

بررسی خصوصیات هم‌افزایی و هم‌ستیزی عصاره چای سبز و هل

اکرم آریان فر^{۱*}، مریم سردرودیان^۱

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

(تاریخ دریافت: ۹۵/۰۳/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۰۹)

چکیده

امروزه استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های جدید و بدون خطر از منابع گیاهی، حیوانی و میکروبی رو به افزایش است. هدف از این پژوهش، بررسی و مقایسه ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و برهم‌کنش‌های سینرژیستی و آنتاگونیستی عصاره‌های چای سبز و هل بود. عصاره چای سبز، هل و ضد اکساینده سنتزی BHT در غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و عصاره‌های ترکیبی چای سبز و هل در نسبت‌های مختلف برای دستیابی به غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در نسبت‌های ترکیبی ۱:۱، ۲:۱، ۳:۱، ۴:۱، ۱:۲، ۱:۳، ۱:۴، ۲:۳، ۳:۴، ۴:۳، ۴:۱ آماده شد. میزان ترکیبات فنلی به روش فولین سیوکالچيو و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی به چهار روش، مهار رادیکال آزاد، اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها بر اساس توانایی احیاکنندگی آهن (FRAP)، آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن و توانایی جلوگیری از اکسیداسیون روغن سویا ارزیابی شد. بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) جهت مقایسه به عنوان کنترل مثبت به کار گرفته شد. نتایج حاصل از چهار آزمون نشان داد که خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره چای سبز به شکل معنی‌داری بیشتر از عصاره هل و BHT بود ($P < 0.05$). در نسبت‌های مختلف ترکیب این دو عصاره، در آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH در تمامی حالات، قدرت احیاء‌کنندگی در ۸ حالت و در آزمون بتاکاروتن-لینولئیک اسید در ۵ حالت اثر هم‌افزایی مشاهده شد. در آزمون روغن، عصاره‌های ترکیبی اثر هم‌ستیزی نشان دادند، گرچه این عصاره‌های ترکیبی با وجود بروز اثر هم‌ستیزی عملکرد بهتری نسبت به BHT نشان دادند.

کلید واژگان: چای سبز، هل، آنتی‌اکسیدان، هم‌افزایی، هم‌ستیزی.

* مسئول مکاتبات: a_aria_1443@yahoo.com

۱- مقدمه

روغن‌ها و چربی‌های خوراکی و محصولات پرچرب طی فرآوری و نگهداری دستخوش فرآیندهای اکسایشی می‌شوند. اکسایش مواد غذایی منجر به تغییرات نامطلوب طعمی، کاهش ارزش غذایی، ایجاد ترکیبات ضدتغذیه ای و ... می‌شود. استفاده از ضداکساینده‌ها منجر به تأخیر در تولید رادیکال‌های آزاد و در نتیجه افزایش پایداری اکسیداتیو محصول می‌شوند [۱]. استفاده از ضداکساینده‌های سنتزی به دلیل اثرات سرطان زایی محدود شده و تمایل به یافتن ضداکساینده‌های طبیعی عاری از اثرات زیان بار رو به افزایش است [۲]. هم‌افزایی، برهم‌کنش چند جزء در یک سیستم برای ایجاد اثر بیشتر نسبت به حالت انفرادی این اجزاء است. تحقیقات متعددی پیرامون خواص هم‌افزایی ضداکساینده‌های طبیعی انجام شده است [۳و۴]. اما اکثر آنها بر ترکیبات خالص مانند آسکوربیک اسید استوار بوده و برهم‌کنش ضداکسایشی عصاره‌های گیاهی کمتر مورد بررسی قرار گرفته است. ایمن و طبیعی بودن ضداکساینده‌های طبیعی بر اساس این حقیقت است که این ترکیبات در مقادیر اندک در مواد گیاهی وجود دارند و اگر قرار است به مواد غذایی اضافه شوند باید جنبه‌های ایمنی آنها مد نظر قرار گیرد. با دستیابی به اثرات سینرژیستی در فعالیت ضداکسایشی عصاره‌های گیاهی، می‌توان از مقادیر کمتری از هر عصاره استفاده نموده و از اثرات زیانبار استفاده از مقادیر زیاد یک عصاره به تنهایی جلوگیری نمود [۵]. مواد غذایی مختلف دارای ترکیبات زیست فعال مختلف با ظرفیت‌های ضداکسایشی متفاوت هستند. زمانی که این مواد غذایی با یکدیگر مصرف شوند، ظرفیت ضداکسایشی کل ممکن است تحت تأثیر هم‌افزایی یا هم‌ستیزی قرار گرفته و ویژگی‌های فیزیولوژیکی جدیدی ایجاد می‌کند [۶]. ویژگی‌های احیاءکنندگی به طور کلی مربوط به وجود ترکیبات احیاءکننده است [۷] که با دادن هیدروژن، منجر به شکستن زنجیره رادیکال آزاد می‌شوند [۸].

گیاه چای سبز با نام علمی (*Camellia sinensis*) گیاهی است بوته ای که بومی چین و شمال هندوستان می‌باشد. از برگ‌های خشک این گیاه به اشکال گوناگون در تهیه انواع دمنوش‌ها استفاده می‌شود. چای یکی از دمنوش‌های رایج و معروف در دنیا، از جمله کشور ایران بوده و پس از آب پرمصرف‌ترین نوشیدنی دنیا است [۱]. ترکیبات فلاوونوئیدی

(پلی فنول‌ها) از مهم‌ترین آن‌ها محسوب می‌گردند و دارای نقش سلامتی‌زا هستند [۹]. کاتچین‌ها^۱ (فلاوان-۳-ال)^۲ نوعی آنتی‌اکسیدان و از مهم‌ترین فلاوانول به شمار می‌روند. کاتچین‌های چای سبز شامل اپی کاتچین^۳، اپی کاتچین گالات^۴، اپی گالوکاتچین^۵ و اپی گالوکاتچین گالات^۶ می‌باشند. فراوان‌ترین و فعال‌ترین کاتچین (فعالیت آنتی‌اکسیدانی)، اپی گالوکاتچین گالات می‌باشد [۱]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاتچین‌ها به کیفیت برگ چای (موقعیت جغرافیایی کشت، آب و هوا، شرایط برداشت و ذخیره سازی) و شرایط فرآیند و عمل آوری آن بستگی دارد [۱۰]. چای سبز خطر مرگ در اثر بیماری قلبی را بیش از بیست و پنج درصد کاهش می‌دهد و در جلوگیری از بروز بسیاری از بیماری‌ها به ویژه سرطان‌های مختلف بسیار حائز اهمیت است که علت آن خاصیت آنتی‌اکسیدانی پلی فنول‌های چای می‌باشد [۱۱].

