مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

شناسایی ترکیبات شیمیایی، پتانسیل آنتی اکسیدانی، فنل و فلاونوئید کل و اثر سمیت سلولی شوید بر رده های سلولی HT29 و HeLa

محمد گلباشی[*1]، بهروز علیزاده بهبهانی[2]

۱-استادیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

۲-دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۵

کلمات کلیدی:

شوید؛

کروماتوگرافی گازی – طیف‌سنج جرمی؛

آنتی‌اکسیدان؛

پلی‌فنول؛

فلاونوئید؛

آسیب اکسایشی.

DOI:10.22034/FSCT.22.163.231.

* مسئول مکاتبات:

Mgolbashy@asnrukh.ac.ir

چکیده

شوید (*Anethum graveolens*) از دیرباز به‌طور گسترده برای اهداف دارویی و درمانی مورد استفاده قرار گرفته است. گیاهان دارای تعداد زیادی از ترکیبات مؤثر با سمیت کمتر هستند. در این مطالعه، اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی در شرایط آزمایشگاهی عصاره آبی شوید در برابر رده‌های سلولی سرطانی HT29 و HeLa مورد بررسی قرار گرفت. اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی شوید توسط روش‌های مهار رادیکال DPPH، مهار رادیکال ABTS، ظرفیت احیا آهن فریک و جلوگیری از رنگبری بتا-کاروتن مورد ارزیابی قرار گرفت. عصاره حاوی ۸۹/۶ mg GAE/g فنول کل و ۲۵/۴۹ mg QE/g فلاونوئید کل بود. همان‌طور که توسط سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد، عصاره آبی شوید فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی قوی نشان داد که قابل مقایسه با آنتی‌اکسیدانی سنتزی دی‌بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) بود. عصاره آبی شوید همچنین پتانسیل ضد سرطان/سیتوتوکسیک وابسته به غلظت را در برابر رده‌های سلولی HT29 و HeLa نشان داد و مقادیر IC50 برای این رده‌های سلولی به ترتیب برابر با ۸۴/۵۹ و ۷۴/۹۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. بطور کلی، مطالعه حاضر نشان داد که عصاره آبی شوید قادر به استفاده برای اهداف پزشکی و غذایی به‌عنوان یک عامل آنتی‌اکسیدان و ضد سرطان می‌باشد.

۱-مقدمه

آسیب اکسایشی به آسیب وارد شده به سیستم‌های بیولوژیکی توسط گونه‌های فعال اکسیژن مانند رادیکال‌های آزاد اشاره دارد. این آسیب می‌تواند به طیف وسیعی از بیماری‌ها و فرآیندهای پیری در موجودات کمک کند. علاوه بر این، زوال اکسایشی لیپیدها یک مشکل جدی است زیرا باعث کاهش ماندگاری محصولات غذایی، کاهش ارزش غذایی آنها و تولید محصولات واکنشگر می‌شود که می‌توانند سمی‌باشند. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیبات مؤثری برای جلوگیری از اکسیداسیون لیپید هستند و آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی به دلیل اثربخشی بالا و هزینه کم، اغلب به غذاها اضافه می‌شوند. بااین‌حال، ایمنی این آنتی‌اکسیدان‌ها موضوعی است که بیشتر و بیشتر در بین مردم مورد بحث قرار می‌گیرد. آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی به دلیل توانایی آنها در تجمع در بافت‌ها و مختل کردن سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی طبیعی، اثرات منفی بالقوه‌ای بر سلامت دارند [۱-۳]. علیرغم این واقعیت که آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی بر بازار تسلط دارند، تقاضا برای آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در سال‌های اخیر افزایش یافته است و انتظار می‌رود این روند ادامه داشته باشد. این الگو را می‌توان با ترجیح رو به رشد مصرف کننده برای محصولات ارگانیک و طبیعی که حاوی مواد افزودنی کمتری هستند و ممکن است عوارض جانبی کمتری نسبت به مواد مصنوعی داشته باشند، توضیح داد [٤].

میوه‌ها، سبزیجات، ادویه‌ها، گیاهان، غلات و دانه‌ها منابع اصلی آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی هستند. فعالیت عصاره‌ها و اسانس‌های به‌دست‌آمده از این مواد گیاهی عمدتاً به وجود ترکیباتی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی، عمدتاً پلی فنول‌ها و ترپنوئیدها در ترکیب آن‌ها مرتبط است. در هر یک از آنها، آنتوسیانین‌ها، فلاونول‌ها، و تانن‌ها یا ترپن‌ها معمولاً بیشترین فراوانی را دارند. علاوه بر این، لازم به ذکر است که مزایای نسبت داده شده به عصاره‌های گیاهی را نمی‌توان به یک دسته از ترکیبات نسبت داد، بلکه به سهم چندگانه ترکیبات مختلف زیست فعال مرتبط می‌باشد. در بین ترپن‌ها، ترکیباتی مانند کامفور، کامفن، کارنوسول، کارواکرول، تیمول، آلفا-پینن، سیمن، ۱،۸-سینئول، لیمونن، گاما-ترپینن و ترپینن-٤-ال رایج‌ترین هستند. کوئرستین و کامپفرول فلاونول‌های غالب هستند، اگرچه فلاونول‌های آپیژنین، ایزورامنتین، لوتئولین، میریستین و روتین نیز شناسایی شده‌اند. علاوه بر این، اسیدهای فنولیک مانند اسیدهای کافئیک، سینامیک، کلروژنیک، فرولیک، کوئینیک، رزمارینیک و سیناپیک از جمله اسیدهای شناخته شده هستند [۵-۸].

