

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

محمد طاهانزاد<sup>۱</sup>، محسن برزگر<sup>۲\*</sup>، محمدعلی سحری<sup>۳</sup>، حسنعلی نقدی بادی<sup>۴</sup>

- ۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
- ۲- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
- ۳- استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
- ۴- دانشیار پژوهش، گروه پژوهشی کشت و توسعه، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج  
\*آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی  
صندوق پستی: ۳۳۶ - ۱۴۱۱۵، تلفن: ۴۸۲۹۲۳۲۳ (۰۲۱)، نمابر: ۴۸۲۹۲۲۰۰ (۰۲۱)  
پست الکترونیک: mbb@modares.ac.ir

تاریخ تصویب: ۹۰/۴/۱۵

تاریخ دریافت: ۸۹/۹/۸

### چکیده

مقدمه: امروزه بررسی امکان جایگزینی بسیاری از افزودنی‌های شیمیایی همچون ضداکساینده‌های سنتزی با ترکیبات مؤثره گیاهان دارویی مورد توجه محققین قرار گرفته است.

هدف: تعیین اجزای اصلی اسانس اسطوخودوس، ارزیابی فعالیت ضداکسایشی و قدرت ضدرادیکالی این اسانس با آزمون‌های DPPH<sup>o</sup>، ABTS<sup>o+</sup> و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن و نهایتاً، تعیین اثر ضداکسایشی آن در روغن خام سویا از اهداف این تحقیق است. روش بررسی: اجزای اسانس با GC/MS شناسایی شدند. فعالیت ضدرادیکالی اسانس مذکور با استفاده از روش‌های مختلف بررسی و در ادامه فعالیت ضداکسایشی اسانس در روغن خام سویا به روش آزمون آون مطالعه شد.

نتایج: ۶ ترکیب عمده اسانس، لینالول (۲۷/۸۹ درصد)، کامفور (۱۰/۸۲ درصد)، ۱ و ۸ سین‌آل (۹/۰۵ درصد)، لینالول استات (۸/۸۶ درصد)، بورن‌آل (۷/۲۹ درصد) و آلفا تریپن‌آل (۵/۰۴ درصد) بود. EC<sub>50</sub> اسانس اسطوخودوس ۱/۵۸ ± ۳۵/۵۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد. در آزمون ABTS<sup>o+</sup>، بیشترین فعالیت ضداکسایشی مربوط به غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسانس بود. در آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن، بیشترین فعالیت ضداکسایشی اسانس اسطوخودوس مربوط به غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آن بود که ۵۴/۴ درصد بازدارندگی از خود نشان داد. در آزمون آون، اسانس توانایی جلوگیری از تولید محصولات اولیه و ثانویه اکسیداسیون، در روغن سویای خام را در سطح غلظتی ۰/۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر که تقریباً معادل با ضداکساینده شیمیایی BHA در سطح غلظتی ۰/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است، داشت.

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

کل واژگان: اسطوخودوس، فعالیت ضدرادیکالی، فعالیت ضداکسایشی، بی‌رنگ شدن بتاکاروتن، روغن سویا



## مقدمه

رادیکال‌های آزاد، اتم‌ها یا مولکول‌های با الکترون جفت‌نشده هستند که قادرند به مولکول‌های سامانه‌های زیستی بدن آسیب وارد کرده [۱] و باعث بروز بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان، پیری زودرس و تصلب شرایین شوند [۲،۳]. این ترکیبات مضر در اثر ارتباط سلول‌های بدن انسان و سایر موجودات زنده با عوامل اکسیدکننده موجود در هوا، آب و غذا و نیز بر اثر فعالیت‌های متابولیکی صورت گرفته در درون سلول به وجود می‌آیند. به ویژه بخش مهمی از این ترکیبات در اثر اکسیداسیون مواد غذایی به خصوص چربی‌ها، تولید می‌شوند که این امر 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 [۴].

اثر زیان‌بخش رادیکال‌های آزاد را می‌توان توسط مواد آنتی‌اکسیدان 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 رادیکال‌های آزاد خواهند شد [۵]. هرچند امروزه در صنعت استفاده از ضداکساینده‌های سنتزی متعددی از جمله بوتیلات هیدروکسی تولوئن (Butylated hydroxyl toluene)، بوتیلات هیدروکسی آنیزول (Butylated hydroxyl anisole) و ترت بوتیل هیدروکینون (Tert-butyl hydroquinone) متداول است اما به دلیل اثرات نامطلوب تغذیه‌ای و سرطان‌زا بودن این ترکیبات و نیز تمایل مصرف‌کنندگان به استفاده از ترکیبات طبیعی، استفاده از ضداکساینده‌های طبیعی مورد توجه محققین قرار گرفته است [۶،۷،۸]. اگر چه از دیرباز به منظور پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌ها، استفاده از گیاهان دارویی به‌طور سنتی در جوامع مختلف معمول بوده است ولی در سال‌های اخیر مطالعه‌های گسترده‌ای در جهت بررسی خواص ضداکسایشی این گیاهان صورت گرفته است [۹]. امروزه به عنوان یکی از بهترین منابع ضداکسایشی طبیعی از ترکیبات فنولی موجود در گیاهان نام



