مقاله تحقیقی
مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۸، دوره ۷۴، شماره ۲، ۹۷-۱۸۷
Original Article
DOI: 10.22059/jvr.2018.235589.2647

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

فهیمه توریان، مریم عزیزخانی

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

(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 پاراسیمن (۳۱/۳ درصد) بودند و IC ۵۰ اسانس زنیان ۲۱±۰/۲ µg/ml محاسبه شد. در دو سامانه‌ی DPPH° و بیرنگ شدن بتاکاروتن، 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 ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری نهایی: اسانس زنیان دارای فعالیت آنتی اکسیدانی می‌باشد و با انجام آزمایش‌های تکمیلی می‌توان به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی درموادغذایی 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: ۰۱۱-۴۴۲۷۱۰۵۷ نمابر: ۰۱۱-۴۴۲۷۱۰۵۴ 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

روغن‌هـای خوراکی به‌دلیل خواص تغذیه‌ای خـود و تأثیر در طعم و بوی مواد غذایی، به‌طور گسـترده‌ای در صنعت مواد غذایی مورد اسـتفاده قرار گرفته‌اند. در میان آن‌ها، روغن کانولا یکی از مهم‌ترین روغن نباتی در بازار جهان اسـت. روغن کانولا خام غنی از منابع اسـیدهای چرب امگا۳، آنتی اکسـیدان‌ها (پلی فنل‌ها، توکوفرول‌ها، اسـترول‌ها، کاروتنوئیدها) و دیگر مواد مغذی ضروری برای سلامت انسان می‌باشد(۳۰). از سوی دیگر، مقدار بسـیار کمی از یون‌های فلزی در روغن کانولا خام، بر پایداری اکسیداتیو آن تأثیر منفی دارد، که مربوط به چندین پارامتر فیزیکوشیمیایی و خواص حسی روغن می‌باشد. یون‌های فلزی (مس، منگنز، آهن) به عنوان کاتالیزور پرواکسـیدان‌ها، هیدروپراکسـیدها را به رادیکال‌هـای آزاد و محصولات اکسیداسـیون 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، پتاسـیم)، مقدار زیادی از آنتی اکسیدان‌ها مانند پلی فنل‌ها، توکوفرول‌ها، اسـترول‌ها و کاروتنوئیدها از بین می‌رونـد، 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 ((Butylated Hydroxy) BHA Anisole)، بوتیـلات هیدروکسـی تولوئـن ((Butylated) BHT Hydroxy Toluene) بوتیل هیدروکینون‌ها و اسـترهای اسـید گالیک می‌باشـند، که مشکوک به علت و یا تسـریع اثرات منفی بر سلامت‌اند. از این‌رو، محدودیت قوی در روند استفاده آن‌ها وجود دارد و برنامه جایگزین آن‌ها با آنتی اکسیدان‌های طبیعی وجود دارد (۲۴). 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 درهند، عراق، ایران، افغانستان، پاکستان و مصر کشـت و توزیع شـده 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 پزشـکی اسـتفاده می‌شود (۲۱،۳). جزء اصلی اسـانس زنیان، تیمول (۳۵- ۶۰درصد) است، به جزء تیمول شامل، پارا سیمن، گاما ترپنین، آلفا پینن، بتا پینن و به‌طور جزئی از دیگر ترکیبات می‌باشـد(۳۴). Gandomi و همکاران در سال ۲۰۱۴، ترکیبات شیمیایی اسانس زنیان بوسیله کروماتوگرافی گازی مجهز به اسپکترومتر جرمی مورد بررسـی قرار دادنـد که تیمول (۶۳/۴درصد)، پارا سـیمن (۱۹درصد) و گاما ترپنین (۱۶/۹درصد) به‌عنوان اجزای اصلی اسانس شناسایی شدند، و نشان دادند که اسـانس زنیان فعالیت ضد میکروبی و آنتی اکسـیدانی قوی دارد که می‌توان از آن برای غذاهایی با چربی بالا و فاسد شدنی بخوبی استفاده کرد. همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس با روش ۲،۲- دی فنیل- ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH°) با IC۵۰ (غلظتی از ترکیب اسـت که باعث ۵۰درصـد بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی می‌شـود) به میزان ۳۴ µg/ml ارزیابی کردند، در روش بتاکاروتن/اسـیدلینولئیک نتایج نشـان دادند که، اسـانس به‌طور مؤثری قادر به مهار اکسیداسیون اسید لینولئیک به میزان ۸۲/۱۶ درصد بود که مشـابه با BHT می‌باشد(۹). Hashemi و همکاران در سـال ۲۰۱۴، از غلظت‌هـای مختلـف (۰/۰۲۵، ۰/۰۵ و ۰/۰۷۵درصـد) 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 نشـان دادند که همه غلظت‌های اسانس در مقایسه با BHA و BHT اثر آنتی اکسـیدانی دارند و نتیجه گرفتند که اسـانس می‌تواند به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی در چربی‌های مواد غذایی استفاده شود(۱۲). با وجود تحقیقات متعدد بر روی خواص آنتی اکسـیدانی اسـانس میوه گیاه زنیان، منابع اندکی در مورد خصوصیات آنتی اکسـیدانی این اسـانس در سامانه غذایی مثل روغن کانولا نسبت به روغن آفتابگردان با توجه به درصد بالای اسـیدهای 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 شـده، 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 شـرکت مرک آلمان، و رادیکال آزاد DPPH°، بتا کاروتن، لینولئیک اسید، بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT) از شرکت سیگماآلدریچ تهیه شدند، تمام مواد شیمیایی با خلوص بالا بدون هیچ گونه خالص سازی مجدد مورد استفاده قرارگرفتند.

