

## ارزیابی فعالیت ضدآکسایشی اسانس اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) در سامانه روغن خام سویا

محمد طاهانزاد<sup>۱</sup>، محسن بزرگ<sup>۲\*</sup>، محمدعلی سحری<sup>۳</sup>، حسنعلی نقدی‌بادی<sup>۴</sup>

۱- دانش آموخته 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- دانشیار پژوهش، گروه پژوهشی کشت و توسعه، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج

\*آدرس مکاتبه: تهران، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی

صندوق پستی: ۳۳۶ - ۱۴۱۱۵ - ۴۸۲۹۲۲۲۳، تلفن: (۰۲۱) ۴۸۲۹۲۲۰۰، نمبر: (۰۲۱) ۴۸۲۹۲۲۰۰

پست الکترونیک: mbb@modares.ac.ir

تاریخ تصویب: ۹۰/۴/۱۵

تاریخ دریافت: ۸۹/۹/۸

### چکیده

مقدمه: امروزه بررسی امکان جایگزینی سیاری از افزودنی‌های شیمیایی همچون ضدآکساینده‌های سنتزی با ترکیبات مؤثره‌ی گیاهان دارویی مورد توجه محققین قرار گرفته است.

هدف: تعیین اجزای اصلی اسانس اسطوخودوس، ارزیابی فعالیت ضدآکسایشی و قدرت ضدرادیکالی این اسانس با آزمون‌های  $ABTS^{\circ+}$  و  $DPPH^{\circ+}$ .

روش بررسی: اجزای اسانس با  $GC/MS$  شناسایی شدند. فعالیت ضدرادیکالی اسانس مذکور با استفاده از روش‌های مختلف بررسی و در ادامه فعالیت ضدآکسایشی اسانس در روغن خام سویا به روشن آزمون آون مطالعه شد.

نتایج: ۶ ترکیب عمده اسانس، لینالول (۲۷/۸۹ درصد)، کامفور (۱۰/۸۲ درصد)، ۱ و ۸ سین‌آل (۹/۰۵ درصد)، لینالول استات (۸/۸۶ درصد)، بورن‌آل (۷/۲۹ درصد) و آلفا ترپین‌آل (۵/۰۴ درصد) بود.  $EC_{50}$  اسانس اسطوخودوس  $1/۵۸ \pm ۳۵/۵۴$  میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد. در آزمون  $ABTS^{\circ+}$ ، بیشترین فعالیت ضدآکسایشی مربوط به غلظت  $40$  میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسانس بود. در آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتون، بیشترین فعالیت ضدآکسایشی اسانس اسطوخودوس مربوط به غلظت  $10$  میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آن بود که  $54/4$  درصد بازدارندگی از خود نشان داد. در آزمون آون، اسانس توانایی جلوگیری از تولید محصولات اولیه و ثانویه اکسیداسیون، در روغن سویای خام را در سطح غلظتی  $8/0$  میلی‌گرم بر میلی‌لیتر که تقریباً معادل با ضدآکساینده‌ی شیمیایی  $BHA$  در سطح غلظتی  $2/0$  میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است، داشت.

نتیجه‌گیری: اسانس اسطوخودوس دارای فعالیت ضدرادیکالی می‌باشد و با انجام آزمایش‌های تکمیلی می‌توان از آن به عنوان ضدآکساینده طبیعی در مواد غذایی، به ویژه حاوی روغن‌های خوراکی، استفاده نمود.

گل واژگان: اسطوخودوس، فعالیت ضدرادیکالی، فعالیت ضدآکسایشی، بی‌رنگ شدن بتاکاروتون، روغن سویا



## مقدمه

می برند. این ترکیبات به طور گستردۀ در گیاهان وجود داشته و علاوه بر افزایش کیفیت غذایی، از عوامل ایجاد رنگ، طعم و مزه در بسیاری از گیاهان می باشند [۱۱، ۱۰]. به طور کلی امروزه توجه زیادی به خاصیت ضد اکسایشی انسان‌ها و نیز عصاره‌های گیاهی معطوف شده است که همین راستا در تحقیق حاضر به ارزیابی خاصیت ضد اکسایشی مواد مؤثره انسان گیاه دارویی اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) می پردازد.

اسطوخودوس گیاهی از خانواده نعناعیان (Lamiaceae) است که حدائق دارای یک درصد انسان (حجم / وزن) می باشد. این گیاه در بیشتر نقاط دنیا به حالت خودرو می روید و امروزه در برخی از کشورها نیز به طور گستردۀ کشت می شود. انسان این گیاه که از تقطیر گل و سرشاخه‌های گل دار آن به دست می آید، مایعی است بی رنگ یا زرد کم رنگ یا زرد مایل به سبز و دارای بوی معطر مشخص با طعمی نسبتاً تلخ و تند است. در طب سنتی، این گیاه به صورت خوراکی در درمان سردرد، میگرن، دردهای معده ناشی از ناراحتی‌های عصبی و حالات هیجانی و به صورت موضعی در درمان دردهای رماتیسمی کاربرد داشته و در فرآورده‌های آرایشی و بهداشتی به عنوان معطرکننده استفاده می شود [۱۲، ۱۳]. اثر ضد اکسایشی انسان این گیاه در برخی منابع علمی گزارش شده است [۱۵، ۱۴]. خصوصیات درمانی و آرومایی اسطوخودوس را عمدتاً به منوترپین‌های آن نسبت می دهد. منوترپین‌ها دسته‌ای از ترکیبات آلی فرار هستند که بخش عده انسان اسطوخودوس را تشکیل داده و ویژگی‌های آرومایی آن را ایجاد می کنند [۱۶]. معمولاً در بین ترکیب‌های انسان اسطوخودوس حدود ۵۰ - ۴۰ درصد منوترپین‌های مختلف قابل شناسایی است که از میان آنها لینالول، لینالول استات، ۱ و ۸ سینآل، بتا اسیمن، ترپین-۴-آل و کامفور، میزان بالاتری دارند [۱۷، ۱۸]. نسبت موجود میان اجزای منوترپنی تشکیل دهنده این انسان، کیفیت آن را تعیین می کند. به طور مثال انسان‌های با کیفیت بالا در عطرسازی،

رادیکال‌های آزاد، اتم‌ها یا مولکول‌های با الکترون جفت نشده هستند که قادرند به مولکول‌های سامانه‌های زیستی بدن آسیب وارد کرده [۱] و باعث بروز بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان، پیری زودرس و تصلب شرائین شوند [۳، ۲]. این ترکیبات مضر در اثر ارتباط سلول‌های بدن انسان و سایر موجودات زنده با عوامل اکسیدکننده موجود در هوا، آب و غذا و نیز بر اثر فعالیت‌های متابولیکی صورت گرفته در درون سلول به وجود می آیند. به ویژه بخش مهمی از این ترکیبات در اثر اکسیداسیون مواد غذایی به خصوص چربی‌ها، تولید می شوند که این امر نه تنها سلامت مصرف‌کننده را به خطر می اندازد بلکه کاهش کیفیت تغذیه‌ای و ایجاد طعم و بوی نامطبوع را نیز در این غذاها به همراه خواهد داشت [۴].

