

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس پونه کوهی (*Mentha Pulegium L.*) در روغن بزرک و مقایسه آن با آنتی‌اکسیدان سنتزی

جعفر نظرزاده^۱، معصومه آقازاده^{۲*} و قاسم دبیری^۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۹/۶

^۱ دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، واحد ماکو، دانشگاه آزاد اسلامی، ماکو، ایران

^۲ استادیار، گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، واحد ماکو، دانشگاه آزاد اسلامی، ماکو، ایران

*مسئول مکالمه: Email: aghazadehchemist@gmail.com

چکیده

زمینه مطالعاتی: اکسایش روغن باعث تغییر خصوصیات ارگانولپتیکی، کاهش ارزش غذایی و عمر نگهداری آن می‌شود و به دلیل تولید ترکیبات نامطلوب در روغن برای سلامتی مصرف‌کنندگان نامطلوب است. با توجه به عوارض ناشی از مصرف آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، تاکنون تلاش‌های فراوانی در زمینه شناسایی و استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از منابع گیاهی به‌منظور استفاده در مواد غذایی و داروسازی به‌عنوان جایگزین انواع سنتزی صورت گرفته است. یکی از گیاهانی که امکان بررسی و مطالعه بیشتر از نظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی برای آن وجود دارد گیاه پونه (*Mentha Pulegium L.*) است. هدف: هدف از این پژوهش بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس پونه در روغن بزرک، به‌منظور انتخاب یک جایگزین مناسب به‌جای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مانند ترسیو-بوتیل هیدروکینون (TBHQ)، هست. روش کار: در این پژوهش اسانس پونه به‌وسیله کلونجر (تقطیر با بخار آب) استخراج شده و در چهار سطح غلظت (۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد) (وزنی/وزنی) در به تأخیر انداختن اکسایش در روغن بزرک، با اثر آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ در سطح غلظت ۰/۰۲ درصد از طریق محاسبه عدد اسیدی و عددپراکسید در طول فواصل زمانی (صفر، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸) روز، مورد مقایسه قرار گرفتند. نتایج: نتایج حاکی از این است که بیشترین مقدار عدد پراکسید برابر ۸/۱۷ (میلی‌اکی‌والان/کیلوگرم) مربوط به نمونه شاهد در روز ۲۸ و کمترین مقدار پراکسید برابر ۳/۸۳ (میلی‌اکی‌والان/کیلوگرم) مربوط به تیمار حاوی TBHQ در روز هفتم حاصل شد. همچنین بیشترین مقدار عدد اسیدی برابر ۲/۶۲ (میلی‌گرم پتاس/گرم) مربوط به نمونه شاهد در روز ۲۸ و کمترین مقدار عدد اسیدی برابر ۱/۸۸ (میلی‌گرم پتاس/گرم) مربوط به تیمار TBHQ در روز اول حاصل شده است. نتیجه‌گیری نهایی: با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از هر دو آزمون عدد اسیدی و عدد پراکسید، اسانس پونه در غلظت‌های بالا اثر آنتی‌اکسیدانی قابل‌مقایسه‌ای با تیمار حاوی TBHQ نشان داد و می‌توان به‌عنوان جایگزین مناسبی برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی محسوب شود.

واژگان کلیدی: اسانس، خاصیت آنتی‌اکسیدانی، گیاه پونه، روغن بزرک، ترسیو-بوتیل هیدروکینون (TBHQ)

مقدمه

روغن‌ها و چربی‌ها به‌عنوان یکی از باارزش‌ترین ترکیبات غذایی، نقش مهمی در تأمین اسیدهای چرب ضروری و ترکیبات محلول در چربی موردنیاز بدن دارند. علاوه بر نقش‌های بیولوژیکی و تغذیه‌ای، لیپیدها در فرآوری مواد غذایی، تعیین کیفیت و خواص ارگانولپتیک فرآورده‌های غذایی از اهمیت بسزایی برخوردارند (مالک ۱۳۷۹). امکان اکسایش در روغن‌های خوراکی بعلت وجود مقادیر بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع (به‌ویژه اسیدهای چرب چند غیراشباعی)، بسیار بالاست. اکسایش لیپیدها طی دوره نگهداری و یا فرآوری مواد غذایی نه‌تنها منجر به ایجاد مزه تند، بوی نامطبوع و تغییرات رنگی نامطلوب در آن‌ها می‌گردد بلکه ارزش تغذیه‌ای آن‌ها را نیز کاهش می‌دهد (ژانگ و همکاران ۲۰۱۰). علاوه بر این، ترکیبات حاصل از اکسایش لیپیدها سمی بوده و موجب به خطر افتادن سلامت مصرف‌کنندگان و بروز بیماری‌هایی نظیر سرطان می‌گردند (شهیدی و کیم ۲۰۰۲). افزودن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به روغن‌ها و چربی‌های تصفیه‌شده، روش متداولی است که تولیدکنندگان برای حفاظت از این ترکیبات در برابر تغییرات نامطلوب طی دوره نگهداری و فرآوری مواد غذایی و افزایش عمر ماندگاری فرآورده‌های غذایی حاوی ترکیبات لیپیدی استفاده می‌کنند (بندونین و همکاران ۲۰۰۲). آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که با جذب رادیکال آزاد و در نتیجه ممانعت از اکسیداسیون، از فساد، تغییر رنگ و یا تند شدن چربی‌ها جلوگیری می‌کنند. به تازگی عوارض نامطلوبی از مصرف آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی شامل بروز سرطان و آسیب کبدی در حیوانات آزمایشگاهی گزارش شده است (ابراهیم‌زاده و همکاران ۲۰۰۸). اگرچه آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در مقادیر کم استفاده می‌شوند ولی نیاز به انواع آنتی‌اکسیدان‌های بدون عوارض جانبی نیز احساس می‌شود، زیرا نمی‌توان عوارض ناشی از مصرف طولانی‌مدت این

ترکیبات در انسان را نادیده گرفت. لذا تلاش‌ها برای یافتن جایگزین برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، منجر به بررسی آنتی‌اکسیدان‌های متعددی از منابع گیاهی گردیده است.

