

بررسی فعالیت آنتیاکسیدانی اسانس شوید (*Anethum graveolens*) در روغن سویا و مقایسه‌ی آن با آنتیاکسیدان‌های شیمیایی

فرنوش عیوقی^۱، محسن برزگر^{۲*}، محمدعلی سحری^۳، حسنعلی نقدی‌بادی^۴

۱- کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۲- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۳- استاد، گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۴- استادیار، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، تهران

*آدرس مکاتبه: تهران، گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، صندوق پستی: ۱۴۱۱۵-۳۳۶

تهران، تلفن: ۰۲۱ (۴۴۰۸۰۵۰۰)، نامبر: ۰۲۱ (۴۴۱۹۶۵۲۴)

پست الکترونیک: mbb@modares.ac.ir، mohsenbb@gmail.com

تاریخ تصویب: ۱۲/۷/۸۸

تاریخ دریافت: ۱۶/۷/۸۷

چکیده

مقدمه: امروزه استفاده از گیاهان دارویی و ترکیبات موثره‌ی آن‌ها به عنوان منابع طبیعی که دارای خاصیت آنتیاکسیدانی هستند، مورد توجه محققین قرار گرفته است. آنتیاکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که به طور موثر و به طرق مختلف از واکنش رادیکال‌های آزاد دارای اکسیژن و نیتروژن فعال با بیومولکول‌ها (نظیر پروتئین، آمینواسید، لپید و DNA) جلوگیری کرده و منجر به کاهش آسیب و یا مرگ سلولی، بیماری‌های قلبی عروقی و سرطان‌ها می‌شوند.

هدف: بررسی اجزای تشکیل‌دهنده و فعالیت آنتیاکسیدانی اسانس گیاه دارویی شوید^۱ در روغن سویا.

روش بررسی: در این تحقیق، پس از استخراج اسانس از بذرهای شوید، اسانس با دستگاه GC/MS تجزیه و اجزای شیمیایی آن شناسایی شد. به جهت بررسی فعالیت آنتیاکسیدانی اسانس، از دو آزمون رادیکال ۲ و ۴-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) و سامانه‌ی بتاکاروتن / لینولئیک اسید استفاده شد. هم‌چنین، رفتار آنتیاکسیدانی آن در روغن سویای خام، با اندازه‌گیری اعداد پراکسید و تیوباریتوريک اسید مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج حاصل از این سه آزمون با آنتیاکسیدان‌های شیمیایی BHT و BHA مقایسه شد.

نتایج: نتایج نشان داد که د-کارون (۱۶/۰۹ درصد)، دی‌آپیول (۱۶/۸۳ درصد)، دی‌هیدروکارون (۷/۳۶ درصد)، سیس- دی‌هیدروکارون (۶/۵۹ درصد) و تیمول (۶/۵ درصد) ترکیبات عمده‌ی اسانس بودند. در آزمون DPPH مقدار EC₅₀ اسانس شوید ۱/۵۲ mg/ml ± ۰/۵۷ به دست آمد، در حالی که این پارامتر برای BHT ۰/۰۳۸ ± ۰/۰۰۱ mg/ml بود. در آزمون بتاکاروتن / لینولئیک اسید، فعالیت اسانس در غلظت ۷ mg/ml درصد بود که فعالیت آنتیاکسیدانی نزدیکی با BHT در ۰/۱ mg/ml داشت. در آزمون آون، اسانس توانایی جلوگیری از تولید محصولات اولیه و ثانویه‌ی اکسیداسیون، در روغن سویای خام را در سطح غلظتی ۰/۶ mg/ml که تقریباً معادل با آنتیاکسیدان شیمیایی BHA در سطح غلظتی ۰/۱ mg/ml است، داشت.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که اسانس شوید می‌تواند به عنوان آنتیاکسیدان طبیعی عمل نموده و پس از آزمایش‌های تكمیلی به مواد غذایی اضافه شود.

گل و اژگان: شوید *Anethum graveolens*، اسانس، فعالیت آنتیاکسیدانی، روغن سویا

¹ *Anethum graveolens* Boiss.



مقدمه

علت ایجاد ترکیبات سمی جلوگیری می‌کنند. آنتی اکسیدان‌ها به دو دسته‌ی شیمیایی و طبیعی تقسیم‌بندی می‌شوند [۱۲]. آنتی اکسیدان‌های شیمیایی که بیشترین استفاده را در صنعت غذا دارند، شامل TBHQ، BHT و پروپیل‌گلات بوده که سلطان‌زایی و اثرات منفی این ترکیبات بر سلامت انسان مشخص شده است [۱۳، ۱۴]. بنابراین، امروزه استفاده از گروه وسیعی از گیاهان دارویی و ترکیبات آروماتیک آن‌ها به عنوان منابع طبیعی که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی هستند، مورد توجه محققین قرار گرفته است [۱۵]. یکی از سامانه‌های غذایی روغن‌ها می‌باشد که مصرف بسیار زیادی در زندگی روزمره دارند. روغن سویا، مهم‌ترین روغن نباتی است که این اهمیت به دلیل فراوانی، ارزانی، کیفیت خوب و بازده بالای آن است. در ضمن به دلیل وجود مقدار نسبتاً زیاد اسیدهای چرب غیر اشباع در این روغن، پایداری آن در برابر اکسیداسیون کم بوده و مستعد اکسیداسیون می‌باشد. لی^۱ و همکاران، ویژگی‌های آنتی اکسیدانی آویشن، ریحان، رزماری، بابونه، دارچین، شوید و اسطوخودوس را مورد بررسی قرار داده و فعالیت آنتی اکسیدانی زیادی را برای آویشن و ریحان گزارش کردند [۱۶]. سینگ^۲ و همکاران نیز ویژگی‌های آنتی اکسیدانی انسان و عصاره‌ی بذر شوید هندی را مورد بررسی قرار دادند و نتایج نشان داد که علت قوی‌تر بودن فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ی بذر نسبت به انسان آن، حضور بیشتر دو ترکیب فنولیک آنتول و دیل‌آپیول است [۶]. در پژوهشی دیگری که توسط ترویلاس^۳ و همکاران در سال ۲۰۰۳ انجام گرفت، مشخص شد که فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ی بابونه‌ی شیرازی به ترکیبات فنولیک موجود در آن وابسته است [۱۷]. شهسواری^۴ و همکاران، حضور دو ترکیب فنلی کارواکرول و تیمول را عامل بالا بودن فعالیت آنتی اکسیدانی انسان آویشن شیرازی عنوان کردند [۱۸]. روبرتو^۵ و همکاران در سال ۲۰۰۰، فعالیت آنتی اکسیدانی بالای تیمول، کارواکرول، α -ترپین و α -ترپینول را گزارش کردند [۱۹]. بنابراین گروه وسیعی از