اثر زیان‌بخش رادیکال‌های آزاد را می توان توسط مواد آنتی اکسیدان کاهش داد چون این مواد، باعث به دام انداختن و مهار تولید رادیکال‌های آزاد می شوند و از این طریق باعث پیشگیری از بیماری‌های احتمالی ناشی از وجود و فعالیت رادیکال‌های آزاد خواهد شد [۵]. هرچند امروزه در صنعت استفاده از ضد اکساینده‌های متعددی از جمله بوتیلات، (Butylated hydroxyl toluene)، Butylated hydroxyl بوتیلات هیدروکسی آنیزول (Tert-butyl anisole) و ترت بوتیل هیدروکینون (hydroquinone) متداول است اما به دلیل اثرات نامطلوب تغذیه‌ای و سرطان‌زا بودن این ترکیبات و نیز تمایل مصرف‌کنندگان به استفاده از ترکیبات طبیعی، استفاده از ضد اکساینده‌های طبیعی مورد توجه محققین قرار گرفته است [۶، ۷، ۸]. اگر چه از دیرباز به منظور پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌ها، استفاده از گیاهان دارویی به طور سنتی در جوامع مختلف معمول بوده است ولی در سال‌های اخیر مطالعه‌های گستردۀ ای در جهت بررسی خواص ضد اکسایشی این گیاهان صورت گرفته است [۹]. امروزه به عنوان یکی از بهترین منابع ضد اکسایشی طبیعی از ترکیبات فولی موجود در گیاهان نام



هیدروکسی آنیزول (BHA) از شرکت سیگما آمریکا و رادیکال ABTS از شرکت فلوکا آلمان تهیه شدند.

### تجزیه اسانس اسطوخودوس توسط GC/MS

دستگاه کروماتوگرافی گازی استفاده شده از نوع HP 6890 (آمریکا) مجهز به ستونی با طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه ۰/۰۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. برنامه‌ی دمایی نیز بدین ترتیب بود: دمای ابتدایی آون ۴۰ درجه سانتی گراد، توقف در این دما ۵ دقیقه، افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سانتی گراد با شیب دمایی  $3^{\circ}\text{C min}^{-1}$ ، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی گراد با شیب دمایی  $15^{\circ}\text{C min}^{-1}$  و توقف در این دما به مدت ۳ دقیقه. دمای محل تزریق و آشکارساز،  $290^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی گراد بود و از گاز هلیوم با سرعت جریان  $ml/min\ 0/8$  به عنوان گاز حامل و از شیوه‌ی شکافته با نسبت ۱:۱۰ استفاده شد. دستگاه گاز کروماتوگراف با مشخصات بالا با ستونی به ابعاد (۳۰ متر در ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه ۰/۰۲۵ 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 طیف‌سنج جرمی،  $70\text{ ktron}\text{ Volt}$  بود. درصد ترکیبات با استفاده از مساحت پیک حاصل از آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای (Flame ionization detector) محاسبه شد. شناسایی پیک‌ها به کمک شاخص بازداری و مقایسه‌ی آنها با مقادیری که در منابع مختلف منتشر گردیده [۲۵] و نیز با استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه رایانه‌ی GC/MS انجام شد.

### سنجهش قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH

در این بررسی فعالیت ضدرادیکالی اسانس مورد مطالعه، با استفاده از رادیکال‌های پایدار DPPH مطابق با روش برند - ویلیامز و همکاران انجام گرفت [۲۶]. به این ترتیب که ۰/۵ میلی لیتر از اسانس مورد آزمون را در غلظت‌های مختلف به

عموماً دارای درصد بالایی از لینالول و لینالول استات هستند، در حالی که افزایش درصد کامفور، اثر منفی بر خصوصیات آرومایی این اسانس دارد. بهترین اسانس‌ها از اسطوخودوس با نسبت لینالول به کامفور بالا استخراج می‌شود [۱۹].

در این تحقیق نیز در نظر است فعالیت ضدرادیکالی و کاربرد آن در صنایع غذایی به عنوان ضداسایشی طبیعی (در روغن خام سویا) مورد ارزیابی قرار گیرد. به منظور بررسی فعالیت ضدرادیکالی این اسانس در دمای اتاق، روش‌های مختلفی وجود دارد. از جمله این روش‌ها می‌توان به آزمون تیوسیانات آمونیوم [۲۰]، آزمون فسفومولیبدنوم [۲۱]، آزمون رادیکال DPPH [۲۲]، آزمون رادیکال کاتیون ABTS [۲۳] و آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتین [۲۴] اشاره کرد. از آنجا که نتایج حاصل از این روش‌ها عموماً مکمل یکدیگر می‌باشند، در این تحقیق نیز از سه روش آزمون رادیکال DPPH، آزمون رادیکال کاتیون ABTS و آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتین استفاده شده است و جهت بررسی کاربرد آن در سامانه روغن خام سویا نیز از آزمون آون کمک گرفته شده است.

## مواد و روش‌ها

### مواد گیاهی

اسانس گیاه اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) از شرکت گیاه اسانس گرگان تهیه شد و ترکیبات تشکیل‌دهنده‌ی آن با دستگاه GC/MS موجود در پژوهشکده گیاهان دارویی ایران تعیین شد.

### مواد شیمیایی

اتانول، کلروفرم، ایزواتکتان، واکنش‌گر فولین - سیوکالت، تتراکلرید کربن، سدیم تیوسولفات، پتاسیم یدید، نشاسته، استیک اسید بی‌آب، نشاسته، تیوباریتوريک اسید (TBA) از شرکت مرک آلمان، رادیکال DPPH، بتاکاروتین، لینولئیک اسید، بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT) و بوتیلات



## تعیین فعالیت ضداکسایشی با آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتون

در این بررسی، آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتون، به روش Zhang و همکاران (۲۰۰۶)، با کمی تغییر انجام گرفت [۲۴] به این ترتیب که ۵ میلی‌گرم بتاکاروتون در ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم حل شد و ۶۰۰ میکرولیتر از محلول تهیه شده به بالن ته‌گردی که حاوی ۴۰ میلی‌گرم لینولئیک اسید و ۴۰۰ میلی‌گرم توئین ۴۰ بود اضافه شد. سپس کلروفرم محلول توسط دستگاه تقطیرکننده چرخان خارج شده و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اشباع از اکسیژن به بالن افروده شد. پس از آن برای تشکیل امولسیون به شدت هم زده شد و ۵ میلی‌لیتر از امولسیون تهیه شده به لوله‌های آزمایش که حاوی ۲۰۰ میکرولیتر از غلاظت‌های مختلف اسانس و استاندارد BHA بود، اضافه شد و بلافاصله در زمان صفر جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۰ نانومتر خوانده شد. در نهایت درب لوله‌های آزمایش بسته شد و پس از قرار گرفتن این نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط، جذب آنها در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد و فعالیت ضداکسایشی آنها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$\%I = [1 - (A_{s(24)} - A_{s(0)}) / (A_{c(24)} - A_{c(0)})] \times 100$$

