



Evaluation of Oxidation Development of Soybean Oil Enriched with Essential Oil from Aerial Parts of *Ferulago angulata* Boiss during Accelerated Storage

A. Hemmati¹, A. Ganjloo^{2*}, K. Varmira³, M. Bimakr⁴

Received: 2021.04.19

Revised: 2021.07.29

Accepted: 2021.08.28

Available Online: 2021.09.15

How to cite this article:

Hemmati, A., Ganjloo, A., Varmira, K., & Bimakr, M. (2023). Evaluation of oxidation development of soybean oil enriched with essential oil from aerial parts of *Ferulago angulata* Boiss during accelerated storage. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 19(4), 399-414. (In Persian with English abstract).
<https://doi.org/10.22067/ifstrj.2021.69813.1033>

Introduction

It is believed that edible oils and fats with high levels of unsaturated fatty acids are susceptible to oxidation. Soybean oil as one of the four important edible oils has high content of polyunsaturated fatty acids and so prone to oxidation. Generally, lipid oxidation leads to deterioration of nutritional quality and organoleptic properties of edible oils and fats as well as accelerate the development or progression of cancer, mutagenesis, carcinogenesis, aging and cardiovascular diseases through the formation of free radicals. Therefore, edible oils and fats fortification with antioxidant compounds in order to protect them against oxidation is essential. In recent years, numerous studies were carried out on exploration of natural and safe antioxidant compounds due to the consumers concerns about potential health risk of synthetic antioxidants, such as butylatedhydroxyanisole (BHA), butylatedhydroxytoluene (BHT), tert-butylhydroquinone (TBHQ) and propylgallate (PG). In this regard, TBHQ as the most powerful synthetic antioxidant is prohibited as food additive in Japan, Canada and Europe. *Ferulago angulata* Boiss which called chavir or chavil belongs to the family of Apiacea consisting of 35–40 species that 8 species grow in Iran. It was reported that *Ferulago* species are used in folk medicine for their tonic, digestive, sedative, aphrodisiac properties from ancient times. Therefore, in the current study, the oxidation development of soybean oil enriched with *F. angulata* essential oil (EO) during accelerated storage was investigated.

Materials and Methods

EO from freeze dried aerial parts of *F. angulata* was extracted through hydrodistillation using Clevenger type apparatus. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was used to identify main components of the EO. Total phenolic and flavonoid content of the EO were assessed using Folin-Ciocalteu and aluminium chloride colorimetry methods, respectively. Antioxidant activity of EO was measured through 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and reducing power (RP) tests. Then, the EO of *F. angulata* at three concentrations, i.e. 200 ppm (SO-200), 400 ppm (SO-400), and SO-Mixture (100 ppm TBHQ + 100 ppm EO) were added to soybean oil. The synthetic antioxidant of TBHQ at the concentration of 200 ppm was added as control. The effect of EO from freeze dried aerial parts of *F. angulata* on oxidative stability of soybean oil stored under accelerated conditions at 65 °C for 24 days was evaluated through acidity, peroxide (PV), *p*-anisidine (*p-An*) and TOTOX values.

Results and Discussion

1, 2 and 4- M.Sc of Food Technology and Associate Professors, Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran, respectively.

(*- Corresponding Author Email: aganjloo@znu.ac.ir)

3- Associate Professor, Research Center of Oils and Fats, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
DOI: [10.22067/ifstrj.2021.69813.1033](https://doi.org/10.22067/ifstrj.2021.69813.1033)

Extraction yield, total phenolic and flavonoid contents of EO of *F. angulata* were 2.5% v/w, 188 mg GAE/g and 70.90 mg QE/g respectively. Furthermore, DPPH free radical scavenging activity and RP were 55.45-13.21% and 3.61-2.72 in the concentration range of 1.6-4.6 mg/ml of EO, respectively. Based on GC-MS analysis, the EO contains 41 natural compounds, representing 96.97% of the total EO. *F. angulata* EO could effectively reduce the acidity, *PV* and *p-An* values. For control sample, the maximum values of acidity, *PV* peroxide, *p-An* and TOTOX were 1.52 mg KOH/g, 10.60 meq O₂/kg, 12.48 and 33.68 respectively after 24 days under accelerated conditions. While these values were 0.085 mg KOH/g, 4.5 meq O₂/kg, 9.16 and 18.16 respectively for the soybean oil containing the lowest concentration of EO of *F. angulata*.

Conclusion

The results confirmed the instability of soybean oil during storage as well as the ability of EO from *F. angulata* for soybean oil protection against oxidation. As a result, EO from aerial parts of *F. angulata* could be suggested as a natural and effective antioxidant to be used instead of TBHQ as a synthetic antioxidant for soybean oil stabilization.

Keywords: Accelerated storage, Essential oil, *Ferulago angulata*, Oxidation stability, Soybean oil

مقاله پژوهشی

ارزیابی پیشرفت اکسایش روغن سویا غنی شده با اسانس اندام هوایی چویر حین انبارش تسریع شده

علیرضا همتی^۱ - علی گنج‌لوی^{۲*} - کامبیز ورمیرا^۳ - ماندانا بی مکر^۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۳۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۵/۰۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۰۶

چکیده

روغن‌های گیاهی خصوصا روغن سویا به دلیل داشتن مقادیر بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع مستعد به فساد اکسایشی هستند. در سالیان اخیر استفاده از ضد اکسایندهای طبیعی به دلیل اثرات منفی ضد اکسایندهای مصنوعی مورد توجه قرار گرفته است. لذا پژوهش حاضر با هدف بررسی اثربخشی اسانس اندام هوایی چویر بر پایداری اکسایشی روغن سویا صورت پذیرفت. بدین منظور اندام هوایی چویر به روش انجمادی خشک و اسانس به روش تقطیر آبی استخراج شد. میزان بازده استخراج (۲/۵ درصد حجمی/وزنی)، محتوای ترکیبات فنولی کل (۱۸۸ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در گرم)، فلاونوئیدی کل (۷۰/۹۰ میلی‌گرم معادل کوئرستین در گرم)، فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH (۲۱/۱۳-۵۵/۴۵ درصد) و قدرت احیاء کنندگی (۲/۷۲-۳/۶۱) برای اسانس چویر اندازه‌گیری شدند. در ادامه، پیشرفت اکسایش روغن سویا غنی شده با ۲۰۰، ۴۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر و مخلوط اسانس چویر و ضد اکساینده سنتزی و مخلوط اسانس چویر و ضد اکساینده سنتزی TBHQ (۱۰۰ پی‌پی‌ام+۱۰۰ پی‌پی‌ام) طی ۲۴ روز نگهداری تحت شرایط تسریع شده در دمای ۶۵ درجه سلسیوس از طریق سنجش شاخص‌های پایداری اکسایش بررسی و با ضد اکساینده سنتزی TBHQ مقایسه گردید. در پایان دوره نگهداری اعداد اسیدی، پراکسید، پارا-آنیزیدین و توتوکس برای نمونه کنترل به ترتیب معادل ۱/۵۲ میلی‌گرم هیدروکسید پتاسیم بر گرم، ۱۰/۶۰ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم، ۱۲/۴۸ و ۳۳/۶۸ به دست آمد. با افزودن اسانس اندام هوایی چویر با حداقل غلظت مقادیر این اعداد ۰/۰۸۵ میلی‌گرم هیدروکسید پتاسیم بر گرم، ۴/۵۰ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم، ۹/۱۶ و ۱۸/۱۶ بود که در مقایسه با ضد اکساینده سنتزی TBHQ تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($p > 0.05$). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اسانس اندام هوایی چویر خشک شده به روش انجمادی به خوبی می‌تواند پیشرفت اکسایش روغن سویا را به تاخیر بیندازد. لذا از آن می‌توان به‌عنوان جایگزین طبیعی ضد اکساینده سنتزی TBHQ استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: اسانس، انبارش تسریع شده، پایداری اکسایشی، چویر، روغن سویا

مقدمه

۲۰۱۴). اکسایش روغن‌ها علاوه بر ایجاد بد طعمی، کاهش کیفیت و افت ارزش تغذیه‌ای، منجر به ایجاد رادیکال‌های آزاد می‌گردد که می‌توانند به مولکول‌های زیستی بدن حمله نمایند (Nyam et al., 2013) و با ایجاد آسیب سبب بروز بیماری‌هایی نظیر سرطان، تصلب شرائین، دیابت و پیری زودرس گردند (Kanner et al., 2012). در

روغن‌های گیاهی به‌عنوان یکی از ترکیبات ارزشمند غذایی به لحاظ تامین انرژی و نقش آنها در سلامتی انسان‌ها به دلیل داشتن مقادیر بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع حساسیت زیادی به فساد اکسیداتیو حین نگهداری و یا فرایند حرارتی دارند (Chen et al.,

۱، ۲ - به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد فناوری مواد غذایی و دانشیاران گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
(* - نویسنده مسئول: Email: aganjloo@znu.ac.ir)

۳ - دانشیار مرکز تحقیقات روغن‌ها و چربی‌ها، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

قرار دادند. نتایج نشان داد که افزودن اسانس نعناع فلفلی با غلظت ۸۷۱ پی‌پی‌ام به‌عنوان یک ضد اکساینده طبیعی می‌تواند ویژگی‌های کیفی روغن سویا را طی دوره انبارمانی ۴۵ روزه بهبود بخشد (Keshvari Fard et al., 2020). لذا یافتن منابع طبیعی جدید و غنی از ترکیبات زیست فعال و امکان‌سنجی استفاده از آنها به منظور بهبود ویژگی‌های کیفی مواد غذایی نظیر روغن‌های گیاهی ضروری به نظر می‌رسد.

