ارزیابی اثرات ضد کپکی و ضد اکسایشی عصاره گیاه رازیانه

نوشین نوشیروانی [a]*، هادی فصیحی [b]، الهام نور محمدی [c]

[a] *استادیار گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده فنی و منابع طبیعی تویسرکان، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران*

[b] *دکتری بیوشیمی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان و گروه گیاهان دارویی و معطر، دانشگاه جامع علمی و کاربردی جهاد کشاورزی، همدان، ایران*

[c] *دانش‌آموخته دکتری گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران*

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۳/۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۷/۱۸

چکیده

مقدمه: پژوهش اخیر رازیانه و عصاره آن را به عنوان محصولاتی با ویژگی‌های عالی معرفی می‌نماید. هدف از این پژوهش استخراج عصاره رازیانه و بررسی فعالیت ضد اکسیداسیونی و ضد کپکی آن می‌باشد.

مواد و روش‌ها: آب، استون، متانول و اتانول به عنوان حلال جهت استخراج عصاره رازیانه توسط روش سوکسله مورد استفاده قرار گرفتند. میزان ترکیبات پلی فنولی و فلاوونوئیدی هر عصاره تعیین شد. به علاوه فعالیت ضد اکسایشی عصاره متانولی رازیانه توسط روش به دام اندازی رادیکال آزاد DPPH ارزیابی شد. در ادامه، اثر غلظت‌های مختلف عصاره متانولی (۰، ۱۰۰، ۲۵۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام) و پودر (۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام) رازیانه بر روی فعالیت اکسیداسیونی روغن دانه آفتابگردان با اندازه‌گیری اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید در طول ۱۵ روز گرمخانه‌گذاری در دمای $70\ ^{0}C$ مورد بررسی قرار گرفت. همچنین فعالیت ضد کپکی پودر و عصاره رازیانه بر روی کپک‌های *آسپرژیلوس نایجر* و *پنی سیلیوم دیجیتاتوم* توسط روش دیسک انتشاری مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: بر اساس نتایج بدست آمده متانول بالاترین راندمان استخراج ترکیبات پلی فنولی را نشان داد. نتایج نشان داد که عصاره رازیانه به ویژه در غلظت‌های بالا فعالیت به دام اندازی رادیکال آزاد DPPH بالایی را نشان می‌دهد، هر چند اثر آن کمتر از TBHQ بود. نتایج فعالیت اکسیداسیونی نشان داد که عصاره و پودر رازیانه سرعت اکسیداسیون روغن دانه آفتابگردان را در مقایسه با نمونه شاهد کاهش دادند. نتایج آزمون میکروبی فعالیت ضد کپکی خوب عصاره رازیانه بر روی دو کپک مورد مطالعه را نشان داد.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج بدست آمده عصاره رازیانه به عنوان یک منبع گیاهی سالم با ویژگی‌های خوب ضد اکسیداسیونی و ضد کپکی قابل استفاده می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: *عصاره رازیانه، عدد پراکسید، فعالیت ضداکسایشی، فعالیت ضد قارچی*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: n.noshirvani@basu.ac.ir

مقدمه

اکسیداسیون مهمترین علت فساد چربی‌ها و روغن‌ها به شمار می‌رود که نه تنها باعث افت ارزش غذایی و کیفیت محصول می‌شود بلکه منجر به تولید ترکیباتی نظیر رادیکال‌های آزاد می‌گردد که اثرات نامطلوبی بر سلامت انسان به همراه خواهد داشت. در حال حاضر به منظور جلوگیری یا به تاخیر انداختن واکنش اتواکسیداسیون، ترکیبات ضداکسایش مصنوعی نظیر بوتیلتد هیدروکسی آنیزول[1]، بوتیلیتد هیدروکسی تولوئن[2]، پروپیل گالات و ترشیاری بوتیل هیدروکینون[3] مورد استفاده قرار می‌گیرند. هر چند ضداکسایندهای سنتزی دارای اثرات سوئی بر سلامت انسان بوده و به این علت تلاش‌های زیادی در راستای جایگزین‌سازی این ترکیبات با ترکیبات ضداکسایش طبیعی در حال انجام است. منابع گیاهی زیادی مانند عصاره پوست گردو (نوشیروانی و همکاران، ۲۰۱۵)، عصاره پالپ خرما (نوشیروانی و همکاران، ۲۰۱۶)، عصاره دارچین (کمالی روستا و همکاران، ۲۰۱۰)، عصاره پوست سیب زمینی (محققی ثمرین و همکاران، ۲۰۱۱) و عصاره زیتون (Farag و همکاران، ۲۰۰۳) برای تهیه ضد اکسایندهای طبیعی در سال های اخیر مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. در این میان بسیاری از گیاهان دارویی نظیر رزماری (Tohama & Turan, 2015; Yang *et al.*, 2016)، آویشن، ریحان، اسطوخودوس (Lee *et al.*, 2002) نتایج مثبتی را در به تاخیر انداختن اکسیداسیون نشان داده‌اند. بر طبق گزارشات پیشین بسیاری از ادویه‌ها و چاشنی‌هایی که به طور متداول به عنوان طعم دهنده غذا استفاده می‌شوند به عنوان منبع مناسبی از ترکیبات فنولی با خاصیت ضداکسایشی بالا به شمار می‌روند. به علاوه اسانس بدست آمده از ادویه‌ها و چاشنی‌ها نیز دارای چنین خاصیتی می‌باشد (Hinneburg *et al.*, 2006).

رازیانه گیاهی دارویی، معطر و دو ساله از خانواده آپیاسه[4] (چتریان)[5] می‌باشد. این گیاه به نواحی مدیترانه تعلق دارد در حالی که امروزه تقریبا در اکثر نقاط دنیا کشت می‌شود (Rather *et al.*, 2012). رازیانه در پزشکی به عنوان گیاهی ادرار آور، محافظت کننده از کبد[6]، ضد درد، ضد التهاب و واجد خواص ضداکسایش شناخته شده است (Telci *et al.*, 2009). در طب سنتی از رازیانه برای درمان دیابت، برونشیت، ناراحتی‌های مزمن و سنگ کلیه استفاده می‌شود. از آنجایی که برخی از این بیماری‌ها در ارتباط با تولید رادیکال‌های آزاد است، بنابراین اثرات ضداکسایش رازیانه می‌تواند در درمان این بیماری‌ها مؤثر باشد (Lillian *et al.*, 2009). اثر ضداکسایش رازیانه به حضور ترکیبات پلی فنولیک موجود در آن نسبت داده می‌شود. پلی‌فنول‌ها با انتقال اتم هیدروژن خود به رادیکال‌های آزاد، قادر به توقف واکنش‌های زنجیری اکسایش چربی می‌باشند (Singh *et al.*, 2006). Caleja و همکاران (۲۰۱۵) ترکیب شیمیایی عصاره رازیانه را مورد بررسی قرار دادند و ۱۷ ترکیب فنولیک در آن شناسایی نمودند که شامل ۱۲ فنولیک اسید و مشتقات آن و ۵ فلاوونوئید بود. اسانس و عصاره رازیانه هر دو حاوی سیس و ترانس آنتول می‌باشند. هر چند اثر ضداکسایش اسانس و عصاره به اثر توام چندین ترکیب نسبت داده می‌شود و در واقع ترکیبات شیمیایی مختلف به صورت هم افزا اثر می‌نمایند (Singh *et al.*, 2006). در کنار فعالیت ضد اکسایشی فعالیت ضد میکروبی عصاره رازیانه نیز گزارش شده است. از آنجایی که در سال های اخیر تمایل مصرف کنندگان به استفاده از مواد غذایی سالم و عاری از نگهدارنده‌های مصنوعی بوده است لذا یافتن منابع طبیعی واجد خواص ضدمیکروبی ضروری به نظر می‌رسد (نوشیروانی و فصیحی، ۲۰۱۸). در این راستا فعالیت ضد اکسایشی و ضدمیکروبی اسانس و عصاره رازیانه در مطالعات پیشین به اثبات رسیده است (Hamdy Roby *et al.*, 2013; Ruberto *et al.*, 2000). در تحقیقی که توسط Diao و همکاران (۲۰۱۴) پیرامون خواص ضداکسایش رازیانه انجام گرفت، ترکیب شیمیایی اسانس رازیانه توسط کروماتوگرافی گازی مورد بررسی قرار گرفت. ۲۸ ترکیب در این مطالعه شناسایی شد که در میان این ترکیبات ترانس آنتول[7] (۶۸/۵۳ ٪) و استراگول[8] (۱۰/۴۲ ٪) عمده‌ترین ترکیبات شناخته شده در اسانس رازیانه معرفی شدند. هم چنین درمطالعه‌ای دیگر Singh و همکاران (۲۰۰۶) اثرات ضد کپکی و ضد اکسایشی عصاره و اسانس رازیانه را نشان دادند. با توجه به اهمیت حذف