در این رابطه:

$$A_{s(24)} = \text{میزان جذب نمونه بعد از ۲۴ ساعت}; A_{s(0)} = \text{میزان جذب نمونه در زمان شروع}; A_{c(24)} = \text{میزان جذب شاهد بعد از ۲۴ ساعت}; A_{c(0)} = \text{میزان جذب شاهد در زمان شروع}$$

$$\%I = \text{درصد بازدارندگی می‌باشد.}$$

## بررسی فعالیت ضداکسایشی اسانس مورد آزمون در روغن خام سویا

اسانس اسطوخودوس در پنج تیمار (در سطح‌های ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ ppm) و ضداکساینده‌های شیمیایی BHT و BHA، هر یک در دو تیمار (در سطح‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm) به روغن سویای بدون ضداکساینده در شیشه‌های

میلی‌لیتر از محلول متانولی  $6 \times 10^{-5}$  مولار رادیکال آزاد DPPH افزوده، ۶۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری کرده و سپس جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. همچنین از یک نمونه حاوی ۰/۵ میلی‌لیتر متانول به همراه ۲ میلی‌لیتر محلول DPPH، به عنوان نمونه کنترل استفاده شد و حلال متانول برای صفر کردن دستگاه طیف نورسنج مورد استفاده قرار گرفت. آزمایش در سه تکرار انجام شد و میزان (Radical scavenging activity) با استفاده از فرمول زیر تعیین شد:

$$\% RSA = [1 - ((A_{control} - A_{sample}) / A_{control})] \times 100]$$

در این رابطه:

$$A_{sample} = \text{میزان جذب نمونه}; A_{control} = \text{میزان جذب شاهد}; RSA = \text{فعالیت گیرنده رادیکال است.}$$

## آزمون رادیکال کاتیون ABTS

در این بررسی برای تهیه رادیکال پایدار ABTS، ابتدا یک محلول ۷ مولار ABTS در آب مقطر تهیه شد و سپس این محلول توسط پتاسیم پرسولفات، اکسید شده و محلول به دست آمده به مدت ۱۶ – ۱۲ ساعت در تاریکی قرار گرفت [۲۷]. بعد از گذشت این زمان، محلول رادیکال کاتیون به دست آمده به وسیله اتانول خالص، ۵۰ بار رقیق و سپس از آن استفاده شد. به این ترتیب که در هر یک از لوله‌های آزمایش آمده شده، ۱ میلی‌لیتر از این محلول ریخته شد و آنگاه ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه ضداکساینده به آنها اضافه شد و بعد از گذشت ۱۵ دقیقه جذب آنها در طول موج ۷۳۴ نانومتر خوانده شد. همچنین به یکی از لوله‌های آزمایش نیز به جای نمونه، اتانول اضافه شده (به عنوان کنترل) و جذب آن در لحظه اول و نیز بعد از گذشت ۱۵ دقیقه خوانده شد. سپس درصد بازدارندگی نمونه موردنظر از طریق فرمول زیر محاسبه و در نهایت به صورت ظرفیت ضداکسایشی معادل آسکوربیک اسید گزارش شد [۲۸].

$$\% I = (A_{b(15)} - A_{s(15)}) / A_{b(15)} \times 100$$

$$A_{b(15)} = \text{میزان جذب شاهد بعد از ۱۵ دقیقه}; A_{s(15)} = \text{میزان جذب نمونه بعد از ۱۵ دقیقه}; \% I = \text{درصد بازدارندگی}$$



توسط ایزواکتان به حجم رسانده شد بعد از آن جهت حل شدن بهتر روغن در حلال (ایزواکتان)، بالن حجمی به شدت هم زده شد. سپس هر نمونه در سلول کوارتزی ریخته و در دستگاه طیف نورسنج قرارداده شد و جذب آن در طول موج ۲۳۳ نانومتر خوانده شد و درنهایت میزان دیانهای مزدوج موجود در نمونه از طریق فرمول زیر به دست آمد:

$$E_{1\text{cm}}^{1\%} = \frac{A_\lambda}{(c_L \times l)}$$

$E =$  میزان میکرومول، دیانهای مزدوج موجود در نمونه در هر گرم از نمونه؛  $A_\lambda =$  میزان جذب نمونه در ۲۳۳ نانومتر؛  $C_L =$  میزان گرم نمونه روغنی موجود در ۱۰۰ میلی لیتر آب محلول تهیه شده (نمونه روغنی در ایزواکتان)؛  $l =$  طول سلول کوارتزی بر حسب سانتی متر.

### تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS و رسم نمودارها با نرم‌افزار EXCEL صورت گرفت. همچنین طرح آماری کاملاً تصادفی مورداستفاده قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش حداقل تفاوت‌های معنی‌دار (LSD) انجام شد. تمامی نتایج به صورت میانگین سه تکرار  $\pm$  انحراف معیار بیان شده است.

### نتایج

بررسی ترکیبات شیمیابی انسان اسطوخودوس با شناسایی پیکهای به دست آمده توسط دستگاه کروماتوگرافی به کمک شاخص بازداری و مقایسه‌ی آنها با مقادیری که در منابع مختلف منتشر شده [۲۵] و نیز با استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه رایانه‌ی GC/MS، ۴۷ ترکیب در مجموع ۹۹/۹۹ درصد در انسان اسطوخودوس شناسایی شد که ترکیبات عمده آن با مقادیر بیش از ۱ درصد در جدول شماره ۱ آورده شده است. شش ترکیب اصلی این انسان عبارت از لینالول (۲۷/۸۹ درصد)، کامفور (۱۰/۸۲ درصد)،

مخصوص اضافه شد و درب شیشه‌ها بسته شد. سپس نمونه‌ها به همراه شاهد (روغن سویا خام)، به مدت ۲۰ روز در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و در روزهای ۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ عدد پراکسید، تیوباربیتوریک اسید و مقدار دیانهای مزدوج تولید شده در آنها اندازه‌گیری شد.

### روش تعیین عدد پراکسید روغن

پنج گرم روغن در اrlenی ۳۰۰ میلی‌لیتری وزن شده و ۳۰ میلی‌لیتر محلول استیک اسید - کلروفرم به آن اضافه شد و به هم زده شد تا روغن کاملاً حل شود. نیم میلی‌لیتر محلول پتاسیم یدید اشباع اضافه شده و پس از یک دقیقه ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و با سدیم تیوسولفات ۰/۰۱ نرمال تا از بین رفنگ زرد تیتر شد. سپس نیم میلی‌لیتر شناساکر نشاسته اضافه شد و تیتراسیون تا از بین رفنگ آبی ادامه یافت. همراه با نمونه، تیتراسیون شاهد (در مورد نمونه شاهد تمام محلول ها به جز روغن به اrlen اضافه شد) نیز ضروری است [۲۹].

### روش تعیین عدد اسید تیوباربیتوریک

یک گرم روغن در ۱۰ میلی‌لیتر تتراکلریدکربن حل شده و به آن ۱۰ میلی‌لیتر محلول اسید تیوباربیتوریک اضافه شد، سپس به مدت ۵ دقیقه در سانتریفوژ با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد، سپس قسمت آبکی آن جدا شد و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت و پس از آن میزان جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری شد.

