

# بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ و ریشه گیاه وج (*Acorus calams L.*) بر پایداری روغن سویا در شرایط نگهداری

علی بهنام نیک\*<sup>۱</sup>، امیرحسین الهامی راد<sup>۲</sup>، محمد مهدی نعمت شاهی<sup>۱</sup>، محمدحسین حداد خداپرست<sup>۴</sup>

۱- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

۲- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سبزوار، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، سبزوار، ایران

۴- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۵/۴/۲۱

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۲۱

## چکیده:

امروزه استفاده از آنتی‌اکسیدان شیمیایی در حال محدود شدن است و جوامع به دنبال منابع طبیعی آنتی‌اکسیدانی به عنوان جایگزین این ترکیبات شیمیایی هستند. در این پژوهش خواص آنتی‌اکسیدانی برگ و ریشه گیاه وج از طریق اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنلی و قدرت گیرندگی رادیکال‌های آزاد تعیین و با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT مقایسه شد. هم‌چنین پایداری اکسایشی روغن سویا حاوی عصاره برگ و ریشه گیاه وج از طریق اندازه‌گیری اندیس پراکسید و تیوباریتوریک اسید تعیین شد. برای تهیه عصاره، پودر گیاه وج به روش خیساندن به نسبت ۱:۱۰ با حلال متانول مخلوط گردید و در همزن مغناطیسی به مدت ۴۸ ساعت دردمای محیط قرار گرفت و پس از آن توسط کاغذ صافی صاف گردید. سپس عصاره متانولی برگ و ریشه گیاه وج در غلظت‌های ۱۰۰۰ppm و ۱۰۰۰۰ppm تهیه و خواص آنتی‌اکسیدانی آن تعیین شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت از ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ppm و قدرت گیرندگی رادیکال‌های آزاد و میزان ترکیبات فنلی برگ و ریشه گیاه وج افزایش یافت. این افزایش غلظت نسبت به سطح ما قبل خود و دیگر غلظت‌ها معنی دار بود ( $P < 0.01$ ). در ادامه با اندازه‌گیری پایداری اکسایشی مشخص شد که عصاره برگ گیاه وج در غلظت ۱۰۰۰ppm توانسته به خوبی روغن را از شرایط فساد محافظت کند و عملکرد بهتری نسبت به BHT داشته است، ولی عصاره ریشه گیاه وج، در غلظت مشابه، نتوانسته عملکرد مشابه یا حتی بهتر از BHT داشته باشد. بررسی‌های صورت گرفته نشان داد که عصاره برگ‌های گیاه وج دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و میزان ترکیبات فنلی بیشتری نسبت به ریشه این گیاه بود. در نتیجه عصاره گیاه وج و خصوصاً برگ‌های آن را می‌توان به عنوان منبع مناسب آنتی‌اکسیدانی معرفی و در صنایع غذایی و دارویی استفاده نمود.

**کلمات کلیدی:** گیاه وج، پایداری اکسایشی، روغن سویا، آنتی‌اکسیدان طبیعی

## ۱- مقدمه :

*Acorus calamus L* در زبان فارسی تحت عنوان گیاه وج نامیده می شود. وج گیاهی علفی و چند ساله می باشد و ریشه آن به قطر ۱/۵-۲ سانتی متر، برگ ها شمشیری به اندازه ۱-۱/۵ × ۷۰-۱۷۵ سانتی متر به رنگ سبز و حاشیه غشایی، نوک تیز، بارگبرگ میانی برجسته در هر دو سطح برگ می باشد. دوره رویشی گیاه از بهمن ماه تا آذر ماه سال بعد و زمان گل دهی از اردیبهشت ماه تا مرداد ماه است. این گیاه بومی مناطق گرمسیری آسیا، مناطق معتدله و نیمه گرمسیری آسیا و آمریکای شمالی است (۸). این گیاه در ساحل و بخش های کم عمق آب به صورت توده ای و انبوه می روید. پراکندگی و محل رشد این گیاه در ایران در مازندران، گیلان و ساری و استان های شمالی می باشد. نزدیکترین رویشگاه این گونه در کشورهای افغانستان، پاکستان، ترکیه و آذربایجان است. رویشگاه این گونه به دلایل مختلفی مانند بهره برداری شدید از آب بندان برای آبیاری شالیزارها، چرای دام در فصل تابستان در معرض تهدید قرار دارد (۱۱). گیاه وج در طب سنتی به عنوان تقویت کننده حافظه استفاده می شود (۱۵) و ترکیبات اصلی این گیاه قادرند سطح استل کولین مغز را به عنوان عامل مهم در تقویت حافظه افزایش دهند (۱۴ و ۲۳)، همچنین نتایج پژوهش نادری و همکاران (۱۳۸۸) نشان داد که مصرف خوراکی و تزریقی با دوز بالا گیاه وج قادر است میزان یادآوری اطلاعات را افزایش دهد. این گیاه در طب سنتی مدرن به عنوان آرام بخش، ملین، ادرار آور و داروی ضد نفخ استفاده می شود (۷). پژوهش های مختلفی در زمینه استخراج آنتی اکسیدان های طبیعی از گیاهان دارویی صورت گرفته است که در ادامه به برخی از آنها اشاره می شود. میرزائی و همکاران (۱۳۹۰) خواص آنتی اکسیدانی و فنل تام عصاره هیدرو الکلی خاکشی، بارهنگ، زنیان، گشنیز و شنبلیله را به روش خیساندن مورد ارزیابی قرار دادند. عصاره هیدرو الکلی پنج گیاه نام برده در تمامی مدل ها مورد بررسی قرار گرفت و بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به گیاه بارهنگ بود (۶). احمدوند و

همکاران (۱۳۹۱) ویژگی های آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ گیاه ویتکس (*Vitex Pseudo-negundo*) را مورد مطالعه قرار دادند (۱). عیوقی و همکاران (۱۳۸۸) فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس شوید را با اندازه گیری اعداد پراکسید و تیوباریوتوریک اسید در روغن سویا بررسی نمودند. آن ها به این نتیجه رسیدند که اسانس شوید توانایی جلوگیری از تولید محصولات اولیه و ثانویه اکسیداسیون در روغن سویای خام در سطح غلظتی ۰/۶ میلی گرم در میلی لیتر که تقریباً معادل با آنتی اکسیداسیون شیمیایی BHA در سطح غلظتی ۰/۱ میلی گرم در میلی لیتر می باشد را دارا است (۴).

روغن ها از اجزای مهم غذایی انسان هستند که به صورت مستقیم (نظیر فرآورده های سرخ کردن) و یا به شکل مخلوط با اجزای دیگر (در موردی مثل بیسکویت) مورد استفاده قرار می گیرند. به دلیل مقدار قابل توجهی از پیوندهای دو گانه در بسیاری از روغن ها این مواد در معرض اکسیداسیون و فساد قرار دارند که چنانچه این فساد از حد خاصی تجاوز کند، روغن یا ماده حاوی آن را غیر قابل استفاده برای مصارف غذایی می کند (۱۲). اکسیداسیون لیپیدها در حین نگهداری و فراوری غذاها نه فقط باعث از دست رفتن کیفیت تغذیه ای و هضمی غذا می شود بلکه محصولات اکسید شده ای مانند رادیکال آزاد تولید می کند که این ترکیبات منجر به واکنش های متعدد نامطلوب شیمیایی می شوند. هم چنین رادیکال های آزاد در سامانه های بیولوژیکی و زیستی باعث بروز بسیاری از بیماری ها، خصوصاً سرطان می شوند (۱۰).

هدف از این پژوهش بررسی خصوصیات آنتی اکسیدانی ریشه و برگ گیاه وج از طریق اندازه گیری ترکیبات فنولی و میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد عصاره در غلظت های مختلف و اندازه گیری شاخص پایداری اکسایشی از طریق اندازه گیری اندیس پراکسید و TBA در روغن سویا و مقایسه آن با قدرت آنتی اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۲۰۰ پی پی ام به منظور جایگزین کردن

در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸۰ دقیقه تغلیظ و در نهایت عصاره توسط خشک‌کن تحت خلاء در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد خشک شد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شد (۱۸).

