

The effect of microwaves on constituents and antioxidant power of essential oils of *Zataria multiflora* and *Syzygium aromaticum*

Zahra Mansor Esmaili¹, Saeed Mohammadi Motamed², Mahnaz Qomi³

¹MSc Student of Chemistry of Essential Oil Technology, Department of Chemistry of Essential Oil Technology, Faculty of Medicinal Chemistry, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad university, Tehran, Iran

²Assistant Professor, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

³ Assistant Professor, Department of Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Background: Hydrodistillation is a current method to extract plant essential oils which is time consuming. It has been proposed that use of microwaves instead of direct heat could decrease the time of distillation. In this study, the effect of microwaves on chemical profile and antioxidant activity of *Zataria multiflora* and *Syzygium aromaticum* essential oils in comparison to current hydrodistillation method was evaluated.

Materials and methods: In this study, *Zataria multiflora* and *Syzygium aromaticum* essential oils were extracted by hydrodistillation and microwave assisted hydrodistillation method. Chemical profile of essential oils were determined by GC MASS. Their antioxidant activity in inhibition of free radicals were evaluated by DPPH method.

Results: Microwave decreased the amount of thymol and eugenol in *Zataria multiflora* and *Syzygium aromaticum* essential oils respectively. Also, the antioxidant activity of essential oils extracted by microwaves decreased in comparison to current hydrodistillation method.

Conclusion: According to the results, it is necessary to evaluate the quality of essential oils before using microwaves to extract essential oils in the food, pharmaceutical and cosmetic industries. However, in order to confirm the effect of microwave waves on plant essential oils, study on more plant samples is essential.

Keywords: Essential oil, Distillation, Microwave, Antioxidant.

Cited as: Mansor Esmaili Z, Mohammadi Motamed S, Qomi M. The effect of microwaves on constituents and antioxidant power of essential oils of *Zataria multiflora* and *Syzygium aromaticum*. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2020; 30(2): 128-133.

Correspondence to: Saeed Mohammadi Motamed

Tel: +98 2122640051

E-mail: smmotamed73@yahoo.com

ORCID ID: 0000-0002-4613-4149

Received: 18 Jun 2019; **Accepted:** 23 Jul 2019

تاثیر استخراج اسانس توسط امواج مایکروویو بر روی ترکیبات و قدرت آنتی اکسیدانی اسانس‌های آویشن شیرازی و درخت میخک

زهرا منصور اسمعیلی^۱، سعید محمدی معتمد^۲، مهناز قمی^۳

^۱ دانشجوی کارشناس ارشد، گروه شیمی و فناوری اسانس، دانشکده شیمی دارویی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
^۲ استادیار، گروه فارماکوتکونوزی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
^۳ استادیار، گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: یکی از عمده‌ترین روش‌های استخراج اسانس‌ها روش تقطیر با آب (hydrodistillation) است که گرچه بسیار متداول است، ولی زمان انجام آن طولانی است. استفاده از امواج مایکروویو به جای حرارت مستقیم (microwave assisted hydrodistillation) می‌تواند این روند را کوتاه نماید. در این تحقیق، تاثیر امواج مایکروویو (در مقایسه با حرارت مستقیم) بر روی ترکیبات اسانس‌های آویشن شیرازی و درخت میخک و قدرت آنتی اکسیدانی آنها در مهار رادیکال‌های آزاد ارزیابی شد.
روش بررسی: در این تحقیق، اسانس‌گیری با روش تقطیر یکبار با کمک حرارت مستقیم و یکبار با استفاده از امواج مایکروویو صورت گرفت. قدرت آنتی اکسیدانی اسانس‌های حاصله پس از آنالیز آنها توسط کروماتوگرافی گازی-طیف سنج جرمی، با روش DPPH/اندازه‌گیری شد. یافته‌ها: امواج مایکروویو ضمن کاهش برخی از اجزای اسانس‌ها (تیمول در آویشن شیرازی و اوژنول در درخت میخک) قدرت آنتی اکسیدانی آنها را نیز به مقدار قابل توجهی کاهش داد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج حاصله، ضروری است قبل از استفاده از امواج مایکروویو جهت استخراج اسانس‌ها در صنایع غذایی، دارویی و آرایشی، آنها از لحاظ کیفی مورد ارزیابی قرار گیرند. گرچه برای تایید تاثیر امواج مایکروویو بر روی اسانس‌های گیاهی لازم است مطالعه بر روی تعداد بیشتری نمونه گیاهی انجام شود.