گیاه *Anethum graveolens* با نام فارسی شبت (شوید) و نام انگلیسی Dill از تیره‌ی چتریان (Apiaceae) است. شوید برای اولین بار در فلسطین کشت شد و احتمالاً از رم باستان به سایر کشورهای اروپا منتقل گردیده است [۱]. شوید در سطح وسیعی در ایران، قفقاز، حبشه، مصر، هند، انگلیس، اسپانیا، ایتالیا و مجارستان کشت می‌شود. انتشار جغرافیایی آن در ایران، به صورت طبیعی، در نواحی مختلف مانند صائین قلعه، تبریز، خراسان و تفرش ذکر شده است. شوید گیاهی یک‌ساله است که تمام پیکر رویشی آن محتوى انسان است و مقدار آن در اندام‌های مختلف متفاوت می‌باشد. رنگ انسان شوید زرد روشن و بوی آن به نسبت تند و مشابه بوی زیره است [۲]. به علت حضور د- کارون، از این انسان برای معطر و مطبوع ساختن طعم بعضی از غذاها استفاده می‌شود [۳]. اثر ضدقارچی و ضدبacterی انسان بذر شوید [۴، ۵] و عصاره‌ی استونی بذر آن [۶] تایید شد. بررسی‌ها نشان داده است که شوید دارای خواص بیولوژیکی متعددی نظیر اشتها آور، ضدنفخ، مدر، ضداسپاسم [۷]، ضدیرقان، کاهش دهنده‌ی کلسترول تام، LDL و تری‌گلیسرید، افزایش دهنده‌ی HDL، ضدسرطان و ضد اکسیداسیون، در موش‌های آزمایشی مطرح شده است [۸، ۹].

مواد موثره انسان شوید، از جمله دو ترکیب عمدی د- کارون و لیمونن، احتمالاً دارای اثرات آنتی اکسیدانی بوده و سبب تثییت غشاء سلول‌های کبدی و کاهش آزادسازی آنزیم به خون می‌شوند [۱۰]. ترکیب فنولیک دیل‌آپیول، در عصاره و انسان شوید منجر به افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی، در مقایسه با BHT و BHA می‌شود [۶]. آنتی اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که به طور موثر و به طرق مختلف از واکنش رادیکال‌های آزاد به شکل‌های اکسیژن و نیتروژن فعال با بیومولکول‌هایی نظیر پروتئین، آمینواسید، لیپید و DNA، جلوگیری کرده و منجر به کاهش آسیب و یا مرگ سلولی، بیماری‌های قلبی - عروقی و سرطان‌ها می‌شوند [۱۱]. در کنار نقش آن‌ها در سامانه‌های زیستی، در مواد غذایی سرشار از چربی‌های غیر اشباع نیز از کاهش کیفیت تغذیه‌ای، ایمنی، بدطعمی و بی‌رنگ شدن به

¹ Lee

³ Trouillas

⁵ Roberto

² Singh

⁴ Shahsavari



هیدروکسی تولوئن (BHT) و بوتیلات هیدروکسی آنیزول (BHA) از شرکت سیگما آمریکا تهیه شدند.

تجزیه اسانس توسط GC/MS

دستگاه کروماتوگرافی گازی HP مدل N ۶۸۹۰ مجهر به ستونی با طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۰۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. برنامه‌ی دمایی نیز بدین ترتیب بود: دمای آون ۴۰ درجه سانتی‌گراد، توقف در این دما ۵ دقیقه، افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد با شیب دمایی ۱ min⁻¹ درجه سانتی‌گراد، افزایش دما تا ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد با شیب دمایی ۱ min⁻¹ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۳ دقیقه و در نهایت افزایش دما تا ۳۴۰ درجه سانتی‌گراد با شیب دمایی ۳ min⁻¹ درجه سانتی‌گراد. دمای محل تزریق و آشکارساز، ۲۹۰ درجه ۰/۸ mL/min به عنوان گاز حامل و از شیوه‌ی شکافته با نسبت ۱:۱۰ استفاده شد. دستگاه گازکروماتوگراف با مشخصات بالا با ستونی به ابعاد (۳۰ متر در ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۰۵ میکرومتر) و از نوع HP-5، به طیف‌سنج جرمی HP مدل N ۵۹۷۳ متصل شد. برنامه‌ی ریزی حرارتی ستون، مانند کروماتوگرافی گازی بود. ولتاژ یونیزاسیون در طیف‌سنج جرمی، ۷۰ الکترون ولت بود. درصد ترکیبات با استفاده از مساحت پیک حاصل از آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای (FID) محاسبه شد. شناسایی پیک‌ها به کمک شاخص بازداری و مقایسه‌ی آن‌ها با مقادیری که در منابع مختلف منتشر شده [۶] و نیز با استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه رایانه‌ی GC/MS انجام شد.

بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی با آزمون DPPH•

استفاده از رادیکال پایدار DPPH•، جهت بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های گیاهی، کاربرد زیادی دارد. حرکت الکترون در سرتاسر مولکول سبب می‌شود که رادیکال آزاد پایدار ۲ و ۲'-دی‌فنیل -۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH•) نتواند به صورت دیمر درآمده و هم‌چنین ایجاد رنگ بنفش تیره در طول موج ۵۱۵ - ۵۱۷ نانومتر کند. این رادیکال

گیاهان دارویی و ترکیبات آروماتیک آن‌ها به عنوان منابع طبیعی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده که با بررسی این منابع، مشخص شد، وجود گروه‌های هیدروکسیل در ساختار شیمیایی (ترکیبات فنولیک) سبب ایجاد این خاصیت می‌شوند [۲۱، ۲۲].

روش‌های متعددی جهت ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی مواد طبیعی وجود دارد که بیشتر آن‌ها نقش مکمل یکدیگر را دارند. از جمله‌ی این روش‌ها می‌توان از آزمون رادیکال ABTS [۲۲]، آزمون تیوسیانات آمونیوم [۱۱]، تعیین ترکیبات فنولیک کل [۲۳]، آزمون فسفومولیبدنوم [۲۲]، آزمون رادیکال DPPH• [۱۵] و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن [۲۴] نام برد که در کار حاضر از دو روش آخر استفاده شده است.

