



بررسی فیتوشیمیایی و فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس مریم گلی ارغوانی بومی ایران و کاربرد آن در پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان

امیر عزیزی*، کاوه خسروی

گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران

چکیده	مقاله پژوهشی اصیل
مقدمه هدف شناسایی ترکیبات و سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره آبی و اسانس روغنی گیاه مریم گلی ارغوانی بومی ایران و کارایی آنها در پایداری اکسیداسیون روغن آفتابگردان می-باشد. مواد و روش‌ها عصاره و اسانس به ترتیب از روش خیساندن و اسانس‌گیری توسط دستگاه کلونجر به روش تقطیر با بخار تهیه شدند. میزان ترکیبات فنلی عصاره و ترکیبات فرار اسانس به ترتیب به روش فولین-سیکالتو و دستگاه گازکروماتوگراف متصل شده به طیف سنج جرمی (GC/MS) تعیین شدند. برای تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی از روش به دام اندازی رادیکال ۲،۲-دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) استفاده شد و غلظت‌های لازم برای مهار ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد (IC₅₀) محاسبه گردید. کارایی آنتی اکسیدانی در به تأخیر انداختن زمان فساد اکسیداتیو روغن آفتابگردان با اندازه‌گیری شاخص‌های پایداری اکسیداتیو، روش شاخص پایداری اکسایشی (OSI) و روش اکسیژن فعال (AOM) ارزیابی شد. یافته‌ها میزان ترکیبات فنلی عصاره (۲۴/۲±۲۳/۱۱ میلی گرم/گرم)، بیشتر از اسانس تعیین گردید. در اسانس ۲۱ ترکیب، که در مجموع ۹۷/۱ درصد آن را تشکیل می‌داد شناسایی شد. ۸۱-سینئول (۲۴/۸ درصد)، کامفر (۱۷/۹ درصد)، ساینین (۸/۶ درصد)، آلفا پینین (۸/۵ درصد) و ترپینئول (۷/۱ درصد) مهمترین ترکیبات بودند. IC₅₀ به ترتیب ۳۸/۱۶±۲/۳۶ و ۷۳/۱±۱۴/۲۳ میکروگرم/ میلی لیتر برای عصاره و اسانس تعیین گردید. غلظت‌های ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی گرم/لیتر از عصاره و اسانس کارایی مشابه و قابل رقابت با آنتی اکسیدان سنتزی گریندوکس ۱۱۷ (۲۰۰ میلی گرم/لیتر)، داشتند. نتیجه‌گیری استفاده از ترکیبات استخراج شده از مریم گلی ارغوانی به عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی اکسیدان‌های سنتزی پیشنهاد می‌گردد. کلیدواژه‌ها فعالیت آنتی اکسیدانی، اسانس روغنی، مریم گلی ارغوانی، پایداری اکسایشی، روغن آفتابگردان	تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۴/۳۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۹/۲۹ *نویسنده مسئول: امیر عزیزی، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران تلفن: ۰۲۱۷۷۷۴۰۰-۸۶۳۹۸ پست الکترونیک: a-azizi@araku.ac.ir



مقدمه

یکی از مهمترین مشکلاتی که در حین فرآوری، آماده سازی یا نگهداری طولانی مدت فرآورده‌های غذایی رخ می‌دهد تغییرات عمده ساختاری است که باعث کاهش کیفیت تغذیه‌ای، طعم، رنگ و سلامت این فرآورده‌ها می‌گردد (۱). وقوع اکسیداسیون‌های شیمیایی یکی از علل این تغییرات اساسی می‌باشد، که در صنعت تولید محصولات غذایی به فساد اکسیداتیو مشهور است. تولید ترکیبات شیمیایی با بوی و طعم نامطبوع و گاهی سمی، که مصرف آن‌ها باعث بروز مسمومیت‌های غذایی خواهد شد از نتایج وقوع چنین فرآیند نامطلوبی در محصولات غذایی می‌باشد (۲).

به منظور کنترل و یا به تأخیر انداختن فساد اکسیداتیو در روغن‌های خوراکی، بعنوان یکی از محصولات غذایی پر مصرف راهکارهای متفاوتی پیشنهاد شده است. در دهه‌های اخیر استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها برای جلوگیری و یا به تأخیر انداختن فساد اکسیداتیو در فرآورده‌های غذایی، بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۳). آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیبات شیمیایی هستند که به عنوان خاتمه دهنده زنجیره تشکیل رادیکال‌های آزاد در فرآیند اکسایش بوده و یا به عنوان گیرنده‌های عوامل اکسند محیط، مانند اکسیژن عمل کرده و فرآیندهای اکسیداسیون را کند و یا حتی متوقف می‌سازند (۴). ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از نظر منشاء تولید به دو دسته سنتزی و طبیعی تقسیم‌بندی می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی رایج مورد استفاده در صنایع غذایی ترکیبات شیمیایی از قبیل هیدروکسی تولوئن بوتیل‌ه شده،

هیدروکسی آنیسول بوتیل‌ه شده، گالات‌ها،^۲ ترشیو بوتیل هیدروکینون‌ها^۳ باشند که به‌صورت مصنوعی در آزمایشگاه-ها تهیه و تولید می‌شوند (۵). این ترکیبات شیمیایی به‌دلیل دارا بودن قابلیت‌هایی چون انحلال پذیری بالا در روغن، تأثیرگذاری خوب در غلظت‌های کم و نداشتن طعم، عطر و رنگ با اقبال خوبی از طرف سازندگان محصولات غذایی از جمله سازندگان روغن‌های خوراکی روبرو شده‌اند. اما وجود گزارش‌های متعدد مبنی بر اثرات زیانبار (سمیت و سرطان زایی) برخی از این ترکیبات، باعث شده تا در مصرف این آنتی‌اکسیدان تردید ایجاد شود (۶)، و تولید کنندگان به تولید محصولات با نگاهدارنده‌ها و آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی عاری از هر گونه اثر سوء بر سلامت انسان‌ها تمایل پیدا کنند (۷).

مهمترین منبع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی ترکیبات استخراج شده از اندام‌های مختلف گیاهان و یا میوه‌ها می‌باشند (۸) که جهت استفاده از این ترکیبات ابتدا باید آن‌ها را با بکارگیری روش‌های مناسب استخراج نمود. عصاره‌گیری یکی از روش‌های سنتی استخراج آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌باشد. ترکیبات استخراج شده با این روش (ترکیبات پلی فنلیک) علی‌رغم قدرت آنتی‌اکسیدانی بالا، بدلیل دارا بودن عطر و طعم زیاد و همچنین نیاز به حلال‌های آلی برای استخراج و تهیه محلول‌های امولسیون در زمان مصرف، باعث شده تا بکارگیری این آنتی‌اکسیدان‌ها در صنایع غذایی را با محدودیت روبرو سازد. بنابراین برای غلبه بر بعضی از این مشکلات، اسانس‌گیری بعنوان یکی از روش-

^۲ Butylated hydroxyanisole: BHA

^۳ Galat propyl: GA

^۴ Tert-butylhydroquinone: TBHQ

^۱ Butylatedhydroxytoluene: BHT



می‌باشند (۱۱). با این وجود توجه به خواص آنتی اکسیدانی اسانس و کارایی آن‌ها در صنایع غذایی به نظر مغفول مانده است.

