

(مقاله پژوهشی)

## بررسی خواص آنتی اکسیدانی عصاره برگ گیاه انجدان رومی (*Levisticum officinale*)

### و تاثیر آن بر پایداری روغن سویا در شرایط نگه داری

مهدی اطهری<sup>۱\*</sup>، امیرحسین الهامی راد<sup>۲</sup>، محمد مهدی نعمت شاهی<sup>۱</sup>، نفیسه نعمت شاهی<sup>۳</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- دانشجوی دکتری تخصصی زیست شناسی-فیزیولوژی گیاهی، گروه علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۰۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۱۹

#### چکیده

اکسایش لیپیدها از مشکلات اصلی در نگهداری و بکارگیری روغنها و چربیهای خوراکی می باشد. یکی از موثرترین راه های به تاخیر انداختن اکسایش لیپیدها، بکارگیری آنتی اکسیدان ها می باشد. ثابت شده است که افزودن آنتی اکسیدانهای شیمیایی می تواند باعث ایجاد جهش یا سرطان گردد. بنابراین، بسیاری از گیاهان که منبع عالی از ترکیبات فنلی با فعالیت آنتی اکسیدانی قوی می باشد، می توانند جایگزین مناسبی جهت پایداری اکسایشی استفاده شوند. در این پژوهش ابتدا عصاره گیری از برگ گیاه انجدان رومی با استفاده از حلال متانول انجام گرفت و میزان کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره و همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی آن با بررسی قدرت مهارکنندگی رادیکالهای آزاد DPPH تعیین گردید، سپس اثرات آنتی اکسیدانی عصاره در غلظت های مختلف بر پایداری اکسایشی روغن سویا از طریق سنجش اندیس پراکسید و شاخص تیوباربتوریک اسید (TBA) بررسی شد و با اثر آنتی اکسیدان سنتزی BHT مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت عصاره میزان ترکیبات فنلی موجود در عصاره و در نتیجه فعالیت آنتی اکسیدانی آن افزایش یافت، بطوریکه بیشترین مقدار این ترکیبات در غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام بدست آمد که برابر  $0.706 \text{ mgGA/gr Extract}$  بود. بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی نیز به بالاترین غلظت عصاره (۱۰۰۰ پی پی ام) با مقدار  $88/59$  درصد تعلق داشت. نتایج آزمون اندیس پراکسید و شاخص TBA نشان داد که با گذشت زمان، غلظت های ۸۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره به خوبی توانست اکسیداسیون روغن سویا را کنترل کند و نسبت به آنتی اکسیدان سنتزی BHT بهتر عمل نماید. بنابراین طبق نتایج به دست آمده از این پژوهش می توان گفت که عصاره گیاه می تواند به عنوان منبعی از آنتی اکسیدانهای طبیعی برای جلوگیری از اکسایش روغنها و غذاهای حاوی روغن مورد استفاده قرار گیرد.

**واژه های کلیدی:** آنتی اکسیدان طبیعی، روغن سویا، انجدان رومی، عصاره برگ، پایداری اکسایشی.

## ۱- مقدمه

یکی از سامانه های غذایی، روغن ها می باشند که مصرف بالایی در رژیم غذایی روزانه دارند. فرایند اکسایش و تخریب اکسایشی که منجر به ایجاد بد طعمی، کاهش کیفیت و افت ارزش تغذیه ای روغن ها و چربی ها می شود، یکی از مهم ترین مشکلات صنعت روغن محسوب می گردد. آنتی اکسیدان ها ترکیباتی هستند که گسترش بد طعمی و فساد روغن ها و چربی ها را با توسعه زمان پایداری به تاخیر می اندازند (۳۴). یک دسته مهم از ترکیبات آنتی اکسیدانی فنل ها (با یک یا چند عامل هیدروکسیل) می باشند. ترکیبات فنولی از طریق اهداء الکترون به رادیکال های آزاد، واکنش های اکسایش چربی را مهار کرده و لذا ارتباط مستقیمی نیز بین میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی وجود دارد. در حال حاضر، آنتی اکسیدانهای سنتزی هیدروکسی آنیزول بوتیلات (BHA)، هیدروکسی تولوئن بوتیلات (BHT)، پروپیل گالات (PG) و ترت بوتیل هیدروکینون (TBHQ) دارای کاربرد زیادی در صنعت غذا هستند، ولی علیرغم کارایی و پایداری بالا و نیز ارزانی نسبی، مصرف آنها به دلیل خاصیت سرطانزایی و تمایل روز افزون مردم جهت ممانعت از مصرف افزودنیهای سنتزی در مواد غذایی رو به کاهش گذارده است (۲۰ و ۲۳). بنابراین، امروزه استفاده از گروه وسیعی از گیاهان دارویی و ترکیب های آروماتیک آن ها به عنوان منابع طبیعی که دارای خاصیت ضد اکسایشی هستند، مورد توجه محققین قرار گرفته است (۲۱). انجدان رومی با نام علمی *Levisticum officinale* گیاهی چند ساله از تیره چتریان (Apiaceae) بوده که بو و طعم آن شباهت زیادی به کرفس دارد (۱۳ و ۱۴). در بسیاری از کشورهای دنیا انجدان رومی به منظور خواص دارویی اش به طور گسترده کشت می شود. مواد مؤثره این گیاه دارای خواص درمانی مدر و تمیز کننده کلیه ها بوده و برای معالجه بیماری سنگ کلیه و مجاری ادرار استفاده می شوند. از این گیاه به عنوان معرق، خلط آور، اشتها آور و محرک استفاده می شود (۱ و ۲) و از

ریشه های این گیاه داروهای ضد تشنج، مدر و داروی ضد نفخ تهیه می گردد (۱۷ و ۲). ریشه و اندامهای هوایی این گیاه حاوی اسانس می باشند که مقدار اسانس در آنها متفاوت است. یکی از عوامل مؤثر در کمیت و کیفیت مواد مؤثره نوع اندام گیاهان دارویی می باشد. زیرا طبق تحقیقات انجام شده اندام مناسب گیاهان دارویی نقش عمده ای در افزایش عملکرد و کیفیت ماده مؤثره آنها دارد و کمیت و کیفیت مواد مؤثره گیاهان دارویی در اندامهای مختلف متفاوت است (۱ و ۲). در تحقیقی بر روی اسانس گل آذین و میوه انجدان رومی مشخص گردید که مهمترین ترکیب اسانس در گل آذین و میوه شامل لیگوستیلید Z، بتا - فلاندرن و آلفا- ترینیل استات می باشند که حدود ۷۳ تا ۸۸ درصد کل اسانس را در بر می گیرند و بیشترین مقدار لیگوستیلید Z، در مرحله گلدهی کامل (گل) است (۱۳). میر جلالی و همکاران در ۲۰۱۰ در بررسی تغییرات میزان اسانس انجدان رومی توده بومی ایران کشت شده در شرایط آب و هوایی تهران، گزارش نمودند که میزان اسانس در گل، میوه نارس و میوه رسیده به ترتیب ۰/۱، ۱/۵، ۰/۶ در صد بود (۲۴). امروزه تحقیقات زیادی برای یافتن منابع آنتی اکسیدانی طبیعی و استفاده از آنها به منظور کاهش اکسایش روغن ها در حال انجام است. به عنوان مثال از ترکیبات آنتی اکسیدانی طبیعی که در روغن های سرخ کردنی استفاده شده اند، می توان به عصاره های مرزنجوش در روغن پالم، عصاره متانولی برگ چای و عصاره یولاف در روغن پنبه دانه، عصاره های رزماری و مریم گلی در روغن پالم، عصاره رازیانه در روغن کتان، آفتابگردان و سویا، پودر اسفناج در روغن سویا و عصاره سبزیجات برگی (کلم، برگهای گشنیز جعفری، اسفناج و آویشن) در روغن آفتابگردان اشاره نمود (۱۵، ۲۲ و ۲۷). برا و همکاران در سال (۲۰۰۶) بیان کردند که از مزایای آنتی اکسیدان های طبیعی در مقایسه با آنتی اکسیدان های سنتتیک می توان به پذیرش بالا توسط مصرف کنندگان و ایمن بودن آنها اشاره نمود. آن ها هم چنین اعلام کردند

شیکر با دور ۲۵۰ rpm به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط قرار گرفت و پس از آن تحت شرایط خلاء توسط قیف بوختر با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف گردید. به منظور حذف حلال، عصاره به وسیله تبخیر کننده چرخان مدل LABORATA4000 در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد تغلیظ و در نهایت عصاره توسط خشک کن تخت خلاء در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد خشک شد و تا زمان استفاده در ظرف سربسته و غیر قابل نفوذ در دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار گرفت.