در سال‌های اخیر مطالعات بسیاری جهت بررسی و استخراج آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از گیاهان مختلف صورت گرفته است که می‌توان به استخراج ترکیبات فنولی از میخک و نعناع (شوبانا و نیدو ۲۰۰۰)، برگ شاه‌توت (عرب شاهی و عروجی ۲۰۰۷)، رزماری (ارکان و همکاران ۲۰۰۸)، کرفس کوهی (احمدی و همکاران ۲۰۰۷؛ قزل سفلو و همکاران ۱۳۹۵)، برگ‌های کاهو (لوراچ و همکاران ۲۰۰۸)، پونه (طریقتی و همکاران ۱۳۹۸؛ مستعد و همکاران ۱۳۹۳؛ عطای صالحی و سلیمانپور ۱۳۹۸) و نعناع فلفلی (کشوری فرد و همکاران ۱۳۹۹) اشاره نمود. پونه با نام علمی *Mentha pulegium* یکی از گونه‌های *Mentha* و از اعضای خانواده Labiatae بوده و به صورت یک گیاه چند ساله می‌باشد. روغن‌های ضروری پونه دارای ویژگی‌های منحصربه‌فردی هستند، به‌طوری که دارای خواص آنتی‌اکسیدان و ضد میکروبی بوده و بنابراین می‌تواند در درمان بسیاری از بیماری‌ها، جلوگیری از فساد و افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی مفید باشد. علاوه بر این، این گیاه دارای ویژگی‌های عطری بوده که سبب مصرف آن به عنوان طعم دهنده در مواد غذایی شده است. پونه حاوی ۱ تا ۲ درصد اسانس مایل به زرد و یا سبز است. تحقیقات نشان می‌دهند که مونوترپن‌ها از ترکیبات اصلی اسانس پونه به شمار می‌آیند. این ترکیب به طور عمده از مونوترپن‌های اکسیژنه نظیر نئومنتون (Neomenthone)، منتون (Menthone) و پولگون (Pulegone) تشکیل شده‌اند. شایان ذکر است که مقدار و محتوای اسانس به گونه گیاه مورد نظر، عوامل محیطی و زمان رسیدن و برداشت بستگی دارد. بررسی‌ها نشان می‌دهد که اسانس پونه دارای ویژگی آنتی‌اکسیدانی به دلیل

حضور ترکیبات فنولی (نظیر منتون و پولگون) می‌باشند.

هدف از این پژوهش استفاده از اسانس گیاه پونه به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی در صنعت غذا و بررسی ماندگاری روغن بزرک توسط اسانس پونه و ایجاد یک طعم جدید در روغن های بزرک می‌باشد.

مواد و روش ها

جمع آوری گیاه: در این مطالعه ابتدا گیاه تازه پونه از کوه‌های مشرف به شهرستان ماکو در شمال غربی ایران (استان آذربایجان غربی) جمع آوری گردید. در مرحله بعد به کمک کارشناسان مرکز تحقیقات کشاورزی استان آذربایجان غربی گیاه شناسایی شد. سپس اجازه داده شد تا بخش هوایی گیاه در زیر سایه و دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) به دور از هر گونه جریان باد خشک گردد.

استخراج اسانس: عمل اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر انجام گرفت. به این ترتیب که برای اسانس‌گیری، نمونه خشک و آسیاب شده در بالن ریخته شد و پس از آن تا دوسوم حجم بالن از آب مقطر پر گردید. سپس کلونجر به بالن حاوی مواد متصل شده و خود کلونجر با گیره و پایه به جای ثابتی محکم شد. برای آغاز کار منبع حرارت روشن شده و زمان شروع آزمایش ثبت گردید. زمان جوشیدن و نیز خروج اولین قطره اسانس یادداشت شد. اسانس به دلیل ترکیبات خود معمولا دارای چگالی کمتر از آب است و به همین خاطر روی آب قرار می‌گیرد. کل زمان اسانس‌گیری چهارساعت بود و بیشترین مقدار اسانس جمع آوری شده در یک تا دو ساعت اول بود. لازم به ذکر است در پایان کار با دانستن وزن ماده خشک گیاه و وزن اسانس، از طریق تناسب، بازده اسانس به صورت درصد مشخص گردید. اسانس به دست آمده تا زمان تزریق به دستگاه کروماتوگرافی گازی/ طیف

سنجی جرمی (GC-Mass) داخل یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

مشخصات دستگاه کروماتوگرافی گازی/ طیف سنجی جرمی: در این مطالعه برای تعیین ترکیب شیمیایی اسانس گیاه پونه از کروماتوگرافی گازی (ترموفینگان، آمریکا) مجهز به طیف نگار جرمی استفاده شد. در این دستگاه ستون موئینه بکار رفته از جنس سیلیکای گداخته به قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و طول ۳۰ سانتی‌متر بود. برنامه حرارتی ستون شامل دمای اولیه ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد، دمای نهایی ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت افزایش دما ۲۰ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه تنظیم گردید. دمای محفظه تزریق به ترتیب ۲۶۰ و ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود. همچنین از گاز هلیوم با سرعت یک میلی‌لیتر در دقیقه و حجم تزریق یک میلی‌لیتر به عنوان حامل استفاده شد. سیستم تله یونی مورد استفاده در طیف سنج دارای انرژی یونیزاسیون ۸۰ الکترون‌ولت بود. شاخص بازداری هر پیک (ترکیب) با زمان بازداری هیدروکربن‌های نرمال (C₈-C₄₀) تزریق شده در شرایط یکسان با تزریق اسانس گیاه پونه ماکویی، مقایسه و محاسبه شد. در نهایت همه ترکیبات بر اساس مقایسه طیف MS و شاخص بازداری آن‌ها نسبت به مقادیری که در منابع مختلف منتشر شده است (مانند NIST، Wiley و طیف‌های جرمی استاندارد) شناسایی شدند. همچنین محاسبه کمی ترکیبات موجود در اسانس گیاه پونه ماکویی (تعیین درصد هر ترکیب) به کمک داده پرداز Xcalibur (ترموفینگان، آمریکا) به روش نرمال کردن سطح و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ مربوط به طیف‌ها انجام شد (آساره و جایمند ۲۰۰۴).