می‌برند. این ترکیبات به طور گسترده در گیاهان وجود داشته و علاوه بر افزایش کیفیت غذایی، از عوامل ایجاد رنگ، طعم و مزه در بسیاری از گیاهان می‌باشند [۱۰،۱۱]. به‌طورکلی امروزه توجه زیادی به خاصیت ضداکسایشی اسانس‌ها و نیز عصاره‌های گیاهی معطوف شده است که همین راستا در تحقیق حاضر به ارزیابی خاصیت ضداکسایشی مواد مؤثره اسانس گیاه دارویی اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) می‌پردازد.

اسطوخودوس گیاهی از خانواده نعنائیان (Lamiaceae) است که حداقل دارای یک درصد اسانس (حجم / وزن) می‌باشد. این گیاه در بیشتر نقاط دنیا به حالت خودرو می‌روید و امروزه در برخی از کشورها نیز به طور گسترده کشت می‌شود. اسانس این گیاه که از تقطیر گل و سرشاخه‌های گل‌دار آن به‌دست می‌آید، مایعی است بی‌رنگ یا زرد کم‌رنگ یا زرد مایل به سبز و دارای بوی معطر مشخص با طعمی نسبتاً تلخ و تند است. در طب سنتی، این گیاه به‌صورت خوراکی در درمان سردرد، میگرن، دردهای معده ناشی از ناراحتی‌های عصبی و حالات هیجانی و به صورت موضعی در درمان دردهای رماتیسمی کاربرد داشته و در فرآورده‌های آرایشی و بهداشتی به‌عنوان معطرکننده استفاده می‌شود [۱۲،۱۳]. اثر ضداکسایشی اسانس این گیاه در برخی منابع علمی گزارش شده است [۱۴،۱۵]. خصوصیات درمانی و آرومایی اسطوخودوس را عمدتاً به منوترین‌های آن نسبت می‌دهند. منوترین‌ها دسته‌ای از ترکیبات آلی فرار هستند که بخش عمده اسانس اسطوخودوس را تشکیل داده و ویژگی‌های آرومایی آن را ایجاد می‌کنند [۱۶]. معمولاً در بین ترکیب‌های اسانس اسطوخودوس حدود ۵۰ - ۴۰ درصد منوترین‌های مختلف قابل شناسایی است که از میان آنها لینالول، لینالول‌استات، ۱ و ۸ سین‌آل، بتا‌آسیمین، ترپینن-۴-آل و کامفور، میزان بالاتری دارند [۱۷،۱۸]. نسبت موجود میان اجزای منوترینی تشکیل‌دهنده این اسانس، کیفیت آن را تعیین می‌کند. به طور مثال اسانس‌های با کیفیت بالا در عطرسازی،

هیدروکسی‌آنیزول (BHA) از شرکت سیگمای آمریکا و رادیکال ABTS از شرکت فلوکا آلمان تهیه شدند.

### تجزیه اسانس اسطوخودوس توسط GC/MS

دستگاه کروماتوگرافی گازی استفاده شده از نوع HP 6890 (آمریکا) مجهز به ستونی با طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. برنامه‌ی دمایی نیز بدین ترتیب بود: دمای ابتدایی آون ۴۰ درجه سانتی‌گراد، توقف در این دما ۵ دقیقه، افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد با شیب دمایی  $3^{\circ}\text{C min}^{-1}$ ، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد با شیب دمایی  $15^{\circ}\text{C min}^{-1}$  و توقف در این دما به مدت ۳ دقیقه. دمای محل تزریق و آشکارساز،  $290^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد بود و از گاز هلیوم با سرعت جریان  $0.8\text{ ml/min}$  به عنوان گاز حامل و از شیوه‌ی شکافته با نسبت ۱:۱۰ استفاده شد. دستگاه گاز کروماتوگراف با مشخصات بالا با ستونی به ابعاد (۳۰ متر در  $0.25\text{ میلی‌متر}$  و ضخامت لایه  $0.25\text{ میکرومتر}$ ) و از نوع HP-5، به طیف‌سنج جرمی HP مدل  $5973\text{ N}$  متصل شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون، مانند کروماتوگرافی گازی بود. ولتاژ یونیزاسیون در طیف‌سنج جرمی،  $70\text{ الکترون ولت}$  بود. درصد ترکیبات با استفاده از مساحت پیک حاصل از آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای (Flame ionization detector) محاسبه شد. شناسایی پیک‌ها به کمک شاخص بازداری و مقایسه‌ی آنها با مقادیری که در منابع مختلف منتشر گردیده [۲۵] و نیز با استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه رایانه‌ی GC/MS انجام شد.

