

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) در روغن سویا

ندا شهسواری^۱، محسن برزگر^{۲*}، محمدعلی سحری^۳، حسنعلی نقدی‌بادی^۴

- ۱- فارغ‌التحصیل 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- عضو هیات علمی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، تهران
 *آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی
 صندوق پستی: ۳۳۶-۱۴۱۱۵، تلفن: ۴۴۱۹۶۵۲۲ (۰۲۱)، نمابر: ۴۴۱۹۶۵۲۴ (۰۲۱)
 پست الکترونیک: mbb@modares.ac.ir

تاریخ تصویب: ۸۷/۷/۳۰

تاریخ دریافت: ۸۷/۱/۲۷

چکیده

مقدمه: اخیراً به دلیل فعالیت آنتی‌رادیکالی شناخته‌شده ترکیبات گیاهی و مشتقات آن‌ها، توجه بسیار زیادی به افزودن آن‌ها به سامانه‌های غذایی و بیولوژیکی به عنوان آنتی‌اکسیدان شده است.

هدف: هدف از این تحقیق، بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه آویشن شیرازی^۱ و کاربرد آن در روغن سویا به عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی بود.

روش بررسی: در این بررسی، اسانس گیاه با دستگاه GC/MS تجزیه و اجزای شیمیایی عمده آن شناسایی شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس در غلظت‌های مختلف با استفاده از دو روش رادیکال ۲ و ۲'-دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH^{*}) و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن بررسی و با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT مقایسه شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس با اندازه‌گیری اعداد پراکسید (PV) و تیوباریتوریک اسید (TBA) در روغن سویا (آزمون آون) اندازه‌گیری شد.

نتایج: نتایج نشان داد کارواکرول (۲۶/۰۸ درصد) و تیمول (۱۷/۲۳ درصد) ترکیبات فنلی عمده اسانس هستند. EC₅₀ اسانس آویشن شیرازی ۲/۲۲±۰/۰۴ mg/ml تعیین شد، در حالی که این پارامتر برای BHT، ۰/۵۸±۰/۰۲ mg/ml بود. در روش بی‌رنگ شدن بتاکاروتن فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس در سطح ۰/۴۵ درصد، ۷۲ درصد و برای BHT در سطح ۰/۰۱ درصد، ۸۱ درصد تعیین شد. در آزمون آون، اسانس آویشن شیرازی در غلظت ۰/۱ درصد دارای اثر آنتی‌اکسیدانی معادل با BHA در غلظت ۰/۰۲ درصد در روغن سویا بود.

نتیجه‌گیری: اسانس مورد آزمایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی خوبی از خود نشان داد و پس از آزمایش‌های تکمیلی دیگر می‌تواند به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در برخی مواد غذایی به کار رود.

کل واژگان: فعالیت آنتی‌رادیکالی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، اسانس، آویشن شیرازی

¹ *Zataria multiflora* Boiss.



مقدمه

غیرفنی آن پاراسیمن^۱ است [۹]. از آویشن شیرازی به عنوان ضدنفخ استفاده می‌شود و هم‌چنین به صورت بخور در رفع علائم سرماخوردگی مصرف دارد. از برگ‌های گیاه به عنوان چاشنی نیز استفاده می‌شود. در طب سنتی از آویشن به عنوان تسکین‌دهنده درد مفاصل، ضدنفخ و در رفع سرماخوردگی استفاده می‌شده است و اثرات ضد اسهال نیز برای آن قائل بوده‌اند [۱۰]. تیمول و کارواکول که اجزای اصلی اسانس گیاه را تشکیل می‌دهند، دارای اثرات ضد میکروبی خوبی هستند [۹، ۱۱]. ترکیب‌های تیمول و کارواکول دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی هستند [۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶].

هدف از این مطالعه بررسی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی با استفاده از دو روش رادیکال ۲ و ۲-دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH[•]) و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن و در آخر بررسی فعالیت آن در روغن سویا با اندازه‌گیری عدد پراکسید^۲ و تیوباربتوریک اسید^۳ بود. مهم‌ترین ساز و کار آنتی‌اکسیدان‌ها در غذاها حذف رادیکال است. چندین روش برای ارزیابی فعالیت آنتی‌رادیکالی در دمای اتاق وجود دارد. دو مورد از این روش‌ها استفاده از رادیکال ۲ و ۲-دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH[•]) و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن است.

با استناد به مطالب بالا و با توجه به این که گیاه مذکور بومی کشور ما است و ترکیبات تشکیل‌دهنده آن خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند، می‌توان با مشخص کردن فعالیت آنتی‌رادیکالی و اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس آن بر پایداری اکسیداتیو روغن سویا، این اسانس را به عنوان جایگزین یا مکمل آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی پیشنهاد داد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

مواد گیاهی از مزرعه تحقیقاتی موسسه تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات طبیعی تهیه شد (کرج، ایران). اسانس آویشن شیرازی به روش تقطیر با آب از بخش‌های هوایی گیاه توسط دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت به دست آمد. اسانس

امروزه در راستای حذف و یا کاهش ترکیبات شیمیایی و سنتزی در مواد غذایی، تحقیقات زیادی برای جایگزینی مواد شیمیایی با طبیعی انجام شده است. در همین زمینه تلاش‌های زیادی برای یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از منابع گیاهی صورت گرفته است. اکسیداسیون لیپیدها در حین نگهداری و فراوری غذاها نه تنها باعث از دست رفتن کیفیت تغذیه‌ای و هضمی غذا می‌شود، بلکه محصولات اکسید شده‌ای مانند رادیکال‌های آزاد تولید می‌کند. رادیکال‌های آزاد تولید شده در سامانه‌های غذایی باعث اکسیداسیون خود به خودی و تولید ترکیبات شیمیایی نامطلوب و در نتیجه باعث تندی و بدطعمی ماده غذایی می‌شوند. هم‌چنین رادیکال‌های آزاد در سامانه‌های بیولوژیکی و زیستی باعث بروز بسیاری از بیماری‌ها، خصوصاً سرطان می‌شوند [۱]. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که به طور موثری از اکسیداسیون چربی‌ها جلوگیری می‌کنند [۲]. آنتی‌اکسیدان‌ها به دو دسته‌ی عمده سنتزی و طبیعی تقسیم می‌شوند [۳]. امروزه در صنعت از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مانند BHT، BHA یا TBHQ برای به تاخیر انداختن اکسیداسیون چربی‌ها استفاده می‌شود، اما به دلیل اثرات بد تغذیه‌ای و سرطان‌زا بودن این ترکیبات و نیز تمایل مصرف‌کنندگان به استفاده از ترکیبات طبیعی، کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد توجه محققین قرار گرفته است [۴]. یکی از بهترین منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، ترکیبات فنلی موجود در نمونه‌های گیاهی است [۵، ۶]. اسانس‌های استخراج شده از گیاهان در صنایع مختلف از جمله صنایع غذایی، دارویی و آرایشی-بهداشتی استفاده می‌شود. امروزه فعالیت بیولوژیکی اسانس‌ها بیش از گذشته مورد توجه است، به همین دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها توسط محققان زیادی مورد بررسی قرار گرفته است [۷، ۸].