مواد شیمیایی: تمامی مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده در این تحقیق از شرکت مرک (آلمان) خریداری شدند و دارای بالاترین درصد خلوص بودند.

تهیه نمونه‌های آزمایشی: اسانس پونه در چهار سطح غلظت (۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد) (وزنی/وزنی) به

روشن تیترا شده (انجمن رسمی تجزیه شیمیایی ۱۹۹۰؛ اگان و همکاران ۱۹۸۷) و مقدار عدد اسیدی با استفاده از رابطه ۲ محاسبه گردید:

(رابطه ۲):

$$\text{عدد اسیدی (mg KOH/g)} = \frac{(A-B) * N * 56.4}{W}$$

A: حجم مصرفی هیدروکسید پتاسیم ۰/۰۱ نرمال برای نمونه

B: حجم مصرفی هیدروکسید پتاسیم ۰/۰۱ نرمال برای شاهد

N: نرمالیت هیدروکسید پتاسیم

W: وزن روغن مورد آزمایش

آزمون ارزیابی حسی: ارزیابی حسی نمونه های مختلف روغن بزرک، حاوی اسانس پونه، نمونه شاهد و حاوی ضد اکسیدان TBHQ، با استفاده از آزمون هدونیک ۱۱ نقطه ای انجام شد. در این آزمون از ۱۰ ارزیاب (۵ مرد و ۵ زن در محدوده سنی ۲۰ تا ۳۰ سال) خواسته شد تا سالادهای شیرازی حاوی نمونه های مختلف روغن از نظر سه فاکتور رنگ و ظاهر، بو و طعم و مزه مورد بررسی قرار داده و بر اساس میزان رضایت مندی از هر کدام، به آن ها امتیاز بین ۰ تا ۱۰ بدهند (امتیاز صفر برای حداقل مطلوبیت نمونه و امتیاز ده برای حداکثر مطلوبیت نمونه بود).

تجزیه و تحلیل آماری: این تحقیق در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شده و تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS انجام گرفت. میانگین تیمارها با استفاده از آزمون دانکن (سطح معنی داری کمتر از ۵ درصد) مورد مقایسه قرار گرفته و نمودارها با استفاده از نرم افزار اکسل رسم شد.

نتایج

نتایج استخراج و ترکیب بیوشیمیایی اسانس پونه ماکویی: بررسی‌ها نشان داد که اسانس پونه کوهی ماکو بی‌رنگ بوده و درصد اسانس استخراجی ۱/۵۱

روغن بزرک بدون آنتی‌اکسیدان در شیشه‌های تیره‌رنگ اضافه گردیده و برای ۳۰ روز در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد. طی فواصل زمانی صفر، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز، عدد پراکسید و عدد اسیدی مشخص گردید. آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ در سطح غلظت ۰/۰۲ درصد به روغن بزرک اضافه شد. یک نمونه روغن بزرک بدون آنتی‌اکسیدان به عنوان شاهد در نظر گرفته شد.

روش تعیین عدد پراکسید روغن: ۵ گرم روغن در یک ارلن ۳۰۰ میلی‌لیتری وزن شده و ۳۰ میلی‌لیتر محلول اسید استیک و کلروفرم به آن اضافه گردید و به هم زده شد تا روغن کاملاً حل گردد. نیم میلی‌لیتر محلول پتاسیم یدید اشباع اضافه شد و پس از یک دقیقه ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه‌شده و با سدیم تیوسولفات ۰/۰۱ نرمال تا از بین رفتن رنگ زرد تیترا شد. سپس نیم میلی‌لیتر شناساگر نشاسته اضافه شده و تیتراسیون تا از بین رفتن رنگ آبی ادامه می‌یابد. همراه با نمونه تیتراسیون شاهد نیز انجام گرفت (انجمن رسمی تجزیه شیمیایی ۱۹۹۰؛ اگان و همکاران ۱۹۸۷). مقدار عدد پراکسید با استفاده از رابطه ۱ محاسبه گردید:

(رابطه ۱):

$$\text{عدد پراکسید (meq O}_2\text{/ Kg)} = N * V * 1000 / m$$

$$N = \text{نرمالیت تیوسولفات سدیم (meq/ml)}$$

$$V = \text{حجم مصرفی تیوسولفات (ml)}$$

$$m = \text{جرم نمونه (gr)}$$

تعیین عدد اسیدی: ابتدا ۲۰ میلی‌لیتر محلول کلروفرم و اتانول ۵۰-۵۰ در یک ارلن ریخته و با ۴ قطره فنل فتالین مخلوط کرده و سپس با هیدروکسید پتاسیم ۰/۰۱ نرمال تا ظهور رنگ صورتی تیترا شد (استاندارد کردن). سپس ۲ گرم از روغن را در ارلن ریخته، ۲۰ میلی‌لیتر محلول کلروفرم- اتانول را به روغن افزوده و ۴ قطره فنل فتالین در ارلن افزوده و هم زده شد و در نهایت با هیدروکسید پتاسیم ۰/۰۱ نرمال تا ظهور رنگ صورتی

دهنده اسانس گیاه پونه ماکویی بوده که ۵۱/۴ درصد آن را به خود اختصاص می‌دهد. همچنین ایزومنتون دومین ماده تشکیل دهنده اسانس گیاه پونه ماکویی با ۶/۶۴ درصد و کامفن با ۰/۲۹ درصد کمترین ماده تشکیل دهنده این اسانس می‌باشد.

