

## ارزیابی ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه مرزه (*Satureja hortensis L.*) و مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی آن با عصاره‌های آبی و الکلی

ابوالفضل کامکار<sup>۱</sup> فهیمه توریان<sup>۲\*</sup> افشین آخوندزاده بستی<sup>۱</sup> علی میثاقی<sup>۱</sup> نبی شریعتی<sup>۳</sup>

۱) گروه بهداشت مواد غذایی و کنترل کیفی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران-ایران  
 ۲) گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تخصصی فن آوریهای نوین آمل، آمل-ایران  
 ۳) گروه بهداشت و ایمنی مواد غذایی، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران-ایران

(دریافت مقاله: ۲۰ آبان ماه ۱۳۹۱، پذیرش نهایی: ۱۶ بهمن ماه ۱۳۹۱)

### چکیده

**زمینه مطالعه:** کاهش اثرات زیان بخش رادیکال‌های آزاد، در سامانه‌های بیولوژیکی و غذایی، توسط آنتی اکسیدان‌ها امری مهم تلقی می‌شود، لذا تأمین ذخایر آنتی اکسیدانی که بتواند بهداشت و ایمنی جامعه را در بر داشته باشد ضروری بنظر می‌رسد. **هدف:** این تحقیق به منظور بررسی اثر آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره‌های مختلف گیاه *Satureja hortensis L.* انجام شد. **روش کار:** گیاه مرزه با استفاده از حلال‌های مختلف عصاره‌گیری شد و ترکیب شیمیایی اسانس گرفته شده از بخش‌های هوایی گیاه با GC/MS مورد آنالیز قرار گرفت، میزان دفاع آنتی اکسیدانی با استفاده از روش ۲' و ۲' دی فنیل - ۱ - پیکریل هیدرازیل (DPPH) و تست بتا کاروتن - لینولئیک اسید، تعیین گردید. **نتایج:** ۳۲ ترکیب در مجموع ۹۸/۹۲٪ اسانس شناسایی شد و تیمول، کاراکرول، گاما تربینن به ترتیب ترکیبات اصلی بودند. IC<sub>50</sub> در آزمون DPPH، در عصاره‌های آبی، متانولی و اتانولی و اسانس مرزه به ترتیب ترتیب (۳۸/۴۶±۰/۱۲ μg/mL، ۳۷/۷۳±۰/۱۷، ۳۰/۷۶±۰/۶۳ و ۹۶/۱۵±۰/۱۳) و در ممانعت از اکسیداسیون لینولئیک اسید در غلظت ۲g/L عصاره آبی، اتانولی، متانولی و اسانس به ترتیب ۸۰/۳، ۷۶/۲۵، ۷۴/۳ و ۵۲/۴۶٪، اثر مہاری را نشان دادند. در مورد BHT، مقادیر ۱/۹± و ۴/۹٪ در آزمون DPPH و تست بتا کاروتن گزارش گردید. نتایج در این مطالعه نشان داد تمامی تیمارها در مقایسه با کنترل، خاصیت آنتی اکسیدانی و جذب رادیکالی قوی‌ای از خود نشان دادند. بالاترین اثر جذب رادیکال‌ها برای عصاره اتانولی مشاهده شد. برای خاصیت آنتی اکسیدانی، عصاره آبی مرزه بیشترین میزان ممانعت‌کنندگی را نسبت به سایرین نشان داد. نتایج ما نشان داد خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها در هر دو روش به صورت معنی داری بیشتر از اسانس بود (p<۰/۰۵). **نتیجه‌گیری نهایی:** به نظر می‌رسد اسانس و عصاره‌های آبی و الکلی مرزه، می‌تواند به عنوان یک منبع آنتی اکسیدان طبیعی ارزان، قابل دسترس و بالقوه برای اهداف غذایی و دارویی مورد توجه قرار گیرد.

**واژه‌های کلیدی:** *Satureja hortensis L.*، اسانس، عصاره، فعالیت آنتی اکسیدانی

بیولوژیکی و غذایی کم می‌کند و موجب سمیت زدایی می‌شوند (۳۲).

رادیکال‌های آزاد، واکنش‌گرهای بسیار قوی هستند که در همه جا حضور دارند و می‌توانند منشأ داخلی یا خارجی داشته باشند و عمدتاً از اکسیژن و نیتروژن فعال به دست می‌آیند و می‌توانند با بیومولکول‌هایی نظیر پروتئین، DNA و... واکنش دهند و منجر به آسیب و یا مرگ سلولی و انواع بیماریها خصوصاً سرطان شوند (۳۲، ۱۳). در کنار نقش آنها در سامانه‌های زیستی، در مواد غذایی سرشار از چربی غیر اشباع نیز با ایجاد روند اکسیداسیون خودبه‌خودی و تولید ترکیبات شیمیایی نامطلوب باعث کاهش کیفیت تغذیه‌ای، در نتیجه تندی، بدطعمی و بد رنگ ماده غذایی شوند. لذا با توجه به عوارض سوء رادیکال‌های آزاد استفاده از ترکیبات آنتی اکسیدان ضروری به نظر می‌رسد (۱).

آنتی اکسیدان‌ها به دو دسته شیمیایی (سنتزی) و طبیعی تقسیم‌بندی می‌شوند (۳۳). آنتی اکسیدان‌های شیمیایی که بیشترین استفاده را در صنعت غذا دارند و بیشتر با ساختمان فنلی هستند شامل BHT، BHA، TBHQ، PG بوده که برای به تأخیر انداختن اکسیداسیون چربی‌ها استفاده می‌شود. اما طبق پاره‌ای از بررسی‌های انجام شده،