هدف از این مطالعه در ابتدا ارزیابی و شناسایی ترکیب‌های شیمیایی اسانس، سپس بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن با دو آزمون رادیکال ۲ و ۲'-دی‌فنیل -۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH•) و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن (β -Carotene / Linoleic acid) می‌باشد و نیز به منظور بررسی اثر اسانس در سامانه‌ی غذایی، رفتار آن در روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان مورد ارزیابی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

بذر گیاه شوید از مزرعه‌ی تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی در کرج تهیه و در سایه خشک و به روش تقطیر با بخار آب توسط دستگاه کلونجر اسانس‌گیری شد. اسانس به دست آمده پس از آب‌گیری با سولفات سدیم بدون آب، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس توسط دستگاه GC/MS تجزیه شد [۲۵].

مواد شیمیایی

تمام مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده با درصد خلوص بالا از شرکت‌های مرک آلمان و رادیکال آزاد DPPH•، بتاکاروتن، لینولئیک اسید، بوتیلات



۴۷۰ نانومتر کاهش می‌یابد. آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن در اثر اکسیداسیون اسید لینولئیک، به روش ژانگ^۱ و همکاران، انجام شد [۲۴]. ۵ میلی‌گرم بتاکاروتن در ۵۰ میلی‌لیتر کلروفرم حل شد و ۳ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده به فلاسک ته‌گردی که حاوی ۴۰ میلی‌گرم لینولئیک اسید و ۴۰۰ میلی‌گرم توئین ۲۰ بود، افزوده شد. پس از خارج شدن کلروفرم توسط گاز ازت، ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اشباع از اکسید اسید به فلاسک افزوده شد و فلاسک برای تشکیل امولسیون به شدت هم زده شد. ۱/۵ میلی‌لیتر از امولسیون تهیه شده به لوله‌های آزمایش که حاوی ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف اسنس و استاندارد BHT و BHA بود، اضافه شد و بلافاصله در زمان صفر جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. سپس درب لوله‌های آزمایش بسته شد و به مدت ۶۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\%AA = [(A_{s(60)} - A_{C(60)}) / (A_{C(0)} - A_{C(60)})]$$

در این رابطه $A_{s(60)}$ = میزان جذب نمونه بعد از ۶۰ دقیقه، $A_{C(60)}$ = میزان جذب کنترل بعد از ۶۰ دقیقه، $A_{C(0)}$ = میزان جذب کنترل در زمان شروع و $\%AA$ = درصد بازداری می‌باشد.

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی اسنس در روغن سویا اسنس شوید، در چهار تیمار D-0.2, D-0.8, D-1 و آنتی اکسیدان‌های شیمیایی BHA در دو تیمار 0.4, D-0.6، و آنتی BHT در دو تیمار (0.1 و 0.2) به روغن سویایی بدون آنتی اکسیدان در شیشه‌های تیره‌رنگ اضافه شد و درب شیشه‌ها بسته شد (اعداد نمایانگر غلظت بر حسب mg/ml هستند). سپس نمونه‌ها به همراه شاهد (Control) (روغن سویا بدون افزودن اسنس)، برای مدت معینی در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. روزهای ۰، ۸، ۱۶، ۲۴ و

چربی دوست بوده و دارای جذب بیشینه در طول موج ۵۱۷ نانومتر است.

بررسی فعالیت آنتی رادیکالی اسنس، با استفاده از رادیکال‌های پایدار DPPH مطابق با روش برند - ویلیامز^۲ و همکاران انجام شد [۲۶]. پنجاه میکرولیتر اسنس در غلظت‌های مختلف به ۲ میلی‌لیتر از محلول متانولی ۶×۱۰-۵ مولار رادیکال آزاد DPPH افزوده و ۶۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد. سپس جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از طیف‌نورسنج شینکو ساخت کشور کره جنوبی خوانده شد. یک نمونه حاوی ۵۰ میکرولیتر متانول به همراه ۲ میلی‌لیتر محلول DPPH به عنوان نمونه کنترل و حلال متانول برای صفر کردن دستگاه استفاده شد. آزمایش در سه تکرار انجام شد. میزان فعالیت آنتی رادیکالی^۲ اسنس مطابق فرمول زیر محاسبه شد:

$$\% RSA = [1 - ((AC_{Control} - AS_{sample}) / AC_{Control}) \times 100]$$

در این رابطه AS_{sample} = میزان جذب نمونه و $AC_{Control}$ = میزان جذب کنترل و RSA = فعالیت گیرندگی رادیکال می‌باشد. به جهت بررسی بهتر فعالیت آنتی رادیکالی از فاکتور EC_{50} استفاده شد که بیانگر درصدی از اسنس است که قادر است ۵۰ درصد از رادیکال آزاد DPPH[•] اولیه موجود در محیط را خشی کند. محاسبه‌ی فاکتور EC_{50} به این صورت است که ابتدا نموداری از رابطه‌ی میان مقادیر غلظت اسنس و درصد DPPH[•] باقی‌مانده رسم شده و با توجه به نمودار حاصل و به صورت ترسیمی، غلظتی از اسنس که قادر به خشی کردن ۵۰ درصد از رادیکال‌های آزاد DPPH[•] باشد، تعیین می‌شود که به این غلظت از اسنس، EC_{50} گویند.

بررسی خاصیت آنتی رادیکالی با آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن با آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن می‌توان به میزان فعالیت آنتی اکسیدانی اسنس پی برد. به این صورت که مواد ناشی از اکسیداسیون اسید لینولئیک با بتاکاروتن برهم‌کنش داده و سبب کاهش رنگ شده و در نتیجه میزان جذب در طول موج

¹ Brand-Williams

² Radical scavenging activity

¹ Zhang

۳۲ عدد پراکسید [۲۷] و تیوباربیتوریک اسید [۲۸] نمونه‌های روغن اندازه‌گیری شد.

طرح آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9.1 و رسم نمودارها با نرم‌افزار EXCEL صورت گرفت. همچنین طرح آماری کاملاً تصادفی مورد استفاده قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش حداقل تفاوت‌های معنی‌دار^۱ صورت گرفت. تمامی نتایج به صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار بیان شده است.

