Archive of SID

مقاله علمی پژوهشی/ نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۳۰ شماره ۴/ سال ۱۳۹۹/ صفحات ۱۸۱ تا ۱۹۸

DOI: 10.22034/fr.2021.33107.1665

فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره‌های گیاه شاه اسپرغم وتاثیر آنها در ثبات اکسیداتیو روغن آفتابگردان

اکرم آقایی[۱] و منیره رنجبر[۲*]

تاریخ دریافت: ۹۸/۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۸/۷/۶

[۱] دانشجوی بیوشیمی، گروه بیوشیمی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی اصفهان

[۲] استادیار گروه علوم زیستی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی اصفهان

[*] مسئول مکاتبه: Email: ranjbar@iaufala.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: یکی از روشهای جلوگیری از اکسیداسیون روغن‌ها استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها است. شاه اسپرغم *Tanacetum balsamita* متعلق به تیرهAsteraseae است. با توجه به کاربردهای فراوان این گیاه در زمینه‌های غذایی و داروئی، در این مطالعه به جداسازی ترکیبات موجود در اسانس و عصاره‌های آبی، متانولی، هگزانی و کلروفرمی گیاه و تعیین ترکیبات و تاثیر آنها در جلوگیری از اکسیداسیون روغن آفتابگردان پرداخته شده است. **روش کار**: اسانس به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر استخراج شد. عصاره‌های آبی، متانولی، هگزانی و کلروفرمی با روش خیساندن تهیه شد. برای سنجش میزان فنل، فلاونوئید و ترپنوئید عصاره‌ها به ترتیب از روشهای فولین–سیوکالتو، روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم و جدا سازی در اتر استفاده گردید. برای بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی هر عصاره از روش DPPH استفاده شد. اجزای اسانس با GC-MS تعیین گردید. اثر عصاره‌ها در به تأخیر انداختن فساد اکسیداتیو در روغن آفتابگردان تصفیه شده از طریق اندازه گیری عدد پراکسید، عدد باربیتوریک اسید و زمان مقاومت به اکسیداسیون نمونه‌ها تعیین شد. **نتایج**: عصاره متانولی از بیشترین میزان فلاونوئید و فنل کل (۱۲۹/۸۹ و ۹۸/۳۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر)، عصاره کلروفرمی از بیشترین مقدار ترپنوئید (۱۳۲۰/۴ میلی‌گرم بر گرم) برخوردار بود. بالاترین درصد بازدارندگی مربوط به عصاره متانولی با ۶۸/۶۶ درصد بود. ترکیبات مهم شناسایی شده در اسانس ۱و۸–سینول، بتا توجون، سیکلوپنتانول، سیکلوهگزن و بتا بیزابولین بود. در بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره و اسانس شاه اسپرغم در روغن آفتابگردان، با افزایش غلظت اثر آنتی اکسیدانی آنها بیشتر شد. نتایج حاصل از بررسی پایداری اکسایشی روغن حاوی غلظت‌های مختلف عصاره و اسانس نشان داد که غلظت ppm ۱۰۰۰ عصاره متانولی و اسانس با غلظت ppm۸۰۰ نسبت به غلظت‌های دیگر و نمونه شاهد در پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان مؤثرتر عمل نموده و در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ppm ۲۰۰ نیز تأثیر بیشتری داشتند. بنابراین، می‌توان از آنها به عنوان منبعی از آنتی‌اکسیدانهای طبیعی بهره برد. **نتیجه گیری نهایی**: با مقایسه عصارها می توان نتیجه گرفت که متانول بهترین حلال جهت استخراج فنل و فلاونوئید است. از طرفی با توجه به وجود ترکیبات موثر در اسانس این گیاه، می توان از آن بعنوان آنتی اکسیدان استفاده کرد. عصاره متانولی و اسانس با اثر ضد رادیکالی بسیار خوب می توانند جایگزین BHT در روغن آفتابگردان شوند.

واژگان کلیدی : اسانس، شاه اسپرغم، روغن آفتابگردان، فلاونوئید، فنل

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

روغنهای گیاهی دارای میزان بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع هستند به همین دلیل طی نگهداری و فرآیندهای حرارتی در معرض فساد هستند. مهمترین دلیل فساد روغنها اکسیداسیون است که باعث کاهش ارزش غذایی آنها می‌شود. اکسیداسیون باعث تولید رادیکالهای آزاد شده و اثرات نامطلوبی بر کیفیت آنها خواهد داشت. مهمترین عامل دفاعی علیه رادیکالهای آزاد، آنتی‌اکسیدانها هستند. عدم تعادل بین تولید رادیکالهای آزاد و آنتی‌اکسیدانها منجر به حمله رادیکالهای آزاد به مولکولهای بیولوژیکی خواهد شد (یانگ و همکاران ۲۰۱۶). بکارگیری آنتی اکسیدانهای سنتزی سلامت انسان را به مخاطره می‌اندازد(گوستون ۲۰۱۱). به این دلیل تلاشهای زیادی در راستای جایگزین کردن این ترکیبات با ترکیبات طبیعی در حال انجام است. بسیاری از گونه‌های گیاهی دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مشابهی با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی بدون اثرات جانبی می‌باشند و به عنوان یک جایگزین در صنعت غذا و دارو مورد استفاده قرار می‌گیرند (هینبرگ وهمکاران ۲۰۰۶). بخشهای مختلف گیاهان نظیر میوه، برگ، دانه و روغن، منبع سرشاری از ترکیبات پلی‌فنولیک نظیر انواع فلاونوئیدها جزء آنتی‌اکسیدانهای مهم محسوب می‌شوند (آلزاندرو و همکاران ۲۰۱۱). تأثیر منابع طبیعی مختلف در پایدار سازی روغنهای گیاهی طی پژوهشهای مختلف بررسی شده است (اورتگا-رامیرز و همکاران ۲۰۱۴) . تأثیر آنتی‌اکسیدانهای سنتزی و طبیعی را می‌توان با اندازه‌گیری محصولات اولیه و ثانویه پراکسیداسیون چربیها در مواد غذایی و سیستمهای بیولوژیکی ارزیابی کرد. محققان زیادی اثر آنتی اکسیدانی عصاره‌های گیاهی را در ثبات اکسیداتیو روغنهای خوراکی ارزیابی نموده اند که از آن جمله می توان به کاربرد عصاره متانولی تفاله کنجد در روغنهای سویا، آفتابگردان و گلرنگ اشاره کرد (سوجا و همکاران ۲۰۰۴). روغن آفتابگردان یکی از پر مصرف‌ترین روغن‌های گیاهی دنیا بوده و به دلیل دارا بودن مقادیر بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع از قبیل لینولئیک اسید (18:2 w-6) به سرعت اکسید می‌شود. در نتیجه کیفیت روغن افت کرده و ایمنی مواد غذایی به دلیل تولید ترکیبات اکسید شده به خطر می‌افتد (مزا و همکاران ۲۰۱۷).

بسیاری از محققین ترکیبات فعال زیستی را با کمک عصاره‌گیری از گیاهان جداسازی کرده ودر صنایع غذایی و دارویی از آنها استفاده می‌کنند. در بین ترکیبات فعال زیستی ترکیبات کاملا قطبی تا ترکیبات غیرقطبی دیده می‌شود. حلال نقش موثری در ضریب عصاره‌گیری ترکیبات فعال زیستی دارد. ضریب عصاره‌گیری ترکیبات فعال بستگی به نوع حلال و نوع ترکیبات گیاهی دارد. بسته به اینکه هدف استخراج چه نوع ترکیباتی است، حلال مناسب انتخاب می‌شود (یی و همکاران ۲۰۱۵). ترکیبات فنلی شامل فنولیک اسید (هیدروکسی بنزن و هیدروکسی سینامیک اسید)، پلی‌فنل‌ها(تانن‌های هیدرولیز شونده و کندانسه شده) و فلاونوئید است. این ترکیبات گیاه را از آسیبهای اکسیداتیو حفظ می‌کنند و برای انسان منبع آنتی‌اکسیدانی هستند. حلالهای قطبی برای استخراج فنلها مناسبترند. زمانی که حلالها همراه آب استفاده شوند ترکیبات بیشتری استخراج می شود (ترکمن و همکاران ۲۰۰۶).

شاه اسپرغم *Tanacetum balsamita* گیاهی علفی و ریزوم‌دار است. اسانس شاه اسپرغم به عنوان مهمترین ماده موثر این گیاه مدنظر می‌باشد. اسانس این گیاه مایعی بی رنگ تا زرد روشن است که از برگ و گل بدست می‌آید ولی عصاره آن نیز به دلیل وجود ترکیبات فعال زیستی مورد توجه است (حسن پور اقدم و همکاران ۲۰۰۸).

آقایی.و همکاران (۲۰۱۳)، با بررسی اثرات مراحل رشد و روش‌های خشک کردن بر کیفیت عصاره شاه اسپرغم به این نتیجه دست یافتند که ویژگی های آنتی اکسیدان و ترکیبات فنولیک با مرحله رشد و روش‌های خشک سازی تغییر می یابد

راتب و همکاران (۲۰۰۷)، با بررسی فیتوشیمیایی اسانس این گیاه چهار فلاونوئید از بخش هوایی و چهار

www.SID.ir

Archive of SID

سزکوئی ترپن لاکتون از برگها و همچنین دو استرول از قسمت ریشه ی این گیاه شناسایی کردند. این گیاه دارای مقدار زیادی سزکوئی ترپن لاکتون می‌باشد و در برگهای آن فلاونوئیدهای قطبی و لیپوفیلیک به فراوانی یافت می‌شود. لازم به ذکر است که ریشه ی این گیاه دارای درصد بالایی از استرول می باشد.