### ۲-۲-۲-۲ اندازه‌گیری میزان کل ترکیبات فنلی :

ابتدا محلول‌های استاندارد اسید گالیک در اتانول با غلظت‌های مختلف در دامنه ۰/۰۴ تا ۰/۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر آماده شد. سپس به بالن ژوژه‌های ۵۰ میلی‌لیتری، نیم میلی‌لیتر محلول استاندارد اسید گالیک، ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتیو و پس از ده دقیقه دو میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم ۷/۵ درصد اضافه و با اتانول به حجم نهایی رسانده شد. پس از گذشت یک ساعت در دمای اتاق، جذب آن در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد.

معادله

$$y = 0/0113x + 0/0766$$

که  $X$  میزان جذب خوانده شده در طول موج ۷۶۰ نانومتر و  $Y$  مقدار ترکیبات فنلی بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است در نهایت غلظت مشخصی از عصاره تهیه و میزان جذب آن نیز مطابق با دستور کار فوق قرائت و میزان ترکیبات فنولی بر حسب درصد اسید گالیک تعیین شد (۲۱).

نگهدارنده‌های سنتزی توسط آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌باشد.

## ۲- مواد و روش‌ها

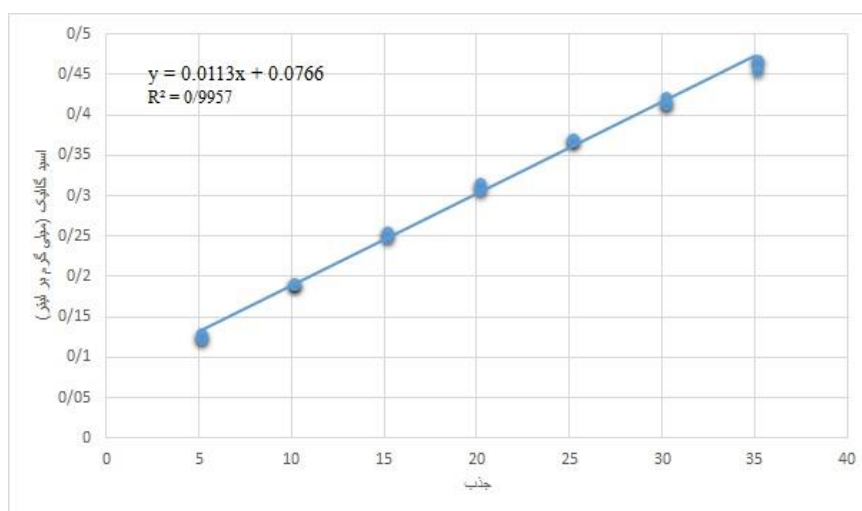
### ۲-۱- مواد

ریشه و گیاه وج پس از تهیه از شمال کشور، ابتدا قسمت‌های زائد موجود در آن جدا گردید، سپس برگ‌ها و ریشه آن جدا و پس از شست‌وشو در دمای محیط و سایه به طور طبیعی خشک گردید. برگ‌ها و ریشه‌های خشک شده به طور جداگانه توسط آسیاب (مجیک بولیت مدل NH) به صورت کامل پودر و الک گردیده و تا زمان استفاده در ظروف خشک و غیر قابل نفوذ به هوا در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

### ۲-۲- روش‌ها

#### ۲-۲-۱- تهیه عصاره برگ و ریشه گیاه وج :

برای تهیه عصاره پودر حاصل به روش خیساندن به نسبت ۱:۱۰ (وزنی-حجمی) با حلال متانول مخلوط گردید و بر روی همزن مغناطیسی با سرعت ۲۵۰ rpm به مدت ۴۸ ساعت در دمای محیط استخراج انجام و پس از آن توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف گردید. سپس به وسیله تبخیر کننده چرخان (مدل LABORATA ۴۰۰۰)



شکل ۱: منحنی کالیبراسیون غلظت‌های مختلف ترکیبات فنولی در برابر میزان جذب خوانده شده در طول موج ۷۶۰ نانومتر

## ۲-۲-۳- اندازه گیری فعالیت مهارکنندگی

**رادیکال آزاد (DPPH) عصاره ریشه و برگ گیاه وج :**  
میزان رویش رادیکال آزاد عصاره با بررسی فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد (DPPH) اندازه گیری شد. ۲ و ۲ دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل<sup>۲</sup> یا (DPPH) یک ترکیب رادیکالی پایدار با رنگ بنفش بوده که با احیا شدن توسط عناصر دهنده الکترون یا هیدروژن (ترکیبات آنتی اکسیدانی) به دی فنیل پیکریل هیدرازیل زرد رنگ تبدیل می شود. توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون توسط ترکیبات و عصاره های مختلف در این تست با میزان بی رنگ کردن یا کاهش میزان جذب نوری محلول بنفش (DPPH) در اتانول مورد سنجش قرار گرفت (۹).

جهت این منظور، ابتدا رقت های مختلفی از عصاره خشک شده ریشه و برگ گیاه وج شامل ۱۰۰۰ ppm و ۱۰۰،۲۰۰،۴۰۰،۶۰۰،۸۰۰ با حلال متانول تهیه گردید. میزان ۲ میلی لیتر از هر کدام از رقت ها را به لوله آزمایش منتقل کرده و سپس مقدار ۲ میلی لیتر معرف DPPH ۰/۰۰۴ درصد به هر لوله اضافه کرده به خوبی هم زده و به مدت ۹۰ دقیقه در دمای محیط و محل تاریک نگه داری و سپس در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر جذب نمونه قرائت شد. قدرت مهارکنندگی رادیکال های آزاد با استفاده از رابطه ۲ محاسبه گردید (۹).

$$I\% = \left( \frac{A_{Blank} - A_{Sample}}{A_{Blank}} \right) \times 100 \quad \text{معادله ۲}$$

در این معادله،  $A_{Blank}$  جذب نوری نمونه شاهد (فاقد عصاره) و  $A_{Sample}$  جذب نوری غلظت های مختلف عصاره می باشد. لازم به توضیح است که در این آزمایش از آنتی اکسیدان سنتزی BHT به میزان ۲۰۰ ppm برای مقایسه استفاده شد.

## ۲-۳- آزمون آون گذاری :

جهت ارزیابی پایداری اکسایشی و خصوصیات آنتی اکسیدانی عصاره برگ و ریشه گیاه وج، عصاره های آماده شده به روش تراوش<sup>۳</sup> در غلظت های ۱۰۰۰ ppm و ۶۰۰،۴۰۰،۲۰۰ به روغن تصفیه شده و بدون آنتی اکسیدان سویا اضافه شده، سپس پایداری اکسیداتیو نمونه های روغن با استفاده از آزمون آون گذاری به مدت ۴ روز در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد مورد ارزیابی قرار گرفت. پارامترهای کیفی شامل اندیس پراکسید و اندیس تیوباریتوریک اسید در فواصل زمانی ۲۴ ساعته تعیین گردید.

## ۲-۳-۱- اندازه گیری عدد پراکسید :

هیدروپراکسیدها محصولات اولیه اکسیداسیون چربی ها هستند و به طور کلی هر قدر درجه غیر اشباعیت روغن ها بیشتر باشد روغن و یا ماده چرب آمادگی بیشتری برای اکسیداسیون دارد. در مراحل ابتدایی فرآیند اکسیداسیون، میزان این ترکیبات کم است اما در مرحله انتشار، میزان هیدروپراکسیدها به سرعت افزایش می یابد. در این مرحله تعیین عدد پراکسید شاخص مناسبی از وضعیت اکسایش روغن ها می باشد. در این روش مقدار ۵ گرم نمونه آماده شده در ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری وزن گردید و ۳۰ میلی لیتر حلال (مخلوط اسید استیک و کلروفرم) به آن اضافه شد سپس حدود ۰/۵ میلی لیتر یدور پتاسیم به آن اضافه و مخلوط به مدت یک دقیقه ساکن گذاشته و گاهی همزده شد، سپس حدود ۳۰ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید و مخلوط به مدت یک دقیقه ساکن گذاشته شده و با چند قطره چسب نشاسته به محلول اضافه و همزده شد و با محلول تیوسولفات ۰/۰۲ نرمال تیترو گردید. وقتی که رنگ نمونه به یک حالت شفاف و زلال رسید تیتراسیون متوقف و عدد پراکسید بر حسب میلی اکی والان بر کیلوگرم از طریق فرمول زیر محاسبه گردید (۲۰).

