرارت داده شد و بعد از این مرحله محلول حاصل با کاغذ صافی فیلتر شد (Ozcan, 2005).

استخراج به روش فراصوت

به دو گرم از نمونه، ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر (۶۰ درجه سانتی‌گراد) اضافه شد و سپس ظرف حاوی آب و نمونه، داخل حمام فراصوت (الماسونیک، آلمان) با فرکانس (۳۷ کیلوهرتز) و دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای زمان‌های ۵ و ۱۵ دقیقه قرار داده شد سپس عصاره حاصله، فیلتر گردید (Xia et al., 2005).

اندازه گیری مقدار کل ترکیبات فنولی

مقدار کل ترکیبات فنولی موجود در دمنوش حاصل توسط رنگ سنجی بـه روش فـولین – سـیوکالته مورد بررسی قرار گرفت. در این روش در واقع تعداد گروه‌های فنولی که قابل اکسید شدن هستند، اندازه گرفته می‌شـود. پس از تهیه دمنوش، ۰/۵ میلی‌لیتر از آن در لوله آزمایش ریخته شده و با ۵ میلی‌لیتر معرف فولین–سیوکالته (که به نسبت ۱:۱۰ با آب مقطر رقیق شده بود) و ٤ میلی‌لیتر محلول کربنـات سـدیم یک مولار به خوبی مخلوط شد. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفتند. سـپس مقـدار جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Hach، آمریکا) در طول موج ۷٦۵ نانومتر خوانده شد. مقدار کل ترکیبـات فنولی بر مبنای اسید گالیک و به صـورت میلـی‌گرم در هر ۱۰۰ گرم نمونه خشک بیان گردید (McDonald et al., 2001).

ارزیابی میزان توانایی به دام اندازی رادیکال آزاد (DPPH)

۲ و ۲– دی‌فنیل ۱– پیکریل هیدرازین (DPPH)، رادیکالی چربی دوست است که دارای جذب بیشینه در طول موج ۵۱۷ نانومتر است. در آزمون DPPH، رادیکال‌های DPPH با آنتی‌اکسیدان‌ها یا دیگر گونه‌های رادیکالی واکنش می‌دهند و مقدار آن کاهش می‌یابد. در نتیجه جذب در طول موج ۵۱۷ –۵۱۵ نانومتر کاهش می‌یابد. کاهش مولکول‌های DPPH با تعداد گروه‌های هیدروکسیل در دسترس نسبت مستقیم دارد. گروه‌های هیدروکسیل با دادن هیدروژن به

رادیکال‌های DPPH آن‌ها را از رنگ بنفش تیره به زرد روشن تبدیل می‌کنند. جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر بیانگر مقدار DPPH باقی‌مانده است. در این روش به یک میلی‌لیتر از نمونه، یک میلی‌لیتر محلول متانولی ۰/۱ میلی‌مولار DPPH اضافه شد و مخلوط حاصل به خوبی تکان داده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در مکان تاریک در دمای اتاق قرار داده شد. سپس جذب مخلوط توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. آسکوربیک اسید بـه عنوان کنترل مثبت استفاده شد و میزان IC50 [1] به معنی غلظتی از هـر عـصاره کـه لازم اسـت تـا ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH پاک‌سازی شود، برای دمنوش‌ها تعیین شد. در نهایت از رابطه زیر درصد به دام‌اندازی رادیکال آزاد DPPH به‌دست آمد (Koleva et al., 2002). (رابطه ۱)

که در رابطه (۱) AS : جذب نوری نمونه و AC: جذب نوری شاهد بود. پس از آن میزان IC50 توسط نمودار مشخص شد.

اندازه‌گیری فلزهای سنگین (آرسنیک، سرب و کادمیوم، به روش ICP- AES2)

در این مطالعه ابتدا برای فلزات مورد اندازه‌گیری، منحنی استاندارد رسم گردید. برای رسم منحنی‌های استاندارد از محلول‌های استوک آنالیت‌های فلزی (سرب، آرسنیک و کادمیوم) استفاده شد. بدین منظور عملیات هضم برای ۵ گرم از نمونه در ظرف مخصوص توسط ۵ میلی‌لیتر اسید نیتریک ۵ ٪ به مدت ۲۰ دقیقه انجام گرفت. سپس محصول هضم که محلول شفافی بود در بالن مندرج ۵۰ میلی‌لیتری با آب مقطر ٦ بار تقطیر شده استریل به حجم رسید. در نهایت ۱۰ میلی‌لیتر از این نمونه در اتوسمبلر دستگاه طیف‌سنج نشر اتمی پلاسما Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES) ، جهت قرائت مقدار عناصر خواسته شده قرار داده‌شد (Salahinejad and Aflaki, 2009).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از سه تکرار با استفاده از طرح کاملاً تصادفی انجام گردید. از نرم افزار SAS برای تجزیه و تحلیل اطلاعات و از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد برای مقایسه میانگین داده‌ها استفاده شد.

