مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

خواص شیمیایی اسانس استخراج شده از بذر و برگ *مورینگا پرگرینا* به روش کلونجر به همراه پیش‌تیمار فراصوت

آنیسا جعفری[۱]، مریم مصلحی شاد[۲*]، زهره غنوی[۳]

۱- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد صفادشت، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد صفادشت، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳- سازمان ملی استاندارد، کرج، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله:

تاریخ دریافت: ۹۸ /۰۶/۰۸

تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۰/۱۶

کلمات کلیدی:

مورینگا پرگرینا،

اسانس،

خاصیت آنتی‌اکسیدانی،

فعالیت ضد میکروبی،

مهار آنزیم آلفا گلوکوزیداز.

DOI: 10.52547/fsct.18.04.14

* مسئول مکاتبات:

moslehishad@safaiau.ac.ir

چکیده

هدف این مطالعه تعیین ترکیبات، خواص آنتی‌اکسیدانی، فنول‌کل، فعالیت ضدمیکروبی و مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز، اسانس حاصل از برگ و بذر *مورینگا پرگرینا* بود. برای استخراج اسانس، بذر و برگ *گیاه مورینگا* به همراه آب در داخل حمام فراصوت به مدت ۴۰ دقیقه قرار داده شد و سپس به روش تقطیر با آب در دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت اسانس‌گیری انجام شد. جهت شناسایی درصد ترکیبات موجود در اسانس بذر و برگ *مورینگا پرگرینا* دستگاه کروماتوگرافی گازی با شناساگر یونش شعله مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس با استفاده از روش مهار رادیکال آزاد ABTS تعیین گردید. همچنین برای اندازه‌گیری محتوای فنول‌کل از معرف فولین سیوکالتو استفاده شد. فعالیت ضد میکروبی اسانس به روش انتشار دیسک علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیاکلی*، *باسیلوس سرئوس* و *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور تعیین خاصیت مهار آنزیم آلفا گلوکوزیداز اسانس از ماده pNPG به‌عنوان سوبسترا استفاده شد. نتایج نشان داد درصد استخراج اسانس *مورینگا پرگرینا* با دستگاه کلونجر به همراه پیش‌تیمار فراصوت موجب افزایش معنی‌دار استخراج نسبت به روش کلونجر شد ($p<۰/۰۵$). ترکیب عمده موجود در اسانس بذر این گیاه ایزوتیوسیانیک اسید (۴۱/۴۴درصد) و در اسانس برگ *مورینگا پرگرینا*، فارنسیل استون (۲۲/۷۲درصد) بود. اسانس برگ و بذر گیاه *مورینگا پرگرینا* دارای خاصیت مهار رادیکال آزاد و ترکیبات فنولی به میزان ۰/۰۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گالیک اسید هستند که می‌توان این گیاه را به عنوان گیاه دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی معرفی کرد. اسانس بذر *مورینگا پرگرینا* در برابر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی* و قارچ *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* خاصیت ضدمیکروبی از خود نشان داد. اسانس برگ مورینگا پرگرینا در غلظت مورد استفاده خاصیت ضد میکروبی از خود نشان نداد. غلظتی از اسانس‌های برگ و بذر *مورینگا پرگرینا* که موجب مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز تا ۵۰ درصد شد، برابر با ۰/۰۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. می‌توان از اسانس این گیاه جهت تولید محصولات فراسودمند بهره برد.

۱- مقدمه

از ابتدای خلقت، سلامت بشر به گیاهان وابسته بوده است. به‌طور متوسط یک‌چهارم داروهای تولیدی در جهان دارای منشأ گیاهی هستند که یا مستقیماً از گیاهان عصاره‌گیری شده‌اند و یا بر اساس ترکیب گیاهی فرمولاسیون و سنتز شده‌اند [۱]. تحقیقات نشان می‌دهد که بذرها، آجیل‌ها، ادویه‌جات، میوه‌جات و سبزی‌ها منابع غذایی بسیار غنی را تشکیل می‌دهند که شامل انواع ویتامین‌های ضروری برای سلامتی انسان هستند [۲]. لذا در موارد مصرف طولانی و بیماری‌های مزمن بسیار مناسب می‌باشند. در سال‌های اخیر با افزایش آگاهی مصرف‌کنندگان استفاده از داروهای گیاهی و به‌طور کلی فراورده‌های طبیعی به‌طور چشمگیری افزایش یافته است [۳]. مورینگا درختی گرمسیری از خانواده گزهای روغنی (*Moringaceae*) است که شامل ۱٤ گونه می‌باشد. این درخت خزان شونده بسیار سریع رشد می‌کند و با کم‌آبی تطبیق پیدا کرده است. غلاف‌هایی به شکل چوب طبل، دانه‌ها را در برگرفته‌اند. این درخت تا حدود ۱۲ متر قد کشیده و در سال اول رویش خود دانه تولید می‌کند. گونه‌ای از این درخت به نام *مورینگا پرگرینا* (خار عروس) بومی کشور ایران است و در نواحی بیابانی استان سیستان و بلوچستان رشد می‌نماید [٤]. گزارش‌های زیادی در رابطه با ارزش غذایی گیاه مورینگا به‌صورت علمی و سنتی وجود دارد. مورینگا از قرن‌ها پیش کاربرد تغذیه‌ای و دارویی داشته است. این گیاه دارای ویتامین C، ویتامین A، کلسیم، پتاسیم و تمام اسیدآمینه‌های ضروری می‌باشد[٥]. با توجه به ارزش غذایی مورینگا، می‌توان از آن در سس‌ها، آبمیوه‌ها، ادویه‌ها، شیر، نان و مهم‌تر از همه، نودل‌ها استفاده کرد [٦].

اسانس‌های طبیعی فرآورده‌هایی هستند که از مواد خام گیاهی با استفاده از روش‌های استخراج (تقطیر، فشردن و استخراج با حلال) به دست می‌آیند. این ترکیبات فرار عملکردهای زیست محیطی متنوعی دارند و به عنوان ماده دفاعی در برابر میکروارگانیسم ها عمل می کنند، همچنین می توانند در جذب حشرات برای گرده‌افشانی مهم باشند [۷]. اسانس روغنی گیاه مورینگا یکی از معدود اسانس‌هایی است که کاربردهای صنعتی، بهداشتی، خوراکی و دارویی دارد [۸]. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در این گیاه به بدن انسان در کاهش آسیب‌های اکسیداتیو کمک می‌کنند. به دلیل نگرانی‌های مرتبط با ایمنی و سلامت غذا، متخصصین صنایع غذایی به دنبال جایگزین نمودن آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک با انواع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند [۹].

از طرفی در دهه‌های اخیر استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی باعث ایجاد مقاومت دارویی درون میکروارگانیسم‌ها شده است. لذا نیاز به یافتن ترکیبات ضد میکروبی جدید که دارای منشأ طبیعی و سازگار با محیط‌زیست باشند به‌شدت احساس می‌شود [۱۰]. در پژوهش‌های انجام‌شده بیان شده است که عصاره دانه گیاه *مورینگا اولیفرا* دارای ویژگی ضد میکروبی قوی است و می‌توان از آن در درمان بیماری‌های قارچی استفاده کرد. پپتیدهای ضدمیکروبی موجود در عصاره این گیاه منجر به جداسازی دو غشاء (غشاء بیرونی و درونی) میکروارگانیسم می‌شود. در نتیجه، آب به درون سلول نفوذ می‌کند و سبب افزایش حجم سلول و مرگ آن می‌شود [۱۱].

