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

فرنوش عیوقی[۱]، محسن برزگر[۲]*، محمدعلی سحری[۳]، حسنعلی نقدی‌بادی[٤]

۱- کارشناسی‌ارشد 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
٤- استادیار، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، تهران
* آدرس مکاتبه: تهران، گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، صندوق‌پستی: ۳۳٦- ۱٤۱۱۵ تهران، تلفن: ٤٤۰۸۰۵۰۰ (۰۲۱)، نمابر: ٤٤۱۹٦۵۲٤ (۰۲۱)
پست الکترونیک: mohsenbb@gmail.com، mbb@modares.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۷/۷/۱٦ **تاریخ تصویب:** ۸۸/۲/۱۲

چکیده

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

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

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

نتایج: نتایج نشان داد که د-کارون (۳٦/۰۹ درصد)، لیمونن (۱۹/۸۹ درصد)، دیل‌آپیول (۱٦/۸۳ درصد)، ترانس- دی‌هیدروکارون (۷/۳٦ درصد)، سیس- دی‌هیدروکارون (٦/۵۹ درصد) و تیمول (٦/۵ درصد) ترکیبات عمده‌ی اسانس بودند. در آزمون $DPPH^{\bullet}$، مقدار EC_{50} اسانس شوید ۱/۵۲ ± ۲/۵۷ mg/ml به‌دست آمد، در حالی که این پارامتر برای BHT، ۰/۰۰۱ ± ۰/۰۳۸ mg/ml بود. در آزمون بتاکاروتن / لینولئیک اسید، فعالیت اسانس در غلظت ۷ mg/ml برابر با ۷۷/۲۹ درصد بود که فعالیت آنتی‌اکسیدانی نزدیکی با BHT در ۰/۱ mg/ml داشت. در آزمون آون، اسانس توانایی جلوگیری از تولید محصولات اولیه و ثانویه‌ی اکسیداسیون، در روغن سویای خام را در سطح غلظتی ۰/٦ mg/ml که تقریباً معادل با آنتی‌اکسیدان شیمیایی BHA در سطح غلظتی ۰/۱ mg/ml است، داشت.

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

گل‌واژگان: شوید *Anethum graveolens*، اسانس، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، روغن سویا

[1] *Anethum graveolens* Boiss.

www.SID.ir

مقدمه

گیاه *Anethum graveolens* با نام فارسی شبت (شوید) و نام انگلیسی Dill از تیره‌ی چتریان (Apiaceae) است. شوید برای اولین بار در فلسطین کشت شد و احتمالاً از رم باستان به سایر کشورهای اروپا منتقل گردیده است [۱]. شوید در سطح وسیعی در ایران، قفقاز، حبشه، مصر، هند، انگلیس، اسپانیا، ایتالیا و مجارستان کشت می‌شود. انتشار جغرافیایی آن در ایران، به صورت طبیعی، در نواحی مختلف مانند صائین‌قلعه، تبریز، خراسان و تفرش ذکر شده است. شوید گیاهی یک‌ساله است که تمام پیکر رویشی آن محتوی اسانس است و مقدار آن در اندام‌های مختلف متفاوت می‌باشد. رنگ اسانس شوید زرد روشن و بوی آن به نسبت تند و مشابه بوی زیره است [۲]. به علت حضور د- کارون، از این اسانس برای معطر و مطبوع ساختن طعم بعضی از غذاها استفاده می‌شود [۳]. اثر ضدقارچی و ضدباکتری اسانس بذر شوید [٤،٥] و عصاره‌ی استونی بذر آن [٦] تایید شد. بررسی‌ها نشان داده است که شوید دارای خواص بیولوژیکی متعددی نظیر اشتهاآور، ضدنفخ، مدر، ضداسپاسم [۷]، ضدیرقان، کاهش‌دهنده‌ی کلسترول تام، LDL و تری‌گلیسیرید، افزایش‌دهنده‌ی HDL، ضدسرطان و ضداکسیداسیون، در موش‌های آزمایشی مطرح شده است [۸،۹].

مواد موثره اسانس شوید، از جمله دو ترکیب عمده‌ی د- کارون و لیمونن، احتمالاً دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی بوده و سبب تثبیت غشاء سلول‌های کبدی و کاهش آزادسازی آنزیم به خون می‌شوند [۱۰]. ترکیب فنولیک دیل‌آپیول، در عصاره و اسانس شوید منجر به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، در مقایسه با BHT و BHA می‌شود [٦]. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که به طور موثر و به طرق مختلف از واکنش رادیکال‌های آزاد به شکل‌های اکسیژن و نیتروژن فعال با بیومولکول‌هایی نظیر پروتئین، آمینواسید، لیپید و DNA، جلوگیری کرده و منجر به کاهش آسیب و یا مرگ سلولی، بیماری‌های قلبی - عروقی و سرطان‌ها می‌شوند [۱۱]. در کنار نقش آن‌ها در سامانه‌های زیستی، در مواد غذایی سرشار از چربی‌های غیراشباع نیز از کاهش کیفیت تغذیه‌ای، ایمنی، بدطعمی و بی‌رنگ شدن به علت ایجاد ترکیبات سمی جلوگیری می‌کنند. آنتی‌اکسیدان‌ها به دو دسته‌ی شیمیایی و طبیعی تقسیم‌بندی می‌شوند [۱۲]. آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی که بیشترین استفاده را در صنعت غذا دارند، شامل BHT، BHA، TBHQ و پروپیل‌گالات بوده که سرطان‌زایی و اثرات منفی این ترکیبات بر سلامت انسان مشخص شده است [۱۳،۱٤]. بنابراین، امروزه استفاده از گروه وسیعی از گیاهان دارویی و ترکیبات آروماتیک آن‌ها به عنوان منابع طبیعی که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند، مورد توجه محققین قرار گرفته است [۱۵]. یکی از سامانه‌های غذایی روغن‌ها می‌باشند که مصرف بسیار زیادی در زندگی روزمره دارند. روغن سویا، مهم‌ترین روغن نباتی است که این اهمیت به دلیل فراوانی، ارزانی، کیفیت خوب و بازده بالای آن است. در ضمن به دلیل وجود مقدار نسبتاً زیاد اسیدهای چرب غیر اشباع در این روغن، پایداری آن در برابر اکسیداسیون کم بوده و مستعد اکسیداسیون می‌باشد. لی[1] و همکاران، ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی آویشن، ریحان، رزماری، بابونه، دارچین، شوید و اسطوخودوس را مورد بررسی قرار داده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی زیادی را برای آویشن و ریحان گزارش کردند [۱٦]. سینگ[2] و همکاران نیز ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره‌ی بذر شوید هندی را مورد بررسی قرار دادند و نتایج نشان داد که علت قوی‌تر بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی بذر نسبت به اسانس آن، حضور بیشتر دو ترکیب فنولیک آنتول و دیل‌آپیول است [٦]. در پژوهشی دیگری که توسط ترویلاس[3] و همکاران در سال ۲۰۰۳ انجام گرفت، مشخص شد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی بابونه‌ی شیرازی به ترکیبات فنولیک موجود در آن وابسته است [۱۷]. شهسواری[4] و همکاران، حضور دو ترکیب فنلی کارواکرول و تیمول را عامل بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی عنوان کردند [۱۸]. روبرتو[5] و همکاران در سال ۲۰۰۰، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای تیمول، کارواکرول، γ و α- ترپینن و ترپینولن را گزارش کردند [۱۹]. بنابراین گروه وسیعی از

