مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی اسانس و عصاره زیره سیاه استخراجی به روش‌های کلونجر و فراصوت

نازنین سپهری[۱]، علی مرتضوی[۲]، علیرضا صادقیان[۳]* ، احمد پدرام‌نیا[۴]، مرتضی محمدی[۵]

۱- دانشجوی دکتری،علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی،سبزوار، ایران.

۲- استاد،گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی،سبزوار، ایران.

گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی،مشهد،ایران.

۳-استادیار،گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی،سبزوار، ایران.

گروه فرآوری مواد غذایی،موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد،ایران.

٤- استادیار،گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی،سبزوار، ایران.

۵-گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی،سبزوار، ایران.

گروه فرآوری مواد غذایی،موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد،ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰ /۰۳/۳۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۰۹

کلمات کلیدی:

زیره سیاه،

اشرشیاکلی استافیلوکوکوس اورئوس،

MIC،

رادیکال‌گیرندگی.

DOI: 10.52547/fsct.18.121.5

DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.121.16.0

* مسئول مکاتبات:

alisadeghian@yahoo.com

چکیده

اسانس و عصاره زیره سیاه به دلیل ترکیبات ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی از اهمیت ویژه‌ای در حفاظت از غذاهای خام و فرآوری شده، برخوردار است. در مطالعه حاضر ترکیب شیمیایی، خواص ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی اسانس زیره سیاه استخراج شده به روش کلونجر و پیش‌فرآوری توسط امواج التراسوند (فرکانس‌های ۳۷ و ۸۰ کیلوهرتز و توان‌های ۷۰ و ۱۰۰ درصد) و بهینه‌یابی شرایط استخراج با توجه به ویژگی‌های شیمیایی اسانس بررسی شد. خصوصیات ضدباکتریایی اسانس زیره سیاه علیه باکتری‌های پاتوژن اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس با اندازه‌گیری حداقل غلظت ممانعت از رشد و حداقل غلظت کشندگی باکتریهای پاتوژن با استفاده از روش میکرو-پلیت انجام شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس با بررسی درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH سنجیده شد. نتایج آنالیز اسانس زیره سیاه با کروماتوگرافی گازی- اسپکترومتری جرمی نشان داد که عمده‌ترین ترکیب اسانس زیره سیاه استخراج شده گاما-ترپنین با ۳۰/۰۳ درصد به روش کلونجر، و ۳۱/۰٤ درصد به روش اولتراسوند بود. بیشترین راندمان اسانس و عصاره استخراج شده به روش کلونجر به ترتیب ۲/۰٤ و ۰/۷۵ درصد و در روش اولتراسوند با فرکانس ۸۰ کیلوهرتز و توان ۱۰۰ درصد (۸۰/۱۰۰) ۲ و ۱ درصد بود. میزان ترکیبات فنولی در اسانس و عصاره استخراج شده به روش کلونجر به ترتیب ۱۳/۲ و ۱۱۱/۰۹ ودر روش اولتراسوند (۸۰/۱۰۰) به ترتیب برای اسانس و عصاره ۱۸/٦۵ و ۱٤۱/۱۹میلی‌گرم اسیدگالیک به ازای ۱۰۰ گرم ماده خشک بدست آمد. نتایج نشان داد که استافیلوکوکوس اورئوس حساس‌ترین و اشرشیاکلی مقاومترین باکتری نسبت به اسانس زیره سیاه بودند. بر این اساس، می‌توان بیان کرد که استخراج اسانس زیره سیاه با روش اولتراسوند اولتراسوند (۸۰/۱۰۰) بیشترین تاثیر را در استخراج مواد موثره اسانس و عصاره داشته است و می‌تواند برای حفاظت از مواد غذایی در مقابل انواع سیستم‌های اکسیداتیو و میکروارگانیسم‌های عامل عفونت مورد استفاده قرار گیرد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-10-04]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.121.16.0]

[DOI: 10.52547/fsct.18.121.5]

۱- مقدمه

زیره سیاه با نام علمی *Bunium Persicum Boiss* گیاهی‌چند ساله و خودگشن از خانواده چتریان است که در زبان انگلیسی *Black Caraway* نامیده می‌شود. زیستگاه طبیعی این‌گیاه در سطح جهان آسیای مرکزی، غربی، اروپای جنوب‌شرقی و درگستره ایران، استانهای تهران، قزوین، کرمان، خراسان، بندر عباس، اصفهان، فارس، سمنان و یزد است [۱-۳]. ایران در سال ۲۰۱٤ رتبه سوم تولید و صادرات زیره را داشته است و در سال ۲۰۱۵ پس از کشورهای هند، سوریه، ترکیه، چین در مقام پنجم قرار گرفت. زیره سیاه جزگیاهان دارویی مهم و اقتصادی کشور ایران به شمار می‌رود [۳]. اسانس زیره سیاه شامل کومین آلدهید[1]،آلفاپینن[2]، گاما-ترپینن[3]و مواد موثر بسیار زیادی می‌باشد که در صنایع دارویی و غذایی‌کاربردفراوان دارد. از زیره سیاه در طب سنتی در گرفتگی عضلات، به عنوان بادشکن، اشتها آور، خلط آور، افزایش دهنده ترشح شیر، طعم دهنده در صنایع غذایی و تقویت کننده معده استفاده می‌شود. همچنین، این گیاه دارای اثرات ضدسرطانی، کاهنده قند خون و قابض می‌باشد[٤].

اسانس تولیدی زیره‌ی سیاه‌بیش از سه برابرزیره‌ی سبز می‌باشد [۳]. در مورد ترکیبات شیمیایی اسانس زیره‌ی سیاه گزارش شده است که کیفیت اسانس آن تحت تأثیر شرایط محیطی و ساختار ژنتیکی‌است [۵]. در مقایسه‌ای که بین ترکیبات‌شیمیایی اسانس زیره سیاه خودرو و زراعی در کشور هند صورت گرفته، مشخص شده است‌که اسانس‌نوع زراعی دارای کیفیت‌برتری است و دارای آلدئید بیشتر و ترپن هیدروکربن‌هایی مانند پاراسایمن و گاما-ترپینن است[٦]. زیره سیاه علاوه بر دانه، کاه و کلش نسبتا زیادی تولید می‌کندکه دارای ۱/۲درصد اسانس دانه می‌باشد که از نظر ترکیب شیمیایی مشابه دانه‌های رسیده است[٦].

اسانس‌ها دارای خواص آنتی اکسیدانی می‌باشند. اکسیداسیون در مواد غذایی روندی تخریبی است که باعث از بین رفتن ارزش‌غذایی و تغییر در ترکیبات شیمیایی آنها می‌گردد و چربی‌ها و روغن‌ها بیشتر از سایر مواد غذایی مستعد اکسیداسیون هستند، که باعث تندی چربی‌ها وروغن‌ها می‌شود [۷]. به علاوه محصولاتی که از اکسیداسیون لیپیدهاحاصل می‌شوند، می‌توانند روی اجزای دیگر موجود در ماده غذایی نیزاثرات منفی داشته باشند به طوری که علاوه‌بر اثرات نامطلوب ارگانولپتیک در محصولات غذایی با از بین بردن ویتامین‌ها و اسیدهای چرب ضروری و ایجاد ترکیبات سمی می‌توانند منجر به اثرات نامطلوب و عوارض سوء در بدن شوند[۸ و ۹]. اثرات سمی آنتی اکسیدان‌های مصنوعی از یک سو و استقبال مصرف‌کنندگان از مواد افزودنی طبیعی از سوی دیگر، موجب شده است تمایل به استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی در مصرف کنندگان افزایش یابد. این آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیبات پلی‌فنلی هستند که در تمام گیاهان و تمام قسمت‌های آنها از قبیل برگ، ساقه، میوه، ریشه، بذر و غیره یافت می‌شوند[۱۰]. امروزه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی که از گیاهان و ادویه‌جات بدست می‌آیند به دلیل داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی، به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند[۱۱]. در مطالعه‌ای که در مورد بررسی خواص آنتی اکسیدانی‌عصاره‌های الکلی۲٤گیاه دارویی از جمله‌زیره‌ی سبزو زیره‌ی سیاه جمع آوری شده از ایران انجام گردید، مشخص شد که محتوای ترکیبات فنلی زیره سیاه بیشتر از زیره سبز می‌باشد[۱۲].