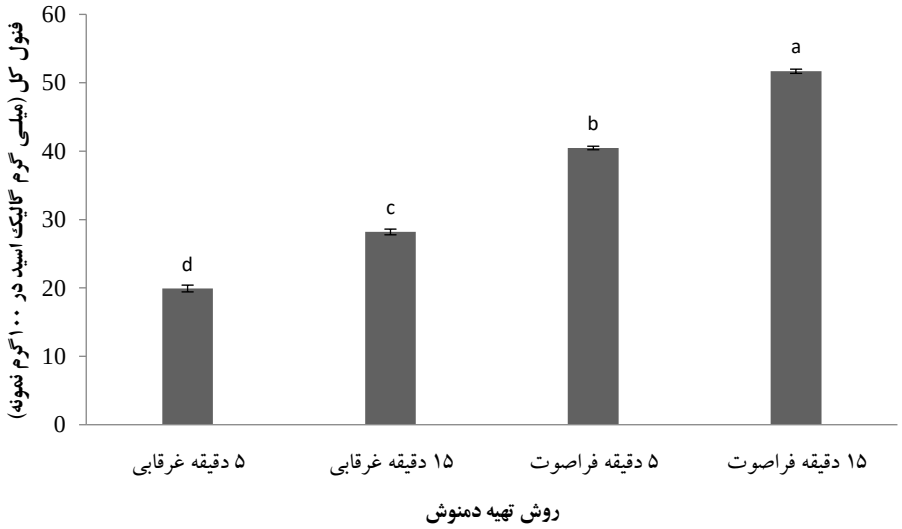
[1] Inhibition Concentration

[2] Inductivly coupled Plasma Atomic Emission Spes

نتایج و بحث

تأثیر شرایط تهیه دمنوش بر میزان ترکیبات فنولی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که روش تهیه دمنوش بر میزان ترکیبات فنولی تأثیر معنی‌دار داشت ($P <$ ۰/۰۱). شکل ۱ نشان می‌دهد که با افزایش زمان هر دو فرایند (فراصوت و غرقابی) میزان ترکیبات فنولی افزایش یافت. علت این افزایش را می‌توان به آزادسازی این ترکیبات در دمنوش تولیدی نسبت داد. با افزایش زمان تیمار فراصوت، سطح تماس بین حلال و ماده جامد توسعه می‌یابد که خود باعث تخریب دیواره‌های سلولی بیشتر و در نتیجه انتقال جرم بیشتر می‌شود و این به معنای انتشار و افزایش ترکیبات فنولی به حلال می‌باشد. از سوی دیگر امواج فراصوت باعث شروع واکنش‌های پلیمریزاسون در زمان‌های کوتاه شده و ممکن است منجر به افزایش محتوای فنولی در ماده استخراجی شود (Luque-Garcia et al., 2003؛ Pinelo et al., 2005). Heydari Majd و همکاران (۲۰۱۳) در تحقیقی که روی استخراج ترکیبات فنولیک از گیاه پونه با استفاده از فراصوت پرداختند، بیان داشتند که استفاده از فراصوت منجر به افزایش استخراج این ترکیبات در عصاره حاصله می‌گردد. در پژوهش دیگر Han و همکاران (۲۰۱۱) و Lin و همکاران (۲۰۱۱) به نتایج مشابهی دست یافتند. Dolat Abadi و همکاران (۲۰۱٤) روی مقایسه فنول کل و خواص آنتی‌اکسیدانی پوست سبز گردو مطالعه‌ای انجام دادند. در این مطالعه از روش غرقابی به منظور استخراج استفاده شده بود، نتایج نشان داد که با افزایش زمان استخراج، میزان استخراج افزایش یافت که نتایج این مطالعه با تحقیق حاضر مطابقت داشت. عدم پذیرش افزودنی‌ها و نگهدارنده‌های شیمیایی از سوی مصرف‌کنندگان به دلیل سرطان‌زایی و سمیت احتمالی، منجر به پژوهش‌های گسترده در زمینه کشف ترکیبات فعال طبیعی با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی شده است. ترکیبات طبیعی قادر به افزایش عمر نگهداری مواد غذایی از طریق بازدارندگی رشد میکروارگانیسم‌های پاتوژن و فاسدکننده مواد غذایی و نیز حفاظت مواد غذایی از آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو می‌باشند (Padmashree et al., 2007).



