ارزیابی فعالیت آنتی‌رادیکالی عصاره پنیرک (*Malva sylvestris* L.) و کاربرد آن در سامانه روغن

محمد طاهانژاد[1]، محسن برزگر[2]*، محمدعلی سحری[3]، حسنعلی نقدی‌بادی[4]

۱- دانش‌آموخته 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
٤- دانشیار، گروه پژوهشی کشت و توسعه گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج
*آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی
صندوق‌پستی: ۳۳٦ - ۱٤۱۱٥، تلفن: ٤٨۲۹۰ (۰۲۱)، نمابر: ٤٨۲۹۲۲۰۰ (۰۲۱)
پست الکترونیک: mbb@modares.ac.ir, mohsenbb@gmail.com

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۰/٦ **تاریخ تصویب:** ۹۰/۲/۱٦

چکیده

مقدمه: با توجه به تأثیر نامطلوب بسیاری از افزودنی‌های شیمیایی در فرآورده‌های غذایی، امکان جایگزینی این مواد با ترکیبات مؤثره‌ی گیاهان دارویی مورد توجه محققین است.

هدف: ارزیابی فعالیت آنتی‌رادیکالی عصاره گل پنیرک با آزمون‌های $DPPH^{\circ}$، $ABTS^{\circ+}$ و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن و بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن در روغن سویا می‌باشد.

روش بررسی: میزان فنول کل عصاره به روش فولین - سیوکالتو استفاده شد. فعالیت آنتی‌رادیکالی عصاره مذکور با استفاده از روش‌های $DPPH^{\circ}$، رادیکال کاتیون ABTS و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن بررسی شد و با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA مقایسه شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره در روغن سویا با اندازه‌گیری اعداد پراکسید، تیوباربیتوریک اسید و دی‌ان مزدوج (آزمون آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد) تعیین و با BHA و BHT ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm مقایسه شد.

نتایج: عصاره پنیرک دارای ٤/٥ درصد ترکیبات فنولی بر پایه وزن خشک بود. در آزمون $DPPH^{\circ}$، مقدار EC_{50} عصاره پنیرک ۰/۰۱ ± ۰/۳۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. در آزمون $ABTS^{\circ+}$، بیشترین فعالیت آنتی‌رادیکالی مربوط به غلظت ٥ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر پنیرک (بازدارندگی ۷۰ درصد، معادل اسید آسکوربیک با غلظت ۰/۱٤ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بود. در آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره بود. در آزمون آون، عصاره پنیرک در سطوح غلظتی ٤۰۰، ٦۰۰ و ۸۰۰ ppm معادل با آنتی‌اکسیدان شیمیایی BHA در سطح غلظتی ۱۰۰ ppm عمل کرد.

نتیجه‌گیری: این عصاره خاصیت آنتی‌اکسیدانی خوبی دارد و پس از انجام آزمایش‌های تکمیلی می‌تواند به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در برخی از فرآورده‌های غذایی حاوی روغن به‌کار رود.

گل‌واژگان: پنیرک (*Malva sylvestris*)، فعالیت آنتی‌رادیکالی، $DPPH^{\circ}$، بی‌رنگ شدن بتاکاروتن، آزمون آون

www.SID.ir

مقدمه

رادیکال‌های آزاد قادرند آسیب به مولکول‌های سامانه‌های بیولوژیک بدن وارد نمایند و باعث بروز بسیاری از بیماری‌ها در موجودات زنده و به ویژه انسان‌ها شوند [۱]. بخش عمده‌ای از این ترکیبات مضر در اثر اکسیداسیون مواد غذایی به خصوص چربی‌ها تولید می‌شوند که این مسأله نه تنها سلامت مصرف‌کننده را به خطر می‌اندازد، بلکه کاهش کیفیت تغذیه‌ای و ایجاد طعم و بوی نامطبوع را نیز در این غذاها به همراه خواهد داشت [۲].

اثر زیان‌بخش رادیکال‌های آزاد را می‌توان توسط آنتی‌اکسیدان‌ها کاهش داد چون این مواد، باعث به دام انداختن و مهار تولید رادیکال‌های آزاد می‌شوند و از این طریق باعث پیشگیری از بیماری‌های احتمالی ناشی از وجود و فعالیت آنها خواهند شد. اگرچه امروزه از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی متعددی از جمله بوتیلات هیدروکسی تولوئن (Butylated hydroxytoluene)، بوتیلات هیدروکسی آنیزول (Butylated hydroxyanisole) و برخی مواد سنتزی دیگر در صنعت استفاده می‌شود اما به دلیل اثرات نامطلوب تغذیه‌ای و سرطان‌زا بودن این ترکیبات و نیز تمایل مصرف‌کنندگان به استفاده از ترکیبات طبیعی، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد توجه محققین قرار گرفته است [۳،٤]. در سال‌های اخیر، تحقیقات زیادی در زمینه ارزیابی خواص آنتی‌رادیکالی و آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی صورت گرفته است. مواد مؤثره گیاهان دارویی نظیر ترکیبات فنولیک علاوه بر افزایش کیفیت مواد غذایی، از جمله دلایل رنگ، طعم و مزه بسیاری از این گیاهان هستند [۵].