چویر با نام علمی *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss. گیاهی علفی، معطر، چند ساله و متعلق به خانواده چتریان^۴ است (Mozafarian, 1983). این گیاه متشکل از ۳۵-۴۰ گونه است که ۸ گونه از آن در ایران (خصوصاً استان‌های ایلام، کردستان، کرمانشاه و لرستان) رشد می‌کند (Mozafarian, 2008). خصوصیات ضد اکسایشی (Ghasemi Pirbalouti et al., 2013; Mollaei et al., 2019)، ضد میکروبی و ضد باکتریایی (Taran & Ghasempour, 2019; Moghaddam et al., 2018) این گیاه به اثبات رسیده است. از اسانس اندام هوایی چویر به‌عنوان یک ماده معطر و نگهدارنده قوی در محصولات لبنی و روغن حیوانی استفاده می‌شود (Azarbani et al., 2014). صادقی و همکاران (Sadeghi et al., 2016) در پژوهشی به بررسی تاثیر اسانس چویر خشک شده در دمای محیط بر پایداری روغن سویا پرداختند. در این پژوهش مقدار بازده استخراج اسانس از اندام هوایی چویر خشک شده در دمای محیط ۰/۵ درصد وزنی/وزنی به دست آمد و Cis-Ocimene (۳۰/۱۷ درصد)، α -Pinene (۱۵/۴ درصد)، γ -Terpinene (۵/۷ درصد)، Germacrene-D (۵/۰۳ درصد)، Limonene (۴/۸۸ درصد)، Bomylyl Acetate (۴/۵۷ درصد)، Myrcene (۳/۶۲ درصد)، Camphene (۲/۴۱ درصد)، Noe-Allo-Ocimene (۱/۸۷ درصد)، β -Phellandrene (۱/۸۴ درصد)، α -Terpinolene (۱/۷ درصد)، Bicyclogermacrene (۱/۲۹ درصد) و δ -Cadinene (۱/۱۸ درصد) ترکیبات شیمیایی غالب بودند. به علاوه آنها دریافتند مخلوط اسانس چویر و ضد اکساینده سنتزی TBHQ (غلظت ۶۰+۶۰ پی‌پی‌ام) و پس از آن اسانس چویر با غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام بیشترین تاثیر را بر پایداری روغن سویا طی دوره انبارمانی داشتند (Sadeghi et al., 2016). مکان جغرافیایی رویش، شرایط کاشت، داشت و برداشت، روش خشک کردن، روش استخراج اسانس از جمله عواملی بشمار می‌روند که بر مقدار اسانس، ترکیب شیمیایی و در نتیجه کارایی اسانس تاثیرگذار می‌باشد (Hassanpour aghdam et al., 2010). طبق بررسی منابع صورت پذیرفته تاکنون مطالعه‌ای پیرامون بکارگیری روش

نتیجه اکسایش سبب کاهش مقبولیت روغن‌های گیاهی نزد مصرف کننده می‌گردد که این امر ضرر اقتصادی برای تولید کنندگان به همراه خواهد داشت (Iqbal & Bhangar, 2007). روغن سویا به‌عنوان یکی از پرمصرف‌ترین روغن‌های خوراکی حاوی مقادیر بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع لینولئیک اسید و لینولنیک اسید بوده و از این قایده مستثنی نیست (Kozłowska & Gruczyńska, 2018). ترکیبات ضد اکساینده می‌توانند با به تاخیر انداختن یا ممانعت از پیشرفت اکسایش روغن‌های گیاهی از طریق مهار رادیکال‌های آزاد راه حلی برای این مشکل باشند (Yim et al., 2013).

در سالیان اخیر به دلیل اثبات عوارض نامطلوب ترکیبات ضد اکساینده سنتزی (بوتیلات هیدروکسی آنیزول^۱، بوتیلات هیدروکسی تولوئن^۲، ترشیو بوتیل هیدروکینون^۳ و پروپیل گالات^۴) نظیر احتمال سرطان‌زایی و آسیب‌های کبدی، استفاده از ترکیبات ضد اکساینده طبیعی به‌منظور پایدارسازی روغن‌های گیاهی بیشتر مورد توجه قرار گرفته است (Siddhuraju & Becker, 2003; Jeong et al., 2004). عصاره‌های گیاهی که عمدتاً حاوی ترکیبات زیست فعال نظیر ترکیبات فنولی با توانایی مهار رادیکال‌های آزاد هستند گزینه مناسبی جهت جایگزینی ترکیبات ضد اکساینده سنتزی می‌باشند (Pedraza-Chaverri et al., 2008). اسانس‌ها علاوه بر اینکه عامل ایجاد عطر و طعم هستند حاوی ترکیبات شیمیایی گیاهی نظیر هیدروکربن‌های منوترپنی، سزکوئی‌ترین‌ها^۵ و ترپن‌های اکسیژن‌دار هستند که از خود فعالیت ضد اکسایشی بروز می‌دهند (Sadeghi et al., 2016).

در سالیان اخیر پژوهش‌هایی با هدف استفاده از اسانس‌ها که مهم‌ترین روغن‌های فرار استخراجی از گیاهان محسوب می‌شوند به‌عنوان ترکیبات ضد اکساینده طبیعی در روغن‌های گیاهی نظیر روغن آفتابگردان و سویا انجام شده است. در این راستا اقبالیان راد و همکاران (Eghbalian Rad et al., 2018) دریافتند که اسانس آویشن دنیایی می‌تواند جایگزین مناسبی برای ضد اکساینده سنتزی BHT برای افزایش پایداری حرارتی روغن سویا حین سرخ کردن باشد (Eghbalian Rad et al., 2018). قزل سفلو و سیدالنگی (Ghezelsofloo & Sayyed-Alangi, 2017) با بررسی اثر اسانس برگ کرفس کوهی بر پایداری اکسایشی روغن سویا دریافتند که غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام از این اسانس به خوبی می‌تواند اکسایش روغن سویا را کنترل نماید (Ghezelsofloo & Sayyed-Alangi, 2017). کشوری فرد و همکاران (Keshvari Fard et al., 2020) تاثیر به‌کارگیری اسانس نعناع فلفلی را بر پایداری اکسایشی روغن سویا مورد بررسی

4- Propyl gallate (PG)
5- Sesquiterpenes
6- Apiaceae

1- Butylated hydroxyanisole (BHA)
2- Butylated hydroxytoluene (BHT)
3- Tert-Butylhydroquinone (TBHQ)

مدت ۳ ساعت انجام شد. آب‌گیری از اسانس به دست آمده با استفاده از سدیم سولفات بدون آب (Na_2SO_4) صورت پذیرفت. اسانس‌ها تا زمان انجام آزمایش در دمای منفی ۴ درجه سلسیوس و درون ظروف شیشه‌ای تیره دربسته نگهداری گردید (Ghasempour et al., 2007).

شناسایی و اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی اسانس اندام هوایی چوبیر

برای شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس اندام هوایی چوبیر از دستگاه کروماتوگراف گازی مدل 7890B مجهز به آشکارساز طیف‌سنج جرمی مدل 5977A ساخت شرکت Agilent آمریکا و ستون HP5-MS به طول ۶۰ متر و با قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. برنامه دمایی ستون با دمای اولیه ۶۰ درجه سلسیوس شروع و به مدت ۵ دقیقه در این دما نگه داشته شد، سپس دمای ستون با شیب ۱۵ درجه سلسیوس بر دقیقه به دمای ۱۸۰ درجه سلسیوس رسید و به مدت ۲ دقیقه در این دما ثابت ماند و در نهایت با شیب ۲۰ درجه سلسیوس بر دقیقه به دمای ۲۸۰ درجه سلسیوس رسید و به مدت ۱۰ دقیقه در این دما ثابت ماند. از گاز هلیوم با درجه خلوص بالا به عنوان گاز حامل استفاده شد. انرژی یونیزاسیون در طیف‌سنج جرمی ۷۰ الکترون ولت بود. شناسایی ترکیبات شیمیایی بر اساس مقایسه شاخص بازداری ترکیبات شیمیایی با شاخص‌های موجود در کتابخانه‌های جرمی^۲ نظیر^۳ NIST و (ChemStation data system) WILEY، مراجع علمی معتبر و همچنین طیف نرمال آلکان‌های تزریق شده در شرایط مشابه انجام شد. درصد نسبی هر یک از اجزای تشکیل دهنده اسانس بر اساس سطح زیر منحنی هر یک از پیک‌های به دست آمده در مقایسه با سطح کل زیر منحنی محاسبه گردید (Shahbazi et al., 2015).

تعیین محتوای ترکیبات فنولی کل (TPC^۴)

محتوای ترکیبات فنولی کل اسانس اندام هوایی چوبیر به روش رنگ‌سنجی و بر اساس واکنش معرف فولین با گروه‌های هیدروکسی فعال موجود در ترکیبات فنولی ارزیابی شد. بدین منظور ۲۰۰ میکرولیتر از اسانس با ۸۰۰ میکرولیتر از شناساگر فولین-سیکالتیو^۵ (که قبلاً با نسبت یک به ۱۰ با آب دیونیزه شده رقیق شده است) مخلوط شد و پس از افزودن ۲ میلی‌لیتر سدیم کربنات ۷/۵ درصد (وزنی-حجمی) حجم مخلوط با استفاده از آب مقطر به ۷ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از دو ساعت نگهداری مخلوط در دمای اتاق و محیط تاریک، میزان جذب در

خشک کردن انجمادی به منظور آماده‌سازی اندام هوایی گیاه چوبیر جهت استخراج اسانس و امکان‌سنجی استفاده از آن با هدف افزایش پایداری اکسایشی روغن‌های گیاهی انجام نشده است. لذا هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی تاثیر اسانس اندام هوایی چوبیر خشک شده به روش انجمادی بر پیشرفت اکسایش روغن سویا حین انبارش تحت شرایط تسریع شده در دمای ۶۵ درجه سلسیوس و مقایسه آن با اثر ضد اکساینده سنتزی TBHQ می‌باشد.

مواد و روش‌ها مواد اولیه

اندام هوایی گیاه چوبیر در مرحله گل‌دهی (خرداد- تیر) از کوه‌های شهرستان دالاهو در استان کرمانشاه (۳۴ درجه و ۱۶ دقیقه عرض شمالی، ۴۶ درجه و ۱۴ دقیقه طول شرقی و در ارتفاع ۱۶۵۸ متر از سطح دریا) جمع‌آوری و پس از انتقال به آزمایشگاه با آب مقطر شسته شد. روغن سویا تصفیه شده و فاقد هرگونه افزودنی و ترکیب ضد اکسایشی از کارخانه نازگل کرمانشاه تهیه شد. حلال‌ها و مواد شیمیایی با بالاترین درجه خلوص به ترتیب از شرکت‌های مرک آلمان و سیگما-آلدریج آمریکا تهیه شدند.