هل با نام علمی *Elettaria cardamomum* به خانواده Zingiberaceae (زنجبیلیان) تعلق دارد. از جمله خواص طبی به ضد عفونی کنندگی، محرک، ضد نفخ، خلط آور و ضد اسپاسم بودن آن می‌توان اشاره کرد [۱۲]. مطالعات فیتوشیمیایی نشان داده است که هل دارای ترکیبات شیمیایی مثل آلفا-ترپینون^۷، منتون^۸، آلفا-فلاندرنا^۹، سینتون^{۱۰}، لیمون^{۱۱}، سابینن^{۱۲}، هپتان^{۱۳}، میرسن^{۱۴}، سیتوستون^{۱۵}، بتا-نرولیدول^{۱۶}، لینالول^{۱۷}، بتا پینن^{۱۸}، آلفا پینن^{۱۹}، اوژنول استات^{۲۰}، فیتال^{۲۱}، گاما سیتسترول^{۲۲}، سیترونیلول^{۲۳}، ترپینین^{۲۴} می‌باشد. همچنین هل حاوی

1. Catechines
2. Flavan-3-ol
3. Epicatechin
4. Epicatechingalat
5. Epigallocatechin
6. Epigallocatechingalat
7. α -terpinen
8. Menthone
9. α -phellandrene
8. Synyvn
11. Limonene
12. Sabinene
13. Heptane
14. Myrcene
15. Cytostone
16. β -nerolidol
17. Linalool
18. α -pinene
19. β -pinene
20. Eugenol acetate
21. Phytal
22. γ -Sitosterol
23. Citronellol
24. Terpinen

ترکیب دو عصاره به صورت ۱:۱، ۲:۱، ۳:۱، ۴:۱، ۳:۲، ۲:۲، ۴:۲ و ۱:۴ حجمی/حجمی بودند.

۲-۲- اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل عصاره

چای سبز و هل

مقدار کل ترکیبات فنولیک در عصاره‌ها بر اساس روش فولین سیوکالچپو مورد بررسی قرار گرفت [۱۶]. مقدار کل ترکیبات فنولیک از معادله خط رسم شده بر مبنای اسید گالیک با غلظت‌های (۰-۲۲۰ پی‌پی‌ام در متانول ۸۰ درصد) به صورت میلی گرم گالیک اسید بر گرم عصاره خشک شده بیان گردید. آزمون فولین، با سه تکرار انجام شد [۱۷].

۲-۳- میزان مهارکنندگی DPPH°

در این روش ابتدا ۲/۵ ml از محلول متانولی نمونه مورد نظر (در غلظت‌های ۰/۱-۰/۶ mg/ml) در یک لوله آزمایش ریخته شد. سپس به آن ۱ ml محلول متانولی DPPH (۰/۳ mM) اضافه گردید. محتویات هر لوله توسط ورتکس کاملاً مخلوط و جذب نمونه‌ها پس از ۳۰ دقیقه، در دمای اتاق، تاریکی جذب آنها و طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. در این روش از BHT به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. هر چه قدرت آنتی اکسیدان نمونه بیشتر باشد رنگ محلول حاصل زردتر است. درصد مهار اکسیداسیون هر نمونه طبق رابطه ۱ قابل محاسبه است [۱۸]. از BHT به عنوان کنترل مثبت و جهت مقایسه استفاده شده است.

$$\%AI = \frac{(A_{control} - A_{sample})}{A_{control}} \times 100$$

معرفی:

$A_{Control}$: جذب محلول شاهد در ۵۱۷ نانومتر

A_{Sample} : جذب محلول نمونه در ۵۱۷ نانومتر

۲-۴- بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی با آزمون

بی رنگ شدن بتاکاروتن

۲۰ میکرو لیتر لینولئیک اسید، ۲۰۰ میلی گرم Tween 20 و ۱ میلی گرم بتاکاروتن به ۵ میلی لیتر کلروفرم اضافه شده و در فلاسک دستگاه تبخیرکننده چرخان گذاشته و در ۴۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد تا کلروفرم تبخیر شود. سپس ۵۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شده و به شدت هم زده شد (به مدت ۳۰

آلکالوئید، فلاوونوئید، ساپونین^۳ و تانن^۴ می‌باشد [۱۳ و ۱۴]. هدف از این مطالعه، مقایسه فعالیت ضد اکسایشی چای سبز و هل در مقابل ضد اکساینده سنتزی BHT و بررسی برهم کش ضد اکسایشی بین این دو عصاره طبیعی و توانایی استفاده از عصاره‌های انفرادی و ترکیبی در جلوگیری از اکسایش روغن سویا است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد اولیه

برگ چای سبز از مزارع گیلان و هل از خراسان شمالی تهیه شد. نمونه‌ها پس از خشک شدن در دمای محیط (برای حفظ حداکثر ترکیبات فنلی) پودر شده و از الک با مش ۴۰ عبور داده شدند. عصاره اتانولی چای سبز پس از ۲۴ ساعت غوطه وری ۱۰ گرم پودر چای سبز در ۱۰۰ میلی لیتر اتانول ۹۵ درصد و در دمای محیط به دست آمد [۱]. عصاره دی کلرو متانی هل با نسبت ۲۰:۱ پودر هل به دی کلرو متان و به مدت ۵ ساعت در دستگاه سوسکسله و دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد استخراج شد [۱۵]. عصاره‌های حاصل پس از صاف شدن، توسط دستگاه تبخیر کننده چرخان تحت خلأ (V-855، ساخت شرکت Buchi، کشور سوئیس) تغلیظ شده و با دستگاه آون تحت خلأ خشک (400 VO، ساخت شرکت Memmert، کشور آلمان) شدند. نمونه‌های خشک شده تا زمان مصرف در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. روغن سویا بدون ضد اکساینده از کارخانه سه گل نیشابور تهیه شد.

۲-۲- آماده‌سازی عصاره‌ها

عصاره‌های چای سبز و ترکیب چای سبز و هل به روش ذیل آماده سازی شد.

عصاره چای سبز، هل و ضد اکساینده سنتزی BHT در غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم در میلی لیتر و عصاره‌های ترکیبی چای سبز و هل در حالات مختلف برای دستیابی به غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر آماده شد. نسبت‌های ترکیبی برای

1. Alkaloid
2. Flavonoid
3. Saponine
4. Tannin

5. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

درصد سینترژیسم طبق رابطه ۴ محاسبه شد [۲۲]. IP_C و IP_m به ترتیب دوره القاء روغن حاوی ترکیب آنتی اکسیدان ها و دوره القاء نمونه کنترل فاقد آنتی اکسیدان و IP_1 ، IP_2 دوره القاء روغن حاوی یک نوع آنتی اکسیدان است. مقادیر مثبت نشان دهنده اثر هم افزایی و مقادیر منفی نشان دهنده اثر آنتاگونیستی است.

$$Syn \% = \frac{(IP_m - IP_c) - (IP_1 - IP_c) - (IP_2 - IP_c)}{(IP_m - IP_c)} \quad (4)$$

۲-۸- آنالیز ترکیبات روغن توسط دستگاه گاز

کروماتوگرافی

برای تعیین پروفایل اسیدچربی روغن سویا از دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل Shimadzu-QP2010SE مجهز به ستون Rtx-5MS (طول ستون ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر، ضخامت فاز ثابت ۰/۲۵ میکرومتر) استفاده شد [۲۷].

