



بررسی ترکیبات موثر و خواص آنتی اکسیدانی اسانس گیاه دارویی زیره سیاه استان یزد

بی بی فاطمه حقیرالسادات*^۱، فرانسوز برنارد^۲، سید مهدی کلانتر^۳، محمد حسن شیخها^۴، فریبا حکم الهی^۵، مصطفی عظیم زاده^۶، مریم حوری^۷

- ۱- کارشناس ارشد بیوشیمی، دانشکده علوم زیست شناسی، دانشگاه شهید بهشتی تهران
- ۲- استاد گروه فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم زیست شناسی، دانشگاه شهید بهشتی تهران
- ۳- استاد گروه ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
- ۴- دانشیار گروه ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
- ۵- کارشناسی ارشد سیستماتیک گیاهی، دانشکده علوم زیست شناسی، دانشگاه شهید بهشتی تهران
- ۶- کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، گروه علوم زراعت و اصلاح نباتات، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۲/۳۰

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۸/۱۸

چکیده

مقدمه: گیاهان دارویی منابع طبیعی ارزشمندی هستند که امروزه مورد توجه کشورهای پیشرفته جهان قرار گرفته و به عنوان مواد اولیه جهت تبدیل به داروهای بی خطر برای انسان تلقی می شوند. یکی از مهمترین گیاهان دارویی کشورمان، زیره سیاه می باشد که در مناطق مختلفی از استان یزد می روید. درمان زخم معده، درمان شکستگی استخوان، برطرف کردن نفخ شکم، تب بر، کاهش چربی و کلسترول خون، ضد آلرژی و کاهش قند خون و بسیاری فواید دیگر از خواص دارویی مهم این گیاه می باشند. اسانس زیره سیاه خاصیت ضد اکسایشی داشته و در طعم دهنده های غذا، نوشابه، شکلات و پنیر استفاده می شود.

روش بررسی: در این تحقیق با استفاده از روش های کروماتوگرافی گازی، مواد متشکله اسانس بذر تفکیک و سپس شناسایی شدند. همچنین خواص آنتی اکسیدانی اسانس بذر به روش تخریب رادیکال های آزاد (DPPH) سنجیده شد و برای اندازه گیری مقدار کل ترکیبات فنولی از روش Follin-Ciocalteu استفاده شد.

نتایج: نتایج شناسایی مواد تشکیل دهنده اسانس نشان داد که بیشترین ترکیب تشکیل دهنده اسانس بذر زیره سیاه بومی استان یزد گاماترپنین (۲۱/۸۶ درصد) می باشد. همچنین تست آنتی اکسیدان، زیره سیاه را از نظر خواص آنتی اکسیدانی گیاهی پر اهمیت نشان داد. در این تحقیق میزان IC50 زیره سیاه بومی استان یزد ۲/۸۵ میکروگرم بر میلی لیتر و میزان ترکیبات فنولی ۱۱۷/۰۹ میلی گرم گالیک اسید بر گرم تشخیص داده شد که نسبت به مطالعات پیشین بر روی زیره سیاه سایر نقاط کشور نتایج بسیار بهتری را نشان داد.

نتیجه گیری: نتایج این تحقیق نسبت به دو تحقیق مشابه پیشین بر روی اسانس بذر زیره سیاه حاکی از برتری زیره سیاه بومی استان یزد از نظر خواص آنتی اکسیدانی می باشد.

واژه های کلیدی: گیاهان دارویی - زیره سیاه - ترکیبات اسانس - خواص آنتی اکسیدان

مقدمه

گیاهان دارویی منابع طبیعی ارزشمندی هستند که امروزه مورد توجه کشورهای پیشرفته جهان قرار گرفته و به عنوان مواد اولیه جهت تبدیل به داروهای بی خطر برای انسان تلقی می‌شوند. در این زمینه ایران یکی از غنی‌ترین منابع گیاهان دارویی جهان به شمار می‌رود که دارای تنوع بالای شرایط زیستگاهی برای انواع این گیاهان می‌باشد (۱). یکی از مهمترین و با ارزش ترین گیاهان دارویی و صادرات غیر نفتی کشورمان، زیره سیاه می‌باشد (۲).

