

ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی اسانس میوه گیاه زنیان و تأثیر آن بر پایداری اکسیداتیو روغن کانولا

فهمیه توریان، مریم عزیزخانی

گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ابرن

(دریافت مقاله: ۲۶ دی ماه ۱۳۹۷، پذیرش نهایی: ۲۰ فروردین ماه ۱۳۹۸)

چکیده

زمینه مطالعه: اکسیداسیون چربی منجر به تغییراتی در کیفیت تغذیه‌ای روغن، رنگ، عطر و طعم و بافت غذا می‌شود. روغن کانولا بخاطر داشتن اسیدهای چرب غیر اشباع بالا، مستعد فساد اکسیداسیونی می‌باشد و نیز استفاده از آنتی اکسیدان‌های سنتزی به علت امکان سمی و سرطان‌زا بودن محدود شده است، بنابراین مطالعات برای استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی به عنوان جایگزینی برای آنتی اکسیدان‌های سنتزی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد.

هدف: هدف از این مطالعه، شناسایی ترکیبات اسانس زنیان، ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی و قدرت آنتی رادیکالی این اسانس با استفاده از آزمون‌های مهار رادیکال آزاد (DPPH°)، بی رنگ شدن بتا کاروتن و تعیین اثر آنتی اکسیدانی آن در روغن کانولا بود. روش کار: اجزای اسانس با GC/MS آنالیز شدند و فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس، با اندازه‌گیری عدد پراکسید و اسید تیوباربیتوریک نمونه‌های روغن کانولای حاوی غلظت‌های مختلف اسانس و آنتی اکسیدان سنتزی (BHT) مورد بررسی قرار گرفت. **نتایج:** مواد تشکیل دهنده عمده اسانس، تیمول (۳۶/۴ درصد)، گاماترپینن (۲۱/۷۳ درصد) و پاراسیمین (۳۱/۳ درصد) بودند و IC₅₀ اسانس زنیان ۲۱±۰/۲ μg/ml محاسبه شد. در دو سامانه‌ی DPPH° و بیرنگ شدن بتا کاروتن، بعد از BHT، اسانس در سطح ۴۰۰ ppm از لحاظ فعالیت آنتی اکسیدانی قوی‌تر عمل کرد. همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی با افزایش غلظت، به طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵). **نتیجه‌گیری نهایی:** اسانس زنیان دارای فعالیت آنتی اکسیدانی می‌باشد و با انجام آزمایش‌های تکمیلی می‌توان به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی در مواد غذایی به ویژه روغن‌های خوراکی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: زنیان، اسانس، فعالیت آنتی اکسیدانی، روغن کانولا

کپی رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله تحقیقات دامپزشکی محفوظ است.

(* نویسنده مسئول: تلفن: ۰۱۱-۴۴۳۷۱۰۵۷، شماره: ۰۱۱-۴۴۳۷۱۰۵۴، Email: f.tooryan@ausmt.ac.ir

How to Cite This Article

Tooryan, F., Azizkhani, M. (2019). Evaluation of Antioxidant Properties of *Carum copticum* Fruit Essential Oil (EOs) and its Effect on the Oxidative Stability of Canola Oil. J Vet Res, 74(2), 187-197. doi: 10.22059/jvr.2018.235589.2647



مقدمه

کرد. همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس با روش ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH^o) با IC₅₀ (غلظتی از ترکیب است که باعث ۵۰ درصد بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی می‌شود) به میزان ۳۴ μg/ml ارزیابی کردند، در روش بتاکاروتن/اسیدلینولئیک نتایج نشان دادند که، اسانس به‌طور مؤثری قادر به مهار اکسیداسیون اسید لینولئیک به میزان ۸۲/۱۶ درصد بود که مشابه با BHT می‌باشد (۹). Hashemi و همکاران در سال ۲۰۱۴، از غلظت‌های مختلف (۰/۰۲۵، ۰/۰۵ و ۰/۰۷۵ درصد) اسانس زنیان بر پایداری اکسیداتیو روغن آفتابگردان استفاده و با BHA و BHT در طی دمای ذخیره سازی ۳۷ و ۴۷ درجه سانتی‌گراد مقایسه کردند و نشان دادند که همه غلظت‌های اسانس در مقایسه با BHA و BHT اثر آنتی اکسیدانی دارند و نتیجه گرفتند که اسانس می‌تواند به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی در چربی‌های مواد غذایی استفاده شود (۱۲). با وجود تحقیقات متعدد بر روی خواص آنتی اکسیدانی اسانس میوه گیاه زنیان، منابع اندکی در مورد خصوصیات آنتی اکسیدانی این اسانس در سامانه غذایی مثل روغن کانولا نسبت به روغن آفتابگردان با توجه به درصد بالای اسیدهای چرب خانواده امگا ۳ وجود دارد. لذا ضرورت شناخت اثرات آنتی اکسیدانی این گیاه برای استفاده صنعتی و جایگزینی با آنتی اکسیدان‌های سنتزی می‌باشد. هدف از این تحقیق استفاده از اسانس میوه گیاه زنیان در پایداری اکسایشی روغن کانولا بود.

مواد و روش کار

مواد گیاهی: اسانس زنیان از شرکت گل قطره توس (مشهد، ایران) در شیشه‌های نفوذناپذیر به هوا خریداری گردید و ترکیبات تشکیل دهنده‌ی آن با دستگاه GC/MS تعیین شد.

روغن: روغن کانولا (تصفیه شده، بی رنگ شده، بی بو شده و بدون آنتی اکسیدان) از کارخانه روغن نباتی بهشهر تهیه گردید.

مواد شیمیایی: تمام مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده با درصد خلوص بالا از شرکت مرک آلمان، و رادیکال آزاد DPPH^o، بتا کاروتن، لینولئیک اسید، بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT) از شرکت سیگما آلدریج تهیه شدند، تمام مواد شیمیایی با خلوص بالا بدون هیچ گونه خالص سازی مجدد مورد استفاده قرار گرفتند.

تجزیه اسانس زنیان توسط GC/MS: اسانس توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) تجزیه شد. دستگاه GC/MS از نوع Finnigan ۲۰۰۰ Thermo Quest Trace GC (انگلستان) بود. شناسایی اجزاء از طریق مقایسه مدت زمان بازداری مجموعه‌ای از n- آلکان‌ها (شاخص بازداری نسبی) صورت گرفت و نیز نتایج شاخص بازداری نسبی و طیف جرمی ترکیبات، با نمونه‌های مرجع (استانداردها) مقایسه گردید (۲).

