

مقایسه خواص ضد باکتری و ترکیبات شیمیایی موجود در روغن اسانس استخراج شده از گیاه *L. Mentha piperita* به وسیله مایکروویو و روش تقطیر با آب

سحر فدائی^{a*}، پرویز ابرومند آذر^b، انوشه شریفان^c، کامبیز لاریجانی^b

^a کارشناس ارشد مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

^b استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

^c استادیار دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۸/۱۱/۱۸

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۸/۹

۲۸

چکیده

مقدمه: نعنای فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* L. از خانواده *Lamiaceae* از جمله گیاهان دارویی و معطری است که اسانس آن مصارف دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی فراوانی دارد. در این پژوهش برای اولین بار اسانس نعنای فلفلی با استفاده از روش SFME تولید می‌شود و مشخصات شیمیایی و خواص ضد میکروبی آن بررسی می‌گردد.

مواد و روش‌ها: اسانس گیری از گیاه خشک، به وسیله دو روش تقطیر با آب و مایکروویو بدون مصرف حلال، انجام شد. ترکیبات اسانس‌های حاصله، با دستگاه GC/MS شناسایی گردید. فعالیت ضد میکروبی هر یک از اسانس‌های فوق بر باکتری‌های *E. coli* (PTCC 1330)، *Bacillus subtilis* (PTCC 1254) و *Salmonella typhimurium* (PTCC 1622) مورد آزمون قرار گرفته و برای هر یک از اسانس‌ها میزان حداقل غلظت ممانعت‌کننده (MIC) مشخص گردید.

یافته‌ها: در اسانس *Mentha piperita* L. حاصل از روش HD، ۳۱ ترکیب و در اسانس حاصل از روش SFME، ۳۳ ترکیب از اجزای متشکله این روغن اسانسی، شناسایی گردیدند. همچنین نتایج آزمایش میکروبی نشان داد که MIC هر دو نمونه اسانس برای سه میکروب مذکور یکسان و برابر با ۱۰۰۰ppm می‌باشد.

نتیجه گیری: استفاده از روش SFME مزایای زیادی از جمله کاهش زمان استخراج، افزایش بازده، کاهش مصرف انرژی و هزینه، کاهش آب مصرفی و تولید درصد بالاتری از ترکیبات فعال، را دارا می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اسانس نعنای فلفلی، تقطیر با آب، خواص ضد میکروبی، مایکروویو

مقدمه

گیاهان تیره نعناع طوری در کره زمین پراکنده شده‌اند که در اغلب نواحی یافت می‌شوند، ولی بیشینه انتشار آن‌ها در منطقه مدیترانه است (زرگری، ۱۳۷۲). امروزه در کشورهای مختلف جهان، متجاوز از یک هزار تن اسانس در سال، از این گیاهان تهیه می‌شود و این خود درجه اهمیت و توسعه کشت آن‌ها را در نقاط مختلف کره زمین نشان می‌دهد. اسانس مانت (Manth) کشور انگلستان که به اسانس Micham موسوم است، بهترین نوع آن به حساب می‌آید (زرگری، ۱۳۷۲).

اسانس نعناع در کشور هندوستان در سال ۲۰۰۲-۲۰۰۳ حدود ۸۵۰۰ تن بوده است (هی و واترمن، ۱۳۷۹). اسانس نعناع فلفلی در صنایع بهداشتی، غذایی، آرایشی، شیرینی‌پزی، نوشابه‌سازی و نیز به عنوان ادویه مصرف شده و از طعم آن در بهبود مزه داروهای بدمزه استفاده می‌گردد. نعناع فلفلی جهت مداوای نفخ، دردشکم، سوء هاضمه، ناتوانی روده‌ها، تب، سرماخوردگی و آنفولانزا توصیه شده است (میرحیدر، ۱۳۷۷). در محلول‌های شستشوی دهان و گلو و خمیردندان‌ها به خاطر خاصیت ضدباکتریایی متول موجود در اسانس نعناع فلفلی، از آن استفاده می‌شود (زمانی‌زاده و همکاران، ۱۳۷۹).

از این جهت که اسانس نعناع فلفلی به طور گسترده‌ای در سراسر جهان استفاده می‌شود، لذا بررسی فرآیند استخراج آن ضروری است (زمانی‌زاده و همکاران، ۱۳۷۹).

برای استخراج عصاره‌ها و اسانس‌ها روش‌های متعددی وجود دارد در روش‌های قدیمی مثل تقطیر با بخار یا تقطیر با آب با توجه به مدت زمان طولانی حرارت دادن برای رسیدن به دمای لازم جهت تبخیر ترکیبات فرار، بسیاری از ترکیبات فرار از دست می‌روند، و نیز ترکیبات غیر اشباع و استری تجزیه می‌شوند. در ضمن انرژی و زمان زیادی به هدر می‌رود. در روش‌هایی که برای استخراج نهایی از حلال‌های شیمیایی استفاده می‌شود، خطر ایجاد مسمومیت توسط باقی مانده حلال وجود دارد (Chemat et al., 2002).