زیره سیاه، گیاه چند ساله و خودگشن از خانواده چتریان است که با نام علمی *Bunium Persicum Boiss* معروف بوده و در زبان انگلیسی *Black Caraway* نامیده می‌شود. زیستگاه طبیعی این گیاه در سطح جهان، آسیای مرکزی، غربی، اروپای جنوب شرقی و درگستره‌ی ایران، استانهای تهران، قزوین، کرمان، خراسان، بندرعباس، اصفهان، فارس، سمنان و یزد است (۳، ۴، ۱).

درمان زخم معده، درمان شکستگی استخوان، برطرف کردن نفخ شکم، تب‌بر، کاهش چربی و کلسترول خون، ضد آلرژی و کاهش قند خون از خواص دارویی مهم این گیاه می‌باشد. اسانس زیره سیاه خاصیت ضد اکسایشی داشته و در طعم دهنده‌های غذا، نوشابه، شکلات و پنیر استفاده می‌شود. همچنین در بعضی مناطق آن را به صورت ادویه، چاشنی غذا و حتی در بعضی مناطق هندوستان از ریشه آن به عنوان سبزی استفاده می‌کنند (۱۲-۵).

اسانس زیره سیاه شامل کومین آلدهید، آلفاپنین و گاما ترپنین و بسیاری مواد موثر دیگر می‌باشد که در صنایع دارویی و غذایی کاربرد فراوان دارد. تولید اسانس در زیره سیاه بیش از ۳ برابر زیره سیاه سبز می‌باشد (۱۳). در مورد ترکیبات شیمیایی اسانس زیره سیاه گزارش‌های مختلفی وجود دارد زیرا کیفیت اسانس آن تحت تأثیر شرایط محیطی و ساختار ژنتیکی است که در مناطق مختلف، می‌تواند متفاوت باشد. در یکی از این بررسی‌ها، ۱۷ ترکیب مختلف در اسانس زیره سیاه شناسایی شده است (۱۴).

در مقایسه‌ای که بین ترکیبات شیمیایی اسانس زیره سیاه خودرو و زراعی در کشور هند صورت گرفته نشان داده شده است که اسانس نوع زراعی دارای کیفیت برتری است و دارای آلدئید بیشتر و ترپن هیدروکربن‌های (مثل پارا سایمن و گاما ترپنین) کمتری است (۱۵). قابل توجه است که علاوه بر دانه، زیره سیاه کاه و کلش نسبتاً زیادی تولید می‌کند که دارای ۱/۲ درصد اسانس می‌باشد که از نظر ترکیب شیمیایی مشابه دانه‌های رسیده است (۱۵).

ویژگی‌های اکسیدکنندگی اکسیژن نقش حیاتی در اعمال بیولوژیکی متفاوت مثل استفاده از غذا، انتقال الکترون برای تولید ATP دارد، در حالی که اکسیژن برای حیات ضروری است، همچنین می‌تواند باعث اکسید کردن مواد درون سلول شود و نقش تخریب کننده داشته باشد. اکسیژن می‌تواند به اشکال بسیار فعال مثل رادیکال‌های سوپراکسید (O_2^-)، رادیکال‌های هیدروکسیل (OH) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) تبدیل شود و به این صورت می‌تواند به DNA آسیب برساند، یا اینکه آنزیم‌های ضروری و پروتئین‌های ساختاری را تخریب کند. همچنین می‌تواند واکنش‌های زنجیره‌ای از کنترل خارج شده مثل واکنش‌های اتواکسیداسیون و پراکسیداسیون (مثلاً پلیمریزاسیون کاتالامین‌ها) را برانگیزد (۱۶، ۱۷).

پلی فنول‌ها نوعی از آنتی‌اکسیدان‌ها هستند که در جلوگیری از بسیاری بیماری‌ها از جمله سرطان نقش دارند، این ترکیبات بسیار متنوع هستند و اثرات متفاوتی دارند. ترکیبات فنولی شامل ویتامین‌ها، رنگدانه‌ها و فلاونوئیدها، ویژگی‌های ضد جهشی و در نتیجه ضد سرطانی و همچنین فعالیت کاهش قند خون را بر عهده دارند (۱۷).

در مطالعه‌ای بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های الکلی ۲۴ گیاه دارویی از جمله زیره سیاه جمع‌آوری شده از ایران، مقادیر IC 50 اسانس این گیاه $5/76 \mu g \cdot ml^{-1}$ و مقدار محتوای ترکیبات فنولی کل این گیاه دارویی $2/41 mg \cdot g^{-1}$ گزارش شد (۱۸).

