

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

ندا شهسواری^۱، محسن بروزگر^{۲*}، محمدعلی سحری^۳، حسنعلی نقدبادی^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: ۰۲۱-۴۴۱۹۶۵۲۴، تلفن: ۰۲۱-۴۴۱۹۶۵۲۶، نمبر: ۰۲۱-۳۳۶-۱۴۱۱۵
پست الکترونیک: mbb@modares.ac.ir

تاریخ تصویب: ۸۷/۷/۳۰ تاریخ دریافت: ۸۷/۱/۲۷

چکیده

مقدمه: اخیراً به دلیل فعالیت آنتیرادیکالی شناخته شدهی 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 عمدهی آن شناسایی شد. فعالیت آنتیاکسیدانی اسانس در غلظت‌های مختلف با استفاده از دو روش رادیکال ۲-۲'-دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH[•]) و بی‌رنگ شدن بتاکاروتون بررسی و با آنتیاکسیدان سنتزی BHT مقایسه شد. فعالیت آنتیاکسیدانی اسانس با اندازه‌گیری اعداد پراکسید (PV) و تیوباریتوئیک اسید (TBA) در روغن سویا (آزمون آون) اندازه‌گیری شد.

نتایج: نتایج نشان داد کارواکرول (۰/۰۸-۰/۲۶ درصد) و تیمول (۰/۲۳-۰/۱۷ درصد) ترکیبات فنلی عمدهی اسانس هستند. EC₅₀ اسانس آویشن شیرازی ۰/۰۴ mg/ml ± ۰/۰۴ mg/ml تعیین شد، در حالی که این پارامتر برای BHT ۰/۰۸ ± ۰/۰۲ mg/ml بود. در روش بی‌رنگ شدن بتاکاروتون 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.

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

¹ *Zataria multiflora* Boiss.

مقدمه

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

هدف از این مطالعه بررسی خصوصیات آنتی اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی با استفاده از دو روش رادیکال ۲ و ۲'-دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH[•]) و بی‌رنگ شدن بتاکاروتون و در آخر بررسی فعالیت آن در روغن سویا با اندازه‌گیری عدد پراکسید^۲ و تیوباریتوريک اسید^۳ بود. مهم‌ترین ساز و کار آنتی اکسیدان‌ها در غذاها حذف رادیکال است. چندین روش برای ارزیابی فعالیت آنتی رادیکالی در دمای اتاق وجود دارد. دو مورد از این روش‌ها استفاده از رادیکال ۲ و ۲'-دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH[•]) و بی‌رنگ شدن بتاکاروتون است.

با استناد به مطالب بالا و با توجه به این که گیاه مذکور بومی کشور ما است و ترکیبات تشکیل‌دهنده آن خاصیت آنتی اکسیدانی دارند، می‌توان با مشخص کردن فعالیت آنتی رادیکالی و اثر آنتی اکسیدانی اسانس آن بر پایداری اکسیداتیو روغن سویا، این اسانس را به عنوان جایگزین یا مکمل آنتی اکسیدان‌های 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 تقطری با آب از بخش‌های هوایی گیاه توسط دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت به دست آمد. اسانس

¹ P-Cymene
³ TBA



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 آنتی اکسیدان‌های طبیعی از منابع گیاهی صورت گرفته است. اکسیداسیون لیپیدها در حین نگهداری و فراوری غذاها نه تنها باعث از دست رفتن کیفیت غذایی 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]. آنتی اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که به طور موثری از اکسیداسیون چربی‌ها جلوگیری می‌کنند [۲].

آنتی اکسیدان‌ها به دو دسته‌ی عمده سنتزی و طبیعی تقسیم می‌شوند [۳]. امروزه در صنعت از آنتی اکسیدان‌های سنتزی مانند TBHQ، BHT یا BHA برای به تاخیر اندختن 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 آنتی اکسیدان‌های طبیعی مورد توجه محققین قرار گرفته است [۴]. یکی از بهترین منابع آنتی اکسیدان‌های 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 آنتی اکسیدانی 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 کارواکرول) و جز اصلی ترکیبات