۲-۹- فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره چای سبز

و هل در روغن سویا

تأثیر افزودن نمونه‌های انفرادی، ترکیبی و آنتی اکسیدان سنتزی BHT در جلوگیری از اکسیداسیون روغن سویا مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها به مدت ۲۰ روز جهت انجام (اکسیداسیون تسریع شده) در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. عدد پراکسید هر ۵ روز یکبار اندازه گیری شد [۲۳].

۲-۱۰- اندازه گیری عدد پراکسید در روغن سویا

جهت اندازه‌گیری محصولات اولیه اکسیداسیون روغن، دوره القاء به عنوان تعداد روزهای مورد نیاز برای رسیدن به ۲۰ میلی اکی والان اکسیدان بر کیلوگرم اندازه‌گیری شد [۲۴ و ۲۵].

۲-۱۱- فاکتور پایداری

ارزیابی فاکتور پایداری نمونه‌های آنتی اکسیدانی انفرادی و ترکیب آنها از رابطه ذیل محاسبه شد [۲۶].

$$\text{فاکتور پایداری} = \frac{\text{دوره القاء در حضور آنتی اکسیدان}}{\text{دوره القاء بدون حضور آنتی اکسیدان}}$$

۲-۱۲- تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ انجام شد و برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون

دقیقه). در هر لوله ۶ میلی لیتر از این مخلوط به ۵۰ میکرولیتر عصاره اضافه شد. سپس جذب در ۴۷۰ نانومتر (A_0) خوانده شد و لوله‌ها در حمام ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت جهت کاتالیز واکنش اکسیداسیون نگهداری شدند. پس از آن جذب در ۴۷۰ نانومتر خوانده شد (A_{120}). نمونه شاهد شامل ۶ میلی لیتر از مخلوط و ۵۰ میکرولیتر متانول بوده و جهت مقایسه از BHT به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. درصد فعالیت آنتی اکسیدانی^۱ عصاره‌ها توسط رابطه ۲ محاسبه شد.

$$\%AAI = 1 - \left(\frac{(A_0 - A_{120})_{sample}}{(A_0 - A_{120})_{control}} \right) \times 100$$

در روابط بالا A_0 و A_{120} به ترتیب، جذب نمونه‌ها در زمان شروع و بعد از گذشت ۱۲۰ دقیقه می‌باشند [۱۷].

۲-۵- قدرت احیاء کنندگی عصاره‌ها

اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها بر اساس توانایی احیاءکنندگی آهن^۲، FRAP انجام شد [۱۹]. داده‌ها بر اساس میلی‌مول یون فرس تولید شده بر گرم وزن عصاره بیان گردید.

۲-۶- اثر هم افزایی بین عصاره‌های هل و

چای سبز

برای مقایسه قدرت آنتی اکسیدانی عصاره‌های ترکیبی با عصاره‌های انفرادی، فاکتور SE^3 که از تقسیم مقادیر تجربی حاصل از آزمون‌ها بر مقادیر محاسبه شده برای ویژگی های آنتی اکسیدانی عصاره‌ها به دست می‌آید مورد بررسی قرار گرفت (رابطه ۳). مقادیر محاسبه شده به صورت میانگین فعالیت آنتی اکسیدانی دو عصاره در هر آزمون به دست آمد [۲۰]. مقادیر SE بیشتر از ۱ نشان دهنده اثر هم افزایی، مقادیر برابر با ۱ نشان دهنده اثر افزایشی و مقادیر کمتر از ۱ نشان دهنده اثر آنتاگونیستی است [۲۱].

(۳)

$$SE = \frac{\text{مقدار تجربی}}{\text{مقدار محاسبه شده}}$$

۲-۷- اثر هم افزایی در سیستم روغن

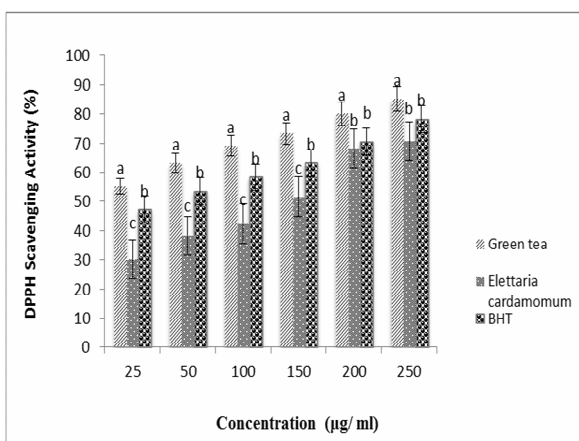
1. AAI%
2. Ferric reducing – antioxidant power
3. 2,4,6- tri[2-pyridyl]-s-triazin
4. Synergistic Effect

پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش فعالیت گلوکوتاتیون-S- ترانسفراز (Glutathion-s-transferase) به وسیله هل و دارچین در طی کارسینوژنیزس کولون که به صورت شیمیایی در موش‌های آلبینو ایجاد شده بود، نشان دادند که سوسپانسیون آبی هل و دارچین سبب افزایش سطح آنزیم دتوکسی فینگ (فعالیت گلوکوتاتیون-S- ترانسفراز) می‌شود و به طور هم‌زمان سبب کاهش سطوح پراکسیداسیون لیپیدی در گروه‌های تیمار شده با محلول‌های آبی هل و دارچین نسبت به گروه کنترل که کارسینوژن هستند، می‌شوند [۳۰]. نیر و همکاران (۱۹۹۸)، در راستای بررسی فلاوونوئیدها و فنولیک‌های آنتی‌اکسیدان در غذاهای متداول هند گزارش کردند که سطوح متوسطی (۱۰۰-۵۰ میلی‌گرم) از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در هل وجود دارد [۳۱]. هینه برگ و همکاران (۲۰۰۵)، در طی پژوهشی به منظور بررسی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های جدا شده از گیاهان پختنی و چاشنی‌ها، نشان دادند که در عصاره هل فنول وجود دارد و محتوای فنل تام نشانگر یک رابطه خوب با اغلب آنتی‌اکسیدان‌ها نظیر کاهش آهن و پراکسیداسیون لیپیدی است [۳۲].

۲-۳- اثر نوع و غلظت عصاره‌های انفرادی و

ترکیبی بر قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH

همان‌طور که در شکل ۲، مشاهده می‌شود، در کلیه غلظت‌های مورد مطالعه، قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH توسط چای سبز و BHT بالاتر از هل بود ($p < 0.05$). این نتایج با گزارش صادقی ماهونک (۲۰۱۴) مطابقت دارد، این محققان گزارش نمودند با افزایش غلظت عصاره‌های بلوط و رزماری، قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH افزایش می‌یابد و همچنین عملکردی بالاتری نسبت به BHT دارد [۳۳].



چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P < 0.05$) استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل عصاره-

های چای سبز و هل

همان‌گونه در شکل ۱، مشاهده می‌شود میزان فنل کل عصاره چای سبز در کلیه غلظت‌های مورد مطالعه به طور معنی‌داری بیشتر از میزان فنل کل عصاره هل بود. رنجبر ندامانی (۲۰۱۴) گزارش کردند که میزان فنل کل عصاره چای سبز به شکل معنی‌داری ($P < 0.05$) بیشتر از فنل کل عصاره رزماری بود [۲۷].

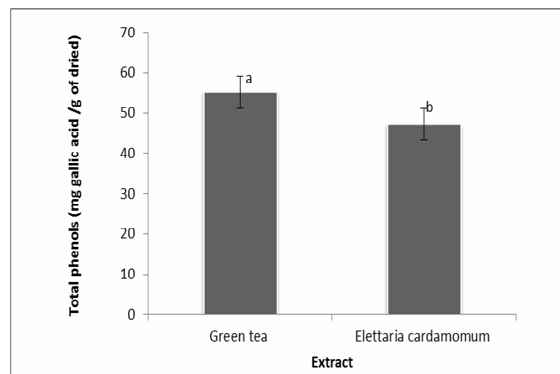


Fig 1 The effect of green tea and *Eleetteria cardamomum* extracts on the total phenolic (mg Gallic acid per gram of dry extract)

گرما و همکاران (۲۰۰۶) در پژوهشی مشابه از دو حلال اتانول و آب برای استخراج عصاره چای استفاده نموده و بیشترین میزان کاتچین استخراج شده را توسط اتانول گزارش نمودند [۱]. میراحمدی و همکاران (۱۳۸۴)، اثر پلی‌فنل‌های موجود در عصاره برگ سبز چای را در جلوگیری از اکسیداسیون روغن آفتابگردان بررسی نمودند. نتایج بررسی آن‌ها نشان داد که عصاره آبی استخراج شده از برگ سبز چای ایران دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی مشخصاً بیشتری نسبت به BHT، BHA و آلفا-توکوفرول در مورد روغن آفتابگردان می‌باشد [۲۸]. هان و همکاران (۲۰۱۱)، از عصاره چای سبز به عنوان مواد عملگر در تهیه پنیر استفاده نمودند. و مشاهده کردند که عصاره در جذب رادیکال آزاد تأثیر قابل ملاحظه‌ای داشته و بر ارزش تغذیه‌ای نیز افزوده است [۲۹]. باتا چارجی و همکاران (۲۰۰۷)، در مطالعه‌ای تحت عنوان مهار

الکترون عمل نموده می توانند واکنش های ناخواسته ایجاد شده توسط رادیکال های آزاد در بدن را خنثی کنند [۳۸]. جانسی و کاویراسان (۲۰۱۱)، بیان نمودند که با افزایش غلظت عصاره *T.gibbosa* مهارکنندگی رادیکال آزاد افزایش یافت [۳۹]. همانگونه که در جدول ۱، مشاهده می شود، پس از ترکیب عصاره های (چای سبز و هل)، در تمامی حالات ترکیبی، SE از ۱/۰۱ تا ۱/۶۳ تغییر کرد که نشان دهنده وجود اثر هم افزایی است. گیاهان مختلف دارای ترکیبات زیست فعال مختلف با فعالیت آنتی اکسیدانی متفاوت می باشد. زمانی که گیاهان با هم مخلوط می شود، ظرفیت آنتی اکسیدانی آنها بالاتر یا پایین تر از زمانی است که به تنهایی استفاده می شوند، که این بدلیل اثرات هم افزایی یا هم ستیزی بین ترکیبات آنها می باشند [۴۱ و ۴۲].

Fig 2 2-Di Phenyl- 1-Picryl Hydrazyl (DPPH) radical scavenging activities of green tea, *Elettaria cardamomum* extracts and butylated hydroxytoluene (BHT)

مهار رادیکال آزاد توسط عصاره چای سبز و هل به دلیل فعالیت هیدروژن دهنده ترکیبات آنتی اکسیدانی آنها می باشد [۳۴]. رابطه زیادی بین فعالیت مهار رادیکال آزاد رادیکال DPPH و مقدار فنل تام و فلاونوئیدهای موجود در عصاره ها وجود دارد [۳۵ و ۳۶]. اصولاً با افزایش ترکیبات فنلی، خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتر می شود. ترکیبات فنلی با وزن مولکولی زیاد (تانن ها) توانایی زیادی برای پاک سازی رادیکال های آزاد را دارند و این توانایی بیشتر به تعداد حلقه های آروماتیک و ماهیت گروه های جا به جا شونده هیدروکسیل بستگی دارد [۳۷]. ترکیبات فنلی به عنوان دهنده

Table 1 Experimental and theoretical scavenging capacity values of green tea/ *Elettaria cardamomum* extract at their different combinations.

| SE (%) | Scavenging capacity values (Experiment value) | Scavenging capacity values (Theoretical value) | Extract |
|-------------------|---|--|--|
| 1.63 ^a | 69.08±0.39 ^a | 42.7±0.20 ^b | green tea 25: <i>Elettaria cardamomum</i> 25 |
| 1.43 ^a | 72.8±0.73 ^a | 50.7±0.70 ^b | green tea 50: <i>Elettaria cardamomum</i> 50 |
| 1.49 ^a | 73.1±0.56 ^a | 48.8±0.51 ^b | green tea 50: <i>Elettaria cardamomum</i> 100 |
| 1.53 ^a | 82.48±0.71 ^a | 53.65±0.61 ^b | green tea 100: <i>Elettaria cardamomum</i> 50 |
| 1.01 ^b | 80.78±0.62 ^a | 79.9±0.78 ^a | green tea 150: <i>Elettaria cardamomum</i> 50 |
| 1.43 ^a | 80.01±0.60 ^a | 55.75±0.42 ^b | green tea 100: <i>Elettaria cardamomum</i> 100 |
| 1.25 ^b | 71.9±0.77 ^b | 57.4±0.60 ^b | green tea 50: <i>Elettaria cardamomum</i> 150 |
| 1.36 ^a | 80.47±0.79 ^b | 59.15±0.95 ^b | green tea 200: <i>Elettaria cardamomum</i> 50 |
| 1.32 ^a | 73.9±0.49 ^a | 55.6±0.51 ^b | green tea 50: <i>Elettaria cardamomum</i> 200 |

Values in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

عصاره های چای سبز به شکل معنی داری بهتر از عصاره های هل عمل نمودند ($P < 0.05$) (شکل ۴). در نتیجه عصاره چای سبز توانایی بازدارندگی پراکسیداسیون چربی ها را دارا می باشد. همچنین عصاره چای سبز خاصیت آنتی اکسیدانی خوبی با افزایش غلظت نشان داد. قادری قهفرخی و همکاران (۱۳۹۰)، چنین نتیجه گیری کردند که با افزایش غلظت عصاره های مختلف *Artemisia annu* میزان جذب محلول های حاوی عصاره به طور قابل ملاحظه ای افزایش یافت که نتیجه این تحقیق را تقویت می کند [۴۴]. در شکل ۳، عصاره های چای سبز (بجز در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) عملکرد بهتری از آنتی اکسیدان سنتزی BHT نشان داد ($P < 0.05$). نتایج نشان می دهد که عصاره چای سبز به دلیل داشتن ترکیبات پلی فنلی توانایی بیشتری در الکترون دهی داشته و می تواند به عنوان پایان دهنده زنجیره الکترون عمل

مکانیسم پیشنهاد شده برای اثرات هم افزایی مشاهده شده عبارت از انتقال الکترون از ترکیب دارای فعالیت آنتی اکسیدانی ضعیف تر به ترکیب دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قوی تر و در نتیجه احیاء مجدد ترکیب قوی تر که هیدروژن خود را به رادیکال آزاد محیطی داده و در نتیجه ادامه روند مهار رادیکال آزاد توسط این آنتی اکسیدان قوی تر می باشد. لازم به ذکر است که افزایش یا کاهش غلظت یک یا چند ترکیب ممکن است بر چنین برهم کنش هایی موثر بوده و فعالیت آنتی اکسیدانی را کاهش دهد [۴۳].