روش‌های استخراج اسانس از گیاهان به دو دسته روش‌های سنتی و روش‌های نوین تقسیم می شوند. ازروش‌های سنتی می‌توان به روش تقطیر با آب و بخار و استخراج با حلال‌های آلیو ازروش‌های نوین می‌توان به روش‌های مایکروویو، امواج فراصوت و میدان‌های الکتریکی پالسی اشاره کرد. روش‌های نوین استخراج روش‌هایی بدون حلال آلی، سریع، با صرف میزان انرژی پایینو دارایراندمان بالا همراه با کیفیت خوب اسانس بدست آمده می‌باشند که این امر باعث شده است بسیار بیشتر مورد توجه قرار گیرند اما دسترسی به ابزار و وسایل اسانس‌گیری در این روش‌ها به سهولت امکان پذیر نیست [۱۳-۱٤]. از میان روش‌های مختلف، استخراج به کمک امواج التراسونیک، روشی‌ساده و کارآمد می‌باشد. افزایش‌بازده استخراج به کمک امواج التراسونیک عمدتا به حفره‌سازی در مولکول‌بر اثر ارتعاش صوتی ایجاد شده نسبت داده می‌شود. مراحل فرآیند استخراج ترکیبات گیاهی، از طریق امواج فراصوت، شامل تورم بافت برای جذب حلال و خروج ترکیبات از بافت به حلال با ایجاد تخلخل و منافذ در دیواره سلولی است که این‌عمل انتقال‌جرم را ساده و سریع

1. Cuminaldehyde
2. α-Pinene
3. γ-terpinen

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-10-04]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.121.16.0]
[DOI: 10.52547/fsct.18.121.5]

مـــی‌نمایـــد. در محیط مایع، امواج صوتی باعث ایجـــاد کاویتاســـیون می‌شود کـه سرعت کاویتاســـیون، انقبـــاض و انبســـاط‌هـــای متـــوالی، بستگی به فرکانس التراسوند دارد و سـبب تغییر شکل‌مـواد جامـد و افزایش تخلخل و انتقال جرم در میوه‌ها و دانه‌ها می‌شود[۱۵-۱۶]. تحقیقـــات صورت‌گرفته در مورد استفاده از امواج التراسـونیک در اسـتخراج اسـانس و ترکیبات آن از گیاهان دارویی نظیر مریم‌گلی و زیـــره ســـیاه، حاکی از افزایش رانـــدمان و کیفیـــت بهتـــر آن نســـبت‌بـــه روش‌هـای‌معمولی است[٦].

یکی از خواص اسانس‌های گیاهی، فعالیت ضدمیکروبی آن‌ها می‌باشد کـه در مطالعـات بـسیاری بـه آن اشـاره شـده اسـت [۱۷-۱۸]. جستجو برای کشف عوامـل ضـد میکربـی سـالم و موثر ادامه دارد که می‌تواند هم از لحاظ درمانی و هم از لحاظ پیشگیری، در مورد طیـف وسـیعی از عفونـت‌هـای باکتریـایی اسـتفاده شـود. ایـن نیـاز در سـال‌هـای اخیـر بـا ظهـور میکروارگانیـسم‌هـای مقـاوم بـه چنـد دارو نمایـان‌تـر شـده است[۱۰]. از آنجا تاکنون مطالعه‌ای روی مقایسه ویژگـی‌هـای میکروبی اسانس و عصاره زیره سیاه و مقایسه اثـر روش‌هـای استخراج بر خواص ضدمیکروبی و آنتـی اکـسیدانی آن انجـام نشده است، لذا هدف این تحقیق بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی اسانس و عصاره زیره سیاه می‌باشد. از سـویی گیاهان دارویی موادی با فعالیت ضد میکروبی تولید مـی‌کننـد، شرکت‌های داروسـازی در حـال حاضـر بـه دنبـال داروهـای جـایگزین از سـایر منـابع ماننـد گیاهـان هـستند. با توجه به اهمیت‌گیاهان دارویی خـصوصا گیاهان بومی کشور ایـران که همچنان در بسیاری حوزه‌ها ناشناخته مانده‌اند و نیز تاثیر روش اسـتخراج بـر درصـد و نـوع ترکیبـات شـیمیایی موجـود در اسانس‌های گیاهی، در این مطالعـه خـواص آنتـی‌اکـسیدانی و ضدباکتریایی اسانس گیاه زیره سیاه به عنوان گونه گیاهی معطر و ارزشمند، استخراج شده توسط امواج التراسوندمورد بررسـی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱-اســـتخراج اسانس و عـــصاره بـــه روش کلونجر

دانه خشک زیره سیاه از بازارهای محلی مشهد تهیه شد. اسانس‌گیریبه روش تقطیر با آب با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ٤ساعت برای هر ۱۰۰گرم نمونه آسیاب شده به همراه ۱۷۰۰ میلی‌لیتر آب صورت گرفت.سپس اسانس و عصاره به صورت جداگانه جداسازی شدند.اسانس‌ها در ویال‌های شیشه‌ای تیره رنگدر دمای ۱۸- درجه سانتیگراد تا زمان آزمایش نگهداری شدند [۱۹]. همچنین به منظور انجام آزمایشات لازم روی عصاره حاصل از این روش، مقدار ۱۰۰ سی‌سی از اسانس باقیمانده در بالن کلونجر برداشته، خشک و در ظروف تیره رنگ و در بسته تا زمان انجام آزمایشات مربوطه، در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد، نگهداری شد.

۲-۲-اســـتخراج اسانس‌و عـــصاره بـــه کمـــک فراصوت

برای این منظور ابتدا ۱۰۰گرم نمونه زیره توسط دستگاه آسیاب شد و به همراه۱۷۰۰میلی‌لیتر آب به دستگاه اولتراسوند (IKA-T25, Germany) در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد با توان۱۰۰و۷۰ درصد و فرکانس۸۰ و۳۷ کیلو هرتز به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. سپس به سیستم کلونجر به مدت ٤ ساعت منتقل شد. اسانس و عصاره به صورت جداگانه جداسازی شدند. اسانس‌ها در ویال‌های شیشه‌ای تیره رنگ در دمای ۱۸- درجه سانتیگراد تا زمان آزمایش نگهداری شدند[۱۹]. در اینجا نیز به منظور انجام آزمایشات لازم روی عصاره حاصل از این روش، مقدار ۱۰۰ سی‌سی از اسانس باقیمانده در بالن کلونجر برداشته، خشک و در ظروف تیره رنگ و در بسته تا زمان انجام آزمایشات مربوطه، در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد، نگهداری شد.

۲-۳- راندمان استخراج اسانس و عصاره

ابتـدا وزن اسانس‌حاصل، انـدازه‌گیـری و بـرای محاسبه بازده وزنی/وزنی، با استفاده از ترازوی آزمایشگاهی بـا دقـت ۰/۰۱ (Shimadzu, Japan) و فرمول (۱) درصد اسانس‌تعیین‌شد:

$$\text{Eseence Effeiciency} = \frac{(m_{s,p} - m_p)}{m_s} \times 100 \quad (۱)$$

که در رابطه فوق $m_{s,p}$و m_p به ترتیـب وزن پلیـت و نمونـه و وزن پلیت خالی هستند و m_s وزن خشک گیاه می‌باشد.

همچنین، به منظور بدست آوردن راندمان عصاره از فرمول (۲) استفاده شد:

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-10-04]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.121.16.0]
[DOI: 10.52547/fsct.18.121.5]

$$\text{Effeiciency} = \frac{(m_{de})}{m_m} \times 100 \quad (۲)$$

که در رابطه فوق m_{de} و m_m بـه ترتیـب وزن عـصاره خـشک شده و وزن ماده اولیه می‌باشند.