گیاه *Zataria multiflora* Boiss با نام فارسی آویشن شیرازی از خانواده نعناع (*Labiatae*) است. انتشار عمومی این گیاه در ایران، افغانستان و پاکستان است. اسانس گیاه حاوی ترکیبات فنلی (تیمول و کارواکول) و جز اصلی ترکیبات

¹ P-Cymene

² PV

³ TBA



به دست آمده با سولفات سدیم بدون آب خشک شد و در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [۱۷].

مواد شیمیایی

تمام مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده در این تحقیق از شرکت مرک (آلمان) و رادیکال آزاد DPPH[•]، بتاکاروتن و لینولئیک اسید از شرکت سیگما (آمریکا) خریداری شدند و دارای بالاترین درصد خلوص بودند.

تجزیه اسانس با GC/MS

اسانس به دست آمده پس از آب‌گیری با سولفات سدیم بدون آب، توسط دستگاه GC/MS تجزیه شد و با استفاده از محاسبه‌ی ضرایب بازداری هر یک از اجزای تفکیک شده و طیف‌جرمی آن‌ها و مقایسه با استاندارد، ترکیبات تشکیل دهنده‌ی اسانس شناسایی شد. دستگاه کروماتوگرافی گازی از نوع HP مدل N ۶۸۹۰ با ستونی به طول ۳۰ متر، به قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. تزریق نمونه به شیوه‌ی شکافته^۱ با نسبت شکافتگی ۱:۲۰ انجام شد. برنامه دمایی نیز به این ترتیب بود: دمای ابتدایی آون ۴۰ درجه سانتی‌گراد، توقف در این دما به مدت ۱/۰۸ دقیقه، افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد با گرادیان دمایی ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه، افزایش دما تا ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد با شیب دمایی ۱۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه و توقف در این دما به مدت ۶ دقیقه. دمای محل تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود. از گاز هلیوم با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه و متوسط سرعت ۱ cm/s به عنوان گاز حامل استفاده شد. طیف‌سنج جرمی مدل HP ۵۹۷۳ N، ولتاژ یونیزاسیون ۶۹/۹ الکترون ولت، روش یونیزاسیون الکترونی (EI) و دمای منبع یونیزاسیون ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد بود.

بررسی خاصیت آنتی‌رادیکالی به روش DPPH[•]

۲ و ۲- دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) رادیکالی چربی دوست است که دارای جذب بیشینه در طول

موج ۵۱۷ نانومتر است [۱۸]. در آزمون DPPH[•] رادیکال‌های DPPH[•] با آنتی‌اکسیدان‌ها یا دیگر گونه‌های رادیکالی واکنش می‌دهند و مقدار آن کاهش می‌یابد؛ در نتیجه جذب در طول موج ۵۱۷ - ۵۱۵ نانومتر کاهش می‌یابد [۱۹]. کاهش مولکول‌های DPPH[•] با تعداد گروه‌های هیدروکسیل در دسترس تقریباً معادل است [۲۰]. گروه‌های هیدروکسیل با دادن هیدروژن به رادیکال‌های DPPH[•] آن‌ها را از رنگ بنفش تیره به زرد روشن تبدیل می‌کنند. جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر بیان‌گر مقدار DPPH[•] باقی‌مانده است [۱۸].

برای تعیین قدرت اسانس در به دام انداختن رادیکال‌های آزاد DPPH[•]، ۲ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف اسانس به ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۲ میلی‌مولار رادیکال آزاد DPPH[•] در اتیل استات افزوده شد. جذب محلول بعد از ۵۰ دقیقه، در طول موج ۵۱۷ نانومتر با طیف نور سنج شینکو ساخت کشور کره جنوبی به روش روبش زمانی^۱ خوانده شد. یک نمونه حاوی ۲ میلی‌لیتر اتیل استات و ۱ میلی‌لیتر محلول DPPH[•] به عنوان شاهد استفاده شد. فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال^۲ DPPH[•] توسط اسانس که معیاری از میزان فعالیت آنتی‌رادیکالی اسانس است، مطابق فرمول زیر محاسبه شد:

$$\% RSA = \frac{OD_{control} - OD_{sample}}{OD_{control}} \times 100$$

در این رابطه OD_{control} جذب کنترل، OD_{sample} جذب نمونه و RSA فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال آزاد است. برای بررسی بهتر فعالیت آنتی‌رادیکالی اسانس‌ها از شاخص EC₅₀ استفاده شد. EC₅₀ بیان‌گر مقدار میلی‌گرم اسانس است که قادر به حذف ۵۰ درصد از رادیکال DPPH[•] موجود در محیط است [۱۵،۲۰].