تجزیه اسـانس زنیان توسط GC/MS: اسـانس توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) تجزیه شد. دستگاه GC/MS از نـوع FINNIGAN ۲۰۰۰ Thermo Quest Trace GC (انگلسـتان) بود. شناسـایی اجزاء از طریق مقایسـه مدت زمـان بازداری مجموعه‌ای از n- آلکان‌ها (شـاخص بازداری نسـبی) صورت گرفت و نیز نتایج شـاخص بازداری نسبی و طیف جرمی ترکیبات، با نمونه‌های مرجع (استانداردها) مقایسه گردید(۲).

سنجش خاصیت آنتی رادیکالی با آزمون ۲و۲- 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 موج۵۱۷ 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 برعلیه 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:

$RSA = [(A_{control} - A_{sample}) / A_{control}] \times ۱۰۰$ درصد

در این رابطه:

Asample میزان جذب نمونه؛ Acontrol میزان جذب کنترل منفی، RSA فعالیت گیرندگی رادیکال است،کنترل منفی: فاقد اسانس و تنها حاوی ۰/۰۰۴درصد 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 بیان‌گر غلظتی از اسانس که قادر به کاهش غلظت رادیکال آزاد DPPH° اولیه به ۵۰درصد 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 بتاکاروتن- لینولئیک اسید به صورت زیر تهیه گردید:

۰/۵mg بتاکاروتن 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 تبخیرکننده چرخان تحت خلاء،کلروفرم به طور کامل تبخیر و خارج گردید، سپس ۱۰۰ ml آب مقطر اشباع شده از اکسیژن (۳۰دقیقه 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 از اسانس و استاندارد BHT (غلظت ۲ g/l در اتانول HPLC grade) بود اضافه گردید، بلافاصله درزمان 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:

$I = (A_{sample\ (۴۸)} - A_{control\ (۴۸)}) / (A_{control\ (۰)} - A_{control\ (۴۸)}) \times ۱۰۰$ درصد

درصد I = 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(ppm 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 وآنتی اکسیدان سنتزی) برای مدت ۴۹ روز در انکوباتوردر 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 ۱درصد به‌عنوان معرف تا از بین رفتن رنگ آبی تیتر 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:

$PV\ (meq/kg) = ۱۰۰(s۱-s۲) \times W/(N$

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

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

(۱۹۹۸)،انجـام گرفت. در این آزمون مقـدار ۵۰ mg از نمونه روغن درml ۱۰، ۱- بوتانلحل شـد، سپس ۱۰ ml از محلول ۰/۲درصد تیوباربیتوریک اسـید در۱- بوتانل به آن اضافه گردید و برای مدت ۲ سـاعت در بن ماری ۹۵ درجـه قرار داده شـد و پـس از آن به مدت ۱۰ دقیقه سـرد گردید (زیر شیرآب)، سپس جذب محلول در طول موج ۵۳۲ nm توسط دستگاه طیف سنج نوری در مقابل بلانک قرائت شد و عدد TBARSبر مبنای "میلی مول مالون دی آلدئید درگرم روغن" گزارش گردید، آزمایشـات سـه بار تکرار و میانگین آن‌ها گزارش شد(۲۵).