در این راستا به برخی مطالعات انجام شده بر روی خانواده نعنا یکی از بزرگترین گیاهان دارویی مطرح در ایران و جهان می‌توان اشاره نمود: اثر اسانس پونه کوهی توسط اسانسو^۲ و همکاران بررسی شد و گزارش گردید که این اسانس باعث افزایش پایداری اکسیداسیون روغن زیتون فوق بکر می‌شود (۱۲). ارکان^۳ و همکاران، به بررسی اثر اسانس سیاه دانه و عصاره رزماری پرداخته و گزارش نمودند که عصاره رزماری در به تأخیر انداختن اکسیداسیون روغن آفتابگردان نسبت به اسانس سیاه دانه عملکرد موثرتری دارد (۱۳). در مطالعه-ای دیگر هاشمی و همکاران گزارش کردند که اسانس زنیان باعث کاهش سرعت اکسیداسیون روغن آفتابگردان می‌شود (۱۴). در سال ۲۰۱۷، توریان^۴ و همکاران تأثیر آنتی اکسیدانی اسانس بخش‌های هوایی ریحان و مریم گلی کبیر را بر ماندگاری پنیر سفید ایرانی مورد مطالعه قرار دادند. نتایج این مطالعات نشان داد که اسانس ریحان تأثیر بیشتری در مقایسه با اسانس مریم گلی کبیر داشته است (۱۵). بررسی پایداری اکسیداسیون روغن زیتون بکر با استفاده از اسانس رزماری از دیگر تحقیقاتی است که توسط گلمکانی و همکاران، انجام گرفت و گزارش شد که اسانس رزماری در به تأخیر انداختن اکسیداسیون روغن زیتون بکر اثر قابل توجهی دارد (۱۶). با توجه به بررسی‌های به عمل آمده مشخص شد علی‌رغم وجود گزارش‌های متعددی در خصوص شناسایی ترکیبات و ارزیابی خاصیت آنتی

های توسعه یافته در استخراج ترکیبات موثره گیاهی پیشنهاد شده است. در این روش علاوه بر استخراج میزان ترکیبات هدف به صورت روغنی با قابلیت انحلال پذیری بالا در روغن، عدم نیاز به استفاده از حلال‌های آلی در هنگام استخراج و مصرف، کاهش در عطر و طعم ترکیبات طبیعی استخراج شده توسط بخار را از دیگر مزایای مهم این روش در مقایسه با روش سنتی عصاره‌گیری می‌توان برشمرد (۹). گزارش‌های متعددی در خصوص تهیه و استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی استخراج شده از منابع گیاهی و میوه‌ها در جهان وجود دارد که اغلب تحقیقات صورت گرفته در محیط آزمایشگاهی بوده و در بیشتر آن‌ها بررسی اثر عصاره-های غیر آبی استخراج شده در به تأخیر انداختن فساد اکسیداسیون مواد غذایی مورد توجه بوده است. بطوریکه اولین مطالعه صورت گرفته در این خصوص، بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی ۳۲ گیاه در تعیین پایداری اکسیداتیو روغن لارد در درجه حرارت ۹۸/۶ درجه سانتی‌گراد به روش اکسیژن فعال^۵ است که توسط چیپالت و همکارانش در سال ۱۹۵۲ گزارش شده است، که در آن اکلیل کوهی و مریم گلی بیشترین اثر را داشته‌اند (۱۰).

علی‌رغم وجود گیاهان بومی فراوان در ایران و امکان دسترسی آسان و ارزان به آن‌ها تحقیقات چشم‌گیری در خصوص تأثیر اسانس این گیاهان بر روی پایدار سازی اکسیداتیو مدل‌های غذایی از جمله روغن‌های خوراکی، انجام نگرفته است. اکثر اسانس‌های گیاهی دارای ترکیب پیچیده شیمیایی نظیر مونوترپن‌ها، دی‌ترپن‌ها، سزکوئی‌ترپن‌ها، و همچنین ترپن‌های اکسیژن‌دار می‌باشند. این ترکیبات در کنار هم دارای پتانسیل آنتی اکسیدانی بالایی

^۲Asensio

^۳Erkan

^۴Tooryan

^۵Active oxygen method: AOM



اکسیدانی عصاره‌های الکلی و اسانس گیاهان در محیط آزمایشگاهی، از جمله گیاه مریم گلی ارغوانی، بعنوان یکی از بزرگترین خانواده تیره نعنا، تابحال مطالعه‌ای که در آن اثر اسانس و یا حتی عصاره این گیاه بر پایداری سازی مدل‌های غذایی (روغن خوراکی)، در برابر فساد اکسیداتیو مورد بررسی قرار گرفته باشد، در کشورمان وجود ندارد.

گیاه مریم گلی ارغوانی با نام علمی سالویا مولتی کولیس^۱ جزء یکی از ۱۷ گونه گیاهی خانواده مریم گلی بومی ایران است که دارای ساقه‌هایی چوبی، برگ‌هایی بیضی شکل و گل‌هایی زنگوله مانند به رنگ آبی مایل به بنفش است، که موسم گلدهی آن اردیبهشت تا خرداد می‌باشد. مناطق انتشار این گیاه در ایران بیشتر در نواحی البرز، تهران، قزوین، اراک، آذربایجان، خراسان، شاهرود، اشنترانکوه و کرمانشاه است (۱۷). مطالعه حاضر با در نظر گرفتن مشخصه‌های بارزی چون قدرت آنتی اکسیدانی مورد تایید در تحقیقات مختلف (۱۸)، سهولت دسترسی آسان و ارزان به این گیاه، از طریق رویشگاه‌های طبیعی و همچنین عدم وجود مطالعه‌ای جامع در خصوص کارایی ترکیبات موثره استخراج شده از این گیاه بر روی مدل‌های غذایی، برنامه‌ریزی و اجرا شد. شناسایی ترکیبات و سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره آبی و اسانس استخراج شده از مریم گلی ارغوانی بومی ایران، جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های طبیعی استان مرکزی (اراک) و اثر آن در پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان بعنوان یک مدل غذایی از اهداف مهم اجرای این پژوهش بود.

مواد و روش‌ها

گیاه مریم گلی ارغوانی جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های طبیعی استان مرکزی (اراک)، روغن آفتابگردان بوگیری شده بدون آنتی اکسیدان خریداری شده از شرکت‌های روغن سازی داخلی، آنتی اکسیدان سنتزی با نام تجاری گریندوکس ۱۱۷ ساخت کشور دانمارک، ۲و۲-دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل^۲ تهیه شده از شرکت سیگما آلدریچ، معرف فولین سیوکالتو^۳، کوئرستین^۴، سدیم سولفات بدون آب، سدیم نیترات، آلومینیوم کلرید ۶ آبه، سدیم بی کربنات، اسید گالیک، سدیم هیدروکسید، آب مقطر بدون یون و همچنین اتانول، متانول و سایر محلول‌های لازم که ساخت شرکت مرک آلمان بودند. همگی ترکیبات دارای خلوص آزمایشگاهی بوده و بدون خالص‌سازی مورد استفاده قرار گرفتند.