² PV

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

مواد شیمیابی

تمام مواد شیمیابی 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 محاسبه ضرایب بازداری هر یک از اجزای تفکیک شده و طیف جرمی آنها و مقایسه با استاندارد، ترکیبات تشکیل دهنده 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^۲ ۲۰:۱ انجام شد. برنامه دمایی نیز به این ترتیب بود: دمای ابتدایی آون ۴۰ درجه سانتی گراد، توقف در این دما به مدت ۱/۰۸ دقیقه، افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سانتی گراد با گردایان دمایی ۳ درجه سانتی گراد در دقیقه، افزایش دما تا ۲۸۰ درجه سانتی گراد با شیب دمایی ۱۰ درجه سانتی گراد در دقیقه و توقف در این دما به مدت ۶ دقیقه. دمای محل تزریق ۲۵۰ درجه سانتی گراد 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 N ۵۹۷۳ HP، ولتاژ یونیزاسیون ۶۹/۹ الکترون ولت، روش یونیزاسیون الکترونی (EI) و دمای منبع یونیزاسیون ۲۳۰ درجه سانتی گراد بود.

بررسی خاصیت آنتی‌رادیکالی به روش DPPH^{*}

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

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 (۲۶/۰۸ 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 عمدۀ تشکیل‌دهنده اسانس آویشن شیرازی تیمول (۵۲/۴ درصد)، گاماترپین (۱۷/۶ درصد)، پاراسیمن (۱۳/۲ درصد) و کارواکرول (۶/۱ درصد) است [۲۴]. شریفی‌فر و همکاران در سال ۲۰۰۷ ترکیب‌های عمدۀ اسانس آویشن شیرازی را تیمول (۳۷/۵۹ درصد)، کارواکرول (۳۳/۶۵ درصد)، پاراسیمن (۷/۷۲ درصد) و گاماترپین (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 آنتی اکسیدانی آن‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد.

DPPH حذف رادیکال‌های آزاد با استفاده از روش^{*} در آزمون^{*} DPPH رادیکال‌های^{*} DPPH با آنتی اکسیدان‌ها یا دیگر گونه‌های رادیکالی واکنش می‌دهند و

^۱ *Zataria multiflora* Boiss.



از بتاکاروتین در ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم حل شد و ۱ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده به فلاسک که گردی که حاوی ۲۰ میلی‌گرم لیونلئیک 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 بلافالصله 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 آنتی اکسیدانی نمونه‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

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

$\% I$ = 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-200 Z-1000 و آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHA در دو تیمار (۱۰۰ و A-200) و BHT در دو تیمار (T-100 و T-200) به روغن سویا بدون آنتی اکسیدان در شیشه‌های تیره رنگ اضافه و درب شیشه‌ها بسته شد (اعداد نمایان گر غلظت ppm هستند). سپس نمونه‌ها به همراه شاهد (C) بر حسب ppm (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 تیوباریتوريک [۲۳] نمونه‌های روغن اندازه‌گیری شد).