پنیرک گیاهی یک ساله، دوساله یا به ندرت چند ساله از خانواده پنیرکیان (Malvaceae) می‌باشد. منشأ این گیاه آسیای میانه است و تقریباً در تمام دنیا از جمله ایران رویش دارد. گل‌های این گیاه حاوی آنتوسیانین‌ها و موسیلاژ می‌باشد و تمام قسمت‌های این گیاه به خصوص گل آن، اثر نرم‌کنندگی بر مجاری تنفسی دارد که این اثر می‌تواند ناشی از میزان موسیلاژ بالای آن باشد [٦]. قابل ذکر است که مطالعه‌های اخیر نشان داده که آنتوسیانین‌ها دارای دامنه گسترده‌ای از فعالیت‌های بیولوژیک از جمله فعالیت آنتی‌اکسیدانی و قابلیت حذف رادیکال آزاد (Free radical scavenging) می‌باشند [۷]. در تحقیقی، تأثیر آنتوسیانین‌های پنیرک بر لیپید و رادیکال‌های آزاد پلاسمایی در موش‌های صحرایی نوع آلبانیو (Albanio rats) مورد مطالعه قرار گرفت و نتایج نشان داد استفاده از این آنتوسیانین‌ها سبب کاهش کلسترول، میزان رادیکال‌های آزاد و ظرفیت پراکسیداسیون لیپیدها شده است. همچنین این مطالعه نشان داد که هنگامی‌که مقدار آنتوسیانین‌ها ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر باشد، میزان حذف رادیکال‌های آزاد حدود ۱۸/۸۲ درصد خواهد بود. بنابراین، آنتوسیانین‌ها و در نتیجه گیاهان حاوی این ترکیبات نظیر پنیرک، یک نوع حذف‌کننده رادیکال آزاد و آنتی‌اکسیدان طبیعی می‌باشند و می‌توانند از تشکیل لخته‌های خون در رگ جلوگیری کرده و در نتیجه سبب کاهش بروز بیماری‌های قلبی عروقی شوند [۸].

همچنین فنول‌ها و ترکیبات فنولی به طور گسترده‌ای در محصولات غذایی/گیاهی یافت می‌شوند و تحقیقات نشان داده‌اند که این ترکیبات فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه‌ای دارند. به طور کلی یکی از بهترین منابع آنتی‌اکسیدانی طبیعی، ترکیبات فنولی موجود در ترکیبات گیاهی می‌باشند [۵]. Unver و همکاران (۲۰۰۹) فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنول کل عصاره متانولی تعدادی از گیاهان را مورد بررسی قرار داده و به این نتیجه رسیدند که رابطه مستقیمی بین میزان فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره این گیاهان وجود دارد به طوری که در این بین، گیاه *Mentha piperita* میزان فنول کل بالا (٤۹۳ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در هر گرم (mg GAE/g) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا (EC_{50} برابر با ۰/۲۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و گیاه *Capparis ovate* میزان فنول کل پایین (۱۸۵ mg GAE/g) و نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی پایینی (EC_{50} برابر با ٤/۰۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) نشان دادند [۹]. همچنین بامداد و همکاران (۲۰۰٦) فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره زیره سیاه را با دو روش DPPH° و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن بررسی کرده و

Archive of SID
www.SID.ir

نشان دادند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی این عصاره مربوط به ترکیبات فنولی آن است [۱۰].

به هر حال گیاه دارویی پنیرک در طب سنتی و صنعت داروهای گیاهی از جایگاه مهمی برخوردار می‌باشد و نظر به اینکه امروزه توجه زیادی به خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهان دارویی می‌شود در این مطالعه، اهداف زیر دنبال می‌شود:

۱- ارزیابی فعالیت آنتی‌رادیکالی عصاره پنیرک به روش‌های مختلف که مکمل یکدیگر هستند (از جمله آزمون رادیکال DPPH [۱۱]، آزمون رادیکال کاتیون ABTS [۱۲] و آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن [۱۳]).

۲- امکان‌سنجی کاربرد عصاره پنیرک در روغن سویا به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی با ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن با اندازه‌گیری اعداد پراکسید (PV)، تیوباربیتوریک اسید (TBA) و دی‌ان مزدوج (CD) در روغن سویا (آزمون آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد) و مقایسه آن با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و شیمیایی

در این مطالعه، گل‌های گیاه پنیرک (*Malva sylvesteris* L.) که در محل پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی کشت شده و در دمای اتاق و در سایه خشک شده بود) آسیاب شد و در آب مقطر خیسانده شد. بعد از ۷۲ ساعت، عصاره صاف شد و توسط دستگاه تبخیرکننده چرخان در درجه حرارت ۵۰ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط خلاء تغلیظ شد. مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده در این تحقیق با بالاترین خلوص از شرکت مرک (آلمان)، رادیکال DPPH، بتاکاروتن، لینولئیک اسید، از شرکت سیگما (آمریکا) و رادیکال کاتیون ABTS از شرکت فلوکا (آلمان) خریداری شدند.

اندازه‌گیری میزان کل فنول (Total Phenolic Content) عصاره پنیرک

با توجه به اینکه فنول‌ها و ترکیبات فنولی به طور گسترده‌ای در محصولات غذایی/گیاهی یافت می‌شوند و دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه‌ای نیز می‌باشند [۵] در این تحقیق مورد سنجش و ارزیابی قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری میزان فنول کل عصاره پنیرک به روش رنگ‌سنجی فولین‌سیوکالتو، ۲۰ میکرولیتر از نمونه در یک لوله آزمایش ریخته و به آن ۱/۵۸ میلی‌لیتر آب و سپس ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو، اضافه و به مدت ۵ دقیقه تکان داده شد. پس از آن ۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم اشباع به آن افزوده و به مدت ۲ ساعت در دمای محیط در تاریکی گذاشته شد، در نهایت جذب نمونه‌ها به کمک طیف نورسنج در ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. منحنی استاندارد برای این آزمون به وسیله اسیدگالیک رسم شد و میزان فنول کل عصاره به صورت معادل اسیدگالیک گزارش شد [۱۴].