### ۲-۳- روش ها

#### ۲-۳-۱- اندازه گیری میزان کل ترکیبات فنولی عصاره برگ انجدان رومی

اندازه گیری ترکیبات فنولی عصاره برگ گیاه انجدان رومی به روش فولین سیوکالتیوانجام شد. در این روش، معرف فولین در حضور ترکیبات فنولی در محلول قلیایی، احیاء و رنگ آبی در محلول تولید می‌کند. شدت رنگ را می‌توان در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه طیف سنج نوری تعیین کرد. در نهایت مقدار کل ترکیبات فنولی عصاره معادل میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره خشک محاسبه گردید (۸).

#### ۲-۳-۲- تعیین فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH) عصاره برگ انجدان رومی

در این روش به عنوان ترکیب رادیکالی پایدار از ماده DPPH به عنوان معرف استفاده می‌شود. بدین ترتیب به طور جداگانه ۲ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره متانولی برگ گیاه انجدان رومی به ۲ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۰۴ درصد DPPH در متانول اضافه گردید. بعد از ۹۰ دقیقه تاریک‌گذاری در دمای اتاق، جذب نوری نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر در مقایسه با نمونه شاهد قرائت گردید. فعالیت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH) با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد (۱۲).

آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی علاوه بر پایداری روغن‌های خوراکی، سبب افزایش ارزش تغذیه‌ای روغن‌ها نیز می‌شوند (۱۱). طبق بررسی منابع انجام شده مشخص شد که تاکنون تحقیقی مبنی بر اندازه‌گیری ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدانی برگ گیاه انجدان رومی و همچنین کاربرد آن بعنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در پایداری روغن‌های خوراکی، در داخل کشور انجام نشده است. بنابراین در راستای بررسی پتانسیل آنتی‌اکسیدانی مواد موثره موجود در گیاهان معطر، در این تحقیق به ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی برگ این گیاه در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT پرداخته شد. سپس پایداری اکسایشی روغن سویا در شرایط تسریع شده و تحت تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره مورد بررسی قرار گرفت.

### ۲- مواد و روش ها

#### ۲-۱- مواد

تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت مرک (آلمان) و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT از شرکت سیگما آلدریج (آمریکا) خریداری شد. روغن سویا خالص تصفیه شده و عاری از هرگونه آنتی‌اکسیدان سنتزی از کارخانه روغن نباتی سه گل خراسان خریداری گردید و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری گردید. برگ گیاه انجدان رومی نیز از عطاری معتبر سطح شهرستان سبزوار تهیه و قسمت‌های زائد آن جدا و بلافاصله پس از شستشو خشک گردید.

#### ۲-۲- تهیه عصاره برگ گیاه انجدان رومی

برای استخراج و عصاره‌گیری به روش خیسانیدن برگ گیاه انجدان رومی پاک شده، با آسیاب (کنوود مدل CG 100) خرد شد و پس از الک کردن، برای استخراج عصاره با حلال متانول به نسبت ۱۰:۱ وزنی حجمی (یک گرم برگ گیاه انجدان رومی با ۱۰ میلی‌لیتر حلال متانول) مخلوط گردید و در

رابطه (۱)

$$I\% = \frac{A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{blank}}} \times 100$$

$A_{\text{blank}}$  جذب نوری نمونه شاهد که فاقد عصاره می باشد را نشان می دهد،  $A_{\text{sample}}$  میزان جذب نوری غلظت های مختلف عصاره را بیان می کند.

### ۲-۳-۳- اندازه گیری اندیس پراکسید (PV)

اندیس پراکسید براساس استاندارد AOAC (انجمن بین المللی شیمییدانه های کشاورزی) انجام گرفت. بدین صورت که مقدار ۵ گرم نمونه (غلظت های مختلف عصاره که در بالن ۱۰۰ سی سی با روغن فاقد آنتی اکسیدان به حجم رسیده است) 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 گردید 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 شد و چند قطره چسب نشاسته به محلول اضافه شد و با محلول تیوسولفات ۰/۰۲ نرمال تیترو گردید. وقتی که رنگ نمونه به یک حالت شفاف و زلال رسید تیتراسیون متوقف گردید و اندیس پراکسید از طریق رابطه ۲ محاسبه گردید.

رابطه (۲)

$$\text{اندیس پراکسید} = \frac{1000 \times N \times V}{W}$$

در این رابطه  $N$  نرمالیه تیوسولفات مصرفی،  $V$  حجم تیوسولفات مصرفی بر حسب میلی لیتر و  $W$  وزن نمونه روغن است (۱۰).

### ۲-۳-۴- محاسبه شاخص تیوباربتوریک اسید (TBA)

شاخص تیوباربتوریک اسید (TBA) مطابق روش صبوری و همکاران (۲۰۰۲) انجام گردید (۲۸). در یک ارلن ۲۵۰ میلی لیتری، یک گرم نمونه (غلظت های مختلف عصاره که در بالن ۱۰۰ سی سی با روغن فاقد آنتی اکسیدان به حجم

رسیده است)، یک میلی لیتر محلول ۰/۷۵ درصد تیوباربتوریک اسید و ۲ میلی لیتر محلول ۳۵ درصد تری کلرواستیک اسید اضافه شد. سپس 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 اسپکتروفتومتر منتقل شد. جذب نمونه با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت گردید. به این ترتیب مقدار جذب نمونه در طول موج مذکور به عنوان شاخص تیوباربتوریک اسید در نظر گرفته شد.

### ۲-۴- تجزیه و تحلیل آماری

جهت بررسی نتایج، از طرح آماری کاملاً تصادفی استفاده شد. اطلاعات با استفاده از نرم افزار آماری SAS 9.1 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین ها با یکدیگر و با نمونه شاهد نیز با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۹۵ درصد ( $p < 0.05$ ) با همین نرم افزار انجام گردید. برای ترسیم نمودارها نیز از نرم افزار Microsoft Excel 2013 استفاده گردید. در این تحقیق عصاره گیری از برگ گیاه انجدان رومی انجام گرفته و در شش غلظت شاهد ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰ پی پی ام و BHT ۲۰۰ پی پی ام، مقدار کل ترکیبات فنلی عصاره با روش فولین سیو کالتیو تعیین و سپس ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی آن با بررسی فعالیت مهار کنندگی رادیکال آزاد (DPPH) اندازه گیری می گردد (سه بار تکرار). بر مبنای این شاخص ها مناسب ترین غلظت معرفی می گردد. بعد عصاره استخراج شده از برگ گیاه انجدان رومی به طور جداگانه در شش غلظت شاهد، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰ پی پی ام و همچنین آنتی اکسیدان سنتزی BHT به میزان ۲۰۰ پی پی ام به روغن سویا تصفیه شده فاقد آنتی اکسیدان افزوده شده و اثر تیمارهای به کار رفته بر روی اکسیداسیون روغن سویا در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد به مدت دو روز و در فواصل زمانی ۲۴ ساعت از

طریق سنجش اندیس پر اکسید، اندیس تیوبار بیتوریک اسید مورد مقایسه قرار گرفته (سه بار تکرار) و سپس بهترین غلظت عصاره که پایداری بیشتری در روغن ایجاد کرده معرفی می گردد.