در سال‌های اخیر یک روش ابتکاری برای

استخراج تولیدات طبیعی گیاهان بوسیله انرژی مایکروویو توسعه یافته است که نام روش Solvent-free microwave extraction (SFME) می‌باشد.

Lucchesi و همکاران در سال ۲۰۰۴ استخراج اسانس گیاهان آروماتیک را بوسیله SFME مطالعه کرده‌اند. در این تحقیق استخراج به روش SFME و HD (تقطیر با آب) برای سه گیاه، *Thymus basilicum* با یکدیگر مقایسه شده‌اند. نتایج نشان داد که اسانس تولید شده به روش SFME که در ۳۰ دقیقه بدست آمده از نظر کیفیت مشابه اسانس تولید شده به روش HD است که در ۵ ساعت بدست آمده است. ضمن اینکه راندمان استخراج در روش SFME زیاد بوده و اسانس دارای ترکیبات اکسیژنه با ارزش می‌باشد. در مورد زمان اسانس‌گیری و انرژی نیز صرفه‌جویی می‌شود.

Bayramoglu و همکاران در سال ۲۰۰۸ استخراج اسانس اریگانو را با استفاده از روش SFME بررسی نموده‌اند. در این پژوهش اثرات ماکروویو روی زمان استخراج، راندمان و ترکیبات اسانس مطالعه گردید و روش HD نیز به عنوان کنترل انتخاب شد. با استفاده از GS-MS ترکیبات اسانس شناسایی گردید. نتایج نشان داد که SFME راندمان بالاتری نسبت به روش HD دارد. تفاوت قابل توجهی در محتویات شیمیایی اسانس‌های بدست آمده از اریگانو در روش SFME و HD مشاهده نشد.

Riela و همکاران در سال ۲۰۰۸ اثر روش SFME را روی اسانس *Calamintha nepeta* در مقایسه با روش HD مورد مطالعه قرار دادند. بعد از مقایسه اسانس‌ها، مشخص شد که اسانس حاصل از SFME غنی‌تر از مونوترپن‌های اکسیژنه نسبت به اسانس حاصل از HD می‌باشد.

Bendahou و همکاران در سال ۲۰۰۸ فعالیت ضد میکروبی و ترکیبات اسانس *Origanum glandulosum* استخراج شده به روش SFME را با روش HD مقایسه نمودند. اسانس‌های بدست آمده از هر دو روش با GS/MS آنالیز شدند. ترکیبات اسانس حاصله از هر دو روش به یکدیگر شباهت داشتند، اما راندمان استخراج

مقایسه خواص ضد باکتری و ترکیبات شیمیایی در روغن اسانس گیاه *L. Mentha piperita*

همراه تقطیر در فشار اتمسفری است. حرارت دادن آب درون سلولی گیاه باعث باد کردن آن و در نتیجه ترکیب غده‌ها و بافت‌های نگهدارنده اسانس می‌گردد. به این ترتیب اسانس همراه آب درون سلولی تبخیر شده، سپس بخار به طرف یک کندانسور که در خارج از محفظه آن قرار دارد حرکت کرده و در آنجا کندانس می‌گردد. اسانس به طور پیوسته در یک فلاسک جمع‌آوری شده و آب اضافی نیز برای حفظ رطوبت مواد گیاهی به ظرف استخراج برگردانده می‌شود. ضمناً در طول مدت فرآیند، دما از طریق یک ترموکوپل محافظدار که به طور مستقیم درون راکتور قرار می‌گیرد، کنترل شد (Lucchesi *et al.*, 2004; Lucchesi *et al.*, 2007).

کل فرآیند استخراج اسانس در ۳۰ دقیقه با قدرت ۵۰۰ وات مایکروویو در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد. سپس اسانس حاصله با سولفات سدیم بدون آب، آب‌گیری گردید و تا زمان آنالیز در یخچال نگهداری شد و بازه اسانس تعیین گردید. در شکل ۱ دستگاه مایکروویو آزمایشگاهی نشان داده شده است.