[1] BHA [2] BHT [3] TBHQ [4] Apiaceae [5] Umbelliferaceae [6] Hepatoprotective Effect
[7] Trans-anethole [8] Estragole

استفاده از ترکیبات ضد اکسایش مصنوعی و استفاده از منابع گیاهی به منظور حفظ سلامت عمومی، بررسی امکان استفاده از ترکیبات طبیعی با خاصیت ضد اکسایشی و ضد میکروبی ضروری به نظر می‌رسد. لذا هدف از این پژوهش استخراج ترکیبات پلی‌فنولی عصاره رازیانه توسط حلال‌های مختلف و بررسی اثرات ضد اکسایشی و ضد کپکی عصاره بدست آمده می‌باشد.

مواد و روش‌ها

- مواد

گیاه رازیانه از بازار محلی همدان تهیه شد و به مدت ۳ روز در دمای محیط (۲۵ °C) خشک و آسیاب شد. روغن آفتابگردان تصفیه و بوگیری شده و فاقد ترکیبات ضداکسایش از شرکت روغن بهشهر خریداری گردید. معرف‌های فولین سیوکالتو[1] و ۲و۲ دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH[2])، سدیم بی‌کربنات، آلومینیم کلراید، پتاسیم استات، متانول، اتانول، کلروفرم، فنل فتالئین، سدیم هیدروکسید (سود)، استیک اسید، پتاسیم یدید، معرف نشاسته، پتاسیم تیوسولفات، بوتانول، ۲- تیوباربیتوریک اسید[3]، دی متیل سولفوکساید (DMSO[4]) و محیط‌کشت سابرو دکستروز آگار (SDA[5]) از شرکت مرک آلمان خریداری شدند. کپک *آسپرژیلوس نایجر* (PTCC ۵۲۹۸) و *پنی‌سلیوم دیجیتاتوم* (PTCC ۵۲۵۱) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (تهران) تهیه شد.

- تهیه عصاره رازیانه به روش سوکسله

به منظور استخراج عصاره دانه رازیانه از ۴ حلال متانول، اتانول، آب و استون استفاده شد. استخراج عصاره به روش سوکسله و طبق روش احمدوند و همکاران (۲۰۱۱) و کمالی روستا و همکاران (۲۰۱۰) انجام شد. در این روش ۳۰ گرم از نمونه درون کارتوش قرار داده شده به دستگاه سوکسله (Soxhlet 600 RDSX, Quick fit، انگلستان) متصل گردید و پس از اضافه نمودن مقدار مناسب (۴۰۰ میلی‌لیتر) حلال (متانول، اتانول، آب و استون) به نمونه، استخراج طی ۴۸ ساعت انجام شد. سپس حلال در دستگاه تبخیرکننده چرخان تحت خلأ، کاملاً تبخیر شد. عصاره بدست آمده تا پایان آزمایش‌ها در ظرف شیشه‌ای قهوه‌ای رنگ و در دمای یخچال (۴ °C) نگهداری شد. با محاسبه وزن اولیه بالن و وزن نهایی آن که حاوی ماده خشک برجای مانده است، مقدار کل ماده خشک استخراج شده در مرحله استخراج محاسبه شد و به صورت درصد (گرم به صد گرم نمونه خشک) بیان گردید.

- اندازه‌گیری میزان پلی فنول‌های تام

برای اندازه‌گیری میزان پلی فنول‌های تام موجود در عصاره، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره رقیق شده (۱ گرم از عصاره توسط حلال متانول به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانده شد) با ۰/۷۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتو مخلوط شد. پس از ۵ دقیقه ۰/۷۵ میلی لیتر محلول کربنات سدیم سیرشده به مخلوط افزوده شد. واکنش در محیط تاریک به مدت ۹۰ دقیقه انجام گردید و سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۲۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Speccord 210, Analytik AG, Jena ساخت آلمان) خوانده شد. مقدار کل ترکیبات فنولی با استفاده از معادله خط رسم شده برای اسیدگالیک (میلی‌گرم در گرم نمونه خشک) بیان شد (Singleton *et al.*, 1999).

- اندازه‌گیری میزان ترکیبات فلاوونوئیدی

برای تجزیه کمی فلاونوئیدهای کل موجود در عصاره، ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره رقیق شده (۱ گرم از عصاره توسط حلال متانول به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد)، ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیم کلراید، ۰/۱ میلی‌لیتر پتاسیم استات و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شده و توسط همزن مغناطیس در دور ۵۰۰ (دور در دقیقه) واکنش به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی همزده شد. سپس جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۵ نانومتر خوانده شد. مقدار کل ترکیبات فلاوونوئیدی با استفاده از معادله خط رسم شده بر حسب کاتچین (میلی‌گرم در گرم نمونه خشک) بیان شد (Singleton *et al.*, 1999).

- مهار رادیکال آزاد DPPH

[1] Folin Ciocalteu [2] 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl [3] Thiobarbituric Acid [4] Dimethyl Sulfoxide
[5] Sabouraud Dextrose Agar

غلظت‌های مختلف (۱ – ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی لیتر) عصاره رازیانه و ضداکسایندهٔ مصنوعی TBHQ در حلال متانول تهیه شدند. ۰/۳ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده با ۲/۷ میلی‌لیتر معرف DPPH (غلظت ۰/۱ میلی مولار تهیه شده در متانول) مخلوط شده و به مدت ۶۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شد. جذب نمونه‌ها در ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت به دام اندازی رادیکالی با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد (Barreira *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2010):

رابطه ۱:

$$\text{فعالیت مهارکنندگی رادیکال } \% = \frac{\text{جذب شاهد} - \text{جذب نمونه}}{\text{جذب شاهد}} \times 100$$

- آماده‌سازی نمونه‌ها

به‌منظور بررسی اثر ضداکسایش عصاره رازیانه بر اکسیداسیون روغن دانه آفتابگردان، ابتدا عصاره استخراج شده توسط ۴ حلال مختلف از نظر محتوای ترکیبات فنلی و فلاوونوئیدی مورد بررسی قرار گرفت و عصاره استخراج شده توسط حلالی که بالاترین میزان ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی را نسبت به سایر حلال‌ها نشان داد، در ۴ سطح ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام به روغن بوگیری شده فاقد ترکیب ضداکسایندهٔ اضافه شد. همچنین ضداکسایندهٔ مصنوعی TBHQ در سطح ۲۰۰ پی پی ام به روغن آفتابگردان اضافه شد. یک نمونه فاقد ترکیب ضداکسایندهٔ به عنوان نمونه شاهد انتخاب گردید. همچنین به منظور بررسی اثر پودررازیانه، پودر نیز در ۲ سطح ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام به روغن اضافه شد. تیمارهای تهیه شده به مدت ۱۵ روز در آون ۷۰°C نگهداری شدند.