سنجش قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH

استفاده از این رادیکال جهت بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های گیاهی و به طور کلی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به یکی از پرکاربردترین روش‌های سنجش قدرت آنتی‌اکسیدانی تبدیل شده است. علت این امر سادگی و حساسیت بالای این روش است. این آزمون بر مبنای این تئوری بنا شده که ماده‌ی دهنده هیدروژن، در واقع یک آنتی‌اکسیدان است [۱۵]. این رادیکال بالاترین میزان جذب خود را در طول موج ۵۱۷ – ۵۱۵ نانومتر نشان می‌دهد. رادیکال DPPH در اثر جذب هیدروژن از یک آنتی‌اکسیدان به DPPH پایدار (غیررادیکالی) تبدیل می‌شود که در اثر این تبدیل، رنگ آن به مرور از بنفش تیره به زرد روشن تبدیل می‌شود و در نتیجه میزان جذب در طول موج ۵۱۷ – ۵۱۵

Archive of SID

www.SID.ir

نانومتر کاهش می‌یابد. بنابراین سنجش قدرت آنتی‌اکسیدانی به راحتی از طریق دستگاه طیف نورسنج با محاسبه میزان کاهش جذب در طول موج ۵۱۷ – ۵۱۵ نانومتر قابل سنجش و برآورد است. همچنین برای گزارش قدرت آنتی‌اکسیدانی به دست آمده طبق این روش، می‌توان از شاخصی تحت عنوان EC_{50} استفاده کرد. این شاخص بیانگر غلظت مورد نیاز از آنتی‌اکسیدان موردنظر جهت کاهش ۵۰ درصدی غلظت رادیکال‌های DPPH اولیه می‌باشد. در این بررسی فعالیت آنتی‌رادیکالی اسانس و عصاره مورد مطالعه، با استفاده از رادیکال‌های پایدار DPPH مطابق با روش برند- ویلیامز و همکاران انجام گرفت [۱۶]. میزان فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال با استفاده از فرمول زیر تعیین شد:

$$\% RSA = [1 - ((A_c - A_s) / A_c) \times 100]$$

در این رابطه، A_s = میزان جذب نمونه؛ A_c = میزان جذب شاهد؛ RSA = فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال آزاد است.

آزمون رادیکال کاتیون ABTS

رادیکال کاتیون ABTS از رادیکال DDPH فعال‌تر است و واکنش آن با یک آنتی‌اکسیدان تنها نزدیک به ۱ دقیقه به طول می‌انجامد. به همین منظور در سنجش فعالیت آنتی‌رادیکالی از آن به طور گسترده‌ای استفاده می‌شود. در این آزمون ابتدا رادیکال کاتیون پایدار ABTS با اکسیداسیون ABTS به وسیله‌ی پتاسیم پرسولفات، تولید می‌شود. این رادیکال کاتیون دارای رنگ سبز – آبی با بیشینه جذب در طول موج ۷۳٤ نانومتر می‌باشد و از طریق تعیین میزان کاهش جذب در طول موج ۷۳٤ نانومتر می‌توان به کاهش میزان این رادیکال کاتیون‌ها به عنوان شاخصی از فعالیت آنتی‌رادیکالی ترکیبات موردنظر پی برد. فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال در این آزمون را می‌توان بر اساس ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل با ترولکس (Trolox equivalent antioxidant capacity) (TAEC) یا بر اساس ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل با آسکوربیک اسید (L-ascorbic acid equivalent antioxidant capacity) (AEAC) گزارش کرد. در این بررسی برای تهیه رادیکال پایدار ABTS، ابتدا یک محلول ۷ مولار ABTS در آب مقطر تهیه شد و سپس این محلول توسط پرسولفات پتاسیم، اکسید شده و محلول به دست آمده به مدت ۱٦ – ۱۲ ساعت در تاریکی قرار گرفت. 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 آماده شده، ۱ میلی‌لیتر از این محلول ریخته شد و آنگاه ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه آنتی‌اکسیدان به آنها اضافه شد و بعد از گذشت ۱۵ دقیقه جذب آنها در طول موج ۷۳٤ 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 قرائت شد. سپس درصد بازدارندگی نمونه موردنظر از طریق فرمول زیر محاسبه و در نهایت به صورت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل آسکوربیک اسید گزارش شد [۱۷]:

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

در این رابطه، $A_{b(15)}$ = میزان جذب شاهد بعد از ۱۵ دقیقه؛ As (15) = میزان جذب نمونه بعد از ۱۵ دقیقه؛ I٪ = درصد بازدارندگی می‌باشد.

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش بی‌رنگ شدن بتاکاروتن

بتاکاروتن در ساختار خود دارای یازده جفت پیوند دوگانه می‌باشد بنابراین در برابر رادیکال‌های تشکیل شده در اثر اکسیداسیون چربی‌ها بسیار حساس می‌باشد و از آنجا که قابلیت واکنش با این رادیکال‌ها و جذب آنها را دارا می‌باشد، به عنوان یک حذف‌کننده رادیکال یا به عبارتی آنتی‌اکسیدان، مورد توجه قرار گرفته است [۱۸]. بر طبق این آزمون ابتدا لینولئیک اسید در حضور گونه‌های فعال اکسیژن به رادیکال پراکسیل تبدیل شده و در ادامه این رادیکال‌ها با بتاکاروتن واکنش داده و آن را به رادیکال تبدیل می‌کنند. این تغییر ساختار در بتاکاروتن سبب کاهش رنگ آن شده و درنتیجه در محلول آزمون، کاهش رنگ مشاهده خواهد شد. حال اگر یک

