مقاله علمی پژوهشی/ نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۹ شماره ۳/ سال ۱۳۹۸/ صفحات ۱ تا ۱۱

بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس پونه کوهی بر پایداری اکسایشی روغن سرخ کردنی

اسماعیل عطای صالحی*[1] و نگار سلیمانپور تمام[2]

تاریخ دریافت: ۹۶/۵/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۷/۷/۲۸

[1]دانشیار گروه علوم وصنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران
[2] دانشجوی دکتری علوم وصنایع غذایی، گروه علوم وصنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران
* مسئول مکاتبه: Email: eatayesalehi@yahoo.com

چکیده

زمینه مطالعاتی: امروزه اسانس گیاهان دارویی و معطر به خاطر داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی به عنوان جایگزین آنتی اکسیدان‌های سنتزی در فرآورده‌های غذایی مطرح می‌باشند. **هدف**: استخراج و شناسایی اجزای اصلی اسانس پونه کوهی به عنوان منبع آنتی اکسیدان طبیعی که می‌تواند جایگزین آنتی اکسیدان‌های سنتزی در روغن‌های خوراکی شود.**روش کار**: ترکیب شیمیایی اسانس به روش کروماتوگرافی گازی، میزان فنول کل با استفاده از روش فولین سیوکالتو، فعالیت آنتی‌رادیکالی اسانس با آزمون‌های DPPH و ABTS و فعالیت آنتی‌اکسیدان آن در روغن مخصوص سرخ کردنی در شرایط اکسیداسیون تسریع شده (دمای ۹۰C°) در طی هفت روز، با اندازه گیری اعداد پراکسید به عنوان شاخص کیفی و تعیین کننده محصولات اولیه اکسیداسیون در روغن ها واسید تیوباربیتوریک در مقایسه با TBHQ تعیین شد. **نتایج**: یافته‌های تحقیق نشان داد که پولگون (۳۱/۵٤درصد) و ۱-۸ سینئول (۱۵/۸۹درصد) و منتوفوران (۱۱/۸درصد) و سیس ایزو پولگون (۹/۷٤درصد) ترکیبیات عمده اسانس پونه کوهی بودند. میزان کل ترکیبات فنولی معادل ۷/۵ میلی گرم گالیک اسید در هر گرم ماده خشک تعیین شد و در آزمون DPPH مقدار EC_{50} اسانس پونه کوهی ۱میلی گرم بر میلی لیتر بدست آمد. آزمون ABTS نشان داد که بیشترین فعالیت آنتی‌رادیکالی مربوط به غلظت ۲ میلی-گرم برمیلی‌لیتر اسانس (معادل غلظت ۰/۰۸ میلی گرم بر میلی لیتر آسکوربیک اسید) است. در آزمون آون، اسانس پونه کوهی در غلظت ۱۰۰۰ ppm توانست بهتر از آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ در سطح۲۰۰ ppm عمل کند. **نتیجه‌گیری نهایی**: اسانس پونه کوهی به عنوان منبعی غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی قابلیت جایگزینی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در فرمولاسیون روغن‌های خوراکی را دارد.

واژگان کلیدی: اسانس، پونه کوهی، روغن سرخ کردنی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

مقدمه

اکسیداسیون چربی‌ها و روغن‌ها طی فرآوری و نگهداری مواد غذایی نه تنها باعث از دست رفتن کیفیت تغذیه‌ای و هضمی غذا می‌شود، بلکه ترکیباتی مانند رادیکال‌های آزاد تولید می‌کند که این ترکیبات منجر به واکنش‌های نامطلوب شیمیایی واحتمالاً بیولوژیکی می‌شود، لذا کاربردآنتی اکسیدان‌ها به منظور جلوگیری از آغاز و پیشرفت فساد اکسایشی ضروری است. اگرچه بسیاری از روغن‌ها حاوی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مانند فلاونوئیدها و توکوفرول‌ها هستند، اما به دلیل اثر بخشی ناکافی این ترکیبات، باید به روغن‌های خوراکی آنتی-اکسیدان اضافه شود (ابراهیم زاده و همکاران۲۰۰۸).

امروزه برای تاخیر فساد اکسایشی روغن‌ها، عموما از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی نظیر *بوتیلات هیدروکسی آنیزول*[1] *بوتیلات هیدروکسی تولوئن*[2] *تری بوتیل هیدروکینون*[3] استفاده می‌شود (سمنانی و همکاران۲۰۰۶). استخراج و خالص سازی عصاره گیاه رزماری و عرضه وسیع آن جهت مصارف غذایی و بهداشتی به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی (سونجه و همکاران۲۰۱۱) و یا استخراج عصاره پونه ایرانی و بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی و رقابت آن با آنتی-اکسیدان سنتزی BHT در روغن آفتابگردان نمونه‌هایی از این تلاش‌ها بوده است (کامکار و همکاران۲۰۱۰). از دیگر منابع گیاهی که در سال‌های اخیر ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در اسانس یا عصاره‌های شان مورد مطالعه قرار گرفته‌اند می‌توان به برگ بو(اینان و همکاران۲۰۱۲). گل و پوست نارنج(سارو و همکارن۲۰۱۳)، علف هیضه(کامکار و همکاران۲۰۱۳)، اسطوخودوس (طاهانژاد و همکاران۲۰۱۰) و پنیرک (طاهانژاد و همکاران۲۰۱۲) اشاره نمود. در راستای بررسی پتانسیل آنتی‌اکسیدانی مواد موثره موجود در گیاهان معطر، تحقیق حاضر به ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی اسانس گیاه پونه کوهی در مقایسه باآنتی اکسیدان سنتزی TBHQ در پایداری روغن مخصوص سرخ کردنی می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی

رادیکال پایدار ۲ و ۲دی فنیل ۱ پیکریل هیدرازیل[4] و کلیه مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده در این تحقیق با خلوص بالا از شرکت مرک آلمان و معرف فولین سیوکالتو، اسید گالیک، دو و دو آزینوبیس ۳ اتیل بنزوتیازولین ٦ سولفونیک اسید و پرسولفات پتاسیم از شرکت سیگمای آمریکا تهیه شد.