روغن‌های خوراکی به دلیل خواص تغذیه‌ای خود و تأثیر در طعم و بوی مواد غذایی، به‌طور گسترده‌ای در صنعت مواد غذایی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. در میان آن‌ها، روغن کانولا یکی از مهم‌ترین روغن نباتی در بازار جهان است. روغن کانولا خام غنی از منابع اسیدهای چرب امگا ۳، آنتی اکسیدان‌ها (پلی فنل‌ها، توکوفرول‌ها، استرول‌ها، کاروتنوئیدها) و دیگر مواد مغذی ضروری برای سلامت انسان می‌باشد (۳۰). از سوی دیگر، مقدار بسیار کمی از یون‌های فلزی در روغن کانولا خام، بر پایداری اکسیداتیو آن تأثیر منفی دارد، که مربوط به چندین پارامتر فیزیکی شیمیایی و خواص حسی روغن می‌باشد. یون‌های فلزی (مس، منگنز، آهن) به عنوان کاتالیزور پرواکسیدان‌ها، هیدروپراکسیدها را به رادیکال‌های آزاد و محصولات اکسیداسیون ثانویه مانند آلدئیدها، کتون‌ها، اسیدها و اپوکسیدها تجزیه می‌کنند (۱۷). با این حال، در طول فرآیند تصفیه روغن کانولا خام در جهت کاهش فلزات پرواکسیدانی و دیگر عناصر (یون‌های کلسیم، منیزیم، سدیم، پتاسیم)، مقدار زیادی از آنتی اکسیدان‌ها مانند پلی فنل‌ها، توکوفرول‌ها، استرول‌ها و کاروتنوئیدها از بین می‌روند، در نتیجه جهت حفظ پایداری روغن به آن‌ها مواد آنتی اکسیدان سنتزی اضافه می‌کنند (۳۳، ۳۰، ۱۱، ۱۰). فرآیند اکسیداسیون یکی از مسیرهای مهم برای تولید رادیکال‌های آزاد در مواد غذایی، داروها و حتی بدن انسان است. آنتی اکسیدان‌های سنتزی در حال حاضر، بوتیلات هیدروکسی انیزول (BHA (Butylated Hydroxy (Anisole)، بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT (Butylated Hydroxy Toluene) بوتیل هیدروکینون‌ها و استرها‌های اسید گالیک می‌باشند، که مشکوک به علت و یا تسریع اثرات منفی بر سلامت‌اند. از این‌رو، محدودیت قوی در روند استفاده آن‌ها وجود دارد و برنامه جایگزین آن‌ها با آنتی اکسیدان‌های طبیعی وجود دارد (۳۴). فعالیت آنتی اکسیدانی گیاهان ممکن است به علت ترکیبات فنلی خود باشد (۶). گیاه زنیان متعلق به خانواده چتریان و بومی مناطق با خاک شور، خشک و نیمه خشک است (۱۹، ۱۴، ۳). و به‌طور گسترده‌ای در هند، عراق، ایران، افغانستان، پاکستان و مصر کشت و توزیع شده است. ادویه دانه این گیاه از نظر دارویی بسیار با ارزش است. میوه آن دارای طعم و مزه تلخ و تند می‌باشد، از اسانس آن برای عطر، حفظ مواد غذایی و در پزشکی استفاده می‌شود (۲۱، ۳). جزء اصلی اسانس زنیان، تیمول (۳۵-۶۰ درصد) است، به جزء تیمول شامل، پاراسیمن، گاما ترپنین، آلفا پینن، بتا پینن و به‌طور جزئی از دیگر ترکیبات می‌باشد (۳۴). Gandomi و همکاران در سال ۲۰۱۴، ترکیبات شیمیایی اسانس زنیان بوسیله کروماتوگرافی گازی مجهز به اسپکترومتر جرمی مورد بررسی قرار دادند که تیمول (۳۷/۴ درصد)، پاراسیمن (۱۹ درصد) و گاما ترپنین (۱۶/۹ درصد) به عنوان اجزای اصلی اسانس شناسایی شدند، و نشان دادند که اسانس زنیان فعالیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی قوی دارد که می‌توان از آن برای غذاهایی با چربی بالا و فاسد شدنی بخوبی استفاده



سنجش خاصیت آنتی رادیکالی با آزمون ۲۰۲-دی فنیل، ۱-

پیکریل هیدرازیل (DPPH°): فعالیت آنتی رادیکالی اسانس، با استفاده از رادیکال‌های پایدار DPPH° که یک ترکیب رادیکالی پایدار است، به عنوان معرف انجام گرفت. در این آزمون، رادیکال چربی دوست DPPH° با آنتی اکسیدان‌های دهنده ی هیدروژن واکنش داده و به شکل کاهش یافته در می‌آید و رنگ آن از بنفش تیره به زرد روشن تبدیل می‌گردد و در نتیجه میزان جذب در طول موج ۵۱۷ nm کاهش می‌یابد. در این آزمایش اسانس در غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ (ppm) و BHT به عنوان کنترل مثبت در غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ (ppm) تهیه گردید. سپس غلظت ۰/۰۰۴ درصد از DPPH° در متانول حل گردید و بعد ۵۰ µl از غلظت‌های مختلف اسانس به آن اضافه گردید. بعد از ۳۰ دقیقه در دمای محیط و در تاریکی، نگهداری شد. سپس جذب نوری محلول در طول موج ۵۱۷ nm بر علیه کنترل، با استفاده از اسپکترو فتومتر خوانده شد و از متانول خالص برای صفر کردن دستگاه استفاده گردید. سپس درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH° یا میزان فعالیت حذف کنندگی رادیکال اسانس Radical Scavenging Activity (RSA) با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

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

در این رابطه:

A sample میزان جذب نمونه؛ A control میزان جذب کنترل منفی، RSA فعالیت گیرندگی رادیکال است، کنترل منفی: فاقد اسانس و تنها حاوی ۰/۰۰۴ درصد DPPH° در متانول و RSA فعالیت حذف کنندگی رادیکال را نشان داده و بیان گر فعالیت آنتی اکسیدانی و درصد بازدارندگی است. به جهت بررسی بهتر فعالیت آنتی رادیکالی اسانس، از شاخص IC ۵۰ استفاده شد که بیان گر غلظتی از اسانس که قادر به کاهش غلظت رادیکال آزاد DPPH° اولیه به ۵۰ درصد مقدار اولیه است، همچنین از آنتی اکسیدان سنتزی BHA به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید و کلیه آزمایش‌ها سه بار تکرار شدند (۱۸).

تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس زنیان به روش بی رنگ شدن بتا

کاروتن: برای انجام آزمایش ابتدا یک محلول پایه از بتا کاروتن - لینولئیک اسید به صورت زیر تهیه گردید:

۵mg/بتا کاروتن در ۱ ml کلروفرم حل شد و سپس به فلاسک ته‌گردی که حاوی ۲۵ µl لینولئیک اسید و ۲۰۰ mg توئین ۴۰ بود اضافه شد و کاملاً مخلوط گردید. سپس در دمای محیط با استفاده از دستگاه تبخیر کننده چرخان تحت خلاء، کلروفرم به طور کامل تبخیر و خارج گردید، سپس ۱۰۰ ml آب مقطر اشباع شده از اکسیژن (۳۰ دقیقه تحت فشار/ml ۱۰۰ min) به فلاسک افزوده گردید و فلاسک برای تشکیل امولسیون به شدت همزده شد. سپس ۲۵۰۰ µl از محلول تهیه شده فوق به لوله‌های آزمایشی که حاوی ۳۵۰ µl اسانس و استاندارد BHT (غلظت ۲ g/l) در اتانول (HPLC grade) بود اضافه گردید، بلافاصله در زمان صفر جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۹۰ nm خوانده شد. سپس لوله‌های آزمایش به

مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق گرمخانه‌گذاری و جذب نوری نمونه‌ها در ۴۹۰ nm خوانده شد. در این آزمایش BHT به عنوان کنترل مثبت، و کنترل منفی فاقد آنتی اکسیدان یا اسانس (فقط حاوی ۳۵۰ µl اتانول) بود و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی از مقایسه جذب نوری نمونه‌ها با زمان صفر و از روی میزان پایداری رنگ زرد بتا کاروتن به صورت درصد مورد سنجش قرار گرفت (۲۵).