Archive of SID
www.SID.ir

آنتی‌رادیکال در محلول موجود باشد، برای واکنش با رادیکال‌های پراکسیل، با بتاکاروتن به رقابت خواهد پرداخت و در نتیجه بتاکاروتن، کمتر تخریب می‌شود. بنابراین، تأثیرات آنتی‌اکسیدانی، از طریق بررسی میزان جلوگیری از کاهش رنگ محلول آزمون با استفاده از دستگاه طیف نورسنج در طول موج ٤٧٠ نانومتر قابل سنجش است چرا که بیشترین جذب بتاکاروتن در این طول موج می‌باشد. امروزه استفاده از این آزمون در سنجش قدرت آنتی‌اکسیدانی به ویژه در مورد ترکیبات فنولی مختلف بسیار کاربرد دارد [٢٠]. در این بررسی، آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن به روش Zhang و همکاران (٢٠٠٦)، با کمی تغییر انجام گرفت [١٣]. ٥ میلی‌گرم بتاکاروتن در ١٠ میلی‌لیتر کلروفرم حل شد و ٦٠٠ میکرولیتر از محلول تهیه شده به فلاسک ته‌گردی که حاوی ٤٠ میلی‌گرم لینولئیک اسید و ٤٠٠ میلی‌گرم توئین ٤٠ بود، اضافه شد. سپس کلروفرم محلول توسط دستگاه تقطیرکننده چرخان خارج شده و ١٠٠ میلی‌لیتر آب مقطر اشباع از اکسیژن به فلاسک افزوده شد. پس از آن فلاسک برای تشکیل امولسیون به شدت هم زده شده و ٥ میلی‌لیتر از امولسیون تهیه شده به لوله‌های آزمایش که حاوی ٢٠٠ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره و استاندارد BHA بود، اضافه شد و بلافاصله در زمان صفر جذب نمونه‌ها در طول موج ٤٧٠ نانومتر خوانده شد. در نهایت درب لوله‌های آزمایش بسته شد و پس از قرار گرفتن این نمونه‌ها به مدت ٢٤ ساعت در دمای محیط، جذب آنها در طول موج ٤٧٠ نانومتر قرائت شد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی 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: $A_{s(24)}$ = میزان جذب نمونه بعد از ٢٤ ساعت؛ $A_{s(0)}$ = میزان جذب نمونه در زمان شروع؛ $A_{c(24)}$ = میزان جذب شاهد بعد از ٢٤ ساعت؛ $A_{c(0)}$ = میزان جذب شاهد در زمان شروع و I٪ = درصد بازدارندگی می‌باشد.

بررسی کاربرد عصاره پنیرک به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی در روغن

عصاره پنیرک در پنج سطح ٢٠٠، ٤٠٠، ٦٠٠، ٨٠٠ و ١٠٠٠ ppm و آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی BHA و BHT، هر یک در دو سطح ١٠٠ و ٢٠٠ ppm به روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان اضافه شد. آنگاه نمونه‌ها به همراه شاهد (روغن سویا خام)، به مدت ٢٠ روز در دمای ٧٠ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و در نهایت، عدد پراکسید AOCS (PV) [٤]، تیوباربیتوریک اسید (TBA) [٤] و مقدار دی‌ان‌های مزدوج (CD) تولید شده در آنها اندازه‌گیری شد.

تعیین مقدار دی‌ان‌های مزدوج

ابتدا ٠/٠١ – ٠/٠٣ گرم از هرکدام از نمونه‌های روغنی تهیه شده درون بالن‌های حجمی ٢٥ میلی‌لیتری توزین شد و سپس توسط ایزواکتان به حجم رسانده شد، بعد از آن جهت حل شدن بهتر روغن در حلال (ایزواکتان)، بالن حجمی به شدت هم‌زده شد. سپس هر نمونه در سلول کوارتزی ریخته و در دستگاه طیف نور سنج قرارداده شد و جذب آن در طول موج ٢٣٣ نانومتر خوانده شد و در نهایت میزان دی‌ان‌های مزدوج موجود در نمونه از طریق فرمول زیر به دست آمد:

$$E^{1\%}_{1cm} = \frac{A\lambda}{(C_L \times l)}$$

در این رابطه: E = میزان میکرومول، دی‌ان‌های مزدوج موجود در نمونه در هر گرم از نمونه؛ A_λ = میزان جذب نمونه در ٢٣٣ نانومتر؛ C_L = میزان گرم نمونه روغنی موجود در ١٠٠ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده (نمونه روغنی در ایزواکتان)؛ l = طول سلول کوارتزی بر حسب سانتی‌متر.

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 مورد استفاده قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش حداقل تفاوت‌های معنی‌دار (LSD) انجام شد. تمامی نتایج به صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار بیان شده است.

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج

میزان فنول کل عصاره پنیرک

با توجه به این واقعیت که عامل اصلی وجود خاصیت آنتی‌رادیکالی در گیاهان دارویی، وجود ترکیبات فنولی در آنها است [۵] میزان فنول کل عصاره گیاه پنیرک اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد عصاره پنیرک حاوی ٤/٥ درصد ترکیبات فنولیک معادل گالیک اسید (GAE) بر پایه وزن خشک بوده‌است.

قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH

شکل شماره ۱ قدرت عصاره پنیرک را در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH نشان می‌دهد. همان‌طور که از شکل مشخص است با افزایش غلظت عصاره، اثر آنتی‌رادیکالی آن افزایش می‌یابد. همچنین شاخص EC_{50} عصاره پنیرک ۰/۰۱ ± ۰/۳۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. لازم به ذکر است که شاخص EC_{50} نسبت معکوسی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها یا عصاره‌ها دارد [۲۱].