درصد وزنی-وزنی می‌باشد. همچنین تجزیه شیمیایی اسانس که با روش کروماتوگرافی گازی مجهز به طیف سنج جرمی انجام گرفت به طور تقریبی ۱۶ ترکیب مختلف را در اسانس گیاه پونه ماکویی نشان داد (جدول ۱). بر اساس یافته‌های بدست آمده از تجزیه شیمیایی اسانس، ترکیب پولگون بیشترین ماده تشکیل

جدول ۱- تجزیه ترکیبات تشکیل دهنده اسانس پونه ماکویی با روش کروماتوگرافی گازی مجهز به طیف سنج جرمی

Table1- Analysis of constituents of *Mentha Pulegium L.* essential oil by gas chromatography equipped with mass spectrometer

Row	Chemical composition	(%)
1	A-pinene	0.43
2	Camphene	0.29
3	Beta-pinene	0.69
4	Myrcene	0.81
5	3-octanol	1.42
6	Menthone	2.21
7	Isomenthone	6.64
8	Isopulegone	0.83
9	Mentole	0.46
10	Neo-Isomenthol	1.44
11	A-Terpinol	2.67
12	Pulegone	51.4
13	Piperitenone	1.86
14	Caryophyllene	0.87
15	A-Humulene	2.42
16	Caryophyllene oxide	1.93

متقابل بین تیمارها و زمان کاملاً معنی‌دار شد. به عبارت دیگر، هم نوع تیمار و هم زمان نگهداری اثر معنی‌داری بر مقدار پراکسید داشته است. بیشترین مقدار عدد پراکسید برابر ۸/۱۷ مربوط به نمونه شاهد در روز ۲۸ و کمترین مقدار پراکسید برابر ۳/۸۳ مربوط به تیمار ۰/۳ اسانس در روز اول حاصل شده است. تغییرات عدد پراکسید مربوط به تیمارها در طی زمان در جدول ۲ نشان داده شده است.

بررسی تغییرات پراکسید روغن بزرک حاوی اسانس پونه: به منظور بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس استخراجی گیاه پونه در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن بزرک، عدد پراکسید روغن‌ها در روزهای اول، هفتم، چهاردهم، بیست و یکم و بیست و هشتم اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از انجام تحلیل تغییرات نشان داد که در سطح خطای ۵ درصد، اختلاف بین تیمارها معنی‌دار گردید. همچنین، تاثیر زمان و اثر

جدول ۲- تغییرات عدد پراکسید (meq O₂/ Kg) روغن بزرک طی ۳۰ روز نگهداریTable 2- Changes of peroxide number value (meq O₂/ Kg) of Linseed oil during 30 days of storage

Days	1	7	14	21	28
Treatments					
Control sample	10.15 ^{aA} ±6.0	77.15 ^{aB} ±6.0	7.0± 10.06 ^{aC}	7.0± 63.06 ^{aD}	8.0±17.06 ^{aE}
TBHQ	5.0±10.1 ^{dA}	6.0±00.10 ^{dB}	6.0±03.06 ^{dB}	6.0±77.06 ^{dC}	6.0±80 ^{cC}
Essential oil 0.05	5.0±60.10 ^{cB}	6.0±10.10 ^{cA}	6.0±43.06 ^{cC}	6.0±80.10 ^{cD}	7.0±40 ^{cE}
Essential oil 0.1	4.0±87.06 ^{cA}	5.0±37.06 ^{cB}	5.0±60.10 ^{cC}	5.0±77.06 ^{bD}	5.0±80.10 ^{cD}
Essential oil 0.2	4.0±40.10 ^{bA}	4.0±83.06 ^{bB}	5.0±13.06 ^{bC}	5.0±63.06 ^{bD}	5.0±70.10 ^{bD}
Essential oil 0.3	3.0±83.06 ^{aA}	4.0±00.10 ^{aB}	4.0±37.06 ^{aC}	4.0±80 ^{aD}	4.0±83.06 ^{aD}

Each value in the table represents the mean ±standard deviation of triplicate analysis. Unmatched lowercase Latin letters in each column indicate a significant difference of 5% between treatments. Uppercase Latin letters in each row indicate a significant difference of 5% over time.

بررسی تغییرات عدد اسیدی: نتایج حاصل از انجام آنالیز واریانس نشان داد که در سطح خطای ۵ درصد بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود دارد. همچنین تاثیر زمان و اثر متقابل بین تیمارها و زمان کاملاً معنی‌دار است. به عبارت دیگر هم نوع تیمار و هم زمان نگهداری اثر معنی‌داری بر مقدار اسیدیته داشته است. بیشترین مقدار اسیدیته برابر ۲/۶۲ مربوط به نمونه‌ی شاهد در روز ۲۸ و کمترین مقدار اسیدیته برابر ۱/۸۸ مربوط به تیمار TBHQ در روز اول حاصل شده است. جدول ۳ تغییرات مقدار عدد اسیدی مربوط به تیمارها را در طی زمان نشان می‌دهد.

جدول ۲ به وضوح نشان می‌دهد که با افزایش زمان نگهداری نمونه‌های روغن، میزان عدد پراکسید افزایش یافته است و نمونه شاهد که حاوی هیچ نوع آنتی‌اکسیدانی نبود در مقایسه با بقیه تیمارها بیشترین مقدار عدد پراکسید را در همه روزها داشت. این افزایش در میزان عدد پراکسید را می‌توان به تشکیل هیدروپراکسیدها یعنی محصولات اولیه اکسیداسیون نسبت داد. با افزایش زمان نگهداری نمونه‌ها در شرایط اکسیداسیون، تفاوت بین تیمارها بیشتر مشهود شد. تفاوت بین اسانس‌ها و در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ بیانگر آن است که با افزایش غلظت اسانس، خاصیت آنتی‌اکسیدانی در بسیاری از موارد افزایش داشت. در همه‌روزها، حتی غلظت‌های پایین اسانس (۰/۰۵) تا حدودی توان مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ (غلظت ۰/۰۲) را داشته‌اند. غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد (وزنی/وزنی) اسانس در بازداری اکسایش روغن بزرک، عملکرد بهتری نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ نشان دادند.

