

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدان ۲۵ دانه گیاه مورد مصرف در طب سنتی ایران

عفت سوری^{۱*}، حسن فرسام^۲، معصومه حسنی^۳، زهرا عظیمی خیرآبادی^۴

۱- دانشیار گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲- استاد گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- داروساز، گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۴- داروساز، گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

*آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده داروسازی، صندوق پستی: ۱۴۱۵۵-۶۴۵۱

تلفن: ۶۱۱۲۳۲۸ (۰۲۱)، نمابر: ۶۴۶۱۱۷۸ (۰۲۱)

پست الکترونیک: souri@sina.tums.ac.ir

چکیده

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی حیاتی هستند که دارای خاصیت محافظت بدن از صدمات ناشی از استرس‌های اکسیداتیو می‌باشند. انواع مختلفی از آنتی‌اکسیدان‌ها در بدن موجودات زنده وجود دارد که بسیاری از آنها از منابع غذایی مانند میوه، سبزیجات و نوشیدنی‌ها تامین می‌شود.

در این مطالعه خاصیت آنتی‌اکسیدان تعداد ۲۵ دانه گیاهی مورد مصرف در طب سنتی در مقابل پراکسیداسیون لینولئیک اسید با استفاده از معرف ۱ و ۳- دی انیل ۲- تیوباربتوریک اسید بررسی شده است. تعدادی از دانه‌ها شامل بارهنگ، کاهو، جوزهندی، خرفه، خیار، رازیانه، زیره‌سبز، زنیان و هلیله سیاه که IC_{50} آنها به ترتیب برابر ۰/۶۷، ۰/۵۷، ۰/۲۹، ۰/۴۷، ۰/۰۵، ۰/۳۲، ۰/۲۳، ۰/۵۶ و ۰/۶۱ میکروگرم است قابل مقایسه با ویتامین E ($IC_{50} = ۰/۵۹$) می‌باشند.

کلواژگان: آنتی‌اکسیدان، دانه‌های گیاهی، لینولئیک اسید، ۱ و ۳- دی انیل ۲- تیوباربتوریک اسید



مقدمه

در سال‌های اخیر ثابت شده است که رادیکال‌های آزاد با منشای داخلی یا خارجی از مهم‌ترین عوامل بروز شرایط پاتولوژیک در بیماری‌های التهابی، دیابت ملیتوس، آترواسکلروز، ایسکمی قلبی و مغزی، سرطان، نقص ایمنی و پیری در انسان می‌باشند [۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶]. مطالعات نشان داده است که اکثر بیوماکرومولکول‌هایی که حاوی درصد بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع هستند از جمله غشاهای و LDL بسیار مستعد حمله رادیکال‌های آزاد هستند و به آسانی لیپیدپراکسیداسیون در آنها صورت می‌گیرد که منجر به آسیب سلولی و بروز علائم پاتولوژیک در تعدادی از بیماری‌ها می‌گردد [۲، ۴]. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که با غلظت کم در مقایسه با سوپسترا به‌طور قابل ملاحظه‌ای باعث کاهش سرعت واکنش‌های اکسیداتیو با مکانیزم‌های مختلف می‌گردند [۴]. تعداد زیادی ترکیبات آنتی‌اکسیدان داخلی و خارجی، طبیعی یا صنایعی جهت درمان و یا پیشگیری از بیماری‌های مرتبط با رادیکال‌های آزاد معرفی شده‌اند [۳، ۴، ۷]. از طرفی ثابت شده است که تعدادی از آنتی‌اکسیدان‌های صنایعی که در صنایع غذایی به‌عنوان محافظ استفاده می‌شوند دارای عوارض جانبی می‌باشند. با آنکه میزان مصرف این ترکیبات به‌عنوان محافظ باعث ایجاد عوارض نمی‌گردد توجه محققان به یافتن آنتی‌اکسیدان‌هایی با منشای طبیعی معطوف شده است [۸]. فعالیت آنتی‌اکسیدان تعدادی از مشتقات گیاهی غیر از ویتامین‌ها به‌صورت عصاره و یا مشتقات فنلی و فلاونوئیدها بررسی شده و در بسیاری از موارد مشتقاتی بسیار فعال‌تر از ترکیبات شناخته شده مانند ویتامین C، E و بتاکاروتن شناسایی شده‌اند [۸، ۹، ۱۰، ۱۱]. این مشتقات در قسمت‌های مختلف گیاه از جمله برگ، ساقه، میوه، ریشه و دانه گیاه یافت می‌شوند. ثابت