- شناسایی اجزای متشکله اسانس‌ها

اجزای هر دو نمونه اسانس توسط دستگاه GC/MS جداسازی و شناسایی گردیدند. دستگاه کروماتوگرافی گازی استفاده شده از نوع Hewlett Packard 6890 با ستون به طول ۳۰ متر، قطر



شکل ۱- دستگاه مایکروویو آزمایشگاهی

SFME بیشتر بود و اسانس حاصله از SFME دارای مواد آروماتیک بیشتری بود. خواص ضد میکروبی این گیاه علیه ۲ باکتری، ۲ مخمر و ۴ کپک بررسی شد و معلوم گردید که در این گیاه خواص قارچ‌کشی بیشتر از باکتری‌کشی است. در این پژوهش برای اولین بار اسانس نعنای فلفلی با استفاده از دو روش SFME و HD تولید می‌شود و مشخصات شیمیایی و خواص ضد میکروبی آن بررسی می‌شود. این در حالی است که روش استخراج با استفاده از SFME سابقه چندانی در دنیا و به خصوص در ایران ندارد.

مواد و روش‌ها

- شناسایی و جمع‌آوری گیاه

گیاه *Mentha piperita* L. از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی تهیه گردید و در دانشکده داروسازی دانشگاه تهران شناسایی و تایید نام علمی گردید. گیاه پس از جمع‌آوری در مجاورت سایه خشک گردید.

- اسانس‌گیری

برای اسانس‌گیری با روش تقطیر با آب Hydrodistillation (HD)، ابتدا مقدار ۱۰۰ گرم از برگ و سرشاخه‌های خشک گیاه نعنای فلفلی توسط آسیاب خرد شد، سپس وارد بالن دستگاه تقطیر گردید و با دستگاه کلونجر عمل اسانس‌گیری تا زمانی که دیگر به حجم اسانس اضافه نشد، ادامه یافت. اسانس به دست آمده پس از آب‌گیری با سولفات سدیم بدون آب، درون شیشه‌های رنگی ریخته شد و تا زمان آنالیز در یخچال نگهداری شد و بازه اسانس تعیین گردید.

برای اسانس‌گیری با روش Solvent (SFME) free microwave extraction - ابتدا ۵۰ گرم از گیاه نعنای فلفلی آسیاب گردید، سپس با روش غوطه‌وری حدود یک ساعت در آب خیسانده شد. انجام این مرحله به علت افزایش رطوبت اولیه گیاه خشک است و انجام آن ضروری می‌باشد. بعد از یک ساعت آب اضافی موجود به کمک تنظیف گرفته شده و گیاه درون دستگاه مایکروویو قرار داده شد. اساس این روش حرارت دادن با آن مایکروویو به

۳۰۰، ۲۵۰، ۱۵۰، ۱۰۰، ۵۰ از آن‌ها تهیه شد و به محیط کشت Muller-Hinton Agar انتقال یافته و به خوبی در تمام قسمت‌های محیط کشت یکنواخت گردید. به علت فرار بودن اسانس‌ها پس از سرد شدن و بستن محیط‌های کشت حاوی اسانس بلافاصله عمل تلقیح میکروارگانیسم‌های مورد نظر صورت گرفت. پس از تلقیح محیط‌های کشت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰-۳۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد (Deans et al., 1997).

یافته‌ها

بازده اسانس حاصله از روش تقطیر با آب (HD) برابر با ۱/۲۴ درصد بود. اما بازده اسانس با روش SFME، ۱/۳۲ درصد بود که این نشان دهنده این است که راندمان استخراج روش SFME بیشتر از روش HD بوده است.

جدول ۱ مقایسه ترکیبات شیمیایی حاصل از دو روش استخراج HD و SFME را نشان می‌دهد. در اسانس *Mentha piperita* حاصل از روش HD، ۳۱ ترکیب و در اسانس حاصل از روش SFME، ۳۳ ترکیب از اجزای متشکله این روغن اسانسی، شناسایی گردیدند. نتایج این مقایسه در نمودار ۱ نشان داده شده است.

بر اساس نتایج حاصل از MIC برای میکروارگانیسم‌های مختلف برای اسانس‌ها، یک روند نزولی در رشد لکه‌های باکتری با افزایش غلظت مقدار اسانس مصرفی در هر دو نمونه اسانس دیده شد.

آزمایشات میکروبی برای هر دو نوع اسانس ۴ بار تکرار گردید.

در غلظت ۱۰۰۰ ppm هیچ رشدی برای هر دو نمونه روغن اسانسی مشاهده نشد. به این ترتیب MIC هر دو نمونه ۱۰۰۰ ppm تعیین گردید.

نتایج آزمایش میکروبی برای هر دو نمونه اسانس روی باکتری‌های *E. coli* (PTCC 1330)، *Salmonella typhimurium* (PTCC 1622)، *Bacillus subtilis* (PTCC 1254) یکسان بود.