شکل ۱- تاثیر روش تهیه دمنوش بر میزان فنول کل

تأثیر شرایط تهیه دمنوش بر میزان IC50

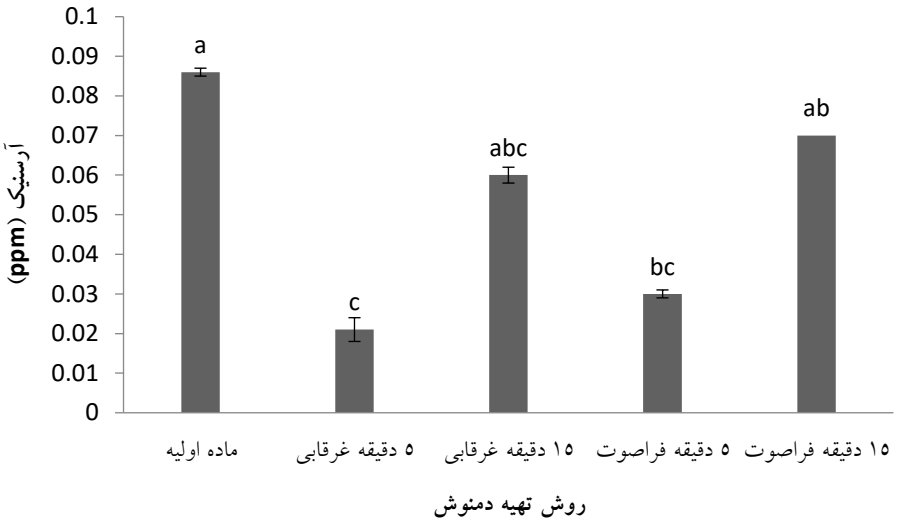
نتایج تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از آزمایش نشان داد که روش تهیه دمنوش بر توانایی به دام‌اندازی رادیکال آزاد DPPH که به صورت مقادیر IC50 گزارش شده بود، تأثیر معنی‌دار داشت ($P <$ ۰/۰۱). بر اساس داده‌های به‌دست آمده می‌توان بیان داشت که قدرت آنتی‌اکسیدانی دمنوش حاصل از فراصوت به مراتب بیشتر از دمنوش حاصل از روش غرقابی بود که ۱۵ دقیقه فراصوت بیشترین توانایی را در به دام‌اندازی رادیکال آزاد DPPH به علت آزادسازی بیشتر ترکیبات فنولی توسط امواج فراصوت به داخل دمنوش داشت (شکل ۲). علت بیشتر بودن قدرت آنتی‌اکسیدانی دمنوش حاصل از فرایند فراصوت را می‌توان به حفره‌زایی صوتی (کاویتاسیون) نسبت داد که حباب‌های کوچک ایجاد شده در یک فاز مایع در هنگامی که یک مخلوط در معرض فراصوت قرار داده می‌شود، رشد کرده و به دلیل تغییرات فشار قبل از بین رفتن به سرعت نوسان می‌کنند در نتیجه ترکیبات بیشتری توسط حلال استخراج می‌گردد (Jambrak et al., 2008). همانطور که مشخص است با افزایش مدت زمان فرایند، مقدار IC 50 کاهش می‌یابد، پس در نتیجه توانایی به دام‌اندازی رادیکال آزاد DPPH افزایش یافته است علت این امر این است که با افزایش مدت زمان اختلاط نمونه با حلال، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بیشتری داخل حلال انتشار می‌یابد (Soares et al., 1997). Heydari

شکل ۲- تاثیر روش تهیه دمنوش بر IC50

Majd و همکاران (۲۰۱٤) با مطالعه‌ای که روی دو روش غرقابی و فراصوت در استخراج عصاره پونه کوهی داشتند، بیان نمودند که استفاده از امواج فراصوت نسبت به روش غرقابی، افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره استخراجی را در پی خواهد داشت.