<sup>3</sup> Percolation

<sup>2</sup> 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

معادله ۳

(حجم نمونه) ÷ (حجم تیتراسیون مصرفی × نرمالیت × ۱۰۰۰)

پژوهش بررسی گردید. نتایج آنالیز واریانس غلظت‌های مختلف عصاره برگ گیاه وج انجام و میزان ترکیبات فنلی هر غلظت تعیین و با یکدیگر مقایسه شد که نتایج در شکل ۲ نشان داده شده است.

نتایج نشان داد که با افزودن عصاره برگ گیاه وج از غلظت ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ ppm مقدار ترکیبات فنلی موجود به ترتیب غلظت افزایش یافت. این افزایش در تمام غلظت‌ها نسبت به یکدیگر بررسی و در سطح احتمال ۹۹ درصد معنی دار بود ( $P < 0.01$ ).

در ادامه ۲۰۰ پی پی ام آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در متانول افزوده شد و با دیگر غلظت‌های مختلف عصاره برگ گیاه وج مقایسه شد که نتایج بررسی مقایسه غلظت‌ها در نمودار ۲ نشان داده شده است. با توجه به شکل ۲، غلظت‌های ۴۰۰ ppm و ۱۰۰، ۲۰۰ دارای مقدار ترکیبات فنلی کمتری نسبت به BHT هستند و غلظت ۴۰۰ ppm با اختلاف نسبتاً کمی با BHT در سطح پایین‌تری قرار داشت. اما همانطور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود غلظت‌های ۱۰۰۰ ppm و ۶۰۰، ۸۰۰ عصاره برگ گیاه وج دارای مقدار ترکیبات فنلی بیشتری نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT می‌باشند که از نظر آماری در سطح احتمال ۹۹ درصد معنی دار بود. بنابراین با توجه به نمودار و نتایج بدست آمده می‌توان به این نتیجه رسید که عصاره برگ گیاه وج در غلظت‌های ۱۰۰۰ ppm و ۶۰۰، ۸۰۰ با دارا بودن ترکیبات فنلی بیشتر نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT، دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی مطلوبی بوده و در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT به میزان موثرتری عمل نموده است و به عبارتی افزایش غلظت باعث افزایش میزان ترکیبات فنلی شده است.

نتایج آنالیز واریانس غلظت‌های مختلف عصاره ریشه گیاه وج بر مقدار ترکیبات فنلی موجود که با استفاده از تست فولین اندازه‌گیری شده بود نشان داد که میزان تغییرات افزایش ترکیبات فنلی روندی مشابه با عصاره برگ گیاه وج داشته است به عبارتی دیگر با افزایش غلظت از ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ ppm مقدار ترکیبات فنلی افزایش یافته است که این

### ۲-۳-۲- محاسبه شاخص تیوباریتوریک اسید:

اندیس TBA میلی‌گرم مالون دی‌آلدئید موجود در ۱۰۰۰ گرم روغن را نشان می‌دهد و بیانگر مراحل ثانویه اکسیداسیون چربی و حضور ترکیبات ثانویه اکسیداسیون در نمونه است بنابراین بالا بودن این اندیس در روغن نشان دهنده اکسیداسیون بیشتر روغن و در نتیجه پایداری کمتر آن است. برای اندازه‌گیری شاخص تیوباریتوریک اسید در یک ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری، یک گرم نمونه، یک میلی‌لیتر محلول ۰/۷۵ درصد اسید تیوباریتوریک و ۲ میلی‌لیتر محلول ۳۵ درصد اسید تری‌کلرواستیک اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت. پس از این مدت مخلوط به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. فاز آبی با سرنگ خارج و به سل اسپکتروفوتومتری منتقل شد. جذب نمونه با دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت شد. به این ترتیب مقدار جذب نمونه در طول موج مذکور به عنوان شاخص تیوباریتوریک اسید در نظر گرفته شد (۱۹).

### ۲-۴- تجزیه و تحلیل آماری

جهت بررسی نتایج، از طرح آماری فاکتوریل در غالب طرح کاملاً تصادفی و استفاده گردید. داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقایسه میانگین داده‌ها با هم نیز با استفاده از آزمون دانکن در سطح آماری ۹۹ و ۹۵ درصد انجام شد. هم‌چنین برای ترسیم نمودار از نرم افزار Microsoft Excel نسخه ۲۰۱۳ استفاده گردید.

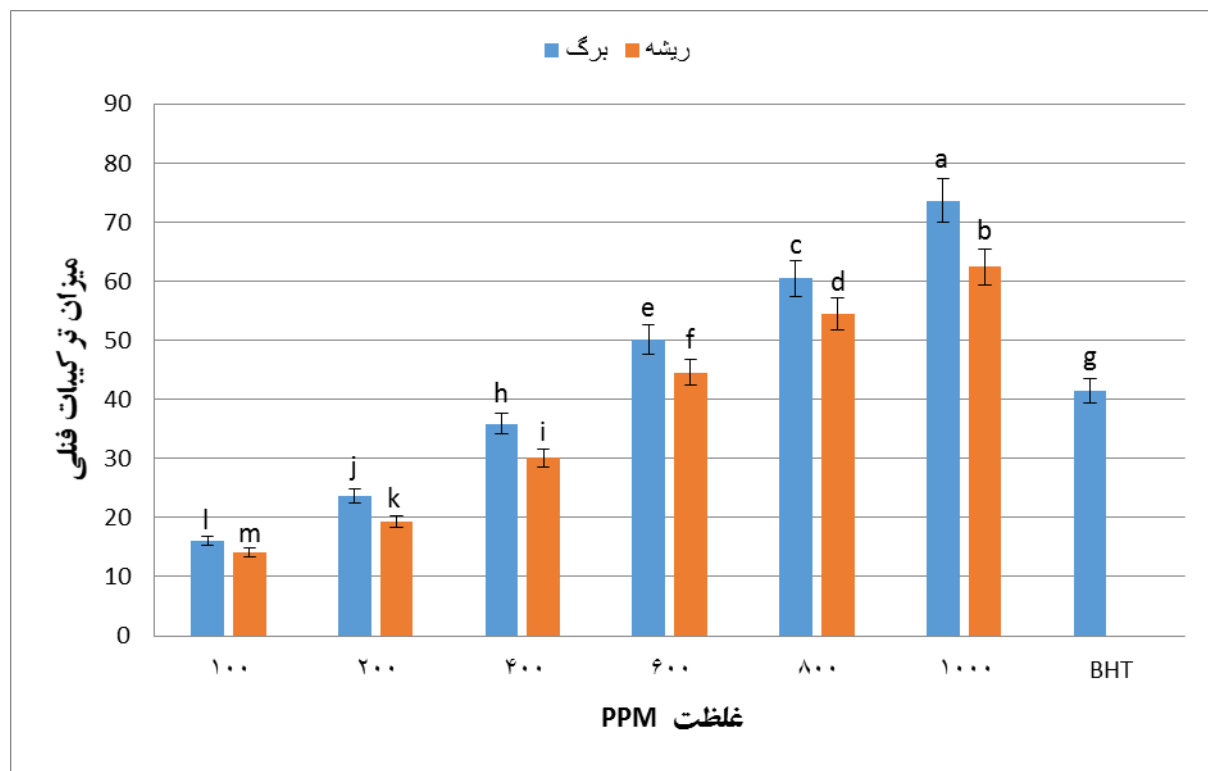
### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- اندازه‌گیری میزان کل ترکیبات فنلی:

با توجه به اهمیت فنول‌ها و ترکیبات فنلی و حضور گسترده آنها در محصولات غذایی و گیاهی و وجود خواص آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه آنها، سنجش و ارزیابی آنها در این

نتایج این پژوهش با نتایجی که توسط عشقی و همکاران (۱۳۹۲) به دست آمده بود مطابقت داشت، این محققین مقایسه کارایی آنتی‌اکسیدانی عصاره کورکومین زردچوبه با آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و سنتزی در سیستم مدل غذایی روغن سویا انجام دادند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کورکومین میزان اکسیداسیون به طور معنی‌دار کاهش یافته که با افزایش غلظت عصاره قدرت آنتی‌اکسیدانی و مقدار ترکیبات فنولی عصاره‌ها افزایش یافته است. روغن حاوی عصاره کورکومین با غلظت ۰٫۰۲ درصد میزان ترکیبات فنولی مشابه و حتی بیشتر از TBHQ با غلظت ۰٫۰۱۲ درصد داشته است. در نتیجه افزایش غلظت نمونه باعث افزایش میزان ترکیبات فنولی همانند عصاره گیاه وج شده است و غلظت PPM ۱۰۰۰ عصاره گیاه وج بیشترین میزان ترکیبات فنولی را دارا بوده است (۳).

افزایش نمونه نسبت به یکدیگر در سطح آماری ۹۹ درصد معنی‌دار بود ( $P < 0.01$ ). مقایسه غلظت‌های مختلف عصاره ریشه گیاه وج با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در شکل ۲ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود غلظت‌های ppm ۴۰۰ و ۲۰۰ و ۱۰۰ دارای میزان ترکیبات فنولی کمتری نسبت به BHT هستند و قدرت آنتی‌اکسیدانی کمتری دارند ولی غلظت‌های ppm ۱۰۰۰ و ۸۰۰ و ۶۰۰ دارای مقدار ترکیبات فنولی بیشتری نسبت به BHT بوده و قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتری دارند که در این بین ترکیبات فنولی غلظت ppm ۶۰۰ نزدیک به BHT بوده ولی از آن بیشتر است. در نتیجه غلظت‌های بالاتر عصاره ریشه گیاه وج دارای میزان ترکیبات فنولی بیشتری نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT بوده و با افزایش غلظت میزان خواص آنتی‌اکسیدانی این عصاره افزایش می‌یابد.



شکل ۲: تغییرات مقدار کل ترکیبات فنولی غلظت‌های مختلف عصاره برگ و ریشه گیاه وج و مقایسه آن با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT

## ۳-۲- اندازه گیری قدرت رادیکال گیرندگی :

نتایج آنالیز واریانس تاثیر غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه وج بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد که با استفاده از آزمون DPPH اندازه گیری و در شکل ۳ نشان داده شده است.

با بررسی اثر عصاره برگ گیاه وج بر قدرت مهارکنندگی رادیکال های آزاد مشاهده شد که با افزایش غلظت عصاره، فعالیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد به طور قابل توجهی افزایش یافت به گونه ای که فعالیت رادیکال گیرندگی از ۱۵/۷ درصد برای غلظت ۱۰۰ ppm تا ۷۶/۸ درصد برای غلظت ۱۰۰۰ ppm افزایش یافت (شکل ۳). با توجه به نتایج بدست آمده با افزایش غلظت، قدرت مهارکنندگی رادیکال های آزاد عصاره برگ گیاه وج از غلظت ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ ppm نسبت به سطح ماقبل خود افزایشی و معنی دار بوده است ( $P < 0.01$ ).

در مرحله بعد با افزودن ۲۰۰ ppm آنتی اکسیدان سنتزی BHT و مقایسه فعالیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد آن با غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه وج مشخص شد که فعالیت رادیکال گیرندگی این آنتی اکسیدان سنتزی در غلظت به کار برده شده برابر ۴۴/۲ درصد بود که نسبت به غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm با مقادیر ۲۴/۱، ۱۵/۷ و ۳۷/۶ درصد از نظر آماری در سطح بالاتری قرار داشت. در ادامه مشخص شد که آنتی اکسیدان سنتزی BHT نسبت به غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm با مقادیر ۵۴/۸ و ۶۳/۶ و ۷۶/۸ درصد در سطح آماری پایین تری قرار داشت و فعالیت رادیکال گیرندگی کمتری داشت (شکل ۳).

با توجه به شکل ۳ می توان به این نتیجه رسید که با افزایش غلظت، قدرت مهارکنندگی رادیکال های آزاد افزایش می یابد. غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm عصاره برگ گیاه وج با دارا بودن قدرت مهارکنندگی بیشتر نسبت به آنتی اکسیدان سنتزی BHT دارای خواص آنتی اکسیدانی بیشتر و بهتری بوده است.

تاثیر غلظت های مختلف عصاره ریشه گیاه وج بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد که با استفاده از آزمون

DPPH اندازه گیری شده بود، در شکل ۳ نشان داده شده است.

نتایج نشان می دهد که میزان تغییرات رادیکال گیرندگی عصاره ریشه گیاه وج روندی مشابه با برگ های آن داشته است به عبارتی دیگر با افزایش غلظت از ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ ppm قدرت مهار رادیکال های آزاد افزایش یافته است. این افزایش غلظت نمونه ها نسبت به یکدیگر و سطح ماقبل خود افزایشی و در سطح آماری ۹۹ درصد معنی دار بوده است ( $P < 0.01$ ).

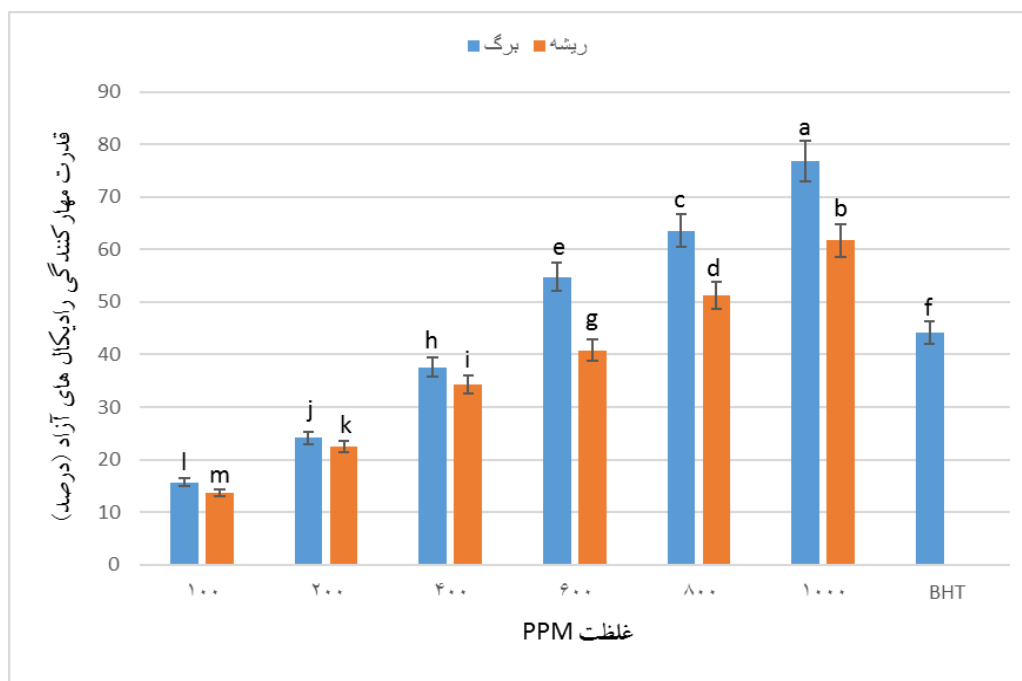
با مقایسه ۲۰۰ ppm آنتی اکسیدان سنتزی BHT با غلظت های مختلف عصاره ریشه گیاه وج نشان می دهد که این آنتی اکسیدان دارای قدرت مهارکنندگی بیشتری نسبت به غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ ppm داشته است ولی همانطور که در نمودار ۵ مشاهده می شود قدرت مهارکنندگی غلظت های ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm بیشتر از آنتی اکسیدان سنتزی BHT بوده است و عملکرد بهتری داشته است.