خشک کردن اندام هوایی چوبیر

به منظور منجمد شدن آب آزاد، اندام هوایی چوبیر به مدت ۲۴ ساعت در دمای منفی ۱۸ درجه سلسیوس قرار داده شد و سپس توسط دستگاه خشک‌کن انجمادی (CHRIST, Alpha 2-4 LD Plus, Germany) به مدت ۲۴ ساعت و در دمای منفی ۸۰ درجه سلسیوس و با فشار خلأ برابر ۰/۰۷۵ بار تا رسیدن به محتوای رطوبت نهایی معادل ۸/۵±۰/۲ درصد بر پایه وزن تر خشک شد. سپس با استفاده از یک آسیاب خانگی (GOSONIC, Shenzhen, China) پودر شده و به منظور حذف ذرات با اندازه بزرگ و دستیابی به پودری یکنواخت از الک با مش استاندارد ۱۸ (Damavand Test Sieve LTD., Iran) گذرانده و درون کیسه‌های مقاوم به هوا و رطوبت بسته بندی و در دمای منفی ۱۸ درجه سلسیوس تا زمان استخراج اسانس نگهداری شد (Hemmati et al., 2021).

استخراج اسانس اندام هوایی چوبیر به روش تقطیر با آب

استخراج اسانس از پودر خشک اندام هوایی چوبیر به روش تقطیر با آب^۱ در دستگاه کلونجر با رعایت نسبت ۱ به ۱۲ (وزنی/حجمی) به

4- Total phenolic content

5- Folin-Ciocalteu

1- Hydrodistillation

2- MS library

3- National Institute of Standards and Technology

در این رابطه A_0 ، A_1 و A_2 به ترتیب نشان‌دهنده میزان جذب محلول DPPH به تنهایی، میزان جذب اسانس به تنهایی و میزان جذب محلول DPPH و اسانس می‌باشد.

سنجش میزان قدرت احیاء کنندگی (RP^3)

به منظور اندازه‌گیری میزان قدرت احیاء کنندگی اسانس اندام هوایی چویر، ۳ میلی‌لیتر از نمونه اسانس با ۲ میلی‌لیتر از بافر پتاسیم فسفات (۰/۲ مولار، pH ۶/۶) و ۲ میلی‌لیتر پتاسیم فری سیانید (۱/۰ درصد وزنی-حجمی) مخلوط شد و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری گردید. سپس ۲ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (۱۰ درصد وزنی-حجمی) به آن اضافه شد. ۲ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده با ۰/۴ میلی‌لیتر فریک کلراید (۰/۱ درصد وزنی - حجمی) و ۲ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد و پس از ۱۰ دقیقه نگهداری در محیط تاریک، میزان جذب در طول موج ۷۰۰ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف‌سنج فرابنفش-نورمرئی (SPECORD 250, Jena, Germany) قرائت شد. میزان جذب بالاتر نشان‌دهنده میزان بالاتری از قدرت احیاء کنندگی است (Oyaizu, 1986).

ارزیابی تأثیر اسانس چویر بر پیشرفت اکسایش روغن

سویا حین انبارش تحت شرایط تسریع شده

اسانس اندام هوایی چویر در دو غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام (so-200) و ۴۰۰ پی‌پی‌ام (so-400) و ضد اکساینده سنتزی TBHQ به میزان ۲۰۰ پی‌پی‌ام (so-TBHQ) به‌طور مجزا به روغن سویا تصفیه شده، بدون هیچ‌گونه ترکیب ضد اکساینده در دمای ۳۰ درجه سلسیوس افزوده شد. روغن سویا بدون افزودنی به‌عنوان نمونه کنترل و نمونه حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر و ۱۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ (so-MIX) جهت بررسی اثرات سینرژیستی و یا آنتاگونیستی دو ضد اکساینده مورد استفاده در نظر گرفته شد. تیمارهای مورد مطالعه در جدول ۱ شرح داده شده است. پس از اینکه روغن سویا با ضد اکساینده‌های مد نظر به‌خوبی مخلوط شد درون بطری‌های ۵۰۰ سی‌سی در بسته پر شد و در آون (K.J 85, Pars Azma, Iran) با دمای ۶۵ درجه سلسیوس و به مدت ۲۴ روز (هر یک روز نگهداری روغن در این دما معادل با یک ماه نگهداری در شرایط محیطی عادی است) نگهداری شدند (Iqbal & Bhangar, 2007) و پیشرفت اکسایش در روزهای صفر، ششم، دوازدهم، هجدهم و بیست و چهارم مورد ارزیابی قرار گرفت.

طول موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف‌سنج فرابنفش-نورمرئی (SPECORD 250, Jena, Germany) قرائت گردید (Singleton & Rossi, 1965). محتوای ترکیبات فنولی کل اسانس با استفاده از منحنی استاندارد بر اساس میلی‌گرم معادل گالیک اسید در هر گرم اسانس بیان شد.

تعیین محتوای ترکیبات فلاونوئیدی کل (TFC^1)

برای تعیین محتوای ترکیبات فلاونوئیدی کل اسانس اندام هوایی چویر از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم استفاده شد. بدین منظور ۲۵۰ میکرولیتر اسانس با ۷۵ میکرولیتر نیتريت سدیم ۵ درصد مخلوط و پس از شش دقیقه، ۱۵۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد به آن اضافه گردید. پس از گذشت پنج دقیقه، ۵۰۰ میکرولیتر سود یک مولار به مخلوط اضافه و حجم محلول به ۲/۵ میلی‌لیتر رسانده شد. مقدار جذب در طول موج ۵۱۰ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف‌سنج فرابنفش-نورمرئی (SPECORD 250, Jena, Germany) قرائت شد (Jia et al., 1999). محتوای ترکیبات فلاونوئیدی کل با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میلی‌گرم معادل کوئرستین در هر گرم اسانس بیان گردید.

سنجش قدرت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد ۱،۱-دی فنیل-

۲- پیکریل-هیدرازیل ($DPPH^2$)

به‌منظور سنجش قدرت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH ابتدا ۲ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف اسانس (۱/۶، ۳/۲ و ۶/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به خوبی با ۲ میلی‌لیتر محلول اتانولی DPPH (۰/۱ میلی‌مولار) مخلوط شد. مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و محیط تاریک قرار گرفت و میزان جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف‌سنج فرابنفش-نورمرئی (SPECORD 250, Jena, Germany) قرائت شد. توانایی میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH بر حسب درصد از طریق رابطه ۱ محاسبه گردید (Xie et al., 2012). قدرت مهار رادیکال‌های آزاد بر اساس IC_{50} یا همان توانایی مهار ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH تعیین گردید. لازم به ذکر است که هر چه مقدار IC_{50} کمتر باشد فعالیت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد بیشتر می‌باشد.

$$DPPH \text{ آزاد} (\%) = \frac{1-(A_2-A_1)}{A_0} \times 100 \quad (1)$$

جدول ۱- کد تیمارهای مورد مطالعه در پژوهش حاضر
Table 1- Code of treatments studied in current research

کد Code	نمونه Sample
Control کنترل	روغن سویا بدون هر گونه افزودنی Soybean oil without any additives
so-200	روغن سویا حاوی ۲۰۰ پی پی ام اسانس چوبیر Soybean oil containing 200 ppm <i>F. angulata</i> essential oil
so-400	روغن سویا حاوی ۴۰۰ پی پی ام اسانس چوبیر Soybean oil containing 400 ppm <i>F. angulata</i> essential oil
so-TBHQ	روغن سویا حاوی ۲۰۰ پی پی ام ضد اکساینده سنتزی TBHQ Soybean oil containing 200 ppm synthetic antioxidant TBHQ
so-MIX	روغن سویا حاوی ۱۰۰ پی پی ام اسانس چوبیر و ۱۰۰ پی پی ام TBHQ Soybean oil containing 100 ppm <i>F. angulata</i> essential oil and 100 ppm synthetic antioxidant TBHQ

بررسی شاخص‌های پیشرفت اکسایش روغن سویا اندازه‌گیری اسیدیته

به منظور بررسی خلوص، تازگی و درجه هیدرولیز، میزان اسیدیته روغن سویا مطابق با استاندارد AOCS به شماره Cd 3d-63 اندازه‌گیری شد (AOCS, 1990). به ۲۰ گرم از نمونه، ۱۲۵ میلی‌لیتر حلال (ایزوپروپیل الکل خالص + تولوئن) خنثی شده با هیدروکسید پتاسیم استاندارد و معرف فنل فتالین اضافه شد. محلول با هیدروکسید پتاسیم ۰/۱ مولار در الکل ایزوپروپیل خالص تیترا شده و تیتراسیون تا ایجاد رنگ صورتی کم‌رنگ پایدار به مدت ۳۰ ثانیه ادامه یافت. میزان اسیدیته بر اساس رابطه ۲ محاسبه شد.

$$Acidity \left(\frac{mgKOH}{g} \right) = \frac{(V \times C \times 56.1)}{W} \quad (2)$$

در این رابطه V ، C و W به ترتیب نشان‌دهنده تفاضل هیدرواکسید پتاسیم مصرفی برای تیتراسیون نمونه و شاهد بر حسب میلی‌لیتر، غلظت هیدرواکسید پتاسیم بر حسب مول بر لیتر و وزن نمونه روغن بر حسب گرم می‌باشد.

اندازه‌گیری عدد پراکسید^۱

به منظور ارزیابی محصولات اولیه اکسایش، عدد پراکسید به روش یدومتري و مطابق با استاندارد AOCS به شماره Cd 8-53 اندازه‌گیری شد (AOCS, 1990). بدین منظور پس از گرم شدن ۵ گرم از نمونه تا دمای ۴۰ درجه سلسیوس، ۳۰ میلی‌لیتر حلال (۳ قسمت استیک اسید + ۲ قسمت کلروفرم) به آن اضافه گردید. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر یدید پتاسیم اشباع به آن اضافه شد. پس از قرار گرفتن در مکان تاریک، طی یک دقیقه ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر بدان اضافه شد و سپس با تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تا از بین رفتن رنگ زرد ید تیترا گردید. در نهایت

۰/۵ میلی‌لیتر معرف چسب نشاسته اضافه شد و تیتراسیون تا از بین رفتن رنگ آبی ادامه یافت. عدد پراکسید با استفاده از رابطه ۳ محاسبه و بر حسب میلی‌اکی‌والان اکسیژن در کیلوگرم روغن گزارش شد.

$$PV \left(\frac{meq}{kg} \right) = \frac{V \times N \times 1000}{m} \quad (3)$$

در این رابطه V ، N و m به ترتیب حجم تیوسولفات مصرفی بر حسب میلی‌لیتر، نرمالیت تیوسولفات سدیم و جرم روغن سویا بر حسب گرم می‌باشد.

