

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه باریجه (*Ferula gummosa Boiss*) در روغن مخصوص سرخ کردنی

زهرا هاشمی^۱، محمد حجتی^{۲*}، محمد طاهانزاد^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۵/۱۱

چکیده

ترکیبات گیاهان معطر به دلیل فعالیت آنتی‌رادیکالی به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در فرآورده های غذایی و بیولوژیکی مصرف می شوند. هدف از این مطالعه استخراج و شناسایی ترکیبات اسانس باریجه، ارزیابی فعالیت آنتی‌رادیکالی اسانس با انجام آزمون‌های DPPH، ABTS و بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن در روغن مخصوص سرخ کردنی می‌باشد. شناسایی ترکیبات اسانس استخراج شده با کلونجر با روش کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی و میزان فنول کل اسانس با استفاده از روش فولین-سیوکالتو محاسبه شدند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس در روغن مخصوص سرخ کردنی در شرایط اکسیداسیون تسریع شده (دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد) در طی هفت روز، با اندازه‌گیری اعداد پراکسید و تیوباریتوریک اسید تعیین و با TBHQ مقایسه شد. نتایج نشان داد عمده‌ترین ترکیبات موجود در اسانس باریجه بتا پینن (۳۷/۹٪)، آلفا پینن (۹/۰۵٪) و ترپینن ۴ ال (۷/۷۸٪) بودند. در آزمون DPPH مقدار EC₅₀ اسانس باریجه ۰/۰۹۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد و میزان ترکیبات فنولی ۵۹/۷ میلی‌گرم در هر گرم ماده خشک اندازه‌گیری گردید. بر اساس نتایج به دست آمده از آزمون ABTS بیشترین فعالیت آنتی‌رادیکالی مربوط به غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسانس باریجه (بازدارندگی ۷۲/۱۹ درصد، معادل غلظت ۰/۱۱۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آسکوربیک اسید) بود. همچنین در آزمون آون، اسانس باریجه در غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام توانست بهتر از آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ در سطح ۲۰۰ پی‌پی‌ام عمل کند. نتایج نشان دهنده اثر اسانس باریجه در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن داشت. بنابراین می‌توان از اسانس باریجه به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی روغن در غذا استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، باریجه، *Ferula gummosa Boiss*، آنتی‌اکسیدان، DPPH، گاز کروماتوگرافی

مقدمه

چنانچه در سطح پیشرفته‌ای صورت گرفته باشد موجب واکنش‌های نامطلوب شیمیایی و احتمالاً بیولوژیکی شده و محصول را غیر قابل مصرف می‌کند (Esterbauer et al., 1991). اگر چه بسیاری از روغن‌ها حاوی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی نظیر فلاونوئیدها و توکوفرول‌ها می‌باشند، اما به دلیل اثر بخشی ناکافی این ترکیبات، افزودن آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی برای جلوگیری از آغاز و پیشرفت فساد اکسیداتیو ضروری است (Prior, 2004). با وجود تاثیر و کارایی بالای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی عوارض نامطلوب ناشی از مصرف آن‌ها از جمله سرطان زایی و ایجاد آسیب‌های کبدی به اثبات رسیده است (Dziezak, 1986; Wanasundara & Shahidi, 1996). لذا همواره تلاش‌های تحقیقاتی زیادی جهت جایگزینی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با این ترکیبات مصنوعی صورت گرفته است. بعنوان مثال Chun و همکاران (۲۰۰۶) با یک بررسی سیستماتیک روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی سی گونه از گیاهان دارویی چینی دریافتند ضریب همبستگی معنی‌داری بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوی کل فنولی

در سال‌های اخیر حقیقتات زیادی در زمینه ارزیابی خواص آنتی-رادیکالی و آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی صورت گرفته است. مواد مؤثره گیاهان دارویی نظیر ترکیبات فنولیک که در قسمت‌های مختلف گیاه وجود دارند، موجب افزایش کیفیت و پایداری اکسیداتیو در برخی سامانه‌های غذایی می‌شوند (Lee et al., 2005). اکسیداسیون علاوه بر کاهش کیفیت تغذیه‌ای و تنزل ایمنی محصول

- ۱-دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، اهواز، ایران
 - ۲- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، اهواز، ایران
 - ۳- مربی، گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، اهواز، ایران
- (* - نویسنده مسئول: (Email: hojjati@ramin.ac.ir)

گیاه وجود دارد.

مواد و روش‌ها

مواد

مواد شیمیایی: رادیکال دو و دو دی فنیل اپیکریل هیدرازیل^۱ و معرف فولین سیوکالتو، اسید گالیک، دو و دو آزینو بیس ۳ اتیل-بنزوتیازولین ۶ سولفونیک اسید^۲ و پرسولفات پتاسیم از شرکت سیگمای آمریکا تهیه شده است. کلیه مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده در این تحقیق با خلوص بالا از شرکت مرک آلمان خریداری گردیده اند. روغن مخصوص سرخ کردنی متشکل از ۶۰٪ روغن سویا و ۴۰٪ پالم که حاوی ۱۰۰ ppm اسید سیتریک بود از شرکت ارجان نوین واقع در شهرستان بهبهان استان خوزستان تهیه شد.

مواد گیاهی: اندام هوایی گیاه باریجه در اواسط فصل پائیز از مسیر شوشتر- ملاثانی در استان خوزستان جمع آوری و پس از یک شستشوی ساده و آبکشی جهت رفع گرد و غبار موجود در دمای محیط خشک گردید و سپس مقدار ۱۰۰ گرم از گیاه خشک شده به دستگاه کلونجر که اساس کار آن تقطیر آبی است منتقل و به مدت ۳ ساعت اسانس موجود استخراج و پس از جمع‌آوری و آب‌گیری با سولفات سدیم در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

روش‌ها

شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس باریجه: شناسایی ترکیبات اسانس استخراج شده با تزریق ۰/۵ میکرولیتر اسانس استخراجی رقیق شده با سیکلوهگزان به دستگاه گاز کروماتوگرافی مدل Agilent 6890A حاوی ستون HP-5 (طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت فاز ثابت ۰/۲۵ میکرومتر) متصل به طیف‌سنج جرمی مدل Agilent 5975 انجام پذیرفت. برنامه دمایی ستون به این طریق تنظیم گردید: دمای ابتدایی آن ۴۰ درجه سانتی-گراد بود و دما با سرعت ۵ درجه در دقیقه تا رسیدن به دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت و در این دما یک دقیقه باقی ماند و سپس دما با سرعت ۱۰ درجه در دقیقه تا رسیدن به دمای ۲۵۰ درجه افزایش یافت و پس از ۵ دقیقه توقف در این دما در نهایت با سرعت ۲۵ درجه در دقیقه به دمای ۳۰۰ درجه رسانده شد. گاز هلیوم با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه به عنوان گاز حامل به کار گرفته شد و دمای محفظه تزریق ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. طیف‌سنج جرمی با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت بکار گرفته شد. شناسایی نوع ترکیبات اسانس با کمک طیف نرمال آلکان‌ها (C₈-C₂₄) و بدست آوردن شاخص بازداری آنها (شاخص کواتز) و مقایسه با شاخص کواتز (KI) گزارش شده ترکیبات در نرم‌افزار NIST05 و