۲-٤- جداسازی و شناسایی ترکیبات

تفکیک ترکیبات اسانس توسط روش کروماتوگرافی‌گازی با مشخصات‌گازکروماتوگراف (Shimadzu) مدل 9A، نوع ستون DB-5، طول۳۰ متر، قطر داخلی۰/۲۵ میلیمتر و ضخامت فاز ساکن۰/۲۵ میکرون انجام پذیرفت. دمای اولیه ستون۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه نگهداری شد. سپس، افزایش دما تا ۲۵۰ درجه سانتیگراد در دقیقه برنامه‌ریزی شد. تزریق و آشکارسازی هردو در دمای ۲۹۰ درجه سانتیگراد انجام گرفت.گاز حامل ستون، گاز هلیم با سرعت خطی۳۲ سانتیمتر بر ثانیه بود[۱۹].

۲-۵- ارزیابی قدرت جذب رادیکال‌های آزاد

اثر آنتی اکسیدانی اسانس‌ها با استفاده از روش اندازه‌گیری ظرفیت رادیکال گیرنـــــــدگی[4] به کمک رادیکـــــــال آزاد-فنیل، ۲-۲ هیدرازیل ۱- دی پیکریل[5] مورد ارزیابی قرار گرفت.DPPH ترکیبی بنفش رنگ است که به دلیل حضور گروه‌های فنیل در ساختار آن به راحتی به صورت رادیکال در آمده و یـــک رادیکال آزاد می‌باشد. این‌ترکیب با گرفتن یک الکترون از ترکیب آنتی‌اکـسیدان از رنـگ بنفش به زرد تغییر رنگ‌می‌دهد. در این روش برای‌مقایسه اثر آنتی اکسیدانـــــی اسانس زیـره از بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن‌استفاده شد. نمونه‌ها با غلظت‌های متفاوت با یک میلی‌لیتر از محلول ۰/۵ میلـــــــی مولارDPPH مخلوط و به وسیله متانول ٪۹۵ به حجم ٤ میلی‌لیتر رسانـده و بـه مدت۳۰ دقیقه در تاریکی قـرار داده شـــدند. جذب محلول‌ها در طول‌موج۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (مـــــــدلCT-5700) خوانده شد. درصدRSC توسط فرمول (۳) محاسبه‌گردید:

$$RSC(\%)=100 \times (A_b - A_s/A_b) \quad (۳)$$

در این فرمول A_b و A_s به ترتیب میزان جذب شاهد و نمونه می‌باشند.

۲-٦- ارزیابی ترکیبات فنولیک

برای اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی از معـرف Follin-Ciocalteu استفاده شـــد. بـــدین منظـــور غلظت‌های ۰،۵۰،۱۰۰،۲۵۰،۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید گالیک تهیه و ۲۰ میکرولیتر از هـر غلظـت بـا ۲میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر از معرف مخلوط شدند. در این آزمایش۲۰ میکرولیتر ازاسانس‌هاباغلظت ۱۰ گرم بر لیتر، با معرف مخلوط شـدند و محلول‌ها به مدت۳۰ دقیقه در تاریکی قـرار داده شـدند. نهایتا جذب محلول‌ها در ۷٦۵ نانومترتوسط دستگاه اسپکتروفتـــومتر قرائت شدند[۱۷].

۲-۷- تعیین حداقل غلظت ممانعـت کننـده از رشد باکتری (MIC)

جهت ارزیابی شاخص (MIC) ابتدا کشت باکتریایی از باکتری‌های *اشرشیاکلی* ٤٦۳۸۹ ATCC و *استافیلوکوکوس اورئوس*۹۵۳۸ ATCC در محیط کشت مولر هینتون به مدت ۲٤ ساعت برای تمامی باکتری‌های مذکور انجام شد، سپس برای تهیه سوسپانسیون باکتریایی با استاندارد ۰/۵مک فارلند، ابتدا باکتری‌های لیوفلیزه به طور جداگانه روی محیط کشت مولر هینتون براث (مرک، آلمان) تلقیح و کشت میکروبی به منظور رسیدن به فاز لگاریتمی به مدت ۲٤ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد.

۲-۸- تعیین حداقل غلظت کشندگی(MBC)

به منظـور بررسـی حـداقل غلظـت کـشندگی، بـه میـزان ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های تعیین شده در روش MIC، بـه طـور جداگانه روی محیط کشت مولر هینتون آگار منتقـل گردیـد و به مدت ۲٤ ساعت در انکوباتور۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد.

۲-۹- تعیین قطر هاله عدم رشد

جهت ارزیابی مقدار ۱۰۰میکرولیترکشت میکروبی مورد نیاز با رقت 10^6Cfu/mlبرای باکتری‌های پاتوژن از سوسپانسیون نیم مـک فارلنـد($1.5*10^8$ Cfu/ml) تهیـه گردیـد و در محـیط کشت مولرهینتون آگار به صورت چمنـی کـشت داده شـد. در مرحلـــه بعـــد از اســـانس مـــذکور در غلظـــت‌هـــای (۲۵۰۰۰،۵۰۰۰۰،۱۰۰۰۰۰،۱۵٦۲، ۳۱۲۵،٦۲۵۰،۱۲۵۰۰میلی گرم بر میکرولیتر) در چاهک‌هایی که بـه فاصـله ۱۵ سـانتی‌متـر از یکدیگر در محیط کشت ایجاد شده بود به مقدار ۸۰ میکرولیتر تزریق گردید. از آنتی بیوتیک جنتامایسن به عنوان شاهد مثبت و از حلال اتانول به عنـوان شـاهد منفـی اسـتفاده شـد. پتـری

4. RSC:Radical Scavenging Capacity
5. DPPH

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-10-04]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.121.16.0]
[DOI: 10.52547/fsct.18.121.5]

دیش‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری و میانگین مربوطه گزارش شد[۱۰].

۲-۱۰- آنالیز آماری

آنالیز آماری شامل تجزیه واریانس داده‌ها برای تیمارهای با دوزهای مختلف، به‌کارگیری اسانس‌زیره سیاه در تست آنتی اکسیدانDPPH و همچنین مقایسه میانگین به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن بود که توسط نرم افزار SAS نسخه ۱۶ انجام پذیرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- جداسازی و شناسایی ترکیبات اسانس و عصاره

خلاصه نتایج حاصل از تفکیک اسانس زیره سیاه و شناسایی‌موادو نیزنمونه‌ای از کروماتوگرام اسانس زیره سیاه استخراج شده به روش کلونجربه ترتیب در جدول ۱ و شکل۱ آورده شده است. در این نمودار ستون افقی زمان بازداری[6]و ستون عمودی شاخص بازداری[7] می‌باشد. در جدول ۱ ترکیبات تشکیل دهنده اسانس زیره سیاه همراهبا زمان‌بازداری و درصد هر ترکیب مشاهده می‌شود. در ترکیباتی که در اسانس استخراج شده به روش کلونجر به دست آمده به ترتیب صعودی شامل گاما-ترپینن، کومینال، پی سیمن، الفا- ترپینن ۷- ال، گاما-تربینن-۷ -ال و دی لیمونن بودند. همان‌گونه که داده‌ها نشان می‌دهد بیشترین ترکیب تشکیل دهنده و استخراج شده از اسانس زیره سیاه به روش کلونجر، ترکیب گاما ترپینن با ۳۰/۰۳ درصد و کمترین ترکیب دو-تیوژن با ۰/۳۷ درصد می‌باشد. رفیعی و همکاران (۲۰۱۷) ترکیبات عمده اسانس زیره سیاه را گاما-ترپینن، کومین آلدهید و آلفا ترپینن گزارش نمودند که تا حدودی مشابه ترکیبات اسانس زیره سیاه در مطالعه حاضر می‌باشد. آنها مهم‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده زیره سیاه را گاما-ترپینن (۲۴/۲۱ درصد) و کومین آلدهید (۲۱/۰۷ درصد) پاراسیمن (۱۶/۵۶درصد) بیان نمودند[۲۰].