جدول شماره ۱- ترکیب‌های عمده تشکیل دهنده اسانس آویشن شیرازی

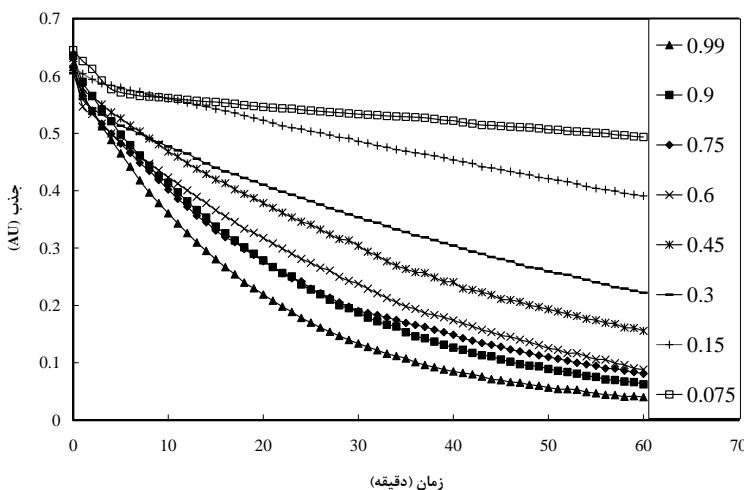
شماره	نام ترکیب	زمان بازداری (دقیقه)	اندیس بازداری کوواتز	درصد
۱	α – Thujene	۱۶/۸۲	۹۳۴	۰/۱۸
۲	α – Pinene	۱۷/۲۹	۹۴۲	۳/۸۰
۳	Camphene	۱۸/۱۱	۹۰۹	۰/۲۰
۴	β - Pinene	۱۹/۶۸	۹۸۲	۰/۴۸
۵	3-octanone	۲۰/۰۶	۹۸۸	۰/۷۱
۶	β -myrecene	۲۰/۳۳	۹۹۲	۱/۰۸
۷	3-octanol	۲۰/۰۵	۹۹۵	۰/۱۹
۸	α -terpinene	۲۱/۸۵	۱۰۲۰	۰/۴۴
۹	P- Cymene	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	۱۰۹۷	۰/۲۱
۱۴	Linalool	۲۶/۳۹	۱۱۰۰	۱۰/۰۹
۱۵	Borneol	۲۹/۸۸	۱۱۶۷	۰/۲۱
۱۶	4-trpineol	۳۰/۴۲	۱۱۸۷	۰/۷۸
۱۷	α -terpineol	۳۱/۲۴	۱۱۹۲	۰/۷۵
۱۸	Thymol methyl ether	۳۳/۰۴	۱۲۲۷	۱/۴۱
۱۹	Carvacrol methyl ether	۳۳/۰۵	۱۲۴۸	۳/۸۴
۲۰	Thymol	۳۵/۹۸	۱۲۹۳	۱۷/۲۳
۲۱	Carvacrol	۳۶/۶۲	۱۳۰۱	۲۶/۰۸
۲۲	β -caryophyllene	۴۲/۰۱	۱۴۲۲	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	۴۸/۰۳	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 nm 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 آنتی رادیکالی خوبی نشان داد. اسانس آویشن شیرازی در گسترهٔ 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 آنتی رادیکالی افزایش می‌یابد.

EC₅₀ به طور معکوس با فعالیت آنتی رادیکالی ترکیب‌ها در ارتباط است، هر چه EC₅₀ کم‌تر باشد فعالیت آنتی رادیکالی 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 آنتی رادیکالی کم‌تری دارد. در سال ۲۰۰۵ Tepe و همکاران فعالیت آنتی رادیکالی اسانس‌های Cyclotrichium origanifolium و Thymus sipyleus subsp. Mandan. & Scheng.

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



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

جدول شماره ۲ - مقایسه EC_{50} اسانس‌های مورد مطالعه با برخی از اسانس‌ها و استانداردها

منبع	EC_{50} (mg/ml)	نمونه
تحقیق حاضر	$2/22 \pm 0/04$	آویشن شیرازی (<i>Zataria multiflora</i>)
۲۶	$80/21 \pm 3/41$	جعفری (<i>Petroselinum crispum</i>)
۲۷	۸/۹	آویشن (<i>Thymus vulgaris L.</i>)
۲۷	۵/۸	مرزه (<i>Satureja hortensis L.</i>)
۲۵	$17/1 \pm 0/5$	<i>Cyclotrichium origanifolium</i> Mandan & Scheng.
۲۴	$2/77 \pm 0/5$	<i>Thymus sipyleus</i> subsp. <i>sipyleus</i> var. <i>sipyleus</i>
۲۶	$0/58 \pm 0/02$	BHT
۲۶	$0/10 \pm 0/00$	آلfa- توکوفرول