در مطالعه‌ای Nikavar و همکاران با استفاده از بذرها ۷

گیاه دارویی خانواده چتریان از جمله زیره سیاه به بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های الکلی آنها پرداختند و نتایج نشان داد که این گونه دارای مقادیر $IC_{50} = 149/9 \mu g \cdot ml^{-1}$ می‌باشد، همچنین TFC (مقدار کل ترکیبات فنولی) $56/92 \mu g \cdot mg^{-1}$ می‌باشد (۱۹).

روش بررسی

به منظور انجام مطالعه پژوهشی - کاربردی در مورد زیره سیاه بومی استان یزد، نمونه‌های زیره سیاه، بهار و تابستان ۱۳۸۸ از سه منطقه رویشگاه طبیعی آن در استان یزد جمع‌آوری شد، سپس ۱۰۰ گرم از بذور هر نمونه با اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب و با دستگاه کلونجر، جهت انجام آزمون‌های آنتی‌اکسیدان و بررسی فیتوشیمیایی مورد آزمایش قرار گرفت. پس از شناسایی ترکیبات هر سه جمعیت، بهترین جمعیت انتخاب شد و تست آنتی‌اکسیدان تنها بر روی نمونه‌ی برتر انجام گرفت. اسانس‌گیری بدین صورت بود که بذور در دستگاه مخلوط کن خرد شده تا به صورت پودر در آمدند. سپس به روش تقطیر با آب (Hydrodistillation) و با استفاده از دستگاه کلونجر (Clevenger) به مدت ۲ ساعت برای هر نمونه، اسانس هر نمونه استخراج گردید. عصاره در محدوده‌ی بالای سولفات سدیم بدون آب خشک گردیده و درصد اجزای آن بر اساس وزن خشک دانه‌ها محاسبه گردید (۲۰).

شناسایی ترکیبات اسانس توسط روش کروماتوگرافی گازی انجام پذیرفت که مشخصات دستگاه بدین شرح بود: گاز کروماتوگراف نوع شیمادزو (Shimadzu) مدل 9A، نوع ستون، DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فاز ساکن ۰/۲۵ میکرون. دمای اولیه ستون ۵۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۵ دقیقه نگهداری شد و سپس افزایش دما تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد، به صورت افزایش‌های ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه برنامه‌ریزی شد. تزریق و آشکارسازی هر دو در دمای ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد انجام گرفتند. گاز حامل ستون، گاز هلیوم با سرعت خطی ۳۲ سانتیمتر بر ثانیه بود.

شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس با استفاده از شاخص‌های بازداری (Retention indices) و بررسی طیف‌های

جرمی ترکیبات و مقایسه‌ی آنها با طیف‌های جرمی استاندارد موجود در کتابخانه‌های کامپیوتری و مراجع معتبر، صورت گرفت. از میان ترکیبات فراوان موجود در عصاره زیره سیاه بومی استان یزد، تعدادی از عمده‌ترین و مهمترین مواد تشکیل دهنده این عصاره در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفتند.

اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها با استفاده از روش اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی (RSC) به کمک ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) مورد ارزیابی قرار گرفت. DPPH، ترکیبی است بنفش رنگ که به دلیل حضور گروه‌های فنیل در ساختارش به راحتی به صورت رادیکال در آمده و در واقع منبع رادیکال آزاد می‌باشد. این ترکیب با گرفتن یک الکترون از ترکیب آنتی‌اکسیدان، از رنگ بنفش به زرد تغییر رنگ می‌دهد. رادیکال‌های آزاد موجود در DPPH، در ۵۱۷ نانومتر جذب دارند که از قانون بیر لامبرت پیروی می‌کنند و کاهش جذب آن با میزان ماده آنتی‌اکسیدان رابطه خطی دارد. هر چه بر مقدار ماده آنتی‌اکسیدان افزوده شود، DPPH بیشتری مصرف شده و رنگ بنفش بیشتر به سمت زرد میل می‌کند.