اندیس اسید تیوباربیتوریک براساس رابطه زیر محاسبه شد [۲۹]:

$$E_{1\text{cm}}^{1\%} = \frac{e}{d.a}$$

e: جذب نوری اندازه‌گیری شده؛ d: ضخامت سل نوری؛ a: وزن نمونه بر حسب گرم.

### تعیین مقدار دیانهای مزدوج

ابتدا ۰/۰۳ - ۰/۰۱ گرم از هرکدام از نمونه‌های روغنی تهیه شده درون بالنهای حجمی ۲۵ میلی‌لیتری توزین شد و سپس



[۳۰]. در مطالعه حاضر شاخص  $EC_{50}$  برای اسانس اسطوخودوس  $35/54 \pm 1/58$  میلی‌گرم بر کیلوگرم به دست آمد.

### بررسی خاصیت آنتی‌رادیکالی با آزمون ABTS

در این آزمون، رادیکال کاتیون‌های ABTS با ضداکساینده‌ها 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 جذب در طول موج  $517 - 515$  کاهش می‌یابد. لذا هرچه میزان جذب، که بیانگر مقدار DPPH<sup>°</sup> باقیمانده است بیشتر باشد، بیانگر کمتر بودن فعالیت ضداکساینده‌ها در حذف رادیکال‌های آزاد است. شکل شماره ۱ قدرت اسانس اسطوخودوس را در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH نشان می‌دهد. همان‌طور که از نمودار مشخص است با افزایش غلظت اسانس، اثر ضدرادیکالی آن افزایش می‌یابد. فاکتور EC<sub>50</sub> نسبت معکوسی با فعالیت ضداکسایشی اسانس‌ها دارد

او ۸ سین‌آل (۹/۰۵ درصد)، لینالول استات (۸/۸۶ درصد)، بورن‌آل (۷/۲۹ درصد) و آلفا ترپین‌آل (۵/۰۴ درصد) می‌باشند.

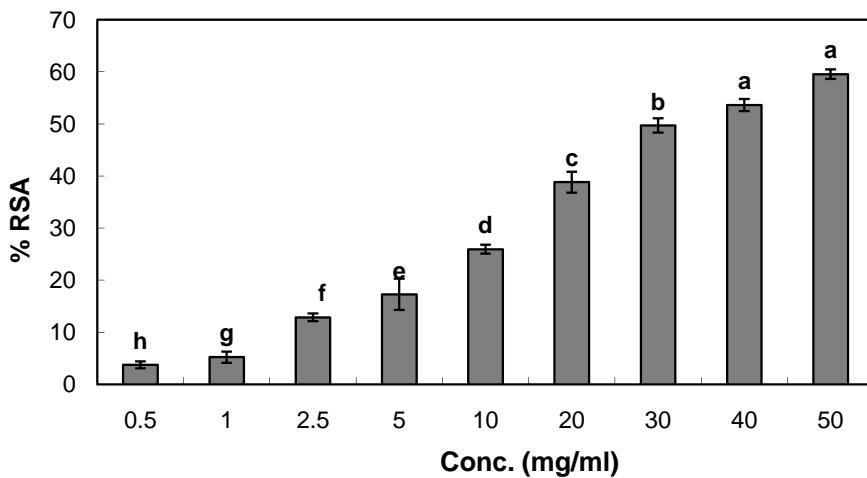
### قدرت مهار کنندگی رادیکال DPPH

در این آزمون رادیکال‌های DPPH با ضداکساینده‌ها یا دیگر گونه‌های رادیکالی واکنش داده و به شکل کاهش یافته درمی‌آید و رنگ آن از بنفش تیره به زرد روشن تبدیل شده و در نتیجه جذب در طول موج  $517 - 515$  کاهش می‌یابد. لذا هرچه میزان جذب، که بیانگر مقدار DPPH<sup>°</sup> باقیمانده است بیشتر باشد، بیانگر کمتر بودن فعالیت ضداکساینده‌ها در حذف رادیکال‌های آزاد است. شکل شماره ۱ قدرت اسانس اسطوخودوس را در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH نشان می‌دهد. همان‌طور که از نمودار مشخص است با افزایش غلظت اسانس، اثر ضدرادیکالی آن افزایش می‌یابد. فاکتور EC<sub>50</sub> نسبت معکوسی با فعالیت ضداکسایشی اسانس‌ها دارد

جدول شماره ۱- ترکیبات عمدی (بیش از ۱ درصد) تشکیل دهنده اسانس اسطوخودوس (تعیین شده با روش GC/MS)

شماره	نوع ترکیب	شاخص بازداری	درصد
۱	1,8-cineole	۱۰۲۹	۹/۰۵
۲	linalool oxide cis	۱۰۷۱	۳/۱۲
۳	linalool oxide trans	۱۰۸۶	۲/۱۱
۴	linalool	۱۱۰۵	۲۷/۸۹
۵	maltool	۱۱۰۸	۳/۴۶
۶	borneol	۱۱۶۶	۷/۲۹
۷	camphor	۱۱۴۳	۱۰/۸۲
۸	granyl acetate	۱۳۸۳	۲/۴۱
۹	$\alpha$ -terpineol	۱۱۹۱	۵/۰۴
۱۰	hexyl Butyrate	۱۱۹۲	۱/۸۳
۱۱	linalool acetate	۱۲۵۱	۸/۸۶
۱۲	lavandulyl acetate	۱۲۹۰	۱/۷۹
۱۳	$\alpha$ -bisabolo	۱۶۸۵	۱/۵۶
۱۴	$\alpha$ -terpinyl acetate	۱۳۶۴	۱/۲۰
۱۵	caryophyllene oxide	۱۵۸۲	۱/۳۶
جمع		۸۷/۷۹	





شکل شماره ۱- رابطه‌ی میان فعالیت حذف رادیکال آزاد DPPH با غلظت اسانس اسطوخودوس. نتایج میانگین سه تکرار  $\pm$  انحراف معیار است.  
حروف مختلف پیانگر اختلاف معنی دار در سطح ۹۵ درصد است. (فعالیت حذف کنندگی رادیکال = RSA)

محدوده غلظتی ۰/۰۵ تا ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (هشت تیمار) تهیه شده و میزان فعالیت ضدآکسایشی آن با دو سطح غلظتی BHA ۰/۰۲ و ۰/۰۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از ضدآکساینده ستزی BHA (به عنوان کنترل مثبت)، مقایسه شد. با توجه به شکل شماره ۲ می‌توان دریافت که در این محدوده غلظتی، ارتباط مستقیمی میان غلظت اسانس اسطوخودوس با میزان فعالیت ضدآکسایشی آن وجود داشته و با افزایش غلظت، فعالیت ضدآکسایشی نیز افزایش یافته است. همان‌طور که در شکل نیز مشخص است در این آزمون، فعالیت رادیکال‌زدایی BHA در هر دو سطح غلظتی ۰/۱ و ۰/۰۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (به ترتیب ۷۴/۰ و ۷۸/۰ درصد)، در مقایسه با نمونه‌های تهیه شده از اسانس مورد آزمون، بیشتر بود و بعد از آن، بیشترین فعالیت ضدآکسایشی مربوط به غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسانس اسطوخودوس (۵۶/۴ درصد) بود. البته کمترین میزان فعالیت را هم سطح غلظتی ۰/۰۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از اسانس (۱۱/۸ درصد) نشان داد.