اندازه‌گیری عدد پارا-آنیزیدین^۲

عدد پارا-آنیزیدین طبق استاندارد AOAC به شماره Cd 18-90 به منظور سنجش محصولات ثانویه اکسایش اندازه‌گیری شد. در ابتدا ۲ گرم نمونه روغن به داخل یک ارلن مایر ۲۵ میلی‌لیتری منتقل شد و با ایزواکتان به حجم رسید. سپس ۵ میلی‌لیتر از محلول فوق با یک میلی‌لیتر محلول پارا-آنیزیدین (۰/۲۵ درصد وزنی-حجمی) تهیه شده در استیک اسید مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در محل تاریک نگهداری شد. در نهایت میزان جذب در طول موج ۳۵۰ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف‌سنج فرابنفش-نورمرئی (SPECORD 250, Jena, Germany) قرائت شد. محلول شاهد که حاوی ۵ میلی‌لیتر ایزواکتان بود تحت شرایط مشابه اندازه‌گیری شد. عدد پارا-آنیزیدین با استفاده از رابطه ۴ محاسبه شد (AOAC, 1990).

$$p - AnV = \frac{25 \times (1.2A_s - A_b)}{m} \quad (4)$$

در این رابطه، A_s جذب روغن پس از واکنش با پارا-آنیزیدین، A_b جذب نمونه شاهد و m وزن روغن بر حسب گرم است.

اندازه‌گیری عدد اکسایش کل (TOTOX^۳)

3- Total oxidation value (TOTOX)

1- Peroxide value (PV)
2- *p*-anisidine

ترین ترکیب شناسایی شده در اسانس چوب خشک شده در دمای محیط بود (Sadeghi et al., 2016). همان طور که پیشتر نیز اشاره شده وجود تفاوت در ویژگی‌های کمی و کیفی اسانس به‌دست آمده از یک گیاه مشابه می‌تواند ناشی از تاثیر مکان جغرافیایی رویش، شرایط کاشت، داشت و برداشت، روش خشک کردن و روش استخراج اسانس باشد (Hassanpour aghdam et al., 2010).

نتایج برخی از مطالعات نشان می‌دهند ترکیباتی نظیر γ -Terpinene، Myrcene، β -Pinene و Bornyl Acetate حتی در غلظت‌های اندک فعالیت ضد اکسایشی قابل قبولی دارند (Song et al., 2011; Hosseini et al., 2001). در این راستا فعالیت ضد باکتریایی Cyclofenchene، *O*-Cymene، Bornyl Acetate و β -Pinene به اثبات رسیده است (Haznedaroglu et al., 2001; Darderafshi et al., 2014; Shahbazi et al., 2015).

ترکیبات زیست‌فعال نظیر ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی به‌عنوان جزئی از متابولیت‌های ثانویه گیاهان نیز مسئول بروز ویژگی‌های ضد اکسایشی گیاهان هستند. سنجش محتوای کمی ترکیبات زیست‌فعال فنولی و فلاونوئیدی کل نشان داد که میزان محتوای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی کل اسانس اندام هوایی چوب خشک شده به روش انجمادی به ترتیب معادل 188 ± 0.23 میلی‌گرم معادل گالیک اسید در گرم اسانس و 70.9 ± 0.09 میلی‌گرم کوئرستین در گرم اسانس می‌باشد. وجود ترکیبات ترپنوئیدی نظیر α -Pinene، Thymol، β -Trans-Ocimene، Carvacrol، *O*-Cymene و *Terpinene-4-ol* در اسانس اندام هوایی چوب که از جمله ترکیبات فنولی محسوب می‌شوند به‌عنوان عوامل اصلی ضد اکسایشی به دلیل داشتن گروه‌های هیدروکسیل قادر به واکنش با رادیکال‌های حاصل از اکسایش روغن‌های گیاهی غیر اشباع بوده و بدین ترتیب با خنثی سازی آنها سبب قطع واکنش‌های زنجیره‌ای و کاهش سرعت اکسایش می‌گردند (Dehghan et al., 2019). در مطالعه‌ای هاشمی و همکاران (Hashemi et al., 2015a) اذعان کردند وجود ترکیبات فنولی متعلق به مونوترپن‌ها نظیر (آلفا و بتا پینن، آلفاتوجن، دلتا ۳ کارن، پارا سیمون و ترپینن ۴ ال) در اسانس گیاه باریجه مسئول بروز فعالیت ضد اکسایشی هستند.

فعالیت ضد اکسایشی اسانس اندام هوایی گیاه چوب خشک شده به روش انجمادی به دو روش سنجش قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH و سنجش قدرت احیاء کنندگی اندازه‌گیری گردید. نتایج به دست آمده حاکی از آن است که فعالیت اسانس چوب در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH وابسته به غلظت است چراکه با افزایش غلظت اسانس از ۱/۶ تا ۶/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، میزان فعالیت مهار

عدد توتوکس یا همان اکسایش کل که نشان‌دهنده مجموع محصولات اولیه و ثانویه اکسایش روغن می‌باشد بر اساس رابطه ۵ محاسبه شد (Nyam et al., 2013).

$$\text{TOTOX} = 2PV + p - AnV \quad (5)$$

تجزیه و تحلیل آماری

طراحی آزمایشات پژوهش حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار صورت پذیرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از تحلیل واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون توکی^۲ در سطح اطمینان ۹۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار MINITAB نسخه ۱۶ استفاده شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل نسخه ۲۰۱۳ رسم شدند. کلیه آزمون‌ها در سه تکرار انجام و داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شد.

نتایج و بحث

ویژگی‌های کمی و کیفی اسانس اندام هوایی چوب خشک شده به روش انجمادی

بازده استخراج اسانس از اندام هوایی چوب خشک شده به روش انجمادی ۲/۵ درصد حجمی/وزنی بود در حالی که صادقی و همکاران (Sadeghi et al., 2016) میزان بازده استخراج اسانس از نمونه خشک شده در دمای محیط را ۰/۵ درصد وزنی/وزنی گزارش نمودند.

اسانس به دست آمده از اندام هوایی چوب خشک شده به روش انجمادی حاوی ۴۱ ترکیب بود که در مجموع ۹۶/۹۷٪ کل اسانس را تشکیل می‌دهند. ترکیبات شیمیایی شناسایی شده و مقادیر آنها در جدول ۲ آورده شده است و با نوع و مقادیر ترکیبات شیمیایی شناسایی شده در اسانس اندام هوایی چوب خشک شده در دمای محیط ارائه شده توسط صادقی و همکاران (Sadeghi et al., 2016) مقایسه شد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود بیشترین ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس اندام هوایی چوب خشک شده به روش انجمادی به ترتیب شامل Cyclofenchene (۲۱/۶۵٪)، β -Trans-Ocimene (۲۰/۱۰٪)، *O*-Cymene (۸/۸۸٪)، Bornyl Acetate (۷/۲۳٪)، Myrcene (۳/۷۵٪)، *Trans*-Verbenol (۳/۲۹٪)، β -Copaene-*4* α -ol (۳/۲۷٪)، Limonene (۲/۹۲٪)، γ -Terpinene (۲/۷۷٪) و β -Pinene (۲/۵۸٪) می‌باشد. این در حالی است در مطالعه صادقی و همکاران (Sadeghi et al., 2016) به طور کلی ۶۰ ترکیب شیمیایی شناسایی شد که در مجموع ۹۶/۸۴٪ کل اسانس را تشکیل می‌دادند. لازم به ذکر است که ترکیب شیمیایی *Cis*-Ocimene (۳۰/۱۷٪) عمده

کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH از ۲۱/۱۳ تا ۵۵/۴۵ درصد افزایش یافت. میزان فعالیت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH توسط اسانس اندام هوایی چوبیر خشک شده به روش انجمادی بر اساس IC₅₀ برابر با ۵/۶۱۴±۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. نتایج بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد که با افزایش غلظت اسانس میزان فعالیت ضد اکسایشی آنها نیز افزایش می‌یابد (Hashemi et al., 2015a, b).

جدول ۲- ترکیب شیمیایی اسانس به دست آمده از اندام هوایی خشک شده چوبیر به روش انجمادی

Table 2- Chemical composition of the essential oil obtained from the freeze-dried aerial parts of *F. angulata*