درخشانی و همکاران (۲۰۱۲) اسانس شاخساره‌های گیاه شاه اسپرغم را بررسی کردند. نتایج تجزیه اسانس نشان داد که ۲۰ جزء در اسانس شاه اسپرغم وجود دارد که کاروون و آلفا توجون اجزاء اصلی اسانس بودند.

با توجه به مشکلات استفاده از ترکیبات مختلف سنتتیک به عنوان نگهدارنده در صنعت غذا و بویژه صنعت روغن و خطرات بالقوه هر کدام از این ترکیبات جهت سلامتی انسان‌ها، در این تحقیق گیاه شاه اسپرغم بعنوان جایگزین آنتی‌اکسیدانهای سنتزی استفاده گردید. لذا هدف از این پژوهش بررسی ترکیبات شیمیایی و خواص آنتی اکسیدانی عصاره‌ها و اسانس این گیاه و تأثیر آنها بر پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان در طی نگه‌داری روغن در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد و مقایسه آنها با قدرت آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT به منظور جایگزین کردن آنتی اکسیدان های سنتزی با آنتی اکسیدان های طبیعی بود.

مواد و روش‌ها

سرشاخه‌های گلدار گیاه تازه *Tanacetum balsamita* در خرداد ۱۳۹۷ از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان تهیه و خشک شد. برای تهیه پودر گیاه از آسیاب خانگی استفاده شد. قطر ذرات بدست آمده در حدود ۰/۵ میلی‌متربود. ،جهت تهیه عصاره آبی، متانولی، کلروفرمی و هگزانی، به ۵۰ گرم پودر گیاه ده برابر حجم آن آب مقطر، هگزان، کلروفرم و متانول ۸۰ درصد افزوده شد و بعد از ۴۸ ساعت تکان مداوم عصاره حاصله با استفاده از دستگاه روتاری Steroglass۲۰۲ تغلیظ گردید و سپس داخل آون در دمای مناسب هر حلال کاملاًخشک شدند (مشافی و همکاران ۲۰۰۴). به دلیل اینکه ترکیبات عمده تشکیل دهنده عصاره‌ها در گروه ترکیبات فنلی، فلاونوئید و ترپنوئید قرار دارند لذا میزان این ترکیبات سنجش شده است. با توجه به نتایج حاصل از تحقیقات جمشیدی و همکاران (۲۰۱۰)، خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره های گیاه شاه اسپرغم بیشتر مربوط به وجود ترکیبات فنلی است به همین دلیل با تعیین میزان این ترکیبات، ارتباط بین مقدار این ترکیبات و خاصیت آنتی‌اکسیدانی بررسی شده است.

اندازگیری میزان فنل کل در عصاره‌ها

مقدار کل ترکیبات فنلی در شاه اسپرغم به روش فولین-سیوکالتیو مورد بررسی قرار گرفت. ۲/۵ گرم از عصاره‌ها بعد از حل شدن در حلال مربوطه با ۲/۵ سی سی از معرف فولین سیوکالتیو ۱۰ ٪ نرمال مخلوط گردید و به مدت ۲ ساعت در دمای محیط و در تاریکی نگهداری شد. سپس میزان جذب محلول‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۰ نانومتر در برابر بلانک قرائت گردید. برای تهیه محلول بلانک، عصاره‌های گیاهی حذف گردید. برای رسم منحنی استاندارد، محلول‌های اسید گالیک با غلظت‌های ۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۵۰ میلی گرم در لیتر (ppm) متانول تهیه شد. مقدار کل ترکیبات فنل از روی معادله خط بدست آمده از نمودار اسیدگالیک، بر مبنای اسیدگالیک به صورت میلی‌گرم در لیتر بیان گردید (مرتضایی و همکاران ۲۰۱۳).

اندازگیری میزان فلاونوئید در عصاره‌ها

مقدار ۰/۱ گرم از هریک از عصاره‌ها با متانول ۶۰ درصد به حجم ۱۰ میلی لیتر رسید. محلول حاصله از هر عصاره به ترتیب به میزان ۱۰۰۰، ۱۵۰۰، ۲۵۰۰، ۳۰۰۰ میکرولیتر به ۴ لوله آزمایش منتقل شد . به هر لوله ۱۰۰۰ میکرولیتر کلرید آلومنیوم ۲۰ درصد و ۶۰۰۰ میکرولیتر استات پتاسیم ۵ درصد اضافه شد. نمونه‌ها به مدت ۴۰ دقیقه در شرایط تکان مداوم قرار گرفتند. سپس جذب نوری نمونه‌ها توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت شد (سلمانیان و همکاران ۲۰۱۳). برای رسم نمودار استاندارد از کوئرسیتین استفاده شد

www.SID.ir

Archive of SID

اندازگیری میزان ترپنوئیدها

۰/۵ گرم از عصاره‌ها را به مدت ۲۴ ساعت با ۱۰ میلی لیتر اتانول مخلوط کرده و سپس ۱۰ میلی لیتر اتر به آن اضافه گردید تا کاملاً با هم مخلوط شوند سپس با قیف دکانتور فاز اتری را جدا کرده و جذب نوری آن در ۵۳۸ نانومتر قرائت گردید. برای تنظیم دستگاه اسپکتروفتومتر از محلول بلانک شامل اتانول و اتر استفاده شد (مانر و همکاران ۲۰۱۳). برای رسم نمودار استاندارد از لینالول استفاده شد

بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی

مقدار ۰/۱ گرم از هر یک از عصاره‌های به دست آمده با آب مقطر به حجم ۱۰ میلی لیتر رسید. از عصاره های به دست آمده به ترتیب ۸۰، ۱۰۰، ۱۲۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۳۰۰ میکرولیتر با آب مقطر به حجم ۱۰۰۰ میکرولیتر رسید. سپس به هر لوله ۳۰۰۰ میکرولیتر محلول DPPH اضافه شد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی و تکان مداوم قرار گرفتند سپس جذب در در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد (سونی و همکاران ۲۰۱۳). با توجه به جذب محلول‌های به دست آمده، درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط آنتی‌اکسیدان‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه می شود:

Free radical scavenging activity (%)= [(Acontrol –Atest) /Acontrol]

جداسازی و شناسایی ترکیبات اسانس شاه اسپرغم

با توجه به اینکه بیشترین اسانس گیاه زمانی استخراج می شود که گیاهان در آغار مرحله گلدهی باشند لذا استخراج اسانس از سر شاخه‌های گلدار(*Tanacetum balsamita*) بعد از خشک و پودر کردن به صورت تقطیر با آب انجام گرفت. این روش برای گیاهانی که در اثر جوشیدن در آب آسیب نمی‌بینند و ترکیبات آنها دستخوش تغییر یا تخریب نمی‌گردد مورد استفاده قرارمی گیرد. تقطیر در مقدار و ترکیب اسانس تاثیرگذار بوده و عمل تقطیر را تا زمانی که حجم اسانس بدست آمده ثابت بماند ادامه داده تا اسانس حاصله تغلیظ گردد. ۱۰۰ گرم از پودر گیاه را در بالن ریخته و به نسبت ۱ به ۵ آب اضافه کرده روی هیتر قرار داده شد. ۱۵ دقیقه اول دما بر روی ۱۵۰ درجه سانتی گراد و بعد از آن دما روی ۵۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. ۲ ساعت زمان لازم است تا اسانس در بالای عرق تشکیل گردد. اسانس‌گیری دو بار انجام شد تا اسانس به مقدار مورد نظر بدست آید (شهبازی و همکاران ۲۰۱۲). در این مرحله برای بررسی اجزاء عمده تشکیل دهنده اسانس شاه اسپرغم از دستگاه (GC/MS) شامل طیف نگار جرمی Aglient 5975 با منبع یونیزاسیون الکترونی(EI) کوپل شده با دستگاه کروماتوگرافی گازی Aglient 5975 که از ستون HP-5MS با طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میکرومتر و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد.

دمای محل تزریق (Inlet) دستگاه کروماتوگرافی گازی روی ۲۸۰ درجه سانتیگراد، دمای منبع یونیزاسیون طیف نگار جرمی روی ۱۵۰ درجه سانتیگراد، دمای آنالایزر (کوادرپل) روی ۲۳۰ درجه سانتیگراد و دمای واسط GC-MS روی ۲۸۰ درجه سانتیگراد تنظیم گردید.

گاز هلیوم با سرعت ثابت ۱/۲ میلی لیتر بر دقیقه وارد ستون شد و به منظور جداسازی برنامه ریزی دمای آون به صورت زیر انجام پذیرفت. دما در ۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه ثابت و سپس تا ۲۰۰ درجه سانتیگراد با سرعت ۸ درجه سانتیگراد بر دقیقه و نهایتاً تا ۲۹۰ درجه سانتیگراد با سرعت ۱۲ درجه سانتیگراد بر دقیقه افزایش یافته است و ۳ دقیقه در این دما ثابت نگه داشته شد. برای اندازگیری روغن فرار ضروری موجود در نمونه از سیستم Head space استفاده گردید که نمونه در دمای ۸۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه داده شد.