[1] Lee
[2] Singh
[3] Trouillas
[4] Shahsavari
[5] Roberto

Archive of SID
www.SID.ir

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

روش‌های متعددی جهت ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی مواد طبیعی وجود دارد که بیشتر آن‌ها نقش مکمل یکدیگر را دارند. از جمله‌ی این روش‌ها می‌توان از آزمون رادیکال ABTS [۲۲]، آزمون تیوسیانات آمونیوم [۱۱]، تعیین ترکیبات فنولیک کل [۲۳]، آزمون فسفومولیبدنوم [۲۳]، آزمون رادیکال DPPH• [۱۵] و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن [۲٤] نام برد که در کار حاضر از دو روش آخر استفاده شده است.

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

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

بذر گیاه شوید از مزرعه‌ی تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی در کرج تهیه و در سایه خشک و به روش تقطیر با بخار آب توسط دستگاه کلونجر اسانس‌گیری شد. اسانس به دست آمده پس از آب‌گیری با سولفات سدیم بدون آب، در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس توسط دستگاه GC/MS تجزیه شد [۲۵].

مواد شیمیایی

تمام مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده با درصد خلوص بالا از شرکت‌های مرک آلمان و رادیکال آزاد DPPH•، بتاکاروتن، لینولئیک اسید، بوتیلات هیدروکسی‌تولوئن (BHT) و بوتیلات هیدروکسی‌آنیزول (BHA) از شرکت سیگمای آمریکا تهیه شدند.

تجزیه اسانس توسط GC/MS

دستگاه کروماتوگرافی گازی HP مدل ٦٨٩٠N مجهز به ستونی با طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. برنامه‌ی دمایی نیز بدین ترتیب بود: دمای آون ٤۰ درجه سانتی‌گراد، توقف در این دما ۵ دقیقه، افزایش دما تا ۲٤۰ درجه سانتی‌گراد با شیب دمایی min-1 ۳ درجه سانتی‌گراد، افزایش دما تا ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد با شیب دمایی min-1 ۱۵ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۳ دقیقه و در نهایت افزایش دما تا ۳٤۰ درجه سانتی‌گراد با شیب دمایی min-1 ۳ درجه سانتی‌گراد. دمای محل تزریق و آشکارساز، ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد بود. از گاز هلیوم با سرعت جریان mL/min ۰/۸ به عنوان گاز حامل و از شیوه‌ی شکافته با نسبت ۱:۱۰ استفاده شد. دستگاه گازکروماتوگراف با مشخصات بالا با ستونی به ابعاد (۳۰ متر در ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر) و از نوع HP-5، به طیف‌سنج جرمی HP مدل N ۵۹۷۳ متصل شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون، مانند کروماتوگرافی گازی بود. ولتاژ یونیزاسیون در طیف‌سنج‌جرمی، ۷۰ الکترون ولت بود. درصد ترکیبات با استفاده از مساحت پیک حاصل از آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای (FID) محاسبه شد. شناسایی پیک‌ها به کمک شاخص بازداری و مقایسه‌ی آن‌ها با مقادیری که در منابع مختلف منتشر شده [٦] و نیز با استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه رایانه‌ی GC/MS انجام شد.

بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی با آزمون DPPH•

استفاده از رادیکال پایدار DPPH•، جهت بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های گیاهی، کاربرد زیادی دارد. حرکت الکترون در سرتاسر مولکول سبب می‌شود که رادیکال آزاد پایدار ۲ و۲'- دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH•) نتواند به‌صورت دیمر درآمده و هم‌چنین ایجاد رنگ بنفش تیره در طول موج ۵۱۷ - ۵۱۵ نانومتر کند. این رادیکال

Archive of SID
www.SID.ir

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

بررسی فعالیت آنتی‌رادیکالی اسانس، با استفاده از رادیکال‌های پایدار •DPPH مطابق با روش برَند – ویلیامز[1] و همکاران انجام شد [۲۶]. پنجاه میکرولیتر اسانس در غلظت‌های مختلف به ۲ میلی‌لیتر از محلول متانولی ۵-۱۰× ٦ مولار رادیکال آزاد •DPPH افزوده و ٦۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد. سپس جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از طیف‌نورسنج شینکو ساخت کشور کره جنوبی خوانده شد. یک نمونه حاوی ۵۰ میکرولیتر متانول به همراه ۲ میلی‌لیتر محلول •DPPH به عنوان نمونه کنترل و حلال متانول برای صفر کردن دستگاه استفاده شد. آزمایش در سه تکرار انجام شد. میزان فعالیت آنتی‌رادیکالی[2] اسانس مطابق فرمول زیر محاسبه شد:

$$\% RSA = [1 - ((AControl - Asample) / AControl) \times 100]$$

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

بررسی خاصیت آنتی‌رادیکالی با آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن

با آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن می‌توان به میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس پی برد. به این صورت که مواد ناشی از اکسیداسیون اسید لینولئیک با بتاکاروتن برهم‌کنش داده و سبب کاهش رنگ شده و در نتیجه میزان جذب در طول موج ٤۷۰ نانومتر کاهش می‌یابد. آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن در اثر اکسیداسیون اسید لینولئیک، به روش ژانگ[1] و همکاران، انجام شد [۲٤]. ۵ میلی‌گرم بتاکاروتن در ۵۰ میلی‌لیتر کلروفرم حل شد و ۳ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده به فلاسک ته‌گردی که حاوی ٤۰ میلی‌گرم لینولئیک‌اسید و ٤۰۰ میلی‌گرم توئین ۲۰ بود، افزوده شد. پس از خارج شدن کلروفرم توسط گاز ازت، ۱۰۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر اشباع از اکسیژن به فلاسک افزوده شد و فلاسک برای تشکیل امولسیون به شدت هم زده شد. ۱/۵ میلی‌لیتر از امولسیون تهیه شده به لوله‌های آزمایش که حاوی ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف اسانس و استاندارد BHT و BHA بود، اضافه شد و بلافاصله در زمان صفر جذب نمونه‌ها در طول موج ٤۷۰ نانومتر خوانده شد. سپس درب لوله‌های آزمایش بسته شد و به مدت ٦۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ٤۷۰ نانومتر خوانده شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

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

در این رابطه As(60) = میزان جذب نمونه بعد از ٦۰ دقیقه، AC (60) = میزان جذب کنترل بعد از ٦۰ دقیقه، AC (0) = میزان جذب کنترل در زمان شروع و AA% = درصد بازداری می‌باشد.

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس در روغن سویا

اسانس شوید، در چهار تیمار (D-0.2, D- D-0.8, D-1 0.4, D-0.6,) و آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی BHA در دو تیمار (0.1 و 0.2) و BHT در دو تیمار (0.1 و 0.2) به روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان در شیشه‌های تیره‌رنگ اضافه شد و درب شیشه‌ها بسته شد (اعدد نمایانگر غلظت بر حسب mg/ml هستند). سپس نمونه‌ها به همراه شاهد (Control) (روغن سویا بدون افزودن اسانس)، برای مدت معینی در دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. روزهای ۰، ۸، ۱٦، ۲٤ و

[1] Brand-Williams
[2] Radical scavenging activity

[1] Zhang

Archive of SID
www.SID.ir

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

طرح آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9.1 و رسم نمودارها با نرم‌افزار EXCEL صورت گرفت. هم‌چنین طرح آماری کاملاً تصادفی مورد استفاده قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش حداقل تفاوت‌های معنی‌دار[1] صورت گرفت. تمامی نتایج به صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار بیان شده است.

نتایج و بحث

بررسی ترکیب شیمیایی اسانس

بر اساس نتایج به دست آمده، ۲۲ ترکیب در مجموع ۹۹/۳٤ درصد در اسانس *Anethum graveolens* شناسایی شد (جدول شماره ۱). ترکیبات عمده‌ی آن عبارت‌اند از: د- کارون (۳٦/۰۹ درصد)، لیمونن (۱۹/۸۹ درصد)، دیل‌آپیول (۱٦/۸۳ درصد)، ترانس- دی‌هیدروکارون (۷/۳٦ درصد)، سیس- دی‌هیدروکارون (٦/۵۹ درصد) و تیمول (٦/۵ درصد). در مجموع اسانس شوید تقریباً حاوی ٦۸/٤۱ درصد از ترکیبات اکسیژن‌دار (CHO)، ۲۲/۳۷ درصد هیدروکربن (CH) و ۸/۵٦ درصد ترکیبات فنولیک (OH) می‌باشد. در مطالعه‌ای که توسط سینگ و همکاران در مورد اسانس بذر شوید انجام گرفت، عمده‌ترین ترکیبات اسانس عبارت بودند از: د- کارون (۵۵/۲ درصد)، لیمونن (۱٦/٦ درصد)، دیل‌آپیول (۱٤/٤ درصد)، لینالول (۳/۷ درصد)، ترانس- دهیدروکارون (۲/۸ درصد)، سیس- دی‌هیدروکارون (۲/٦ درصد) و ترانس- ایزوکروویسین (۰/۸ درصد) [٦]. سفیدکن ترکیبات عمده‌ی اسانس سر شاخه‌گلدار شوید را این‌گونه گزارش کرد: آلفا- فلاندرن (۵٦/۰۵ درصد)، لیمونن (۳۳/۱۹ درصد) و پارا - سیمن (۱/۲٦ درصد) و ترکیبات عمده‌ی اسانس بذر شامل: د- کارون (۵۷/۲۸ درصد) و لیمونن (۳۳/۱۹ درصد)، ترانس- دی‌هیدروکارون (۳/٦۵ درصد) و آلفا- فلاندرن (۱/٦۱ درصد) می‌باشد [۹]. ریچرت[2] و همکاران گزارش کردند که ترکیبات اسانس حاصل از قسمت‌های مختلف گیاه متفاوت است و در مراحل مختلف رسیدن گیاه به طور قابل ملاحظه تغییر می‌کند [۲۹]. نوع ترکیبات عمده و درصد آن‌ها در اسانس مورد مطالعه، در مقایسه با سایر بررسی‌های انجام گرفته متفاوت است که می‌تواند 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.