جدول ۳- تغییرات عدد اسیدی (mg KOH/ g oil) روغن بزرک طی ۳۰ روز نگهداری

Table 3- Changes of acid number value (mg KOH/ g oil) of Linseed oil during 30 days of storage

Days	1	7	14	21	28
Treatments					
Control sample	1.0±96.02 ^{dA}	2.0±38.01 ^{eB}	2.0±52.01 ^{fC}	2.0±58.01 ^{fD}	2.0±62.01 ^{fE}
TBHQ	1.0±88.01 ^{aA}	2.0±07.01 ^{bB}	2.0±25.01 ^{dC}	2.0±30.01 ^{dD}	2.0±31.01 ^{dD}
Essential oil 0.05	1.0±93.01 ^{cA}	2.0±18.01 ^{dB}	2.0±38.01 ^{eC}	2.0±42.01 ^{eD}	2.0±49.01 ^{eE}
Essential oil 0.1	1.0±90.01 ^{bA}	2.0±10.01 ^{eB}	2.0±18.01 ^{cC}	2.0±21.01 ^{cD}	2.0±27.01 ^{cE}
Essential oil 0.2	1.0±89.01 ^{dA}	2.0±07.01 ^{eB}	2.0±18.01 ^{bC}	2.0±16.01 ^{bD}	2.0±22.01 ^{bE}
Essential oil 0.3	1.0±88.01 ^{cA}	2.0±05.01 ^{eB}	2.0±07.01 ^{aC}	^{aD} 2.0±11.01	2.0±16.01 ^{aE}

Each value in the table represents the mean ±standard deviation of triplicate analysis. Unmatched lowercase Latin letters in each column indicate a significant difference of 5% between treatments. Uppercase Latin letters in each row indicate a significant difference of 5% over time.

شاهد و حاوی آنتی اکسیدان TBHQ تفاوت معنی داری (احتمال خطا) نداشتند. در واقع این نتایج نشان می دهد که اسانس پونه تا سطح غلظتی ۰/۳ درصد تغییر نامطلوب و محسوسی در خصوصیات ارگانولپتیکی روغن ایجاد نکرده و از دید مصرف کننده، تفاوتی بین نمونه های روغن حاوی اسانس پونه و نمونه های فاقد آن، از لحاظ رنگ و ظاهر، طعم و مزه و بو وجود نداشت.

آنچه از بررسی جدول ۳ می توان استنباط کرد این است که نمونه شاهد بیشترین عدد اسیدی را در همه مراحل آزمایش در طی نگهداری نشان داد. در این روش نیز مشابه روش عدد پراکسید، شدت بروز خاصیت آنتی اکسیدانی به غلظت اسانس وابسته بود؛ به طوری که، این فعالیت با افزایش غلظت اسانس به طور معنی داری (احتمال خطا) افزایش و میزان عدد اسیدی کاهش یافت که این به حضور ترکیبات فنولی و یا وجود ترکیبات اسیدی در اسانس نسبت داده می شود. می توان گفت که آنتی اکسیدان های طبیعی از نظر حفظ اثر آنتی اکسیدانی به خوبی توانسته بودند با آنتی اکسیدان های سنتزی رقابت کرده و در غلظتهای بالاتر (۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد) اثر آنتی اکسیدانی بهتری نسبت به انواع سنتزی نشان می دهند.

نتایج آزمون حسی

جدول ۴ نتایج مقایسه میانگین آزمون ارزیابی حسی نمونه های روغن را نشان می دهد. بر اساس نتایج به دست آمده، نمونه های روغن حاوی اسانس پونه از لحاظ ظاهر و رنگ، طعم و مزه و بو با نمونه های روغن

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات مورد بررسی (رنگ و ظاهر، طعم و مزه و بو) در آزمون ارزیابی حسی

Table 4- Comparison of the mean of the studied traits (color and appearance, taste and smell) in the sensory evaluation test

Treatments	Color and appearance	taste	flavor
Control sample	9.5±0.707 ^a	8.3±0.919 ^a	8±1.414 ^a
Essential oil 0.05	8.3±0.494 ^a	8.5±0.707 ^a	7.9±1.272 ^a
Essential oil 0.1	8.8±0.282 ^a	8.6±1.979 ^a	8.5±1.484 ^a
Essential oil 0.2	8.9±0.141 ^a	9±1.414 ^a	8.7±0.989 ^a
Essential oil 0.3	8.5±0.707 ^a	7.9±0.777 ^a	7.25±1.767 ^a
TBHQ	8.3±0.494 ^a	8.3±0.989 ^a	7.4±1.979 ^a

Each value in the table represents the mean ± standard deviation of triplicate analysis. Unmatched lowercase Latin letters in each column indicate a significant difference of 5% between treatments.

بحث

که در اسانس حاصل از مزرعه حاوی کود ترکیب سیرینگل و در رویشگاه طبیعت ترکیب آزلون از بالاترین میزان برخوردار بودند. یافته‌های تحقیق عطای صالحی و سلیمانپور (۱۳۹۸) نشان داد که پولگون (۳۱/۵۴ درصد) و ۱-۸ سینئول (۱۵/۸۹ درصد) و منتوفوران (۱۱/۸ درصد) و سیس ایزو پولگون (۹/۷۴ درصد) ترکیبیات عمده اسانس پونه کوهی مورد مطالعه بودند.

تحقیقات نشان داده است که اسانس‌ها و عصاره‌های استخراج شده از گیاهان دارویی، ادویه جات، پوست، میوه و برگ برخی از درختان می‌تواند منابع بالقوه‌ای از ضداکسیدانهای طبیعی باشد (مهدوی و همکاران ۱۹۹۵). ترکیبات فنولی که جزء متابولیت‌های ثانویه آروماتیک گیاهی می‌باشند، در سراسر گیاه پخش شده و دارای تاثیرات بیولوژیکی متعدد همچون فعالیت ضداکسیدانی و فعالیت ضدباکتریایی هستند. بنابراین گیاهانی که در ترکیبات خود گروه‌های فنولی زیادی دارند، عمدتاً دارای فعالیت ضداکسیدانی می‌باشند (لی و همکاران ۲۰۰۵).

شهسواری و همکاران (۱۳۸۷)، در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی بر روغن سویا گزارش کردند که اسانس آویشن شیرازی در غلظت ۰/۱ درصد دارای اثر آنتی‌اکسیدانی معادل با BHA در غلظت ۰/۰۲ درصد در روغن سویا بود. عیوقی و

امروزه بیشتر مطالعات در جهت جداسازی و شناخت ترکیبات شیمیایی اسانس‌ها و بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی آن‌ها در مواد غذایی بدون تاثیر نامطلوب در خصوصیات حسی و ارزش تغذیه‌ای مواد غذایی می‌باشد (باول و جونجا ۱۹۹۸؛ والرو و سالمرون ۲۰۰۳).