شوید (*Anethum graveolens*) از خانواده آمبیلیفیرا (*Umbelliferae*) می‌باشد. گزارش شده است که عصاره آبی معادل ۱-٤ درصد گیاه کامل شوید است و ترکیبات اصلی آن شامل دی‌کاروون (۲۰-۳٦ درصد)، دیل‌آپیول (۱۵-۲۰ درصد)، لیمونن (۲۰-۳۰ درصد)، ترانس دی‌هیدروکاروون (۷-۱۰ درصد) و تیمول (۵-۷ درصد) می‌باشند [۹]. عصاره آبی شوید به دلیل حضور ترکیبات دی‌کاروون و لیمونن دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بوده و با حفاظت از غشاهای سلولی در بافت های کبدی، منجر به کاهش سرازیری آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز، آلانین آمینوترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز به جریان خون می‌گردد [۱۰]. علاوه بر این، حضور دی‌آپیول در اسانس شوید سبب شده است که اثر آنتی‌اکسیدانی آن بسیار قوی‌تر از فعالیت آنتی‌اکسیدانی اکثر آنتی‌اکسیدانی سنتزی مانند دی‌بوتیل هیدروکسی تولوئن و دی‌بوتیل هیدروکسی انیزول باشد [۱۱].

شوید دارای اهمیت فراوانی در صنایع دارویی و صنایع غذایی می‌باشد. بااین‌حال، اطلاعات محدودی در مورد ترکیب شیمیایی و ویژگی‌های بیولوژیکی عصاره آبی آن وجود دارد. در این مطالعه، ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره برگ شوید و قابلیت آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی آن را بطور دقیق بررسی شده است.

۲- مواد و روش‌ها

۲- ۱- استخراج عصاره آبی شوید

برای استخراج آبی شوید، ۲۰ گرم برگ خشک شوید با ۲۰۰ میلی‌لیتر آب ترکیب و به مدت ۱۰ دقیقه جوشانیده شد. پس از خنک شدن، مخلوط صاف شد و عصاره به دست آمده تا حجم نهایی ۱۰۰ میلی‌لیتر تغلیظ شد [۱۲].

۲- ۲- ترکیب شیمیایی اسانس شوید

شناسایی اجزای اسانس استخراج شده از طریق تزریق ۲ میکرولیتر از شوید به دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (TRACE MS, uest-FinniganThermoQ) به انجام شد. ستون مورد استفاده DB-5 با طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فاز ثابت ۰/۲۵ میکرومتر بود که با یک طیف‌سنج جرمی (Quadropole) متصل شده بود. دمای ستون از ٤۰ به ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۲/۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه افزایش یافت. هلیوم با سرعت ۱/۱ میلی‌لیتر در دقیقه و انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت استفاده شد. شناسایی ترکیبات با کمک طیف نرمال آلکان‌ها (C_8-C_{24}) و همچنین به دست آوردن شاخص بازداری از آن و مقایسه با شاخص کواتس گزارش شده اجزاء در نرم‌افزار NIST 05 و طیف جرمی هر جزء با کتابخانه دستگاه (Wiley7n.1) صورت پذیرفت [۱۳].

۲- ۳- محتوای فنول کل

برای این منظور، ۲۰ میکرولیتر از عصاره (با غلظت ۱۰ گرم در لیتر)، ۲ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف Folin-Ciocalteuمخلوط شد. پس از ۳ دقیقه گرمخانه گذاری، ۳۰۰ میکرولیتر محلول بی‌کربنات سدیم به آن اضافه و مخلوط به مدت ۲ ساعت هم زده شد. جذب با استفاده از اسپکتروفتومتر (Sigma3, 30k) در طول‌موج ۷٦۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد با غلظت اسید گالیک از ۰ تا ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر ایجاد و محتوای فنول کل به‌صورت میلی‌گرم معادل اسید گالیک در هر گرم عصاره (mg GAE/g) بیان گردید [۱٤].

۲- ٤- محتوای فلاونوئید کل

برای اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید کل، ۱ میلی‌لیتر از عصاره با ۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم متانولی ۲ درصد ترکیب و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی نگهداری شد. جذب نمونه در ٤۳۰ نانومتر گرفته اندازه‌گیری گردید و منحنی استاندارد با استفاده از کوئرستین ایجاد شد. محتوای فلاونوئید کل به‌صورت میکروگرم معادل کوئرستین در هر گرم وزن خشک عصاره (mg QE/g) گزارش شد [۱٤].

۲- ۵- فعالیت آنتی‌اکسیدانی

اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی شوید بر پایه روش‌های مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS، قدرت احیاکنندگی آهن فریک و جلوگیری از رنگبری بتا-کاروتن بررسی گردید.