### مقدمه

بدون شک توسل به گیاهان دارویی، قدیمی‌ترین رهیافت بشر برای درمان بیماری‌ها بوده و همواره ارتباط تنگاتنگی بین آدمی و گیاه وجود داشته است. بنابراین گیاهان را می‌توان به عنوان منبعی از مواد شیمیایی بالقوه مفید دانست که این مواد بالقوه مفید را می‌توان نه تنها به عنوان دارو بلکه به عنوان الگوی بی نظیر برای ساخت آنالوگ‌های طبیعی جایگزین مواد شیمیایی دانست (۲۹). در دهه‌های اخیر، در راستای حذف یا کاهش ترکیبات سنتزی، تحقیقات زیادی برای جایگزینی مواد شیمیایی با طبیعی انجام شده و گزارش‌های متعددی بیان شد که گیاهان دارویی، دارای ترکیباتی با خاصیت آنتی اکسیدانی و یا آنتی رادیکالی می‌باشند (۱۹). که گروه بزرگی از این ترکیبات، متابولیت‌های ثانویه گیاهان هستند با ساختمان‌های پلی فنلی که در مواجهه گیاهان با گونه‌های فعال اکسیژن تولید می‌شوند (۲۳) و تقریباً در تمام گیاهان و تمام قسمت‌های آنها ساخته می‌شوند (۳۵). آنتی اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که به طور موثر و به طرق مختلف اثر زیان‌بخش رادیکال‌های آزاد را در سامانه‌های



اکسیدان های سنتزی پیشنهاد کرد.

## مواد و روش کار

**مواد گیاهی:** گیاه مرزه در شهریور سال ۱۳۸۸ از منطقه واوان جمع آوری و توسط دکتر غلامرضا امین (دانشکده داروسازی دانشگاه تهران) با شماره هر بار بوم (TEH-۶۷۱۷)، مورد تأیید قرار گرفت و پس از خشک شدن در سایه به صورت پودر درآمد. سپس عمل اسانس گیری به روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت و عصاره گیری به روش سوکسله به مدت ۴۸ انجام شد و تا زمان انجام آزمایش اسانس و عصاره در یخچال  $4^{\circ}\text{C}$  نگهداری گردید (۳۱).

**روغن:** روغن آفتابگردان تصفیه شده، بوزدایی و رنگبری شده، بدون آنتی اکسیدان از کارخانه نینا تهیه شد.

**مواد شیمیایی:** تمام مواد شیمیایی و حلال ها مورد استفاده با درصد خلوص بالا، از شرکت مرک (آلمان) و رادیکال آزاد  $\text{DPPH}^{\circ}$ ، بتا کاروتن، لینولئیک اسید، بوتیلیند هیدروکسی تولوئن (BHT) و بوتیلیند هیدروکسی آنیزول (BHA) از شرکت سیگما (آمریکا) خریداری شدند.

**تجزیه اسانس با GC/MS:** اسانس به دست آمده پس از آب گیری با سولفات سدیم بدون آب توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) تجزیه شد و با استفاده از محاسبه ی ضرایب بازداری هر یک از اجزای تفکیک شده و طیف جرمی آنها و مقایسه با استاندارد، ترکیبات تشکیل دهنده ی اسانس شناسایی شد.

دستگاه کروماتوگرافی استفاده شده از نوع Agilent ۶۸۹۰ با ستون به طول ۳۰m، قطر داخلی ۰/۲۵mm و ضخامت لایه ۰/۲۵ $\mu\text{m}$  از نوع 5MS-HP بود. برنامه دمایی ستون به این نحو تنظیم گردید: دمای ابتدایی آن  $50^{\circ}\text{C}$ ، توقف در این دما به مدت افزایش ۵ دقیقه، گردان دمای  $3^{\circ}\text{C}$  در دقیقه، دما تا  $240^{\circ}\text{C}$  با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا  $300^{\circ}\text{C}$  و ۳ دقیقه توقف در این دما. دمای اتافک تزریق  $290^{\circ}\text{C}$  بود و گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان (فلو) ۰/۸mL در دقیقه استفاده گردید. طیف سنج جرمی مدل Agilent ۵۹۷۳ با ولتاژ  $70\text{eV}$ ، روش یونیزاسیون (EI) و دمای منبع یونیزاسیون  $220^{\circ}\text{C}$  بود.

**بررسی خاصیت آنتی رادیکالی به روش  $\text{DPPH}^{\circ}$ :** استفاده از رادیکال پایدار ۲و۱ - دی فنیل ۱ - پیکریل هیدرازیل  $\text{DPPH}^{\circ}$  به عنوان معرف جهت بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس های گیاهی، کاربرد زیادی دارد. در این آزمون، رادیکال چربی دوست  $\text{DPPH}^{\circ}$  با آنتی اکسیدان هایی که دهنده ی هیدروژن می باشند، واکنش داده و به شکل کاهش یافته در می آید و رنگ محلول از بنفش تیره به زرد روشن تبدیل شده و در نتیجه میزان جذب در طول موج ۵۱۷nm - ۵۱۵ کاهش می یابد (۳۱). برای انجام این تست،  $50\mu\text{L}$  غلظت های مختلف اسانس و عصاره در متانول به  $5\text{mL}$  محلول  $0/004\text{ DPPH}^{\circ}$  در متانول اضافه گردید. بعد از ۳۰ دقیقه گرمخانه گذاری در دمای اتاق جذب نوری نمونه ها در

استفاده از این آنتی اکسیدان های سنتزی در بعضی از کشورها به علت اثرات نامطلوب آنها روی سلامتی افراد، دارای محدودیت می باشد. بنابراین امروزه استفاده از گروه وسیعی از گیاهان دارویی و ترکیبات آروماتیک آنها به عنوان منابع طبیعی که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی هستند، مورد توجه محققین قرار گرفته است (۱۹).