تجزیـه و تحلیل آماری: داده‌ها با آزمـون (One-Way ANOVA) با استفاده از نرم افزار آماری SPSS ۱۶آنالیز شدند، و رسم نمودارها با نرم افزار EXCEL صورت گرفت. IC ۵۰با اسـتفاده از نرم افزار M و مقایسـه میانگین‌ها با اسـتفاده از روش حداقـل تفاوت‌های معنی‌دار (LSD) تعیین گردید، و تمامی نتایج به صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار بیان شد.

نتایج

بررسـی ترکیبات شیمیایی اسـانس زنیان: درصدترکیبات با استفاده از مسـاحت پیک حاصل از آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای (FID) محاسبه شـد، با شناسایی پیک‌های به دست آمده توسط دستگاه کروماتوگرافی به کمک شـاخص بازداری و مقایسه‌ی آن‌ها با مقادیری که در منابع مختلف منتشـر گردیده و نیز با اسـتفاده از اطلاعات موجـود در کتابخانه رایانه‌ی GC/MS، ۱۱ترکیب در مجموع۹۴/۸۳درصد در اسـانس زنیان شناسایی شـد (جدول ۱). ترکیبات عمده آن عبارت‌انـد از: تیمول (Thymol)(۳۶/۴ درصد)، گاماترپینـن (γ -Terpinene) (۲۱/۷۳ درصد) وپاراسـیمن(ρ-Cymene) (۳۱/۴ درصد) بودند، که سه ترکیب فوق بیش از ۸۹/۵۳ درصد اسانس را تشکیل می‌دادند، البته به میزان کمتری ترکیباتی مثل بتا پینن(β-pinene)، کاروون(Carvone) وکارواکرول (Carvacrol) نیز مشاهده شد.

قـدرت مهار رادیکال آزاد DPPH°: تصویر۱ فعالیت آنتی اکسـیدانی BHTبه عنوان کنترل مثبت برای اسـانس زنیان در این آزمون را نشـان می‌دهـد، و با توجه بـه تصویر ۲، می‌توان دریافت ارتباط مسـتقیمی بین غلظت‌های مختلف اسانس گیاه زنیان با قدرت مهار رادیکال آزاد (Iدرصد) آن‌ها وجود دارد و با افزایش غلظت اسـانس، قدرت مهار رادیکال آزاد نیز افزایـش پیدا می‌کند .همچنین با اسـتفاده از آزمایـش DPPH°، IC ۵۰ اسانس زنیان وBHT بدست آمد ، فاکتورIC۵۰ نسبت معکوسی با فعالیت آنتی رادیکالی اسانس دارد. بدیهی است که هرچه عدد IC ۵۰کوچکترباشد قدرت آنتی اکسیدانی یا مهار رادیکال‌های آزاد بیشتر می‌باشد. همان‌گونه که مشـاهده می‌شود، اسـانس با IC ۵۰ (μg/ml) (۲۱±۰/۲) در مقایسه با BHT (۴/۵±۱/۸) به‌عنوان کنترل مثبت، در مهار رادیکال‌های آزاد توسـط ضعیف‌تر عمل کرده است ($P<۰/۰۵$)، به نظر می‌رسد در واکنش اکسایش-