نتایج و بحث

بررسی ترکیب شیمیابی اسانس

بر اساس نتایج به دست آمده، ۲۲ ترکیب در مجموع ۹۹/۳۴ درصد در اسانس *Anethum graveolens* شناسایی شد (جدول شماره ۱). ترکیبات عمدی آن عبارت‌اند از: د- کارون (۳۶/۰۹ درصد)، لیمونن (۱۹/۸۹ درصد)، دی‌هیدروکارون (۷/۳۶ درصد)، دی‌هیدروکارون (۱۶/۸۳ درصد)، ترانس - دی‌هیدروکارون (۶/۵۹ درصد) و تیمول (۶/۰۵ درصد). در مجموع اسانس شوید تقریباً حاوی ۶۸/۴۱ درصد از ترکیبات اکسیژن‌دار (CHO)، ۲۲/۳۷ درصد هیدروکربن (CH)

^۱ LSD^۲ Reichert

جدول شماره ۱- ترکیب‌های عمدی تشکیل دهنده اسانس شوید

ترکیب	شاخص بازداری ^a	درصد
α-Pinene	۹۳۳	۰/۳۱
Sabinene	۹۷۷	tr ^b
β- Myrcene	۹۸۹	۰/۲۵
α- Phellandren	۱۰۰۴	۰/۷۵
Limonene	۱۰۳۰	۱۹/۸۹
γ- Terpinene	۱۰۵۹	۰/۳۴
ρ-Cymene	۱۰۹۰	۰/۴۱
Linalool	۱۰۹۷	۱/۶۸
E-Limonene Oxid	۱۱۳۹	tr
Estragole	۱۱۸۰	۰/۹۴

ادامه جدول شماره ۱- ترکیب‌های عمده‌ی تشکیل دهنده‌ی اسانس شوید

ترکیب	شاخص بازداری ^a	درصد
α-Terpineol	۱۱۸۸	۰/۱۷
Z-Dihydrocarvone	۱۲۰۲	۶/۵۹
E-Dihydrocarvone	۱۲۱۱	۷/۳۶
Cumin aldehyde	۱۲۲۵	۰/۶
D-Carvone	۱۲۴۳	۳۶/۰۹
Thymol	۱۲۹۴	۶/۵
Carvacrol	۱۳۰۳	۰/۲۱
β-Caryophyllen	۱۴۲۹	۰/۳۲
D-Germacrene	۱۴۹۰	۰/۱
Myristicin	۱۵۲۷	tr
Dill apiole	۱۶۳۴	۱۶/۸۳

^a = شاخص بازداری با تزریق مخلوط هیدروکربن‌های نرم‌مال (C₉-C₂₆) به ستون

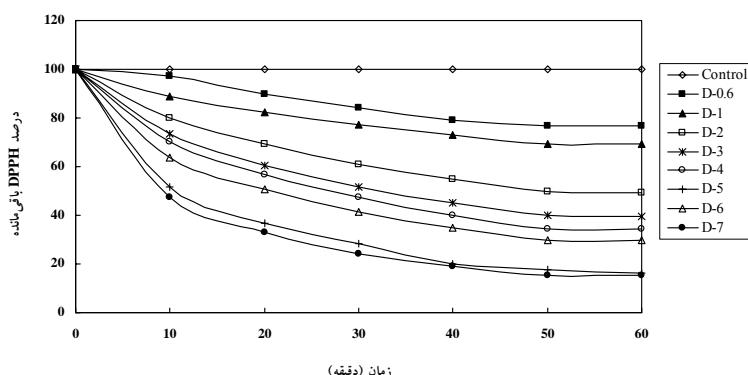
DB-1 محاسبه شده است.

tr = trace < %۰/۱ = ^b

فعالیت گیرندگی رادیکال با افزایش غلظت اسانس تا ۷، افزایش می‌یابد و سپس بعد از ۶۰ دقیقه به میزان ثابتی می‌رسد. فاکتور EC₅₀، نسبت معکوسی با فعالیت آنتی اکسیدانی دارد. فاکتور EC₅₀ در اسانس شوید در این مطالعه ۱/۵۲ mg/ml ± ۰/۵۷ mg/ml به دست آمد. میزان EC₅₀ در BHT به عنوان کنترل مثبت، ۰/۰۰۱ mg/ml ± ۰/۰۳۸ mg/ml برآورد شد. کولیسیک^۱ و همکاران، فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس Oregano و ترکیبات تشکیل دهنده‌ی آن را با آزمون DPPH• و بی‌رنگ شدن بتاکاروتون مورد بررسی قرار دادند. فاکتور EC₅₀ برای اسانس ۰/۵ g/l و برای BHT ۱/۸ × ۱۰^{-۲} g/l بی‌رنگ شدن بتاکاروتون مورد بررسی قرار دادند. اگرراش شد. فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس کمتر از α-توکوفرول و BHT و اسکوربیک اسید بود. بررسی‌ها نشان داد که بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به ترکیبات اکسیژن‌دار، سپس ترکیبات فنولیک شامل تیمول و کارواکرول و بعد از آن اسانس کامل و در نهایت هیدروکربن‌ها می‌باشد [۱۵]. فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس Thymus spathulifolius نیز با آزمون DPPH• و بی‌رنگ شدن بتاکاروتون مورد بررسی قرار گرفت. فاکتور EC₅₀ برای اسانس ۲۴۳ µg/ml بود.

حذف رادیکال‌های آزاد با استفاده از روش DPPH• در این آزمون، رادیکال‌های DPPH• با آنتی اکسیدان‌ها یا دیگر گونه‌های رادیکالی که دهنده‌ی هیدروژن می‌باشد، واکنش داده و به شکل کاهش یافته درمی‌آید و رنگ آن از بنفسش تیره به زرد روشن تبدیل شده و در نتیجه میزان جذب در طول موج ۵۱۷ nm - ۵۱۵ nm انواع کاهش می‌یابد [۳۰، ۳۱]. رادیکال‌های آزاد تولید شده از آنتی اکسیدان، می‌تواند استوکیومتری کلی واکنش (تعداد مولکول‌های DPPH• کاهش یافته (بی‌رنگ شده) توسط یک مولکول عامل کاهش دهنده آنتی اکسیدان‌ها یا دیگر گونه‌های رادیکالی) را تعیین کند [۳۲]. درنهایت جذب که بیانگر مقدار DPPH باقی‌مانده است، بعد از ۶۰ دقیقه اندازه‌گیری می‌شود. هرچه این مقدار بیشتر باشد، فعالیت آنتی اکسیدان‌ها در حذف رادیکال آزاد کمتر بوده است. از این روش جهت ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس شوید استفاده شد. شکل شماره ۱ نشان‌گر میزان کاهش DPPH باقی‌مانده، با افزایش زمان در برابر غلظت‌های مختلف اسانس می‌باشد. گستره‌ی غلظت‌های اسانس مورد استفاده در این آزمون از ۷ mg/ml - ۰/۶ mg/ml بود. در نمونه‌ی کنترل این کاهش دیده نشد. بنابراین، میزان DPPH باقی‌مانده به طور معکوس با فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال آنتی اکسیدان در ارتباط است [۳۲].

