Thermal Stability Assessment of Fennel Seed (*Foeniculum vulgare*) Extract and Essential Oil in Soybean Oil During Storage Period

Pages 111-127

M. Mazaher-Kolharoudi [1] and A. Basiri* [2]

1) M.Sc. Graduate in Food Science and Technology, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran.
2) Associate Professor of Food Science and Technology, Department of Food Science and Technology, Chemical Technologies Research Institute, Iranian Research Organization for Science and Technology, Tehran, Iran.

*Corresponding author**: bassiri@irost.ir**

Received date: 2023.12.31 **Accepted date: 2024.04.12**

Abstract

Oxidative degradation of oils, fats, and high-fat food products during processing and storage, leading to reduced organoleptic characteristics and nutritional value, is one of the major challenges in the food industry. The addition of antioxidants is the most common method to reduce lipid oxidation. One of the most critical factors in selecting an appropriate antioxidant is its thermal stability during processing and storage. This study investigated the thermal stability of ethanolic and hexane extracts and the essential oil of fennel seed compared to the synthetic antioxidant BHA in soybean oil at 90°C during a 28-day storage period by measuring peroxide, anisidine, and oxidative stability indices, as well as calculating the totox value. The extraction efficiency for fennel seed extract with ethanol, n-hexane, and essential oil was found to be 12.92%, 7.88%, and 3.1%, respectively. The research results showed that the efficiency of all antioxidants decreased over the storage period. The synthetic antioxidant BHA, followed by fennel seed essential oil, demonstrated the highest thermal stability. Ethanolic and hexane extracts of fennel seeds showed no significant difference from each other in the studied indices and exhibited the lowest thermal stability. As a natural antioxidant with adequate thermal stability during storage, fennel seed essential oil can potentially serve as a substitute for synthetic antioxidants.

Keywords: Fennel seed, Soybean oil, Extract, Essential oil and Thermal stability.

بررسی پایداری حرارتی عصاره و اسانس دانه رازیانه (*Foeniculum vulgare*) در روغن سویا در طول دوره نگه‌داری

شماره صفحات
۱۲۷-۱۱۱

مونا مظاهری کلهرودی[۱] و علیرضا بصیری[۲*]

۱) دانش‌آموخته کارشناسی ارشد مهندسی صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران.
۲) دانشیار علوم و صنایع غذایی، گروه صنایع غذایی و تبدیلی، پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی، سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: **bassiri@irost.ir**

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۱/۲۵

چکیده

فساد اکسیداتیو در روغن‌ها، چربی‌ها و فرآورده‌های غذایی پرچرب در طول فرآوری و دوره نگه‌داری که منجر به کاهش ویژگی‌های ارگانولپتیکی و ارزش تغذیه‌ای می‌گردد، یکی از چالش‌های مهم در صنعت غذا به شمار می‌آید. افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها، رایج‌ترین روش جهت کاهش شدت اکسیداسیون لیپیدها می‌باشد. از مهم‌ترین ویژگی‌ها در انتخاب یک آنتی‌اکسیدان مناسب، پایداری حرارتی آن طی فرآوری و دوره نگه‌داری می‌باشد. در این پژوهش پایداری حرارتی عصاره‌های اتانولی و هگزانی و اسانس دانه رازیانه در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA در روغن سویا در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد در طول دوره نگه‌داری ۲۸ روزه با سنجش شاخص‌های پراکسید، آنیزیدین و پایداری اکسیداتیو و محاسبه عدد توتوکس، بررسی گردید. راندمان استخراج عصاره با حلال‌های اتانول و n-هگزان و اسانس از دانه رازیانه به ترتیب، ۱۲/۹۲، ۷/۸۸ و ۳/۱ درصد بدست آمد. نتایج حاصل از پژوهش، نشان دادند که تمامی ترکیبات آنتی‌اکسیدان بکارگرفته در طول دوره نگهداری با کاهش کارایی روبرو می‌باشند. بالاترین پایداری حرارتی را آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA و سپس اسانس دانه رازیانه نشان دادند. عصاره‌های اتانولی و هگزانی دانه رازیانه در شاخص‌های تحت بررسی، اختلاف معنی‌داری را نسبت به یکدیگر نشان نداده و دارای پایین‌ترین پایداری حرارتی می‌باشند. اسانس دانه رازیانه به عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدان طبیعی، با دارا بودن پایداری حرارتی مناسب در طول دوره نگه‌داری قابلیت کاربرد به عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی را دارا می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: دانه رازیانه، روغن سویا، عصاره، اسانس و پایداری حرارتی.

مقدمه

اکسیداسیون چربی‌ها و روغن‌ها در مراحل مختلف فرآوری و نگه‌داری، منجر به کاهش ویژگی‌های ارگانولپتیکی و ارزش تغذیه‌ای و به دنبال آن، کاهش مشتری‌پسندی آنان می‌گردد. فساد اکسیداتیو بزرگ‌ترین چالش در صنعت روغن‌های خوراکی بشمار می‌آید. مهم‌ترین روش کاهش فساد اکسیداتیو و افزایش ماندگاری روغن‌ها و چربی‌ها، افزودن ترکیبات آنتی‌اکسیدان می‌باشد (Michotte *et al*. 2011). آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مانند بوتیلید هیدروکسی آنیزول (BHA)، بوتیلید هیدروکسی تولوئن (BHT)، ترشیو بوتیل هیدروکینون (TBHQ) و پروپیل‌گالات (PG)، به طور گسترده به عنوان کاهنده اکسیداسیون در مواد غذایی مورداستفاده قرار می‌گیرند. علی‌رغم کارایی و پایداری بالا و نیز هزینه‌های نسبی پایین، مصرف آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی به دلیل احتمال سرطان‌زایی و تمایل روزافزون جامعه جهت پرهیز از مصرف یا به حداقل رساندن کاربرد افزودنی‌های سنتزی در مواد غذایی، با محدودیت‌های روزافزونی روبرو می‌باشد (Pimpa *et al*. 2009). در طول دو دهه گذشته تحقیقات متعددی جهت کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در روغن‌های خوراکی انجام شده است. روغن سویا، یکی از روغن‌های گیاهی شاخص در سطح جهان است که اهمیت آن به دلیل فراوانی، ارزانی، ارزش تغذیه‌ای و بازده بالای آن است. روغن سویا با محتوی بالای اسیدهای چرب غیراشباع، پایداری پایینی در برابر اکسیداسیون دارد (Kohneh Poushi *et al*. 2022). تحقیقات صورت گرفته نشان از فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای عصاره و اسانس دانه رازیانه دارد (Kalleli *et al*. 2019). اسانس رازیانه از بیش از سی نوع ترکیب ترپنی یا ترپنوئیدی تشکیل شده است. مهم‌ترین این نوع ترکیب‌ها عبارتند از: آنتول، فنچون، استراگول یا متیل کاویکول (Singh *et al*. 2006). فرآیند حرارتی از رایج‌ترین فرآیندهای مورد استفاده در صنعت غذا می‌باشد. اعمال حرارت یکی از عوامل مهم تاثیرگذار بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی است. حرارت‌دهی باعث تسریع واکنش‌های مرحله آغازین و در نتیجه کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود. تغییرات دما ممکن است مکانیسم عمل برخی از آنتی‌اکسیدان‌ها را تغییر داده و بر واکنش‌پذیری با رادیکال‌های لیپیدی تاثیر بگذارد و یا آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند تبخیر شوند (Zhang *et al*. 2004). تحقیقات محدودی بر اثرات فرآیندهای حرارتی بر پایداری و کارایی آنتی‌اکسیدان‌ها انجام گردیده است. اثرات حرارت‌دهی چندباره بر ویژگی‌های فیزیکی - شیمیایی روغن‌های کنجد، آفتابگردان و پالم با و بدون افزودن آنتی‌اکسیدان بررسی شد. نتایج بدست آمده نشان دادند که نمونه‌های روغن حاوی ۲۰۰ ppm آنتی‌اکسیدان TBHQ در مقایسه با نمونه شاهد کمترین تغییرات را در طول دوره نگه‌داری ۴ روزه نشان دادند (Mujeeda *et al*. 2016). پایداری اکسیداتیو روغن کانولا تحت دمای ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت در طول مدت ۱۰ روز با کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های مختلف بررسی و نشان داده شد که آنتی‌اکسیدان SAIB بالاترین پایداری حرارتی در مقایسه با سایر ترکیبات آنتی‌اکسیدان تحت بررسی را دارا می‌باشد (Reda, 2011). اثرات فرآیند حرارتی بر پایداری آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و طبیعی در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد بررسی و بیان گردید که پایداری حرارتی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی به ترتیب PG>TBHQ>BHA>BHT و آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی acid>ferulic acid>gallic