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

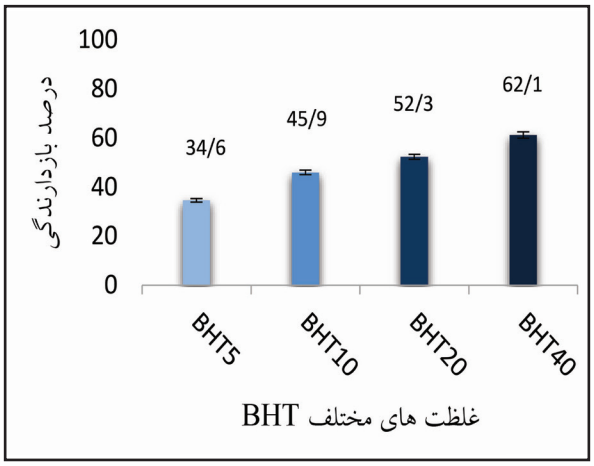
ردیف	ترکیب شیمیایی	زمان بازداری (دقیقه)	مقدار (درصد)
۱	آلفا-پینن	۱۴/۱۶	۰/۶۳
۲	بتا-پینن	۱۶/۱۳	۱/۵۰
۳	آلفا-ترپینن	۱۷/۳۸	۰/۳۵
۴	پارا-سیمن	۱۷/۷۰	۳۱/۴
۵	بتا-فلاندرن	۱۷/۸۲	۰/۴۴
۶	گاما-ترپینن	۱۷/۹۶	۲۱/۷۳
۷	آلفا-ترپینئول	۲۲/۳۰	۰/۳۰
۸	۱-کاروون	۲۳/۷۷	۱/۱۵
۹	انتول	۲۴/۳۶	۰/۱۹
۱۰	تیمول	۲۴/۵۶	۳۶/۴
۱۱	کارواکرول	۲۴/۷۶	۰/۷۴
جمع			۹۴/۸۳

احیا با اکسیدانت، اسانس زنیان قدرت الکترون‌دهی کمتری نسبت به BHT دارد. همان‌گونه که مشخص شد با افزایش غلظت در محدوده غلظتی بکار رفته شـده، فعالیت گیرندگی رادیکال DPPH° افزایش و سرعت بی‌رنگ شدن DPPH° در حضور آن کاهش می‌یابد.

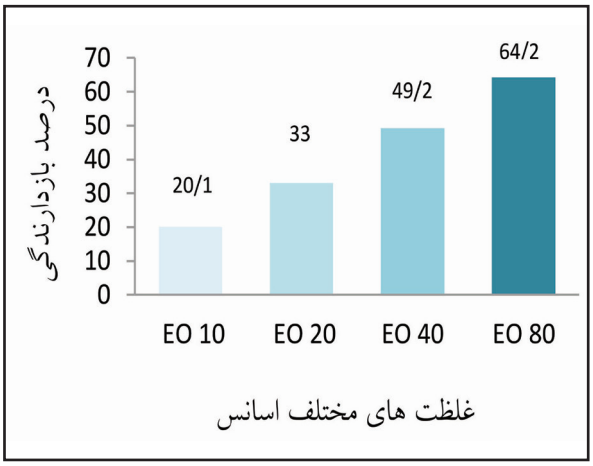
آزمون بتاکارتن- لینولئیک اسید: در این آزمون فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس بر اساس توانایی آن در جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش اکسیداسیون در سیستم امولسیون بتاکارتن / لینولئیک اسید ارزیابی شد. با توجه به تصویر ۳، اسـانس زنیان در مقایسه با BHT، ۱/۴۱ ±۸۱/۳ درصد بازدارندگی را نشان داد. بیشترین اثر آنتی اکسیدانی در سامانه بی‌رنگ شدن بتاکاروتن مربوط به BHT در غلظـت ۲ mg/ml بود، هیچ اثری در گروه کنترل دیده نشد. علت کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس در مقایسه با BHT می‌تواند ناخالصی‌های موجود در اسـانس و عوامل دیگر نظیر کمتر بودن ترکیبات فنولی و اکسیژن‌دار باشد.

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس درروغن کانولا: جهت سنجش این فعالیت، تیمارها به شیشه‌های روغن کانولا بدون آنتی اکسیدان افزوده شـد واعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید در روزهای ۰، ۱۴، ۷، ۲۱، ۲۸، ۳۵، ۴۲و ۴۹ اندازه‌گیری گردید.