گیاه (*Satureja hortensis L.*) با نام فارسی مرزه باغی و نام انگلیسی Summer Savory از خانواده گیاهی لایمیاسه (نعناعیان) و از گونه هایی با خصوصیت آنتی اکسیدانی چشمگیری می باشد. بر طبق منابع موجود چنین به نظر می رسد نخستین بار در ایتالیا اقدام به پرورش این گیاه شده باشد. مرزه باغی گیاهی علفی، یکساله معطر و دارویی است که به عنوان یکی از سبزیجات مطبوع معرفی شده و کمی تند مزه است و مدت هاست که از آن به عنوان ادویه و طعم دهنده مواد غذایی، در صنایع کنسرو و نوشابه و فرآوری تکه های گوشت و انواع سوسیس استفاده می شود (۱۲، ۲۵). میزان اسانس در اندام های هوایی مرزه بسته به شرایط اقلیمی محل رویش گیاه متفاوت و بین ۲-۱٪ می باشد. مرزه به حالت وحشی در اماکن خشک، نواحی سنگلاخی و مزارع شنی اغلب نواحی جنوب اروپا و جنوب غربی آسیا مانند ایران و نیز در سیبری می روید. اثرات درمانی این گیاه متفاوت است از جمله: دارای خواص بادشکن و خلط آور است، برای بسیاری از اختلالات مجاری گوارشی شامل تهوع، اسهال، سوء هاضمه و بی اشتها بی مفید است، برای درمان دردهای عضلانی، گرفتگی عضلات نیز استفاده می شود (۳). این گیاه در بررسی های آزمایشگاهی اثرات ضد باکتریایی، ضد قارچی، آنتی اکسیدانی و آرام بخشی (مسکن) خواب آوری از خود نشان داده است (۳، ۱۲).

روش های متعددی جهت ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی و آنتی رادیکالی مواد طبیعی وجود دارد که بیشتر آنها نقش مکمل یکدیگر را دارند. در این تحقیق به منظور ارزیابی گیاه مرزه تابستانی، از دو روش به دام اندازی رادیکال های ۱و۲ - دی فنیل ۱ - پیکریل هیدرازیل ( $\text{DPPH}^{\circ}$ ) و (۷) تست بتا کاروتن - لینولئیک اسید استفاده شد که دوروش فوق در صنایع غذایی بسیار مطلوب می باشد (۱۷).

در مطالعات Souri و همکاران در سال ۲۰۰۴ (۳۴) و همکاران در سال ۲۰۰۸ (۶)، Gulluce و همکاران در سال ۲۰۰۳ (۱۶) با استفاده از تست های مختلفی که هر یک کاستی ها و برتری های خود را دارند، فعالیت آنتی اکسیدانی خوبی را برای اسانس و عصاره مرزه گزارش کردند (۳۱). به رغم فراوانی این گیاه، اطلاعات کمی در خصوص خواص آنتی اکسیدانی گیاه *Satureja hortensis L.* گزارش شده بنابراین لزوم توجه علمی به این موضوع حائز اهمیت بوده و تحقیق حاضر به بخشی از آن می پردازد. هدف از این مطالعه در وهله اول شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس و سپس بررسی فعالیت آنتی رادیکالی و آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره های گیاه مذکور با روش های آزمایشگاهی (*In vitro*) می باشد تا به این وسیله بتوان این مواد را به عنوان جایگزین یا مکمل آنتی



جدول ۱. مواد تشکیل دهنده‌ی اسانس مرزه تابستانی. t\*:traces (<0/1%)

ردیف	ترکیب شیمیایی	اندیس کوآتر (kl)	درصد
۱	$\alpha$ -Thujene	۹۲۹	۱/۲۴
۲	$\alpha$ - pinene	۹۳۷	۰/۷۱
۳	Camphene	۹۵۰	t
۴	Sabinene	۹۹۱	t
۵	$\beta$ - pinene	۹۸۴	۰/۳۵
۶	$\beta$ - myrcene	۹۹۳	۱/۶۸
۷	$\alpha$ -Phellandrene	۱۰۴۰	۰/۳۳
۸	d-3-Carene	۱۰۱۱	t
۹	$\alpha$ -Terpinene	۱۰۲۱	۳/۹۶
۱۰	$\beta$ -Phellandrene	۱۰۳۲	۰/۵۵
۱۱	1-Scineole	۱۰۳۷	t
۱۲	$\gamma$ -Terpinene	۱۰۵۹	۲۴/۷۲
۱۳	$\alpha$ -Terpinolene	۱۱۴۶	t
۱۴	Cis-sabinene hydrate	۱۰۶۷	t
۱۵	Linalool	۱۱۰۴	t
۱۶	Borneol	۱۱۶۴	t
۱۷	$\rho$ -Cymene	۱۱۸۵	۷/۵۵
۱۸	Alpha-Terpineol	۱۱۹۰	t
۱۹	Cis-Dihydro carvone	۱۱۹۵	t
۲۰	Carvacrol methyl ether	۱۲۴۵	۰/۱
۲۱	thymol	۱۲۹۰	۲۹/۱
۲۲	carvacrol	۱۲۹۹	۲۶/۶
۲۳	thymol acetate	۱۲۵۲	۰/۳
۲۴	Carvacrol acetate	۱۳۷۱	۰/۱
۲۵	T-Caryophyllene	۱۴۱۵	۰/۵۲
۲۶	Aromadendrene	۱۴۳۲	t
۲۷	Neryl acetone	۱۴۳۶	t
۲۸	$\alpha$ - Humulene	۱۴۵۲	t
۲۹	$\beta$ - Ionone	۱۴۸۳	*t
۳۰	$\beta$ -bisabolene	۱۵۰۸	۰/۹۹
۳۱	Spathulenol	۱۵۷۴	۰/۱۲
۳۲	$\alpha$ -bisabolol	۱۶۸۱	t

*Satureja hortensis* شناسایی شد. ترکیبات عمده آن عبارت اند از: تیمول (۲۹/۱٪)، کارواکرول (۲۶/۶٪)، گاماترپینن (۲۴/۷۲٪) و پاراسیمین (۷/۵۵٪)، که چهار ترکیب فوق بیش از ۸۷/۹۷٪ اسانس را تشکیل می دهند، البته ترکیباتی مثل آلفا ترپینن، بتامیرسن و آلفاتوجن نیز به میزان بسیار کمتر ترکیبات اسانس مرزه تابستانی را تشکیل می دادند.