6. Retention time
7. Retention index

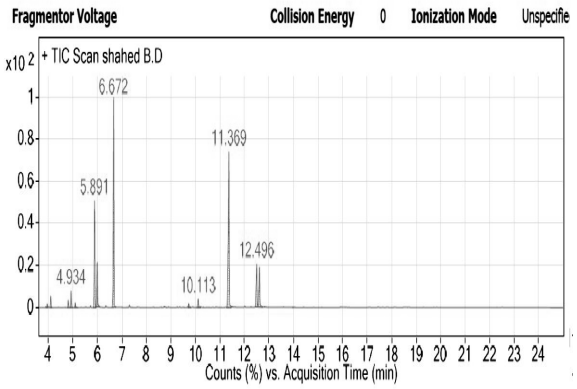

Fig 1 GC/MS chromatogram of black caraway extracted by Clevenger.

Table 1 The composition of black caraway extracted by Clevenger method, Retention time and area (from less to high amount).

	Compound	Retention time (min.)	Area Sum (%)
1	2-thujene	3.956	0.37
2	α-pinene	4.099	1.21
4	sabinen	4.812	0.8
5	β-pinene	4.934	1.94
6	β-myrcene	5.097	0.57
7	P-cymene	5.891	13.46
8	D-limonene	6	6.06
9	γ-terpinen	6.672	30.03
10	-4-Terpineol	9.727	0.56
11	3-p-Menthen-7-al	10.113	1.38
12	Cuminal	11.369	29.31
13	α-terpinen-7-al	12.496	7.23
14	γ-terpinen-7-al	12.612	7.08
Total			100

همانطورکه در جدول ۲ و شکل ۲ مشخص است بیشترین ترکیب تشکیل دهنده و استخراج شده از اسانس زیره سیاه استخراج شده به روش اولتراسوند (۸۰/۱۰۰)، ترکیب گاما ترپینن با۳۱/۰۴ درصد که نسبت به روش استخراج کلونجر، مقدار این ترکیب بیشتر بوده است و کمترین‌ترکیب، دو-تیوژن با ۰/۳۷ درصد می‌باشد. همچنین در ترکیباتی که در اسانس استخراج شده به روش اولتراسونیک به دست آمده است ترکیبات به ترتیب صعودی شامل گاما ترپینن، کومینال، او سیمن، الفا-ترپینن-۷- ال،گاما-تربینن-۷-ال و دی لیمونن بودند. که ترکیب او سیمن به مقدار ۱۴/۳۸ درصد و ترکیب

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-10-04]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.121.16.0]
[DOI: 10.52547/fsct.18.121.5]

پیمنت-۲-ان-۷- ال ترانس به میزان ۰/۳۷ درصد نیز استخراج شده است.

فضل‌آرا و همکاران (۲۰۱۲) ترکیبات عمده اسانس زیره سیاه را به سه گروه ترپن هیدروکربن‌ها شامل ترکیبات (آلفا پینن، بتا پینن، سابینن، پاراسیمن، ترپینن) آلدهیدها شامل ترکیبات (کومین آلدهید، پارامنتا-۱و۲ دی ان-۷- ال، پارامنتا-۱ و ٤-دی ان-۷- ال) و الکلها شاملترکیبات اکومین الکل، پریال الکل، ترانس وربنول، فنکول) تقسیم‌بندی نمودند[۲۱].

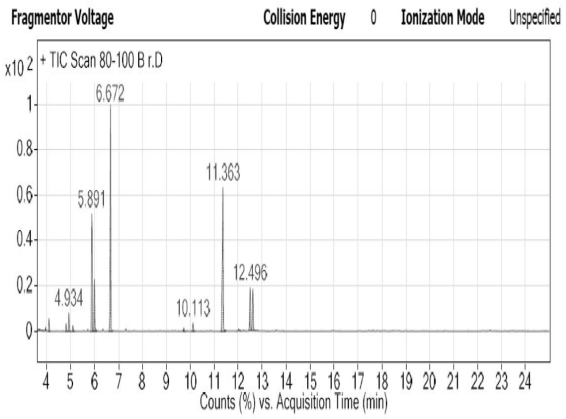

Fig 2 GC/MS chromatogram of black caraway extracted by ultrasound assisted (80/100).

Table 2 Composition of black caraway extracted by ultrasound assisted (80/100), retention time and area (from less to high amount).

	Compound	Retention time (min.)	Area Sum (%)
1	2-thujene	3.956	0.37
2	IR-α-pinene	4.106	1.33
3	sabinen	4.812	0.83
4	β-pinene	4.934	2.02
5	β-myrcene	5.097	0.63
6	O-Cymene	5.891	14.38
7	D-limonene	6	6.49
8	γ-terpinen	6.672	31.04
9	(-)-4-Terpineol	9.733	0.44
10	3-p-Menthen-7-al	10.113	1.2
11	Cuminal	11.363	25.85
12	p-Menth-2-en-7-ol,trans-	12.021	0.32
13	α-terpinen-7-al	12.496	7.16
14	γ-terpinen-7-al	12.612	7.2
Total			99.26

در تحقیقی که امیری و همکاران (۱۳۹۲) انجام دادند بیشترین میزان ترکیب استخراج شده از زیره سیاه را به گاما ترپینن (۲٤ درصد) نسبت دادند[۲۲]. این نتایج با نتایج مطالعه حاضر یکسان بود. کوثری و همکاران (۲۰۰٤) همچنین بیان داشتند که قسمتهای مختلف گیاه که در اسانس‌گیری به کار می‌رود شامل (شاخه‌های اولیه، شاخه‌های ثانویه و ارتفاع گیاه) نیز بر روی محتوای اسانس تاثیر گذار است.

۳-۲- ارزیابی راندمان استخراج اسانس و عصاره

شکل ۳ میزان راندمان استخراج اسانس توسط تیمارهای مختلف زیره سیاه را نشان می‌دهد. با توجه به نتایج، روش استخراج به طور معنی‌داری بر راندمان استخراج اسانس تاثیر داشته است، به طوری که راندمان استخراج اسانس در تیمار اولتراسونیک با فرکانس ۳۷ کیلوهرتز و توان ۱۰۰ درصد و پس از آن تیمار ۳۷ کیلوهرتز و توان ۷۰ درصد بیشترین مقدار بوده است.بیشترین راندمان استخراج اسانس در روش کلونجر ۲/۰٤ درصد و در روش اولتراسوند (۸۰/۱۰۰) حدود ۲/۵ درصد بوده است.

همان طور که در شکل ۳ دیده می شود، راندمان استخراج عصاره در تیمار اولتراسونیک با فرکانس ۳۷ کیلوهرتز و توان ۱۰۰ درصد و پس از آن تیمار ۳۷ کیلوهرتز و توان ۷۰ درصد بیشترین مقدار بوده است.که با نتایج راندمان استخراج اسانس همخوانی داشته است و نشان می‌دهد که روش استخراج به طور معنی‌داری بر راندمان استخراج عصاره تاثیر داشته است.بیشترین راندمان استخراج عصاره در روش کلونجر ۰/۷۵ درصد و در روش اولتراسوند (۸۰/۱۰۰)حدود ۱ درصد بوده است. به نظر می‌رسد در تیمار با فرکانس ۸۰ هرتز به دلیل افزایش طول موج، منجر به کاهش اثر بر فرایند استخراج شده و ضریب نفوذ فرکانس کاهش یافته است که در نتیجه راندمان کاهش یافته است. شلماشی و همکاران (۱۳۸۹) با مطالعه بر عصاره گیری با استفاده از تکنیک اولتراسوند و مقایسه آن با روش سنتی سوکسله دریافتند که بازدهی استخراج عصاره با تکنیک التراسوند بسیار بالاتر از روش سنتی سوکسله بوده است[۲۳]. احمدیان و همکاران (۲۰۱۵) با بررسی استخراج ترکیبات موثره عصاره گلبرگ زعفران با کمک امواج فراصوت با شدت ۱۰۰٪ و ۲۰٪ دریافتند که هرچه شدت امواج فراصوت بیشتر باشد، استخراج ترکیبات موثره نیز بیشتر می شود[۲٤]. که نتایج این مطالعه، مطابق با این پژوهش بوده است. همچنین زو و همکاران (۲۰۱۳) دریافتند که افزایش توان دستگاه التراسونیک از ۲۰ به ۱۰۰ درصد سبب افزایش