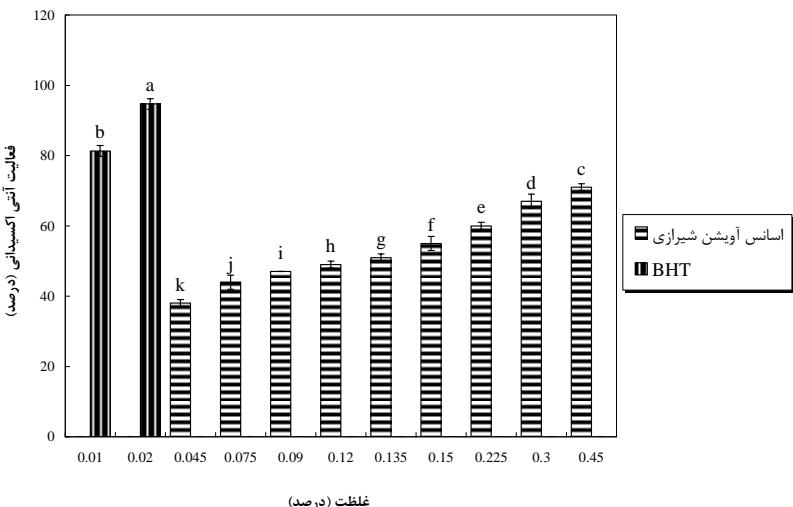
داده‌ها میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار است.

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، روپرت^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 و 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 - مجیا^۵ و همکاران، برای پونه کوهی^۶ فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای مشاهده کردند، که به طور عمده مربوط به حضور تیمول و کارواکرول در اسانس آن است [۱۴]. در سال ۲۰۰۴، کولیسیج^۷ و همکاران فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس پونه کوهی را با استفاده از سه روش بی‌رنگ شدن بتاکاروتون، TBARS و DPPH^{*} بررسی کردند. به طور کلی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس نسبت به آسکوربیک اسید کم‌تر ولی قابل مقایسه با α -توکوفرول و آنتی‌اکسیدان سترزی BHT بود. ترکیب‌های عمده اسانس تیمول و

اساس این روش، بی‌رنگ شدن بتاکاروتون است که سازوکار آن، واکنش بتاکاروتون با رادیکال آزاد تولید شده در نتیجه‌ی تشکیل هیدروپراکسید از لینولئیک اسید می‌باشد. سرعت بی‌رنگ شدن بتاکاروتون 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 سترزی 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 بتاکاروتون مربوط به BHT در غلظت ۰/۰۲ درصد بود. البته ممکن است فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتر اسانس مورد مطالعه نسبت به آنتی‌اکسیدان سترزی 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 افروده شوند، ممکن است غلظت‌های بسیار کم‌تری از این اسانس نیاز باشد. نقش کلیدی

¹ Aeschbach³ Baratta⁵ Puertas-Mejia⁷ Kulisic² Ruberto⁴ Peterson⁶ *Origanum vulgar L.*



شکل شماره ۲- مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی با آنتی اکسیدان سنتزی BHT (به روش بی رنگ شدن بتاکاروتون)

اثر اسانس آویشن شیرازی در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن سویا

فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی در روغن سویا بر حسب اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید در شکل های شماره ۳ و ۴ نشان داده شده است. همان گونه که مشاهده می شود، اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید روغن ها وابسته به غلظت تیمارها است و با افزایش غلظت تیمارها، اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید کاهش و در نتیجه اثر آنتی اکسیدانی افزایش یافته است ($p < 0.01$). نتایج نشان داد اسانس قادر به کاهش سرعت اکسیداسیون روغن سویا در شرایط تسریع شده (دماه ۶۰ درجه سانتی گراد) بوده و قابل مقایسه با آنتی اکسیدان های سنتزی است. اثر آنتی اکسیدانی غلظت ۱/۰ درصد اسانس آویشن شیرازی با غلظت ۰/۰۲ درصد آنتی اکسیدان سنتزی BHA قابل مقایسه است و از لحاظ آماری تفاوت معنی داری ندارد. پژوهش هایی در زمینه اثر آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره گیاهان روی پایداری روغن ها و غذاهای حاوی روغن انجام گرفته است. در سال ۱۹۹۹، یانیشلیوا^۱ و همکاران گزارش کردند افزودن غلظت های مختلف تیمول و کارواکرول به روغن آفتاب گردان،