a-tocopherol>caffeic acid می‌باشد (Santos, *et al*. 2012). اثر فرآیند حرارتی در محدوده ۹۰ تا ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسیدهای فنولیک (گالیک، جنتیزیک، پروتوکاتچوئیک، سرنگیک، وانیلیک، فرولیک، کافئیک و سیناپیک) در چربی خوک، مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج تحقیق بیانگر کاهش پایداری چربی خوک بدون آنتی‌اکسیدان با افزایش دما بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی تمام ترکیبات مورد مطالعه با افزایش دما کاهش یافت، علاوه بر این یک رابطه خطی ($P< 0.01$) بین دمای فرآیند و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در همه موارد وجود داشت (Réblová *et al*. 2012). با توجه به اثرات منفی اعمال حرارت بر کارایی ترکیبات آنتی‌اکسیدان، یکی از مهم‌ترین ویژگی‌هایی که باید در انتخاب و بکارگیری این‌گونه ترکیبات در روغن‌ها و چربی‌ها موردتوجه قرار گیرد، پایداری بالای حرارتی می‌باشد. با توجه به اینکه اکثر مطالعات انجام گرفته بر کارایی ترکیبات آنتی‌اکسیدان در دمای محیط و یا دماهای نسبتا پایین انجام گرفته‌اند، اطلاعات بسیار کمی در خصوص پایداری حرارتی آنتی‌اکسیدان‌ها وجود دارد. هدف از این پژوهش، ارزیابی پایداری حرارتی عصاره‌های اتانولی و هگزانی و اسانس دانه رازیانه در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA در روغن سویا در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۸ روز و در فواصل زمانی ثابت هفت روزه از طریق سنجش شاخص‌های آنیزیدین، پراکسید و محاسبه عدد توتوکس و هم‌چنین، شاخص پایداری اکسیداتیو می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه

دانه‌های رازیانه از شرکت زردبند، روغن سویا تصفیه شده عاری از آنتی‌اکسیدان از کارخانه روغن محسن و مواد شیمیایی مورد استفاده با خلوص آزمایشگاهی از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

آماده سازی نمونه دانه رازیانه

دانه‌های رازیانه، پاک‌سازی و کلیه مواد بیگانه جداسازی گردیدند. سپس نمونه‌ها در خشک‌کن با جریان جابجایی هوا و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تا دستیابی به رطوبت نهایی متوسط ۷/۶ درصد بر پایه مرطوب خشک شدند. دانه‌های خشک شده با آسیاب برقی (IKA، مدل A11، آلمان) آسیاب و از الک با مش ۳۵ عبور داده شدند. پودر بدست آمده در درون ظروف شیشه‌ای تیره‌رنگ، قرار گرفته و پس از درب‌بندی، به دور از نور و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، نگه‌داری گردید (Lucinewton *et al*., 2005).

استخراج عصاره و اسانس

عصاره‌گیری با استفاده از دستگاه سوکسله و با حلال‌های اتانول ۸۰ درصد و هگزان در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد انجام گردید. حلال‌زدایی توسط تبخیرکننده دوار تحت خلا (Büchi، مدل B-169، سوییس) در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و فشار

۲۵ میلی‌متر جیوه انجام گرفت و در نهایت، با کمک آون خلا (شرکت Ehret، مدلVT570، ساخت کشور آلمان) در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد، حلال باقی‌مانده نیز حذف شد. در انتها پس از خشک‌شدن عصاره‌ها، راندمان عصاره‌گیری تعیین شد. عصاره حاصل در ظروف شیشه‌ای تیره‌رنگ، در دمای یخچال تا زمان شروع آزمایشات نگه‌داری شد (Roby *et al*. 2013). اسانس‌گیری به روش هیدرودستیلاسیون و با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت انجام گرفت. اسانس به‌دست‌آمده با استفاده از سولفات سدیم بدون آب آبگیری و سپس راندمان اسانس‌گیری تعیین گردید. اسانس‌های بدست‌آمده در دمای یخچال تا زمان شروع آزمایشات نگه‌داری شد (Olmedoa *et al*. 2015; Chambre *et al*. 2020).

شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس و عصاره

شناسایی ترکیبات شیمیایی عصاره‌ها و اسانس دانه رازیانه توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف نگار جرمی (Agilent Technologies، مدل 5973، ایالات متحده آمریکا) انجام گردید.