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی به روش بی‌رنگ شدن بتاکاروتن

روش بی‌رنگ شدن بتاکاروتن بر اساس توانایی اسانس‌ها در کم کردن مقدار از دست رفتن اکسیداتیو بتاکاروتن در یک امولسیون بتاکاروتن/ لینولئیک اسید است [۲۱]. ۰/۲ میلی‌گرم

¹ Time scan

² Radical scavenging activity

¹ Split

² Split ratio



تجزیه و تحلیل 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 استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش حداقل تفاوت‌های معنی‌دار (LSD) صورت گرفت.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی اسانس آویشن شیرازی

ترکیبات تشکیل دهنده اسانس آویشن شیرازی^۱ در جدول شماره ۱ آورده شده است. با توجه به این جدول می‌توان دریافت که در اسانس آویشن شیرازی به ترتیب کارواکرول (۲۶۷۰۸ درصد)، پاراسیمن (۲۰/۳۴ درصد)، و تیمول (۱۷/۲۳ درصد) بیش‌ترین درصد را دارند. مقایسه ترکیب‌های اصلی اسانس مورد آزمایش با تحقیق‌های قبلی نشان می‌دهد، میزان آن‌ها در نمونه‌های مختلف متفاوت است. صادق‌زاده و همکاران در سال ۱۳۸۵، گزارش کردند، ترکیب‌های عمده تشکیل‌دهنده اسانس آویشن شیرازی تیمول (۵۲/۴ درصد)، گاماترپینن (۱۷/۶ درصد)، پاراسیمن (۱۳/۲ درصد) و کارواکرول (۶/۱ درصد) است [۲۴]. شریفی‌فر و همکاران در سال ۲۰۰۷ ترکیب‌های عمده اسانس آویشن شیرازی را تیمول (۳۷/۵۹ درصد)، کارواکرول (۳۳/۶۵ درصد)، پاراسیمن (۷/۷۲ درصد) و گاماترپینن (۳/۸۸ درصد) گزارش کردند [۹]. این تفاوت می‌تواند مربوط به اختلاف رقم، شرایط آب و هوایی، شرایط کشت، شرایط نگهداری و مدت زمان نگهداری نمونه باشد. تفاوت در ترکیب اسانس‌های مختلف، خصوصیات آنتی‌اکسیدانی آن‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد.

حذف رادیکال‌های آزاد با استفاده از روش DPPH*

در آزمون DPPH* رادیکال‌های DPPH* با آنتی‌اکسیدان‌ها یا دیگر گونه‌های رادیکالی واکنش می‌دهند و

از بتاکاروتن در ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم حل شد و ۱ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده به فلاسک ته‌گردی که حاوی ۲۰ میلی‌گرم لینولئیک اسید و ۲۰۰ میلی‌گرم توئین ۴۰ بود افزوده شد. پس از خارج شدن کلروفرم توسط گاز ازت، ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر اشباع از اکسیژن به فلاسک افزوده و فلاسک برای تشکیل امولسیون به شدت هم زده شد. ۵ میلی‌لیتر از امولسیون تهیه شده به لوله‌های آزمایش که حاوی ۰/۲ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف نمونه و استاندارد BHT بود، اضافه شد و بلافاصله در زمان صفر جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. سپس درب لوله‌های آزمایش بسته و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد [۲۱]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$\% I = \frac{A_{\text{sample}} - A_{\text{control}}}{A_{\text{control}(0)} - A_{\text{control}}} \times 100$$

%I = درصد بازدارندگی

A_{sample} = جذب نمونه بعد از زمان موردنظر

A_{control} = جذب کنترل بعد از زمان موردنظر

A_{control(0)} = جذب کنترل در زمان صفر

اثر اسانس آویشن شیرازی در به تأخیر انداختن اکسیداسیون روغن سویا

اسانس آویشن شیرازی، در چهار تیمار (Z-400, Z-600, Z-1000 و Z-200) و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHA در دو تیمار (A-100 و A-200) و BHT در دو تیمار (T-100 و T-200) به روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان در شیشه‌های تیره رنگ اضافه و درب شیشه‌ها بسته شد (اعدد نمایان‌گر غلظت بر حسب ppm هستند). سپس نمونه‌ها به همراه شاهد (C) (روغن سویا بدون افزودن اسانس) برای مدت معینی در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. روزهای ۰، ۸، ۱۶، ۲۴ و ۳۲ اعداد پراکسید [۲۲] و اسید تیوباربیتوریک [۲۳] نمونه‌های روغن اندازه‌گیری شد.

¹ *Zataria multiflora* Boiss.



جدول شماره ۱- ترکیب‌های عمده تشکیل‌دهنده اسانس آویشن شیرازی

شماره	نام ترکیب	زمان بازداری (دقیقه)	اندیس بازداری کوواتز	درصد
۱	α - Thujene	۱۶/۸۲	۹۳۴	۰/۱۸
۲	α - Pinene	۱۷/۲۹	۹۴۲	۳/۸۰
۳	Camphene	۱۸/۱۱	۹۵۹	۰/۲۰
۴	β - Pinene	۱۹/۶۸	۹۸۲	۰/۴۸
۵	3-octanone	۲۰/۰۶	۹۸۸	۰/۷۱
۶	β -myrecene	۲۰/۳۳	۹۹۲	۱/۰۸
۷	3-octanol	۲۰/۵۵	۹۹۵	۰/۱۹
۸	α -terpinene	۲۱/۸۵	۱۰۲۰	۰/۴۴
۹	P- Cymene	۲۲/۴۸	۱۰۲۸	۲۰/۳۴
۱۰	Limonene	۲۲/۶۱	۱۰۳۲	۰/۹۹
۱۱	1,8-cineole	۲۲/۷۵	۱۰۳۵	۱/۰۰
۱۲	γ - Terpinene	۲۴/۱۱	۱۰۶۴	۰/۲۶
۱۳	Trans-sabinene hydrate	۲۵/۷۴	۱۰۹۶	۰/۲۱
۱۴	Linalool	۲۶/۳۹	۱۱۰۰	۱۰/۰۹
۱۵	Borneol	۲۹/۸۸	۱۱۶۷	۰/۲۱
۱۶	4-trpeneol	۳۰/۴۲	۱۱۸۶	۰/۶۸
۱۷	α -terpineol	۳۱/۲۴	۱۱۹۲	۰/۶۵
۱۸	Thymol methyl ether	۳۳/۰۴	۱۲۳۷	۱/۴۱
۱۹	Carvacrol methyl ether	۳۳/۵۵	۱۲۴۸	۳/۸۴
۲۰	Thymol	۳۵/۹۸	۱۲۹۳	۱۷/۲۳
۲۱	Carvacrol	۳۶/۶۲	۱۳۰۱	۲۶/۰۸
۲۲	β -caryophyllene	۴۲/۰۱	۱۴۲۳	۴/۲۷
۲۳	Aromadendrene	۴۲/۳۰	۱۴۴۳	۱/۳۶
۲۴	Alpha-humulene	۴۳/۴۰	۱۴۵۸	۰/۲۳
۲۵	Allo aromadendrene	۴۳/۷۲	۱۴۶۴	۰/۱۳
۲۶	Ledene	۴۵/۰۹	۱۴۹۳	۰/۵۸
۲۷	Spatulenol	۴۸/۵۳	۱۵۷۸	۰/۶۴
۲۸	Caryophyllene oxide	۴۸/۸۲	۱۵۸۴	۱/۶۴
	جمع			۹۸/۹۲