- بررسی اثر ضداکسایشی عصاره و پودر دانه رازیانه در روغن آفتابگردان

بررسی اثر ضداکسایشی عصاره و پودر رازیانه در روغن آفتابگردان توسط اندازه‌گیری عدد پراکسید به روش استاندارد AOCS Cd 8–53 (۱۹۹۰) و عدد تیوباربیتوریک اسید توسط روش استاندارد AOCS Cd 19–90 (۱۹۹۰) به ترتیب توسط روابط ۲ و ۳، در طول دوره نگهداری در دمای ۷۰ °C (روزهای ۰، ۵، ۱۰ و ۱۵) برای هر تیمار در ۳ تکرار اندازه‌گیری شد (Taheri *et al.*, 2012).

رابطه ۲

$$\text{عدد پراکسید} = \frac{1000 \times \text{نرمالیته تیوسولفات سدیم} \times (\text{حجم تیوسولفات سدیم شاهد} - \text{حجم تیوسولفات سدیم نمونه})}{\text{گرم وزن نمونه}}$$

رابطه ۳

$$\text{اندیس تیوباربیتوریک اسید} = \frac{(\text{میزان جذب محلول شاهد} - \text{میزان جذب محلول آزمایش}) \times 50}{\text{وزن نمونه روغن}}$$

- بررسی فعالیت ضد کپک عصاره و پودر دانه رازیانه

بررسی فعالیت ضد کپک عصاره و پودر دانه رازیانه بر کپک‌های *آسپرژیلوس نایجر* (PTCC ۵۲۹۸) و *پنی سیلیوم دیجیتاتوم* (PTCC ۵۲۵۱) توسط روش دیسک انتشاری[1] و مطابق روش پیشنهادی فصیحی و همکاران (۲۰۱۷) صورت پذیرفت. در ابتدا به منظور فعال سازی سویه‌های کپک محتویات تیوپ داخل ۲–۱ میلی لیتر آب مقطر استریل ریخته و پخش شده سپس به آرامی تکان داده شد و به مدت ۱۲ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. سپس سوسپانسیون تهیه شده بر روی محیط‌کشت سابرو دکستروز آگار درون پتری دیش کشت شده و در دمای ۲۵ °C به مدت ۱ هفته گرمخانه‌گذاری شد. سپس اسپورها در سرم فیزیولوژیک همراه با محلول ۰/۱٪ توین ۸۰ پخش شده و توسط لام نئوبار و میکروسکوپ نوری عمل شمارش اسپورها به غلظت 10^6 اسپور بر میلی‌لیتر انجام شد. محیط کشت سابرو دکستروز آگار (SDA) داخل پلیت ها ریخته شده و پس از جامد شدن محیط‌کشت، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون کپک بر روی محیط‌کشت ریخته و توسط آنس استریل پخش شد. سپس دیسک کاغذی استریل بر روی محیط‌کشت قرار داده شده و ۱۵ میکرولیتر عصاره و پودر رازیانه (رقیق شده توسط دی متیل سولفوکساید با غلظت ۱ mg/mL) بر روی دیسک کاغذی قرار گرفته و پس از پوشش دادن درزهای پلیت با پارافیلم، در دمای ۲۵ °C به مدت ۵ روز گرمخانه‌گذاری شد. فعالیت ضد میکروبی با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد با خط‌کش

[1] Disc Diffusion

دیجیتال محاسبه شد. علائم اختصاری تیمارهای مورد استفاده در این تحقیق در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- علائم اختصاری تیمارهای بکار رفته در آزمایش

شماره	تیمار	طرز تهیه تیمار
۱	T0	روغن تصفیه شده بدون آنتی اکسیدان (نمونه‌ی شاهد)
۲	TE ۱۰۰	روغن تصفیه شده حاوی ۱۰۰ پی پی ام عصاره رازیانه
۳	TE ۲۵۰	روغن تصفیه شده حاوی ۲۵۰ پی پی ام عصاره رازیانه
۴	TE ۵۰۰	روغن تصفیه شده حاوی ۵۰۰ پی پی ام عصاره رازیانه
۵	TE ۱۰۰۰	روغن تصفیه شده حاوی ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره رازیانه
۶	TP ۵۰۰	روغن تصفیه شده حاوی ۵۰۰ پی پی ام پودر رازیانه
۷	TP ۱۰۰۰	روغن تصفیه شده حاوی ۱۰۰۰ پی پی ام ع پودر رازیانه
۸	TS	روغن تصفیه شده حاوی ۲۰۰ پی پی ام TBHQ

- **تجزیه و تحلیل آماری**

در این تحقیق تأثیر نوع حلال بر مقدار ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. در بخش مربوط به ارزیابی اثر ضد اکسایشی عصاره و پودر در روغن دانه آفتابگردان، بررسی اثر تیمارهای مختلف با استفاده از روش اندازه گیری‌های تکرار شده در زمان در قالب طرح اسپلیت پلات با ۳ تکرار اجرا گردید. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری(SAS (V9.1 انجام شد و برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال معنی‌داری ۵٪ استفاده شد. آزمون‌ها در سه تکرار انجام گرفت و نتایج به صورت میانگین گزارش شد.

یافته‌ها

- **راندمان استخراج و میزان ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی**

راندمان استخراج عصاره و میزان ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی عصاره رازیانه استخراج شده توسط حلال‌های مختلف در جدول ۲ آورده شده است. بر اساس نتایج بدست آمده حلال متانول (۷۲ ٪) و آب (۴/۲ ٪) به ترتیب بالاترین و کمترین راندمان استخراج عصاره رازیانه را نشان دادند. همچنین حلال متانول بالاترین میزان استخراج ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی را نسبت به سایر حلال‌ها نشان داد، به‌طوری که محتوای ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی استخراج شده توسط متانول (۱۷۸/۵۸ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم عصاره خشک) بالاتر از سایر حلال‌های اتانول (۸۸/۱۲ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم عصاره خشک)، استون (۹۲/۸۵ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم عصاره خشک) و آب (۷۳/۸۴ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم عصاره خشک) بود. همچنین محتوای ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی پودر رازیانه نیز تعیین شد که به ترتیب ۲۵/۱۳ (میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم عصاره خشک) و ۱۵/۶۷ (میلی‌گرم کاتچین بر گرم عصاره خشک) بدست آمد.

جدول ۲- راندمان استخراج و محتوای ترکیبات فنولی، فلاوونوئیدی عصاره رازیانه

نوع حلال	راندمان استخراج (گرم به صد گرم نمونه خشک)	مقدار کل ترکیبات فنولیک (میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم عصاره خشک)	مقدار کل ترکیبات فلاوونوئیدی (میلی گرم کاتچین بر گرم عصاره خشک)
آب	۴/۲^{d}	۷۳/۸۴ ±۰/۸۷^{d}	۱۰/۵۶ ±۰/۳۶^{c}
استون	۵۰^{c}	۹۲/۸۵ ±۰/ ۶۷^{b}	۴۵/۹۱±۰/۶۷^{b}
اتانول	۶۱^{b}	۸۸/۱۲± ۰/۳۴^{c}	۴۹/۶۷±۰/۴۳^{b}
متانول	۷۲^{a}	۱۷۸/۵۸±۰/۸۹^{a}	۹۴/۴۶±۰/۹۷^{a}

حروف غیر مشابه در یک ستون بیانگر اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ است.