در این روش برای مقایسه اثر آنتی‌اکسیدان اسانس از بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) استفاده شد. نمونه‌ها با غلظت‌های متفاوت با یک میلی‌لیتر از محلول ۹۰ میکرومولار DPPH مخلوط شد و به وسیله‌ی متانول ۹۵٪ به حجم ۴ میلی‌لیتر رسید و برای مدت زمان ۶۰ دقیقه در تاریکی تکان داده شد. جذب محلول‌های حاصله و شاهد (حاوی مواد شیمیایی یکسان، بجز نمونه) بعد از این مدت زمان، در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. درصد RSC بوسیله فرمول زیر محاسبه گردید:

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

A_{sample} و A_{blank} ، به ترتیب میزان جذب شاهد و نمونه می‌باشند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس به صورت مقدار IC_{50} نشان دهنده غلظتی از ترکیب است که باعث ۵۰٪ بازداری در ظرفیت رادیکالی می‌گردد. این مقدار، به وسیله آنالیز همبستگی خطی حاصل از مقادیر RSC برای غلظت‌های مختلف نمونه،

تعیین شد. همانطور که گفته شد، نتایج بدست آمده با مقدار IC_{50} آنتی اکسیدان BHT به عنوان کنترل مثبت مقایسه گردید.

عموماً برای اندازه گیری مقدار کل ترکیبات فنولی از روش Follin-Ciocalteu استفاده می شود. برای این منظور مقدار ۰/۴ گرم گالیک اسید خشک در ۱۰ میلی لیتر اتانول ۹۶ درصد حل کردیم و سپس با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رساندیم. بدین ترتیب محلول مادر تهیه شد، که برای رسم منحنی کالیبراسیون مقادیر ۰، ۱، ۲، ۳، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی لیتر از محلول مذکور به بالن های ژوزه ۱۰۰ میلی لیتری منتقل و هر یک با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. این محلول ها به ترتیب دارای غلظت های ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر گالیک اسید بودند. در این آزمایش ۲۰ میکرولیتر از اسانس ها با غلظت ۱۰ گرم بر لیتر، با ۲ میلی لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر از معرف Folin-Ciocalteu مخلوط شدند (۲۱).

بعد از ۳ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر از محلول Na_2CO_3 (۰/۷٪) به آنها اضافه شد و محلول ها به مدت ۲ ساعت تکان داده شدند. نهایتاً جذب محلول ها در ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه گیری شد. مقدار کل ترکیبات فنولی عصاره ها با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید محاسبه شد. پس از رسم منحنی کالیبراسیون گالیک اسید، معادله خطی منحنی به دست می آید که با قراردادن مقادیر جذب به دست آمده از اسانسها در این معادله می توان غلظت معادل گالیک اسید از اسانسها را به دست آورد. غلظت به دست آمده بر حسب ppm می باشد. پس از تبدیل ppm به میلی گرم گالیک اسید، نتیجه نهایی بر حسب میلی گرم گالیک اسید بر گرم خشک اسانس گزارش می شود.

آنالیز آماری شامل تجزیه واریانس داده ها برای تیمارهای دوز های مختلف به کارگیری اسانس زیره سیاه در تست آنتی اکسیدان DPPH و همچنین مقایسه میانگین به روش آزمون چند دامنه ای دانکن بود که توسط نرم افزار SAS نسخه ۹ انجام پذیرفت.

نتایج

خلاصه ی کلی نتایج حاصل از تفکیک اسانس بذر زیره ی

سیاه و شناسایی مواد در جدول یک آمده است. بیشترین ترکیب تشکیل دهنده ی اسانس بذر زیره سیاه بومی استان یزد گاماترینین (۲۱/۸۶ درصد) و کمترین (1-amino-1-ortho-chlorophenyl-2-(2-quinoxaliny) ethane (۰/۳۲ درصد) می باشد.

در این تحقیق میزان IC_{50} زیره ی سیاه بومی استان یزد ۲/۸۵ میکروگرم بر میلی لیتر و میزان ترکیبات فنولی ۱۱۷/۰۹ میلی گرم گالیک اسید بر گرم تشخیص داده شد.

نتایج به دست آمده از غلظت های موثر مختلف از اسانس زیره ی سیاه ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۵۰، ۷۰ و ۹۰ میکرولیتر که ۵۰٪ رادیکال های آزاد را تخریب می کنند (IC_{50}) در نمودار ۱ مشاهده می گردد. بالاترین درصد تخریب رادیکال های آزاد، برای غلظت ۹۰ میکرولیتر و پایین ترین درصد برای ۱۰ میکرولیتر می باشد.