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-10-04]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.121.16.0]
[DOI: 10.52547/fsct.18.121.5]

بازده استخراج ترکیبات شده است، زیرا در اثر انتشار امواج فراصوت در فاز جامد-مایع، چرخه‌های انقباض و انبساطی در محیط ایجاد شده که سبب تشکیل حباب‌های بزرگ‌تر و در نهایت متلاشی شدن دیواره سلول‌ها می‌شود[۲٤]. باتوجه به این موضوع که در گیاهان ترکیبات قطبی و غیر قطبی وجود دارند و با توجه به اینکه در این پژوهش حلال استخراج اسانس و عصاره آب بوده است، بنابراین می‌توان علت تفاوت در میزان اسانس و عصاره استخراج شده را غیر قطبی بودن اسانس و قطبی بودن حلال (آب) و از طرفی ماهیت قطبی بودن عصاره و حلال دانست. در قسمت ترکیبات فنلی نتایج نشان داده شد که بیشترین میزان ترکیبات فنلی در تیمار اولتراسونیک با فرکانس ۸۰ کیلوهرتز و توان۱۰۰ درصد و فرکانس ۳۷ کیلوهرتز با توان ۱۰۰ درصد بوده است.

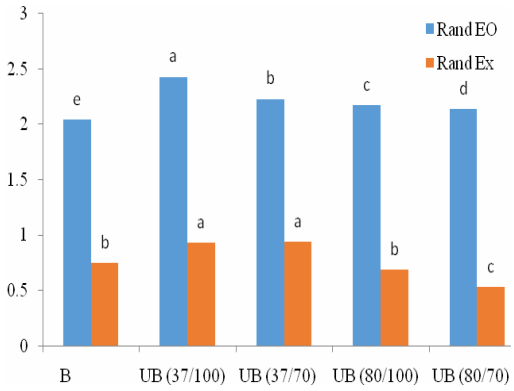

Fig 3 Effect of Ultrasound assisted method on the extraction efficiency of caraway essential oil (Rand EO) and extract (Rand EX).

۳-۳- اثر روش استخراج بر ترکیبات فنلی اسانس و عصاره

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که روش استخراج بر میزان ترکیبات فنلی استخراج شده تاثیر معنی‌داری داشته است. با توجه به شکل٤، بیشترین مقدار ترکیبات فنلی در روش اولتراسوند نسبت به روش کلونجر استخراج شده و بیشترین مقدار در بین تیمارهای اولتراسوند در اسانس زیره سیاه، در تیمار با فرکانس۸۰ کیلوهرتز و توان ۱۰۰ درصد بوده است که باتیمار با فرکانس۳۷ کیلوهرتز و توان ۱۰۰ درصد تفاوت معنی‌داری نداشته است،که با نتایج راندمان استخراج نیز مطابقت دارد. بیشترین مقدار ترکیبات فنولیک برحسب اسید گالیک برای اسانس در روش کلونجر۱۳/۲میلی گرم گالیک اسید به ازای ۱۰۰ گرم ماده خشک، و در روش اولتراسوند با تیمار(۸۰/۱۰۰) ۱۸/٦٥ میلی‌گرم به ازای ۱۰۰ گرم ماده خشک بوده است. همچنین بنظر می‌رسد علت کاهش ترکیبات فنلی در تیمار با فرکانس ۸۰ و توان ۷۰ به دلیل افزایش قدرت نفوذ امواج فراصوت و در نتیجه تخریب ترکیبات فنولی شده است که در نتیجه منجر به کاهش مقادیر فنولی شده است.

همان طور که در شکل ٤ مشاهده می‌شود، روش استخراج بر میزان ترکیبات فنلی استخراج شده تاثیر معنی‌داری داشته است.براین اساس بیشترین میزان ترکیبات فنلی استخراج شده از عصاره زیره سیاه در تیمار اولتراسوند با فرکانس۸۰ کیلوهرتز و توان ۱۰۰ درصد بوده است که باتیمار با فرکانس۳۷ کیلوهرتز و توان ۱۰۰ درصد تفاوت معنی‌داری نداشته است.همچنین بیشترین مقدار ترکیبات فنولیک برحسب اسید گالیک برای عصاره۱۹ در روش کلونجر به میزان ۱۱۱/۰۹ و در روش اولتراسوند با تیمار (۸۰/۱۰۰) ۱٤۱/۱۹میلی‌گرم گالیک اسید به ازای ۱۰۰ گرم ماده خشک بوده است.

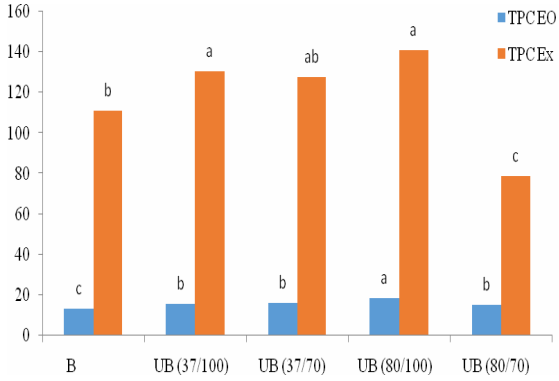

Fig 4 Effect of Ultrasound assisted method on the total phenolic compound of caraway essential oil (TPC EO) and extract (TPC Ex).

البوو همکاران (۲۰۰٤)گزارش کردند که استفاده از روش اولتراسوند باعث افزایش کارتوسیک اسید استخراج شده از رزماری می‌شود، آنها نشان دادند اندازه‌گیری مقدارکلی ترکیبات فنولیک عصاره‌های استخراجی به روش‌های غرقایی و اولتراسوند حاکی از آن بود که روش استخراج تأثیر به سزایی بر میزان کل ترکیبات فنولیک دارد. تنش برشی حاصل از امواج مافوق صوت باعث شکسته شدن مولکول‌های پلیمری بزرگ و در نتیجه باعث استخراج بهتر ترکیبات فنولیک نسبت به روش غرقابیشده است[۱٥]. یاکینو و همکاران (۲۰۰۹) ضمن بررسی روند استخراج ترکیبات فنولیک از نوعی از مرکبات بیان داشتند که استفاده از اولتراسوند باعث افزایش معنی‌داری در استخراج ترکیبات فنولیک نسبت به روش غرقابی شده است[۲٦]. در

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-10-04]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.121.16.0]
[DOI: 10.52547/fsct.18.121.5]

پژوهشی دیگر که روی استخراج ترکیبات فنولی از میوه *گارسینا ایندیکا* صورت گرفت، محققین بالاترین میزان استخراج ترکیبات فنولی را به صوت‌های بالاتر نسبت دادند [۲۷].

