

مطالعه و مقایسه فعالیت مهارکنندگی و ضداکسایشی عصاره‌های متانولی-آبی بذر زیره سیاه، گشنیز و شوید

متین سلیمانی فر^۱، راضیه نیازمند^{۲*}، مصطفی شهیدی نوقابی^۲

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، ایران

۲- استادیار گروه شیمی مواد غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۲/۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۰/۸)

چکیده

گیاهان دارویی منابع طبیعی باارزشی هستند که به دلیل وجود ترکیبات موثره در جوامع امروزی مورد توجه قرار گرفته‌اند. زیره سیاه، گشنیز و شوید از جمله این منابع می‌باشند که دارای خواص درمانی و دارویی زیادی هستند. هدف از این پژوهش ارزیابی فعالیت ضداکسایشی عصاره متانولی-آبی بذرهای زیره سیاه، گشنیز و شوید در مقایسه با BHT می‌باشد. برای تهیه عصاره متانولی-آبی، بذرهای مذکور به نسبت ۴:۱ وزنی/حجمی با حلال متانول-آب (۲۰:۸۰ حجمی/حجمی) مخلوط شد. میزان ترکیبات فنلی کل عصاره‌های فوق با استفاده از روش فولین سیوکالتو تعیین شد. فعالیت ضد رادیکالی و مهارکنندگی آن‌ها با روش DPPH اندازه‌گیری و با ضداکساینده سنتزی BHT مقایسه شد. فعالیت ضداکسایشی عصاره‌های فوق در روغن سویا با اندازه‌گیری اعداد پراکسید و تیوباریتوریک اسید (آزمون گرمخانه‌گذاری در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد) تعیین و در سطح غلظتی ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با BHT مقایسه شد. مقدار ترکیبات فنلی در عصاره متانولی-آبی زیره سیاه، گشنیز و شوید به ترتیب ۹۵۵/۷۷، ۸۹۰/۶۲ و ۹۲۳/۱۶ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره بود. بیشترین مقدار IC_{50} به عصاره متانولی-آبی زیره سیاه (۱۰۴/۷۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مربوط بود که حاکی از بیشتر بودن فعالیت ضد رادیکالی آن نسبت به عصاره‌های گشنیز و شوید بود. در آزمون گرمخانه‌گذاری عصاره متانولی-آبی زیره سیاه بیشترین فعالیت ضداکسایشی را نشان داد و در سطح غلظتی ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر معادل با BHT در سطح غلظتی ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عمل کرد. عصاره‌های متانولی-آبی بذرهای فوق به عنوان ضداکساینده‌های طبیعی، توانایی مهار رادیکال‌های حاصل از اکسایش لیپیدها را داشته و موجب کاهش سرعت اکسایش خود به خودی می‌شوند.

کلید واژگان: ضداکساینده، گیاهان داوربی، عصاره متانولی-آبی، ترکیبات فنلی کل

* مسئول مکاتبات: raziehni88@gmail.com

۱- مقدمه

رادیکال‌های آزاد، اتم‌ها یا مولکول‌های با الکترون جفت نشده هستند که به مولکول‌های زیستی بدن آسیب وارد کرده [۱] و باعث بروز بیماری‌های زیادی از جمله سرطان، پیری زودرس و تصلب شرایین می‌شوند [۲ و ۳]. بخش مهمی از این ترکیبات در اثر اکسایش مواد غذایی تولید شده و باعث به خطر انداختن سلامت مصرف کننده، کاهش کیفیت تغذیه‌ای و ایجاد طعم و بوی نامطبوع در مواد غذایی می‌شوند [۴]. یکی از راه‌های جلوگیری از اکسایش لیپیدها و یا حفاظت در برابر آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد، استفاده از ضداکساینده‌ها است. ضداکساینده‌ها ترکیباتی هستند که با جذب رادیکال آزاد و در نتیجه ممانعت از اکسایش، فساد، تغییر رنگ و یا تند شدن چربی‌ها جلوگیری می‌کنند و نقش مهمی در پیشگیری از اکسایش چربی‌ها دارند [۵]. در بسیاری از کشورها، به منظور تأخیر یا جلوگیری از تخریب اکسیداتیو این محصولات، ضداکساینده‌های سنتزی نظیر بوتیلات هیدروکسی آنیزول، بوتیلات هیدروکسی تولوئن و ترت بوتیل هیدروکینون، کاربرد گسترده‌ای به عنوان افزودنی‌های غذایی دارند. ضداکساینده‌های سنتزی ارزان و در دسترس بوده و به دلیل ثبات و کارایی بالا مورد توجه قرار گرفته‌اند. در سال‌های اخیر استفاده از ضداکساینده‌های سنتزی، همانند سایر افزودنی‌های شیمیایی، به دلیل سمیت احتمالی و سرطان‌زایی آن‌ها، محدود شده است [۶].

ترکیبات فنلی گروه بزرگی از مواد طبیعی گیاهی شامل فلاونوئیدها، تانن‌ها و آنتوسیانین‌ها و غیره می‌باشند که معمولاً در میوه‌ها، سبزیجات، برگ‌ها، آجیل‌ها، دانه‌ها، ریشه و سایر قسمت‌های گیاه دیده می‌شوند. این مواد منافع قابل توجهی در زمینه مواد غذایی، شیمی، داروسازی و پزشکی دارند همچنین با توجه به طیف گسترده‌ای از اثرات مطلوب زیستی از جمله خواص ضداکساینده در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند [۷].

ترکیبات فنلی با داشتن خاصیت ضداکسایشی و ضد رادیکالی می‌توانند نقش مهمی در نگهداری محصولات

غذایی و حفظ سلامتی انسان ایفا نمایند. امروزه ضداکساینده‌های طبیعی که از گیاهان و ادویه‌جات به دست می‌آید به منظور خواص ضداکسایشی آن‌ها به طور گسترده-ای مورد ارزیابی قرار می‌گیرند [۸].

امروزه از ترکیبات فنلی موجود در گیاهان به عنوان یکی از بهترین منابع ضداکسایشی طبیعی نام می‌برند. این ترکیبات به طور گسترده در گیاهان وجود داشته و علاوه بر افزایش کیفیت غذایی، از عوامل ایجاد رنگ، طعم و مزه در بسیاری از گیاهان می‌باشند [۹ و ۱۰].

زیره سیاه گیاه چندساله از خانواده‌ی چتریان است. زیستگاه طبیعی این گیاه در سطح جهان، آسیای مرکزی، غربی، اروپای جنوب شرقی و در گستره‌ی ایران، استان‌های تهران، قزوین، کرمان، خراسان، بندر عباس، اصفهان، فارس، سمنان و یزد است [۱۱]. همچنین در شمال هند، هیمالیا، بلوچستان، پنجاب و کشمیر کشت می‌شود. برای محصول تابستان دانه‌ها در اوایل ماه اردیبهشت کاشته می‌شود [۱۲]. زیره‌ی سیاه حدود ۲ تا ۴/۵ درصد روغن فرار و ۱۰ درصد روغن ثابت همراه با تانن، الئورزین، صمغ و ترکیبات پروتئینی دارد. بوی مطبوع زیره به دلیل حضور اسانس است [۱۳]. مطالعات بر روی ترکیبات شیمیایی روغن زیره نشان داده است که این روغن حاوی، آلفا پینن (۰/۵ درصد)، میرسن (۰/۳ درصد)، لیمونن (۰/۵ درصد)، سینئول (۰/۲ درصد) و کومین آلدهید (۳۲/۴ درصد) است [۱۲]. امروزه از دانه‌های زیره‌ی سیاه به عنوان طعم دهنده نان، پنیر، شیرینی‌ها، فراورده‌های گوشتی، سس‌ها و نوشابه‌ها استفاده می‌کنند. همچنین کاروون موجود در اسانس این گیاه معطر در وسایل آرایشی و بهداشتی، خمیر دندان، آدامس و داروسازی کاربرد دارد [۱۴]. اسانس زیره‌ی سیاه خاصیت ضد اکسایشی داشته و در طعم دهنده‌های غذا، نوشابه، شکلات و پنیر استفاده می‌شود. همچنین در بعضی مناطق آن را به صورت ادویه، چاشنی غذا و حتی در بعضی از مناطق هندوستان از ریشه آن به عنوان سبزی استفاده می‌کنند [۱۱]. استخراج روغن از دانه‌های زیره سیاه نشان داد که

قوی‌تر بودن فعالیت ضداکسایشی عصاره‌ی بذر نسبت به اسانس آن، حضور بیشتر دو ترکیب فنلی آنتول و دی‌لاپپول است [۱۷].