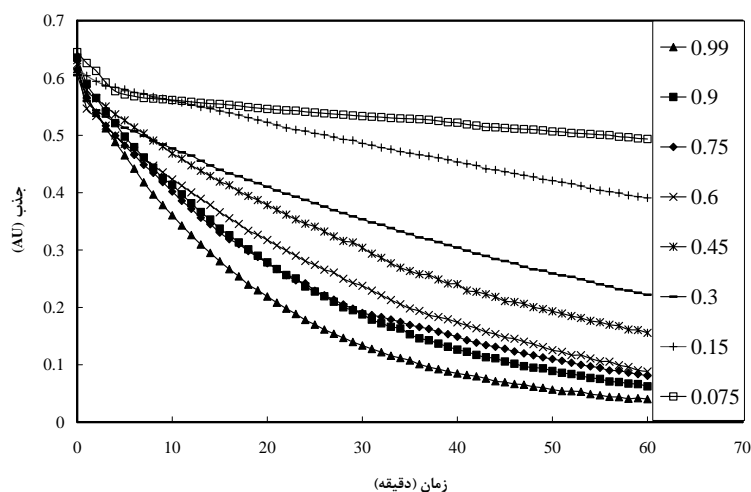
مقدار آن کاهش می‌یابد. در نتیجه جذب در طول موج ۵۱۷ - ۵۱۵ نانومتر کاهش می‌یابد. شکل شماره ۱ میزان کاهش جذب محلول DPPH* را به ترتیب در حضور غلظت‌های مختلف از اسانس آویشن شیرازی نشان می‌دهند. اسانس مورد آزمایش با غیرفعال کردن رادیکال DPPH* در دمای اتاق خاصیت آنتی‌رادیکالی خوبی نشان داد. اسانس آویشن شیرازی در گستره‌ی غلظتی از ۰/۰۷۵ تا ۰/۹۹ درصد وزنی - حجمی استفاده شد. با افزایش غلظت آن از ۰/۰۷۵ تا ۰/۹۹ درصد، مقدار DPPH* باقی مانده از ۷۳ درصد به ۸ درصد کاهش یافت. این نتایج نشان داد که با افزایش غلظت اسانس، فعالیت آنتی‌رادیکالی افزایش می‌یابد.

EC₅₀ به طور معکوس با فعالیت آنتی‌رادیکالی ترکیب‌ها در ارتباط است، هر چه EC₅₀ کم‌تر باشد فعالیت آنتی‌رادیکالی بیش‌تر است. مقدار EC₅₀ اسانس آویشن شیرازی ۲/۲۲ mg/ml بود. در این آزمایش‌ها BHT به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد، مقدار EC₅₀ آن ۰/۵۸ mg/ml بود. بنابراین، اسانس یاد شده نسبت به BHT فعالیت آنتی‌رادیکالی کم‌تری دارد. در سال ۲۰۰۵، Tepe و همکاران فعالیت آنتی‌رادیکالی اسانس‌های *Cyclotrichium origanifolium* Mandan. & Scheng. و *Thymus sipyleus* subsp. را با روش DPPH* بررسی کردند. مقدار EC₅₀ اسانس‌های مورد مطالعه به ترتیب ۱۷/۸ و ۲/۶۷ mg/ml بود؛ اسانس *Cyclotrichium origanifolium* Mandan. & Scheng. آنتی‌رادیکالی نسبتاً اندک و اسانس *Thymus sipyleus* subsp. آنتی‌رادیکالی نسبتاً متوسطی را نشان دادند [۲۶، ۲۵]. در مطالعه‌ی Zhang و همکاران در سال ۲۰۰۶، مقدار EC₅₀ اسانس جعفری را ۸۰/۲۱ mg/ml تعیین کردند که نشان‌دهنده‌ی فعالیت آنتی‌رادیکالی پایین آن است [۲۷]. در بررسی دیگر فاضل و همکاران در سال ۱۳۸۶، فعالیت آنتی‌رادیکالی اسانس‌های آویشن و مرزه را با روش DPPH* تعیین کردند. مقادیر EC₅₀ اسانس‌های مورد مطالعه به ترتیب ۸/۹ و ۵/۸ mg/ml بود [۲۸].

با توجه به مطالب بالا و مقادیر EC₅₀ اسانس آویشن شیرازی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که این اسانس فعالیت آنتی‌رادیکالی نسبتاً خوبی دارد. در جدول شماره ۲ مقادیر EC₅₀ اسانس آویشن شیرازی با EC₅₀ برخی از استانداردها و سایر اسانس‌ها مقایسه شده است.

مقدار آن کاهش می‌یابد. در نتیجه جذب در طول موج ۵۱۷ - ۵۱۵ نانومتر کاهش می‌یابد. شکل شماره ۱ میزان کاهش جذب محلول DPPH* را به ترتیب در حضور غلظت‌های مختلف از اسانس آویشن شیرازی نشان می‌دهند. اسانس مورد آزمایش با غیرفعال کردن رادیکال DPPH* در دمای اتاق خاصیت آنتی‌رادیکالی خوبی نشان داد. اسانس آویشن شیرازی در گستره‌ی غلظتی از ۰/۰۷۵ تا ۰/۹۹ درصد وزنی - حجمی استفاده شد. با افزایش غلظت آن از ۰/۰۷۵ تا ۰/۹۹ درصد، مقدار DPPH* باقی مانده از ۷۳ درصد به ۸ درصد کاهش یافت. این نتایج نشان داد که با افزایش غلظت اسانس، فعالیت آنتی‌رادیکالی افزایش می‌یابد.