واژگان کلیدی: اسانس، تقطیر، مایکروویو، آنتی اکسیدان.

مقدمه

اسانس‌ها دسته‌ای از متابولیت‌های فرار گیاهی هستند که از نظر شیمیایی بیشتر از مواد ترپنی و تا حد کمتری از مواد فنیل پروپانوییدی سبک تشکیل یافته‌اند (۱). امروزه خواص درمانی متعددی را برای اسانس‌ها در نظر می‌گیرند که از آن جمله می

توان به اثرات ضد نفخ (۲)، ضد تهوع (۳)، ضد اضطراب (۴)، ضد باکتری (۵)، ضد قارچ (۶)، و آنتی اکسیدان (۷) اشاره کرد.

با توجه به خواص درمانی متعدد اسانس‌ها ضروری است روش‌های مناسبی جهت استخراج آنها به کار رود تا ضمن حفظ ترکیبات آنها، خواص درمانی آنها نیز حفظ شود.

یکی از رایج‌ترین روش‌های استخراج اسانس‌ها روش تقطیر است که می‌تواند با کمک آب یا بخار آب یا آب و بخار آب صورت پذیرد. متداول‌ترین روش تقطیر، تقطیر با آب است که با به کار بردن حرارت صورت می‌پذیرد (۸). در این روش آب در ترکیب با اسانس به صورت یک مخلوط آزنوتروپ عمل کرده و باعث می‌شود که اسانس در نقطه جوشی پایین‌تر به جوش آمده و

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، سعید محمدی معتمد (email: smmotamed73@yahoo.com)

ORCID ID: 0000-0002-4613-4149

تاریخ دریافت مقاله: ۹۸/۳/۲۸

تاریخ پذیرش مقاله: ۹۸/۵/۱

پس از جمع آوری با سولفات سدیم انیدر آبگیری شده و برای آزمایشات بعدی در یخچال نگهداری شدند.

استخراج اسانس به روش تقطیر با امواج مایکروویو

در این روش از همان روش تقطیر استفاده شد، ولی به جای استفاده از حرارت مستقیم، از دستگاه مایکروویو با توان ۶۰۰ وات و زمان ۳۰ دقیقه جهت استخراج اسانس استفاده شد.

شناسایی اجزای اسانس‌ها

اسانس‌های حاصله از دو روش، به دستگاه گاز کروماتوگرافی - طیف سنج جرمی تزریق شدند. دستگاه گاز کروماتوگرافی اجزای اسانس را جدا کرده و سپس هر یک از اجزا پس از ورود به دستگاه طیف سنج جرمی شناسایی شدند (با توجه به کتابخانه دستگاه و نیز محاسبه اندیس کوتاس).

بررسی قدرت آنتی اکسیدانی اسانس‌ها در مهار رادیکال DPPH

بررسی قدرت آنتی اکسیدانی اسانس‌ها با روش DPPH صورت گرفت (۱۵). به این صورت که به ۱ میلی لیتر از هر یک از رقت‌های تهیه شده از اسانس‌های گیاهی مقدار ۳ میلی لیتر محلول DPPH اضافه شد و در کنار آنها محلول‌های بلانک (۱ میلی لیتر اسانس گیاهی و ۳ میلی لیتر اتانل) و کنترل (۳ میلی لیتر محلول DPPH و ۱ میلی لیتر اتانل) نیز آماده شد. محلول‌ها به مدت سی دقیقه در محل تاریک و دمای اتاق نگهداری شدند، سپس جذب آنها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با کمک دستگاه اسپکترو فتومتر اندازه گیری شد. درصد مهار رادیکال DPPH از فرمول زیر محاسبه می‌شود:

$$\text{درصد مهار رادیکال} = \frac{(\text{ods} - \text{odb})}{\text{odc}} \times 100$$