مهارکننده‌های آنزیم آلفاگلوکوزیداز[1] با مداخله در هضم کربوهیدرات‌ها در کنترل بیماری دیابت نقش دارند. در حال حاضر استفاده از اسانس‌های طبیعی مهارکننده آنزیم آلفاگلوکوزیداز به دلیل حداقل اثرات جانبی که بر روی بدن انسان دارند، بسیار مورد توجه قرارگرفته است [۱۲]. مطالعات انجام‌شده بر روی داروهای گیاهی مانند آویشن و تأثیرات آن‌ها بر بیماری دیابت نشان داده است که برخی گیاهان به دلیل داشتن ترکیبات فنولی می‌تواند به میزان قابل‌توجهی باعث کاهش سطح گلوکز گردد [۱۳].

ترکیبات فنولی گروه بزرگی از مواد طبیعی گیاهی شامل فلاونوئیدها، تانن‌ها و آنتوسیانین و غیره می‌باشند که معمولاً در میوه‌ها، سبزیجات، برگ‌ها، آجیل‌ها، دانه‌ها، ریشه و در سایر قسمت‌های گیاه دیده می‌شوند. این مواد طیف گسترده‌ای از اثرات مطلوب زیستی ازجمله خواص آنتی‌اکسیدان، اثر محافظتی مخاط روده و معده، ضد اسپاسم و ضد تومور دارند. ترکیبات فنولی با داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌توانند نقش مهمی در نگهداری محصولات غذایی و حفظ سلامتی انسان ایفا نمایند [۱٤].

با توجه به غنی بودن مورینگا پرگرینا از ترکیبات شیمیایی مفید از

1 . α-D-Glucoside glucohydrolase

جمله ترکیبات فنولی و بومی بودن این گیاه گرمسیری، پژوهش حاضر با هدف بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز اسانس بذر و برگ این گیاه انجام شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه مواد اولیه

بذر و برگ گیاه گز روغنی با نام علمی *مورینگا پرگرینا* با تایید اداره منابع طبیعی سیستان و بلوچستان از شهرستان فنوج تهیه گردید. مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش شامل معرف فولین سیوکالتو، سولفوریک اسید، سدیم سولفات و آنزیم آلفا گلوکوزیداز تخمیری از شرکت مرک (آلمان) و ABTS[۲] و سوبسترا pNPG (منشأ مخمر *ساکارومایسس سروزیه*) از شرکت سیگمای آمریکا با خلوص آزمایشگاهی خریداری شدند.

۲-۲- استخراج اسانس از برگ و بذر

نمونه‌های گیاهی جمع‌آوری شده در سایه و به دور از نور مستقیم خورشید خشک و قبل از اسانس گیری با آسیاب صنعتی (8300-Desktop Mill، ایران)، خرد شدند در ادامه ۱۵۰ گرم برگ و ۱۵۰ گرم بذر درخت *مورینگا پرگرینا* به صورت *جداگانه* به همراه آب در داخل حمام فراصوت (Elmap30h، آلمان) به مدت ٤٠ دقیقه قرار داده شدند و سپس به روش تقطیر با آب در دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت اسانس‌گیری انجام شد. اسانس حاصله جداشده و سپس توسط سدیم سولفات خشک شد و اسانس‌ها در ظروف دربسته و تیره تا زمان آنالیز در یخچال در دمای ٤ درجه سلسیوس نگهداری شدند. درصد استخراج در هر دو روش کلونجر (Dorsa، ایران)، به تنهایی و ترکیب روش فراصوت و کلونجر طبق رابطه (۱) محاسبه شد.

رابطه (۱)

درصد استخراج = (وزن اسانس/ وزن ماده اولیه) × ۱۰۰

۲-۳- آنالیز کیفی ترکیبات اسانس توسط دستگاه کروماتوگراف گازی

جهت شناسایی درصد ترکیبات موجود در اسانس بذر و برگ *مورینگا پرگرینا* از دستگاه کروماتوگراف گازی (Agilent 7890a، امریکا)، شناساگر شعله (FID) با جریان هیدروژن ٤٠ میلی‌متر بر دقیقه، مقدار جریان هوای ٤٥٠ میلی‌متر در دقیقه و ستون سیلیکای جوش‌خورده HP-5 به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۳۲ میلی‌متر و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر مورداستفاده قرار گرفت. میزان اسپلیت ۱ به ۵۰ بود. (Split=1:50) گاز حامل نیتروژن و نرخ جریان گاز ۲ میلی‌متر در دقیقه و میزان تزریق نمونه یک میکرولیتر بود. دمای آون به مدت یک دقیقه در ۱۲۰ درجه سلسیوس نگه‌داشته شد و سپس تا ۱۷۵ درجه سلسیوس با سرعت ۱۰ درجه سلسیوس بر دقیقه افزایش یافت و ۱۰ دقیقه در این دما نگه‌داشته شد، سپس تا ۲۱۰ درجه سلسیوس با سرعت ۵ درجه سلسیوس بر دقیقه افزایش یافت و بعد از ۵ دقیقه دما تا ۲۳۰ درجه سلسیوس با سرعت ۵ درجه سلسیوس بر دقیقه افزایش یافت و به مدت ۵ دقیقه در این دما باقی ماند [١٤]. برای شناسایی نوع ترکیبات اسانس نیز از دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی (Agilent 7890b، امریکا)، مجهز به ستون سیلیکا ذوب‌شده از نوع HP-5MS به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه‌نازک ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. میزان اسپلیت ۱ به ۵۰ بود (Split=1:50).

۲-٤- تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس با استفاده از روش مهار رادیکال آزاد ABTS تعیین گردید. این روش بر مبنای کاهش رنگ رادیکال ABTS انجام می‌شود. رادیکال ABTS با حل کردن در آب و در معرض پتاسیم پرسولفات طی مدت ۱۲ تا ١٦ ساعت حاصل شد. سپس جذب در طول‌موج ۷۳٤ نانومتر با حضور پپتید طی مدت ۵ دقیقه به‌وسیله الایزاریدر (Bio Tek/power wave xs2، امریکا)، تعیین گردید [١٦].

۲-۵- تعیین محتوای فنول کل

برای اندازه‌گیری محتوی فنول کل از روش چان و همکاران (۲۰۱۰)، به وسیله معرف فولین سیوکالتو استفاده شد. به طور خلاصه برای این منظور ۱/۹۷۵ میلی‌لیتر آب بدون یون و ۰/۱۲۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتو افزوده شد و سپس ۰/۲۵ میلی‌لیتر از اسانس به آن اضافه و مخلوط گردید. پس از زمان ۱۰ دقیقه ۰/۳۷۵ میلی‌لیتر از سدیم کربنات ۲۰ درصد افزوده و با هم ترکیب شد. نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت در دمای محیط و در مکان تاریک نگهداری شد و سپس مقدار جذب در طول موج ۷٦۰ نانومتر تعیین گردید. جهت رسم منحنی استاندارد در روش رنگ سنجی

2. 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)

فولین سیوکالتو از گالیک اسید استفاده شد [۱۷].