EC₅₀ به طور معکوس با فعالیت آنتی‌رادیکالی ترکیب‌ها در ارتباط است، هر چه EC₅₀ کم‌تر باشد فعالیت آنتی‌رادیکالی بیش‌تر است. مقدار EC₅₀ اسانس آویشن شیرازی ۲/۲۲ mg/ml بود. در این آزمایش‌ها BHT به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد، مقدار EC₅₀ آن ۰/۵۸ mg/ml بود. بنابراین، اسانس یاد شده نسبت به BHT فعالیت آنتی‌رادیکالی کم‌تری دارد. در سال ۲۰۰۵، Tepe و همکاران فعالیت آنتی‌رادیکالی اسانس‌های *Cyclotrichium origanifolium* Mandan. & Scheng. و *Thymus sipyleus* subsp. را با روش DPPH* بررسی کردند. مقدار EC₅₀ اسانس‌های مورد مطالعه به ترتیب ۱۷/۸ و ۲/۶۷ mg/ml بود؛ اسانس *Cyclotrichium origanifolium* Mandan. & Scheng. آنتی‌رادیکالی نسبتاً اندک و اسانس *Thymus sipyleus* subsp. آنتی‌رادیکالی نسبتاً متوسطی را نشان دادند [۲۶، ۲۵]. در مطالعه‌ی Zhang و همکاران در سال ۲۰۰۶، مقدار EC₅₀ اسانس جعفری را ۸۰/۲۱ mg/ml تعیین کردند که نشان‌دهنده‌ی فعالیت آنتی‌رادیکالی پایین آن است [۲۷]. در بررسی دیگر فاضل و همکاران در سال ۱۳۸۶، فعالیت آنتی‌رادیکالی اسانس‌های آویشن و مرزه را با روش DPPH* تعیین کردند. مقادیر EC₅₀ اسانس‌های مورد مطالعه به ترتیب ۸/۹ و ۵/۸ mg/ml بود [۲۸].



شکل شماره ۱- روند کاهش جذب محلول DPPH* با زمان در حضور غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی (بر حسب درصد)



جدول شماره ۲- مقایسه EC₅₀ اسانس‌های مورد مطالعه با برخی از اسانس‌ها و استانداردها

منبع	EC ₅₀ (mg/ml)	نمونه
تحقیق حاضر	۲/۲۲ ± ۰/۰۴	آویشن شیرازی (<i>Zataria multiflora</i>)
۲۶	۸۰/۲۱ ± ۳/۴۱	جعفری (<i>Petroselinum crispum</i>)
۲۷	۸/۹	آویشن (<i>Thymus vulgaris</i> L.)
۲۷	۵/۸	مرزه (<i>Satureja hortensis</i> L.)
۲۵	۱۷/۱ ± ۰/۵	<i>Cyclotrichium origanifolium</i> Mandan & Scheng.
۲۴	۲/۶۷ ± ۰/۵	<i>Thymus sipyleus</i> subsp. <i>sipyleus</i> var. <i>sipyleus</i>
۲۶	۰/۵۸ ± ۰/۰۲	BHT
۲۶	۰/۱۰ ± ۰/۰۰	آلفا-توکوفرول

داده‌ها میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است.

بی‌رنگ شدن بتاکاروتن

اساس این روش، بی‌رنگ شدن بتاکاروتن است که سازوکار آن، واکنش بتاکاروتن با رادیکال آزاد تولید شده در نتیجه‌ی تشکیل هیدروپراکسید از لینولئیک اسید می‌باشد. سرعت بی‌رنگ شدن بتاکاروتن در حضور آنتی‌اکسیدان‌ها کاهش می‌یابد، به همین منظور از این روش برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی استفاده شد. در این آزمایش‌ها از BHT به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی در شکل شماره ۲ با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT مقایسه شده است. در اسانس مورد مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدانی با افزایش غلظت، افزایش معنی‌داری یافته است ($p < 0/01$). بیش‌ترین اثر آنتی‌اکسیدانی در سامانه بی‌رنگ شدن بتاکاروتن مربوط به BHT در غلظت ۰/۰۲ درصد بود. البته ممکن است فعالیت آنتی‌اکسیدانی کم‌تر اسانس مورد مطالعه نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT، به علت حضور ناخالصی موجود در اسانس باشد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که اسانس آویشن شیرازی فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی دارد. البته باید توجه داشت که در اسانس یاد شده خالص‌سازی انجام نشده است و علاوه بر اجزای موثر ترکیب‌های دیگری نیز حضور دارند که بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی اثر می‌گذارند. اگر جداسازی صورت گیرد و اجزای موثر به مواد غذایی افزوده شوند، ممکن است غلظت‌های بسیار کم‌تری از این اسانس نیاز باشد. نقش کلیدی

ترکیب‌های فنلی به عنوان حذف‌کننده‌های رادیکال‌های آزاد در چندین مقاله گزارش شده است [۲۹،۳۰،۳۱]. در سال ۱۹۹۴، اشپاخ^۱ و همکاران و در سال ۲۰۰۰، روبرت^۲ و باراتا^۳، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای تیمول، کارواکرول را گزارش کردند [۱۳،۳۲]. در سال ۲۰۰۱، پترسون^۴ و همکاران فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره جوی دو سر را با دو روش DPPH^۵ و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن اندازه‌گیری کرده و میزان ترکیب‌های فنولیک کل عصاره را تعیین کردند. این محققین نشان دادند بین میزان ترکیب‌های فنولیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده ارتباط خوبی وجود دارد [۳۳]. در سال ۲۰۰۲، پورتاس^۶ - مجیا^۵ و همکاران، برای پونه کوهی^۶ فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی مشاهده کردند، که به طور عمده مربوط به حضور تیمول و کارواکرول در اسانس آن است [۱۴]. در سال ۲۰۰۴، کولیسیچ^۷ و همکاران فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس پونه کوهی را با استفاده از سه روش بی‌رنگ شدن بتاکاروتن، DPPH^۵ و TBARS بررسی کردند. به طور کلی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس نسبت به آسکوربیک اسید کم‌تری قابل مقایسه با α -توکوفرول و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT بود. ترکیب‌های عمده اسانس تیمول و

¹ Aeschbach

³ Baratta

⁵ Puertas-Mejia

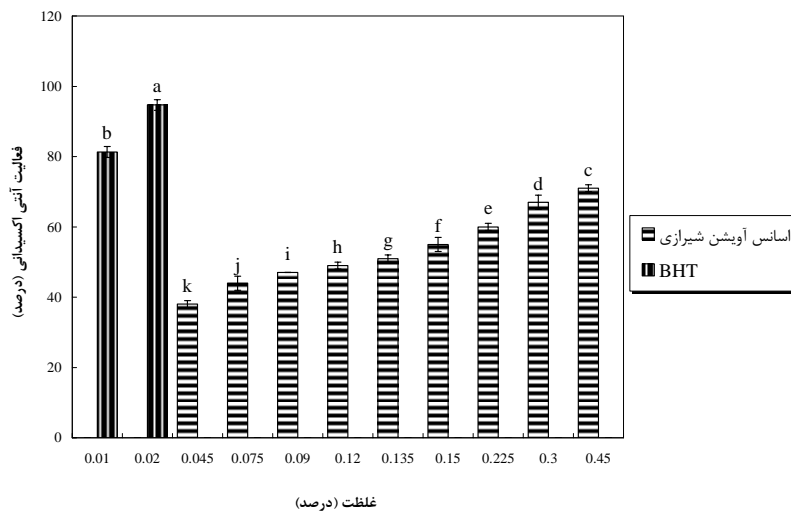
⁷ Kulisic

² Ruberto

⁴ Peterson

⁶ *Origanum vulgare* L.