حذف رادیکال‌های آزاد با استفاده از روش  $DPPH^{\circ}$ : با استفاده از روش اسپکتروفتومتری، جذب که بیانگر مقدار  $DPPH^{\circ}$  باقی مانده است، بعد از ۳۰ دقیقه اندازه گیری می شود. هرچه این مقدار بیشتر باشد، فعالیت آنتی اکسیدان‌ها در حذف رادیکال آزاد کمتر بوده است. بنابراین، میزان  $DPPH^{\circ}$  باقی مانده به طور معکوس با فعالیت حذف کنندگی رادیکال آنتی اکسیدان در ارتباط است (۲۰). در تمامی نمونه‌ها با افزایش غلظت، فعالیت به دام اندازی رادیکال افزایش می یابد. غلظتی از اسانس و عصاره که ۵۰٪ مهار رادیکالی را منجر شد در نمودار ۱ در مقایسه با بوتیلینت هیدروکسی تولوئن آورده شده است.

طول موج ۵۱۷nm بر علیه بلانک قرائت شد. درصد بازدارندگی رادیکال‌های آزاد از طریق رابطه زیر محاسبه گردید (۲۷).

$$I\% = (A_{blank} - A_{sample} / A_{blank}) \times 100$$

که در این رابطه  $A_{blank}$ ، جذب نوری کنترل منفی (دارای تمام معرف‌ها به جز غلظت مشخص از اسانس و عصاره مورد نظر) می باشد.  $A_{sample}$  میزان جذب نوری غلظت‌های مختلف اسانس و عصاره را بیان می کند. به جهت بررسی بهتر فعالیت آنتی رادیکالی، از فاکتور  $IC_{50}$  استفاده شد که بیانگر غلظتی از عصاره و یا اسانس که قادر به کاهش غلظت رادیکال آزاد DPPH به ۵۰٪ مقدار اولیه است که توسط نمودار محاسبه گردید. در این آزمایش به عنوان کنترل مثبت از آنتی اکسیدان سنتزی بوتیلینت هیدروکسی تولوئن استفاده گردید و کلیه آزمایش‌ها دو بار تکرار شدند.

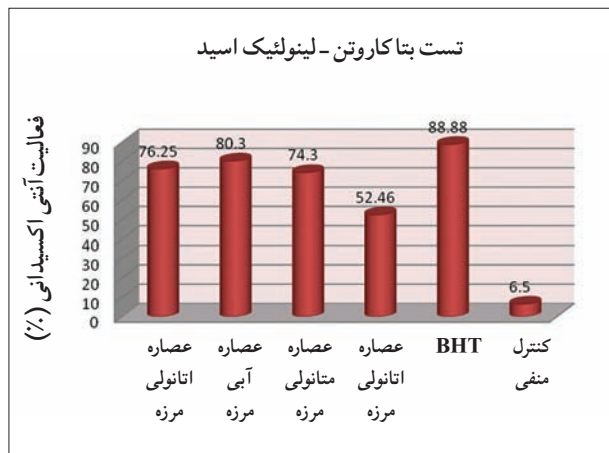
تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره‌های مرزه به روش بی رنگ شدن بتاکاروتن - لینولئیک اسید: در این روش فعالیت آنتی اکسیدانی، با آزمون بی رنگ شدن بتاکاروتن مورد سنجش قرار می گیرد. به این صورت که مواد ناشی از اکسیداسیون اسید لینولئیک با بتاکاروتن بر هم کنش داده و سبب کاهش رنگ شده و در نتیجه میزان جذب در طول موج ۴۹۰nm کاهش می یابد (۱۰). در این آزمایش ۵mg/۰ بتاکاروتن در ۱mL کلروفرم حل شد و سپس ۲۵ $\mu$ L لینولئیک اسید و ۲۰mg توئین ۴۰ به آن اضافه گردیده و کاملاً مخلوط شد. سپس با استفاده از دستگاه تبخیر در خلاء کلروفرم به طور کامل تبخیر گردید و ۱۰۰mL آب مقطر اشباع شده از اکسیژن (۳۰ دقیقه تحت فشار ۱۰۰mL در دقیقه) همراه با تکان شدید به آن اضافه شد. ۲۵۰ $\mu$ L از محلول تهیه شده فوق به لوله آزمایش منتقل شد و ۳۵۰ $\mu$ L از عصاره و اسانس (غلظت ۲g/L در اتانول HPLC grade) به لوله آزمایش اضافه گردید. بعد از ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری در دمای اتاق جذب نوری نمونه‌ها در ۴۹۰nm اندازه گیری شد. همین روش برای BHT به عنوان کنترل مثبت و کنترل منفی فاقد آنتی اکسیدان یا اسانس و عصاره (فقط حاوی ۳۵۰ $\mu$ L اتانول) می باشد به کار برده شد و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی، از مقایسه جذب نوری نمونه‌ها با زمان صفر و از روی میزان پایداری رنگ زرد بتاکاروتن به درصد مورد سنجش قرار گرفت (۲۷).

آنالیز آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS به روش آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و رسم نمودارها با نرم افزار Excel صورت گرفت. تمامی نتایج به صورت میانگین دو تکرار  $\pm$  انحراف استاندارد بیان شده است.

## نتایج

بررسی ترکیب شیمیایی اسانس: اسانس مرزه توسط روش تقطیر با دستگاه کلونجر بدست آمد. بازده اسانس ۱/۹۱٪ وزنی - وزنی بود. درصد ترکیبات تشکیل دهنده اسانس در جدول ۱ آورده شده است. براساس آنالیز بوسیله GC/MS، ۳۲ ترکیب در مجموع ۹۸/۹۲٪ در اسانس (L.

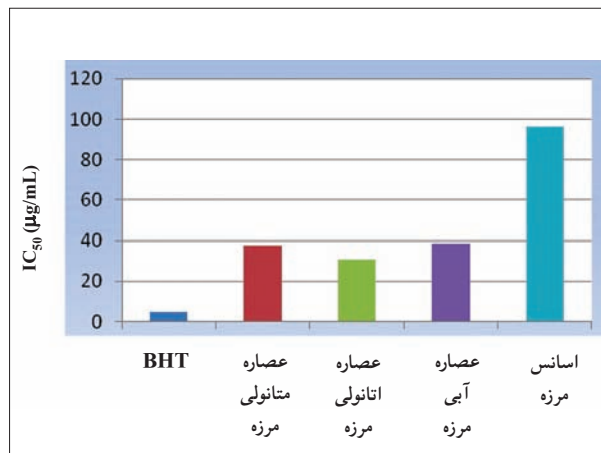




نمودار ۲. مقایسه ی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره های مرزه با BHT به روش بی رنگ شدن بتاکاروتن غلظت ها بر حسب  $\mu\text{g/L}$  اتانول.