آماده سازی گیاه

گیاه مریم گلی ارغوانی در اواخر خرداد ماه ۱۳۹۵ از رویشگاه‌های طبیعی شهرستان اراک در مرحله گل‌دهی جمع‌آوری شد و نام علمی آن توسط گیاه شناس هرباریوم مرکز تحقیقات سازمان جهاد کشاورزی استان مرکزی مورد تایید قرار گرفت. سرشاخه‌ها بعد از پاک کردن در سایه خشک و توسط آسیاب برقی پودر شد.

گروه‌های مورد مطالعه

در این پژوهش به منظور ارزیابی اثرات آنتی اکسیدانی گیاه انتخاب شده ترکیبات موثره گیاه به دو صورت عصاره آبی و اسانس روغنی استخراج و نتایج آزمایشات انجام شده توسط هریک از این گروه‌ها با نتایج حاصل از گروه کنترل، آنتی

^۱ Grendoks

^۲ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl: DPPH

^۳ Folin-Ciocalteu

^۴ Quercetin

^۱ Salvia multicaulisvahl



اکسیدان سنتزی با نام تجاری گریندوکس ۱۱۷، مورد مقایسه قرار گرفت.

استخراج عصاره

از روش پرکولاسیون (خیساندن) برای انجام عمل عصاره-گیری استفاده شد. برای این منظور ۱۰۰ گرم از گیاه خشک شده را که بصورت پودر درآورده شده بود به ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه و بعد از ۴۸ ساعت خیساندن در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد، عصاره استخراج شده توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف و تحت خلاء توسط دستگاه روتامتر تغلیظ شد.

استخراج اسانس

۱۰۰ گرم از پودر گیاه خشک شده جهت اسانس گیری مورد استفاده قرار گرفت. اسانس گیری توسط دستگاه کلونجر^۱ و به روش تقطیر با بخار آب و برای مدت ۴ ساعت انجام شد. اسانس استخراج شده پس از جداسازی با استفاده از سدیم سولفات بدون آب رطوبت زدایی، توزین و تا قبل از انجام تمامی آزمایشات در شیشه‌ای تیره و در یخچال با دمای ۴°C نگهداری شد. در ادامه وزن اسانس استحصال شده بر وزن پودر گیاه خشک مورد استفاده تقسیم و بازده اسانس ۳/۴ درصد تعیین گردید.

اندازه گیری ترکیبات فنلی

برای تعیین مقدار ترکیبات فنلی از روش فولین-سیوکالتو (۱۹)، و از اسید گالیک بعنوان استاندارد استفاده شد. برای این منظور ۱ میلی لیتر عصاره و اسانس روغنی استخراج شده با غلظت ۱۰۰ میکروگرم/میلی لیتر انتخاب و جداگانه به هر یک از آن‌ها ۵ میلی لیتر معرف فولین-سیوکالتو اضافه و مخلوط به شدت تکان داده شد. پس از گذشت ۳ دقیقه ۱۰ میلی لیتر محلول سدیم کربنات ۲ درصد به مخلوط اضافه و

برای مدت ۱۵ دقیقه به طور متناوب همزده شد. در ادامه نمونه‌ها برای مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده و پس از طی این زمان جذب آن‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر^۲ UV-Vis در طول موج ۷۶۰ نانومتر اندازه-گیری شد. در پایان میزان ترکیبات فنلی موجود بصورت میلی گرم اسید گالیک بر گرم گیاه خشک با استفاده از منحنی‌های کالیبراسیون تهیه شده با غلظت‌های مختلف از اسید گالیک تعیین شد (۱۹).

اندازه گیری ترکیبات فلاونوئید

در این آزمایش مقدار ترکیبات فلاونوئیدی با استفاده از روش ابراهیم زاده (۲۰)، و از طریق ایجاد رنگ کمپلکس-های رنگی با استفاده از معرف کلرید آلومینیوم تعیین شد. خلاصه‌ای از روش انجام آزمایش بصورت زیر است. ۱ میلی-لیتر از عصاره و یا اسانس روغنی که دارای غلظت ۱۰۰ میکروگرم/میلی لیتر بود به طور جداگانه، به ۴ میلی لیتر آب مقطر بدون یون و ۰/۳ میلی لیتر نیترات سدیم ۵ درصد اضافه و برای ۵ دقیقه به شدت تکان داده شد. به مخلوط تهیه شده ۰/۳ میلی لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد و ۲ میلی لیتر محلول سود ۱ مولار اضافه و حجم نهایی آن با آب مقطر بدون یون به ۱۰ میلی لیتر رسانده شد و پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای محیط، جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر UV-Vis قرائت شد. در ادامه میزان ترکیبات فلاونوئیدی برحسب میلی گرم کوئرستین به ازاء وزن ۱۰۰ گرم گیاه خشک از طریق انطباق مقادیر جذب قرائت شده بر روی منحنی کالیبراسیونی که با استفاده از غلظت‌های استاندارد مختلف از کوئرستین تهیه شده است اندازه گیری و تعیین شد (۲۰).

شناسایی ترکیبات اسانس

^۲UV-Vis spectrophotometer

^۱Clevenger



نمونه‌های تهیه شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر UV-Vis در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و درصد به دام اندازی رادیکال‌ها (%RC) با استفاده از رابطه (۱) محاسبه گردید (۲۲).

$$\%RC = \frac{A_b - A_s}{A_b} \times 100$$

که در این رابطه A_s و A_b به ترتیب جذب نمونه شاهد و نمونه‌های تهیه شده از عصاره و اسانس می‌باشد. در ادامه IC_{50} (غلظتی از نمونه‌های حاوی عصاره و اسانس که باعث ۵۰ درصد بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی می‌شود)، تعیین و نتایج با آنتی اکسیدان سنتزی مورد استفاده در این مطالعه مقایسه شد.

ارزیابی پایداری اکسیداتیو روغن آفتابگردان

اثر آنتی اکسیدانی غلظت های مختلف (۵۵۰، ۱۵۰، ۲۵۰، ۳۵۰، ۴۵۰ میلی‌گرم/لیتر)، عصاره و اسانس استخراج شده از گیاه مریم گلی ارغوانی بر اکسیداسیون روغن آفتابگردان بعنوان یک مدل غذایی پرمصرف با اندازه‌گیری شاخص پایداری با دو روش شاخص پایداری اکسایشی^۲ (SOI) و اکسیژن فعال (AOM)، بررسی و توانایی آن‌ها در به تاخیر انداختن فساد اکسیداتیو با نمونه‌های کنترل (نمونه روغن حاوی آنتی اکسیدان سنتزی) و شاهد (نمونه روغن بدون آنتی اکسیدان) مورد مقایسه قرار گرفت.