شکل شماره ۲- مقایسه‌ی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT (به روش بی‌رنگ شدن بتاکاروتن)

اثر اسانس آویشن شیرازی در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن سویا

فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی در روغن سویا بر حسب اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید در شکل‌های شماره ۳ و ۴ نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید روغن‌ها وابسته به غلظت تیمارها است و با افزایش غلظت تیمارها، اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید کاهش و در نتیجه اثر آنتی‌اکسیدانی افزایش یافته است ($p < 0.01$). نتایج نشان داد اسانس قادر به کاهش سرعت اکسیداسیون روغن سویا در شرایط تسریع شده (دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد) بوده و قابل مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی است. اثر آنتی‌اکسیدانی غلظت ۰/۱ درصد اسانس آویشن شیرازی با غلظت ۰/۰۲ درصد آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA قابل مقایسه است و از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری ندارد. پژوهش‌هایی در زمینه اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره گیاهان روی پایداری روغن‌ها و غذاهای حاوی روغن انجام گرفته است. در سال ۱۹۹۹، یانیشلیوا^۱ و همکاران گزارش کردند افزودن غلظت‌های مختلف تیمول و کارواکرول به روغن آفتاب‌گردان،

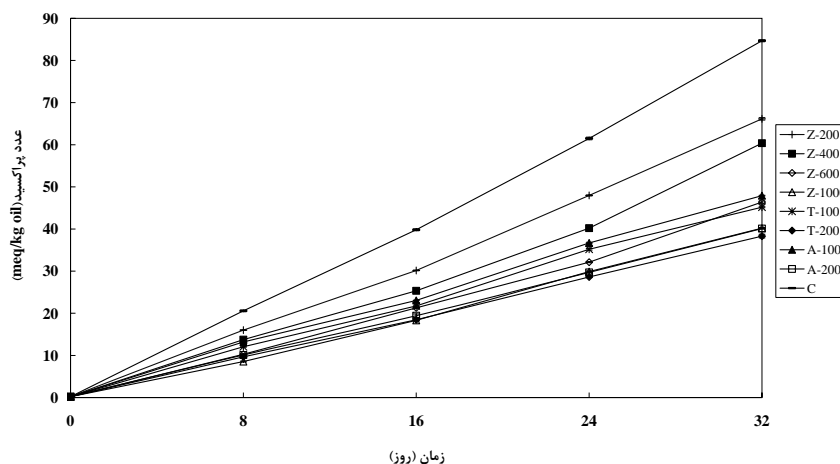
کارواکرول بودند [۱۵]. بامداد و همکاران در سال ۲۰۰۶ فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره زیره سیاه^۱ را با دو روش DPPH* و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن بررسی کردند و نشان دادند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره زیره سیاه با BHT قابل مقایسه است. هم‌چنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره مربوط به حضور ترکیب‌های فنولیک است [۳۴]. در مطالعه‌ای تپ^۲ و همکاران در سال ۲۰۰۷، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس *Clinopodium vulgare L.* را بررسی کردند. تیمول و گاما ترپینن ترکیب‌های عمده تشکیل‌دهنده اسانس بودند. برای بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی از دو روش DPPH* و بی‌رنگ شدن بتا کاروتن استفاده شد. هم‌چنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی تیمول و گاما ترپینن نیز تعیین شد. هر دو ترکیب فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی را نشان دادند. اسانس نیز در هر دو روش فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی را نشان داد که به دلیل وجود ترکیب‌های یاد شده بود [۳۵]. با توجه به مطالب بالا و نتایج این پژوهش می‌توان گفت دلیل فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی، حضور ترکیب‌های فنلی مانند تیمول و کارواکرول است.

¹ Yanishlieva

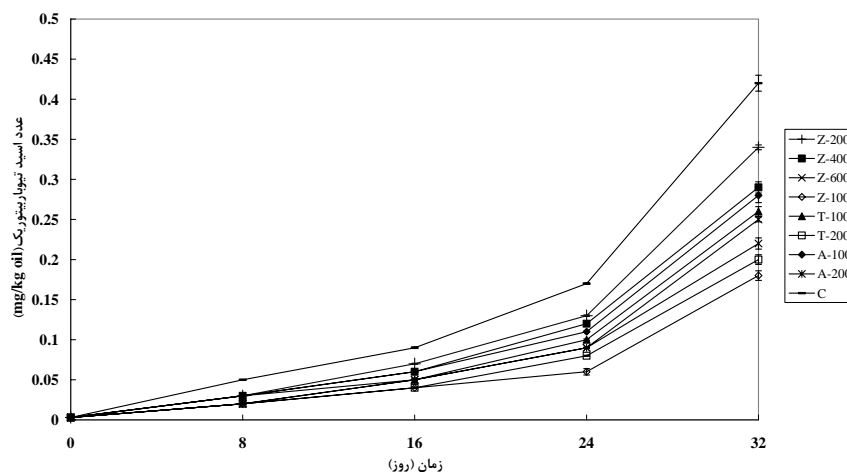
¹ Carum carvi

² Tepe





شکل شماره ۳- فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی در روغن سویا بر حسب عدد پراکسید



شکل شماره ۴- فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی در روغن سویا بر حسب عدد تیوباریتوریک اسید

آنتی اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۳۰۰ ppm بود [۲]. در مطالعه‌ای چمن^۱ و جسویر^۲ در سال ۲۰۰۰، گزارش کردند که افزودن عصاره رزماری و یک نوع نعناع به روغن پالم فساد اکسیداتیو روغن و محصول سرخ شده را در طی سرخ کردن به تاخیر می‌اندازد [۸]. در سال ۲۰۰۲، تاناب^۳ و همکاران نشان دادند که عصاره‌ی گیاه زنجبیل^۶ اثر بازدارندگی قوی بر اکسیداسیون لیپیدها در گوشت خوک دارد [۳۶]. سحری و