[1] LSD [2] Reichert

جدول شماره ۱- ترکیب‌های عمده‌ی تشکیل دهنده‌ی اسانس شوید

ترکیب	شاخص بازداری[a]	درصد
α-Pinene	۹۳۳	۰/۳۱
Sabinene	۹۷۷	tr [b]
β- Myrcene	۹۸۹	۰/۲۵
α- Phellandren	۱۰۰٤	۰/۷۵
Limonene	۱۰۳۰	۱۹/۸۹
γ- Terpinene	۱۰۵۹	۰/۳٤
ρ-Cymene	۱۰۹۰	۰/٤۱
Linalool	۱۰۹٦	۱/٦۸
E-Limonene Oxid	۱۱۳۹	tr
Estragole	۱۱۸۰	۰/۹٤

Archive of SID
www.SID.ir

ادامه جدول شماره ۱- ترکیب‌های عمده‌ی تشکیل دهنده‌ی اسانس شوید

ترکیب	شاخص بازداری[a]	درصد
α- Terpineol	۱۱۸۸	۰/۱۷
Z-Dihydrocarvone	۱۲۰۲	٦/٥٩
E-Dihydrocarvone	۱۲۱۱	۷/۳٦
Cumin aldehyde	۱۲۳٥	۰/٦
D-Carvone	۱۲٤۳	۳٦/۰۹
Thymol	۱۲۹٤	٦/٥
Carvacrol	۱۳۰۳	۰/۲۱
β- Caryophyllen	۱٤۲۹	۰/۳۲
D-Germacrene	۱٤۹۰	۰/۱
Myristiscin	۱٥۲۷	tr
Dill apiole	۱٦۳٤	۱٦/۸۳

[a] = شاخص بازداری با تزریق مخلوط هیدروکربن‌های نرمال (C_9-C_{26}) به ستون DB-1 محاسبه شده است.

[b] = tr = trace < ٪۰/۱

حذف رادیکال‌های آزاد با استفاده از روش DPPH•

در این آزمون، رادیکال‌های DPPH• با آنتی‌اکسیدان‌ها یا دیگر گونه‌های رادیکالی که دهنده‌ی هیدروژن می‌باشند، واکنش داده و به شکل کاهش یافته درمی‌آید و رنگ آن از بنفش تیره به زرد روشن تبدیل شده و در نتیجه میزان جذب در طول موج ۵۱۷ – ۵۱۵ نانومتر کاهش می‌یابد [۳۰،۳۱].

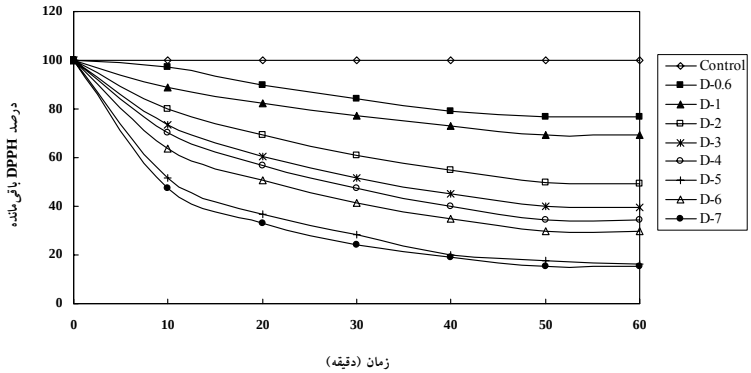
رادیکال‌های آزاد تولید شده از آنتی‌اکسیدان، می‌تواند استوکیومتری کلی واکنش (تعداد مولکول‌های DPPH• کاهش یافته (بی‌رنگ شده) توسط یک مولکول عامل کاهش دهنده (آنتی‌اکسیدان‌ها یا دیگر گونه‌های رادیکالی)) را تعیین کند [۳۲]. درنهایت جذب که بیانگر مقدار DPPH• باقی‌مانده است، بعد از ٦۰ دقیقه اندازه‌گیری می‌شود. هرچه این مقدار بیشتر باشد، فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها در حذف رادیکال آزاد کمتر بوده است. از این روش جهت ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس شوید استفاده شد. شکل شماره ۱ نشان‌گر میزان کاهش DPPH• باقی‌مانده، با افزایش زمان در برابر غلظت‌های مختلف اسانس می‌باشد. گستره‌ی غلظت‌های اسانس مورد استفاده در این آزمون از ۷ mg/ml – ۰/٦ بود. در نمونه‌ی کنترل این کاهش دیده نشد. بنابراین، میزان DPPH• باقی‌مانده به طور معکوس با فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال آنتی‌اکسیدان در ارتباط است [۳۲].

فعالیت گیرندگی رادیکال با افزایش غلظت اسانس تا ۷ mg/ml، افزایش می‌یابد و سپس بعد از ٦۰ دقیقه به میزان ثابتی می‌رسد. فاکتور EC50، نسبت معکوسی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد. فاکتور EC_{50} در اسانس شوید در این مطالعه ۱/۵۲ ± ۲/۵۷ mg/ml به‌دست آمد. میزان EC_{50} در BHT به عنوان کنترل مثبت، ۰/۰۰۱ mg/ml ± ۰/۰۳۸ برآورد شد. کولیسیک[1] و همکاران، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس Oregano و ترکیبات تشکیل‌دهنده‌ی آن را با آزمون DPPH• و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن مورد بررسی قرار دادند. فاکتور EC_{50} برای اسانس ۰/۵ g/l و برای BHT ۲-۱۰× ۱/۸ g/l گزارش شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس کمتر از α- توکوفرول و BHT و اسکوربیک اسید بود. بررسی‌ها نشان داد که بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به ترکیبات اکسیژن‌دار، سپس ترکیبات فنولیک شامل تیمول و کارواکرول و بعد از آن اسانس کامل و در نهایت هیدروکربن‌ها می‌باشد [۱۵]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس Thymus spathulifolius نیز با آزمون DPPH• و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن مورد بررسی قرار گرفت. فاکتور EC_{50} برای اسانس ۲٤۳ µg/ml بود.

[1] Kulisic

Archive of SID

www.SID.ir



شکل شماره ۱- روند کاهش درصد DPPH• باقی‌مانده با زمان در حضور غلظت‌های مختلف اسانس شوید. غلظت‌ها بر حسب mg/ml است. Control فاقد اسانس است.

درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی برای اسانس ۹۲ درصد و برای BHT به عنوان کنترل مثبت، ۹۶ درصد گزارش شد. سه ترکیب فنولیکی عمده (تیمول، کارواکرول و γ-ترپینن)، این اسانس، عامل اصلی حذف رادیکال‌های آزاد می‌باشند [۳۳]. در سال ۲۰۰۷ دمیرسی [1] و همکاران، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس Chaerophyllum libanoticum از تیره‌ی چتریان را با آزمون DPPH• ارزیابی نموده و EC_{50} را حدود ۳۰ mg/ml گزارش کردند. این مقدار می‌تواند به علت بالا بودن ترکیبات هیدروکربنی مانند بتا– فلاندرن، لیمونن، بتا – پیرن و سابینن در این اسانس باشد [۳۱]. در بررسی دیگر، دُردویچ [2] و همکاران در سال ۲۰۰۷، میزان EC_{50} اسانس Carlina acanthifolia را ۱۳/٦ mg/ml تعیین کردند که نشان‌دهنده‌ی فعالیت آنتی‌اکسیدانی متوسط این اسانس می‌باشد [۳۰]. میزان EC_{50} اسانس Petroselinum crispum، توسط ژانگ و همکاران ۸۰/۲۱ mg/ml به دست آمد که بیانگر فعالیت پایین این اسانس است [۲٤]. شهسواری و همکاران با بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی توسط آزمون DPPH•، میزان EC_{50} اسانس را ۰/۰٤ ± ۲/۲۲ mg/ml تعیین کردند [۱۸].

بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی با آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن

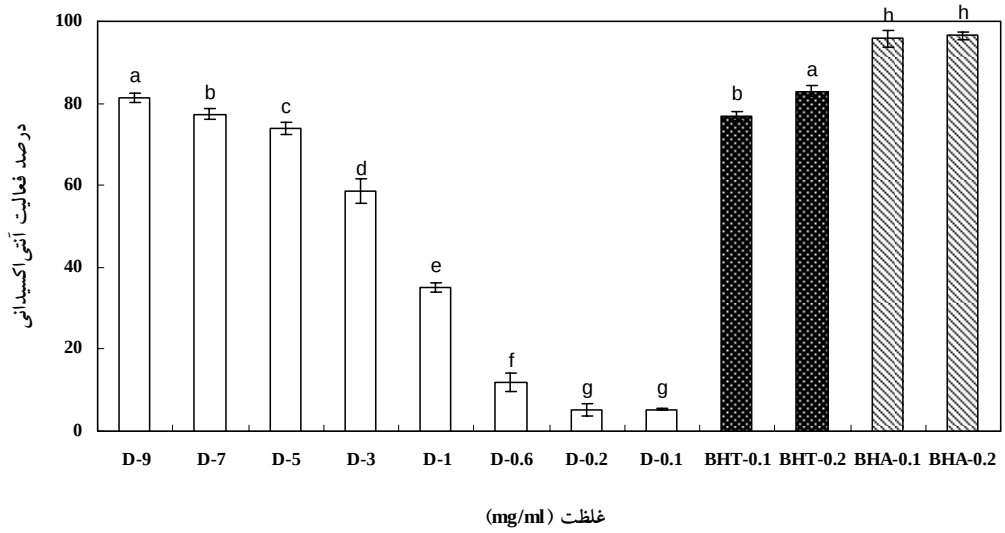
در این مطالعه میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس از غلظت ۹ mg/ml - ۰/۱ بررسی شد و نتایج با فعالیت آنتی‌اکسیدانی BHT و BHA در دو سطح غلظتی ۰/۱ mg/ml و ۰/۲ به عنوان کنترل مثبت، مقایسه شد. با توجه به شکل شماره ۲، می‌توان به ارتباط مستقیم میان غلظت اسانس و پتانسیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن پی برد که با افزایش غلظت اسانس، افزایش معنی‌داری یافته است ($p< ۰/۰۵$). نتایج نشان داد که فعالیت اسانس در غلظت ۷ mg/ml برابر با ۷۷/۲۹ درصد بود که فعالیت آنتی‌اکسیدانی نزدیکی با BHT در غلظت ۰/۱ mg/ml دارد. هم‌چنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس در غلظت ۹ mg/ml تقریباً معادل فعالیت BHT در غلظت ۰/۲ mg/ml است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که اسانس شوید فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی دارد. ژانگ در مطالعه‌ای مشابه بر روی اسانس گیاه Petroselinum crispum، دریافت که اسانس در غلظت ۰/۵۱۲ درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی نزدیکی با BHT در ۰/۱ درصد دارد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه را می‌توان به حضور دو ترکیب فنولیک میریستیسین و آپیول نسبت داد [۲٤]. در تحقیق دیگری، علت فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه در پونه‌ی کوهی، حضور دو ترکیب تیمول و کاروکرول بیان شد هم‌چنین، امکان اثر تشدیدکنندگی میان ترکیبات دارای اکسیژن و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز وجود دارد [۱۵].

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس در روغن سویا

عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید در نمونه‌های روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان که حاوی غلظت‌های مختلف اسانس و آنتی‌اکسیدان شیمیایی BHT و BHA بود، به مدت

[1] Demirci [2] Dordevic

Archive of SID
www.SID.ir



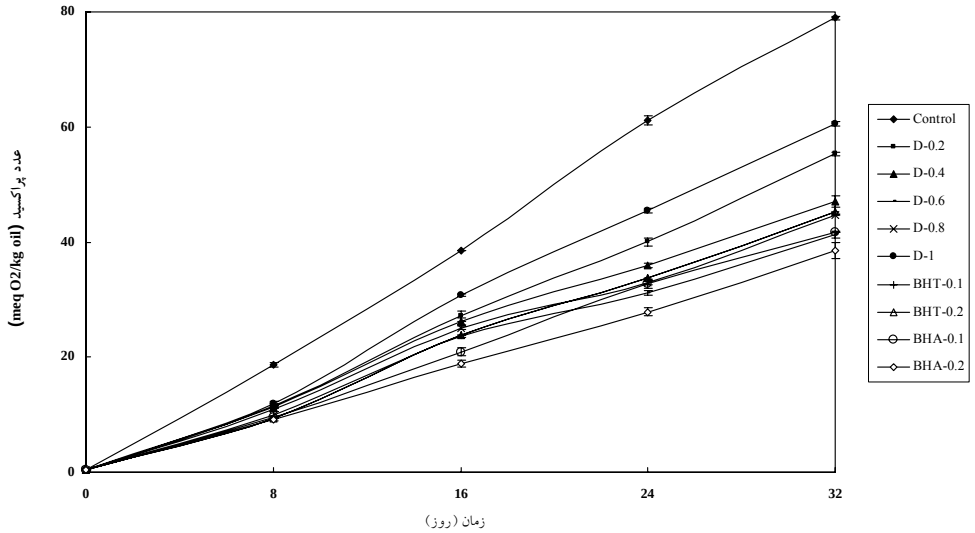
شکل شماره ۲- مقایسه‌ی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس شوید با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA وBHT به روش بی‌رنگ شدن بتاکاروتن غلظت‌ها بر حسب mg/ml می‌باشد.

