نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۶ شماره ۴/ سال ۱۳۹۵

اثر اسانس برگ کرفس کوهی بر پایداری اکسایشی روغن سویا

محدثه قزل سفلو[۱] و سیده زهرا سیدالنگی*[۲]

تاریخ دریافت: ۹٤/٦/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱/۲۳

[۱] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه مهندسی شیمی-صنایع غذایی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران.
[۲] دانشیار گروه شیمی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران
* مسئول مکاتبه: Email:zalangi@gmail.com

چکیده

کرفس کوهی با نام علمی (*Kelussia odoratissima Mozaffarian*) یکی از گیاهان دارویی است که دارای خواص کاهش فشارخون، روماتیسم و بیماری‌های عصبی، جلوگیری از تولید سنگ کلیه و مثانه، تمیز کردن مجاری ادرار می‌باشد. در این پژوهش، میزان ترکیبات فنولی کل اسانس برگ گیاه کرفس کوهی اندازه‌گیری گردید. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه کرفس کوهی در غلظت‌های ۱۰۰-۱۰ پی‌پی‌ام با روش‌های مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، قدرت احیاء کنندگی یون‌های آهن سه ظرفیتی، رنگبری بتاکاروتن و تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل مورد بررسی قرار گرفت و با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA مقایسه شد. در تمامی آزمون‌ها بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسانس به همراه آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA اختصاص یافت. همچنین، اثر غلظت‌های مختلف اسانس در به تأخیر انداختن اکسیداسیون روغن سویا با اندازه‌گیری عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید به‌عنوان شاخص مهار اکسیداسیون مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمون اندیس پراکسید و تیوباربیتوریک اسید نشان داد که با گذشت زمان، غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسانس به خوبی توانست اکسیداسیون را کنترل کند. بنابراین، اسانس کرفس کوهی می‌تواند به‌عنوان منبعی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی برای جلوگیری از اکسیداسیون روغن‌ها و غذاهای حاوی روغن باشد.

واژگان کلیدی: اسانس، برگ کرفس کوهی، روغن سویا، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

مقدمه

اکسیداسیون چربی‌های غیراشباع به واسطه رادیکال‌های آزاد یکی از دلایل اصلی کاهش کیفیت مواد غذایی به‌ویژه روغن‌ها و چربی‌ها می‌باشد (زانگ و همکاران ۲۰۱۰؛ بین و همکاران ۱۹۹۷). حضور مقادیر زیادی از اسیدهای چرب غیراشباع نظیر اسید لینولئیک و اسید لینولنیک در چربی‌ها و روغن‌ها، آن‌ها را بیشتر نسبت به اکسیداسیون حساس می‌سازد (مهدالی و همکاران ۲۰۱۱). این مشکل زمانی افزایش می‌یابد که روغن‌ها در معرض عواملی مثل اکسیژن، نور، دمای بالا یا فلزات مثل آهن و مس قرار گیرد (جبلی جوان ۱۳۸۸). با اکسیداسیون آن‌ها نه تنها طعم و بوی ماده غذایی عوض می‌شود بلکه این روند موجب بد رنگ شدن ماده غذایی و در نهایت فساد آن می‌شود (کامکار ۱۳۸۸).

روغن سویا یکی از روغن‌های گیاهی شاخص است که اهمیت آن به دلیل فراوانی، ارزانی و کیفیت خوب آن است. در ضمن به دلیل وجود مقدار به نسبت زیاد اسیدهای چرب غیراشباع در این روغن، پایداری آن در برابر اکسیداسیون کم بوده و مستعد اکسیداسیون می‌باشد. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که گسترش بد طعمی و فساد روغن‌ها و چربی‌ها را با توسعه زمان پایداری به تأخیر می‌اندازد (یانیشلیوا- ماسلاروا ۲۰۰۱). با توجه به مشکلات و اثرات جانبی نامطلوب ناشی از مصرف آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی از جمله اثرات سمی آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی نظیر آسیب کبدی و ایجاد سرطان، بیماری‌های قلبی و عروقی، دیابت (بازکرت ۲۰۰٦؛ اکتای و همکاران ۲۰۰۳ ؛ ضیااور و همکاران ۲۰۰٤) و تصلب شرایین در حیوانات آزمایشگاهی از یک طرف و استقبال مصرف‌کنندگان از مواد افزودنی طبیعی از جانب دیگر، تمایل به استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی را بیشتر نموده است، به عبارتی جهان در حال آزمایش کردن یک‌روند «مصرف سبز» می‌باشد. به همین دلیل نیز تحقیقات گسترده‌ای در زمینه دستیابی به ترکیب‌های گیاهی به‌عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و تدوین دانش فنی کاربرد آن‌ها در مواد غذایی مختلف در سطح جهان انجام می‌گیرد (مارتینز- تام ۲۰۰۱). این آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیبات پلی فنلی هستند که در تمام گیاهان و تمام قسمت‌های آن‌ها از قبیل برگ، ساقه، میوه، ریشه، بذر و غیره یافت می‌شوند (کامکار و همکاران ۱۳۸۹ و ایتو و همکاران ۱۹۸۳). آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی که بیشترین استفاده را در صنعت غذا دارند شامل TBHQ، BHA، BHT و پروپیل گالات بوده که سرطان‌زایی و اثرات منفی این ترکیب‌ها بر سلامتی انسان در تحقیقات متعدد نشان داده شده است (کاهل و کاپوس ۱۹۹۳؛ نامیکی ۱۹۹۰). بنابراین، امروزه استفاده از گروه وسیعی از گیاهان دارویی و ترکیب‌های آروماتیک آن‌ها به‌عنوان منابع طبیعی که دارای خاصیت ضداکسیداسیونی هستند، مورد توجه محققین قرار گرفته است (کولیسیک و همکاران ۲۰۰٤).

گیاه کرفس کوهی (*Apium graveolens L.*) با نام علمی (*Kelussia odoratissima Mozaffarian*) متعلق به خانواده چتریان می‌باشد. نام محلی آن کلوس بوده و یکی از گیاهان مرتعی و بومی ایران می‌باشد. مهمترین رویشگاه‌های این گیاه در جنوب غربی ایران و در ارتفاعات بختیاری می‌باشد (مظفریان ۱۳۷۷). خاستگاه دیگر این گیاه جنوب اروپا می‌باشد، که برای اولین بار تنها برای مصارف پزشکی مورد استفاده قرار گرفت و در قرن هفدهم در ایتالیا، فرانسه، انگلستان به‌عنوان غذا شروع به کشت داده شد. کرفس کوهی خواص دارویی و خوراکی دارد. از اثرهای دارویی آن می‌توان به اثر ضد درد، ضدالتهاب، آرام‌بخش و ضدسرفه اشاره کرد. فلاونوئیدها به‌عنوان بخشی مهمی از ترکیب‌های این گیاه دارویی بوده که دارای اثر ضدالتهابی، ضدویروس و ضد دیابت هستند و به‌طور عمده در بذر و ساقه گل آذین گیاه تجمع می‌یابند . فتالیدها گروه دیگری از ترکیب‌های مؤثر این گیاه هستند که آن را به صورت مکمل غذایی و به‌عنوان عامل پیشگیری کننده شیمیایی از سرطان و زخم معده مطرح می‌کنند. فتالیدها به‌طور عمده در بذر کلوس یافت می‌شوند. مردم و جوامع محلی از بذر و ریشه گیاه به صورت جوشانده برای درمان سرماخوردگی و سرفه‌های شدید استفاده می‌کنند. همچنین در کاهش فشارخون، روماتیسم، بیماری‌های عصبی، جلوگیری از سنگ کلیه و مثانه و تمیز کردن مجاری ادرار مؤثر است (جابرالانصار ۱۳۸٤؛ ایروانی و جابرالانصار ۱۳۸٤). اسانس گیاه کرفس کوهی شامل ترکیب‌های سیس- لیگوستیلید ، ۳- ترانس- بوتیلیدن فتالید، ترانس-لیگوستیلید، اکسان، اسپاتولنول، ۲- اکتن – ۱- ال استات گلوبولول، بوتیل فتالید، بتا-سلنین و پنتیل بنزن می‌باشد (سلیمی و همکاران ۲۰۱۰؛ هاشمی و همکاران ۲۰۱۲). در تحقیقی مشرقی و همکاران (۱۳۹۳)