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره و اسانس در روغن آفتابگردان

با توجه به اینکه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی از سایر عصاره‌ها بالاتر بوده و تقریبا مشابه اسانس حاصل از بخشهای هوایی بود. لذا از آنها بعنوان آنتی‌اکسیدانهای طبیعی جهت جلوگیری از اکسیداسیون روغن آفتابگردان استفاده شد. عصاره متانولی با غلظتهایppm ۱۰۰۰، ۵۰۰ و ۲۵۰ همچنین اسانس با

www.SID.ir

Archive of SID

غلظتهای ppm ۸۰۰ ۶۰۰ و ۴۰۰ و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در دو غلظت ppm ۲۰۰ و ۱۰۰ به روغن آفتابگردان افزوده شد و ۱۰۰ گرم از روغن آفتابگردان تصفیه شده نیز بدون افزودن عصاره یا هرگونه ترکیب دیگری به عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد. غلظتهای مورد استفاده بر اساس مطالعات قبلی محققین مختلف بر روی اسانسها و عصاره‌ها صورت گرفته است. همه نمونه‌ها جهت آزمون عدد پراکسید به گرمخانه ۹۰ درجه سانتیگراد منتقل شدند، اندازه گیری عدد پراکسید به روش یدومتری (فایرستون ۱۹۹۴) مطابق استاندارد AOCSشماره Cd 8b-90 و تیوباربیتوریک اسید (سایدول و همکاران ۱۹۵۴) در فواصل زمانی ۲۴ ساعت طی ۵ روز در ۳ تکرار برای هر نمونه انجام شد. آزمایش اسید تیوباربیتوریک نشان دهنده واکنش ترکیبات ثانوی اکسیداسیون و مشخصاً مالون‌دی‌الدهید با این اسید می‌باشد. زمان مقاومت به اکسید شدنِ همه تیمارها قبل از گرمخانه گذاری، با دستگاه رنسیمت (مدل Metrohm 743، سوئیس) تعیین شد. شاخص پایداری اکسیداتیو به عنوان نقطه حداکثر تغییر سرعت اکسیداسیون تعریف شده و از نظر ریاضی به عنوان ماکسیمم مشتق دوم ضریب هدایت حرارتی در زمان می‌باشد. این اندیس در واحد زمان بیان شده و از حرارت دادن ۲/۵ گرم نمونه در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد و جریان هوای ۲۰-۱۸ لیتر بر ساعت تا زمانی که پیک هدایت ثبت شود، حاصل می‌گردد (آ او سی اس ۱۹۹۳).

روش آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و آنالیز واریانس به روش ANOVA، و رسم نمودارها با نرم افزار EXCEL صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش LSD انجام شد.

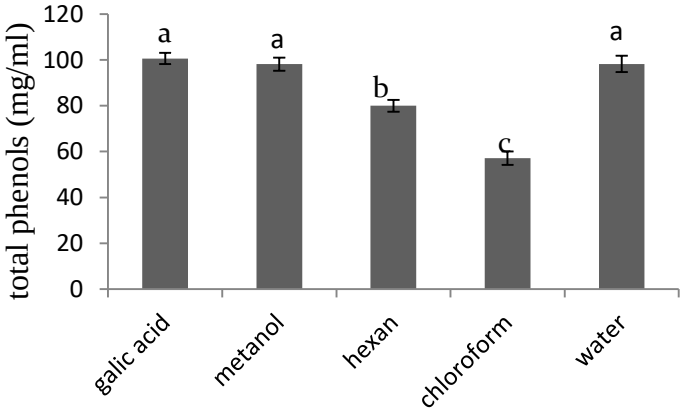
نتایج و بحث

سنجش فنل کل، فلاونوئیدها وترپنوئیدها در عصاره‌ها

مواد موثره گیاهان نظیر ترکیبات موجود در عصاره و اسانسها علاوه بر کاربردهای پزشکی، در صنایع غذایی نیز اهمیت خاصی دارند. ترکیبات ضد اکسیدان علاوه بر جلوگیری از فساد مواد غذایی، اثرات مفیدی نیز بر عملکرد بدن دارند (کابرا و همکاران ۲۰۱۴). بر اساس آنالیز واریانس، تفاوت میانگین میزان فنل کل موجود در عصاره‌های آبی، هگزانی، متانولی و کلروفرمی معنی‌دار است ($P< ۰/۰۵$). در شکل ۱ میزان فنل کل هریک از عصاره‌ها مشخص گردید. میزان فنل عصاره کلروفرمی از عصاره هگزانی کمتر بوده و میزان فنل عصاره هگزانی از عصاره متانولی و آبی کمتر بوده است. در حالی که میزان عصاره آبی و عصاره متانولی با اسید گالیک از لحاظ آماری در یک گروه قرار گرفته‌اند و میزان فنل تقریبا مشابهی دارند ($P< ۰/۰۵$). بر همین اساس ترکیبات فنل در این گیاه با حلال متانولی و آبی بهتر از هگزانی و کلروفرمی خارج شده‌اند. آب جهت استخراج پلی فنل‌هایی با وزن مولکولی کمتر مناسبتر است. گاهی ترکیبات فنلی با یکدیگر.ترکیب شده و ترکیبات درشتر ایجاد می کنند. این ترکیبات گروههای فنلی متعدد داشته و دارای وزن مولکولی بالایی نسبت به فنلهایی هستند که توسط آب استخراج می شوند. به همین دلیل آب نتوانسته این گروه از فنلها را استخراج نماید در حالی که متانول علاوه بر استخراج فنلهای سبکتر قادر به جداسازی فنلهای درشتر نیز است. (دای و مامپر ۲۰۱۰). شاید بتوان گفت دلیل استخراج بالای فنل توسط آب وجود تعداد زیادی از ترکیبات فنلی با وزن مولکولی کم در این گیاه است. استفاده از مخلوط آب و حلالهای آلی نسبت به حلال خالص ترکیبات بیشتری را وارد عصاره می کند (چاتا و همکاران ۲۰۰۶). که احتمالا ویژگی آنتی اکسیدانی بهتری نشان خواهد داد. با متانول ۸۰٪می توان ترکیبات آنتی اکسیدانی از گیاهان مختلف مانند سبوس برنج، سبوس گندم، جودوسر، غلات، دانه قهوه، پوست مرکبات استخراج کرد(انور و همکاران ۲۰۰۶). عصاره بدست آمده با حلال کلروفرم به دلیل داشتن کمترین میزان فنل، حلال مناسبی برای استخراج ترکیبات فنل نمی‌باشد

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱-مقایسه میزان فنل کل (میلی گرم بر میلی لیتر) در چهار عصاره با گالیک اسید

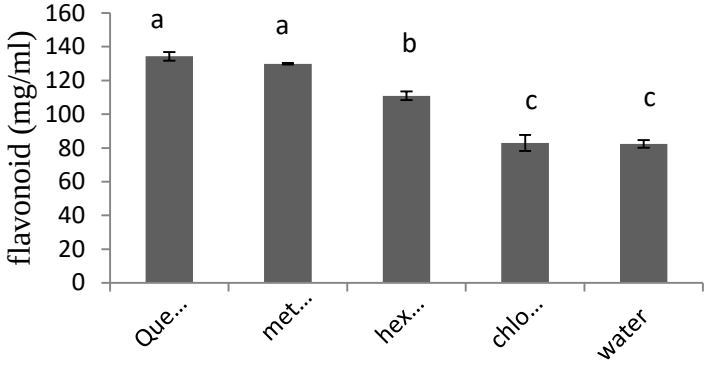
Figure 1-Comparison of total phenol (mg/ml) content of four extracts with gallic acid

The results are three repetitions ± standard deviations. The same letters indicate no significant difference

بر اساس آنالیز واریانس، تفاوت بین فلاونوئید موجود در عصاره‌های آبی، هگزانی، متانولی و کلروفرمی معنی‌دار است($P< ۰/۰۵$). شکل ۲ نشان داده است که میزان فلاونوئید موجود در عصاره متانولی مشابه کوئرسیتین (شاخصی جهت مقایسه میزان فلاونوئید عصاره ها انتخاب شده است زیرا از نمودار استاندارد کوئرسیتین برای تعیین میزان فلاونوئید استفاده شده است) است. همچنین میزان فلاونوئید در عصاره آبی مشابه عصاره کلروفرمی است. در حالی که میزان فلاونوئید در عصاره هگزانی، کلروفرمی و آبی نسبت به عصاره متانولی کمتر بود. کمترین میزان فلاونوئید مربوط به عصاره آبی است. به همین سبب ترکیبات فلاونوئیدی نیز توسط حلال متانولی بهتر از هگزانی، کلروفرمی و آبی استخراج شده‌اند. ساکسنا و همکاران (۲۰۱۳)، در تحقیقی خاصیت آنتی‌اکسیداتیو عصاره‌ها را به وجود فلاونوئیدها نسبت دادند. با توجه به نتایج بدست آمده در این پژوهش حلال متانولی بیشتر از حلال هگزانی و کلروفرمی توانسته فلاونوئیدها را از بخش‌های هوایی گیاه شاه اسپرغم استخراج کند. هگزان و متانول دو حلال قطبی و کلروفرم یک حلال غیرقطبی است. پس فلاونوئیدهای موجود در گیاه شاه اسپرغم در حلال‌های قطبی بیشتر از حلال‌های غیرقطبی حل می‌شوند. با توجه به اینکه مقدار فلاونوئیدها در عصاره آبی نیز کمتر از متانولی است به نظر می‌رسد حلالهای آلی قطبی گزینه بهتری برای جداسازی ترکیبات فلاونوئیدی باشند. فلاونوئیدها ترکیباتی آمفی پاتیک هستند. از یک سو به واسطه حلقه های فنلی و زنجیرهای غیر قطبی جانبی در حلاهای آلی غیر قطبی و از سوی دیگر به دلیل دارا بودن گروههای هیدروکسیل در حلالهای قطبی حل می‌شوند. در این مطالعه ترکیبات فنلی برخلاف فلاونوئیدها توسط متانول و آب به میزان تقریبا یکسانی استخراج شده‌اند. استفاده از الکل به عنوان حلال یک محیط قطبی ایجاد می کند که در آن برخی از ترکیبهای فنلی با درجه قطبیت پایین به میزان کمتری استخراج می‌شوند. افزودن آب به الکل با تشکیل یک محیط نسبتاً قطبی همراه بوده، بنابراین از استخراج مقادیر و انواع بیشتری از ترکیبهای فنلی در این شرایط اطمینان حاصل می‌گردد. به همین دلیل حلال متانول همراه با آب مناسبترین حلال جهت استخراج ترکیبات فنلی در این گیاه بود. عصاره آبی علاوه بر استخراج مقادیری از ترکیبات فنلی حاوی مقادیر زیادی از ناخالصیها نظیر اسیدهای آلی، پروتئینها و قندهای محلول می‌باشد که می‌توانند در تشخیص و تعیین مقدار ترکیبهای فنلی و نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها تداخل ایجاد نمایند (چیرینوز و همکاران ۲۰۰۷).

