مقایسه‌ی قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های سیر تازه و کهنه

فاطمه تاجی،[۱] هدایت‌الله شیرزاد،[۲] کوروش اشرفی،[۳] ندا پروین،[۴] سلیمان خیری،[۵] عبدالرسول نامجو[۶]
اعظم عسگری،[۱] رویا انصاری،[۷] محمود رفیعیان[۸]

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشگاه پیام نور اصفهان، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
۲. دانشیار ایمونولوژی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
۳. کارشناس ارشد میکروب شناسی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
۴. کارشناس ارشد روان پرستاری، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
۵. استاد آمار زیستی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
۶. فوق تخصص دامپزشکی، مرکز تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد
۷. کارشناس ارشد بافت شناسی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
۸. استاد فارماکولوژی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

تاریخ دریافت مقاله: ۸۹/۱/۲
تاریخ پذیرش مقاله: ۸۹/۳/۲۴

چکیده

زمینه و هدف: میوه‌ها و سبزیجات به‌عنوان منبع آنتی‌اکسیدان، عامل از بین بردن رادیکال‌های آزاد در نظر گرفته می‌شوند. این اثر آنتی‌اکسیدانی ممکن است به مرور زمان کاهش یابد. هدف از این مطالعه ارزیابی و مقایسه‌ی اثر آنتی‌اکسیدانی و اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و میزان آلیسین سیر تازه و سه ماه مانده بود.

مواد و روش‌کار: در یک مطالعه آزمایشگاهی-تجربی از بوته‌های سیر تازه و سه ماه مانده، عصارهٔ اتانولی تهیه و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در سیستم مدل لینولئیک اسید و بتاکاروتن لینولئات ارزیابی شد. میزان ترکیبات فنولی، به‌روش رنگ‌سنجی فولین- سیوکالتیو و بر حسب اسید گالیک، میزان ترکیبات فلاونوئیدی و فلاونولی به‌روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم و بر حسب روتین و میزان آلیسین، به روش اسپکتروفتومتری، اندازه‌گیری شدند. هم‌چنین از نرم‌افزارSPSS-15 و آزمون‌های آماری t برای بررسی اختلاف میانگین نتایج دو گروه استفاده و $p<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: کارایی سیر تازه (۳۵/۳۶) (میزان جذب در طول زمان) در ممانعت از اکسیداسیون در مقایسه با سیر سه ماه مانده (۱۰/۲) بیشتر بود ($p<۰/۰۵$). ترکیبات فنولی سیر تازه (۱۲/۶۱mg/g) بیش از سیر سه ماه مانده (۲/۸۹ mg/g) بود. میزان آلیسین در عصاره سیر تازه ۱۵μg/mL و در عصاره سیر سه ماه مانده ۸μg/mL بود ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: سیر تازه دارای بیشترین اجزای مفید است و مصرف آن به این شکل توصیه می‌شود.[م ت ع پ ز، ():-]

کلیدواژه‌ها: عصاره‌های سیر تازه و کهنه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنول، فلاونوئید

مقدمه

رادیکال‌های آزاد مولکول‌های ناپایدار و بسیار واکنش‌پذیر هستند که می‌توانند باعث صدمه به سلول‌ها، DNA و در نهایت جهش‌زایی شوند.[۱] آنتی‌اکسیدان‌ها در میوه‌ها و سبزیجات فراوانند و توانایی خنثی کردن رادیکال‌های آزاد و تبدیل آن‌ها به مولکول‌های بی‌ضرر را دارند.[۲] آنتی‌اکسیدان‌ها منجر به تأخیر پروسه‌ی اکسیداسیون، ممانعت از پلیمریزه شدن چرخه‌ی شروع شده به وسیله‌ی رادیکال‌های آزاد و دیگر واکنش‌های اکسیداسیون می‌شوند.[۳] مصرف غذاهای غنی از فلاونوئید، محافظت کننده‌ی انسان علیه بیماری‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو هم‌چون بیماری‌های قلبی و سرطان هستند.[۴] به طوری‌که اثر حمایتی ایجاد شده به وسیله‌ی میوه‌ها و سبزیجات علیه بیماری‌های سرطان، قلبی و مغزی-عروقی به اجزای آنتی‌اکسیدان آن‌ها نسبت داده شده است.[۵] در این بین گیاه سیر، که با نام علمی *Allium sativum* و متعلق به تیره *Liliaceae* است گیاهی علفی، دارای پیاز مرکب و حاوی چند بولب کوچک بوده[۶] و دارای مواد دارویی مؤثری هم‌چون آلئین، آلیسین، آنزیم آلیناز، اینولین، ویتامین‌های A، B و C است.[۷] سیر گیاهی سنتی است که نه فقط به‌عنوان چاشنی، بلکه به خاطر داشتن خواص بیولوژیکی گوناگون همچون ضدسرطان، ضدآترواسکلروز، آنتی‌ترومبوتیک، ضدمیکروب، ضدالتهاب و آنتی‌اکسیدان از قدیم الایام مورد استفاده بوده است.[۸] مطالعه‌ای که بر روی سیر انجام شده است نقش خواص آنتی‌اکسیدان سیر را در ممانعت از ابتلا به بیماری‌های مرتبط با سن و بیماری‌های قلبی-عروقی نشان داده است.[۹] عصاره‌ی سیر خام در بهبود استرس اکسیداتیو و کاهش لیپیدهای خون رت‌ها مؤثر بوده که این اثر سیر به فعالیت آنتی‌اکسیدانی سیر نسبت داده شده است.[۱۰] روغن سیر با داشتن خواص آنتی‌اکسیدان، معده را در برابر اتانول محافظت می‌کند.[۱۱] فعالیت نابودسازی رادیکال‌های آزاد و محتوای فنولی بالا در عصاره‌ی آبی سیر، به وجود آلیسین به‌عنوان یک جزء فعال در آن وابسته است.[۱۰] هم‌چنین اثر درمانی سیر بر روی برخی از سرطان‌ها به‌علت دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی نشان داده شده است.[۱۲] در مطالعه Gazzani و همکاران تأثیر به‌سزای حرارت روی فعالیت آنتی‌اکسیدان سیر، نشان داده شد.[۱۳] در واقع آن‌چه که لزوم انجام چنین مطالعه‌ای را ضروری می‌نماید، این است که با توجه به نسبت دادن قسمت عمده‌ی اثر درمانی سیر، به ترکیبات