بالاتر بودن فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH را می توان به محتوای فنولی عصاره ها نسبت داد. در غلظت های بالاتر ترکیبات فنولی، به دلیل افزایش تعداد گروه های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می یابد. فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد توسط فلاوونوئیدها به حضور گروه های هیدروکسیل آزاد وابسته است (۱۶). در نتیجه غلظت های بالاتر عصاره ریشه گیاه وج با دارا بودن ترکیبات فنولی دارای قدرت مهارکنندگی بهتر و در نتیجه خواص آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به آنتی اکسیدان سنتزی BHT بوده است.

در تأیید نتایج این پژوهش، تحقیقات مختلف توسط پژوهشگران صورت گرفته است. در مطالعه ای نباوی و همکاران (۲۰۱۰) خواص آنتی اکسیدانی قسمت های مختلف گیاه آدَمک (*Biebersteinia multifida*) را اندازه گرفتند. نتایج آن ها نشان داده گیاه آدَمک دارای

رسیدند که رابطه مستقیمی بین میزان فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره این گیاهان وجود دارد به طوری که در این بین گیاه *Mentha Piperita* میزان فنول کل بالا (۴۹۳ میلی گرم معادل اسید گالیک در هر گرم) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر (IC<sub>50</sub> برابر ۰/۲۳ میلی گرم بر میلی لیتر) و گیاه *Capparis Ovate* میزان فنول کل پایین تر (۱۸۵ میلی گرم معادل اسید گالیک در هر گرم) و نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی پایین (IC<sub>50</sub> برابر ۴/۰۸ میلی گرم بر میلی لیتر) را نشان دادند (۲۲).

خواص آنتی‌اکسیدانی بوده و با آزمایشاتی که بر روی برگ، گل و دیگر قسمت‌های گیاه انجام شد مشخص گردید که برگ ها دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بیشتری بوده اند، هم چنین مشخص شد که با افزایش غلظت های عصاره های مختلف تهیه شده میزان ترکیبات فنلی و قدرت رادیکال گیرندگی و به دنبال آن خواص آنتی‌اکسیدانی افزایش یافته است (۱۷). در تحقیقی مشابه یونور و همکاران (۲۰۰۹) فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنول کل عصاره متانولی تعدادی از گیاهان را بررسی کرده و به این نتیجه



شکل ۳: تغییرات فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد غلظت‌های مختلف عصاره برگ و ریشه گیاه وج و مقایسه آن با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT

اکسیدان سنتزی BHT اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال ۹۹ درصد وجود داشت. هم چنین بین نمونه شاهد و ۴۰۰ppm اختلاف معنی‌داری وجود نداشت و تا روز سوم نگره‌داری این روند ادامه داشت. ولی با گذشت زمان و در روز چهارم نگره‌داری بین غلظت ۱۰۰۰ppm و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT نسبت به سایر غلظت‌ها اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت و نمونه شاهد با تمام غلظت‌ها به غیر از غلظت ۴۰۰ppm اختلاف معنی‌داری داشت و نمونه شاهد نیز بیشترین میزان عدد پراکسید را نسبت به کلیه

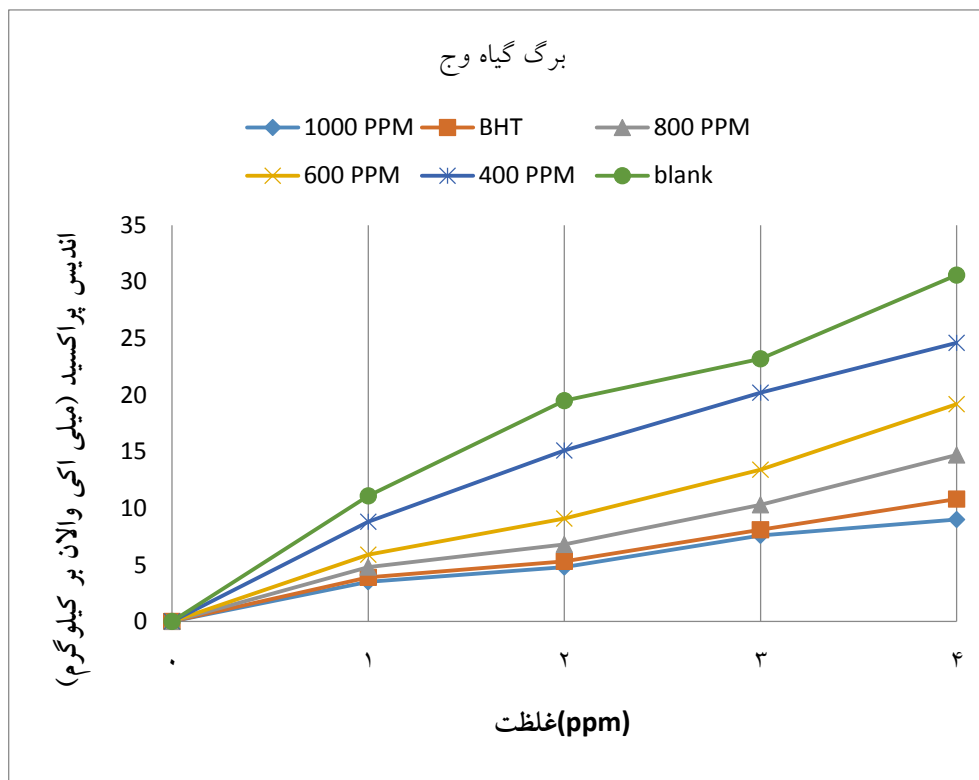
### ۳-۳- اندازه گیری اندیس پراکسید:

نتایج آنالیز واریانس و تاثیر تیمار دما (۶۰ درجه سانتی گراد) و زمان بر میزان عدد پراکسید نمونه‌ها معنی دار بوده است ( $P < 0.05$ ). تغییرات مقدار اندیس پراکسید روغن سویا در غلظت‌های مختلف عصاره برگ گیاه وج در شکل ۴ نشان داده شده است. با توجه به شکل در روز اول نگره‌داری بین داده‌ها اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت ولی در روز دوم نگره‌داری بین نمونه شاهد و غلظت‌های ۶۰۰ ppm تا ۱۰۰۰ppm و ۲۰۰ppm آنتی



محافظت کند ولی همانطور که مشاهده می‌شود غلظت ۱۰۰۰ ppm عملکرد بهتری در طی ۴ روز نگهداری داشته و توانسته است روغن را بصورت موثرتری از اکسیداسیون محافظت کند.

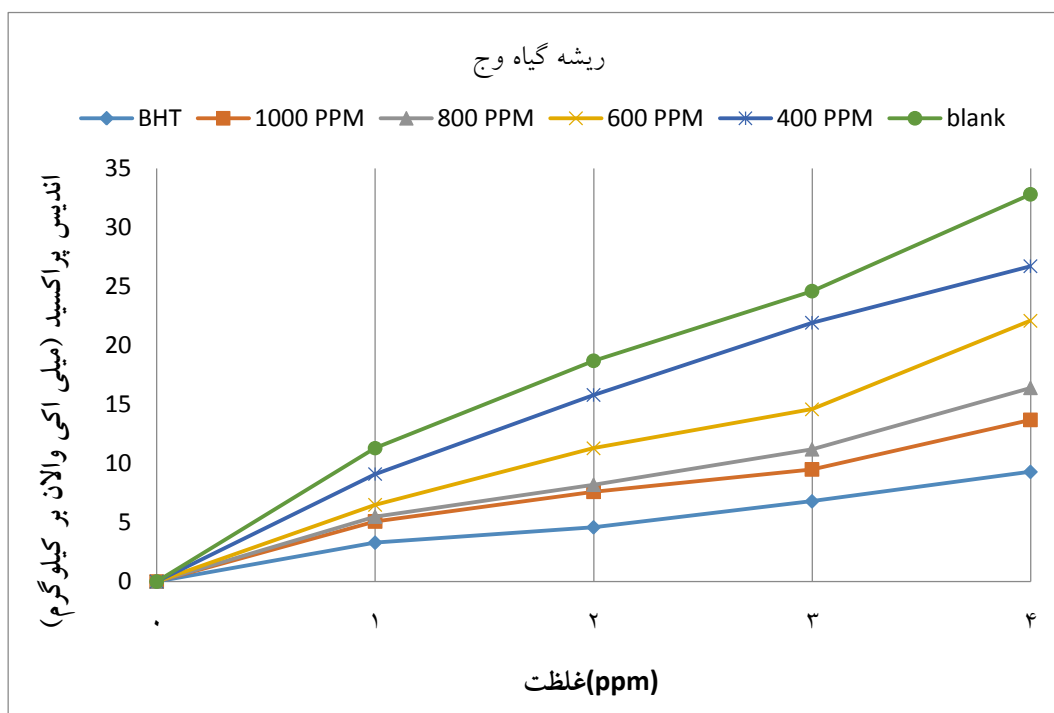
تیمارها از خود نشان داد که ناشی از عدم افزوده شدن آنتی‌اکسیدان بود. با اضافه کردن ۲۰۰ ppm آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT مشخص شد که این آنتی‌اکسیدان سنتزی توانسته بود به میزان قابل توجهی روغن را از شرایط فساد اکسیداتیو