تأثیر شرایط تهیه دمنوش بر میزان آرسنیک

آنالیز واریانس داده‌های حاصل از میزان آرسنیک نمونه‌ها نشان داد که روش تهیه دمنوش بر میزان آرسنیک تاثیر معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). همان‌طور که در شکل (۳) مشاهده می‌شود، میزان آرسنیک در برگ گیاه پونه دارای بیشترین میزان خود بود، که با دمنوش حاصل از ۱۵ دقیقه فراصوت و همچنین ۱۵ دقیقه غرقابی اختلاف معنی‌داری نداشت. از طرفی مشخص گردید که با افزایش زمان فرایند در هر دو روش غرقابی و فراصوت میزان این فلز در دمنوش تولیدی افزایش یافت. غلظت استاندارد آرسنیک در دمنوش‌های گیاهی و میوه‌ای مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۱۷۲۲٦ برابر حداکثر ۰/۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم (ppm) است که از میزان آرسنیک نمونه‌های حاصل بیشتر می‌باشد. Wu و همکاران (۲۰۰۲) بیان داشتند که استفاده از ٤۰ دقیقه فراصوت منجر به افزایش میزان فلزهای سنگین از برگ‌های تنباکو می‌گردد. آرسنیک شایع‌ترین عامل مسمومیت با فلزات است (Nojomi, 2003; Sadatian, 2003). Abid و همکاران (۲۰۱٤) گزارش کردند که استفاده از تیمار فراصوت موجب افزایش میزان سدیم، پتاسیم، روی و کلسیم در آب سیب شد.

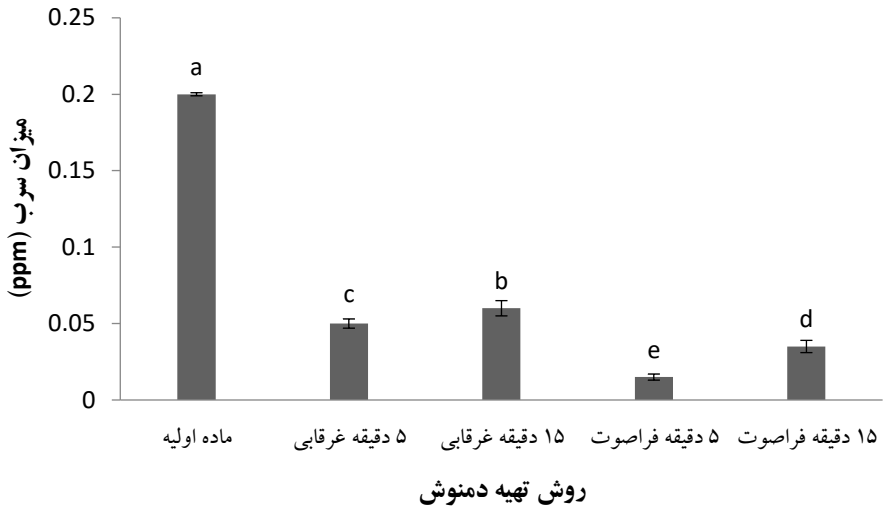


شکل ۳- تاثیر روش تهیه دمنوش بر میزان آرسنیک

آن‌ها دلیل این امر را تاثیر کاویتاسیون بر رهاسازی مواد معدنی موجود در سلول‌ها به داخل عصاره بیان نمودند. Shen و Chen با مطالعه‌ای که روی فلزهای سنگین موجود در برگ‌های چای و همچنین دمنوش حاصل از آن داشتند، به این نتیجه رسیدند که در دمنوش‌های مورد مطالعه که به روش غرقابی تهیه شده بود، میزان آرسنیک کمتر از برگ آن و همچنین میزان حد مجاز مصرف این ماده بود.