۲ آدرس نویسنده مسئول: دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی
email: rafieian@yahoo.com

آنتی‌اکسیدانی آن در مطالعات مختلف و احتمال ارتباط آن با ترکیبات فنولی و اجزای فلاونوئیدی و عدم انجام مطالعه‌ای بر روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مقادیر متفاوت محتوای فنولی، فلاونوئیدی و آلیسین موجود در اشکال مختلف سیر، هم‌چنین با توجه به اینکه استفاده‌ی وسیع از ترکیبات شیمیایی مانند بوتیلین هیدروکسی تولوئن، بوتیلین هیدروکسی آنیزول بتاکاروتن، سلنیوم و ویتامین E با وجود اثبات خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها به علت سمی بودن، محدود شده است. لذا این مطالعه با هدف ارزیابی و مقایسه‌ی اثر آنتی‌اکسیدانی و اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و میزان آلیسین سیر تازه و سه ماه مانده انجام شده است.

روش‌کار

در این مطالعه آزمایشگاهی-تجربی پس از تهیه‌ی عصاره‌ی هیدروالکلی سیر، قدرت آنتی‌اکسیدانی، میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی، فلاونولی و میزان آلیسین موجود در عصاره سیر تازه و سه ماه مانده تعیین شد. سیر تازه‌ی فریدون شهر اصفهان، بعد از جمع‌آوری، تمیز و خرد (له) شد. سپس نیم ساعت در دمای اتاق رها و به روش ماسراسیون عصاره‌گیری گردید. هم‌چنین مقداری از همین سیر بعد از ماندن به مدت سه ماه در دما و رطوبت معمولی به همین طریق عصاره‌گیری شد.