۲-٦- بررسی فعالیت ضدمیکروبی

فعالیت ضدمیکروبی به روش انتشار دیسک اندازه‌گیری شد. به این صورت که ابتدا پلیت‌های حاوی ۱۵ میلی‌لیتر محیط کشت استریل بلاد آگار برای باکتری *باسیلوس سرئوس*، محیط کشت BHI آگار برای *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* و سابورز دکستروز آگار برای قارچ *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* تهیه شدند. در ادامه تلقیح استاندارد با استفاده از سوسپانسیون‌های باکتری و قارچ حاوی $CFU\ mL^{-1}$ ۱/۵ ×۱۰^۸ در سطح محیط کشت انجام شد. سپس ۳۰ میکرولیتر از اسانس و روغن گیاه *مورینگا پرگرینا* تهیه شده روی دیسک‌های با قطر ٦ میلی‌متر اضافه شد. دیسک‌ها در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه بر روی محیط کشت برای انتشار ترکیبات قرار داده شد. سپس پلیت‌ها به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس برای باکتری‌ها و ۷۲ ساعت در دمای ۲۸-۳۵ درجه سلسیوس برای قارچ‌ها گرمخانه‌گذاری شدند. فعالیت ضد میکروبی اسانس ها، با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد ایجادشده از مهار رشد میکروارگانیسم‌ها در سطح آگار و در اطراف دیسک‌ها در مقیاس میلی‌متر ثبت شد [۱۸].

۲-۷- آزمون مهارکنندگی آنزیم آلفا گلوکوزیداز

به‌منظور تعین خاصیت مهار آنزیم آلفا گلوکوزیداز از ماده pNPG به‌عنوان سوبسترا استفاده شد. این ماده توسط آنزیم آلفا گلوکوزیداز، به پارا-نیتروفنول (زردرنگ) و گلوکز هیدرولیز می‌شود. سپس فعالیت آنزیم با اندازه‌گیری میزان جذب پارا-نیتروفنول تولیدشده در محلول تعیین می‌گردد. درصورتی‌که نمونه دارای اثر مهارکنندگی آنزیم آلفا گلوکوزیداز باشدجذب پایین‌تری در مقایسه با کنترل (واکنش بدون عصاره) دارد. برای انجام این آزمون، مخلوط واکنش حاوی ۱۰ میکرولیتر آلفا گلوکوزیداز (۰/۲۵ unit/ml)، ۱۳۰ میکرولیتر بافر فسفات mM ۱۰۰ (pH= ٦/٨) و ۱۰ میکرولیتر از نمونه آزمایش در غلظت‌های مختلف بود. این مخلوط در میکروپلیت‌های ۹٦ چاهکی تهیه و به مدت ۱۵ دقیقه در انکوباتور (Memmert/INB400، آلمان)، در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شد. پس از خارج کردن پلیت از انکوباتور، واکنش آنزیمی با اضافه کردن ۲۰ میکرولیتر از محلول pNGB mM ۵ آغاز می‌شود. مخلوط واکنش مجدداً در گرمخانه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. درنهایت با اضافه نمودن ۸۰ میکرولیتر محلول سدیم کربنات ۰/۲ مولار واکنش متوقف شد. سپس جذب نمونه‌ها در طول‌موج ٤٠٥ نانومتر توسط دستگاه Microplate reader قرائت شد. از مخلوط واکنش بدون نمونه به‌عنوان کنترل و مخلوط واکنش بدون آنزیم آلفا گلوکوزیداز به‌عنوان شاهد استفاده شد. این آزمایش برای هر یک از غلظت‌ها در ۳ تکرار انجام شد. درصد مهار آلفا گلوکوزیداز توسط نمونه‌ها با استفاده از رابطه (۲) محاسبه شد [۱۹].

رابطه (۲)

درصد مهارکنندگی =

۱۰۰ × (جذب کنترل / جذب نمونه – جذب کنترل)

۲-۸- تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش داده‌های حاصل از آزمایش‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ١٦ و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۳ صورت گرفت. میانگین‌ها با استفاده از آزمون t-test و دانکن مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج به صورت (میانگین داده‌ها ±SE) در سطح ۵ درصد گزارش شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- درصد استخراج اسانس برگ و بذر مورینگا

درصد استخراج اسانس برگ و بذر مورینگا در جدول ۱ آمده است.

Table 1 Percent Extract (V/W) of Moringa Leaf and Seed Essential Oil

Extraction method	Leaf essential oil	Seed essential oil
Clevenger	0.11±0.01[b]	0.04±0.00[b]
Clevenger and Ultrasound	0.32±0.01[a]	0.17±0.01[a]

The non-similar English letters in each column indicate a significant difference at the p <0.05 level.

استفاده از پیش‌تیمار فراصوت موجب افزایش معنی‌دار در مقدار استخراج عصاره برگ و بذر مورینگا شد (p<۰/۰۵). درصد اسانس استخراج‌شده از برگ مورینگا بیشتر از اسانس استخراج‌شده از بذر مورینگا بود که این اختلاف هم معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). درصد استخراج اسانس *مورینگا پرگرینا* با استفاده از دستگاه کلونجر، به همراه پیش‌تیمار فراصوت برای برگ برابر با ۰/۳۲ درصد و برای بذر برابر با ۰/۱۷ درصد (حجمی/وزنی) به دست آمد. الاویسی و همکاران در سال ۲۰۱۶ درصد استخراج اسانس برگ *مورینگا پرگرینا* را با استفاده از دستگاه کلونجر در دمای ۹۰ درجه سلسیوس و در مدت ۱۶ ساعت با حلال اتانول به طور مداوم اندازه‌گیری کردند. آن‌ها درصد استخراج اسانس برگ *مورینگا پرگرینا* را ۲۷ درصد (وزنی/وزنی) گزارش کردند. همچنین درصد استخراج اسانس برگ مورینگا را با استفاده از حلال‌های مختلف هگزان، کلروفرم و اتیل استات به ترتیب برابر با ۹/۲۷، ۱/۲۸ و ۰/۴۵ درصد (وزنی/وزنی) گزارش کردند [۱۸]. تفاوت در درصد استخراج به دست آمده در تحقیق حاضر و مقدار گزارش شده توسط دیگر پژوهشگران به عوامل مختلفی از جمله زمان و دمای استخراج، حلال مورد استفاده و مداوم یا غیر مداوم بودن فرایند استخراج و عوامل دیگر بستگی دارد.

۳-۲- ترکیبات اسانس بذر و برگ مورینگا

برای آنالیز اسانس از دستگاه GC-MS استفاده شد. کتابخانه موجود در رایانه دستگاه از نوع wiley7n.l بود. با مطالعه دقیق ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس و با استفاده از کتابخانه موجود در کامپیوتر دستگاه کروماتوگرافی گازی ۲۷ ترکیب در اسانس برگ و ۶۰ ترکیب در اسانس بذر گیاه *مورینگا پرگرینا* شناسایی شد. نتایج کروماتوگراف اسانس‌ها در جدول‌های ۲ و ۳ آورده شده است.