ارزیابی پایداری حرارتی عصاره و اسانس

عصاره‌های اتانولی و هگزانی در غلظت ppm ۴۰۰ و اسانس دانه رازیانه در غلظت ppm ۶۰۰ و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ppm ۲۰۰ به روغن سویا عاری از آنتی‌اکسیدان افزوده و کاملا مخلوط شدند. ارزیابی پایداری حرارتی عصاره‌ها و اسانس در آون با جریان جابجایی هوا (Memmert، مدل ۵۰۰- ULM، آلمان) در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۸ روز و در فواصل زمانی ثابت هفت روزه با سنجش شاخص‌های پراکسید و آنیزیدین، پایداری اکسیداتیو و محاسبه مقدار توتوکس، انجام گرفت (Olmedoa *et al*. 2015). کلیه آزمون‌های ذکر شده در چهار تکرار انجام شدند. آزمون‌های بکاررفته به گونه‌ای انتخاب شدند که بتوان تخمین صحیحی از پیش‌روی تخریب اکسیداتیو ارائه داد. در روش رنسیمت محصولات ثانویه حاصل از اکسیداسیون روغن‌ها و چربی‌ها شامل آلدهیدها، کتون‌ها و اسیدها سنجیده می‌شوند. درحالی که شاخص پراکسید، معیاری است که جهت اندازه‌گیری هیدروپراکسیدها به کار می‌رود. هیدروپراکسیدها به عنوان محصولات اولیه اکسیداسیون شناخته شده‌اند که ممکن است به فرآورده‌های ثانویه فرار و غیرفرار تجزیه شوند. این در حالی است که شاخص آنیزیدین جهت سنجش محصولات ثانویه اکسیداسیون به کار می‌رود. شاخص توتوکس نیز معیاری از اکسیداسیون کل است که شامل فرآورده‌های اولیه و ثانویه اکسیداسیون است (Shahidi *et al*. 2020).

شاخص آنیزیدین

شاخص آنیزیدین مطابق با روش AOCS (Cd 18–90) اندازه‌گیری شد. دو گرم نمونه در ۲۵ میلی‌لیتر ایزواکتان حل شده و در ادامه جذب در ۳۵۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (Shimadzu، مدل UV-2550، ژاپن) خوانده شد. سپس پنج میلی‌لیتر

از محلول فوق با یک میلی‌لیتر از محلول ۰/۲۵ درصد P-Aanisidine در اسید استیک (وزنی- حجمی) مخلوط شد. بعد از ۱۰ دقیقه، جذب در ۳۵۰ نانومتر خوانده شد. شاخص آنیزیدین طبق رابطه (۱) محاسبه شد.

رابطه ۱ $\text{شاخص آنیزیدین} = 25(1.2A_s - A_b) / m$

که در آن، A_s جذب محلول چربی بعد از واکنش با P-Aanisidine و A_b جذب محلول چربی قبل از واکنش با معرف P-Aanisidine و m وزن نمونه روغن برحسب گرم است (AOCS, 2017).

شاخص پراکسید

سنجش شاخص پراکسید (PV)، طبق با روش AOCS (Cd 8–53) انجام گرفت. مقدار پنج گرم نمونه با دقت ±۰/۰۱ گرم در یک ارلن‌مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری توزین و ۳۰ میلی‌لیتر از مخلوط کلروفرم و اسیداستیک به آن افزوده شد. پس از حل شدن نمونه، ۰/۵ میلی‌لیتر محلول یدید پتاسیم اشباع به آن اضافه و به مدت ۱ دقیقه به آرامی در تاریکی هم زده شد. پس از گذشت ۱ دقیقه، ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن افزوده و با محلول تیوسولفات ۰/۱ نرمال تیتر گردید تا رنگ زرد ناپدید شود. سپس ۲ میلی‌لیتر معرف نشاسته اضافه شده و محلول تکان داده شد. تیتراسیون تا ناپدید شدن رنگ آبی ادامه یافت. عدد پراکسید مطابق رابطه (۲) محاسبه گردید.

رابطه ۲ $\text{عدد پراکسید} = 1000/w \times (S-B) \times N$

که در آن B، حجم محلول سدیم تیوسولفات مصرفی در آزمایش شاهد (میلی‌لیتر)، S، حجم محلول سدیم تیوسولفات مصرفی در آزمایش نمونه (میلی‌لیتر)، N، نرمالیته سدیم تیوسولفات و W، وزن نمونه (گرم)، می‌باشد (AOCS, 2003).

شاخص توتوکس

پس از سنجش شاخص‌های پراکسید و آنیسیدین هر یک از تیمارها، شاخص توتوکس طبق رابطه (۳) محاسبه گردید که در آن PV شاخص پراکسید و AV شاخص آنیزیدین می‌باشد (Mohammadi et al. 2021).

رابطه ۳ $\text{شاخص توتوکس} = 2PV + AV$

شاخص پایداری اکسیداتیو

شاخص پایداری اکسایشی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه رنسیمت (Metrohm، مدل 743، سوییس) مطابق با روش AOCS (Cd 12b-92) سنجیده شد. برای این منظور ۲/۵ گرم نمونه در محدوده دمایی ۱۵۰-۹۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت جریان هوای ثابت ۲۰ لیتر بر ساعت قرار گرفت.

تحلیل آماری نتایج

آزمایشات در قالب طرح کاملا تصادفی و در ۴ تکرار انجام گردیدند. تحلیل نتایج به دست آمده، با استفاده از آنالیز واریانس

(ANOVA) و آزمون مقایسه میانگین چند دامنه‌ای دانکن با به کارگیری بسته نرم‌افزاری SAS و با سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام گردید. رسم نمودارها به کمک نرم افزار EXCEL انجام شد.

نتایج و بحث

ترکیبات شیمیایی عصاره اتانولی، هگزانی و اسانس دانه رازیانه

طیف‌سنجی جرمی نشان داد که اجزای اصلی اسانس دانه رازیانه حاوی ترانس-آنتول (۸۰/۶۱ درصد)، لیمونن (۴/۷۳ درصد)، فنچون (۸/۹۱ درصد) و متیل چاویکول (۳/۸۲ درصد) می‌باشند. اجزای اصلی موجود در اسانس دانه رازیانه مشتقات فنیل پروپانوئید و مونوترپنوئیدها می‌باشند (Shahat *et al*. 2011). عصاره‌های n-هگزانی و لتانولی دلنه رازیلنه ترکیبات مشابهی را نشان دادند که به ترتیب شامل ترانس - آنتول (۴۵/۲۲ و ۲۲/۳۱ درصد)، استراگول (۳۱/۴۱ و ۱۶/۸۴ درصد)، فنچون (۴/۴۶ و ۹/۳۷ درصد) و لیمونن (۲/۱۶ و ۵/۳۶ درصد) بودند. ترکیبات و مقادیر بدست آمده با اختلافات کمی با نتایج ارائه شده توسط Ashokkumar *et al* (2021) و Afifi *et al* (2021) همخوانی دارد. اختلافات موجود در مقادیر ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس و عصاره به شرایط فصلی و محیطی کشت متفاوت مانند دما، رطوبت، زمان جمع‌آوری گیاه و هم‌چنین شرایط استخراج بستگی دارد (Shahat *et al*. 2011). فراوان‌ترین ترکیب موجود در عصاره و اسانس دانه رازیانه، ترانس-آنتول، از خانواده فنیل پروپانوئیدها بوده که دارای خاصیت احیاکنندگی است (Napoli *et al*., 2010). علاوه بر این، حضور ترکیب‌های فلاونوئیدی، گلیکوزید فلاونول‌ها، هیدروکربن‌های ترپنی اکسیژنه مانند فنچون و سایر ترکیب‌های فنولیک که مسئول فعالیت رباینده‌گی رادیکال‌های آزاد در عصاره دانه رازیانه هستند، می‌توانند فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی را در روغن سویا ایجاد کنند (Pokorny *et al*. 2001). محققین علت این پدیده را به اثر تشدیدکنندگی میان ترکیب‌های دارای اکسیژن و به دنبال آن، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط دانسته‌اند. هم‌چنین حضور ویتامین E و اسید آسکوربیک نیز در عصاره دانه رازیانه به اثبات رسیده است. ترکیبات فنلیک قادرند تا یک اتم هیدروژن به رادیکال‌های آزاد بدهند و بدین ترتیب باعث توقف پیش‌روی واکنش‌های زنجیری در طی فرآیند اکسیداسیون چربی‌ها و روغن‌ها شوند (Barros *et al*. 2009).