روند اکسیداسیون را کند می‌کند. اثر آنتی اکسیدانی ترکیب‌های فنلی یاد شده وابسته به غلظت بود. نتایج این تحقیق نشان داد، تیمول و کارواکرول (دو ترکیب عمده موجود در اسانس آویشن شیرازی) دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی هستند [۱۲]. در سال ۱۹۹۹، عبدا...^۱ و روزن^۲، اثر آنتی اکسیدانی عصاره مریم‌گلی را در روغن آفتاب‌گردان بررسی کردند. عصاره مریم‌گلی در غلظت ۱۲۰۰ ppm بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی را نشان داد و فعالیت آن قابل مقایسه با

¹ Cheman
³ Tanabe

² Jaswir
⁴ Ginger

¹ Abdalla

² Roozen



کاهش سرعت اکسیداسیون روغن خردل در شرایط تسریع شده (دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد) بوده و قابل مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHT و BHA در غلظت ۰/۰۲ درصد است [۴۰]. در سال ۲۰۰۷، اُزکان^۱ و همکاران فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس *Satureja cilicica* را در کره بررسی کردند. اسانس در سه غلظت ۵۰۰۰، ۱۰۰۰۰ و ۲۰۰۰۰ به کره اضافه شد و کره به مدت ۶۰ روز در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. تغییرات عدد پراکسید در روزهای بیستم، چهلم و شصتم بررسی شد. ارزیابی اعداد پراکسید نشان دهنده فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای این اسانس در کره بود؛ با افزایش غلظت اثر آنتی‌اکسیدانی آن افزایش می‌یافت. این محققین گزارش کردند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس *Satureja cilicica* می‌تواند به ترکیب‌های فنولیک آن به خصوص تیمول و کارواکرول نسبت داده شود [۱۶].

به هر حال با توجه به مطالب بالا و نتایج این پژوهش می‌توان گفت که اسانس آویشن شیرازی در غلظت ۰/۱ درصد، دارای اثر آنتی‌اکسیدانی معادل آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA در غلظت ۰/۰۲ درصد، در روغن سویا بود. همان‌گونه که اشاره شد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس مورد مطالعه مربوط به ترکیب‌های فنلی موجود در آن است. در این مطالعه با استفاده از سه روش مختلف مشخص شد که اسانس آویشن شیرازی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است. این تحقیق می‌تواند نقطه شروعی برای کاربرد اسانس آویشن شیرازی در روغن و سایر مواد غذایی باشد.

تشکر و قدردانی

از قطب علمی مهندسی بازیافت و کاهش ضایعات محصولات استراتژیک کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس به خاطر مساعدت در انجام این تحقیق کمال تشکر و قدردانی را داریم.

همکاران در سال ۲۰۰۴، گزارش کردند که روغن بذر چای دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی بوده و در سطح ۵ درصد موجب نگهداری بهتر روغن آفتاب‌گردان می‌شود [۳۷]. گلی و همکاران در سال ۲۰۰۵، اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره استخراجی پوست سبزی پسته را در روغن سویا بررسی و با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHT و BHA مقایسه کردند. نتایج نشان داد که غلظت ۶۰۰ ppm از عصاره به همراه غلظت ۲۰۰ ppm آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی بیشترین اثر آنتی‌اکسیدانی را داشت. به این ترتیب پوست سبزی پسته به عنوان منبعی که دارای اثر آنتی‌اکسیدانی است، معرفی شد و این اثر به دلیل حضور ترکیب‌های فنولیک موجود در آن گزارش شد [۳۸]. در سال ۲۰۰۶، برا^۱ و همکاران اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره *Ajowan* (ادویه مورد استفاده در هند) را در روغن بزرک بررسی و با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHT و BHA و TBHQ مقایسه کردند. این عصاره فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی در روغن بزرک نشان داد که به دلیل حضور تیمول در آن بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره نسبت به BHT و BHA بیش‌تر ولی نسبت به TBHQ کم‌تر بود. این محققان عصاره *Ajowan* را به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی پیشنهاد کردند؛ زیرا علاوه بر بهبود پایداری روغن، ارزش غذایی آن را نیز افزایش می‌دهد [۳۹]. در سال ۲۰۰۶، سینگ^۲ و همکاران اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره رازیانه را در روغن بزرک بررسی کردند. نتایج نشان داد، عصاره سرعت اکسیداسیون روغن بزرک را کاهش می‌دهد. این محققان گزارش کردند فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره به دلیل اثر تشدیدکنندگی بین ترکیب‌های فنولیک موجود در آن است. در ارتباط با بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها، سینگ و همکاران در سال ۲۰۰۶ فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس *Carum nigrum* را با استفاده از آزمون آون در روغن خردل بررسی کردند. اسانس با غلظت ۲۰۰ ppm به روغن خردل اضافه شد و تغییرات عدد پراکسید و اندیس اسید تیوباربتوریک در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۸ روز بررسی شد. نتایج نشان داد اسانس قادر به