این مطالعه به بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه معطر باریجه (*Ferula gumosa Boiss*)، می‌پردازد. باریجه از تیره چتریان (*Apiaceae*) و بومی مناطق شرق و غرب ایران بوده و در استان‌های نظیر سمنان، خراسان، اصفهان و فارس پراکنده است (دینی و همکاران، ۱۳۸۱). از این گیاه بیشتر به عنوان طعم‌دهنده در محصولات غذایی نظیر نوشابه‌های غیر الکلی و فرآورده‌های گوشتی و همچنین به عنوان معطرکننده و یا تثبیت‌کننده عطرها در فرآورده‌های آرایشی استفاده می‌شود. در گذشته مصرف این گیاه همراه با آنگوزه در درمان ناراحتی‌های عصبی کاربرد داشته است (رضایی و همکاران، ۱۳۸۱). پیشینه تاریخی استفاده از این گیاه به بیش از ۳۰۰۰ سال قبل بر می‌گردد و در درمان بیماری‌های داخلی و ضد عفونی کننده زخم‌ها کاربرد داشته است (جزایری، ۱۳۸۲). در دهه‌های اخیر نیز مطالعاتی بر روی سایر خواص گیاه باریجه صورت گرفته است از جمله Griffiths (۱۹۹۷) خواص ضد میکروبی اسانس باریجه را مطالعه و اثرات ضد میکروبی آن را به ترکیبات آلفا و بتاپینین موجود در آن نسبت دادند. Sanseverino (۲۰۰۰) ترکیب لیمونن جدا شده از اسانس این گیاه را از عوامل اصلی بوی معطر باریجه ذکر کردند. سیاح و همکاران (۲۰۰۱) ترکیبات شیمیایی و اثرات ضد التهابی و ضد تشنجی اسانس باریجه منطقه پلور تهران را بررسی و اثرات ضد التهابی آن را در داشتن ترکیبات سبک مونوترپنی معطر موجود در باریجه ذکر کردند. آنها نشان دادند که مونوترپن‌ها حدود ۸۰ درصد ترکیبات موجود در اسانس باریجه را تشکیل می‌دهند. نبوی و همکاران (۲۰۱۲) ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و محتوی فنل عصاره مستخرج از قسمت‌های مختلف گیاه باریجه را با آزمون‌های DPPH و فولین سیوکالتو بررسی و مشاهده کردند که عصاره الکلی برگ و گل باریجه به ترتیب بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی را نسبت به سایر اندام‌های گیاه داشتند.

افتخار و همکاران (۲۰۰۴) در پژوهشی نشان دادند اسانس باریجه دارای توانایی بالقوه در حذف باکتری‌هایی نظیر باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس آئروس و اشرشیا کلای بوده و البته توانایی ضعیفی در برابر سودوموناس دارد. بر اساس پژوهش‌های انجام شده محققان به این نتیجه رسیدند از اسانس باریجه می‌توان به عنوان یک عامل ضد میکروبی معطر استفاده کرد (جهان‌سوز و همکاران، ۲۰۰۸). از این رو با توجه به اثبات مزایای گوناگون دارویی و صنعتی این گیاه، مطالعه در مورد سایر خواص آن نیز می‌تواند مفید باشد. در این پژوهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه باریجه در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ مورد ارزیابی قرار گرفته است.

$$I \% = (A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}} / A_{\text{blank}}) \times 100 \quad (2)$$

در این فرمول A_{blank} میزان جذب نوری کنترل منفی (که تمامی موارد به استثنای اسانس را دارد) و A_{sample} بیانگر جذب نوری غلظت-های مختلف اسانس باریجه می‌باشد. در این آزمون از آنتی-اکسیدان TBHQ بعنوان کنترل مثبت استفاده شده و میزان EC_{50} (غلظتی از هر اسانس که لازم است تا ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH را مهار کند) اسانس باریجه تعیین شد.

سنجش قدرت مهارکنندگی رادیکال ABTS: رادیکال

کاتیون ABTS از رادیکال DPPH فعال‌تر بوده و واکنش آن با یک آنتی‌اکسیدان تنها حدود ۱ دقیقه به طول می‌انجامد. بهمین منظور در سنجش فعالیت آنتی‌رادیکالی از آن به طور گسترده‌ای استفاده می‌شود. فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال در این آزمون را می‌توان بر اساس ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل با ترولکس^۱ یا بر اساس ظرفیت آنتی-اکسیدانی معادل با آسکوربیک اسید^۲ گزارش کرد. در این آزمون ابتدا یک محلول ۷ میلی‌مولار ABTS در آب مقطر تهیه شد. سپس یک محلول ۲/۴۵ میلی‌مولار پرسولفات نیز تهیه شد و هر دو محلول به نسبت ۱:۱ با یکدیگر مخلوط شدند و مخلوط حاصل مدت زمان ۱۶ ساعت در دمای اتاق و یک مکان تاریک قرار گرفت. سپس محلول ABTS با متانول به نسبت ۱:۲۵ رقیق شد و پس از آن میزان ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف اسانس به ۲ میلی لیتر محلول ABTS رقیق شده افزوده شد سپس در لحظه اول و پس از ۱۵ دقیقه میزان جذب در طول موج ۷۳۴ نانومتر قرائت شد سپس درصد بازدارندگی نمونه از طریق فرمول زیر محاسبه و در نهایت به صورت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل آسکوربیک اسید گزارش شد (Halliwell & Guteridge, 1989).

$$I \% = (A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}} / A_{\text{blank}}) \times 100 \quad (3)$$

در این فرمول A_{blank} میزان جذب نوری کنترل منفی و A_{sample} بیانگر جذب نوری غلظت‌های مختلف اسانس باریجه می‌باشد.

بررسی کاربرد اسانس باریجه به عنوان آنتی‌اکسیدان

طبیعی در روغن مخصوص سرخ کردن: اسانس استخراج شده از باریجه در سه سطح ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام و آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ در سطح ۲۰۰ پی‌پی‌ام به روغن مخصوص سرخ کردن فاقد آنتی‌اکسیدان اضافه و به منظور تسریع روند اکسیداسیون، نمونه‌ها در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شده و در روزهای ۰، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ میزان پیشرفت اکسیداسیون در آن‌ها با اندازه‌گیری عدد پراکسید (AOCS cd 8-53) و آزمون تیوباربتوریک

مقایسه طیف جرمی هر یک از اجزای ترکیبات اسانس با طیف جرمی موجود در کتابخانه wiley7n.1 موجود در دستگاه GC/MS صورت پذیرفت. همچنین میزان درصد ترکیبات موجود در اسانس مورد بررسی با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی مدل Agilent 6890A مجهز به آشکار ساز FID با شرایط فوق و با استفاده از سطح زیر منحنی پیکها محاسبه گردید.