### سنجش قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH

در این بررسی فعالیت ضدرادیکالی اسانس مورد مطالعه، با استفاده از رادیکال‌های پایدار DPPH مطابق با روش برنر - ویلیامز و همکاران انجام گرفت [۲۶]. به این ترتیب که  $0.5\text{ میلی‌لیتر}$  از اسانس مورد آزمون را در غلظت‌های مختلف به  $2$

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

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

## مواد و روش‌ها

### مواد گیاهی

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

### مواد شیمیایی

اتانول، کلروفرم، ایزواکتان، واکنش‌گر فولین - سیوالتو، تتراکلرید کربن، سدیم تیوسولفات، پتاسیم یدید، نشاسته، استیک اسید بی‌آب، نشاسته، تیوباربیتوریک اسید (TBA) از شرکت مرک آلمان، رادیکال DPPH، بتاکاروتن، لینولئیک اسید، بوتیلات هیدروکسی‌تولون (BHT) و بوتیلات



### تعیین فعالیت ضد اکسایشی با آزمون بی‌رنگ شدن بتا کاروتن

در این بررسی، آزمون بی‌رنگ شدن بتا کاروتن، به روش Zhang و همکاران (۲۰۰۶)، با کمی تغییر انجام گرفت [۲۴]. در این ترتیب که ۵ میلی‌گرم بتا کاروتن در ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم حل شد و ۶۰۰ میکرولیتر از محلول تهیه شده به بالن ته‌گردی که حاوی ۴۰ میلی‌گرم لینولئیک اسید و ۴۰۰ میلی‌گرم توئین ۴۰ بود اضافه شد. سپس کلروفرم محلول توسط دستگاه تقطیرکننده چرخان خارج شده و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اشباع از اکسیژن به بالن افزوده شد. پس از آن بالن برای تشکیل امولسیون به شدت هم زده شد و ۵ میلی‌لیتر از امولسیون تهیه شده به لوله‌های آزمایش که حاوی ۲۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف اسانس و استاندارد BHA بود، اضافه شد و بلافاصله در زمان صفر جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. در نهایت درب لوله‌های آزمایش بسته شد و پس از قرار گرفتن این نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط، جذب آنها در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد و فعالیت ضد اکسایشی 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 ۲۴ ساعت؛  $A_{s(0)}$  = میزان جذب نمونه در زمان شروع؛  $A_{c(24)}$  = میزان جذب شاهد بعد از ۲۴ ساعت؛  $A_{c(0)}$  = میزان جذب شاهد در زمان شروع و  $\%I$  = درصد بازدارندگی می‌باشد.

### بررسی فعالیت ضد اکسایشی اسانس مورد آزمون در روغن

#### خام سویا

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

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

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

در این رابطه:

$A_{sample}$  = میزان جذب نمونه؛  $A_{control}$  = میزان جذب شاهد؛  $RSA$  = فعالیت گیرندگی رادیکال است.

### آزمون رادیکال کاتیون ABTS

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

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

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



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 نورسنج قرار داده شد و جذب آن در طول موج ۲۳۳ نانومتر خوانده شد و در نهایت میزان دی‌ان‌های مزدوج موجود در نمونه از طریق فرمول زیر به دست آمد:

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

$E$  = میزان میکرومول، دی‌ان‌های مزدوج موجود در نمونه  
 در هر گرم از نمونه؛  $A_{\lambda}$  = میزان جذب نمونه در ۲۳۳ نانومتر؛  
 $C_L$  = میزان گرم نمونه روغنی موجود در ۱۰۰ 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 مورداستفاده قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش حداقل تفاوت‌های معنی‌دار (LSD) انجام شد. تمامی نتایج به صورت میانگین سه تکرار  $\pm$  انحراف معیار بیان شده است.