تأثیر شرایط تهیه دمنوش بر میزان سرب

نتایج تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از آزمایش نشان داد که روش تهیه دمنوش بر میزان سرب نمونه‌ها تأثیر معنی‌دار داشت ($P <$ ۰/۰۱). شکل ٤ نشان داد که بیشترین میزان سرب در میان دمنوش‌ها، به دمنوش حاصل از ۱۵ دقیقه روش غرقابی تعلق داشت، البته این میزان سرب به مراتب کمتر از نمونه اولیه (برگ خشک پونه) بود. میزان سرب در دمنوش‌های تهیه شده کمتر از غلظت استاندارد سرب در دمنوش‌های گیاهی و میوه‌ای مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۱۷۲۲٦ که برابر حداکثر ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم (ppm) می‌باشد، بود. Ozcan (۲۰۰۵) در مطالعه‌ای که بر روی چای گیاه ترکی (نوعی مریم گلی است که در ترکیه با نام Koranesmas شناخته می‌شود) انجام داد، نشان داد که با افزایش زمان تهیه دمنوش به روش غرقابی مقادیر مواد معدنی در دمنوش افزایش پیدا کرد. Saghali (۲۰۱۹) با تحقیقی که روی استخراج روغن از آفتابگردان به کمک روش فراصوت-مایکروویو انجام داد،



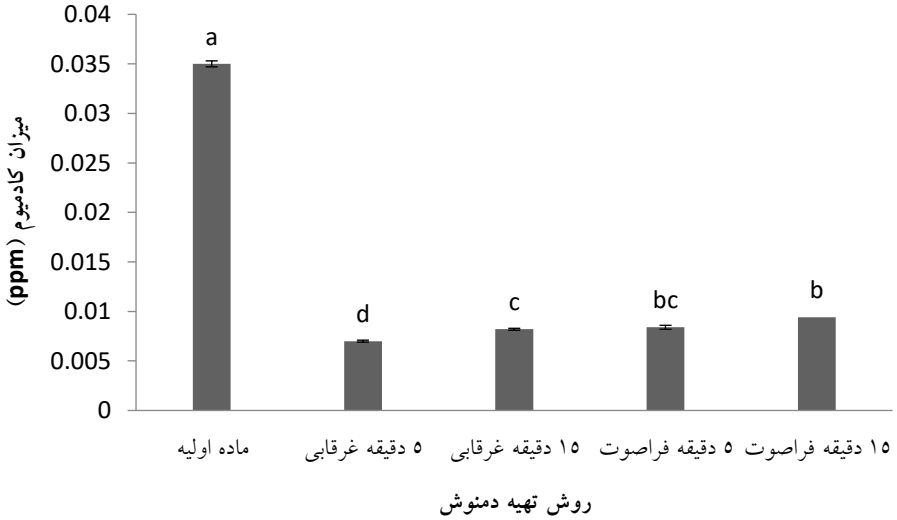
شکل ٤- تاثیر روش تهیه دمنوش بر میزان سرب

بیان داشت که استفاده از این تیمارها بر میزان سرب در روغن استخراجی تاثیر معنی‌دار نداشت که با نتایج این بخش مغایرت داشت. Liu و همکاران (۲۰۰۹) بیان کردند که استفاده از امواج فراصوت منجر به تسریع استخراج فلزهای سنگین از مواد غذایی می‌گردد.

تأثیر شرایط تهیه دمنوش بر میزان کادمیوم

آنالیز واریانس داده‌های حاصل از میزان کادمیوم نمونه‌ها نشان داد که روش تهیه دمنوش بر میزان کادمیوم تاثیر معنی‌دار داشت ($P < ۰/۰۱$). همانطور که شکل ۵ نشان می‌دهد بیشینه و کمینه میزان کادمیوم در نمونه‌ها به ترتیب به ماده اولیه پونه و نمونه حاصل از ۵ دقیقه غرقابی تعلق داشت. در بین دمنوش‌ها نیز دمنوش حاصل از ۱۵ دقیقه فراصوت دارای بیشترین میزان کادمیوم بود، به‌گونه‌ای که نمونه حاصل از ۱۵ دقیقه فراصوت به‌علت ورود بیشتر این مواد به داخل دمنوش، ۲۵/۵ درصد کادمیوم بیشتری نسبت به نمونه حاصل از ۵ دقیقه غرقابی داشت. همانطور که مشخص گردید، دمنوش‌های حاصله نسبت به ماده اولیه خود میزان کمتری کادمیوم داشتند. غلظت استاندارد کادمیوم در دمنوش‌های گیاهی و میوه‌ای مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۱۷۲۲٦ برابر حداکثر ۰/۱میلی‌گرم بر کیلوگرم (ppm) می‌باشد که از داده‌های این مطالعه بیشتر بود. Asghari و همکاران (۲۰۰۸) آلودگی جیوه، سرب و کادمیوم را در داروهای گیاهی (ده قطره خوراکی خریداری شده از بازار) مورد بررسی قرار دادند وجود کادمیوم و سرب در اکثر نمونه‌ها و وجود جیوه در ۳ نمونه از ۱۰ نمونه مورد تایید

قرار گرفت، اما هیچ یک از نمونه‌های تجزیه شده دارای مقایر غیرمجاز از این فلزات نبودند. Santos و همکارن (۲۰۱۵) بیان داشتند که غلظت میزان فلزهای سنگین (کادمیوم و غیره) در چای تهیه شده از برگ گیاهان نسبت به خود برگ کمتر می‌باشد که با نتایج این بخش کاملا تطابق داشت.