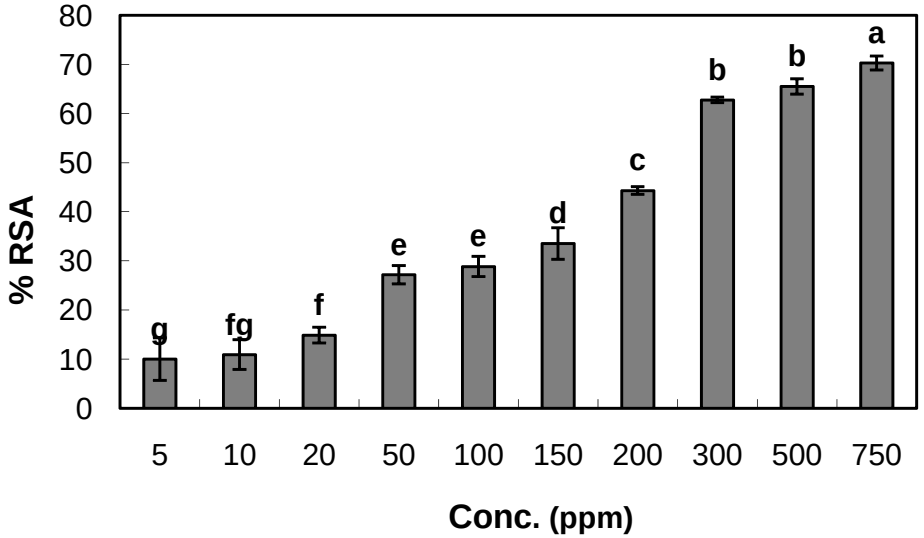
بررسی خاصیت آنتی‌رادیکالی با آزمون ABTS

در این آزمون، رادیکال کاتیون‌های ABTS با آنتی‌اکسیدان‌ها یا دیگر گونه‌های رادیکالی که دهنده‌ی هیدروژن می‌باشند، واکنش داده و به شکل کاهش یافته درمی‌آید در نتیجه از طریق تعیین میزان این کاهش جذب در طول موج ۷۳٤ نانومتر، می‌توان به درصد بازدارندگی آنتی‌اکسیدان موردنظر پی‌برد. همان‌طور که از جدول ۱ مشخص است، از غلظت ۱ تا ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، یک رابطه مستقیم بین غلظت عصاره پنیرک و قدرت آن در مهار رادیکال‌های ABTS وجود داشته و با افزایش غلظت عصاره در این محدوده غلظت، قدرت آنتی‌رادیکالی آن افزایش یافته است. همان‌طور که در جدول مشاهده می‌شود از این نظر، تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌ها در سطح احتمال ۱ درصد وجود دارد. در غلظت‌های بالاتر تأثیر مثبتی مشاهده نشد.

آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن

از آنجا که آنتی‌اکسیدان‌ها، رادیکال‌های حاصل از اکسیداسیون اسید لینولئیک را مهار می‌کنند، از برهم‌کنش بین این رادیکال‌ها و بتاکاروتن جلوگیری کرده و در نتیجه از کاهش رنگ بتاکاروتن در اثر این واکنش، می‌کاهند. بنابراین بین قدرت آنتی‌اکسیدانی مواد شرکت کننده در این آزمون و میزان جلوگیری از کاهش رنگ بتاکاروتن، رابطه مستقیمی وجود دارد. در مطالعه حاضر، هشت تیمار از عصاره پنیرک در گستره‌ی غلظتی ۰/۰۵ تا ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها با دو سطح غلظتی ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA مقایسه شد. با توجه به شکل ۲ می‌توان دریافت که در این محدوده‌ی غلظتی، ارتباط مستقیمی میان غلظت عصاره پنیرک با میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن وجود داشته و با افزایش غلظت، فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش یافته است. همان‌طور که از شکل نیز مشخص است در این آزمون فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال توسط BHA در هر دو سطح غلظتی ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (به ترتیب ۷٤/۰ و ۷۸/۰ درصد)، در مقایسه با نمونه‌های تهیه شده از عصاره مورد آزمون، بیشتر بود و بعد از آن غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره پنیرک (۵۲/٦ درصد) بود. البته میان فعالیت آنتی‌اکسیدانی این تیمار و تیمار ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در سطح ۰/۱ درصد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت و کمترین میزان فعالیت را هم سطوح غلظتی ۰/۰۵ و ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره پنیرک به ترتیب ۱۳/۵ و ۱۲/۹ درصد مشاهده شد. این سطوح غلظتی از عصاره نیز در سطح ۰/۱ درصد، اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند.

Archive of SID
www.SID.ir

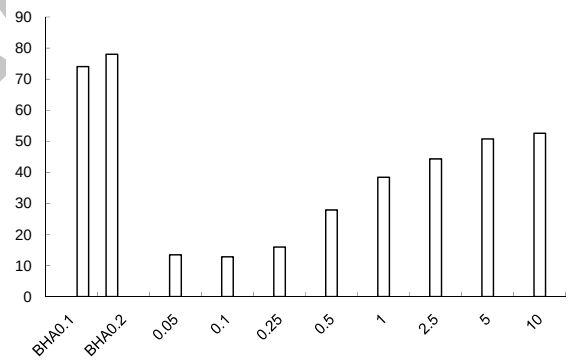


شکل شماره ۱- رابطه‌ی میان فعالیت حذف رادیکال آزاد DPPH با غلظت عصاره پنیرک. نتایج میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است. حروف مختلف بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است. (فعالیت حذف کنندگی رادیکال = RSA)

جدول شماره ۱- درصد بازدارندگی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل آسکوربیک اسید غلظت‌های مختلف عصاره پنیرک

غلظت (mg/ml)	درصد بازدارندگی	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل آسکوربیک اسید (mg/ml)
۱	۲۵/۳۲ ± ۱/۳٤	۰/۰٤ ± ۰/۰۰ e
۲	۳۷/۹۸ ± ۲/۹۳	۰/۰٦ ± ۰/۰۱ d
۳	۵۱/۳۱ ± ۱/٦٦	۰/۱۰ ± ۰/۰۰ c
٤	۵۸/۵۱ ± ۱/۵٤	۰/۱۱ ± ۰/۰۰ b
۵	۷۰/۰۳ ± ۱/۲۵	۰/۱٤ ± ۰/۰۰ a

*داده‌ها میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است. حروف مشابه در یک ستون نمایانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۹ درصد است.



شکل شماره ۲- مقایسه‌ی فعالیت آنتی‌رادیکالی عصاره پنیرک با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA با آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن. حروف مختلف بیانگر اختلاف معنی دار در سطح ۹۵ درصد است.