طرز تهیه‌ی عصاره‌ی اتانولی گیاه سیر: ابتدا در بالن یک لیتری میزان ۵۰ گرم از سیر خرد (له) شده را ریخته و الکل اتیلیک ۹۶ درجه به میزان ۴۰۰ میلی‌لیتر به آن اضافه و روی دستگاه تکان‌دهنده به مدت ۲۴ ساعت، قرار داده شد. سپس عصاره‌ی حاصل توسط کاغذ صافی و قیف بوخنر صاف و بر روی تفاله‌ی باقی‌مانده، الکل اتیلیک ۷۰ درصد ریخته شد. بعد از ۲۴ ساعت دوباره صاف و به عصاره‌ی اول اضافه شد. بعد از آن عصاره در دستگاه تقطیر در خلاء در دمای ۵۰ درجه و دور چرخش ۷۰ تقطیر شد، تا زمانی‌که حجم باقی‌مانده به یک پنجم حجم اولیه رسید. در این حالت مخزن عصاره، از دستگاه جدا و عصاره‌ی باقی‌مانده بعد از سرد شدن، سه مرتبه و هر بار با حجم ۵۰ میلی‌لیتر کلروفرم دکانته شد. باقی‌مانده در ظرف پتری با وزن معلوم، ریخته شد و در دمای ۵۰°C در دستگاه آون خشک گردید. بعد از این‌که عصاره کاملاً خشک شد؛ عصاره‌ی حاصل وزن گردید. میزان عصاره‌ی خشک حاصل ۳ گرم بود که تا زمان استفاده، در دمای ۷۰°C- نگهداری شد.[۱۴] برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، در مدل بتاکاروتن لینولئات، ابتدا در یک لوله‌ی آزمایش ۰/۵ میلی‌لیتر کلروفرم، ۵ میلی‌لیتر بتاکاروتن (۰/۲ میلی‌گرم)، ۲۰ میلی‌لیتر لینولئیک اسید (۲۰ میلی‌گرم) و ۰/۲ میلی‌لیتر توئین ۴۰ (پلی‌اکسی‌اتیلن‌سوربیتان مونوپالمیتات، ۲۰۰ میلی‌گرم) اضافه و در درجه حرارت ۵۰°C برای مدت ۱۰ دقیقه به‌منظور زدودن کلروفرم انکوبه شد. محلول حاصل با آب دو بار تقطیر، رقیق و ۴ میلی‌لیتر aliquotsاز این محلول به نمونه‌ها (کنترل و تست) اضافه شد. نمونه کنترل شامل ۰/۲ میلی‌لیتر اتانول و نمونه تست شامل ۰/۲ میلی‌لیتر اتانول و ۰/۰۵ میلی‌لیتر از عصاره‌ی سیر بود. در طول موج ۴۷۰ نانومتر جذب نوری کنترل مانند نمونه‌ی استاندارد و عصاره، در زمان دقیقه صفر و سپس با نیم ساعت فاصله در دقیقه ۹۰ ثبت شد. بلانک استفاده شده آب مقطر و حلال بتاکاروتن در این آزمایش کلروفرم بود. نمونه‌ها در ۵۰°C در بن ماری انکوبه شدند. فعالیت آنتی‌اکسیدان براساس توانایی نمونه‌ها در ممانعت از فعالیت بتاکاروتن ارزیابی شد.[۱۵] جهت تعیین قدرت آنتی اکسیدانی در مدل اسید لینو لئیک ۲ میلی‌لیتر محلول عصاره با غلظت ۲۰۰mg/l، ۲ میلی‌لیتر محلول ۲/۵۱ درصد اسید لینولئیک در اتانول، ۴ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۰۵ مولار با pH=۷ و ۲ میلی‌لیتر آب مقطر در یک شیشه‌ی در پیچ‌دار مخلوط و به آون ۴۰°C منتقل شد. بعد از گذشت ۶ و ۱۲ ساعت، جذب نمونه به روش تیوسیانات، اندازه-گیری و این عمل هر ۱۲ ساعت، تکرار شد. برای خواندن جذب نمونه‌ها ۰/۱ میلی‌لیتر از امولسیون تهیه شده با ۹/۷ میلی‌لیتر اتانول ۷۵ درصد و ۰/۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۲ مولار کلرید فرو در اسید کلریدریک ۱۰ درصد، مخلوط شد. بعد از گذشت ۳ دقیقه زمان، به این مخلوط ۰/۱ میلی‌لیتر تیوسیانات آمونیوم ۳۰ درصد، اضافه و سپس جذب محلول در طول موج ۵۰۰ نانومتر، خوانده شد. اساس این روش اکسایش آهن۲ توسط پراکسیدها است. آهن ۳ به‌وجود آمده با تیوسیانات آمونیوم، کمپلکس قرمز رنگی ایجاد می‌کند که در طول موج ۵۰۰ نانومتر، دارای بیشترین جذب بوده و به‌عنوان شاخصی از میزان پراکسید موجود، در نظر گرفته می‌شود.[۱۶]

براساس روش رنگ سنجی فولین- سیوکالتو (Folin-Ciocalteu) و برحسب اسید گالیک، اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنولی کل انجام شد.[۱۷] ابتدا محلول‌های استاندارد با غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۶۲/۵، ۱۰۰ و ۱۲۵ قسمت در میلیون از اسید گالیک در محلول ۶۰ درصد متانول تهیه شد. آنگاه از هریک، ۰/۱ میلی‌لیتر لوله آزمایش منتقل و به آن‌ها ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول ۱۰ درصد واکنش‌گر فولین-سیوکالتیو اضافه شد و پس از ۳ الی ۸ دقیقه به آن ۰/۴ میلی‌لیتر از محلول کربنات سدیم ۷/۵ درصد اضافه شد. لوله‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه، نگهداری و پس از آن میزان جذب به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر و در سه تکرار اندازه‌گیری شد. سپس، برای تعیین فنول کل عصاره‌ها، ۰/۰۱ تا ۰/۰۲ گرم از عصاره‌ها را در متانول ۶۰ درصد حل کرده و به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانیده و براساس روش فولین- سیوکالتیو میزان فنول کل تعیین شد. با این تفاوت که به‌جای محلول استاندارد، ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول عصاره اضافه شد. آن‌گاه براساس میزان جذب قرائت شده، مقدار فنول کل برحسب میلی‌گرم اسید گالیک در وزن پودر خشک (گرم) عصاره به‌دست آمد. روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم، با روش استاندارد برای اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل استفاده شد.[۱۸] ابتدا محلول‌های استاندارد با غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ قسمت در میلیون از محلول روتین در متانول ۶۰ درصد تهیه گردید، آنگاه ۱ میلی‌لیتر از این محلول‌ها به لوله‌های آزمایش منتقل و ۱ میلی‌لیتر از محلول کلریدآلومینیوم ۲ درصد به آن اضافه شد. سپس ۶ میلی‌لیتر از محلول ۵ درصد استات پتاسیم به آن افزوده و میزان جذب پس از ۴۰ دقیقه، در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت شد. هر یک از غلظت‌های استاندارد در ۳ تکرار، اندازه‌گیری گردید و برای تعیین فلاونوئید کل عصاره‌ها میزان ۰/۰۱ تا ۰/۰۲ گرم از پودر خشک عصاره‌ها در متانول ۶۰ درصد حل و به حجم ۱۰ میلی-لیتر رسانده شد. سپس براساس روش رنگ‌سنجی کلریدآلومینیوم، میزان