اندازه‌گیری شاخص پایداری اکسایشی (SOI) با دستگاه رنسیمت^۳

بمنظور جداسازی و شناسایی ترکیبات فرار اسانس روغنی از دستگاه گروماتوگرافی گازی متصل به دستگاه طیف نگار جرمی استفاده شد. دستگاه گروماتوگرافی گازی از نوع HP مدل ۶۸۹۰ با ستونی به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر بود. تزریق بصورت شکافته با نسبت ۲۰:۱ انجام گرفت. دمای ابتدایی آون ۶۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت تغییر ۶ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه بود تا اینکه دما تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت. از گاز هلیوم با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر/دقیقه بعنوان گاز حامل استفاده شد. برای تفکیک طیف‌های جرمی از طیف بین جرمی مدل ۵۹۷۳ HP با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و منبع یونیزاسیون ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد بهره گرفته شد. شناسایی مواد تشکیل دهنده اسانس از طریق محاسبه اندیس بازدارندگی ترکیب‌ها و مقایسه طیف جرمی آن‌ها با منابع کتابخانه دستگاه و همچنین مقایسه ۸ پیک اصلی طیف‌های جرمی هریک از ترکیب جدا شده و مقایسه آن‌ها با طیف‌های استاندارد ترکیبات شناخته شده انجام شد (۲۱).

سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی با روش حذف

رادیکال‌های آزاد DPPH

روشی مرسوم در تعیین میزان فعالیت آنتی اکسیدان‌ها اندازه‌گیری توانایی آن‌ها در به دام اندازی رادیکال‌های آزاد ماده‌ای به نام ۲،۲-دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) می‌باشد. در این مرحله غلظت‌های مختلفی در محدوده ۵۵۰-۱۵۰ میلی‌گرم/لیتر از عصاره و اسانس تهیه و در ادامه ۰/۳ میلی‌لیتر از این محلول‌ها با استفاده از محلول متانولی DPPH ۰/۱ میلی‌مولار به حجم نهایی ۳ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از اختلاط کامل و قرار دادن مخلوط به مدت ۶۰ دقیقه در یک محیط تاریک، جذب

^۱Inhibited concentration

^۲Stability oxidant index

^۳Rancimat



زمان نشانه‌ای از مقاومت روغن در مقابل تندی و فساد اکسیداتیو است (۲۴).

تجزیه و تحلیل آماری

هریک از آزمون‌های ذکر شده حداقل سه بار تکرار و داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SPSS تجزیه و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون توکی در سطح ۵ درصد انجام شد.

یافته‌ها

نتایج مربوط به مجموعه آزمایشات انجام شده بر روی عصاره و اسانس استخراجی از گیاه مریم گلی ارغوانی بومی ایران جمع آوری شده از رویشگاه‌های طبیعی استان مرکزی (اراک) بصورت خلاصه در جداول ۱ تا ۶ ارائه شده اند که در خصوص هر یک از داده‌ها در بخش‌های بعدی بحث خواهد شد.

ترکیبات فنلی و فلاونوئید

نتایج مربوط به اندازه گیری میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصاره آبی و اسانس روغنی استخراج شده از گیاه مریم گلی ارغوانی جمع آوری شده از رویشگاه‌های طبیعی استان مرکزی (اراک)، به ترتیب برحسب میلی گرم اسید گالیک و کوئرستین به ازاء گرم عصاره یا اسانس در جدول ۱ ارائه شده است.

رنسیمت دستگاهی است که در ارزیابی اثر آنتی اکسیدان و تعیین پایداری اکسیداتیو روغن‌ها بصورت اتوماتیک و بدون نیاز به کنترل مداوم، کاربرد دارد. در این روش حجم معینی از نمونه روغن تحت آزمایش در محل مورد نظر دستگاه ریخته و آن را در جریان هوایی معادل ۲۰ لیتر/ساعت تا ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد گرم می‌کنند. در این روش در نتیجه‌ی اکسیداسیون ترکیبات آلی موجود در نمونه روغن عمدتاً آلدئیدها و یا پراکسیدها در نتیجه افزایش دما، هدایت الکتریکی نمونه بدلیل تولید ترکیبات فرار از جمله اسید فرمیک تغییر یافته، اندازه‌گیری شده و بر حسب زمان القا بعنوان معیاری از پایداری گزارش می‌گردد (۲۳).

اندازه گیری شاخص پایداری به روش اکسیژن فعال (AOM)

در این روش مدت زمان رسیدن عدد پراکسید روغن بر حسب ساعت، به ۱۰۰ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلو گرم روغن در شرایط استاندارد آزمون (دمای ۹۷/۸ درجه سانتی‌گراد و جریان هوای ۸/۳۵ لیتر/ساعت) تعیین شد. برای انجام این آزمون ۲۰ میلی‌لیتر از نمونه‌های روغن با غلظت‌های تعیین شده از عصاره و اسانس به جایگاه مورد نظر در دستگاه منتقل و سپس لوله‌هوا دهی به آن متصل شد. هوا با جریان ۸/۳۵ لیتر/ساعت به داخل لوله که دمای آن در ۹۷/۸ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده تزریق و عدد پراکسید در بازه‌های زمانی مختلف اندازه‌گیری و نتایج آن با نمونه‌های کنترل و شاهد مقایسه گردید. طول این مدت

جدول ۱- میزان ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی اکسیدانی

نمونه	ترکیبات فنلی تام (mg/g)	ترکیبات فلاونوئیدی (mg/g)	IC ₅₀ به روش DPPH (μm/mL)
عصاره آبی	۲۴/۲±۲۳/۱۱ ^a	۱۵/۲±۶۱/۴۱ ^a	۳۸/۲±۱۶/۳۶ ^b
اسانس روغنی	۲/۲±۱۱/۶۱ ^b	۰/۰±۸۰/۱۵ ^b	۷۳/۱±۱۴/۲۳ ^a
گریندوکس ۱۱۷	-	-	۲۱/۱±۱۵/۴۱ ^c

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهند



ترکیب شیمیایی اسانس

می‌دهند که ۸۰۱- سینئول (۲۴/۸ درصد)، کامفور (۱۷/۹ درصد)، آلفا پینین (۸/۵ درصد)، ترپینئول (۷/۱ درصد) شاخص ترین این ترکیبات بودند (جدول ۲).

در اسانس گیاه مورد مطالعه ۲۱ ترکیب شیمیایی فرار که ۹۷/۱ درصد کل اسانس را تشکیل می‌داد، شناسایی شد. مهمترین بخش این اسانس را ترکیب‌های مونوترپنی تشکیل

جدول ۲- ترکیبات شیمیایی فرار اسانس روغنی

ردیف	ترکیبات	اندیس بازداری	درصد
۱	سانتولینا ترینن	۹۱۰	۰/۲۷
۲	آلفا-توجون	۹۲۷	۰/۳۵
۳	آلفا-پینن	۹۳۴	۸/۴۶
۴	کامفن	۹۴۵	۱/۷۵
۵	سابینن	۹۶۷	۸/۶۳
۶	بتا-پینن	۹۷۰	۴/۴۱
۷	۲ دی هیدرو، ۸۰۱- سینئول	۹۸۰	۰/۳۷
۸	آلفا-فلاندرن	۱۰۰۲	۰/۴۱
۹	۸۰۱- سینئول	۱۰۱۹	۲۴/۷۸
۱۰	آرتمیسیا کتون	۱۰۳۸	۳/۴۶
۱۱	ترپینن	۱۰۴۵	۲/۳۸
۱۲	بتا-فلاراندن	۱۰۵۹	۰/۱۹
۱۳	سابینن هیدرات (ترانس)	۱۰۷۴	۲/۰۵
۱۴	لینالول اکساید (سیس)	۱۰۷۶	۷/۹۶
۱۵	لینالول	۱۰۸۹	۲/۶۶
۱۶	کامفور	۱۱۰۸	۱۷/۹۵
۱۷	پیروکارون	۱۱۱۸	۰/۷
۱۸	ترپن ۴ ال	۱۱۲۹	۲/۸۶
۱۹	آلفا-ترپنول	۱۱۴۱	۷/۱۴
۲۰	بورنیل استات	۱۲۷۸	۰/۷۴
۲۱	کالاون	۱۴۴۰	۰/۳۶
	جمع		۹۷/۱



سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره و اسانس

نتایج حاصل از سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی و درصد حذف رادیکال‌های آزاد DPPH در غلظت‌های مختلف از عصاره آبی و اسانس روغنی در جدول ۳ نشان داده شده

است. همچنین غلظتی از عصاره و اسانس که باعث حذف ۵۰ درصد از این رادیکال‌های آزاد می‌شود در جدول ۱ قابل مشاهده است.

جدول ۳- مقایسه میزان عملکرد عصاره و اسانس در غلظت‌های مختلف در حذف رادیکال آزاد

غلظت (mg/L)	عصاره	اسانس
۱۵۰	$^{d}76 \pm 0.84$	$^{e}61 \pm 0.21$
۲۵۰	$^{c}85 \pm 0.15$	$^{d}78 \pm 0.12$
۳۵۰	$^{c}88 \pm 0.91$	$^{c}83 \pm 0.95$
۴۵۰	$^{b}96 \pm 0.71$	$^{b}89 \pm 0.01$
۵۵۰	$^{a}100 \pm 0.69$	$^{a}92 \pm 0.53$

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهند

اثر عصاره آبی و اسانس روغنی بر اکسیداسیون روغن

نتایج حاصل از اندازه‌گیری شاخص پایداری اکسیداسیون روغن آفتابگردان در نتیجه بکارگیری غلظت‌های متفاوت از عصاره و اسانس، به دو روش SOI و AOM در جداول ۴ تا ۶

ارایه شده است. نگاهی اجمالی نشان می‌دهد که مقادیر بدست آمده در هر دو روش تطابق نسبتاً خوب و قابل قبولی باهم دارند.

جدول ۴- میانگین شاخص پایداری نمونه‌های روغن آفتابگردان برحسب ساعت، تحت تاثیر غلظت‌های مختلف

غلظت (mg/L)	عصاره	اسانس
۱۵۰	$^{d}76 \pm 0.84$	$^{e}61 \pm 0.21$
۲۵۰	$^{c}85 \pm 0.15$	$^{d}78 \pm 0.12$
۳۵۰	$^{c}88 \pm 0.91$	$^{c}83 \pm 0.95$
۴۵۰	$^{b}96 \pm 0.71$	$^{b}89 \pm 0.01$
۵۵۰	$^{a}100 \pm 0.69$	$^{a}92 \pm 0.53$

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهند



جدول ۵- میانگین زمان لازم برای رسیدن به عدد پراکسید ۱۰۰ meq/kg به روش AOM

نمونه	زمان (ساعت)
عصاره ۲۵۰ mg/L	۰.۲۲/۴۲ ^a
اسانس ۳۵۰ mg/L	۰.۲۱/۷۵ ^a
نمونه کنترل (گریندوکس ۲۰۰ mg/L)	۰.۲۳/۲۱ ^a
نمونه شاهد (فاقد آنتی اکسیدان)	۰.۱۵/۵۴ ^b

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهند

جدول ۶- میانگین اعداد پراکسید محاسبه شده بر حسب meq/kg، بعنوان معیاری از پایداری روغن آفتابگردان در طول زمان، به روش AOM

غلظت (mg/L)	عصاره	اسانس	عصاره	اسانس	عصاره	اسانس
۱۲ ساعت	۸ ساعت	۴ ساعت	۴ ساعت	۸ ساعت	۱۲ ساعت	۱۲ ساعت
۱۵۰	۰.۲۱/۲۳ ^c	۰.۲۳/۱۸ ^a	۰.۱۱/۷۶ ^a	۰.۱۲/۹۳ ^a	۰.۲۱/۷۱ ^b	۰.۲۲/۴۶ ^a
۲۵۰	۰.۱۹/۵۲ ^d	۰.۲۰/۳۱ ^b	۰.۸۰/۲۳ ^b	۰.۹۳/۸۴ ^b	۰.۲۰/۸۲ ^c	۰.۲۱/۷۶ ^a
۳۵۰	۰.۱۳/۲۴ ^e	۰.۱۹/۳۴ ^{bc}	۰.۶۵/۱۲ ^d	۰.۸۴/۶۱ ^c	۰.۱۹۰/۵۲ ^d	۰.۲۰/۳۴ ^a
۴۵۰	۰.۲۵/۹۳ ^b	۰.۱۷/۶۸ ^c	۰.۷۳/۳۶ ^c	۰.۷۸/۵۲ ^d	۰.۱۹۸/۱۳ ^d	۰.۱۹۱/۲۳ ^b
۵۵۰	۰.۲۷/۶۵ ^a	۰.۱۴/۷۲ ^d	۰.۷۵/۱۹ ^c	۰.۶۵/۳۳ ^e	۰.۲۴۰/۳۲ ^a	۰.۱۸۶/۲۶ ^b

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهند

بحث

نتایج ارائه شده در جدول ۱، وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد ($P < 0.05$) میان مقادیر ترکیبات فنلی و فلاونویدی تعیین شده در عصاره و اسانس را غلظت‌های مختلف نشان می‌دهد. همچنین بر اساس این نتایج مشخص شد که عصاره آبی داری بالاترین ترکیبات فنلی و فلاونویدی را در مقایسه با اسانس روغنی است. مطالعات محدودی جهت بررسی ترکیبات فنلی و فلاونویدی این گیاه انجام گردیده است. برای مثال در مطالعه انجام شده توسط امیری بر روی گونه مریم گلی ارغوانی رویش یافته در

منطقه لرستان، مقدار ترکیب‌های فنلی اندازه‌گیری شده در عصاره متانولی ۲۷ میلی گرم/ گرم تعیین گردید که در مقایسه با مقدار اندازه‌گیری شده در این مطالعه بیشتر است (۲۵).