شکل ۵- تاثیر روش تهیه دمنوش بر میزان کادمیوم

یافته‌های ترویجی

با توجه به این‌که هدف از این پژوهش، تهیه دمنوش از پونه کوهی با استفاده از روش‌های (غرقابی و فراصوت) و بررسی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و مقادیر فلزهای سنگین با روش طیف سنج نشر اتمی پلاسما (ICP-AES) بود. نتایج نشان داد که استفاده از فراصوت منجر به افزایش توان آنتی‌اکسیدانی دمنوش پونه کوهی می‌گردد و با افزایش زمان این توانایی بیشتر می‌شود. از طرفی استفاده از فراصوت منجر به خارج شدن از حد استاندارد میزان فلزهای سنگین در نمونه‌های تهیه شده نمی‌گردد و از طرفی میزان این فلزهای سنگین در ماده اولیه بسیار بیشتر از دمنوش تهیه شده از آن بود. در نهایت با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان بیان داشت که استفاده از ۱۵ دقیقه فراصوت بهترین روش تهیه دمنوش پونه کوهی بود.

Reference

Abid, M., Jabbar, S., Wu, T., Hashim, M.M., Hu, B., Lei, S. and Zeng, X., 2014. Sonication enhances polyphenolic compounds, sugars, carotenoids and mineral elements of apple juice. Ultrasonics Sonochemistry, 21(1): 93-97.

Abotalebian, M., 2007. Extraction of phenolic compounds in leaves of mint, oregano and basil and comparison of their antioxidant effects in sunflower oil. Master of Science in Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology.

Arends, B.J., Blindt, R.A., Janssen, J., and Patrick, M., 2003. U.S. Patent No. 6,630,185. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

Asghari, G., Palizban, A.A., Tolue Ghamari, Z., and Adeli, F., 2008. Contamination of cadmium, lead and mercury on Iranian herbal medicines. Pharmaceutical Sciences. 2:1-8.

Dehghani, R., 2011. Environmental toxicology. Tak derakht Publishing. first volume. 536 pp.

Dolat Abadi, M., Raftani Amiri, Z., and Esmail Zadeh Kenari, R., 2014. Comparison of total phenols and antioxidant properties of walnut (*Juglans regia* L.) green husk of three regions of northern Iran (Shahrood, Bandar Gaz and Hzargarib). Food Science and Technology. 11 (45): 1-10.

Duffus, J.H., 2002. Heavy metals a meaningless term (IUPAC Technical Report). Pure and applied chemistry. 74(5):793-807,

Fujita, H., and Yamagami, T., 2008.Antijypercholesterolemic effect of Chinese Black tea extract in human subjects with borderline hypercholesterolemia. Journal of nuturitional biochemistry Nut. Research. 28: 450-456.

Guiluce, M., sahin, F., sokment, M., ozer, H., Deferera, D., Somken, A., Polission, M., Adiguzell, A., and ozkan, H., 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract From *Mentha longifolia* L. ssp. longifolia. Food chemistry. 103: 1449-1960.

Han, L., Zhang, H.D., Luo, S.S and Luo, K., 2011. Optimization of ultrasound-assisted extraction of total phenol from betel (Areca catechu L.) nut seed and evaluation of antioxidant activity in vitro. African Journal of Biotechnology. 10(46): 9289-9296.

Heydari Majd, M., Rajaei, A., Salar Bashi, D., Mortazavi, S.A., and Bolourian, S.H., 2014. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from bovine pennyroyal (Phlomidoschema parviflorum) leaves using response surface methodology. Industrial Crops and Products. 57: 195-202.