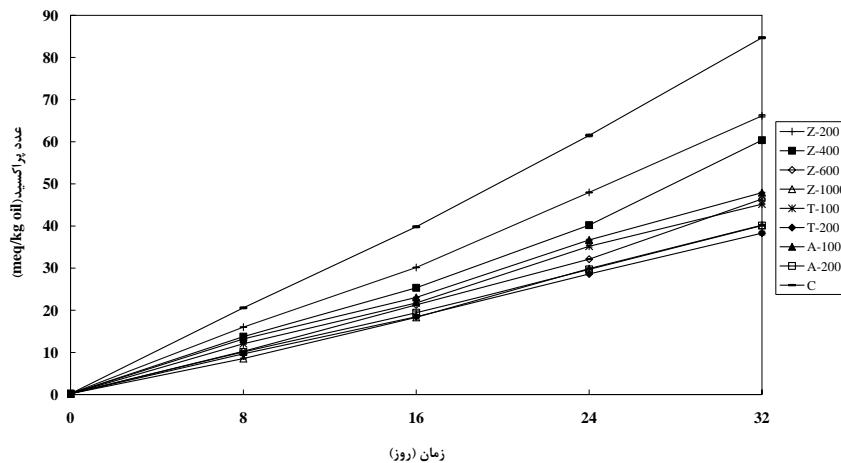
کارواکرول بودند [۱۵]. بامداد و همکاران در سال ۲۰۰۶ فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره زیره سیاه^۱ را با دو روش DPPH^{*} و بی رنگ شدن بتاکاروتون بررسی کردند و نشان دادند که فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره زیره سیاه با BHT قابل مقایسه است. همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره مربوط به حضور ترکیب های فنولیک است [۳۴]. در مطالعه ای تپ^۲ و همکاران در سال ۲۰۰۷، فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس Clinopodium vulgar L. ترپین ترکیب های عمدۀ تشکیل دهنده اسانس بودند. برای بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی از دو روش DPPH^{*} و بی رنگ شدن بتا کاروتون استفاده شد. همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی تیمول و گاما ترپین نیز تعیین شد. هر دو ترکیب فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی را نشان دادند. اسانس نیز در هر دو روش فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی را نشان داد که به دلیل وجود ترکیب های یاد شده بود [۳۵]. با توجه به مطالب بالا و نتایج این پژوهش می توان گفت دلیل فعالیت بالای آنتی اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی، حضور ترکیب های فنولی مانند تیمول و کارواکرول است.