¹ Kulusic



شکل شماره ۱- روند کاهش درصد $\bullet\text{DPPH}$ باقیمانده با زمان در حضور غلظت‌های مختلف اسانس شوید. غلظت‌ها بر حسب mg/ml است. Control فاقد اسانس است.

شماره ۲، می‌توان به ارتباط مستقیم میان غلظت اسانس و پتانسیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن پی برد که با افزایش غلظت اسانس، افزایش معنی‌داری یافته است ($p < 0.05$). نتایج نشان داد که فعالیت اسانس در غلظت ۷ mg/ml برابر با ۷۷/۲۹ درصد بود که فعالیت آنتی‌اکسیدانی نزدیکی با BHT در غلظت ۰/۱ mg/ml دارد. همچنان فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس در غلظت ۹ mg/ml تقریباً معادل فعالیت BHT در غلظت ۰/۲ mg/ml است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که اسانس شوید فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی دارد. ژانگ در مطالعه‌ای مشابه بر روی اسانس گیاه Petroselinum crispum دریافت که اسانس در غلظت ۰/۱۲ درصد دارد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه را می‌توان به درصد دارد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه را می‌توان به حضور دو ترکیب فنولیک میریستیسین و آپیول نسبت داد [۲۴]. در تحقیق دیگری، علت فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه در پونه‌ی کوهی، حضور دو ترکیب تیمول و کاروکروول بیان شد هم‌چنان، امکان اثر تشیدکنندگی میان ترکیبات دارای اکسیژن و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز وجود دارد [۱۵].

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس در روغن سویا عدد پراکسید و تیوباریتوريک اسید در نمونه‌های روغن سویایی بدون آنتی‌اکسیدان که حاوی غلظت‌های مختلف اسانس و آنتی‌اکسیدان شیمیایی BHT و BHA بود، به مدت

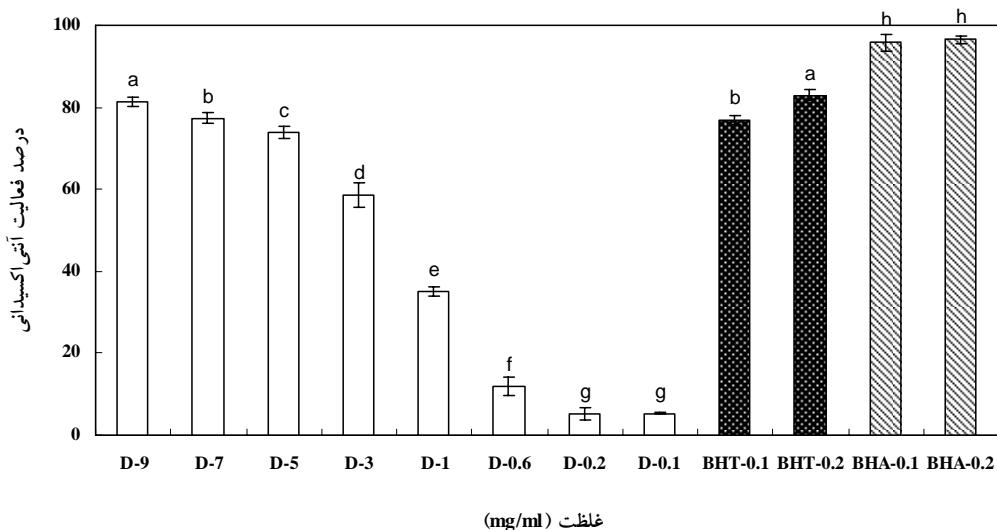
درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی برای اسانس ۹۲ درصد و برای BHT به عنوان کنترل مثبت، ۹۶ درصد گزارش شد. سه ترکیب فنولیکی عمدۀ (تیمول، کاروکروول و ۷-تریپن)، این اسانس، عامل اصلی حذف رادیکال‌های آزاد می‌باشد [۳۳]. در سال ۲۰۰۷ دمیرسی^۱ و همکاران، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس ارزیابی نموده و EC₅₀ mg/ml را حدود ۳۰ گزارش کردند. این مقدار می‌تواند به علت بالا بودن ترکیبات هیدروکربنی مانند بتا-فلاتدرن، لیمومن، بتا-پیرن و سایین در این اسانس باشد [۳۱]. در بررسی دیگر، دُردویچ^۲ و همکاران در سال ۲۰۰۷، میزان اسانس EC₅₀ mg/ml ۱۳/۶ تعریف کردند که نشان‌دهنده‌ی فعالیت آنتی‌اکسیدانی متوسط این اسانس می‌باشد [۳۰]. میزان EC₅₀ اسانس Petroselinum crispum توسعه ژانگ و همکاران به دست آمد که بیانگر فعالیت پایین این اسانس است [۲۴]. شهسواری و همکاران با بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی توسط آزمون DPPH[•]، میزان اسانس را EC₅₀ mg/ml ۰/۰۴ تعریف کردند [۱۸].

بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی با آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتون در این مطالعه میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس از غلظت ۹ mg/ml - ۰/۱ mg/ml در دو سطح غلظتی ۰/۱ mg/ml آنتی‌اکسیدانی BHT و BHA با مقایسه شد. با توجه به شکل

¹ Demirci

² Dordevic





شکل شماره ۲- مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس شوید با آنتی اکسیدان سنتزی BHA و BHT به روش بی رنگ شدن بتاکاروتون غلظت‌ها بر حسب mg/mی باشد.