۳-۳- اثر نوع و غلظت عصاره های انفرادی و

ترکیبی بر خاصیت آنتی اکسیدانی

نتایج حاصل از مقایسه اندازه گیری خاصیت آنتی اکسیدانی از طریق مهار لینولئیک اسید، نشان داد که در تمامی غلظت ها

هل ۱۰۰) و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر (چای سبز ۵۰: هل ۲۰۰) و اثر هم‌افزایی معنی‌داری ($P < 0.05$) مشاهده گردید. میزان SE از ۰/۶۷ تا ۱/۹۷ تغییر کرد. راگو و همکاران (۲۰۱۱)، بیان نمودند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان مختلف متفاوت است و این تفاوت احتمالاً به دلیل تفاوت ساختاری ترکیبات فنلی، یا الگوی هیدروکسیلاسیون و متیلاسیون آنها می‌باشد. عصاره‌های گیاهی ممکن است حاوی سایر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند پروتئین‌ها، آسکوربات، بتاکاروتن، آلفا توکوفرول و غیره باشند که در افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل نقش دارند [۴۶]. هیدالگو و همکاران (۲۰۱۰)، در بررسی برهم‌کنش‌های ترکیبات فلاونوئیدی، بیان کردند که گرچه نتایج به دست آمده از آزمون‌های مختلف متفاوت بود، احتمالاً بتوان این تفاوت را با توجه به طبیعت شیمیایی و واکنش‌پذیری ترکیبات و طبیعت حلال‌ها توضیح داد. به طور کلی پتانسیل ضد اکسایشی هر ترکیب به ساختار شیمیایی آن وابسته است [۴۷].

نموده و رادیکال‌های آزاد فعال را به رادیکال‌های پایدار تبدیل نمایند [۴۵].

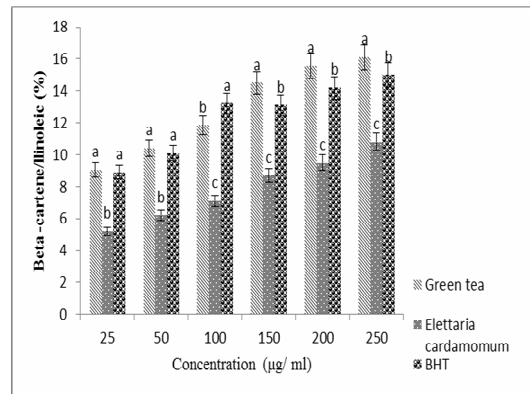


Fig 3 Beta-carotene /linoleic activities of extracts of green tea, *Elettaria cardamomum* and BHT.

همان‌گونه که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، از بین حالات مختلف مخلوط دو عصاره (چای سبز و هل) بجز در غلظت‌های ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر (چای سبز ۲۵: هل ۲۵)، ۱۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر (چای سبز ۱۰۰: هل ۵۰) و چای سبز ۵۰:

Table 2 Experimental and theoretical beta-carotene /linoleic activities values of green tea/ *Elettaria cardamomum* extracts at their different combinations.

| SE (%) | Beta-carotene /linoleic activities value (Experiment value) | Beta-carotene /linoleic activities value (Theoretical value) | Extract |
|-------------------|---|--|--|
| 0.94 ^b | 8.5±0.39 ^a | 7.63±0.52 ^a | green tea 25: <i>Elettaria cardamomum</i> 25 |
| 1.86 ^a | 15.5±0.73 ^a | 8.3±0.41 ^b | green tea 50: <i>Elettaria cardamomum</i> 50 |
| 0.67 ^b | 5.89±0.57 ^b | 8.75±0.68 ^a | green tea 50: <i>Elettaria cardamomum</i> 100 |
| 0.72 ^b | 6.5±0.70 ^b | 9.02±0.80 ^a | green tea 100: <i>Elettaria cardamomum</i> 50 |
| 1.03 ^b | 10.19±0.95 ^a | 9.85±0.60 ^a | green tea 150: <i>Elettaria cardamomum</i> 50 |
| 1.06 ^b | 18.66±0.63 ^a | 9.47±0.95 ^b | green tea 100: <i>Elettaria cardamomum</i> 100 |
| 1.97 ^a | 10.19±0.62 ^a | 9.55±0.85 ^b | green tea 50: <i>Elettaria cardamomum</i> 150 |
| 1.81 ^a | 18.9±0.45 ^a | 10.39±0.54 ^b | green tea 200: <i>Elettaria cardamomum</i> 50 |
| 0.70 ^b | 6.98±0.65 ^b | 9.5±0.60 ^a | green tea 50: <i>Elettaria cardamomum</i> 200 |

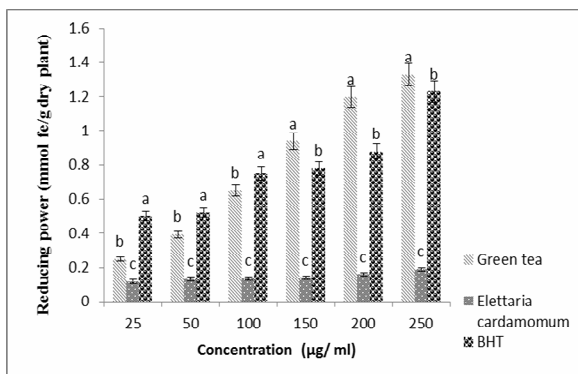
Values in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

به جز در غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، عملکرد بهتری نسبت به BHT نشان داده‌اند.

۳-۴- اثر نوع و غلظت عصاره بر قدرت

احیاء‌کنندگی

آزمون فعالیت آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن روشی است که به طور مستقیم آنتی‌اکسیدان‌ها و یا احیاءکننده‌ها را در نمونه‌ها اندازه‌گیری می‌کند و رابطه خطی با غلظت آنتی‌اکسیدان آن‌ها دارد [۴۸]. شکل ۶ نشان می‌دهد که در بین عصاره‌های مورد آزمون عصاره‌های چای سبز در تمامی غلظت‌ها، قدرت احیاء‌کنندگی بیشتری در مقایسه با عصاره‌های هل دارند ($P < 0.05$). همچنین عصاره‌های چای سبز در کلیه غلظت‌ها،



بجز در غلظت ۲۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر (چای سبز ۵۰: هل ۲۰) اثر هم افزایی معنی داری ($P < 0.05$) مشاهده گردید. میزان SE ۰/۷۶ تا ۲/۴۴ تغییر کرد.