شکل ۴: میزان تغییرات اندیس پراکسید روغن سویا در غلظت‌های مختلف عصاره برگ گیاه وج

عصاره و سایر غلظت‌ها اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت ولی غلظت ۴۰۰ ppm و ۶۰۰ ppm عصاره نسبت به هم اختلاف قابل توجهی نداشتند و این روند در روز چهارم نگهداری ادامه داشت. اضافه کردن ۲۰۰ ppm آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT نشان داد که این آنتی‌اکسیدان در تمامی روزها به غیر از روز اول و دوم نسبت به سایر تیمارها اختلاف آماری معنی‌داری داشت و توانست نسبت به تمامی غلظت‌ها روغن را در برابر شرایط فساد اکسیداتیو بهتر محافظت کند. بنابراین عصاره ریشه گیاه وج دارای عملکرد ضعیف‌تری نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT بوده.

در ادامه نتایج آنالیز واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره ریشه گیاه وج بر میزان اندیس پراکسید در شکل ۵ نشان داده شده است ( $P < 0.05$ ). نتایج آماری نشان داد در روز اول نگهداری بین غلظت‌های مختلف ریشه گیاه وج و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت. ولی از روز دوم نگهداری به بعد بین نمونه شاهد و سایر غلظت‌ها به غیر از غلظت ۴۰۰ ppm عصاره اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت و نمونه شاهد دارای بیشترین میزان عدد پراکسید بود. در ادامه و در روز سوم نگهداری بین غلظت‌های ۸۰۰ ppm و ۱۰۰۰ ppm



شکل ۵: میزان تغییرات اندیس پراکسید روغن سویا در غلظت‌های مختلف عصاره ریشه گیاه وج

شاخص تیوباریتوریک اسید را کنترل کرده و جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT در دو سطح ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm شود (۲).

#### ۳-۴- محاسبه شاخص تیوباریتوریک اسید:

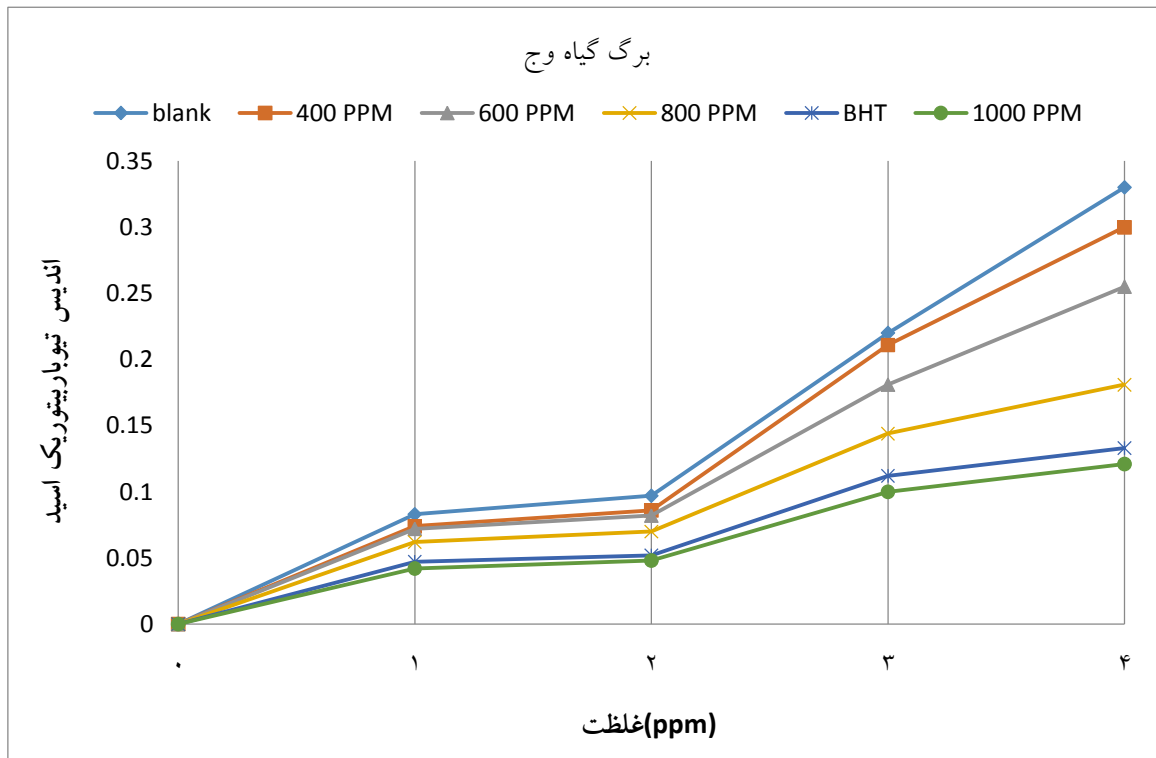
نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تاثیر تیمار دما (۶۰ درجه سانتی‌گراد) و زمان بر میزان عدد تیوباریتوریک اسید (TBA) نمونه‌های تلقیح شده با آنتی‌اکسیدان، معنی‌دار بوده است ( $P < 0.05$ ). تغییرات شاخص تیوباریتوریک اسید (TBA) و غلظت‌های مختلف عصاره برگ گیاه وج و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در روزهای مختلف نگهداری در شکل ۶ نشان داده شده است. نتایج نشان داد در روزهای اول و دوم نگهداری اختلاف آماری معنی‌داری بین تیمارها وجود ندارد. بین نمونه شاهد و غلظت ۴۰۰ ppm اختلاف معنی‌داری وجود نداشت و فقط در روز چهارم نگهداری از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید. همچنین غلظت‌های ۴۰۰ ppm و ۶۰۰ ppm عصاره فقط در روز چهارم نگهداری با هم اختلاف معنی‌داری داشتند. ولی غلظت‌های ۸۰۰ ppm و ۱۰۰۰ ppm در روز سوم و چهارم

نتایج این پژوهش با نتایج زیاور و همکاران (۲۰۰۴) مطابقت داشت، وی و همکارانش عصاره‌های پوست سیب زمینی را به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی جهت پایداری روغن سویا استفاده نمودند و به این نتیجه رسید که بر مبنای تغییرات اندیس اسیدی، عدد پراکسید و عدد یدی، عصاره پوست سیب زمینی جهت پایداری روغن سویا طی ذخیره سازی مشابه آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک عمل نموده و می‌تواند به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی ارزان و فراوان کاربرد گسترده‌ای در آینده داشته باشد (۲۴). هم چنین در تحقیق دیگری رفیعی و همکاران (۱۳۹۲)، ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ زیتون و کاربرد آن در روغن آفتابگردان را بررسی و با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT مقایسه کردند. آن‌ها اثر عصاره متانولی واریته کرونایکی<sup>۴</sup> بر پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان با اندازه‌گیری دو فاکتور اندیس پراکسید و اسید تیوباریتوریک بررسی کردند. نتایج نشان داد عصاره در سطح ۱۰۰۰ ppm به خوبی توانست اندیس پراکسید و

<sup>۴</sup> koroneiki

نگهداری نسبت به سایر غلظت‌ها به غیر از غلظت ۱۰۰۰ppm عصاره اختلاف آماری معنی‌داری داشته و توانسته روغن را در برابر واکنش‌های اکسیداسیون چربی محافظت کند. ولی همان طور که در شکل ۶ مشاهده می‌گردد غلظت ۱۰۰۰ppm عصاره ریشه گیاه وج دارای عملکرد بهتر و قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT بوده است.