که در آن odc جذب محلول کنترل و ods جذب محلول نمونه (اسانس‌های گیاهی و ماده استاندارد) و odb جذب محلول بلانک است.

سپس از روی درصد مهار محاسبه شده برای غلظت‌های مختلف اسانس‌ها، توسط نرم افزار اکسل، منحنی کالیبراسیون غلظت پاسخ اسانس‌ها در مهار رادیکال DPPH ترسیم و به دنبال آن معادلات رگرسیون حاصل شد و از این معادلات، IC₅₀ اسانس‌ها به دست آمد، یعنی غلظتی از اسانس که می‌تواند پنجاه درصد رادیکال‌های DPPH را مهار کند.

یافته‌ها

بازده اسانس گیری برای آویشن شیرازی با ۲ روش حرارت مستقیم و مایکروویو به ترتیب ۴ و ۸ درصد و برای اسانس میخک به ترتیب ۱۲ و ۱۵ درصد محاسبه شد.

بتواند به صورت بخار از گیاه همراه بخار آب جدا شود، سپس توسط یک مبرد خنک شده و همراه با آب به صورت ۲ مایع غیر قابل امتزاج در لوله جمع کننده، جمع می‌شود. یکی از معایب این روش سنتی، زمان طولانی است که صرف عملیات تقطیر می‌شود (۹)؛ برای همین روش‌های جدیدی برای کاهش زمان استخراج ابداع شده است که یکی از آنها استفاده از امواج مایکروویو به جای حرارت مستقیم است. این امواج به علت انرژی زیادی که دارند باعث تخریب سریع سلول‌های اسانسی و در نتیجه خروج سریع اسانس از گیاه می‌شوند (۱۰).

مطالعات متعددی نشان داده‌اند که امواج مایکروویو می‌توانند بر روی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس‌های گیاهی تاثیرگذار باشند (۱۱، ۱۲) و این امر بالطبع ممکن است بر روی خواص درمانی آنها اثر بگذارد.

آنتی اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که با مکانیسم‌های مختلفی می‌توانند باعث کاهش عوارض رادیکال‌های آزاد در بدن شده و احتمال بروز برخی از بیماری‌ها را کاهش دهند. یکی از این مکانیسم‌ها جمع آوری و مهار رادیکال‌های آزاد است (۱۳). با توجه به اثرات مضر آنتی اکسیدان‌های سنتزی تمایل به کاربرد آنتی اکسیدان‌های طبیعی افزایش پیدا کرده است (۱۴). با توجه به کاربرد اسانس‌های گیاهی در صنایع غذایی و دارویی و آرایشی بهداشتی، در این تحقیق سعی شد تا با بررسی تاثیر روش استخراج اسانس با کمک امواج مایکروویو بر روی ۲ اسانس آویشن شیرازی و میخک (که دارای قدرت آنتی اکسیدانی بالایی هستند)، اجزای ۲ اسانس و قدرت آنتی اکسیدانی آنها در مقایسه با اسانس‌هایی که با روش تقطیر با آب متداول به دست آمده‌اند، ارزیابی شود.

مواد و روشها

تهیه گیاهان

غنچه‌های گل درخت میخک با نام علمی *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry و سر شاخه‌های هوایی آویشن شیرازی با نام علمی *Zataria multiflora* Boiss. از عطاری وزیر نظام در بازار تهران خریداری و پس از شناسایی علمی، مقداری از نمونه‌ها در هرباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه آزاد اسلامی با کد شناسه ۲۱۵_PMP/A برای نمونه میخک و 241_PMP/A برای نمونه آویشن شیرازی نگهداری شد.