تعیین محتوی کل فنولی: برای اندازه‌گیری میزان فنل کل

اسانس باریجه از روش رنگ سنجی فولین سیوکالتو استفاده شد. مطابق این روش ۲۰۰ میکرولیتر از اسانس که به نسبت ۱:۱۰ در متانول تهیه شده بود به ۱ میلی لیتر واکنش‌گر فولین سیوکالتو که با نسبت ۱:۱۰ با آب مقطر رقیق شده بود، افزوده گردید. پس از گذشت ۴ دقیقه ۸۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم (۷۵ گرم بر لیتر) به آن افزوده و محلول حاصل به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت. سپس میزان جذب نمونه در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. از گالیک اسید (غلظت ۱ تا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد. و میزان کل فنل بر مبنای اسید گالیک با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Singleton & Rossi, 1965).

$$C = C_1 * V/m * 100 \quad (1)$$

C: محتوی فنل کل بر مبنای اسید گالیک (گرم / میلی‌گرم)
C₁: غلظت معادل اسید گالیک که از معادله به دست آمده (میلی‌لیتر / میلی‌گرم)

V: حجم اسانس مصرفی (میلی‌لیتر)

m: وزن گیاه مورد نیاز جهت استخراج ۲۰۰ میکرولیتر اسانس (گرم)

سنجش قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH: ۲ و ۲- دی

فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل رادیکالی چربی دوست بوده که دارای جذب بیشینه در طول موج ۵۱۷ نانومتر می‌باشد. در این آزمون رادیکال‌های DPPH با آنتی‌اکسیدان‌ها یا دیگر گونه‌های آنتی رادیکالی واکنش می‌دهند و مقدار آن کاهش می‌یابد در نتیجه جذب در طول موج ۵۱۷-۵۱۵ نانومتر کاهش می‌یابد. کاهش ملکول‌های DPPH تقریباً معادل با تعداد گروه‌های هیدروکسیل در دسترس می‌باشد. گروه‌های هیدروکسیل با دادن هیدروژن به رادیکال‌های DPPH آن‌ها را از رنگ بنفش تیره به زرد روشن تبدیل می‌کنند در نتیجه جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر بیان‌گر مقدار DPPH باقی‌مانده است. در این آزمون مطابق روش Burits & Bucar (۲۰۰۰) میزان ۵۰ میکرولیتر از اسانس باریجه در غلظت‌های مختلف به ۵ میلی لیتر محلول ۰/۰۴ درصد DPPH در متانول اضافه شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد سپس شدت جذب نمونه-ها با استفاده از اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. درصد مهار رادیکال DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

اسید^۱ (McDonald & Hultin, 1987) تعیین شد.

تعیین عدد پراکسید: عدد پراکسید به عنوان معیاری از تشکیل ترکیبات اولیه اکسیداسیون است. مطابق روش AOCs cd 8-53، در این آزمون ۵ گرم از نمونه روغن توزین شده، سپس ۳۰ میلی لیتر حلال اسید استیک-کلروفرم (به نسبت ۱/۵ به ۱) و ۰/۰۵ میلی لیتر یدید پتاسیم اشباع به آن اضافه شده و ۲ دقیقه تریک‌خانه‌گذاری می‌شود سپس ۳۰ میلی لیتر آب مقطر به آن افزوده و با تیو سولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تا از بین رفتن رنگ زرد تیتیر می‌شود. سپس ۰/۵ میلی لیتر چسب نشاسته اضافه شده و تیتراسیون تا از بین رفتن رنگ آبی ادامه می‌یابد. مقدار عدد پراکسید با استفاده از فرمول زیر محاسبه می‌شود.

$$\text{عدد پراکسید} = N * V * 1000 / m \quad (۴)$$

N = نرمالیت تیوسولفات سدیم

V = حجم مصرفی تیوسولفات

m = جرم نمونه

تعیین عدد اسید تیوباریتوریک: عدد تیوباریتوریک اسید به عنوان شاخصی از تشکیل ترکیبات ثانویه اکسیداسیون، مطابق روش McDonald & Hultin (۱۹۸۷) تعیین شد. بر این اساس میزان ۰/۰۵ میلی لیتر نمونه روغن با ۰/۹۵ میلی لیتر آب مقطر و ۲ میلی لیتر واکنش گر TBA (۱۵ گرم تری‌کلرواستیک اسید، ۰/۳۷۵ گرم تیوباریتوریک اسید، ۲ میلی لیتر اسید کلریدریک و ۸۲/۹ میلی لیتر آب مقطر) مخلوط شده و به مدت ۱۵ دقیقه در آب در حال جوش قرار گرفت سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق خنک شده و ۱۵ دقیقه در سانتیفریوژ با دور ۱۰۰۰ g قرار گرفت و در پایان میزان جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: این تحقیق در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شده و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۳ انجام شد و میانگین تیمارها با استفاده از آزمون دانکن مورد مقایسه قرار گرفته و نمودارها با بهره‌گیری از نرم افزار اکسل ترسیم شدند.

نتایج و بحث

ترکیبات استخراجی اسانس باریجه

در این تحقیق ۲۹ ترکیب شیمیایی که در مجموع ۹۶/۸۰ درصد ترکیبات موجود در اسانس باریجه را شامل می‌شدند، توسط کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی شناسایی شده و به همراه شاخص بازداری و درصد ترکیبشان در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. بتاپینن (۳۷/۹۰)، آلفاپینن (۹/۰۵)، تریپینن ۴ ال

(۷/۷۸) و پی‌سیمن (۶/۵۸) عمده ترکیبات موجود در اسانس حاصل بودند. مرتضایی نژاد و صادقیان (۱۳۸۶) ترکیبات موثره گیاه باریجه در سه منطقه مرق، قالهر و نسلج در استان کاشان را مورد بررسی قرار داده و به این نتیجه رسیدند، بتا و آلفاپینن عمده‌ترین ترکیبات موجود در اسانس باریجه بوده و درصد این ترکیبات در مناطق مورد بررسی با یکدیگر دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشد. همچنین نبوی و همکاران (۲۰۱۲) در بررسی ترکیبات اسانس باریجه دو ترکیب فوق را به عنوان عمده‌ترین ترکیب موجود در اسانس عنوان کرده و پس از آن لینالول، آلفاتریپینولن، دلتا۳کارن و تریپینولن از مهمترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس باریجه مورد بررسی بوده است. در پژوهش حاضر نیز دو ترکیب بتا و آلفاپینن عمده‌ترین ترکیبات موجود در اسانس باریجه بوده که از این نظر مشابه نتایج سایرین می‌باشد اما در میزان ترکیبات با سایر نتایج مغایرت داشته که می‌تواند به دلیل تفاوت در روشگاه و گونه‌های مختلف گیاه باریجه باشد

میزان فنل کل اسانس باریجه

نتایج نشان داد که هر گرم اسانس باریجه حاوی ۵۹/۷ میلی‌گرم ترکیبات فنولیک بر مبنای اسید گالیک برحسب ماده خشک بوده است. ابراهیم‌زاده و همکاران (۲۰۱۱) فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی باریجه را مورد بررسی قرار داده و نشان دادند محتوای فنل کل عصاره باریجه میزان ۴۶/۳ میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر حسب ماده خشک بوده که با میزان به دست آمده در این تحقیق مغایرت داشته که می‌تواند به دلیل تفاوت در روش استخراج ترکیبات فرار و عصاره باریجه و گونه‌های متفاوت آن باشد. Unver و همکاران (۲۰۰۹) میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی چند گونه گیاهی را مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که رابطه مستقیمی بین میزان فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاهان وجود دارد. به طوری که در این بین نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) میزان فنول کل بالا (۴۹۳ میلی‌گرم معادل اسید گالیک در هر گرم) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا (EC_{50} برابر ۰/۲۳ میلی‌گرم بر میلی لیتر) و گیاه لگجی (*Capparis ovate*) میزان فنول کل پایین (۱۸۵ mg/g) و نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی پایینی (EC_{50} برابر با ۴/۰۸ میلی‌گرم بر میلی لیتر) نشان دادند. همانطور که از شکل شماره ۱ مشخص است با افزایش غلظت اسانس باریجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن نیز بیشتر می‌شود که این امر می‌تواند ناشی از تاثیر افزایش درصد مواد موثره و نیز افزایش میزان فنول کل آن باشد چرا که ثابت شده ترکیبات فنولی دارای فعالیت ضداکسایشی قابل ملاحظه‌ای می‌باشند (صمدلویی و همکاران، ۲۰۰۸).