شده است این گونه مشتقات و گیاهانی که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدان هستند باعث کاهش خطر بیماری‌های دژنراتیو شده و اثر پیشگیری در مقابل استرس‌های اکسیداتیو دارند [۱۱].

در این مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدان عصاره تعداد ۲۵ دانه گیاهی مورد مصرف در طب سنتی از طریق مهار پراکسیداسیون لینولئیک اسید و با استفاده از معرف ۳ و ۱- دی اتیل ۲- تیوباربیتوریک اسید مورد بررسی قرار گرفته است [۱۲].

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

تعداد ۲۵ دانه گیاهی که به‌طور معمول در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرند از فروشگاه‌های گیاهان دارویی (عطاری) شهر تهران خریداری و توسط بخش هرباریوم گروه فارماکولوژی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران شناسایی شدند.

مواد شیمیایی

لینولئیک اسید و معرف ۳ و ۱- دی اتیل ۲- تیوباربیتوریک اسید (DETBA) به ترتیب از شرکت Aldrich و (Darmstadt, Germany) Merck (Milwaukee, WI, USA) تهیه شدند. سدیم دودسیل سولفات (SDS) و بوتیلپتته هیدروکسی تولوئن (BHT) از شرکت Sigma (St. Louis, MO, USA) خریداری شدند. کلیه مواد و حلال‌های مورد استفاده دیگر از خلوص بالا برخوردار بودند و از شرکت Merck خریداری شدند.

تهیه عصاره الکلی

عصاره‌گیری به روش خیساندن انجام گردید. ۵۰ گرم پودر دانه گیاه در ۱۵۰ میلی‌لیتر متانول خیس شده و یک‌ساعت با به‌هم‌زن مغناطیسی به‌هم زده شد. بعد از یک شب ماندن در هوای آزمایشگاه محلول حاوی عصاره الکلی جدا و صاف گردید. به رسوب باقیمانده دوباره ۱۵۰ میلی‌لیتر متانول اضافه



محلول‌های بلانک F_1 و F_2 با همان روش ولی بدون لینولئیک اسید آماده شده و میزان فلورسانس آنها تعیین گردید (F_4 , F_3). میزان پراکسیداسیون با توجه به شرایط یکسان در کلیه نمونه‌ها معادل ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شد (F_2). میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان بر مبنای درصد مهار اکسیداسیون لینولئیک اسید با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

$$100 = [1 - (F_1 - F_3) / (F_2 - F_4)] \times 100$$

هر یک از اندازه‌گیری‌ها سه بار انجام شده و نتایج به صورت میانگین بیان شد. میزان IC_{50} برای هر یک از عصاره‌ها با استفاده از نرم‌افزار کامپیوتری Pharmacologic Calculation, ver. 4 تعیین گردید.