تاصف سلطان و همکارانش در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که زیره سیاه حاوی ۴۶ درصد منوترین نظیر پی-سیمن و آلفا-پینن می‌باشد که نقش حائز اهمیتی در فعالیت ضداکسایشی روغن و عصاره‌های استخراجی از این گیاه دارد [۱۸]. شهنساری و همکاران در سال ۲۰۰۸ فعالیت ضداکسایشی اسانس زیره کوهی و آویشن شیرازی را در روغن سویا مورد بررسی قرار دادند. اسانس زیره کوهی و آویشن شیرازی به ترتیب در غلظت‌های ۰/۰۶ و ۰/۱ درصد، دارای اثر ضداکسایشی معادل ضداکساینده سنتزی BHA در غلظت ۰/۰۲ درصد در روغن سویا بودند [۱۹]. عیوقی و همکارانش در سال ۲۰۰۹ به بررسی فعالیت ضداکسایشی اسانس شوید در روغن سویا و مقایسه آن با ضداکساینده-های شیمیایی پرداختند. نتایج نشان دهنده‌ی تصدیق فعالیت ضداکسایشی اسانس شوید به دلیل حضور مقادیر بالای ترکیبات اکسیژن دار و ترکیبات فنلی بود [۱۷]. نارسینگا در سال ۲۰۰۳ میزان اسید آسکوربیک در گشنیز ۱۳۵ میلی‌گرم در صد گرم گزارش داد که با توجه به خاصیت ضداکسایشی اسیدآسکوربیک می‌توان از این گیاه به عنوان یک منبع طبیعی جهت مهار ردیکال‌های آزاد نام برد [۱۶].

اخیرا با پی بردن به سمیت و سرطان زایی بسیاری از ضداکساینده‌های سنتزی توجه محققان به شناسایی ضداکساینده‌های گرفته شده از منابع طبیعی معطوف شده است. از زمانی که میزان فعالیت ضداکسایشی ترکیبات عصاره‌های طبیعی توسط طیف وسیعی از روش‌ها شناسایی شده‌اند، این مسأله که کدام یک از این ضداکساینده‌های طبیعی دارای بازده بیشتری هستند، مطرح شده است [۲۰]. زیره سیاه، گشنیز و شوید سال‌هاست که در نقاط مختلف جهان به عنوان گیاهان دارویی مهم استفاده می‌شوند. مطالعاتی که تا کنون بر روی این گیاهان انجام شده بیشتر به بررسی توان ضداکسایشی اسانس آن‌ها پرداخته‌اند از جمله بررسی ترکیبات مؤثر و خواص ضداکسایشی اسانس گیاه دارویی زیره سیاه استان یزد و بررسی فعالیت ضداکسایشی

حاوی ۱/۷۰ تا ۴/۱۲ میلی‌گرم در صد گرم آلفا-توکوفرول، ۰/۹۷ تا ۴/۵۱ میلی‌گرم در صد گرم گاما-توکوفرول و ۴/۹۰ تا ۱۷/۹۱ میلی‌گرم در صد گرم بتا-توکوفرول می‌باشد [۱۵]. گشنیز^۲ گیاهی علفی، بی‌کرک، به ارتفاع ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متر و با طول دوره رشد ۱۰۰ تا ۱۲۰ روز است که در بسیاری از کشورها به عنوان گیاهی بهاره و در برخی کشورهای مدیترانه و جنوب شرقی آسیا به عنوان گیاهی زمستانه کشت می‌شود [۱۲]. دانه گشنیز حاوی ۰/۰۳ تا ۲/۶ درصد روغن فرار و ۹/۹ تا ۲۷/۷ درصد اسید چرب می‌باشد [۱۲]. برگ-های گشنیز حاوی مقدار زیادی توکوفرول می‌باشد که مقدار آلفا-توکوفرول آن (۶۱۰ تا ۷۵۰ میکروگرم در صد گرم) در مقایسه با انواع دیگر توکوفرول بیشتر است همچنین میزان بتا-کاروتن در برگ‌های گشنیز ۶۹۱۸ میکروگرم در صد گرم گزارش شده است که این مقدار می‌تواند نقش حائز اهمیتی در ممانعت از اکسایش لیپیدی داشته باشد [۱۶]. شوید^۳ برای اولین بار در فلسطین کشت شد و احتمالا از رم باستان به سایر کشورها منتقل گردیده است. این گیاه یک ساله به ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر تا یک‌متر و دارای ریشه، مخروطی شکل و به رنگ سفید است [۱۳]. انتشار جغرافیایی آن در ایران، به صورت طبیعی، در نواحی مختلف مانند صائین قلعه، تبریز، خراسان و تفرش ذکر شده است [۱۷]. ترکیبات شیمیایی روغن دانه‌ی شوید که با استفاده از حلال استخراج شده‌اند شامل لیمونن (۰/۴۴ درصد)، دی متیل استیرن (۰/۲ درصد)، کاروون (۵۱/۵ درصد) و می‌باشند [۱۲]. خواص بیولوژیکی متعددی نظیر اشتها آوری، ضد نفخ، ضد یرقان، کاهنده کلسترول تام، LDL و تری گلیسرید، افزایشنده HDL، ضد سرطان و ضداکسایش در موش‌های آزمایشگاهی مشاهده شده است. مواد مؤثره اسانس شوید از جمله دو ترکیب عمده کاروون و لیمونن، احتمالا دارای اثرات ضداکسایشی بوده و سبب تثبیت غشاء سلول‌های کبدی و کاهش آزادسازی آنزیم به خون می‌شوند [۱۷]. بررسی ویژگی‌های ضداکسایشی اسانس و عصاره‌ی بذر شوید هندی نشان داد که علت

2. Coriander
3. Dill

انجام آزمون‌های مورد نظر در فریزر (۱۸- درجه‌ی سانتیگراد) نگهداری شد [۲۲].

۳-۲- اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل

مقدار کل ترکیبات فنلی با استفاده از روش فولین سیوکالچو اندازه‌گیری شد. بدین منظور به ۵/۰ گرم عصاره‌ی متانولی-آبی خشک شده زیره‌ی سیاه، گشنیز و شوید، ۷/۵ گرم حلال متانول-آب (به نسبت ۸۰:۲۰ حجمی/حجمی) اضافه و مخلوط شد. مخلوط حاصل به بالن ژوژه ۵۰ میلی‌لیتری انتقال داده شده و به ترتیب ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین (به نسبت ۱ به ۱۰ رقیق شده با آب مقطر) و ۵ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد به آن افزوده شده و با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از نگهداری بالن ژوژه در طول شب جذب، محلول حاصل در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. جهت رسم منحنی استاندارد، از اسید گالیک استفاده شد. مقدار کل ترکیبات فنلی موجود در عصاره متانولی-آبی زیره‌ی سیاه، گشنیز و شوید بر حسب معادل اسید گالیک و با استفاده از معادله به دست آمده از منحنی استاندارد محاسبه و نتایج برحسب میلی‌گرم اسید گالیک در هر کیلوگرم عصاره پودر شده متانولی-آبی زیره‌ی سیاه، گشنیز و شوید بیان شد [۲۳].