فعالیت آنتی رادیکالی نمونه‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$I = \frac{(A_{sample} - A_{control})}{(A_{control} - A_{control})} \times 100 \text{ درصد}$$

درصد = درصد بازدارندگی، A_{sample} (۴۸) = جذب نمونه بعد از ۴۸ ساعت، $A_{control}$ (۰) = جذب کنترل در زمان صفر و $A_{control}$ (۴۸) = جذب کنترل بعد از ۴۸ ساعت

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس مورد آزمون در روغن کانولا:

شیشه‌های حاوی روغن در گروه‌های جداگانه تهیه و اسانس در غلظت‌های مختلف به روغن افزوده شد. اسانس هر کدام در سه تیمار (۲۰۰ ppm، ۴۰۰، ۸۰۰) و آنتی اکسیدان سنتزی BHT (کنترل مثبت) در دو تیمار (۱۰۰، ۲۰۰) به روغن کانولا بدون آنتی اکسیدان، در شیشه‌های تیره رنگ اضافه گردید و درب شیشه‌ها بسته شد. سپس نمونه‌ها به همراه کنترل منفی (روغن کانولا بدون افزودن اسانس و آنتی اکسیدان سنتزی) برای مدت ۴۹ روز در انکوباتور در دمای ۳±۶۰ درجه سانتی گراد، در غیاب نور نگهداری شد. هر هفته ضمن همزدن روغن‌ها، مقادیر عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید نمونه‌های روغن اندازه گیری شد. آزمایشات به مدت ۴۹ روز در روزهای ۰، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵، ۴۲ و ۴۹ تکرار گردید.

روش تعیین عدد پراکسید روغن (Peroxide value):

برای تعیین عدد پراکسید، ۲ g روغن در ۳۰ ml استیک اسید و کلروفرم (به نسبت ۳ به ۲) حل گردید. سپس ۱ ml محلول اشباع یدید پتاسیم به آن افزوده شد. بعد از ۱ دقیقه نگهداری در تاریکی، ۳۰ ml آب مقطر به آن اضافه شد و محلول ساخته شده به وسیله تیوسولفات سدیم ۰/۰۲ نرمال در حضور محلول نشاسته ۱ درصد به عنوان معرف تا از بین رفتن رنگ آبی تیترا گردید. تمامی مراحل فوق برای شاهد بدون افزودن روغن به صورت موازی انجام گردید.

عدد پراکسید با استفاده از فرمول زیر بر حسب میلی اکی والان پراکسید در هر کیلوگرم (meq/kg) روغن محاسبه گردید:

$$PV \text{ (meq/kg)} = 100 \times (S_1 - S_2) \times W / (N)$$

در رابطه‌ی فوق S۱ میزان میلی لیتر مصرفی تیوسولفات سدیم برای تیتراسیون نمونه، S۲ میزان میلی لیتر مصرفی تیوسولفات سدیم برای تیتراسیون کنترل، N نرمالیه تیوسولفات سدیم مصرفی و W وزن روغن مورد آزمایش می‌باشد (۲۵).

روش تعیین عدد اسید تیوباربیتوریک (TBARS (Thiobarbituric acid-reactive Substances): تعیین عدد TBARS به روش AOCS



جدول ۱. ترکیبات تشکیل دهنده اسانس زنیان (تعیین شده GC/MS).

ردیف	ترکیب شیمیایی	زمان بازداری (دقیقه)	مقدار (درصد)
۱	آلفا-پینن	۱۴/۱۶	۰/۶۳
۲	بتا-پینن	۱۶/۱۳	۷/۵۰
۳	آلفا-تریپنین	۱۷/۳۸	۰/۳۵
۴	پارا-سیمن	۱۷/۷۰	۳۷/۴
۵	بتا-فلاندرن	۱۷/۸۲	۰/۴۴
۶	گاما-تریپنین	۱۷/۹۶	۲۱/۷۳
۷	آلفا-تریپینول	۲۲/۳۰	۰/۳۰
۸	۱-کاروون	۲۳/۷۷	۷/۱۵
۹	تیمول	۲۴/۳۶	۰/۱۹
۱۰	تیمول	۲۴/۵۶	۳۶/۴
۱۱	کارواکرول	۲۴/۷۶	۰/۷۴
جمع			۹۴/۸۳

احیا با اکسیدانت، اسانس زنیان قدرت الکترون دهی کمتری نسبت به BHT دارد. همان گونه که مشخص شد با افزایش غلظت در محدوده غلظتی بکار رفته شده، فعالیت گیرندگی رادیکال DPPH^o افزایش و سرعت بی‌رنگ شدن DPPH^o در حضور آن کاهش می‌یابد.

آزمون بتاکارتن-لینولینیک اسید: در این آزمون فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس بر اساس توانایی آن در جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش اکسیداسیون در سیستم امولسیون بتاکارتن / لینولینیک اسید ارزیابی شد. با توجه به تصویر ۳، اسانس زنیان در مقایسه با BHT، $1/41 \pm 81/3\%$ درصد بازدارندگی را نشان داد. بیشترین اثر آنتی‌اکسیدانی در سامانه بی‌رنگ شدن بتاکاروتن مربوط به BHT در غلظت 2 mg/ml بود، هیچ اثری در گروه کنترل دیده نشد. علت کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس در مقایسه با BHT می‌تواند ناخالصی‌های موجود در اسانس و عوامل دیگر نظیر کمتر بودن ترکیبات فنولی و اکسیژن‌دار باشد.

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس در روغن کانولا: جهت سنجش این فعالیت، تیمارها به شیشه‌های روغن کانولا بدون آنتی‌اکسیدان افزوده شد و اعداد پراکسید و تیوباربی‌توریک اسید در روزهای ۰، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵، ۴۲ و ۴۹ اندازه‌گیری گردید.

اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس بر عدد پراکسید (pv): در طول مدت نگهداری، پارامتر pv در تمام غلظت‌های اسانس افزایش یافت ولی این افزایش در مورد گروه کنترل بیشتر از بقیه گروه‌ها بود و از روز ۷ به بعد بین تمام گروه‌های تیمار شده با اسانس و کنترل از لحاظ آماری، این افزایش معنی‌دار می‌باشد ($P < 0/05$) و روغن‌های حاوی اسانس نسبت به کنترل، pv کمتری نشان دادند. با افزایش غلظت اسانس اثر آنتی‌اکسیدانی بهتری مشاهده شد و قوی‌ترین اثر آنتی‌اکسیدانی مربوط به غلظت 600 ppm اسانس بود که شکل گیری هیدرو پراکسیدها را به طور معنی‌دار به تعویق انداخت ($P < 0/05$) و با افزودن آن به روغن کانولا، عدد نهایی پراکسید

(۱۹۹۸)، انجام گرفت. در این آزمون مقدار 50 mg از نمونه روغن در 10 ml ۱، ۱- بوتانلحل شد، سپس 10 ml از محلول $0/2\%$ درصد تیوباربی‌توریک اسید در ۱- بوتانل به آن اضافه گردید و برای مدت ۲ ساعت در بن ماری 95°C درجه قرار داده شد و پس از آن به مدت 10 دقیقه سرد گردید (زیر شیرآب)، سپس جذب محلول در طول موج 532 nm توسط دستگاه طیف سنج نوری در مقابل بلانک قرائت شد و عدد TBARS بر مبنای میلی‌مول مالون دی‌آلدئید در گرم روغن گزارش گردید، آزمایشات سه بار تکرار و میانگین آن‌ها گزارش شد (۲۵).