جدول ۱- تیمارها

علامت اختصاری	غلظت ها
S 100	عصاره برگ انجدان رومی ۱۰۰ پی پی ام
S 200	عصاره برگ انجدان رومی ۲۰۰ پی پی ام
S 400	عصاره برگ انجدان رومی ۴۰۰ پی پی ام
S 800	عصاره برگ انجدان رومی ۸۰۰ پی پی ام
S 1000	عصاره برگ انجدان رومی ۱۰۰۰ پی پی ام
Blank	نمونه شاهد
BHT	آنتی اکسیدان سنتزی BHT 200 ppm

### ۳- نتایج و بحث

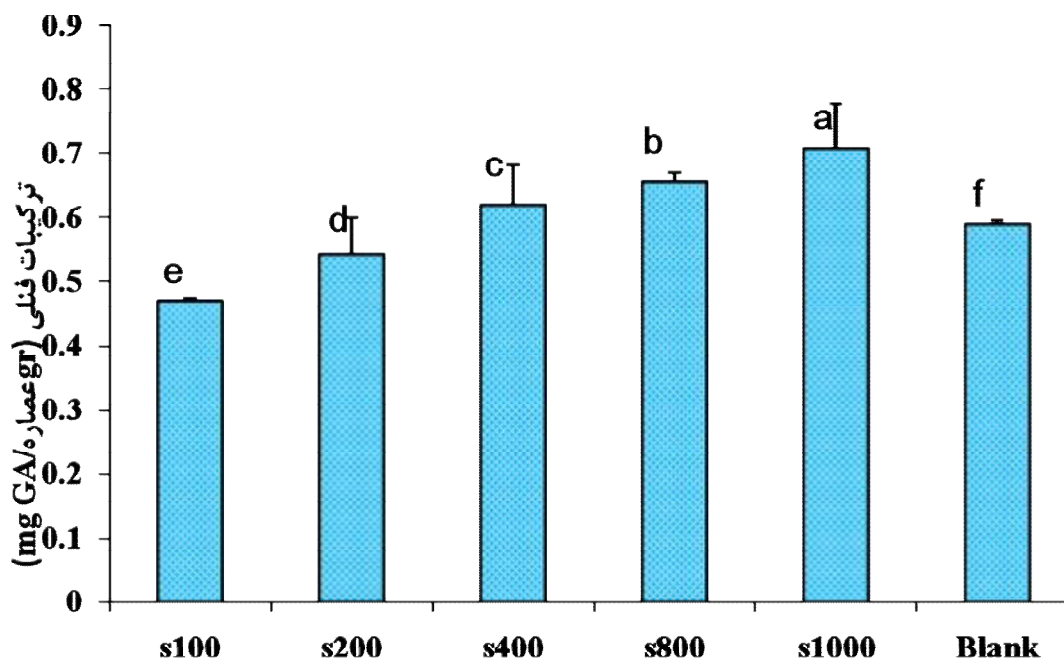
#### ۳-۱- اندازه گیری میزان ترکیبات فنلی عصاره برگ گیاه انجدان رومی

ترکیبات فنلی گروه بزرگی از مواد طبیعی گیاهی شامل فلاونوئیدها، تانن ها، آنتوسیانین ها و ... می باشند که معمولاً در میوه ها، سبزیجات، برگ ها، آجیل ها، دانه ها، ریشه و در سایر قسمت های گیاه دیده می شوند. این مواد منابع قابل توجهی در زمینه های مواد غذایی، شیمی، داروسازی و پزشکی با توجه به طیف گسترده ای از اثرات مطلوب زیستی از جمله خواص آنتی اکسیدانی دارند (۲۰). ترکیبات فنلی با داشتن خاصیت آنتی اکسیدانی و آنتی رادیکالی می توانند نقش مهمی در نگهداری محصولات غذایی و حفظ سلامتی انسان ایفا نمایند (۱۸). نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تغییر غلظت عصاره برگ گیاه انجدان رومی تاثیر معنی داری بر میزان ترکیبات فنلی داشته است ( $p < 0/05$ ). نتایج مقایسه میانگین تاثیر غلظت های مختلف عصاره برگ این گیاه بر مقدار ترکیبات فنلی موجود در عصاره که با استفاده از تست فولین و معادله منحنی استاندارد اسیدگالیک اندازه گیری شد، در شکل ۱ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می شود با افزایش غلظت عصاره برگ گیاه انجدان رومی از

۱۰۰ تا ۱۰۰۰ پی پی ام میزان ترکیبات فنلی موجود در عصاره افزایش یافت که این امر منجر به افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره می شود. طبق نتایج، با افزایش غلظت های مختلف این عصاره میزان این ترکیبات آنتی اکسیدان از ۰/۴۶۹ در غلظت ۱۰۰ پی پی ام تا ۰/۷۰۶ mg GA/gr Extract در غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره برگ گیاه انجدان رومی افزایش یافت و این افزایش در تمام غلظت های عصاره نسبت به غلظت ماقبل، در سطح احتمال ۹۵ درصد معنی دار بود ( $p < 0/05$ ). مقدار این ترکیبات برای غلظت های ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ پی پی ام عصاره نیز به ترتیب برابر ۰/۵۴۴، ۰/۶۱۹ و ۰/۶۵۴ mg GA/gr Extract بدست آمد. استفاده صحیح از گیاهان دارویی مستلزم، اطلاعات دقیق علمی و شناخت ترکیبات شیمیایی موجود در آنهاست زیرا وجود ترکیبات شیمیایی است که باعث اثر درمانی در گیاه می گردد. در این پژوهش آزمایشات وجود ترکیبات فلاونوئیدی و فنولی را تایید می نمایند. امروزه ثابت شده است یکی از بهترین منابع آنتی اکسیدان های طبیعی، ترکیبات فنولی گیاهان می باشند. خاصیت آنتی اکسیدانی گیاهان به میزان هر یک از ترکیبات پلی فنلی بستگی دارد (۳۳). حلالیت ترکیبات فنولی بسته به نوع حلال، درجه پلیمریزاسیون آنها و بر هم کنش آنها با

از تیره‌های مختلف گیاهان دارویی رشد یافته در استان سیستان و بلوچستان از جمله انجدان رومی پرداختند. نتایج نشان دادند عصاره متانولی گونه‌ی پنیرباد دارای بیشترین میزان ترکیبات فنولی (۴۵/۴۱ mgGAE/g عصاره) و فلاونوئیدی (۲۱/۳۵ mgQUE/g عصاره) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی  $IC_{50} = 12/8 \mu\text{g/mL}$  بوده است. در حالیکه عصاره‌ی آبی گونه‌ی انجدان رومی دارای کمترین میزان ترکیبات فنولی (۱۲/۱۷ mgGAE/g عصاره) و فلاونوئیدی (۶۱/۱۲ mgQUE/g عصاره) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی  $IC_{50} = 43.12$  بوده است (۴).