- مهار رادیکال آزاد DPPH

DPPH یک رادیکال آزاد آبدوست و پایدار است که می‌تواند به عنوان سوبسترا در تعیین فعالیت ضداکسایش ترکیبات مختلف مورد استفاده قرار گیرد. محلول DPPH دارای حداکثر جذب در محدوده طول موج ۵۱۷-۵۱۵ نانومتر است. انتقال الکترون یا اتم هیدروژن از فنول‌ها و سایر ترکیبات احیاکننده به رادیکال DPPH منجر به تبدیل این ترکیب به فرم غیررادیکالی شده و در نهایت کاهش در جذب محلول DPPH در طول موج مورد بررسی را بهمراه خواهد داشت. بنابراین بررسی قدرت مهار رادیکال در ترکیبات مختلف بر اساس میزان کاهش در جذب محلول DPPH در شرایط حضور این ترکیبات انجام می‌گیرد. غلظتی از پودر، عصاره و ضد اکساینده مصنوعی TBHQ که منجر به ۵۰٪ بازدارندگی از اکسیداسیون می‌گردد (EC_{50}) در جدول ۳ آمده است. EC_{50} کمتر نشاندهنده قدرت مهار رادیکال بیشتر در نمونه مورد بررسی است. با در نظر گرفتن نتایج عصاره رازیانه دارای قدرت مهار رادیکال مناسبی بود، هرچند TBHQ در مقایسه با عصاره رازیانه اثر ضداکسایش بیشتری نشان داد. همانطور که ملاحظه می‌شود ضداکساینده مصنوعی TBHQ در غلظت‌های کمتری نسبت به عصاره رازیانه ۵۰ ٪ فعالیت بازدارندگی را نشان می‌دهد که بیانگر فعالیت ضداکسایشی بالاتر آن نسبت به عصاره رازیانه می‌باشد. پودر رازیانه بالاترین EC50 را نشان داد که بیانگر کمترین فعالیت ضد اکسایشی برای آن می‌باشد.

جدول۳- میزان EC_{50} (میلی گرم بر میلی لیتر) بر حسب DPPH

نوع آنتی اکسیدان	EC_{50}
عصاره متانولی رازیانه	۰/۸۵ ± ۰/۰۳^{b}
پودر رازیانه	۳/۲۱±۰/۶۳^{a}
TBHQ	۰/۰۸±۰/۰^{c}

حروف غیر مشابه در یک ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ است.

- اثرات ضد اکسایشی عصاره متانولی رازیانه بر اکسیداسیون روغن آفتابگردان

- عدد پراکسید

اندیس پراکسید معیاری برای سنجش میزان پراکسید و هیدروپراکسیدهای تشکیل شده در مراحل اولیه اکسیداسیون چربی می‌باشد. این ترکیبات بدون بو و طعم هستند اما به علت ناپایدار بودن ممکن است متحمل سلسله واکنش‌هایی شوند که در نهایت منجر به تولید محصولات ثانویه می‌گردد. دمای بالا و نور دو فاکتور اساسی تشدید کننده تولید پراکسید به شمار می‌روند (Mahdi *et al.*, 2015). تغییرات عدد پراکسید در طول دوره ۱۵ روزه نگهداری نمونه ها در دمای ۷۰ ^{o}C در جدول ۴ آورده شده است. انتخاب دمای ۷۰ ^{o}C به دلیل آن است که در دمای بالاتر از ۷۰ ^{o}C پراکسیدها بسیار سریع تجزیه می‌شوند (Adam Mariod *et al.*, 2010). همانطور که مشاهده می‌شود در کلیه نمونه‌ها با گذشت زمان عدد پراکسید افزایش می‌یابد، هر چند این افزایش در نمونه شاهد نسبت به نمونه‌های حاوی سطوح مختلف پودر و عصاره متانولی رازیانه با شدت بیشتری بود. به طوری که مقایسه میانگین بین زمان‌های مورد بررسی نشان داد که بین زمان‌های مختلف در هر تیمار اختلاف معنی‌داری ($P < ۰/۰۵$) در عدد پراکسید وجود دارد. افزایش شاخص پراکسید در طول دوره نگهداری توسط Adam Mariod و همکاران (۲۰۱۰) و سلمانیان و همکاران (۲۰۱۳) گزارش شده است. مقایسه میانگین اندیس پراکسید در روزهای مختلف نشان داد که بیشترین و کمترین اندیس پراکسید به ترتیب مربوط به نمونه شاهد (۱۲۹/۶۸ میلی‌گرم اکی والان بر کیلوگرم روغن) و نمونه حاوی TBHQ (۵۷/۹ میلی‌گرم اکی والان بر کیلوگرم روغن) می‌باشد. همچنین مقایسه بین پودر و عصاره رازیانه نشان داد که عصاره رازیانه کارآیی بالاتری نسبت به پودر در کنترل اکسیداسیون دارد که دلیل آن احتمالا مربوط به بالاتر بودن مواد موثره در عصاره نسبت به پودر باشد. مقایسه بین سطوح مختلف عصاره نشان داد که با افزایش غلظت عصاره عدد پراکسید کاهش بیشتری می‌یابد به طوری که نمونه حاوی ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره رازیانه بعد از نمونه حاوی ضد اکساینده مصنوعی TBHQ کمترین عدد پراکسید را نشان داد ($P < ۰/۰۵$).

- عدد تیوباربیتوریک اسید

هنگام اکسیداسیون روغن پراکسیدها به آرامی به ترکیباتی با وزن مولکولی کم‌تر تجزیه می‌شوند که مقدار این ترکیبات توسط عدد تیوباربیتوریک اسید مشخص می‌شود (Singh *et al.*, 2006). تغییرات عدد

تیوباربیتوریک اسید نمونه‌ها در طول ۱۵ روز نگهداری در جدول ۵ نشان داده شده است. در همه تیمارها با گذشت زمان عدد تیوباربیتوریک اسید افزایش یافت هر چند شدت این افزایش در نمونه شاهد بیشتر از سایر نمونه‌ها بود. مقایسه میانگین بین زمان‌های مورد بررسی نشان داد که بین روزهای مختلف در هر تیمار اختلاف معنی‌داری ($P < ۰/۰۵$) در عدد تیوباربیتوریک اسید وجود دارد. همگی تیمارهای تهیه شده با سطوح مختلف پودر و عصاره رازیانه عدد تیوباربیتوریک اسید کمتری را نسبت به نمونه شاهد نشان دادند. بیشترین و کمترین اندیس تیوباربیتوریک اسید به ترتیب مربوط به نمونه‌های شاهد (فاقد ترکیب ضداکسایش) (۲۰۳ میلی‌گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم روغن) و نمونه حاوی TBHQ (۸۸/۶ میلی‌گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم روغن) بود و پس از آن به ترتیب نمونه‌های حاوی ۱۰۰۰ (۹۹/۳ میلی‌گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم روغن)، ۵۰۰ (۱۰۸/۴ میلی‌گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم روغن)، ۲۵۰ (۱۲۵/۷ میلی‌گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم روغن) و ۱۰۰ پی پی ام (۱۲۸/۲ میلی‌گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم روغن) عصاره رازیانه قرار داشت. مقایسه بین عدد تیوباربیتوریک اسید بین پودر و عصاره نشان داد که نمونه‌های حاوی عصاره اثر بیشتری در کاهش عدد تیوباربیتوریک اسید نسبت به پودر دارند که این نتایج با نتایج حاصل از عدد پراکسید مطابقت دارد.