www.SID.ir

Archive of SID

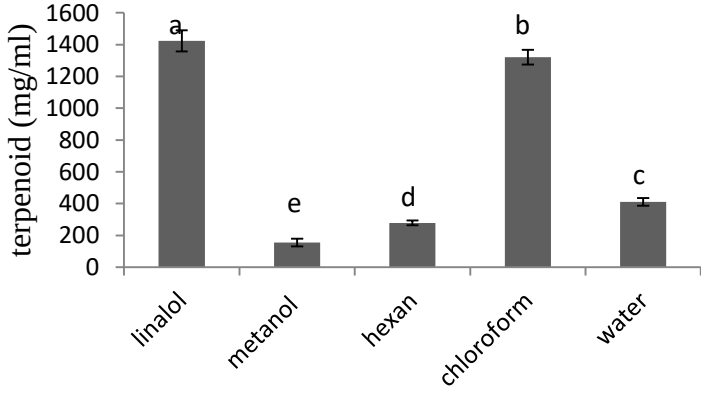


شکل ۲- مقایسه میزان فلاونوئیدها (میلی گرم بر میلی لیتر) در چهار عصاره با کوئرسیتین

Figure 2-Comparison of flavonoid content (mg/ml) of four extracts with quercetin

The results are three repetitions ± standard deviations. The same letters indicate no significant difference

بر اساس آنالیز واریانس، تفاوت میانگین میزان ترپنوئیدهای موجود در عصاره‌های آبی، هگزانی، متانولی و کلروفرمی معنی‌دار است ($P< ۰/۰۵$). در شکل ۳ مقایسه میانگین مقادیر ترپنوئید نشان داد که عصاره کلروفرمی بیشترین میزان ترپنوئید را دارا می‌باشد. لذا حلال مناسبی جهت استخراج ترپنوئیدها بشمار می رود. عصاره‌های آبی، هگزانی و متانولی به ترتیب مقادیر کمتری ترپنوئید داشتند. می توان گفت که متانول حلال مناسبی جهت استخراج ترپنوئید ها بشمار نمی‌رود. برخلاف دو نوع ترکیب فلاونوئیدی و فنلی، ترپنوئیدها ترکیباتی کاملا غیر قطبی هستند وهمانگونه که در مطالعه حاضر به اثبات رسیده این ترکیبات بیشترین قابلیت حلالیت را در حلالهای غیر قطبی دارند. در این تحقیق میزان ترپنوئید در گیاه شاه اسپرغم در حلال کلروفرمی به طور معناداری بیشتر از حلال متانولی است.



شکل ۳ – میزان ترپنوئید ها (میلی گرم بر میلی لیتر) در چهار عصاره شاه اسپرغم

Figure 3-Comparison of terpenoid content (mg/ml) of four extracts with linalool

The results are three repetitions ± standard deviations. The same letters indicate no significant difference

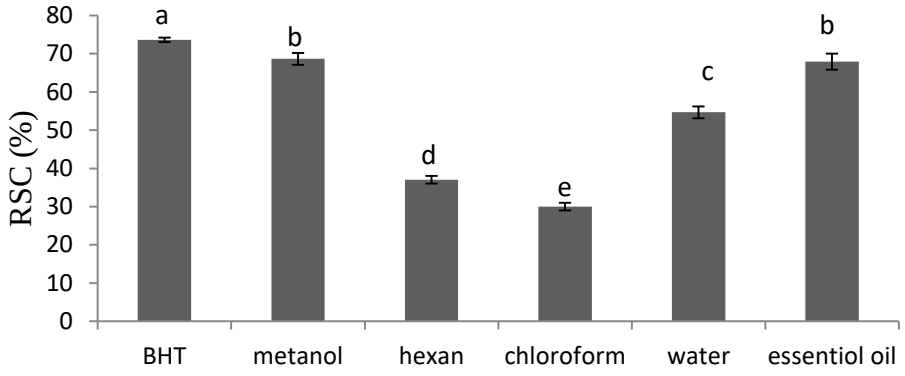
مهار رادیکال های آزاد توسط اسانس و عصاره‌ها و مقایسه IC50 با BHT

شکل ۴ مقایسه میانگین درصد مهارکنندگی عصاره‌ها را نشان داده است. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی نسبت به سایر عصاره‌ها بیشتر است و در مقایسه با BHT مقدار کمتری دارد. برای مقایسه فعالیت ضد رادیکالی عصاره های مختلف از فاکتوری به نامIC_{50} استفاده شد . طبق تعریف IC_{50} غلظتی از عصاره است که ٪ ۵۰ از رادیکال های آزادDPPH موجود در محیط واکنش را مهار می کند. هر چقدر این مقدار کمتر باشد،

www.SID.ir

Archive of SID

فعالیت ضد رادیکالی عصاره بیشتر است. در صد مهار کنندگی همه عصاره‌ها و اسانس در یک غلظت یکسان بررسی شده است تا با یکدیگر قابل مقایسه باشند. IC_{50} و درصد مهار کنندگی با هم ارتباط دارند بطوری که ۵۰ درصد مهار رادیکالهای آزاد نشان دهندهIC_{50} است. ترکیبات موجود در عصاره متانولی اثر مهارکنندگی بیشتری نسبت به سایر عصاره‌ها دارد. با توجه به نمودارهای فنلی، فلاونوئیدی و ترپنوئید، عصاره متانولی بیشتر دارای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی است. اثر مهارکنندگی عصاره آبی ضعیف تر از عصاره متانولی است. از نمودارهای قبلی چنین بر می‌آید که خاصیت مهارکنندگی این عصاره بیشتر مربوط به ترکیبات فنلی غیر فلاونوئیدی است. عصاره هگزانی و کلروفرم در رتبه های بعدی قرار می‌گیرند. با توجه به اینکه عصاره کلروفرمی کمترین درصد مهارکنندگی را دارد و از طرفی عمده ترین ترکیبات استخراجی این حلال ترپنوئیدها هستند، می توان بیان کرد که ترپنوئیدهای استخراج شده با کلروفرم نقش چندانی در خاصیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه ندارد. درصد مهار رایکالهای آزاد توسط اسانس مشابه عصاره متانولی بود و تفاوت آماری با عصاره متانولی نشان نداد.



شکل ۴- مقایسه اثر مهارکنندگی رادیکال های آزاد (٪) هر عصاره در مقایسه با BHT

Figure 4-Free radical scavenging effect (%) of extracts compared with BHT

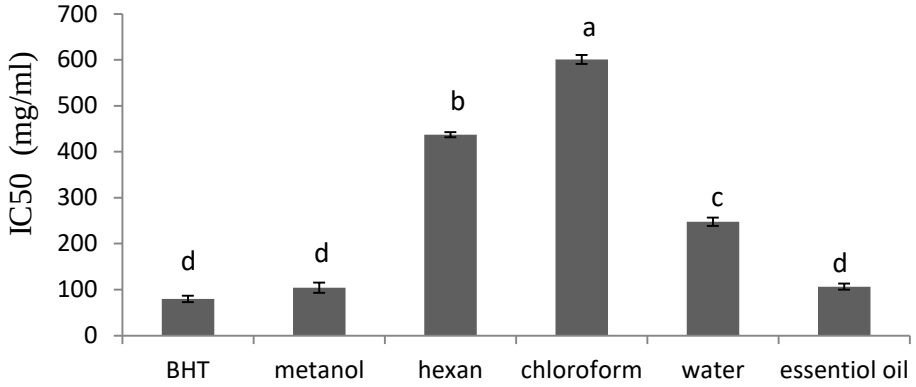
The same letters indicate no significant difference

شکل ۵ قدرت عصاره‌ها جهت مهار رادیکالها با استفاده از IC_{50} (غلظتی از آنتی‌اکسیدان است که باعث جذب ۵۰ درصد از رادیکال‌های آزاد موجود در محیط می‌شود) مورد مقایسه و بررسی قرار گرفت. در این شکل مشخص شد که عصاره متانولی شاه اسپرغم به صورت مشخص دارای قدرت مهار رادیکال بیشتری نسبت به هگزانی، کلروفرمی، آبی می‌باشد ($P< ۰/۰۵$). باید توجه داشت که هرچه IC_{50} بیشتر باشد، توان آنتی اکسیدان کمتر است. در نتیجه با توجه به شکل، عصاره متانولی در مهار رادیکالهای آزاد توان بالاتری دارد. عصاره آبی نیز دارای قدرت مهار خوبی است. عصاره هگزانی و کلروفرمی در مهار رادیکالهای آزاد توان بسیار کمی دارند. در رابطه با اسانس نیز IC_{50} مشابه عصاره متانولی است. خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی از سایر عصاره ها بیشتر است و این نشان دهنده این است که ترکیبات آنتی اکسیدان بیشتری توسط متانول از گیاه استخراج می شود. در مطالعات جمشیدی و همکاران (۲۰۱۰)، میزان فلاونوئیدهای تام، فنل تام و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی هفت گونه از گیاهان بومی مازندران که شاه اسپرغم نیز در بین آنها بود، بررسی شد. نتایج حاصل از این مطالعه به خوبی نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاهان با میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها رابطه مستقیم دارد. مشابه نتایج این پژوهش، عصاره متانولی میزان فنل و فلاونوئید بیشتری در مقایسه با عصاره آبی، هگزانی و کلروفرمی داشت. در نتیجه خاصیت آنتی اکسیدانی بالاتر و IC_{50} کمتری را نیز دارا بود. در پژوهش حاضر حضور فنلها در گیاه شاه اسپرغم مشابه آنچه در

www.SID.ir

Archive of SID

تحقیقات بر روی این گیاه در سایر مناطق دیده‌شده‌بود، اثبات شد. فنلهای موجود در عصاره متانولی به عنوان اصلی‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در این گیاه هستند. به نظر می‌رسد اگر بخش های هوایی گیاه شاه اسپرغم توسط متانول و آبی استخراج شود نتیجه بهتری خواهد داشت. پژوهشهای قبل نیز ثابت کرده که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاهان بطور عمده به غلظت ترکیبات فنولیک آنها وابسته است (آلزاندرو و همکاران ۲۰۱۱).