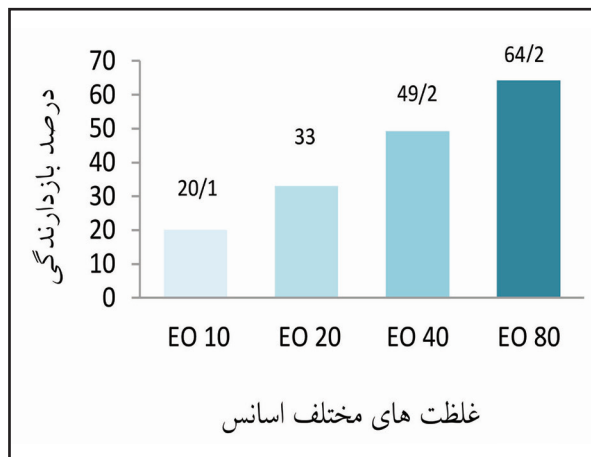
تجزیه و تحلیل آماری: داده‌ها با آزمون (One-Way ANOVA) با استفاده از نرم افزار آماری SPSS ۱۶ آنالیز شدند، و رسم نمودارها با نرم افزار EXCEL صورت گرفت. 50 IC با استفاده از نرم افزار M و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش حداقل تفاوت‌های معنی‌دار (LSD) تعیین گردید، و تمامی نتایج به صورت میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار بیان شد.

نتایج

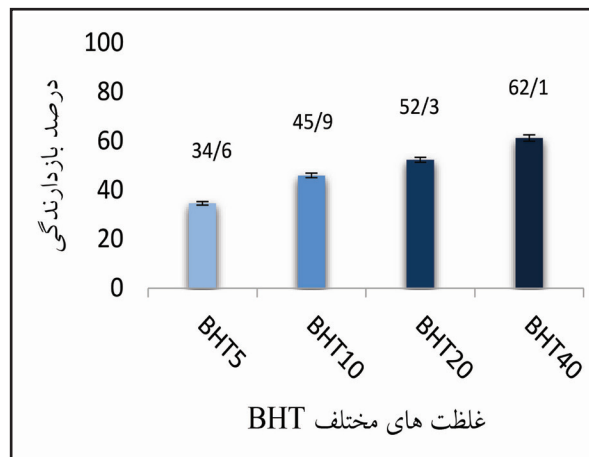
بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس زنیان: درصد ترکیبات با استفاده از مساحت پیک حاصل از آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای (FID) محاسبه شد، با شناسایی پیک‌های به دست آمده توسط دستگاه کروماتوگرافی به کمک شاخص بازداری و مقایسه‌ی آن‌ها با مقادیری که در منابع مختلف منتشر گردیده و نیز با استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه رایانه‌ی GC/MS، 11 ترکیب در مجموع $94/83\%$ درصد در اسانس زنیان شناسایی شد (جدول ۱). ترکیبات عمده آن عبارت‌اند از: تیمول ($36/4\%$) (Thymol) درصد، گاماتریپنین ($21/73\%$) (Terpinene) و پاراسیمن ($37/4\%$) (Cymene) درصد بودند، که سه ترکیب فوق بیش از $89/53\%$ درصد اسانس را تشکیل می‌دادند، البته به میزان کمتری ترکیباتی مثل بتا پینن (β -pinene)، کاروون (Carvone) و کارواکرول (Carvacrol) نیز مشاهده شد.

قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH^o: تصویر ۱ فعالیت آنتی‌اکسیدانی BHT به عنوان کنترل مثبت برای اسانس زنیان در این آزمون را نشان می‌دهد، و با توجه به تصویر ۲، می‌توان دریافت ارتباط مستقیمی بین غلظت‌های مختلف اسانس گیاه زنیان با قدرت مهار رادیکال آزاد (درصد) آن‌ها وجود دارد و با افزایش غلظت اسانس، قدرت مهار رادیکال آزاد نیز افزایش پیدا می‌کند. همچنین با استفاده از آزمایش DPPH^o، 50 IC اسانس زنیان و BHT بدست آمد، فاکتور 50 IC نسبت معکوسی با فعالیت آنتی‌رادیکالی اسانس دارد. بدیهی است که هرچه عدد 50 IC کوچکتر باشد قدرت آنتی‌اکسیدانی یا مهار رادیکال‌های آزاد بیشتر می‌باشد. همان گونه که مشاهده می‌شود، اسانس با 50 IC ($21 \pm 0/2$) در مقایسه با BHT ($4/5 \pm 1/8$) به عنوان کنترل مثبت، در مهار رادیکال‌های آزاد توسط ضعیف‌تر عمل کرده است ($P < 0/05$)، به نظر می‌رسد در واکنش اکسایش-

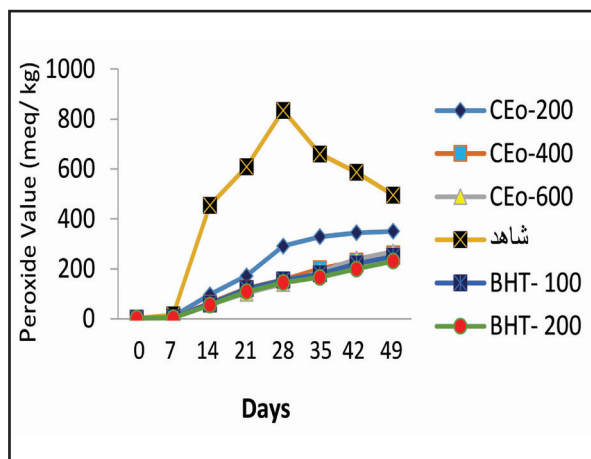




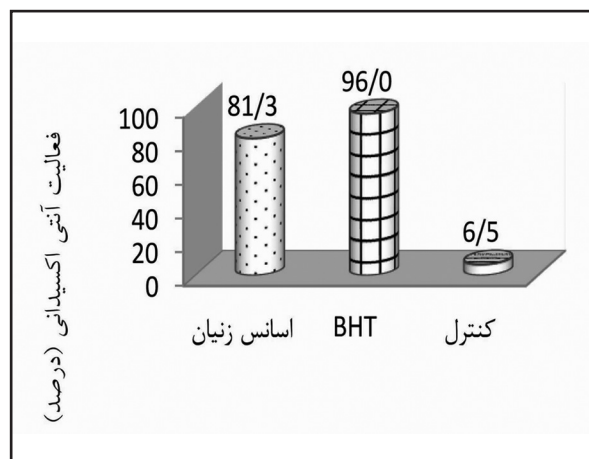
تصویر ۲. رابطه میان فعالیت گیرندگی رادیکال DPPH^o با غلظت های مختلف اسانس زنیان.



تصویر ۱. رابطه میان فعالیت گیرندگی رادیکال DPPH^o با غلظت های مختلف BHT.

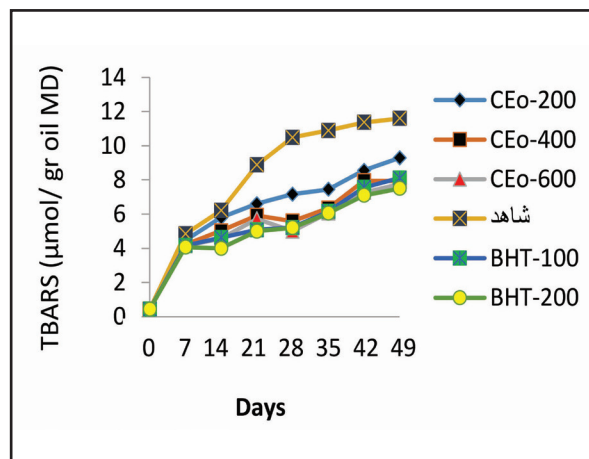


تصویر ۴. اثر اسانس زنیان در غلظت های مختلف روی عدد پراکسید در مقایسه با BHT و کنترل تحت شرایط تسریع شده در دمای ۶۰°C برای مدت ۴۹ روز.