فعالیت ضدآکسایشی اسانس اسطوخودوس در روغن خام سویا برای بررسی راحت‌تر فعالیت ضدآکسایشی اسانس در روغن خام سویا، تنها نتایج روز بیستم با یکدیگر مقایسه شده

نتایج ثبت شده در جدول شماره ۲، مشخص شد در محدوده غلظتی ۱۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، رابطه‌ای مستقیم و خطی بین غلظت اسانس اسطوخودوس و قدرت آن در مهار رادیکال‌های ABTS وجود ندارد زیرا در ابتدا با افزایش غلظت اسانس تا ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، قدرت ضدرادیکالی اسانس مذکور افزایش یافت ولی در ادامه با رسیدن غلظت آن به ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، کاهش شدید در قدرت ضدرادیکالی این اسانس مشاهده شد که این پدیده را می‌توان ناشی از خاصیت پراکسیدانی این اسانس دانست چرا که برخی از مواد حاوی ترکیب‌های فنولی در غلظت‌های بالا، خاصیت پراکسیدانی نشان می‌دهند [۳۱].

#### آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتون

از آنجاکه ضدآکساینده‌ها، رادیکال‌های حاصل از اکسیداسیون اسید لینولئیک را مهار می‌کنند، از برهم‌کنش بین این رادیکال‌ها و بتاکاروتون جلوگیری کرده و در نتیجه از کاهش رنگ بتاکاروتون در اثر این واکنش، می‌کاهند. بنابراین بین قدرت ضدآکسایشی مواد شرکت کننده در این آزمون و میزان جلوگیری از کاهش رنگ بتاکاروتون، رابطه مستقیمی وجود دارد. در مطالعه حاضر از اسانس اسطوخودوس در



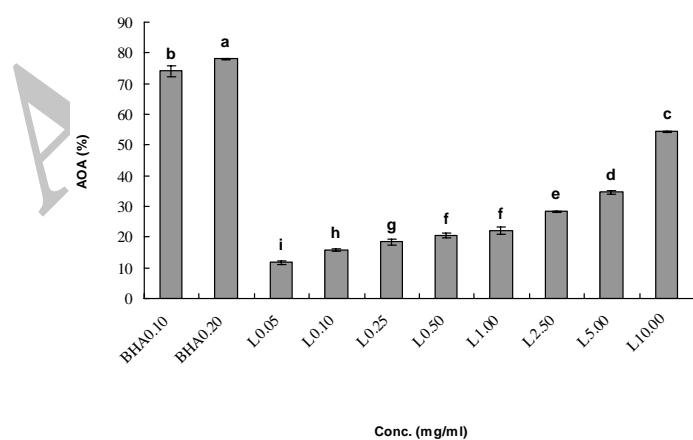
بیشترین اثرات ضداکسایشی بودند به‌طوری‌که قدرت ضداکسایشی این اسانس در سطح ۲۰۰ ppm معادل با ضداکساینده سنتزی BHA در هر دو سطح غلظتی آن بود همچنین غلظت ۱۰۰۰ ppm این اسانس نیز معادل با ضداکساینده سنتزی BHA در سطح غلظتی ۲۰۰ ppm و همچنین ضداکساینده سنتزی BHT در هر دو سطح غلظتی آن عمل کرد. سایر سطوح غلظتی این اسانس نیز همگی فعالیت ضداکسایشی معادل با ضداکساینده سنتزی BHT در هر دو سطح غلظتی از خود نشان دادند (در سطح ۱/۰ درصد اختلاف معنی‌دار دیده نشد).

است. در روز بیستم، با توجه به نتایج مندرج در جدول شماره ۳ و بررسی و کنترل تغییرات عدد پراکسید، اختلاف معنی‌دار میان هر یک از سطوح غلظتی اسانس و دو ضداکساینده شیمیایی BHA و BHT و نمونه‌ی شاهد، مشاهده شد. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود، عدد پراکسید روغن وابسته به غلظت تیمارها است ولی یک رابطه خطی بین غلظت تیمارها و عدد پراکسید روغن دیده نشد و می‌توان گفت که اسانس اسطوخودوس در تمام سطوح غلظتی مورد استفاده در این آزمون دارای خاصیت ضداکسایشی بوده و سطوح غلظتی ۸۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰ و ۱۰۰۰ ppm آن به ترتیب دارای

جدول شماره ۲- درصد بازدارندگی و ظرفیت ضداکسایشی معادل آسکوربیک اسید غلظت‌های مختلف اسانس اسطوخودوس

غلظت (mg/ml)	درصد بازدارندگی (mg/ml)	ظرفیت ضداکسایشی معادل آسکوربیک اسید (mg/ml)
۱۰	۲۳/۵۴ ± ۲/۲۳	۰/۰۵ ± ۰/۰۱ <sup>d</sup>
۲۰	۵۰/۳۲ ± ۴/۰۷	۰/۰۹ ± ۰/۰۱ <sup>c</sup>
۳۰	۵۹/۹۸ ± ۰/۳۵	۰/۱۲ ± ۰/۰۰ <sup>b</sup>
۴۰	۶۶/۰۵ ± ۰/۷۶	۰/۱۳ ± ۰/۰۰ <sup>a</sup>
۵۰	۲۴/۲۸ ± ۲/۰۱	۰/۰۳ ± ۰/۰۰ <sup>e</sup>

\*داده‌ها میانگین سه تکرار ± انحراف میار است. حروف مشابه در یک ستون نمایانگر عدم اختلاف معنی‌دار است.



شکل شماره ۲- مقایسه‌ی فعالیت ضداکسایشی اسانس اسطوخودوس با ضداکساینده سنتزی BHA توسط آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن. نتایج میانگین سه تکرار ± انحراف میار است. حروف مختلف بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است.



جدول شماره ۳- مقایسه میانگین عده‌های پراکسید TBA (meq MDA/kg oil) و دی ان مزدوج

\* تیمارها در روز بیستم  $\mu\text{mol CD/g oil}$ 

نتایج		تیمارها	
دی ان مزدوج	TBA عدد	عدد پراکسید	تیمارها
۸/۰۴ ± ۰/۲۸ a	۰/۷۹ ± ۰/۲۰ b	۲۹/۹۳ ± ۲/۰۸ a	Control
۷/۰۸ ± ۰/۰۳ de	۰/۷۸ ± ۰/۰۶ b	۲۴/۳۷ ± ۳/۶۱ bcd	L200
۷/۲۱ ± ۰/۱۳ de	۰/۸۰ ± ۰/۰۳ b	۲۵/۷۷ ± ۰/۴۰ bc	L400
۷/۶۶ ± ۰/۲۵ bc	۰/۹۳ ± ۰/۰۶ a	۲۷/۷۷ ± ۲/۵۰ ab	L600
۷/۱۷ ± ۰/۲۶ de	۰/۸۰ ± ۰/۰۵ cd	۱۹/۱۷ ± ۲/۷۳ f	L800
۶/۴۱ ± ۰/۳۱ cd	۰/۷۴ ± ۰/۰۳ b	۲۳/۴۰ ± ۱/۴۸ cde	L1000
۵/۹۹ ± ۰/۱۴ de	۰/۷۶ ± ۰/۰۱ bcd	۱۸/۵۷ ± ۱/۲۹ f	BHA100
۷/۲۱ ± ۰/۲۶ de	۰/۷۹ ± ۰/۰۴ b	۲۰/۷۷ ± ۱/۲۲ ef	BHA200
۶/۸۶ ± ۰/۱۹ b	۰/۷۲ ± ۰/۰۱ bc	۲۴/۳۳ ± ۱/۴۰ bcd	BHT100
۶/۳۰ ± ۰/۲۸ cde	۰/۷۰ ± ۰/۰۴ bcd	۲۴/۰۳ ± ۰/۶۱ bcd	BHT200

\* حروف غیر مشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار تیمارها در سطح ۱٪ درصد است. داده‌ها میانگین سه تکرار ± انحراف معيار است.