شکل ۵- مقایسه IC50 عصاره ها (میلی گرم بر میلی لیتر) با BHT

Figure 5- Comparison of IC50 Extract (mg/ml) with BHT

The same letters indicate no significant difference

ترکیبات موجود در اسانس گیاه

۹۴ ترکیب از اسانس سرشاخه های گلدار گیاه شاه اسپرغم جداسازی و شناسایی شد که از مهمترین آنها می‌توان به سینول، بتا توجون، سیکلوپنتانول، سیکلوهگزن، بتا یزابولین اشاره نمود. نتایج مربوط به درصد مهارکنندگی و IC50 نشان دهنده خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالای اسانس می‌باشد. به احتمال زیاد این ویژگی مربوط به ترکیبات عمده موجود در اسانس است. حسن پور اقدم و همکاران (۲۰۰۸)، طی تحقیقاتی که در تبریز روی گیاه شاه اسپرغم داشتند، ترکیبات زیادی از روغن فرار بدست آوردند، که مهمترین آنها کاروون ۴۲/۵۳ ٪، α توجون ۲۱/۳ ٪، β بیزابولین ۱۰/۵۶ ٪، ترانس –P– ۸، ۲ –داینول ۰/۳ ٪، β– سابینن ۲/۲۱ ٪ بود. در این تحقیق، گیاه شاه اسپرغم، با اینکه از نظر اقلیمی با گیاهان منطقه اصفهان تفاوت داشتند ولی ترکیبات مشابه در اسانس آنها دیده شده است. تأثیر اژنول در کاهش میزان استرس می تواند تقویت کننده این فرضیه باشد که گیاه شاه اسپرغم به دلیل داشتن اژنول از طریق کاهش دادن مشکلات عصبی روانی افراد می‌تواند به این افراد کمک نماید. سایر ترکیبات و درصد آنها در اسانس مورد مطالعه، در مقایسه با سایر بررسیهای انجام گرفته متفاوت است که می تواند به شرایطی نظیر نوع کشت، شرایط خاک، آب و هوا، زمان برداشت، مدت زمان نگهداری، اسانس‌گیری از اندامهای مختلف و در نهایت تفاوت ژنتیکی گیاه وابسته باشد.

جدول ۱- مهمترین ترکیبات اسانس سرشاخه های گیاه شاه اسپرغم

Table 1-The most important essential oil compounds of *Tanacetum balsamita*

Compound name	Total percentage (%)	Retention time (min)
1,8-cineol	3.02	10.789
Beta-thujone	20.42	13.026
Cyclopentanol	1.31	16.562
Cyclohexane	15.00	17.049
Beta bisabolin	1.55	23.886

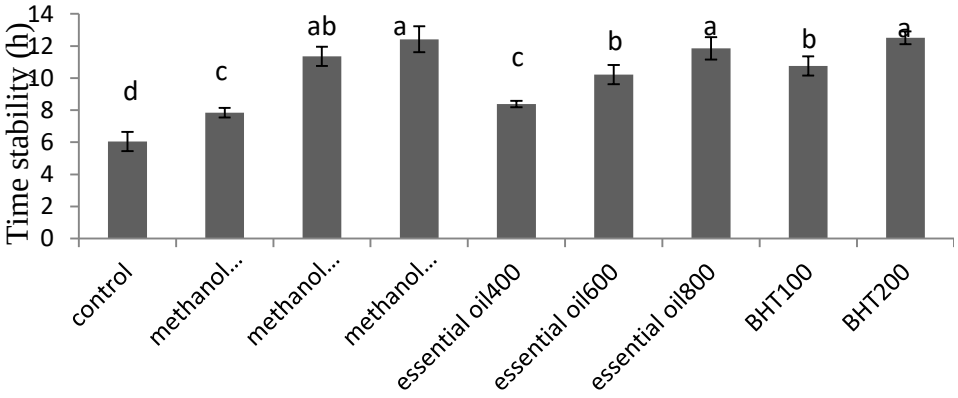
مقایسه شاخص پایداری اکسیداتیو

زمان مقاومت به اکسیداسیون نمونه‌های مورد بررسی در شکل ۶ نشان داده شده است. بیشترین زمان مقاومت به اکسیداسیون مربوط به نمونه‌هایی است که در آنها عصاره متانولی با غلظت ۱۰۰۰ و اسانس با

www.SID.ir

Archive of SID

غلظت ۸۰۰ میلی گرم در لیتر بکار رفته است. مقاومت در این نمونه‌ها از نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشتر بود. زمان مقاومت به اکسید شدن در نمونه‌های ذکر شده با نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر از نظر آماری تفاوتی نشان نداد. در همه موارد زمان مقاومت به اکسید شدن از نمونه‌های شاهد بیشتر بود. تاثیر عصاره برگ زیتون بر پایداری اکسیداتیو روغن کلزا توسط جعفریان و همکاران (۱۳۹۳) نشان داد که عصاره متانولی باعث پایداری روغن می‌گردد که به دلیل وجود ترکیبات فنلی در این عصاره است. نتیجه مشابهی توسط الماسی در سال ۱۳۹۵ در مورد عصاره اتانولی گزنه بر روغن سویا مشاهده شد.



شکل ۶- شاخص پایداری اکسیداتیو روغن آفتابگردان حاوی غلظتهای مختلف عصاره متانولی، اسانس و آنتی اکسیدان سنتزی در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد بر اساس آزمون رنسیمت

Figure 6- Oxidation stability index of sunflower oil containing different concentrations of methanol extract, essential oils and synthesized antioxidants at 110 °C based on Rancimat test

The same letters indicate no significant difference

مقایسه عدد پراکسید

پراکسیدها محصول اولیه اکسایش چربی‌ها هستند و می‌توانند با استفاده از اندیس پراکسید تخمین زده شوند. مقادیر بالای عدد پراکسید نشان دهنده پایداری اکسیداتیو کمتر در نمونه‌های روغن می‌باشد (مالهیرو و همکاران ۲۰۱۳). تغییرات عدد پراکسید در روغن آفتابگردان در همه نمونه‌های حاوی اسانس، عصاره متانولی وBHT در جدول ۲ دیده می‌شود. بر اساس این جدول ۲۴ ساعت بعد از گرمخانه‌گذاری عدد پراکسید در نمونه‌های حاوی ۱۰۰۰ میلی گرم درلیتر عصاره و ۸۰۰ میلی گرم در لیتر اسانس مشابه ۲۰۰ میلی گرم در لیتر BHT بود. در طی ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت عدد پراکسید در نمونه‌های حاوی ۱۰۰۰ میلی گرم درلیتر عصاره و ۲۰۰ میلی گرم در لیترBHT با روند یکسانی افزایش داشت. نمونه حاوی ۸۰۰ میلی گرم در لیتر اسانس نیز روندی مشابه تغییرات نمونه ۱۰۰ میلی گرم در لیترBHT داشت. در همه موارد عدد پراکسید از نمونه شاهد کمتر بود. بیشترین میزان عدد پراکسید مربوط به نمونه شاهد پس از ۱۲۰ ساعت گرمخانه‌گذاری بود. افزایش غلظت عصاره و اسانس استفاده شده بر میزان عدد پراکسید تاثیر داشت بطوری که با افزایش غلظت در طی زمانهای آزمایش عدد پراکسید کاهش داشت. در همه موارد عدد پراکسید افزایش داشته است. کمترین میزان مربوط به تیمار روغن همراه با ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره متانولی بود که از نظر آماری با روغن حاوی آنتی اکسیدان سنتزی با غلظت ۲۰۰ میلی گرم در لیتر و روغن حاوی اسانس با غلظت ۸۰۰ میلی گرم در لیتر تفاوت آماری نداشت. با افزایش غلظت عصاره و اسانس سرعت اکسایش کاهش یافته است. تهامی و همکاران (۱۳۹۱) تاثیر فعالیت ضداکسایشی عصاره دانه رازیانه را روی روغن آفتابگردان بررسی کردند و بیان کردند که

www.SID.ir

Archive of SID

عصاره دانه رازیانه به دلیل داشتن ترکیبات فنلی دارای فعالیت ضداکسایشی بالاتری نسبت به ضداکساینده های سنتزی رایج BHA و BHTدر روغن آفتابگردان می‌باشد. سلمانیان و همکاران (۱۳۹۲) با تاثیر عصاره استنی میوه ولیک بر روغن سویا نتیجه گرفتند که غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام نسبت به BHT به طور موثری از تشکیل پراکسیدها جلوگیری کرد.