۳۲ روز، در فواصل زمانی ۸ روز، در دمای اکسیداسیون تسریع شده (٦٠ درجه سانتی‌گراد) مورد بررسی قرار گرفت. پراکسید محصول اولیه‌ی اکسیداسیون مواد چرب است. عدد تیوباربیتوریک اسید، مقدار مالون‌دی‌آلدهید موجود در ۱۰۰۰ گرم چربی است و بیانگر مراحل ثانویه‌ی اکسیداسیون است که سبب ایجاد طعم بد در روغن اکسید شده می‌شود. تغییرات در عدد پراکسید در روغن سویا در همه‌ی نمونه‌های حاوی اسانس، BHT و BHA در شکل شماره ۳ دیده می‌شود. با بررسی و کنترل تغییرات پراکسید و تیوباربیتوریک اسید می‌توان این‌گونه استنباط کرد که سرعت اکسیداسیون در نمونه‌ی کنترل بالاترین مقدار را دارد، بنابراین تمامی نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان در برابر اکسیداسیون پایدارتر از نمونه‌ی کنترل می‌باشند. اسانس شوید در سه سطح غلظتی ۰/۲، ۰/٤ و ۰/٦ mg/ml فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی از خود نشان داد به طوری که در سطح غلظتی ۰/٦ mg/ml، با BHA در غلظت ۰/۱ mg/ml تفاوت معنادار وجود ندارد. با افزایش غلظت اسانس از فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن کاسته و با توجه به افزایش ناخالصی‌های موجود در اسانس و افزایش ترکیبات فنولیک، بر اثرات پرواکسیدانی آن افزوده شد [٣٤].

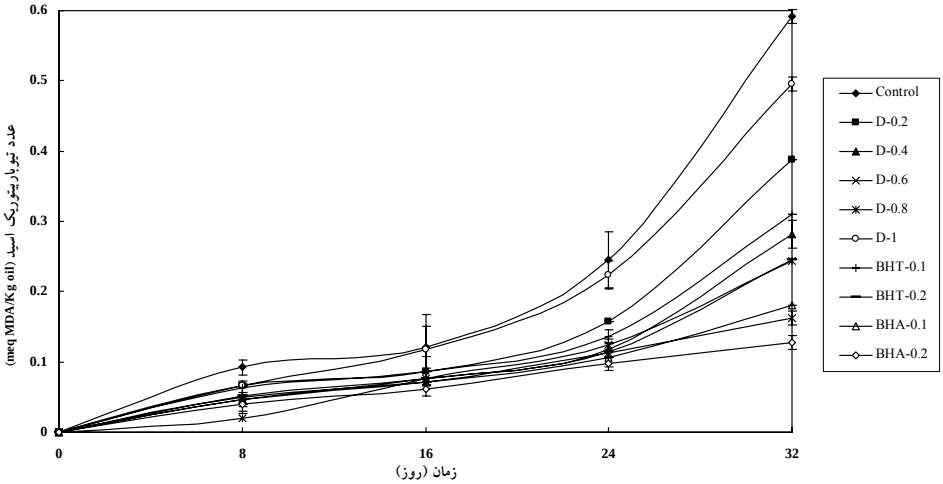
میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس در سطح غلظتی ۰/۸ mg/ml تفاوت معنی‌داری با BHT در غلظت ۰/۲ mg/ml نداشت اما در این غلظت، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتری نسبت به غلظت ۰/٦ mg/ml دیده شد. این مسأله در سطح غلظتی ۱ mg/ml بهتر دیده می‌شود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی در این غلظت کمتر از ۰/۲ mg/ml بود. همزمان با اندازه‌گیری تغییرات در عدد پراکسید، تغییرات در محصولات ثانویه‌ی اکسیداسیون، مالون‌دی‌آلدهید، نیز انجام گرفت. تشکیل مالون‌دی‌آلدهید به مانند پراکسید، در همه نمونه‌ها با گذشت زمان افزایش می‌یابد (شکل شماره ٤)، بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که روند تشکیل محصولات اولیه‌ی اکسیداسیون کاملاً شبیه به تشکیل محصولات ثانویه بوده و ارتباط خوبی در تغییرات تشکیل هر دو نوع محصول مشاهده شد. بنابراین، افزودن اسانس در سطح غلظتی ۰/٦ mg/ml، تفاوت معنی‌دار با نمونه‌ی کنترل داشته و می‌تواند به خوبی از اکسیداسیون در روغن سویا جلوگیری کند ($p< ۰/۰۵$). مطالعه‌ای در مورد اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست و دانه انگور، توسط عماد[1] در سال ۲۰۰٦، در روغن آفتابگردان انجام گرفت و نتایج نشانگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر عصاره پوست، به علت وجود ترکیبات فنولیک بیشتر در

[1] Emad

Archive of SID
www.SID.ir



شکل شماره ۳- فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس شوید در روغن سویا (عدد پراکسید) (غلظت‌ها برحسب mg/ml است).



شکل شماره ٤- فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس شوید در روغن سویا (عدد تیوباربیتوریک اسید) (غلظت‌ها برحسب mg/ml است).