### نتایج

#### بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس اسطوخودوس

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

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

#### روش تعیین عدد پراکسید روغن

پنج گرم روغن در ارلنی ۳۰۰ میلی‌لیتری وزن شده و ۳۰ میلی‌لیتر محلول استیک اسید - کلروفرم به آن اضافه شد و به هم زده شد تا روغن کاملاً حل شود. نیم میلی‌لیتر محلول پتاسیم یدید اشباع اضافه شده و پس از یک دقیقه ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و با سدیم تیوسولفات ۰/۱ نرمال تا از بین رفتن رنگ زرد تیتراژ شد. سپس نیم میلی‌لیتر شناساگر نشاسته اضافه شد و تیتراسیون تا از بین رفتن رنگ آبی ادامه یافت. همراه با نمونه، تیتراسیون شاهد (در مورد نمونه شاهد تمام محلول‌ها به جز روغن به ارلن اضافه شد) نیز ضروری است [۲۹].

#### روش تعیین عدد اسید تیوباریتوریک

یک گرم روغن در ۱۰ میلی‌لیتر تتراکلریدکربن حل شده و به آن ۱۰ میلی‌لیتر محلول اسید تیوباریتوریک اضافه شد، سپس به مدت ۵ دقیقه در سانتی‌فوژ با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد، سپس قسمت آبکی آن جدا شد و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت و پس از آن میزان جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری شد. اندیس اسید تیوباریتوریک براساس رابطه زیر محاسبه شد [۲۹]:

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

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

#### تعیین مقدار دی‌ان‌های مزدوج

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



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

۸۰۱ سین آل (۹/۰۵ درصد)، لینالول استات (۸/۸۶ درصد)، بورن آل (۷/۲۹ درصد) و آلفا ترپین آل (۵/۰۴ درصد) می باشند.

### قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH

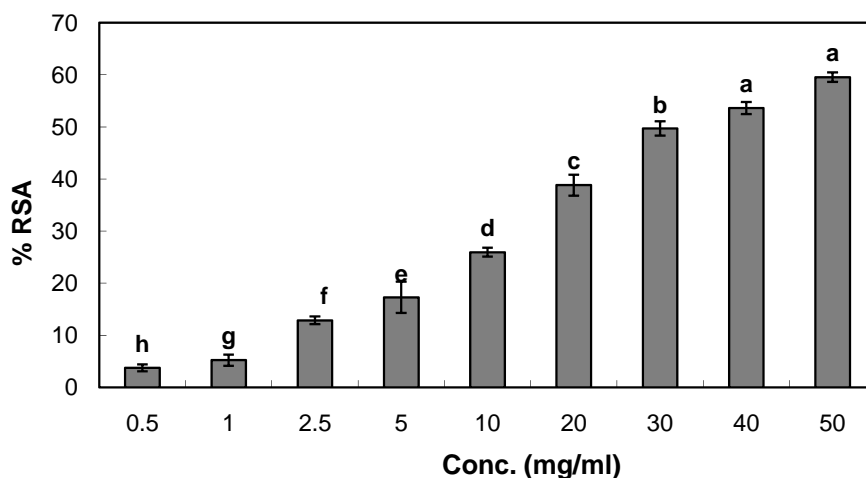
بررسی خاصیت آنتی رادیکالی با آزمون ABTS در این آزمون، رادیکال کاتیونهای ABTS با ضد اکسایندها یا دیگر گونه های رادیکالی که دهنده ی هیدروژن می باشند، واکنش داده و به شکل کاهش یافته درمی آید در نتیجه جذب در طول موج ۵۱۷ - ۵۱۵ کاهش می یابد. لذا هرچه میزان جذب، که بیانگر مقدار  $DPPH^{\circ}$  باقیمانده است بیشتر باشد، بیانگر کمتر بودن فعالیت ضد اکسایندها در حذف رادیکال های آزاد است. شکل شماره ۱ قدرت اسانس اسطوخودوس را در مهار رادیکال های آزاد DPPH نشان می دهد. همان طور که از نمودار مشخص است با افزایش غلظت اسانس، اثر ضد رادیکالی آن افزایش می یابد. فاکتور  $EC_{50}$  نسبت معکوسی با فعالیت ضد اکسایشی اسانس ها دارد

در این آزمون رادیکال های DPPH با ضد اکسایندها یا دیگر گونه های رادیکالی واکنش داده و به شکل کاهش یافته درمی آید و رنگ آن از بنفش تیره به زرد روشن تبدیل شده و در نتیجه جذب در طول موج ۵۱۷ - ۵۱۵ کاهش می یابد. لذا هرچه میزان جذب، که بیانگر مقدار  $DPPH^{\circ}$  باقیمانده است بیشتر باشد، بیانگر کمتر بودن فعالیت ضد اکسایندها در حذف رادیکال های آزاد است. شکل شماره ۱ قدرت اسانس اسطوخودوس را در مهار رادیکال های آزاد DPPH نشان می دهد. همان طور که از نمودار مشخص است با افزایش غلظت اسانس، اثر ضد رادیکالی آن افزایش می یابد. فاکتور  $EC_{50}$  نسبت معکوسی با فعالیت ضد اکسایشی اسانس ها دارد