۴-۲- اندازه‌گیری قدرت مهارکنندگی رادیکال

^۴DPPH

اثر ضداکسایشی عصاره‌ی متانولی-آبی زیره‌ی سیاه، گشنیز و شوید با استفاده از روش اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی^۵ (RSC) به کمک ۲ و ۲ دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه‌ها با غلظت‌های ۵۰، ۸۰، ۱۱۰، ۱۴۰، ۱۷۰، ۲۰۰ و ۲۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای عصاره‌های متانولی-آبی زیره‌ی سیاه، گشنیز، شوید و با غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ میلی-گرم بر میلی‌لیتر برای ضداکساینده BHT تهیه و با یک میلی‌لیتر محلول ۵۰۰ میکرومولار DPPH مخلوط شد و به

اسانس شوید در روغن سویا و مقایسه آن با ضداکساینده-های شیمیایی [۱۱ و ۱۷] اما تحقیقات در زمینه ویژگی‌های شیمیایی عصاره‌های این گیاهان محدود بوده است. بررسی منابع متعدد نشان دهنده بیشتر بودن فعالیت ضداکسایشی عصاره در مقایسه با اسانس است [۲۱]. با توجه به عدم مطالعه جامع و همزمان در زمینه فعالیت ضداکسایشی عصاره متانولی-آبی این گیاهان در تحقیق حاضر، ترکیبات فنلی موجود در عصاره متانولی-آبی بذره‌های زیره سیاه، گشنیز و شوید استخراج گردید و قدرت ضداکسایشی آن‌ها با ضداکساینده سنتزی بوتیلات هیدروکسی تولوئن در روغن سویا مقایسه شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد گیاهی و شیمیایی

بذره‌های زیره سیاه، گشنیز و شوید به ترتیب از کرمان، ورامین و شهر ری و روغن تصفیه شده بدون ضداکساینده از شرکت آلیا صنعت شهرستان کردکوی در استان گلستان تهیه گردیدند. بذرها توسط آسیاب پودر و از الک با مش ۴۰ عبور داده شد و تا قبل از استخراج در فریزر (۱۸- درجه‌ی سانتیگراد) نگهداری شدند [۲۲]. تمام مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش از جمله فولین سیوکالچو، ۲ و ۲ دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل و بوتیلات هیدروکسی تولوئن از شرکت‌های مرک آلمان و سیگما آلدريج آمریکا تهیه شدند.

۲-۲- استخراج عصاره

بذره‌های پودر شده‌ی زیره سیاه، گشنیز و شوید به نسبت ۴:۱ وزنی/حجمی با حلال متانول-آب (۸۰:۲۰ حجمی/حجمی) مخلوط شده و به مدت ۲۸ ساعت در دمای محیط و در تاریکی همزده شد. سپس مخلوط صاف شده و حلال مورد استفاده در دمای ۴۰ درجه‌ی سانتیگراد و در آون تحت خلاء متعلق به شرکت ممرت آلمان با فشار ۳۵۰ میلی بار تبخیر گردید. عصاره‌ی تهیه شده تا زمان

4. 2,2 Di-Phenyl- 1 – Picryl – Hydrazyl (DPPH)

5. Radical Scavening Capacity

اندازه‌گیری‌های تکرار شده در زمان و در سطح احتمال پنج درصد ($P < 0.05$) مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($P < 0.05$) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS و رسم نمودارها با نرم افزار EXCEL انجام گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مقدار کل ترکیبات فنلی

شکل ۱ مقدار ترکیبات فنلی موجود در عصاره‌های متانولی-آبی بذر زیره سیاه، گشنیز و شوید را نشان می‌دهد. مقایسه میانگین نتایج حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار بین میزان ترکیبات فنلی عصاره‌ی متانولی-آبی بذر زیره سیاه، گشنیز و شوید بود ($P < 0.05$). عصاره‌هایی که حاوی مقادیر بیشتری از ترکیبات فنلی می‌باشند، در غلظت‌های پایین توانایی بیشتری در مهار رادیکال‌های آزاد از خود نشان می‌دهند. در حال حاضر ترکیبات فنلی به سبب تاثیر مفید بر ایمنی بدن و نیز کاربردهای صنعتی بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند [۲۸]. بررسی‌ها نشان داده است این ترکیبات طبیعی نقش بسزایی در پایداری و ویژگی‌های حسی و تغذیه‌ای فراورده‌ها دارند. علاوه بر این واکنش‌های زنجیره‌ای اکسایش لیپیدی را نیز به تأخیر می‌اندازند [۲۹]. ترکیبات فنلی از جمله ترکیبات حیاتی به شمار می‌روند که دارای آثار سودمندی از جمله غلبه بر بیماری‌های ناشی از تشکیل مقادیر بیش از حد رادیکال اکسیژن در بدن انسان می‌باشند. بعلاوه قدرت ضداکسایشی این ترکیبات در مواد غذایی همواره مورد توجه متخصصان و دست اندر کاران امر بوده است [۳۰]. بیشترین مقدار ترکیبات فنلی به عصاره‌ی متانولی-آبی بذر زیره سیاه (۹۵۵/۷۷ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره) و کمترین آن به عصاره‌ی متانولی-آبی بذر گشنیز (۸۹۰/۶۲ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره) مربوط بود.

وسیله‌ی متانول ۹۶ درصد به حجم ۱۲ میلی‌لیتر رسید. سپس برای مدت زمان ۳۰ دقیقه در تاریکی تکان داده شد. جذب محلول‌های حاصله و شاهد (حاوی مواد مشابه به جز نمونه) بعد از این مدت زمان، در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نوری خوانده شد. درصد RSC از فرمول زیر محاسبه گردید [۲۴]:

$$\%RSC = 100 \times \left(\frac{A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}}}{A_{\text{blank}}} \right)$$

که A_{sample} و A_{blank} به ترتیب جذب شاهد و نمونه می‌باشند.

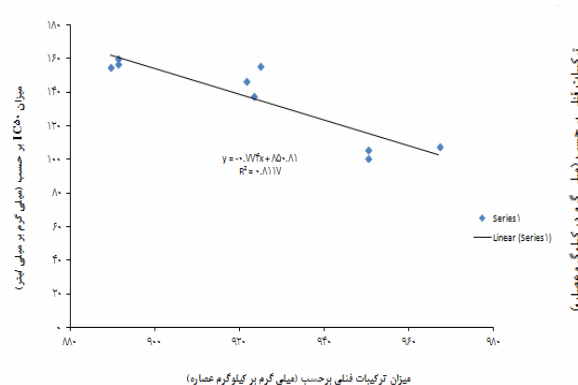
فعالیت ضداکسایشی عصاره به صورت مقدار IC_{50} نشان دهنده غلظتی از ترکیب است که باعث ۵۰ درصد بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی می‌گردد. این مقدار به وسیله آنالیز همبستگی خطی حاصل از مقادیر RSC برای غلظت‌های مختلف نمونه تعیین شد [۲۴].

۲-۵- آزمون گرمخانه گذاری

به منظور بررسی اثر ضداکسایشی عصاره‌های متانولی-آبی بذره‌های مذکور بر روغن سویا از آزمون گرمخانه‌گذاری استفاده شد. هریک از عصاره‌های استخراجی و ضداکساینده سنتزی بوتیلات هیدروکسی تولوئن با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به روغن سویای بدون ضداکساینده در شیشه‌های تیره رنگ اضافه شد و طی مدت زمان معینی در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. جهت بررسی روند اکسایش، عدد پراکسید [۲۵] و عدد اسید تیوباربتوریک [۲۶] و [۲۷] روغن سویای بدون ضداکساینده (AFSO) و روغن سویای حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره متانولی-آبی زیره ($SO+BC$)، گشنیز ($SO+C$)، شوید ($SO+D$) و ضداکساینده BHT ($SO+BHT$) طی ۱۴ روز گرمخانه‌گذاری در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد اندازه‌گیری شد.