تصویر ۳. مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس زنیان با BHT به روش بی رنگ شدن بتاکارتین بر حسب غلظت ۲ g/l اتانول.

آنتی اکسیدانی اسانس در غلظت ۶۰۰ ppm قابل قیاس با BHT در هر دو سطح غلظتی بود و اختلاف معنی داری بین اعداد پراکسید مشاهده نگردید ($P < 0.05$). در هر دو سطح غلظتی ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm، به صورت معنی دار در طی دوره آزمایش تا پایان دوره از تمامی تیمارها قدرت آنتی اکسیدانی بیشتری را نشان داد ($P < 0.05$) و بعد از آن غلظت ۴۰۰ و ۶۰۰ ppm اسانس قرار گرفت. فعالیت آنتی اکسیدانی با عدد پراکسید نسبت عکس دارد، هر چه فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتر باشد، عدد پراکسید روغن پایین تر است. همان گونه که ملاحظه می کنید، عدد پراکسید روغن وابسته به غلظت تیمارها است و با افزایش غلظت تیمارها (تا اندازه ای که اثرات پرواکسیدانی نداشته باشد)، عدد پراکسید کاهش و در نتیجه اثرات آنتی اکسیدانی افزایش می یابد ($P < 0.05$) و یک رابطه خطی بین غلظت اسانس ها و عدد پراکسید وجود دارد. به طوریکه در مورد اسانس میان سطوح غلظتی اختلاف معنی دار مشاهده شد ($P < 0.05$) و با افزایش غلظت اسانس بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی آن اضافه شد. با مقایسه ی عدد پراکسید حاصل شده از اثرات اسانس در سه سطح غلظتی با BHT، می توان اینگونه استدلال کرد که اسانس زنیان در سطوح غلظتی ۴۰۰ و ۶۰۰ ppm به ترتیب



تصویر ۵. اثر اسانس زنیان در غلظت های مختلف روی عدد TBARS در مقایسه با BHT و کنترل تحت شرایط تسریع شده در دمای ۶۰°C برای مدت ۴۹ روز.

بعد از ۳۵ روز کاهش یافت. ولی BHT در هر دو سطح غلظتی (۱۰۰ و ۲۰۰ ppm) از روز ۷ تا ۲۱ به طور معنی دار عدد پراکسید کمتری نسبت به سایر غلظت های اسانس نشان داد ولی از روز ۲۱ تا آخر دوره آزمایش اثر



محصولات ثانویه اکسیداسیون مربوط به غلظت ۶۰۰ ppm اسانس زنیان بوده که معادل با BHT در ۲۰۰ ppm است (تصویر ۵). باتوجه به روند تشکیل TBARS می‌توان اینگونه استنباط کرد که سرعت اکسیداسیون در نمونه‌ی کنترل بالاترین مقدار را دارد، در نتیجه تمامی نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان در برابر اکسیداسیون پایدارتر از نمونه‌ی کنترل می‌باشند و کنترل بیشترین عدد اسید تیوباربی‌توریک را دارا می‌باشد.

بحث

اکسیداسیون چربی یکی از علل عمده از بین رفتن کیفیت مواد غذایی در طول نگهداری روغن، و دیگر مواد غذایی حاوی چربی است. علاوه بر این، محصولات حاصل از اکسیداسیون لیپیدها سمی و ممکن است عوارض جانبی نظیر سرطان زایی، جهش زایی و پیری را داشته باشد. در سال‌های اخیر تولیدکنندگان مواد غذایی توجه زیادی به استفاده از نگه‌دارنده‌های طبیعی با منشأ گیاهی به جای نگه‌دارنده‌های شیمیایی در محصولات خود نموده‌اند. این امر به دلیل تمایل زیاد مصرف‌کنندگان به استفاده از مواد غذایی فرآوری شده با نگه‌دارنده‌های طبیعی می‌باشد. در تحقیقی Zarshenas و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که، تیمول، گاماترپین و پاراسیمین بیشترین میزان ترکیبات اسانس زنیان را تشکیل دادند (۳۵). Hashemi و همکاران در سال ۲۰۱۱ عمده ترکیبات تشکیل دهنده اسانس زنیان را تیمول، گاما ترپین و پاراسیمین گزارش کردند که بیشترین درصد تشکیل دهنده تیمول بود (۱۲). مشاهده می‌گردد که نتایج آنالیز اسانس در هر دو مطالعه قرابت بسیاری با هم دارند، و کار آن‌ها تطابق زیادی با مطالعه ما داشته است. Reichert و همکاران در سال ۱۹۹۸، گزارش کردند که ترکیبات اسانس حاصل از قسمت‌های مختلف گیاه متفاوت است و در مراحل مختلف رسیدن گیاه به‌طور قابل ملاحظه تغییر می‌کند (۲۲). با توجه به تحقیق حاضر در زمینه خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس و مطالعات سایر محققین، نشان داده شد که ترکیبات عمده اسانس گونه‌های جنس زنیان، از مونوترپن‌های فنلی مثل تیمول و مونوترپن‌های هیدروکربنی مثل گاما ترپین می‌باشند که اغلب به همراه پاراسیمین و لینالول وجود دارند و این گروه از ترکیبات، دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌میکروبی می‌باشند (۲۶). در کل، نتایج آنالیز اسانس زنیان در تحقیق ما از دیدگاه ترکیبات، منطبق با نتایج سایر محققین بود. البته نوع ترکیبات عمده و درصد آن‌ها در اسانس مورد مطالعه، در مقایسه با سایر بررسی‌های انجام گرفته متفاوت است که می‌تواند به شرایطی نظیر شرایط محیطی و فصلی (شرایط خاک، آب و هوا)، نوع کشت، زمان برداشت، منطقه جغرافیایی رویش، رقم، سن گیاه (۵) و در نهایت تفاوت ژنتیکی گیاه، وابسته باشد (۸). Espin و همکاران (۲۰۰۰) ظرفیت حذف‌کنندگی رادیکال ۵۷ اسانس از ۱۴ منبع مختلف را با استفاده از رادیکال DPPH^o تعیین نمودند، در گزارش آن‌ها آمده ظرفیت در صورت بالا رفتن غلظت به صورت خطی

معادل با BHT در سطوح غلظتی ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm عمل نموده است. ولی اختلاف عدد پراکسید حاصل شده از اثرات آنتی‌اکسیدانی سایر تیمارها در سطح غلظتی ۲۰۰ ppm در مقایسه با BHT در دو سطح، معنی‌دار بوده و نشان دهنده این امر می‌باشد که در طی ۴۹ روز اثرات آنتی‌اکسیدانی BHT بالاتر از سایر تیمارها در سطح غلظتی ۲۰۰ ppm بوده و قوی‌تر از آن عمل کرده است. باتوجه به آزمون انجام گرفته می‌توان دریافت که اثرات آنتی‌اکسیدانی BHT در سطح غلظتی ۲۰۰ ppm و اسانس زنیان به ترتیب در سطح غلظتی ۴۰۰ و ۶۰۰ ppm در جلوگیری از تشکیل پراکسید بیشتر از سایر تیمارها بود و از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشتند. بنابراین با کنترل روند تشکیل پراکسید می‌توان اینگونه استنباط کرد که سرعت اکسیداسیون در نمونه‌ی کنترل بالاترین مقدار را دارد، بنابراین تمامی نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان در برابر اکسیداسیون پایدارتر از نمونه‌ی کنترل می‌باشند (تصویر ۴).

اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس زنیان بر عدد تیوباربی‌توریک اسید (TBARS):
نتایج TBARS بسیار مشابه عدد پراکسید بود، تا روز ۷ بین کنترل و غلظت‌های اسانس اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$) و از روز ۷ به بعد عدد تیوباربی‌توریک اسید در کنترل به‌طور معنی‌دار ($P < 0/05$) از تمام غلظت‌های اسانس بالاتر بود. BHT در غلظت ۲۰۰ ppm مانند شاخص پراکسید به‌طور معنی‌دار در طی دوره آزمایش از غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm اسانس قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتری را نشان داد ($P < 0/05$). نکته جالب توجه این بود که از روز ۲۱ تا روز پایانی آزمایش، اختلاف معنی‌داری بین سطوح غلظتی BHT ۲۰۰ و ۶۰۰ ppm اسانس و همچنین ۱۰۰ و BHT ۴۰۰ ppm اسانس دیده نشد ($P > 0/05$). اسانس زنیان از اواسط دوره تقریباً معادل آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT عمل کرده بود. اسانس ۲۰۰ ppm از روز ۱۴، بعد از کنترل بیشترین مقدار TBARS را به خود اختصاص داد و کمترین اثر بازدارندگی را از خود نشان داد، که این نتایج، مانند عدد پراکسید به ارتباط غلظت و اثر آنتی‌اکسیدانی اشاره می‌کند. در مورد کنترل، از روز ۱۴ با ارزیابی میزان عدد TBARS تفاوت معنی‌داری با بقیه گروه‌ها داشت و قدرت آنتی‌اکسیدانی آن ضعیف‌تر از بقیه تیمارها بود ($P < 0/05$). تمام تیمارها به‌طور معنی‌دار نسبت به کنترل، عدد تیوباربی‌توریک اسید کمتری را نشان دادند. در اسانس زنیان، میان سطوح غلظتی اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P < 0/05$). با مقایسه عدد TBARS به دست آمده از اثرات اسانس زنیان با BHT، می‌توان اینگونه استدلال کرد که اسانس زنیان در سطح غلظتی ۴۰۰ ppm معادل با BHT در سطح غلظتی ۱۰۰ ppm عمل نموده است و اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس زنیان، در سطح غلظتی ۶۰۰ ppm در مقایسه با BHT در دو سطح، معنی‌دار بوده و قوی‌تر از آن عمل کرده است. باتوجه به نتایج به دست آمده از این آزمون، می‌توان گفت که در بین همه تیمارهای مورد بررسی در این آزمون، بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و بیشترین میزان جلوگیری از تولید



است، این گروه‌ها با گروه‌های متیلن C-۱۱ اسید لینولئیک رقابت می‌کنند و مانع از اکسیداسیون اسید لینولئیک می‌شوند (۲۳). با مطالعه و بررسی نتایج دیگران و مقایسه آن‌ها با نتایج این پژوهش می‌توان دریافت که بین نتایج بدست آمده از دو روش مورد استفاده، ارتباط مستقیم و مثبتی وجود دارد.

Abdalla و Roozen در سال ۱۹۹۹ اثر آنتی اکسیدانی عصاره مریم گلی را در روغن آفتابگردان بررسی کردند. عصاره مریم گلی در غلظت ۱۲۰۰ ppm بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی را نشان داد و فعالیت آن قابل مقایسه با آنتی اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۳۰۰ ppm بود (۱). Bera و همکاران در سال ۲۰۰۶ اثر آنتی اکسیدانی عصاره Ajowan (ادویه مورد استفاده در هند) را در روغن بزرک بررسی و با آنتی اکسیدان‌های سنتزی مقایسه کردند این عصاره فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی در روغن بزرک نشان داد که به دلیل حضور تیمول در آن بود. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره نسبت به BHA و BHT بیشتر ولی نسبت به TBHQ کمتر بود. این محققان عصاره Ajowan را به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی پیشنهاد کردند؛ زیرا علاوه بر بهبود پایداری روغن، ارزش غذایی آن را نیز افزایش می‌دهد (۴). Singh و همکاران در سال ۲۰۰۶ اثر آنتی اکسیدانی عصاره رازیانه را در روغن بزرک بررسی کردند. نتایج نشان داد، عصاره سرعت اکسیداسیون روغن بزرک را کاهش می‌دهد. این محققان گزارش کردند فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره به دلیل اثر تشدید کنندگی بین ترکیب‌های فنولی موجود در آن بود (۲۹). در ارتباط با بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس‌ها، Singh و همکاران در سال ۲۰۰۶ فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس Carumnigrum را با استفاده از آزمون آون در روغن خردل بررسی کردند اسانس با غلظت ۲۰۰ ppm به روغن خردل اضافه شد و تغییرات عدد پراکسید و اندیس اسید تیوباریتوریک در دمای ۶۰°C، به مدت ۲۸ روز بررسی شد. نتایج نشان داد اسانس قادر به کاهش سرعت اکسیداسیون روغن خردل در شرایط تسریع شده بوده و قابل مقایسه با آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT در غلظت ۰/۰۲ درصد می‌باشد (۲۸). Iqbal و Bhanger در سال ۲۰۰۷، در مطالعه‌ای که روی اثرات آنتی اکسیدانی عصاره‌ی سیر در پایداری روغن آفتابگردان در دمای تسریع شده (۶۵ درجه سانتی گراد)، در طول ۲۴ روز انجام دادند به فعالیت بالای آنتی اکسیدانی عصاره در غلظت ۱۰۰۰ ppm در مقایسه با BHA و BHT در غلظت ۲۰۰ ppm پی بردند که سبب افزایش پایداری روغن در مرحله‌ی اولیه‌ی اکسیداسیون می‌شود (۱۳). در این تحقیق نشان داده شد که اسانس زنیان در سطح غلظتی ۴۰۰ ppm قادر به مهار اکسیداسیون اولیه و ثانویه در روغن کانولا در طول نگهداری می‌باشد و در برخی از هفته‌های آزمایش بین این غلظت با BHT اختلاف معنی‌داری دیده نشد. در ارتباط با سایر تیمارها در مهار اکسیداسیون، از نظر آماری به طور معنی‌دار ضعیف‌تر از BHT در سطح غلظتی ۲۰۰ ppm عمل نمودند و در بیشتر روزهای آزمایش بین آن‌ها و BHT اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