در تجزیه و تحلیل ترکیبات شناسایی شده در مطالعه انجام شده توسط احمدی و میرزا (۲۶)، مشخص گردیده است که بورنیل استات (۱۸/۱ درصد)، بتاکاریوفیلین (۱۶/۵ درصد)، و آلفاپینن (۱۵/۶ درصد)، اجزای اصلی اسانس مریم گلی ارغوانی جمع‌آوری شده از استان تهران در مرحله گلدهی می‌باشد (۲۶). در مطالعه انجام شده توسط امیری شاخص



ترین ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس مریم گلی ارغوانی منطقه لرستان، بورنئول (۱۷/۱۶ درصد)، بورنیل استات (۱۸/۵۷ درصد)، کامفور (۱۳/۷۵ درصد)، بتاکاریوفیلین (۵/۸۷ درصد) و کامفن (۵/۶۲ درصد) بوده اند (۲۵). اختلاف اصلی در مطالعه حاضر با دو تحقیق اشاره شده در بالا عدم شناسایی بتا کاریوفیلین و شناسایی ۸-۱ سینئول و ترپینئول بعنوان ترکیباتی اصلی در این اسانس که درصد‌های بالایی را به خود اختصاص داده‌اند، می‌باشد. در دیگر تحقیق انجام شده توسط روستائیان و همکاران آلفاپینن، ۸-۱ سینئول، لیمون و کامفور از ترکیب‌های شاخص اسانس‌های حاصل از برگ‌ها و گل‌های گیاه مریم گلی ارغوانی گزارش شده است (۲۷)، و این در حالیست که در پژوهش حاضر لیمون مورد شناسایی نشد. در مواد تشکیل دهنده اسانس مریم گلی ارغوانی جمع‌آوری شده از کشور ترکیه که توسط تپ^۱ مورد شناسایی قرار گرفته است اصلی‌ترین ترکیبات اسانس آلفاپینن (۲۱/۹ درصد)، اکالیپتول (۲۰/۱ درصد)، کامفور (۱۱ درصد)، بورنئول (۷/۳ درصد)، کامفن (۷/۸ درصد)، بتا پینن (۴/۷ درصد)، بتا کاریوفیلین (۴/۳ درصد) و بورنیل استات (۳/۳ درصد) شناسایی شدند (۱۸). همچنین در دیگر بررسی انجام شده توسط سناتور^۲ و همکاران، اصلی‌ترین مواد تشکیل دهنده اسانس گیاه جمع‌آوری شده از کشور لبنان آلفا پینن (۶ درصد)، آلفا -کوپالن (۸ درصد)، میرتنول (۵/۷ درصد) و ترانس سابینیل استات (۵/۳ درصد) گزارش گردیده است (۲۸).

بر اساس نتایج این تحقیق و بررسی‌ها به عمل آمده در سایر مطالعات موجود مشخص گردید که مهمترین ترکیب‌های شیمیایی تشکیل دهنده اسانس گیاه مریم گلی ارغوانی جمع‌آوری شده از مناطق مختلف عمدتاً ساختارهای مونوترپنی بوده و تنها تفاوت‌های عمده در آن‌ها تغییر در درصد این گروه از مواد، وابسته به جغرافیای منطقه می‌باشد. این تفاوت در مواد متشکله اسانس گیاه جمع‌آوری شده از مناطق مختلف شاید به دلیل تفاوت در روش‌های اسانس گیری آن جمع‌آوری و یا تفاوت در زیست بوم رویشگاه گیاه آن‌ها نیز باشد (۱۸ و ۲۵).

بر اساس نتایج ارایه شده در جدول ۳، می‌توان دریافت که عصاره و اسانس تهیه شده از گیاه مریم گلی ارغوانی جمع‌آوری شده از شهر اراک دارای فعالیت آنتی اکسیدانی منحصر به فردی بوده و توانایی زیادی در کاهش رادیکال‌های آزاد DPPH دارد. همچنین بر اساس این نتایج مشخص گردید که کارایی عصاره آبی در به دام اندازی رادیکال‌های آزاد DPPH بیشتر از اسانس روغنی آن است، در حالیکه فعالیت آنتی اکسیدانی این عصاره کمتر از آنتی اکسیدان سنتزی گریندوکس ۱۱۷ می‌باشد. در این روش غلظتی از عصاره آبی و اسانس که باعث شد تا فعالیت رادیکال‌های آزاد DPPH به میزان ۵۰ درصد کاهش یابد (IC_{50}), به ترتیب $38/16 \pm 2/36$ و $73/14 \pm 1/23$ میکرومتر/میلی لیتر تعیین گردید، این درحالیست که IC_{50} بدست آمده برای گریندوکس ۱۱۷ آنتی اکسیدان سنتزی مورد استفاده در این تحقیق، $21/15 \pm 1/41$ میکرومتر/میلی لیتر تعیین شد. همچنین بر اساس نتایج این بررسی مشخص شد که با افزایش غلظت‌های عصاره و اسانس، درصد بازدارندگی رادیکال‌های آزاد DPPH افزایش یافته است (جدول ۳).

^۱Tepe^۲Senatore



نتایج همچنین وجود رابطه‌ای مستقیم بین فعالیت مهار رادیکال آزاد با میزان ترکیبات فنلی از جمله فلاونوئیدها (در عصاره‌ها) را نشان می‌دهد. به نحوی که در غلظت‌های بالاتر عصاره بدلیل افزایش میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و به تبع آن افزایش گروه‌های هیدروکسیل، احتمال اهدای هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن افزایش قدرت مهارکنندگی در عصاره‌ها ایجاد می‌شود (۲۹). در این مطالعه فعالیت ضد رادیکالی اسانس را همچنین می‌توان به حضور ترکیبات اصلی مسئول مهارکنندگی رادیکال‌های DPPH از جمله مونوترپن‌های آزاد اکسیژن‌دار نظیر آلفا و بتا توجن، بورنیل استات و کامفور، ۱ و ۸ سینئول، ترپن ۴ ال، لینالول و کارون و مخلوط هیدروکربن‌های مونوترپنی و سزکوئی ترپنی نسبت داد، که با افزایش غلظت آن‌ها، فعالیت مهارکنندگی در اسانس نیز افزایش می‌یابد. این ترکیبات در حضور سایر ترکیبات موجود در اسانس، می‌توانند دارای فعالیت سینرژیستی آنتی اکسیدانی باشند (۱۸).

داده‌های بدست آمده در این مطالعه مشابه با نتایج بررسی انجام شده توسط امیری در سال ۲۰۱۲ می‌باشد، که در آن IC_{۵۰} تعیین شده برای عصاره متانولی و اسانس به ترتیب ۳۲/۳ و ۶۷/۱ میکرومتر/میلی‌لیتر بود، و این درحالی است که IC_{۵۰} اندازه گیری شده برای آنتی اکسیدان سنتزی BHT برابر ۱۹/۲ میکرومتر/میلی‌لیتر تعیین شد، که نشان از کارایی بالاتر عصاره متانولی در مقایسه با اسانس روغنی در مهار رادیکال‌های آزاد بدلیل وجود ترکیبات پلی فنلی و فلاونوئیدی بیشتر می‌باشد. برخی محققین گزارش نمودند اسانس گیاه مریم گلی ارغوانی دارای فعالیت آنتی اکسیدانی فوق العاده بالایی است به حدی که فعالیت آن از برخی آنتی

اکسیدان‌های سنتزی مانند کورکومین^۱، اسید اسکوربیک و BHT بیشتر است (۱۸).