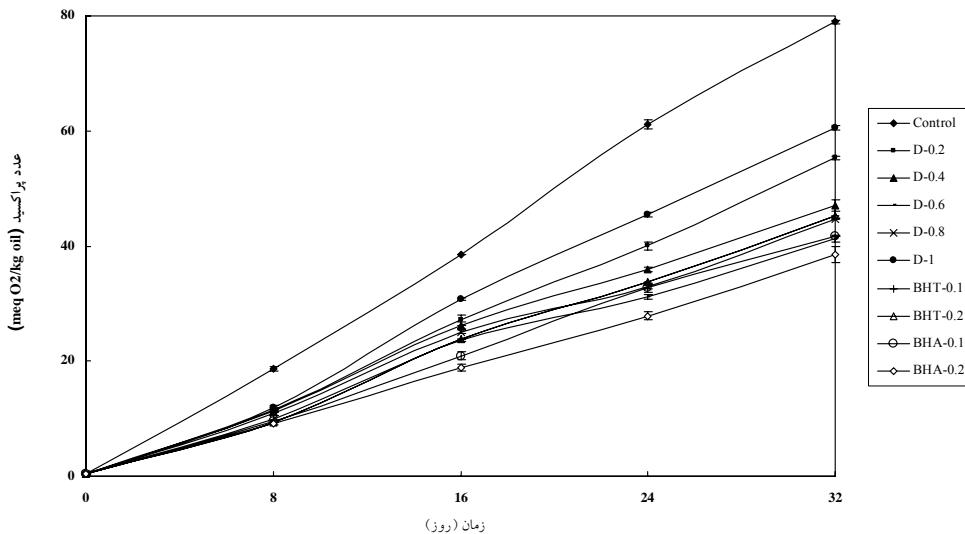
۰/۲ mg/ml نداشت اما در این غلظت، فعالیت آنتی اکسیدانی کمتری نسبت به غلظت ۰/۶ mg/ml دیده شد. این مسئله در سطح غاظتی ۱ mg/ml بهتر دیده می‌شود. فعالیت آنتی اکسیدانی در این غلظت کمتر از ۰/۲ mg/ml بود. همزمان با اندازه‌گیری تغییرات در عدد پراکسید، تغییرات در محصولات ثانویه اکسیداسیون، مالونی‌آلدهید، نیز انجام گرفت. تشکیل مالونی‌آلدهید به مانند پراکسید، در همه نمونه‌ها با گذشت زمان افزایش می‌یابد (شکل شماره ۴)، بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که روند تشکیل محصولات اولیه اکسیداسیون کاملاً شبیه به تشکیل محصولات ثانویه بوده و ارتباط خوبی در تغییرات تشکیل هر دو نوع محصول مشاهده شد. بنابراین، افزودن اسانس در سطح غلظتی ۰/۶ mg/ml، تفاوت معنی‌دار با نمونه کنترل داشته و می‌تواند به خوبی از اکسیداسیون در روغن سویا جلوگیری کند ($p < 0/05$). مطالعه‌ای در مورد اثرات آنتی اکسیدانی عصاره پوست و دانه انگور، توسط عماد^۱ در سال ۲۰۰۶، در روغن آفتابگردان انجام گرفت و نتایج نشانگر فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر عصاره پوست، به علت وجود ترکیبات فنولیک بیشتر در

۳۲ روز، در فواصل زمانی ۸ روز، در دمای اکسیداسیون تسريع شده (۶۰ درجه سانتی گراد) مورد بررسی قرار گرفت. پراکسید محصول اولیه اکسیداسیون مواد چرب است. عدد تیوباریتوريک اسید، مقدار مالونی‌آلدهید موجود در ۱۰۰۰ گرم چربی است و بیانگر مراحل ثانویه اکسیداسیون است که سبب ایجاد طعم بد در روغن اکسید شده می‌شود. تغییرات در عدد پراکسید در روغن سویا در همه نمونه‌های حاوی اسانس، BHT و BHA در شکل شماره ۳ دیده می‌شود. با بررسی و کنترل تغییرات پراکسید و تیوباریتوريک اسید می‌توان این‌گونه استنباط کرد که سرعت اکسیداسیون در نمونه کنترل بالاترین مقدار را دارد، بنابراین تمامی نمونه‌های حاوی آنتی اکسیدان در برابر اکسیداسیون پایدارتر از نمونه کنترل می‌باشند. اسانس شوید در سه سطح غاظتی ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ mg/ml فعالیت آنتی اکسیدانی خوبی از خود نشان داد به طوری که در سطح غاظتی ۰/۶ mg/ml، با BHA در غلظت ۰/۱ mg/ml تفاوت معنادار وجود ندارد. با افزایش غلظت اسانس از فعالیت آنتی اکسیدانی آن کاسته و با توجه به افزایش ناخالصی‌های موجود در اسانس و افزایش ترکیبات فنولیک، بر اثرات پراکسیدانی آن افزوده شد [۳۴].

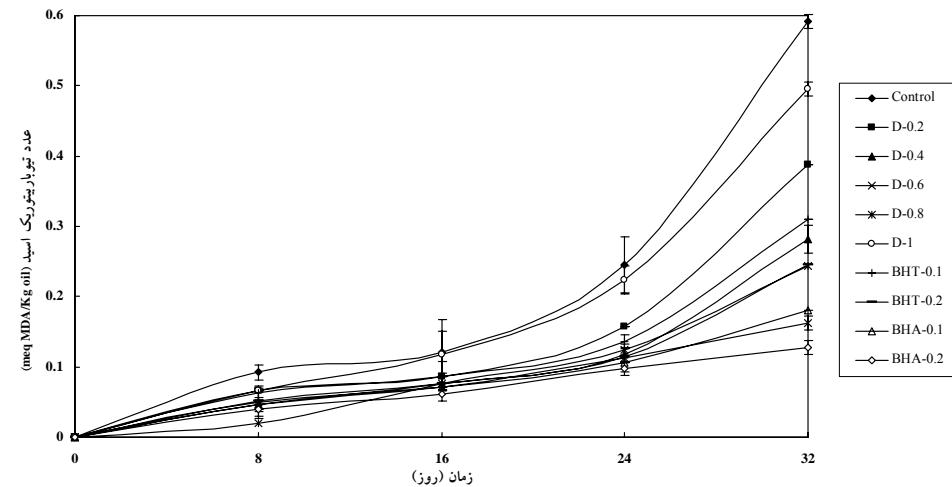
میزان فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس در سطح غلظتی ۰/۸ mg/ml تفاوت معنی‌داری با BHT در غلظت

^۱ Emad





شکل شماره ۳- فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس شوید در روغن سویا (عدد پراکسید) (غلظت‌ها بر حسب mg/ml است).



شکل شماره ۴- فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس شوید در روغن سویا (عدد تیوبارتیوریک اسید) (غلظت‌ها بر حسب mg/ml است).