نگهداری نسبت به سایر غلظت‌ها اختلاف آماری معنی‌داری داشتند. غلظت ۱۰۰۰ppm عصاره با کم‌ترین افزایش عدد TBA نسبت به سایر غلظت‌ها عملکرد بهتری داشته و در نتیجه باعث جلوگیری از واکنش‌های ثانویه اکسیداسیون چربی و کاهش معنی‌دار اندیس TBA شده. در ادامه و با اضافه کردن ۲۰۰ppm آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT مشخص شد که این آنتی‌اکسیدان در روزهای سوم و چهارم



شکل ۶: محاسبه شاخص تیوباربتوریک اسید (TBA) روغن سویا در غلظت‌های مختلف عصاره برگ گیاه وج در مقایسه با

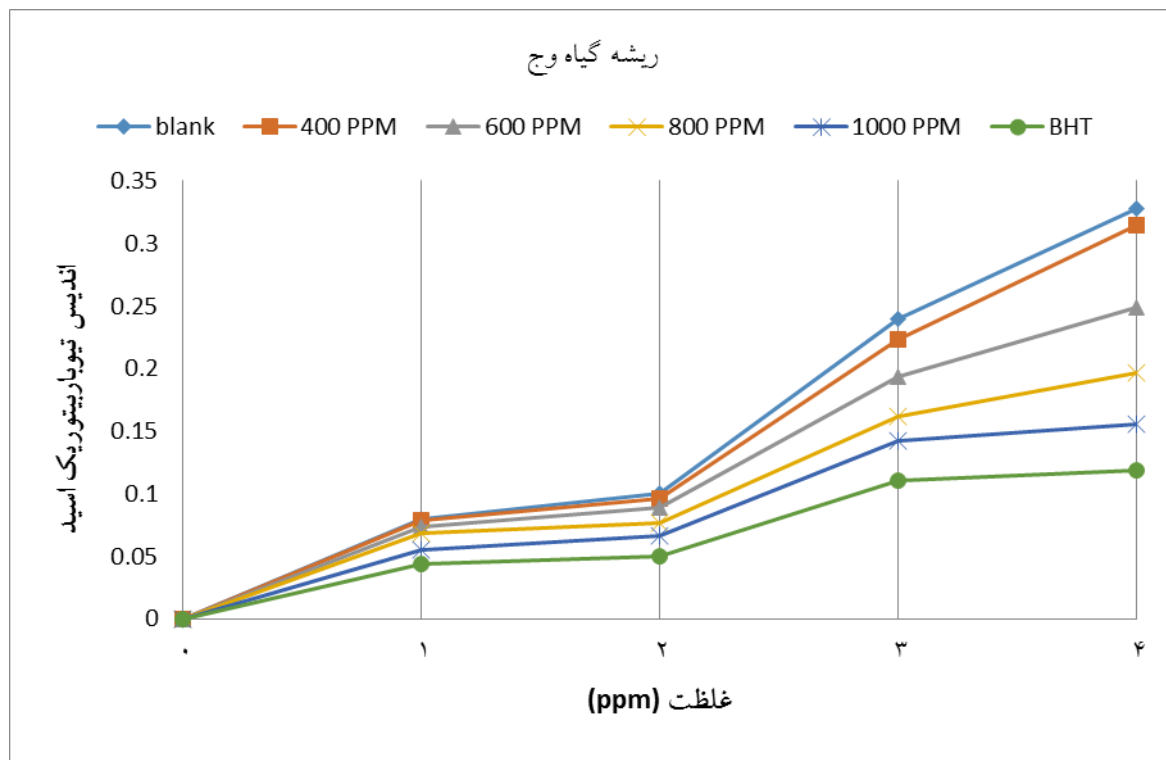
#### آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT

اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت. در غلظت‌های ۸۰۰ ppm و ۱۰۰۰ppm عصاره روند افزایش اندیس TBA کم‌تر بود و این دو غلظت از نظر آماری به جز روزهای اول نگهداری اختلاف آماری معنی‌داری با سایر غلظت‌ها داشتند. غلظت ۱۰۰۰ ppm عصاره نیز به دلیل قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتر کم‌ترین میزان افزایش عدد TBA را نسبت به سایر غلظت‌ها داشته و از این نظر عملکرد بهتری داشته است. با افزودن ۲۰۰ppm آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT مشخص شد که این ترکیب سنتزی در تمامی روزهای نگهداری به جز روز اول نگهداری نسبت به سایر

در ادامه نتایج آنالیز واریانس یک طرفه تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره ریشه گیاه وج بر میزان اندیس TBA در شکل ۷ نشان داده شده است ( $P < 0.05$ ). نتایج نشان داد که در روزهای اول نگهداری اختلاف آماری معنی‌داری بین غلظت‌ها وجود ندارد ولی از روز دوم نگهداری به بعد و خصوصا از روز سوم نگهداری اختلاف آماری معنی‌داری بین نمونه شاهد و سایر غلظت‌ها به غیر از غلظت ۴۰۰ppm عصاره وجود دارد نمونه شاهد دارای بیشترین میزان عدد TBA می‌باشد. هم‌چنین بین غلظت‌های ۴۰۰ ppm و ۶۰۰ppm عصاره به جز روز سوم و چهارم نگهداری

عصاره با اینکه دارای قدرت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد ولی نتوانسته پایداری اکسایشی بالاتری مانند BHT داشته باشد.

غلظت‌ها و تا حدودی غلظت ۱۰۰۰ ppm عصاره از نظر آماری اختلاف معنی‌داری داشته است و نسبت به سایر غلظت‌ها موثرتر عمل نموده است. غلظت ۱۰۰۰ ppm



شکل ۷: محاسبه شاخص تیوباربتوریک اسید (TBA) روغن سویا در غلظت‌های مختلف عصاره ریشه گیاه وج در مقایسه با

#### آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT

بررسی نمودند. آنها عصاره‌های متانولی پوست انار را در غلظت‌های ۱۰۰۰ ppm، ۵۰۰ ppm، ۲۵۰ ppm به روغن آفتابگردان اضافه نمودند. آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۲۰۰ ppm به عنوان یک استاندارد برای مقایسه استفاده گردید. وزن بدست آمده، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، اندیس پراکسید، عدد کنژوکه و محاسبه شاخص تیوباربتوریک اسید به عنوان پارامترهای ارزیابی پایداری عصاره‌های متانولی پوست انار بررسی شدند. نتایج پارامترهای مختلف نشان دادند که استفاده از پوست انار می‌تواند به عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدانی قوی برای پایداری روغن آفتابگردان باشد (۱۳). در نتیجه با مقایسه این تحقیق با شاخص تیوباربتوریک اسید (TBA) روغن سویا غلظت‌های مختلف عصاره گیاه وج می‌توان به این نتیجه رسید که غلظت ۱۰۰۰ PPM گیاه وج توانسته همانند

نتایج این پژوهش با نتایج قره خانی و همکاران (۱۳۸۸) مطابقت داشت، او و همکارانش اثر عصاره برگ گیاه گزنه (*Urtica dioica*) را در جلوگیری از اکسیداسیون روغن سویا بررسی کردند. به تاخیر انداختن اکسیداسیون در روغن سویا با اثر آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT در دو سطح (۱۰۰ و ۲۰۰ ppm) از طریق تعیین عدد پراکسید و شاخص تیوباربتوریک اسید مورد مقایسه قرار گرفتند. نتایج این آزمایش نشان دادند که غلظت‌های بالایی از عصاره‌ها قادرند تا حد زیادی روند اکسیداسیون را کند نمایند. به این ترتیب می‌توان برگ‌های گزنه را به عنوان منبعی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی معرفی نمود و این اثر را ناشی از حضور ترکیبات فنولی در برگ‌ها دانست (۵).