Compound ترکیب	FD خشک کردن انجمادی	Ambient Temp. * دمای محیط	Compound ترکیب	FD خشک کردن انجمادی	Ambient Temp. * دمای محیط
<i>Cis-Ocimene</i>	-	30.17	<i>β</i> -Bourbonene	-	0.28
<i>Cyclofenchene</i>	21.65	-	Myroxide	0.45	-
<i>α</i> -Pinene	0.31	15.4	tetrakis (1- methylethylidene)-	0.43	-
Trans- <i>β</i> -Ocimene	20.10	5.70	Linallol	0.44	0.26
<i>γ</i> -Terpinene	2.77	5.57	Neryl (S)-2- methylbutanoate	0.42	-
Germacrene-D	1.38	5.03	<i>β</i> -Cubenone	-	0.23
Limonene	2.92	4.88	<i>α</i> -Amorphene	-	0.22
<i>O</i> -Cymene	8.88	-	Terpinene-4-ol	0.29	0.17
Bornyl Acetate	7.23	4.57	<i>β</i> -Elemene	-	0.16
Trans-Verbenol	3.29	-	<i>α</i> -Cadinol	-	0.15
Myrcene	3.75	3.62	<i>β</i> -Bisabolene	-	0.14
<i>β</i> -Copaene-4 α -ol	3.27	-	Borneol	0.57	0.14
<i>β</i> -Pinene	2.58	-	Epi- <i>α</i> -Cadinol	-	0.13
Camphene	1.69	2.41	<i>Cis</i> -Jasmone	-	0.12
<i>β</i> -Ocimene	1.39	-	<i>γ</i> -Elemene	-	0.11
Noe-Allo-Ocimene	0.60	1.87	Cuparene	-	0.10
<i>β</i> -Phellandrene	-	1.84	<i>α</i> -Cadinene	-	0.10
<i>α</i> -Terpinolene	1.30	1.70	Ledene	-	0.09
Bicyclogermacrene	-	1.29	Thymol	0.18	-
δ -Cadinene	-	1.18	<i>α</i> -Terpineol	0.21	0.09
Verbenone	0.99	-	Tricyclene	-	0.09
δ -3-Carene	-	0.71	Verbenene	-	0.09
Germacrene-B	-	0.63	Palmitic acid	-	0.08
<i>p</i> -Menthane	0.85	-	Trans-Sabinene hydrate	1.93	0.07
<i>p</i> -Cymene	0.51	0.56	<i>α</i> -Muurolene	-	0.07
Viridiflorine	0.82	-	Pinocarvyl Acetate	0.36	0.06
Spathulenol	-	0.54	Iso-Spathulenol	-	0.06
<i>α</i> -Terpinene	-	0.53	<i>α</i> -Humulene	-	0.06
<i>Cis</i> -Verbenol	0.81	-	Butanoic Acid, 3- methyl	-	0.05
<i>β</i> -Cadinene	0.64	-	<i>γ</i> -Curcumene	-	0.05
<i>α</i> -Naginatene	0.57	-	Trans- <i>β</i> -Farnesene	-	0.05
<i>α</i> -Phellandrene	0.93	0.52	<i>α</i> -Cedrene	-	0.04
<i>α</i> -Acorenol	0.49	-	Elemo	-	0.03
<i>α</i> -Thujene	0.40	-	<i>α</i> - Campholeneal	-	0.03
<i>α</i> -Copaene	0.55	0.33	<i>p</i> -Cymene-8-ol	-	0.03
Geranyl Isovalerate	-	0.30	Geraniol	-	0.03
anthenyl <i>Cis</i> -Chrys propionate	0.28	-	Carvacrol	-	0.03
Italicene	0.23	-	<i>α</i> -Cubebene	-	0.03
Methyl Eugenol	0.21	0.30	Myrtenal	-	0.02
Trans-Caryophllene	0.30	0.28	Methyl cyclohexane	-	0.01
			Total identified (%)	96.97	96.84

*داده ها بر گرفته از منبع Sadeghi et al., 2016.

*Data adopted from Sadeghi et al., 2016.

فلاونوئیدی از طریق مهار رادیکال‌های آزاد به اثبات رسیده است (Samadloiy et al., 2008). همچنین افزایش فعالیت مهار کنندگی

این امر می‌تواند ناشی از تاثیر افزایش میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی کل باشد چرا که فعالیت ضد اکسایشی ترکیبات فنولی و

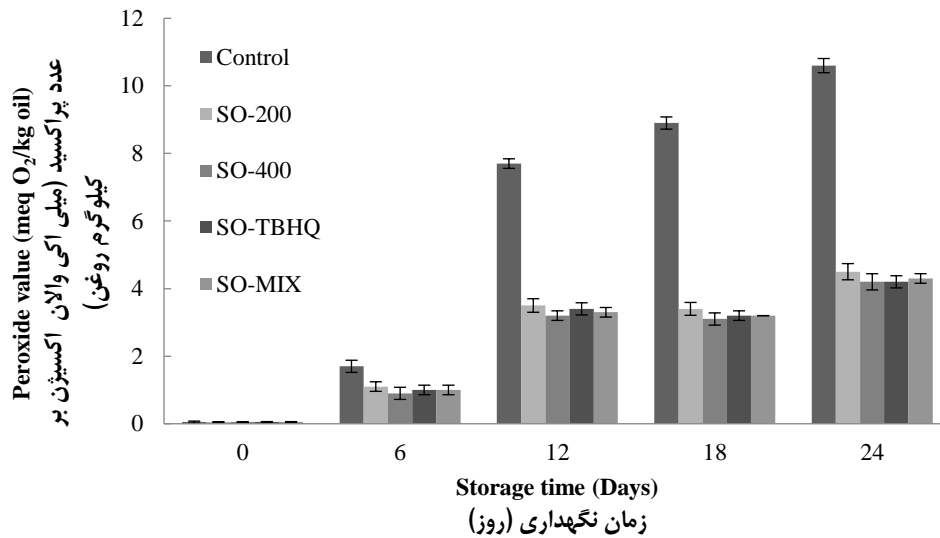
so-TBHQ و so-MIX به ترتیب $4/50 \pm 0/40$ ، $4/20 \pm 0/44$ ، $4/20 \pm 0/28$ و $4/30 \pm 0/14$ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن بود. در مقایسه با نمونه کنترل افزودن ۲۰۰ و ۴۰۰ پی‌پی‌ام از اسانس اندام هوایی چوپر توانست به ترتیب به میزان ۵۷/۵۵ و ۶۰/۳۸ درصد از پیشرفت اکسایش جلوگیری نماید. همان‌طور که ملاحظه می‌شود در محدوده غلظت اسانس مورد مطالعه هیچ اثر پراکسیدانی مشاهده نگردید که نشان از انتخاب صحیح سطوح غلظت‌های اسانس است. بیشتر اینکه افزودن مخلوط ضد اکساینده طبیعی و سنتزی (so-MIX) توانست به میزان ۵۹/۴۳ درصد از پیشرفت اکسایش روغن سویا جلوگیری نماید و هیچ گونه اثر سینرژیستی و یا آنتاگونیستی مشاهده نگردید. به‌طور کلی ممانعت از وقوع واکنش‌های اولیه اکسایش روغن‌ها توسط ترکیبات زیست‌فعال گیاهی به دلیل توانایی آنها برای اهداء الکترون یا قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد توسط آنها می‌باشد. صادقی و همکاران (Sadeghi et al., 2016) در پژوهش مشابهی عدد پراکسید روغن سویا پایدار شده با اسانس اندام هوایی چوپر خشک شده در دمای محیط و در محدوده غلظت ۱۲۵-۵۰۰ پی‌پی‌ام را ۶/۰۶-۷ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم در پایان دوره نگهداری گزارش کردند که در مقایسه با نتایج پژوهش حاضر اسانس اندام هوایی چوپر خشک شده به روش انجمادی کارایی بالاتری در پایداری روغن سویا دارد (Sadeghi et al., 2016). در این راستا دهقان و همکاران (Dehghan et al., 2019) با بررسی اثر افزودن اسانس پوست پرتقال بر پایداری روغن سویا دریافتند که با افزایش غلظت اسانس از ۲ به ۵ درصد میزان عدد پراکسید کاهش یافت. این در حالی بود که با افزایش غلظت اسانس به ۲۰ درصد، با افزایش اثر پراکسیدانی، سرعت اکسایش روغن افزایش یافت (Dehghan et al., 2019). قزل سفلو و سیدالنگی (Ghezelsolfo & Sayyed-Alangi, 2017) در پژوهش مشابهی دریافتند غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسانس کرفس کوهی کارایی مطلوبی در مهار اکسایش روغن سویا تحت شرایط تسریع شده دارد. کشوری فرد و همکاران (Keshvari Fard et al., 2020) گزارش کردند که افزودن اسانس نعناع فلفلی به روغن سویا تا غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام سبب کاهش عدد پراکسید می‌شود ولی افزایش غلظت به بالاتر از این مقدار نتیجه معکوس داشته و به سبب پراکسیدانی عمل کردن اسانس نعناع فلفلی عدد پراکسید روغن سویا طی دوره نگهداری افزایش یافت (Keshvari Fard et al., 2020).

رادیکال‌های آزاد DPPH با افزایش غلظت اسانس می‌تواند ناشی از افزایش شدت آزادسازی الکترون‌ها یا اتم‌های هیدروژن و انتقال آنها به رادیکال‌های DPPH باشد. میزان فعالیت احیاء کنندگی آهن اسانس چوپر وابسته به غلظت و میزان جذب اسانس در طول موج ۷۰۰ نانومتر در محدوده ۲/۷۲-۳/۶۱ به دست آمد. روش احیاء آهن مبتنی بر قابلیت الکترون‌دهی یا همان نیروی احیاء کنندگی می‌باشد و این امر که با فعالیت ضد اکسایشی ترکیبات زیست‌فعال در ارتباط است می‌تواند مکانیسم تاثیر ترکیبات زیست‌فعال بر جلوگیری یا به تاخیر انداختن فرایند اکسایش را توجیه نماید (Mohammadi & Arabshahi, 2017).

اثر افزودن اسانس چوپر بر عدد پراکسید روغن سویا طی

مدت نگهداری تحت شرایط تسریع شده

پراکسیدها و هیدروپراکسیدها اولین محصولات فرایند اکسایش روغن‌ها و چربی‌ها هستند که در مراحل انتهایی اکسایش به علت ناپایداری تجزیه شده و سبب تند شدگی^۱ روغن‌ها می‌شوند (Dobarganes & Velasco, 2002). در نتیجه عدد پراکسید بالاتر نشان‌دهنده پایداری اکسایشی کم‌تر است. در مرحله آغاز اکسایش، میزان پراکسیدها و هیدروپراکسیدها اغلب کم است که با آغاز مرحله انتشار میزان آنها افزایش می‌یابد. تاثیر افزودن غلظت‌های مختلف اسانس چوپر و ضد اکساینده سنتزی TBHQ بر روی عدد پراکسید روغن سویا حین نگهداری تحت شرایط تسریع شده در شکل ۱ نشان داده شده است. لازم به ذکر است که تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مورد مطالعه مشاهده نگردید ($p > 0/05$) هر چند اختلاف معنی‌دار ($p < 0/05$) تیمارها با نمونه کنترل مشهود بود. بر اساس شکل ۱ وجود یک روند افزایشی در مقادیر عدد پراکسید تمامی نمونه‌ها قابل مشاهده است که این افزایش به علت تشکیل هیدروپراکسیدها به‌عنوان محصولات اولیه اکسایش می‌باشد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود روند افزایش عدد پراکسید حین دوره نگهداری تا روز ششم نگهداری آهسته بود و پس از آن تا روز دوازدهم با شیب تندتری افزایش یافت اما از روز دوازدهم تا پایان دوره نگهداری، عدد پراکسید با شیب ملایم‌تری افزایش یافت. عدد پراکسید روغن سویا در ابتدای دوره نگهداری معادل $0/05 \pm 0/02$ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن بود که پس از ۲۴ روز نگهداری تحت شرایط تسریع شده عدد پراکسید نمونه کنترل به میزان حداکثر $10/6 \pm 0/42$ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن رسید در حالی که عدد پراکسید نمونه‌های so-200، so-400،