موافق بود، آنها ۲۲ ترکیب برای اسانس مرزه باغی گزارش کردند. عمده ترین ترکیبات اسانس تیمول (۲۸/۹٪)، کارواکرول (۲۶/۱٪)، گاماترپینین (۲۱/۵٪)، پاراسیمن (۱۰٪)، آلفا پینین (۳٪)، آلفا ترپینین (۲/۷٪) و بتا پینین (۲/۵٪) بود (۱۶). در مطالعه ای که توسط Adiguzel و همکاران در سال ۲۰۰۷ در مورد اسانس (*Satureja hortensis L.*) انجام گرفت عمده ترین ترکیبات اسانس عبارت بودند از: تیمول (۴۰/۵۴٪)، گاما ترپینین (۱۸/۵۶٪)، کارواکرول (۱۳/۹۸٪) و پاراسیمن (۸/۹۸٪) (۲). مطالعه Omidbeygi و همکاران در سال ۲۰۰۷، بررسی خاصیت ضد قارچی مرزه باغی، ترکیب های عمده اسانس را کارواکرول (۲۴/۵۰٪)، تیمول (۲۳/۱۲٪)، گاماترپینین (۲۰/۷۲٪) و پاراسیمن (۶/۳۰٪) گزارش کردند (۲۶). بسیاری از محققین بیان کردند ترکیبات عمده گونه های جنس مرزه از مونوترپن های فنلی مثل تیمول و کارواکرول می باشد که اغلب به همراه گاما ترپینین، پاراسیمن و لینالول وجود دارند و این گروه از ترکیبات فنلی دارای خاصیت آنتی اکسیدانی و آنتی میکروبی هستند (۱۴، ۲۱، ۲۴، ۲۸، ۳۱، ۳۶) که این یافته ها با نتایج ما مطابقت دارد. البته همانگونه که مشاهده می شود در مقدار و نوع این ترکیبات تفاوت هایی مشاهده می شود که دلایل مختلفی دارد، به طور کلی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس های گیاهی بر حسب منطقه جغرافیایی رویش، رقم، سن گیاه در هنگام تهیه اسانس، شرایط محیطی و فصلی، نوع کشت، زمان برداشت، روش خشک کردن و استخراج اسانس، اسانس گیری از اندام های مختلف و در نهایت تفاوت ژنتیکی گیاه، می تواند تغییر کند (۵). حذف رادیکال های آزاد با استفاده از روش  $\text{DPPH}^\circ$ : فاکتور

$\text{IC}_{50}$  نسبت معکوسی با فعالیت آنتی اکسیدانی دارد. بدیهی است که هر چه این عدد کوچکتر باشد قدرت آنتی اکسیدانی یا مهار رادیکال های آزاد بیش ترمی باشد بین نتایج به دست آمده برای عصاره ها با اسانس دیده شد و اسانس و عصاره های یاد شده نسبت به BHT فعالیت آنتی رادیکالی کمتری داشتند، در بین عصاره ها، عصاره ی اتانولی اثر ضد رادیکالی بهتری



نمودار ۱. اثر اسانس و عصاره های آبی و الکلی مرزه تابستانی (*Satureja hortensis L.*) و کنترل مثبت BHT در مهار رادیکال های آزاد  $\text{DPPH}^\circ$ .

فاکتور  $\text{IC}_{50}$  در اسانس و عصاره های آبی، متانولی و اتانولی مرزه در این مطالعه به ترتیب  $48/46 \pm 0/12$ ،  $96/15 \pm 0/13$  و  $37/73 \pm 0/17$  و  $30/76 \pm 0/63$  به دست آمد. میزان  $\text{IC}_{50}$  در BHT، به عنوان کنترل مثبت  $4/9 \pm 1/9$  برآورد شد. در نمونه ی کنترل منفی کاهش در جذب دیده نشد. تمامی عصاره ها فعالیت آنتی اکسیدانی خوبی از خود نشان دادند و اختلاف معنی داری بین فعالیت این عصاره ها وجود نداشت ( $p < 0/05$ ) ولی اختلاف معنی داری بین نتایج به دست آمده برای عصاره ها با اسانس دیده شد و اسانس و عصاره های یاد شده نسبت به BHT فعالیت آنتی رادیکالی کمتری داشتند، در بین عصاره ها، عصاره ی اتانولی اثر ضد رادیکالی بهتری را نسبت به عصاره های آبی و متانولی دارا بود.

**بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی با بی رنگ شدن بتاکاروتن:** به منظور ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره مرزه از این روش استفاده شد. سرعت بی رنگ شدن بتاکاروتن در حضور آنتی اکسیدان ها کاهش می یابد در این آزمایش از BHT به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره مرزه در نمودار ۲ با آنتی اکسیدان سنتزی BHT مقایسه شده است.

بیش ترین اثر آنتی اکسیدانی در سامانه بی رنگ شدن بتاکاروتن مربوط به BHT در غلظت  $2 \text{g/L}$  بود. به ترتیب  $80/3$ ،  $76/25$ ،  $74/3$  و  $52/46$  و  $88/88$  اثر مهاری، توسط عصاره آبی، عصاره اتانولی، عصاره متانولی، اسانس مرزه، BHT و کنترل منفی گزارش گردید.