Archive of SID
www.SID.ir

اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره پنیرک در روغن سویا

با توجه به نتایج شکل شماره ۳- الف، اختلاف معنی‌دار میان غلظت‌های مختلف عصاره و دو آنتی‌اکسیدان شیمیایی BHA و BHT و نمونه‌ی شاهد مشاهده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود عدد پراکسید روغن وابسته به غلظت تیمارها است ولی یک رابطه خطی بین غلظت تیمارها و عدد پراکسید روغن مشهود نیست. به طوری‌که عصاره پنیرک بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در غلظت‌های ۸۰۰ و ٤۰۰ ppm داشته و بعد از آنها بیشترین میزان فعالیت را غلظت ٦۰۰ ppm دارا است. همچنین عصاره پنیرک در این سطوح غلظتی توانسته معادل با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA در سطوح غلظتی ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm و بهتر از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در هر دو سطح غلظتی آن عمل کند. همچنین این عصاره در سطوح غلظتی ۱۰۰۰ و ۲۰۰ ppm نیز توانست معادل با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در هر دو سطح غلظتی آن عمل کند (در سطح ۰/۱ درصد اختلاف معنی‌دار دیده نشد).

عدد پراکسید به تنهایی مشخص‌کننده‌ی 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 TBA (مقدار مالون آلدهید موجود در یک کیلوگرم روغن) که شاخصی از میزان توسعه اکسیداسیون و تولید محصولات ثانویه این واکنش می‌باشد، ضروری به نظر می‌رسد.

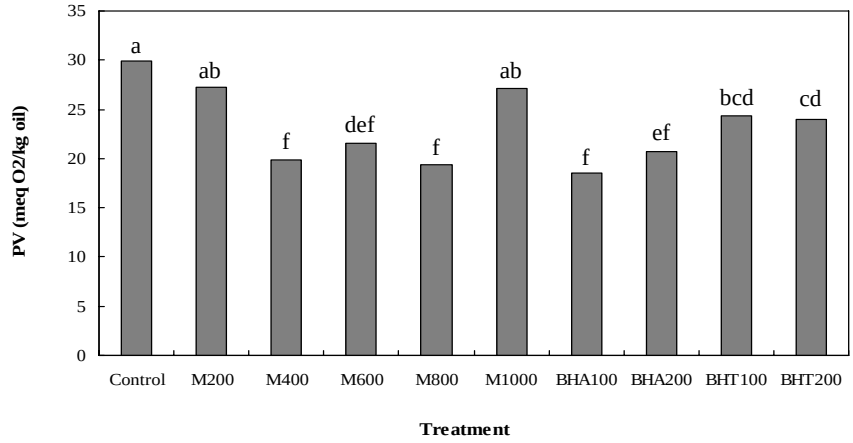
با توجه به نتایج شکل شماره ۳- ب، اختلاف معنی‌دار میان غلظت‌های مختلف عصاره و دو آنتی‌اکسیدان شیمیایی BHA و BHT و نمونه‌ی شاهد مشاهده شد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود، عدد TBA روغن، همانند عدد پراکسید، وابسته به غلظت تیمارها است ولی همانند آنچه که در مورد عدد پراکسید مشاهده شد در اینجا نیز یک رابطه خطی میان افزایش غلظت عصاره مورد ارزیابی با میزان عدد TBA مشاهده نشد. نتایج به دست آمده از ارزیابی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره پنیرک بر حسب عدد TBA نشان می‌دهد که بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به غلظت ٤۰۰ ppm از این عصاره است.

همچنین تمام سطوح غلظتی عصاره مورد استفاده در این آزمون دارای اثر آنتی‌اکسیدانی بیشتری از هر دو آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA و BHT (در هر دو سطح غلظتی) بودند.

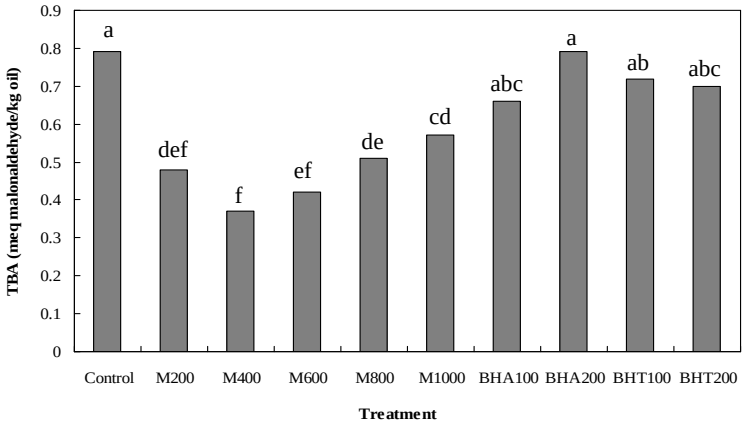
یکی دیگر از روش‌هایی که جهت بررسی مراحل اولیه اکسیداسیون می‌توان از آن استفاده کرد، تعیین میزان دی‌ان‌های مزدوج تولید شده است که افزایش در میزان تولید این محصولات شاخصی از پیشرفت مراحل اولیه اکسیداسیون می‌باشد. همچنین از آنجا که این آزمون نیز همانند آزمون تعیین عدد پراکسید، عمدتاً محصولات تولیدی در مراحل اولیه اکسیداسیون را مورد ارزیابی قرار می‌دهد لذا وجود این دو آزمون در کنار هم می‌تواند یک نقش مکمل داشته باشد. شکل ۳- ج مقایسه‌ی میانگین میزان دی‌ان‌های مزدوج تولیدی حاصل از تیمارهای مختلف را در روز بیستم نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل ۳- ج مشخص است، اختلاف معنی‌دار میان غلظت‌های مختلف عصاره و دو آنتی‌اکسیدان شیمیایی BHA و BHT و نمونه‌ی شاهد وجود دارد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، میان میزان دی‌ان‌های مزدوج تولیدی در حضور غلظت‌های مختلف عصاره و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، اختلاف معنی‌داری وجود دارد و در اینجا نیز همانند آزمون عدد پراکسید، بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به غلظت ۸۰۰ ppm از عصاره پنیرک بود. با بررسی‌های صورت گرفته مشخص شد که ترتیب فعالیت آنتی‌اکسیدانی سطوح مختلف مورد سنجش از عصاره پنیرک در این آزمون با نتایج به دست آمده از آزمون عدد پراکسید کاملاً مطابقت دارند یعنی در این آزمون نیز به ترتیب غلظت‌های ۸۰۰، ٤۰۰، ٦۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰ ppm از بیشترین تا کمترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را به خود اختصاص دادند به‌طوری‌که سطوح غلظتی ٤۰۰، ٦۰۰ و ۸۰۰ ppm از این عصاره، فعالیت آنتی‌اکسیدانی معادل با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA در هر دو سطح غلظتی مورد آزمون آن (در سطح ۰/۱ درصد اختلاف معنی‌دار دیده نشد) و قوی‌تر از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در هر دو سطح غلظتی آن، نشان دادند.