فلاونوئید کل، تعیین گردید. با این تفاوت که به جای محلول استاندارد، ۱ میلی‌لیتر از محلول عصاره اضافه شد. آنگاه مقدار فلاونوئید کل، برحسب میلی‌گرم در هر گرم عصاره، محاسبه گردید. فلاونول کل نیز به کمک روش رنگ‌سنجی کلریدآلومینیوم، برحسب روش روتین تعیین شد با این تفاوت که میزان جذب پس از ۲/۵ ساعت در طول موج ۴۴۰ نانومتر قرائت گردید.[۱۹]

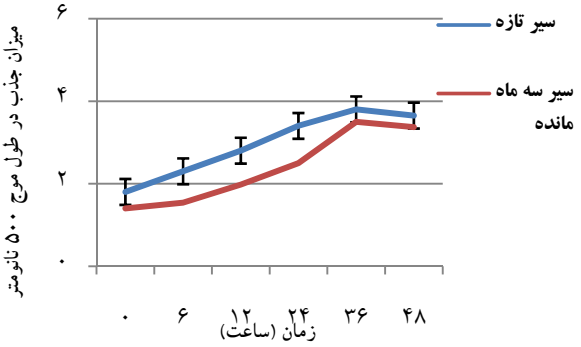
میزان آلیسین به‌عنوان ماده موثر در خواص ویژه‌ی سیر به وسیلهٔ روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری آلیسین نیاز به وجود ۲-نیترو-۵-بنزوئیک اسید بود، برای این منظور ابتدا ۵۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۵ مولار تریس تهیه شد سپس محلول ۲-مرکاپتواتانول به میزان ۵ میلی‌لیتر و ۲۱ گرم محلول نیتروبنزوئیک اسید (معادل با ۲۱ میلی لیتر) به آن اضافه گردید و پس از گذشت ۵ دقیقه، بلافاصله به کمک اسید کلریدریک، محیط تا pH ۱/۵ میلی‌لیتر اسیدی شد و به مدت یک شب در دمای $4^{\circ}C$ نگهداری شد. در این مدت کریستال‌های نارنجی تشکیل شد که با اسید کلریدریک رقیق، شستشو داده و تحت خلاء خشک شد.[۲۰] مخلوطی از ترکیب محلول‌های ۲-نیترو-۵-بنزوئیک اسید ۴-۱۰×۰/۲ مولار و فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار و ۱میلی‌مولار از EDTA با pH ۷/۲ تهیه و مقداری از عصاره‌های تهیه شده را طوری که میزان آلیسین از ۱۰ میکروگرم بیشتر نباشد را به آن اضافه کردیم و پس از ۳۰ دقیقه میزان جذب آن را در طول موج ۴۱۲ نانومتر اندازه‌گیری کردیم و در زیر قرار دادیم و میزان آلیسین را مشخص نمودیم.

$$C_{allicin}(mg/ml)=\frac{\Delta A_{412}\times 162}{28300}=\frac{(A_2-A_1)_{412nm}\times 162}{28300}$$

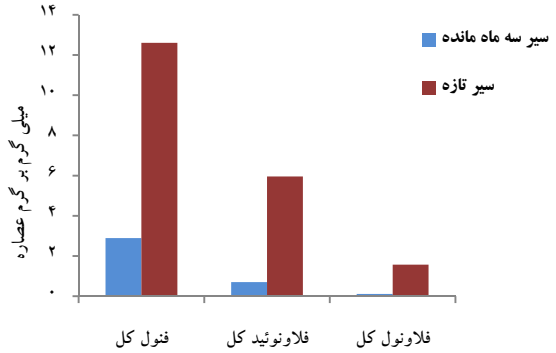
A_2: میزان جذب محلول ۲-نیترو-۵-بنزوئیک اسید پیش از افزودن عصاره. A_1: میزان جذب محلول ۲-نیترو-۵-بنزوئیک اسید و عصاره پس از ۳۰ دقیقه. نتایج با نرم افزار SPSS-15 و آزمون‌های آماری *t* مستقل برای بررسی اختلاف میانگین دو گروه استفاده شد و $p<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.[۱۰]