Haydari Majd, M., Mortazavi, S.A., Asili, J., Bolorian, SH., Armin, M., and Abdolshahi, A., 2013. Optimization of Extraction of Phenolic Compounds from Oregano (*Flomidoschema parviflora*) Using Ultrasound Journal of Herbal Drugs. 3(1): 7-13

Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). 2015. Characteristics of plant and fruit demons. Standard No. 17226. First revision

Jambrak, A.R., Mason, T.J., Lelas, V., Herceg, Z. and Herceg, I.L., 2008. Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions. Journal of Food Engineering. 86: 281–287.

Jin, C.W., Du, S.T., Zhang, K. and Lin, X.Y., 2008. Factors determining copper concentration in tea leaves produced at Yuyao County, China. Food and Chemical Toxicology. 46: 2054–2061.

Kadam, S.U., Tiwari, B.K., Alvarez, C., and O'Donnell, C.P., 2015. Ultrasound applications for the extraction, identification and delivery of food proteins and bioactive peptides. Trends in Food Science & Technology. 46: 60–67.

Koleva, I.I., Van Beek, T. A., Linssen, G.A., and Evstatieva, L.N., 2002. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. Phytochemical Analysis. 13(1): 8-17

Lingyun, W., Jianhua,W., Xiaodong, Z., Yalin,Y., Chenggang, C., Tianhua, F., and Fan, Z., 2007. Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers. Journal of Food Engineering. 79 :1087–1093.

Lin, J.Y., Zeng, Q.X., An, Q., Zeng, Q.Z., Jian, L.X., and Zhu, Z.W., 2011. Ultrasonic extraction of hempseed oil. Journal of Food Process Engineering. 35: 76–90.

Liu, L.Y., Zhang, Y.X., Ma, J., Song, T., Gong, W., and Du, X., 2009. Ultrasonic extraction of trace metals in biological andfood samples. Journal of Hygiene Research. 38: 96–8.

Luczaj, W., and Skrzydlewska, E., 2005. Anti-oxidative properties of black tea. International Journal of Preventive Medicine. 40:910-918.

Luque-Garcia, J.L., and Luque de Castro, M.D., 2003. Ultrasound: a powerful tool for leaching. Trends in Analytical Chemistry. 22 (1): 41-47.

McDonald, S., Prenzler, P.D., Autolovich, M., and Robards, K., 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. Food Chemistry. 73(7):73-84.

Moghimi, M., Farzaneh, V., and Bakhshabadi, H., 2018. The effect of ultrasound pretreatment on some selected physicochemical properties of black cumin (*Nigella Sativa*). Nutrire. 43(18): 2-8.

Mohammadi, M., Riyahi Bakhtiari, A., and Khodabandeh, S., 2014. Concentration of Cd, Pb, Hg, and Se indifferent parts of human breast cancer tissues. Journal of Toxicology. 2014;1-5

Nojomi, F., 2003. Food poisoning. First edition, Publication of Fan Rooz Press, Tehran, 111 pp.

Omid Bigi, R., 2012. Production and processing of medicinal plants. Astan Ghods Razavi Publications. first volume. 347 pp.

Ozcan, M., 2005. Determination of mineral contents of Turkich herbal tea at different infusion periods. Journal of Medicinal food. 8 (1): 110-112.

Padmashree, A., Roopa, N., Semwal, A.D., Sharma, G.K., Agatian, G. and Bawa, A.S., 2007. Star-anise (*Illicium verum*) and black caraway (*Carum nigrum*) as natural antioxidants. Journal of Food Chemistry. 104: 59-66.

Pajohesh, M.R., Tajik, H., Akhondzade, A., Gandomi, H., Ehsani, A., and Shokohi Sabet Jalali, F., 2010. Evaluation of chemical composition and antibacterial efficacy of *cuminum cyminum* l. and *Mentha longifolia* L. alone and combined with nisin. StudCOMBINED. Stud Medical Science. 21 (4):324-331

Pinelo, M., Fabbro, P.D., Manzocco, L., Nunez, M.J., and Nicoli, M.C., 2005.Optimization of continuous extraction from Vitisvinifera by products. Food Chemistry. 92: 109-117.

Raskin, I., Kumar, P., Dushenkov, S., and Salt, D., 1994. Bioconcentration of heavy metals by plants. Current Opinion in Biotechnology. 5:285–290

Sadatian, S.A., 2003. Toxicities. First edition, Publication of Noor Danesh Cultural Institute, Tehran. 638 pp.