جدول ۲- مقایسه عدد پراکسید روغن آفتابگردان حاوی غلظتهای مختلف عصاره متانولی، اسانس و روغنهای حاوی آنتی اکسیدان سنتزی در دو غلظت با نمونه شاهد طی ۵ روز گرمخانه گذاری در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد

Table 2- Comparison of sunflower oil peroxide value containing different concentrations of methanolic extract and essential oil with oils containing synthetic antioxidant in two concentrations with control sample during 5 days incubation at 90 ˚C

	Time of incubation (h)				
Samples	24	48	72	96	120
control	11.65±0.5^{f}	21.35±0.89^{d}	31.65±0.6^{cd}	42.82±0.78^{bc}	54.28±0.25^{a}
oil +250 ppm methanol extract	9.23±0.27^{fg}	19.25±0.19^{de}	26.02±0.13^{d}	34.03±0.56^{c}	51.04±0.2^{a}
oil+500 ppm methanol extract	8.48±0.3^{g}	16.48±0.15^{e}	24.5±0.41^{d}	32.21±0.71^{c}	47.31±1.5^{b}
oil+1000 ppm methanol extract	4.1±0.16^{h}	7.42±0.21^{g}	14.41±0.81^{ef}	15.26±0.31^{d}	37.05±0.12^{c}
oil+ 400 ppm essential oil	11.42±0.48^{f}	14.71±06^{ef}	22.56±0.25^{d}	32.48±0.21^{c}	42.34±0.4^{bc}
oil+ 600 ppm essential oil	9.2±0.17^{fg}	12.3±0.3^{f}	24.8±0.31^{d}	35.3±1.3^{c}	42.1±0.2^{bc}
oil+ 800 ppm essential oil	4.21±0.2^{h}	11.71±0.45^{f}	23.03±0.18^{d}	32.02±0.31^{c}	39.75±1.62^{c}
oil+ 100 ppm BHT	6.28±0.19^{g}	10.32±0.16^{f}	22.1±0.43^{d}	30.5±0.31^{cd}	45.5±0.2^{b}
oil+ 200 ppm BHT	3.8±0.17^{h}	6.8±0.9^{g}	14.3±0.1^{ef}	25.1±0.17^{d}	36.07±0.22^{c}

The same letters indicate no significant difference

مقایسه میزان تیو باربیتوریک اسید

عدد پراکسید به تنهایی مشخص کننده اکسیداسیون روغن نمی‌باشد زیرا این عدد شاخصی از وجود محصولات اولیه اکسیداسیون است و تولید محصولات ثانویه اکسیداسیون را مشخص نمی‌کند. لذا وجود آزمونی نظیر تعیین عدد تیوباربیتوریک اسید که شاخصی از میزان توسعه اکسیداسیون و تولید محصولات ثانویه این واکنش می‌باشد، ضروری به نظر می‌رسد. با توجه به اینکه عصاره حاوی میزان بالایی مواد قندی بوده و اکثر ترکیب‌های فنلی گیاه به فرم گلیکوزیدی است که می‌توانند در اثر دما به آگلیکون و قند مربوطه تجزیه شوند لذا در دمای بالا عامل آلدهید موجود در قند، می‌تواند با ترکیب‌های آمین دار واکنش دهند. نتیجه واکنش تولید ترکیب‌های کربونیل‌دار است که با معرف آنیزیدین واکنش داده و باعث افزایش غیرعادی شدت جذب می گردند به همین دلیل از عدد آنیزیدین استفاده نشده است. با بررسی و کنترل تغییرات پراکسید و تیوباربیتوریک اسید می توان اینگونه استنباط کرد که سرعت اکسیداسیون در نمونه کنترل بالاترین مقدار را دارد، بنابراین تمامی نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان در برابر اکسیداسیون پایدارتر از نمونه کنترل می‌باشند. نتایج نشان داد که تغییرات عدد تیوباربیتوریک در نمونه‌های حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم درلیتر عصاره و ۸۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسانس مشابه ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر BHT بود. این نتیجه در مقایسه عدد پراکسید نیز دیده شده بود. تمام آنتی‌اکسیدانهای طبیعی بکار رفته تولید تیوباربیتوریک کمتری نسبت شاهد داشتند. بنابراین عصاره متانولی و اسانس گیاه شاه اسپرغم در غلظتهای بکار رفته باعث پایداری روغن آفتابگردان شده است که قابل مقایسه با آنتی

www.SID.ir

Archive of SID

اکسیدان سنتزی بکار رفته است (جدول ۳). رئیسی و همکاران (۱۳۹۵) بیان کردند که سنجش اسید تیوباربیتوریک معیار مناسبی برای بررسی عمر ماندگاری روغن موجود در محصولات گیاهی است. هرقدر که درجه غیراشباع روغنها بیشتر باشد، روغن آمادگی بیشتری برای اکسیداسیون دارد. وقتی که میزان پراکسید به حد معینی برسد تغییرات مختلفی صورت گرفته و مواد فرار آلدهیدی و کتونی ایجاد می شوند که درایجاد بو و طعم نامطبوع مواد چرب مؤثر می‌باشند و باعث بالارفتن اندیس تیوباربیتوریک می‌گردد. بنابراین در روزهای پایانی، از تجزیه پراکسیدها، مالون‌دی‌آلدهیدها تولید می‌شود که بیانگر مراحل ثانویه اکسیداسیون می‌باشد. آلدهیدهای فرار عامل اصلی بدطعمی روغن هستند. از آنجا که مالون‌دی‌آلدهید از تجزیه هیدروپراکسیدها حاصل می‌گردد، بنابراین در روزهای ابتدایی مقدار تیوباربیتوریک‌اسید پایین است، اما بعد از گذشت زمان مقدار محصولات اولیه اکسیداسیون افزایش یافته و شروع به تجزیه شدن کردند که مقدار این اندیس نیز افزایش یافت.

جدول ۳- مقایسه عدد تیوباربیتوریک اسید روغن آفتابگردان حاوی غلظتهای مختلف عصاره متانولی، اسانس و روغنهای حاوی آنتی اکسیدان سنتزی در دو غلظت با نمونه شاهد طی ۵ روز گرمخانه گذاری در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد

Table 2- Comparison of sunflower oil thiobarbituric number containing different concentrations of methanolic extract and essential oil with oils containing synthetic antioxidant in two concentrations with control sample during 5 days incubation at 90 ˚C

	Time of incubation				
sample	24 hours	48 hours	72 hours	96 hours	120 hours
control	0.18±0.01^{de}	0.24±0.01^{d}	0.32±0.01^{cd}	0.41±0.03^{b}	0.85±0.06^{a}
250 ppm +oil methanol extract	0.13±0.01^{e}	0.16±0.01^{e}	0.22±0.02^{d}	0.34±0.04^{c}	0.4±0.07^{b}
500 ppm +oil methanol extract	0.08±0.00^{f}	0.1±0.01e^{f}	0.18±0.01^{de}	0.2±0.01^{f}	0.29±0.02^{cd}
1000 ppm +oil methanol extract	0.03±0.00^{h}	0.05±0.01^{g}	0.08±0.01^{f}	0.14±0.01^{e}	0.18±0.1^{e}
400 ppm +oil essential oil	0.14±001^{e}	0.18±0.02^{de}	0.2±0.02^{de}	0.31±0.02^{cd}	0.41±0.05^{b}
600 ppm +oil essential oil	0.1±0.01^{ef}	0.14±0.01^{e}	0.19±0.01^{d}	0.25±0.02^{d}	0.31±0.4^{cd}
800 ppm +oil essential oil	0.05±0.00^{h}	0.09±0.01^{f}	0.11±0.01^{ef}	0.18±0.01^{de}	0.2±0.03^{de}
100 ppm +oil BHT	0.07±0.00f	0.13±0.01e	0.18±0.01de	0.23±0.02d	0.33±0.03c
200 ppm +oil BHT	0.03±0.00h	0.08±0.00f	0.11±0.01ef	0.15±0.01e	0.18±0.02de

The same letters indicate no significant difference

نتایج به دست آمده با یافته های بوتا و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت دارد. آنها با بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی بادرنجبویه در سه سطحppm ۱۰۰۰، ۶۰۰ و ۲۰۰ در روغن آفتابگردان در طی فرایندهای حرارتی ماده غذایی دریافتند که اکسیداسیون روغن آفتابگردان با استفاده از عصاره بادرنجبویه طبیعی بهبود می‌یابد. بنابراین می‌توان نتیجه گیری 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.