مواد گیاهی: گیاه پونه کوهی در اواسط فصل پائیز از مناطق اطراف شهر شوشتر در استان خوزستان جمع آوری و پس از یک شستشوی ساده و آبکشی جهت رفع گردو غبار، در دمای محیط آزمایشگاه ۲۸C° و رطوبت نسبی ٤٤درصد) خشک گردید و سپس مقدار۱۰۰ گرم از گیاه خشک شده) به دستگاه کلونجر که اساس کار آن تقطیرآبی است منتقل و به مدت ۳ ساعت اسانس موجوداستخراج و پس از جمع‌آوری و آبگیری با سولفات سدیم در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. نمونه روغن مخصوص سرخ کردنی متشکل از ٦۰ درصد روغن سویا و ٤۰ درصد پالم که حاوی ۱۰۰ ppm اسید سیتریک بود، از شرکت ارجان نوین واقع در شهرستان بهبهان استان خوزستان تهیه و تا روز قبل از آزمون به منظور جلوگیری از اکسیداسیون در فریزر ۱۸C°- نگهداری شد.

شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس پونه کوهی

شناسایی ترکیبات اسانس استخراج شده با تزریق ۰/۵ میکرولیتر اسانس رقیق شده با سیکلوهگزان به دستگاه گازکروماتوگرافی مدل 6890A Agilent حاوی ستون HP-5 (طول۳۰ متر، قطر داخلی۲۵۰ میکرومتر و ضخامت فاز ثابت ۰/۲۵ میکرومتر) متصل به طیف سنج جرمی مدل Agilent 5975 انجام پذیرفت. برنامه دمایی ستون به این طریق تنظیم گردید: دمای ابتدایی آن C° ٤۰ بودو دما با سرعت ۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه تا رسیدن به دمای ۲۰۰C° افزایش یافت و در این دما یک دقیقه باقی ماند و سپس دما با سرعت ۱۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه تا رسیدن به دمای ۲۵۰C° افزایش یافت و پس از ۵ دقیقه توقف در این دما در نهایت با سرعت ۲۵ درجه سانتی-گراد در دقیقه به دمای C° ۳۰۰ بود رسانده شد. گاز هلیوم با سرعت جریان ۱ میلی لیتر در دقیقه به عنوان گاز حامل به کار گرفته شد و دمای محفظه تزریق ۲٤۰C° تنظیم گردید. طیف سنج جرمی با ولتاژ

[1]BHA
[2]BHT
[3]TBHQ
[4]DPPH

یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت به کار گرفته شد. شناسایی نوع ترکیبات اسانس با کمک طیف نرمال آلکان‌ها (c_8-c_{24}) و بدست آوردن شاخص بازداری آنها (شاخص کواتز و مقایسه با شاخص کواتز (KI) گزارش شده ترکیبات در نرم افزار NIST05 و مقایسه طیف جرمی هر یک از اجزای ترکیبات اسانس با طیف جرمی موجود در کتابخانه wiley7n.1 موجود در دستگاه GC/MS صورت پذیرفت. همچنین میزان درصد ترکیبات موجوددراسانس مورد بررسی با استفاده از دستگاه گازکروماتوگرافی مدل Agilent 6890A مجهز به آشکارساز FID با شرایط فوق و با استفاده از سطح زیر منحنی پیک‌ها محاسبه گردید. (زندی سوهانی و همکاران۲۰۱۳).

تعیین محتوی کل فنول

از روش رنگ سنجی واز فولین سیوکالتو به عنوان معرف واسیدگالیک به عنوان استانداردداستفاده گردید. بدین منظور ۲۰۰ میکرولیتر از اسانس رقیق شده در متانول به۱ میلی‌لیتر واکنش‌گر فولین سیوکالتو که با نسبت ۱:۱۰ با آب مقطر رقیق شده بود، افزوده گردید. پس از گذشت ٤ دقیقه ۸۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم (۷/۵درصد) به آن افزوده و محلول حاصل به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق قرارگرفت. سپس میزان جذب نمونه در طول موج ۷٦٥ نانومتر قرائت شد. از گالیک اسید(غلظت ۱تا۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) برای رسم منحنی استاندارد استفاده و میزان کل فنول بر مبنای اسید گالیک با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$C = c_1 * {}^{V}/_{m} * 100$$

C: محتوای فنول کل بر مبنای اسید گالیک) میلی‌گرم بر گرم)، C_1 : غلظت معادل اسید گالیک که از معادله به دست آمده (میلی‌گرم بر میلی لیتر)،V : حجم اسانس مصرفی میلی‌لیتر)، M : وزن گیاه مورد نیاز(بر حسب گرم) جهت استخراج ۰/۲ میلی‌متر

سنجش قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH

مطابق روش بور یتز و بوکار (۲۰۰۰) میزان ۵۰ میکرولیتر از اسانس پونه کوهی در غلظت‌های مختلف به ۵ میلی لیتر مجلول ۰/۰۰٤ درصد DPPH در متانول اضافه و پس از ۳۰ دقیقه، شدت جذب نمونه ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت و درصد مهار رادیکال DPPH با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$1\% = \left[A_{blank} - \frac{A_{sample}}{A_{blank}}\right] * 100$$

A_{blank} : میزان جذب نوری کنترل منفی، A_{sample}: جذب نوری غلظت‌های مختلف اسانس پونه کوهی

در این آزمون از آنتی اکسیدان TBHQ به عنوان کنترل مثبت استفاده شده و میزان EC_{50} (غلظتی از هر اسانس که لازم است تا ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH را مهار کند) اسانس پونه کوهی تعیین شد.