نتایج بدست آمده به همراه ۳ بار تکرار در نمودارهای (۱) و (۲) آمده است.

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس در جدول ۲ مشاهده می گردد. همان گونه که در این جدول ملاحظه می شود، مقدار F بسیار بالا بوده و در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار می باشد. این بدین معنی است که می توان با اطمینان ۹۹ درصد گفت که حداقل یکی از تیمارها (دوز های اسانس) با بقیه دارای تفاوت معنی دار می باشد.

در ادامه با انجام آزمون مقایسه میانگین چند دامنه ای دانکن با سطح اطمینان ۹۹ درصد مشخص گردید که تیمارهای ۱۰ و ۲۰ میکرولیتر اسانس در یک گروه قرار گرفتند و بدترین نتایج را از لحاظ آنتی اکسیدانی داشتند. تیمار ۱۵ میکرولیتر به تنهایی در یک گروه قرار گرفت. تیمارهای ۵۰، ۷۰ و ۹۰ میکرولیتر در یک گروه قرار گرفته و بهترین نتایج را از لحاظ خواص آنتی اکسیدانی دارا بودند. همانطور که در نمودار هم ملاحظه می شود در میان این سه تیمار برتر، تیمار ۹۰ میکرولیتر از همه نتیجه بهتری داشته است و به عنوان بهترین تیمار این تحقیق انتخاب شده است.

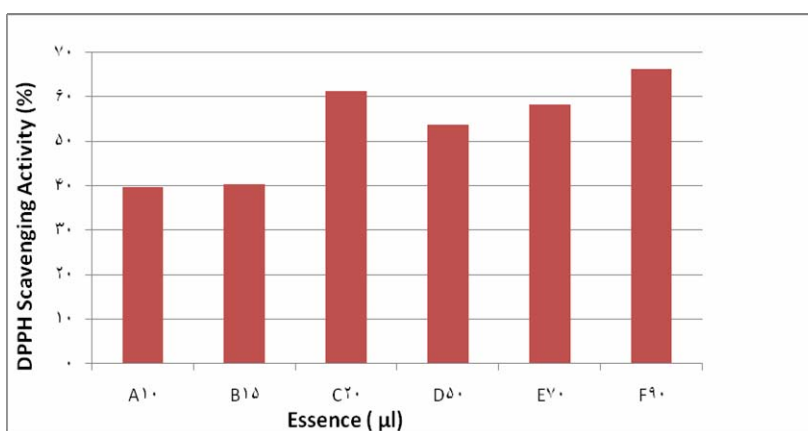
جدول ۱- ترکیبات شناسایی شده تشکیل دهنده اسانس زیره سیاه بومی استان یزد با روش کروماتوگرافی گازی

نام ترکیب	درصد ترکیب	زمان بازداری
Camphene	۱/۱۶	۱۱/۸۱۴
Para-cymene	۶/۲۱	۱۳/۳۷۲
1-limonene	۲/۴۷	۱۳/۴۹۹
γ-Terpinene	۲۱/۸۶	۱۴/۴۴۴
Trans-Decalone	۱/۱۹	۱۸/۷۴۶
Cuminic aldehyde	۱۷/۲۸	۲۰/۱۲۳
cyclopentanone	۱/۴۲	۲۱/۳۹۱
acetylphenylcarbinol	۵/۸۳	۲۱/۴۸۳
1-amino-1-ortho-chlorophenyl-2-(2-quinoxaliny)ethene	۰/۳۲	۴۹/۹۸۶
5-methyl-2-phenylindolizine	۰/۴۲	۵۳/۵۳۳
Silicic acid	۰/۵۳	۶۲/۸۷۴
5-nitrobenzofuran-2-carboxylic acid	۰/۷	۶۴/۱۵۸
مجموع	۵۹/۳۹	