بحث

– بررسی اسانس

نتیجه بدست آمده از بازده اسانس نعناع فلفلی

داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. برنامه دمایی ستون به این نحو تنظیم گردید: دمای ابتدایی آن ۶۰ درجه سانتی‌گراد، دمای انتهایی ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد و گرادیان حرارتی آن ۶ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه و توقف در این دما به مدت ۳ دقیقه بود. دمای دریچه تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۱ ml/min استفاده گردید. طیف‌نگار جرمی مورد استفاده مدل Hewlet Packard 5973 با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت بود.

– بررسی خواص ضد میکروبی اسانس نعناع فلفلی

جهت تهیه میکروارگانیسم‌های فعال سویه‌های استاندارد میکروبی *Escherichia coli* (PTCC 1330)، *Bacillus subtilis* (PTCC 1254) از *Salmonella typhimurium* (PTCC 1622) آزمایشگاه مرکزی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران به صورت لیوفیلیزه تهیه شد.

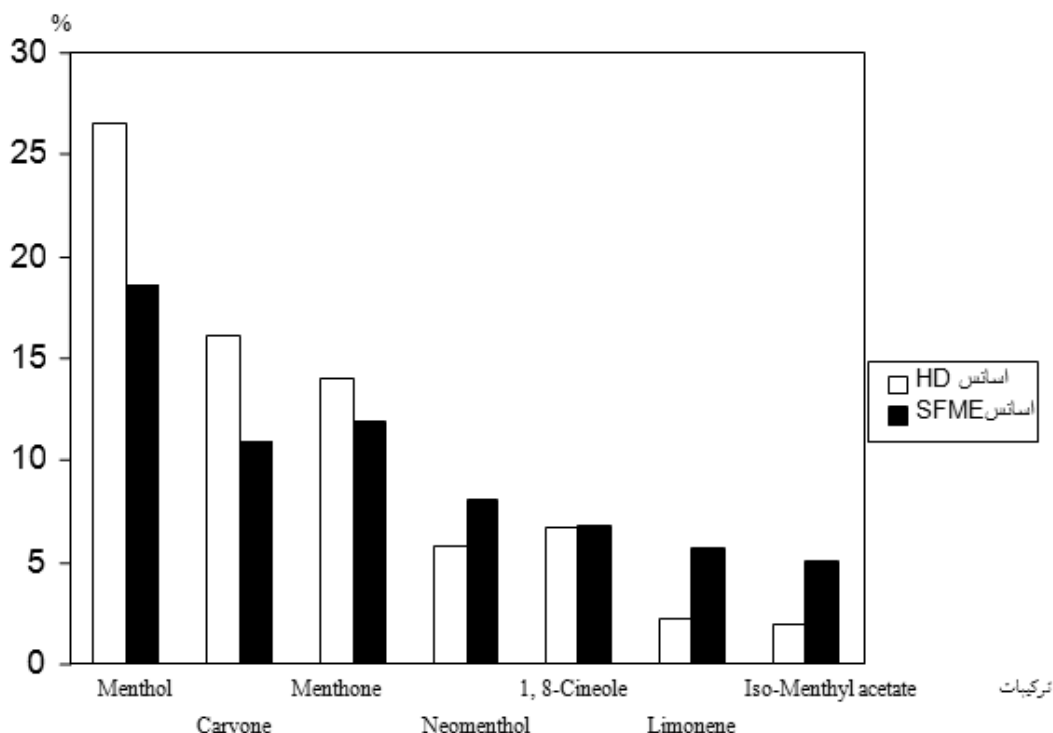
آمیول حاوی میکروب‌ها با احتیاط کامل در شرایط استریل و در زیر هود لامینار ایرفلو شکسته شد. سپس مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر محیط کشت استریل Nutrient Broth توسط پیپت پاستور به داخل آمیول تخلیه و با سر سوزن به هم زده شد، سپس سوسپانسیون میکروبی درون ظرف حاوی محیط کشت استریل ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و سپس در محیط Nutrient Agar به روش خطی چهار منطقه‌ای کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد.

جهت تهیه سوسپانسیون میکروبی در مجاور شعله تعدادی کلنی از کشت ۲۴ ساعته میکروب به سرم فیزیولوژی استریل اضافه شد به طوری که کدورت حاصله (جذب نوری در طول موج ۶۰۰ نانومتر در مقابل بلانک سرم فیزیولوژی) برابر با استاندارد نیم مک فارلند گردید (Deans et al., 1997).