Table 2 Essential oil composition of *Moringa Peregrina* Leaf

Peak	Name	Area (%)	RetTime (min)
1	Benzene acetaldehyde	2.53	5.56
2	2,6-Dimethyl-2,7-octadiene	1.63	5.60
3	Trans-Linalool Oxide	4.87	5.85
4	1,6-Octadien-3-ol	11.14	6.16
5	alpha.Terpineol	10.20	7.41
6	Heptadecane	6.02	13.71
7	1-Octadecene	6.09	14.68
8	2(1H)-Naphthalenone	8.55	15.19
9	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl	4.81	15.25
10	iso butyl phthalate	2.67	15.55
11	Farnesyl acetone	22.72	16.06
12	Dibutyl phthalate	2.30	16.47
13	1,3(2H,4H)-Isoquinolinedione	0.91	17.15
14	Cyclohexane, (1-methylethylidene)-	1.08	17.33
15	trans-Phytol	0.79	17.82
16	1-Heptadecene	0.99	18.50
17	Eicosane	0.54	19.41
18	9-Hydrox y-2-nonanone	0.56	19.52
19	maleic acid, diallyl ester	0.51	20.02
20	5,9,13-Pentadecatrien-2-one	0.70	20.33
21	9-Octadecenal, (Z)-	1.06	21.32
22	Pentacosane	1.06	21.56
23	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	2.53	22.35
24	Hexacosane	0.68	22.98
25	Heptacosane	1.08	24.75
26	1-Docosene	1.18	26.90
27	Nonacosane	2.85	29.94

عمده‌ترین ترکیبات اسانس برگ *مورینگا پرگرینا*، فارنسیل استون (۲۲/۷۲ درصد)، ۱-۶ اوکتادی‌ان-تریول (۱۱/۱۴ درصد) و آلفاترپینول (۱۰/۲۰ درصد) بود. فارنسیل استون از ۳ واحد ایزوپرن تشکیل شده است. الکل سزکویی ترپن به عنوان فارنسیل شناخته می‌شود. پیشوند فارنسیل نمایانگر ۳ واحد ایزوپرن است. ساختار این ترکیبات ممکن است خطی، مونوسیکلیک یا بی سیکلیک باشد. از جمله خواص درمانی آن‌ها خاصیت ضد التهاب، آنتی‌سپتیک، ضد درد و ضد حساسیت می‌باشد [۲۰]. در پژوهشی که بر روی اسانس برگ مورینگا اولیفرا انجام شد بیشترین ترکیبات موجود در اسانس استخراج شده به وسیله سوکسله را به ترتیب نوناکوزان (۱۸/۶ درصد)، ۱.۲.٤-تریمتیل بنزن (۱۶/۹ درصد) و هپتاکوزان (۷/٤ درصد) گزارش کردند در حالی که بیشترین ترکیبات موجود در اسانس استخراج شده به وسیله حلال فوق بحرانی به ترتیب نوناکوزان (۶۰/۱ درصد)، هپتاکوزان (۲۲/۶ درصد) و پنتاکوزان (۶/۳ درصد) بیان کردند [۲۱]. ترکیبات موجود در اسانس گیاهان به طور عمده از هیدروکربن‌ها، استرها، الکل‌ها و کتون‌ها تشکیل شده است. در پژوهش‌های انجام‌شده برای اسانس استخراج شده با حلال هگزان، اتانول، ۱-سیکلوهگزیل- (۲۷ درصد) را به عنوان ماده اصلی تشکیل‌دهنده اسانس برگ *مورینگا پرگرینا* گزارش کردند. برای اسانس استخراج شده به وسیله اتیل استات، ۹-اکتادکنوئیک اسید اتیل استر (۳ درصد) را به عنوان ترکیب عمده موجود در اسانس بیان کردند. همچنین برای اسانس استخراج شده با حلال متانول، فیتول (٤ درصد) را به عنوان ماده اصلی تشکیل‌دهنده اسانس معرفی کردند [۲۰].

Table 3 Essential oil composition of *Moringa Peregrina* Seed

Peak	Name	Area (%)	RetTime (min)
1	Benzeneacetaldehyde	3.15	5.84
2	2,5-Dimethylethylbenzene	0.19	5.94
3	Formic acid, octyl ester	0.33	5.96
4	Undecane	1.23	6.25
5	NONYL ALDEHYDE	3.30	6.33
6	o-Xylene	0.37	6.45
7	Isopropylcyclohexane	0.23	6.72
8	1,2,3,4- Tetramethylbenzene	1.43	7.00
9	(2R,4R)-4-Isopropyl(2-2H1)cy clohexanone	0.89	7.10
10	1-methyl-4-(1-methylpropy) Benzen	0.34	7.23
11	n-Dodecane	7.25	7.48
12	Decaldehyde	0.92	7.56
13	2,6-Dimethylundecene	1.23	7.65
14	n-Hexyl cyclohexane	0.29	8.03
15	Propanal	0.22	8.12
16	Dodecane, 4-methyl-	0.94	8.24
17	10-Methylnonadecane	1.58	8.30
18	Isotetradecane	2.31	8.42
19	Tridecane	6.91	8.80
20	2-methyl naphthalene	0.27	9.12
21	1-hexyl-3-methyl-2-Butenoic acid	1.28	9.40
22	Tridecane, 4-methyl-	0.63	9.54
23	2-Methyl-n-tridecane	0.90	9.62
24	isothiocyanic acid	41.44	9.93
25	2-Buten-1-one	0.65	10.03
26	n-Tetradecane	6.32	10.10
27	1,7-Dimethylnaphthalene	0.29	10.51
28	2,7-Dimethylnaphthalene	0.25	10.55
29	alpha.Tetradecene	0.51	10.72
30	Tetradecane, 3-methyl-	0.58	10.95
31	n-Hexadecane	0.21	11.08
32	pentadecan	5.44	11.32
33	Pentadecane, 2-methyl-	0.31	12.05

34	Isohexadec ane	2.23	12.49
35	Dehydroxy-isocalamendiol	0.13	12.77
36	Heptadecane, 8-methyl	0.29	13.04
37	.alpha.Cadinol	0.45	13.30
38	.gamma.Undecalatone	0.18	13.48
39	n-Heptadecane	0.30	13.61
40	Pentadecane, 2,6,10,14-tetramethyl	0.15	13.68
41	1-Cyclohexylheptene	0.40	15.06
42	Hexahydrofarnesyl acetone	0.32	15.19
43	delta.Dodecalactone	0.26	15.30
44	2-Methoxyethyl phthalate	0.17	15.49
45	9-Octadecenoic acid	0.29	15.73
46	Farnesyl acetone	0.80	15.98
47	2H-Pyran-2-one	0.23	16.05
48	Palmitic acid	0.52	16.43
49	cis-9-Octadecen-1-ol	0.11	17.49
50	Oleic acid	0.22	18.06
51	Eicosane	0.08	19.41
52	trans-9-Octad ecenoic acid	0.05	19.51
53	cis-9-Octadecenal	0.27	19.80
54	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	0.07	20.84
55	Pentacosane	0.08	21.53
56	Hexacosane	0.02	22.95
57	Heptacosane	0.08	23.33
58	Eicosane	0.07	24.72
59	Ethyl (E)-3-(2,2':5',2'-terthien-5-yl)propenoate	0.04	26.54
60	Cyclooctacosane	0.02	26.86