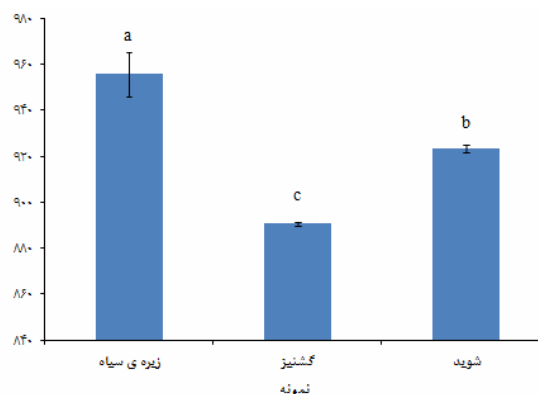
۲-۶- تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش، برای مقایسه میزان ترکیبات فنلی عصاره‌های گیاهان مذکور از طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. همچنین نتایج مربوط به آزمون گرمخانه‌گذاری از روش



شکل ۲ رگرسیون به دست آمده بین IC_{50} و ترکیبات فنلی کل (TPC)

گزارش شده است که بین مقدار ترکیبات فنلی و مهار رادیکال‌های آزاد رابطه مستقیم وجود دارد. در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنلی به دلیل افزایش گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد [۳۱]. شایان ذکر است که همه ترکیبات فنلی ممکن است توانایی مهار رادیکال‌های آزاد یا به عبارتی فعالیت ضداکسایشی نداشته باشند. قدرت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد به تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل و وزن مولکولی ترکیبات فنلی بستگی زیادی دارد. در ترکیبات فنلی با وزن مولکولی پایین‌تر، گروه‌های هیدروکسیل راحت‌تر در دسترس قرار می‌گیرند [۳۲]. بنابراین تفاوت موجود در قدرت ضداکسایشی عصاره‌ها علاوه بر مقدار ترکیبات فنلی می‌تواند به ساختار این ترکیبات هم مربوط باشد. حضور مقادیر چشمگیری از توکوفرول‌ها، کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها و اسید آسکوربیک در زیره، گشنیز، شوید و سایر گیاهان باعث بروز خاصیت ضداکسایشی قابل توجهی در این گیاهان شده است. در پژوهش انجام شده توسط شریعتی‌فر و همکاران در سال ۲۰۱۱ میزان ترکیبات فنلی کل عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گیاه علف هیضه به ترتیب ۲۷/۲، ۲۶ و ۲۵/۹۱ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم نمونه گزارش شد [۲۰]. نتایج



شکل ۱ مقدار ترکیبات فنلی عصاره‌ی متانولی-آبی بذره‌های زیره‌ی سیاه، گشنیز و شوید. ستون‌های دارای حروف متفاوت از لحاظ آماری اختلاف معنی داری باهم دارند (آزمون دانکن، $P > 0.05$). تیرک‌های رسم شده در انتهای ستون‌ها نشان‌دهنده‌ی انحراف معیار داده‌های اندازه‌گیری شده است.

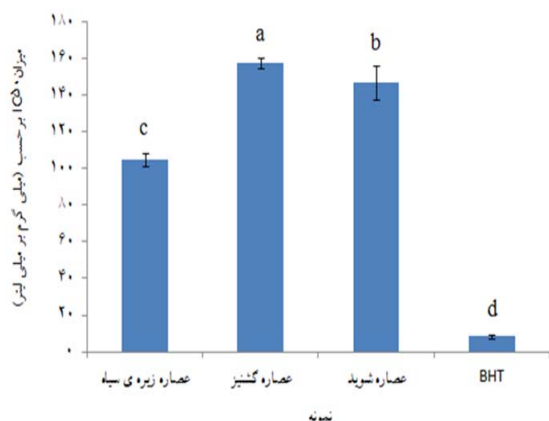
جدول ۱ داده‌های رگرسیون به دست آمده بین IC_{50} و ترکیبات فنلی کل (TPC) را نشان می‌دهد. همان‌طور که از جدول پیداست رابطه بین مقدار ترکیبات فنلی و IC_{50} خطی و با شیب منفی است. به عبارت دیگر با افزایش غلظت ترکیبات فنلی در عصاره‌ها مقدار IC_{50} به طور خطی کاهش می‌یابد. معادله به دست آمده در سطح اطمینان ۹۵ درصد معنادار است.

جدول ۱ معادله خط و احتمال مدل به دست آمده برای

رابطه بین IC_{50} و ترکیبات فنلی کل (TPC)

معادله خط	$IC_{50} = 851 - 0.774 * TPC$
R^2	۰/۸۱/۲
p	۰/۰۰۱
Lack of fit	۰/۰۴۷
p	≥ 0.1

همچنین نتایج گویای عدم معنی‌داری Lack of Fit می‌باشد. این نتیجه بدین معنی است که رابطه خطی به دست آمده بین IC_{50} و ترکیبات فنلی کل (TPC) معتبر بوده و قابل استفاده برای پیش بینی مقدار IC_{50} با توجه به مقدار ترکیبات فنلی کل عصاره‌های گیاهی می‌باشد (شکل ۲).



شکل ۳ مقدار IC₅₀ عصاره‌های متانولی-آبی و اتانولی-آبی بذره‌های زیره سیاه، گشنیز، شوید. ستون‌های دارای حروف متفاوت از لحاظ آماری اختلاف معنی داری باهم دارند (آزمون دانکن، $P > 0.05$). تیرک‌های رسم شده در انتهای ستون‌ها نشان‌دهنده‌ی انحراف معیار داده‌های اندازه‌گیری شده است.

از شکل ۴ پیداست که به طور کلی قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره‌های متانولی-آبی بذره‌های مورد مطالعه نسبت به ضداکساینده سنتزی BHT پایین‌تر بود. به عبارت دیگر این ضداکساینده در غلظت‌های بسیار کمتر قدرت مهارکنندگی مشابه را به نمایش گذاشت. همچنین نتایج حاکی از قدرت مهارکنندگی بیشتر عصاره متانولی-آبی بذر زیره سیاه نسبت به بذر گشنیز و شوید در غلظت مشابه بود. در غلظت‌های پایین‌تر، عصاره متانولی-آبی بذر شوید قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد بیشتری را نسبت به گشنیز به نمایش گذاشت در حالی که در غلظت‌های بالاتر سرعت افزایش قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد عصاره متانولی-آبی شوید کاهش یافت به طوری که در غلظت بالاتر از ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر قدرت ضداکسایشی عصاره متانولی-آبی بذر شوید و گشنیز تقریباً مشابه بود. احتمالاً این پدیده را می‌توان ناشی از خاصیت پراکسیدانی عصاره شوید دانست چرا که برخی از مواد حاوی ترکیب‌های فنلی در غلظت‌های بالا خاصیت پراکسیدانی نشان می‌دهند [۳۷]. شایان ذکر است که با افزایش غلظت عصاره هر سه بذر از ۵۰ به ۲۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH افزایش یافت. همان‌طور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود افزایش

پژوهش سپهری‌فر و همکاران در سال ۲۰۰۹ روی ترکیبات فنلی عصاره‌های متانولی گیاه قره‌قاط جمع آوری شده از استان‌های مازندران، گیلان و اردبیل حاکی از بالاتر بودن ترکیبات فنلی عصاره متانولی گیاه منطقه‌ی کلاردشت (42.7 ± 1.5 میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در مقایسه با سایر مناطق بود [۳۳]. محقق‌ی ثمرین و همکاران در سال ۲۰۰۸ ترکیبات فنلی پوست سبب زمینی راموس را با دو روش فراصوت و پرکولاسیون استخراج کردند. نتایج این محققین بیانگر کارآمدتر بودن روش استخراج با حلال متانول (روش پرکولاسیون) نسبت به روش فراصوت در استخراج ترکیبات فنلی ($589/2$ میکروگرم به ازاء گرم وزن خشک گیاه) بود [۳۴]. نوع رقم، شیوه استخراج و شرایط فراوری و نگهداری از جمله مهم‌ترین عوامل مؤثر بر میزان ترکیبات فنلی به شمار می‌آیند [۳۵].

۲-۳- ارزیابی قدرت مهار کنندگی رادیکال-

های آزاد DPPH

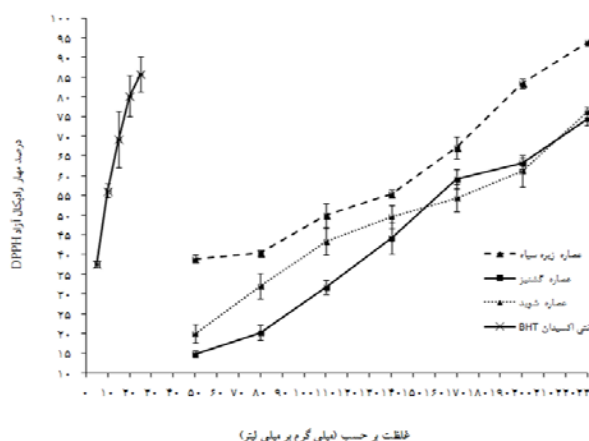
شکل ۴ قدرت عصاره متانولی-آبی بذر زیره سیاه، گشنیز و شوید را در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH نشان می‌دهد. نتایج بیانگر قدرت مهارکنندگی بیشتر عصاره متانولی-آبی بذر زیره سیاه نسبت به بذر گشنیز و شوید در غلظت مشابه بود. مقدار IC₅₀ عصاره‌های متانولی-آبی زیره سیاه، گشنیز و شوید در شکل ۳ آورده شده است. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که IC₅₀ عصاره‌های متانولی-آبی بذره‌های مورد مطالعه با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند ($P < 0.05$). روش حذف رادیکال، مهم‌ترین روش تعیین سازوکار ضداکساینده‌ها در غذا است. چندین روش برای ارزیابی فعالیت ضداکسایشی به وسیله حذف رادیکال‌های سنتزی در حلال‌های آلی قطبی مثل متانول در دمای اتاق وجود دارد. یکی از این روش‌ها حذف رادیکال DPPH است. DPPH یک رادیکال چربی دوست است که دارای جذب بیشینه در طول موج ۵۱۷ تا ۵۱۵ نانومتر است [۳۶].