ترکیبات مؤثره و اثرات ضد باکتریایی اسانس کرفس کوهی بر برخی از پاتوژنهای مواد غذایی را بررسی کردند. سعیدی و امیدبیگی (۲۰۰۹) میزان و ترکیب اسیدهای چرب، مواد فنولیکی کل و اسانس بذر گیاه دارویی کلوس را مورد بررسی قرار دادند. احمدی و همکاران (۲۰۰۷) فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی کرفس کوهی را در روغن آفتابگردان مورد بررسی قرار دادند. در تحقیقی دیگر شاکریان و همکاران (۱۳۹۱) تحت عنوان اثر اسانس و پودر کرفس بر خواص حسی و ماندگاری ماست پرداختند. با توجه به اینکه امروزه این گیاه در کشورمان در حال کشت است و با در نظر گرفتن اهمیت داروئی این گیاه، در این مطالعه اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس کرفس کوهی بر پایداری روغن سویا مورد مطالعه قرار گرفت. این مطالعه می‌تواند مقدمه‌ای جهت استفاده از اسانس این گیاه به‌عنوان جایگزین یا مکمل آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک باشد و در نهایت هم به شناخته شدن گیاه کرفس کمک کرده و هم راه را برای تحقیقات آینده هموار سازد و نیز گامی در جهت بهداشت و اعتلای ایمنی غذایی جامعه برداشته شود.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی

تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت مرک (آلمان) و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA از شرکت سیگما آلدریچ (آمریکا) خریداری شد. روغن سویا خالص تصفیه شده و عاری از هرگونه آنتی‌اکسیدان سنتزی از کارخانه گیتا طلایی واقع در علی‌آباد کتول خریداری گردید.

آماده‌سازی نمونه و استخراج اسانس

برگ گیاه کرفس کوهی (*Apium graveolens L.*) در اواخر اردیبهشت ۱۳۹۲ از منطقه خوانسار اصفهان تهیه شد. بعد از تمیز نمودن و خشک‌کردن در آون با دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد، با استفاده از آسیاب پودر شده و از الک با مش ٤٠ عبور داده شد. در نهایت در بسته‌های مقاوم به هوا و رطوبت بسته‌بندی شده و تا انجام آزمایشات بعدی در فریزر ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. برای اسانس گیری، ۳٦۰ گرم از برگ کرفس کوهی در آب مقطر به نسبت ۱ به ۱۰ (وزنی- حجمی) ریخته شده و به روش تقطیر در آب توسط دستگاه کلونجر به مدت ٦ ساعت مورد اسانس گیری قرار گرفت. اسانس روغنی حاصله در معرض سولفات سدیم بدون آب خشک و تا زمان استفاده در ظرف سربسته و غیرقابل نفوذ به هوا در دمای ٤- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد.

اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل اسانس

میزان کل ترکیبات فنولی موجود در اسانس به روش فولین-سیوکالته اندازه‌گیری شد (عربشاهی و اروج ۲۰۰۷). جهت رسم منحنی استاندارد از اسید گالیک استفاده شد. میزان کل ترکیبات فنولی موجود در اسانس بر حسب اسید گالیک و با استفاده از معادله به دست آمده از منحنی استاندارد محاسبه و نتایج بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک در هر گرم اسانس بیان شد. آزمایش‌ها در سه تکرار انجام و میانگین آن‌ها گزارش شد.

آزمون‌های ارزیابی آنتی‌اکسیدانی اسانس برگ کرفس کوهی

توانایی مهار رادیکال آزاد به روش شیمادا و همکاران (۱۹۹۲)، توانایی اسانس برای احیاء آهن سه ظرفیتی توسط روش یلدریم و همکاران (۲۰۰۱)، آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن به روش ژانگ و همکاران (۲۰۰٦) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل اسانس، به روش پرایتو و همکاران (۱۹۹۹) اندازه‌گیری شد.

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس در روغن سویا

اسانس برگ گیاه کرفس کوهی در محدوده غلظت‌های ۱۰۰-۱۰ پی‌پی‌ام و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA با غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام به روغن سویا بدون آنتی‌اکسیدان اضافه

شدند. سپس نمونه‌ها به همراه نمونه کنترل (روغن سویا بدون افزودن اسانس و یا آنتی‌اکسیدان سنتزی) برای مدت معینی در دمای ٦٠ درجه سانتی گراد قرار داده شد. روزهای ۰، ۲، ٤، ٦، ۸، ۱۰ و ۱۲ عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید نمونه‌های روغن اندازه‌گیری شد (AOAC، ۱۹۹۰).

روش آماری، روش تجزیه و تحلیل و شیوه نمونه‌برداری

تجزیه و تحلیل نتایج مربوط به آزمون‌های شیمیایی در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت و مقایسه‌ی میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها در سه تکرار و با استفاده از نرم افزار SPSS۱۹ و رسم نمودارها با نرم‌افزار EXCEL انجام گرفت.

نتایج و بحث

بازده اسانس گیری و محتوای فنولی کل اسانس

بازده اسانس گیری معادل ۷/٤ در صد حجمی–وزنی بود. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بیشتر در گیاهانی موجود می‌باشند که حاوی ترکیبات فنلی هستند (هاتانو و همکاران ۱۹۸۹). در مطالعات مختلف مقادیر متفاوتی برای میزان ترکیبات فنولی استخراج شده توسط حلال‌های مختلف ارائه شده است .این مقادیر مختلف استخراج به نوع گیاه و منطقه‌ای که در آن کشت شده و شرایط استخراج بستگی دارد. مقدار کل ترکیبات فنولی اسانس برگ کرفس کوهی ١٦٨/٢ (میلی‌گرم معادل اسید گالیک در هر ۱۰۰ میلی‌گرم اسانس) به دست آمد. احمدی و همکاران (۲۰۰۷) مقدار ترکیبات فنولیک عصاره متانولی کرفس کوهی را $1/03\ mg\ TAE\ g^{-1}$ ماده خشک به دست آوردند که این مقدار از مقدار ترکیب فنولی تحقیق ما کمتر می‌باشد. سعیدی و امیدبیگی (۲۰۰۹) میزان کل مواد فنولیکی و میزان اسانس بذر گیاه دارویی کلوس را به ترتیب mg GAE/g DW ۲۸۸/۱۵ و ۱/۲ به دست آوردند. قاهری قهفرخی و همکاران (۱۳۹۰) میزان توتال فنول عصاره اتانولی مورد را mg GAE/g ۲۰۸/۲۱ به دست آوردند. نتایج آنها متفاوت با تحقیق حاضر بوده که تایید کننده تاثیر نوع گیاه در میزان ترکیبات فنولی می‌باشد.