Saqli, M., 2019. Investigation of Application of Micro-Ultrasonic Pretreatment in Sunflower Oil Extraction and Modeling of this Process Using Artificial Neural Network. Master of

Science Degree in Food Science and Technology. Islamic Azad University Gonbad Kavous Branch.

Salahinejad, M., and Aflaki, F., 2009. Toxic and essential mineral elements content of black tea leaves and their tea infusions consumed in Iran. Biological Trace Element Research. 134: 109-117

Santos, L.M.G., Duboc, P., Goncalves, J.M., and Jacob, S.C., 2015. Determination of arsenic, cadmium and lead concentration in teas, commercialized in Rio De Janeiro, Brazil, and their transfer to tea infusion. Biology and Chemical Research. 179–186

Samaram, S., Mirhosseini, H., Tan, C.P., Ghazali, H.M., Bordbar, S., and Serjouie, A., 2015. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of oil from papaya seed by response surface methodology: Oil recovery, radical scavenging antioxidant activity, and oxidation stability. Food Chemiatry. 172: 7–17.

Shen, F.M., and Chen, H.W., 2008. Element Composition of Tea Leaves and Tea Infusions and Its Impact on Health. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 80(3): 300-304.

Shirsath, S.R., Sonawane, S.H., and Gogate, P.R., 2012. Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations—a review of current status. Chemical Engineering and Processing. 53: 10–23.

Soares, J.R.D., ins, T.C.P., Cunha, a.p., and Ameida, L.M., 1997. Antioxidant activity od some extracts of *Thymus zygis*. Free Radical Research. 26(7):469-478.

Virot, M., Tomao, V., Le Bourvellec, C., Renard, C.M., and Chemat, F., 2010. Towards the industrial production of antioxidants from food processing by-products with ultrasound-assisted extraction, Ultrason. Sonochem. 17 (6): 1066–1074.

Wang, L., and C.L., Weller. 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from lants. Trends in Food Science and Technology 17(6): 300-312.

Wu, Y.P., Li, F.T., Li, Q.Z., Wang, D.D., and Yang, J.H., 2002. ICP-AES determination of multi-elements in tobacco extracted with ultrasonic Chinournal Spectros Lab. 19, 508–11.

Xia, T., shi, s., and wan, X., 2005. Impact of ultrasonic assisted extraction on the Chemical and sensory quality of tea infusion. Journal of Food Engineering. 74: 557 -560.

Zenali, H., 2004. Evaluation of agronomic, cytogenic and phytochemical traits in Iranian peppermint. PhD. in Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology.

Effect of infusion preparation condition of pennyroyal on the level of antioxidant activity and its heavy metals

Nazila Zeinali Namdar[1], Mehdi Gharekhani[1*]

1. Department of Food science and technology, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran (Corresponding author)

Received: September 2019 Accepted: February 2020

Abstract

Zeinali Namdar, N., Gharekhani, M. Effect of infusion preparation condition of pennyroyal on the level of antioxidant activity and its heavy metals
Iranian Medicinal Plants Technology. Vol 02, No. 02, 2020. Page 08 :100-114(in Persian)

Herbal infusions are one of the most commonly used drinks in the world. These infusions contain phenolic, metallic compounds and elements that affect human health. Knowing the amounts of useful compounds and heavy metals present in these infusions is very important for humans. Therefore, the purpose of this study was to prepare the infusions from pennyroyal plant and to investigate the effect of the method of preparation (maceration and ultrasound) for different times (5 and 15 min) on the amount of phenolic compounds, Free-radical scavenging capacity (DPPH) and heavy metals (arsenic, lead and cadmium) in a completely randomized design. The results of data analysis showed that the method of infusion preparation was significant on all parameters studied. The results showed significant increase in phenolic compounds and Free-radical scavenging capacity (DPPH) of infusions with increasing of time in both methods (Ultrasound and maceration) which amount of these compounds increased when ultrasound method used. The highest lead concentration in infusions (0.06 ppm) was obtained in sample of 15 minutes-maceration. The maximum and minimum levels of cadmium in samples were assigned to samples from raw material and 5 minutes of maceration, respectively. The content of all heavy metals measured in this study was less than the standard defined for heavy metals in plant and fruit infusions. Finally, according to the results of this research, it can be stated that the use of 15 minutes ultrasound was the best method for preparing of pennyroyal infusion.

Keywords: Pennyroyal, Infusion, Ultrasound, Heavy metals, Antioxidant capacity

Email address of the corresponding author: m.gharekhani@iaut.ac.ir