Archive of SID
www.SID.ir

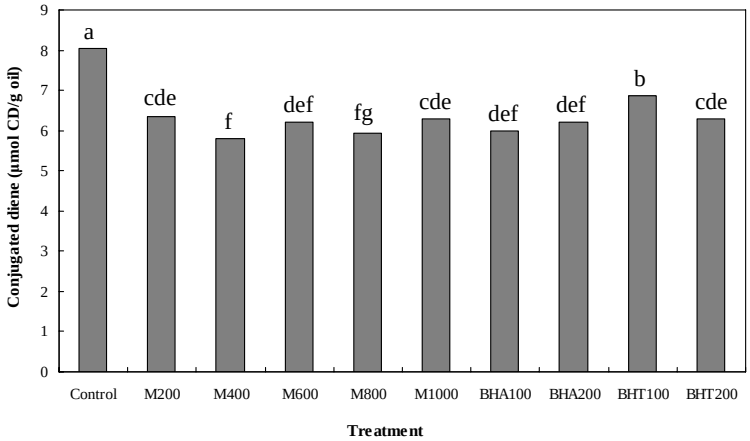
الف



ب



ج



شکل شماره ۳ – مقایسه میانگین (الف) عدد پراکسید، (ب) تیوباربیتوریک اسید و (ج) دی‌ان مزدوج تیمارها در روز بیستم. Control; BHT200, BHT100; BHA200, BHA100; M1000, M800; M600, M400, M200 **به ترتیب غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ ppm از عصاره – غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA و BHT و نمونه شاهد می‌باشد. حروف متفاوت نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است.**

www.SID.ir

بحث

Unver و همکاران (۲۰۰۹) فعالیت آنتی اکسیدانی و میزان فنول به این نتیجه رسیدند که رابطه مستقیمی بین میزان فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره این گیاهان وجود دارد به طوری که در این بین، گیاه *Mentha piperita* میزان فنول کل بالا (۴۹۳ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در هر گرم (mg GAE/g) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا (EC_{50} برابر با ۰/۲۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و گیاه *Capparis ovate* میزان فنول کل پایین (۱۸۵ mg GAE/g) و نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی پایینی (EC_{50} برابر با ۴/۰۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) نشان دادند [۹]. همچنین بامداد و همکاران (۲۰۰۶) فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره زیره سیاه را با دو روش DPPH° و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن بررسی کرده و نشان دادند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی این عصاره مربوط به ترکیبات فنولی آن است [۱۰].

فاضل و همکاران در سال ۲۰۰۷ فعالیت آنتی‌رادیکالی اسانس آویشن و مرزه را با روش DPPH° تعیین کرده و مقادیر EC_{50} اسانس‌های مورد مطالعه را به ترتیب ۸/۹ و ۵/۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند [۲۲]. در تحقیقی دیگر شهسواری و همکاران (۲۰۰۸) فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی را بررسی و EC_{50} این اسانس را ۰/۰۴ ± ۲/۲۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه کردند [۴]. همچنین عیوقی و همکاران (۲۰۰۹) میزان EC_{50} اسانس شوید و BHT (به عنوان کنترل مثبت) به ترتیب ۱/۵۲ ± ۲/۵۷ و ۰/۰۱ ± ۰/۰۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند [۲۳]. با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه و سایر پژوهش‌های ذکر شده و مقایسه EC_{50} عصاره پنیرک با اسانس‌های ذکر شده، مشخص است که عصاره پنیرک فعالیت آنتی‌رادیکالی خوبی دارد. به عبارت دیگر، این عصاره در مقایسه با سایر منابع آنتی‌اکسیدانی ذکر شده نیز از فعالیت آنتی‌رادیکالی نسبتاً خوبی برخوردار است.

همان‌طور که مشخص است با افزایش غلظت عصاره پنیرک، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن افزایش می‌یابد که این امر می‌تواند ناشی از افزایش درصد مواد مؤثره از جمله افزایش میزان فنول کل آن باشد. زیرا ترکیبات فنولی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه‌ای هستند [۷]. ژانگ و همکاران (۲۰۰۶) در مطالعه‌ای مشابه، اعلام کرد که اسانس گیاه *Petroselinum crispum* در غلظت ۰/۵۱۲ درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی نزدیک با BHT در غلظت ۰/۱ درصد دارد [۱۳]. همچنین عیوقی و همکاران (۲۰۰۹) در طی مطالعه‌ای روی خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس شوید، اعلام کردند این اسانس در غلظت ۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشابه با BHT در غلظت ۰/۱ درصد دارد [۲۳].