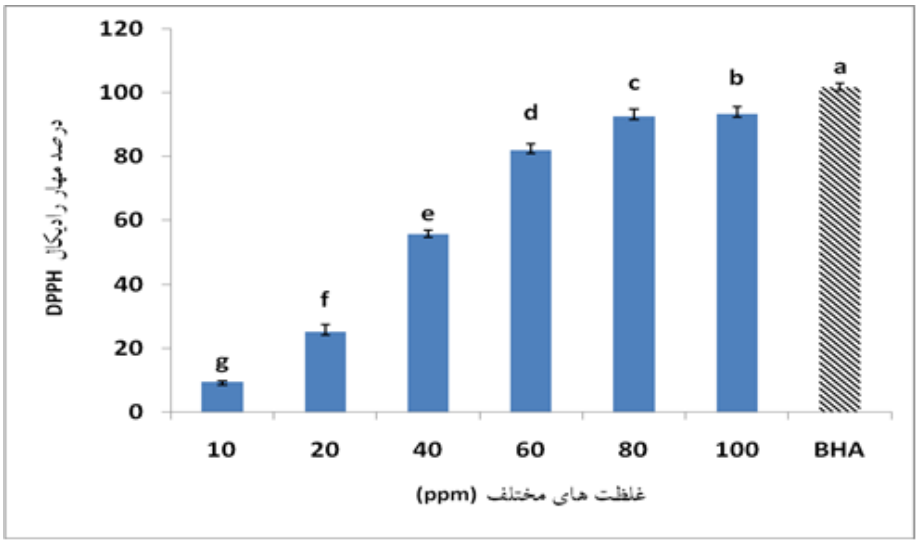
ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس برگ گیاه کرفس کوهی

از آنجا که اسانس‌های گیاهی مخلوط پیچیده‌ای از ترکیباتی با خصوصیات شیمیایی، قطبیت و گروه‌های عملکردی متفاوت می‌باشند، نتایج مربوط به تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های گیاهی ممکن است بسته به شرایط آزمون مورد استفاده متفاوت باشند. معمولاً از چند روش برای بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی بهره می‌برند، تا معایب روش‌های مختلف پوشانده شود (اولیویرا و همکاران ۲۰۰۹). در این پژوهش، از چهار آزمون تعیین مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، قدرت احیاء کنندگی یون‌های آهن سه ظرفیتی، روش بی‌رنگ شدن بتا کاروتن–لینولئیک اسید و تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل جهت ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف اسانس برگ گیاه کرفس کوهی در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA استفاده شد.

توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH

نتایج آنالیز واریانس نشان داد بین مهار رادیکال‌های آزاد DPPH غلظت‌های مختلف اسانس و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA، اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P<0/05$). شکل ۱ نشانگر افزایش میزان مهار رادیکال $DPPH^{\bullet}$، با افزایش غلظت اسانس می‌باشد، به‌طوری که بالاترین درصد به دام اندازی رادیکال آزاد در غلظت ۱۰۰پی‌پی‌ام و پایین‌ترین درصد در غلظت ۱۰ پی‌پی‌ام اسانس به دست آمد. میزان فعالیت گیرندگی رادیکال آزاد $DPPH^{\bullet}$ غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسانس کرفس کوهی کمی کمتر از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA و نزدیک به یکدیگر بود (شکل ۱). جهت بررسی بهتر فعالیت آنتی‌اکسیدانی از فاکتور IC_{50} استفاده شد که بیانگر درصدی از اسانس یا عصاره است که قادر است ۵۰

درصد از مهار رادیکال آزاد DPPH• اولیه موجود در محیط را خنثی کند. بدیهی است هرچه میزان این عدد کوچکتر باشد، قدرت آنتی‌اکسیدانی اسانس یا عصاره بیشتر می‌باشد. در این مطالعه، مقدار IC_{50} اسانس، ۱۳۹/۳ µg/ml بود که نشان می‌دهد قدرت مهار رادیکال آزاد اسانس ۱/۲ برابر بیشتر نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA (IC_{50}=µ٦/١٦٥g/ml) می‌باشد. بالاتر بودن فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH را می‌توان به محتوای فنولی و فلاونوئیدی اسانس و عصاره‌ها نسبت داد. در کل، افزایش غلظت ترکیبات فنولی بطور مستقیم میزان توانایی اسانس و عصاره‌های مختلف را در مهار رایکال آزاد افزایش می‌دهد. در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنولی، به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی اسانس افزایش می‌یابد. فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد توسط فلاونوئیدها به حضور گروه‌های هیدروکسیل آزاد وابسته است (شریفی فر و همکاران ۲۰۰۹) . احمدی و همکاران (۲۰۰۷) فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی کرفس کوهی را با چهار آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH، رنگبری بتاکاروتن-لینولئیک اسید، قدرت احیاکنندگی آهن (III) و روش تیوسیانات اندازه‌گیری کرده و با آنتی‌اکسیدان‌های α-توکوفرول، آسکوربیک اسید و BHT مورد مقایسه قرار دادند. آنها در آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH دریافتند درصد مهار رادیکال آزاد DPPH عصاره متانولی کرفس کوهی از BHT بیشتر و از آسکوربیک اسید کمتر است. همچنین در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ پی پی‌ام با α-توکوفرول دارای اختلاف معنی دار نمی‌باشد و در غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ مهار رادیکال آزاد آن از α-توکوفرول بیشتر است. نهایتاً دریافتند که با افزایش غلظت عصاره متانولی کرفس کوهی درصد مهار رادیکال آزاد افزایش می‌یابد. نتایج آنها با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. عیوقی و همکاران (۱۳۸۸) فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس شوید را با دو آزمون رادیکال ۲،۲'-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل و سامانه‌ی بتاکاروتن / لینولئیک اسید مورد بررسی قرار دادند. در آزمون مهار رادیکال آزاد مقدار DPPH، مقدار IC_{50} اسانس شوید mg/ml ۲/۵۷±۱/۵۲ و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT mg/ml ۰/۰۰۱ ±۰/۰۳۸ گزارش شد.



شکل ۱- مقایسه میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف اسانس گیاه کرفس کوهی در آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH و آنتی‌اکسیدان سنتزیBHA