راندمان استخراج

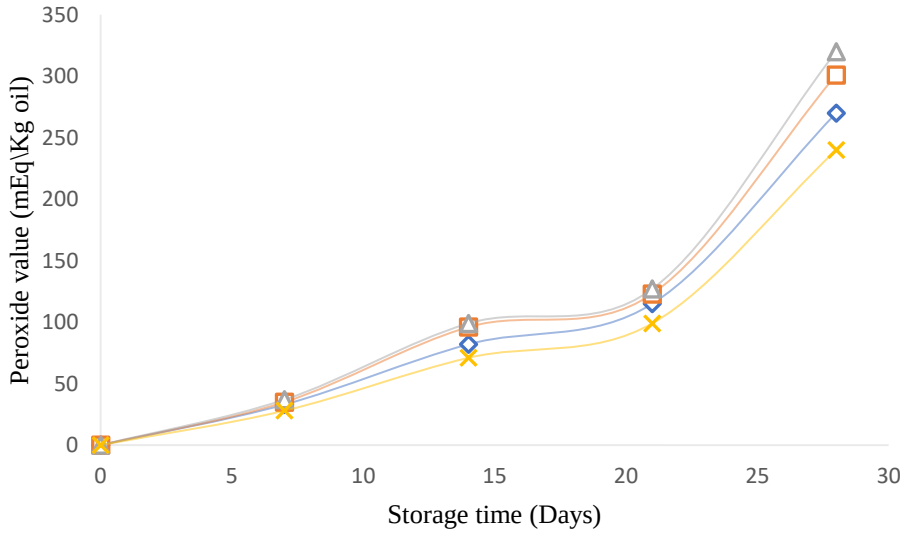
راندمان استخراج عصاره دانه رازیانه با حلال‌های اتانول و n-هگزان به ترتیب، ۱۲/۹۲ و ۷/۸۸ درصد تعیین گردید که با اختلافات اندک با نتایج ارائه شده توسط Angelov *et al* (2016) همخوانی دارد. میانگین راندمان استخراج اسانس از دانه رازیانه ۳/۱ درصد بدست آمد. راندمان استخراج اسانس دانه رازیانه در منابع در محدوده ۳/۲۴ تا ۵/۲۶ درصد گزارش شده است (Kalleli *et al*. 2019). انتخاب روش استخراج اسانس و عصاره‌گیری، به بافت گیاهی مورد استفاده، نوع ماده جداشدنی و پایداری ماده جدا شده به حرارت بستگی دارد. هم‌چنین روش‌های بکارگرفته بر راندمان استخراج و نسبت ترکیبات شیمیایی موثر می‌باشند. Beaux *et al* (1997) راندمان استخراج عصاره اتانولی به روش خیساندن را ۲۳/۸ درصد اعلام کردند.*et al*

Oktay (2003) راندمان استخراج عصاره آبی و اتانولی رازیانه را به ترتیب ۱۶/۲۰ و ۱۰/۹۵ گرم در ۱۰۰ گرم پودر دانه رازیانه بدست آوردند. Singh *et al* (2006) راندمان استخراج عصاره استونی رازیانه را ۳/۷ درصد بیان کردند.Mata *et al* (2007) راندمان استخراج عصاره آبی و اتانولی پودر خشک دانه رازیانه را به ترتیب ۲۶/۵ و ۶/۹ گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک و راندمان استخراج اسانس از دانه رازیانه ۰/۱ گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک گیاه گزارش نمودند. اختلافات گزارش شده در راندمان استخراج اسانس و عصاره از دانه رازیانه در پژوهش‌های مختلف، ریشه در تفاوت شرایط کشت، منطقه جغرافیایی، زمان برداشت نمونه رازیانه و هم‌چنین شرایط استخراج ، اندازه ذرات، تفاوت در نوع و میزان خلوص حلال مورد استفاده و نسبت میزان پودر به حلال دارد.

روند تغییرات شاخص پراکسید در طی دوره نگه‌داری

اکسیداسیون لیپیدها تحت تاثیر چندین عامل قرار دارد که هم‌زمان با هم عمل کرده و یا به یکدیگر وابسته هستند. عوامل اصلی موثر بر فساد اکسیداتیو در دو گروه عوامل خارجی شامل غلظت اکسیژن، دما، نور، رطوبت و عوامل درونی مانند ترکیب لیپیدی، مقدار اسیدهای چرب غیراشباع آزاد، فلزات، حضور آنتی‌اکسیدان‌ها، طبقه‌بندی می‌شوند. اکسیداسیون لیپیدها یکی از عوامل مهم در ماندگاری فرآورده‌های غذایی بشمار آمده و با کاهش ارزش تغذیه‌ای و ویژگی‌های حسی و تشکیل ترکیبات سمی همراه است. مراحل اولیه اکسیداسیون لیپیدها شامل واکنش‌های زنجیره‌ای است که منجر به تشکیل هیدروپراکسیدهایی می‌گردند که به عنوان محصولات اکسیداسیون اولیه لیپیدها طبقه‌بندی شده و می‌توانند منجر به تشکیل مخلوط پیچیده‌ای از ترکیبات فرار مانند آلدئیدها، کتون‌ها، هیدروکربن‌ها، الکل‌ها و استرها شوند که مسئول تخریب ارزش تغذیه‌ای و ویژگی‌های ارگانولپتیک و بدنبال آن بر کاهش ماندگاری و پذیرش مصرف‌کننده روغن تاثیر خواهند گذاشت. روند تغییرات شاخص پراکسید نمونه‌های تحت بررسی در شکل ۱ آورده شده است. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که از زمان صفر تا روز ۲۸ دوره نگه‌داری در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد، شاخص پراکسید و به دنبال آن شدت اکسیداسیون در کلیه تیمارها افزایش یافته و یک روند صعودی با شدت‌های مختلف را نشان می‌دهد. نتایج آماری بدست آمده نشان دادند که شاخص پراکسید بین نمونه‌های حاوی عصاره هگزانی و اتانولی تفاوت آماری معنی‌داری نداشته، در حالی که نمونه‌های حاوی اسانس و BHT نسبت به یکدیگر و نمونه‌های حاوی عصاره‌ها اختلاف معنی‌داری داشتند ($P<0.05$). پایین‌ترین میزان افزایش شاخص پراکسید و بدین ترتیب بالاترین پایداری حرارتی در بین تیمارهای تحت بررسی در طول دوره نگه‌داری مربوط به نمونه حاوی BHT بود. شاخص پراکسید یکی از پرکاربردترین آزمون‌ها برای ارزیابی پایداری اکسیداتیو در روغن‌ها و چربی‌ها است و نشان‌دهنده غلظت پراکسیدها و هیدروپراکسیدهای تشکیل شده در مراحل اولیه اکسیداسیون لیپیدها است. در پایان دوره نگه‌داری ۲۸ روزه، شاخص پراکسید نمونه‌ها در محدوده ۲۴۰ تا ۳۲۰ meq/kg قرار داشت. در تمامی مراحل سنجش هفت روزه در طول دوره نگه‌داری، بالاترین شاخص پراکسید مربوط به نمونه‌های حاوی عصاره‌های هگزانی و اتانولی و