لیتر) و زیره‌ی سیاه (۱۰۴/۷۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) است. این نتیجه بدین معناست که عصاره متانولی-آبی زیره‌ی سیاه در غلظت پایین‌تری فعالیت ضداکسایشی مشابه با عصاره متانولی-آبی گشنیز دارد. مقایسه‌ی IC₅₀ تمام عصاره‌ها بیانگر این مطلب بود که ضداکساینده سنتزی BHT در غلظت بسیار پایین‌تری (۸/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) قادر به مهار ۵۰ درصد رادیکال‌های DPPH موجود در محیط بود که نشانگر قدرت ضداکسایشی بالاتر آن است. تفاوت‌های مشاهده شده بین IC₅₀ عصاره‌های مختلف در این پژوهش را می‌توان به تفاوت در مقادیر ترکیبات فنلی آن‌ها نسبت داد.

۳-۳- اثر ضداکسایشی عصاره‌های متانولی-آبی زیره‌ی سیاه، گشنیز و شوید در روغن سویا

تغییرات عدد پراکسید AFSO، SO+BC، SO+C، SO+D و SO+BHT طی ۱۴ روز گرمخانه‌گذاری در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد در جدول ۲ آورده شده‌است. نتایج بیانگر این است که عدد پراکسید در نمونه شاهد و سایر نمونه‌ها تا روز نهم افزایش یافته است. تفاوت محسوسی بین نمونه‌ها از لحاظ سرعت افزایش عدد پراکسید مشاهده نشد در حالی که در روز نهم اختلاف معنی‌داری بین اعداد پراکسید AFSO، SO+BC و SO+C با SO+D و SO+BHT مشاهده شد ($P < 0.05$). اندازه‌گیری هیدرو پراکسیدها از جمله رایج‌ترین و قدیمی‌ترین آزمون‌های اندازه‌گیری میزان اکسایش-پذیری لیپیدی است. هیدروپراکسیدها فراورده‌های اولیه اکسایش لیپیدها هستند و مقدار آن‌ها طی اکسایش لیپیدی افزایش و سپس کاهش می‌یابد و این روند به دلیل تشکیل شکست متوالی هیدروپراکسیدها ادامه می‌یابد [۴۰]. نگاه اجمالی به جدول ۲ مشخص می‌کند که از روز نهم به بعد شکست و تشکیل هیدروپراکسیدها در همه نمونه‌ها آغاز شد. به نظر می‌رسد مقدار تشکیل هیدروپراکسیدها در نمونه شاهد نسبت به سایر نمونه‌ها بیشتر بود. بررسی اعداد پراکسید در روز چهاردهم حاکی از عدم وجود تفاوت

غلظت از ۵۰ به ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر منجر به افزایش قدرت مهارکنندگی زیره‌ی سیاه از حدود ۴۰ درصد به ۹۴ درصد شد در حالی که در مورد شوید از ۲۰ درصد به ۷۶ درصد و در مورد گشنیز از حدود ۱۵ درصد به ۷۴/۵ درصد رسید. این نتایج بیانگر این مطلب است که روند افزایش قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد در عصاره متانولی-آبی گشنیز شتاب بیشتری نسبت به دو عصاره دیگر داشت.



شکل ۴ میزان مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH عصاره‌های متانولی-آبی زیره‌ی سیاه، گشنیز، شوید و ضداکساینده BHT تیرک‌های رسم شده روی نقاط نشان‌دهنده‌ی انحراف معیار داده‌های اندازه‌گیری شده است.

در مطالعه فعالیت ضداکسایشی با روش DPPH، تاصف سلطان در سال ۲۰۰۹ قدرت مهارکنندگی اسانس و روغن فرار زیره‌ی سیاه را به ترتیب ۸۰/۲۵ درصد و ۳۲/۳۲ درصد گزارش کرد [۱۸]. رجایی و همکاران در سال ۲۰۰۹ طی مطالعه قدرت ضداکسایشی عصاره‌ی متانولی-آبی پوست سبز چند رقم پسته توضیح دادند که در تمام غلظت‌های مورد آزمون (۰/۵ تا ۳ میکروگرم فنولیک در گرم نمونه خشک) رقم احمد آقایی و کله قوچی به ترتیب بیشترین و کمترین فعالیت ضداکسایشی را از خود نشان دادند [۳۸]. منظور از IC₅₀ در روش مهار رادیکال‌های آزاد DPPH غلظتی از عصاره یا ضداکساینده سنتزی است که منجر به مهار نیمی از رادیکال‌های آزاد موجود در محیط می‌شود [۳۹]. در بین عصاره‌های متانولی-آبی بیشترین و کمترین IC₅₀ به ترتیب مربوط به گشنیز (۱۵۷/۳۸ میلی‌گرم بر میلی‌

مشهودی کمتر از سایر نمونه‌ها بود. تمام روغن‌های یاد شده حائز فعالیت ضد اکسایشی بودند. همچنین بیشترین عدد پراکسید (۵/۲۳ میلی‌اکی‌والان گرم بر کیلوگرم) در روز چهاردهم به نمونه‌ی شاهد مربوط بود.

معنی‌دار بین نمونه‌های SO+BC و SO+BHT بود ($P > 0.05$) در حالی که بین نمونه‌های مذکور و نمونه‌های SO+D، SO+C، AFSO اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0.05$). به عبارت دیگر در پایان روز چهاردهم عدد پراکسید نمونه‌های SO+BC و SO+BHT به طور

جدول ۲ عدد پراکسید* SO+BC، SO+C، SO+D و SO+BHT طی ۱۴ روز گرمخانه‌گذاری (میلی‌اکی‌والان گرم بر کیلوگرم)