نتایج

میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان عصاره دانه‌های گیاهی مورد بررسی طبق روش ذکر شده در بخش قبل بر حسب درصد مهار اکسیداسیون لینولئیک اسید محاسبه و مقدار IC_{50} برای هر یک از عصاره دانه‌ها تعیین گردید. نتایج در جدول شماره ۱ آورده شده است. همان‌گونه که در این جدول دیده می‌شود میزان درصد مهارکنندگی اکسیداسیون لینولئیک اسید تقریباً در تمامی دانه‌های گیاهی بررسی شده با استفاده از ۴۰ میکروگرم از عصاره بیشتر از ۹۶ درصد می‌باشد. در غلظت‌های پایین‌تر فعالیت مهارکنندگی متفاوت بوده ولی به‌طور کلی با افزایش غلظت، میزان درصد مهارکنندگی نیز افزایش نشان می‌دهد. با استفاده از ۴ میکروگرم از عصاره در محیط واکنش بارهنگ، جوز هندی، خاکشیر، خرفه، خیار، رازیانه، زنیان، زیره سبز، کاهو، کرفس، گشنیز و هلیله سیاه درصد مهار بالاتر از ۷۰ درصد را نشان می‌دهند. با استفاده از ۰/۴ میکروگرم از عصاره در محیط واکنش جوز هندی، خرفه، خیار، رازیانه و زیره سبز درصد مهار بالاتر از ۵۰ درصد را نشان می‌دهند.

شد و عصاره‌گیری همانند روز قبل تکرار گردید. بعد از ۳ روز کلیه محلول‌های جدا شده در حرارت $40^{\circ}C$ و در فشار پایین تقطیر شد تا حلال به‌طور کامل خارج شده و وزن عصاره حاصل از هر یک از دانه محاسبه گردید.

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدان

جهت ارزیابی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان عصاره‌های تهیه شده از روش پراکسیداسیون لینولئیک اسید و سنجش محصولات اکسیداسیون با استفاده از معرف ۱-۳ - دی اتیل ۲- تیوباربیتوریک اسید استفاده شد [۱۲]. برای انجام واکنش مقدار ۲۰ میکرولیتر از محلول عصاره گیاه (با غلظت‌های ۲۰-۲۰۰ mg/ml) را در یک لوله آزمایش ریخته در اتانول مطلق اضافه کرده و به مدت ۱۰ ثانیه با ورتکس به هم زده شد. مخلوط حاصل در انکوباتور $80^{\circ}C$ به مدت ۶۰ دقیقه قرار داده شد و سپس مقدار ۲۰۰ میکرولیتر محلول BHT (۲۰ میلی‌مولار در اتانول مطلق)، ۲۰ میکرولیتر محلول SDS (۸ درصد در آب مقطر)، ۱/۶ ml معرف DETBA (۱۲/۵ mM) در اتانول مطلق و ۱/۶ ml بافر فسفات (۰/۱۲۵ M و $pH = 3$) اضافه شد. بعد از مخلوط شدن لوله‌های آزمایش به مدت ۱۵ دقیقه در حرارت $95^{\circ}C$ قرار داده شد و سپس بلافاصله در آب و یخ قرار داده و مقدار ۴ ml اتیل استات اضافه شد. بعد از بهم زدن لوله‌ها در سانتریفوژ با دور ۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفته فاز اتیل استات جدا شده به یک لوله آزمایش دیگر منتقل شد. میزان فلورسانس فاز اتیل استات با استفاده از دستگاه اسپکتروفلوریمتر (Model RF- 5000, Shimadzu, Kyoto, Japan) در طول موج‌های $\lambda_{em} = 555nm$ و $\lambda_{ex} = 515nm$ تعیین شد (F_1).

یک لوله آزمایش حاوی لینولئیک اسید (۲۰ میکرولیتر) بدون افزودن محلول عصاره با همان روش قبل به‌عنوان شاهد مثبت تهیه شد (F_2).



جدول شماره ۱- نام فارسی، نام علمی، نام انگلیسی، گونه و میزان IC_{50} استخراج شده گیاهان در مقابل ۳۰ میکروگرم/لیتر (میکروگرم/لیتر)