¹ Ozkan

¹ Bera

² Singh



1. Espin JC, Soler- Rivas C and Wichers HJ. Characterisation of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2, 2- diphenyl- 1- picrylhydrazyl radical. *J. of Agr. and Food Chem.* 2000; 48: 648 - 656.
2. Abdalla AE and Roozen JP. Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion. *Food Chem.* 1999; 64: 323 - 9.
3. Velioglu YS, Mazza G, Gao L and Oomah BD. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *J. of Agr. and Food Chem.* 1998; 46: 4113 - 4.
4. Frankel EN. Recent advances in lipid oxidation. A review. *J. of the Sci. of Food and Agr.* 1991; 54: 495 - 511.
5. Dormana HJD, Peltoketo A, Hiltunen R and Tikkanen MJ. Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected lamiaceae herbs. *Food Chem.* 2003; 83: 255- 62.
6. Lee SJ, Umamo K, Shibamoto T and Lee KG. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chem.* 2005; 91: 131 - 7.
7. Nedyalka V, Yanishlieva NV, Marinova EM, Gordon MH and Raneva VG. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chem.* 1999; 64: 59 - 66.
8. Cheman Y and Jaswir I. Effect of rosemary and sage extracts on frying performance of refined, bleached and deodorized (RBD) palm olein during deep-fat frying. *Food Chem.* 2000; 69: 301 - 7.
9. Sharififar F, Moshafi MH, Mansouri SH, Khodashenas M and Khoshnoodi M. In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora*. Boiss. *Food Control.* 2007; 18: 800 - 5.
10. Ghasemidehkordi N. Iranian Herbal pharmacopoeia. 1st Ed., A publication of Ministry of Health and Medical Education, Tehran. 2002, pp: 795 – 6.
11. Omidbeygi M, Barzegar M, Hamidi Z and Naghdibadi HA. Antifungal activity of thyme, summer sarvory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. *Food Control.* 2007; 18: 1518 - 23.
12. Yanishlieva NV, Marinova EM, Gordon MH and Raneva VG. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chem.* 1999; 64: 59 - 66.
13. Ruberto G, Baratta MMT. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chem.* 2000; 69: 167 - 71.
14. Puertas- Mejia M, Hillebrand S, Stashenko E and Winterhater P. In vitro radical scavenging activity of essential oils from columbian plants and fractions from oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil. *Flav. and Frager. J.* 2002; 17: 380 - 4.
15. Kulisic T, Radonic A, Katalinic V and Milos M. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chem.* 2004; 85: 633 - 40.
16. Ozkan G, Simsek B and Kuleasan, H. Antioxidant activities of *Satureja cilicica* essential oil in butter and in vitro. *J. of Food Eng.* 2007; 79: 1391 - 6.
17. Anonymous. British Pharmacopoeia. London: HMSO. 1988, pp: A137 - A138.
18. Pokorny J, Yanishlieva N and Gordon M. Antioxidant in Food. *CRC Press* 2001, pp: 380 – 1.
19. Mau JL, Lai EYC, Wang NP, Chen CC, Chang CH and Chyau CC. Composition and antioxidant activity of the essential oil from *Curcuma zedoaria*. *Food Chem.* 2003; 82: 583 - 91.
20. Sun T and Ho CT. Antioxidant activity of buck wheat extracts. *Food Chem.* 2005; 90: 743 - 9.



21. Moure A, Franco D, Sineiro J, Dominguez H, Nunez MJ and Lema JM. Evaluation of extracts from *Gevuina avellana* hulls as antioxidant. *J. of Agr. and Food Chem.* 2000; 72: 145 - 71.
22. AOCS. In: D. Firestone, (Ed.), *Official Methods and Recommend Practices of the American Oil Chemists' Society* (4th ed.). 1989, Champaign: AOCS.
23. Sidewell GG, Salwin H, Benca M and Mitchel JA. The use of thiobarbituric acid as a measure of fat oxidation. *J. of the Amer. Oil Chemists' Soc.* 1954; 31: 603 - 6.
24. Sadeghzade L, Sefidkon F and Owlia P. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Zataria multiflora*. *Pajouhesh and Sazandegi* 2006; 71: 52 - 6.
25. Tepe B, Sokmen M, Akpulat HA, Daferera D, Polissiou M and Sokmen A. Antioxidative activity of the essential oils of *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* and *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans*. *J. of Food Eng.* 2005; 66: 447 - 54.
26. Tepe B, Sokmen M, Sokmen A, Daferera D and Polissiou M. Antimicrobial and antioxidative activity of the essential oils various extracts of *Cyclotrichium organifolium* (Labill.) Manden. & Scheng. *J. of Food Eng.* 2005; 69: 335 - 42.
27. Zhang H, Chen F, Wang X and Yao H. Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents. *Food Res. Int.* 2006; 39: 833 - 9.
28. Fazel M, Omidbeygi M, Barzegar M and Naghdi Badi H. Influence of heating on antiradical activity of essential oils of Thyme, Summer Sarvory and Clove by 2, 2- Diphenyl- 1- Picrylhydrazyl (DPPH') Method. *J. of Medicinal Plants.* 2007; 6: 54- 63.
29. Duenas M, Hernandez T, Estrella I. Assessment of in vitro antioxidant capacity of the seed coat and the cotyledon of legumes in relation to their phenolic contents. *Food Chem.* 2006; 98: 95 - 103.
30. Katalinic V, Milos M, Kulisic T, Jukic M. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chem.* 2006; 94: 550 - 7.
31. Theriault M, Caillet S, Kermash S, Lacroix M. Antioxidant, antiradical and antimutagenic activities of phenolic compounds present in maple products. *Food Chem.* 2006; 98: 490 - 501.
32. Aeschbach R, LoÈ liger J, Scott BC, Murcia A, Butler J, Halliwell B and Aruoma OI. Antioxidant action of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol. *Food Chem. Toxicol.* 1994; 32: 31 - 6.
33. Peterson DM, Emmons CL and Hibbs A. Phenolic antioxidants and antioxidant activity in pearling fractions of oat groats. *J. of Cereal Sci.* 2001; 33: 97 - 103.
34. Bamdad F, Kadivar M and Keramat J. Evaluation of phenolic content and antioxidant activity of Iranian caraway in comparison with clove and BHT using model systems and vegetable oil. *Int. J. of Food Sci. and Technol.* 2006; 41: 20 - 7.
35. Tepe B, Tepe AS, Daferera D, Polissiou M and Sokmen A. Chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Clinopodium vulgare* L. *Food Chem.* 2007; 103: 766 - 70.
36. Tanabe H, Yoshida M and Tomita N. Comparison of the antioxidant activities of 22 commonly used culinary herbs and spices on the lipid oxidation of pork meat. *Animal Sci. J.* 2002; 73: 389 - 93.
37. Sahari MA, Ataii D and Hamedi M. Characteristics of tea seed oil in comparison with sunflower and olive oils and its effect as a natural antioxidant. *J. of the Amer. Oil Chemists' Society* 2004; 81: 585 - 8.
38. Goli AH, Barzegar M and Sahari MA. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chem.* 2005; 92: 521 - 5.
39. Bera D, Lahiri D and Nag A. Studies on a



natural antioxidant for stabilization of edible oil and comparison with synthetic antioxidants. *J. of Food Eng.* 2006; 74: 542 - 5.

40. Singh G and Marimuthu P. Antioxidant and

biocidal activities of *Carum nigrum* (seed) essential oil, oleoresin, and their selected components. *J. of Agr. and Food Chem.* 2006; 54: 174 - 81.