دی و همکاران در مطالعه ای به بررسی تاثیر شدت امواج فراصوت بر جداسازی کارتنویدها از گیاه *Spirulina platensis* پرداختند و دریافتند که با افزایش میزان شدت امواج فراصوت،انرژی بیشتری به محیط منتقل می‌شود که سبب ایجاد پدیده حفره‌زایی با شدت بیشتری می‌شود[۱۶]. پودی و همکاران(۱۳۹۶) با مقایسه ترکیبات فنولی استخراج شده از برگ گیاه فیجوا با کمک امواج فراصوت دریافتند که هرچه شدت امواج فراصوت تا مقدار مشخص،بیشتر شود،حباب های بیشتری تولید می شود [۸]. در مطالعه دیگری قربانی و همکاران با بررسی تاثیر شرایط عصاره گیری با امواج فراصوت بر عملکرد و خواص اکسایشی عصاره گیاه رازیانه دریافتند که به منظور استخراج بیشتر عصاره گیاه رازیانه، استفاده از امواج فراصوت سبب دستیابی به بیشترین مقدار ترکیبات فنولی می‌شود[۲۲]. این یافته‌ها با نتایج این پژوهش همخوانی نشان داده است. به طور کلی می‌توان علت افزایش استخراج ترکیبات فنلی در مطالعه حاضر را این موضوع دانست که افزایش توان امواج، سبب افزایش میزان استخراج ترکیبات فنولی می‌شود،که این امر به دلیل تشدید انتقال جرم ناشی از فروپاشی حباب‌های کاویتاسیون در نزدیکی دیواره‌های سلولی می‌باشد. همچنین در زمان فروپاشی حباب‌های کاویتاسیون، یک جریان سریع امواج فراصوت ایجاد می‌گردد که به عنوان میکروپمپ عمل کرده و می‌تواند موجب استخراج بیشتر ترکیبات فنولی شود[۲۸].

۳-٤- ارزیابی اثر روش استخراج بر میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره

با توجه به نتایج تجزیه واریانس و شکل۵ معلوم شد که پس از آنتی اکسیدان‌های مصنوعی بوتیل هیدروکسی اسیدو اسید آسکوربیک، بیشترین مقدار فعالیت آنتی اکسیدانی در اسانس زیره سیاه در تیمار اولتراسونیک با فرکانس ۸۰ کیلوهرتز و توان ۱۰۰ درصد بوده است. همین طور بیشترین میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی در اسانس استخراج شده در روش کلونجر ۳۷/۱۸۵ درصد و در روش اولتراسوند با فرکانس ۸۰ کیلوهرتز و توان ۱۰۰ درصد(۸۰/۱۰۰)به میزان ٤٦/٦٢٢ درصد بوده است.

با توجه به نتایج نشان داده شده در شکل ۵ مشاهده می‌شود که بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی پس از آنتی اکسیدان‌های مصنوعی بوتیل هیدروکسی اسید و اسید آسکوربیک، در عصاره زیره سیاه در تیمار اولتراسونیک با فرکانس ۳۷ کیلوهرتز و توان ۱۰۰ درصد بوده است که با تیمار با فرکانس ۸۰ کیلوهرتز و توان ۷۰ درصد تفاوت معنی‌داری نداشته است. که این تیمار در نتایج راندمان و میزان ترکیبات فنولی نیز بیشترین مقدار را داشته‌اند. همچنین بیشترین میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در عصاره استخراج شده در روش کلونجر ۲۵/٦۳٤ درصد ودر روش اولتراسوند با فرکانس ۳۷ کیلوهرتز و توان ۱۰۰ درصد (۳۷/۱۰۰) به میزان ۲۷ /۷۹۱ درصد بوده است.

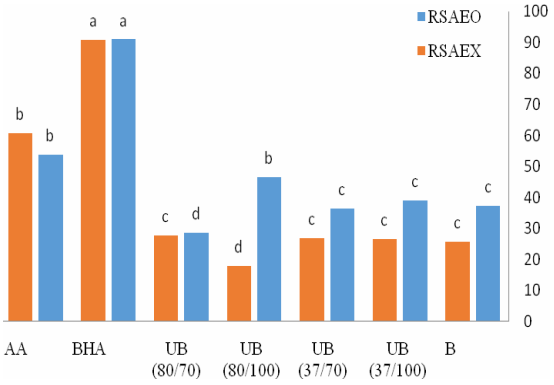

Fig 5 Effect of Ultrasound assisted method on the antioxidant activities of caraway essential oil (EO) and extract (Ex).

در پژوهش حاضر در بخش ارزیابی ترکیبات آنتی اکسیدانی در اسانس و عصاره نشان داده شد که بیشترین میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی در اسانس و عصاره به ترتیب در تیمار اولتراسونیک با فرکانس ۸۰ کیلوهرتز و توان ۱۰۰ درصد و فرکانس ۳۷ کیلوهرتز و توان ۱۰۰ درصد بوده است. احمدیان و همکاران(۲۰۱۵) با بررسی استخراج ترکیبات موثره گلبرگ زعفران با کمک امواج فراصوت دریافتند که شدت صوت۱۰۰ درصد،بیشترین تاثیر را بر میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی دارد[۲٤]. در پژوهشی که توسط سایر محققین بر روی استخراج عصاره از میوه داغداغان به کمک امواج فراصوت صورت گرفت، بیشترین درصد بازدارندگی رادیکال‌های آزاد DPPH را به بیشترین شدت صوت نسبت داده‌اند[۱۱]. پودی و همکاران (۱۳۹٦) با مقایسه ترکیبات فنولی استخراج شده از برگ گیاه فیجوا با کمک امواج فراصوت دریافتند که قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH به

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-10-04]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.121.16.0]
[DOI: 10.52547/fsct.18.121.5]

دلیل بیشتر بودن میزان کل ترکیبات فنولی استخراج شده از برگ گیاه فیجوا با استفاده از شدت صوت بالا بوده است و هرچه شدت صوت بالاتر،استخراج ترکیبات فنولی بیشتر و در نتیجه فعالیت آنتی اکسیدانی نیز بیشتر است [۸]. که این گزارش با نتایج پژوهش ما مطابقت نشان داد. در واقع علت خروج بیشتر ترکیبات آنتی اکسیدانی در این تیمارها (۸۰/۱۰۰ و ۳۷/۱۰۰) در پژوهش حاضر را می‌توان به استخراج بیشتر ترکیبات پلی فنولی و فلائونوئیدی در شدت صوت۱۰۰ درصد و در نتیجه افزایش تخریب دیواره‌های سلولی و خروج بیشتر این مواد نسبت داد.

۳-۵- ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی MIC و MBC

همان طور که نتایج آزمایش MICوMBCدر جدول۳نشان می‌دهد،حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی اسانس روی باکتری *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در تیمار فراصوت با فرکانس ۸۰ کیلوهرتز و توان ۱۰۰ درصد(۸۰/۱۰۰)به ترتیب در غلظت‌های ۲۵۰۰۰ و ۵۰۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است. بنابراین، می‌توان نتیجه گیری کرد که امواج فراصوت به دلیل قدرت نفوذ بالا، وارد ساختار میکروارگانیسم شده و در نتیجه به دلیل تخریب دیواره سلولی آنها، میزان اسانس و عصاره بیشتری از سلول‌های زیره آزاد و در نتیجه مهارکنندگی و کشندگی افزایش داشته است. به عبارتی، نقش محافظت کنندگی دیواره سلولی در مقابل ترکیبات ضدمیکروبی اسانس و عصاره زیره سیاه کاهش یافته است.

نتایجمطالعه حاضر در اسانس زیره سیاه، سیزده جزء را شناسایی کرد. کومینال، گاما ترپینن، پارا - منتا او٤ دی ان ۷ آل، بتا پینن و پارا - منتا او۳ دی ان ۷ إل اجزای عمده بودند.در اجزای استخراج شده در اسانس زیره سیاه در تحقیق حاضربه ترتیب به میزان ۷/۱٦ و ۰/۸۳ درصد مشاهده شده است. طی این مطالعه حضور میزان بالای کومینال (حدود ۲٦ درصد) در اسانس زیره سیاه می‌تواند فعالیت ضد باکتریایی آن را توضیح دهد. همچنین اجزای فرعی اسانس یعنی آلفا پینن[8]، سابینن[9]هم دارای فعالیت ضد باکتریایی هستند[۱۲]. طی مطالعه‌ای نشان داده شد که اسانس زیرهاثر ضدباکتریایی قابل قبولی روی سویه‌های اشریشیا کلی و *استافیلوکوکوس اورئوس* دارد[۲۹]. در پژوهشی دیگر،اثرضدمیکروبی زیره سیاه روی *اشریشیا کلی* و *سالمونلا تیفی*اثبات شده است [۳۰]. رنجبریان و همکاران (۱۳۸۳) طی مطالعه‌ای اثر ضد باکتریایی چهار عصاره گیاهی از جمله زیره سیاه را بر *هلیکوباکترپیلوری*، *اشرشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بررسی کردند. آنها نشاندادند که عصاره‌ی زیره سیاه رشد این باکتری‌ها را مهار می‌کند[۳۱].