استخراج اسانس به روش تقطیر با آب

۱۰۰ گرم از پودر گیاهان مورد بررسی در بالن ریخته شده و پس از افزودن آب به مدت ۴ ساعت اسانس گیری شدند اسانس‌ها

شناسایی اجزای گیاهان

با محاسبه اندیس کواتس و مقایسه آنها با اندیس کواتس ترکیبات استاندارد و همچنین مقایسه طیف‌های حاصل از طیف سنج جرمی با طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد، شناسایی ترکیبات موجود در اسانس‌های آویشن شیرازی و درخت میخک به دست آمده به ۲ روش تقطیر با آب با حرارت مستقیم و مایکروویو صورت گرفت که نتایج در جدول‌های ۱ و ۲ نمایش داده شده است. ۲ ترکیب عمده اسانس میخک در هر ۲ روش استخراجی اوژنول و ترانس کاریوفیلین بودند و برای اسانس آویشن شیرازی کارواکرول و تیمول ۲ ترکیب اصلی بودند.

تعیین قدرت آنتی اکسیدان اسانس‌ها در مهار رادیکال DPPH

IC50 (غلظتی از اسانس که می‌تواند پنجاه درصد رادیکال‌های DPPH را مهار کند) نمونه‌های گیاهی و ماده استاندارد در

جدول ۳ نمایش داده شده است. لازم به ذکر است که هر چه این عدد کمتر باشد، نشان دهنده قدرت بالای نمونه در مهار رادیکال‌های آزاد است.

بحث

آنتی اکسیدان‌ها با مکانیسم‌های متفاوتی از جمله مهار رادیکال آزاد می‌توانند از بروز برخی از بیماری‌ها پیشگیری کنند (۱۶). در صنایع غذایی نیز مصرف آنتی اکسیدان‌ها با پیشگیری از اکسیداسیون باعث افزایش پایداری و ماندگاری غذاها می‌شود (۱۷). با توجه به عوارض سمی آنتی اکسیدان‌های سنتزی تمایل به آنتی اکسیدان‌های طبیعی افزایش یافته است (۱۴). گیاهان یکی از مهم‌ترین منابع به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی در نظر گرفته می‌شوند. اسانس‌ها دسته‌ای از متابولیت‌های گیاهی هستند که خواص

جدول ۱. اجزای عمده اسانس آویشن شیرازی

ترکیبات	اندیس کواتس	مقدار ترکیبات (%) ^(۱)	مقدار ترکیبات (%) ^(۲)
O-cymel	۱۰۲۶	۱/۶۷	۲/۹۴
Gamma terpinene	۱۰۶۰	۲/۲۳	۱/۶۸
Thymol	۱۲۹۰	۷/۶۸	۱۱/۷۴
Carvacrol	۱۲۹۹	۷۳/۵۴	۷۴/۹۸
thymol acetate	۱۳۵۲	۰/۱۷	۰/۲۶
carvacryl acetate	۱۳۷۳	۲/۲۷	۲/۰۶
trans carryo phyllene	۱۴۱۸	۲/۴۴	۱/۴۱
caryophyllen oxide	۱۵۸۳	۱/۱۲	۰/۹۹

^(۱) اسانس حاصل از روش تقطیر با کمک مایکروویو؛ ^(۲) اسانس حاصل از روش تقطیر با حرارت مستقیم

جدول ۲. اجزای عمده اسانس میخک

ترکیبات	اندیس کواتس	مقدار ترکیبات (%) ^(۱)	مقدار ترکیبات (%) ^(۲)
Eugenol	۱۳۵۹	۵۳/۳۶	۷۲/۵۱
Trans carryophyllen	۱۴۱۸	۳۱/۳۳	۱۷/۲۹
α - Humulene	۱۴۵۵	۴/۲۰	۲/۰۶
Eugenal asetate	۱۵۲۳	۴/۶۱	۴/۹۹
Carryophyllen oxide	۱۵۸۳	۰/۳۵	۰/۵۴