قدرت احیاء کنندگی

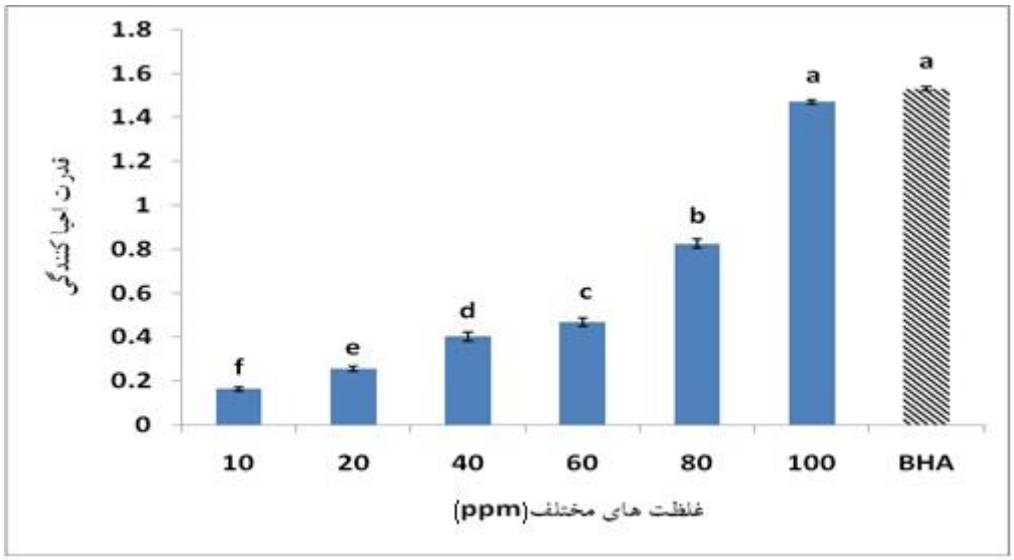
قدرت احیاکنندگی اسانس‌های گیاهی عمدتاً مربوط به حضور عوامل احیاکننده‌ای است که قادرند از طریق اهدای الکترون و یا اتم هیدروژن به رادیکال‌های آزاد، تبدیل آن‌ها به فرم‌های غیر رادیکالی پایدار و در نهایت پایان دادن به واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکالی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کنند (باریرا و همکاران ۲۰۰۸). در آزمون قدرت احیاکنندگی یون آهن (III) ضمن احیای یون‌های آهن سه ظرفیتی و تبدیل کمپلکس فری سیانید به فرم فروس توسط ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (ردوکتآن‌ها)، رنگ زرد محلول متناسب با قدرت احیا کنندگی هر یک از غلظت‌های اسانس مورد بررسی به درجاتی از رنگ سبز-آبی تبدیل می‌شود. غلظت یون‌های آهن سه ظرفیتی تشکیل شده در محلول، از طریق اندازه‌گیری میزان جذب در طول موج ۷۰۰ نانومتر تعیین می‌گردد. مقادیر جذب بالاتر، نشان دهنده قدرت احیاء کنندگی بالاتر یون آهن (III) می‌باشد (زو و همکاران ۲۰۰٤). نتایج آنالیز واریانس نشان داد بین قدرت احیا کنندگی یون آهن (III) غلظت‌های مختلف اسانس و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA ، اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P<۰/۰۵$) و متناسب با افزایش غلظت ترکیبات فنولی در هر یک از تیمارها قدرت احیاء کنندگی اسانس افزایش می‌یابد (شکل ۲). طبق شکل ۲ کمترین قدرت احیاکنندگی آهن (III) مربوط به غلظت ۱۰ پی‌پی‌ام و بیشترین قدرت احیا کنندگی مربوط به غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسانس گیاه کرفس کوهی می‌باشد. البته قدرت احیاکنندگی آهن (III) غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسانس و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($P<۰/۰۵$). بنابراین در این آزمون غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسانس قابل رقابت با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHAمی‌باشد. فاکتور IC_{50} در این روش عبارت است از غلظتی از اسانس که جذب آن در ۷۰۰ نانومتر معادل ۰/۵ است. هرچه این غلظت کمتر باشد، نشان دهنده این است که اسانس مورد نظر فعالیت احیاکنندگی بیشتری دارد. در این مطالعه، مقدار IC_{50} اسانس، ۳٦٥/۱ µg/ml بود که در مقایسه با قدرت احیاکنندگی توسط آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA (IC_{50}=µ٦٣/٣٧٥g/ml) ۱/۰۳ برابر بیشتر می‌باشد.

در برخی تحقیقات انجام شده در زمینه تعیین قدرت احیاکنندگی اسانس و عصاره‌های گیاهی، همبستگی بالایی میان محتوی ترکیبات فنولی و قدرت احیاکنندگی اسانس و عصاره‌ها مشاهده شده است (هینبرگ و همکاران۲۰۰٦ و کالوگرپلوس و همکاران ۲۰۰۹). این محققین، حضور مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی را به‌عنوان عوامل احیاءکننده در اسانس و عصاره‌های گیاهی، عامل اصلی در بالا بودن قدرت احیاکنندگی اسانس و عصاره‌ها دانسته‌اند. قادری قهفرخی و همکاران (۱۳۹۰) نشان دادند با افزایش غلظت عصاره موره و افزایش محتوی ترکیبات فنولی میزان قدرت احیاکنندگی آهن افزایش می‌یابد. احمدی و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند قدرت احیاکنندگی عصاره متانولی کرفس کوهی متناسب با افزایش غلظت و افزایش ترکیبات فنولی افزایش یافت. یافته‌ها با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد.

بی‌رنگ شدن بتاکاروتن- لینولئیک اسید

اسیدهای چرب غیراشباع از جمله لینولئیک اسید در برابر روند اکسیداسیون بسیار حساس می‌باشد. لذا، مهار اکسیداسیون این ماده به‌عنوان یک روش با ارزش در تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این روش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، با میزان مهار اکسیداسیون لینولئیک اسید و جلوگیری از ایجاد ترکیبات فرار و هیدرو پراکسیدهای کونژوگه، مورد سنجش قرار می‌گیرد. به این صورت که مواد ناشی از اکسیداسیون اسید لینولئیک با بتاکاروتن برهم‌کنش داده و سبب کاهش رنگ شده و در نتیجه میزان جذب در طول موج ٤٧٠ نانومتر کاهش می‌یابد. در این آزمون، قدرت رنگبری غلظت‌های ۱۰۰-۱۰ پی‌پی‌ام اسانس به‌عنوان شاخصی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی مورد

ارزیابی قرار گرفت و با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA با غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام مقایسه شد. نتایج حاصل (شکل ۳) نشان داد از نظر مقدار رنگبری بتاکاروتن، بین غلظت‌های مختلف اسانس و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA اختلاف معنی دار وجود دارد ($P<۰/۰۵$). با افزایش غلظت اسانس، مقدار رنگبری بتا کاروتن نیز افزایش یافت. کمترین مقدار رنگبری بتا کاروتن مربوط به غلظت ۱۰ پی‌پی‌ام و بیشترین حد رنگبری میزان رنگبری بتاکاروتن- لینوئیک اسید مربوط به غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسانس کرفس کوهی می‌باشد. میزان رنگبری غلظت ۱۰۰ پی پی ام اسانس و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($P<۰/۰۵$). بنابراین فعالیت آنتی‌اکسیدانی غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسانس نزدیک به آنتی‌اکسیدان سنتزیBHA می‌باشد. فاکتور IC_{50} در این روش عبارت است از غلظتی از اسانس که جذب آن در ٤٧٠ نانومتر معادل ۰/۵ است. هرچه این غلظت کمتر باشد، نشان دهنده این است که اسانس مورد نظر میزان رنگبری بتاکاروتن- لینوئیک اسید بیشتری دارد. در این مطالعه، مقدار IC_{50} اسانس، ۵۰۸/۲۰ µg/ml بود که در مقایسه با میزان رنگبری بتاکاروتن- لینوئیک اسید توسط آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA (IC_{50}=µ۳٦/٥٨٩g/ml) ۱/۱٦ برابر بیشتر می‌باشد. احمدی و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی، قدرت رنگبری بتاکاروتن عصاره متانولی کرفس کوهی را با BHT، α-توکو فرول و آسکوربیک اسید مقایسه نمودند. در آن تحقیق قدرت رنگبری، آسکوربیک اسید< α-توکوفرول <عصاره گیاهی <BHT به دست آمد و متناسب با افزایش زمان و غلظت، قدرت رنگبری افزایش یافت. حضور مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی را می‌توان به‌عنوان عوامل احیاءکننده در اسانس و عصاره‌های گیاهی دانست. یافته‌های محققین با نتایج حاضر همخوانی دارد.