یافته‌ها

نتایج نشان داد که طبق مدل بتاکاروتن لینولئات برای ارزیابی قدرت آنتی اکسیدانی، میزان قدرت آنتی‌اکسیدانی در عصاره‌ی سیر تازه بیشتر از سیر سه ماه مانده بود $(p<۰/۰۵)$. میزان جذب در مدل بتاکاروتن در طول موج ۴۷۰ نانومتر در عصاره‌ی سیر تازه ۳۵/۳۶ و در سیر سه ماه مانده ۱۰/۲ بود. طبق مدل اسید لینولئیک نیز، میزان قدرت آنتی‌اکسیدانی در عصارهٔ سیر تازه بیشتر از سیر سه ماه مانده بود $(p<۰/۰۵)$. (شاخص میزان پراکسید، در طول موج ۵۰۰ نانومتر، به‌عنوان مبنای نهایی قرار داده شده است). شاخص میزان جذب در طول موج ۵۰۰ نانومتر، بعد از گذشت ۶ و ۱۲ ساعت و ادامه‌ی آن در هر ۱۲ ساعت، در نمودار ۱ آورده شده است. از نظر آماری بین عصاره‌ی سیر تازه و عصاره‌ی سیر سه ماه مانده تفاوتی معنی‌دار در میزان جذب، در طول موج ۵۰۰ نانومتر، دیده شد $(p<۰/۰۵)$. هم‌چنین از نظر آماری، میزان فنول کل و فلاونوئید در عصاره‌ی سیر تازه بیشتر از سیر سه ماه مانده بود $(p<۰/۰۵)$. مقایسه‌ی میزان فلاونول موجود نشان داد که از نظر آماری، بین دو گروه عصاره ی سیر، تفاوت معنی‌دار آماری وجود ندارد $(p>۰/۰۵)$ (نمودار۲). مقایسه ی قدرت آنتی‌اکسیدانی دو نوع عصاره به روش بتاکاروتن تفاوتی معنی دار را بین عصاره‌ی سیر تازه و عصاره‌ی سیر سه ماه مانده در میزان جذب، در طول موج ۴۷۰ نانومتر، نشان داد $(p<۰/۰۵)$.



نمودار ۱: قدرت آنتی‌اکسیدانی در دو نوع عصاره ی سیر، طبق مدل اسید لینولئیک



نمودار۲: میزان فنول، فلاونوئید و فلاونول کلّ موجود در دو نوع عصاره سیر

بین عصاره سیر تازه و سه ماه مانده، از نظر میزان فنول و فلاونوئید، تفاوت معنی داری دیده شد $(p<۰/۰۵)$. مقایسه‌ی میزان فلاونول سیر سه ماه مانده با سیر تازه، تفاوت معنی داری را از نظر آماری، نشان نداد. هم‌چنین مقایسه ی میزان آلیسین عصاره ی سیر تازه و سیر سه ماه مانده نشان داد که میزان آلیسین در عصاره ی سیر تازه ۱۵ میکروگرم بر میلی لیتر و در عصاره ی سیر سه ماه مانده ۸ میکروگرم بر میلی لیتر بود $(p<۰/۰۵)$.

بحث

در بخشی از مطالعه ی حاضر، مشخص شد که عصاره ی سیر تازه، در مقایسه با عصاره‌ی سه ماه مانده دارای قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتری است. از طرفی میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و آلیسین موجود در سیر تازه در مقایسه با عصاره‌ی سیر سه ماه مانده بیشتر بود. به نظر می‌رسد که میزان بالاتر فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی سیر تازه در مقایسه با عصاره‌ی سیر سه ماه مانده تا حدودی به وجود اجزاء سولفور موجود در عصاره‌ی سیر تازه مرتبط بوده باشد. مطالعه‌ای نشان داد که فعالیت آنتی اکسیدان برخی از گونه‌های آلیوم به وجود اجزاء سولفور و پیش‌سازهای آنها مرتبط است.[۲۱] مطالعه‌ای نشان داد که بخش اعظم ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان، فقط به وجود