## بحث

**بررسی ترکیب شیمیایی اسانس:** بر اساس آنالیز GC/MS، ۳۲ ترکیب در مجموع ۹۸/۹۲٪ در اسانس (*Satureja hortensis L.*) شناسایی شد. ترکیبات عمده آن عبارت اند از: تیمول، کارواکرول، گاماترپینین و پاراسیمن، که چهار ترکیب فوق بیشترین درصد اسانس را تشکیل می دهند. نتایج ما با کار Gulluse و همکاران در سال ۲۰۰۳ در ترکیه، تقریباً



است فعالیت آنتی اکسیدانی کم تر اسانس مورد مطالعه نسبت به آنتی اکسیدان سنتزی BHT، به علت حضور ناخالصی موجود در اسانس باشد (۳۱). در مطالعه ای Oke و همکاران در سال ۲۰۰۹، فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره متانولی گیاه *Satureja cuneifolia* Ten را با روش بی رنگ شدن بتا کاروتن اندازه گیری کرده و میزان ترکیبات فنلی را بدست آورده و قدرت مهارى عصاره متانولی و اسانس را به ترتیب  $2/2 \pm 0/95$  و  $3/3 \pm 0/84$  اعلام کردند این محققین نشان دادند بین میزان ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی اکسیدانی ارتباط خوبی وجود دارد و فعالیت آنتی اکسیدانی بالای اسانس به علت حضور کارواکرول، پاراسیمین، تیمول و گاما تریپنین بود (۲۴). Souri و همکاران در ۲۰۰۴ بر اساس جلوگیری از پراکسیداسیون اسید لینولئیک، برای عصاره متانولی مرزه خواص آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به کوئرستین به عنوان کنترل مثبت گزارش کردند ولی نسبت به آلفا توکوفرول اثر مهارى کمتر بود (۳۴).

در مطالعه Gulluce و همکاران در سال ۲۰۰۳ فعالترین بخش از نظر ممانعت اکسیداسیون لینولئیک اسید، اسانس مرزه را با قدرت مهارى ۹۵٪ گزارش کردند، که تقریباً معادل قدرت مهارتوسط BHT (۹۶٪) بود و برای عصاره درصد ممانعت ۹۰٪ گزارش شد. ولی در تحقیق ما چنین اثر ممانعت از اسانس دیده نشد و عصاره ها قویتر عمل کردند (۱۶). Kamkar و همکاران در سال ۲۰۱۰ فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های آبی، اتانولی و متانولی پونه را با روش بی رنگ شدن بتا کاروتن بررسی و اثر مهارى را بصورت اسانس > عصاره ها > BHT نشان دادند (۱۸).

با توجه به نتایج می توان گفت گیاه مرزه دارای خواص آنتی اکسیدانی خوبی نسبت به سایر گیاهان دارویی می باشد، و در هر دو تست DPPH<sup>o</sup> و بی رنگ شدن بتا کاروتن، نتایج آزمایش با هم مطابقت داشتند و عصاره ها اثر مهارى و آنتی اکسیدانی تقریباً یک سطح داشته و قوی تر از اسانس گیاه ظاهر شدند که این بیشتر در ارتباط با ترکیبات فنلی می باشد، که به صورت گسترده در گیاهان یافت می شوند و بیشتر از طریق عصاره های گیاهی در مقایسه با اسانس آنها قابل استخراج می باشند. البته ممکن است فعالیت آنتی اکسیدانی کم تر اسانس، نسبت به عصاره ها به علت حضور ناخالصی موجود در اسانس باشد که علاوه بر اجزای موثر ترکیب های دیگری نیز حضور داشته باشند و بر خاصیت آنتی اکسیدانی اثر بگذارند بنظر می رسد اگر خالص سازی صورت گیرد اثر آنتی اکسیدانی بهتری از اسانس مشاهده گردد (۳۱). محققان زیادی علت خواص آنتی اکسیدانی اسانس ها را به علت حضور ترکیباتی نظیر گاما تریپنین، کارواکرول و تیمول می دانند (۸، ۹، ۱۱). که این ترکیبات از اجزای اصلی اسانس گیاه مرزه می باشند و خواص آنتی اکسیدانی اسانس را سبب می شوند (۶).

با توجه به خواص آنتی اکسیدانی این گیاه، این تحقیق می تواند نقطه شروعی برای آزمایش های تکمیلی در ارتباط با کاربرد اسانس و بخصوص عصاره ها در صنایع غذایی و دارویی باشد.

را نسبت به عصاره های آبی و متانولی دارا بود. اسانس از همه ضعیف تر عمل کرد. در مطالعه Fazel و همکاران در سال ۱۳۸۶، با بررسی اثر حرارت بر روی فعالیت آنتی رادیکالی اسانس های آویشن و مرزه، مقادیر IC<sub>50</sub> را به ترتیب ۸/۹ mg/mL و ۵/۸ گزارش کردند (۱۵) که نسبت به IC<sub>50</sub> اسانس مورد مطالعه ۹۶/۱۵ µg/mL فعالیت آنتی اکسیدانی متوسطی را نشان دادند.

Kamkar و همکاران در سال ۲۰۱۰، IC<sub>50</sub> اسانس و عصاره پونه را به این صورت گزارش کردند، اسانس ۱۷۶۵±۵ µg/mL، عصاره آبی پونه ۱۰۰±۲/۱، عصاره اتانولی ۵۸/۸±۰/۵۳ و عصاره متانولی ۵۰±۰/۵ (۱۸). Gulluce و همکاران در سال ۲۰۰۳ فعالیت آنتی رادیکالی اسانس و عصاره متانولی گیاه مرزه و کشت سلولی مرزه را با استفاده از تست DPPH<sup>o</sup> بررسی کردند، مقدار IC<sub>50</sub> در مورد عصاره متانولی کشت سلولی ۲۳/۶۷±۰/۸۰ µg/mL بود که قابل قیاس با آنتی اکسیدان سنتزی BHT، ۱۹/۸۰±۰/۵۰ µg/mL بود و بیان کردند که با تغییرات شرایط کشت، می توان تولید مواد موثر در فعالیت آنتی اکسیدانی را افزایش داد (۱۶).