سنجش قدرت مهارکنندگی رادیکال ABTS

رادیکال پایدار ABTS با اکسیداسیون به وسیله پتاسیم پرسولفات، تولید گردید. این رادیکال کاتیون دارای رنگ سبز-آبی با بیشینه جذب در طول موج ۷۳٤ نانومتر بوده و کاهش میزال این رادیکال کاتیون به عنوان شاخصی از فعالیت آنتی رادیکالی ترکیبات مورد نظر می باشد. فعالیت حذف کنندگی رادیکالی در این آزمون بر اساس ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل با ترولکس[1] یا بر اساس ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل با آسکوربیک اسید[2]قابل گزارش است. در این آزمون ابتدا یک محلول ۱:۱ از اختلاط محلول ۷ میلی مولار ABTS و ۲/٤٥ میلی مولار پرسولفات تهیه و به مدت ١٦ ساعت در دمای اتاق و یک مکان تاریک قرار گرفت. سپس محلول حاصل با متانول به نسبت ۱:۲۵ رقیق و پس از آن میزان ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف اسانس به ۲ میلی لیتر محلول ABTS رقیق شده افزوده شد. سپس در لحظه اول و پس از ۱۵ دقیقه میزان جذب در طول موج ۷۳٤ نانومتر قرائت و درصد بازدارندگی نمونه محاسبه شد.

[1]TEAC
[2]AEAC

بررسی کاربرد اسانس پونه کوهی به عنوان آنتی-اکسیدان طبیعی در روغن مخصوص سرخ کردنی

اسانس استخراج شده از پونه کوهی در سه سطح ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ppm و آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ در سطح ۲۰۰ ppm به روغن مخصوص سرخ کردن فاقد آنتی اکسیدان اضافه و به منظور تسریع روند اکسیداسیون ، نمونه‌ها در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری و در روزهای ۰، ۱، ۲، ۳، ٤، ٥ و ٦ میزان پیشرفت اکسیداسیون در آن ها با اندازه گیری عدد پر اکسید (AOCS ۸-۵۳) وآزمون اسید تیوباربیتوریک[1]ارزیابی گردید(مک دونالد و هولتین۱۹۸۷).

تعیین عدد پر اکسید

عدد پر اکسید به عنوان معیاری از تشکیل ترکیبات اولیه اکسیداسیون است. مطابق روش AOCS ۸-۵۳، در این آزمون ٥ گرم از نمونه روغن توزین و پس از افزودن ۳۰ میلی‌لیتر حلال اسید استیک- کلروفرم (به نسبت ۱/٥ به۱) و ۰/۰۵ میلی‌لیتر یدید پتاسیم اشباع به آن به مدت ۱ دقیقه در محل تاریک قرار گرفت و سپس ۳۰ میلی لیتر آب مقطر به آن افزوده و با تیو سولفات سدیم۰/۰۱نرمال تااز بین رفتن رنگ زرد تیتر گردید. سپس ۰/٥ میلی لیتر چسب نشاسته۱۰ درصد شده و تیتراسیون تا از بین رفتن رنگ آبی ادامه یافت. مقدار عدد پر اکسید با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{عدد پراکسید} = N * V * 1000/m$$

N= نرمالیته تیوسولفات سدیم،V = حجم مصرفی تیوسولفات، M = جرم نمونه

تعیین عدد اسید تیوباربیتوریک

عدد اسید تیوبار بیتوریک به عنوان شاخصی از تشکیل ترکیبات ثانویه اکسیداسیون، مطابق روش مک دونالد و هالتین تعیین شد. بر این اساس میزان ۰/۰۵ میلی لیتر نمونه روغن با ۰/۹۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲ میلی لیتر واکنش‌گر TBA (۱۵ گرم تری کلرواستیک اسید،۰/۳۷۵ گرم اسید تیوبار بوتریک، ۲ میلی لیتر اسید کلریدریک و۸۲/۹ میلی‌لیتر آب مقطر) با هم مخلوط شده و به مدت ۱۵ دقیقه در آب در حال جوش قرار گرفت. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق خنک شده و ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ بادور۱۰۰۰ گرم قرار گرفت و در پایان میزان جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر توسط اسپکتروفتومتری اندازه گیری شد. (مک دونالد و هولتین۱۹۸۷).

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 آماریSAS نسخه۹/۳ انجام شد. میانگین تیمارها با استفاده از آزمون دانکن مورد مقایسه قرار گرفته و نمودارها با بهره گیری از نرم افزار اکسل ترسیم شدند.

نتایج

آنالیز ترکیبات موجود در اسانس پونه کوهی

بر اساس نتایج حاصله۲۲ ترکیب از اسانس استخراج شده به وسیله تقطیر با آب شناسایی شدند. که ۹۵/۳ درصد اسانس را شامل شد. از بین آنها پولگون (۳۱/٥٤درصد) و ۱-۸ سینئول (۱۵/۸۹درصد) و منتوفوران (۱۱/۸درصد) و سیس ایزو پولگون (۹/۷٤درصد) ترکیب های عمده موجود در اسانس گیاه را تشکیل دادند.