گزارش کردند که روغن کانولا، توسط عصاره آرد کانولا و روغن شلغم روغنی توسط تعدادی از آنتی اکسیدان‌های طبیعی در برابر اکسیداسیون پایدار شده و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره مربوط به حضور ترکیبات فنولیک می‌باشد [۳۷]. سینگ^۱ و همکاران، اثرات آنتی اکسیدانی اسانس برگ دارچین را در روند اکسیداسیون روغن خردل و تشکیل پراکسید و تیوبارتیوریک اسید مورد بررسی قرار دادند و نتایج حاکی از آن بود که اسانس در سطح غلظتی ۰/۰۲ درصد اثرات قوی‌تری

آن بود. به عبارت دیگر اثرات پرواکسیدانی در عصاره دانه بیشتر دیده شد [۳۵]. در سال ۲۰۰۷ شهید^۲ و در مطالعه‌ای که بر روی اثرات آنتی اکسیدانی عصاره‌ی سیر در پایداری روغن آفتابگردان در دمای تسربی شده ۶۵ درجه سانتی‌گراد، در طول ۲۴ روز انجام دادند به فعالیت بالای آنتی اکسیدانی عصاره در غلظت ۱۰۰۰ ppm در مقایسه با BHT و BHA در غلظت ۲۰۰ ppm پی برندند که سبب افزایش پایداری روغن در مرحله اولیه اکسیداسیون می‌شود [۳۶]. شهیدی^۳ و همکاران

¹ Singh

¹ Shahid

² Shahidi



آنتی اکسیدانی قابل ملاحظه‌ای بر اکسیداسیون چربی خوک دارد [۴۲]. در تحقیقی که توسط برا^۱ و همکاران در سال ۲۰۰۶ انجام گرفت، اثرات آنتی اکسیدانی گیاه *Carum copticum* در پایداری روغن بذر کتان در مقایسه با BHT و TBHQ، به اثبات رسید که به دلیل حضور ترکیب تیمول بود [۴۳].

آنتی اکسیدانی^۲ و همکاران در کاری مشابه اثرات آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولیک هسته انار بر روغن سویا را با کنترل تغییرات عدد پراکسید و تیوباریتوريک اسید در طول ۱۲ ساعت بررسی کردند.

نتایج نشان داد تیمار ۳۵۰ ppm از ترکیبات فنولیک استخراج شده از هسته انار، بیشترین اثر آنتی اکسیدانی را دارد [۴۴].

از آنجایی که اسانس *Anethum graveolens* در این مطالعه دارای مقادیر بالای ترکیبات اکسیژن دار نظیر: د- کارون، دیل آپیول، ترانس- دی هیدروکارون و سیس- دی هیدروکارون و ترکیبات فنولیک نظیر: لیتالول، ترپینول، تیمول و کاروکرول است و نیز هر سه آزمون، خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس را تصدیق کرد، می‌توان نتیجه گرفت که اسانس شوید به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی، توانایی واکنش با رادیکال‌های حاصل از اکسیداسیون لیپیدها (L[•], LO[•], OH[•], O₂[•] و غیره) را داشته و موجب قطع واکنش‌های زنجیری و افزایش زمان اکسیداسیون کند و کاهش سرعت اکسیداسیون خودبه خودی می‌شود و می‌توان اسانس شوید را پس از آزمایش‌های تکمیلی به مواد غذایی اضافه کرد.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس به خاطر مساعدت در انجام این تحقیق کمال تشکر و قدردانی را داریم.

¹ Bera

² Samadloiy

نسبت به BHA، BHT و پروپیل‌گلات دارد [۱۲]. در تحقیق دیگری که توسط شهسواری و همکاران انجام گرفت، فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس *Zataria multiflora* را در روغن سویای خام، در شرایط دمایی تسريع شده (۶۰ درجه سانتی گراد)، به مدت ۳۲ روز، با کنترل دو عدد پراکسید و تیوباریتوريک اسید بررسی کردند. نتایج نشان داد که این اسانس در سطح غلاظتی ۰/۱ درصد، دارای اثر آنتی اکسیدانی معادل با آنتی اکسیدان شیمیایی BHA در غلاظت ۰/۰۲ درصد است و توانایی کاهش سرعت اکسیداسیون در روغن را دارد [۱۸]. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره پوست انار^۱ توسط یعقوبی^۲ و همکاران در سال ۲۰۰۷، در روغن سویا، در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد بررسی شد. نتایج حاکی از آن بود که عصاره استونی پوست انار در سطح غلاظتی ۰/۰۵ درصد اثرات آنتی اکسیدانی بالاتری در مقایسه با آنتی اکسیدان‌های BHT و BHA سطح غلاظتی ۰/۰۲ درصد دارد [۳۸]. اثر عصاره پوست سبز پسته در غلاظت ۶۰۰ ppm در مقایسه با آنتی اکسیدان‌های شیمیایی BHT و BHA در غلاظت ۲۰۰ ppm در تأخیر انداختن اکسیداسیون در روغن سویا بررسی شد و مشخص شد که پوست سبز پسته به علت حضور ترکیبات فنولیک، در این غلاظت می‌تواند به عنوان منبعی برای آنتی اکسیدان‌های طبیعی معرفی شود [۳۹]. روغن کنجد و روغن بذر چای استخراج شده با حلal به عنوان منابع آنتی اکسیدانی طبیعی، جهت به تأخیر انداختن اکسیداسیون، در سه سطح ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد به روغن آفتابگردان خام افزوده شد. نتایج فعالیت آنتی اکسیدانی خوبی برای این دو روغن نشان داد [۴۰]. در دیگر تحقیق انجام گرفته توسط فاضل^۳ و همکاران، اثرات آنتی اکسیدانی دو روغن کنجد و بذر چای در دو سطح ۵، ۱۰ درصد، در روغن ماهی کیلکا، با استفاده از آزمون آون بررسی شد. تغییرات عدد پراکسید و تیوباریتوريک اسید در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۳ روز، نشانگر فعالیت آنتی رادیکالی این دو روغن بود [۴۱]. اسانس گرفته شده از پونه‌ی کوهی غنی از تیمول و کاروکرول بوده و اثر