کمترین در نمونه‌های حاوی BHT بود (شکل ۱). Arabsorkhi *et al.* (2023) با بررسی پایداری حرارتی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی آسکوربیل پالمیتات و توکوفرول در روغن آفتابگردان در مقایسه با TBHQ در شرایط تسریع یافته نشان دادند که پایین‌ترین شاخص پراکسید مربوط به نمونه‌های حاوی TBHQ می‌باشد و آنتی‌اکسیدان‌های آسکوربیل پالمیتات و توکوفرول قابلیت جایگزینی مناسبی برای TBHQ را دارا می‌باشند. Ben-Ali *et al.* (2014) به بررسی تغییرات شاخص پراکسید نمونه‌های روغن آفتابگردان حاوی غلظت‌های مختلف عصاره متانولی ریحان در مقایسه با آنتی‌اکسیدان BHT در طول دوره نگه‌داری و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد پرداخته و نشان دادند که شاخص پراکسید در تمامی طول دوره نگه‌داری روند افزایش نشان می‌دهد و غلظت‌های بالای عصاره ریحان پایداری حرارتی بالاتری نسبت به BHT از خود نشان می‌دهند.



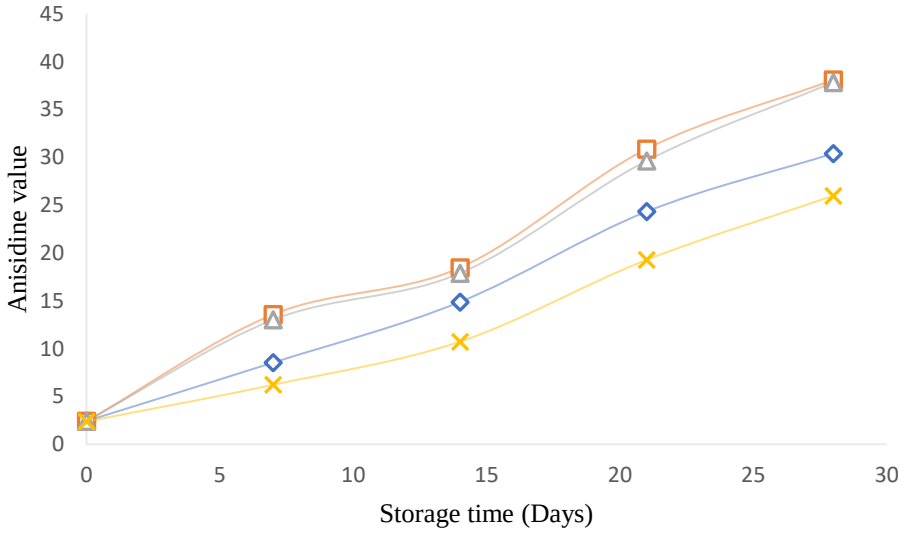
شکل ۱: تغییرات شاخص پراکسید در طی دوره نگه‌داری ۲۸ روزه در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد
(× BHT، ◇ اسانس، □ عصاره هگزانی، △ عصاره اتانولی)

Figure 1: The changes in peroxide value during 28 days storage at 90°C
(× BHT,◇ Essential oil, □ Hexane extract, △Ethanol extract)

روند تغییرات شاخص آنیزیدین در طی دوره نگه‌داری

با توجه به ناپایداری ترکیبات پراکسید (محصولات اولیه اکسیداسیون) و تجزیه آن‌ها به محصولات ثانویه اکسیداسیون شامل ترکیبات مختلف فرار و غیرفرار مانند دیمرها، تریمرها، الکل‌ها، پلیمرها به ویژه در فرآیندهای حرارتی، سنجش شاخص پراکسید در ارزیابی وضعیت اکسیداسیون لیپیدها کافی نبوده و باید با شاخص آنیزیدین که تعیین ترکیبات آلدهیدی غیر فرار (آلدئیدهای زنجیره کربنی بلند) را در بر می‌گیرد، همراه گردد. شاخص آنیزیدین و به دنبال آن شدت اکسیداسیون در کلیه تیمارها در طول دوره نگه‌داری ۲۸ روزه در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد، افزایش یافته و یک روند صعودی با شدت‌های مختلف را نشان می‌دهد (شکل ۲). تغییرات شاخص آنیزیدین روند مشابهی با شاخص پراکسید دارد به گونه‌ای که بین نمونه‌های حاوی عصاره هگزانی و اتانولی دانه رازیانه در شاخص آنیزیدین تفاوت آماری معنی‌داری وجود نداشته، در حالی‌که نمونه‌های

حاوی اسانس و BHT نسبت به یکدیگر و نمونه‌های حاوی عصاره‌ها اختلاف معنی‌داری نشان دادند ($P<0.05$). پایین‌ترین میزان افزایش شاخص آنیزیدین و بدین ترتیب بالاترین پایداری حرارتی در بین تیمارهای تحت بررسی در طول دوره نگه‌داری مربوط به نمونه حاوی BHT بود. هیدروپراکسیدها، ترکیبات اصلی حاصل از مراحل اولیه واکنش اکسیداسیون لیپیدها، پایدار نبوده و در هنگام تجزیه، ترکیباتی مانند آلدئیدها، کتون‌ها، الکل‌ها، اسیدها، هیدروکربن‌ها را تشکیل می‌دهند که مقدار آن‌ها با سنجش شاخص آنیزیدین تعیین می‌شود. روند افزایشی شاخص آنیزیدین در طول دوره نگه‌داری در تحقیقات دیگر نیز نشان داده شده است (Arabsorkhi *et al*. 2023; Olmedo *et al*. 2015) Arabsorkhi *et al*.(2023) بیان کردند که پایداری حرارتی آنتی‌اکسیدان TBHQ بر اساس سنجش شاخص آنیزیدین نسبت به آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی آسکوربیل پالمیتات و توکوفرول در روغن آفتابگردان بالاتر می‌باشد.