قدرت مهار کنندگی رادیکال DPPH

قدرت اسانس باریجه در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در شکل

ابراهیم‌زاده و همکاران (۲۰۱۱) میزان EC₅₀ عصاره هیدروالکلی باریجه را معادل ۱۹/۴ ± ۵۷۹/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند که این میزان با EC₅₀ بدست آمده در این تحقیق مغایرت دارد. که این امر می‌تواند به دلیل تفاوت در مواد موثره موجود در اسانس و عصاره باریجه و یا به علت گونه و یا روشگاه متفاوت آن باشد. فاضل و همکاران (۲۰۰۷) فعالیت ضد رادیکالی اسانس آویشن شیرازی و مرزه را با روش DPPH تعیین کرده و مقادیر EC₅₀ اسانس‌های مورد مطالعه را به ترتیب ۸/۹ و ۵/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم به دست آوردند.

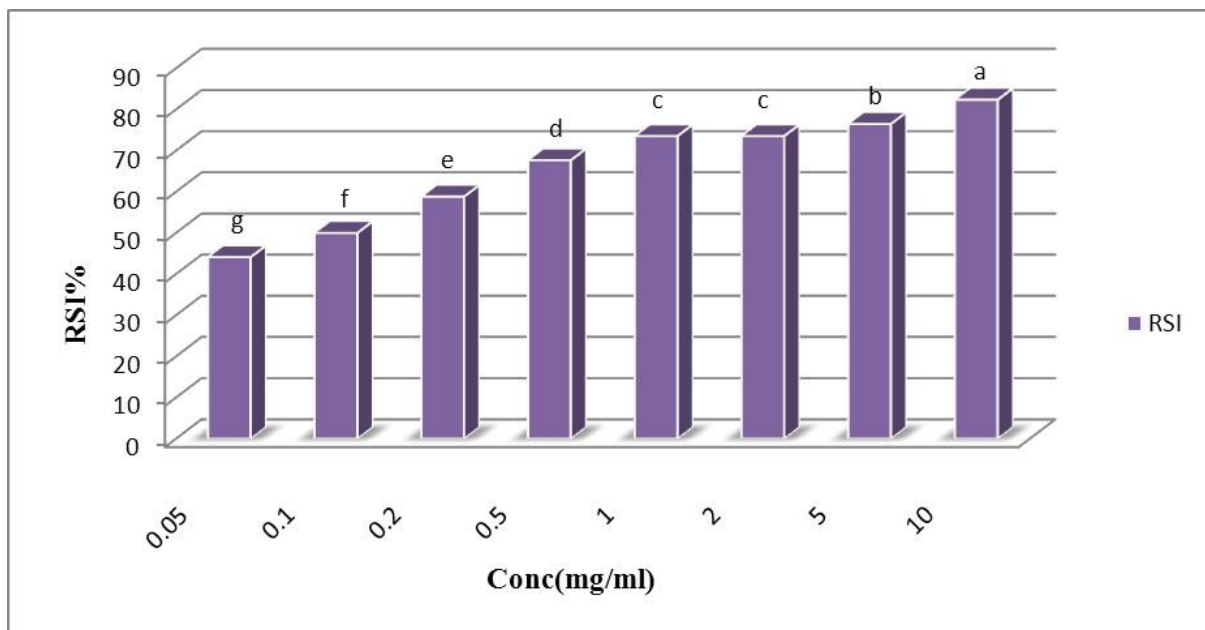
شماره ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که از شکل مشخص است با افزایش غلظت اسانس، اثر رادیکالی آن افزایش می‌یابد. همچنین شاخص EC₅₀ اسانس باریجه ۰/۰۹۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بدست آمد. لازم به ذکر است شاخص EC₅₀ نسبت معکوسی با فعالیت آنتی-اکسیدانی اسانس‌ها دارد (Molyneux, 2004). گستره غلظت‌های اسانس مورد استفاده در این آزمون بین ۰/۰۵ تا ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است و قدرت مهار رادیکالی اسانس باریجه با آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ مورد مقایسه قرار گرفت و نتایج نشان داد اسانس باریجه در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر قدرت بازدارندگی معادل با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آنتی‌اکسیدان TBHQ دارد، که نشان دهنده قدرت بالای آنتی‌رادیکالی اسانس باریجه می‌باشد.

جدول شماره ۱- ترکیبات شیمیایی اسانس استخراجی گیاه باریجه توسط گاز کروماتوگراف- طیف سنج جرمی

شماره پیک	نام ترکیب	شاخص بازداری	درصد ترکیب
۱	آلفاتوجن (alpha thujene)	۹۲۹	۴/۶۶
۲	آلفا پینن (alpha pinene)	۹۳۳	۹/۰۵
۳	بتا پینن (beta pinene)	۹۷۱	۳۷/۹۰
۴	بتامیرسن (beta myrcene)	۹۸۴	۱/۲۰
۵	دلتا ۳ کارن (delta 3 carene)	۱۰۱۱	۴/۵۹
۶	آلفا ترپینن (alpha terpinene)	۱۰۱۸	-/۳۳
۷	پی سیمن (p cymene)	۱۰۲۵	۶/۵۸
۸	لیمونن (limonene)	۱۰۲۸	۲/۸۸
۹	۱ (1,8 cineole) و ۸ سینئول	۱۰۳۳	-/۲۷
۱۰	بتا اوسیمن (beta ocimene)	۱۰۳۹	-/۲۹
۱۱	گاما ترپینن (gamma terpinene)	۱۰۵۲	۱/۳۰
۱۲	z-sabinene hydrate) ضد- سابینن هیدرات	۱۰۶۸	۱/۳۶
۱۳	آلفا ترپینولن (alpha terpinolene)	۱۰۸۹	-/۶۶
۱۴	آلفا ترپینئول (alpha terpineol)	۱۱۷۹	-/۳۳
۱۵	ترپینن ۴ ال (terpinen 4 ol)	۱۱۹۳	۷/۷۸
۱۶	میرتنول (myrtenol)	۱۱۹۶	-/۶۵
۱۷	فنیکل استات (fenchyl acetate)	۱۲۱۷	-/۶۰
۱۸	کارواکرول متیل اتر (carvacrol methyl ether)	۱۲۴۲	-/۷۵
۱۹	سیکلوایزوساتیو (Cycloisositivene)	۱۳۶۸	-/۴۵
۲۰	آلفا کوپین (alpha Copaene)	۱۳۷۹	-/۷۶
۲۱	بتا بوربانن (beta Bourbonene)	۱۳۸۷	-/۲۸
۲۲	کاریوفیلن (caryophyllene)	۱۴۰۵	-/۳۳
۲۳	بتا گورجونن (beta gurjunene)	۱۴۳۶	-/۸۱
۲۴	بتا سلینن (beta selinene)	۱۴۹۱	-/۳۹
۲۵	جرماکرن دی (germacrene D)	۱۵۰۵	۳/۴۹
۲۶	آلفا آمورفن (alpha amorphene)	۱۵۱۹	۳/۷۳
۲۷	دلتا کادینن (delta Cadinene)	۱۵۵۷	۳/۵۹
۲۸	گایول (guaiol)	۱۶۰۰	۱/۰۰
۲۹	بالنزل (Bulnesol)	۱۶۵۹	-/۸۳
	مجموع		۹۶/۸۰