در آزمون مهار رادیکال DPPH، ۵۰ میکرولیتر از عصاره یا کنترل با ۵ میلی‌لیتر محلول اتانولی DPPH (۰/۱۲ میلی‌مولار) مخلوط و محلول به دست آمده در دمای محیط و در مکان تاریک به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری گردید. جذب محلول در نهایت در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر ثبت گردید. **در آزمون ABTS**، ابتدا محلول آبی ABTS (۷ میلی‌مولار) تهیه و سپس پتاسیم پرسولفات به آن اضافه گردید تا غلظت آن به ۲/٤۵ میلی‌مولار برسد. در ادامه، محلول در مکان تاریک به مدت ۱٦ ساعت نگهداری شد و سپس با متانول تا رسیدن به جذب ۰/۷ در طول‌موج ۷۳٤ نانومتر رقیق گردید. در نهایت، ۳۰۰ میکرولیتر عصاره با ۳/۹ میلی‌لیتر محلول رادیکالی ABTS ترکیب و جذب آن بعد از ۵ دقیقه نگهداری ثبت گردید. فعالیت مهار رادیکال آزاد عصاره مطابق فرمول زیر محاسبه گردید [۱۵]:

$$\text{Scavenging effect (\%)} = [(A_{control}-C_{sample})/C_{control}] \times 100$$

فعالیت مهار رادیکال آزاد عصاره در نهایت بر حسب IC_{50} (میکروگرم در میلی‌لیتر) گزارش شد.

در آزمون **قدرت احیاکنندگی آهن فریک**، محلولی حاوی ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار و ۲/۵ میلی‌لیتر فری‌سیانید پتاسیم ۱ درصد تهیه و با عصاره مخلوط گردید. محلول به دست آمده در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه نگهداری و سپس ۲/۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (۱۰ درصد) به منظور توقف واکنش به آن اضافه گردید. محلول در دور ۱۰۰۰ برابر شتاب گرانشی به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و سپس ۲/۵ میلی‌لیتر از روشناور با ۲/۵ میلی‌لیتر آب دیونیزه و ۰/۵ میلی‌لیتر کلرید ۰/۱ درصد مخلوط و پس از ۳۰ دقیقه نگهداری، جذب آن در ۷۰۰ نانومتر قرائت گردید. قدرت احیاکنندگی آهن فریک عصاره بر حسب معادل اسید اسکوربیک (mmol/g) گزارش شد [۱٤].

در آزمون **جلوگیری از رنگبری بتا-کاروتن**، روش اسپکتروفوتومتری مورد استفاده قرار گرفت. بطور خلاصه، جذب محلول پس از ۱۲۰ دقیقه گرمخانه گذاری (A_{120}) در ٤۹۰ نانومتر در برابر نمونه کنترل در زمان‌های صفر (C_0) و ۱۲۰ دقیقه (C_{120}) بررسی گردید. اثر بازدارندگی مطابق فرمول زیر محاسبه شد [۱٦]:

$$\text{Inhibitory effect (\%)} = [(A_{120}-C_{120})/(C_0-A_{120})] \times 100$$

در تمامی آزمون‌ها، دی‌بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) بعنوان کنترل و جهت مقایسه قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره در نظر گرفته شد.

۲- ٦- سمیت سلولی

روش MTT برای بررسی سمیت سلولی عصاره در برابر رده سلولی HT29 و HeLa مورد استفاده قرار گرفت. سلول‌ها در محیط DMEM با ۱۰ درصد سرم جنین گاو و پنی‌سیلین/استرپتومایسین و سپس گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۹۵ درصد و دی‌اکسید کربن ۵ درصد کشت شدند. سلول‌ها (۱۰۰۰۰۰ سلول) به چاهک‌ها اضافه شدند و غلظت‌های مختلف عصاره (۰، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، محیط کشت DMEM و ۲۰۰ میکرولیتر سرم جنین گاوی به آن اضافه شد. هر چاهک تکثیر سلولی با استفاده از روش MTT پس از ۲٤ ساعت گرمخانه گذاری به شرح زیر اندازه‌گیری شد: ۳۰ میکرولیتر محلول MTT با غلظت ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به هر یک از چاهک‌ها اضافه شد و پلیت‌ها به مدت ۳ ساعت در انکوباتور دی‌اکسید کربن نگهداری شدند. جذب محیط در طول‌موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از یک الایزا ریدر (ELX 808, Bio Tek Instruments, USA) ثبت گردید. منحنی زنده ماندن سلولی با استفاده از سلول‌های کنترل ترسیم شد [۱۷].

۲- ۳- آنالیز آماری

آزمایش‌ها سه بار انجام شد. نتایج با نرم‌افزار Minitab (نسخه ۱٦) با استفاده از آزمون توکی در سطح معنی‌داری ۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

۳- نتایج و بحث

ترکیبات شیمیایی شوید در شکل ۱ آورده شده‌اند. مطابق شکل، ۱۲ ترکیب شیمیایی در عصاره شوید شناسایی شدند که ۹۸/۰۹ درصد ترکیبات را تشکیل دادند. لیمونن (۳۵/۲ درصد)، آلفا-فلاندرن (۲۷/۵٦ درصد) و کاروون (۱٦/۲ درصد) به ترتیب بیشترین ترکیبات تشکیل دهنده عصاره شناسایی شدند. علاوه بر این، عصاره آبی شوید دارای mg GAE/g ۸۹/٦ فنول کل و mg QE/g ۲۵/٤۹ فلاونوئید کل بود (شکل ۲).