جدول۱- ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه پونه کوهی به روش تقطیر در آب توسط گازکروماتوگراف – طیف سنج جرمی

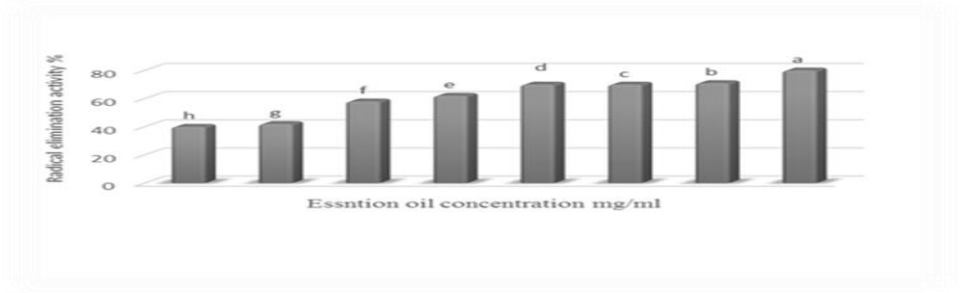
Table 1- Chemical composition of essential oil of Oregano by gas chromatography-mass spectrometry

percent	the composition
31.54	Polegone
15.89	Sineol 8 -1
11.80	Methofuran
9.74	Cis ISO Polgone
>95.30	Total

[1]TBA

قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH

قدرت اسانس پونه کوهی در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در شکل ۱ نشان داده شده است. همان طور که مشخص شده است رابطه مستقیمی بین غلظت اسانس و اثر مهارکنندگی رادیکالی آن برقرار می باشد و با افزایش میزان غلظت اسانس و اثر مهارکنندگی رادیکالی آن افزایش می یابد. هم چنین شاخص EC_{50} اسانس پونه کوهی ۱ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد. لازم به ذکراست که شاخص EC_{50} نسبت معکوسی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس ها دارد. گستره غلظت‌های اسانس مورد استفاده در این آزمون بین ۰/۰۵ تا ۱۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر بوده است و قدرت مهارکنندگی رادیکالی اسانس پونه کوهی با آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ مورد مقایسه قرار گرفت و نتایج نشان داد اسانس پونه کوهی در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر قدرت بازدارندگی معادل با غلظت ۰/۰۶میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آنتی‌اکسیدان TBHQ دارد.



شکل ۱- رابطه میان فعالیت حذف کنندگی رادیکال آزاد DPPH با غلظت اسانس پونه کوهی

Figure 1 - Relationship between DPPH free radical scavenging activity and oregano essential oil concentration

قدرت مهار کنندگی رادیکال ABTS

قدرت اسانس پونه کوهی در مهار کنندگی رادیکالی ABTS در جدول ۲ نشان داده شده است. رابطه مستقیمی بین غلظت اسانس و قدرت مهارکنندگی آن وجود دارد و با افزایش می یابد و از این نظر در سطح ۱ درصد اختلاف معنی داری بین غلظت‌های مختلف اسانس وجودداشت.

جدول۲- درصد بازدارندگی و ظرفیت آنتی اکسیدانی معادل آسکوربیک اسید غلظت های مختلف اسانس پونه کوهی

Table 2. Inhibitory percentage and antioxidant capacity of ascorbic acid equivalent concentrations of oregano essential oil

Antioxidant capacity equivalent to ascorbic acid (mg/ml)	Deterrence percentage	Essential oil concentration (mg/ml)
0.033 ±0.001[e]	21.265±0.148[e]	0.1
0.046 ±0.003[d]	30.115 ±2.298[d]	0.2
0.061 ±0.001[c]	39.480 ±0.636[c]	0.5
0.075 ±0.001[ba]	47.925 ±0.318[b]	1
0.080 ±0.001[a]	51.215 ±0.148[a]	2

Data is the mean of three replications ± standard deviation. Different letters in each column indicate significant difference at 1% level.

اثر آنتی‌اکسیدان پونه کوهی در روغن سرخ کردنی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس پونه کوهی در روغن سرخ کردنی در مدت زمان ٦ روز در دمای ۹۰ درجه سانتی-گراد بر حسب اعداد پراکسید و اسید تیوباربیتوریک در جدول ۳ و شکل ۲ نشان داده شده است. عدد پراکسید روغن وابسته به غلظت تیمارها بوده و با افزایش غلظت تیمارها عدد پراکسید کاهش یافته است و از این رو در سطح احتمال ($p > ۰,۰۵$) اختلاف معنی‌دار مشاهده شد از

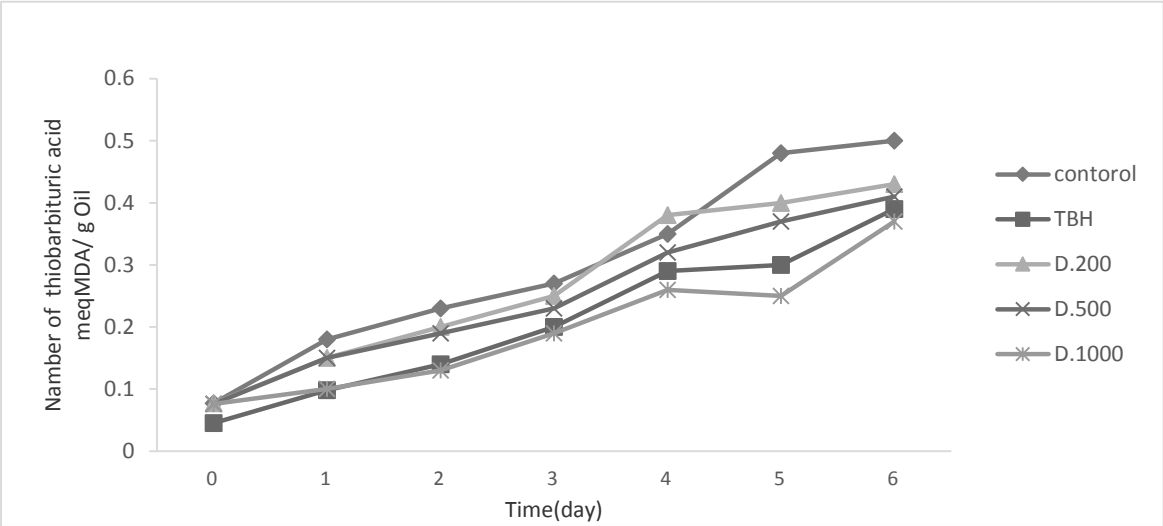
طرفی بین غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ppm این اسانس اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد ($p > ۰,۰۵$). هم چنین مشاهده می‌شود غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ppm اسانس پونه در روزهای اول آزمون همگام با آنتی-اکسیدان TBHQ به یک میزان عدد پراکسید را کاهش داده اند اما از روز چهارم به بعد ضعیف تر از آنتی-اکسیدان TBHQ عمل کرده و به میزان کمتری عدد پراکسید را کاهش داده‌اند. همچنین غلظت ۲۰۰ ppm اسانس از روز چهارم به بعد تفاوت معنی‌دار با نمونه شاهد نشان نداد(جدول۳). میان غلظت‌های مختلف اسانس وآنتی‌اکسیدان TBHQ و نمونه شاهد اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ($p > ۰,۰۵$) وجود دارد. غلظت ۵۰۰ ppm اسانس پونه کوهی در مدت زمان آزمون همگام با آنتی‌اکسیدان TBHQ موجب کاهش عدد اسید تیوباربوتیریک گردد (شکل۲). هم چنین نتایج نشان می دهد اسانس پونه کوهی در هر سطح غلظت دارای تاثیر آنتی‌اکسیدان بوده و در غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ppm دارای بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی می باشد.