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

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





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

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

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

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

#### آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن

از آنجاکه ضداکساینده‌ها، 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 ضداکسایشی مواد شرکت‌کننده در این آزمون و میزان جلوگیری از کاهش رنگ بتاکاروتن، رابطه مستقیمی وجود دارد. در مطالعه حاضر از اسانس اسطوخودوس در



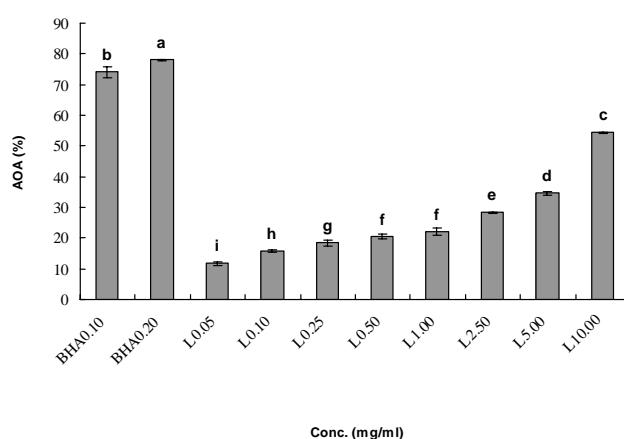
بیشترین اثرات ضداکسایشی بودند به طوری که قدرت ضداکسایشی این اسانس در سطح ۲۰۰ ppm معادل با ضداکساینده سنتزی BHA در هر دو سطح غلظتی آن بود همچنین غلظت ۱۰۰۰ ppm این اسانس نیز معادل با ضداکساینده سنتزی BHA در سطح غلظتی ۲۰۰ ppm و همچنین ضداکساینده سنتزی BHT در هر دو سطح غلظتی آن عمل کرد. سایر سطوح غلظتی این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

است. در روز بیستم، با توجه به نتایج مندرج در جدول شماره ۳ و بررسی و کنترل تغییرات عدد پراکسید، اختلاف معنی دار میان هر یک از سطوح غلظتی اسانس و دو ضداکساینده شیمیایی BHA و BHT و نمونه‌ی شاهد، مشاهده شد. همان گونه که ملاحظه می‌شود، عدد پراکسید روغن وابسته به غلظت تیمارها است ولی یک رابطه خطی بین غلظت تیمارها و عدد پراکسید روغن دیده نشد و می‌توان گفت که اسانس اسطوخودوس در تمام سطوح غلظتی مورد استفاده در این آزمون دارای خاصیت ضداکسایشی بوده و سطوح غلظتی ۸۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ ppm آن به ترتیب دارای

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

غلظت (mg/ml)	درصد بازدارندگی	ظرفیت ضداکسایشی معادل آسکوربیک اسید (mg/ml)
۱۰	۳۳/۵۴ ± ۲/۲۳	۰/۰۵ ± ۰/۰۱ <sup>d</sup>
۲۰	۵۰/۳۲ ± ۴/۵۷	۰/۰۹ ± ۰/۰۱ <sup>c</sup>
۳۰	۵۹/۹۸ ± ۰/۳۵	۰/۱۲ ± ۰/۰۰ <sup>b</sup>
۴۰	۶۶/۰۵ ± ۰/۷۶	۰/۱۳ ± ۰/۰۰ <sup>a</sup>
۵۰	۲۴/۲۸ ± ۲/۰۱	۰/۰۳ ± ۰/۰۰ <sup>e</sup>

\* داده‌ها میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است. حروف مشابه در یک ستون نمایانگر عدم اختلاف معنی دار است.



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





جدول شماره ۳- مقایسه میانگین عددهای پراکسید (meq O<sub>2</sub>/kg)، (meq MDA/kg oil) و دیان مزدوج (μmol CD/g oil) تیمارها در روز بیستم\*