در طول مدت مطالعه، با افزایش غلظت عصاره و اسانس عدد پراکسید افزایش کمتری داشت. به عبارتی تأخیر در اکسیداسیون و اثر آنتی‌اکسیدانی آنها افزایش یافت. بنابراین انتخاب عصاره مورد استفاده در پایداری

www.SID.ir

Archive of SID

روغن بر اساس میزان ترکیبات فنلی موجود صورت گرفت. با افزایش غلظت عصاره، ترکیبهای فنلی بیشتری وجود خواهد داشت در نتیجه به دلیل افزایش تعداد گروههای هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکالهای آزاد و بدنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد. قدرت مهارکنندگی عصاره های مختلف به میزان زیادی به تعداد و موقعیت گروههای هیدروکسیل و وزن مولکولی ترکیبهای فنلی بستگی دارد. در ترکیبهای فنلی با وزن مولکولی پایینتر گروههای هیدروکسیل راحتتر در دسترس قرار می‌گیرند. بنابراین با افزایش غلظت عصاره مورد استفاده اکسیداسیون کمتر صورت گرفته و عدد پراکسید افزایش کمتری دارد. هیدروپراکسیدها در دماهای بالا شروع به تجزیه شدن نموده و رادیکالهای آزاد بیشتری تولید می‌کنند و به واکنشهای زنجیری ادامه می‌دهند. اما در برخی موارد نیز محصولات غیررادیکالی پایدار نظیر آلدئید، کتون، الکل و اسید از تجزیه این ترکیبها حاصل می‌گردد. آنتی اکسیدانها در این مرحله از یک طرف با اهدای الکترون به رادیکالهای آزاد باعث شکسته شدن واکنشهای زنجیری اکسیداسیون می‌شوند و از طرف دیگر از طریق واکنش با رادیکالهای آلوکسیل از تجزیه پراکسیدها به محصولات پایدار و مضر جلوگیری می‌نمایند. آنتی‌اکسیدان‌ها منجر به افزایش انرژی فعالسازی چربی شده و در نتیجه نرخ واکنشهای اکسایش را کاهش می‌دهند (فرانکل ۱۹۹۶). آنتی‌اکسیدانها طی مدت زمان خاصی فعال باقی مانده و با گذشت زمان به تدریج از درجه تاثیر آنها کاسته می‌شود. به همین خاطر با افزایش زمان نگهداری نمونه‌های روغن در شرایط اکسیداسیون، میزان عدد پراکسید افزایش یافت. این شاخص با افزایش غلظت عصاره‌ها کاهش یافت، زیرا با افزایش غلظت مقدار ترکیبات فنلی افزایش یافته که منجر به گروههای فعال برای مهار رادیکال آزاد می‌گردد (مزا و همکاران ۲۰۱۷). اسانس پونه کوهی در غلظت ppm ۱۰۰۰ بهتر از آنتی‌اکسیدان سنتزی در غلظت ppm ۲۰۰ عمل کرد که به دلیل ترکیبات موثر در اسانس آن بود (عطای صالحی و سلیمانپور تمام ۱۳۹۸). روبرتو و باراتا (۲۰۰۰) گزارش کردند که ۱،۸ –سینئول، توژون و وربنون در جلوگیری از اکسیداسیون لیپید نسبت به سایر ترکیبات اسانس عملکرد موثرتری دارند. بنابراین، توانایی توقف مراحل ابتدایی و پیشرفت واکنشهای زنجیرهای اکسیداسیون توسط اسانس رزماری عمدتا به دلیل وجود این ترکیبات می‌باشد. با توجه به اینکه این دو ترکیب از ترکیبات عمده اسانس شاه اسپرغم نیز می باشند، احتمالا تاثیر اسانس این گیاه بر پایداری روغن آفتابگردان به دلیل وجود این ترکیبات است. اسانس اسطوخودوس (طاهانژاد و همکاران ۲۰۱۲) در غلظتهای ppm ۲۰۰–۸۰۰، اسانس شوید (آیوقی و همکاران ۲۰۰۹) در غلظت ppm ۷۰۰، اسانس آویشن (شهسواری و همکاران ۲۰۰۸) در غلظت ۰/۱ درصد و عصاره پوست انار و بذر چای (صمدلویی و همکاران ۲۰۰۷) در روغن خام سویا و روغن ماهی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی معادل با آنتی اکسیدان سنتزی BHTبودند که به علت وجود ترکیبات فنلی موجود در این اسانسها می‌باشد. مشاهدات تحقیق حاضر نیز اثرات عصاره و اسانس شاه اسپرغم را اثبات کرده است.

نتیجه گیری

در نهایت در این تحقیق مشخص شد که عصاره متانولی و اسانس شاه اسپرغم جمع آوری شده از غرب اصفهان دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بسیار بالا است و می‌تواند جایگزین طبیعی و مناسب برای BHT در صنایع غذایی باشد. افزودن اسانس در سطح غلظتی ppm۸۰۰ و عصاره متانولی در ppm ۱۰۰۰ ،تفاوت معنی دار با نمونه دارای آنتی اکسیدان سنتزی نداشت بنابراین می توانند به خوبی از اکسیداسیون در روغن آفتابگردان جلوگیری کنند.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع مورد استفاده

Aghae M, Alizadeh M, Saadatian Riahi S and Jangjou K, 2013. Effects of growing stages and drying methods on quality of shahsparam (*Tanacetum balsamita*). International Journal of Agriculture and Crop Sciences 2: 168-172.

Alezandro MR, Lui MCY, Lajolo FM and Genovese MI, 2011. Commercial spices and industrial ingredients: evaluation of antioxidant capacity and flavonoids content for functional foods development. Ciência e Tecnologia de Alimentos 31: 527–533.

Almasi H, 2015. Comparison of direct addition and using of antioxidant active film containing nettle leaves extract in oxidative stability of soybean oil. Journal of Food Research 26(3): 411-427.

Anwar F, Jamil A, Iqbal S, and Sheikh MA, 2006. Antioxidant activity of various plant extracts under ambient and accelerated storage of sunflower oil. Grasas Aceites Sevilla 57: 189-197.

AOCS, 1993. Official methods and recommended practices of the American oil chemists society, Oil stability index (Cd 12–92). Champaign (IL): AOCS Press.

Ataye Salehi A and Soleimanpoor Tamam N, 2017. Evaluation of antioxidant effect of oregano (Origanum Vulgare) essence on oxidative stability of frying oil. Journal of Food Research 29(3): 1-10.

Ayoughi F, Barzegar M, Sahari M and Naghdi Badi H, 2009. Antioxidant effect of Dill (*Anethum graveolens* Boiss.) oil in crude soybean oil and comparison with chemical antioxidants. Journal of Medical Plants 2(30): 71-83.

Buta N, Popa N, Roman L, Bordea G, Bordea A, Bordea N, Poiană MA and Trașcă TI, 2013. The antioxidant effect of *Melissa officinalis* extract regarding the sunflower oil used in food thermal aplications. Journal of Agroalimentary Processes and Technologies 19(2): 276-279.

Chatha SAS, Anwar F, Manzoor M and Bajwa JR, 2006. Evaluation of the antioxidant activity of rice bran extracts using different antioxidant assays. Grasas Aceites Sevilla 57: 328–335.

Chirinos R, Rogez H, Campos D, Pedreschi R and Larondelle Y, 2007. Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz and Pavon) tubers. Separation and Purification Technology 55(2): 217-225.

Dai J, and Mumper RJ, 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules 15: 7313-7322.

Derakhshani Z, Hassani A, Pirzad A, Abdollahi, R and Dalkani M, 2012. Evaluation of phenolic content and antioxidant capacity in some medicinal herbs cultivated in Iran. Botanica Serbica, 36(2): 117-122.

Firestone D, 1994. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemist's Society, 4th Ed, Champaign, IL: AOCS Press.

Frankel EN, 1996. Antioxidant in lipid food and their impact on food quality. Food Chemistry 57: 51-55.

Gunstone DF, 2011. Vegetable oils in food technology: Composition, properties and uses. 2nd edition pp. 125-136. John Wiley and Sons, Chichester.

Hassan pouraghdam MB, Tabatabaie SJ, Nazemiyeh H and Aflatuni A, 2008. Effects of different cincenteration of nutrient solution on vegetative growth and essential oil of costmary (*Tanacetum balsamita*). Journal of Agricultural Science (University of Tabriz) 18(1):27-38.

Hinneburg I, Damien Dorman HJ, and Hiltunen R, 2006. Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. Food Chemistry, 97: 122–129.

Jafarian P, Asefi N and Teimori R, 2013. Phenolic compounds content in leaf of different varieties of olive and its effect on stability of rapeseed oil. Journal of Food Research 24(3): 307-314.

Jamshidi M, Ahmadi-Ashtiani H, Rezazadeh S, Fathizad F, Mazandarani M and Khaki A, 2010. Study on phenolics and antioxidant activity of some selected plant of mazandaran province. Journal of Medical Plants 2(34): 177-182.

Kabera j, Semana E, Mussa A and He X, 2014. Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. Journal of Pharmacy and Pharmacology (2): 377-392.

www.SID.ir

Archive of SID

Malheiro R, Rodrigues N, Manzke G, Bento A, Pereira J A and Casal S, 2013. The use of olive leaves and tea extracts as effective antioxidants against the oxidation of soybean oil under microwave heating. Industrial Crops and Products 44: 37–43.

Mezza GN, Borgarello AV, Grosso NR, Fernandez H, Pramparo MC and Gayol MF, 2017. Antioxidant activity of rosemary essential oil fractions obtained by molecular distillation and their effect on oxidative stability of sunflower oil. Food Chemistry 242, 9-15.

Mortazaei S, Rafieian M, Ansarysamani R, and Shahinfard N, 2013. Comparison of phenolic compounds concentrations and antioxidant activity of eight medicinal plants. Journal of Rafsangan University of Medical Sciences 12(7): 519-530.

Moshafi MH, Mehrabani M and Zolhasab H, 2004. Antibacterial activity studies of *Salvia mirzayanii* and *Salvia atropatana* against six standard gram positive and gram negative bacteria. Journal of KermanUniversity of Medical Sciences 11(2): 109-118.

Ortega-Ramirez L, Rodriguez-Garcia I, Leyva JM, Cruz-Valenzuela MR, Silva-Espinoza BA and Gonzalez Aguilar GA, 2014. Potential of medicinal plants as antimicrobial and antioxidant agents in food industry: A Hypothesis. Journal of Food Science 79(2): 129-137.