براساس نتایج ارایه شده در جدول ۴، استفاده از غلظت‌های مختلف عصاره و اسانس به دو روش بکار رفته در به تاخیر انداختن فساد اکسیداتیو و پایداری اکسیداسیون روغن به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) موثر بوده‌اند. نتایج ارزیابی پایداری اکسایشی در نتیجه افزایش غلظت عصاره و اسانس در محدوده ۱۵۰-۵۵۰ میلی‌گرم/لیتر به روش SOI توسط دستگاه رنسیمت نشان می‌دهد که زمان پایداری اکسیداتیو روغن برحسب ساعت تا غلظت ۳۵۰ و ۵۵۰ میلی‌گرم/لیتر به ترتیب در عصاره و اسانس افزایش یافته است و این درحالی است که زمان پایداری بدست آمده در غلظت‌های بالاتر از ۳۵۰ میلی‌گرم/لیتر برای عصاره کاهش یافته به نحوی که در غلظت ۵۵۰ میلی‌گرم/لیتر تفاوت معنی‌داری با زمان تعیین شده در نمونه شاهد (35 ± 5 ساعت) ندارد. این نتایج نشان می‌دهند که غلظت‌های بالای از عصاره، نه تنها خاصیت آنتی اکسیدانی نداشته بلکه بعنوان یک پرواکسیدان (تشدید کننده اکسیداسیون) عمل نموده است. همچنین نتایج ارایه شده در این جدول می‌توان دریافت که غلظت‌های ۳۵۰ و ۵۵۰ میلی‌گرم/لیتر از عصاره و اسانس به ترتیب عملکردی مشابه با نمونه کنترل (گریندوس ۱۱۷) در محدوده غلظتی که در صنایع روغن سازی (۲۰۰ میلی‌گرم/لیتر) بکار می‌رود، دارند (0.12 ± 0.04 ساعت). همچنین نتایج بدست آمده برای شاخص پایداری که به روش پایداری اکسایشی (OSI) تعیین شده اند، نشان می‌دهد که در نمونه روغن آفتابگردان حاوی عصاره و اسانس به ترتیب در غلظت‌های ۳۵۰ و ۵۵۰

^۱Curcumin



میلی گرم/لیتر، پایداری اکسایشی OSI با افزایش زمان حرارت دهی، کاهش داشته است.

بر اساس این نتایج همچنین مشخص گردید که شاخص پایداری اندازه گیری شده در نمونه های روغن مورد آزمون حتی با افزایش زمان حرارت دهی، همچنان در محدوده OSI مجاز روغن ها، گزارش شده در منابع قرار دارند (۳۰). زمان پایداری اکسیداتیو روغن در برابر فساد در غلظت های بهینه از عصاره و اسانس به روش AOM نیز روندی مشابه با روش OSI نشان داد (جدول ۵)، با این تفاوت که زمان های بدست آمده در روش OSI معمولاً کمتر از روش AOM است که دلیل آن را گذشتن از مرحله اول اکسیداسیون در زمان رسیدن عدد پراکسید به ۱۰۰ میلی اکی والان در کیلوگرم در روش AOM می دانند.

در ادامه همچنین نتایج مربوط به مقایسه میانگین اعداد پراکسید اندازه گیری شده به روش AOM در غلظت های مختلف عصاره و اسانس در طول زمان در جدول ۶ نشان داده شده است. نتایج اندازه گیری های صورت گرفته بعد از مدت زمان ۱۲ ساعت نشان می دهد که نمونه های روغن حاوی ۳۵۰ میلی گرم/لیتر عصاره و ۵۵۰ میلی گرم/لیتر اسانس به ترتیب با مقادیر تقریبی ۱۹۰ و ۱۸۶ میلی اکی والان در کیلوگرم کمترین و نمونه حاوی ۵۵۰ میلی گرم/لیتر از عصاره با مقدار ۲۴۰ میلی اکی والان در کیلوگرم بیشترین میزان اعداد پراکسید را دارا هستند. این افزایش در میزان عدد پراکسید در هنگام استفاده از غلظت های بالاتر از ۳۵۰ میلی گرم/لیتر عصاره را می توان به تشکیل هیدروپراکسیدهای محصولات اولیه اکسیداسیون نسبت داد (۳۱).

با انجام مقایسه در میزان عدد پراکسید اندازه گیری شده در مدت زمان ۱۲ ساعت برای نمونه های کنترل ۱۸۸ میلی اکی والان در کیلوگرم مشخص گردید که این مقدار تفاوت معنی داری ($P < 0.05$) با اعداد پراکسید گزارش برای غلظت های ۳۵۰ میلی گرم/لیتر از عصاره و ۵۵۰ میلی گرم/لیتر اسانس ندارند. بر اساس نتایج بدست آمده در این مطالعه، می توان میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی موجود در عصاره استخراجی را عاملی موثر در پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان برشمرد. این استدلال در گزارشات دیگر محققین نیز ارایه شده است (۳۲ و ۳۳). از دیگر سوی کامفور، بورنیل استات و ۱-۸ سینئول از ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس با توجه به گزارش ارایه شده توسط روبرتو^۱ و همکاران (۳۴)، در جلوگیری از اکسیداسیون لیپید عملکرد موثری داشته و عامل توقف مراحل آغازی و ادامه واکنش های زنجیرهای و نهایتاً تاخیر اندازی اکسیداسیون هستند.

نتیجه گیری

مهمترین یافته های حاصل از این پژوهش عبارتند از: ۱- شناسایی ۲۱ ترکیب شیمیایی فرار در اسانس روغنی، ۲- مشاهده فعالیت آنتی اکسیدانی قابل قبول اسانس در مهار رادیکال های آزاد DPPH بدلیل فراوانی حضور ترکیبات مونوترپنی، ۳- اثر بخشی معنی دار ($P < 0.05$) عصاره و اسانس در ایجاد مقاومت اکسیداتیو در روغن آفتابگردان، ۴- کارایی مشابه در غلظت های ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی گرم/لیتر به ترتیب از عصاره و اسانس در پایداری سازی روغن آفتابگردان در مقایسه با آنتی اکسیدان سنتزی گریندوکس ۱۱۷ با غلظت ۲۰۰ میلی گرم/لیتر، ۵- سهولت انجام کار با رنسیمت و حصول نتایج منطبق با روش AOM می تواند آن-

^۱Ruberto



را بعنوان روشی مناسب برای تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیباتی که فاقد حساسیت به حرارتند مطرح کند.