BHT بالاتر بوده ولی در مقایسه با TBHQ فعالیت کمتری نشان می‌دهد. با توجه به نتایج به دست آمده و مقایسه EC_{50} اسانس باریجه با اسانس‌های ذکر شده مشخص است که اسانس باریجه فعالیت آنتی‌رادیکالی بسیار بالایی دارد و در مقایسه با سایر منابع آنتی‌اکسیدانی ذکر شده نیز از فعالیت ضد اکسایشی خوبی برخوردار است، که این امر به دلیل میزان بالای ترکیبات فنولی (۵۹/۷ میلی- گرم بر گرم) موجود در این اسانس می‌باشد

Zhang و همکاران (۲۰۱۰) اسید کارنوسیک را به روغن آفتاب گردان اضافه نمودند و پایداری اکسیداتیو آن را در شرایط اکسیداسیون تسریع شده با انجام آزمون‌های اسیدهای چرب فرار، عدد پراکسید، تیوباریتوریک اسید و آنیزیدین ارزیابی کرده و با انجام آزمون DPPH، میزان EC_{50} هر یک از آنتی‌اکسیدان‌ها به ترتیب برابر با TBHQ ۰/۰۹، اسید کارنوسیک (۹۸ درصد) ۰/۱۲، BHA ۰/۱۹ و BHT ۰/۴۲ بدست آوردند و به این نتیجه رسیدند که فعالیت آنتی-اکسیدانی اسید کارنوسیک از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHA و



شکل ۱- رابطه میان فعالیت مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH با غلظت اسانس باریجه. نتایج میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار است. حروف مختلف بیانگر اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) است (فعالیت مهار کنندگی رادیکال = RSI).

تام، کلروفومی، پلی‌فنلی و آبی به ترتیب معادل ۲۹/۳۸، ۱۴/۵۵، ۲۱/۲۹ و ۲۴/۲۲ می‌باشد. همچنین عصاره پلی‌فنلی دارای بیشترین عصاره آبی دارای کمترین فعالیت در آزمون‌های DPPH و ABTS بوده است. طاهانژاد و همکاران (۱۳۹۱) فعالیت آنتی‌رادیکالی عصاره پنیرک در سامانه روغن سویا مورد بررسی قرار دادند و نتایج حاصل از آزمون ABTS نشان داد، بیشترین فعالیت آنتی‌رادیکالی مربوط به غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر پنیرک بوده که دارای بازدارندگی ۷۰ درصد معادل آسکوربیک اسید با غلظت ۰/۱۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. در مقایسه با پژوهش‌های صورت گرفته نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد، اسانس باریجه دارای قدرت بالایی در مهار رادیکال‌های DPPH و ABTS بوده و از این نظر قابل رقابت با آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ می‌باشد.

قدرت مهار کنندگی رادیکال ABTS

جدول شماره ۲ قدرت اسانس باریجه در مهار رادیکال ABTS را نشان می‌دهد همان‌طور که مشخص است رابطه مستقیمی بین غلظت اسانس و قدرت مهار کنندگی آن وجود دارد و با افزایش غلظت اسانس قدرت مهار کنندگی افزایش می‌یابد و از این نظر در سطح ۱ درصد اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف اسانس وجود دارد. بر اساس نتایج به دست آمده از این آزمون بیشترین فعالیت آنتی-رادیکالی مربوط به غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسانس باریجه بوده که دارای بازدارندگی ۷۲/۱۹ درصد، معادل غلظت ۰/۱۱۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آسکوربیک اسید می‌باشد. سیاهپوش و امرایی (۲۰۱۱) ظرفیت آنتی‌رادیکالی عصاره‌های مختلف گیاه گونه ایگون را با انجام آزمون‌های DPPH و ABTS مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد میزان میزان مهار رادیکال ABTS بر مبنای ترولکس برای عصاره

جدول ۲- درصد بازدارندگی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل آسکوربیک اسید غلظت‌های مختلف اسانس باریجه

غلظت (mg/ml)	درصد بازدارندگی	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل آسکوربیک اسید (mg/ml)
۰/۰۵mg/ml	۱۹/۰۷۵ ± ۳/۳۳ ^c	۰/۰۲۹ ± ۰/۰۰۴ ^e
۰/۱mg/ml	۴۷/۴۵ ± ۰/۴۲۲ ^d	۰/۰۷۴ ± ۰ ^d
۰/۲mg/ml	۵۵/۴۳ ± ۲/۴۰۱ ^c	۰/۰۸۶ ± ۰/۰۰۳ ^c
۰/۵mg/ml	۶۴/۵۵ ± ۲/۱۰۰ ^b	۰/۱۰۱ ± ۰/۰۰۲ ^b
۱mg/ml	۷۲/۱۹ ± ۳/۳۰۷ ^a	۰/۱۱۳ ± ۰/۰۰۵ ^a

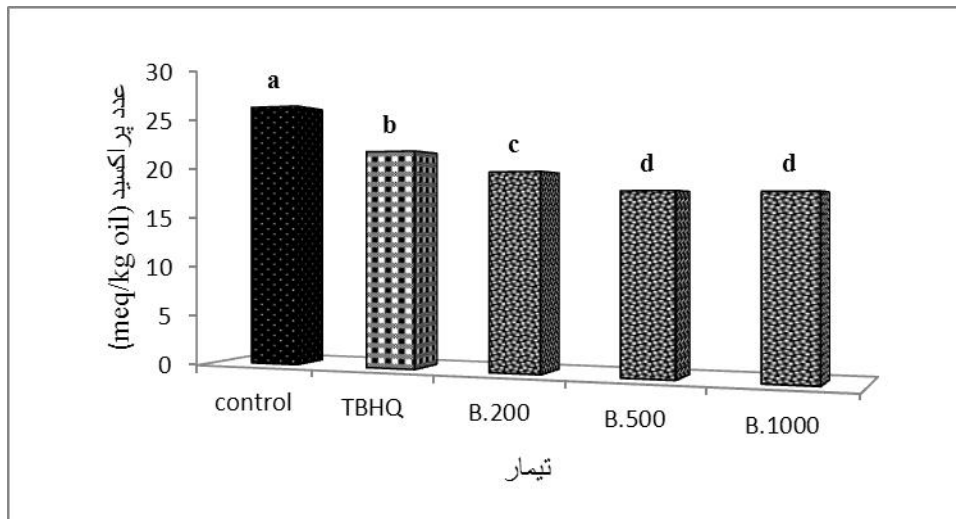
داده‌ها میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است. حروف مختلف در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد است.

با توجه به نتایج نشان داده شده در شکل شماره ۳ اختلاف معنی‌دار میان غلظت‌های مختلف اسانس و آنتی‌اکسیدان TBHQ و نمونه شاهد وجود دارد ($P < 0.05$) و همانگونه که مشاهده می‌شود اسانس باریجه در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام توانسته بهتر از آنتی‌اکسیدان TBHQ عمل کند. همچنین همان‌گونه که مشخص است اسانس باریجه در هر سه سطح غلظت دارای تاثیر آنتی‌اکسیدانی بوده و در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ دارای قدرت بالای آنتی-اکسیدانی می‌باشد.

کامکار و همکاران (۲۰۱۳) فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف علف هیضه در روغن سویا مورد بررسی قرار داده و نتایج نشان داد فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی قویتر از سایرین بوده و همچنین غلظت ۴۰۰ ppm عصاره آبی علف هیضه در کاهش عدد پراکسید در طول اکسیداسیون تسریع شده معادل با غلظت ۱۰۰ ppm آنتی-اکسیدان BHT و در آزمون TBA غلظت ۸۰۰ ppm آن معادل با غلظت BHT ۲۰۰ ppm بوده است.

اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس باریجه در روغن سرخ کردنی

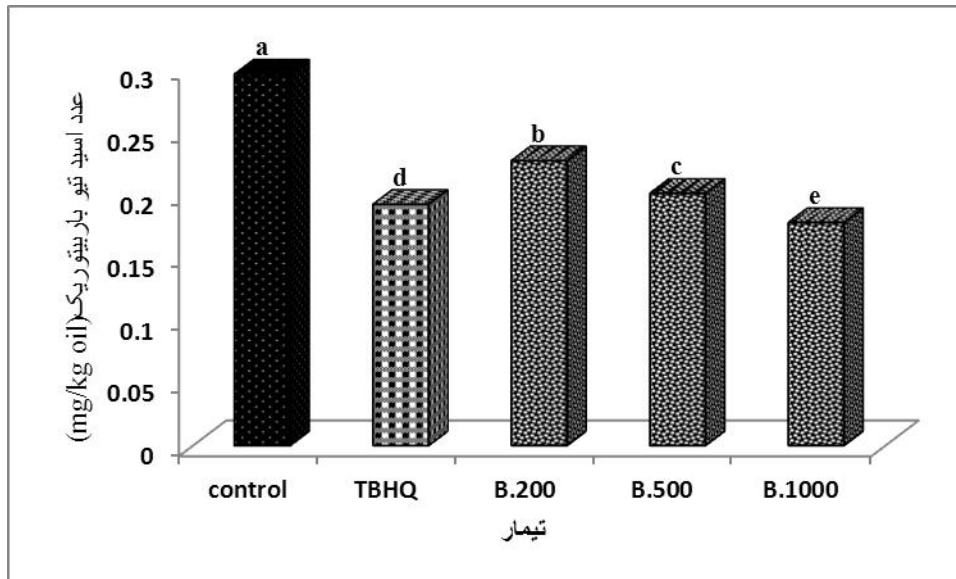
فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس باریجه در روغن سرخ کردنی پس از ۶ روز نگهداری در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد، بر حسب اعداد پراکسید و تیوباریتوریک اسید به ترتیب در شکل‌های شماره ۲ و ۳ نشان داده شده است. همچنین روند تغییرات اعداد پراکسید و تیوباریتوریک اسید در نمونه‌ها و نمونه شاهد طی این ۶ روز به ترتیب در اشکال شماره ۴ و ۵ نشان داده شده اند. همان‌گونه که در شکل شماره ۲ مشاهده می‌شود، عدد پراکسید روغن وابسته به غلظت تیمارها بوده و با افزایش غلظت تیمارها عدد پراکسید کاهش بیشتری یافته است از این رو در سطح احتمال ($P < 0.05$) اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. از طرفی بین غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام این اسانس اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد ($P < 0.05$). از روی نمودار می‌توان مشاهده کرد که اسانس باریجه در هر سه سطح ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام بهتر از TBHQ عمل کرده و موجب کاهش بیشتر عدد پراکسید شده است.



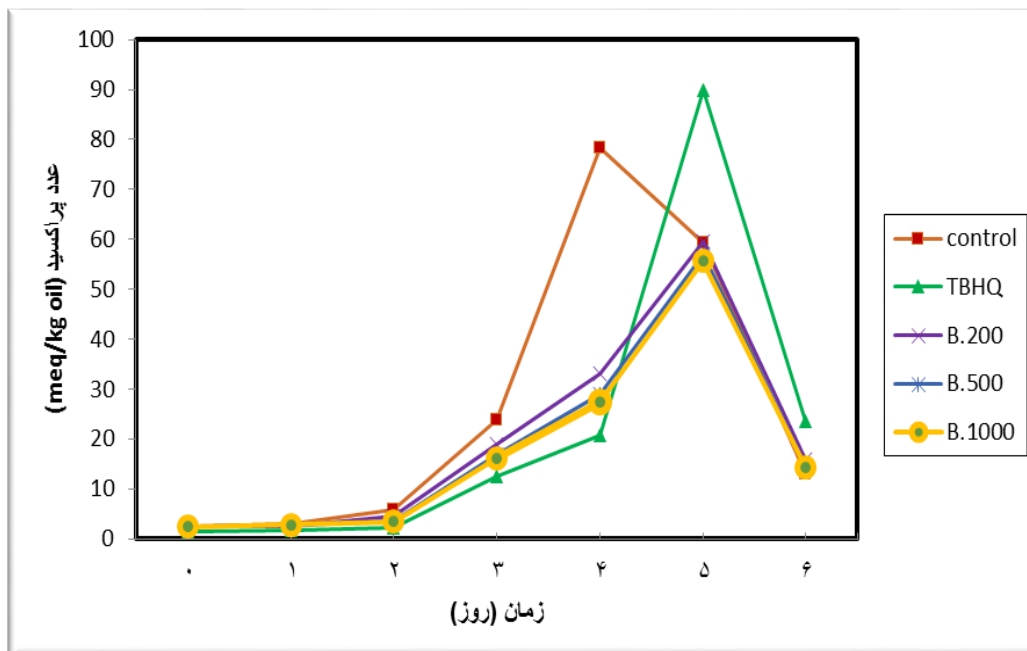
شکل ۲- عدد پراکسید نمونه‌های مورد بررسی پس از ۶ روز نگهداری در ۹۰ درجه سانتی‌گراد

معتقدند که ترکیبات ترپنوئیدی موجود در اسانس و عصاره های گیاهی دارای خاصیت آنتی اکسیدانی می باشند. ترکیبات اسانس باریجه مورد بررسی که در جدول ۱ نشان داده شده حاوی مقادیر بالای ترکیبات مونوترپنی است. ترکیبات عمده این اسانس (آلفا و بتا پینن، آلفاتوجن، دلتا ۳ کارن، پارا سیمین و ترپینن ۴ ال) ترکیباتی فنلی هستند و به مونوترپن‌ها تعلق دارند.

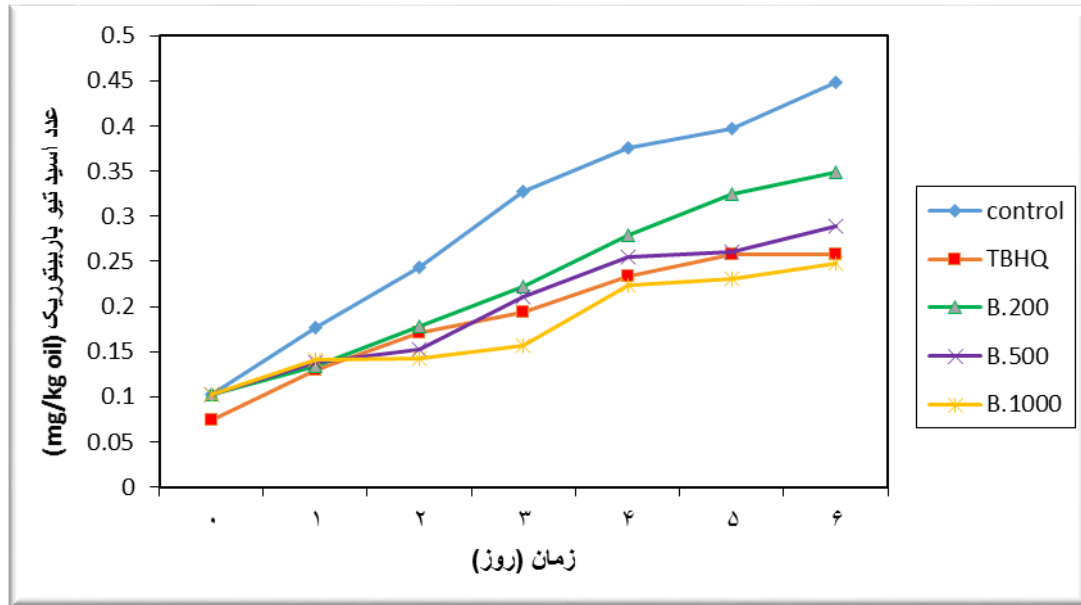
Singh و همکاران (۲۰۰۷) اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس برگ دارچین را در روند اکسیداسیون روغن خردل، با آزمون عدد پراکسید و تیوباریتوریک اسید مورد بررسی قرار داده و نتایج حاکی از آن بود که اسانس در سطح غلظتی ۰/۰۲ درصد اثرات قوی‌تری نسبت به پروپیل گالات دارد. فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس باریجه را همچون بسیاری از مطالعات انجام شده در سایر گیاهان معطر می توان به حضور بالای ترکیبات مونوترپنی در اسانس ذکر کرد. Joshi و همکاران (۲۰۰۸)