جدول ۳- فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس پونه کوهی در روغن سرخ کردنی در مدت زمان ۶ روز بر حسب عدد پر اکسید

Table 3- Antioxidant activity of oregano essential oil in frying oil for 6 days based on peroxide value

Day Treatment	0	1	2	3	4	5	6
sample	2.4±0.20^{a}	6.6±0.89^{a}	12±0.15^{a}	20.8 ±0.65^{a}	30.2±1.44^{a}	45 ±1.44^{ab}	63 ±1.44^{ab}
THBQ200	2.4±0.20^{a}	3.6 ±0.55^{c}	9.6 ±0.35^{b}	15.6±0.55^{c}	26.6 ±0.88^{c}	34.2±1.99^{a}	49.8±1.04^{c}
ese200	2.4±0.34^{a}	5.8±0.22^{ab}	11.6±0/05^{a}	17 ±0.82^{b}	29.4±0.68^{ab}	45.8±1.43^{a}	64.02±0.22a
ese500	2.4±0.45^{a}	5.8±0.26^{b}	10.8±1.11^{ab}	16.2±0.22^{bc}	28.4 ±0^{ab}	41.4±0.88^{cb}	60.6 ±1.44^{b}
ese1000	2.4±0.05^{a}	4.6±0.21^{ac}	10.6±0.22^{ab}	15.8 ±0.02^{c}	27.4±0.82^{cb}	40.6 ±0.22^{c}	60.4±0.55^{b}

Data is the mean of three replications ± standard deviation. The different letters in each column indicate a significant difference at 1% level.



شکل ۲- فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس پونه کوهی درمدت زمان ۶ روز بر حسب اسید تیوباربیتوریک

Figure 2 - Antioxidant activity of oregano essential oil for 6 days based on thiobarbituric acid

بحث

عمده ترکیبات تشکیل دهنده اسانس پونه کوهی مورد بررسی در این تحقیق به ترتیب عبارت بودند از پولگون (۳۱/۵٤ درصد) و ۱-۸ سینئول (۱۵/۸۹ درصد) و منتوفوران (۱۱/۸ درصد) و سیس ایزو پولگون (۹/۷٤ درصد) که با ترکیبات اصلی اسانس پونه کوهی برخی مناطق دیگر مغایر بود. در پژوهشی که توسط(قاسمی و همکاران ۲۰۱۳) مشخص شد که فعالیت آنتی اکسیدانی

اسانس مرزه بختیاری به ترکیبات فنولیک کارواکرول و تیمول موجود در آن وابسته است. همان‌گونه که تحقیقات گذشته نشان داده ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس پونه کوهی کشت شده در مناطق مختلف دارای اختلاف می‌باشند. به عنوان مثال کامفور و ۱-۸ سینیول عمده ترکیبات اسانس پونه کوهی مناطق تهران و سمنان، بتاتوجون و کامفور و آلفاتوجون ترکیبات اصلی اسانس پونه کوهی خراسان (قربانی و همکاران۲۰۰۸) و بتاتوجون و کامفور و آلفاتوجون و وربنول عمده ترکیبات اسانس پونه کوهی منطقه قم (خسروی و همکاران۲۰۱۱) می باشند. یوسین و همکاران ۲۰۱۰ خواص آنتی اکسیدانی اسانس زنجبیل و زیره سبز را به روش DPPH مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که اسانس زنجبیل و زیره هر دو می‌توانند به عنوان منابع بالقوه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و هم چنین طعم دهنده در محصولات غذایی مورد استفاده قرار گیرند. (آلبارین ۲۰۱۲) گزارش کرد که اسانس آویشن شیرازی و رزماری فرآیند اکسیداسیون فیله تیلاپیا در طول دروه ذخیره‌سازی در دمای یخچال را به ترتیب ٦٢ و ٣٦ درصد کاهش می دهد. در پژوهشی (رفیعی و همکاران۱۳۹۰) به بررسی ویژگی‌های آنتی-اکسیدانی عصاره برگ زیتون و کاربرد آن در روغن آفتابگردان پرداختند. نتایج نشان داد عصاره متانولی کرونایکی در سطح ppm۱۰۰۰ به خوبی توانست اندیس پروکسید و اسید تیوباربیتوریک را کنترل کرده و جایگزین آنتی اکسیدان‌های سنتزی بوتیل هیدروکسی آنیزول و بوتیل هیدروکسی تولوئن در دو سطح ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm شود. (چنج و همکاران ۲۰۰۰) ۸ نوع ترکیب فلاوونوئیدی از میوه عناب استخراج کردند که در بین آنها اسفینوزین و اسورتیش عمدا خاصیت دارویی دارند. (روزبهان و همکاران ۲۰۰۸) فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره استخراجی از تفاله انگور در روغن سویا را مورد بررسی قرار دادند و نتایج حاصل از اعداد پراکسید و اسید تیوباربیتوریک در مدت زمان ۱۳ روز نشان داد غلظت ۱۵۰ ppm عصاره تفاله انگور دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بوده و با غلظت ۲۰۰ ppm آنتی اکسیدان BHA قابل مقایسه می‌باشد. (مولکیا وهمکاران ۲۰۰٤) گزارش کردند که اسانس زنجبیل پایداری در برابر اکسیداسیون روغن‌های آفتابگردان، ذرت زیتون، چربی‌های کره و مارگارین را در دمای C ° ۱۱۰ افزایش می‌دهد و این خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس قابل مقایسه با فعالیت آنتی‌اکسیدان سنتزی پروپیل گالات (PG) است. (سینگ و همکاران ۲۰۰۷) اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس برگ دارچین در روند اکسیداسیون روغن خردل را مورد بررسی قرار دادند و نتایج حاکی از آن بود که اسانس در سطح غلظتی ۰,۰۲ درصد اثرات قوی تری نسبت به BHT،BHA و پروپیل گالات دارد.