IC ₅₀ (میکروگرم/لیتر)	در ضد پهل استریمون		گونه	نام انگلیسی	نام علمی گیاه	نام گیاه
	۴۰ میکروگرم/لیتر mean±SD	۲۰ میکروگرم/لیتر mean±SD				
۶/۱۳ ± ۰/۷۳	---	۷۷/۰۰ ± ۷/۱۴	Plantaginaceae	Blood plantain	<i>Plantago ovata</i> Forst.	اسفودزه
۴/۰۵ ± ۰/۰۳	۲۰/۰۹ ± ۲/۸۰	۴۹/۹۶ ± ۷/۸۰	Umbelliferae	Anise	<i>Phoeniculum anthium</i> L.	انیسون
-/۰۷ ± ۰/۰۹	۹/۲۳ ± ۷/۸۸	۴۲/۳۷ ± ۷/۳۹	Plantaginacea	Great plantain	<i>Plantago major</i> L.	پارچهک
۷/۸۸ ± ۰/۰۷	۱۹/۵۴ ± ۷/۳۹	۲۷/۲۷ ± ۰/۶۸	Labiatae	Basil seed	<i>Ocimum basilicum</i> L.	ریحان
-/۰۳ ± ۰/۰۱	۵۰/۸۸ ± ۷/۰۸	۴۹/۰۷ ± ۰/۴۹	Myristicaceae	Nutmeg	<i>Myristica fragrans</i> Houtz.	چونگلی
-/۰۳ ± ۰/۰۳	۴/۰۵ ± ۷/۰۶	۴۴/۹۴ ± ۷/۳۹	Cuniferae	Flixweed seed	<i>Descurainia sophia</i> (L.) Webb & Behr.	خاکشیر
-/۰۷ ± ۰/۰۹	۲۷/۱۲ ± ۷/۴۹	۴۹/۰۱ ± ۰/۰۷	Ranunculacea	Common pansy seed	<i>Ranunculus akkocosa</i> L.	خزله
۷/۸۴ ± ۰/۰۴	۱۴/۵۷ ± ۷/۵۶	۲۹/۸۴ ± ۷/۸۸	Papaveraceae	Opium poppy	<i>Papaver somniferum</i> L.	گلخاکشیر
-/۰۵ ± ۰/۰۰	۴۷/۰۴ ± ۷/۵۴	۴۹/۲۰ ± ۰/۴۵	Cucurbitaceae	Cucumber seed	<i>Cucumis sativus</i> L.	خیار
-/۰۳ ± ۰/۰۲	۵۴/۷۵ ± ۷/۸۴	۴۴/۳۸ ± ۰/۸۵	Umbelliferae	Fennel	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill	رازیانه
-/۰۶ ± ۰/۰۸	۳۷/۱۳ ± ۷/۰۵	۴۹/۸۸ ± ۰/۲۰	Umbelliferae	Bishop's weed fruit	<i>Trachyspermum capitatum</i> (L.)	زیتان
-/۰۲ ± ۰/۰۸	۳۷/۰۹ ± ۷/۳۹	۴۷/۱۷ ± ۰/۷۷	Umbelliferae	Cumin	<i>Cuminum cyminum</i> L.	زیره سیاه

ادامه جدول شماره ۱- نام فارسی، نام علمی، تیره و میزان IC₅₀ نمونه‌های گیاهان در مقابل *Styrychnolobus* بیولوژیک اسید