^(۱) اسانس حاصل از روش تقطیر با کمک مایکروویو؛ ^(۲) اسانس حاصل از روش تقطیر با حرارت مستقیم

جدول ۳. قدرت آنتی اکسیدانی اسانس‌ها در مهار رادیکال DPPH

نمونه	IC50 ^(۱)	IC50 ^(۲)	IC50
آویشن شیرازی	۲۹۸/۴۸±۱۳/۰۹	۱۸۵/۵۶±۱۹/۷۳	
درخت میخک	۴۰/۰۴±۲۴/۲۷	۲۳/۰۸±۳۰/۰۱	
BHT ^(۳)			۷۴/۰۳±۳۰/۱۶

^(۱) غلظتی از اسانس حاصل از روش تقطیر با کمک مایکروویو ($\mu\text{g/ml}$) که ۵۰ درصد رادیکال‌های DPPH را مهار می‌کند؛ ^(۲) غلظتی از اسانس حاصل از روش تقطیر با حرارت معمولی ($\mu\text{g/ml}$) که ۵۰ درصد رادیکال‌های DPPH را مهار می‌کند؛ ^(۳) بوتیلتید هیدروکسی تولوئن (یک آنتی اکسیدان سنتزی)

درمانی متعددی از جمله اثر آنتی اکسیدانی دارند (۷). راه‌های مختلفی جهت استخراج اسانس‌ها موجود است که هرکدام مزایا و معایب خاص خود را دارند، به عنوان مثال در روش استخراج سنتی اسانس (تقطیر با آب توسط حرارت مستقیم) زمان طولانی استخراج می‌تواند بر روی کیفیت اسانس حاصله موثر باشد (۱۸). گفته شده که فواید استفاده از انرژی مایکروویو به عنوان یک منبع گرمایی برای استخراج اسانس از مواد گیاهی، شامل حرارت مؤثره بیشتر، افت حرارتی کمتر و زمان لازم کمتر برای اسانس گیری است (۱۰).

روش مطلوب برای انتخاب روش استخراجی، جدا از هزینه و زمان، به توانایی آن روش در حفظ کیفیت اسانس نیز وابسته است. بنابراین در این تحقیق اجزای اسانس ۲ گیاه آویشن شیرازی و درخت میخک به دست آمده با ۲ روش تقطیر با حرارت مستقیم و تقطیر با امواج مایکروویو، و خواص آنتی اکسیدانی هر یک از آنها مورد مطالعه قرار گرفت.

همان طور که در قسمت نتایج بیان شد، بازده استخراج اسانس‌ها توسط امواج مایکروویو نسبت به حرارت مستقیم بیشتر است که این امر به علت شکسته شدن سریع دیواره سلول گیاه و در نتیجه خروج اسانس است. ضمن اینکه همین راندمان بالا هم در زمان کمتری حاصل شده است.

برخلاف بازده بالا و زمان کمتر اسانس گیری توسط امواج مایکروویو، با مقایسه IC50 اسانس‌های به دست آمده توسط امواج مایکروویو و حرارت مستقیم از دو گیاه آویشن شیرازی و درخت میخک (جدول ۳) به این نکته پی می‌بریم که اسانس استخراج یافته توسط امواج مایکروویو دارای قدرت آنتی اکسیدانی کمتری در مهار رادیکال DPPH است (IC50 اسانس‌های حاصل از امواج مایکروویو در مهار رادیکال DPPH در مقایسه با اسانس‌های حاصل از حرارت مستقیم به طور قابل توجهی افزایش یافته است)؛ بنابراین باوجود اینکه بازده اسانس حاصله از ۲ گیاه در روش مایکروویو افزایش یافته است، اما کیفیت آنتی اکسیدانی آن کاهش پیدا کرده است.