سایر ترکیبات موجود در بافتهای گیاهی متفاوت است. استفاده از آب به عنوان حلال استخراج، یک محیط کاملاً قطبی ایجاد می‌کند که در آن برخی از ترکیبات فنولی با درجه قطبیت پائین به میزان کمتری استخراج می‌شوند. افزودن آب به حلال‌های آلی با تشکیل یک محیط نسبتاً قطبی همراه بوده و بنابراین از استخراج مقادیر و انواع بیشتری از ترکیبات فنولی در این شرایط اطمینان حاصل می‌گردد (۲۶). در تحقیقاتی مشابه عزیزیان شرمه و همکاران (۱۳۹۶) در مطالعه خود به بررسی فعالیت‌های ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و تعیین محتوای فنلی و فلاونوئیدی کل عصاره‌های پنج گونه



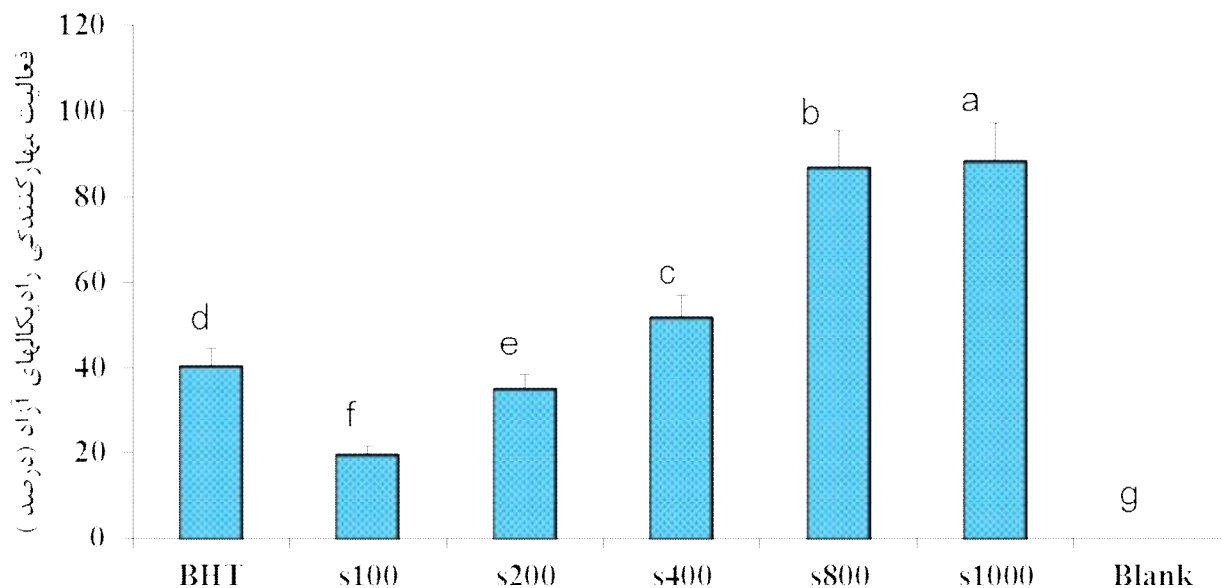
شکل ۱- میزان کل ترکیبات فنولی در غلظت‌های مختلف عصاره برگ گیاه انجدان رومی

### ۲-۳- فعالیت مهارکنندگی رادیکالهای آزاد (DPPH)

#### عصاره برگ گیاه انجدان رومی

بررسی خاصیت آنتی رادیکالی به روش DPPH توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون در ترکیبات و عصاره های مختلف در این تست بامیزان بی رنگ کردن محلول بنفش ۲ و ۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) در متانول مورد سنجش قرار می گیرد. اندازه گیری میزان مهار رادیکال های آزاد DPPH یکی از روش های معتبر، دقیق، آسان و مقرون به صرفه با قابلیت تکرار پذیری بالا می باشد که در بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های گیاهی در شرایط آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می گیرد (۳۱). نتایج آنالیز واریانس یک طرفه حاکی از معنی دار بودن تاثیر غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه انجدان رومی بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد بود ( $p < 0.05$ ). مقایسه میانگین ها با آزمون LSD نیز نشان داد که با افزایش غلظت عصاره برگ انجدان رومی قدرت مهارکنندگی رادیکال های آزاد عصاره بطور معنی داری افزایش نشان داد بطوریکه از مقدار ۱۹/۶۴ درصد در غلظت ۱۰۰ پی پی ام تا میزان ۸۸/۵۹ درصد در غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام افزایش پیدا کرد (شکل ۲). این نتیجه حاکی از این واقعیت بود که توانایی عصاره در مهار رادیکال های آزاد وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت عصاره، فعالیت ضد رادیکالی آن افزایش می یابد. طبق نتایج مشخص شد که غلظت های ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ پی پی ام عصاره مقدار فعالیت رادیکال گیرندگی به ترتیب برابر ۳۴/۸۹، ۵۱/۶۴ و ۸۶/۹۱ درصد داشتند که این اختلاف از نظر آماری معنی دار بود ( $p < 0.05$ ). با مقایسه فعالیت مهارکنندگی غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه انجدان رومی با نمونه آنتی اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۲۰۰ پی پی ام، فعالیت رادیکال گیرندگی برابر ۴۰/۴۲ درصد مشخص شد که غلظت های ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره فعالیت رادیکال گیرندگی بالاتری نسبت به آنتی اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۲۰۰ پی پی ام داشتند و تنها غلظت های ۱۰۰ و ۲۰۰ پی

پی ام عصاره نسبت به آنتی اکسیدان سنتزی دارای فعالیت آنتی رادیکالی پایین تری بودند که حاکی از قدرت آنتی اکسیدانی بالای عصاره این گیاه نسبت به آنتی اکسیدان های سنتزی مانند BHT می باشد (شکل ۲). مطالعات نشان می دهد که بالا بودن ترکیبات فنلی دلیل عمده بالا بودن فعالیت آنتی اکسیدانی بعضی از عصاره ها از جمله عصاره های قطبی باشد. زیرا بر اساس شواهد موجود ارتباط مثبتی بین میزان ترکیبات فنلی و قدرت آنتی اکسیدانی گیاهان وجود دارد. از طرف دیگر به نظر می رسد که ترکیبات فنولی که به صورت گسترده در گیاهان یافت می شود. و قدرت آنتی اکسیدانی بالایی دارند بیشتر از طریق عصاره های گیاهی آنها قابل استخراج باشد (۱۴ و ۲۵). نقش کلیدی ترکیب های فنولی به عنوان حذف کننده های رادیکال های آزاد در چندین مقاله گزارش شده است (۱۹ و ۳۲). افزایش غلظت ترکیبات فنولی به طور مستقیم میزان توانایی عصاره های مختلف را در مهار رادیکال های آزاد افزایش می دهد. 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 (۱۴). قدرت مهارکنندگی عصاره های مختلف به میزان زیادی به تعداد و موقعیت گروه های هیدروکسیل و وزن مولکولی ترکیبات فنولی بستگی دارد. در ترکیبات فنولی با وزن مولکولی پائین تر گروه های هیدروکسیل راحت تر در دسترس قرار می گیرند (۱۶). راگو و همکاران (۲۰۱۱) بیان نمودند که فعالیت آنتی اکسیدانی گیاهان مختلف متفاوت است و این تفاوت ممکن است به دلیل تفاوت ساختاری ترکیبات فنولی، یا الگوی هیدروکسیلاسیون و متیلاسیون آنها باشد. اسانس و عصاره های گیاهی ممکن است حاوی سایر ترکیبات آنتی اکسیدان مانند پروتئین ها، آسکوربات، بتاکاروتن، آلفاتوکوفرول و ... باشند که در افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی کل نقش دارند (۲۶).