(ژانگ و همکاران ۲۰۱۰) اسید کارنوسیک را به روغن آفتاب گردان اضافه نمودند و پایداری اکسایشی آن را در شرایط اکسیداسیون تسریع شده بررسی کرده و با انجام آزمون DPPH دریافتند فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسید کارنوسیک از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT بالاتر بوده ولی در مقایسه با TBHQ فعالیت کمتری نشان می‌دهد. (ژانگ و همکاران ۲۰۰٦) اثرات آنتی-اکسیدانی اسانس جعفری را مورد بررسی قرار داده و مشاهده کردند این اسانس در غلظت ۰/۵۱۲ درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی نزدیک با BHT در غلظت ۰/۱ درصد داشته و مشخص شد که اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس جعفری از BHT وآلفا توکوفرول ضعیف تر است. در دیگر تحقیق انجام گرفته توسط (فرانکل ۱۹۹۱) اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس پونه کوهی بر روی خواص حسی روغن زیتون در طول مدت ذخیره‌سازی، مشاهده شده که اسانس پونه کوهی نه تنها روغن زیتون را در برابر اکسیداسیون چربی محافظت می کند، بلکه ویژگی-های عطری و طعمی آن را نیز حفظ کرده و باعث حفظ کیفیت حسی فوق العاده روغن زیتون و طولانی‌تر شدن عمر مفید این محصول می‌شود. (قیروگا و همکاران ۲۰۱۳) پارامترهای حسی و شیمیایی و پذیرش مصرف

کننده در دانه آفتابگردان بوداده شده همراه با اسانس پونه کوهی را مورد ارزیابی قرار دادند .آنها یک نمونه خام از دانه آفتابگردان و دو نمونه همراه با اسانس پونه کوهی و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT را مورد ارزیابی قرار دادند و گزارش کردن که اسانس پونه کوهی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی است که می‌تواند به حفظ دانه آفتابگردان بوداده در طول ذخیره‌سازی در مقابل فرآیند اکسیداسیون کمک کند. با توجه به نتایج بدست آمده و مقایسه EC50 اسانس پونه کوهی با اسانس‌های مورد بررسی توسط سایر محققین مشخص است که اسانس پونه کوهی فعالیت آنتی‌رادیکالی خوبی داشته و در مقایسه با سایر منابع آنتی‌اکسیدانی ذکر شده نیز از فعالیت ضداکسایشی خوبی برخوردار است. نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد اسانس پونه کوهی دارای قدرت بالایی در مهار رادیکال‌های DPPH و ABTS بوده و از نظر روند تغییرات اعداد پراکسید و اسید تیوباربیتوریک در طی دوره نگهداری در شرایط اکسیداسیون و تاثیر غلظت‌های اسانس افزوده به روغن در مقایسه با آنتی-اکسیدان‌های سنتزی مشابه نتایج محققان بالا بوده است. نتایج حاصل از این تحقیق مشخص نمود که بعضی از مخلوط‌های آنتی اکسیدا ن های طبیعی مانند پونه کوهی را می توان به می توان به عنوان جانشین آنتی‌اکسیدان-های سنتزی در روغن به کار برد و علاوه بر حذف آنتی اکسید ان‌های سنتزی، که می‌توانند با تجمع در بافت‌ها و اندام‌ها باعث ایجاد سرطان و تومور شوند، پایداری حرارتی روغن را بدون ایجاد تغییرات نامطلوب افزایش دهد.

نتیجه‌گیری

غلظت‌های مختلف اسانس پونه کوهی از خود فعالیت‌آنتی اکسیدانی نشان دادند و کاهش سرعت اکسیداسیون را به همراه داشتند. ترکیبات فرار با این که مهم ترین نقش را از لحاظ ارگانولپتیکی در روغن‌ها ایجاد می‌کنند، اما در غلظت‌های بالا، طی فرآیند سرخ کردن و با گذشت زمان روی ویژگی‌های حسی محصول اثر منفی دارند که احتمالا علت این امر اکسیداسیون و تشکیل مواد مولد طعم و بوی نامطلوب است. همچنین، این اسانس به دلیل توانایی واکنش با رادیکال های ناشی از اکسیداسیون می‌تواند به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در فرآورده‌های غذایی به ویژه غذاهای چرب به کار رفته و عمر نگهداری آن‌ها را افزایش دهد. علاوه بر این، آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بی‌خطر بوده و از نظر سلامتی برای مصرف کننده سودمند هستند.