شکل ۱- عدد پراکسید روغن سویا حاوی اسانس چویر و ضد اکساینده سنتزی TBHQ نگهداری شده تحت شرایط تسریع شده به مدت ۲۴ روز. روغن سویا بدون هر گونه افزودنی، SO-200: روغن سویا حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر، SO-400: روغن سویا حاوی ۴۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر، SO-TBHQ: روغن سویا حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام ضد اکساینده سنتزی TBHQ، SO-MIX: روغن سویا حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر و ۱۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ

Fig. 1. Peroxide value of soybean oil containing *F. angulata* essential oil and synthetic antioxidant TBHQ stored under accelerated conditions for 24 days

Control: Soybean oil without any additives, so-200: Soybean oil containing 200 ppm *F. angulata* essential oil, so-400: Soybean oil containing 400 ppm *F. angulata* essential oil, so-TBHQ: Soybean oil containing 200 ppm synthetic antioxidant TBHQ, so-MIX: Soybean oil containing 100 ppm *F. angulata* essential oil and 100 ppm TBHQ.

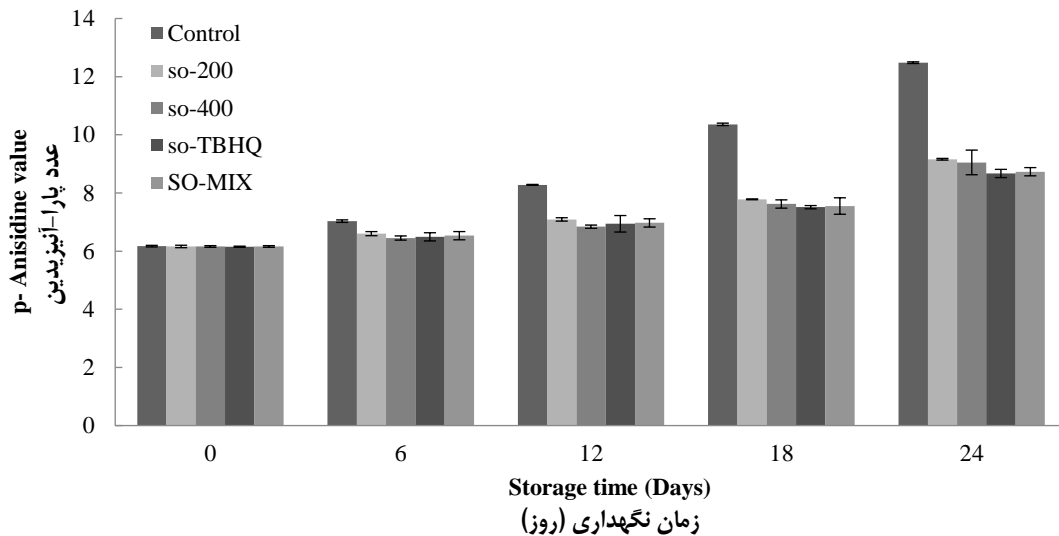
آنیزیدین برای نمونه‌های so-200 و so-400 به ترتیب $9/16 \pm 0/03$ و $9/05 \pm 0/24$ به دست آمد ($p > 0/05$) این در حالی است که عدد پارا-آنیزیدین برای نمونه‌های so-TBHQ و so-MIX به ترتیب $8/73 \pm 0/13$ و $8/67 \pm 0/14$ بود. ضد اکساینده سنتزی TBHQ بیشترین تاثیر را بر جلوگیری از تشکیل محصولات ثانویه اکسایش داشت چرا که این ضد اکساینده سنتزی با داشتن دو گروه پارا-هیدروکسیل براحتی می‌تواند با اهداء اتم‌های هیدروژن به رادیکال‌های آزاد فعال سبب قطع زنجیره واکنش اکسایش رادیکالی شود (Jiang & Wang, 2006). نتایج به دست آمده حاکی از آن است که اسانس اندام هوایی چویر خشک شده به روش انجمادی در جلوگیری از محصولات ثانویه اکسایش نسبت به اسانس اندام هوایی چویر خشک شده در دمای محیط کارآمدتر می‌باشد. صادقی و همکاران (Sadeghi et al., 2016) گزارش کردند که با افزودن اسانس اندام هوایی چویر خشک شده در دمای محیط (محدوده غلظت اسانس ۱۲۵-۵۰۰ پی‌پی‌ام) عدد پارا-آنیزیدین روغن سویا در پایان دوره نگهداری حداکثر به میزان حدودی ۲۰/۸۰ درصد نسبت به نمونه کنترل کاهش یافت (Sadeghi et al., 2016). این در حالی است که برای نمونه‌های so-200 و so-400 در مدت زمان مشابه می‌توان به ترتیب به ۲۶/۶۰ و ۲۷/۴۸ درصد کاهش در عدد پارا-آنیزیدین نسبت به نمونه کنترل دست یافت. همچنین مظاهری کله‌رودی و همکاران (Kalahrodi et al.,

اثر افزودن اسانس چویر بر عدد پارا-آنیزیدین روغن سویا طی مدت نگهداری تحت شرایط تسریع شده

ترکیبات شیمیایی اکسیژن‌دار با وزن مولکولی پایین نظیر الکل‌ها، آلدهیدها، اسیدهای چرب آزاد و کتون‌ها از جمله ترکیباتی هستند که از تجزیه پراکسیدها و هیدروپراکسیدها ایجاد می‌شوند (Pizarro et al., 2013). عدد پارا-آنیزیدین به منظور سنجش میزان محصولات ثانویه اکسایش ناشی از تجزیه هیدروپراکسیدها اندازه‌گیری شد (Doleschall et al., 2002). این آزمون بر اساس واکنش‌پذیری پیوند کربونیل آلدهید بر روی گروه آمین پارا-آنیزیدین است که منجر به تشکیل باز شیف می‌شود که حداکثر جذب را در طول موج ۳۵۰ نانومتر خواهد داشت (Ying et al., 2010). بر اساس نتایج تجزیه و تحلیل آماری، عدد پارا-آنیزیدین نمونه کنترل به‌طور معنی‌داری ($p < 0/05$) بیشتر از سایر تیمارها بود. روند تغییرات عدد پارا-آنیزیدین در شکل ۲ نشان داده شده است. تشکیل محصولات ثانویه اکسایش حین دوره نگهداری تحت شرایط تسریع شده شبیه نتایج عدد پراکسید افزایش یافت. همان‌طور که ملاحظه می‌شود از روز ۱۲ نگهداری به بعد، عدد پارا-آنیزیدین نمونه کنترل با شدت بیشتری نسبت به سایر تیمارها افزایش یافت. عدد اولیه پارا-آنیزیدین روغن سویا بدون هیچ گونه ترکیب ضد اکساینده $6/17 \pm 0/02$ بود که در انتهای دوره نگهداری به مقدار $12/48 \pm 0/02$ افزایش یافت. در پایان دوره نگهداری، عدد پارا-

و ۰/۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر می‌توان به حداقل عدد پارا-آنیزیدین حین دوره نگهداری دست یافت (Kalahrodi et al., 2014).

۲۰۱۴ در پژوهشی با هدف بررسی تاثیر افزودن اسانس دانه رازیانه بر پایداری اکسایشی روغن سویا دریافتند که با استفاده از غلظت‌های ۰/۵



شکل ۲- عدد پارا-آنیزیدین روغن سویا حاوی اسانس چوب‌ری و ضد اکساینده سنتزی TBHQ نگهداری شده تحت شرایط تسریع شده به مدت ۲۴ روز

Control: روغن سویا بدون هر گونه افزودنی، so-200: روغن سویا حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چوب‌ری، so-400: روغن سویا حاوی ۴۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چوب‌ری، so-TBHQ: روغن سویا حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام ضد اکساینده سنتزی TBHQ، so-MIX: روغن سویا حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چوب‌ری و ۱۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ

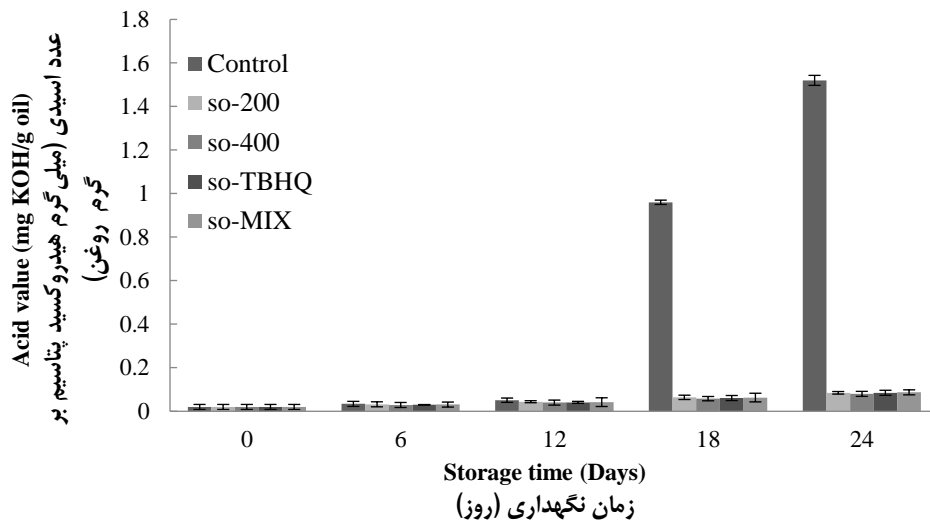
Fig. 2. P-anisidine value of soybean oil containing *F. angulata* essential oil and synthetic antioxidant TBHQ stored under accelerated conditions for 24 days

Control: Soybean oil without any additives, so-200: Soybean oil containing 200 ppm *F. angulata* essential oil, so-400: Soybean oil containing 400 ppm *F. angulata* essential oil, so-TBHQ: Soybean oil containing 200 ppm synthetic antioxidant TBHQ, so-MIX: Soybean oil containing 100 ppm *F. angulata* essential oil and 100 ppm TBHQ.