تجزیه شیمیایی اسانس گیاه پونه ماکو مورد مطالعه نشان داد که بیشترین ترکیبات تشکیل‌دهنده آن پولگون (۵۱/۴ درصد) و ایزومنتون (۶/۶۴ درصد) می‌باشند. در مطالعه‌ای که توسط پژوهش‌موتی و همکاران (۱۳۹۱) و گولوس و همکاران (۲۰۰۷) بر روی اسانس گیاه پونه انجام گرفت به ترتیب بیشترین ترکیبات اسانس را پولگون (۳۱/۵۴ درصد) و سیس پیپریتون اپوکسید (۱۸/۴ درصد) گزارش نمودند. اختلاف در ترکیب شیمیایی و فعالیت ضد باکتریایی اسانس‌ها در بین نتایج و گزارش‌های منتشر شده می‌تواند ناشی از تفاوت در فصل برداشت گیاه، شرایط آب و هوایی، منطقه جغرافیایی رویش، قسمت‌های مختلف گیاه، روش و مدت زمان استخراج اسانس و گونه باکتریایی مورد مطالعه باشد (گولوس و همکاران ۲۰۰۷). مستعد و همکاران (۱۳۹۳) با بررسی اسانس در سرشاخه‌های گلدار گیاه پونه در شرایط طبیعی و زراعی نشان دادند

مقاومت بیشتری در مقابل افزایش نشان داد. علت آن، وجود ترکیبات آنتی اکسیدانی در این اسانس بوده است. به این ترتیب که با افزایش غلظت اسانس تاثیر این ترکیبات بر روند ممانعت از افزایش عدد پراکسید بیشتر شده است. در همه تیمارهای روغن بزرک حاوی اسانس پونه، با افزایش غلظت اسانس زمان پایداری در برابر اکسیداسیون افزایش یافت. این موضوع نشان می‌دهد که با افزایش غلظت اسانس تاثیر ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در اسانس در افزایش زمان پایداری روغن بزرک بیشتر شده است. در بین تیمارها بیشترین عدد پراکسید در تمام روزها مربوط به نمونه شاهد بوده است که ناشی از عدم وجود آنتی اکسیدان و در نتیجه افزایش رادیکال‌های آزاد در این تیمار است. یافته‌های فوق را می‌توان از تغییرات عدد اسیدی در طی زمان آزمایشات نیز استنباط کرد. با توجه به نتایج به دست آمده از هر دو آزمون عدد اسیدی و عدد پراکسید، اسانس پونه در غلظت‌های بالا اثر آنتی اکسیدانی مشابهی نسبت به تیمار حاوی TBHQ نشان داد. با استناد به این که TBHQ یک آنتی اکسیدان سنتزی قوی و پرکاربرد در صنعت غذا دارو می‌باشد، می‌توان نتیجه گرفت اسانس پونه جایگزین مناسبی برای آنتی اکسیدان‌های سنتزی که دارای عوارض جانبی بسیاری هستند، باشد. از سوی دیگر ترکیبات تشکیل دهنده این اسانس که عمدتاً از مونوترپن‌ها هستند، عطر دلپذیری دارند و این گیاه معطر می‌تواند در صنایع مختلف برای ایجاد عطر مطلوب طبیعی استفاده شود. علاوه بر کاربردهای صنایع غذایی این اسانس‌ها، می‌توان به کاربرد آن‌ها در پزشکی و درمان گروه وسیعی از بیماری‌ها اشاره نمود. بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده، پیشنهاد می‌شود گیاه پونه در مقادیر مناسب، در بخش‌هایی از صنعت به خصوص صنعت غذا و دارو، جایگزینی طبیعی برای فرآورده‌های صنعتی باشد تا از سویی از عوارض ناخواسته این مواد

همکاران (۱۳۸۸) فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس شوید در روغن سویا را با آنتی اکسیدان‌های شیمیایی مقایسه کرده و نشان دادند که اسانس توانایی جلوگیری از اکسیداسیون روغن سویای خام در سطح غلظتی ۰/۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر را داراست که تقریباً معادل با آنتی اکسیدان سنتزی BHA در سطح غلظتی ۰/۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است. طاهانژاد و همکاران (۱۳۹۰) فعالیت ضد اکسایشی اسانس اسطوخودوس را در سامانه روغن خام سویا ارزیابی کردند. بررسی‌ها نشان داد اسانس در سطح غلظتی ۰/۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تقریباً معادل با آنتی اکسیدان سنتزی BHA در سطح غلظتی ۰/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است. امینی و همکاران (۱۳۹۴) اثرات آنتی اکسیدانی اسانس گیاه مرزه زراعی را بر روغن کلزا و روغن ماهی کیلکا بررسی کرده مشاهده نمودند که اسانس مرزه زراعی در سطح غلظتی ۰/۳ درصد بهترین اثر آنتی اکسیدانی را در جلوگیری از افزایش شاخص پراکسید و تیوباربیتوریک اسید نشان می‌دهد. قزل سفلو و سیدالنگی (۱۳۹۵) اثر اسانس برگ کرفس کوهی را در بهبود پایداری اکسایشی روغن سویا در دمای اکسیداسیون تسریع شده (۶۳ درجه سانتی‌گراد) مطالعه نمودند. آنها گزارش نمودند که بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی به غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسانس به همراه آنتی اکسیدان سنتزی BHA اختصاص دارد. عطای صالحی و سلیمانپور با بررسی اثر آنتی اکسیدانی اسانس پونه کوهی بر پایداری اکسایشی روغن سرخ کردنی نشان دادند که اسانس پونه کوهی در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام توانست بهتر از آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ در سطح ۲۰۰ پی‌پی‌ام عمل کند.

نتیجه گیری

بر اساس نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر، همه تیمارهای روغن بزرک حاوی اسانس پونه، با افزایش غلظت اسانس عدد پراکسید این تیمارها در همه روزها

جلوگیری شود و از سوی دیگر از فواید آنتی‌اکسیدانی و آرومای دلپذیر این گیاه نیز استفاده شود.