شکل ۲. تغییرات فعالیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد در غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه انجدان روزی در مقایسه با آنتی اکسیدان BHT

زمان در افزایش آن بود. نتایج اثر نوع و غلظت آنتی اکسیدان بر تغییرات اندیس پراکسید روغن سویا در طول ۴۸ ساعت نگهداری در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد در شکل ۳ نشان داده شده است. مقایسه میانگین ها نشان داد که در نمونه شاهد (فاقد آنتی اکسیدان) میزان اندیس پراکسید از مقدار اولیه ۰/۴۷ تا مقدار ۷ میلی اکی والان هیدروپراکسید بر کیلوگرم روغن پس از ۲۴ ساعت نگهداری روغن در دمای ۶۰ درجه افزایش یافت در حالیکه برای نمونه های روغن حاوی ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره برگ انجدان رومی، اندیس پراکسید پس از ۲۴ ساعت نگهداری در آن ۶۰ درجه از مقدار اولیه تا مقدار به ترتیب ۶/۸، ۵/۶، ۴، ۳ و ۱/۸ میلی اکی والان هیدروپراکسید بر کیلوگرم روغن افزایش یافت و از نظر آماری نیز اختلاف معنی داری بین این غلظت ها مشاهده گردید. همانطور که از نتایج مشخص است افزودن ۸۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره برگ انجدان رومی به روغن سویا منجر به کاهش به ترتیب ۵۷ و ۷۴ درصد اندیس پراکسید نسبت به نمونه های فاقد آنتی اکسیدان پس از ۲۴ ساعت

### ۳-۳-۳- ارزیابی پایداری اکسایشی روغن سویا در غلظت های مختلف عصاره برگ انجدان رومی

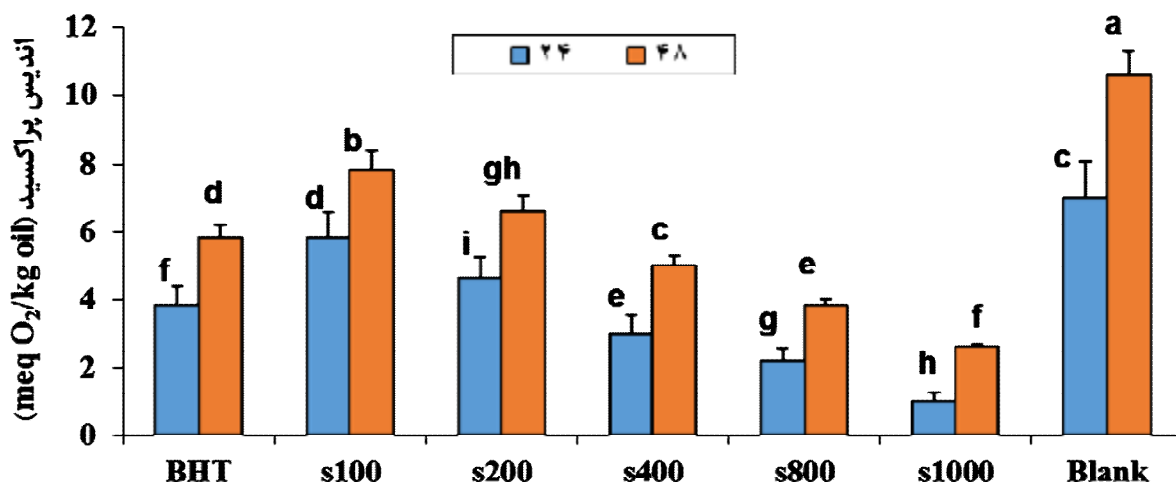
#### ۳-۳-۳-۱- اندیس پراکسید

هیدروپراکسیدها محصولات اولیه اکسیداسیون چربی ها هستند و به طور کلی هر قدر درجه غیراشباعیت روغن ها بیشتر باشد روغن و یا ماده چرب آمادگی بیشتری برای اکسیداسیون دارد. وقتی که میزان پراکسید به حد معینی برسد، تغییرات مختلفی صورت گرفته و مواد فرار آلدئیدی و کتونایی ایجاد می شوند که در ایجاد بو و طعم نامطبوع مواد چرب مؤثر می باشند. در مراحل ابتدایی فرایند اکسایش، میزان این ترکیبات کم است اما در مرحله انتشار، میزان هیدروپراکسیدها به سرعت افزایش می یابد. در این مرحله تعیین اندیس پراکسید شاخص مناسبی از تعیین وضعیت اکسایش روغن ها می باشد (۷). نتایج آنالیز واریانس حاکی از معنی دار بودن اثر عصاره برگ انجدان رومی و آنتی اکسیدان سنتزی BHT در کنترل و کاهش سرعت اکسیداسیون روغن سویا در طول زمان نگهداری در مقایسه با نمونه فاقد آنتی اکسیدان بود ( $p < 0.05$ ) و در این بین اثر عصاره در تاخیر اکسیداسیون بیشتر از اثر



را در به تأخیر انداختن اکسایش روغن آفتابگردان مورد بررسی قرار دادند. طبق نتایج آن ها تیمار حاوی غلظت بیشتر عصاره به همراه آنتی اکسیدان سنتز BHT، کمترین اندیس پراکسید را در روزهای مختلف از خود نشان داد (۹). همچنین نتایج سینگ و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی اثرات آنتی اکسیدانی اسانس برگ دارچین (۳۱)، شهسواری و همکاران (۲۰۰۸) در ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس *Zataria multiflora* (۳۰) و عیوقی و همکاران (۱۳۸۸) در بررسی اثر آنتی اکسیدانی اسانس شوید در روغن سویا (۵)، با نتایج این پژوهش هم سو بود. کمالی روستا و همکاران (۱۳۹۰) نیز با استخراج عصاره دارچین و بررسی تأثیر آن بر پایداری روغن آفتابگردان عنوان کردند که در تیمار های روغن آفتابگردان حاوی عصاره های استونی و متانولی، با افزایش غلظت عصاره ها اندیس پراکسید این تیمارها در همه روزها مقاومت بیشتری در مقابل افزایش نشان داد. در بین همه تیمارهای روغن آفتابگردان در تمام روزها، نمونه روغن آفتابگردان حاوی ۰/۰۱ درصد TBHQ کمترین پراکسید را داشت و بعد از آن به ترتیب، تیمار حاوی ۰/۱ درصد عصاره استونی، و تیمار حاوی ۰/۱ درصد عصاره متانولی قرار داشتند. نمونه شاهد، بالاترین اندیس پراکسید را در تمام روزها دارا بود (۶).

آون گذاری شد که به دلیل وجود ترکیبات فنلی با خاصیت آنتی اکسیدانی در عصاره مذکور می باشد. با افزایش زمان نگهداری تا ۴۸ ساعت، میزان اندیس پراکسید در نمونه شاهد به ۱۰/۶ میلی اکی والان هیدروپراکسید بر کیلوگرم روغن رسید و برای نمونه های حاوی عصاره برگ گیاه انجدان رومی بطور معنی داری کمتر بود بطوری که برای نمونه های حاوی ۸۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره به ترتیب برابر ۳/۸ و ۲/۶ میلی اکی والان هیدروپراکسید بر کیلوگرم روغن بدست آمد که نشان دهنده کاهش ۶۴ و ۷۵ درصدی در میزان اندیس پراکسید نسبت به نمونه شاهد (فاقد آنتی اکسیدان) می باشد. با بکار بردن آنتی اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ثابت ۲۰۰ پی پی ام در روغن سویا و بررسی اثر آن بر کنترل اندیس پراکسید روغن طی مدت زمان نگهداری نیز مشخص شد که این ترکیب فنلی سنتزی نیز تاثیر بسیار مطلوبی بر کنترل سرعت واکنش های اکسایش داشت بطوریکه با بکار بردن ۲۰۰ پی پی ام از این آنتی اکسیدان سنتزی اندیس پراکسید روغن پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت نگهداری از مقدار اولیه ۰/۴۷ به مقدار ۳/۸ و ۵/۸ میلی اکی والان هیدروپراکسید بر کیلوگرم روغن رسید که نسبت به غلظت های ۱۰۰ و ۲۰۰ پی پی ام عصاره نتیجه و تاثیر بیشتری را نشان داد. در تحقیقاتی مشابه احمدی و همکاران (۲۰۰۷) اثر عصاره متانولی کرفس کوهی