شهیدی و همکاران (۱۹۹۴) گزارش کردند که می‌توان روغن کانولا را با عصاره‌ی آرد کانولا و روغن شلغم روغنی در برابر اکسیداسیون پایدار نمود و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره می‌تواند مربوط به حضور ترکیبات فنولیک باشد [۲۴]. سینگ و همکاران (۲۰۰۷)، اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس برگ دارچین را در روغن خردل و با اندازه‌گیری عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید مورد بررسی نمودند و نشان دادند که اسانس در سطح غلظتی ۰/۰۲ درصد اثر قوی‌تری نسبت به BHT، BHA و پروپیل‌گالات دارد [۲۵]. در تحقیق دیگری شهسواری و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس *Zataria multiflora* در سطح غلظتی ۰/۱ درصد معادل با آنتی‌اکسیدان شیمیایی BHA در غلظت ۰/۰۲ درصد است [۲۶]. اثر عصاره‌ی پوست سبز پسته در غلظت ۶۰۰ ppm در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی BHT و BHA در غلظت ۲۰۰ ppm، در به تأخیر انداختن اکسیداسیون در روغن سویا بررسی و مشخص شد که پوست سبز پسته به علت حضور ترکیبات فنولیک، می‌تواند به عنوان منبعی برای آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی معرفی شود [۲۷]. در تحقیقی که توسط برا 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 فنولی به نام تیمول بود [۲۸].

Archive of SID
www.SID.ir

از آنجایی که عصاره پنیرک حاوی ترکیبات فنولی، آنتوسیانین‌ها، کاروتنوئیدها و توکوفرول می‌باشد [۳۰، ۲۹] و نیز هر سه آزمون، خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس را تصدیق کرد، می‌توان نتیجه گرفت که این عصاره به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی، توانایی واکنش با رادیکال‌های حاصل از اکسیداسیون لیپیدها ($L^{\bullet}$، $LOO^{\bullet}$، $LO^{\bullet}$، $OH^{\bullet}$، $O_2^{\bullet}$ و غیره) را داشته و موجب قطع واکنش‌های زنجیری و افزایش زمان اکسیداسیون کند و کاهش سرعت اکسیداسیون خودبخودی می‌شود و می‌توان آن را پس از آزمون‌های دیگر به مواد غذایی (به ویژه آنهایی که حاوی روغن هستند) اضافه کرد.

تشکر و قدردانی

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

منابع

1. 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.

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

3. 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.

4. 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.

5. Lee SJ. Umano K, Shibamoto T and Lee KG. Identification of volatitle components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chem*. 2005; 91: 131 - 7.

6. Wichtl M. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. Translated by: Bisset NG, Boca Raton: CRC Press. 1994, pp: 292 - 4, 313 - 4.

7. Tsuda T, Watanabe M, Ohshima K, Norinob S, Choi S, Kawakishi S and Osawa T. Antioxidative activity of the anthocyanin pigments cyanidin 3-o-/3-~-glucoside and cyanidin. *J. Agric. Food Chem*. 1994; 42: 2407 - 10.

8. Zhen-yu W. Impact of anthocyanin from *Malva sylvestris* on plasma lipids and free radical. *Can. J. Res*. 2005; 16: 228 - 32.

9. Unver A, Arslan D, Ozcan MM and Akbulut M. Phenolic content and antioxidant activity of some spices. *World Appl. Sci. J*. 2009; 6: 373 - 7.

10. Bamdad F, Kadivar M and Keramat J. Evaluation of phenolic content and antioxidant activity of Iranian caraway in comparison with clove and BHT using model systems and vegetable oil. *Inter. J. Food Sci. Technol*. 2006; 41: 20 - 7.

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

12. 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.

13. Zhang H, Feng C and Wang Xi. Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its

Archive of SID

www.SID.ir

antioxidant constituents. *Food Chem*. 2006; 39: 833 - 9.

14. Singh RP, Murthy KNC, and Jayaprakasha GK. Studies on the antioxidant activity of pomegranate peel and seed extracts using *in vitro* models. *J. Agric. Food Chem.* 2002; 50: 81 - 6.

15. Joon-Kwan M. and Takayuki S. Antioxidant assays for plant and food components. *J. Agric. Food Chem*. 2009; 57 (5): 1655 - 66.

16. Brand-Williams W, Cuvelier ME and Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT*. 1995; 28: 25 - 30.

17. 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.

18. Unten L, Koketsu M and Kim M. Antidiscoloring activity of green tea polyphenols on β-carotene. *J. Agric. Food Chem*. 1997; 45: 2009 - 19.

19. Tsuchihashi H, Kigoshi M, Iwatsuki M and Niki E. Action of β-carotene as an antioxidant against lipid peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys*. 1995; 323: 137 - 47.

20. Chaillou LL and Nazareno MA. New method to determine antioxidant activity of polyphenols. *J. Agric. Food Chem*. 2006; 54: 8397 - 402.

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

22. Fazel M, Omidbeygi M, Barzegar M and Naghdi Badi H. Influence of heating on antiradical activity of essential oils of thyme, summer sarvory and clove by 2, 2- diphenyl- 1- picrylhydrazyl (DPPH•) method. *J. Med. Plants* 2007; 6: 54 - 63.

23. Ayoughi F. Barzegar M, Sahari MA and Naghdibadi H. Antioxidant effect of dill (*Anethum graveolens* Boiss.) oil in crude soybean oil and comparison with chemical antioxidants. *J. Med. Plants*. 2009; 30: 71 - 84.

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

25. 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.

26. Shahsavari N. Barzegar M, Sahari MA and Naghdibadi H. An investigation on the antioxidant activity of essential oil of *Zataria multiflora* Boiss. in soy bean oil. *J. Med. Plants* 2008; 28: 56 - 68.

27. 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.

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

29. Barros L, Carvalho AM and Ferreira ICFR. Leaves, flowers, immature fruits and leafy flowered stems of *Malva sylvestris*: A comparative study of the nutraceutical potential and composition. *Food Chem. Toxicol.* 2010; 48: 1466 - 72.

30. Farina A, Doldo A, Cotichini V, Rajevic M, Quaglia MG, Mulinacci N and Vincieri FF. HPTLC and reflectance mode densitometry of anthocyanins in *Malva silvestris* L.: a comparison with gradient-elution reversed-phase HPLC. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1995; 14: 203 - 11.

Archive of SID

www.SID.ir