References

1. Bera D, Lahiri D, Nag A. Studies on a natural antioxidant for stabilization of edible oil and comparison with synthetic antioxidants. *J Food Eng* 2006;74(4):542-5.
2. Shahidi F, Janitha P, Wanasundara P, Phenolic antioxidants. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1992;32(1):67-103.
3. Pokorný J, Yanishlieva N, Gordon M. Antioxidants in food: Practical applications. New York: Elsevier; 2001.
4. Aydeniz B, Yilmaz E. Enrichment of frying oils with phenolic extracts to extend the usage. *J Lipid Sci Technol* 2012;114(8):933-41.
5. Anagnostopoulou M, Kefalas P, Papageorgiou V, Assimepoulou A, Boskou D. Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*). *Food Chem* 2006;94(1):19-25.
6. Frankel E. Recent advances in lipid oxidation. *J Sci Food Agri* 1991;54(4):495-511.
7. Chang S, Bao Y. Inventor Process for manufacture of natural antioxidant products from tea. United States patent 5043100, 1991.
8. Lee S, Umamo K, hibamoto T, Lee K. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chem* 2005;91(1):131-7.
9. Wang L, Weller C. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants trends. *Food Sci Technol* 2006;17(6):300-12.
10. Chipault J, Mizuno G, Hawkins J, Lundberg W. The antioxidant properties of natural spices. *Food Res* 1952;17(1-6):46-55.
11. Tepe B, Daferera D, Tepe A, Polissiou M, Sokmen. Antioxidant activity of the essential oil and various extracts of *Nepeta flavida* Hub. -Mor. from Turkey. *Food Chem* 2007;103(4):1358-64.
12. Asensio C, Nepote V, Grosso N. Chemical stability of extra-virgin olive oil added with oregano essential oil. *J Food Sci* 2011;76(7):445-50.
13. Erkan N, Ayranci G, Ayranci E. Lipid oxidation inhibiting capacities of blackseed essential oil and rosemary extract. *Eur J Lipid Sci Technol* 2012;114(2):175-84.
14. Hashemi M, Niakousari M, Saharkhiz M, Eskandari M. Stabilization of sunflower oil with *Carum copticum* Benth & Hook essential oil. *J Food Sci Technol* 2014;51(1):142-7.
15. Tooryan F, Azizkhani M. Antioxidant effect of sage and basil in Iranian white cheese. *IFSTRJ*. 2017; 13:2(42):346-62. [Persian]
16. Keramat M, Golmakani M, Aminlari M, Alavi N, Nowroozi M, hekarforoush S. Investigation the oxidative stability of virgin olive oil by using rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil. *J Food Sci Technol* 2017;13(60):157-72. [Persian]
17. Mozafarian V. *Iilam flora*. Tehran; Moaser Farhang Publication; 2008. [Persian]
18. Tepe B, Donmez E, Unlu M, Candan F, Daferera D, Vardar-Unlu G, *et al*. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl). *Food Chem* 2004;84(4):519-25.
19. Singleton V, Orthofer R, Lamuela-Raventos R. Analysis of total phenols and other oxidation sub-strates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Meth Enzymol* 1999;299(1):152-78.
20. Ebrahimzadeh M, Nabavi SM, Nabavi SF, Bahramian F, Bekhradnia A. Antioxidant and free radical scavenging activity of *H. officinalis* L. var *Angustifolius*, *V. odorata*, *B. hyrcana* and *C. speciosum*. *Pak J Pharm Sci* 2010;23(1):29-34.
21. Adams R. Identification of essential oil components by Gas chromatography/mass spectroscopy, Illinois: Allured Publishing Croporation; 2001.
22. Alam M, Bristi N, Rafiquzzaman M. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharm J* 2013;21(2):43-152.



23. Frank J, Geil J, Freaso R. Automatic determination of oxidation stability of oil and fatty products (Food quality control, vegetable and animal fats). *Food Technol* 1982;36(6):71-6.
24. Anwar F, Bhanger M, Kazi T. Relationship between rancimat and active oxygen method values at varying temperatures for several oils and fats. *J Am Oil Chem Soc* 2003;80(2):151-5.
25. Amiri H. Chemical composition and antioxidant activity of the essential oil and methanolic extract of *Salvia Multicaulis* Vahl. *JMP* 2012, 1(41 And S8): 111-7. [Persian]
26. Ahmadi L, Mirza M. Essential oil of *Salvia multicaulis* Vahl from Iran. *J Essent Oil Res* 1999;11(3):289-90.
27. Rustaiyan A, Masoudi S, Monfared A, Komeilizadeh H. Volatile constituents of three *Salvia* species grown wild in Iran. *Flav Fragr J* 1999;14:276-8.
28. Senatore F, Arnold N, Piozzi F. Chemical composition of the essential oil of *Salvia multicaulis* Vahl. var. *simplicifolia* Boiss growing wild in Lebanon. *J Chromatogr A* 2004;1052(1-2):237-40.
29. Koda T, Kuroda Y, Imai H. Protective effect of rutin against spatial memory impairment induced by trimethyltin in rats. *Nutr Res* 2008;28(10):629-34.
30. Farhoosh R, Khodaparast M, Sharif A. Bene hull oil as a highly stable and antioxidative vegetable oil. *Eur J Lipid Sci Technol* 2009;111(12):1259-65.
31. Laguerre M, Lecomte J, Villeneuve P. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: existing methods, new trends and challenges. *Prog Lipid Res* 2007;46(5):244-82.
32. Casal S, Malheiro R, Sendas A, Oliveira B. Olive oil stability under deep-frying conditions. *Food Chem Toxicol* 2010;48(10):2972-9.
33. Vinson J, Dabbagh Y. Tea phenols: antioxidant effectiveness of teas, tea components, tea fractions and their binding with lipoproteins. *Nutr Res* 1998;18(6):1067-75.
34. Ruberto G, Baratta M. Antioxidant activity of selected essential oils components in two lipid model system. *Food Chem* 2000;69(2):167-74.



Phytochemical study and antioxidant activity of essential oil of *salvia multiculis vahl* native to Iran, and its application in oxidative stability of sunflower oil

Amir Azizi*, Kaveh Khosravi

Department of Chemistry, Faculty of Science, Arak University, Arak, Iran

Original Article

Received: Jul 22, 2018

Accepted: Dec 20, 2018

***Corresponding Author:**

Amir Azizi, Department of Chemistry, Faculty of Science, Arak University, Arak, Iran, 38156-8-8138

TEL: 08632777400

Email: a-azizi@araku.ac.ir

ABSTRACT

Introduction

The aim is to detect volatile compounds and the antioxidant activity of the aqueous extract and the essential oil of *Salvia multiculisvahl* native to Iran, and their efficacy in the oxidation stability of Sunflower oil.

Materials and Methods

The extract and essential oil were prepared using the Percolation and by Clevenger apparatus through hydro-distillation method, respectively. The number of phenolic components of the extract and volatile components of the essential oil was identified by Folin-Ciocalteu and GC/MS method, respectively. In order to evaluate the antioxidant activity, the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical trap method was used and the concentration that inhibited 50% (IC₅₀) of free radicals were calculated. The antioxidant activity, in the delayed oxidative stress time of sunflower oil, was evaluated by measuring the oxidative stability index (OSI) and the active oxygen method (AOM).

Results

The number of phenolic compounds in the extract (24.23±2.11mg/g), was more than the essential oil. 21 components were detected in the essential oil, representing 97.1% of the total oil. The major compounds of it were 1,8-cineole (24.8%), camphor (17.9%), sabinen (8.6%), α-pinene (8.5%), and terpineol (7.1%). The IC₅₀ of free radicals was obtained for extract and essential oil of 38.16±2.36 and 73.14±1.23 μm/mL, respectively. Results show, the concentration of 250 and 350 mg/L of extract and essential showed the same effect with antioxidant synthetic of Grendoks 117 (200 mg/L).

Conclusion

The use of extract and essential oil of *Salvia multiculisvahl* could be proposed as an appropriate antioxidant replaced with synthetic antioxidants.

Keywords

antioxidant activities, essential oil, *salvia multiculis vahl*, oxidative stability, sunflower oil

► **Please cite this article as:** Azizi A, Khosravi K. Phytochemical study and antioxidant activity of essential oil of *salvia multiculis vahl* native to Iran, and its application in oxidative stability of sunflower oil. J Neyshabur Univ Med Sci 2019;6(4):46-61.