¹ Punica granatum
³ Fazel

² Yasoubi



1. Omidbaigi R. Production and Processing of Medicinal Plants. Vol. 3. Astan Quds Razavi Publications. Mashhad. 2000, pp: 48 - 60.
2. Zargari A. Medicinal Plants. Vol. 2. Tehran University Press. Tehran. 1996, pp: 528 - 31.
3. Gupta G. Studies in cultivation and improvement of dill (*Anethum graveolens*) in India. Cultivation and Utilization of Aromatic Plants. New Delhi: CSIR. 1982, pp: 545 - 58.
4. Delaquis PJ, Stanich B, Mazza A and Girard G. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Inter. J. Food Microbiol.* 2002; 74: 101 - 9.
5. Jirovetz L, Buchbauer G, Stoyanova AS, Georgiev EV and Damianova ST. Composition, quality control and antimicrobial activity of the essential oil of longtime stored dill (*Anethum graveolens* L.) seeds from Bulgaria. *J. Agric. Food Chem.* 2003; 51: 3854 - 7.
6. Singh G, Maurya S and Catalan C. Chemical constituents antimicrobial investigations and antioxidant potentials of *Anethum graveolens* essential oil and acetone extract: part 52. *J. Food Sci.* 2005; 70: 208 - 15.
7. Gharib Naseri MK and Haeidari A. Spasmolytic effect of *Anethum graveolens* (dill) fruit extract on rat ileum. *Physiol. Pharmacol.* 2006; 10: 99 - 105.
8. Yazdanparast TR and Alavi M. Antihyperlipidaemic and antihypercholesterolaemic effects of *Anethum graveolens* leaves after the removal of furocoumarins. *Cytobios.* 2001; 105: 185 - 91.
9. Sefidkon F. Essential oil composition of *Anethum graveolens* L. *Iranian Med. Arom. Plants Res.* 2001; 8: 45 - 62.
10. Taher M, Ghannadi A and Karmiyan R. Effects of volatile oil extracts of *Anethum graveolens* L. and *Apium graveolens* L. seeds on activity of liver enzymes in rat. *The J. of Qazvin University of Medicinal Sci.* 2007; 11: 8 - 12.
11. Shrififar F, Moshafi MH and Mansouri S.H. In vitro evalution of antibacterial and antioxidant of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control* 2007; 18: 800 - 5.
12. Singh G, Maurya S and Delampasona MP. A comparison of chemical antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. *Food Chem. Toxicol.* 2007; 45: 1650 - 61.
13. Namiki M. Antioxidants, antimutagens in food. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.* 1990; 6: 273 - 300.
14. Kahl R and Kappus H. Toxicity of synthetic antioxidants BHT and BHA in comparison with natural antioxidants vitamin E. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* 1993; 196: 329 - 38.
15. Kulisic T, Radonic A and Katalinic V. Use of different methods for testing antioxidative of oregano essntial oil. *Food Chem.* 2004; 85: 633 - 40.
16. Lee KG and Shibamoto. Determination of antioxidative potential of volatile extracts isolated from various spices and herbs. *J. Agric. Food Chem.* 2002; 50: 4947 - 52.
17. Trouillas P, Calliste CA and Allais DP. Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative properties of sixteen water plant extracts used in the Limousin countryside as herbal teas. *Food Chem.* 2003; 80: 399 - 407.
18. Shahsavari N, Barzegar M, Sahari MA and Naghdibadi H. Antioxidant activity and chemical characterization of essential oil of *Bunium persicum*. *Plant Foods Hum. Nutr.* 2008; 63: 183 - 8.
19. Ruberto G and Baratta MT. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model system. *Food Chem.* 2000; 69: 167 - 74.



- 20.** Andres M, Jose MC and Daniel F. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chem.* 2001; 72: 145 - 71.
- 21.** Bektas T and Munevver SH. Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chem.* 2006; 95: 200 - 4.
- 22.** Mathew S and Abraham E. In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. *Food Chem. Toxicol.* 2006; 44: 198 - 206.
- 23.** Abdille MDH, Singh RP and Jayaprakasha GK. Antioxidant activity of the extracts from *dillenia indica* fruits. *Food Chem.* 2005; 90: 891 - 6.
- 24.** Zhang H, Feng Chen. and Xi Wang. Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents. *Food Chem.* 2006; 39: 833 - 9.
- 25.** Anonymous. British Pharmacopoeia. London: HMSO. 1988, pp: A137 - 8.
- 26.** Brand-Williams W, Cuvelier ME and Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* 1995; 28: 25 - 30.
- 27.** Parvaneh V. Quality Control and Food Chemical Experiments. (2nd ed.), 1998; p: 325 - 6.
- 28.** Sidewell G, Salwin H, Benca M and Mitchel JA. The use of thiobarbituric acid as a measure of fat oxidation. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1954; 31: 603 - 6.
- 29.** Reichert S and Masandl A. Stereoisomeric flavor compounds LXXXI: dill ether and its cis-Stereoisomers: synthesis and enantioselective analysis. *J. High Res. Chromatogr.* 21: 185 - 9.
- 30.** Dordevic S and Petrovic S. Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of *Carlina acanthifolia* root essential oil. *J of Ethnopharmacol.* 2007; 109: 458 - 63.
- 31.** Demirci B, Kosar, M and Demirci F. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of *Chaerophyllum libanoticum* Boiss. et Kotschy. *Food Chem.* 2007; 105: 1512 - 7.
- 32.** Molyneux PH. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 2004; 26: 211 - 9.
- 33.** Atalay S, Medine G and Dimitra D. The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and methanole extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Chem.* 2004; 15: 627 - 34.
- 34.** Kammal-Eldin A and Appelqvist L. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids* 1996; 31: 671 - 701.
- 35.** Emad S. Antioxidant effect of extracts from red grape seed and peel on lipid oxidation in oils of sunflower. *LWT*. 2006; 39: 883 - 92.
- 36.** Shahid I and Bhanger M. Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. *Food Chem.* 2007; 100: 246 - 54.
- 37.** Shahidi F and Wanasinghe UN. Stabilization of canola oil with flavonoids. *Food Chem.* 1994; 50: 393 - 6.
- 38.** Yasoubi P, Barzegar M, Sahari MA and Azizi MA. Total phenolic content and antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel extract. *J. Agric. Sci. Technol.* 2007; 9: 35 - 42.
- 39.** Goli AH, Barzegar M and Sahari MA. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistacia vera*) hull extracts. *Food Chem.* 2005; 92: 521 - 5.
- 40.** Rajaei A, Barzegar M and Yamini Y. Supercritical fluid extraction of tea seed oil and its comparison with solvent extraction. *Eur. Food Res. Technol.* 2005; 220: 401 - 5.
- 41.** Fazel M, Sahari MA and Barzegar M. Determination of main tea seed oil antioxidant and their effects on common kilka oil. *Inter. Food Res. J.* 2008; 15: 209 - 17.
- 42.** Lagouri V, Blekas G and Tsimidou M. Composition and antioxidant activity of essntial oil



from Oregano plants grown in Greece. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* 1993; 197: 20 - 3.

43. Bera D and Lahiri AN. Studies on a natural antioxidant for stabilization of edible oil and comparison with synthetic antioxidants. *J. Food*

Engineering. 2006; 74: 542 - 5.

44. Samadloiy HR, Azizi MH and Barzegar M. Physico-chemical quality of seeds of pomegranate cultivars (*Punica granatum L.*) grown in Iran and antioxidative activity of their phenolic component. *J. Food Sci. Technol.* 2008; 45: 190 - 2.