آن بود. به عبارت دیگر اثرات پرواکسیدانی در عصاره دانه بیشتر دیده شد [۳۵]. در سال ۲۰۰۷ شهید[1] و در مطالعه‌ای که بر روی اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی سیر در پایداری روغن آفتابگردان در دمای تسریع شده (٦٥ درجه سانتی‌گراد)، در طول ٢٤ روز انجام دادند به فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی عصاره در غلظت، ppm ۱۰۰۰ در مقایسه با BHT و BHA در غلظت، ppm۲۰۰ پی بردند که سبب افزایش پایداری روغن در مرحله‌ی اولیه اکسیداسیون می‌شود [٣٦]. شهیدی[2] و همکاران گزارش کردند که روغن کانولا، توسط عصاره آرد کانولا و روغن شلغم روغنی توسط تعدادی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در برابر اکسیداسیون پایدار شده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره مربوط به حضور ترکیبات فنولیک می‌باشد [۳۷]. سینگ[1] و همکاران، اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس برگ دارچین را در روند اکسیداسیون روغن خردل و تشکیل پراکسید و تیوباربیتوریک اسید مورد بررسی قرار دادند و نتایج حاکی از آن بود که اسانس در سطح غلظتی ۰/۰۲ درصد اثرات قوی‌تری

[1] Shahid [2] Shahidi

[1] Singh

www.SID.ir

نسبت به BHT، BHA و پروپیل‌گالات دارد [۱۲]. در تحقیق دیگری که توسط شهسواری و همکاران انجام گرفت، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس *Zataria multiflora* را در روغن سویای خام، در شرایط دمایی تسریع شده (۶۰ درجه سانتی‌گراد)، به مدت ۳۲ روز، با کنترل دو عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید بررسی کردند. نتایج نشان داد که این اسانس در سطح غلظتی ۰/۱ درصد، دارای اثر آنتی‌اکسیدانی معادل با آنتی‌اکسیدان شیمیایی BHA در غلظت ۰/۰۲ درصد است و توانایی کاهش سرعت اکسیداسیون در روغن را دارد [۱۸]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست انار[1] توسط یعقوبی[2] و همکاران در سال ۲۰۰۷، در روغن سویا، در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد بررسی شد. نتایج حاکی از آن بود که عصاره استونی پوست انار در سطح غلظتی ۰/۰۵ درصد اثرات آنتی‌اکسیدانی بالاتری در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های BHT و BHA سطح غلظتی ۰/۰۲ درصد دارد [۳۸]. اثر عصاره پوست سبز پسته در غلظت ppm ۶۰۰ در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی BHT و BHA در غلظت ppm ۲۰۰، در به تأخیر انداختن اکسیداسیون در روغن سویا بررسی شد و مشخص شد که پوست سبز پسته به علت حضور ترکیبات فنولیک، در این غلظت می‌تواند به عنوان منبعی برای آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی معرفی شود [۳۹]. روغن کنجد و روغن بذر چای استخراج شده با حلال به عنوان منابع آنتی‌اکسیدانی طبیعی، جهت به تأخیر انداختن اکسیداسیون، در سه سطح ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد به روغن آفتابگردان خام افزوده شد. نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی برای این دو روغن نشان داد [۴۰]. در دیگر تحقیق انجام گرفته توسط فاضل[3] و همکاران، اثرات آنتی‌اکسیدانی دو روغن کنجد و بذر چای در دو سطح ۵، ۱۰ درصد، در روغن ماهی کیلکا، با استفاده از آزمون آون بررسی شد. تغییرات عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۳ روز، نشانگر فعالیت آنتی‌رادیکالی این دو روغن بود [۴۱]. اسانس گرفته شده از پونه‌ی کوهی غنی از تیمول و کاروکرول بوده و اثر آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه‌ای بر اکسیداسیون چربی خوک دارد [۴۲]. در تحقیقی که توسط برا[1] و همکاران در سال ۲۰۰۶ انجام گرفت، اثرات آنتی‌اکسیدانی گیاه *Carum copticum* در پایداری روغن بذر کتان در مقایسه با BHT و TBHQ، به اثبات رسید که به دلیل حضور ترکیب تیمول بود [۴۳]. صمدلویی[2] و همکاران در کاری مشابه اثرات آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولیک هسته انار بر روغن سویا را با کنترل تغییرات عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید در طول ۱۲ بررسی کردند. نتایج نشان داد تیمار ppm ۳۵۰ از ترکیبات فنولیک استخراج شده از هسته انار، بیشترین اثر آنتی‌اکسیدانی را دارد [۴۴].

از آن‌جایی که اسانس *Anethum graveolens* در این مطالعه دارای مقادیر بالای ترکیبات اکسیژن‌دار نظیر: د- کارون، دیل‌آپیول، ترانس- دی‌هیدروکارون و سیس- دی‌هیدروکارون و ترکیبات فنولیک نظیر: لینالول، ترپینول، تیمول و کارواکرول است و نیز هر سه آزمون، خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس را تصدیق کرد، می‌توان نتیجه گرفت که اسانس شوید به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی، توانایی واکنش با رادیکال‌های حاصل از اکسیداسیون لیپیدها (L•، LOO•، LO•، OH•، O_2• و غیره) را داشته و موجب قطع واکنش‌های زنجیری و افزایش زمان اکسیداسیون گند و کاهش سرعت اکسیداسیون خودبه خودی می‌شود و می‌توان اسانس شوید را پس از آزمایش‌های تکمیلی به مواد غذایی اضافه کرد.

تشکر و قدردانی

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

[1] Punica granatum
[2] Yasoubi
[3] Fazel

[1] Bera
[2] Samadloiy

Archive of SID
www.SID.ir

منابع

1. Omidbaigi R. Production and Processing of Medicinal Plants. Vol. 3. Astan Quds Razavi Publications. Mashhad. 2000, pp: 48 - 60.

2. Zargari A. Medicinal Plants. Vol. 2. Tehran University Press. Tehran. 1996, pp: 528 - 31.

3. Gupta G. Studies in cultivation and improvement of dill (*Anethum graveolens*) in India. Cultivation and Utilization of Aromatic Plants. New Delhi: CSIR. 1982, pp: 545 - 58.

4. Delaquis PJ, Stanich B, Mazza A and Girard G. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Inter. J. Food Microbiol*. 2002; 74: 101 - 9.

5. Jirovetz L, Buchbauer G, Stoyanova AS, Georgiev EV and Damianova ST. Composition, quality control and antimicrobial activity of the essential oil of longtime stored dill (*Anethum graveolens* L.) seeds from Bulgaria. *J. Agric. Food Chem.* 2003; 51: 3854 - 7.