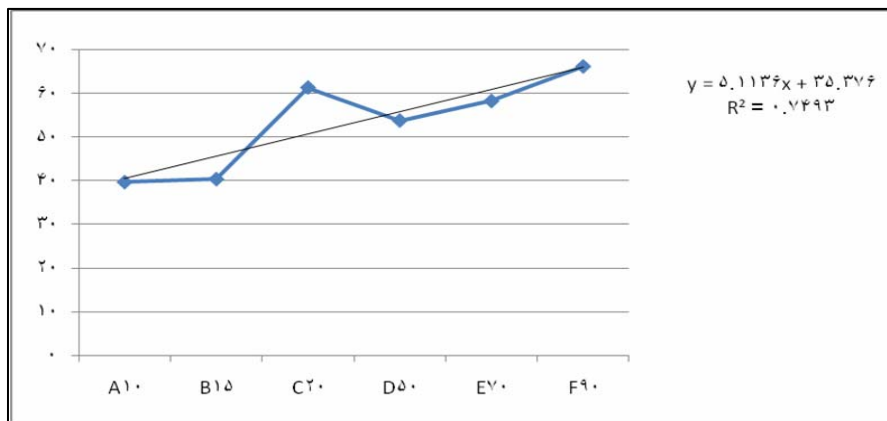
جدول ۲- نتایج تحلیل واریانس داده‌های مربوط به دزهای استفاده شده در تست آنتی اکسیدان به روش DPPH

منابع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	مقدار F آزمون
تیمار (مقدار عصاره مصرفی)	۵	۰/۸۳۹۸	۰/۱۶۷۹	۸۰/۸۶**
خطا	۱۲	۰/۰۲۴۹	۰/۰۰۲۰	
کل	۱۷	۰/۸۶۴۷		

** به معنای معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد میباشد



نمودار ۱- میزان فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس زیره سیاه در آزمایش تخریب رادیکال های DPPH (حروف انگلیسی زیر هر ستون نشان دهنده کد آن تیمار می باشد)



نمودار ۲- میزان فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس زیره سیاه در آزمایش تخریب رادیکال های DPPH (حروف انگلیسی در محور افقی نشان دهنده کد آن تیمار می باشد)

نتیجه گیری

میکروگرم بر میلی لیتر بود که بالاتر از تحقیق Souri و همکاران می باشد. همچنین مقدار محتوای ترکیبات فنولی کل این گیاه دارویی $2/41 \text{ mg.g}^{-1}$ گزارش شد که در مطالعه حاضر $117/09$ میلی گرم گالیک اسید بر گرم بود (۱۷).

در مطالعه ی Nikavar و همکاران خواص آنتی اکسیدانی عصاره های الکلی زیره سیاه نتایج نشان داد که این گونه، دارای $IC_{50} = 149/9 \mu\text{g.ml}^{-1}$ می باشد، همچنین TFC (مقدار کل ترکیبات فنولی) $56/92 \mu\text{g.mg}^{-1}$ می باشد، که نسبت به نتایج تحقیق حاضر بسیار خواص آنتی اکسیدانی کمتری نشان داد، همچنین مقدار ترکیبات فنولی تقریباً نصف میزان زیره سیاه استان یزد در تحقیق حاضر بود (۱۸).

بر طبق آنالیزهای آماری و همانطور که در نمودار هم ملاحظه می شود در میان این شش تیمار، تیمار ۹۰ میکرو لیتر از همه نتیجه بهتری داشته است و به عنوان بهترین تیمار این تحقیق انتخاب شده است.

نتایج حاصل از بررسی ترکیبات تشکیل دهنده ی اسانس بذر زیره سیاه استان یزد تقریباً با مطالعات پیشین مطابقت دارد (۱۳-۱۵). هر چند که تولید متابولیت های ثانویه در گیاهان دارویی به شدت تحت شرایط محیط می باشد، اما در هر صورت نقش عمده در بیان صفات فیزیولوژیکی گیاه بیشتر تحت تأثیر ژنوتیپ گیاه می باشد در نتیجه تولید متابولیت های ثانویه گیاه را بسیار تحت تأثیر شرایط محیطی به خصوص استرس های زیستی و غیر زیستی می دانند.

نتایج بدست آمده از تست خاصیت آنتی اکسیدان اسانس بذر زیره سیاه استان یزد نشان داد که این گونه، دارای خواص آنتی اکسیدانی خوبی می باشد. نتایج این تحقیق نسبت به دو تحقیق مشابه پیشین بر روی اسانس بذر زیره سیاه حاکی از برتری زیره سیاه بومی استان یزد از نظر خواص آنتی اکسیدانی می باشد.