جهت تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)، اسانس‌های استخراج شده توسط هر دو روش، در اتانل رقیق شد، غلظت‌های ۱۰۰۰ ppm، ۵۰۰، ۴۰۰،

جدول ۱- مقایسه ترکیبات عمده اسانس و درصد آن‌ها در دو روش استخراج HD و SFME برای گیاه *L. Mentha piperita*

ترکیبات	درصد ترکیبات روش SFME	درصد ترکیبات روش HD	اندیس بازداری کواتس (KI)
alpha - Pinene	۱/۷۲	۰/۶۸	۹۳۹
beta- Pinene	۲/۲۵	۰/۹۶	۹۷۹
- 1,8cineole	۶/۸۲	۶/۶۴	۱۰۳۱
Limonene	۵/۷۳	۲/۲۲	۱۰۲۹
Alpha -Terpinene	۰/۴۳	۰/۲۸	۱۰۱۷
gamma - Terpinene	۰/۷۵	۰/۴۴	۱۰۶۰
Sabinene	۱/۵۳	۰/۴	۹۷۵
Neoiso- Menthol	۱/۳۲	۱/۲۸	۱۱۸۷
Menthol	۱۸/۵۸	۲۶/۵۷	۱۱۷۲
cis- Dihydro carvone	۲/۳۲	۲/۱۳	۱۱۹۳
Pipertone	۱/۳	۰/۳۱	۱۲۵۳
Carvone	۱۰/۹۶	۱۶/۱۴	۱۲۴۳
Menthyl acetate	۰/۴۲	۳/۶۲	۱۲۹۵
beta- Bourbonene	۰/۹۹	۰/۵	۱۳۸۸
beta - caryophyllene	۳/۲۵	۱/۹۷	۱۴۱۹
Germacrene - D	۳/۴۷	۱/۸۸	۱۴۸۵
Bicyclogermacrene	۰/۵۵	۰/۴۲	۱۵۰۰
Viridiflorol	۱/۳۹	۰/۷۶	۱۵۹۳
Cis- Sabinenehydrate		۰/۴۲	۱۰۷۰
Menthone	۱۱/۹۵	۱۴/۰۱	۱۱۵۳
Pulegone	۰/۱۶	۰/۴۹	۱۲۳۷
alpha – Humulene	۰/۲۹	۰/۲۳	۱۴۵۵
Trans - Sabinehydrate	۲/۹۳	۲/۰۵	۱۰۹۸
Neodihydro Carveol	۴/۳۹	۲/۰۷	۱۱۹۴
beta - Myrcene	۰/۷۸	۰/۲	۹۹۱
Neomenthol	۸/۰۹	۵/۸۵	۱۱۶۶
Iso menthone	۰/۲۸	۰/۵۲	۱۱۶۳
Terpinene – 4- ol		۲/۷۶	۱۱۷۷
Spathulenol	۰/۱۹		۱۵۷۸
Iso- Dihydro carveol acetate	۰/۹۳		۱۳۳۹
Iso- Menthylacetate	۵/۰۶	۱/۹۷	۱۳۰۵
Carvacrol	۰/۴۱		۱۲۹۹
para - Cymene	۰/۲۷	۱/۲۹	۱۰۲۵
bata – Farnesene	۰/۳۲	۰/۹۴	۱۴۵۷
alpa - Terpinolene	۰/۱۷		۱۰۸۹



نمودار ۱- مقایسه ترکیبات عمده اسانس و درصد آن‌ها در دو روش استخراج HD و SFME برای گیاه

L. *Mentha piperita*

سال ۲۰۰۴ و Bayramoglu و همکاران در سال ۲۰۰۸ و Bendahou و همکاران در سال ۲۰۰۸ که به مقایسه راندمان استخراج روش HD و SFME پرداختند، مطابقت داشت.

با مقایسه نتایج حاصل از شناسایی ترکیبات روغن اسانسی *Mentha piperita* استخراج شده با دو روش HD و SFME موارد زیر مشاهده شد:

- در هر دو روش ترکیبات خیلی شبیه یکدیگر بود.
- ترکیبات اصلی در روش HD شامل، Menthol، Carvone، Menthone، 1,8-cineole، Neomenthol، Menthyl acetate بود که در کل این ۶ ترکیب، ۸۳/۷۲ درصد از کل ترکیبات را تشکیل داد.

- ترکیبات اصلی در روش SFME شامل، Menthol، Menthone، Carvone، Neomenthol، 1,8-cineole، Iso-Menthyl acetate، Limonene، و Neodihydrocarveol بود که این ۸ ترکیب در کل ۷۱/۵۸ درصد ترکیبات را تشکیل داد.