6. Singh G, Maurya S and Catalan C. Chemical constituents antimicrobial investigations and antioxidant potentials of *Anethum graveolens* essential oil and acetone extract: part 52. *J. Food Sci*. 2005; 70: 208 - 15.

7. Gharib Naseri MK and Haeidari A. Spasmolytic effect of *Anethum graveolens* (dill) fruit extract on rat ileum. *Physiol. Pharmacol*. 2006; 10: 99 - 105.

8. Yazdanparast TR and Alavi M. Antihyperlipidaemic and antihypercholesterolaemic effects of *Anethum graveolens* leaves after the removal of furocoumarins. *Cytobios*. 2001; 105: 185 - 91.

9. Sefidkon F. Essential oil composition of *Anethum graveolens* L. *Iranian Med. Arom. Plants Res*. 2001; 8: 45 - 62.

10. Taher M, Ghannadi A and Karmiyan R. Effects of volatile oil extracts of *Anethum graveolens* L. and *Apium graveolens* L. seeds on activity of liver enzymes in rat. *The J. of Qazvin University of Medicinal Sci.* 2007; 11: 8 - 12.

11. Shrififar F, Moshafi MH and Mansouri S.H. In vitro evalution of antibacterial and antioxidant of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control* 2007; 18: 800 - 5.

12. Singh G, Maurya S and Delampasona MP. A comparison of chemical antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. *Food Chem. Toxicol*. 2007; 45: 1650 - 61.

13. Namiki M. Antioxidants, antimutagens in food. *Critical Rev. Food Sci. Nutr*. 1990; 6: 273 - 300.

14. Kahl R and Kappus H. Toxicity of synthetic antioxidants BHT and BHA in comparison with natural antioxidants vitamin E. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* 1993; 196: 329 - 38.

15. Kulisic T, Radonic A and Katalinic V. Use of different methods for testing antioxidative of oregano essntial oil. *Food Chem*. 2004; 85: 633 - 40.

16. Lee KG and Shibamoto. Determination of antioxidative potential of volatile extracts isolated from various spices and herbs. *J. Agric. Food Chem*. 2002; 50: 4947 - 52.

17. Trouillas P, Calliste CA and Allais DP. Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative properties of sixteen water plant extracts used in the Limousin countryside as herbal teas. *Food Chem.* 2003; 80: 399 - 407.

18. Shahsavari N. Barzegar M, Sahari MA and Naghdibadi H. Antioxidant activity and chemical characterization of essential oil of *Bunium persicum*. *Plant Foods Hum. Nutr.* 2008; 63: 183 - 8.

19. Ruberto G and Baratta MT. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model system. *Food Chem.* 2000; 69: 167 - 74.

Archive of SID
www.SID.ir

20. Andres M, Jose MC and Daniel F. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chem*. 2001; 72: 145 - 71.

21. Bektas T and Munevver SH. Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chem*. 2006; 95: 200 - 4.

22. Mathew S and Abraham E. In vitro antioxidant activity and scavengimg effects of Cinnamomum verum leaf extract assayed by different methodologies. *Food Chem. Toxicol*. 2006; 44: 198 - 206.

23. Abdille MDH, Singh RP and Jayaprakasha GK. Antioxidant activity of the extracts from *dillenia indica* fruits. *Food Chem*. 2005; 90: 891 - 6.

24. Zhang H, Feng Chen. and Xi Wang. Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents. *Food Chem*. 2006; 39: 833 - 9.

25. Anonymous. British Pharmacopoeia. Londan: HMSO. 1988, pp: A137 - 8.

26. Brand-Williams W, Cuvelier ME and Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* 1995; 28: 25 - 30.

27. Parvaneh V. Quality Control and Food Chemical Experiments. (2nd ed.), 1998; p: 325 - 6.

28. Sidewell G, Salwin H, Benca M and Mitchel JA. The use of thiobarbituric acid as a measure of fat oxidation. *J. Am. Oil Chem. Soc*. 1954; 31: 603 - 6.

29. Reichert S and Masandl A. Stereoisomeric flavor conpounds LXXXI: dill ether and its cis-Stereoisomers: synthesis and enantioselective analysis. *J. High Res. Chromatogr*. 21: 185 - 9.

30. Dordevic S and Petrovic S. Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of Carlina acanthifolia root essential oil. *J of Ethnopharmacol*. 2007; 109: 458 – 63.

31. Demirci B, Kosar, M and Demirci F. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of Chaerophyllum libanoticum Boiss. et Kotschy. *Food Chem*. 2007; 105: 1512 – 7.

32. Molyneux PH. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 2004; 26: 211 - 9.

33. Atalay S, Medine G and Dimitra D. The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and methanole extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Chem.* 2004; 15: 627 - 34.

34. Kammal-Eldin A and Appelqvist L. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids* 1996; 31: 671 - 701.

35. Emad S. Antioxidant effect of extracts from red grape seed and peel on lipid oxidation in oils of sunflower. *LWT*. 2006; 39: 883 - 92.

36. Shahid I and Bhanger M. Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. *Food Chem.* 2007; 100: 246 - 54.

37. Shahidi F and Wanasundara UN. Stabilization of canola oil with flavonoids. *Food Chem*. 1994; 50: 393 - 6.

38. Yasoubi P, Barzegar M, Sahari MA and Azizi MA. Total phenolic content and antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel extract. *J. Agric. Sci. Technol*. 2007; 9: 35 - 42.

39. Goli AH, Barzegar M and Sahari MA. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chem*. 2005; 92: 521 - 5.

40. Rajaei A, Barzegar M and Yamini Y. Supercritical fluid extraction of tea seed oil and its comparison with solvent extraction. *Eur. Food Res. Technol*. 2005; 220: 401 - 5.

41. Fazel M, Sahari MA and Barzegar M. Determination of main tea seed oil antioxidant and their effects on common kilka oil. *Inter. Food Res. J.* 2008; 15: 209 - 17.

42. Lagouri V, Blekas G and Tsimidou M. Composition and antioxidant activity of essntial oil

Archive of SID

www.SID.ir

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

43. Bera D and Lahiri AN. Studies on a natural antioxidant for stabilization of edible oil and comparison with synthetic antioxidants. *J. Food Engineering*. 2006; 74: 542 - 5.

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

Archive of SID

www.SID.ir