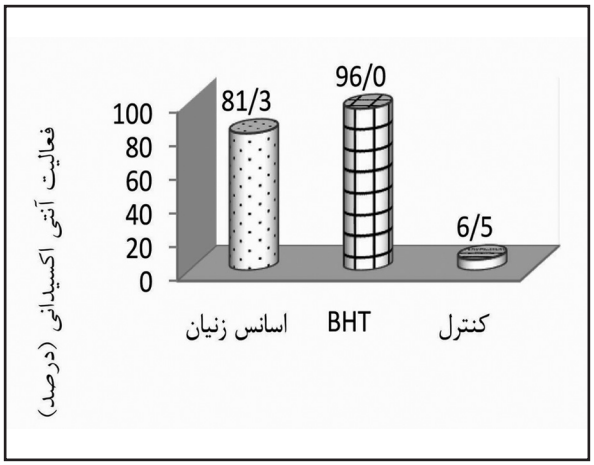
اثرآنتی اکسـیدانی اسـانس بر عـدد پراکسـید (pv): در طول مدت نگهداری، پارامتر pv در تمام غلظت‌های اسـانس افزایش یافت ولی این افزایش در مورد گروه کنترل بیشتر از بقیه گروه‌ها بود واز روز ۷ به بعد بین تمام گروه‌های تیمار شـده با اسانس و کنترل از لحاظ آماری، این افزایش معنی‌دار می‌باشـد ($P<۰/۰۵$) و روغن‌های حاوی اسانس نسبت به کنترل، pvکمتری نشان دادند. با افزایش غلظت اسانس اثر آنتی اکسیدانی بهتری مشـاهده شد و قوی‌ترین اثر آنتی اکسیدانی مربوط به غلظت ۶۰۰ ppm اسانس بود که شکل گیری هیدرو پراکسیدها را به طور معنی‌دار به تعویق انداخـت ($P<۰/۰۵$) و با افزودن آن به روغن کانولا، عدد نهایی پراکسـید



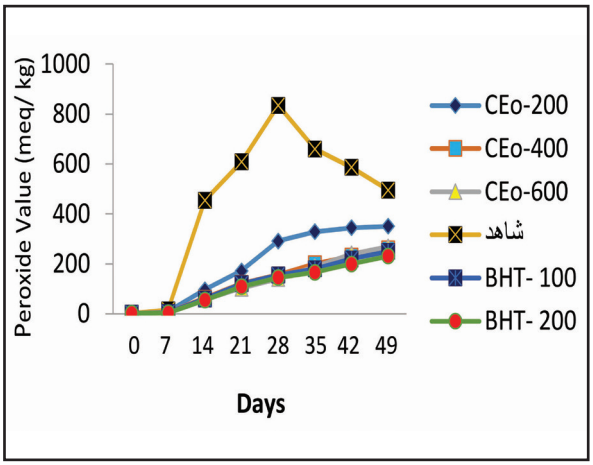
تصویر ۱. رابطه میان فعالیت گیرندگی رادیکال DPPH° با غلظت‌های مختلف BHT.



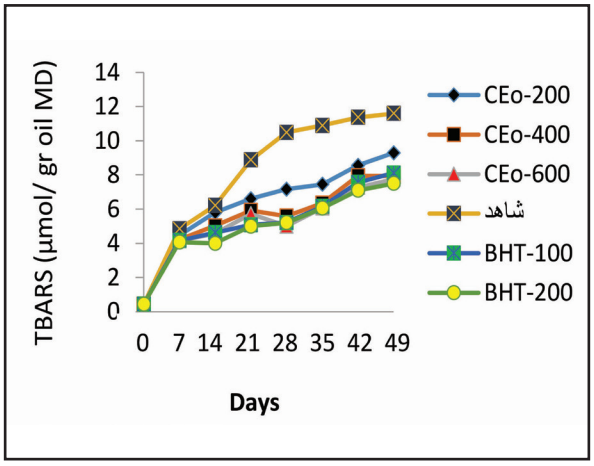
تصویر ۲. رابطه میان فعالیت گیرندگی رادیکال DPPH° با غلظت‌های مختلف اسانس زنیان.