و با ضریب همبستگی بالا، افزایش می‌یابد (۷). Shavsavari و همکاران در سال ۲۰۰۸ نیز نتایج مشابه‌ی در مورد اسانس زیره کوهی در آزمون رادیکال DPPH^o به دست آوردند (۲۷). Kordali و همکاران در سال ۲۰۰۵، فعالیت آنتی رادیکالی اسانس ترخون (*Artemisia dracunculus L.*) را در ۴ سطح غلظتی ۲۰۰، ۴۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۰۰۰ ppm بررسی نمودند و طبق پژوهش آن‌ها درصد فعالیت گیرندگی رادیکال به ترتیب ۴، ۸، ۱۰ و ۱۸ درصد به دست آمد (۱۶). Zhang و همکاران در سال ۲۰۰۶، در مطالعه‌ای مشابه، اعلام کرد که اسانس جعفری *Petroselinum crispum L.* در غلظت ۵/۱۲ فعالیت آنتی اکسیدانی نزدیک با BHT در غلظت ۰/۱ درصد دارد (۳۶). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت، با افزایش غلظت، فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش معنی‌داری می‌یابد که این امر می‌تواند ناشی از تأثیر افزایش درصد مواد اثرگذار و نیز افزایش محتوای فنول کل آن‌ها باشد. فعالیت گیرندگی رادیکال آزاد اسانس نیز، به صورت شاخص IC₅₀ بیان شد. در مطالعات انجام شده، Tepe و همکاران در سال ۲۰۰۵، مقدار IC₅₀ اسانس *Cyclotrichium origanifolium*، μg/ml ۱۷۱۰۰ L بر آورد کردند که نشانگر فعالیت آنتی رادیکالی نسبتاً کم این اسانس می‌باشد (۳۱). در مطالعه‌ای دیگر Kamkar و همکاران در سال ۲۰۱۰، IC₅₀ اسانس یونه را ۱۷۶۵±۵ μg/ml و غلظت مهاری ۵۰ درصد اسانس شویید را ۱۷۶۵±۵ μg/ml گزارش کردند (۱۵). با توجه به نتایج به دست آمده از آزمون DPPH^o در مقایسه با اسانس و استانداردهای کار شده در مطالعات دیگران، مشخص شد که اسانس زنیان دارای فعالیت آنتی اکسیدانی متوسطی نسبت به BHT است و به دلیل کمتر بودن مقدار IC₅₀، فعالیت آنتی رادیکالی نسبتاً خوبی را نسبت به سایر گیاهان دارویی نشان داد و در مهار رادیکال‌ها تقریباً در سطح بالایی عمل کرده است. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که اسانس زنیان فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی دارد. با توجه به کار سایر محققین، می‌توان با افزایش غلظت، اثر سایر عوامل را کم‌رنگ‌تر کرد. تیمول، کارواکرول، گاماترپین و پاراسیمن عمده‌ترین ترکیبات موجود در اسانس مورد مطالعه بوده‌اند، نقش کلیدی آن‌ها بخصوص ترکیب‌های فنلی به عنوان حذف‌کننده‌های رادیکال‌های آزاد در چندین مطالعه گزارش شده است (۳۲). Oke و همکاران در سال ۲۰۰۹، ویژگی‌های آنتی اکسیدانی اسانس *Satureja cuneifolia Ten* را مورد بررسی قرار دادند و درصد بازدارندگی اسانس و BHT را به ترتیب ۰/۳±۸۴/۵ درصد و ۱۰۰ گزارش کردند. نتایج نشان داد که علت بالا بودن فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس، به علت حضور ترکیب فنولی کارواکرول، پاراسیمن، تیمول و گاما ترپین است (۲۰)، که این ترکیبات در اسانس مورد استفاده در این تحقیق هم وجود داشت. براساس نتایج بدست آمده از GC/MS، یکی از ترکیب‌های عمده تشکیل دهنده اسانس زنیان، منوترپن هیدروکربن گاماترپین است. Baratta و Ruberto در سال ۲۰۰۰ گزارش کردند، دلیل فعالیت آنتی اکسیدانی بالای گاماترپین، وجود گروه‌های متیلن فعال در ساختار آن



References

1. Abdalla, A. E., Roozen, J. P. (1999). Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion. *Food Chem*, 64(3), 323-329. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00112-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00112-5)
2. Adams, R. P. (2001). Quadrupole mass spectra of compounds listed in order of their retention time on DB-5. Identification of essential oils components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Quadruple mass spectroscopy. Allured Publishing Co, Carol Stream, IL, USA, p. 456.
3. Ashraf, M. (2002). Salt tolerance of cotton: some new advances. *Crit Rev Plant Sci*, 21(1), 1-30. <https://doi.org/10.1080/0735-260291044160>
4. Bera, D., Lahiri, D., Nag, A. (2006). Studies on a natural antioxidant for stabilization of edible oil and comparison with synthetic antioxidants. *J Food Eng*, 74(4), 542-545. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.03.042>
5. Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int J Food Microbiol*, 94(3), 223-253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
6. Cook, N. C., Samman, S. (1996). Flavonoids—chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *J Nutr Biochem*, 7(2), 66-76. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(95\)00168-9](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(95)00168-9)
7. Espín, J. C., Soler-Rivas, C., Wichers, H. J. (2000). Characterization 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(3), 648-656. <https://doi.org/10.1021/jf9908188>
8. Galambosi, B., Peura, P. (1996). Agrobotanical features and oil content of wild and cultivated forms of caraway (*Carum carvi* L.). *J Essent Oil Res*, 8(4), 389-397. <https://doi.org/10.1080/10412905.1996.9700646>
9. Gandomi, H., Abbaszadeh, S., JebelliJavan, A., Sharifzadeh, A. (2014). Chemical Constituents, antimicrobial and antioxidative effects of *Trachyspermum ammi* essential oil. *J Food*

نتیجه گیری کلی: همان طور که ملاحظه شد تحقیقات نسبتاً وسیعی در ارتباط با کاربرد آنتی اکسیدان های طبیعی و سنتزی در روغن های خوراکی انجام شده و در سال های اخیر تحقیقات زیادی بر روی توان بالقوه منابع طبیعی به عنوان آنتی اکسیدان ها متمرکز شده است که در طراحی پژوهش حاضر مورد استفاده قرار گرفته اند. لذا در این پژوهش با بررسی تغییرات عدد پراکسید و عدد تیوباریتوریک اسید روغن کانولا حاوی تیمارهای BHT، اسانس زنیان، و کنترل نگهداری شده در گرمخانه (60°C) و ارزیابی نتایج آماری آن ها در دوره ۴۹ روزه، نشان داده شد که تیمارهای آنتی اکسیدانی BHT-۲۰۰ و اسانس زنیان-۴۰۰ نسبت به سایر تیمارها، بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی را داشته اند.

تشکر و قدردانی

این طرح تحقیقاتی با استفاده از اعتبارات ویژه پژوهشی (گرنه شماره ۳۶۳۱/۸) دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل انجام شده است، بدینوسیله از حمایت های مالی مدیر محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه تخصصی فناوری نوین آمل صمیمانه قدردانی می شود.

تعارض در منافع

بین نویسندگان هیچ گونه تعارض در منافع گزارش نشده است.

- Process Preserv, 38(4), 1690-1695. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12131>
10. Ghazani, S. M., García-Llatas, G., Marangoni, A. G. (2013). Minor constituents in canola oil processed by traditional and minimal refining methods. *J Am Soc*, 90(5), 743-756. <https://doi.org/10.1007/s11746-013-2215-2>
 11. Hafidi, A., Pioch, D., Ajana, H. (2005). Membrane-based simultaneous degumming and deacidification of vegetable oils. *Innov Food Sci Emerg*, 6(2), 203-212. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2004.12.001>
 12. Hashemi, M. B., Niakousari, M., Saharkhiz, M. J., Eskandari, M. H. (2014). Stabilization of sunflower oil with *Carum copticum* Benth & Hook essential oil. *J Food Sci Tech*, 51(1), 142-147. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0484-z>
 13. Iqbal, S., Bhangar, M. I. (2007). Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. *Food Chem*, 100(1), 246-254. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.049>