ویتامین‌های C، E و بتاکاروتن نسبت داده نمی‌شود بلکه به وجود اجزای دیگر از قبیل پلی‌فنولهایی وابسته است که دارای قدرت آنتی‌اکسیدانی قوی هستند.[۲۲] در مطالعه‌ای، نشان داده شده است که فرایندی همچون پختن دیواره ی سلول را نرم کرده و استخراج کاروتنوئیدها را تسهیل می‌کند[۲۳] و منجر به خروج آن‌ها در آب و کاهش میزان آن‌ها در بافت می‌شود. هم‌چنین در طول پختن با تغییر درجه حرارت، ویتامین‌های موجود در سبزیجات، کاهش می‌یابند.[۲۴] پس به نظر می‌رسد که در مطالعه ی ما، سیر تازه با دور بودن از فرآیندهایی هم‌چون پختن، هم توانسته است سایر ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و فلاونولی خود را حفظ کند و هم اینکه آلیسین آن تحت حرارت قرار نگرفته باشد. پس کاملاً منطقی به نظر می‌رسد که سیر تازه در مقایسه با سیر سه ماه مانده ترکیباتی هم‌چون کاروتنوئیدها و ویتامین‌های خود از جمله A، B، C را حفظ کرده باشد. به نظر می‌رسد که احتمالاً قدرت بالای آنتی اکسیدانی سیر تازه در مطالعه‌ی حاضر تا حدی هم به وجود ویتامین C و محتوای فنولی بالای آن (فنول، فلاونوئید و فلاونول) مرتبط بوده باشد. مطالعات نشان داده‌اند که سیر از جمله غذاهایی است که منجر به بهبود کیفیت زندگی افراد می‌شود. مطالعات آزمایشگاهی سیر و محتویاتش را به‌عنوان توقیف کننده‌های سرطانزایی و کاهش سطوح چربی خون معرفی کرده‌اند.[۲۵] به‌طوری‌که علاوه بر بوی شدیدی که دارد منجر به اثرات گسترده‌ای همچون اختلالات معدی روده‌ای و کم‌خونی می‌شود.[۲۶] این رویدادها به‌وسیله‌ی آلیسین و دیگر اجزاء سولفور محلول در آب که به‌وسیله‌ی واکنش‌های شیمیایی آبشاری از آلیسین تولید می‌شوند، اتفاق می‌افتد.[۲۷] در مطالعه‌ای نشان داده شد که عصاره‌ی سیر کهنه که با استخراج طولانی مدت از سیر، در اتانول آبی ایجاد شده و بوی سوزاننده نداشته است منجر به این رویدادها نشده و با قطعیت کامل در آزمایش‌های پزشکی به‌کار رفته است.[۲۸] هم‌چنین اثرات بالقوه‌ی ایمنی، آنتی اکسیدان[۲۹]، بهبود دهنده‌ی جریان خون محیطی، افزایش تولید سلول‌های طبیعی کشنده و ممانعت از کاهش عملکرد سیستم ایمنی در بیماران با سرطان پیشرفته، فعّال سازی فاکتور نسخه‌برداری و حفظ DNA از اثر رادیکال‌های آزاد، توسط عصاره‌ی سیر کهنه نشان داده شده است.[۳۰] مکانیسم عمل آنتی اکسیدانتی عصاره‌های سیر کهنه با عمل فاگوسیت‌کنندگی گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن (ROS)، افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت سلّولی، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و افزایش گلوتاتیون در سلّولها، همراه می‌باشد.[۳۱] از طرفی به نظر می‌رسد که با گذشت فقط مدت سه ماه از نگهداری سیر تازه در مطالعه ی حاضر، احتمالاً مواد مؤثره یا حتی آنزیم‌های مؤثر در اعمال خاصیت آنتی‌اکسیدانی و هم‌چنین بوی سوزاننده‌ی آن در مقایسه با عصاره‌ی سیر تازه کم شده است که در نهایت منجر به کاهش قدرت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنولی موجود در عصاره‌ی سیر سه ماه مانده شده است که این اثرات احتمالاً به کاهش آلیسین و دیگر اجزاء سولفور محلول در آب در عصاره‌ی سیر سه ماه مانده نسبت داده می‌شود. در مطالعه‌ای اثر عصاره ی سیر خام در ممانعت از یون مس متمایل به اکسیده کردن LDL و کاهش آنزیم‌های آنتی اکسیدان کبد نشان داده شد که این اثر سیر به خاصیت آنتی اکسیدانی آن نسبت داده می شود.[۱۰] بین فعالیت از بین بردن رادیکالهای آزاد و میزان فنول کل بخشهای مختلف عصاره ی سیر ارتباطی مثبت وجود دارد.[۱۰] ممکن است مقدار فنول کل در بخشهای مختلف گیاهان و با توجه به پروسه هایی که انجام می شود تغییر می کند.[۳۲] نتایج به دست آمده در این تحقیق در توافق با گزارشهای قبلی مبنی بر ارتباط مستقیم اجزاء فنولیک با فعالیت آنتی اکسیدان است.[۳۳]