در تحقیق حاضر این آزمون نیز انجام گرفت. در ستون دوم جدول شماره ۳ مقایسه‌ی میانگین عدد تیوباریتوریک اسید (بر حسب میلی اکتوالان مالون آلدهید در کیلوگرم روغن) حاصل از تیمارهای مختلف را در روز ۲۰ نشان می‌دهد. با توجه به نتایج مندرج در جدول شماره ۳، اختلاف معنی‌دار میان غلظت‌های مختلف انسانس با هم و نیز بین سطوح غلظتی انسانس و دو ضدآکساینده شیمیایی BHA و BHT و نمونه‌ی شاهد مشاهده می‌شود. همان‌طورکه ملاحظه می‌شود، عدد TBA روغن، همانند عدد پراکسید، واپسی به غلظت تیمارها است ولی همانند آنچه که در مورد عدد پراکسید مشاهده شد در این جا نیز یک رابطه خطی میان افزایش غلظت انسانس مورد ارزیابی با میزان عدد TBA مشاهده نمی‌شود. در مورد نتایج عدد TBA به دست آمده از ارزیابی اثر ضدآکسایشی انسانس اسطوخودوس نیز همچون آزمون عدد پراکسید، باز هم بیشترین فعالیت ضدآکسایشی مربوط به غلظت ۸۰۰ ppm بود که فعالیت ضدآکسایشی آن معادل با فعالیت ضدآکسایشی ضدآکساینده ستزی BHA در سطح غلظتی ۱۰۰ ppm و همچنین معادل با ضدآکساینده ستزی BHT در هر دو سطح

به طور کلی بررسی نتایج به دست آمده از آزمون پراکسید در روز بیستم نشان داد که بیشترین خاصیت ضدآکسایشی در بین غلظت‌های مختلف انسانس مورد استفاده مربوط به غلظت ۸۰۰ ppm انسانس اسطوخودوس بوده به طوری که انسانس در این سطح غلظتی، معادل با ضدآکساینده ستزی BHA در هر دو سطح غلظتی آن و برتر از سطح غلظتی مورد استفاده از ضدآکساینده ستزی BHT عمل کرده است. همچنین با توجه به آزمون انجام گرفته می‌توان دریافت که اثرات ضدآکسایشی BHA در هر دو سطح غلظتی ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm در این دو سطح جلوگیری از تشکیل پراکسید بیشتر از BHT در هر دو سطح می‌باشد.

عدد پراکسید به تنها یک 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 نظری تعیین عدد TBA (مقدار مالونآلدهید موجود در یک کیلوگرم روغن) که شاخصی از میزان توسعه اکسیداسیون و تولید محصولات ثانویه این واکنش می‌باشد، ضروری به نظر می‌رسد. از این رو



نشان داد، سطوح غلظتی ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ ppm از این انسانس، از فعالیت ضداکسایشی معادل با غلظت ۲۰۰ ppm و قوی‌تر از غلظت ۱۰۰ ppm از ضداکساینده سنتزی BHT برخوردارند. همچنین غلظت ۶۰۰ ppm این انسانس نیز فعالیت ضداکسایشی معادل با BHT در سطح غلظتی ۱۰۰ ppm دارا می‌باشد. بر اساس نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر، انسانس اسطوخودوس در سطح غلظتی ppm ۸۰۰ معادل ضداکساینده سنتزی BHT در سطح غلظتی ppm ۲۰۰ عمل می‌کند.

## بحث

در سال ۲۰۰۰ Dimitra و همکاران انسانس اسطوخودوس را تجزیه کرده و ترکیبات آن را مورد شناسایی قرار دادند و اعلام کردند عملده‌ترین ترکیبات این انسانس به ترتیب مربوط به لینالول (۴۴/۵ درصد)، لینالیل استات (۳۲/۷ درصد) و ۸/۱ سین‌آل (۴/۸ درصد) می‌باشد [۳۰]. Morgan و همکاران (۲۰۰۶) بیشترین ترکیبات موجود در انسانس اسطوخودوس را به ترتیب لینالیل استات و لینالول گزارش کردند [۳۱]. در بررسی دیگر، Shaw و همکاران (۲۰۰۷)، اجزای تشکیل دهنده انسانس اسطوخودوس را با GC و GC/MS مورد شناسایی قرار داده و اعلام کردند که لینالول و لینالیل استات به ترتیب دو ترکیب عملده‌ی موجود در انسانس این گیاه است [۳۲]. تفاوت موجود در نوع ترکیبات اصلی و درصد آنها در انسانس اسطوخودوس را می‌توان به تفاوت در شرایط اقلیمی و رشد گیاه، زمان برداشت، مدت زمان نگهداری و نحوه انسانس‌گیری از آن نسبت داد.

EC<sub>50</sub> بیانگر مقدار میلی‌گرم انسانس است که قادر به حذف ۵۰ درصد از رادیکال DPPH موجود در محیط است. EC<sub>50</sub> به طور معکوس با فعالیت آنتی‌رادیکالی ترکیب‌ها در ارتباط است، هر چه EC<sub>50</sub> کمتر باشد فعالیت ضدرادیکالی بیشتر است. Abbas و همکاران (۲۰۰۶) EC<sub>50</sub> عصاره متانولی ریحان و آسکوربیک اسید را به ترتیب ۰/۱۹۰ و ۰/۰۰۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش کردند [۳۳]. در بررسی دیگر

غلظتی آن بود. ولی غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰ و ۱۰۰۰ ppm انسانس فاقد قدرت ضداکسایشی بودند و میزان عدد TBA آنها در سطح ۰/۱ درصد، اختلاف معنی‌داری با نمونه شاهد نداشت. همچنین غلظت ۶۰۰ ppm انسانس اسطوخودوس در این آزمون از خود خاصیت پراکسیدانی نشان داد. با توجه به نتایج به دست آمده از این آزمون می‌توان گفت در بین همه تیمارها، تنها غلظت ۸۰۰ ppm آن دارای خاصیت ضداکسایشی بوده و همچنین تنها غلظت این انسانس که اثر پراکسیدانی از خود نشان داد، ppm ۶۰۰ بود و سایر سطوح غلظتی آن فاقد اثر ضداکسایشی یا پراکسیدانی بودند.