زمان (روز)	AFSO	SO+BC	SO+C	SO+D	SO+BHT
۰	۱/۵۷±۰/۰۸ ^{Fa}	۰/۸۷±۰/۰۸ ^{Ec}	۱/۳۳±۰/۲۳ ^{Fb}	۰/۷۷±۰/۰۲ ^{Fc}	۱/۵۵±۰/۲۳ ^{Ga}
۱	۲/۱۰±۰/۱۶ ^{Efa}	۱/۳۱±۰/۰۶ ^{Ed}	۱/۷۰±۰/۱۴ ^{DEFbc}	۱/۵۱±۰/۰۸ ^{Ec}	۱/۸۵±۰/۱۷ ^{Gb}
۲	۲/۲۲±۰/۰۴ ^{Ea}	۱/۳۶±۰/۰۳ ^{Ed}	۱/۷۷±۰/۰۲ ^{DEFbc}	۱/۵۴±۰/۰۱ ^{Ecd}	۱/۸۹±۰/۰۱ ^{FgB}
۳	۲/۶۶±۰/۰۱ ^{DEa}	۲/۰۷±۰/۰۵ ^{Dc}	۲/۳۴±۰/۰۲ ^{DEb}	۱/۷۵±۰/۱۱ ^{Ed}	۲/۳۶±۰/۰۹ ^{Efb}
۴	۲/۶۵±۰/۰۲ ^{DEa}	۲/۵۱±۰/۰۳ ^{CDb}	۲/۳۷±۰/۰۱ ^{DEc}	۱/۸۶±۰/۰۲ ^{Ed}	۲/۶±۰/۰۹ ^{CDa}
۵	۳/۰۵±۰/۰۱ ^{Da}	۲/۳۷±۰/۰۱ ^{CDb}	۲/۳۶±۰/۰۱ ^{DEb}	۲/۱۹±۰/۱۱ ^{DEb}	۳/۱۴±۰/۰۴ ^{Ca}
۶	۴/۴۰±۰/۱۸ ^{Ca}	۲/۵۷±۰/۰۳ ^{CDd}	۲/۹۲±۰/۰۲ ^{CDc}	۳/۰۲±۰/۰۱ ^{Cbc}	۳/۱۷±۰/۰۲ ^{Cb}
۷	۴/۲۸±۰/۰۸ ^{Ca}	۳/۵۱±۰/۰۸ ^{Bd}	۳/۵۱±۰/۰۳ ^{Cd}	۴/۱۶±۰/۰۵ ^{Bb}	۳/۹۵±۰/۰۳ ^{Bc}
۸	۵/۹۹±۰/۱۱ ^{Aa}	۵/۴۴±۰/۰۱ ^{Ab}	۵/۳۳±۰/۰۴ ^{ABc}	۵/۹۳±۰/۰۳ ^{Aa}	۵/۴۶±۰/۰۱ ^{Ab}
۹	۶/۱۲±۰/۱۱ ^{Aa}	۶/۱۱±۰/۱۱ ^{Aa}	۶/۱۵±۰/۰۳ ^{Aa}	۵/۹۲±۰/۰۲ ^{Ab}	۵/۹۰±۰/۰۲ ^{Ab}
۱۰	۲/۳۶±۰/۰۳ ^{Ec}	۵/۹۵±۰/۰۹ ^{Aa}	۵/۵۳±۰/۰۴ ^{ABa}	۳/۶۹±۰/۰۵ ^{Bb}	۴/۰۷±۰/۰۹ ^{Bb}
۱۱	۲/۷۰±۰/۱۴ ^{DEab}	۲/۹۴±۰/۰۶ ^{BCab}	۲/۵۴±۰/۱۲ ^{DEb}	۲/۸۱±۰/۰۲ ^{CDab}	۳/۱۲±۰/۰۳ ^{CDa}
۱۲	۵/۵۶±۰/۰۸ ^{ABa}	۲/۵۹±۰/۰۵ ^{CDb}	۲/۵۰±۰/۰۴ ^{DEb}	۲/۷۵±۰/۰۲ ^{CDb}	۲/۸۴±۰/۰۶ ^{CDb}
۱۳	۵/۷۶±۰/۰۴ ^{ABa}	۳/۰۴±۰/۰۸ ^{BCd}	۲/۰۵±۰/۰۷ ^{DEFc}	۳/۷۲±۰/۰۹ ^{Cbc}	۴/۰۰±۰/۰۰ ^{Bb}
۱۴	۵/۲۳±۰/۰۱ ^{Ba}	۲/۶±۰/۰۳ ^{CDc}	۴/۷۷±۰/۰۴ ^{Bab}	۴/۰۴±۰/۰۳ ^{Bb}	۲/۶۵±۰/۰۴ ^{CDc}

* میانگین ± انحراف معیار

حروف غیرمشترک بزرگ و کوچک بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار به ترتیب در هر ستون و سطر در سطح ۵ درصد است ($P < 0.05$).

ضداکساینده‌های سنتزی بیشترین اثر ضد اکسایشی را داشت [۴۱].

تغییرات عدد اسید تیوباریتوریک روغن سویای بدون ضداکساینده (شاهد) تحت تأثیر افزودن ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره‌ی متانولی-آبی زیره‌ی سیاه، گشنیز، شوید و ضداکساینده سنتزی BHT در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۴ روز در جدول ۳ آورده شده‌است.

عدد TBA بیانگر مراحل ثانویه اکسایش چربی و حضور ترکیبات ثانویه‌ی اکسایش به خصوص مالون آلدئید است که سبب بروز تغییراتی در طعم روغن‌های اکسیده می‌شود.

بررسی‌ها نشان داده است عدد پراکسید روغن‌ها پس از پشت سر گذاری دوره‌ای افزایشی، به دلیل ناپایداری هیدروپراکسیدها و تجزیه آن‌ها به ترکیبات ثانویه اکسایش لیپیدی، دچار نقصان شده، روندی نزولی به خود می‌گیرد [۳۰].

گلی و همکاران در سال ۲۰۰۴ اثر ضداکسایشی عصاره استخراجی پوست سبز پسته را در روغن سویا بررسی کردند. نتایج نشان داد که غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره به همراه غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر

فرآورده‌های حاصل از اکسایش چربی‌های غیراشباع با TBA ایجاد کمپلکس قرمز رنگی می‌کنند که این کمپلکس در طول موج ۵۳۵ تا ۵۳۲ نانومتر جذب خوبی دارد. نتایج نشان می‌دهد که دو مولکول TBA با یک مولکول مالون دی‌آلدید واکنش می‌دهند [۴۲]. از آن جا که شاخص اسید تیوباربتوریک با شکست هیدروپراکسیدها در ارتباط است و با پیشرفت اکسایش هیدروپراکسیدها به طور دائم در حال تشکیل و شکست می‌باشند، ممکن است مقدار این شاخص نیز طی دوره اکسایش از روند خاصی پیروی نکرده و بسته به واکنش‌های پیچیده مراحل اکسایش در حال افزایش و کاهش باشد. نگاه اجمالی به جدول ۳ مشخص می‌کند که در روزهای اول افزایش اسید تیوباربتوریک نمونه‌ها روند قابل توجهی ندارد به طوری که در برخی روزها افزایش و در روز بعد کاهش مشاهده می‌شود در حالی که در روزهای

پایانی به خصوص از روز دهم تا چهاردهم تنها روند افزایشی اتفاق افتاده است که می‌توان دلیل آن را کاهش عدد پراکسید و تشکیل فرآورده‌های ثانویه به خصوص مالون آلدید دانست. مقدار تشکیل مالون آلدید در نمونه شاهد نسبت به سایر نمونه‌ها بیشتر بود. در روزهای دهم تا دوازدهم بین SO+C، SO+D و SO+BHT تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$). بررسی اعداد اسید تیوباربتوریک در روز چهاردهم نیز حاکی از عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین نمونه‌های SO+C، SO+D و SO+BHT بود ($P > 0.05$) در حالی که بین نمونه‌های مذکور با AFSO و SO+BC تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P < 0.05$). به عبارت دیگر در پایان روز چهاردهم کمترین و بیشترین عدد اسید تیوباربتوریک به ترتیب مربوط به نمونه SO+D و نمونه شاهد بود.

جدول ۳ عدد اسید تیوباربتوریک AFSO، SO+BC، SO+C، SO+D و SO+BHT طی ۱۴ روز گرمخانه‌گذاری (میلی

گرم مالون آلدید بر کیلوگرم)