¹ Yanishlieva

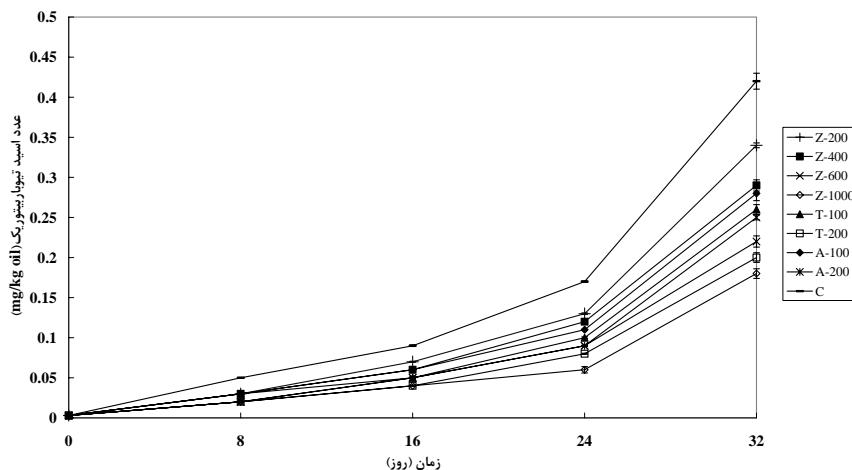
¹ Carum carvi

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 تیوباریتورویک اسید

آنتی اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۳۰۰ ppm در مطالعه‌ای چمن^۱ و جسویر^۲ در سال ۲۰۰۰، گزارش کردند که افزودن عصاره رزماری و یک نوع نعناع به روغن پالم 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 زنجیل^۴ 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، عبدالا...^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 (دماه ۶۰ درجه سانتی گراد) بوده و قابل مقایسه با آنتی اکسیدان های سنتزی BHT و BHA در غلظت ۰/۰۲ درصد است [۴۰]. در سال ۲۰۰۷، اُزکان^۱ و همکاران فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس *Satureja cilicica* را در کره بررسی کردند. اسانس در سه غلظت ppm ۵,۰۰۰، ۱۰,۰۰۰ و ۲۰,۰۰۰ به کره اضافه شد و کره به مدت ۶۰ روز در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد. تغییرات عدد پراکسید در روزهای بیستم، چهلم و شصتم بررسی شد. ارزیابی اعداد پراکسید نشان دهنده فعالیت آنتی اکسیدانی بالای این اسانس در کره بود؛ با افزایش غلظت اثر آنتی اکسیدانی آن افزایش می یافتد. این محققین گزارش کردند که فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس *Satureja cilicica* می تواند به ترکیب های فنولیک آن به خصوص تیمول و کارواکرول نسبت داده شود [۱۶].

به هر حال با توجه به مطالب بالا و نتایج این پژوهش می توان گفت که اسانس آویشن شیرازی در غلظت ۱/۰ درصد، دارای اثر آنتی اکسیدانی معادل آنتی اکسیدان سنتزی BHA در غلظت ۰/۰۲ درصد، در روغن سویا بود. همان گونه که اشاره شد، فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس مورد مطالعه مربوط به ترکیب های فنلی موجود در آن است. در این مطالعه با استفاده از سه روش مختلف مشخص شد که اسانس آویشن شیرازی دارای خاصیت آنتی اکسیدانی است. این تحقیق می تواند 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.

^۱ Ozkan



همکاران در سال ۲۰۰۴، گزارش کردند که روغن بذر چای دارای خاصیت آنتی اکسیدانی قوی بوده و در سطح ۵ درصد موجب نگهداری بهتر روغن آفتاب گردان می شود [۳۷]. گلی و همکاران در سال ۲۰۰۵، اثر آنتی اکسیدانی عصاره استخراجی پوست سبز پسته را در روغن سویا بررسی و با آنتی اکسیدان های سنتزی BHT و BHA مقایسه کردند. نتایج نشان داد که غلظت ۶۰۰ ppm از عصاره به همراه غلظت ۲۰۰ ppm آنتی اکسیدان های سنتزی بیشترین اثر آنتی اکسیدانی را داشت. به این ترتیب پوست سبز پسته به عنوان منبعی که دارای اثر آنتی اکسیدانی است، معرفی شد و این اثر به دلیل حضور ترکیب های فنولیک موجود در آن گزارش شد [۳۸]. در سال ۲۰۰۶، برا^۲ و همکاران اثر آنتی اکسیدانی عصاره Ajowan (ادویه مورد استفاده در هند) را در روغن بزرک بررسی و با آنتی اکسیدان های سنتزی BHT و BHA و TBHQ مقایسه کردند. این عصاره فعالیت آنتی اکسیدانی بالای در روغن بزرک نشان داد که به دلیل حضور تیمول به BHT و BHA بیشتر ولی آنتی اکسیدانی عصاره نسبت به TBHQ کم تر بود. این محققان عصاره Ajowan را به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی پیشنهاد کردند؛ زیرا علاوه بر بهبود پایداری روغن، ارزش غذایی آن را نیز افزایش می دهد [۳۹]. در سال ۲۰۰۶، سینگ^۳ و همکاران اثر آنتی اکسیدانی عصاره رازیانه را در روغن بزرک بررسی کردند. نتایج نشان داد، عصاره سرعت اکسیداسیون روغن بزرک را کاهش می دهد. این محققان گزارش کردند فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره به دلیل اثر تشدید کنندگی بین ترکیب های فنولیک موجود در آن است. در ارتباط با بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس ها، سینگ و همکاران در سال ۲۰۰۶ فعالیت آنتی اکسیدانی 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 ان迪س اسید تیوباربیتوريک در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۸ روز بررسی شد. نتایج نشان داد اسانس قادر به

^۱ Bera

^۲ Singh

منابع

1. Espin JC, Soler- Rivas C and Wicher 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, Umano 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 savory 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. Kulusic 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 origanifolium* (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 Savory 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 pearlimg 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. Comparision of the antioxidant activities of 22 commenly 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 Hamed 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 (*Pistacia 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.