شکل ۲- مقایسه میانگین قدرت احیا کنندگی یون آهن (III) غلظت‌های مختلف اسانس برگ کرفس کوهی و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل

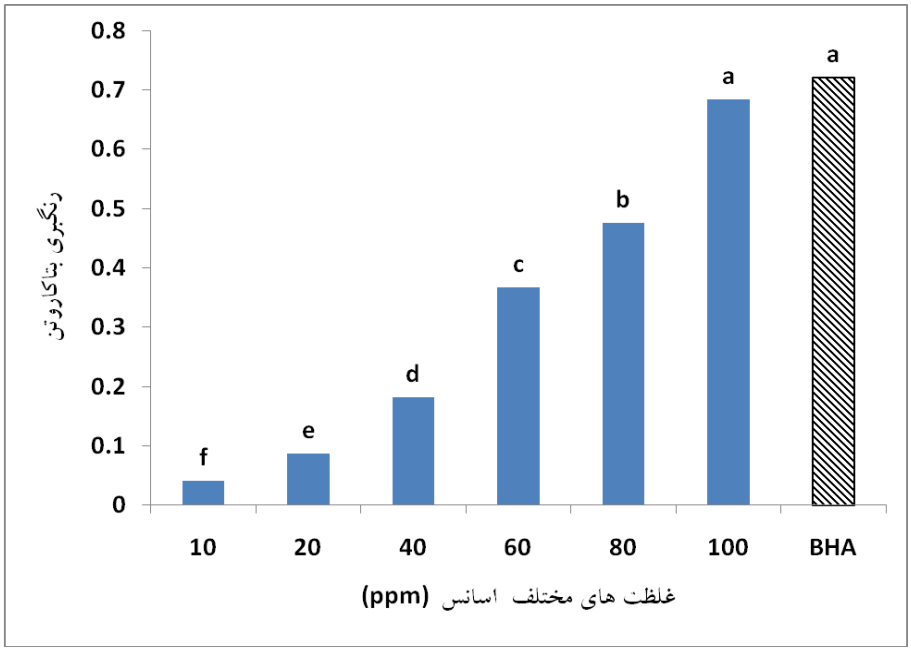
گستره غلظت اسانس مورد استفاده در این آزمون نیز ۱۰-۱۰۰ پی‌پی‌ام بود و نتایج با فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA با غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام مقایسه شد. نتایج نشان داد با افزایش غلظت اسانس، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل نیز به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) افزایش یافت (شکل ٤). فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسانس و آنتی‌اکسیدان سنتزی

BHA یکسان بود. در این آزمون نیز مقادیر IC_{50} برای اسانس و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA محاسبه و با یکدیگر مقایسه شدند. مقادیر IC_{50} اسانس mg/ml ۶۱۱/۱ و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA mg/ml ۶۰۱/۱۰ به دست آمد که می‌توان گفت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل اسانس و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA نزدیک به یکدیگر بوده و خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس قابل رقابت با آنتی‌اکسیدان سنتزی می‌باشد. در نتیجه اسانس توانایی خوبی در الکترون دهی داشته و می‌تواند به‌عنوان پایان دهنده زنجیره الکترون عمل نموده و گونه‌های فعال رادیکال آزاد را به انواع غیر رادیکالی پایدارتر تبدیل کنند. راگو و همکاران (۲۰۱۱) بیان نمودند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان مختلف متفاوت است و این تفاوت ممکن است به دلیل تفاوت ساختاری ترکیبات فنولی، یا الگوی هیدروکسیلاسیون و متیلاسیون آنها باشد. اسانس و عصاره‌های گیاهی ممکن است حاوی سایر ترکیبات آنتی‌اکسیدان مانند پروتئین‌ها، آسکوربات، بتاکاروتن، آلفاتوکوفرول و ... باشند که در افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل نقش دارند. نتایج به دست آمده توسط عربشاهی وعروج (۲۰۰۷)، قادری قهفرخی و همکاران (۱۳۹۰)، ساحرین و همکاران (۲۰۱۰) و سان و همکاران (۲۰۱۱) از نظر وجود ارتباط بین مقدار ترکیبات فنولی عصاره‌ها و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنها، با نتایج حاصله در این پژوهش مطابقت داشت. این محققین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی اسانس و عصاره‌های گیاهی را با میزان بالای فنول‌ها و فلاونوئیدهای موجود در اسانس و عصاره‌ها مرتبط دانستند.

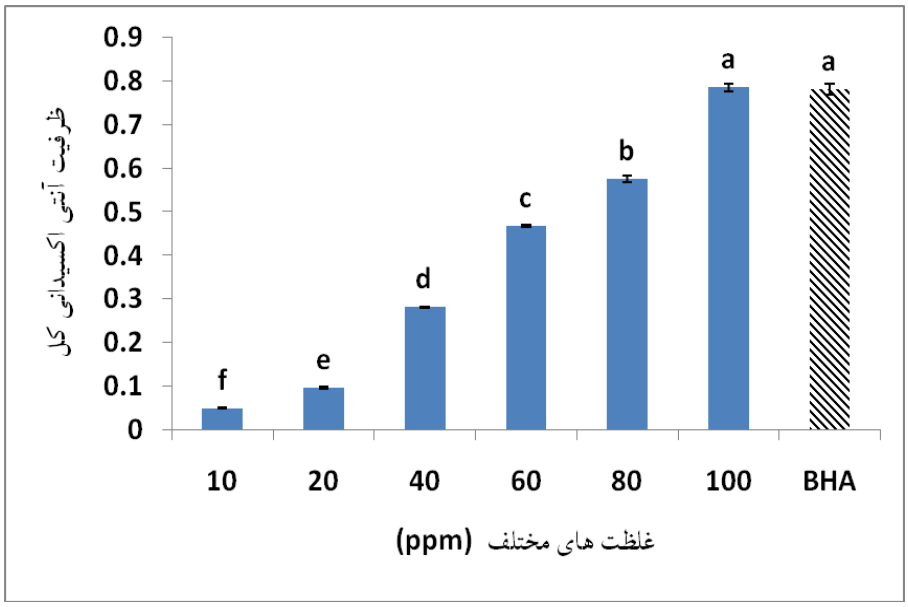
بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس در روغن سویا

عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید در نمونه‌های روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان که حاوی غلظت‌های مختلف اسانس و آنتی‌اکسیدان شیمیایی BHA بود به مدت۱۲ روز، در فواصل زمانی ۲ روز، در دمای اکسیداسیون تسریع شده (۶۳ درجه سانتی‌گراد) مورد بررسی قرار گرفت. پراکسید محصول اولیه‌ی اکسیداسیون مواد چرب است .عدد تیوباربیتوریک اسید بیانگر مراحل ثانویه‌ی اکسیداسیون است که سبب ایجاد طعم بد در روغن اکسید شده می‌شود.