حاصل از روش HD برابر با ۱/۲۴ درصد بود که با مطالعات یزدانی و همکاران (۱۳۸۱) که به مقایسه میزان اسانس موجود در نعنای فلفلی کاشته شده در مناطق مختلف کشور پرداختند، مطابقت داشت. طبق بررسی یزدانی و همکاران (۱۳۸۱) درصد اسانس نعنای فلفلی کاشته شده در مناطق مختلف کشور وابسته به شرایط محیطی بوده و میزان آن بین ۱/۱۵ تا ۳/۲ درصد متغیر است که این مقدار تحت تأثیر فاکتورهای مختلف محیطی از جمله آب و هوا، خاک، ارتفاع محل رویش گیاه و طول مدت روشنایی بود. نتیجه مشابهی توسط زمانی زاده و همکاران (۱۳۷۹) بدست آمد. در این پژوهش اسانس نعنای فلفلی را با روش HD استخراج کردند که بازده اسانس حاصله از این گیاه ۱/۲ درصد بود.

نتیجه بدست آمده از بازده اسانس با روش SFME، ۳۲/۱ درصد بود که این نشان دهنده این است که راندمان استخراج روش SFME بیشتر از روش HD بوده است که این نتیجه با نتایج بدست آمده از مطالعات Lucchesi (2004) و همکاران در

مقایسه خواص ضد باکتری و ترکیبات شیمیایی در روغن اسانس گیاه *L. Mentha piperita*

اسانس حاصل از روش SFME اسانسی با کیفیت بالاتر محسوب می‌شود. نتایج مشابهی توسط Lucchesi و همکاران در سال ۲۰۰۷ که به استخراج اسانس از گیاه *Elletaria cardamomum* به وسیله روش‌های SFME و HD پرداختند، بدست آمده است. طبق بررسی Lucchesi و همکاران در سال ۲۰۰۷ اسانس حاصل از روش SFME دارای ترکیبات اکسیژنه و آروماتیک بیشتری بوده و کیفیت بهتری داشت.

- بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس‌ها

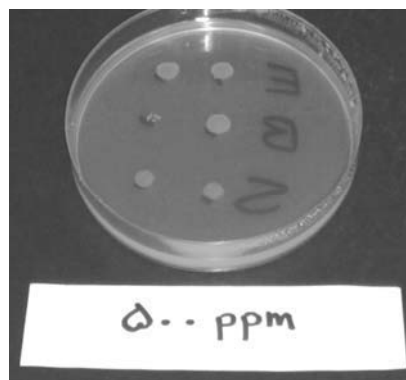
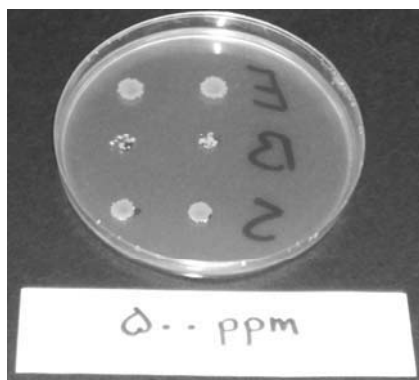
نتایج بدست آمده از آزمایش میکروبی نشان داد که MIC هر دو نمونه اسانس برای سه میکروب مذکور یکسان و برابر با ۱۰۰۰ ppm می‌باشد، که با مطالعات متقیان پور و همکاران (۱۳۸۷) که اسانس گیاه زنیان را با دو روش SFME و HD استخراج کردند و به بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس‌ها پرداخته‌اند، منطبق بود. در پژوهش متقیان پور و همکاران (۱۳۸۷) اثر ضد میکروبی اسانس گیاه زنیان استخراج شده با دو روش SFME و HD تنها بر روی باکتری *E. coli* بررسی شد و MIC برای هر دو نمونه اسانس یکسان و برابر با ۵۰۰ تعیین گردید.

ولی احتمال این که برای میکروارگانیسم‌های دیگر یکسان نباشد، مطابق کارهای تحقیقاتی قبلی که با گیاهان دیگر روی سایر میکروارگانیسم‌ها انجام شده است، بسیار زیاد می‌باشد و احتمالاً اثر ضد میکروبی اسانس حاصل از روش SFME بیشتر می‌باشد. مشابه مطالعاتی که Bendahou

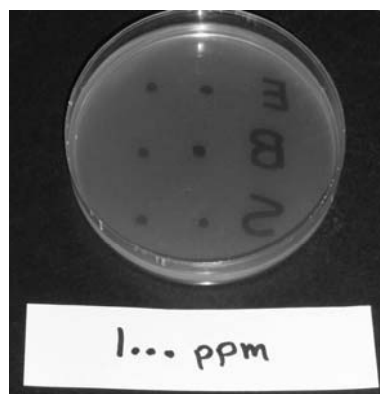
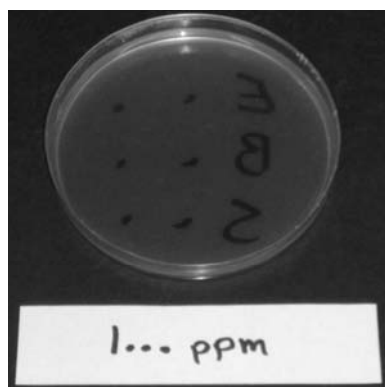
- تفاوت بین دو روش در غلظت نسبی ترکیبات بود.
- در روش SFME غلظت نسبی ترکیبات اکسیژنه بالاتر بود.