منابع مورد استفاده

رفیعی ز، جعفری س م، اعلمی م و خمیری م،۱۳۹۰. ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ زیتون و کاربرد آن در روغن آفتابگردان، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲۱(۱) ، ۱۱-۲۳.

Abutalebian M, 2006. The extraction of phenolic compounds from peppermint, pennyroyal and sweet basil and comparison of their antioxidative effect in sunflower oil. Journal of Food Sciences and Technology 8: 25-34.

Albarracín HW, Alfonso AC & Sánchez B, IC, 2012. Application of essential oils as a preservative to improve the shelf life of nile tilapia (Oreochoromis niloticus). Journal of Food Chemistry 19(45):34 -40.

Cheng Q, Bai Y, Tao j, Liu Y, 2000. Flavonoids from Ziziphus jujube Mill var. Spinosa. Tetrahedron, 56: 8915-8920.

Frankel E, 1991. Review. Recent advances in lipid oxidation. Journal of the Science of Food and Agriculture 495–511.

Ghorbani-Ghouzhdi H, Shararoo A, Asghari HR, and Abbasdokht H, 2008. Composition of Essential Oil of Artemisia sieberi and Artemisia khorasanica from Iranian. Journal of WASJ 5(3):363-366.

Ghasemi Pirbalouti A, Hossayni I, and Shirmardi H A, 2013b.Essential oil variation, antioxidant and antibacterial activity ofmountainfennel [Zaravschanicamembranacea (Boiss.) M. Pimen.]. Journal of Industrial Crops and Products 50: 443-448.

Inan O. Özcan MM and Juhaimi F, 2012. Antioxidant effect of mint, laurel and myrtle leaves essential oils on pomegranate kernel, poppy, grape and linseed oils. Journal of Cleaner Product 27: 151-154.

Kamkar A, JebelliJavan A, Asadi F, and Kamalinejad M, 2010. The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. Journal of Food Chemistry Toxicology 48: 1796–1800.

Kamkar A, Shamse Ardekani MR, Shariatifar N, Misagi A, Mozaffari Nejad AS, and Jamshidi A H, 2013. Antioxidative effect of Iranian *Pulicaria gnaphalodes* L. extracts in soybean oil. South African Journal of Botany 85: 39–43.

Khosravi AR, Shokri H, Kermani S, Dakhili, M, Madani M, and Parsa S, 2011. Antifungal properties of Artemisia sieberi and origanum vulgare essential oils against candida glabrata isolates obtained from patients with vulvovaginal candidiasis. Journal of Mycology Medical 21: 93-99.

Mulcia A, Egea I, Romojaro F, Parras P, Jimenez AM, Tome MM., 2004. Antioxidant evaluation in dessert spices compared with common food additives. Influence of irradiation procedure. Journal of Agricultural and Food chemistry 20–23.

Politeo O, Jukic M, and Milos M, 2006. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of twelve spice plants. Journal of Croatia Chemistry Acta 79(4):545–552.

Quiroga PR, Grosso NR & Nepote V, 2013. Antioxidant effect of poleo and oregano essential oil on roasted sunflower seeds. Journal of Institute Food Technologists 78(12).

Rouzbehan Y, Alipour D, Barzegar M, and Azizi MH, 2008. Antioxidant activity of phenolic compoundsof grape pomace. Journal of IJFST 5(3):69-74.

Sarrou E, Chatzopoulou P, Dimassi-Theriou K, and Therios I, 2013. Volatile Constituents and Antioxidant Activity of Peel, Flowers and Leaf Oils of *Citrus aurantium* L. Growing in Greece. Journal of Molecules 18: 10639-10647.

Semnani K, Saeedi M, and Shahani S, 2006. Antioxidant activity of the methanolic extracts of somespecies of Phlomis and Stachys on sunflower oil. African. Journal of biotechnology 5(24): 2428-2432.

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

Singh G, Maurya S and Delampasona M, 2007. A comparison of chemical antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. Journal of Food Chemical Toxicol 45:1650 - 61.

Sonje M, Giacometti J, and Abram M, 2011. Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. Journal of Food Chemistry 127:1821–1827.

Taha Nejad M, Barzegar M, Sahari MA, and Naghdi Badi H, 2010. Evaluation of antioxidant activity of *Lavandula angustifolia* essential oil in crude soybean oil. Journal of Medicinal Plants 8:127-140.

Taha Nejad M, Barzegar M, Sahari MA, and Naghdi Badi H, 2012. Evaluation of antiradical activity of *Malva sylvestris* L. essence and its potential usage in oil system. Journal of Medicinal Plants 42: 86-97.

Ussain SHH & Adeem MUN, 2010. A comparative study on chemical composition and antioxidant activity of ginger (zingiber officinale) and cumin *(cuminum cyminum*). Journal of Agricultural and Food chemistry 8231–8237.

Zandi-Sohani N, Hojjati M, and Carbonell-Barrachina AA, 2013. Insecticidal and Repellent Activities of the Essential Oil of Callistemon citrinus (Myrtaceae) against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Neotrop Entomology 42: 89-94.