در اکثر تحقیقات انجام شده در زمینه استخراج اسانس‌ها با کمک امواج مایکروویو نشان داده شده است که این امواج می‌توانند بر روی محتوای شیمیایی اسانس‌ها تاثیر بگذارند (۱۱، ۱۲، ۱۹).

با بررسی ترکیبات موجود در اسانس میخک و آویشن شیرازی حاصل از ۲ روش ملاحظه می‌شود که مواد اصلی آنتی

اکسیدانی اسانس درخت میخک اوژنول و اسانس آویشن شیرازی تیمول و کارواکرول است که به علت ایجاد رادیکال‌های بسیار پایدار فنوکسی و توانایی انتقال الکترون داخل حلقه آروماتیکشان می‌توانند ضمن جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد از اکسیداسیون ترکیبات دیگر جلوگیری کنند (۲۰).

همان طور که از جدول ۲ مشخص است اسانس میخک حاصل از مایکروویو در مقایسه با همین اسانس به دست آمده از حرارت مستقیم دارای میزان کمتری اوژنول و مقدار بیشتری ترانس کاریوفیلین است که با توجه به ساختار غیرآروماتیک ترانس کاریوفیلین می‌توان احتمال داد کاهش اثر آنتی اکسیدانی اسانس درخت میخک حاصل از روش مایکروویو احتمالاً مربوط به کاهش اوژنول موجود در اسانس باشد.

در اسانس آویشن شیرازی حاصل از امواج مایکروویو و حرارت مستقیم، گرچه ماده اصلی (کارواکرول) تغییر چندانی نداشته است، ولی ماده دیگر اسانس (تیمول) در اسانس حاصل از امواج مایکروویو در مقایسه با اسانس حاصل از حرارت مستقیم کمی کاهش یافته است که ممکن است کاهش قدرت آنتی اکسیدانی، مربوط به این امر باشد.

بالا بودن نسبی قدرت آنتی اکسیدانی اسانس میخک به دلیل وجود ترکیب فنلی اوژنول در اسانس آن است. وجود ترکیبات فنلی تیمول و کارواکرول به عنوان دو ماده اصلی در اسانس آویشن شیرازی نیز مسئول اثر آنتی اکسیدانی اسانس گیاه است. بر اثر تغییر روش استخراج اسانس، ضمن کاهش برخی از ترکیبات فنلی (اوژنول و تیمول) خاصیت آنتی اکسیدانی آن اسانس‌ها نیز کاهش یافت؛ بنابراین گرچه استخراج اسانس‌ها سریع‌تر صورت پذیرفت، ولی قدرت اسانس‌ها در این تحقیق در مهار رادیکال‌های آزاد کاهش یافت.

لازم به ذکر است که این تحقیق یک مطالعه مقدماتی است و بدون هیچ گونه بهینه سازی در استخراج اسانس‌ها توسط امواج مایکروویو صورت پذیرفته است. پس ضروری است در آینده با افزودن تعداد گیاهان و بهینه سازی شرایط استخراج به نتیجه قطعی‌تری در مورد تاثیر امواج مایکروویو در کاهش قدرت آنتی اکسیدانی نمونه های گیاهی دست یافت.

در انتها پیشنهاد میشود این مطالعه با تمرکز بر دیگر تست‌های بیولوژی (ضد باکتری، ضد قارچ و...) نیز انجام گیرد تا بررسی جامع‌تری در مورد امواج مایکروویو امکان پذیر گردد.

REFERENCES

1. Burcul F, Blazevic I, Radan M, Politeo O. Terpenes, phenylpropanoids, sulfur and other essential oil constituents as inhibitors of cholinesterases. *Curr Med Chem* 2018; 25: 1-46.