در مطالعات آتی به کاربرد انواع بیشتری از عصاره ها به منظور به دست آوردن ضریب همبستگی و رسم نمودار مورد نظر به منظور ارائه ی بهتر نتایج، شناسایی و اندازه گیری مقدار تک تک فنولهایی که با توجه به مقادیر متفاوتشان در بخشهای مختلف گیاه دارای اثرات متفاوتی هستند و احتمالاً مسئول قسمت عمده ی فعالیت آنتی اکسیدانی هستند، پیشنهاد می‌شود. عصاره ی سیر تازه دارای ظرفیت آنتی اکسیدانی، میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و فلاونولی بیشتری در مقایسه با سیر سه ماه مانده بود. بنابراین بررسی مکانیسم دقیق مولکولی این اثرات، جداسازی سایر ترکیبات مؤثره‌ی موجود در این عصاره ها و نیز تعیین مکانیسم تأثیر ترکیبات مؤثره‌ی خالص جداسازی شده، مقایسه‌ی ترکیبات موجود در بخش‌های مختلف گیاه توصیه می‌شود. هم‌چنین بررسی چگونگی اثرگذاری روش‌های آماده‌سازی یا پروسه‌هایی که عصاره ها برای آماده شدن در آن قرار می‌گیرند، ضروری به‌نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

مولفین مراتب سپاس خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی واحد شهرکرد برای تصویب این طرح تحقیقاتی با شماره ثبت ۷۵۹ در تاریخ ۸۸/۷/۱۲ و مرکز تحقیقاتی گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد ابراز می دارند.

References

1. Bergamini CM, Gambetti S, Dondi A and Cervellati C. Oxygen, reactive oxygen species and tissue damage. Curr Pharm Des 2004; 10(14): 1611-1626.
2. Leonard SS, Cutler D, Ding M, et al. Antioxidant properties of fruit and vegetable juices: more to the story than ascorbic acid. Ann Clin Lab Sci 2002; 32(2): 193-200.
3. Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. FEBS Lett 1991; 281(2):9-19.
4. Duthie GG, Duthie SJ, Kyle JA. Plant polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants. Nutr Res Rev 2000; 13(1): 79-106.
5. Momeni T. [Phitology of extracts] Persian. 1st ed. Tehran. Shahid Farhad Reza Press; 1379: 218-220.
6. Augusti KT. Therapeutic values of onion (Allium cepa L.) and garlic (Allium sativum L.). Indian J Exp Biol 2003; 34(7): 634-640.
7. Wargovich MJ, Uda N, Woods C, et al. Allium vegetables: Their role in the prevention of cancer. Biochem Soc Trans 1996; 24(3): 811-814.
8. Lneil H, Silagy C. Garlic: Its cardioprotective properties

. Curr Opin Lipidol 1994; 5: 6-10.
9. Gorinstein SH, Leontowicz Ha, Leontowicz M, et al. Raw and boiled garlic enhances plasma antioxidant activity and improves plasma lipid metabolism in cholesterol-fed rats. Life Sci 2006; 78(6): 655-663.
10. Vimal V, Devaki T. Hepatoprotective effect of allicin on tissue defense system in galactosamine/endotoxin challenged rats. J Ethnopharmacol 2004; 90(1): 151-154.
11. Rosen RT, Hiserodt RD, Fukuda EK, et al. Determination of allicin, S-allylcysteine and volatile metabolites of garlic in breath, plasma or simulated gastric fluids. J Nutr 2001; 131(3s): 968S-71S.
12. Lu HF, Sue CC, Yu CS, et al. Diallyl-disulfide (DADS) induced apoptosis undergo caspase-3 activity in human bladder cancer T24 cells. Food Chem Toxicol 2004; 42(10): 1543-52.
13. Samsam H. [Extracting of assertive materials of herbs and method of their recognition and evaluation] Persian. Tehran: Mani Press; 1371: 293.
14. Baghalian K, Ziaei SA, Naghavi MR and Naghdiabadi H. Evalution of pre-cuture of Iranian garlic echotypes from the allicin amountspoint of view and their botanic characteristics. Quartely J Herbal Med 2004; 13(3): 50-59.
15. Farhoosh R, Golmovahhed GA, Khodaparast MH. Antioxidant activity of various extracts ofold tea leaves and black tea wastes (Camelliasinensis L). Food Chem 2007; 100(1): 231-6.
16. Jayaprakasha GK, Jena BS, Negi PS and Sakariah KK. [Evaluation of antioxidant activities and antimutagenicity of turmeric oil: A byproduct of curcumin production] Germany [Abstract]. Z Naturforsch C 2002; 57(9-10): 828-35.
17. Singleton VL, Rossi JR. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungestic acid reagent. Am J Enol Vitic, Issue 1965: 16(6): 144-158.
18. Pourmorad F, Hosseinimehr SJ, Shahabimajd N. Antioxidant activity phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. African J Biotech 2006; 11(5): 1142-45.
19. Nishimura H, Higuchi O, Tateshita K. Antioxidative activity of sulfur-containing compounds in Allium species for human. LDL oxidation in-vitro. Biofactors 2004; 21(1-4): 277-280.
20. Bors W, Saran M. Radical scavenging by flavonoid antioxidants. Free Radic Res Commun 1987; 2(4-6): 289-94.
21. Milner JA. Mechanisms by which garlic and allyl sulfur compounds suppress carcinogen bioactivation. Garlic and carcinogenesis. Adv Exp Med Biol 2001; 492: 69-81.
22. Filomeni G, Aquilano K, Rotilio G and Ciriolo MR. Reactive oxygen species-dependent c-Jun NH2-terminal kinase/c-Jun signaling cascade mediates neuroblastoma cell death induced by diallyl disulfide. Cancer Res 2003; 63(18): 5940-9.
23. You WC, Blot WJ, Chang YS, et al. Allium vegetables and reduced risk of stomach cancer. J Natl Cancer Inst 1989; 81(2): 162-4.
24. Buiatti E, Palli D, Decarli A, et al. A case-control study of gastric cancer and diet in Italy. Int J Cancer 1989; 44(4): 611-6.
25. Steinmetz KA, Kushi LH, Bostick RM, et al. Vegetable, fruit, and colon cancer in the Iowa women's health study. Am J Epidemiol 1994; 139(1): 1-15.
26. Freeman F, Kodera Y. Garlic chemistry: Stability of S-(2-propenyl) 2-propene-1-sulfinothiate (allicin) in blood, solvents, simulated physiological fluids. J Agric Food Chem 1995; 43: 2332-8.
27. Sumiyoshi H, Kanezawa A, Masamoto K, et al. Chronic toxicity test of garlic extract in rats. J Toxicol Sci 1984; 9(1): 61-76.
28. Yoshida S, Hirao Y, Nakagawa S. Mutagenicity and cytotoxicity tests of garlic. J Toxicol Sci 1984; 9(1): 77-86.
29. Ide N, Lau BH, Ryu K, et al. Antioxidant effects of fructosyl arginine, a Maillard reaction product in aged garlic extract. J Nutr Biochem 1999; 10(6): 372-6.
30. Borek C. Antioxidant health effects of aged Garlic extract. J Nutr 2001; 131(3s): 1010S-15S.
31. Djeridane M, Yousfi B, Nadjemi D, et al. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chem 2006; 97(4): 654-660.
32. Tang SY, Whiteman M, Peng ZF, et al. Characterization of antioxidant and antiglycation properties and isolation of active ingredients from traditional Chinese medicine. Free Radic Biol and Med 2004; 36(12): 1575-87.
33. Wong C, Li H, Cheng K and Chen F. A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. Food Chem 2006; 97(4): 705-711.