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



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



تصویر ۵. اثر اسانس زنیان در غلظت‌های مختلف روی عدد TBARS در مقایسه با BHT وکنترل 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 و۲۰۰ppm) از روز ۷ تا ۲۱ به طور معنی‌دار عدد پراکسید کمتری نسبت به سایر غلظت‌های اسانس نشان داد ولی از روز ۲۱ تا آخردوره آزمایش اثر آنتی اکسیدانی اسانس در غلظت ۶۰۰ ppm قابل قیاس با BHT در هر دو سطح غلظتی بود و اختلاف معنی‌داری بین اعداد پراکسید مشاهده نگردید ($P<0/05$). BHT در هر دو سطح غلظتی ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm، به‌صورت معنی‌دار 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 پایین‌تر است. همان‌گونه که ملاحظه می‌کنید، عدد پراکسید روغن وابسته به غلظت تیمارها است و با افزایش غلظت تیمارها (تا اندازه‌ای که اثرات پرواکسیدانی نداشته باشد)، عدد پراکسیدکاهش و در نتیجه اثرات آنتی اکسیدانی افزایش می‌یابد ($P<0/05$) و یک رابطه خطی بین غلظت اسانس‌ها و عدد پراکسید وجود دارد. به طوریکه در مورد اسانس میان سطوح غلظتی اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P<0/05$) و با افزایش غلظت اسانس بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی آن اضافه شد. بامقایسه ی عدد پراکسید حاصل شده از اثرات اسانس در سه سطح غلظتی با BHT، می‌توان اینگونه استدلال کرد که اسانس زنیان درسطوح غلظتی ۴۰۰ ppm و۶۰۰ به ترتیب

معادل با BHT درسطوح غلظتی ppm ۱۰۰ و۲۰۰ عمل نموده است. ولی اختلاف عدد پراکسید حاصل شده از اثرات آنتی اکسیدانی سایر تیمارها در سطح غلظتی ppm ۲۰۰ در مقایسه با BHT در دو سطح، معنی‌دار بوده و نشان دهنده این امر می‌باشد که درطی ۴۹ روز اثرات آنتی اکسیدانی BHT بالاتر از سایر تیمارها در سطح غلظتی ppm ۲۰۰ بوده وقوی‌ترازآن عملکرده است. باتوجه به آزمون انجام گرفته می‌توان دریافت که اثرات آنتی اکسیدانی BHTدر سطح غلظتی ppm ۲۰۰ و اسانس زنیان به ترتیب در سطح غلظتی ppm ۴۰۰ و ۶۰۰ درجلوگیری از تشکیل پراکسید بیشتر از سایر تیمارها بود و از نظرآماری 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 آنتی اکسیدان در برابر اکسیداسیون پایدارتر ازنمونه‌ی کنترل می‌باشند (تصویر ۴).