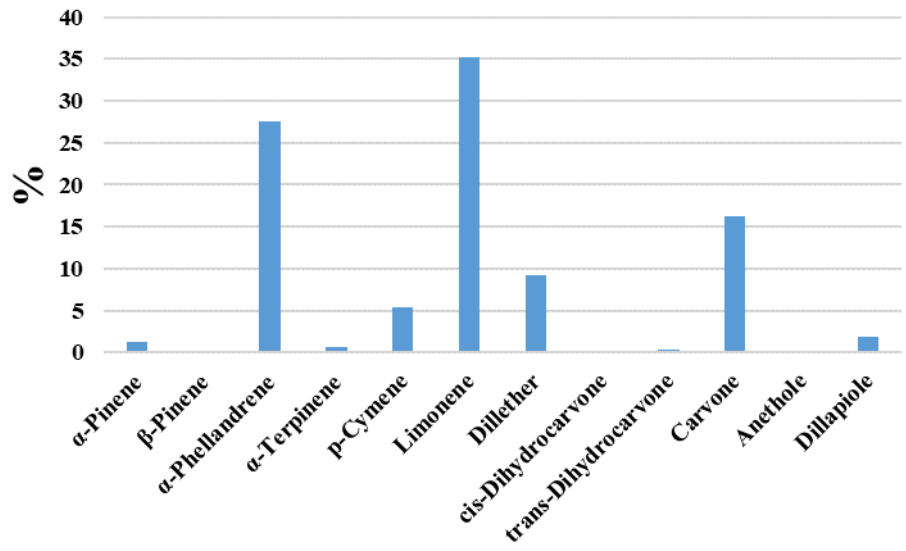

Figure 1. The chemical composition of *Anethum graveolens*. Compounds with concentrations below 0.1% are not listed in the figure.

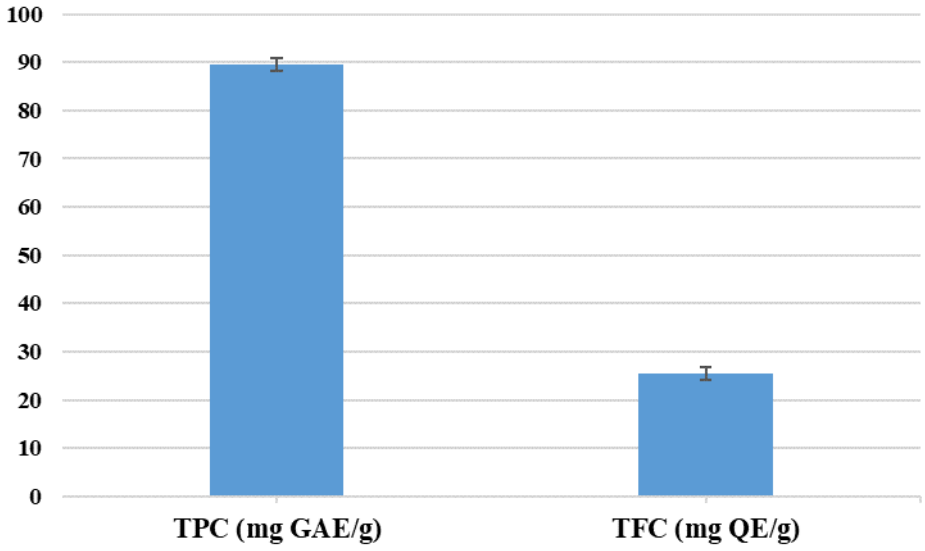

Figure 2. Total phenol content (TPC) and total flavonoids content (TFC) of *Anethum graveolens* extract.

نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی شوید و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در شکل ۳ گزارش شده است. عصاره آبی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۱٦/۸۵ میکروگرم در میلی‌لیتر، ۱۳/۵۳ میکروگرم در میلی‌لیتر، ۷/۸۵ میلی مول در گرم و ۷٦/۹۵ درصد به ترتیب بر اساس روش‌های مهار رادیکال DPPH، مهار رادیکال ABTS، قدرت احیاکنندگی آهن فریک و جلوگیری از رنگبری بتا-کاروتن بود. در حالیکه این مقادیر برای آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT به ترتیب برابر با ۷/۸۵ میکروگرم در میلی‌لیتر، ٦/۹ میکروگرم در میلی‌لیتر، ۰/٤۱ میلی مول در گرم و ۹۰/۲۵ درصد به دست آمد. نتایج نشان می‌دهد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی ضعیف‌تر اما قابل مقایسه با BHT می‌باشد.