شکل ۳- مقدار اندیس پراکسید روغن سویای نگه داری شده در آون با دمای ۶۰ °C تحت تاثیر غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه آنجدان رومی و آنتی اکسیدان BHT در طول زمان نگهداری

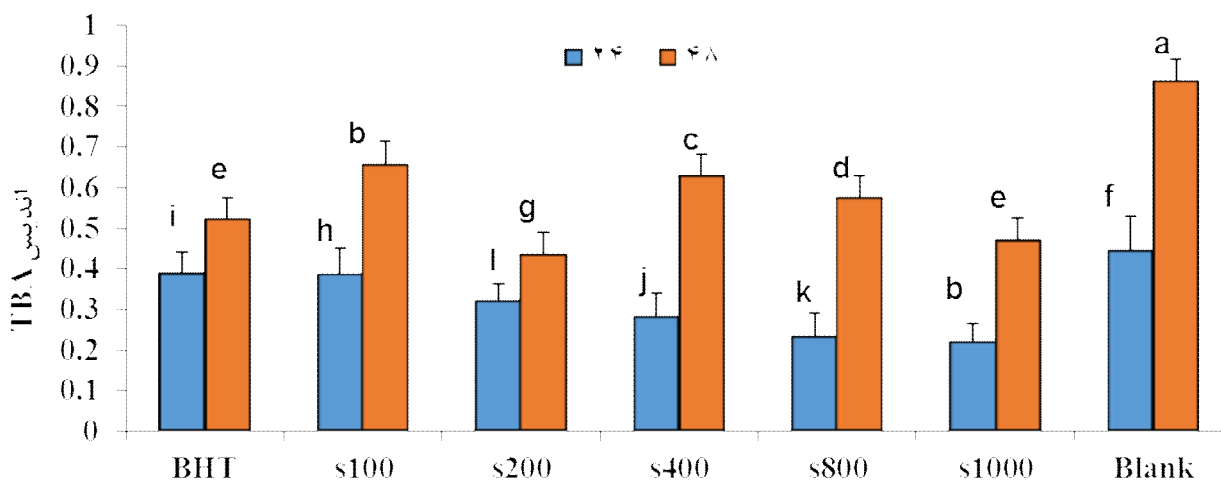
سویا در طول ۴۸ ساعت نگهداری در آون در شکل ۴ نشان داده شده است. طبق نتایج، مقدار اولیه شاخص TBA روغن سویا که قبل از آون گذاری اندازه گیری شد برابر ۰/۴۵ میلی گرم مالون آلدئید بر کیلوگرم روغن بود که در تیمار ثابت با افزایش زمان نگهداری نمونه‌ها در شرایط اکسایش، مقادیر شاخص تیوباریتوریک اسید نمونه‌ها افزایش یافت. در همه روزها نمونه شاهد بالاترین مقدار شاخص TBA را دارا بود و تیمار حاوی ۱۰۰ پی پی ام عصاره برگ گیاه آنجدان رومی در مرتبه بعدی قرار داشت. همانطور که مشاهده می شود پس از ۲۴ ساعت نگهداری روغن در آون با دمای ۶۰ درجه سانتیگراد، بیشترین میزان شاخص TBA به نمونه شاهد تعلق داشت که برابر ۰/۴۴۵ میلی گرم مالون آلدئید بر کیلوگرم روغن می باشد. با افزایش غلظت های مختلف عصاره از میزان این اندیس بطور معنی داری کاسته شد، بطوریکه برای نمونه های روغن سویا حاوی غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره میزان شاخص TBA پس از ۲۴ ساعت به ترتیب برابر ۰/۳۸۷، ۰/۳۱۹، ۰/۲۸۰، ۰/۲۳۴ و ۰/۲۲۰ میلی گرم مالون آلدئید بر کیلوگرم روغن بدست آمد (شکل ۴). مقدار این اندیس برای روغن حاوی ۲۰۰ پی پی ام

### ۳-۳-۲- شاخص تیوباریتوریک اسید (TBA)

ترکیبی تحت عنوان مالون دی آلدئید در اثر اتواکسیداسیون اسیدهای چرب دارای سه و یا تعداد بیشتری باند دوگانه به وجود می آید که این ترکیب در مقادیر بسیار کم به عنوان معرف جهت اکسیداسیون چربی ها به کار می رود. محصولات اکسایش چربی های غیر اشباع با تیوباریتوریک اسید (TBA) ایجاد کمپلکس قرمز رنگی می کنند که این کمپلکس در طول موج ۵۳۵-۵۳۲ نانومتر جذب بهینه دارد. شاخص TBA میلی گرم مالون دی آلدئید موجود در یک کیلوگرم روغن را نشان می دهد و بیانگر مراحل ثانویه اکسایش چربی و حضور ترکیبات ثانویه اکسایش در نمونه است. بنابراین بالا بودن این اندیس در روغن نشان دهنده اکسایش بیشتر روغن و در نتیجه پایداری کمتر آن است. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تغییرات شاخص TBA روغن سویای نگهداری شده در آون با دمای ۶۰ درجه سانتیگراد بطور معنی داری تحت تاثیر عصاره برگ آنجدان رومی و آنتی اکسیدان سنتزی BHT قرار گرفت ( $p < 0.05$ ). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل نوع و غلظت (شاهد، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰ پی پی ام) بر شاخص TBA روغن

آنتی اکسیدان سنتزی BHT، پس از ۲۴ ساعت برابر ۰/۳۹۰ میلی گرم مالون آلدئید بر کیلوگرم بود که تنها نسبت به غلظت های ۱۰۰ و ۲۰۰ پی پی ام عصاره بهتر عمل نموده است ولی نسبت به غلظت های بالاتر عصاره در تاخیر واکنش های اکسیداسیون روغن، ضعیف تر عمل کرده است. همان طور که اشاره شد با افزایش زمان آون گذاری تا ۴۸ ساعت بر سرعت واکنش اکسایش و در نتیجه میزان شاخص TBA افزوده شد. به طوری که برای نمونه شاهد به مقدار ۰/۸۶۲ میلی گرم مالون آلدئید بر کیلوگرم روغن اندازه گیری شد که در بین همه نمونه ها بیشترین مقدار بود. برای نمونه های روغن تحت مقادیر مختلف عصاره نیز در محدوده ۰/۶۵۹-۰/۴۷۲ تغییر کرد که در تمام غلظت ها نسبت به زمان ۲۴ ساعت افزایش معنی دار بود ( $P < 0/05$ ). نکته قابل توجه این بود که با افزایش زمان آون گذاری، میزان تاثیرگذاری آنتی اکسیدان سنتزی BHT در تاخیر واکنش اکسایش بیشتر از عصاره انجدان رومی بود، بدین معنی که آنتی اکسیدان سنتزی در غلظت ۲۰۰ پی پی ام در حد غلظت ۱۰۰ پی پی ام عصاره عمل کرد و میزان اندیس آن ها به ترتیب با مقدار ۰/۵۲۲ و ۰/۴۷۲ میلی گرم مالون آلدئید بر کیلوگرم روغن از نظر آماری در یک سطح قرار داشت ( $P > 0/05$ ). این موضوع نشان دهنده این واقعیت است که ترکیبات فنلی عصاره برگ گیاه انجدان رومی در طی زمان نگهداری، نسبت به آنتی اکسیدان های سنتزی BHT دچار تخریب بیشتری می شود و از مقدار و در نتیجه تاثیر گذاری آن کاسته می شود، بنابراین برای نگهداری روغن در مدت زمان های بالاتر به غلظت بیشتری از عصاره نیاز خواهد بود. همان طور که مشاهده شد، توانایی آنتی اکسیدان ها در مهار اکسایش وابسته به غلظت بود. اگرچه در روزهای ابتدایی اختلاف بین غلظت های مختلف عصاره چندان محسوس نبود، اما با گذشت زمان نمونه های