تغییرات در عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید در روغن سویا در همه‌ی نمونه‌های حاوی اسانس و BHA به ترتیب در جداول ۱ و ۲ دیده می‌شود. با بررسی و کنترل تغییرات پراکسید و تیوباربیتوریک اسید می‌توان این‌گونه استنباط کرد که سرعت اکسیداسیون در نمونه‌ی کنترل بالاترین مقدار را دارد، بنابراین تمامی نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان در برابر اکسیداسیون پایدارتر از نمونه‌ی کنترل می‌باشند. تمامی نمونه‌های مورد بررسی از نظر عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اختلاف معناداری با نمونه شاهد داشتند. اثر غلظت نیز در مهار اکسیداسیون معنادار بوده و با افزایش غلظت در اسانس، اکسیداسیون بیشتر به تأخیر افتاد. به‌طوریکه در تمامی روزهای نگه‌داری، کمترین میزان اندیس پراکسید و تیوباربیتوریک اسید در غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسانس نسبت به غلظت‌های دیگر آن دیده شد (جداول ۱ و۲). بنابراین غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسانس برگ کرفس کوهی کارایی خوبی در مهار اکسیداسیون روغن سویا در شرایط تسریع یافته دارد.



شکل ۳- **مقایسه میانگین رنگبری بتاکاروتن در غلظت‌های مختلف اسانس برگ گیاه کرفس کوهی و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA**



شکل ۴- مقایسه میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در غلظت‌های مختلف اسانس برگ گیاه کرفس کوهی و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA

زیرا با افزایش غلظت مقدار ترکیبات فنولی افزایش یافته که منجر به گروه‌های فعال برای مهار رادیکال آزاد می‌گردد. تشکیل مالون‌دی‌آلدهید به مانند پراکسید، در همه نمونه‌ها با گذشت زمان افزایش یافت.

آنتی‌اکسیدان‌ها طی مدت زمان خاصی فعال باقی‌مانده و با گذشت زمان به تدریج از درجه تأثیر آن‌ها کاسته می‌شود که دلیل آن می‌تواند نگه‌داشتن نمونه‌ها در شرایط اکسیداسیون و حرارت باشد. به همین خاطر با

افزایش زمان نگه‌داری نمونه‌های روغن در شرایط اکسیداسیون، میزان عدد پراکسید و اندیس تیوباربیتوریک اسید افزایش یافت. بنابراین، افزودن اسانس در تمامی سطوح اختلاف معنی‌داری با نمونه کنترل داشته و می‌تواند به‌خوبی از اکسیداسیون روغن سویا جلوگیری کند. در روزهای پایانی سرعت تشکیل محصولات اولیه اکسیداسیون کاهش یافت. احتمالاً بخشی از هیدروپراکسیدهای تشکیل شده در مرحله‌ی انتشار شروع به تجزیه شدن نموده و به محصولات ثانویه‌ی اکسیداسیون نظیر آلدئیدها و کتون‌ها تبدیل‌شده‌اند. بالاتر بودن سرعت تشکیل عدد تیوباربیتوریک اسید از روز هشتم به بعد آزمایش، کاهش مشاهده شده در سرعت تشکیل هیدروپراکسیدها را تصدیق می‌نماید. احمدی و همکاران (۲۰۰۷) اثر عصاره متانولی کرفس کوهی را به تأخیر انداختن اکسیداسیون روغن آفتابگردان مورد بررسی قرار دادند. طبق نتایج آنها تیمار حاوی غلظت بیشتر عصاره به همراه آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT، کمترین عدد پراکسید را روزهای مختلف از خود نشان داد. همچنین نتایج سینگ و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس برگ دارچین، شهسواری و همکاران (۲۰۰۸) در ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس *Zataria multiflora* و عیوقی و همکاران (۱۳۸۸) در بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس شوید در روغن سویا، با نتایج این پژوهش همسو بود.

جدول ۱- تغییرات روزانه مقادیر پراکسید در غلظت‌های مختلف اسانس کرفس کوهی و آنتی‌اکسیدان سنتزیBHA

تیمارها / روزها	BHA	غلظت ۱۰۰	غلظت ۸۰	غلظت ۶۰	غلظت ۴۰	غلظت ۲۰	شاهد
روز صفر	۱۴/۰±۰۶/۰۴^{e}	۱۵/۰±۱۰/۱۰^{f}	۱۵/۰±۳۳/۱۴^{f}	۱۶/۰±۵۶/۴۶^{f}	۱۶/۲±۷۲/۷۲^{g}	۱۷/۲±۷۱/۱۰^{g}	۱۰/۲±۴۳/۱۵^{g}
روز دوم	۱۵/۰±۶۸/۰۸^{e}	۱۶/۰±۰۲/۰۷^{f}	۱۶/۰±۴۱/۰۸^{f}	۱۷/۰±۵۳/۰۱۴^{f}	۲۱/۰±۳۲/۰۰۷^{f}	۲۲/۰±۳۱/۰۰۷^{f}	۱۶/۰±۵۴/۰۲^{f}
روز چهارم	۳۵/۰±۳۸/۰۲^{d}	۳۲/۰±۳۰/۰۷^{e}	۳۸/۰±۳۷/۰۷^{e}	۳۹/۰±۲۲/۰۰۷^{e}	۵۴/۰±۴۱/۰۰۷^{e}	۵۵/۰±۴۰/۰۰۷^{e}	۳۸/۰±۷۲/۷۱^{e}
روز ششم	۴۴/۱۲±۰۲/۳۱^{d}	۵۸/۰±۰۸/۳۸^{d}	۶۳/۴±۱۲/۳۸^{d}	۶۷/۴±۰۱/۰۰۷^{d}	۸۲/۴±۹۰/۰۰۷^{d}	۸۳/۴±۸۹/۰۰۷^{d}	۶۱/۱±۰۸/۶۶^{d}
روز هشتم	۷۷/۰±۴۰/۲۷^{c}	۹۱/۰±۵۰/۲۳^{c}	۱۰۰/۰±۸۵/۶۳^{c}	۱۰۱/۰±۶۵/۶۳^{c}	۱۲۵/۰±۷۵/۰۷^{c}	۱۲۶/۰±۷۴/۰۷^{c}	۸۰/۱±۴۹/۱۷^{c}
روز دهم	۸۸/۰±۶۰/۹۴^{b}	۱۰۵/۰±۶۰/۹۴^{b}	۱۱۱/۰±۶۴/۸۳^{b}	۱۱۵/۰±۸۷/۰۰^{b}	۱۶۱/۰±۲۰/۰۰^{b}	۱۶۲/۰±۱۹/۰۰^{b}	۹۸/۲±۱۵/۱۱^{b}
روز دوازدهم	۱۰۴/۰±۷۱/۲۱^{a}	۱۱۹/۱±۲۲/۱۰^{a}	۱۳۵/۴±۴۲/۱۰^{a}	۱۴۰/۴±۹۶/۰۲۱^{a}	۱۸۲/۰±۱۵/۳۵^{a}	۱۸۳/۰±۱۴/۳۵^{a}	۱۲۵/۵±۹۳/۱۰^{a}

حروف کوچک مقایسه بین ستون‌ها را نشان می‌دهد. حروف مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

جدول ۲- تغییرات روزانه مقادیر اعداد تیوباربیوتیک اسید در غلظت‌های مختلف اسانس کرفس کوهی و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA

تیمارها / روزها	شاهد	غلظت ۲۰	غلظت ۴۰	غلظت ۶۰	غلظت ۸۰	غلظت ۱۰۰	BHA
روز صفر	۰/۰±۱۷۵۰/۰۰۷^{d}	۰/۰±۱۶۶۰/۰۰۴^{d}	۰/۰±۱۷۱۵/۰۰۳^{c}	۰/۰±۱۶۳۵/۰۰۳^{d}	۰/۰±۱۴۵۰/۰۰^{e}	۰/۰±۱۴۲۵/۰۰۲^{f}	۰/۰±۱۱/۰۰۴^{g}
روز دوم	۰/۰±۱۴۵۰/۰۰۷^{e}	۰/۰±۱۳۵۰/۰۰۴^{e}	۰/۰±۱۷۷۵/۰۰۳^{c}	۰/۰±۱۶۸/۰۰۷^{d}	۰/۰±۱۶۶۰/۰۰۴^{d}	۰/۰±۱۵۸۵/۰۰۲^{e}	۰/۰±۱۷/۰۰۴^{e}
روز چهارم	۰/۰±۵۵۵۰/۰۰۷^{b}	۰/۰±۵۴۵۰/۰۰۴^{b}	۰/۰±۳۹۴۵/۰۰۳^{b}	۰/۰±۳۸۷۵/۰۰۲^{c}	۰/۰±۳۸۷۰/۰۰۴^{c}	۰/۰±۳۵۵۵/۰۰۲^{d}	۰/۰±۳۸/۰۰۴^{d}
روز ششم	۰/۰±۸۴۰۰/۰۰^{a}	۰/۰±۸۳۲۰/۰۰۴^{a}	۰/۰±۶۷۳۵/۰۰۳^{a}	۰/۰±۶۶۶۰/۰۰۴^{b}	۰/۰±۶۰۵۰/۰۰۴^{b}	۰/۰±۵۳۷۵/۰۰۲^{c}	۰/۰±۶۰/۰۰۴^{c}
روز هشتم	۰/۰±۱۳۵۰/۰۰۷^{e}	۰/۰±۱۲۸۰/۰۰۴^{e}	۰/۰±۱۰۴۵/۰۰۳^{f}	۰/۰±۹۹۸۵/۰۰۷^{a}	۰/۰±۹۹۴۰/۰۰۴^{a}	۰/۰±۷۷۷۵/۰۰۲^{b}	۰/۰±۷۹/۰۰۴^{b}
روز دهم	۰/۰±۱۷۵۰/۰۰۷^{d}	۰/۰±۱۶۴۰/۰۰۴^{d}	۰/۰±۱۱۷۵/۰۰۳^{e}	۰/۰±۱۰۷۵/۰۰۷^{f}	۰/۰±۱۰۶۰/۰۰۴^{g}	۰/۰±۸۸۶۵/۰۰۲^{a}	۰/۰±۹۷/۰۰۴^{a}
روز دوازدهم	۰/۰±۱۹۵۰/۰۰۷^{c}	۰/۰±۱۸۵۰/۰۰۴^{c}	۰/۰±۱۴۲۵/۰۰۳^{d}	۰/۰±۱۳۱۰/۰۰۱^{e}	۰/۰±۱۳۱۰/۰۰۴^{f}	۰/۰±۱۴۴۵/۰۰۲^{f}	۰/۰±۱۲/۰۰۴^{f}

حروف کوچک مقایسه بین ستون‌ها را نشان می‌دهد. حروف مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در این تحقیق مقدار ترکیبات فنولی اسانس برگ کرفس کوهی تعیین گردید. در بررسی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه کرفس کوهی با غلظت‌های ۱۰۰-۲۰ پی‌پی‌ام در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA با غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام، بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی با اندازه‌گیری مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، قدرت احیاء کنندگی یون‌های آهن سه ظرفیتی، رنگبری بتا کاروتن و تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل به غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسانس به همراه آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA اختصاص یافت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت‌های مختلف در روغن سویا توسط آزمون گرم‌خانه‌گذاری (اکسیداسیون تسریع یافته) مورد ارزیابی قرار گرفت و اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید به‌عنوان شاخص مهار اکسیداسیون اندازه‌گیری گردید. تمامی غلظت‌های اسانس باعث مهار اکسیداسیون گردید. بیشترین مهار اکسیداسیون اسانس در غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام مشاهده شد به‌طوریکه مهار اکسیداسیون ثانویه از آنتی‌اکسیدان سنتزیBHA نیز بیشتر بود. با توجه به اینکه هر چهار آزمون، خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس را تصدیق کرد، می‌توان نتیجه گرفت که اسانس کرفس کوهی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی، توانایی واکنش با رادیکال‌های حاصل از اکسیداسیون لیپیدها را داشته و موجب قطع واکنش‌های زنجیری و افزایش زمان اکسیداسیون کند و کاهش سرعت اکسیداسیون خودبه‌خودی می‌شود و می‌توان اسانس کرفس کوهی را به‌عنوان منبعی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی جایگزین آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA برای جلوگیری از اکسیداسیون روغن‌ها و غذاهای حاوی روغن استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر به خاطر مساعدت در انجام این تحقیق کمال تشکر و قدردانی را داریم.

منابع مورد استفاده

ایروانی م، جابرالانصار ز، ۱۳۸٤، کرفس کوهی گونه گیاهی در حال انقراض در منطقه زاگرس مرکزی. نشریه آموزشی-ترویجی، جمعیت حمایت از منابع طبیعی و محیط زیست (پیام سبز)، دانشگاه صنعتی اصفهان، ۳۹ صفحه.

جابرالانصار ز، ۱۳۸٤، بررسی تنوع ژنتیکی کرفس کوهی با استفاده از خصوصیات کروموزومی و صفات جوانه‌زنی بذر، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان.

جبلی جوان ا، ۱۳۸۸، تاثیر اسانس و عصاره گیاه پونه ایرانی (خالواش) بر شاخصه‌های پراکسیداسیون روغن آفتابگردان، پایان‌نامه دکتری تخصصی دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، رشته بهداشت و کنترل مواد غذائی.

شاکریان ا، سهرابی م ج، قاسمی ع، ۱۳۹۱، اثر اسانس و پودر کرفس بختیاری یا کلوس *(Kelussia odoratissma Mozaff.)* برخواص حسی و ماندگاری ماست، داروهای گیاهی، (۱)۳ ، ٤۸-٤۱.

عیوقی ف، برزگر بفرویی م، سحری م، نقدی بادی ح، ،۱۳۸۸، بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس شوید در روغن سویا و مقایسه آن با آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی، مجله گیاهان دارویی، ۳۰، ۷٤-۷۱.

قادری قهفرخی م، ممشلو س، صادقی ماهونک ع، اعلمی م، ۱۳۹۰، بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی، ضد رادیکالی و قدرت احیاء کنندگی عصاره‌های مختلف گیاه داروئی مورد، فصلنامه پژوهش‌های علوم گیاهی، سال ششم، ۱، ۵۷-٤٦.

کامکار ا، ۱۳۸۸، مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره گیاه شوید ایرانی، فصلنامه علمی پژوهشی افق دانش، (۲)۱۵، -۱۷ ۱۱.

کامکار ا، شریعتی فر ن، جمشیدی ا، محمدیان م، ۱۳۸۹، بررسی عملکرد آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی،متانولی و اتانولی زیره سبز و بلغست در شرایط آزمایشگاهی، فصلنامه دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی گناباد، (۲) ۱۶، ۳۷-۴۵.

مشرقی م، عزیزی م، عروجعلیان ف، شاه طهماسبی ن، ۱۳۹۳، بررسی ترکیبات مؤثره و اثرات ضد باکتریایی اسانس کرفس کوهی بر برخی از پاتوژ نهای مواد غذایی، نشریه علوم باغبانی، (٤) ۲۸، ٤٩٥-٤٨٧.

مظفریان و، ۱۳۷۷، فرهنگ نامهای گیاهان ایران، انتشارات فرهنگ معاصر، تهران، ایران.