- در روش SFME ترکیباتی همچون Carvacrol، alpha-Terpinolene، Iso-dihydrocarveol و Spathulenol که از ترکیبات فعال و اکسیژنه به شمار می‌آیند نیز شناسایی شدند.

به طور کلی می‌توان گفت که در اسانس SFME مقدار ترکیبات اکسیژنه بیشتر است. نتایج این تحقیق با نتایج بدست آمده از مطالعات Lucchesi و همکاران در سال ۲۰۰۴ و Bayramoglu و همکاران در سال ۲۰۰۸ و RIELA و همکاران در سال ۲۰۰۸ مطابقت داشت. در هر سه پژوهش اسانس حاصل از روش HD با اسانس حاصل از روش SFME مورد مقایسه قرار گرفت و اسانس حاصل از روش SFME دارای ترکیبات تریپنی اکسیژنه بیشتری بود. که فراوانی بیشتر ترکیبات اکسیژنه در روغن اسانسی حاصل از SFME در مقایسه با روش HD به کاهش زمان استخراج و مقدار آب کمتر مورد استفاده در این روش، که اساساً باعث کاهش زوال و تجزیه ترکیبات اکسیژنه اصلی به وسیله واکنش‌های حرارتی و هیدرولیز می‌شود، نسبت داده شد. در نتیجه از آن‌جا که تریپن‌ها اساساً ترکیبات غیر اشباع هستند و در اثر نور، حرارت و اکسیژن تجزیه شده و به ترکیبات نامطلوبی که طعم و بوی ناخوشایند ایجاد می‌کنند تبدیل می‌شوند، همچنین چون ترکیبات اکسیژنه مسؤل ایجاد عطر و طعم و برخی از خواص عاملی دیگر در اسانس‌ها هستند، از این رو



شکل ۲- تصویر سمت راست مربوط به اسانس حاصل از روش تقطیر با آب و تصویر سمت چپ مربوط به روش SFME



شکل ۳- تصویر سمت راست مربوط به اسانس حاصل از روش تقطیر با آب و تصویر سمت چپ مربوط به روش SFME

منابع

- زرگری، ع. (۱۳۷۲). گیاهان دارویی، جلد چهارم. انتشارات دانشگاه تهران. ۵-۱۳.
- زمانی‌زاده، ن. وطن‌دوست، ح. و حاجی‌آخوندی، ع. (۱۳۷۹). استخراج و شناسایی و بررسی شیمیایی و بیولوژیکی اسانس *Mentha piperita*, *Mentha spicata*. پایان‌نامه دکتری داروسازی. دانشگاه علوم پزشکی تهران.
- مقیان‌پور، ز.، آبرومندآذر، پ.، شریفان، ا. و لاریجانی، ک. (۱۳۸۶). بررسی اثر روش استخراج بر ترکیب شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی اسانس گیاه زنیان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته مهندسی کشاورزی-علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران.
- میرحیدری، ح. (۱۳۷۷). معارف گیاهی (کاربرد گیاهان در پیشگیری و درمان بیماری)، جلد اول. نشر فرهنگ اسلامی. ۲۸۸-۲۹۵.
- هی، ر. و واترمن، پ. (۱۳۷۹). گیاهان اسانس دار (گیاه‌شناسی، فیزیولوژی، شیمی، ژنتیک، بیوتکنولوژی، تجارت جهانی). ترجمه: بقالیان، کامبیز. نشر اندرز. ۲۱-۲۹.
- یزدانی، د.، جمشیدی، ا. ح. و مجاب، ف. (۱۳۸۱). مقایسه میزان اسانس و منتول موجود در نعنای فلفلی کاشته شده در مناطق مختلف کشور. مجله تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، شماره ۳، صفحات ۷۳-۷۸.
- Bayramoglu, B., Sahin, S. & Sumnu, G. (2008). Solvent-free microwave extraction of essential oil from oregano. *Journal of Food Engineering*, 88, 535-540.
- Bendahou, M., Muselli, A., Grignon-Dubois, M., Benyoucef, M., Desjobert, J. M., Bernardini, A. F. & Costa, J. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation. *Food Chemistry*, 106, 132-139.