شکل ۳- عدد تیوباریتوریک اسید نمونه های مورد بررسی پس از ۶ روز نگهداری در ۹۰ درجه سانتی‌گراد



شکل ۴- روند تغییرات عدد پراکسید طی ۶ روز نگهداری در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد



شکل ۵ - روند تغییرات عدد اسید تیوباریتوریک طی ۶ روز نگهداری در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد

Ruberto and Baratta (۱۹۹۹) معتقد به وجود رابطه مستقیم

بین خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و ترکیبات فنلی و مونوترین‌های موجود در آن‌ها می‌باشند. مکانیسم عمومی ضد اکسیدانی این مواد بدین صورت است که مونوترین‌ها طی مدت کوتاهی با ترکیبات اکسیدان به ویژه رادیکال‌های آزاد موجود در روغن واکنش داده و با ممانعت از تجزیه هیدروپراکسیدها از تبدیل آن‌ها به رادیکال‌های آزاد جلوگیری بعمل می‌آورند. حضور مقادیر بالای مونوترین‌ها در اسانس باریجه می‌تواند توجهی بر خاصیت ضد اکسیدانی این گیاه معطر باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد اسانس باریجه در غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام قابل رقابت با آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ در سطح ۲۰۰ پی‌پی‌ام بوده و از این رو منبع سرشاری از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است که پس از خالص سازی و انجام آزمون‌های تکمیلی امکان استفاده از آن در روغن را میسر می‌سازد.

منابع

- Burits, M., Bucar, F., 2000, Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil, *Phytotherapy Research*, 14, 323-328.
- Chi-Chun, W., Hua-Bin, L., Ka-Wing, Ch., Feng, Ch., 2006, A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay, *Food Chemistry*, 97: 705-711.
- Dini, M., Babakhanlou, P., Masoudaliha, M., Golipur, M., 2002, Identification of habitats and species distribution of productive *Ferula gummosa* province of in Tehran, *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 13: 25-40. (in Persian)
- Dziezak, J.D., 1986, Preservatives: Antioxidants, *Food Technology*, 40: 94-102.
- Ebrahimzade, M.A., Nabavi, S.M., Nabavi, S.F., Dehpour, A.A., 2011, Antioxidant activity of hydroalcoholic extract of *Ferula gummosa* Boiss roots, *Medical and Pharmacological Sciences*, 15: 658-664.
- Eftekhari, F., Yousefzadi, M., Borhani, K., 2004, Antibacterial activity of the essential oil from *Ferula gummosa* seed, *Fitoterapia*, 75(7-8): 758-759.
- Esterbauer, H., Schaur, R. F., Zollner, H., 1991, Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes, *Free Radical Biology and Medicine*, 11: 81-128.
- Fazel, M., Omidbeygi, M., Barzegar, M., Naghdi Badi, H., 2007, Influence of heating on antiradical activity of essential oils of thyme, summer sarvory & clove by 2, 2- diphenyl- 1- picrylhydrazyl (DPPH•) method, *Journal of Medical Plants*, 6: 54-63.
- Griffiths, E.T., Bociek, S.M., Harries, P.C., Joffcoat, R., Sissons, D.J., Trudgill, P.W., 1997, Bacterial metabolism of alpha- pinen pathway from alpha- pinene to acyclic metabolites in nocardia sp, *Journal of Bacterial*, 169(11): 4972-4979.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1989, *Free Radicals in Biology and Medicine*, 2nd ed.; Clarendon Press: Oxford, UK.

- Jahansooz, F., Ebrahimzadeh, H., Najafi, A.A., Naghavi, M.R., Kouyakh, E.T., Farzaneh, H., 2008, Composition and antifungal activity of the oil of *Ferula gummosa* samples from Iran, *Journal Of Essential Oil Bearing Plants*, 3: 284-291.
- Jazaieri, Gh., 2003, *Herbal Treatment (Darmane Giah)*, 18th ed. Published Tehran. (in Persian)
- Joshi, S., Chanotiya, C.S., Aganwal, G., Prakash, D, Pant, A.K., and Mathela, C.S., 2008, Terpenoid compositions and antioxidant and antimicrobial properties of the rhizome essential oils of different *Hedychium* species. *Chemistry and Biodiversity*, 5(2): 299-309.
- Kamkar, A., Shamse Ardekani, M.R., Shariatifar, N., Misagi, A., Mozaffari nejad, A.S., Jamshidi, A.H., 2013, Antioxidative effect of Iranian *Pulicaria gnaphalodes* L, extracts in soybean oil. *South African Journal of Botany*, 85: 39-43.
- Lee, S.J., Umamo, K., Shibamoto, T., and Lee, K.G., 2005, Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties, *Food Chemistry*, 91: 131 - 7.
- Mcdonald, R.E., Hultin, H.O., 1987, Some characteristics of the enzymic lipid peroxidation system in the microsomal fraction of flounder skeletal muscle, *Journal of Food Science*, 52: 15-21.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P.R., Beek, T.A.V., 2004, Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts, *Food Chemistry*, 85: 231-7.
- Molyneux, P.H., 2004, The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Journal of Food Science and Technology*, 26: 211-219.
- Mortezaei nejad, F., Sadeghian, M.M., 2007, Comparison of *Ferula* active components in the three regions of province of Kashan, *Journal of Research in Agricultural Science*, 3(2): 172-177. (in Persian)
- Morteza-Semmani, k., Saeedi, M., Shahani, S., 2006, Antioxidant activity of the methanolic extracts of some species of *Phlomis* and *Stachys* on sunflower oil, *African Journal of Biotechnology*, 5(24): 2428-2432.
- Nabavi, S.F., Habtemariam, S., Sureda, A., Nabavi, S.M., 2012, *Ferula gummosa* Boiss as a rich source of natural antioxidants with numerous therapeutic uses, *Research Signpost*, 2: 15-26.
- Nabavi, S.F., Ebrahimzadeh, M.A., Nabavai, S.M., and Eslami, B. 2010. Antioxidant activity of flower, stem and leaf extracts of *Ferula gummosa* Boiss. *Grasas y Aceites*, 61(3): 244-250.
- Nedyalka, V., Yanishlieva, M., Marinova, E., 2001, Stabilization of edible oils with natural antioxidants, *European Journal Lipid Science Technology*, 103: 752-67.
- Özlem _ Inan, O., Özcan, M.M., Juhaimi, F., 2012, Antioxidant effect of mint, laurel & myrtle leaves essential oils on pomegranate kernel, poppy, grape and linseed oils, *Journal of Cleaner Production*, 27 :151-154.
- Prior, R. L., 2004, Absorption and metabolism of anthocyanins: Potential health effects. In Meskin, M., Bidlack, W.R., Davies, A.J., Lewis, D.S., Randolph, R.K. (Eds.), *Phytochemicals: Mechanisms of action*, pp: 1-19. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Rezaei, M., Bornar, B., Shafiei, A., 2002, *Ferula gummosa*, *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 17: 1-74. (in Persian)
- Ruberto, G., and Baratta, M.T., 2000, Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chemistry*, 69(2): 167-74.
- 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: 190-2.
- Sanseverino, A.M., Dasilva, F.M., 2000, Cohaologenation of Limonene, Carvomethene and related unsaturated monoterpenic alcohols, *Journal of Brazilian Chemical Society*, 11: 330- 333.
- Sayyah, M., Kamalinejad, M., Bahrami Hidage, R., and Rustaiyan, A., 2001, Antiepileptic Potential and Composition of the Fruit Essential Oil of *Ferula Gummosa* boiss. *Iranian Biomedical Journal*, 5: 69-72.
- Siahpoosh, A., Amraee, F., 2011, Antioxidant capacity of various extracts of *Asteragalus morinus* Boiss aerial parts, *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*, 19(4): 437-444.
- Singh, G., Maurya, S., Delampasona, M.P., 2007, A comparison of chemical antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents, *Food and Chemical Toxicology*, 45: 1650-1661.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A., 1965, Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-153.
- Taha nejad, M., Barzegar, M., Sahari, M., Naghdi Badi, H., 2012, Evaluation of antiradical activity of *Malva sylvestris* extract and its application in oil System. *Journal of Medicinal Plants*, 2(42):86-97. (in Persian)
- Unver, A., Arslan, D., Ozcan, M.M., Akbulut, M., 2009, Phenolic content and antioxidant activity of some spices, *World Applied Sciences Journal*, 6: 373-677.
- Wanasundara, U.N., Shahidi, F., 1996, Stabilization of seal blubber and menhaden oils by green tea catechins extracts, *Journal of the American Oil Chemists Society*, 7: 1183- 1190.
- Zhang, Y., Yang, L., Zu, Y., Chen, X., Wang, F., Liu, F., 2010, Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage, *Food Chemistry*, 118: 656-662.