عمده‌ترین ترکیبات اسانس بذر *مورینگا پرگرینا*، ایزوتیوسیانیک اسید (٤١/٤٤ درصد)، ان–دو–دکان (٧/٢٥ درصد) و تری–دکان (٦/٩١ درصد) بود. تیوسیانیک اسید ترکیب شیمیایی با فرمول HSCN است. فرم ایزو– این اسید بیشتر به صورت بخار وجود دارد. این ترکیب در طیف‌سنجی‌ها مشاهده شده است اما به صورت ماده خالص جداسازی نشده است. نمک‌ها و استرهای اسید تیوسیانیک به عنوان تیوسیانات‌ها شناخته می‌شوند [٢٢]. بر اساس نتایج به دست آمده توسط اعتمادی (٢٠١٩)، ٥٢ ترکیب در عصاره اتانولی گیاه مورینگا شناسایی شد که بیشترین ترکیبات شناسایی شده متعلق به ویتامین E با ١٠/١٧٥ درصد و سپس ترکیب بوتانیتریل–٣–متیل با ٨/٦٨٧ درصد و پس از آن ترکیب 5,9-Undecadien-2-one, 6,10-dimethyl-, (Z)- با ٦/٦٧٥ درصد و ترکیب-6,10,14-trimethyl-, (E,E) با ٥/٥١١ درصد و همچنین ترکیب n-هگزادکانوئیک اسید با ٥/٣٣٨ درصد و با نام علمی پالمیتیک اسید بود. همچنین گزارش کرد که ترکیب Levoglucosenone نیز ٤/٨٦٨ درصد را به خود اختصاص داد. همچنین ترکیب لوپئول نیز با ٢/٧٩٩ درصد یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی می‌باشد [٢٢]. عمده ترکیبات شناسایی شده در آنالیز اسانس *مورینگا پرگرینا* بسته به عواملی مانند حلال مورد استفاده در استخراج اسانس، موقعیت جغرافیایی گیاه، دقت دستگاه کروماتوگراف و عوامل دیگر متفاوت می‌باشد.

٣–٣– فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس

شکل ١ خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس برگ و بذر گیاه *مورینگا پرگرینا* را بر اساس درصد مهارکنندگی رادیکال ABTS نشان می‌دهد.

در پژوهشی بیان شد که خاصیت مهار رادیکال ABTS در عصاره برگ *مورینگا اولیفرا* استخراج شده به وسیله استون بیشتر از نمونه استخراج شده به وسیله آب بوده است به طوری که در غلظت برابر، درصد مهارکنندگی عصاره استونی ٢ برابر عصاره آبی گزارش شد [٢٤]. در بسیاری از مطالعات وجود خواص آنتی‌اکسیدانی به ترکیبات فلاونوئیدی نسبت داده‌شده است [٢٥]. نتایج نشان داد اسانس بذر *مورینگا پرگرینا* دارای خاصیت مهارکنندگی بالاتری نسبت به اسانس برگ این گیاه است (٢٣/٦٨ درصد در مقابل ١٥/١٥ درصد). خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس

بذر مورینگا ۸/٤۳ درصد بیشتر از خاصیت آنتی‌اکسیدانی برگ مورینگا بود اما خاصیت آنتی‌اکسیدانی این اسانس‌ها از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ایجاد نکردند (p>۰/۰۵). نتیجه ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی مهار رادیکال ABTS مشخص نمود که ترکیبات موجود در اسانس گیاه *مورینگا پرگرینا* قادر به مهار رادیکال‌های آزاد از طریق مکانیسم‌های الکترون یا هیدروژن دهندگی می‌باشند.

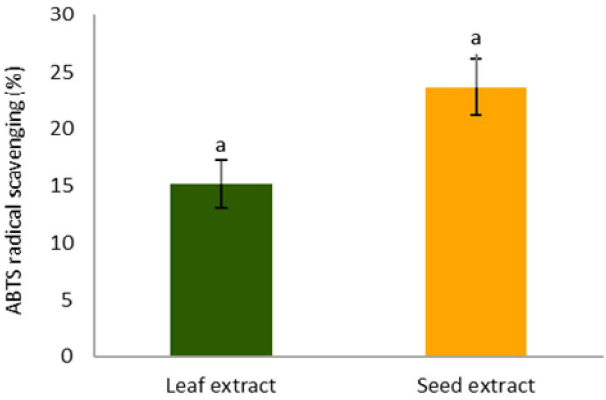

Fig 1 Antioxidant activity of seed and leaf extract

از این رو باید قادر به ممانعت از آغاز واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداسیون در محیط‌های در خطر اکسیداسیون (مانند غشاهای زیستی) باشند. ممکن است از اسانس گیاه *مورینگا پرگرینا* به عنوان درمان مؤثر جهت بهبود صدمات پاتولوژیکی در ارتباط با رادیکال‌های استفاده شود.

۳-٤- محتوای فنول کل اسانس

روش فولین سیوکالتو از متداول‌ترین روش‌های اندازه‌گیری ترکیبات فنولی می‌باشد. اساس کار این روش احیا معرف فولین توسط ترکیبات فنولی موجود در نمونه مورد آزمایش است که در محیط قلیایی ایجاد کمپلکس آبی‌رنگ می‌دهند و در طول موجب ۷٦۰ نانومتر بیشترین جذب را نشان می‌دهند. منحنی استاندارد گالیک اسید با معادله خط $y = 0.0012x + 0.0254$ ($R^2 = 0.98$) به دست آمد. بر اساس منحنی استاندارد گالیک اسید و با استفاده از معادله خط به دست آمده از آن غلظت‌های معادل گالیک اسید برای هر دو نمونه اسانس برگ و بذر برابر با ۰/۰۰ ± ۰/۰۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسید گالیگ به دست آمد.

محتوای فنولی اسانس برگ و بذر *مورینگا پرگرینا* بر اساس غلظت گالیک اسید اندازه‌گیری و گزارش شد. نتایج نشان داد با افزایش غلظت اسانس برگ و بذر مورینگا محتوای فنول هم افزایش میابد. همچنین نتایج نشان داد که اسانس برگ و بذر *مورینگا پرگرینا* در غلظت‌های اندازه‌گیری شده از نظر محتوای فنولی در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار نداشتند (p>۰/۰۵). در پژوهشی بیشترین محتوای فنولی موجود در اسانس گیاه *مورینگا پرگرینا* را مربوط به اسانس استخراج شده به وسیله حلال متانول (۹٤/۵ میلی‌گرم بر گرم گالیک اسید اسانس خشک) و پس از آن اسانس حاصل از حلال اتیل استات (۸۱/۳ میلی‌گرم بر گرم گالیک اسید اسانس خشک) گزارش کردند. همچنین مقدار فنول کل اسانس استخراج شده به وسیله حلال هگزان را صفر بیان کردند [۱۵]. نتایج مطالعه انجام شده توسط مویو و همکاران در سال۲۰۱۲، نشان داد مقدار ترکیب فلاونوئیدها ، فلاونول‌ها ، فنول‌ها و پروانتوسیانیدین‌های موجود در اسانس مورینگا اولیفرا استخراج شده به وسیله استون بیشتر از اسانس استخراج شده به وسیله آب در این گیاه بوده است. همچنین گزارش شده که این ترکیبات خاصیت آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکال‌های آزاد دارند [۲۵].