منابع مورد استفاده

- امینی ب، کرامت ج، حجت الاسلامی م، جهادی م و محمودیان ک، ۱۳۹۴، ارزیابی اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه مرزه زراعی در روغن کلزا و روغن ماهی کیلکا، علوم غذایی و تغذیه، ۱۲(۳)، ۲۹-۳۸.
- پژوهی الموتی م ر، تاجیک ح، آخوندزاده الف، گندمی نصرآبادی ح و احسانی ع، ۱۳۹۱، مطالعه ترکیب شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی اسانس‌های پونه کوهی و زیره سبز در سوپ، علوم و صنایع غذایی ایران، ۳۶(۹)، ۴۵-۳۳.
- شهسواری ن، برزگر بفرویی م، سحری م ع و نقدی بادی ح ع، ۱۳۸۷، بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه آویشن شیرازی (*Zataria multiflora Boiss.*) در روغن سویا، گیاهان دارویی، ۲۸(۷)، ۵۷-۶۸.
- طاهانژاد م، برزگر م، سحری م ع و نقدی آبادی ح، ۱۳۹۰، ارزیابی فعالیت ضد اکسایشی اسانس اسطوخودوس در سامانه روغن خام سویا، گیاهان دارویی، ۱۱(۱)، ۱۴۰-۱۲۷.
- طریقتی ح، رفتنی امیری ز و اسماعیل زاده کناری ر، ۱۳۹۸، بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ گیاه پونه بر پایداری اکسایشی روغن سویا، علوم و صنایع غذایی، ۹۲(۱)، ۱۵۲-۱۴۳.
- عطای صالحی الف و سلیمانپور تمام ن، ۱۳۹۸، بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس پونه کوهی بر پایداری اکسایشی روغن سرخ کردنی، پژوهش‌های صنایع غذایی، ۳(۳)، ۲۹-۱۱-۱.
- عیوقی ف، برزگر بفرویی م، سحری م ع و نقدی بادی ح ع، ۱۳۸۸، بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس شوید (*graveolens Anethum*) در روغن سویا و مقایسه آن با آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی، گیاهان دارویی، ۳۰(۹)، ۸۳-۷۱.
- قزل سفلو م و سیدالنگی س ز، ۱۳۹۵، اثر اسانس برگ کرفس کوهی بر پایداری اکسایشی روغن سویا، پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲۶(۴)، ۶۹۴-۶۸۱.
- کشوری فرد ف، مختاریان م و توکلی پور ح، ۱۳۹۹، ارزیابی تأثیر اسانس نعناع فلفلی بر پایداری اکسایشی روغن سویا، فرآوری و نگهداری مواد غذایی، ۱۲(۱)، ۹۴-۸۱.
- مالک ف، ۱۳۷۹، چربی‌ها و روغن‌های خوراکی (ویژگی‌ها و فرآوری) انتشارات فرهنگ و قلم.
- مستعد الف، ساطعی الف و مازندرانی م، ۱۳۹۳، بررسی مواد موثره اسانس در سرشاخه‌های گلدار و عملکرد آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی پونه در شرایط طبیعی و زراعی در دو مرحله رویشی و زایشی، نشریه پژوهش‌های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران، ۲(۲)، ۴۳-۳۴.
- هاشمی ز، حجتی م و طاهانژاد م، ۱۳۹۳، بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه درمنه بر پایداری اکسایشی روغن مخصوص سرخ کردنی، نشریه فرآوری و نگهداری مواد غذایی، ۶(۱)، ۳۶-۱۹.
- هاشمی ز، حجتی م و طاهانژاد م، ۱۳۹۳، بررسی فعالیت ضد اکسیدانی اسانس برگ نارنج در مقایسه با ضد اکسیدان سنتزی TBHQ در روغن خوراکی، فصلنامه علوم و فناوری های نوین غذایی، ۲(۶)، ۵۷-۴۳.
- Ahmadi F, Kadivar M and Shahedi M, 2007. Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Mozaff. In model and food systems. Food Chemistry 105:57-64.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, 15th ed. Washington, DC., USA.
- Arabshahi-Delouee S and Urooj A, 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. Food Chemistry 102: 1233-1240.
- Assareh MH and Jaimand K, 2004. Introduction of two species of Eucalyptus (*E. torquata* and *E. leucoxylon*) as a rich source of 1,8-cineole. Pajouhesh and Sazandegi Journal 68:22-6.

- Bandoniene D, Venskutonis PR, and Gruzdienė D, Murkovic M, 2002. Antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* L.), savory (*Satureja hortensis* L.) and borage (*Borago officinalis* L.) extracts in rapeseed oil. *European Journal of Lipid Science and Technology* 104: 286-292.
- Bowles BL and Juneja VK, 1998. Inhibition of food-borne bacterial pathogens by naturally occurring food additives. *Journal of Food Safety* 18:101-112.
- Ebrahimzadeh MA, Pourmorad F, and Hafezi S, 2008. Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turkish Journal of biology* 32: 43-49.
- Egan H, Kirk RS and Sawyer R, 1987. *Pearson's Chemical Analysis of Foods*. 9th ed. Harlow: Longman Scientific and Technical, pp: 609 - 34.
- Erkan N, Ayranci G and Ayranci E, 2008. Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract, black seed (*Nigella Sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. *Journal of Food Chemistry* 110:1.76-82.
- Gulluce M, Sahin F, Sokmen M, Ozer H, Daferera D, Sokme A, Polissiou M, Adiguzel A and Ozkan H, 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. *Food Chemistry* 103:1449-1456.
- Lee SJ, Umamo K, Shibamoto T and Lee KG, 2005. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *J Food Chem* 91:131-137.
- Llorach R, Martí'nez-Sa'nchez A, Tomas-Barberan F, Gil M and Ferreres F, 2008. Characterization of polyphenols and antioxidant properties of five lettuce varieties and escarole. *Food Chemistry* 108:1028-1038.
- Mahdavi DL, Deshpande SS and Salunkhe DK, 1995. *Food Antioxidant*, 1st ed., New York, Marcel Dekker, Inc U.S.A, pp 54-102.
- Shahidi F and Kim S-K, 2002. Quality management of marine nutraceuticals. In: Ho C-T, Zheng QY, editors. *Quality management of nutraceuticals*. ACS Symposium Series 803. Washington, D.C.: *American Chemical Society* 76-87.
- Shobana S, and Naidu KA, 2000. Antioxidant activity of selected Indian spices. *Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids* 62: 2. 107-110.
- Valero M and Salmeron MC, 2003. Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tanzanized carrot broth. *International Journal of Food Microbiology* 85: 73-81.
- Zhang YQ, Bai MX, Zhao L, Wang Q and Ji C, 2010. Effects of dietary acetyl-L-carnitine on meat quality and lipid metabolism in Arbor Acres Broilers. *Asian-Aust. Journal of Animal Science* 23(12): 1639-1644.