- فعالیت ضد کپکی

فعالیت ضد کپکی عصاره و پودر رازیانه در محیط کشت بر روی کپک *آسپرژیلوس نایجر* و *پنی سیلیوم دیجیتاتوم* مورد بررسی قرار گرفت و نتایج آن در جدول ۶ آورده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود پودر دانه رازیانه فعالیت ضد کپکی نشان نداد که دلیل آن احتمالا مربوط به کم بودن مواد موثره در پودر می‌باشد. هر چند در نقطه مقابل عصاره رازیانه فعالیت ضد کپکی قابل توجهی بر روی هر دو کپک مورد آزمون نشان داد.

جدول ٤- تغییرات عدد پراکسید (میلی گرم اکی والان بر کیلوگرم روغن) در عصاره و پودر رازیانه در طول دوره نگهداری در دمای $^{\circ}C$ ۷۰

روز / تیمار	T۰	TE۱۰۰	TE۲۵۰	TE۵۰۰	TE۱۰۰۰	TP۵۰۰	TP۱۰۰۰	TS
صفر	۱۱/۴±۲/۰۸^{dA}	۷/۸۷±۱/۹۹^{dA}	۱۰/۳۴±۲/۳۴^{dA}	۹/۰۵ ±۱/۳۵^{dA}	۸/۲۵ ±۱/۲۷^{dA}	۷/۵±۲/۱۷^{dA}	۸/۹۶ ±۱/۴۳^{dA}	۸/۸۱±۱/۳۵^{dA}
پنجم	۷۴/۴۳±۶/۹۸^{cA}	۶۳/۴۴±۲/۴۷^{cB}	۷۸/۹۶ ±۳/۰۳^{cA}	۶۲/۰۴±۲/۵۶^{cB}	۴۹/۱۹±۱/۰۱^{cC}	۶۹/۵±۲/۵۹^{cA}	۷۳۸۹±۱/۵۶^{cA}	۳۴۴۱±۲/۱۳^{cD}
دهم	۱۶۲/۵±۱۰/۷۶^{bA}	۱۴۰/۵ ±۳/۶^{bB}	۱۲۲/۸±۳/۹۸^{bC}	۱۱۶۴±۳/۵۶^{bD}	۸۲/۹ ±۲/۹۸^{bE}	۱۴۳/۵±۳/۸۸^{bB}	۱۲۲/ ±۲/۴۵^{bC}	۷۹/۳۱±۳/۵۶^{bE}
پانزدهم	۲۷۰/۴±۷/۲۴^{aA}	۱۹۰/۲±۸/۹۱^{Da}	۱۸۱/۶±۲/۵۶^{aD,E}	۱۷۱/۹±۱/۹۸^{aE}	۱۱۶/۷±۲/۵۴^{aF}	۲۵۴/۷±۵/۵۶^{aB}	۲۳۶/۶±۲/۴۸^{aC}	۱۰۹/۱±۱/۹۸^{aG}
میانگین	۱۲۹/۶۸±۶/۷۶^{A}	۱۰۰/۵±۴/۲۴^{C}	۹۸/۴۲±۲/۹۷^{C}	۸۹/۸۳±۲/۳۶^{D}	۶۴/۲۶±۱/۹۵^{E}	۱۱۸/۸±۳/۵۵^{B}	۱۱۰/۶±۱/۹۸^{B}	۵۷/۹۰±۲/۳۶^{E}

* حروف لاتین کوچک بیانگر تفاوت معنی‌دار ($P < ۰/۰۵$) در ستون عمودی و حروف لاتین بزرگ بیانگر تفاوت معنی‌دار ($P < ۰/۰۵$) در ستون افقی می‌باشد.

جدول ۵- تغییرات عدد تیوباربیتوریک اسید (میلی‌گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم روغن) در عصاره و پودر رازیانه در طول دوره نگهداری در دمای $^{\circ}C$ ۷۰

روز / تیمار	T۰	TE۱۰۰	TE۲۵۰	TE۵۰۰	TE۱۰۰۰	TP۵۰۰	TP۱۰۰۰	TS
صفر	۵۳/۳±۲/۰۸^{dA}	۵۴/۸±۱/۲۷^{dA}	۵۰/۶±۲/۱۷^{dA}	۵۹/۵ ±۳/۳۵^{dA}	۵۸/۶ ±۱/۳۵^{dA}	۵۷/۵±۲/۳۴^{dA}	۵۶/۸ ±۱/۹۹^{dA}	۵۷/۲±۱/۴۳^{dA}
پنجم	۱۸۳/۸±۶/۹۸^{cA}	۷۶/۴±۱/۰۱^{c}	۱۱۹/۲±۲/۵۹^{cC}	۹۶/۵±۳/۷۸^{cD}	۱۰۰/۷±۲/۱۴^{cD}	۱۳۵/۲±۳/۰۳^{cB}	۱۳۵/۷±۲/۴۷^{cB}	۷۸/۱±۱/۵۶^{cE}
دهم	۲۷۵۳±۱۰/۷۶^{bA}	۱۷۰/۹±۲/۹۸^{bC}	۱۴۵/۸±۳/۸۸^{bD}	۱۲۶/۵±۴/۸۷^{bE}	۱۲۱/۳±۳/۵۶^{bE}	۱۹۵/۴±۳/۹۸^{bB}	۱۶۸/۷ ±۳/۶^{bC}	۹۸/۵±۲/۴۵^{bF}
پانزدهم	۲۹۹/۸±۷/۲۴^{aA}	۲۱۰/۷±۲/۵۴^{aC}	۱۸۷/۳±۵/۵۶^{aE}	۱۵۱/۴±۵/۰۵^{aF}	۱۱۶/۶±۱/۹۸^{aG}	۲۴۰/۶ ±۲/۱۱^{aB}	۲۰۱/۱±۸/۹۱^{aD}	۱۲۰/۷±۲/۴۸^{aG}
میانگین	۲۰۳±۶/۷۶^{A}	۱۲۸/۲ ±۱/۹۵^{D}	۱۲۵/۷±۳/۵۵^{D}	۱۰۸/۴±۴/۲۶^{E}	۹۹/۳±۲/۳۶^{F}	۱۵۷/۱±۲/۹۷^{B}	۱۴۰/۵±۴/۲۴^{C}	۸۸/۶±۱/۹۸^{G}

* حروف لاتین کوچک بیانگر تفاوت معنی‌دار ($P < ۰/۰۵$) در ستون عمودی و حروف لاتین بزرگ بیانگر تفاوت معنی‌دار ($P < ۰/۰۵$) در ستون افقی می‌باشد.

جدول ٦- فعالیت ضد کپک عصاره و پودر رازیانه بر روی کپک *آسپرژیلوس نایجر* و *پنی سیلیوم دیجیتاتوم*

	قطر هاله عدم رشد (میلی متر)	
نمونه	*پنی سیلیوم دیجیتاتوم*	*آسپرژیلوس نایجر*
عصاره رازیانه	۱۸/۴۵±۲/۳۳[a]	۱۶ ± ۰/۹[a]
پودر رازیانه	۰ ± ۰/۰[b]	۰ ± ۰/۰[b]

(حروف غیر مشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار درسطح احتمال ۰/۰۱ می‌باشند).