Raisi M, Ghorbani M, Sadeghi Mahoonak A and Kashaninejad M, 2015. Prediction of almond oxidation stability by determination of conjugated diene and thiobarbituric acid reactive substances. Journal of Food Research 26(4): 589-600.

Rateb M, Gendy A, Hawary S and Shamy A, 2007. Phytochemical and biological investigation of *Tanacetum parthenium* (L) Cultivated in Egypt. Journal of Medicinal Plants Research 1 (1): 18-26.

Ruberto G, and Baratta MT, 2000. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. Food Chemistry 69(2):167-174.

Salmanian SH, Sadeghimahoonak AR, Alami M, and Ghorbani M, 2013. Determination of antiradical and antioxidant activities and flavonoid content in hawthorn fruit (*Crataeguse lbursensis*).Nutional Nutrition Food Technology Research Institute 8(1): 177-185

Salmanian SH, Sadeghimahoonak AR, Alami M, and Ghorbani M, 2013. Antioxidant activity of hawthorn (Crataegus elbursensis) extract on stability of soybean oil. Journal of Food Research 23(2): 199-209.

Samadloiy HR, Azizi MH, and Barzegar M, 2007. Antioxidative effect of pomegranate seed phenolic components on Soybean Oil. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources 14(4): 193-200.

Saxena M, Saxena J, Nema R, Singh D, and Gupta A, 2013. Phytochemistry of medicinal plants. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 1(6): 168-182.

Shahbazi S, 2013. Isolation and identification of essential oil compounds, sweet form *Lavandula angustifolia*. The Application of Chemistry in Environment 3(12): 49- 55.

Shahsavari N, Barzegar M, Sahari M, and Naghdi Badi H, 2008. An investigation on the antioxidant activity of essential oil of *Zataria multiflora* Boiss. in Soy bean oil. Journal of Medical Plants 4 (28): 56-68.

Sidewell G, Salwin H, Benca M, and Mitchel JA, 1954. The use of thiobarbituric acid as a measure of fat oxidation. Journal of American. Oil Chemical. Society 31: 603 - 6.

Soni,A. and Sosa,SH, 2013. Phytochemical analysis and free radical scavenging potential of herbal and medicinal plant extracts. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2(4): 22-29

Suja KP, Abraham JT, Thamizh SN, Jayalekshmy A, and Arumughan C, 2004. Antioxidant efficacy of sesame cake extract in vegetable oil protection. Food Chemistry 84(3): 393-400.

Tahami F and Basiri A, 2012. Evaluation of antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extract in sunflower oil. Journal of Food Technology and Nutrition 1(10):71-78.

Taha Nejad M, Barzegar M, Sahari M, and Naghdi Badi H, 2012. Evaluation of antiradical activity of *Malva sylvestris* extract and its application in oil System. Journal of Medical Plants 2 (42): 86-97.

Turkmen N, Sari F, and Velioglu YS, 2006. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Foline Ciocalteu methods. Food Chemistry 99:835-841.

www.SID.ir

Archive of SID

Yang Y, Song X, Sui X, Qi B, and Wang Z, 2016. Rosemary extract can be used as a synthetic antioxidant to improve vegetable oil oxidative stability. Industrial Crops and Products 80: 141–147.

Ye F, Liang Q, Li H, and Zhao G, 2015. Solvent effects on phenolic content, composition, and antioxidant activity of extracts from florets of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Industrial Crops and Products 76: 574–581.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Food Researches/vol.30 No.4/ 2021/pp 181-198
https://foodresearch.tabrizu.ac.ir
DOI: 10.22034/fr.2021.33107.1665

Antioxidant activity of essential oil and extracts of *Tanacetum balsamita* and their effects on sunflower oil oxidative stability

A Aghaeie[1] and M Ranjbar[2*]

Received: May 13, 2019 Accepted: September 28, 2019
[1] MSc Student, Department of Biochemistry, Falavargan branch, Islamic Azad University, Esfahan, Iran
[2]Assistant Professor, Department of Biology, Falavargan branch, Islamic Azad University, Esfahan, Iran
[*] Corresponding author: Email: ranjbar@iaufala.ac.ir

Introduction: There are several methods to prevent oxidation of oils, one of which is the use of antioxidants. Antioxidants are substances that reduce, delay, or stop oxidation reactions (Yang et al., 2016). The use of synthetic antioxidants endangers human health. For this reason, many efforts are being made to replace these compounds with natural compounds (Gunstone, 2011). The use of medicinal plants and their active ingredients as natural antioxidants are now considered by researchers. Different parts of plants such as fruits, leaves, seeds and oils, are a great source of polyphenolic compounds such as various flavonoids are important antioxidants (Alezandro et al., 2011). The effect of synthetic and natural antioxidants can be assessed by measuring primary and secondary lipid peroxidation in foods and biological systems. Solvent has an effective role in the extraction coefficient of bioactive compounds (Ye et al., 2015). Sunflower oil is one of the most widely used vegetable oils in the world and is rapidly oxidized due to its high content of unsaturated fatty acids such as linoleic acid. As a result, the quality of the oil is reduced and food safety is compromised due to the production of oxidized compounds (Mezza et al., 2017). *Tanacetum balsamita* is belongs to Asteraseae family (Hassan pouraghdam et al., 2008). Antioxidant activity of extracts of *Tanacetum balsamita* is mainly related to the phenolic compounds. Therefore, the relationship between the amount of these compounds and their antioxidant activity has been investigated (Jamshidi et al., 2010). According to numerous applications of this plant in the fields of food and pharmaceutical, in this study, the compounds were isolated in essential oil and of water, methanol, hexane and chloroforms extracts of the plant. The type of existing compounds was identified. Their effect on oxidation of sunflower oil was studied.
Materials and methods: The fresh shoots of the plant were collected from west of Isfahan in khordad 1397. Then they were dried in a dark place at room temperature. Essential oil was extracted by water distillation method using Clevenger's apparatus (Shahbazi, 2013). Water, methanol, hexane and chloroform extracts were prepared by soaking method (Moshafi et al., 2004). The amount of phenol, flavonoids and terpenoid of the extracts were measured by Folin-Sycaltol, aluminum chloride colorimetric and separation in ether methods. The DPPH method was used to evaluate the antioxidant properties of each extract. Essential components were determined by GC-MS. The water distillation method is used to extract plants that are not damaged by boiling and their compounds are not altered or destroyed. Distillation was effective on the amount and composition of the essential oil and continued distillation until the volume of the essential oil obtained remained constant until the essential oil was concentrated. The effect of extracts on delaying oxidative degradation in refined sunflower oil was determined by measuring peroxide value, barbituric acid number and oxidation resistance time of samples.
Result s and discussion: The results showed that methanolic extracts had the highest amount of flavonoid and total phenol (12.98 and 98.38 mg/ml), the chloroform extract had the highest amount

www.SID.ir

Archive of SID

of tripnoyid (1320.4 mg/g). In addition to extracting low molecular weight phenols, methanol can also extract high molecular weight phenols (Dai and Mumper, 201`0). The amount of flavonoids in aqueous extract is lower than methanol. Therefore, polar organic solvents are more suitable for the extraction of flavonoid compounds (Chirinos et al., 2007). The highest percentage of inhibition was associated with methanolic extract with 68.66%. Compounds in methanol extract have more inhibitory effect than other extracts. Methanol extract contains more phenolic and flavonoid compounds. Antioxidant activity of plant extracts mainly depends on the concentration of phenolic compounds (Alezandro et al., 2011). The compounds identified in the essential oil were 1, 8 cineole, beta-thujone, cyclopentanol, cyclohexane and the beta bisabolin. Increasing the concentration of extract and essential oil increased the antioxidant effect. Peroxide number decreased with increasing concentration of extract and essential oil. Peroxides are the primary by-products of lipid oxidation and can be estimated using the peroxide index. High values of peroxide value indicate less oxidative stability in oil samples (Malheiro et al., 2013). The results of the study of oil oxidative stability containing different concentrations of extract and essential oil showed that methanolic extract concentration of 1000 ppm and essential oil at 800 ppm concentration compared to other concentrations and control sample was more effective in the oxidative stability of sunflower oil. They had a greater effect Compared to the synthetic antioxidant (BHT) at 200 ppm concentration. Methanolic extract helps to stabilize the oil due to its phenolic compounds (Jafarian et al., 2013). The extract contains high levels of sugars and most of the phenolic compounds are glycosidic forms that can be decomposed to aglycones and related sugars by heat. Therefore, at high temperatures the aldehyde agent in the sugar can react with the amine compounds. When the peroxide level reaches a certain level, aldehyde and ketone volatiles are created which are effective in producing unpleasant odor and taste of fatty substances and increase thiobarbituric index. Thiobarbituric acid assay is a good criterion for assessing the stability of vegetable oil (Raisi et al., 2015). Malondialdehyde results from the decomposition of hydroperoxides, so thiobarbituric acid is low in the early days, but over time the amount of primary oxidation products increased and decomposed. As a result, the barbituric acid index increased (Buta et al., 2013).

Conclusion: Therefore, they can be used as a source of natural antioxidants. By comparing the extracts, it can be concluded that methanol is the best solvent for the extraction of phenol, flavonoids .On the other hand, the methanolic extract and essential oil of the plant have a high inhibitory effect. Methanol extract and essential oils with Suitable anti-radical effect can be replaced by BHT in sunflower oil. Selection of the extract used in oil stability should be based on the amount of phenolic compounds present. As the concentration of the extract increases, there will be more phenolic compounds. Due to the increasing number of hydroxyl groups present in the reaction medium, the probability of donating hydrogen to free radicals and subsequently the inhibitory potency of the extract increases.

Keywords: Essential oil, Flavonoids, Phenol, Sunflower oil, *Tanacetum balsamita*

www.SID.ir