گرم رسید. افزایش عدد اسیدی به دلیل تبدیل ترکیبات ثانویه ناشی از اکسایش روغن و تبدیل آنها به اسیدهای کربوکسیلیک می‌باشد. افزودن ۲۰۰ و ۴۰۰ پی‌پی‌ام اسانس اندام هوایی چوب‌ری به روغن سویا در پایان دوره نگهداری توانست به ترتیب به میزان ۹۴/۴۱ و ۹۴/۷۴ درصد نسبت به نمونه کنترل از افزایش عدد اسیدی جلوگیری نماید. با توجه به نتایج به دست آمده با افزودن ۲۰۰ پی‌پی‌ام اسانس اندام هوایی چوب‌ری عدد اسیدی روغن سویا را در پایان دوره نگهداری می‌توان در حد ضد اکساینده سنتزی TBHQ حفظ کرد. نتایج سایر پژوهش‌ها حاکی از آن است که با افزودن عصاره گیاه نعناع پالزیموم به روغن کانولا تا غلظت ۸۰۰ پی‌پی‌ام (Nasiri Takami et al., 2015) و اسانس نعناع فلفلی به روغن سویا تا غلظت ۸۷۱ پی‌پی‌ام، می‌توان عدد اسیدی را در حد ضد اکساینده‌های سنتزی حفظ نمود (Keshvari Fard et al., 2020).

اثر افزودن اسانس چوب‌ری بر عدد اسیدی روغن سویا طی مدت نگهداری تحت شرایط تسریع شده

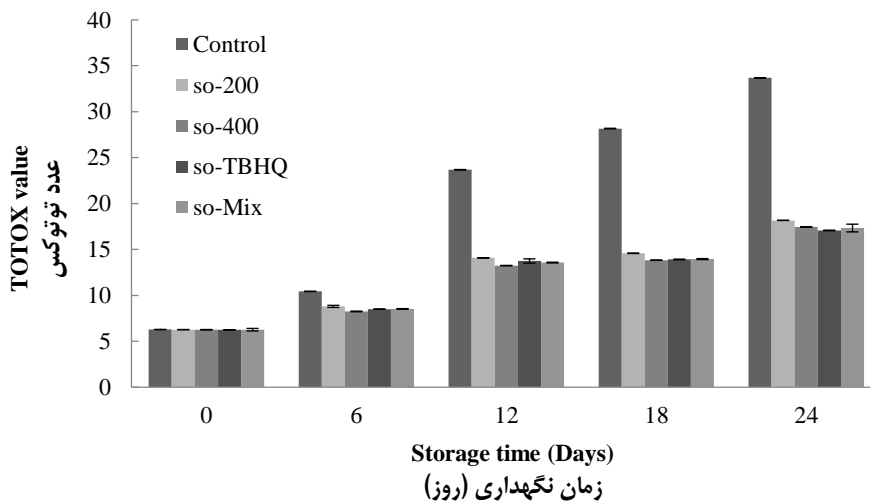
بررسی نتایج تجزیه و تحلیل آماری حاکی از عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای مورد مطالعه بود ($p > 0.05$) هر چند اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) بین تیمارهای مورد مطالعه با نمونه کنترل وجود داشت. روند تغییرات عدد اسیدی روغن سویا طی مدت نگهداری تحت شرایط تسریع شده در شکل ۳ نشان داده شده است. با توجه به شکل ۳ تغییرات قابل ملاحظه‌ای تا روز ۱۲ نگهداری در عدد اسیدی روغن سویا مشاهده نشد اما از روز ۱۲ به بعد روند تغییرات عدد اسیدی با شدت بیشتری افزایش یافت. این در حالی است که تغییرات عدد اسیدی سایر نمونه‌های روغن سویا حاوی ضد اکساینده‌های طبیعی و سنتزی به‌طور یکسان و با شدت بسیار کمتری افزایش داشت. عدد پراکسید روغن سویا در روز اول نگهداری برابر با 0.02 ± 0.01 میلی‌گرم هیدروکسید پتاسیم بر گرم بود که در انتهای دوره نگهداری عدد پراکسید نمونه کنترل به 1.52 ± 0.23 میلی‌گرم هیدروکسید پتاسیم بر



شکل ۳- عدد اسیدی روغن سویا حاوی اسانس چویر و ضد اکساینده سنتزی TBHQ نگهداری شده تحت شرایط تسریع شده به مدت ۲۴ روز Control: روغن سویا بدون هر گونه افزودنی، so-200: روغن سویا حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر، so-400: روغن سویا حاوی ۴۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر، so-TBHQ: روغن سویا حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام ضد اکساینده سنتزی TBHQ، so-MIX: روغن سویا حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر و ۱۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ

Fig. 3. Acid value of soybean oil containing *F. angulata* essential oil and synthetic antioxidant TBHQ stored under accelerated conditions for 24 days

Control: Soybean oil without any additives, so-200: Soybean oil containing 200 ppm *F. angulata* essential oil, so-400: Soybean oil containing 400 ppm *F. angulata* essential oil, so-TBHQ: Soybean oil containing 200 ppm synthetic antioxidant TBHQ, so-MIX: Soybean oil containing 100 ppm *F. angulata* essential oil and 100 ppm TBHQ.



شکل ۴- عدد توتوکس روغن سویا حاوی اسانس چویر و ضد اکساینده سنتزی TBHQ نگهداری شده تحت شرایط تسریع شده به مدت ۲۴ روز Control: روغن سویا بدون هر گونه افزودنی، so-200: روغن سویا حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر، so-400: روغن سویا حاوی ۴۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر، so-TBHQ: روغن سویا حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام ضد اکساینده سنتزی TBHQ، so-MIX: روغن سویا حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسانس چویر و ۱۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ

Fig. 4. TOTOX value of soybean oil containing *F. angulata* essential oil and synthetic antioxidant TBHQ stored under accelerated conditions for 24 days

Control: Soybean oil without any additives, so-200: Soybean oil containing 200 ppm *F. angulata* essential oil, so-400: Soybean oil containing 400 ppm *F. angulata* essential oil, so-TBHQ: Soybean oil containing 200 ppm synthetic antioxidant TBHQ, so-MIX: Soybean oil containing 100 ppm *F. angulata* essential oil and 100 ppm TBHQ.

رازیانه می‌توان به بالاترین میزان جلوگیری از تولید محصولات اولیه و ثانویه اکسایش در روغن سویا دست یافت.

نتیجه‌گیری

پایداری اکسایشی روغن‌های گیاهی حاوی مقادیر زیاد اسیدهای چرب غیر اشباع نظیر روغن سویا مشکل است. یافتن جایگزین طبیعی برای ضد اکساینده‌های سنتزی که برای رفع مشکل عدم پایداری روغن‌های غیر اشباع بکار می‌روند از چالش‌های مهم در این زمینه محسوب می‌شود. بر اساس نتایج پژوهش حاضر اسانس اندام هوایی چویر با حداقل غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام توانست با موفقیت پیشرفت اکسایش روغن سویا را حین دوره نگهداری به تاخیر بیاورد. هیچ‌گونه اثر سینرژیستی و یا آنتاگونیستی با افزودن مخلوط اسانس چویر و ضد اکساینده سنتزی TBHQ بر پایداری اکسایشی روغن سویا مشاهده نگردید. در نتیجه اسانس اندام هوایی چویر خشک شده به روش انجمادی را می‌توان به‌عنوان جایگزین طبیعی ضد اکساینده سنتزی TBHQ برای پایداری‌سازی روغن سویا پیشنهاد نمود.

اثر افزودن اسانس چویر بر عدد توتوکس روغن سویا طی مدت نگهداری تحت شرایط تسریع شده

عدد اکسایش کل یا توتوکس روغن سویا بر اساس عدد پراکسید و عدد پارا-آنیزیدین به‌عنوان محصولات اولیه و ثانویه اکسایش روغن محاسبه شد بنابراین نتایج به‌دست آمده نشان‌دهنده مراحل اولیه و ثانویه اکسایش و یا به عبارتی نشان‌دهنده روند فساد اکسیداتیو در روغن خواهند بود (O'Keefe & Pike, 2010). بر اساس نتایج تجزیه و تحلیل آماری، تفاوت معنی‌داری بین تیمارها وجود نداشت ($p > 0.05$) هر چند تیمارهای مورد مطالعه با نمونه کنترل اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) داشتند. روند تغییرات عدد توتوکس روغن سویا طی ۲۴ روز نگهداری تحت شرایط تسریع شده در شکل ۴ نشان داده شده است. در پایان دوره نگهداری عدد توتوکس در نمونه کنترل روغن سویا به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) بالاتر از نمونه‌های روغن سویا حاوی ترکیبات ضد اکساینده بود. کاهش عدد توتوکس با افزودن اسانس اندام هوایی چویر می‌تواند به دلیل کارایی آن در به تاخیر انداختن تشکیل هیدروپراکسیدها باشد. مظاهری کله‌رودی و همکاران (Kalahrodi et al., 2014) دریافتند با افزودن ۰/۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس دانه