در مطالعه ی Souri و همکاران مقدار IC_{50} اسانس این گیاه $5/76 \mu\text{g.ml}^{-1}$ بود در صورتی که در مطالعه حاضر $2/85$

منابع:

1- Azimzadeh M. *Genetic assessment of Iranian Bunium persicum Boiss using ITS*. Tehran: University of Tehran; 2009. p.81.[persian]

- 2- Pour-seyedi S. *Assessment of germination and cytology of three Iranian caraway genus: Bunium, Carum and Cuminum*. Tehran: University of Tehran; 1994.p.89.[persian]
- 3- Dehkhoda AA. *Dictionary of Persian words*. Tehran: University of Tehran; 1957.p. 26475.[persian]
- 4- Zeinali N. *Recognition, cultivation and culturing of Caraway*. Kerman: Vadiat; 2007. p.56[persian]
- 5- Ranjbarian P, Sadeghian S, Shirazi M, Sarraf-Nejad A, Fazeli M, Amin G, et al. *Antimicrobial properties of four plant essential oils and essences against H.pylori using disc diffusion and flow cytometry methods*. Scientific Journal of Medical University of Hamadan. 2004; 33(11): 42-7.[persian]
- 6- Avicenna Sh. *The canon of medicine*. Tehran: Soroush; 1980.[persian]
- 7- Boskabady M H, Moghaddas A. *Antihistaminic effect of Bunium persicum on Guinea Pig tracheal chains*. Iranian Biomedical Journal. 2004; 8(3): 149-55.
- 8- Takayuki S, Mami S, Azizi M, Yoshiharu F. *Antifungal effects of volatile compounds from black Zira (Bunium persicum) and other spices and herbs*. Journal of Chemical Ecology. 2007; 33(11): 2123-32.
- 9- Syed M, Hanif M, Chaudhary F M, Bhatti M K. *Antimicrobial activity of the essential oils of the Umbelliferae family: Part I. Cuminum cyminum, Coriandrum sativum, Foeniculum vulgare and Bunium persicum oils*. Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research. 1986; 29(3): 183-8.
- 10- Hanelt PH, Büttner R, Mansfeld R, Kilian R. *Mansfield's Encyclopedia of Agricultural and Horticultural Crops*. Berlin, Springer; 2001.p.511
- 11- Panda H. *Aromatic plants cultivation, processing and uses*. India: National Institute of Industrial Research; 2004.p. 334.
- 12- Peter KV. *Handbook of herbs and spices*. Florida, CRC Press; 2004. p.72.
- 13- Shankaracharya, NB, Shankaracharya ML. *Research note on the essential oils of Cuminum cyminum L. and Bunium persicum. B*. Pafai Journal. 1988; 10(4): 33-5.
- 14- Singh JM, Kaith DS. *Variability and correlation studies in some kala zira collecting from Kinnaur (H.P) for some kala zira yield contributing parameters*. Indian Cocoa Arecanut and Spices Journa 1991; 14(3):81-2.
- 15- Thappa RK, Ghosh S, Agarwal SG, Raina AK, Jamwal PG. *Comparative studies on the major volatiles of kala zira (Bunium persicum seed) of wild and cultivated sources*. Food Chemistry. 1991; 41(2):129-34.
- 16- Ajith TA, Janardhanan KK. *Indian medicinal mushroom as a source of antioxidant and antitumor agents*. J. Clin. Biochem. Nutr. 2007; 40(3): 157-62.
- 17- Shun YM, Wen YH, Yong CY, Jian GS. *Two benzyl dihydroflavones from phellinus igniarius*. Chinese Chemical Letters. 2003; 14(8): 810-13.
- 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- Nikavar B, Abolhasani F. *Screening of antioxidant properties of seven umbelliferae fruits from Iran*. Pak. J

Pharm Sci. 2009; 22(1): 30-5.

20- Sefid kon F, Rahimi Bidgoli A. *Quantitative and qualitative variation assessment of Thymus kotschyanus essence in plant growth duration and using several instillation methods*. Journal of Medicinal and Aromatics Plant Research. 2002; 15(0): 1-22. [persian]

21- Singh RP, Murthy KN, Jayaprakasha GK. *Studies on the antioxidant activity of pomegranate peel and seed extracts using in vitro models*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2002; 50(1): 81-6.