روغن حاوی مقادیر بیشتری از عصاره یا آنتی اکسیدان سنتزی ثبات اکسیداتیو بیشتری نشان دادند. افزایش قدرت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی در نتیجه افزایش غلظت را می توان به افزایش تعداد جایگاه های فعال این ترکیبات برای واکنش با رادیکال های آزاد نسبت داد. نتایج به دست آمده در میزان مهار اکسایش روغن با نتایج آزمون های مهارکنندگی رادیکال های آزاد و میزان کل ترکیبات فنولی مطابقت داشت. نتایج شهیدی و بهانگر (۲۰۰۷) در بررسی اثرات آنتی اکسیدانی عصاره سیر (۲۹) و نیز صمدلویی و همکاران (۱۳۸۶) در ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی استخراج شده از هسته انار با حلال استون در پایدارسازی روغن سویا در شرایط تسریع یافته (۳)، با نتایج این پژوهش همسو بود. در تحقیقی دیگر محمدی و همکاران (۱۳۹۵) اثر آنتی اکسیدانی گیاه بیلهر (*Dorema aucheri*) و همچنین کاربرد عصاره اتانولی آن در میزان به تاخیراندازی اکسایش روغن سویا را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که عصاره آبی بیشترین بازده استخراج را نسبت به عصاره اتانولی دارد ولی بیشترین میزان ترکیبات فنولی (۲۱/۷۳ میلی گرم گالیک اسید در گرم بیلهر)، فلاونوئیدی (۱۷/۹۹ میلی گرم کوئرستین در گرم بیلهر) و کمترین ( $IC_{50}=2.05$ ) در آزمون DPPH و نیز بیشترین قدرت احیاء کنندگی آهن (۱۴/۱۳ میلی مول آهن (II) در میلی گرم نمونه) مربوط به عصاره اتانولی بود. نتایج آزمون آون نیز نشان داد که عصاره اتانولی در سطوح ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی پی ام به خوبی توانسته اندیس پراکسید و شاخص تیوباریتوریک اسید را کنترل کند. بنابراین طبق یافته های این محققان، عصاره اتانولی بیلهر می تواند به عنوان جایگزین مناسبی برای آنتی اکسیدان سنتزی BHA در سطح ۲۰۰ پی پی ام استفاده گردد (۷).



شکل ۴- تغییرات شاخص تیوباربیوتیک اسید روغن سویایی نگه داری شده در آون با دمای ۶۰°C تحت تاثیر غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه انجدان رومی و آنتی اکسیدان BHT در طول زمان نگه داری

#### ۴- نتیجه گیری

۱۰۰۰ پی پی ام عصاره برگ انجدان رومی مشاهده شد به طوری که مهار اکسایش ثانویه غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره از آنتی اکسیدان سنتزی BHT نیز بیشتر بود. با توجه به اینکه هر چهار آزمون، خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره را تصدیق کرد، میتوان نتیجه گرفت که عصاره برگ گیاه انجدان رومی به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی، توانایی واکنش با رادیکالهای حاصل از اکسایش لیپیدها را داشته و موجب قطع واکنشهای زنجیری، کاهش زمان اکسایش و کاهش سرعت اکسایش خودبه خودی می شود و می توان عصاره برگ گیاه انجدان را به عنوان منبعی از آنتی اکسیدانهای طبیعی برای جلوگیری از اکسایش روغن ها و غذاهای حاوی روغن جایگزین آنتی اکسیدان سنتزی BHT نمود.

در این تحقیق میزان کل ترکیبات فنولی عصاره برگ گیاه انجدان رومی تعیین گردید. در بررسی ویژگی های آنتی اکسیدانی عصاره برگ گیاه انجدان رومی با غلظت های ۱۰۰-۱۰۰۰ پی پی ام در مقایسه با آنتی اکسیدان سنتزی BHT با غلظت ۲۰۰ پی پی ام، بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی با اندازه گیری فعالیت مهار کنندگی رادیکال های آزاد (DPPH) به غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره برگ انجدان رومی تعلق داشت و فعالیت رادیکال گیرندگی آنتی اکسیدان سنتزی BHT با مقدار ۴۰/۴۲ کمتر از فعالیت عصاره در غلظت ۴۰۰ پی پی ام قرار داشت که نشان دهنده قدرت بالای آنتی اکسیدانی عصاره برگ گیاه انجدان رومی می باشد. فعالیت آنتی اکسیدانی غلظت های مختلف عصاره برگ انجدان رومی در روغن سویا توسط آزمون گرمخانه گذاری (اکسیداسیون تسریع یافته) مورد ارزیابی قرار گرفت و اندیس پراکسید و اندیس TBA به عنوان شاخص مهار اکسایش اندازه گیری گردید. طبق نتایج مشخص شد که تمامی غلظت های عصاره برگ انجدان رومی باعث مهار اکسایش گردید ولی بیشترین مهار اکسایش روغن سویا در غلظت

#### ۵- منابع

۱. امیدبیگی، ر. ۱۳۸۸. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد ۱، انتشارات آستان قدس رضوی، مشهد، ۳۴۷ صفحه.
۲. حیدرپور، ا.، سوری، م. ک.، استاجی، ا.، عبادی، م. ت. ۱۳۹۱. آنالیز و مقایسه اسانس گل و میوه در گیاه دارویی انجدان رومی (*Levisticum*)