منابع

1. Ai-li, J., & Chang-hai, W. (2006). Antioxidant properties of natural components from *Salvia plebeia* on oxidative stability of ascidian oil. *Process Biochemistry*, 41, 1111–1116 <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.12.001>
2. AOCS, Official Methods and Recommended Practices of American Oil Chemists' Society Edited by David Firestone, (1990). Washington, DC, USA.
3. Azarbani, F., Saki, Z., Zareei, A., & Mohammadi, A. (2014). Phenolic content, antibacterial and antioxidant activities of flower, leaf and stem extracts of *ferulago angulata* (schlecht.) boiss. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(10), 123–125.
4. Chen, X.Q., Zhang, Y., Zu, Y.G., Yang, L., Lu, Q., & Wang, W. (2014). Antioxidant effects of rosemary extracts on sunflower oil compared with synthetic antioxidants. *International Journal of Food Science and Technology*, 49, 385–391. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12311>
5. Darderafshahi, M.J., Bahrami, G.H., Sadeghi, E., Khanahmadi, M., Mohammadi, M., & Mohammadi, R. (2014). The effect of *Ferulago angulata* essential oil on *Staphylococcus aureus* during the manufacture and preservation of Iranian white cheese. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 8(4), 13-20. <http://nsft.sbmu.ac.ir/article-1-1493-en.html>
6. Dobarganes, M.C., & Velasco, J. (2002). Analysis of lipid hydroperoxides. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104, 420–428. [https://doi.org/10.1002/1438-9312\(200207\)104:7<420::AID-EJLT420>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/1438-9312(200207)104:7<420::AID-EJLT420>3.0.CO;2-N)
7. Dehghan, B., Esmaeilzadeh Kenari, R., & Raftani Amiri, Z. (2019). Investigate the antioxidant properties of orange peel essential oil (*Citrus sinensis*) on the stability of soybean oil during storage conditions. *Food Technology and Nutrition*, 16(3), 73-91.
8. Doleschall, F., Kemeny, Z., Recseg, K., & Kovari, K. (2002). A new analytical method to monitor lipid peroxidation during bleaching. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104, 14–18. [https://doi.org/10.1002/1438-9312\(200201\)104:1<14::AID-EJLT14>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/1438-9312(200201)104:1<14::AID-EJLT14>3.0.CO;2-J)
9. Eghbalian Rad, M., Sari, A.A., & Daraei Garmakhany, A. (2018). Thermal stability optimization of the Soybean oil affected by *Thymus daenensis* Celak essential oil by use of response surface methodology. *Journal of Food Hygiene*, 8(32), 77-107.
10. Ghasemi Pirbalouti, A., Sedaghat, L., Hamedi, B., & Tirgir, F. (2013). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of three endemic medicinal plants of Iran. *Bangladesh Journal of Botany*, 42, 327–332. <https://doi.org/10.3329/bjb.v42i2.18038>

11. Ghezelsflo, M., & Sayyed-Alangi, S.Z. (2017). Effect of *Kelussia Odoratissima* Mozaffarian leaves essential oil on the oxidative stability of soybean oil. *Journal of Food Research*, 26(4), 681-694.
12. Hashemi, Z., Hojjati, M., & Tahanejad, M. (2015a). Evaluation of antioxidant activity of *Ferula gummosa* Boiss essential oil in frying oil. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 11(5), 631-642.
13. Hashemi, Z., Hojjati, M., & Tahanejad, M. (2015b). Evaluation of antioxidant activity of essential oil from *Citrus aurantium* leaf compared with TBHQ in edible oil. *Innovative Food Technologies*, 2(2), 43-57.
14. Hassanpouraghdam, M.B., Hassani, A., Vojodi, L., & Farsad-Akhtar, N. (2010). Drying method affects essential oil content and composition of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 13(6), 759-766. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2010.10643892>
15. Haznedaroglu, M.Z., Karabay, N.U., & Zeybek, U. (2001). Antibacterial activity of *Salvia tomentosa* essential oil. *Fitoterapia*, 72(7), 829-831. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(01\)00335-5](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(01)00335-5)
16. Hemmati, A., Ganjloo, A., Varmira, K., & Bimakr, M. (2021). Influence of different drying methods on extraction yield, chemical compositions, total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of essential oil from aerial parts of *Ferulago angulata* Boiss. *FSCT*, 18(117), 119-132. <http://fsct.modares.ac.ir/article-7-51504-en.html>
17. Hosseini, N., Salehi Arjmand, H., Malekirad, A.A., & Akramian, M. (2011). Variation in the essential oil content and composition of flowers of *Ferulago angulata* (Schlecht.) Bioss. populations growing wild in Iran: In 42nd International Symposium on Essential Oils.
18. Iqbal, S., & Bhangar, M.I. (2007). Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. *Food Chemistry*, 100, 246-254. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.049>
19. Jeong, S., Kim, S., Kim, D., Jo, S., Nam, K., Ahn, D., & Lee, S. (2004). Effect of heat treatment on the antioxidant activity of extracts of citrus peels. *Food Chemistry*, 52, 3389-3393. <https://doi.org/10.1021/jf049899k>
20. Kanner, J., Gorelik, S., Roman, S., & Kohen, R. (2012). Protection by polyphenols of post prandial human plasma and low density lipoprotein modification: The stomach as a bioreactor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(36), 8790-8796. <https://doi.org/10.1021/jf300193g>
21. Keshvari Fard, F., Mokhtarian, M., & Tavakolipour, H. (2020). Evaluation of the effects of peppermint essential oil (*Mentha piperita*) on oxidative stability of soybean oil. *Journal of Food Processing and Preservation*, 12(1), 81-94. <https://doi.org/10.22069/EJFPP.2020.14431.1463>
22. Kozłowska, M., & Gruczyńska, E. (2018). Comparison of the oxidative stability of soybean and sunflower oils enriched with herbal plant extracts. *Chemical Papers*, 72, 2607-2615. <https://doi.org/10.1007/s11696-018-0516-5>
23. Mazaheri Kalahrodi, M., Bassiri, A., & Jalali, H. (2014). Evaluation of antioxidant properties of essential oil of fennel (*Foeniculum vulgare*) and its effect on the oxidative stability of soybean oil. *Iranian Journal of Biosystem Engineering*, 45(2), 131-139. <https://doi.org/10.22059/IJBSE.2014.52641>
24. Moghaddam, M., Mehdizadeh, L., Mirzaei Najafgholi, H., & Ghasemi Pirbalouti, A. (2018). Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of seed essential oil of *Ferulago angulata*. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 158-170. <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1437626>
25. Mohammadi, A., & Arabshahi-Delouee, S. (2017). Evaluation of active components and antioxidant activity of essential oil of *Boswellia serrata*. *JFST*, 14(63), 107-117. <http://fsct.modares.ac.ir/article-7-100-en.html>
26. Mozafarian, V. (1983). The family of umbelliferae in Iran, key and distribution. *Research Institute and Rangelands*, Tehran, Iran, 35, 387.
27. Mozafarian V. (2008). *Encyclopedia of Iranian plants*. Tehran, Iran: Farhang Moaser Publisher.
28. Mollaei, S., Sedighi, F., Habibi, B., Hazrati, S., & Asgharian, P. (2019). Extraction of essential oils of *Ferulago angulata* with microwave-assisted hydrodistillation. *Industrial Crops and Products*, 137, 43-51. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.015>
29. Nasiri Takami, S.T. (2015). The antioxidant effect of *mentha pulegium* extracts on the stability of canola oil during storage conditions. *Journal of Applied Environment and Biological Science*, 4(11), 112-117.
30. Nyam, K.L., Wong, M.M., Long, K., & Tan, C.P. (2013). Oxidative stability of sunflower oil supplemented with kenaf seed extract, roselle seed extract and roselle extract, respectively under accelerated storage. *International Food Research Journal*, 20(2), 695-701.
31. O'Keefe, S.F., & Pike, O.A. (2010). *Fat characterization* In: S.S.Nielsen. (Ed.), *Food Analysis* (4th ed.). New York, NY, USA: Springer Science and Business Media.
32. Oyaizu, M. (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44(6), 307-315.
33. Pedraza-Chaverri, J., Cárdenas-Rodríguez, N., Orozco-Ibarra, M., & Pérez-Rojas, J.M. (2008). Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Food and Chemical Toxicology*, 46, 3227-3239. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.07.024>

34. Pizarro, C., Esteban-Díez, I., Rodríguez-Tecedor, S., & González-Sáiz, J.M. (2013). Determination of the peroxide value in extra virgin olive oils through the application of the stepwise orthogonalization of predictors to mid-infrared spectra. *Food Control*, 34, 158–167. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.03.025>
35. Ghasempour, H.R., Shirinpour, E., & Heidari, H. (2007). Analysis by gas chromatography-mass spectrometry of essential oil from seeds and aerial parts of *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss gathered in Nevakoh and Shahoo, Zagross Mountain, West of Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10(5), 814-817. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2007.814.817>
36. Sadeghi, E., Mahtabani, A., Etminan, A., & Karami, F. (2016). Stabilization of soybean oil during accelerated storage by essential oil of *ferulago angulata* boiss. *Journal of Food Science and Technology*, 53(2), 1199–1204. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2078-7>
37. Samadloiy, H.R., Azizi, M.H., & Barzegar, M. (2008). Physico-chemical quality of seeds of pomegranate cultivars (*Punica granatum* L.) grown in Iran and antioxidative activity of their phenolic component, *Journal of Food Scientist Technology*, 45, 190-192.
38. Shahbazi, Y., Shavisi, N., Karami, N., & Kakaei, S. (2015). Chemical composition and *in Vitro* antibacterial activity of *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss essential oil. *Pharmaceutical Sciences*, 21, 6-11. <https://doi.org/10.15171/PS.2015.10>
39. Siddhuraju, P., & Becker, K. (2003). Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of Drum sticktree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *Food Chemistry*, 51, 4113–4117. <https://doi.org/10.1021/jf020444+>
40. Singleton, V.L., & Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
41. Song, H.S., Ukeda, H., & Sawamura, M. (2001). Antioxidative activities of Citrus peel essential oils and their components against linoleic acid oxidation. *Food Science and Technoogy. Research*, 7, 50–56. <https://doi.org/10.3136/fstr.7.50>
42. Taran, M., Ghasempour, H.R., & Shirinpour, E. (2010). Antimicrobial activity of essential oils of *ferulago angulata* subsp. *Carduchorum*. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 3(1), 10-14.
43. Xie, J.H., Shen, M.Y., Xie, M., Nie, S., Chen, Y., & Li, C. (2012). Ultrasonic-assisted extraction, antimicrobial and antioxidant activities of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 89, 177–184. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.02.068>
44. Yim, H.S., Chye, F.Y., Liow, M.L., & Ho, C.W. (2013). Antioxidant potential of *Pleurotus porrigens* extract and application in sunflower oil during accelerated storage. *Chiang Mai Journal of Science*, 40(1), 34-48.
45. Ying, Z., Lei, Y., Yuangang, Z., Xiaoqiang, C., Fuji, W., & Fang, L. (2010). Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage. *Food Chemistry*, 118, 656–662. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.038>
46. Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555-559. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)