IC ₅₀ (میکروگرم)	تیره پیرا آسیتراپیون		تیره	نام علمی	نام علمی کردی	نام علمی
	میانگین ± mean±SD	میانگین ± mean±SD				
V19 ± 1/4	---	9V19 ± V19	Umbelliferae	Wild caraway	Bannan perstani (Boiss) B. Fedisch	سبزیان
9V19 ± 1/4	V19 ± V19	9V19 ± V19	Boerhaaviae	Sebesten plums	<i>Cordia alliodora</i> L.	سبزیان
9V19 ± 1/4	---	V19 ± V19	Ranunculaceae	Black curin	<i>Nigella arvensis</i> Sibth. L.	سبزیان
V19 ± 1/4	---	9V19 ± V19	Leguminosae	Fenugreek seed	<i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	سبزیان
9V19 ± 1/4	---	9V19 ± V19	Umbelliferae	Dill seed	<i>Anethum graveolens</i> L.	سبزیان
V19 ± 1/4	V19 ± V19	9V19 ± V19	Cunilaee	Abyssum	<i>Lepidium perfoliatum</i> L.	سبزیان
V19 ± 1/4	---	9V19 ± V19	Cunilaee	Abyssum	<i>Alyssum hamulocarpum</i> (E&M) Boiss	سبزیان
9V19 ± 1/4	---	9V19 ± V19	Compositae	Lettuce	<i>Lactuca sativa</i> L.	سبزیان
V19 ± 1/4	V19 ± V19	9V19 ± V19	Linaceae	Linseed	<i>Linum usitatissimum</i> L.	سبزیان
V19 ± 1/4	---	9V19 ± V19	Umbelliferae	Celery	<i>Apium graveolens</i> L.	سبزیان
V19 ± 1/4	V19 ± V19	9V19 ± V19	Umbelliferae	Coriander	<i>Coriandrum sativum</i> L.	سبزیان
V19 ± 1/4	---	9V19 ± V19	Zingiberaceae	Cardamon	<i>Elettaria cardamomum</i> Maton	سبزیان
9V19 ± 1/4	V19 ± V19	9V19 ± V19	Compositae	Myrobalan	<i>Terminalia chebula</i> Retz	سبزیان

و.ت.س.ع



ویتامین E می‌باشد که فعالیت آنتی‌اکسیدان فوق‌العاده دانه‌های این گیاه را نشان می‌دهد.

فعالیت آنتی‌اکسیدان رازیانه [۱۴]، میوه خیار [۱۵]، زنیان [۱۶]، برگ کاهو [۱۵] و هلیله سیاه [۱۷] قبلاً گزارش شده است که با نتایج به‌دست آمده هماهنگی دارد. همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدان گزارش شده برای برگ شنبلیله و گشنیز [۱۸]، گیاه کرفس [۱۳، ۱۵] و هل سبز [۱۹] فراتر از مقادیری است که در مطالعه حاضر برای همان گیاهان به‌دست آمده است. تفاوت فعالیت آنتی‌اکسیدان در این مطالعه و گزارش‌های قبلی می‌تواند مربوط به شرایط اقلیمی کشت دانه‌ها و همچنین روش‌های متفاوت اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدان باشد.

با توجه به نتایج به‌دست آمده دیده می‌شود که تعدادی از دانه‌های مورد مصرف در طب سنتی دارای فعالیت خوب آنتی‌اکسیدان می‌باشد که لازم است بررسی‌های بیشتری در ارتباط با جداسازی و شناسایی مواد موثر و امکان استفاده از ترکیبات آنها به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های محافظ و یا آنتی‌اکسیدان‌های پیشگیری‌کننده در بیماری‌های وابسته به رادیکال‌های آزاد انجام گیرد.

تشکر و قدردانی

این پروژه با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شده است. محققین این مطالعه از مسئولین این معاونت قدردانی می‌نمایند.

میزان IC_{50} محاسبه شده برای عصاره دانه گیاهان مورد نظر در محدوده ۶/۶۹ - ۰/۰۵ میکروگرم بوده که کمترین مقدار مربوط به دانه خیار ($IC_{50} = ۰/۰۵$) و بیشترین مقدار مربوط به هل سبز ($IC_{50} = ۶/۶۹$) می‌باشد. همان‌طور که مشاهده می‌شود عصاره دانه خیار بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدان را نشان داده است.