Bahramikia و همکاران در سال ۲۰۰۸، فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی گیاه (*Satureja hortensis* L.) را با استفاده از ۳ تست ABTS، DPPH<sup>o</sup> و FRAP مورد ارزیابی قرار داده و به ارتباط مستقیم میان غلظت و پتانسیل فعالیت آنتی اکسیدانی آن پی بردند، و بیان کردند با افزایش غلظت، فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش معنی داری می یابد (۴). Mata و همکاران در سال ۲۰۰۷ روی نعنای پونه کار کردند، IC<sub>50</sub> برای عصاره ی آبی ۵/۷ و برای عصاره ی اتانولی ۶۵/۲ µg/mL و در مورد پونه، برای عصاره ی آبی و اتانولی به ترتیب ۸/۹ µg/mL و ۲۴/۹ µg/mL گزارش شد. نتایج به دست آمده در مورد عصاره های آبی دو گیاه مذکور در مقایسه با عصاره آبی گیاه مرزه از نظر فعالیت ضد رادیکالی بهتر بود ولی عصاره اتانولی مرزه نسبت به نعنای در سطح بالاتر ولی نسبت به پونه کمی ضعیف تر عمل کرده بود (۲۲).

Shahsavari و همکاران در سال ۲۰۰۸، میزان IC<sub>50</sub> اسانس آویشن شیرازی را ۲/۲۲±۰/۰۴ (mg/mL) و Zhang و همکاران در سال ۲۰۰۶، ۸۰/۲۱ mg/mL برای اسانس جعفری تعیین کردند که این اعداد فعالیت آنتی رادیکالی ضعیف تر این اسانس ها را نسبت به اسانس مورد مطالعه نشان دادند (۳۷). با توجه به مطالب بالا و مقادیر IC<sub>50</sub> اسانس و عصاره های مرزه نسبت به سایر گیاهان دارویی می توان نتیجه گیری کرد که این گیاه فعالیت آنتی رادیکالی نسبتاً خوبی دارد و قوی تر بودن فعالیت آنتی رادیکالی عصاره ها به علت وجود ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی می باشد که نسبت به اسانس قابلیت استخراج بیشتر دارند (۱۸).

**بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی با بی رنگ شدن بتا کاروتن:** نتایج بیانگر این است که عصاره آبی اثر مهارى خوبی را در برابر اکسیداسیون از خود نشان داد و ظرفیت آنتی اکسیدانی نزدیکی با آنتی اکسیدان سنتزی BHT دارد و اثر مهارى اسانس از عصاره ها و BHT کمتر بود. البته ممکن



## References

1. Abdalla, A., Roozen, J. (1999) Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion. *Food Chem.* 64: 323 - 329.
2. Adiguzel, A., Ozer, H., Kilic, H., Cetin, B. (2007) Screening of antimicrobial activity of essential oil and methanol extract of *Satureja hortensis* on foodborne bacteria and fungi. *Czech J Food Sci.* 25: 81-89.
3. Akhondzade, SH. (1379) Encyclopedia of Medicinal plants of Iran. Institute of medicinal plants jahad daneshgahi. Arjmand publication. Tehran, Iran.
4. Bahramikia, S., Yazdanparast, R., Nosrati, N. (2008) A comparison of antioxidant capacities of ethanol extracts of *Satureja hortensis* and *Artemisia Dracunculus* leaves. *Pharmacologyonline.* 2: 694-704 .
5. Burt, S. (2004) Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods (a review). *Int J Food Microbiol.* 94: 223-253.
6. Cavar, S., Maksimovic, M., Šolic, M., Jerkovic´-Mujkic´, A., Bešta, R. (2008) Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of two *Satureja* essential oils. *Food Chem.* 111: 648-653.
7. Chung, Y., Chien, C., Teng, K., Chou, S. (2006) Antioxidative and mutagenic properties of *Zanthoxylum ailanthoides* Sieb & zucc. *Food Chem.* 97: 418-425.
8. Daferera, D., Basil, N., Ziogas, M., Polissiou, G. (2000) GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *J Agric Food Chem.* 48: 2576-2581.
9. Daferera, D., Basil, N., Ziogas, M., Polissiou, G. (2003) The effectiveness of plant essential oils on *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Crop Prot.* 22: 39-44.
10. Dapkevicius, A., Venskutonis, R., VanBeek, T., Linssen, P. (1998) Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *J Sci Food Agric.*

## تشکر و قدردانی

بدینوسیله از حمایت‌های مالی معاونت محترم پژوهشی دانشکده دامپزشکی و معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تهران صمیمانه قدردانی می‌شود.

77: 140-146.

11. Didry, N., Dubreuil, L., Pinkas, M. (1993) Antibacterial activity of thymol, carvacrol and cinnamaldehyde alone or in combination. *Pharmazie.* 48: 301-304.
12. Dorman, H., Hiltunen, R. (2004) Fe (III) reductive and free radical-scavenging properties of summer savory (*Satureja hortensis* L.) extract and sub-fractions. *Food Chem.* 88: 193-199.
13. Espin, J., Soler-Rivas, C., Wichers, H. (2000) Characterisation of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2, 2- diphenyl- 1- picrylhydrazyl radical. *J Agric Food Chem.* 48: 648 - 656.
14. Esqui´vel, M., Ribeiro, M., Bernardo-Gil, M. (1999) Supercritical extraction of savory oil: Study of antioxidant activity and extract characterization. *J Supercrit Fluids.* 14: 129-138.
15. Fazel, M., Omidbeygi, M., Barzegar, M., Naghdi-Badi, H. (2007) 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.* 6: 54- 63.
16. Gulluce, M., Sokmen, M., Daferera, D., Agyar, G., Ozkan, H., Kartal, N., et al. (2003) In vitro antibacterial, antifungal and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of herbal parts and callus cultures of *Satureja hortensis* L. *J Agric Food Chem.* 51: 3958-3965.
17. Hinneburg, I., Dorman, D., Hiltunen, R. (2006) Antioxidant activities of selected culinary herbs and spices. *Food Chem.* 97: 122-129.
18. Kamkar, A., Jebelli, A., Asadi, F., Kamalinejad, M. (2010) The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. *Food Chem Toxicol.* 48: 1796-1800.



19. Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V. (2004) Use of different methods for testing antioxidative of oregano essential oil. *Food Chem.* 85: 633 -640.
20. Molyneux, PH. (2004) The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J Sci Technol.* 26: 211-219.
21. Novak, J., Bahoo, L., Mitteregger, U., Franz, C. (2006) Composition of individual essential oil glands of savory (*Satureja hortensis L.*, Lamiaceae) from Syria. *Flavour Fragr J.* 21: 731-734.
22. Mata, A., Proenca, C., Ferreira, A., Serralheiro, M., Nogueira, J., Araujo, M. (2007) Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food species. *Food Chem.* 103: 778-786.
23. Muret, K., Sevgi, K., Sengul, K., Esra, U., Cemalettin, B., Fedra, V. (2007) Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chem.* 100: 526-534.
24. Oke, F., Aslim, B., Ozturk, S., Altundag, S. (2009) Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. *Food Chem.* 112: 874-879.
25. Omidbaigi, R. (1999) *Production and Processing of Medicinal Plants.* Vol. 2. Tarahan Nashr Publications. Tehran, Iran.
26. Omidbeygi, M., Barzegar, M., Hamidi, Z., Naghdibadi, H. (2007) Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. *Food Control.* 18: 1518-1523.
27. Sahin, F., Güllüce, M., Daferera, D., Sökmen, A., Sökmen, M., Polissiou, M., et al. (2004) Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control.* 15: 549-57.
28. Sefidkon, F., Jamzad, Z. (2005) Chemical composition of the essential oil of three Iranian *Satureja* species (*S. mutica*, *S. macrantha* and *S. intermedia*). *Food Chem.* 91: 1-4.
29. Semnani, M., Saeedi, M., Mahdavi, M., Rahimi, F. (2007) Study and comparison of the antimicrobial activity of methanolic extracts of several species of *Stachys* and *Phlomis*. *J Mazandaran Univ Med Sci.* 57: 57-66.
30. Shahsavari, N., Barzegar, M., Sahari, M., Naghdibadi, H. (2008) Antioxidant activity and chemical characterization of essential oil of *Bunium persicum*. *Plant Food Hum Nutr.* 63: 183 - 188.
31. Shahsavari, N., Barzegar, M., Sahari, M.A., Naghdibadi, H. (2008) Antioxidant activity of essential oil of *Zataria multiflora* Boiss.) in soy oil. *J Med Plants.* 28: 56 - 68.
32. Shrififar, F., Moshafi, M., Mansouri, S. (2007) In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control.* 18: 800 -805.
33. Singh, G., Maurya, S., Delampasona, M. (2007) A comparison of chemical antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. *Food Chem Toxicol.* 45: 1650-1661.
34. Souri, E., Amin, G., Farsam, H., Andaji, S. (2004) The antioxidant activity of some commonly used vegetables in Iranian diet. *Fitoterapia.* 75: 585-588.
35. Stoilova, A., Krastano, A., Dtoyanova, P., Senev, P., Farfova, S. (2007) Antioxidant activity of ginger extract (*Zingiber Officinale*). *Food Chem.* 102: 764-770.
36. Svoboda, K., Greenaway, R. (2003) Investigation of volatile oil glands of *Satureja hortensis L.* (summer savory) and phytochemical comparison of different varieties. *Int J Aromather.* 13: 196-202.
37. Zhang, H., Chen, F., Wang, X., Yao, H. (2006) Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents. *Food Res Int.* 39: 833-839.



## Chemical composition of summer savory (*Satureja hortensis L.*) essential oil and comparison of antioxidant activity with aqueous and alcoholic extracts

Kamkar, A.<sup>1</sup>, Tooryan, F.<sup>2\*</sup>, Akhondzadeh Basti, A.<sup>1</sup>, Misaghi, A.<sup>1</sup>, Shariatifar, N.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran

<sup>2</sup>Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol-Iran

<sup>3</sup>Department of Food Safety Hygiene, School of Public Health, University of Tehran Medical Sciences (TUMS), Tehran-Iran

(Received 10 November 2012 , Accepted 4 February 2013)

### Abstract:

**BACKGROUND:** Reducing the detrimental effects of free radicals, in biological and food systems by antioxidants, is important, thus providing antioxidants is necessary issue in community health and food safety. **OBJECTIVES:** The aim of the present study was to determine antioxidant properties of the essential oil and various extracts obtained from summer savory. **METHODS:** Summer savory were extracted using different type solvents and chemical composition of hydro-distilled volatile oil from the aerial part of the plant and analyzed by GC/MS. the antioxidant activities were measured by 2, 2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH<sup>o</sup>) free radical scavenging and  $\beta$ -carotene-linoleic acid assays. **RESULTS:** 32 compounds, which representing 98/92% of the essential oil, were detected as major components: (thymol, carvacrol and terpinene, respectively). While IC<sub>50</sub> for DPPH radical-scavenging activity were 38.46 $\pm$  0.12, 37.73  $\pm$ 0.17, 30.76 $\pm$ 0.63  $\mu$ g/mL for water, methanol, and ethanol extracts, respectively, it was 96.15 $\pm$ 0.13  $\mu$ g/ml for essential Oil. 80.3, 76.25, 74.3 and, 52.46 % inhibition were shown for water, ethanol, methanol extracts and essential oil in  $\beta$ -carotene/linoleic acid assay, respectively. These parameters for BHT were 4.9 $\pm$ 1.9  $\mu$ g/mL and 88.88% for DPPH and  $\beta$ -carotene-linoleic acid tests, respectively. According to the results in this study, all treatments comparing with control ,displayed strong antioxidant and radical\_scavenging properties. The highest radical scavenging effect was observed in ethanol extract. The aqueous extract exhibited the greatest inhibition compared with others. Meanwhile, in both assays the extracts had more antioxidant activity than the essential oil (p<0.05). **CONCLUSIONS:** It seems the extracts (aqueous and alcoholic) and essential oil, could be considered as a cheap, easily accessible and potential source of natural antioxidants for food and pharmaceutical purposes.

**Key words:** *Satureja hortensis L.*, antioxidant activity, essential oil, extract

### Figure Legends and Table Captions

**Table 1.** Ingredients of summer savory's essential oil.

**Graph 1.** Effect of aqueous and alcoholic extracts, essential oil of summer savory (*Satureja hortensis L.*) and BHT in scavenging of DPPH free radicals

**Graph 2.** A Comparison of the antioxidant activity among essential oil, and extracts of summer savory extracts and BHT based on carotene bleaching method. the concentration was (2g/L of ethanol).