تیمارها	نتایج	
	عدد پراکسید	عدد TBA
Control	۲۹/۹۳ ± ۲/۰۸ a	۰/۷۹ ± ۰/۲۰ b
L200	۲۴/۳۷ ± ۳/۶۱ bcd	۰/۷۸ ± ۰/۰۶ b
L400	۲۵/۶۷ ± ۰/۴۰ bc	۰/۸۰ ± ۰/۰۳ b
L600	۲۷/۶۷ ± ۲/۵۰ ab	۰/۹۳ ± ۰/۰۶ a
L800	۱۹/۱۷ ± ۲/۶۳ f	۰/۶۰ ± ۰/۰۵ cd
L1000	۲۳/۴۰ ± ۱/۴۸ cde	۰/۷۴ ± ۰/۰۳ b
BHA100	۱۸/۵۷ ± ۱/۲۹ f	۰/۶۶ ± ۰/۰۱ bcd
BHA200	۲۰/۶۷ ± ۱/۲۲ ef	۰/۷۹ ± ۰/۰۴ b
BHT100	۲۴/۳۳ ± ۱/۴۰ bcd	۰/۷۲ ± ۰/۰۱ bc
BHT200	۲۴/۰۳ ± ۰/۶۱ bcd	۰/۷۰ ± ۰/۰۴ bcd

\* حروف غیر مشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار تیمارها در سطح ۰/۱ درصد است. داده‌ها میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است.

در تحقیق حاضر این آزمون نیز انجام گرفت. در ستون دوم جدول شماره ۳ مقایسه‌ی میانگین عدد تیوباریتوریک اسید (بر حسب میلی اکسی‌والان مالون آلدئید در کیلوگرم روغن) حاصل از تیمارهای مختلف را در روز ۲۰ نشان می‌دهد. با توجه به نتایج مندرج در جدول شماره ۳، اختلاف معنی‌دار میان غلظت‌های مختلف اسانس با هم و نیز بین سطوح غلظتی اسانس و دو ضداکساینده شیمیایی BHA و BHT و نمونه‌ی شاهد مشاهده می‌شود. 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 اسانس مورد ارزیابی با میزان عدد TBA مشاهده نمی‌شود. در مورد نتایج عدد TBA به دست آمده از ارزیابی اثر ضداکسایشی اسانس اسطوخودوس نیز همچون آزمون عدد پراکسید، باز هم بیشترین فعالیت ضداکسایشی مربوط به غلظت ۸۰۰ ppm بود که فعالیت ضداکسایشی آن معادل با فعالیت ضداکسایشی ضداکساینده سنتزی BHA در سطح غلظتی ۱۰۰ ppm و همچنین معادل با ضداکساینده سنتزی BHT در هر دو سطح

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

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



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

### بحث

در سال ۲۰۰۰ Dimitra و همکاران اسانس اسطوخودوس را تجزیه کرده و ترکیبات آن را مورد شناسایی قرار دادند و اعلام کردند عمده‌ترین ترکیبات این اسانس به ترتیب مربوط به لینالول (۴۴/۵ درصد)، لینیل استات (۳۲/۷ درصد) و او۱ سین‌آل (۴/۸ درصد) می‌باشد [۳۰]. Morgan و همکاران (۲۰۰۶) بیشترین ترکیبات موجود در اسانس اسطوخودوس را به ترتیب لینیل استات و لینالول گزارش کردند [۳۱]. در بررسی دیگر، Shaw و همکاران (۲۰۰۷)، اجزای تشکیل دهنده اسانس اسطوخودوس را با GC و GC/MS مورد شناسایی قرار داده و اعلام کردند که لینالول و لینیل استات به ترتیب دو ترکیب عمده‌ی موجود در اسانس این گیاه است [۳۲]. تفاوت موجود در نوع ترکیبات اصلی و درصد آنها در اسانس اسطوخودوس را می‌توان به تفاوت در شرایط اقلیمی و رشد گیاه، زمان برداشت، مدت زمان نگهداری و نحوه اسانس‌گیری از آن نسبت داد.

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

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

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

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



طی مطالعه‌ای روی خواص ضدآکسایشی اسانس شوید، اعلام کردند این اسانس در غلظت ۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم فعالیت ضدآکسایشی مشابه با BHT در غلظت ۰/۱ درصد دارد [۳۵].