بمط

اهمیت ترکیبات آنتی‌اکسیدان جهت پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد شناخته شده است. با توجه به اینکه ثابت شده است تعدادی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان شیمیایی دارای عوارض جانبی می‌باشند، یافتن منابع جدید آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد [۸]. در این مطالعه تعداد ۲۵ دانه گیاهی مورد مصرف در طب سنتی با استفاده از روش پراکسیداسیون لینولئیک اسید و معرف ۳و۱ - دی اتیل ۲- تیوباربیتوریک اسید بررسی شد. در مورد تعدادی از دانه‌ها از جمله بارهنگ ($IC_{50} = ۰/۶۷$)، جوز هندی ($IC_{50} = ۰/۲۹$)، خرفه ($IC_{50} = ۰/۴۷$)، خیار ($IC_{50} = ۰/۰۵$)، رازیانه ($IC_{50} = ۰/۳۲$)، زنیان ($IC_{50} = ۰/۵۶$)، زیره سبز ($IC_{50} = ۰/۲۳$)، کاهو ($IC_{50} = ۰/۵۷$) و هلیله سیاه ($IC_{50} = ۰/۶۱$)، میزان IC_{50} در حد ویتامین E ($IC_{50} = ۰/۵۹$) [۱۳] و یا کمتر است. در مورد دانه خیار میزان IC_{50} یک دهم

منابع

1. Noguchi N, Niki E. Phenolic antioxidants: A rationale for design and evaluation of novel antioxidant drug for atherosclerosis. *Free Rad. Biol. Med.* 2000; 28: 1538-46.
2. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J. Clin. Pathol.* 2001; 54: 176-86.
3. Halliwell B. The antioxidant paradox. *Lancet.* 2000; 355: 1179-80.
4. Maxwell SRJ. Prospects for the use of antioxidant therapies. *Drugs.* 1995; 49: 345-61.
5. Heinecke JW. Oxidative stress: new approaches to diagnosis and prognosis in atherosclerosis. *Am. J. Cardiol.* 2003; 91: 12A-16A.



6. Metodiewa D, Koska C. Reactive oxygen species and reactive nitrogen species: relevance to cyto (neuro) toxic events and neurologic disorders: an overview. *Neurotox. Res.* 2000; 1: 197-233.
7. Cesquini M, Torsoni MA, Stoppa GR, Ogo SH. t-BOOH-induced oxidative damage in sickle red blood cells and the role of flavonoids. *Biomed. Pharmacother.* 2003; 57: 124-9.
8. Velioglu YS, Mazza G, Gao L, Oomah BD. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *J. Agric. Food Chem.* 1998; 46: 4113-17.
9. Gazzani G, Papetti A, Massolini G, Daglia M. Anti and prooxidant activity of water soluble components of some common diet vegetables and the effect of thermal treatment. *J. Agric. Food Chem.* 1998; 46: 4118-22.
10. Larson RA. The antioxidants of higher plants. *Phytochem.* 1988; 27: 969-78.
11. Vinson JA, Hao Y, Su X, Zubik L. Phenol antioxidant quantity and quality in foods, vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 1998; 46: 3630-34.
12. Furuta S, Nishiba Y, Suda I. Fluorometric assay for screening antioxidative activity of vegetables. *J. Food Sci.* 1997; 62: 526-28.
۱۳. اندجی گرمارودی شهلا. بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان متداول خوراکی. پایان نامه دکتری داروسازی. دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران. ۱۳۸۰.
14. Ruberto G, Tiziana Baratta M, Deans SG, Damien Dorman HJ. Antioxidant and antimicrobial activity of *Foeniculum vulgare* and *Crithmum maritimum* essential oils. *Planta Med.* 2000; 66: 687-693.
15. Cao G, Sofic E, Prior RL. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 1996; 44: 3426-31.
16. Mehta RL, Zayas JF, Yang SS. Ajowan as a source of natural lipid antioxidant. *J. Agric. Food Chem.* 1994; 42: 1420-22.
17. Kim BJ, Kim JH, Kim HP, Heo MY. Biological screening of 100 plant extracts for cosmetic use(II): anti-oxidative activity and free radical scavenging activity. *Int. J. Cosmetic Sci.* 1997; 19: 299-307.
18. Kaur C, Kappor C. Antioxidant activity and phenolic content of Asian vegetables. *Int. J. Food Sci. Tech.* 2002; 37: 153-161.
19. Palic A, Krizanec D, Vrzina J. Phenol Contents and rH values of spoces. *J. Agric. Food chem.. Consum. Proc. Eur. Comp. Food chem.* 5th ed. 1989; 2: 518-22.