AOAC, 1990. Official methods of analysis. Association of official analytical chemists, 15th ed. Washington, DC., USA.

Ahmadi F, Kadivar M and Shahedi M, 2007. Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima Mozaff.* in model and food systems. Food Chemistry 105(1):57-64.

Arabshahi S and Urooj A, 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica L.*) leaves. Food Chemistry 102:1233-1240.

Barreira GCM, Ferreira ICFR, Oliveira MBPP and Pereira JA, 2008. Antioxidant activities of the extracts from chestnut flower, leaf, skins and fruit. Food Chemistry 107:1106-1113.

Bozkurt H, 2006. Utilization of natural antioxidants: Green tea extract and thymbraspicata oil in Turkish dry-fermented sausage. Food Chemistry 73:442-450.

Hashemi P, Yarahmadi A, Shamizadeh M and Khademi K, 2012. Comparison of headspace solvent microextraction, hydrodistillation solvent microextraction, and solid-phase microextraction for the study of volatile components of *Kelussia odoratissima Mozaff.* by GC-MS. Acta Chromatographica 24:97-109.

Hatano T, Edamatsu R, Mori A, Fujita Y and Yasuhara E, 1989. Effect of interaction of tannins with coexisting substances. VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical and on DPPH radical. Chemical and Pharmaceutical Bulletin (Tokyo) 37:2016-2021.

Hinneburg I, Dorman HJD and Hiltunen R, 2006. Aantioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. Food Chemistry 97:122-129.

Ito N, Fukushima S, Hagiwara A, Shibata M and Ogiso T, 1983. Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. Journal of Natl. Cancer Inst. 70: 343-347.

Kahl R and Kappus H, 1993. Toxicity of synthetic antioxidants BHT and BHA in comparison with natura antioxidants vitamin E. Zeitschrift fur Lebensmittel- Untersuchung und Forschung 196: 329- 338.

Kalogeropoulos N, Konteles SJ, Troillidou E, Mourtzinos I and Karathanos T, 2009. Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. Food Chemistry 116: 452-461.

Kulisic T, Radonic A and Katalinic V, 2004. Use of different methods for testing antioxidative of oregano essential oil. Journal of Food Chemistry 85: 633-640.

Martinez-Tome M, Jimenez A, Ruggieri S, Frega N, Strabbioli R and Murcia M, 2001. Antioxidant properties of mediterranean spices compared with common food additives. Journal of Food Protection 64:1412–1419.

Mohdaly AAA, Smetanska I, Romadon MF, Sarhan MA and Mahmoud A, 2011. Antioxidant potential of sesame (*Sesamum indicum*) cake extractsstabilization of sunflower and soybean oils. Food Chemistry 34:952-969.

Namiki M, 1990. Antioxidants, antimutagens in food. Journal of Critical Reviews in Food Science and Nutrition 29(4): 273-300

Oktay M, Gulcin I and Kufrevioglu OI, 2003. Determination of in vitro antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgar*) seed extracts. Lebenamittle Wissenchaft and Technology 36:263-271.

Oliveira I, Coelho V, Baltasar R, Pereira JA and Baptista P, 2009. Scavenging capacity of strawberry tree (*Arbutus undeo L.*) leaves on free radicals. Food and Chemical Toxycology 47: 1507-1511.

Prieto P, Pineda M and Aguilar M, 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. Analytical Biochemistry 269: 337-341.

Raghu KL, Ramesh CK, Srinivasa TR and Jamuna KS, 2011. Total antioxidant capacity in aqueous extracts of some common vegetables. Asian J. Exp. Biol. Sci. 2(1):58-62.

Saeedi K and Omidbaigi R, 2009. Evaluation of content and composition of fatty acids, total phenolic and essential oil content of *Kelussia odoratissima Mozaff*. seed. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 25(1):113-9.

Sahreen S, Rashid Khan M and Ali Khan R, 2010. Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa opaca* fruits. Food Chemistry 122: 1205-1211.

Salimi M, Ebrahimi A, Shojaee Asadieh Z, Saei S and Dehkordi S, 2010. Essential oil copmposition of *Kelussia odoratissima* Mozaff. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 26(2):147-156**.**

Shahsavari N. Barzegar M, Sahari MA and Naghdibadi H, 2008. Antioxidant activity and chemical characterization of essential oil of *Bunium persicum*. Plant Foods for Human Nutrition 63:183-188.

Sharififar F, Dehghn-Nudeh G and Mirtajaldini M, 2009. Major flavonoids with antioxidant activity from Teucrium polium L. Food Chemistry 112:885-888.

Shimada K, Fujikawa K, Yahara K and Nakamura T. 1992. Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. Journal of Agricultural and Food Chemistry 40: 945-948.

Singh G, Maurya S and Delampasona MP, 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.

Sun L, Zhang J, Lu X, Zhang L and Zhang Y, 2011. Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. Food and Chemical Toxicology 49: 2689-2696.

Yanishlieva-Maslarova NV, Pokorny J, Yanishlieva N and Gorden M. 2001. Inhibiting oxidation, In: Antioxidants in Food. Eds. Woodhead Publishing Ltd. Cambridge, UK, 22-70.

Yildirim A, Mavi A and Kara AA, 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of Rumex crispus L. extracts. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49:4083-4089.

Yin MC and Cheng WS, 1997. Oxy my oglobin and lipid oxidation inphosphatidy lcholine liposome's retarded by α-tocopherol and β-caroten. Journal of Food Science 62:1095-1097.

Zhang H, Feng C and Xi W, 2006. Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents. Food Chemistry 39:833-839.

Zhang Y, Yang L, Zu Y, Chen X, Wang F and Liu F, 2010. Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carbonic acid compared with synthetic antioxidant during accelerated storage. Food Chemistry 118:656-662.

Ziaur R, Habib F and Shah WH, 2004. Utilization of potato peels extract as natural antioxidant in soybean oil. Food Chemistry 85(2):215-220.

Zou YP, Lu YH, Wei DZ, 2004. Antioxidant activity of flavonoid rich extract of *Hypericum perforatum L*. in vitro. Journal of Agriculture and Food Chemistry 52:5032-5039.

Effect of *Kelussia Odoratissima Mozaffarian* leaves essential oil on the oxidative stability of soybean oil

M Ghezelsoflo[1] and S Z Sayyed-Alangi[2*]

Received: September 19, 2015 Accepted: April 11, 2016
[1]MSc, Department of Chemical Engineering, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran
[2]Associate Professor, Department of Chemistry, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran
[*]Corresponding Author: Email: zalangi@gmail.com

Abstract
Kelussia odoratissima Mozaffarian is regarded as one of the medical plants to reduce blood pressure, treat rheumatic and nervous system diseases, prevent kidney and bladder stone formation and clean the urethra. In this study, total phenolic content of essential oil extracted from *Kelussia odoratissima Mozaffarian* leaves were measured. Antioxidant activity of the essential oil at 10-100 ppm were investigated using DPPH radical-scavenging activity, reducing power assay, β-carotene bleaching assay and total antioxidant capacity and accordingly compared with synthetic antioxidant namely BHA. The most of antioxidant capacity in sum were related to the 100 ppm of the essential oil and BHA. Also, the effect of the essential oil on oxidative stability of soybean oil was assessed using peroxide value and thiobarbitoric acid index. Results showed that oxidation inhibited during storage with 100 ppm concentration of the essential oil which was the most effective to inhibit the oxidation and could be used instead of BHA.

Keywords: Essential oil, *Kelussia odoratissima Mozaffarian* leaves, Soybean oil, Antioxidant activity