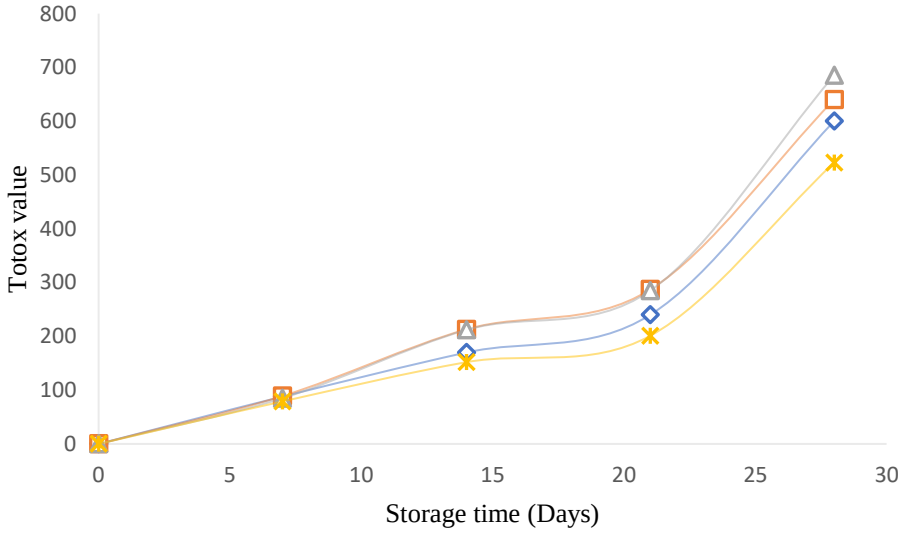
شکل ۲: تغییرات شاخص آنیزیدین در طی دوره نگه‌داری ۲۸ روزه در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد
(× BHT، ◇ اسانس، □ عصاره هگزانی، △ عصاره اتانولی)

Figure 2: The changes in anisidine value during 28 days storage at 90°C
(× BHT,◇ Essential oil, □ Hexane extract, △Ethanol extract)

روند تغییرات شاخص توتوکس در طی دوره نگه‌داری

مقدار اکسیداسیون کل (توتوکس) اغلب برای تخمین فساد اکسیداتیو لیپیدها استفاده می‌شود زیرا که با درنظر گرفتن دو شاخص پراکسید و آنیزیدین، توصیف بهتری از وضعیت اکسیداتیو روغن‌ها به ویژه با درجه غیراشباعیت بالا را ارائه می‌دهد. شاخص توتوکس مقادیر محصولات اکسیداسیون اولیه (هیدروپراکسیدها) را با محصولات ثانویه حاصل از اکسیداسیون در چربی‌ها یا روغن‌ها در بر می‌گیرد. شاخص توتوکس و به دنبال آن شدت اکسیداسیون در کلیه تیمارها در طول دوره نگه‌داری ۲۸ روزه در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد، افزایشی بوده و یک روند صعودی با شدت‌های مختلف را نشان می‌دهد (شکل ۳). تغییرات شاخص توتوکس روند مشابهی با شاخص پراکسید و آنیزیدین دارد به گونه‌ای که بین نمونه‌های حاوی عصاره هگزانی

و اتانولی دانه رازیانه در شاخص توتوکس تفاوت آماری معنی‌داری وجود نداشته، در حالی‌که نمونه‌های حاوی اسانس و BHT نسبت به یکدیگر و نمونه‌های حاوی عصاره‌ها اختلاف معنی‌داری داشتند ($P<0.05$). پایین‌ترین میزان افزایش شاخص توتوکس و بدین ترتیب بالاترین پایداری حرارتی در بین تیمارهای تحت بررسی در طول دوره انبارمانی مربوط به نمونه حاوی BHT بود. میزان بالای تشکیل هیدروپراکسیدها (شاخص پراکسید بالا) همیشه منجر به تشکیل مقادیر بالای ترکیبات اکسیداسیون ثانویه (شاخص آنیزیدین کم) نمی‌گردد به طور مشابه، تعیین شاخص آنیزیدین برای ارزیابی کیفیت روغن هایی که دارای مقادیر شاخص پراکسید پایینی دارند مفید است. شاخص توتوکس با ترکیب شاخص پراکسید (نشانگر ترکیبات حاصل از اکسیداسیون اولیه) و شاخص آنیزیدین (نشانگر ترکیبات حاصل از اکسیداسیون ثانویه) تصویر مناسب‌تری از پایداری اکسیداتیو را ارائه می‌دهد (Guillen & Cabo, 2002). Ibsch *et al.* (2020) تغییرات شاخص توتوکس در روغن سویا در تیمارهای مختلف (آسکوربیل پالمیتات، مخلوط توکوفرول و رزماری) در مقایسه با آنتی اکسیدان TBHQ را در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و در طول زمان ۳۰ روزه بررسی و نشان دادند که نمونه‌های روغن حاوی مخلوط توکوفرول و رزماری در طول دوره نگه‌داری در مقایسه با سایر تیمارها، پایین‌ترین شاخص توتوکس و بدین ترتیب بالاترین پایداری حرارتی را دارا می باشند.



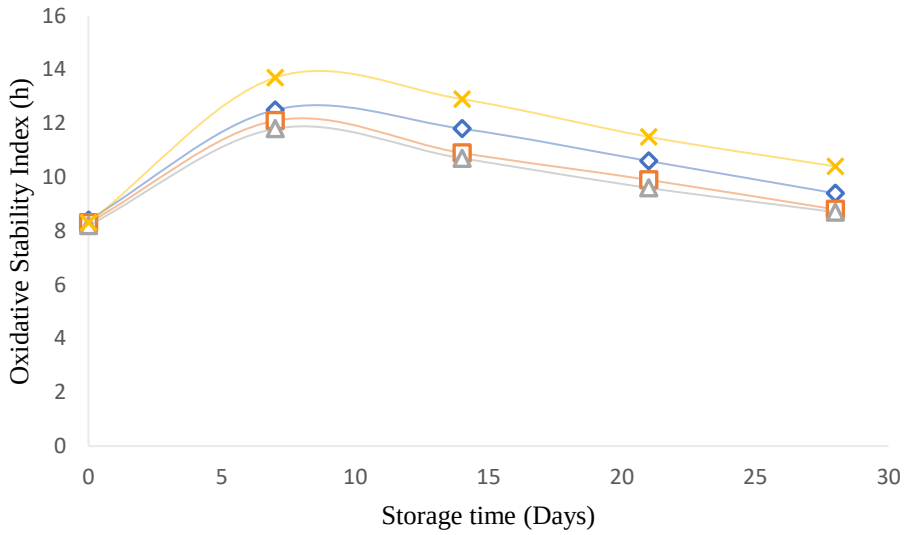
شکل ۳: تغییرات شاخص توتوکس در طی دوره نگه‌داری ۲۸ روزه در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد
(× BHT، ◇ اسانس، □ عصاره هگزانی، △ عصاره اتانولی)