- نوآوری در علوم و فناوری غذایی، سال هشتم، شماره ۳، ۲۳-۱۵.
9. 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.
  10. AOAC. 2000. Official methods of analysis (17th ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists (Methods 37.1.12).
  11. Bera, D. B and Lahiri, D., A. 2006. Studies on a natural antioxidant for stabilization of edible oil and comparison with synthetic antioxidants. *Journal of Food Engineering*, 74: 542-545.
  12. Burits, M., Bucar, F.( 2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research* 14, 323-328.
  13. Bylaite, E., Venskutonis, P.R. and Roozen, J.P. 1998. Influence of harvesting time on the composition of volatile components in different anatomical parts of lovage (*Levisticum officinale* Koch.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(9): 3735-3740.
  14. Chatchawan, C., Soottawat, B., Jakul, H., Nattiga, S. 2008. Antioxidant components and properties of five long-grained rice bran extracts from commercial available cultivars in Thailand. *Food Chem*, 111 (3): 636-641.
  15. Che Man, Y.B. and Jaswir, I. 1999. Effects of natural and synthetic antioxidants on changes in refined bleached and deodorized palm olein during deep - fat frying of potato chips, *Journal American Oil Chemistry Society* 76: 331-339.
  16. Golluce, M., Sahin, F., Sokmen, M., Ozer, H., Daferera, D., Sokmen, A., Polissiou, M., Adiguzel, A., Ozken, H. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* (*officinale* Koch. Cv. *Budakalasz*) گیاهان دارویی و معطر ایران، دوره ۲۸، شماره ۳؛ ۴۵۴-۴۴۷.
  ۳. صمد لوئی، ح. ر.، عزیزی، م. ح.، برزگر، م. ۱۳۸۶. اثر آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی هسته انار بر روغن سویا. *مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی*، جلد ۱۴، شماره ۱، ۲۰۰-۱۹۳.
  ۴. عزیزیان شرمه، ا.، طاهری زاده، م.، ولی زاده، م.، قاسمی، ع. ۱۳۹۶. بررسی فعالیت‌های ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و تعیین محتوای فنلی و فلاونوئیدی کل عصاره‌های پنج گونه از تیره‌های مختلف گیاهان دارویی رشد یافته در استان سیستان و بلوچستان. *مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا*، جلد ۷، شماره ۴، ۴۷۹-۴۶۵.
  ۵. عیوقی، ف.، برزگر بفرویی، م.، سحری، م.، نقدی بادی، ح. ۱۳۸۸، بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس شوید در روغن سویا و مقایسه آن با آنتی‌اکسیدانهای شیمیایی، *مجله گیاهان دارویی*، ۳۰؛ ۷۴-۷۱.
  ۶. کمالی روستا، ل.، قوامی، م.، قراچورلو، م.، عزیزی نژاد، ر. ۱۳۹۰. استخراج عصاره دارچین و بررسی تأثیر آن بر پایداری روغن آفتابگردان. *مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران*، سال ۶، شماره ۱؛ ۲۲-۱۳.
  ۷. محمدی، ر.، فاضل، م.، خسروی، ا. ۱۳۹۵. بررسی اثر آنتی اکسیدانی عصاره گیاه بیلهر (*Dorema aucheri*) بر پایداری روغن سویا. *علوم غذایی و تغذیه*، دوره ۱۴، شماره ۱؛ ۸۸-۷۷.
  ۸. موجرلو، ز.، الهامی راد، ا. ح.، نجفی، ع. ۱۳۹۵. مطالعه اثر آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی کنجاله زیتون بر پایداری اکسایشی روغن سویا در مقایسه با برخی آنتی اکسیدانهای شیمیایی. *نشریه ی*

- composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chem*, 100(2): 526-534.
26. Raghu, K.L., Ramesh, C.K., Srinivasa, T.R. and Jamuna, K.S. 2011. Total antioxidant capacity in aqueous extracts of some common vegetables. *Asian J. Exp. Biol. Sci.* 2(1):58-62.
  27. Ryan, D. and Robards, K. 1998. Phenolic compounds in olives. *Journal of Analyst.* 123: 1-14.
  28. Seabury, k. 2002. The effect of antioxidants in preventing farther oxidation in TBA analysis. California state science fair. Project number, Jo404.
  29. Shahidi, I. and Bhangar, M. 2007. Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. *Food Chemistry*, 100: 246-254.
  30. Shahsavari, N., Barzegar, M., Sahari, M.A. and Naghdibadi, H. 2008. Antioxidant activity and chemical characterization of essential oil of *Bunium persicum*. *Plant Foods Human Nutrition*, 63: 183-88.
  31. Singh, G., Maurya, S. and Delampasona, M.P. 2008. 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.
  32. Theriault, M., Caillet, S., Kermash, S., Lacroix, M. 2006. Antioxidant, antiradical and at mutagenic activity of phenolic compounds present in maple products. *Food Chem*, 98: 490-501.
  33. Wiseman, H. and Halliwell, B. 1996. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: Role of inflammatory disease and progression to cancer. *Biochem. J*, 313: 17 – 29.
  34. Yanishlieva-Maslarova, N.V. 2001. Inhibiting oxidation, in: Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gorden, M. (Eds.), *Antioxidants in Food*. Woodhead Publishing Ltd. Cambridge, UK, pp 22-70.
  - L. ssp. longifolia. *Food Chem*, 103: 1449-1456.
  17. Hogg, C.L., Svoboda, K.P., Hampson, J.B. and Brocklehurst, S. 2001. Investigation into the composition and bioactivity of essential oil from lovage (*Levisticum officinale* W.D.J. Koch.). *The International Journal of Aromatherapy*, 11(3): 144-151.
  18. Jimoh, F.O., Adedapo, A.A., Aliero, A.A. and Afolayan, J. 2008. Polyphenolic Contents and Biological Activities of *Rumex ecklonianus*. *Pharm. Biol*, 46: 333 - 40.
  19. Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T., Jukic, M. 2006. Sceerning of 70 medical plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chem*, 94: 550-577.
  20. Koca, I. and Karadeniz, B. 2009. Antioxidant properties of blackberry and blueberry fruits grown in the Black Sea Region of Turkey, *Sci. Hort.* 121: 447 – 50.
  21. Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V. 2004. Use of different methods for testing antioxidative of oregano essential oil. *J. Food Chem*, 85: 633-640.
  22. Lolos, M., Oreopoulou, V. and Tzia, C. 1999. Oxidative stability of potato chips: effect of frying oil type, temperature and antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79: 1524–1528.
  23. Martinez-Tome, M., Jimenez, A., Ruggieri, S., Frega, N., Strabbioli, R., Murcia, M. 2001. Antioxidant properties of mediterranean spices compared with common food additives. *J. Food Protec*, 64:1412-1419.
  24. Mirjalili, M.H., Salehi, P., Sonboli, A., Hadian, J., Nejad Ebrahimi, S. and Yousefzadi, M. 2010. The composition and antibacterial activity of the essential oil of *Levisticum officinale* Koch. flowers and fruits at different developmental stages. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 75(12): 1661-1669.
  25. Muret, K., Sevgi, K., Sengul, K., Esra, U., Cemalettin, B., Fedra, V. 2007. Biological activities, chemical

(Original Research Paper)  
**Study of Antioxidant Properties of Leaf Extract of *Levyticum Officinale* and Its Effect on Soybean Oil Stability in Storage Conditions**

Mahdi Athari <sup>1\*</sup>, Amir Hossein Elhami Rad <sup>2</sup>, Mohammad Mahdi Nemat Shahi <sup>1</sup>, Nafiseh Nemat Shahi <sup>3</sup>

1. Young Researchers and Elite Club, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.
2. Department of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.
3. Ph.D Student in Biology-Plant Physiology, Department of Basic Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Received:09/05/2018

Accepted:29/10/2018

**Abstract**

Oxidation of lipids is one of the main problems in the maintenance and use of edible oils and fats. One of the most effective ways to delay the oxidation of lipids is the use of antioxidants. Adding chemical antioxidants has been shown to cause leukemia or cancer. Therefore, many plants that are excellent sources of phenolic compounds with strong antioxidant activity can be used as a suitable alternative to oxidative stability. In this research, the extract of the leaf *Levyticum officinale* was done using methanol solvent. The total phenolic compounds in the extract as well as its antioxidant activity were determined by investigating the inhibitory power of DPPH free radicals, then the antioxidant effects of the extract at different concentrations on oxidative stability of soybean oil was evaluated by measuring the peroxide value and the index of thiobarbituric acid (TBA) and the effect of synthetic antioxidant BHT has been compared. The results showed that by increasing the concentration of extract, the amount of phenolic compounds present in the extract increased as a result of its antioxidant activity, with the highest concentration of these compounds in the concentration of 1000 ppm, which was equal to 0.706 mg Ga / gr Extract . The highest antioxidant activity belonged to the highest concentrations of extract (1000 ppm) with 88.59%. Results of the test of peroxide value and TBA index showed that over time, concentrations of 800 ppm and 1000 ppm of the extract could well control the oxidation of soybean oil and would be better than synthetic antioxidant BHT. Therefore, according to the results obtained from this study, the extract of the plant can be used as a source of natural antioxidants to prevent the oxidation of oils and oil-containing foods.

**Keywords:** Natural Antioxidant, Soybean Oil, *Levyticum Officinale*, Leaf Extract, Oxidative Stability.

---

\* Corresponding Author: [mehdiathary@yahoo.com](mailto:mehdiathary@yahoo.com)