۳-۵- فعالیت ضدمیکروبی اسانس

اسانس‌های گیاهی منابع جدیدی از ترکیبات ضد میکروبی هستند. خاصیت ضد میکروبی گیاهان به ترکیبات فنولی، ساپونین و فلاونوئیدهای موجود در گیاه نسبت داده می‌شود. بررسی فعالیت ضدمیکروبی اسانس بذر مورینگا به روش دیسک بر روی میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش در جدول ٤ گزارش شده است. اسانس برگ مورینگا خاصیت ضد میکروبی از خود نشان نداد.

Table 4 Inhibition zone (mm) for Moringa Peregrina seed extract

Concentration (mg/ml)	*Staphylococcus aureus*	*Escherichia coli*	*Bacillus cereus*	*Penicillium notatum*
0.2	15±0.4^a	15±0.3^a	-	12±0.3^a
0.1	9±0.5^b	10±0.5^b	-	8±1.0^b
0.05	4±0.6^c	5±0.4^c	-	-
0.025	-	-	-	-

The non-similar letters in each column indicate a significant difference at p <0.05 level.

با کاهش غلظت خاصیت ضد میکروبی اسانس هم کاهش یافت. حداقل غلظت ضد میکروبی اسانس بذر *مورینگا پرگرینا* برای باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی* برابر با ۰/۰۵ میلی‌لیتر و برای قارچ *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* برابر با ۰/۱ میلی‌لیتر به دست آمد. مطالعات انجام شده بر روی اثرات اسانس‌های گیاهی بر ارگانیسم‌های عامل فساد و پاتوژن‌های غذایی نشان می‌دهند که اسانس‌های گیاهی بر باکتری‌های گرم مثبت قدری بیشتر از باکتری‌های گرم منفی اثر دارند؛ به عبارت دیگر گرم مثبت‌ها نسبت به اثر آنتی باکتریایی اسانس‌ها حساس‌تر هستند. در پژوهشی مقدار خاصیت ضدمیکروبی اسانس *مورینگا اولیفرا* ریز پوشانی شده در ذرات نقره را در برابر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* (۱۵ mm)، *اشرشیاکلی* (۹ mm) و *باسیلوس سرئوس* (۷ mm) گزارش کردند. مقدار هاله عدم رشد اندازه‌گیری شده در تحقیق حاضر برای *استافیلوکوکوس اورئوس* با مقدار گزارش شده در پژوهش بیان شده مطابقت داشت [۲۶]. ماروفو و همکاران در سال ۲۰۱۳ بیان کردند که مکانیسم عملکرد مولکولی اسانس مورینگا اولیفرا ناشناخته است، اما احتمالاً اسانس می تواند مانع تولید آدنوزین تری فسفات از دکستروز و مختل شدن غشای سلولی در باکتری‌های گرم منفی شود همچنین خاصیت آبگریزی اسانس‌های روغنی موجب توزیع آنها در ساختار باکتری‌های گرم مثبت می‌باشد [۲۰]. در پژوهشی مقدار هاله عدم رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در اثر اسانس اتانولی برگ مورینگا اولیفرا برابر با ۱۷/۹ میلی‌متر و مقدار هاله عدم رشد این باکتری در برابر اسانس آبی این گیاه برابر با ۱۶/۵ میلی‌متر گزارش شد [۲۷].. فاکتورهای مختلفی مانند روش استخراج اسانس از گیاه، حجم تلقیح، فاز رشدی، محیط مورد استفاده برای رشد، pH محیط، مدت زمان و دمای گرمخانه گذاری نتایج آزمایش‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد؛ بنابراین تفاوت‌هایی در نتایج گزارش شده ایجاد می‌شود.

۳-۶- مهارکنندگی آنزیم آلفا گلوکوزیداز اسانس

درصد مهارکنندگی آنزیم آلفاگلوکوزیداز اسانس برگ و بذر *مورینگا پرگرینا* در غلظت مستقیم و غلظت‌های مختلف در جدول ۵ نشان داده شده است. به طور کلی با کاهش غلظت عصاره، درصد مهارکنندگی آنزیم آلفاگلوکوزیداز به دلیل کاهش مواد موثر اسانس برگ و بذر کاهش می‌یابد. تیمارها با هم اختلاف معنی‌دار ایجاد کردند ($p<$۰/۰۵). غلظت ۰/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسانس برگ بیشترین خاصیت مهارکنندگی آنزیم آلفاگلوکوزیداز را از خود نشان داد. کمترین خاصیت مهارکنندگی در غلظت ۰/۰۱۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و همچنین غلظت‌های ۰/۱ تا ۰/۰۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از نظر آماری تفاوت معنی‌داری باهم نداشتند ($p\geq$۰/۰۵). غلظت ۰/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسانس بذر بیشترین خاصیت مهارکنندگی آنزیم آلفاگلوکوزیداز را از خود نشان داد. کمترین خاصیت مهارکنندگی در غلظت مستقیم و پس از آن غلظت ۰/۰۱۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و همچنین غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۰۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشتند ($p\geq$۰/۰۵). رابطه بین تغییرات درصد مهارکنندگی آنزیم آلفاگلوکوزیداز با تغییر غلظت اسانس نمونه در شکل ۲ نشان داده شده است.

Table 5 Alpha-glucosidase inhibition percentage of leaf and seed extracts

Concentration (mg/ml)	Alpha-glucosidase inhibitor of Leaf extract	Alpha-glucosidase inhibitor of seed extract
0.2	63.82±14.41^{a}	78.15±6.94^{a}
0.1	62.29±5.04^{ab}	72.23±1.26^{ab}
0.05	43.09±9.48^{bc}	61.97±0.36^{bc}
0.025	41.85±6.94^{bc}	57.39±7.66^{c}
0.0125	40.00±4.86^{c}	21.53±0.72^{d}

The non-similar letters in each column indicate a significant difference at the 0.05 level.