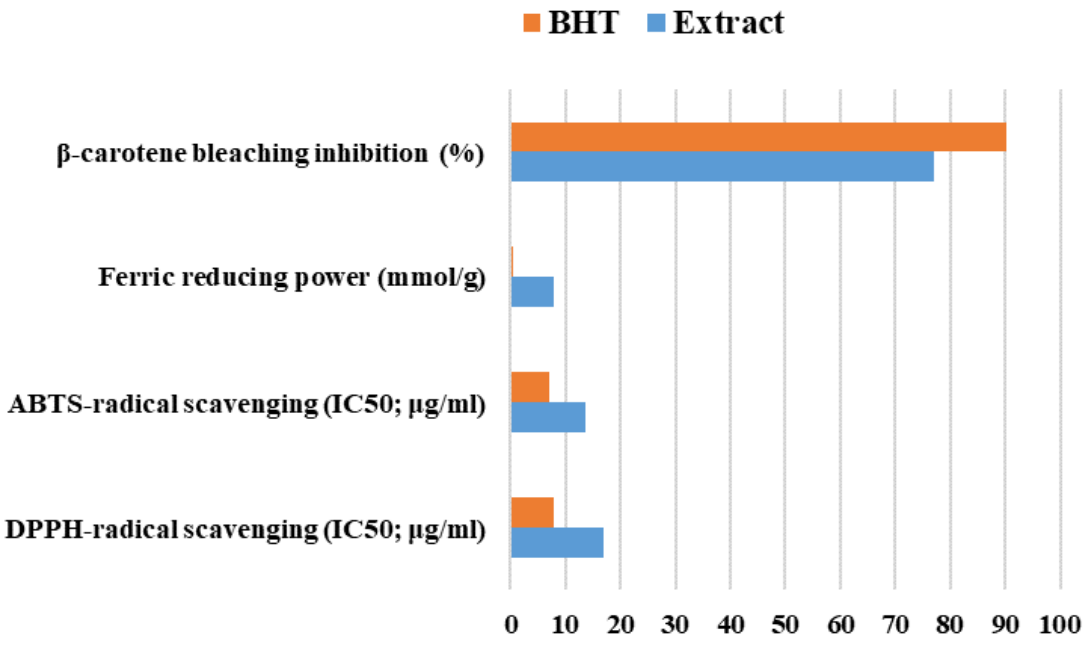

Figure 3. Antioxidant activity of *Anethum graveolens* extract.

نتایج فعالیت سمیت سلولی عصاره آبی شوید در برابر سلول‌های رده سرطانی HT29 و HeLa در شکل ٤ ارائه شده‌اند. افزایش غلظت عصاره سبب کاهش قابل توجه زنده‌مانی سلول‌های سرطانی گردید. بطوریکه درصد زنده‌مانی سلول‌های HT29 از ۹۹/۷۷ درصد در غیاب عصاره به ۱٦/۲ درصد در حضور ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره کاهش یافت. این مقادیر برای رده سلولی HeLa به ترتیب برابر با ۹٦/۸۵ و ۱٤/۷۵ درصد بود. علاوه بر این، مقادیر IC_{50} برای رده سلولی HT29 و HeLa به ترتیب ۸٤/۵۹ و ۷٤/۹۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر محاسبه گردید.

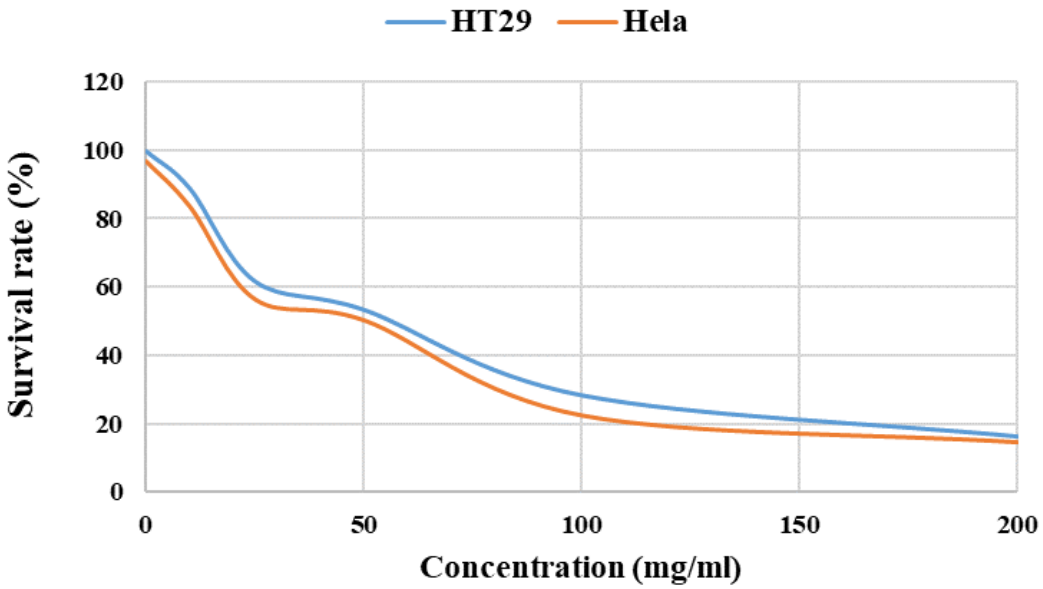

Figure 4. Cytotoxicity of *Anethum graveolens* extract against HT29 and HeLa cell lines.