Comparing the antioxidant effect of fresh and old garlic extracts.

Fatemeh Taji,[1] Hedaiatollah Shirzad,[2] Kurosh Ashrafi,[3] Neda Parvin,[4] Soleiman Kheiri,[5] Abdolrasul Namjoo,[6] Azam Asgari,[7] Roya Ansari,[1] Mahmoud Rafieian[8]

***Background*:** Fruits and vegetables are considered to be the major source of antioxidants. Therefore, the aim of this study was to evaluate and compare the antioxidant activity of fresh and three-month old garlic. Phenolic compounds, flavonoids and allicin in two kinds of garlic extracts were also measured.

Materials and Method: In an experimental study the ethanol extracts fresh and three month old garlic were prepared and their antioxidant capacities were evaluated in linoleic acid and ß-carotene linoleate systems. The phenolic contents were measured by Folin-Ciocalteu method and felavonoid or flavonol contents with aluminum chloride method, and allicine contents with spectrophotometer. Statistical analysis was carried out using the SPSS software, version 15. Differences between the means of two groups were evaluated by a two-tailed *t*-test for independent samples. The *p*-values of <0.05 were considered significant.

Result: Efficiency of fresh garlic in inhibition of oxidative stress (35.36) was more than three-month old garlic (10.2) ($p<0.05$). In both of linoleic acid and ß-carotene linoleate systems, fresh garlic extract showed higher absorption compared with three-month old garlic ($p<0.05$). Phenolic compounds in fresh garlic (12.61mg/g) was more than three month old ones (2.89) ($p<0.05$). The content of allicin in fresh garlic extract was 15µg/ml compared with three-month old garlic which was 8µg/ml.

Conclusion: Fresh garlic has higher useful compounds and consumption of this form of garlic is recommended.

Keywords: Fresh garlic, old garlic, extracts, *antioxidant activity, phenol, flavonoid*

1. **MSc of Physiology, Medical Plants Rasearch Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.**
2. **Associate Professor of Immonology, Medical Plants Rasearch Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.**
3. **MSc of Microbiology, Medical Plants Rasearch Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.**
4. **MSc of Psychological Nursing, Medical Plants Rasearch Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.**
5. **Associate Professor of Statistics, Medical Plants Rasearch Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.**
6. **Assistant Profesor of Pathobiology, Islamic Azad University, Shahrekord branch, Shahrekord, Iran.**
7. **Physiology student, Medical Plants Rasearch Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.**
8. **Professor of Pharmacology, Medical Plants Rasearch Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.**