یکی دیگر از روش‌هایی که جهت بررسی مراحل اولیه اکسیداسیون می‌توان از آن استفاده کرد، تعیین میزان دی‌ان‌های مزدوج تولید شده است که افزایش در میزان تولید این محصولات شاخصی از پیشرفت مراحل اولیه اکسیداسیون می‌باشد. همچنین از آنجاکه این آزمون نیز همانند آزمون تعیین عدد پراکسید، عددتاً محصولات تولیدی در مراحل اولیه اکسیداسیون را مورد ارزیابی قرار می‌دهد لذا وجود این دو آزمون در کنار هم می‌تواند یک نقش مکمل داشته باشد. لذا در تحقیق حاضر از این آزمون نیز استفاده شد. ستون سوم جدول ۳ مقایسه‌ی میانگین میزان دی‌ان‌های مزدوج تولیدی حاصل از تیمارهای مختلف را در روز ۲۰ نشان می‌دهد.

همان‌طور که از جدول شماره ۳ مشخص است اختلاف معنادار میان غلظت‌های مختلف انسانس با هم و نیز بین سطوح غلظتی متفاوت انسانس و ضداکساینده شیمیایی BHT و BHA و نمونه‌ی شاهد مشاهده می‌شود. همان‌طور که مشخص است، میان میزان دی‌ان‌های مزدوج تولیدی در حضور غلظت‌های مختلف انسانس و ضداکساینده‌های سنتزی، اختلاف معنی‌داری وجود دارد. همچنین در بین غلظت‌های مختلف انسانس اسطوخودوس، به ترتیب غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ پیشترین میزان فعالیت ضداکسایشی را به خود اختصاص داده‌اند و باز هم در اینجا همچون دو آزمون گذشته کمترین فعالیت ضداکسایشی در بین سطوح مختلف غلظتی این انسانس، مربوط به غلظت ۶۰۰ ppm بود. نتایج به دست آمده

طی مطالعه‌ای روی خواص ضداکسایشی اسانس شوید، اعلام کردند این اسانس در غلظت ۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم فعالیت ضداکسایشی مشابه با BHT در غلظت ۰/۱ درصد دارد [۳۵]. شهسواری (Shahsavari) و همکاران فعالیت ضداکسایشی اسانس *Zataria multiflora* را در روغن سویای خام، در شرایط دمایی تسريع شده (۶۰ درجه سانتی‌گراد)، به مدت ۳۲ روز، با کنترل دو عدد پراکسید و تیوباریتوريک اسید بررسی کردند. نتایج نشان داد که این اسانس در سطح غلظتی ۰/۱ درصد، دارای اثر ضداکسایشی معادل با ضداکساینده شیمیایی BHA در غلظت ۰/۰۲ درصد است و توانایی کاهش سرعت اکسیداسیون در روغن را دارد [۸]. فعالیت ضداکسایشی عصاره‌ی پوست انار (*Punica granatum*) توسط یاسوبی (Yasoubi) و همکاران در سال ۲۰۰۷ در روغن سویا، در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد بررسی شد. نتایج حاکی از آن بود که عصاره‌ی استونی پوست انار در سطح غلظتی ۰/۰۵ درصد اثرات ضداکسایشی بالاتری در مقایسه با ضداکساینده‌های BHT و BHA و سطح غلظتی ۰/۰۲ درصد دارد [۶]. در دیگر تحقیق انجام گرفته توسط فاضل (Fazel) و همکاران، اثرات ضداکسایشی دو روغن کنجد و بذر چای در دو سطح ۵، ۱۰ درصد، در روغن ماهی کیلکا، با استفاده از آزمون آون بررسی شد. تغییرات عدد پراکسید و تیوباریتوريک اسید در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۳ روز، نشانگر فعالیت ضدرادیکالی این دو روغن بود [۳۴]. سینگ (Singh) و همکاران، اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس برگ دارچین را در روند اکسیداسیون روغن خردل و تشکیل پراکسید و تیوباریتوريک اسید مورد بررسی قرار دادند و نتایج حاکی از آن بود که اسانس در سطح غلظتی ۰/۰۲ درصد اثرات قوی‌تری نسبت به BHT، BHA و پروپیل‌گلات دارد [۳۷]. صمدلویی (Samadloiy) و همکاران در کاری مشابه اثرات ضداکسایشی ترکیبات فنولیک هسته‌ی انار بر روغن سویا را با کنترل تغییرات عدد پراکسید و تیوباریتوريک اسید در طول ۱۲ بررسی کردند. نتایج نشان داد تیمار ۳۵۰ ppm از ترکیبات

فاضل و همکاران (۲۰۰۷) فعالیت ضدرادیکالی اسانس آویشن شیرازی و مرزه را با روش DPPH<sup>°</sup> تعیین کرده و مقادیر EC<sub>50</sub> اسانس‌های مورد مطالعه را به ترتیب ۸/۹ و ۵/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم به دست آوردن [۳۴]. در تحقیقی دیگر شهسواری و همکاران (۲۰۰۸) فعالیت ضداکسایشی اسانس آویشن شیرازی را بررسی کرده و EC<sub>50</sub> این اسانس را ۲/۲۲ ± ۰/۰۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم محاسبه کردند [۸]. همچنین عیوقی و همکاران (۲۰۰۹) میزان EC<sub>50</sub> را برای اسانس شوید و BHT (به عنوان کنترل مثبت) به ترتیب ۱/۵۲ ± ۰/۰۱ و ۲/۵۷ ± ۰/۰۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش کردند [۳۵]. در مطالعه‌ای ژانگ (Zhang) و همکاران در سال ۲۰۰۶، مقدار EC<sub>50</sub> اسانس جعفری را ۸۰/۲۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم تعیین کردند که نشان‌دهنده‌ی فعالیت آنتی‌رادیکالی پایین آن است [۳۶]. با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه و سایر پژوهش‌های ذکر شده، مشخص است که که اسانس اسطوخودوس از فعالیت ضدرادیکالی نسبتاً خوبی در مقایسه با برخی از گزارش‌های موجود برخوردار است. در ضمن باید توجه داشت که در مورد اسانس حاضر خالص‌سازی انجام نشده است و علاوه بر اجزای مؤثر ترکیب‌های دیگری نیز حضور دارند که بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی اثر می‌گذارند، لذا اگر جداسازی و خالص‌سازی صورت گیرد و تأثیر اجزای مؤثره خالص شده‌ی آن مطالعه شود، ممکن است به غلظت‌های بسیار کمتری از این اسانس نیاز باشد.

همان‌طور که در شکل شماره ۲ مشخص است با افزایش غلظت اسانس اسطوخودوس، میزان فعالیت ضداکسایشی آن افزایش نشان می‌یابد که این امر می‌تواند ناشی از تأثیر افزایش درصد مواد مؤثره و نیز افزایش میزان فنول کل آنها باشد. چرا که ثابت شده ترکیبات فنولی دارای فعالیت ضداکسایشی قابل ملاحظه‌ای هستند [۷]. ژانگ در مطالعه‌ای مشابه، اعلام کرد که اسانس گیاه *Petroselinum crispum* در غلظت ۰/۵۱۲ درصد فعالیت ضداکسایشی نزدیک با BHT در غلظت ۰/۰ درصد دارد [۲۴]. همچنین عیوقی و همکاران (۲۰۰۹) در



به خودی می‌شود و می‌توان آن را پس از آزمایش‌های تکمیلی به مواد غذایی اضافه کرد.