نتایج مشابهی توسط سایر محققین در منابع علمی گزارش شده است. هادی و همکاران (۲۰۲٤)، ترکیب شیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها و عصاره‌های به دست آمده از دانه‌های شوید جمع آوری شده در جنوب مراکش را بررسی نمودند [۱۸]. نتایج نشان داد که اسانس استخراج شده توسط تقطیر با آب حاوی E-آنتول (۳۸/۱۳ درصد)، استراگول (۲۹/۳۲ درصد)، فنچون (۱۷/۲۱ درصد) و α-پینن (۷/۳۷ درصد) بود. عصاره اتانولی بالاترین مقادیر ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها را به ترتیب به میزان mg GAE/g ۵۲/٦۵ و mg QE/g ۳۵/۵۸ را ثبت کرد و بعد از آن عصاره آبی با mg GAE/g ۳۹/۷۲ فنول کل و mg QE/g ۱۳/۷۹ فلاونوئید کل قرار داشت. علاوه بر این، محققین نشان دادند که اسانس‌ها و عصاره‌های شوید دارای ظرفیت قوی برای مقابله با رادیکال‌های آزاد مضر، کنترل تولید گونه‌های اکسیژن فعال و کاهش اکسیداتیو هستند [۱۸]. کائور و همکاران [۱۹] از طریق روش DPPH مشخص نمودند که اسانس شوید هندی که عمدتاً از کاروون (٤۱/۱۵ درصد)، لیمونن (۲۳/۱۱ درصد)، کامفور (۹/۲۵ درصد) و دی هیدروکاروون (۳/۷۵ درصد) تشکیل شده است، فعالیت آنتی‌اکسیدانی پایینی (۰/٦۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) را در مقایسه با اسید آسکوربیک استاندارد (۰/۰٤ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) نشان می‌دهد. این نویسندگان این قدرت آنتی‌اکسیدانی را به وجود ترکیبات قطبی نسبت دادند [۱۹]. به همین ترتیب اسانلو و همکاران [۲۰] فعالیت آنتی‌اکسیدانی پایین اسانس شوید ایرانی را مشاهده کردند که ترکیبات اصلی آن آلفا فلاندرن (۲٦/۷۵ درصد)، پی سیمن (۲٤/۸۱ درصد)، کاروون (۱۰/۷۷ درصد)، دیل‌اتر (۹/۷۸ درصد) و سیس سابینول (۳/٦۱ درصد) بود [۲۰]. مطالعه‌ای که در صربستان انجام شد نشان داد که اسانس شوید، متشکل از لیمونن (٤۵/۲٤ درصد) و کاروون (٤۵/۹۰ درصد)، فعالیت ضد رادیکالی بالاتری نسبت به بادیان که عمدتاً از آنتول (۹٦/٤ درصد) تشکیل شده است، دارد [۲۱]. استانوجویچ و همکاران [۲۲] گزارش کرد که اسانس شوید از صربستان که عمدتاً از کاروون (۸۵/۹ درصد)، لیمونن (۵/۱ درصد) و سیس-دی‌هیدروکاروون (۳ درصد) تشکیل شده است، سبب مهار ۷۹/٦۲ درصد از رادیکال‌های DPPH در غلظت ۲۹ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به مدت ٦۰ دقیقه گردید [۲۲]. باساوگودا و همکاران [۲۳]، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی قوی عصاره متانولی دانه‌های شوید از هند را گزارش نمودند. آنها از طریق سه روش مهار رادیکال DPPH، هیدروکسیل و اکسید نیتریک، مقادیر IC_{50} را به ترتیب ۱۹، ۲۸ و ۳٦ میکروگرم بر میلی‌لیتر نشان دادند [۲۳]. علاوه بر این، العقایل و همکاران [۲٤]، با استفاده از روش‌های مهار رادیکال DPPH و پراکسید هیدروژن نشان داده‌اند که عصاره متانولی دانه‌های شوید دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجهی با مقادیر IC_{50} به ترتیب ۲۲۵ و ۱۲٦/۳میکروگرم بر میلی‌لیتر است. این محققین نشان دادند که عصاره شوید پتانسیل ضد سرطانی/سیتوتوکسیک وابسته به دوز را در برابر رده‌های سلولی MCF-7، A-549 و HeLa نشان داد و مقادیر IC50 برای این رده‌های سلولی به ترتیب ۱۰٤، ۱۲۲ و ۱۵٦ میکروگرم در میلی‌لیتر به دست آمد [۲٤]. اثرات ضد سرطانی عصاره شوید ممکن است به دلیل وجود فیتوکمیکال‌ها در آن باشد. همچنین، رابطه بین سمیت سلولی و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی نیز تائید شده است [۲۵-۳۰]. در نتیجه، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره شوید ممکن است به فعالیت‌های سمیت سلولی/ضد سرطانی آن کمک کند.

٤- نتیجه‌گیری نهایی

مطالعه حاضر نشان داد که عصاره شوید را می‌توان برای اهداف دارویی و غذایی استفاده نمود. عصاره آبی شوید اثرات آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجهی را نشان داد که توسط مهار رادیکال DPPH، مهار رادیکال ABTS، ظرفیت احیا آهن فریک و جلوگیری از رنگبری بتا-کاروتن مشاهده شد. همان‌طور که از این تحقیق مشاهده می‌شود، عصاره شوید ممکن است به‌عنوان منبع خوبی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از طریق مکمل‌های تغذیه‌ای احتمالی استفاده شود. عصاره آبی شوید همچنین پتانسیل ضد سرطانی/سیتوتوکسیک قوی وابسته به غلظت را در برابر رده‌های سلولی HT29 و HeLa

نشان داد. با اینحال، تحقیقات بیشتری برای بررسی فعالیت‌های بیولوژیکی و ضد سرطانی در شرایط درون تنی برای بررسی استفاده مفید احتمالی از عصاره آبی شوید در صنایع غذایی و دارویی مورد نیاز است.

٦-منابع

[1] Nooshkam, M. , & Varidi, M., (2024). *Chapter Twelve - Antioxidant and antibrowning properties of Maillard reaction products in food and biological systems*, in *Vitamins and Hormones*, G. Litwack, Editor. Academic Press. p. 367-399.

[2] Shahidi, F. , & Ambigaipalan, P., (2018). *Antioxidants in oxidation control*, in *Measurement of Antioxidant Activity & Capacity*. p. 287-320.

[3] Anik, M. I., Mahmud, N., Masud, A. A., Khan, M. I., Islam, M. N., Uddin, S. , & Hossain, M. K. (2022). Role of Reactive Oxygen Species in Aging and Age-Related Diseases: A Review. *ACS Applied Bio Materials*, *5*(9), 4028-4054. DOI: 10.1021/acsabm.2c00411.