زمان (روز)	AFSO	SO+BC	SO+C	SO+D	SO+BHT
۰	0.06 ± 0.04^{Da}	0.04 ± 0.05^{Da}	0.03 ± 0.02^{Ba}	0.01 ± 0.01^{Ca}	0.01 ± 0.01^{Ba}
۱	0.27 ± 0.11^{BCa}	0.14 ± 0.16^{BCDab}	0.06 ± 0.02^{Bb}	0.04 ± 0.04^{BCb}	0.03 ± 0.03^{Bb}
۲	0.38 ± 0.07^{ABa}	0.04 ± 0.02^{Db}	0.05 ± 0.01^{Bb}	0.03 ± 0.02^{BCb}	0.04 ± 0.04^{Bb}
۳	0.18 ± 0.05^{CDa}	0.07 ± 0.03^{BDb}	0.07 ± 0.03^{Bb}	0.07 ± 0.05^{ABCb}	0.06 ± 0.02^{Bb}
۴	0.46 ± 0.05^{Aa}	0.15 ± 0.05^{BCDb}	0.10 ± 0.14^{ABb}	0.15 ± 0.14^{ABb}	0.20 ± 0.06^{Aa}
۵	0.16 ± 0.11^{CDa}	0.03 ± 0.04^{Db}	0.02 ± 0.01^{Bb}	0.01 ± 0.01^{Cb}	0.01 ± 0.01^{Bb}
۶	0.25 ± 0.11^{BCa}	0.15 ± 0.15^{BCDab}	0.05 ± 0.03^{Bb}	0.04 ± 0.03^{BCb}	0.03 ± 0.02^{Bb}
۷	0.37 ± 0.09^{ABa}	0.05 ± 0.02^{Db}	0.06 ± 0.02^{Bb}	0.02 ± 0.01^{BCb}	0.04 ± 0.04^{Bb}
۸	0.20 ± 0.07^{CDa}	0.07 ± 0.04^{BDb}	0.08 ± 0.05^{Bc}	0.07 ± 0.05^{ABCb}	0.07 ± 0.03^{Bb}
۹	0.50 ± 0.08^{Aa}	0.30 ± 0.05^{ABb}	0.06 ± 0.04^{Bc}	0.05 ± 0.03^{BCc}	0.22 ± 0.03^{Ab}
۱۰	0.24 ± 0.08^{BCa}	0.14 ± 0.07^{BCDb}	0.03 ± 0.01^{Bc}	0.02 ± 0.01^{BCc}	0.01 ± 0.01^{Bc}
۱۱	0.26 ± 0.11^{BCa}	0.17 ± 0.12^{BCDab}	0.05 ± 0.03^{Bc}	0.04 ± 0.03^{BCc}	0.03 ± 0.02^{Bc}
۱۲	0.37 ± 0.07^{ABa}	0.22 ± 0.01^{ABCb}	0.06 ± 0.03^{Bc}	0.02 ± 0.02^{BCc}	0.04 ± 0.04^{Bc}
۱۳	0.19 ± 0.06^{CDab}	0.25 ± 0.05^{ABa}	0.15 ± 0.11^{ABab}	0.07 ± 0.05^{ABCb}	0.07 ± 0.03^{Bb}
۱۴	0.48 ± 0.06^{Aa}	0.35 ± 0.14^{Aab}	0.22 ± 0.02^{Ab}	0.20 ± 0.02^{Ab}	0.21 ± 0.05^{Ab}

* میانگین $\pm$ انحراف معیار

حروف غیرمشترک بزرگ و کوچک بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار به ترتیب در هر ستون و سطر در سطح ۵ درصد است ($P < 0.05$).

عدد اسید تیوباربتوریک به طور آهسته افزایش یافته است. تفاوت محسوسی بین نمونه‌ها از لحاظ سرعت افزایش عدد

شایان ذکر است که روند تغییرات عدد پراکسید با عدد اسید تیوباربتوریک طی دوره‌ی اکسایش با یکدیگر متفاوت بود و

absorbance capacity (ORAP) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A comparative study. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50 (11): 3122- 8.

[3] Gil, M. I. and Kaber, A. A. 2002. Antioxidant capacities Phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents Of nectarine, pesch, and plum cultivars from California. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50 (17): 4976- 82.

[4] Gulcin, I., Sat, I., Beydemir, S., Elmastas, M. and Kufrevioglu, O. 2004. Comparison Of antioxidant activity Of clove (*Eugenia caryophyllata Thunb*) buds and Lavender (*Lavandula stoechas L.*). *Food Chemistry*, 87 (3): 393- 400.

[5] Fennema, OR. 1996. *Food Chemistry*, New York: Marcel Dekkert, U. S. A.

[6] Shahidi, F. and Wanasundara, P.K.J.P.D. 1992. Phenolic antioxidant. *Critical Reviews in Food Science and Nutritions*, 32 (1): 67- 103.

[7] Raghavendra, H., Vijayananda, B., Madhumathi, G. and Hiremath, A. 2010. In vitro antioxidant activity Of (*Vitex negundo L.*) Leaf extracts. *Chiang Mai Journal of Science*, 37 (3): 489- 497.

[8] Andreja, H., Majda, H., Zeljko, K. and Davorin, B. 2000. Comparison Of antioxidative and synergistic effects Of rosemary extract with α - tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower Oil. *Food Chemistry*, 71 (2): 233-229.

[9] Dormana, H.J.D., Peltoketo, A., Hiltunen, R. and Tikkanen, M.J. 2003. Characterisation Of the antioxidant properties Of de-odourised aqueous extacts from selected lamiaceae herbs. *Food Chemistry*, 83 (2): 255- 62.

[10] Lee, S.J, Umamo, K., Shibamoto, T. and Lee, K.G. 2005. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum L.*) and thyme leaves (*Thymus vulgaris L.*) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 91 (1): 131-137.

[11] Haghirossadat, F., Bornard, F., Sheikhha, M. H., Hokmelahi, F., Azimzadeh, M. and Hori, M. 2010. Evaluation Of medicinal plant essence effective composition and antioxidant

اسید تیوباربتوریک مشاهده نشد. نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره‌های متانولی-آبی دارای قدرت مهارکنندگی رادیکالی بالایی بودند که این امر رابطه‌ی مستقیمی با حضور ترکیبات فنلی در عصاره‌های حاصل داشت. اندازه-گیری اعداد پراکسید و اسید تیوباربتوریک که به ترتیب نشان دهنده فراورده‌های اولیه و ثانویه اکسایش می‌باشند بیانگر وجود رقابت چشمگیری بین عصاره‌های طبیعی و ضداکساینده سنتزی BHT از لحاظ فعالیت ضداکسایشی در روغن سویا بود.

۵- نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده از آزمون پایداری روغن سویا می‌توان گفت که عصاره‌های متانولی-آبی بذرهاى زیره‌ی سیاه، گشنیز و شوید می‌توانند به عنوان ضداکساینده-های طبیعی توانایی واکنش با رادیکال‌های حاصل از اکسایش لیپیدها را داشته باشند و موجب قطع واکنش‌های زنجیری، افزایش زمان اکسایش کند و کاهش سرعت اکسایش خود به خودی شوند. علاوه بر این ممکن است عصاره‌های متانولی-آبی در غلظت‌هایی بالاتر از غلظت‌های انتخاب شده در این پژوهش، بتوانند با ضداکساینده‌های سنتزی رقابت کرده در نتیجه به عنوان منابعی که دارای اثر ضداکسایشی هستند بعد از آزمایش‌های تکمیلی به مواد غذایی به خصوص روغن‌های خوراکی اضافه شوند.

۶- تشکر و قدردانی

در پایان از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان به دلیل مساعدت در انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌نمائیم.

۷- منابع

- [1] Thomas, M. J. 2000. The role Of free radicals antioxidants. *American Journal of Clinical Nutrition*, 16 (7-8): 716-24.
- [2] Flanagan, J. 2002. Analysis Of antioxidant activities Of common vesgetables employing oxygen radical