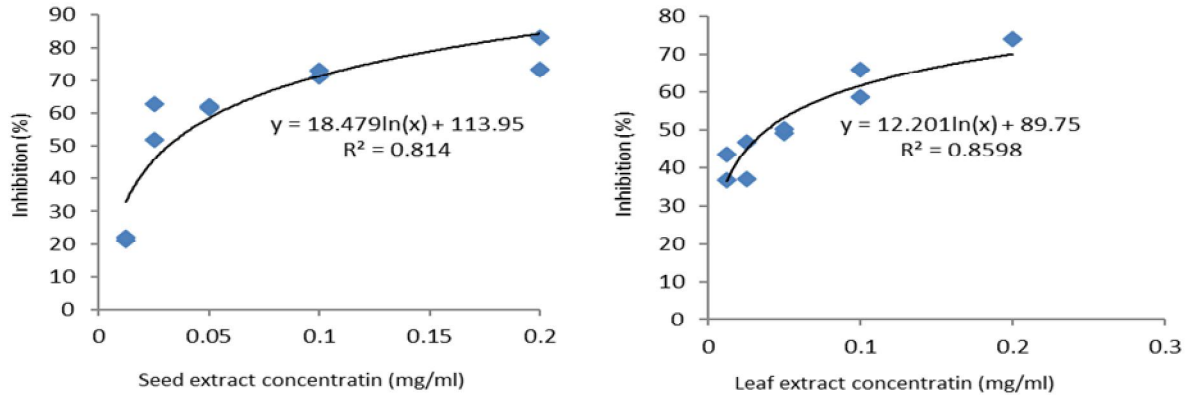

Fig 2 Relationship between changes in alpha-glucosidase inhibition percentage with change in leaf and seed extract concentration

غلظت ۰/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسانس برگ (۶۳/۸۲ درصد) و اسانس بذر (۷۸/۱۵ درصد) بیشترین خاصیت مهارکنندگی آنزیم آلفاگلوکوزیداز را از خود نشان دادند. مطابق با نتایج گزارش شده توسط نوری (۲۰۱۷)، درصد مهارکنندگی آنزیم آلفاگلوکوزیداز عصاره، با افزایش غلظت عصاره، افزایش می‌یابد [۲۸].

از نمودارهای رسم شده در شکل ۳ غلظتی از اسانس که منجر به مهار آنزیم آلفا گلوکوزیداز تا ۵۰ درصد می‌شود، به دست آمد. بر اساس معادله خط $y= 12.201\ ln(x) + 89.75$ به دست آمده برای اسانس برگ و معادله خط $y= 18.479\ ln(x) + 113.95$ به دست آمده برای اسانس بذر، غلظتی از اسانس *مورینگا پرگرینا* که منجر به مهار ۵۰ درصد آنزیم آلفا گلوکوزیداز می‌شود (IC50)، برای اسانس برگ برابر با ۰/۰۳۴۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر غلظت اسانس و برای اسانس بذر برابر با ۰/۰۲۹۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر غلظت اسانس می‌باشد.

میزان غلظت اسانس‌های برگ و بذر *مورینگا پرگرینا* در درصد مهارکنندگی ۵۰ اختلاف معنی‌داری نداشتند ($P>0/05$). می‌توان نتیجه گرفت که اسانس برگ و بذر گیاه *مورینگا پرگرینا* با IC50 ۰/۰۳ mg/ml خاصیت مهارکنندگی آنزیم آلفا گلوکوزیداز یکسانی دارند. با وجود اینکه این اعداد اختلاف معنی‌دار ندارند اما در غلظت‌های بالا اسانس بذر خاصیت مهارکنندگی بیشتری دارد. مفهوم غذا به عنوان دارو موضوعی اساسی در علوم رژیم غذایی و تغذیه ای است. بر خلاف وجود تحقیقات بیوشیمیایی گسترده در زمینه ترکیبات دارای خاصیت ضددیابت هنوز نیاز به انجام آزمایشات بالینی بیشتر وجود دارد [۲۹]. استفاده از گیاهان بومی برای درمان کسانی که زندگی‌های سنتی و شیوع بالای دیابت دارند و مصرف محصولات طبیعی را طبق اعتقادات فرهنگی خود ترجیح می دهند، به عنوان یک گزینه مناسب پیشنهاد می‌شود.

٤- نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از پیش‌تیمار فراصوت موجب افزایش معنی‌دار در مقدار استخراج عصاره برگ و بذر مورینگا شد. اسانس برگ و بذر گیاه مورینگا دارای خاصیت مهار آنزیم آلفا گلوکوزیداز بوده و می‌توان از آن در درمان بیماری دیابت استفاده کرد. اسانس برگ و بذر گیاه *مورینگا پرگرینا* از نظر آماری خاصیت مهارکنندگی آنزیم آلفا گلوکوزیداز یکسانی دارند. در غلظت‌های بالا اسانس دارای خاصیت مهارکنندگی آنزیم آلفا گلوکوزیداز بیشتری می‌شود. عمده ترکیب موجود در اسانس بذر این گیاه ایزوتیوسیانیک اسید بوده می‌توان خاصیت ضدمیکروبی اسانس بذر گیاه *مورینگا پرگرینا* علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیاکلی* و قارچ *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* را به وجود این ترکیب نسبت داد. عمده‌ترین ترکیب اسانس برگ *مورینگا پرگرینا*، فارنسیل استون بود. اسانس برگ و بذر گیاه *مورینگا پرگرینا* دارای خاصیت مهار رادیکال آزاد و ترکیبات فنولی هستند که می‌توان این گیاه را به عنوان گیاه دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی معرفی کرد. خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس بذر بسیار بیشتر از اسانس برگ این گیاه بود. با توجه به اینکه این گیاه گرمسیری به‌صورت بومی در مناطق جنوب کشور ایران وجود دارد استفاده از اسانس بذر و برگ گیاه *مورینگا*

پرگرینا در صنعت غذای کشور به‌عنوان گزینه‌ای مناسب پیشنهاد می‌شود. همچنین می‌توان از اسانس بذر این گیاه جهت تولید محصولات فراسودمند بیماران دیابتی بهره برد.

۵- منابع

[1] Handa SS. An overview of extraction techniques for medicinal and aromatic plants. Extraction technologies for medicinal and aromatic plants. In: Handa SS, Khanuja SPK, Longo G, Rakesh DD (eds). Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. ICS-UNIDO Trieste, Italy. 2008;1.21-52.

[2] Orhevba BA, Sunmonu MO, Iwunze H. Extraction and Characterization of Moringa oleifera Seed Oil. Research and Reviews: Journal of Food and Dairy Technology. 2013;23-27.

[3] Carabias-Martínez R, Rodríguez-Gonzalo E, Revilla-Ruiz P, Hernández-Méndez J. Pressurized liquid extraction in the analysis of food and biological samples. Journal of Chromatography A. 2005;1089(1-2):1-17.

[4] Ng S, Katayon S, Noor MMM, Abdullah A. The effectiveness of *Moringa Olifera* as primary coagulant in high-rare setling pilot scale water treatment plant. International Journal of Engineering and Technology. 2006;3(2):191-200.

[5] Bhatia S, Othman Z, Ahmad AL. Pretreatment of palm oil mill effluent (POME) using Moringa oleifera seeds as natural coagulant. Journal of Hazardous Materials. 2007;145(1-2):120-6.

[6] Martin FW, Ruberté RM. Survival and subsistence in the tropics. Survival and subsistence in the tropics. 1978;7.

[7] Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Neng, N. R., Nogueira, J. M., Saraiva, J. A., & Nunes, M. L. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. Industrial Crops and Products. 2013; 43, 587-595.

[8] Tamayo C, Richardson D, Suzanne, Skoda I. The chemistry and biological activity of herbs used in Flor Essence™ herbal tonic and Essiac. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives. 2000;14(1):1-14.