Figure 3: The changes in totox value during 28 days storage at 90°C
(× BHT,◇ Essential oil, □ Hexane extract, △Ethanol extract)

روند تغییرات شاخص پایداری اکسیداتیو در طی دوره نگه‌داری

پایداری اکسیداتیو (OSI) شاخصی برای سنجش مقاومت یک غذا و یا روغن خوراکی در برابر اکسیداسیون لیپیدی و پیش‌بینی ماندگاری نمونه‌ها می‌باشد و اطلاعات لازم در مورد کارایی آنتی‌اکسیدان‌ها، تاثیر ناخالصی‌ها و ارزیابی فرآیندهای

تصفیه چربی‌ها و روغن‌ها و همچنین تعیین پایداری اکسیداتیو روغن‌ها در طول دوره نگهداری را در دسترس قرار می‌دهد. شاخص پایداری اکسیداتیو در تمامی تیمارهای تحت بررسی در طول دوره نگه‌داری در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد روندی کاهشی با شدت‌های مختلف را نشان می‌دهد (شکل ۴). بین نمونه‌های حاوی عصاره هگزانی و اتانولی دانه رازیانه در شاخص پایداری اکسیداتیو تفاوت آماری معنی‌داری وجود نداشته، در حالی‌که نمونه‌های حاوی اسانس و BHT نسبت به یکدیگر و نمونه‌های حاوی عصاره‌ها اختلاف معنی‌داری داشتند ($P<0.05$). بالاترین میزان افزایش شاخص پایداری اکسیداتیو و بدین ترتیب بالاترین پایداری حرارتی در بین تیمارهای تحت بررسی در طول دوره انبارمانی مربوط به نمونه حاوی BHT بود. در پایان دوره نگه‌داری ۲۸ روزه، بیشترین و کمترین شاخص پایداری اکسیداتیو به ترتیب در نمونه‌های حاوی حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT و عصاره اتانولی دانه رازیانه با ۱۰/۴ و ۸/۷ ساعت بدست آمد (شکل ۴). Ibsch و همکاران (۲۰۲۰) با سنجش شاخص پایداری اکسیداتیو در روغن سویا در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و در طول زمان ۳۰ روزه نشان دادند که غلظت ۲۰۰ ppm آنتی‌اکسیدان TBHQ در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بالاترین پایداری حرارتی را از خود نشان می‌دهد. Ben-Ali و همکاران (۲۰۱۴) با بررسی تغییرات شاخص پایداری اکسیداتیو نمونه‌های روغن آفتابگردان حاوی غلظت‌های مختلف عصاره متانولی ریحان در مقایسه با آنتی‌اکسیدان BHT، نشان دادند که غلظت ۵۰۰ ppm عصاره متانولی ریحان در مقایسه با غلظت ۲۰۰ ppm آنتی‌اکسیدان BHT، شاخص پایداری اکسیداتیو بالاتری را دارا می‌باشد.



شکل ۴: تغییرات شاخص پایداری اکسیداتیو در طی دوره نگه‌داری ۲۸ روزه در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد (× BHT، ◇ اسانس، □ عصاره هگزانی، △ عصاره اتانولی)

Figure 4: The changes in Oxidative Stability Index during 28 days storage at 90°C (× BHT,◇ Essential oil, □ Hexane extract, △ Ethanol extract)

نتیجه‌گیری

اعمال دماهای بالا در طول دوره نگه‌داری، کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در ترکیبات طبیعی و همچنین سنتزی را به دنبال

دارد. بالاترین پایداری حرارتی در آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA و سپس در اسانس دانه رازیانه بدست آمد. نتایج حاصل از تحقیق نشان دادند که اسانس دانه رازیانه از پایداری حرارتی مناسبی در طول دوره نگه‌داری برخوردار بوده و قابلیت جایگزینی آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA در صنعت غذا را دارا می‌باشد.

منابع

Afifi, S.M., El-Mahis, A., Heiss, A.G., & Farag, M.A. (2021). Gas Chromatography–Mass Spectrometry-Based Classification of 12 Fennel (Foeniculum vulgare Miller) Varieties Based on Their Aroma Profiles and Estragole Levels as Analyzed Using Chemometric Tools. *ACS Omega* 6(8), 5775-5785.

Ahmad, B.S., Talou, T., Saad, Z., Hijazi, A., Cerny, M., Kanaan, H., Chokr, A., & Merah, O. (2018). Fennel oil and by-products seed characterization and their potential applications. *Ind Crops Prod*, 111:92–98.

Angelov. G. & Boyadzhieva, S. (2016). Extraction of Fennel (Foeniculum vulgare) Seeds: Process Optimization and Antioxidant Capacity of the Extracts. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 30(2): 245–253.

Anwar, F., Alia, M., Hussain, A. I., & Shahid, M. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (Foeniculum vulgare Mill.) seeds from Pakistan. *Flavour and fragrance journal*, 24:170–176.

AOCS. (1997). Official Method Cd 12b-92. Oil Stability Index. Sampling and Analysis of Commercial Fats and Oils. In Methods and Recommended Practices of the AOCS, 6th ed.; Firestone, D., Ed.; AOCS Press: Champaign, IL, USA.

AOCS. (2003). Surplus Method Cd 8–53. Peroxide Value: Acetic Acid-Chloroform Method. In Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 7th ed. Champaign, IL, USA.

AOCS. (2017). Official Method Cd 18–90. p-Anisidine Value. In Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 7th ed. Champaign, IL, USA.

Ashokkumar, V., Vellaikumar, S., Murugan, M., Dhanya, M. K., Karthikeyan, A., Ariharasutharsan, G. & Arjun, P. (2021). GC/MS Analysis of Essential Oil Composition from Selected Seed Spices. *Natl. Acad. Sci. Lett*, 44:503–506.

Arabsorkhi, B., Pourabdollah, E. & Mashadi, M. (2023). Investigating the effect of replacing the antioxidants Ascorbyl palmitate and tocopherol instead of TBHQ on the shelf life of sunflower oil using temperature accelerated method. *Food Chemistry Advances*, 2, 100246.

Barros L, Heleno SA, Carvalho AM, & Ferreira ICFR. (2009). Systematic evaluation of the antioxidant potential of different parts of Foeniculum vulgare Mill. from Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 2458–2464.

Beaux D, Fleurentin J, & Mortier F. (1997). Diuretic action of hydroalcohol extract of Foeniculum vulgare var. dulce (D.C.) roots in rats. *Phytotherapy Research,* 11: 320–322.

Ben-Ali, M., Dhouib, K., Damak, M., & Allouche, N. (2014). Stabilization of Sunflower Oil during accelerated Storage: Use of Basil Extract as a Potential Alternative to Synthetic Antioxidants. *International Journal of Food Properties,* 17:1547–1559.