- Jamshidi, A. H. and Jahedkhaniki, GH. R. 2011. Evaluation Of Quality and quantity Of Phenolic compounds and antioxidant activity Of Hizeh grass plant. Journal of Medical Sciences and Health Services Gonabad, 17 (4): 35- 41.
- [21] Kamkar, A. 2009. The study Of antioxidant activity Of Essential Oil and extract Of Iranian *Anethum graveolens*, Journal of Medical Sciences Health Services Gonabad, 15 (2): 11-17.
- [22] Rafiei, Z., Jafari, S. M, Alami, M. and Khomeiri, M. 2011. Antioxidant Properties Of Olive leaf extract and its application in Sunflower Oil. Journal of Food Industry Research, 21 (1): 12-22.
- [23] Capannesi, C., Palchetti, I., Mascini, M. and Parenti, A. 2000. Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in Olive Oils. Food Chemistry, 71: 553-562.
- [24] Kukic, J., Popovic, V., Petrovic, S., Muneagi, P., Ciric, A., Stojkovic, D. and Sokovic, M. 2008. Antioxidant and antimicrobial activity Of *Cynara Cardunculus* extracts. Food chemistry, 107 (2): 867-868.
- [25] Shantha, N.C. and Decker, E.A. 1994. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination Of Peroxide values Of food lipids. Journal of the American Oil Chemists' Society, 77 (2): 421-24.
- [26] Mehran, M. 1976. Oil test (vax essay). First edition. Tehran University Press. pp. 40- 54.
- [27] Abrishamchi, P. 2002. Extraction antioxidant extract Of Norozak plant leaves and investigated properties Of It. Journal of Agriculture Science, 107 (2): 16.
- [28] Pericin, D., Krimer, V., Trivic, S. and Radulovic, L. 2009. The distribution Of Phenolic acids in pumpkin's hull-less seed, skin, Oil cake meal, dehulled kernel and hull. Food Chemistry, 113 (2): 450-456.
- [29] Siger. A., Nogala-Kalucka, M. and Lampart-Szczapa, E. 2008. The content and antioxidant activity Of Phenolic compounds on cold-pressed plant Oils. Journal of Food Lipids, 15 (2): 137-149.
- properties of Black Cumin from Yazd. Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, 18 (4): 284-291.
- [12] Peter ,K.V. 2004. Handbook Of herbs and spices. First edition. CRC Press. New york, PP. 164-178.
- [13] Kamkar, A., Shariatifar, N., Jamshidi, A. and Mohamadian, M. 2010. The antioxidant function Of the aqueous, methanol and ethanol in vitro (*Cuminum Cyminum*) and (*Cardaria draba*). Journal of Medical Sciences and Health Services of Gonabad, 16 (2): 38- 45.
- [14] Dadkhah, A., Fatemi, F. and Davoodian, N. 2011. Protective effect Of Hydro-alcoholic extract obtained from Black Cumin in and kidney and heart tissue damage in CLP inflammatory model. Journal of Medical Sciences University of Ghom, 5 (3): 5-13.
- [15] Matthauss, B. and Ozcan, M. M. 2011. Fatty acids, tocopherol, and sterol contents Of Some nigella species seed Oil. Czech Journal of Food Science, 29 (2): 145-150.
- [16] Narasinga, R. B. 2003. Bioactive Phytochemicals in Indian foods and their potential in health promotion and disease prevention. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 12 (1): 9-22.
- [17] Ayuqi, F., Barzegar, M., sahari, M. and naghdi abadi, H. 2009. To review the antioxidant activity Of The Anethum graveolens in comparison with soybean Oil and chemical antioxidants. Journal of Medical plants, 2 (30): 71- 83.
- [18] Taseef Sultan, M., Sadiq butt, M., Anjum, F. M., Jamil, A., Akhtar, S. and Nasir, M. 2009. Nutritional profile Of Indigenous cultivar Of Black cumin seeds and antioxidant potential Of Its fixed and essential Oil. Pakistan Journal of Botany, 41 (3): 1321-1330.
- [19] Shahsavari, N., Barzegar, M. and Sahari, M. A. 2008. Investigated antioxidant activity Of Essential Oil Of (*Zataria multiflora Boiss*) and (*Bunium persicum Boiss*) in raw soy oil, Mashhad, eighteenth National Congress of Food Science and Technology.
- [20] Shariatifar, N., Kamkar, A., Shamsardakani, M.R., Misaghi, A.,

- Of Senate plant leave. M.Sc. Thesis in Sabzevar Azad University, Sabzevar, Iran.
- [37] Tahanezhad, M., Barzegar, M., Sahari, M. A. and Naghdi Badi, H. A. 2011. Evaluation Of Antioxidant activity Of *Lavandula angustifolia* essential Oils in soybean crude Oil system. Journal of Medicinal Plants, 1 (8): 127-138.
- [38] Rajaii, A., Barzegar, M. and Sahari, M. A. 2009. Evaluation Of Antioxidant and antimicrobial properties methanol extract Of Pistachio green hull (*pistachia vera*). Journal of Food Science, 8 (11): 111- 120.
- [39] Ghaderighahforkhi, M., Sadeghimahonak, A., Alami, M., ghorbani, M. and Azizi, M. H. 2011. Evaluation Of The anti-radical activity, antioxidant capacity and the power reduction effect Of Phenolic extracts Of a variety Of oak (*Q.branti* var. *persica*). Journal of Food Science, 21(1): 94- 104.
- [40] Frankel, E.N. 1998. Lipid Oxidation (The Oily press lipid library). Second edition. CRC Press. USA.
- [41] Goli, A. H., Barzegar, M. and Sahari, M.A. 2004. Antioxidant activity and total Phenolic compounds Of Pistachio (*pistachio vera*) hull extracts. Food Chemistry, 92 (3): 521–525.
- [42] Mohammadi, M. 2010. Investigated antioxidant properties Of Phenolic compounds extracted from seedless barberry fruit using infrared liquid water crisis. M.Sc. Thesis, Sabzevar Azad University, Sabzevar, Iran.
- [30] Farhoosh, R., niazmand, R., Sarabi, M. and rezaei, M. 2009. Estimate the relative stability Of Vegetable Oils based on accelerated testing. Journal of Food Science, 8 (1): 11- 17.
- [31] Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J. A. and Saura-Calixto, F. 1999. Free radical scavenging capacity and inhibition Of Lipid oxidation Of Wines, grape juices and related polyphenolic constituents. Food Research International, 32 (6): 407-412.
- [32] Jung, C.H., Seog, H.M., Choi, I.W., Park, M.W. and Cho, H.Y. 2006. Antioxidant properties Of Various solvent extracts from wild ginseng leaves. Food Science and Technology, 39 (3): 266-274.
- [33] Sepehrifar, R. and Hasanlo, T. 2009. Evaluation Of Polyphenolic compounds, anthocyanins and total flavonoids and antioxidant properties Of Herb cranberry (*Vaccinium arctostaphylos* L.) collected from four different regions of Iran. Journal of Medicinal Plants, 1 (33): 66- 74.
- [34] Mohagheghisamarin, A., Pourazarang, H., Elhamirad, A.H., Dezashibi, Z. and Hemmatyar, N. 2008. Extraction Of Phenolic compounds Of Ramos potato skins with use Of Percolation and ultrasound method and evaluate the antioxidant activity Of The extract in soybean Oil. Journal Of Food Science, 8 (1): 81- 91.
- [35] Boskou, D. 2006. Sources Of Natural phenolic antioxidants. Trends in Food Science and Technology, 17: 505-512.
- [36] Parizan, T. 2010. Investigated antioxidant properties and radical reception

Study and comparison of inhibitory and antioxidant activity of water-methanol extracts of black cumin, coriander and dill seeds

Soleimanifar, M.¹, Niazmand, R.^{2*}, Shahidi Noghabi, M.³

1. MSc. Student of Food Science & Technology, Islamic Azad University, Damghan Branch, Iran

2. Assistant professor, Department of Food Chemistry, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran

3. Department of Food Chemistry, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran.

(Received: 92/2/23 Accepted: 92/10/8)

Medicinal plants are valuable natural resources that because of large amount of active compounds have been concerned in modern societies. Black Cumin, Coriander and Dill are such resources which they have many therapeutic and medicinal properties. Our purpose of this research is To evaluate the antioxidant activity of water- methanol extract of Black Cumin, Coriander and Dill seeds in comparison with BHT. For the preparation of water- methanol extract, the mentioned seeds powders were mixed with methanol - water (80:20 v/v) solvent at ratio 1:4 w/v. The total phenolic compounds (TPC) was measured by Folin- Ciocalteu's method. Antiradical and inhibitory activity of the extracts were evaluated by DPPH method and compared with synthetic antioxidant BHT. The antioxidant activity of above extracts was studied in soybean oil (oven test at 60 °C) by measuring peroxide value (PV) and thiobarbituric acid value (TBA) and compared with BHT (at level 100 mg/ml).

There water- methanol extracts of Black Cumin, Coriander and Dill seeds contained 955.77, 890.62 and 923.16 mg/kg phenolic compounds. The highest IC₅₀ related to water- methanol extract of Black Cumin (104.76 mg/ml) which demonstrated higher antiradical activity compared to the Coriander and Dill seeds extracts. In oven test, the water- methanol extract of Black Cumin showed the greatest antioxidant activity and at level 100 mg/ml acted as BHT at level 100 mg/ml. water-methanol extracts of Black Cumin, Coriander and Dill as natural antioxidants are capable of scavenging radicals derived from lipid oxidation and reduction of auto-oxidation rate.

Key words: Antioxidant; Medicinal plants; Water-methanol extract; Total phenolic compounds

* Corresponding Author E-Mail Address: raziehni88@gmail.com