بحث

در آزمون اندازه گیری محتوای ترکیبات فنولی، حلال متانول بالاترین کارآیی را در استخراج این ترکیبات نشان داد. این نتایج با نتایج حاصل از پژوهش کمالی روستا و همکاران (۲۰۱۰) که نشان دادند حلال متانول به دلیل قطبیت بالاتر نسبت به استون کارآیی بیشتری در استخراج ترکیبات پلی‌فنولی دارد، مطابقت دارد. همچنین در مطالعه‌ای دیگر Caleja و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که متانول و اتانول راندمان بالاتری در استخراج ترکیبات پلی‌فنولی نسبت به حلال‌هایی که قطبیت کمتری دارند نشان می‌دهند. قدرت حلال‌های مختلف در استخراج ترکیبات پلی‌فنولی عصاره رازیانه توسط Hamdi Roby و همکاران (۲۰۱۵) به ترتیب به صورت متانول > اتانول > دی اتیل اتر > هگزان عنوان شده بود. Oktay و همکاران (۲۰۰۳) محتوای ترکیبات فنولی بالاتری در عصاره رازیانه استخراج شده توسط حلال اتانول نسبت به آب گزارش نمودند. مقایسه ترکیبات فلاوونوئیدی نشان داد که هر چند میزان ترکیبات فلاوونوئیدی استخراج شده توسط متانول در مقایسه با سایر تیمارها بالاترین میزان را دارا می‌باشد ولی در سطح احتمال ۰/۰۵ با دو حلال استون و اتانول تفاوت معنی داری نشان نمی‌دهد. میزان ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی استخراج شده توسط آب نسبت به سایر حلال‌ها در سطح پائین‌تری قرار داشت. با توجه به نتایج بدست آمده در این آزمون عصاره متانولی رازیانه به دلیل دارا بودن محتوای بالاتر ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی به منظور انجام سایر آزمون ها انتخاب شد.

نتایج آزمون مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH فعالیت ضد اکسایشی را به ترتیب زیر نشان داد: ضد اکسایندە مصنوعی TBHQ > عصاره رازیانه > پودر رازیانه. همانطور که ملاحظه می‌شود عصاره نسبت به پودر فعالیت ضد اکسایشی بالاتر نشان داد که احتمالا به بالاتر بودن محتوای ترکیبات پلی فنولی و فلاوونوئیدی موجود در عصاره نسبت به پودر رازیانه باشد. مقدار EC_{50} عصاره رازیانه در مطالعه صورت گرفته توسط Caleja و همکاران (۲۰۱۵) ۰/۷۵ میلی گرم بر میلی لیتر بود که تقریبا با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. نتایج پژوهشی که توسط Salama و همکاران (۲۰۱۴) پیرامون اثرات ضداکسایش واریته‌های مختلف رازیانه انجام گرفت نشان داد که رازیانه دارای اثرات ضداکسایش بالایی می‌باشد، هر چند این اثر نسبت به BHT در سطح کمتری بود که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت. مقدار EC_{50} برای تیمارهای مختلف رازیانه بین ۶۴/۵۷μg/mL – ۴۲/۲۵ و برای BHT، ۱۰/۰۷ μg/mL برآورد گردید. همچنین این محققین نشان دادند بین میزان پلی فنول و فلاوونوئید موجود در رازیانه و فعالیت ضداکسایش این ترکیب رابطه مستقیمی وجود دارد. در مطالعه‌ای دیگر قدرت مهار رادیکال DPPH توسط گیاه رازیانه در مقایسه با BHA و BHT توسط Oktay و همکاران (۲۰۰۳) مورد بررسی قرار گرفت و کاهش معنی‌داری در غلظت رادیکال DPPH در نمونه‌های تهیه شده با رازیانه و ترکیبات ضداکسایش سنتزی گزارش شد، هرچند قدرت مهار رادیکال آزاد در رازیانه نسبت به ضداکسایندەهای سنتزی کمتر بود. به علاوه قدرت مهار رادیکال با افزایش غلظت ترکیبات ضداکساینده افزایش یافت. بر اساس گزارش این محققین عصاره آبی و اتانولی گیاه رازیانه می‌تواند به عنوان یک منبع قابل دسترس از ترکیبات ضد اکسایش طبیعی و نیز به عنوان مکمل غذایی یا داروئی مورد توجه قرار گیرد. ممشلو و همکاران (۱۳۸۹) اعلام کردند که قدرت مهار رادیکال در ترکیبات مختلف تا حدود زیادی به تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل و وزن مولکولی ترکیبات فنولیک بستگی دارد، زیرا در ترکیبات فنولیک با وزن مولکولی پائین‌تر گروه‌های هیدروکسیل راحت‌تر در دسترس قرار می‌گیرند. با توجه به نتایج، می‌توان گفت که یکی از دلایل عمده بروز خواص ضداکسایش در عصاره رازیانه وجود پلی‌فنول‌ها و فلاوونوئیدها در این ترکیب می‌باشد. به علاوه وجود اسیدهای چربی مانند اولئیک، لینولئیک و پالمیتیک اسید در بخش‌های مختلف گیاه رازیانه ممکن است در بروز خواص ضداکسایش در این ماده دخیل باشد (تهامی و

همکاران، ۱۳۹۱). ترکیبات فنولیک متابولیت‌های ثانویه موجود در گیاهان بوده که به طور معمول دارای یک حلقه آروماتیک و چندین گروه هیدروکسیل می‌باشند. ترکیبات فنولیک شامل فنول‌ها، اسیدهای فنولیک، فنیل پروپانوئید، فلاوونوئیدها، کینون‌ها، تانین‌ها و الکل‌ها می‌باشند که فعالیت ضداکسایشی بسیاری از این ترکیبات توسط مطالعات متعددی به اثبات رسیده است (Marin *et al.*, 2016; Burt, 2004). مقدار EC_{50} عصاره دانه رازیانه در مطالعه صورت گرفته توسط Hinneburg و همکاران (۲۰۰۶) در حدود ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی لیتر بدست آمد که بیشتر از مطالعه حاضر می‌باشد. لازم به ذکر است که محتوای ترکیبات فنولیک در آن مطالعه ۳۰/۳ میلی گرم اسید گالیک بر گرم نمونه گزارش شد که بسیار کمتر از مقدار آن در مطالعه حاضر می‌باشد.