در تحقیق دیگر اقبال و همکاران (۲۰۰۸)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست انار را در پایداری روغن آفتابگردان

۳. عشقی، ن. حدادخداپرست، م. ح. حسینی، ف. بلوریان، ش. ۱۳۹۲. مقایسه کارایی آنتی‌اکسیدانی کورکومین زردچوبه با آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و سنتزی در سیستم مدل غذایی (روغن سویا)، نوآوری در علوم و فناوری غذایی (علوم و فناوری غذایی)، دوره ۵، شماره ۱، صفحه ۱۳-۲۲.

۴. عیوقی، ف. برزگر، م. سحری، م. ع. نقدی بادی، ح. بهار (۱۳۸۸). بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی در روغن سویا و مقایسه آن با آنتی‌اکسیدان‌های (Anethum graveolens) اسانس شوید شیمیایی، فصلنامه گیاهان دارویی، سال هشتم، دوره دوم، شماره مسلسل سی ام.

۵. قره خانی، م. قربانی، م. ابراهیم زاده، م. ع. جعفری، س. م. صادقی ماهونک، ع. ۱۳۸۸. اثر عصاره برگ گیاه گزنه (*Urtica dioica*) در جلوگیری از اکسیداسیون روغن سویا. مجله الکترونیک فرآوری و نگهداری مواد غذایی، جلد اول، شماره دوم، صفحه ۸۵-۱۰۲.

۶. میرزایی، ع. محمدی، ج. میرزایی، ن. میرزایی، م. ۱۳۹۰. ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی و فنل تام عصاره هیدروالکلی خاکشی، بارهنگ، زنیان، گشنیز و شنبلیله. مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا. ۱ (۳): ۱۶۰-۱۶۷.

۷. نادری، غ. خلیلی، م. کریمی، م. سلطانی، م. ۱۳۸۹. بررسی مصرف خوراکی و تزریق داخل صفاقی عصاره گیاه وج (*Acorus calamus L.*) بر میزان حافظه و یادگیری در موشهای صحرایی نر، فصلنامه گیاهان دارویی، سال نهم، دوره دوم، شماره ۳۴.

عصاره پوست انار به عنوان یک منبع قوی آنتی‌اکسیدانی روغن را در برابر شرایط فساد محافظت نموده و باعث پایداری آن شود.

#### ۴- نتیجه گیری :

با بررسی‌های صورت گرفته مشخص شد که برگ‌های گیاه وج در مقایسه با ریشه آن در اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنولی و DPPH دارای میزان فنول و قدرت رادیکال گیرندگی بیشتر و در نتیجه دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به ریشه گیاه وج بوده است. با اضافه کردن آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT مشخص شد که غلظت‌های بالاتر برگ و ریشه گیاه وج عملکرد بهتری نسبت به BHT داشته است و غلظت ۱۰۰۰ ppm دارای بهترین عملکرد بود و به این نتیجه می‌توان رسید که با افزایش غلظت عصاره، مقدار ترکیبات فنولی، قدرت رادیکال گیرندگی و خواص آنتی‌اکسیدانی افزایش یافته است. با بررسی اندیس پراکسید TBA مشخص شد که غلظت ۱۰۰۰ ppm برگ گیاه وج در مقایسه با BHT توانسته روغن را در برابر شرایط فساد بهتر محافظت کند و عملکرد بهتری داشته ولی غلظت ۱۰۰۰ ppm عصاره ریشه با اینکه توانسته روغن را تا حدودی از شرایط فساد اکسیداتیو محافظت کند ولی دارای عملکرد ضعیف تر نسبت به BHT بوده است. بنابراین برگ و ریشه گیاه وج را می‌توان به عنوان منبع آنتی‌اکسیدانی مناسب و جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی معرفی نمود.

#### ۵- منابع :

8. Bogner, J. 2011. Acorales (Sweet Flag). In: eLS. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester. DOI: 10.1002/9780470015902.a0003701.pub2

9. Burits, M., Bucar, F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research* 14, 323-328.

10. Espin, J.C, Soler, C and wichers H.J. 2000. characterisation of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *J. of Agr. and food chemistry*, 48:648-656.

11. Gholipour, A & Sonboli, A. 2013. Rediscovery of *Acorus calamus* (Acoraceae) in Iran. *Taxonomy and Biosystematics*, 5th Year, No. 15

۱. احمدوند، ح. امیری، ح. اکباتانذهمدانی، س. باقری ش. ۱۳۹۱. ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ گیاه ویتکس- (*Vitex pseudo-negundo*). ۱۴ (۲): ۵-۱۳.

۲. رفیعی، ز. جعفری، س. م. اعلمی، م. خمیری، م. ۱۳۹۲. ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ زیتون و کاربرد آن در روغن آفتابگردان، مجله پژوهش‌های صنایع غذایی، جلد ۲۱، شماره ۱، صفحه ۱۲-۲۳.

19. Seabury, k., 2002 .The effect of antioxidants in preventing farther oxidation in TBA analysis. California state science fair. Project number, Jo404.
20. Shantha, N.C., and Decker E.A . 1994. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *Journal of the American Oil Chemis' Society*, 77: 21–424.
21. Stoilova I, Krastanov A, Stoyanova A, Denev P, Gargova S. 2007. Antioxidant activity of ginger extract(*Zingiber officinale*). *Food Chemistry*; 102: 764-70.
22. Unver, A , Arslan, D, Ozcan, M.M and Akbulut, M. 2009. Phenolic content and antioxidant activity of some spices, *World Appl, Sci, J. 6*: 373 - 7.
23. Zhang XL, Sullivan JA, Moskal JR, Stanton PK. 2008. A NMDA receptor glycine site partial agonist, GLYX-13, simultaneously enhances LTP and reduces LTD at Schaffer collateral-CA1 synapses in hippocampus. *Neuropharmacology*. 55: 1238 - 50.
24. Zia-ur, R., Habib, F., Shah, W.H. 2004. Utilization of potato peels extract as a natural antioxidant in soy bean oil. *Journal of Food Chemistry*. (85): 215–20.
12. Haumann, B.F. 1994. Antioxidants: Health implications still debated. *INFORM 5*:52-242.
13. Iqbal, S., Haleem, S., Akhtar, M., Zia-ul-Haq, M., Akbar, J. 2008. Efficiency of pomegranate peel extracts in stabilization of sunflower oil under accelerated conditions. *Journal of Food Research International*, 41 (2), 194-200.
14. Kim YH, Cho J, Kong JY, Yang CH, Park CG. 2002. Protection of cultured rat cortical neurons from excitotoxicity by asarone, a major essential oil component in the rhizomes of *Acorus gramineus*. *Life Sci*. 71(5): 591 - 9.
15. Mirheidar H. .aref kiahi. 1375 *Daftar Nashr Farhang Eslami*. Eslamic Republic of Iran. pp: 342 - 5.
16. Mahdavi, D.L., Deshpande, S.S. and Salunkhe, D.K. 1996. *Food Antioxidants* New York: Marcel Dekker, Inc, USA. 378P.
17. Nabavi, S.F. Ebrahimzadeh, M.A. Nabavi, S.M. Eslami, B. Dehpour, A. 2010. Antihemolytic and antioxidant activities of *Biebersteinia multifida*. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 14: 823-830.
18. Rakic, S., Povenovic, D., Tesvic, V., Simic, M., and Maletic, R. 2006. Oakacorn, polyphenols and antioxidant activity in function food. *IJFE*. 74: 416-423.