همکاران در سال ۲۰۰۸ بر روی فعالیت ضد میکروبی و ترکیبات اسانس *Origanum glandulosum* استخراج شده به روش SFME و HD انجام دادند. در این پژوهش اثر ضد میکروبی این گیاه علیه ۲ باکتری، ۲ مخمر و ۴ کپک بررسی شد و معلوم گردید که اسانس حاصل از روش SFME خاصیت ضد باکتریایی و ضد قارچی بیشتری نسبت به اسانس حاصل از روش HD از خود نشان داد. که علت آن در استخراج بیشتر ترکیبات مونوترپن اکسیژنه مؤثر در فعالیت ضد میکروبی، در روش SFME گزارش گردید.

نمونه‌ای از رشد باکتری در پلیت حاوی رقت ۵۰۰ ppm و عدم رشد باکتری در پلیت حاوی رقت ۱۰۰۰ ppm برای اسانس‌های استخراج شده با روش HD و SFME در شکل‌های ۲ و ۳ نشان داده شده است.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق و نتایج حاصل از مطالعات محققان دیـــــگر (Lucchesi et al., 2004; Bayramoglu et al., 2008; Riela et al., 2008) می‌توان نتیجه‌گیری کرد که استفاده از روش SFME مزایای زیادی از جمله کاهش زمان استخراج، افزایش بازده، کاهش مصرف انرژی و هزینه، کاهش آب مصرفی و تولید درصد بالاتری از ترکیبات فعال را دارا می‌باشد. از این رو این روش می‌تواند جایگزین مناسبی برای روش‌های سنتی استخراج به خصوص در مورد اسانس‌های مصرفی در صنایع غذایی باشد.

Chemat, F., Lucchesi, M. E., Smadja, J., Favretto, L., Colnaghi, G. & Visinoni, F. (2006). Microwave accelerated steam distillation of essential oil from lavender: A rapid clean and environmentally friendly approach. *Analytica Chimica Acta*, 555, 157-160.

Deans, S. G. & Ritchie, G. (1997). Antimicrobial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 5, 165-180.

Lucchesi, M. E., Chemat, F. & Smadja, J. (2004). An original Solvent-free microwave extraction of essential oil from Spices. *Flavour and Fragrance Journal*, 19, 1340-1380.

Lucchesi, M. E., Chemat, F. & Smadja, I. (2004). Solvent – free microwave extraction of essential oil from aromatic herb: comparison with conventional hydrodistillation. *Journal of Chromatography A*, 1043, 323 - 327

Lucchesi, M. E., Smadja, J., Bradshaw, S., Louw, W. & Chemat, F. (2007). Solvent free microextraction of *Elletaria cardamomum* L: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. *Journal of Food Engineering*, 79, 1079-1086.

Riela, S., Bruno, M., Formisano, C., Rigano, D., Rosselli, S., Saladino, M. L. & Senatore, F. (2008). Effects of solvent-free microwave extraction on the chemical composition of essential oil of *Calamintha nepeta* (L.) Savi compared with the conventional production method. *Journal of Separation Science*, 31, 1110-1117.

Comparison of Antibacterial Activity and Chemical Composition of Essential Oil Extracted from *Mentha piperita* L. Herb by Microwave and Hydrodistillation Methods

S. Fadaei ^{a*}, P. Aberoomand Azar ^b, A. Sharifan ^c, K. Larijani ^b

^a M. Sc. Student of Food Science & Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

^b Academic Member of Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

^c Assistant Professor of the College of Food Science & Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: 31 October 2009

Accepted: 7 February 2010

Abstract

Introduction: Belonging to the family of *Lamiaceae*, peppermint (scientifically called as *Mentha Piperita* L.) is a therapeutic and aromatic herb where the extract has various applications in food, cosmetic, hygienic and pharmaceutical industries. In the present paper, the essential oil of *Mentha piperita* L. is prepared by SFME method and its chemical and antimicrobial activities have been studied.

Materials and Methods: The essential oil of dry plant was extracted, by hydrodistillation and microwave methods without using a chemical solvent. The chemical composition of the extracts were identified by GC/MS and compared against each other. The antimicrobial activity of each extract was tested on *E. coli* (PTCC 1330), *Bacillus subtilis* (PTCC 1254) and *Salmonella typhinurium* (PTCC 1622). For each essential oil the level of the minimum inhibitory concentration (MIC) was specified.

Results: The essential oil of *Mentha piperita* L. prepared by HD method contained 31 ingredients and the fraction prepared by SFME method contained 33 ingredients successfully identified. The results showed that MIC of both essential oils for the above microorganisms was 1000 ppm.

Conclusion: Considering the results of the present research, it might be concluded that SFME method has some advantages namely reduction of extraction time, increase of extraction yield, decrease of energy and water consumption and production of higher percentage of active ingredients.

Keywords: Antimicrobial Activity, Hydrodistillation, *Mentha piperita* L. Essential Oil, Microwave.