نتایج اندازه‌گیری اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید در طول دوره ۱۵ روزه نشان داد که نرخ اکسیداسیون در حضور عصاره رازیانه و همچنین با افزایش غلظت آن کاهش معنی‌داری یافت ($P < ۰/۰۵$). به طور کلی نتایج نشان داد که عصاره و در مرتبه بعدی پودر رازیانه باعث کاهش معنی‌دار عدد پراکسید و عدد تیوباربیتوریک در مقایسه با نمونه شاهد شدند. همانطور که قبلا عنوان شد عصاره رازیانه در مقایسه با پودر دارای مقدار بیشتری ترکیبات فنولی بوده و لذا فعالیت ضد اکسایش بالاتری نشان می‌دهد که نتایج مربوط به اندازه‌گیری اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید نیز موید آن است. Singh و همکاران (۲۰۰۶) اثرات ضداکسایش عصاره و اسانس رازیانه را بر اکسیداسیون روغن بزرک با دو ضداکسایندهٔ مصنوعی BHA و BHT مقایسه نمودند. نتایج بررسی فعالیت ضداکسایش از طریق اندازه‌گیری عدد پراکسید و عدد تیوباربیتوریک اسید نشان داد که عصاره دارای بالاترین اثر ضداکسایش بود و اسانس، BHA، BHT و نمونه شاهد در رده‌های بعدی قرار داشتند. تهامی و همکاران (۱۳۹۱) اثر ضداکسایش عصاره گیاه رازیانه را بر پایداری روغن آفتابگردان مورد بررسی قرار دادند و اعلام کردند که در هفته اول و دوم پس از آزمایشات، نمونه حاوی ۳۰۰ پی پی ام عصاره رازیانه کارائی بالاتری نسبت به BHA و BHT از لحاظ کاهش عدد پراکسید داشت و در هفته‌های سوم و چهارم نمونه‌های حاوی ۲۵۰ و ۳۰۰ پی پی ام عصاره رازیانه قابلیت بیشتری برای کاهش عدد پراکسید در مقایسه با ترکیبات ضداکسایش سنتزی نشان دادند. هر چند نتایج مطالعه حاضر کارآیی بالاتری برای ضد اکسایندهٔ سنتزی TBHQ نسبت به عصاره و پودر رازیانه در غلظت‌های مختلف نشان داد که دلیل آن احتمالا مربوط به واریته رازیانه، روش استخراج عصاره، شرایط آزمایش و همچنین تفاوت نوع ترکیبات ضد اکسایندهٔ در پژوهش حاضر و مطالعه عنوان شده می‌باشد. در تحقیق دیگری که توسط Mahdi و همکاران (۲۰۱۵) انجام گرفت با افزایش دوره حرارت‌دهی اندیس پراکسید در نمونه‌های حاوی عصاره رازیانه، BHA و BHT افزایش یافت. نمونه مارگارین فاقد ترکیب ضداکسایندهٔ بیشترین عدد پراکسید را در طول دوره نگهداری نشان داد و این مقدار پس از ۲۸ روز به بیشترین حد خود رسید. اندیس پراکسید در نمونه مارگارین حاوی ۸۰ پی پی ام، ۹۰ پی پی ام و ۱۰۰ پی پی ام رازیانه و نمونه مارگارین حاوی ۷۵ پی پی ام BHA و ۷۵ پی پی ام BHT به ترتیب ۳۰۱، ۲۹۲، ۲۰۲، ۲۳۵ و ۲۵۴ میلی‌اکی والان بر کیلوگرم گزارش شد که به ترتیب برابر با درصد ممانعت کنندگی ۱۸/۶ ٪، ۲۱/۱ ٪، ۴۵/۴ ٪، ۳۶/۵ ٪ و ۳۱/۴ ٪ بود. در میان تمامی نمونه‌ها، تیمارهای حاوی ۱۰۰ پی پی ام رازیانه و ۷۵ پی پی ام BHA کمترین اندیس پراکسید را به خود اختصاص دادند.

نتایج آزمون بررسی فعالیت ضد کپکی عصاره و پودر رازیانه از روی اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد در آزمون انتشار دیسک ارزیابی شده و نتایج بدست آمده فعالیت ضد کپکی بالای عصاره رازیانه را بر روی دو کپک مورد آزمون *آسپرژیلوس نایجر* و *پنی سیلیوم دیجیتاتوم* نشان داد. به طور کلی قطر هاله عدم رشد میکروارگانیزم به غلظت ترکیبات مؤثره در ترکیبات مورد بررسی بستگی دارد. بسیاری از پژوهش‌ها نشان داده‌اند که فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ها مربوط به محتوای ترکیبات فنولی آن می‌باشد. ترکیبات پلی فنولی با اثر بر غشاء سلولی و همچنین سیستم آنزیمی باعث اختلال در عملکرد سلولی شده و در نهایت منجر به مرگ میکروارگانیسم می‌شوند (Hatano *et al.*, 2005). با توجه به محتوای بالاتر ترکیبات پلی فنولی در عصاره رازیانه نسبت به پودر لذا فعالیت ضد کپکی بالاتری برای عصاره رازیانه مشاهده شد. اثرات ضد کپکی عصاره رازیانه بر روی کپک های *Aspergillus niger* و

Penicillium funiculosum توسط Caleja و همکاران (۲۰۱۵) نشان داده شد. نتایج مشابهی نیز توسط Oktay و همکاران (۲۰۰۳) در مورد تأثیر بازدارندگی از رشد *آسپرژیلوس فلاووس* توسط عصاره رازیانه گزارش شد. در تحقیق صورت گرفته توسط سالک معراجی و همکاران (۱۳۹۳) پیرامون تأثیر اسانس گیاه رازیانه بر بازدارندگی از فعالیت قارچ *Fusarium oxysporum*، با افزایش غلظت رازیانه میانگین رشد قارچ کاهش یافت. بازدارندگی اسانس رازیانه در بیشترین غلظت (۱۰۰ پی پی ام) ۴۹/۲٪ و در کمترین غلظت (۲۵ پی پی ام) ۷/۵٪ برآورد شد و افزایش غلظت اسانس رازیانه منجر به کاهش در رشد میسلیوم قارچ گردید. میانگین رشد روزانه میسلیوم قارچ در بالاترین و پائین‌ترین غلظت رازیانه به ترتیب به ۶ و ۹/۴ میلی‌متر رسید. تجزیه ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه رازیانه نشان داد انتول ترانس با ۷۵/۸٪ بخش عمده ترکیبات تشکیل دهنده اسانس رازیانه را به خود اختصاص داده است. با توجه به این نتایج می‌توان خاصیت ضدقارچی اسانس رازیانه را به وجود این ترکیب نسبت داد (سالک معراجی و همکاران، ۱۳۹۳).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره گیاه رازیانه واجد قدرت ضداکسایش و ضدقارچی مناسبی می‌باشد. تولید چنین ترکیبات زیست فعال ارزشمندی از منابع بومی و استفاده از آنها به عنوان نگهدارنده‌های طبیعی مواد غذایی از لحاظ اقتصادی بسیار ارزشمند خواهد بود. هر چند تحقیقاتی با جزئیات بیشتر پیرامون اینکه کدامیک از ترکیبات موجود در عصاره رازیانه منجر به ایجاد بیشترین قدرت ضداکسایشی و ضدمیکروبی می‌گردند ضروری به نظر می‌رسد. علاوه بر این در کنار کاربردهای سنتی گیاه رازیانه، از خواص ضداکسایشی و ضدمیکروبی این ترکیب می‌توان به منظور توسعه و گسترش مواد غذایی عملگرا و سلامت‌بخش بهره جست.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از زحمات خانم مهندس مینا محمدپور به دلیل انجام برخی آزمون‌های این پژوهش تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

تهامی، ف. س.، بصیری، ع.، غیاثی طرزی، ب.، و مهستی، پ. (۱۳۹۱). مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره دانه رازیانه بر پایداری روغن آفتابگردان. مجله علوم غذایی و تغذیه، جلد ۱۰، شماره ۱، ۷۱-۷۸.

سلیمانیان، ش.، صادقی ماهونک، ع.، اعلمی، م. و قربانی، م. (۱۳۹۲). فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه و کیک در پایدارسازی روغن سویا، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، جلد ۲۳، شماره ۲، ۱۹۹-۲۰۹.

کمالی‌روستا، ل.، قوامی، م.، قراچورلو، م. و عزیزی نژاد، (۱۳۹۰). استخراج عصاره دارچین و بررسی تاثیر آن بر پایداری روغن آفتابگردان. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، جلد ۶، شماره ۱، ۱۳-۲۲.