2. Larijani B, Esfahani MM, Moghimi M, Shams Ardakani MR, Keshavarz M, Kordafshari G, et al. Prevention and treatment of flatulence from a traditional Persian medicine perspective. *Iran Red Crescent Med J* 2016; 18: e23664.
3. Lete I, Allué J. The effectiveness of ginger in the prevention of nausea and vomiting during pregnancy and chemotherapy. *Integr Med Insights* 2016; 11: 11–17.
4. Malcolm BJ, Tallian K. Essential oil of lavender in anxiety disorders: Ready for prime time? *Mental Health Clinician* 2017; 7: 147–155.
5. Sartoratto A, Machado ALM, Delarmelina C, Figueira GM, Marta Cristina T, Duarte MCT, et al. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazil J Microbiol* 2004; 35:275-280.
6. Serra E, Hidalgo-Bastida LA, Verran J, Williams D, Malic S. Antifungal activity of commercial essential oils and biocides against *Candida albicans*. *Pathogens* 2018; 7: 15-20.
7. Emami SM, Abedindo BB, Hassanzadeh-Khayyat M. Antioxidant activity of the essential oils of different parts of *Juniperus excelsa* M. Bieb. subsp. *excelsa* and *J. excelsa* M. Bieb. subsp. *polycarpus* (K. Koch) Takhtajan (Cupressaceae). *Iran J Pharm Res* 2011; 10: 799-810.
8. Boutekedjiret C, Bentahar F, Belabbes R, Bessiere JM. Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. *Flavour Fragr J* 2003; 18: 481–484.
9. Hesham HA, Rassem Abdurahman H Nour, Rosli M Yunus. Techniques for extraction of essential oils from plants: A review. *AJBAS* 2016; 10: 117-127.
10. Hong-Wu W, Yan-Qing L, Shou-Lian W, Zi-Jun Y. Kuan L. Comparison of microwave-assisted and conventional hydrodistillation in the extraction of essential oils from mango (*Mangifera indica* L.) Flowers. *Molecules* 2010; 15: 7715-7723.
11. Moradi S, Fazlali A, Hamed H. Microwave-assisted hydro-distillation of essential oil from rosemary: comparison with traditional distillation. *Avicenna J Med Biotechnol* 2018; 10: 22–28.
12. Kahrman N, Yaylı B, Yücel M, Karaoglu SA, Yaylı N. Chemical constituents and antimicrobial activity of the essential oil from *Vicia dadianorum* extracted by hydro and microwave distillations. *Records of Natural Products* 2012; 6: 49-56.
13. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharm Rev* 2010; 4: 118–126.
14. Taghvaei M, Jafari SM. Application and stability of natural antioxidants in edible oils in order to substitute synthetic additives. *J Food Sci Technol* 2015; 52: 1272–1282.
15. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 1958; 181: 1199-1200.
16. Huang D. Dietary antioxidants and health promotion. *Antioxidants (Basel)* 2018; 7: 9-14.
17. Wilson DW, Nash P, Buttar HS, Griffiths K, Singh R, De Meester F, et al. The role of food antioxidants, benefits of functional foods, and influence of feeding habits on the health of the older person: An overview. *Antioxidants (Basel)* 2017; 6: 81.
18. Berka-Zougali B, Ferhat MA, Hassani A, Chemat F, Allaf KS. Comparative study of essential oils extracted from Algerian *Myrtus communis* L. leaves using microwaves and hydrodistillation. *Int J Mol Sci* 2012; 13: 4673-95.
19. Fadel O, Ghazi Z, Mouni L, Benchat N, Ramdani M, Amhamdi H, et al. Comparison of microwave-assisted hydrodistillation and traditional hydrodistillation methods for the *Rosmarinus eriocalyx* essential oils from eastern Morocco. *JMES* 2011; 2: 112-17.
20. Ali HM, Abo-Shady A, Sharaf Eldeen HA, Soror HA, Shousha WG, Abdel-Barry OA, et al. Structural features, kinetics and SAR study of radical scavenging and antioxidant activities of phenolic and anilinic compounds. *Chem Centr J* 2013; 7: 53-57.