[4] Hoang, H. T., Moon, J.-Y. , & Lee, Y.-C. (2021). Natural Antioxidants from Plant Extracts in Skincare Cosmetics: Recent Applications, Challenges and Perspectives. *Cosmetics, 8*(4). DOI: 10.3390/cosmetics8040106.

[5] Putnik, P., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., Roohinejad, S., Režek Jambrak, A., Granato, D., Montesano, D. , & Bursać Kovačević, D. (2018). Novel Food Processing and Extraction Technologies of High-Added Value Compounds from Plant Materials. *Foods, 7*(7). DOI: 10.3390/foods7070106.

[6] Pateiro, M., Barba, F. J., Domínguez, R., Sant'Ana, A. S., Mousavi Khaneghah, A., Gavahian, M., Gómez, B. , & Lorenzo, J. M. (2018). Essential oils as natural additives to prevent oxidation reactions in meat and meat products: A review. *Food Research International*, *113*, 156-166. DOI: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.07.014.

[7] Efenberger-Szmechtyk, M., Nowak, A. , & Czyzowska, A. (2021). Plant extracts rich in polyphenols: antibacterial agents and natural preservatives for meat and meat products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *61*(1), 149-178. DOI: 10.1080/10408398.2020.1722060.

[8] Zuiter, A. S., (2014). *Proanthocyanidin: Chemistry and Biology: From Phenolic Compounds to Proanthocyanidins*, in *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*. Elsevier.

[9] Fathi, M. , & Heydari, M. (2016). Effects of Dill (Anethumgraveolens) Aqueous Extracts on Blood & Ascetics Parameters and Growth Performance in Broiler. *Journal of Animal Production*, *18*(4), 821-830. DOI: 10.22059/jap.2016.58789.

[10] Taher, M., Ghannadi, A. , & Karmiyan, R. (2007). Effects of volatile oil extracts of Anethum graveolens L. and Apium graveolens L. seeds on activity of liver enzymes in rat. *Journal of Inflammatory Diseases*, *11*(2), e155294.

[11] Singh, G., Maurya, S., de Lampasona, M. P. , & Catalan, C. (2005). Chemical Constituents, Antimicrobial Investigations, and Antioxidative Potentials of Anethum graveolens L. Essential Oil and Acetone Extract: Part 52. *Journal of Food Science*, *70*(4), M208-M215. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb07190.x.

[12] Sahib, A. S., Mohammed, I. H. , & Sloo, S. A. (2014). Antigiardial effect of Anethum graveolens aqueous extract in children. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, *3*(3), 109-112. DOI: 10.5455/jice.20140523104104.

[13] Behbahani, B. A., Shahidi, F., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A. , & Mohebbi, M. (2017). Antioxidant activity and antimicrobial effect of tarragon (Artemisia dracunculus) extract and chemical composition of its essential oil. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *11*(2), 847-863. DOI: 10.1007/s11694-016-9456-3.

[14] Jalil Sarghaleh, S., Alizadeh Behbahani, B., Hojjati, M., Vasiee, A. , & Noshad, M. (2023). Evaluation of the constituent compounds, antioxidant, anticancer, and antimicrobial potential of Prangos ferulacea plant extract and its effect on Listeria monocytogenes virulence gene expression. *Frontiers in Microbiology*, *14*.

٥-تقدیر و تشکر

مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی با کد ١٤٠٣/٣٨ می باشد، لذا از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی میگردد.

DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1202228.
[15] Rahmati-Joneidabad, M., Alizadeh Behbahani, B. , & Noshad, M. (2024). Determination of antioxidant activity, and antifungal effect of Ferula persica L hydroalcoholic extract on some fungal strains causing strawberry and grape fruits rot “in vitro”. *Research in Plant Metabolites*, *2*(1), 5-17. DOI: 10.22034/jrpsm.2024.165984.
[16] Dapkevicius, A., Venskutonis, R., van Beek, T. A. , & Linssen, J. P. H. (1998). Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *77*(1), 140-146. DOI: https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199805)77:1<140::AID-JSFA18>3.0.CO;2-K.
[17] Saffari Samani, E., Jooyandeh, H. , & Alizadeh Behbahani, B. (2022). Investigation on the chemical composition, bioactive functional groups, antioxidant potential and cell toxicity (HT29) of Shirazi thyme essential oil: A study in laboratory scale. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, *18*(2), 203-217. DOI: 10.22067/ifstrj.2020.40161.0.
[18] Hadi, N., Drioiche, A., Bouchra, E. M., Baammi, S., Abdelaziz Shahat, A., Tagnaout, I., Radi, M., Remok, F., Bouzoubaa, A. , & Zair, T. (2024). Phytochemical Analysis and Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Properties of Essential Oils and Seed Extracts of Anethum graveolens from Southern Morocco: In Vitro and In Silico Approach for a Natural Alternative to Synthetic Preservatives. *Pharmaceuticals, 17*(7). DOI: 10.3390/ph17070862.
[19] Kaur, N., Chahal, K. K., Kumar, A., Singh, R. , & Bhardwaj, U. (2019). Antioxidant activity of Anethum graveolens L. essential oil constituents and their chemical analogues. *Journal of Food Biochemistry*, *43*(4), e12782. DOI: https://doi.org/10.1111/jfbc.12782.
[20] Osanloo, M., Ali, G. , & Ali, T. (2021). Antioxidant and Anticancer Activities of Anethum graveolens L., Citrus limon (L.) Osbeck and Zingiber officinale Roscoe Essential Oils. *Traditional and Integrative Medicine*, *6*(4). DOI: 10.18502/tim.v6i4.8266.
[21] Gladikostić, N., Ikonić, B., Teslić, N., Zeković, Z., Božović, D., Putnik, P., Bursać Kovačević, D. , & Pavlić, B. (2023). Essential Oils from Apiaceae, Asteraceae, Cupressaceae and Lamiaceae Families Grown in Serbia: Comparative Chemical Profiling with In Vitro Antioxidant Activity. *Plants, 12*(4). DOI: 10.3390/plants12040745.
[22] Stanojević, L. P., Radulović, N. S., Djokić, T. M., Stanković, B. M., Ilić, D. P., Cakić, M. D. , & Nikolić, V. D. (2015). The yield, composition and hydrodistillation kinetics of the essential oil of dill seeds (Anethi fructus) obtained by different hydrodistillation techniques. *Industrial Crops and Products*, *65*, 429-436. DOI: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.10.067.
[23] Basavegowda, J., Raveesha, K. A. R. , & Amruthesh, K. N. (2022). Bioactivity and Phytochemical Studies of Seed Extracts of Anethum graveolens Linn. *Letters in Applied NanoBioScience*, *11*(2), 3560-3572. DOI: https://doi.org/10.33263/LIANBS112.35603572.
[24] Al-Oqail, M. M. , & Farshori, N. N. (2021). Antioxidant and Anticancer Efficacies of Anethum graveolens against Human Breast Carcinoma Cells through Oxidative Stress and Caspase Dependency. BioMed Research International, 2021(1), 5535570. DOI: https://doi.org/10.1155/2021/5535570.
[25] Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M., Namazi, P. , & Vasiee, A. (2024). Exploring the probiotic potential of Lactiplantibacillus pentosus SM1: Resistance, anti-microbial activity, anti-biofilm, cytotoxic activity, and safety properties. LWT, 210, 116850. DOI: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116850.
[26] Abdul-Sahib AM, Golbashy M, Abbass JA. Effect of date palm wastes, perlite, and magnesium on growth and flowering in gerbera plants (Gerbera jamesonii L.). Int J Hortic Sci Technol. 2023;10(3):375–386. doi:10.22059/ijhst.2022.340752.552
[27] Rezapour K, Mousavizadegan M, Mortazavi SMR, Golbashy M, Hosseini M. Enhanced antibacterial effect of kanamycin-stabilized nanoclusters. ChemistrySelect. 2024; 9(48):e202403849. doi:10.1002/slct.202403849
[28] Shalileh F, Shamani N, Golbashy M, Dadmehr M, Hosseini M. Synergistic applications of quantum dots and magnetic nanomaterials in pathogen detection: A comprehensive review. Nanotechnology. 2024;36(5). doi:10.1088/1361-6528/ad8751
[29] Moghadam RN, Majdizadeh M, Golbashy M, Haghiralsadat F, Hemati M. Laboratory study: Synthesis and optimization of nano niosomes containing Bunium persicum essential oil and investigating its toxicity on Trichomonas

vaginalis parasite and HFF cell line. Heliyon. 2024;10(16):e35967. doi:10.1016/j.heliyon.2024.e35967
[30] Al-Zuwaini SJ, Aljibouri LF, Al-Marzoqi AH, Golbashy M, Ibraheam IA, Alsaffar MF, Ahmed AT, Tolaifeh ZA, Muslim ZA, Otaiwi MS, ALcharrakh I. Microbial Etiology, Immunological Evaluation, and Drug-Resistance Spectrum Profile of Bloodstream Infections Among Cancer Patients. Medical Journal of Babylon 21(Suppl 1):p S64-S69, June 2024. | DOI: 10.4103/mjbl.mjbl_219_23

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Identification of chemical compounds, antioxidant potential, total phenols and flavonoids, and the cytotoxic effect of dill on HT29 and HeLa cell lines

Mohammad Golbashy[1*], Behrooz Alizadeh Behbahani[2]

1-Assistant Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

2 -Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

ARTICLE INFO

Article History:

Received:2025/1/15

Accepted:2025/2/23

Keywords:

Dill;

Gas chromatography–mass spectrometry;

Antioxidant;

Polyphenol;

Flavonoid;

Oxidative damage.

DOI: 10.22034/FSCT.22.163.231.

*Corresponding Author E-Mgolbashy@asnrukh.ac.ir

ABSTRACT

Dill (*Anethum graveolens*) has been widely used for medicinal and therapeutic purposes since ancient times. Plants possess a large number of effective compounds with low toxicity. In this study, the *in vitro* antioxidant and anticancer effects of dill aqueous extract against HT29 and HeLa cancer cell lines were investigated. The antioxidant effect of dill aqueous extract was evaluated by DPPH radical scavenging, ABTS radical scavenging, ferric iron reduction capacity and beta-carotene bleaching inhibition assays. The extract contained 89.6 mg GAE/g total phenols and 25.49 mg QE/g total flavonoids. As observed by antioxidant activity assay, dill aqueous extract showed potent antioxidant activities that were comparable to the synthetic antioxidant dibutyl hydroxytoluene (BHT). Dill aqueous extract also showed concentration-dependent anticancer/cytotoxic potential against HT29 and HeLa cell lines, and the IC_{50} values for these cell lines were 84.59 and 74.95 mg/mL, respectively. Overall, the present study demonstrated that dill aqueous extract has potential for use for medical and nutritional purposes as an antioxidant and anticancer agent.