Figure 4 Reducing power of extracts of green tea, *Elettaria cardamomum* and BHT.

همانگونه که در جدول ۳، مشاهده می شود، از بین حالت های مختلف ترکیب دو عصاره (چای سبز و هل)، در تمامی حالات

Table 3. Experimental and theoretical reducing power values of green tea/ *Elettaria cardamomum* extracts at their different combinations.

| SE (%) | Reducing power values (Experiment value) | Reducing power values (Theoretical value) | Extract |
|-------------------|---|--|--|
| 1.53 ^b | 0.447±0.65 ^a | 0.347±0.60 ^b | green tea 25: <i>Elettaria cardamomum</i> 25 |
| 1.51 ^b | 0.897±0.63 ^a | 0.762±0.71 ^b | green tea 50: <i>Elettaria cardamomum</i> 50 |
| 2.44 ^a | 0.642±0.87 ^a | 0.363±0.64 ^b | green tea 50: <i>Elettaria cardamomum</i> 100 |
| 1.05 ^b | 0.513±0.60 ^a | 0.492±0.82 ^b | green tea 100: <i>Elettaria cardamomum</i> 50 |
| 1.23 ^b | 1.663±0.54 ^a | 0.935±0.61 ^a | green tea 150: <i>Elettaria cardamomum</i> 50 |
| 1.45 ^b | 0.971±0.77 ^a | 0.793±0.68 ^a | green tea 100: <i>Elettaria cardamomum</i> 100 |
| 2.42 ^b | 0.942±0.51 ^a | 0.665±0.74 ^b | green tea 50: <i>Elettaria cardamomum</i> 150 |
| 1.50 ^b | 1.302±0.90 ^a | 0.966±0.60 ^b | green tea 200: <i>Elettaria cardamomum</i> 50 |
| 0.76 ^b | 0.723±0.43 ^a | 0.851±0.76 ^b | green tea 50: <i>Elettaria cardamomum</i> 200 |

Values in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

آزمون ها بررسی شود. نتایج تحقیقات صادق و همکاران (۱۳۹۴)، نشان داد که عصاره های ترکیبی چای سبز و بلوط در آزمون روغن، اثر هم ستیزی دارند، گرچه این عصاره ترکیبی با وجود بروز اثر هم ستیزی عملکرد بهتری نسبت به BHT نشان دادند [۴۹].

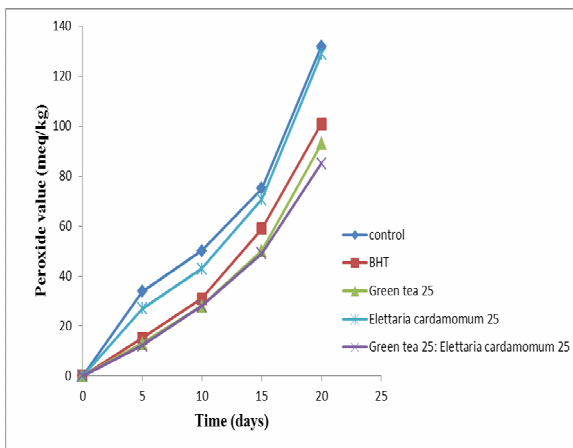


Fig 5 Peroxide values of samples containing different levels of antioxidants during their storage at 60 °C

قدرت آنتی اکسیدانی عصاره ها در این آزمون به ترتیب، چای سبز ۲۵: هل ۲۵ < چای سبز ۲۵ < BHT < هل ۲۵ نمونه شاهد بود (شکل ۵ و جدول ۴). رفتار متفاوت عصاره ها را پس از ترکیب و در آزمون های مختلف [۲۰ و ۵۰] می توان بر اساس

۳-۵- آنالیز ترکیبات روغن توسط دستگاه گاز

کروماتوگرافی

نتایج حاصل از کروماتوگرافی گازی نشان داد که پروفایل اسید چربی روغن سویا شامل پالمیتیک ۱۳/۳٪، استئاریک ۵/۳٪، اولئیک ۲۵/۲٪، لینولئیک ۴۷/۳٪، لینولنیک ۷/۲٪، میریستیک اسید ۰/۲، آراشیدیک اسید ۰/۲، گادولئیک اسید (۱: C₂₀) ۰/۲، بهنیک اسید (0: C₂₂) ۰/۵ است.

۳-۶- اندازه گیری عدد پراکسید در روغن

سویا

همان طور که در شکل ۵، مشاهده می شود عصاره ها، طی ۲۰ روز (هر ۵ روز یکبار) مانع از تولید محصولات اولیه حاصل از اکسیداسیون روغن سویا شدند. بیشترین اثر ممانعت کنندگی از تولید پراکسید توسط غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر (چای سبز ۲۵: هل ۲۵) بود؛ به طوریکه دوره القاء برای این نمونه ۸/۵ روز محاسبه شد (شکل ۵؛ جدول ۴). در مورد نمونه ترکیبی اثر هم افزایی مشاهده نشد، اما این عصاره های ترکیبی نیز بهتر از BHT عمل نمودند؛ در نتیجه می توان گفت قرار گرفتن عصاره ها در شرایط سیستم پیچیده روغن بر فعالیت و نوع برهم کنش آنها موثر بوده است و باید آزمون اندازه گیری قدرت عصاره های انفرادی و ترکیبی در جلوگیری از اکسیداسیون روغن به عنوان یک آزمون مجزا و در کنار سایر

۳-۷- فاکتور پایداری

فاکتور پایداری محاسبه شده برای تیمارهای انفرادی و ترکیبی در جدول ۴ آمده است. همانگونه که مشاهده می‌شود، بیشترین پایداری مربوط غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر (چای سبز ۲۵: هل ۲۵) بوده است.

مبانی شیمیایی، طبیعت و واکنش‌پذیری ترکیبات موجود در عصاره‌ها توجه نمود. ممکن است پلیمریزاسیون بین ترکیبات مجزا منجر به تغییر رفتار آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها شود [۴۹]. همچنین ساختار شیمیایی و شکل فضای مولکول‌ها در محیط بر عملکرد آنتی‌اکسیدان مؤثر است.