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

فاضل و همکاران (۲۰۰۷) فعالیت ضدآکسایشی اسانس آویشن شیرازی و مرزه را با روش DPPH<sup>o</sup> تعیین کرده و مقادیر EC<sub>50</sub> اسانس‌های مورد مطالعه را به ترتیب ۸/۹ و ۵/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم به دست آوردند [۳۴]. در تحقیقی دیگر شهسواری و همکاران (۲۰۰۸) فعالیت ضدآکسایشی اسانس آویشن شیرازی را بررسی کرده و EC<sub>50</sub> این اسانس را  $0.04 \pm 2/22$  میلی‌گرم بر کیلوگرم محاسبه کردند [۸]. همچنین عیوقی و همکاران (۲۰۰۹) میزان EC<sub>50</sub> را برای اسانس شوید و BHT (به عنوان کنترل مثبت) به ترتیب  $1/52 \pm 2/57$  و  $0.01 \pm 0/04$  میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش کردند [۳۵]. در مطالعه‌ای ژانگ (Zhang) و همکاران در سال ۲۰۰۶، مقدار EC<sub>50</sub> اسانس جعفری را ۸۰/۲۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم تعیین کردند که نشان‌دهنده‌ی فعالیت آنتی‌رادیکالی پایین آن است [۳۶]. با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه و سایر پژوهش‌های ذکر شده، مشخص است که اسانس اسطوخودوس از فعالیت ضدآکسایشی نسبتاً خوبی در مقایسه با برخی از گزارش‌های موجود برخوردار است. در ضمن باید توجه داشت که در مورد اسانس حاضر خالص‌سازی انجام نشده است و علاوه بر اجزای مؤثر ترکیب‌های دیگری نیز حضور دارند که بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی اثر می‌گذارند، لذا اگر جداسازی و خالص‌سازی صورت گیرد و تأثیر اجزای مؤثره‌ی خالص شده‌ی آن مطالعه شود، ممکن است به غلظت‌های بسیار کمتری از این اسانس نیاز باشد.

همان‌طور که در شکل شماره ۲ مشخص است با افزایش غلظت اسانس اسطوخودوس، میزان فعالیت ضدآکسایشی آن افزایش نشان می‌یابد که این امر می‌تواند ناشی از تأثیر افزایش درصد مواد مؤثره و نیز افزایش میزان فنول کل آنها باشد. چرا که ثابت شده ترکیبات فنولی دارای فعالیت ضدآکسایشی قابل ملاحظه‌ای هستند [۷]. ژانگ در مطالعه‌ای مشابه، اعلام کرد که اسانس گیاه *Petroselinum crispum* در غلظت ۰/۵۱۲ درصد فعالیت ضدآکسایشی نزدیک با BHT در غلظت ۰/۱ درصد دارد [۲۴]. همچنین عیوقی و همکاران (۲۰۰۹) در



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

## تشکر و قدردانی

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

فنولیک استخراج شده از هسته‌ی انار، بیشترین اثر ضداکسایشی را دارد [V].

از آنجایی که اسانس اسطوخودوس دارای مقادیر قابل توجه ترکیبات فنولیک است و نیز هر سه آزمون، خاصیت ضداکسایشی اسانس را تصدیق کرد، می‌توان نتیجه گرفت که این اسانس به عنوان ضداکساینده طبیعی، توانایی واکنش با رادیکال‌های حاصل از اکسیداسیون لیپیدها ( $LO^\bullet$ ,  $LOO^\bullet$ ,  $L$ ),  $O_2^\bullet$ ,  $OH^\bullet$  و غیره) را داشته و موجب قطع واکنش‌های زنجیری و افزایش زمان اکسیداسیون و کاهش سرعت اکسیداسیون خود

## منابع

1. Thomas MJ. The role of free radicals antioxidants. *AJCN*. 2000; 16: 716 - 24.
2. 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.
3. Gil MI and Kaber AA. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. *J. Agric. Food Chem.* 2002; 50: 4976 - 82.
4. Bektas T and Munevver SH. Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chem.* 2006; 95: 200 - 4.
5. Kris-Ethertonm PM, Hecker KD, Bonanome A, Coval SM, Binkoski AE and Hilpert KF. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *Am. J. Med. Sci.* 2002; 113: 71S - 88S.
6. 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.
7. Samadloiy HR, Azizi MH and Barzegar M. Physico-chemical quality of seeds of pomegranate cultivars (*Punica granatum* L.) grown in Iran and antioxidative activity of their phenolic component. *J. Food Sci. Technol.* 2008; 45: 190 - 2.
8. Shahsavari N, Barzegar M, Sahari MA and Naghdibadi H. 2008. Antioxidant activity and chemical characterization of essential oil of *Bunium persicum*. *Plant Foods Hum. Nutr.* 2008; 63: 183 - 8.
9. Lee SE, Hwang HJ, Ha JS, Jeony HS and Kim JH. Screening of medical plant extracts for antioxidant activity. *Life Sci.* 2003; 73: 167 - 79.
10. Dormana HJD, Peltoketo A, Hiltunen R and Tikkanen MJ. Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected lamiaceae herbs. *Food Chem.* 2003; 83: 255 - 62.
11. Lee SJ, Umamo K, Shibamoto T and Lee KG. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chem.* 2005; 91: 131 - 7.
12. Wichtl M. *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals*. Translated by: Bisset NG, Boca Raton: CRC Press. 1994, pp: 292 - 4, 313 - 4.
13. Trease GE and Evans WC. *Pharmacognosy*. London: Saunders. 1996, pp: 167, 262, 476.