اثرآنتی اکسیدانی اسانس زنیان بر عدد تیوباربیتوریک اسید(TBARS):
نتایج TBARS بسیار مشابه عدد پراکسید بود، تا روز۷ بین کنترل و غلظت‌های اسانس اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$) واز روز ۷ به بعد عدد تیوباربیتوریک اسید در کنترل به طور معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) از تمام غلظت‌های اسانس بالاتر بود. BHT در غلظت ppm۲۰۰ مانند شاخصپراکسید به طور معنی‌دار در طی دوره آزمایش از غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm اسانس قدرت آنتی اکسیدانی بیشتری را نشان داد ($P<۰/۰۵$). نکته جالبتوجه این بود که از روز ۲۱ تا روز پایانی آزمایش، اختلاف معنی‌داری بین سطوح غلظتیBHT۲۰۰ و ppm ۶۰۰ اسانس و همچنین ۱۰۰ BHT و ppm ۴۰۰ اسانس دیده نشد($P>۰/۰۵$).اسانس زنیان از اواسط دوره تقریباً معادل آنتی اکسیدان سنتزی BHT عمل کرده بود. اسانس ppm ۲۰۰ از روز ۱۴، بعد از کنترل بیشترین مقدار TBARS را به خود اختصاص داد وکمترین اثر بازدارندگی را از خود نشان داد، که این نتایج، مانند عدد پراکسید به ارتباط غلظت واثر آنتی اکسیدانی اشاره می‌کند. در مورد کنترل، از روز ۱۴ با ارزیابی میزان عدد TBARS تفاوت معنی‌داریبا بقیه گروه‌ها داشت و قدرت آنتی اکسیدانی آن ضعیف‌تر از بقیه تیمارها بود($P<۰/۰۵$). تمام تیمارها به طور معنی‌دار نسبت به کنترل، عدد تیوباربیتوریک اسید کمتری را نشان دادند. دراسانس زنیان، میان سطوح غلظتی اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). با مقایسه عدد TBARS به دست آمده از اثرات اسانس زنیان با BHT، می‌توان اینگونه استدلال کرد که اسانس زنیان درسطح غلظتی ppm ۴۰۰ معادل با BHT درسطح غلظتی ppm ۱۰۰ عمل نموده است و اثرات آنتی اکسیدانی اسانس زنیان، درسطح غلظتی ppm ۶۰۰ درمقایسه با BHT در دو سطح، معنی‌داربوده و قوی‌ترازآن عملکرده 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 آنتی اکسیدانی و بیشترین میزان جلوگیری از تولید محصولات ثانویه اکسیداسیون مربوط به غلظتppm ۶۰۰ اسانس زنیان بوده که معادل با BHT در ppm ۲۰۰ است (تصویر ۵). باتوجه به روند تشکیل TBARS می‌توان اینگونه استنباط کرد که سرعت اکسیداسیون درنمونه‌ی کنترل بالاترین مقدار را دارد، در نتیجه تمامی نمونه‌های حاوی آنتی اکسیدان در برابر اکسیداسیون پایدارتر از نمونه‌ی کنترل می‌باشند وکنترل 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 منشا گیاهی به‌جای نگه‌دارنده‌های شیمیایی در محصولات خود نموده‌اند. این امر به‌دلیل 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،گاماترپینن وپاراسیمن بیشترین میزان ترکیبات اسانس زنیان را تشکیل دادند(۳۵). Hashemi و همکاران در سال۲۰۱۱ عمده ترکیبات تشکیل دهنده اسانس زنیان را تیمول،گاما ترپینن و پارا سیمن 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، وکار 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 آنتی اکسیدانی 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 ترپینن می‌باشند که اغلب به همراه پاراسیمن و لینالول وجود دارند و این گروه ازترکیبات، دارای خواص آنتی اکسیدانی و آنتی میکروبی 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 وفصلی (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 حذف کنندگی رادیکال۵۷ اسانس از ۱۴ منبع مختلف را با استفاده از رادیکال DPPH° تعیین نمودند، در گزارش آن‌ها آمده ظرفیت در صورت بالا رفتن غلظت به صورت خطی