Journal of Food Research, 2023,33(1):69-81

<https://foodresearch.tabrizu.ac.ir>

OPEN ACCESS



© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

This is an open access article under the CC BY NC license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/>)

DOI:10.22034/FR.2022.50118.1823

Evaluation of antioxidant activity of *Mentha Pulegium* (L.) essential oil in Linseed Oil in comparison with synthetic antioxidant

J Nazarzadeh¹, M Aghazadeh^{2*} and Gh Dabiry²

Received: January 31, 2022 Accepted: November 27, 2022

¹ MSc, Department of Food Science, Maku Branch, Islamic Azad University, Maku, Iran² Assistant Professor, Department of Food Science, Maku Branch, Islamic Azad University, Maku, Iran

*Corresponding author: E mail: aghazadehchemist@gmail.com

Introduction: The Oils and fats are considered as one of the most valuable nutrients, rich sources of energy and important precursors in the body's metabolic processes. These compounds play an important role in providing essential fatty acids and fat-soluble nutrients needed by the body. In addition to biological and nutritional role, lipids are important in food processing, determining the quality and organoleptic properties of food products. Edible oils containing high levels of unsaturated fatty acids (especially polyunsaturated fatty acids) are highly susceptible to oxidation. Oxidation of the oil leads to a loss in its organoleptic properties, nutritional value and shelf life, as well as a negative effect on the health of consumers due to the production of undesirable compounds in the oil. Adding antioxidant compounds to refined oils and fats is a common method used by manufacturers to protect these compounds from adverse changes during the storage and processing of food and to extend the shelf life of foods containing lipid compounds. Taking into account the side effects of the synthetic antioxidants, many efforts have been made to identify and extract the antioxidant compounds from plant sources to be used in food and pharmacy as an alternative for synthetic types. *Mentha pulegium* (L.) plant needs to be further studied in terms of antioxidant activity and phenolic and flavonoid compounds. It is an aromatic plant that grows in many countries and has been considered by various industries, such as food and medicine. This plant is a rich source of natural antioxidants, such as pulegone and other volatile compounds. The aim of this study was to investigate the antioxidant properties of *Mentha pulegium* (L.) essential oil in Linseed oil in order to select a suitable alternative to synthetic antioxidants such as TBHQ.

Materials and methods: In this study, *Mentha pulegium* (L.) essential oil was extracted by Clevenger (water vapor distillation). Chemical analysis of essential oil by gas chromatography equipped with spectrometer showed approximately 16 different compounds in the essential oil of this plant. Based on the findings obtained from chemical analysis of essential oil, pulegone is the most important constituent of essential oil of peppermint plant, which accounts for 51.4%. The obtained essential oil was used in four levels of concentration (0.05%, 0.1%, 0.2% and 0.3%) (w/w) to observe its effect on delaying oxidation process in Linseed oil. Its oxidant properties were compared with the effect of synthetic antioxidant TBHQ at the concentration level of 0.02% by calculating the determination of acid number and peroxide number during time intervals (zero-7-14-21-28) days.

Results and discussion: The results indicate that the highest peroxide value of 8.17 (meq/Kg) was related to the control sample on the 28th day and the lowest peroxide value of 3.83 (meq/Kg) was related to the treatment containing TBHQ on the seventh day. Also, the highest acidity value of 2.62 was related to the control sample on the 28th day and the lowest acidity value of 1.88 was related to the TBHQ treatment on the first day. In all treatments of Linseed oil containing *Mentha pulegium* (L.) essential oil, the resistance time against oxidation was increased with increasing the concentration of essential oil. This indicates that with increasing the concentration of essential oil, the effect of antioxidant compounds in the essential oil in increasing the stability time of flaxseed oil has been increased.

In different treatments of Linseed oil on all days, samples containing *Mentha pulegium* (L.) essential oil with a concentration of 0.3 had the lowest number of peroxide and after those treatments containing 0.2 and 0.1, respectively, showed less resistance to oxidation. The treatment containing TBHQ was less resistant to the oxidation process than these three treatments. Among the treatments, the highest number of peroxides in all days was related to the control sample, which is due to the lack of antioxidants and thus the increase of free radicals in this treatment. The above findings can be inferred from changes in acid number during the experiments.

Conclusion: Since *Mentha pulegium* (L.) essential oil has unique properties, several applications can be attributed to it; So that this natural effective substance can be a suitable alternative to artificial preservatives due to its role of inhibiting the growth of microorganisms and increasing the shelf life of food products. Also, the essential oils of this plant are considered as powerful antioxidants due to their phenolic compounds, so they can be considered as a suitable alternative to synthetic antioxidants whose adverse effects on humans have been proven. On the other hand, the constituents of this essential oil, which are mainly monoterpenes, have a pleasant aroma, and this aromatic plant can be used in various industries to create the desired natural aroma.

According to the results obtained from both acid number and peroxide number tests, *Mentha pulegium* (L.) oil in high concentrations showed a comparable antioxidant effect with the treatment containing TBHQ and can be considered as a suitable alternative to synthetic antioxidants.

Keywords: Essential oil, Antioxidant properties, *Mentha pulegium* (L.), Linseed oil, TBHQ