Table 3 MIC and MBC results for E.coli and S.aureous in terms of mg/ml.

	S.aureous		E.coli	
ST/EC	MIC	MBC	MIC	MBC
Clevenger	25000	50000	50000	50000
Ultrasound assisted (80/100)	25000	50000	25000	50000

۳-٦- ارزیابی قطر هاله عدم رشد(چاهک)

طبق نتایج بدست آمده بیشترین قطر هاله عدم رشد(چاهک) مربوط به تیمار فراصوت با فرکانس ۸۰ کیلوهرتز و توان ۱۰۰ درصد (۸۰/۱۰۰) بر روی باکتری اشرشیاکلیو به میزان ۱٤ میلی‌متر بوده است (جدول ٤).

Table 4 Evaluation of inhibition of essential oil on the growth of E.coli and S.aureous.

Replication	Essential oil	
	Ultrasound 80/100	Clevenger
E.coli	14	18
S.aureous	10	12

٤- نتیجه‌گیری

بیشترین ترکیبات اسانس زیره سیاه استخراج شده به روش کلونجر شامل گاما-ترپینن، کومینال، پی سیمن، الفا- ترپینن ۷- ال،گاما-تربینن-۷ -ال و دی لیمونن بودند، در مقابل بیشترین ترکیبات اسانس زیره سیاه استخراج شده به روش فراصوت شامل گاما ترپینن، کومینال، او سیمن، الفا-ترپینن-۷- ال،گاما-تربینن-۷-ال و دی لیمونن بودند. بر این اساس، روش استخراج به طور معنی‌داری بر راندمان استخراج اسانس تاثیر داشته است، به طوری که راندمان استخراج اسانس در تیمار اولتراسونیک با فرکانس ۳۷ کیلوهرتز و توان ۱۰۰ درصد و پس از آن تیمار ۳۷ کیلوهرتز و توان ۷۰ درصد بیشترین مقدار بوده است. بیشترین راندمان استخراج اسانس در روش کلونجر

8 . α-pinene
9. Sabinene

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-10-04]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.121.16.0]
[DOI: 10.52547/fsct.18.121.5]

۲/۰٤ درصد و در روش اولتراسوند (۸۰/۱۰۰) حدود ۲/۵ درصد بوده است. باتوجه به این موضوع که در گیاهان ترکیبات قطبی و غیر قطبی وجود دارند و با توجه به اینکه در این پژوهش حلال استخراج اسانس و عصاره آب بوده است، بنابراین می‌توان علت تفاوت در میزان اسانس و عصاره استخراج شده را غیر قطبی بودن اسانس و قطبی بودن حلال (آب) و از طرفی ماهیت قطبی بودن عصاره و حلال دانست. بیشترین میزان ترکیبات فنلی در تیمار اولتراسونیک با فرکانس ۸۰ کیلوهرتز و توان۱۰۰ درصد و فرکانس ۳۷ کیلوهرتز با توان ۱۰۰ درصد بوده است. روش استخراج بر میزان ترکیبات فنلی استخراج شده تاثیر معنی‌داری داشته است. همچنین، بیشترین مقدار ترکیبات فنولیک برحسب اسید گالیک برای عصاره ۱۹ در روش کلونجر به میزان ۱۱۱/۰۹ و در روش اولتراسوند با تیمار (۸۰/۱۰۰) ۱٤۱/۱۹ میلی‌گرم گالیک اسید به ازای ۱۰۰ گرم ماده خشک بوده است. به طور کلی می‌توان علت افزایش استخراج ترکیبات فنلی در مطالعه حاضر را این موضوع دانست که افزایش توان امواج، سبب افزایش میزان استخراج ترکیبات فنولی می‌شود،که این امر به دلیل تشدید انتقال جرم ناشی از فروپاشی حباب‌های کاویتاسیون در نزدیکی دیواره‌های سلولی می‌باشد. همچنین در زمان فروپاشی حباب‌های کاویتاسیون، یک جریان سریع امواج فراصوت ایجاد می‌گردد که به عنوان میکروپمپ عمل کرده و می‌تواند موجب استخراج بیشتر ترکیبات فنولی شود. بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی پس از آنتی اکسیدان‌های مصنوعی بوتیل هیدروکسی اسید و اسید آسکوربیک، در عصاره زیره سیاه در تیمار اولتراسونیک با فرکانس ۳۷ کیلوهرتز و توان ۱۰۰ درصد بوده است که با تیمار با فرکانس ۸۰ کیلوهرتز و توان ۷۰ درصد تفاوت معنی‌داری نداشته است. که این تیمار در نتایج راندمان و میزان ترکیبات فنولی نیز بیشترین مقدار را داشته‌اند. همینچنین بیشترین میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در عصاره استخراج شده در روش کلونجر ۲۵/٦۳٤ درصد ودر روش اولتراسوند با فرکانس ۳۷ کیلوهرتز و توان ۱۰۰ درصد (۳۷/۱۰۰) به میزان ۲۷/۷۹۱درصد بوده است. نتایجنشان داد که حضور میزان بالای کومینال (حدود ۲٦ درصد) در اسانس زیره سیاه می‌تواند فعالیت ضد باکتریایی آن را توضیح دهد. همچنین اجزای فرعی اسانس یعنی آلفا پینن، سابینهم دارای فعالیت ضد باکتریایی هستند. با توجه به نتایج تحقیق حاضر میتوان بیان کرد که تیمار اولتراسوند تاثیر چشمگیری دربهبود خصوصیات فیزیکوشیمیایی و ضدباکتریایی اسانس و عصاره زیره سیاه داشته است و بیشترین تاثیر نیز در تیمار با فرکانس های۸۰ و ۳۷کیلوهرتز و توان۱۰۰ درصد بوده است. به طور کلی، نتایج این تحقیق نشان داد که اسانس و عصاره زیره سیاه می‌تواند برای حفاظت از مواد غذایی در مقابل انواع سیستم‌های اکسیداتیو و میکروارگانیسم‌های عامل عفونت مورد استفاده قرار گیرد.

۵- منابع

[1] Azimzadeh M. Genetic assessment of Iranian Bunium persicum Boiss using ITS.MSc[thesis]. Tehran: University of Tehran 2009.[Persian].

[2] Dehkhoda AA. Dictionary of Persian words. Vol 3.Tehran: University of Tehran; 1957. p. 879.[Persian].

[3] Pour-seyedi S. Assessment of germination and cytology of three Iranian caraway genus: Bunium, Carum and Cuminum. Tehran: University of Tehran; 1994. [Persian].

[4]Trease GE, Evans WC. Pharmacognosy. London: Bailer Trindall; 1972.p. 515.

[5] Steinegger E, Hansel R. Lehrbuch der pharmacognosie auf phytochemischer grundlage. Berlin: Springer Verlag; 1972. p. 348-82.

[6]Haghiroalsadat F, Bernard F, Kalantar SM, Sheikhha MH, Hokmollahi F, Azimzadeh M, et al. Bunium persicum(Black Caraway) of Yazd province: chemical assessment and Evaluation of its antioxidant effects. J Shaheed Sadoughi Univ Med Sci 2010; 18(4): 284-91. [Persian]

[7]Catoni, C., Schaefer, H.M., Peters, A. (2008). Fruit for health: the effect of flavonoids on humoral immune response and food selection in a frugivorous bird. Funct. Ecol., 22(4), 649-654.

[8]Poodi, Y., Bimakr, M., Ganjloo, A., Zarringhalami, S. (2017). Optimization and comparative evaluation of ultrasound-assisted extraction of bioactive phenolic compounds from feijoa (Feijoa sellowiana) leaves.*Innovative Food Technologies*, 5(1), 49-64. doi: 10.22104/jift.2017.506.