و با ضریب همبستگی بالا، افزایش می‌یابد(۷). Shahsavari و همکاران در سال ۲۰۰۸نیز نتایج مشابه‌ی در مورد اسانس زیره کوهی در آزمون رادیکال DPPH° به‌دست آوردند(۲۷). Kordali و همکاران در سال ۲۰۰۵، فعالیت آنتی رادیکالی اسانس ترخون (*Artemisia dracunculus* L.) را در ۴ سطح غلظتی ۲۰۰،۱۰۰، ۴۰۰ و ۱۰۰۰ ppm بررسی نمودند و طبق پژوهش آن‌ها درصد فعالیت گیرندگی رادیکال به ترتیب ۴، ۸، ۱۰ و۱۸ درصد به‌دست آمد(۱۶). Zhang و همکاران در سال ۲۰۰۶ ، در مطالعه‌ای مشابه، اعلام کرد که اسانس جعفری *Petroselinum crispum* L. در غلظت۰/۵۱۲ فعالیت آنتی اکسیدانی نزدیک باBHT 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، به‌صورت شاخص۵۰IC بیان شد. در مطالعات انجام شده،Tepe و همکاران در سال ۲۰۰۵، مقدار ۵۰ IC اسانس L ۱۷۱۰۰ µg/ml، *Cyclotrichium origanifolium* برآورد کردند که نشانگر فعالیت آنتی رادیکالی نسبتاً کم این اسانس می‌باشد(۳۱). در مطالعه‌ای دیگر Kamkar و همکاران در سال ۲۰۱۰، ۵۰ IC اسانس پونه را µg/ml ۵±۱۷۶۵ وغلظت مهاری۵۰ درصد اسانس شوید را µg/ml ۴۱۰۰۰ گزارش کردند(۱۵). با توجه به نتایج به دست آمده از آزمون DPPH° در مقایسه با اسانس و استانداردهای کار شده درمطالعات دیگران، مشخص شد که اسانس زنیان دارای فعالیت آنتی اکسیدانی متوسطی نسبت به BHT است و به‌دلیل کمتر بودن مقدار۵۰IC، 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 راکم‌رنگ‌ترکرد. تیمول،کارواکرول،گاماترپینن وپاراسیمن عمده‌ترین ترکیبات موجود در اسانس مورد مطالعه بوده‌اند، نقش کلیدی آن‌ها بخصوص ترکیب‌های فنلی به عنوان حذف کننده‌های 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 ۱۰۰گزارش کردند. نتایج نشان داد که علت بالا بودن فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس، به علت حضور ترکیب فنولی کارواکرول، پاراسیمن، تیمول و گاما ترپینن است(۲۰)، که این ترکیبات در اسانس مورد استفاده در این تحقیق هم وجود داشت. براساس نتایج بدست آمده ازGC/MS، یکی ازترکیب‌های عمده تشکیل دهنده اسانس زنیان، منوترپن هیدروکربنه گاماترپینن است. Ruberto و Baratta در سال ۲۰۰۰ گزارش کردند، دلیل فعالیت آنتی اکسیدانی بالای گاماترپینن، وجود گروه‌های متیلن فعال در ساختار آن است، این گروه‌ها با گروه‌های متیلن C-۱۱اسید 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 عصارهAjowan (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 تیوباربیتوریک در دمای ۶۰°C، به مدت ۲۸ روز بررسیشد. 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 درغلظت۰/۰۲درصد 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 در جه سانتی گراد)، در طول ۲۴ روز انجام دادند به فعالیت بالای آنتی اکسیدانی عصاره در غلظت ۱۰۰۰ ppm در مقایسه با BHA وBHT 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 ودر 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 ودر بیشتر روزهای آزمایش بین آن‌ها و ۱۰۰ ppm BHT اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

نتیجه‌گیری کلی: همان‌طور که ملاحظه شد تحقیقات نسبتاً وسیعی در ارتباط با کاربرد آنتی اکسیدان‌های طبیعی و سنتزی در روغن‌های خوراکی انجام شـده و در سـال‌های اخیر تحقیقات زیادی بر روی توان بالقوه منابع طبیعی به عنوان آنتی اکسیدان‌ها متمرکز شده است که در طراحی پژوهش حاضر مورد استفاده قرار گرفته‌اند. لذا در این پژوهش با بررسی تغییرات عدد پراکسـید و عدد تیوباربیتوریک اسید روغن کانولا حاوی تیمارهای BHT، اسانس زنیان، و کنترل نگهداری شده در گرمخانه (۶۰°C) و ارزیابی نتایج آماری آن‌ها 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 داشته‌اند.

تشکر و قدردانی

این طرح تحقیقاتی با استفاده از اعتبارات ویژه پژوهشی (گرنت شماره ۳۶۳۱/۸) دانشـگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل انجام شـده اسـت، بدینوسـیله از حمایت‌های مالی مدیر محترم پژوهشـی و فناوری دانشگاه تخصصی فناوری نوین آمل صمیمانه قدردانی می‌شود.

تعارض در منافع

بین نویسندگان هیچ گونه تعارض در منافع گزارش نشده است.

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
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
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 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., Bhanger, 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
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
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
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

Journal of Veterinary Research
J. Vet. Res. 74,2: 187-197, 2019
Original Article

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± 0.2 µg/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◦ with different concentrations of BHT.

Figure 2. Relationship between radical scavenging activity of DPPH◦ 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 b -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.

***Corresponding author's email: f.tooryan@ausmt.ac.ir, Tel: 011-44271054, Fax: 011-44271057**