[9] Elsayed EA, Sharaf-Eldin MA, Wadaan M. In vitro evaluation of cytotoxic activities of essential oil from Moringa oleifera seeds on HeLa, HepG2, MCF-7, CACO-2 and L929 cell lines. Asian Pac J Cancer Prev. 2015;16:4671-5.

[10] Huang D, Ou B, Prior RL. The chemistry behind antioxidant capacity assays. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2005;53(6):1841-56.

[11] Chuang P-H, Lee C-W, Chou J-Y, Murugan M, Shieh B-J, Chen H-M. Anti-fungal activity of crude extracts and essential oil of Moringa oleifera Lam. Bioresource Technology. 2007;98(1):232-6.

[12] Rai M. A review on some antidiabetic plants of India. Ancient Science of Life. 1995;14(3):168.

[13] Lawag IL, Aguinaldo AM, Naheed S, Mosihuzzaman M. α-Glucosidase inhibitory activity of selected Philippine plants. Journal of Ethnopharmacology. 2012;144(1):217-9.

[14] Fathiazad F, Ahmadi-Ashtiani H, Rezazadeh S, Jamshidi M, Mazandarani M, Khaki A. Study on phenolics and antioxidant activity of some selected plant of Mazandaran Province. Journal of Medicinal Plants. 2010;9(34).

[15] Al-Owaisi M, Al-Hadiwi N, Khan SA. GC-MS analysis, determination of total phenolics, flavonoid content and free radical scavenging activities of various crude extracts of Moringa peregrina (Forssk.) Fiori leaves. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2014;4(12):964-70.

[16] Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine. 1999; 26(9-10):1231-7.

[17] Chan E, Lim Y, Chong K, Tan J, Wong S. Antioxidant properties of tropical and temperate herbal teas. Journal of Food Composition and Analysis. 2010; 23(2):185-9.

[18] Kirby W, Bauer A, Sherris J, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Pathol. 1966;45(4):493-6.

[19] Ghamari F, M Ghaffari S, Salami M,

Moosavi-Movahedi F, Farivar F, Johari A, et al. Synergic study of α-glucosidase inhibitory action of aloin and its antioxidant activity with and without camel β-casein and its peptides. Protein and Peptide Letters. 2013;20(5):607-12.

[20] Bahmani M, Zargaran A, Rafieian-Kopaei M. Identification of medicinal plants of Urmia for treatment of gastrointestinal disorders. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2014;24(4):468-80.

[21] Marrufo, T., Nazzaro, F., Mancini, E., Fratianni, F., Coppola, R., De Martino, L., ... & De Feo, V. Chemical composition and biological activity of the essential oil from leaves of Moringa oleifera Lam. cultivated in Mozambique. Molecules. 2013: 18(9), 10989-11000.

[22] Beard C, Dailey BP. The structure and dipole moment of isothiocyanic acid. The Journal of Chemical Physics. 1950;18(11):1437-41.

[23] Etemadi, M. Investigation of Physicochemical Properties and pH Effect of Extract of Moringa Pergrina Finely Coated on Biopolymer Coatings Prepared by Spray Dryer. M.Sc., Faculty of Food Technology, Islamic Azad University. (2019);15(12): 37-41. (In Percian).

[24] Moyo, B., Oyedemi, S., Masika, P. J., & Muchenje, V. Polyphenolic content and antioxidant properties of Moringa oleifera leaf extracts and enzymatic activity of liver from goats supplemented with Moringa oleifera leaves/sunflower seed cake. Meat science. 2012: 91(4), 441-447.

[25] Harborne JB, Williams CA. Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry. 2000;55(6):481-504.

[26] Prasad T, Elumalai E. Biofabrication of Ag nanoparticles using Moringa oleifera leaf extract and their antimicrobial activity. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2011;1(6):439-42.

[27] Peixoto, J. R. O., Silva, G. C., Costa, R. A., Vieira, G. H. F., Fonteles Filho, A. A., & dos Fernandes Vieira, R. H. S. In vitro antibacterial effect of aqueous and ethanolic Moringa leaf extracts. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 2011; 4(3), 201-204.

[28] Nouri, Sh. Antioxidant activity and inhibition of alpha-glucosidase enzyme in extracts of Moringa pergina and Frolago cardiochrom (Chewil) micro-coating coated with polymeric coatings prepared by spray dryer. M.Sc., Faculty of Food Technology, Islamic Azad University. (2017) ;20. (In Percian).

[29] Leung, L., Birtwhistle, R., Kotecha, J., Hannah, S., & Cuthbertson, S. Anti-diabetic and hypoglycaemic effects of Momordica charantia (bitter melon): a mini review. British Journal of Nutrition. 2009; 102(12), 1703-1708.

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Chemical Properties of Essential Oils Extracted from Seed and Leaf of *Moringa Peregrina* by Clevenger Method with Ultrasound Pretreatment

Jafari, A. [1], Moslehishad, M. [2*], Ghanavi, Z. [3]

1. Young Researchers and Elite Club, Safadasht Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Department of Food Science and Technology, Safadasht Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Iranian National Standardization Organization, Karaj, Iran

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2019/ 08/ 30
Accepted 2021/ 01/ 05

Keywords:

Moringa Peregrina, Moringa Essential Oil, Antioxidant Activity, Antimicrobial activity, Alpha Glucosidase Inhibition.

DOI: **10.52547/fsct.18.04.14**

*Corresponding Author E-Mail: moslehishad@safaiau.ac.ir

ABSTRACT

In this study, the extract components, antioxidant properties, total phenol, antimicrobial activity, alpha-glucosidase inhibition of the leaf and seed extract of *Moringa Peregrina* were measured. Essential oil extracted from Moringa seeds and leaves were placed in an ultrasonic bath for 40 minutes and then distilled in a Clevenger apparatus for 3 hours. Flame detector gas chromatograph was used to identify the percentage of essential oil component in *Moringa Peregrina* seed and leaf. Antioxidant activity of the essential oil was determined by ABTS free radical scavenging method. Also, the total phenol content was measured by Folin-Ciocalteu reagent. Antimicrobial activity of the essential oil was evaluated by disk diffusion method for *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* and *Penicillium notatum*. PNPG was used as a substrate to determine the inhibitory property of α-glucosidase. The results showed that the use of ultrasonic pretreatment significantly increased the extraction rate of leaf and seed extract of Moringa (p<0.05). The percentage of essential oil extracted from *Moringa Peregrina* leaves was higher than the essential oil extracted from *Moringa Peregrina* seeds (p<0.05). The main constituent in the essential oil of this plant seed is isothiocyanic acid (41.44%) and the main composition of the essential oil of *Moringa Peregrina* leaf, farnesyl acetone (22.72%). The essential oil of leaf and seed of *Moringa Peregrina* has free radical scavenging properties and phenolic compounds (0.025 mg/ml Gallic acid) that can be considered as antioxidant plant. The essential oil of *Moringa Peregrina* seed has anti-microbial properties against the bacteria Staphylococcus aureus and *Escherichia coli* and the fungus *Penicillium nutatum*. The essential oil of Moringa leaf showed no antimicrobial activity. The concentration of essential oils of leaf and seed of *Moringa Peregrina* that IC_{50} (alpha-glucosidase 50% inhibition) was 0.03 mg/ml. The essential oil of this plant can be used to produce functional foods.