Table 4 Induction period of stability factor and the interaction of extracts.

| Interaction | Stability factor | Induction period | Extract |
|--------------|-------------------|------------------|--|
| | - | 2.5 ^d | Control |
| | 2.68 ^c | 6.7 ^b | BHT |
| | 3.2 ^b | 8 ^a | green tea 25 |
| | 1.56 ^d | 3.9 ^c | <i>Elettaria cardamomum</i> 25 |
| Antagonistic | 3.8 ^a | 8.5 ^a | green tea 25: <i>Elettaria cardamomum</i> 25 |

Values in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی و باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند، تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

۶- منابع

- [1] Gramza, A. 2006. Antioxidant activity of tea extracts in lipids and correlation with polyphenol content. *Europe Journal of Lipid Science and Technology*. 108: 351–362.
- [2] Sheng, Z.W., Ma, W.H., Gao, J.H., Bi, Y., Zhang, W.M., Duo, H.T. and Jin, Z.Q. 2011. Antioxidant properties of banana flower of two cultivars in China using 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH,) reducing power, 2, 2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate (ABTS) and inhibition of lipid peroxidation assays. *African Journal of Biotechnolog.* 10(21):4470-4477.
- [3] Yin, J.I.E., Becker, E., Andersen, M., and Skibsted, L. 2012. Green tea extract as food antioxidant. Synergism and antagonism with atocopherol in vegetable oils and their colloidal systems. *Food Chemistry*. 135: 2195–2202.
- [4] Kotikova, Z., Lachman, J., Hejmankova, A., and Hejtemkova, K. 2011. Determination of antioxidant activity and antioxidant content in tomatovarieties and evaluation of mutual interactions between antioxidants. *LWT. Food Science and Technology*. 44: 1703-1710.
- [5] Jain, D. P., Pancholi, H. S., and Patel, R. 2011. Synergistic antioxidant activity of green tea with some herbs. 2(3): 177-183.

۴- نتیجه گیری

در این مطالعه، ارتباط خوبی بین میزان ترکیبات فنلی و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد. به طوری که چای سبز با ترکیبات فنلی بیشتر، نتایج بهتری نسبت هل نشان داد. عصاره‌ی چای سبز در تمامی غلظت‌ها و در سه آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH، بتاکاروتن و قدرت احیاءکنندگی بهتر از BHT عمل کردند و در تمامی آزمون‌ها عصاره چای سبز برتر از عصاره هل بود. عصاره‌های ترکیبی در آزمون‌های مختلف رفتار متفاوتی را نشان دادند، به طوری که در آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH در تمامی حالات ترکیبی، اثر هم‌افزایی معنی‌داری ($P < 0/05$) مشاهده شد. در آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن- لینولئیک اسید در ۵ حالت و همچنین در آزمون قدرت احیاء کنندگی در ۸ حالت اثر هم‌افزایی معنی‌داری ($P < 0/05$) مشاهده گردید. اندازه‌گیری دوره القاء در آزمون پراکسید نشان دهنده اثر هم‌ستیزی در عصاره منتخب بود، گرچه عملکرد بهتری نسبت به BHT نشان دادند. نتایج این مطالعه نشان دهنده توانایی رقابت مناسب عصاره‌های مورد آزمون به عنوان جایگزین BHT برای جلوگیری از تولید پراکسید در روغن سویا بود.

۵- سپاسگزاری

- Activities of Aqueous, Methanolic and Alkaloid Extracts from *Mitragyna Speciosa* (Rubiaceae Family) Leaves. *Molecules*, 14, 3964-3974
- [19] Benzie, I.F.F., Strain, J.J. 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology*. 299: 15-27.
- [20] Queirós, B., Barreira, J. C. M., Cristina, S., and Ferreira, I. C. F. R. 2009. In search of synergistic effects in antioxidant capacity of combined edible mushrooms. *International Journal of Food Science and Nutrition*. 10: 1-13.
- [21] Fuhrman, B., Volkova, N., Rosenblat, M., Aviram, M. 2000. Lycopene synergistically inhibits LDL oxidation in combination with vitamin E, glabridin, Rosmarinic acid, carnosic acid, or garlic. *Antioxidant and Redox Signaling*. 2(3): 491-506.
- [22] Bishov, S.J., Masuoka, Y., and Kapsalis, J.G. 1977. Antioxidant effect of spices, herbs and protein hydrolyzates in freeze-dried model systems: synergistic action with synthetic phenolic antioxidants. *Journal of Food Processing and Preservation* 1: 153-166.
- [23] Azizkhani, M., Zandi, P. 2010. Effects of Some Natural Antioxidants Mixtures on Margarine Stability. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*. 47 (3): 251-257.
- [24] American Oil Chemists' Society. 2003. AOCS. Official method C-d 8-53. Peroxide value. In *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil*.
- [25] Economou, K.D., Oreopoulou, V., Thomopoulos, C. D. 1991. Antioxidant activity of some plant extracts of the family Labiatae. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 68: 109-113.
- [26] Yanishlieva, N. V., and Marinova, E. M. 1996. Antioxidative effectiveness of some natural antioxidants in sun flower oil. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* 203: 220-223.
- [27] Ranjbar Nedamani, E., Sadeghi Mahoonak, A. R., Ghorbani, M., Kashaninejad, M. 2014. Antioxidant interactions in green tea and Rosemary extracts combination. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 10 (3), 232-240.
- [28] Mir-Ahmadi, F., Fatemi, H., Sahari, M. A. 2006. Effect of green Tea extract on the
- [6] Wang, S., Meckling, K. A., Marcone, M. F., Kakuda, Y., and Tsao R. 2011. Synergistic, additive, and antagonistic effects of food mixtures on total antioxidant capacities. *Journal of Agriculture and food Chemistry*. 59(3), 960-968
- [7] Pin-Der-Duh, X. 1998. Antioxidant activity of burdock (*Arctium lappa* Linne): Its scavenging effect on free-radical and active oxygen. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 75, 455-461.
- [8] Gordon, M. H. 1990. The mechanism of antioxidant action in vitro. In B. J. F. Hudson (Ed.), *Food antioxidants*. 1-18.
- [9] Shisuoka, S. 1986. Process for the production of tea catechins, US patent 4.613.672.
- [10] Harbowy, M., Balentin., D. 1997. Tea chemistry. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 16 (5): 415-480.
- [11] Nurulain T.Z. 2006. Green tea and its polyphenolic catechins: medical uses in cancer and non- cancer applications. *Journal Life Science*.78: 2073-2080.
- [12] Ağaoğlu, S., Dostbil, N., Alemdar S. 2005. Antimicrobial Effect of Seed Extract of Cardamom (*Elettaria cardamomum Maton*). *Van Veterinary Journal*. 16, 99-1011.
- [13] Nadkarni K, Nadkarni M, 1976. *Indian Materia Medi.ca*. 3rd ed. Bombay: popular prakasham, 475-76.
- [14] Khan, N.A., Rahman, S.Z. 1992. The screening of Majoon-e-Azaraqi for cardiovascular and peripheral activity. *Hamdard Medicus*, 35: 102-109.
- [15] Tavassoli, S., Emam Jomeh, Z. 2011. Total Phenols, Antioxidant Potential and Antimicrobial Activity of Methanol Extract of Rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*). *Global Veterinaria*.7 (4), 337-341.
- [16] Morelli, L.L.L., Marcelo, A.P. 2012. Extraction optimization for antioxidant phenolic compounds in red grape jam using ultrasound with a response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*,19:1144-1149.
- [17] Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M., Hamdi, M., 2007. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera L.* and *Juniperus phoenicea L.* fruit extracts. *Food chemistry*, 105 (3), 1126- 1134.
- [18] Parthasarathy, S., Azizi, J., Ramanathan, S., Ismail, S., Sasidharan, S., Ikram Mohd Said, M., Mahsufi Mansor, S. 2009. Evaluation of Antioxidant and Antibacterial