Evaluation of antioxidant activity of *Ferula gummosa* Boiss essential oil in frying oil

Z. Hashemi¹, M. Hojjati^{2*}, M. Tahanejad³

Received: 2014.02.12

Accepted: 2014.08.02

Introduction: Oxidative degradation of lipids is a major factor limiting the shelf life of foods. The free radical reaction of lipid peroxidation is generally responsible for the deterioration of fatty foods. In general, use of synthetic antioxidants during the manufacturing process are applied to prevent fat oxidative and rancidity while their carcinogenic effects have been approved. Since the use of synthetic preservatives in food have been declined, researches on alternative natural products such as aromatic plants extract and essential oil have been extended. Aromatic plants are used traditionally in various regions of Iran for their preservation and medicinal properties, in addition to enhancing the aroma and flavor of foods. Aromatic plants components that have antiradical activities were used as natural antioxidant in food and biological products. The aim of this research was extraction and identification of the chemical compounds of *Ferula gummosa* Boiss essential oil and investigation of its antioxidant capacity in frying oil.

Materials and methods: Aerial parts of *F. gummosa* were collected during fall 2013 from Khuzestan province of Iran. The collected aerial parts were then dried in the shade. The essential oil of aerial parts was extracted by hydro-distillation technique using Clevenger apparatus. Analyses of isolation, identification, and quantification of the component of the essential oil of *F. gummosa* were performed with a GC coupled with a mass spectrometer detector GC/MS. Analyses were carried out using helium as the carrier gas on DB-5 column (30 m×0.25 mm i.d., 0.25 μm film thickness). Injector and detector were held at 240 and 300°C, respectively, and 0.5 μL of the diluted essential oil was injected. Identification of most of the compounds was made according to GC-MS retention times (authentic chemicals), Kovats indices (KI) in reference to n-alkanes (C₈-C₂₄), and mass spectra (authentic chemicals and NIST05 spectral library collection). Identification was considered tentative when it was based on mass spectral data only. Volatile compounds were quantified using percentage peak area calculations by means of a GC-FID with the same column and nitrogen as the carrier gas. The total phenol content in the *F. gummosa* essential oil was determined by a spectrometric method, according to the Folin-Ciocalteu phenol method by mixing of 0.2 ml of the essential oil with Folin-Ciocalteu reagent diluted and Na₂CO₃. The absorbance was measured at 765 nm after incubation in the dark at ambient temperature. The results of the total phenolic contents were expressed as gallic acid equivalents. The DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and ABTS [(2,2'-azino-bis 3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)] tests were used for estimating antioxidant effects because the DPPH and ABTS radicals are the two most widely used and stable chromogen compounds to measure the antioxidant activity of biological material. In addition, the model of the DPPH radical-scavenging and ABTS radical cation decolorization assay can be used to evaluate the antioxidant activities in a relatively short time compared with other methods. For this purpose 0.05 ml of the essential oil at different concentrations (0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10 mg/ml) were mixed with 5 ml of 0.2 mM methanolic DPPH solution and kept in the dark for 30 min at room temperature, then absorption-decrease was measured at 517 nm. The radical scavenging activity assessed by the ABTS method was expressed as the TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) value based on absorbance at 734 nm. In this test, ascorbic acid was used as positive control. The antioxidant activity of essential oil was evaluated against Tertiary butylhydroquinone (TBHQ) as a synthetic antioxidant in frying oil by peroxide value and thiobarbituric acid (TBA) index under rush condition in 90°C during one week.

Results & Discussion: GC-MS analysis of the volatile constituents of the *F. gummosa* essential oil allowed

1- Former M.Sc. Student, Department of Food Science and Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran.

3- Instructor, Department of Food Science and Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran.

(*Corresponding Author Email: hojjati@ramin.ac.ir)

the identification of twenty-nine compounds representing 96.80% of the total volatile oil. The main components were β - pinene (37.9%), α - pinene (9.05%), terpinene-4-ol (7.78%) and p - cymene (6.58%). The mean amount of total phenolic of obtained essential oil was 59.7 mg gallic acid/g dry plant material. In the present study, the essential oil showed good free radical scavenging capacity at all concentrations studied, however the scavenging activity increased with increasing concentration of the essential oil. Antioxidant activity of essential oil from *F. gummosa* at 1 mg/ml was similar to TBHQ at 0.1 mg/ml ($P \leq 0.05\%$). The scavenging capacity test showed that the EC_{50} value of the essential oil was found to be 0.094 mg/ml. ABTS test showed that the *F. gummosa* essential oil was able to reduce the stable radical and 1mg/ml of essential oil had the highest antiradical activity (0.113 mg/ml ascorbic acid equivalent). Oven test revealed that 500 and 1000 ppm of essential oil had the higher activity than TBHQ in 200 ppm in frying oil.

Conclusion: The results indicated that *F. gummosa* had high total phenolic content. Also, according to these results, there was a relationship between total phenolic content and antioxidant activity. The findings of this study showed that *F. Gummosa* essential oil can exhibit strong antioxidant activity, probably due to its particular chemical composition, mainly the high amounts of monoterpenes. Therefore, this essential oil could be used for the preservation of edible oil against oxidation and for increasing its shelf life as a natural preservative ingredient.

Keywords: Essential Oil, *Ferula gummosa* Boiss, Antioxidant, DPPH, GC/MS