[9] Kamali, F., & Sadeghi Mahoonak, A., & Nasirifar, Z. (2015). The effect of ultrasound-assisted conditions on the extraction of phenolic compounds and flavonoids from autumn olive fruits (elaeagnus umbellate).journal of food technology and nutrition, 12(2 (46)), 23-32.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-10-04]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.121.16.0]
[DOI: 10.52547/fsct.18.121.5]

iranian white cheese. Iranian journal of food science and technology, 9(35), 35-44.

[22] Amiri, H., & Biraminia, L. (2014). phytochemical evalution of ferulago angulata, bunium persicumand dorema aucheri from kerman province (iran). eco-phytochemical journal of medical plants, 1(4 (4)), 1-10.

[23] Shalmashi, A., Amani, F (2010). Extraction of black cumin by ultrasound technique.Pharmaceutical plant conference, Sari, Iran.

[24] Ahmadian-Kouchaksaraie, Z., Niazmand, R. (2016). Extraction of Active Components from Saffron Petal with the Help of Ultrasound and Optimization of Extraction Conditions.*Innovative Food Technologies*, 4(1), 121-135. doi: 10.22104/jift.2016.382.

[25] Xu, Y .Pan, S. (2013). Effects of various factors of ultrasonic treatment on the extraction yield of all-translycopene from red grapefruit (Citrus paradise Macf.). Ultrason.Sonochem., 20(4), 1026-1032.

[26] Ya-Qin, Ma. Jian-Chu, Chen. 2009. Simultaneous extraction of phenolic compound of citrus peel extracts: Effect of ultrasound. Journal of Ultrasonics Sonochemistry., 16: 57-62.

[27] Herrera, M.C., De Castro, M.L. (2004). Ultrasoundassisted extraction for the analysis of phenolic compounds in strawberries. Anal Biochem., 379, 1106-1112.

[28] Ghorbani, M., & Aboonajmi, M., & Ghorbani javid, M., & Arabhosseini, A. (2017). Effect of ultrasound extraction conditions on yield and antioxidant properties of the fennel seed (foeniculum vulgare) extract. Iranian journal of food science and technology, 14(67), 63-73.

[29] Mandana, B., Russly, A.R., Farah, S.T., Noranizan, M.A., Zaidul, I.S.M., Ali, G. (2013) Supercritical carbon dioxide extraction of seed oil from wintermelon (Benincasa hispida) and its antioxidant activityand fatty acid composition. Molecules, 18, 997-1014.

[30] Nikavar B, Abolhasani F. Screening of antioxidant properties of seven umbellifreae fruits from Iran. Pak J Pharm Sci 2009; 22(1): 30-35.

[31] Ranjbaran P, Sadeghian S, Shirazi MH, Sarraf-Nejad A, Fazeli MR, Amin GH, et al. Antibacterial effects of Cinnamon verum, Bunium persicum, Foeniculum vulgare and Anethum graveolens extracts on Helicobacter pylori via disk diffusion and flow cytometry. J Hamedan Univ Medl Science 2005; 33(3):4247.

[10] Mahmoudi, R., Ehsani, A., Zare, P. (2012). Phytochemical, antibacterial and antioxidant properties of Cuminum Cyminum L. essential oil. Food industry researches journal. 22, 3.

[11]n, Z., sa., A., k, F. (2013). Effect of extraction condition with two ultrasonic methods on phenolic, flavonoids and DPPH free radical scavenging of Celtis australis extract. Journal of Food Processing and Preservation, 5(2), 115-129.

[12] Iacobellis NS, Cantore PL, Capasso F, Senatore F. Antibacterial activity of Cuminum cyminum L. and Carum carvi L. essential oils. J Agric Food Chem 2005; 53(1): 57–61.

[13] Ajith TA, Janardhanan KK. Indian medicinal mushroom as a source of antioxidant and antitumor agents. J Clin Biochem Nutr 2007; 40(3): 157-62.

[14] Preuss HG, Echard B, Brook I, Elliott TB. Minimum inhibitory concentrations of herbal essential oils and monolaurin for gram-positive and gram-negative bacteria. Mol Cell Biochem 2005; 272(1-2):29-34.

[15] Albu, S., Joyce, E., Paniwnyk, L., Lorime, J. P. and Manson, T. J. 2004. Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidant from Rosmarinus officinalis for the food and pharmaceutical industry. Ultrasonics Sonochemistry.,11(3-4):261-265.

[16] Dey, S., Rathod, V. K. (2013). Ultrasound assisted extraction of β-carotene from Spirulina platensis. Ultrasonics Sonochem., 20, 271-276.

[17] Mc Donald, S., Prenzler, P.D., Antolovich, M., Robards, K. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. Food Chem., 73(1), 73-84.

[18] Souri E, Amin G, Farsam H, Barazandeh Tehrani M. Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts. Daru 2008; 16(2): 83-7.

[19] Mekawey AAI, Mokhtar MM, Farrag RM. antitumor and antibacterial activities of [1-(2Ethyl, 6-Heptyl) Phenol] from Cuminum Cyminum seeds. J App Scienc Res 2009; 5(11):1881-1888.

[20]Rafei, S., & Azizkhani, M., & Areaei, P. (2017). Impact of antioxidative properties of cumin and tarragon essential oils on the quality of full-fat white cheese.journal of food technology and nutrition, 14(4 (56)), 79-90.

[21] Fazlara, A., & Sadeghi, E., & Rostami Soleimani, P. (2012). Study on the antibacterial effects of cuminum cyminum essential oil on listeria monocytogenes in

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-10-04]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.121.16.0]

[DOI: 10.52547/fsct.18.121.5]

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Evaluation of antioxidant and antibacterial properties of essential oil and black cumin extract extracted by Clevenger and Ultrasound methods

Sepehri, N. [1], Mortazavi, A. [2], Sadeghian, A. [3*], Pedramnia, A. [4], Mohammadi, M. [5]

1. Ph.D student, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Sabzevar Branch, Sabzevar, Iran.
2. Professor, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad (FUM), Mashhad, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Food Processing, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran.
4. Department of Food Processing, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran
5. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Sabzevar Branch, Sabzevar, Iran.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2021/ 06/ 21
Accepted 2021/ 10/ 31

Keywords:

Cumin,
E.Coli,
S.Aureus,
MIC,
Radical scavenger.

DOI: 10.52547/fsct.18.121.5

DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.121.16.0

*Corresponding Author E-Mail:
alisadeghian@yahoo.com

ABSTRACT

Essential oils and extracts of black cumin have been attracted researchers in the field of protection of raw and processed food due to their antimicrobial and antioxidant compounds. In the current study, the chemical composition, antibacterial and antioxidant properties of black cumin essential oil extracted by Clevenger and ultrasound assisted (frequencies 37 and 80 kHz and 70 and 100% power) methodswere performed and the optimization of extraction conditions according to the chemical properties of the essential oil. Antibacterial properties of black cumin essential oil against E.coli and S.aureus were measured by measuring the minimum inhibitory concentration and the minimum lethal concentration of pathogenic bacteria using micro-plate method. The antioxidant activity of essential oil was measured by examining the percentage of DPPH free radical scavenging. The results of analysis of black cumin essential oil by GCMS showed that the main composition of black cumin essential oil extracted by Clevenger method was γ-terpene with 30.03% and in ultrasound method was 31.04%. The highest efficiencies of essential oils and extracts obtained by Clevenger method were 2.04 and 0.75%, respectively, and in ultrasound method (80/100) for essential oils and extracts were 2% and 1%, respectively. The results showed that S.aureus was the most sensitive and E.coli the most resistant bacteria to cumin essential oil. Therefore, it can be stated that the extraction of black cumin essential oil by ultrasound method (80/100) could have the greatest effect on the extraction of essential oils and extracts and can be used to protect food against various systems. Benefit from oxidative and microorganisms that cause infections and food poisoning.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-10-04]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.121.16.0]
[DOI: 10.52547/fsct.18.121.5]