## تشکر و قدردانی

در پایان از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس و نیز قطب علمی مهندسی بازیافت و کاهش ضایعات محصولات کشاورزی به دلیل مساعدت در انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌نماید.

فنولیک استخراج شده از هسته‌ی انار، بیشترین اثر ضدآکسایشی را دارد [7].

از آنجایی که انسانس اسطوخودوس دارای مقادیر قابل توجه ترکیبات فنولیک است و نیز هر سه آزمون، خاصیت ضدآکسایشی انسانس را تصدیق کرد، می‌توان نتیجه گرفت که این انسانس به عنوان ضدآکساینده طبیعی، توانایی واکنش با رادیکال‌های حاصل از اکسیداسیون لیپیدها (LO<sup>•</sup>, LO<sub>2</sub><sup>•</sup>, OH<sup>•</sup> و غیره) را داشته و موجب قطع واکنش‌های زنجیری و افزایش زمان اکسیداسیون و کاهش سرعت اکسیداسیون خود

## منابع

- Thomas MJ. The role of free radicals antioxidants. *AJCN*. 2000; 16: 716 - 24.
- Flanagan J. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAP) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A comparative study. *J. Agric. Food Chem.* 2002; 50: 3122 - 8.
- Gil MI and Kaber AA. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. *J. Agric. Food Chem.* 2002; 50: 4976 - 82.
- Bektas T and Munevver SH. Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chem.* 2006; 95: 200 - 4.
- Kris-Etherton PM, Hecker KD, Bonanome A, Coval SM, Binkoski AE and Hilpert KF. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *Am. J. Med. Sci.* 2002; 113: 71S - 88S.
- Yasoubi P, Barzegar M, Sahari MA and Azizi MH. Total phenolic contents and antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel extracts. *J. Food Sci. Technol.* 2007; 9: 35 - 42.
- 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.
- Shahsavari N, Barzegar M, Sahari MA and Naghdibadi H. 2008. Antioxidant activity and chemical characterization of essential oil of *Bunium persicum*. *Plant Foods Hum. Nutr.* 2008; 63: 183 - 8.
- Lee SE, Hwang HJ, Ha JS, Jeony HS and Kim JH. Screening of medical plant extracts for antioxidant activity. *Life Sci.* 2003; 73: 167 - 79.
- Dormana HJD, Peltoketo A, Hiltunen R and Tikkanen MJ. Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extacts from selected lamiaceae herbs. *Food Chem.* 2003; 83: 255 - 62.
- 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.
- Wichtl M. *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals*. Translated by: Bisset NG, Boca Raton: CRC Press. 1994, pp: 292 - 4, 313 - 4.
- Trease GE and Evans WC. *Pharmacognosy*. London: Saunders. 1996, pp: 167, 262, 476.



- 14.** Gulcin I, Sat I, Beydemir s, Elmastas M and Kufrevioglu O. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophylata* Thunb) buds and Lavender (*Lavandula stoechas* L.). *Food Chem.* 2004; 87: 393 - 400.
- 15.** Bouayed J, Piri K, Rammal H, Dicko A, Desor F, Younos C and Soulimani R. Comparative evaluation of the antioxidant potential of some Iranian medical plants. *Food Chem.* 2007; 104: 364 - 8.
- 16.** Adsersen A, Gauguin B, Gudiksen L and Jager AK. Screening of plants used in anish folk medicine to treat memory dysfunction for acetylcholinesterase inhibitory activity. *J. Ethnopharmacol.* 2005; 104: 418 - 22.
- 17.** Flores G, Blanch GP, Ruiz del Castillo ML and Herraiz M. Enantiomeric composition studies in *Lavandula* species using supercritical fluids. *J. Chromatogr. A.* 2005; 28: 2333 - 8.
- 18.** Kreis P and Mosandl A. Chiral compounds of essential oils. Part XI. Simultaneous stereoanalysis of lavandula oil constituents. *Flavour Frag. J.* 2005; 7: 187 - 93.
- 19.** Adam KL. Lavender production, products, markets, and entertainment farms. Retrieved November 5, 2006; from <http://attra.ncat.org/attra-pub/lavender.html>.
- 20.** Sharififar F, Moshafi MH and Mansouri SH. *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.
- 21.** Abdille MDH, Singh RP and Jayaprakasha GK. Antioxidant activity of the extracts from *dillenia indica* fruits. *Food Chem.* 2005; 90: 891 - 6.
- 22.** Kulisic T, Radonic A and Katalinic V. Use of different methods for testing antioxidative of oregano essential oil. *Food Chem.* 2004; 85: 633 - 40.
- 23.** Mathew S and Abraham E. In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. *Food Chem. Toxicol.* 2006; 44: 198 - 206.
- 24.** Zhang H, Feng C and Wang Xi. Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents. *Food Chem.* 2006; 39: 833 - 9.
- 25.** Davies NW. Gas chromatographic retention Indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methylsilicone and Carbowax 20M phases. *J. Chromatogr. A.* 1990; 503: 1 - 24.
- 26.** Brand-Williams W, Cuvelier ME and Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT.* 1995; 28: 25 - 30.
- 27.** Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M and Rice-Evans CA. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* 1999; 26: 1231 - 7.
- 28.** Miliauskas G, Venskutonis PR and Beek TAV. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chem.* 2004; 85: 231 - 7.
- 29.** Egan H, Kirk RS and Sawyer R. *Pearson's Chemical Analysis of Foods.* 9<sup>th</sup> ed. Harlow: Longman Scientific and Technical, 1987, pp: 609 - 34.
- 30.** Dimitra J, Basil N and Moschos G. GC-MS analysis of essential oils from some Greek romantic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *J. Agric. Food Chem.* 2000; 48: 2576 - 81.
- 31.** Morgan TJ, Morden WE, Al - Muhareb E, Herod AA and Kandiyoti R. Essential oils investigated by size exclusion chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. *Energ. Fuel.* 2006; 20: 734 - 7.



- 32.** Shaw D, Annett JM, Doherty B and Leslie JC. Anxiolytic effects of lavender oil inhalation on open-field behaviour in rats. *Phytomed.* 2007; 14: 613 - 20.
- 33.** Abbas F, Lajis NH, Israf DA, Khozirah S and Umi Kalsom Y. Antioxidant and nitric oxide inhibition activities of selected Malay traditional vegetables. *Food Chem.* 2006; 95: 566 - 73.
- 34.** 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. Medicinal Plants.* 2007; 6: 54 - 63.
- 35.** Ayoughi F, Barzegar M, Sahari MA and Naghdi Badi H. Antioxidant effect of dill (*Anethum graveolens* Boiss.) oil in crude soybean oil and comparison with chemical antioxidants. *J. Medicinal Plants.* 2009; 30: 71 - 84.
- 36.** 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. International* 2006; 39: 833 - 9.
- 37.** 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 Chemical Toxicol.* 2007; 45: 1650 - 61.

Archive of SID