مالک معراجی، ه.، سالک نقدی، ر. و تفرشی، س. خ. (۱۳۹۴). اثر بازدارندگی اسانس گیاه دارویی رزماری و رازیانه بر قارچ Fusarium Oxysporum. دو فصلنامه تحقیقات بیماری‌های گیاهی، جلد ۳، شماره ۲، ۵۷-۶۸.

محققی ثمرین، آ.، پورآذرنگ، ه.، الهامی‌راد، ا. ح.، دزاشیبی، ز. و همتیار، ن. (۱۳۸۷). استخراج ترکیبات فنولیک پوست سیب‌زمینی راموس با دو روش اولتراسوند و پرکولاسیون و ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره آن در روغن سویا. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، جلد ۸، شماره ۱، ۸۱-۹۱.

نوشیروانی، ن.، فصیحی، ه. و مرادی پیام، ع. (۱۳۹۴). اثرات آنتی‌اکسیدانی و عصاره و پودر پوست سبز گردو بر اکسیداسیون روغن آفتابگردان. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران جلد، ۱۰، شماره ۳، ۷۹-۹۰.

نوشیروانی، ن.، فصیحی، ه.، نورمحمدی، ا. و مرادی پیام، ع. (۱۳۹۶). بررسی فعالیت ضد اکسایشی و ضد قارچ عصاره و پالپ ضایعات خرما. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، جلد ۳، شماره ۱۲، ۷۷-۸۸.

Adam Mariod, A., Ibrahim, R. M., Ismail, M. & Ismail, N. (2010). Antioxidant activity of the phenolic leaf extracts from Monechma ciliatum in stabilization of corn oil. Journal of the American Oil Chemists' Society (JAOCS), 87, 35-43.

AOAC. (1990). Official Methods of Analysis.1990; Association of Official Analytical Chemists, 15th ed. Washington, DC., USA.

Barreira, J. C. M., Ferreira, I. C. F. R., Oliveiram, M. B. P. P. & Pereira, J. A. (2008). Antioxidant activities of the extracts from chestnut flower, leaf, skins and fruit. Food Chemistry, 107, 1106- 1113.

Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. International Journal of Food Microbiology, 94, 223– 253.

Caleja, C., Barros, L., Antonio, A. L., Ciric, A., Sokovic, M., Oliveira, B. P. P. & Santos-Bulega, C. (2015). *Foeniculum vulgare* Mill. as natural conservation enhancer and health promoter by incorporation in cottage cheese. Journal of Functional Foods, 12, 428- 438.

Diao, W. R., Hu, Q. P., Zhang, H. & Xu, J. G. (2014). Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action of essential oil from seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). Food Control, 35, 109-116.

Farag, R. S., El-Baroty, G. S. & Basuny, M. (2003). The influence of phenolic extracts obtained from the olive plant (cvs. Picual and Kronakii), on the stability of sunflower oil. International Journal of Food Science and Technology, 38, 81–87.

Fasihi, H., Fazilati, M., Hashemi, M. & Noshiravani, N. (2017). Novel Carboxymethyl Cellulose- Polyvinyl alcohol blend films stabilized by Pickering emulsion in corporation method. Carbohydrate Polymers, 167, 79-89.

Hamdy Roby, M. H., Atef Sarhan, M., Selim, K. A. H. & Khalel, K. I. (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.

Hatano, T., Kusuda, M., Inada, K., Ogawa, T. O., Shiota, S., Tsuchiya, T. & Yoshida, T. (2005). Effects of tannins and related polyphenols on methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Phytochemistry, 66, 2047–2055.

Hinneburg, I., Damien Dorman, H. J. & Hiltunen, R. (2006). Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. Food Chemistry, 97, 122–129.

Lee, K. G. & Takayuki, S. (2002). Determination of antioxidant potential of volatile extracts isolated from various herbs and spices. Journal of Agricultural Food and Chemistry, 50, 4947-4952.

Lillian, B., Heleno, S. A., Carvalho, A. M. & Ferreira, I. C. F. R. (2009). Systematic evaluation of the antioxidant potential of different parts of *Foeniculumvulgare Mill*. from Portugal. Food and Chemical Toxicology, 47, 2458-2464.

Mahdi, Y. & Bassiri, A. R. (2015). Evaluation of the antioxidant potential of fennel seed extract as compared to the synthetic antioxidants in margarine under accelerated storage condition. Journal of Food Biosciences and Technology, 5 (1), 63-68.

Mamashloo, S., Sadeghi Mahoonak, A. R., Ghaderi Ghahfarrokhi, M., Aalami, M., Khomeiri, M. & Ghorbani, M. (2012). Evaluation of phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of acetonic extract of two Medlar (*Mespilus germanica* L.) types. Electronic Journal of Food Processing and Preservation, 2(4), 57-69 [in Persian].

Marin, I., Sayas-Barbera, E., Viuda-Martos, M., Navarro, C. & Sendra. E. (2016). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from organic fennel, parsley, and lavender from Spain. Foods, 5(18), 2-10.

Noshirvani, N. & Fasihi, F. (2018). Control of *Aspergilus niger* in vitro and in vivo by three Iranian essential oils. International Food Research Journal, 25(4), 1745-1752.

Oktay, M., Gulcin, I. & Kufrevioglu, I. (2003). Determination of in vitro antioxidant activity of fennel. (Foeniculum vulgare) seed extracts. LWT- Food Science and Technology, 36, 263–271.

Rather, M. A., Dar, B. A., Sofi, S. N., Bhat, B. A. & Ourishi, M. A. (2016). *Foeniculum vulgare*: A comprehensive review of its traditional use, phytochemistry, pharmacology, and safety. Arabian Journal of Chemistry, 9, S1574-S1583.

Ruberto, G., Barattam M. T., Deans, S. G. & Damien Dorman, H. J. (2000). Antioxidant and Antimicrobial Activity of *Foeniculum vulgare* and *Crithmum maritimum* Essential Oils. Planta Medica, 66, 8, 687-693.

Salama, Z. A., El Baz, F. K., Gaafar, A. A. & Zaki, M. F. (2014). Antioxidant activities of phenolics, flavonoids and vitamin C in two cultivars of fennel (*Foeniculum vulgare Mill*.) in responses to organic and bio-organic fertilizers. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 14(1), 91–99.

Singh, G., Maurya, S., de Lampasona, M. P. & Catalan, C. (2006). Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil

and its acetone extract. Food Control, 17(9), 745–752.

Singleton, V. L., Orthofer, R. & Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. Methods in Enzymology, 299, 152–178.

Taheri, A., Jalali nejad, S. & Anvar, S. A. A. (2012). ACE-inhibitory activity and anti-oxidative properties of five protein hydrolysates prepared from by-products of white shrimp (*Penaeus indicus)*. Journal of Comparative Pathology, 1, 599-608.

Telci, I., Demirtas, I. & Sahin, A. (2009). Variation in plant properties and essential oil composition of sweet fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) fruits during stages of maturity. Industrial Crops and Products, 30, 126–130.

Tohama, S. & Turan, S. (2015). Rosemary plant (*Rosmarinus officinalis L.*), solvent extract and essential oil can be used to extend the usage life of hazelnut oil during deep frying. European Journal of Lipid Science and Technology, 117, 1978-1990.

Yang, Y., Song, X., Sui, X., Qi, B. & Wang, Z. (2016). Rosemary extract can be used as a synthetic antioxidant to improve vegetable oil oxidative stability. Industrial Crops and Products, 80, 141–147.

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