- green tea on enzymes of carbohydrate metabolism' antioxidant defense' and plasma membrane in rat tissues. *Nutrition*, 23(9): 687-95.
- [41] Cooper, R., Morre, D.J., Morre, D.M. 2005. Medicinal benefits of green tea: Part I. Review of noncancer health benefits. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 11: 521-528.
- [42] Das, S.K., Vasudevan, D.M. 2001. Tulsi: The Indian holy power plant. *Nat Prod Rad. Natural Product Radiance*, 5: 279-283.
- [43] Young, A.J., Lowe, G.M. 2001. Antioxidants and prooxidants properties of carotenoids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 385: 20-27.
- [44] Ghaderi Ghahfarokhi, M., Mamashloo, S., Sadeghi Mahoonak, A.R., Alami, M. 2011. Evaluation of antioxidant activity, reducing power and free radical scavenging of different extract of *Artemisia annua* L. *Journal on plant science Researches*. 21(6), 1
- [45] Damien Dorman, H.J., Koşar, M., Kahlos, K., Holm, Y., Hiltunen, R. 2003. Antioxidant Properties and Composition of Aqueous Extracts from *Mentha* Species, Hybrids, Varieties, and Cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 51 (16): 4563 – 9.
- [46] Raghu, K.L., Ramesh, C. K., Srinivasa, T. R., Jamuna, K. S. 2011. Total Antioxidant Capacity in Aqueous Extracts of Some Common Vegetables. *Society of Applied Sciences*. 2(1): 58-62.
- [47] Hidalgo, M., Sanchez-Moreno, C., and Pascal-Teresa, S. 2010. Flavonoid-flavonoid interaction and its effect on their antioxidant activity. *Food Chemistry*. 121: 691-696
- [48] Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53 (8): 3101-3113.
- [49] Ranjbar Nedamani, E., Sadeghi Mahoonak, A.R., Ghorbani, M., Kashaninejad, M. 2015. Antioxidant interactions in green tea and oak extracts combination. *Journal of Food Science and Technology*. 49 (12): 123-132.
- [50] Viera, V., Marques, A., Barros, L., Barriera, J., Ferreira, I. 2012. Insights in the antioxidant synergistic effects of combined edible mushrooms: phenolic and polysaccharidic extracts of *Boletus edulis* and *Marasmius oreades*. *Journal of Food and Nutrition Research*. 51(2), 109-116.
- inhibition of sunflower oil oxidation. *International Journal of Food Science and Technology*. 2 (4): 61-70.
- [29] Han, H., Britten, M., St- Gelais, D., champagne, C., Fustier, P., Salmieri, S., Lacroix, M. 2011. Polyphenolic compounds as functional ingredients in cheese. *Food chemistry*, 124, 1589- 1594.
- [30] Bhattacharjee, S., Rana, T., Sengupta, A. 2007. Inhibition of lipid peroxidation and enhancement of GST activity by Cardamom and Cinnamon during chemically induced colon carcinogenesis in swiss albino mice. *Asian Pacific journal of cancer prevention*, 8(4):578-82.
- [31] Nair, S., Nagar, R., Gupta, R. 1998. Antioxidant phenolics and flavonoids indian foods. *Assoc Physicians India*. 46(8): 708-10.
- [32] Hinneburg, I., Damien Dorman, H.j., Hiltunen, R. 2006. Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chem.* 97 (1):122-129.
- [33] Ranjbar Nedamani, E., Sadeghi Mahoonak, A., Ghorbani, M., Kashaninejad, M. 2014. Antioxidant Properties of Individual vs. Combined Extracts of Rosemary Leaves and Oak Fruit. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 16: 1575-1586.
- [34] Bidchol, A. M., Wilfred, A., Abhijna, P., Harris R. 2011. Free Radical Scavenging Activity of Aqueous and Ethanolic Extract of *Brassica oleracea* L. var. *italica*. *Food Bioprocess Technology*. 4, 1137-1143.
- [35] Kumar, V., Cotron, R.S. and Robbins, S.R. 1992. *Basic Pathology*. 5th ed. pp. 5-10, 38. Philadelphia: Saunders, W.B.
- [36] Cheung, S., TAI, J. 2007. Anti-proliferative and antioxidant properties of rosemary *Rosmarinus officinalis*. *Oncology reports*. 17 (6): 1525 - 31.
- [37] Rajesh, M., Nagarajan, A., Perumal, S., Sellamuthu, M. 2008. The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of *Camellia sinensis*, *Ficus bengalensis* and *Ficus racemosa*. *Food Chemistry*. 107:1000-1007.
- [38] Lagouri, V., Boskou, D. 1996. Nutrient antioxidants in origano. *Int J Food Sci Nutr*. 47:493-497.
- [39] Johnsy, G., Kaviyarasan, V. 2011. Antimicrobial and Antioxidant Properties of *Trametes gibbosa*. *Journal of pharmacy research*. 4(11): 3939-3942.
- [40] Sara Anees, S.K., Shubha, P., Natarajan, A., Sheeba, K., Ahad, N. 2007. Influence of

Investigation of the synergistic and antagonistic properties of green tea and *Elettaria cardamomum* extracts

Arianfar, A.^{1*}, Sardarodiyani, M.¹

1. Young Researchers and Elite Club, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran
(Received: 2016/06/12 Accepted: 2017/02/27)

Nowadays the use of new and safe antioxidant from plant, animal and microbial resources is increasing. The aim of this study was to investigate and compare the antioxidant properties and types of interaction (synergism and antagonism) of green tea and the *Elettaria cardamomum* extracts. Green tea and cardamom extract and BHT were prepared in 25,50, 100,150, 200 and 250 µg/ml and combined extract in different combination to reach 50,100,150, 200 and 250 µg/ml were prepared in different ratios (1:1, 2:1, 1:2, 1:3,3:1 , 2:2, 1:4 and 4:1). In this study, phenolic compound was evaluated by Folin-Ciocalteu's method. Their antioxidant activity was measured by four methods: DPPH free radical scavenging, FRAP assay, beta-carotene /linoleic and ability to prevent the oxidation of soybean oil. BHT was used as positive control for comparison. The results of the tests showed that, antioxidant properties of green tea extract was significantly more than from *Elettaria cardamomum* extract and BHT(P<0.05). In different ratio of combined extracts, free radical scavenging DPPH assay in all ratio, FRAP test in 8 ratio and beta-carotene-linoleic acid test in 5 ratios showed synergistic effect. In the peroxide value assay, the chosen combination showed antagonism, although it was significantly (p<0.05) more effective than BHT in soybean oil stability.

Key words: Green tea, *Elettaria cardamomum*, Antioxidant, Synergistic and Antagonistic effects.

* Corresponding Author E-Mail Address: a_aria_1443@yahoo.com