14. Gulcin I, Sat I, Beydemir s, Elmastas M and Kufrevioglu O. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and Lavender (*Lavandula stoechas* L.). *Food Chem.* 2004; 87: 393 - 400.
15. Bouayed J, Piri K, Rammal H, Dicko A, Desor F, Younos C and Soulimani R. Comparative evaluation of the antioxidant potential of some Iranian medical plants. *Food Chem.* 2007; 104: 364 - 8.
16. Adersen A, Gauguin B, Gudiksen L and Jager AK. Screening of plants used in anish folk medicine to treat memory dysfunction for acetylcholinesterase inhibitory activity. *J. Ethnopharmacol.* 2005; 104: 418 - 22.
17. Flores G, Blanch GP, Ruiz del Castillo ML and Herraiz M. Enantiomeric composition studies in *Lavandula* species using supercritical fluids. *J. Chromatogr. A.* 2005; 28: 2333 - 8.
18. Kreis P and Mosandl A. Chiral compounds of essential oils. Part XI. Simultaneous stereoanalysis of lavandula oil constituents. *Flavour Frag. J.* 2005; 7: 187 - 93.
19. Adam KL. Lavender production, products, markets, and entertainment farms. Retrieved November 5, 2006; from <http://attra.ncat.org/attra-pub/lavender.html>.
20. Sharififar F, Moshafi MH and Mansouri SH. *In vitro* evaluation of antibacterial and antioxidant of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control.* 2007; 18: 800 - 5.
21. Abdille MDH, Singh RP and Jayaprakasha GK. Antioxidant activity of the extracts from *dillenia indica* fruits. *Food Chem.* 2005; 90: 891 - 6.
22. Kulisic T, Radonic A and Katalinic V. Use of different methods for testing antioxidative of oregano essential oil. *Food Chem.* 2004; 85: 633 - 40.
23. Mathew S and Abraham E. In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. *Food Chem. Toxicol.* 2006; 44: 198 - 206.
24. Zhang H, Feng C and Wang Xi. Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents. *Food Chem.* 2006; 39: 833 - 9.
25. Davies NW. Gas chromatographic retention Indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methylsilicone and Carbowax 20M phases. *J. Chromatogr. A.* 1990; 503: 1 - 24.
26. Brand-Williams W, Cuvelier ME and Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT.* 1995; 28: 25 - 30.
27. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M and Rice-Evans CA. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* 1999; 26: 1231 - 7.
28. Miliauskas G, Venskutonis PR and Beek TAV. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chem.* 2004; 85: 231 - 7.
29. Egan H, Kirk RS and Sawyer R. *Pearson's Chemical Analysis of Foods.* 9<sup>th</sup> ed. Harlow: Longman Scientific and Technical, 1987, pp: 609 - 34.
30. Dimitra J, Basil N and Moschos G. GC-MS analysis of essential oils from some Greek romatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *J. Agric. Food Chem.* 2000; 48: 2576 - 81.
31. Morgan TJ, Morden WE, Al - Muhareb E, Herod AA and Kandiyoti R. Essential oils investigated by size exclusion chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. *Energ. Fuel.* 2006; 20: 734 - 7.



32. Shaw D, Annett JM, Doherty B and Leslie JC. Anxiolytic effects of lavender oil inhalation on open-field behaviour in rats. *Phytomed.* 2007; 14: 613 - 20.
33. Abbas F, Lajis NH, Israf DA, Khozirah S and Umi Kalsom Y. Antioxidant and nitric oxide inhibition activities of selected Malay traditional vegetables. *Food Chem.* 2006; 95: 566 - 73.
34. Fazel M, Omidbeygi M, Barzegar M and Naghdi Badi H. Influence of heating on antiradical activity of essential oils of thyme, summer sarvory and clove by 2, 2- diphenyl- 1- picrylhydrazyl (DPPH•) method. *J. Medicinal Plants.* 2007; 6: 54 - 63.
35. Ayoughi F, Barzegar M, Sahari MA and Naghdi Badi H. Antioxidant effect of dill (*Anethum graveolens* Boiss.) oil in crude soybean oil and comparison with chemical antioxidants. *J. Medicinal Plants.* 2009; 30: 71 - 84.
36. Zhang H, Chen F, Wang X and Yao H. Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents. *Food Res. International* 2006; 39: 833 - 9.
37. Singh G, Maurya S and Delampasona MP. A comparison of chemical antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. *Food Chemical Toxicol.* 2007; 45: 1650 - 61.