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

Evaluation of antioxidant effect of oregano (*Origanum Vulgare*) essence on oxidative stability of frying oil

A Ataye Salehi[1]* and N Soleimanpoor Tamam[2]

Received: August 14, 2017 Accepted: October 20, 2018

[1]Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran
[2]PhD Student, Department of Food Science and Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran
*Corresponding author: E mail: eatayesalehi@yahoo.com

Introduction: The oxidation of fats and oils during food processing and storage not only causes loss of nutritional and digestive quality, but also produces compounds such as free radicals that lead to potentially biologically adverse and chemical reactions, Therefore, the use of antioxidants is essential to prevent the onset of corruption. Although many oils contain natural antioxidants such as flavonoids and tocopherols, due to insufficient efficacy of these compounds, they should be added to edible oils (Ibrahimzadeh et al. 2008). Synthetic antioxidants such as butylated hydroxy anisole (BHA), butylated hydroxy toluene (BHT), and tertiary butylated hydroquinone (TBHQ) are commonly used to delay the oxidation spoilage of oils (Semnani et al. 2006). extraction and purification of rosemary extract and its extensive supply for nutrition and hygiene as a natural antioxidant (sunjae et al. 2011) or extract of iranian oregano extract and evaluation of antioxidant activity and competition with BHT synthetic antioxidant in sunflower oil there have been some of these efforts (kamkar et al. 2010). Other plant sources that have been studied in recent years for antioxidant compounds in their essential oils or extracts can be found in *Laurus nobilis* (Inan et al., 2012), *Citrus aurantium* (Saro et al. 2013), *Pulicaria gnaphalodes* (Kamkar et al. 2013), lavender (Tahanjad et al. 2010) and *Malva sylvestris* (Tahanjad et al. 2012) were noted.In order to investigate the antioxidant potential of the active ingredients in aromatic plants, the present study evaluated the antioxidant properties of the essential oil of Oregano in comparison with the synthetic antioxidant of TBHQ in frying oil stability.

Material and methods: Oregano was collected from the area around Shooshtar in Khuzestan province in mid-autumn and after wash and rinse to remove dust, it was dried at laboratory (temperature 28 ° C and 44% relative humidity) and then 100 g of The dried plant was transferred to a Clevenger apparatus and extracted for 3 hours and then dehydrated with sodium sulfate and stored at 4 ° C. Compounds of extracted essential oil by injection of 0.5 µl Cyclohexane diluted essential oil to Agilent 6890A gas chromatograph containing HP-5 column (30 m length, 250 µm internal diameter and 0.25 µm constant phase thickness) attached to Agilent 59 mass spectrometer is identified. Total phenol content of the essential oil was determined by Folin-Ciocalteu method and its antioxidant activity by DPPH and ABTS tests. Antioxidant activity of oregano essential oil at three levels of 200, 500 and 1000 ppm and TBHQ synthetic antioxidant at 200 ppm in antioxidant-free frying oil (consisting of 60% soybean oil, 40% palm and 100 ppm citric acid) at 90 ° C on days 0, 1, 2, 3, 4, 5 and 6 were evaluated by measuring peroxide value and thiobarbituric acid test.

Results and discussion: Based on the results, twenty-two compounds were identified by water distillation. It contained 95.3% of the essential oil. Of these, polygon (31.54%), cineol 1-8 (15.88%), menthofuran (11.8%) and cis iso-polygon (9.74%) constituted the major constituents of the plant essential oil. The results of this study were somewhat different from those of others. The differences in the type of essential compounds and their percentages in the essential oils can be attributed to differences in climatic and plant growth, harvest time, shelf life, method of extraction, and finally genetic variation of the plant. Each gram of oregano essential oil contained 7.5 mg

phenolic compounds based on gallic acid on dry matter. There was a direct relationship between the essential oil concentration and its DPPH scavenging effect. The EC50 index of oregano essential oil was 1 mg / ml. Radical inhibitory power of oregano essential oil was compared with synthetic antioxidant TBHQ and the results showed that oregano essential oil at a concentration of 1 mg / ml had inhibitory power equivalent to 0.06 mg / ml of TBHQ antioxidant. Based on the results and comparison of EC50 essential oil with those investigated by other researchers, it is clear that the essential oil has good antioxidant activity and has good antioxidant activity compared to other antioxidant sources. There was a direct relationship between the essential oil concentration and ABTS radical scavenging ability. Evaluation of antioxidant activity of essential oil in fried oil for 6 days at 90 ° C in terms of peroxide and thiobarbituric acid values showed that Peroxide value was dependent on the concentration of treatments and decreased with increasing concentration of treatments and hence there was a significant difference ($P<0.05$). On the other hand, no significant difference was observed between the concentrations of 500 and 1000 ppm ($P<0.05$). In the first days of the test, concentrations of 500 and 1000 ppm of Oregano essential oil and TBHQ antioxidant reduced the same amount of peroxide but were weaker than TBHQ antioxidant on day 4 and reduced peroxide to a lesser extent. The concentration of 200 ppm essential oil from day 4 did not show any significant difference with control. Concentration of 500 ppm of Oregano Essential Oil during the Test with TBHQ Antioxidant Reduced Thiobarbituric Acid. The results of this study showed that Oregano essential oil has high potency in inhibiting DPPH and ABTS radicals and in terms of changes in peroxide and thiobarbituric acid during storage under oxidation conditions and the effect of essential oil concentrations in comparison with synthetic antioxidants. The results of this study indicated that oregano essential oil can be used as a replacement for synthetic antioxidants in oil and in addition to eliminating synthetic antioxidants, which can cause cancer by accumulating in tissues and organs, enhancing the thermal stability of the oil without causing undesirable changes.

Conclusion: Different concentrations of oregano essential oil showed antioxidant activity and decreased oxidation rate. Volatile compounds, although they play the most important organoleptic role in oils, have a negative effect on the sensory properties of the product during frying and over time, possibly due to oxidation and formation of substances. It produces a bad taste and smell. Also, because of its ability to react with oxidation-induced radicals, this essential oil can be used as a natural antioxidant in food products, especially fatty foods and prolong their shelf life. In addition, natural antioxidants are safe and beneficial to the consumer

Key words: Essential oil, Oregano, Frying oil, Antioxidant activity