14. Joshi, A. R., Joshi, K. (2000). Indigenous knowledge and uses of medicinal plants by local communities of the Kali Gandaki Watershed Area, Nepal. *J Ethnopharmacol*, 73(1-2), 175-183. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(00\)00301-9](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00301-9)
15. Kamkar, A., Javan, A.J., 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. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.04.003>
16. Kordali, S., Kotan, R., Mavi, A., Cakir, A., Ala, A., Yildirim, A. (2005). Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *A. dracunculus*, *Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* essential oils. *J Agric Food Chem*, 53(24), 9452-9458. <https://doi.org/10.1021/jf0516538>
17. Kreps, F., Vrbiková, L., Schmidt, Š. (2014). Influence of industrial physical refining on tocopherol, chlorophyll and beta-carotene content in sunflower and rapeseed oil. *Eur J Lipid Sci Technol*, 116(11), 1572-1582. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201300460>
18. Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 26(2), 211-219.
19. Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, cell & environment*, 25(2), 239-250. <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00808.x>
20. Oke, F., Aslim, B., Ozturk, S., Altundag, S. (2009). Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. *Food Chem*, 112(4), 874-879. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.061>
21. Pruthi, J. S. (1980). Spices and condiments: chemistry, microbiology, technology. *Adv Food Res Supp*, 4, 1-449. PMID: 7446304
22. Reichert, S., Wüst, M., Beck, T., Mosandl, A. (1998). Stereoisomeric Flavor Compounds LXXXI: Dill Ether and Its cis-Stereoisomers: Synthesis and Enantioselective Analysis. *J High Res Chromatog*, 21(3), 185-188. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4168\(19980301\)21:3<185::AID-JHRC185>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4168(19980301)21:3<185::AID-JHRC185>3.0.CO;2-J)
23. Ruberto, G., Baratta, M. T. (2000). Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chem*, 69(2), 167-174. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00247-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00247-2)
24. Schuler P. (1990). Natural Antioxidants Exploited Commercially. In: *Food Antioxidants*. Elsevier Applied Food Science Series. Hudson B.J.F. (eds.). Elsevier science publisher LTD, Springer, Dordrecht, London, England. p. 99-170. <https://doi.org/10.1007/978-94-009-0753-9>
25. Selmi, S., Limam, Z., Batista, I., Bandarra, N. M., Nunes, M. L. (2011). Effects of storage temperature and α -tocopherol on oil recovered from sardine mince. *Int J Refrig*, 34(5), 1315-1322. <https://doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2010.08.018>
26. Shahsavari, N., Barzegar, M. O. H. S. E. N., Sahari, M. A., Naghdi Badi, H. (2008). An investigation on the antioxidant activity of essential oil of *Zataria multiflora* Boiss. in soy bean oil. *J Med Plants*, 4(28), 56-68.
27. Shahsavari, N., Barzegar, M., Sahari, M. A., Naghdibadi, H. (2008). Antioxidant activity and chemical characterization of essential oil of *Bunium persicum*. *Plant Food Hum Nutr*, 63(4), 183-188. <https://doi.org/10.1007/s11130-008-0091-y>
28. Singh, G., Maurya, S., De Lampasona, M. P., Catalan, C. (2006). Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract. *Food Control*, 17(9), 745-752. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.03.010>
29. Singh, G., Marimuthu, P., de Heluani, C. S., Catalan, C. A. (2006). Antioxidant and biocidal activities of *Carum nigrum* (seed) essential oil, oleoresin, and their selected components. *J Agric Food Chem*, 54(1), 174-181. 54: 174-181. <https://doi.org/10.1021/jf0518610>
30. Szydłowska-Czerniak, A. (2013). Rapeseed and its products- sources of bioactive compounds: a



- review of their characteristics and analysis. Crit Rev Food Sci Nutr, 53(4), 307-330. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.529959>
31. Tepe, B., Sokmen, M., Sokmen, A., Daferera, D., Polissiou, M. (2005). Antimicrobial and antioxidative activity of the essential oil and various extracts of *Cyclotrichium origanifolium* (Labill.) Manden. & Scheng. J Food Eng. 69: 335-342. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.08.024>
32. Thériault, M., Caillet, S., Kermasha, S., Lacroix, M. (2006). Antioxidant, antiradical and antimutagenic activities of phenolic compounds present in maple products. Food Chem, 98(3), 490-501. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.079>
33. Van Hoed, V., Ali, C. B., Slah, M., Verhé, R. (2010). Quality differences between pre-pressed and solvent extracted rapeseed oil. Eur J Lipid Sci, 112(11), 1241-1247. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201000053>
34. Zarshenas, M. M., Moein, M., Samani, S. M., Petramfar, P. (2013). An overview on ajwain (*Trachyspermum ammi*) pharmacological effects; modern and traditional. J Nat Remedies, 14(1), 98-105.
35. Zarshenas, M. M., Samani, S. M., Petramfar, P., Moein, M. (2014). Analysis of the essential oil components from different *Carum copticum* L. samples from Iran. J Pharmacogn, 6(1), 62-66. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.122920> PMID: 24497745
36. Zhang, H., Chen, F., Wang, X., Yao, H. Y. (2006). Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents. Int Food Res J. 39(8), 833-839. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.03.007>



Evaluation of Antioxidant Properties of *Carum copticum* Fruit Essential Oil (EOs) and its Effect on the Oxidative Stability of Canola Oil

Fahimeh Tooryan, Maryam Azizkhani

Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

(Received 16 January 2019, Accepted 9 April 2019)

Abstract:

BACKGROUND: Oxidation of lipids results in changes that may affect the nutritional quality, wholesomeness, colour, flavour and texture of food. Canola oil is prone to oxidation because of high unsaturated fatty acids. Using synthetic antioxidant due to the possibility of toxic and carcinogenic effects is limited. Thus, it is important to research on replacing synthetic antioxidants by natural antioxidant.

OBJECTIVES: The aim of this research was identification of the chemical compounds of *Carum copticum* essential oils (CEOs) and investigation of antioxidant and antiradical properties by using Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) method and β -carotene/linoleic acid system and assaying its antioxidant capacity in canola oil.

Methods: *Carum copticum* essential oil was analyzed by GC/MS. Anti-radical activity of (CEOs) was investigated by using various methods and then antioxidant was tested by measuring the peroxide value and thiobarbituric acid of canola oil samples containing different concentrations of *C. copticum* essential oil and synthetic antioxidant(BHT).

RESULTS: Results showed that thymol (36.4%), γ -terpinene (21.73%) and ρ -cymene (31.3%) were the major compositions of essential oil. IC50 value of (CEOs) was $21 \pm 0.2 \mu\text{g/ml}$. In both systems, the sequence of the power of antioxidant activity was BHT then *C. copticum* essential oil. In addition, by increasing the concentrations, their antioxidant activities were increased. Statistical results revealed *C. Copticum* essential oil at concentration of 400 ppm ($P > 0.05$).

CONCLUSIONS: *Carum copticum* essential oil is a potent antioxidant for stabilization of canola oil and can be used as a natural antioxidant. It seems that after complementary test it can be used as natural antioxidant in foodstuff, especially in edible oils.

Keyword:

Carum copticum, Essential oil, Antioxidant activity, Canola oil

Figure Legends and Table Captions

Table 1. The composition of *C. copticum* EOs identified by GC/MS.

Figure 1. Relationship between radical scavenging activity of DPPH^o with different concentrations of BHT.

Figure 2. Relationship between radical scavenging activity of DPPH^o with different concentrations of *C. copticum* EO.

Figure 3. Comparison of the antioxidant activity of *C. copticum* fruit essential oil and BHT defined as inhibition percentage through β -carotene assay (2g/l ethanol).

Figure 4. The effect of different concentrations of *C. copticum* fruit essential oil on peroxide value compared to BHT and control under accelerated storage at 60 C ° for 49 day.

Figure 5. The effect of different concentrations of *C. copticum* fruit essential oil on TBARS compared to BHT and control under accelerated storage at 60 C ° for 49 days.