Chambre, D.R., Moisa, C., Lupitu, A., Copolovici, L., Pop, G., & Copolovici. D.M. (2020). Chemical composition, antioxidant capacity, and thermal behavior of Satureja hortensis essential oil. *Sci Rep.,* 7;10(1):21322.

Diaz-Maroto, M.S., Perez-Coello, S., Esteban, J., & Sanz, J. (2006). Comparison of the volatile composition of wild fennel samples (*Foeniculum vulgare* Mill.) from central Spain. *J Agric Food Chem.,* 54:6814–6818.

Frankel, E.N. (1984). Lipid Oxidation: Mechanisms, Products, and Biological Significance. *J. Am. Oil Chem. Soc.,* 61:1908–1916.

Guillén, M.D., & Cabo, N. (2002). Fourier Transform Infrared Spectra Data versus Peroxide and Anisidine Values to Determine Oxidative Stability of Edible Oils. *Food Chemistry,* 77:503-510.

Ibsch, R., Reiter, M.G.R., Bertoli, S.L., & de Souza, C. (2020). Study of pure and combined antioxidants for replacing TBHQ in soybean oil packed in pet bottles. *Journal of Food Science and Technology,* 57(2).

Kalleli F, Bettaieb Rebey I, Wannes WA, Boughalleb F, Hammami M, Saidani Tounsi M, & M'hamdi M. (2019). Chemical composition and antioxidant potential of essential oil and methanol extract from Tunisian and French fennel (Foeniculum vulgare Mill.) seeds. *J Food Biochem.,* 43(8): 12935.

Kishk, Y.F.M., & Al-Sayed, H.M. (2007). Free-radical scavenging and anti-oxidative activities of some polysaccharides in emulsions. *LWT - Food Sciences and Technology,* 40(2): 270-277.

Kohneh Poushi, M., Heidarzadi, M.A., Azadfar, A., & Bahrami, Z. (2022). Evaluation of the antioxidant activity of the extract of red bell peppers in soy oil. *Food Processing and Preservation Journal,* 14 (3): 141-152.

Lin. Y., Huang, W., Ho, P. Hu, S. Lin, Y., Chen, C. Chang, M., & Huang, S. (2020). Effects of Storage Time and Temperature on Antioxidants in Juice from Momordica charantia L. and Momordica charantia L. var. abbreviata Ser. *Molecules,* 25, 3614.

Mata AT, Proenc C, Ferreira AR, Serralheiro MLM, Nogueira JMF, & Arau´jo MEM. (2007). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chemistr,* 103: 778–786.

Michotte D., Rogez H., Chirinos R., Mignolet E., Campos D., & Larondelle Y. (2011). Linseed oil stabilisation with pure natural phenolic compounds. *Food Chem.,* 129:1228–31.

Mohammadi, M., Khorshidian, N., Taghi, & Gharibzahedi, S.M. (2021). The Extended Oxidative and Sensory Stability of Traditional Dairy-Based Oil with Steam-Distilled Essential Oils Extracted from the Bioactive-Rich Leaves of Ziziphora tenuior, Ferulago angulata, and Bunium persicum. *Journal of Food Quality*, 6613198: 1-9.

Mujeeda B., Prasad, N., & Siddaramaiah, D. (2016). Effect of antioxidant on thermal stability of vegetable oils by using ultrasonic studies. *International Food Research Journal*, 23(2): 528-536.

Napoli EM, Curcuruto G, & Ruberto G. (2010). Screening the essential oil composition of wild Sicilian fennel. *Biochem. Syst. Ecol.*, 38(2): 213-223.

Oktay MI, Gulcin O, & Kufrevioglu I. (2003). Determination of in vitro antioxidant activity of fennel (Foeniculum vulgare) seed extracts. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol*, 36: 263–271.

Olmedo, R.H., Asensiob, C.M., & Grossob, N.R. (2015). Thermal stability and antioxidant activity of essential oils from aromatic plants farmed in Argentina. *Industrial Crops and Products*, 69: 21–28.

Ozcan, M.M., Chalchat, J.C., Arslan, D., Ate, A., & Unver, A. (2006). Comparative essential oil composition and antifungal effect of bitter fennel (*Foeniculum vulgare* ssp. piperitum) fruit oils obtained during different vegetation. *J Med Food*, 9:552–561.

Pimpa, D., & Sophan, B. (2009). Effect of addition of antioxidants on oxidative stability of refined bleached and deodorized palm oil. *Kasetstart Journal (Nature Science)*, 43: 370–377.

Réblová, Z. (2012). Effect of Temperature on the Antioxidant Activity of Phenolic Acids. *Czech J. Food Sci.*, 30(2): 171–177.

Pokorny J, Yanishlivea N, & Gordon M. (2001). Antioxidant in food. CRC Press, 380p

Reda. S.Y. (2011). Evaluation of antioxidants stability by thermal analysis and its protective effect in heated edible vegetable oil. *Cienc. Tecnol. Aliment., Campinas*, 31(2): 475-480.

Renjie, L., Zhenhong, L., & Shidi, S. (2010). GC-MS analysis of fennel essential oil and its effect on microbiology growth in rats' intestine. *Afr J Microbiol Res.*, 4:1319–1323.

Roby, M. H. H., Sarhan, M. A., Selim, K., & Khalel, M.A. (2013). Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (Foeniculum vulgare L.) and chamomile (Matricaria chamomilla L.). *Industrial Crops and Products*, 44: 437-445.

Santos, N.A., Cordeiro, A., Damasceno, S.S., Aguiar, R.T., Rosenhaim, R., Carvalho, J.R. Santos, I. Maia, R.S., & Souza, A.G. (2012). Commercial antioxidants and thermal stability evaluations. *Fuel*, 97: 638–643.

Shahat, A.A., Ibrahim, A.Y., Hendawy, S.F., Omer, E.A., Hammouda, F.M., Abdel-Rahman, F.H., & Saleh, M.A. (2011). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oils from organically cultivated fennel cultivars. *Molecules*, 16:1366–1377.

Shahidi, F., & Zhong, H.J. (2020). Methods for Measuring Lipid Oxidation. In book: Bailey's Industrial Oil and Fat Products (pp.1-27).

Singh GS, Maurya MP, Lampasona DE, & Catalan C. (2006). Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of Foeniculum vulgare volatile oil and its acetone extract. *Food Control*, 17: 745–752.

Tao, F., Hill, L. E., Peng, Y. & Gomes, G. L. (2014). Synthesis and Characterization of β-Cyclodextrin Inclusion Complexes of Thymol and Thyme Oil for Antimicrobial Delivery Applications. *LWT- Food Sci. Technol.,* 59: 247-255.

Wang H, Liu F, Yang L, Zu Y, Wang H, & Qu S. (2011). Oxidative stability of fish oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during long-term storage. *Food Chemistry*, 128:93–9.

Zhang, C.X., Wu, H., & Weng, X.C. (2004). Two novel synthetic antioxidants for deep frying oils. *Food Chemistry,* 84(2): 219-222.