Journal of Food Hygiene, Vol. 9, No. 34, Summer 2019

"Research article" **DOI: 10.30495/JFH.2019.665680**

Antioxidant properties and antimicrobial activity of *Prosopis farcta* root extract on foodborne bacteria

Aziznia, H.[1*] Keramat, J.[2] Soleimanian Zad, S.[3]

1. M. Sc Graduate of Food Science and Technology, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
3. Professor, Department of Food Science and Technology, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
[*]Corresponding Author: h.aziznia@gmail.com
(Received: 2018/11/6 Accepted: 2019/4/24)

Abstract

Plants are valuable sources of different antioxidant and antimicrobial compounds. The composition and structure of the functional groups of essential oils and extracts play an important role in their antioxidant and antimicrobial activity. *Prosopis farcta* is a spice of *Leguminosae* family and *Mimosoideae* subfamily, an aborigine to the dry and semi-dried regions of Asia, Africa and America. In this study, the root extract of *Prosopis farcta* prepared by the soxhlet extractor and ethanol 70% solvent. The extraction yield was estimated at 1.85%. Total phenol and flavonoids compounds were calculated 178.14 ± 0.17 mg Gallic acid/g and 94.33 ± 0.77 mg Quercetin/g, respectively. Phenolic compounds comprised 11.98% of the total chemical composition of the extract. IC50 for root extract and BHT (synthetic antioxidant) was determined 2.45 µg/ml and 1.98 µg/ml, respectively. In the β-carotene-linoleic acid system, the average antioxidant activity reported 39.25% for root extract and 57.13% for the BHT. Among 250, 500 and 1000 ppm concentrations of the extract, 1000 ppm showed the best antioxidant effect in soybean oil for 12 days storage at 50°C. *Staphylococcus aureus* (with MIC 200 µg/ml and MBC 350 µg/ml) showed the most sensitivity in comparison with the two gram-negative bacteria, *Salmonella* Typhimurium and *Escherichia coli*. The results of this study showed that the hydro-ethanolic root extract of *Prosopis farcta* had suitable antimicrobial and antioxidant activity.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Antioxidant, Antimicrobial, Extract, *Prosopis farcta*

«مقاله پژوهشی»
DOI:10.30495/JFH.2019.665680

خواص آنتی‌اکسیدانی و اثر ضدمیکروبی عصاره ریشه گیاه کهورک بر باکتری‌های بیماری‌زای غذایی

حامد عزیزنیا[1*]، جواد کرامت[2]، صبیحه سلیمانیان‌زاد[3]

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد فناوری مواد غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران
۲. دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران
۳. استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران
*نویسنده مسئول مکاتبات: h.aziznia@gmail.com
(دریافت مقاله: ۹۷/۸/۱۵ پذیرش نهایی: ۹۸/۲/٤)

چکیده

گیاهان منابع ارزشمندی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی مختلف هستند. ترکیب و ساختار گروه‌های عاملی اسانس‌ها و عصاره‌ها نقش مهمی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی آن‌ها ایفا می‌کنند. گیاه جغجغه یا کهورک (*Prosopis farcta*) از خانواده *Leguminosea* و زیرخانواده *Mimosoideae* است و بومی نواحی خشک و نیمه‌خشک آسیا، آفریقا و آمریکاست. در این پژوهش با استفاده از روش سوکسوله و حلال اتانول ۷۰ درصد، عصاره ریشه گیاه کهورک تهیه و درصد بازده عصاره ۱/۸۵ درصد به‌دست آمد. فنل کل و ترکیبات فلاونوئیدی به‌ترتیب برابر با ۰/۱۷ ± ۱۷۸/۱٤ میلی‌گرم هم‌ارز اسید گالیک در گرم و ۰/۷۷ ± ۹٤/۳۳ میلی‌گرم هم‌ارز کوئرستین در گرم محاسبه شد. ترکیبات فنلی ۱۱/۹۸ درصد از کل ترکیبات شیمیایی عصاره را تشکیل داده بودند. مقدار IC۵۰ برای عصاره اتانولی ریشه گیاه کهورک برابر ۲/٤۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT (نمونه کنترل) ۱/۹۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. در سیستم بتاکاروتن-لینولئیک اسید، میانگین درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۳۹/۲۵ را برای عصاره ریشه کهورک و ۵۷/۱۳ درصد برای BHT تعیین شد. در بین غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ppm، غلظت ۱۰۰۰ ppm عصاره بهترین اثر آنتی‌اکسیدانی را در روغن سویا طی ۱۲ روز نگه‌داری در دمای ۵۰ درجه سلسیوس داشت. *استافیلوکوکوس اورئوس* با MIC برابر ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و MBC برابر ۳۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، نسبت به دو باکتری گرم منفی *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *اشریشیا کولای* در برابر عصاره حساسیت بیشتری نشان داد. نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره اتانولی-آبی ریشه کهورک از فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی مناسبی برخوردار است.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، ضدمیکروبی، عصاره، کهورک

مقدمه

گیاهان منابع غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مختلف از جمله ترکیبات فنولی هستند که قادر به محافظت بدن در مقابل آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو است. گیاه جغجغه یا کهورک (*Prosopis Farcta*) از خانواده *Leguminosea* و زیرخانواده *Mimosoideae* بوده که بومی نواحی خشک و نیمه خشک آسیا، آفریقا و آمریکاست. گیاهی چندساله و بوته‌ای به ارتفاع تقریبی ۳۰ تا ۱۰۰ سانتی‌متر و با ساقه‌ای کرکدار و خاردار است (Ranjbar Heidari *et al*, 2012; Mozafarina, 2008). در استان ایلام این گیاه را با نام «بلاورو» شناخته و از سالیان گذشته تا به‌حال از آن در درمان‌های خانگی استفاده شده است. خواص آنتی‌اکسیدانی و جلوگیری از افزایش قند و چربی خون برخی از گونه‌های *Prosopis* به اثبات رسیده است. هم‌چنین گونه‌هایی از آن در برخی از کشورها به‌صورت سنتی برای کاهش سقط جنین، درمان بواسیر، جذام، تنگی نفس، اسهال و بیماری‌های روده‌ای مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Malik *et al*, 2013; Sharma and Paul, 2010).

آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی که بیش‌ترین استفاده را در صنعت غذا دارند، شامل TBHQ، BHT، BHA و پروپیل گالات هستند که نقش سرطان‌زایی و اثرات منفی این ترکیبات بر سلامت انسان مشخص گردیده است (Namiki, 1990). اثرات سمی این آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی از یک طرف و استفاده مصرف‌کنندگان از مواد افزودنی طبیعی از جانب دیگر تمایل به استفاده از آنتی‌اکسیدان های طبیعی را بیشتر کرده است (Stoilova *et al*, 2007). رادیکال‌های آزاد مولکول‌های فعال شده ای هستند که عمدتاً از اکسیژن به‌دست می‌آیند. اکسیژن در حالی‌که برای حیات ضروری است، می‌تواند باعث اکسید کردن مواد درون سلول شود و نقش تخریب‌کننده داشته باشد. اکسیژن می‌تواند به اشکال بسیار فعال مثل رادیکال‌های سوپراکسید (O^{-2})، رادیکال‌های هیدروکسیل (OH) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) تبدیل شود و به DNA آسیب برساند. هم‌چنین می‌تواند برخی از آنزیم‌های ضروری و پروتئین‌های ساختاری را تخریب و واکنش‌های از کنترل خارج شده‌ای چون اتواکسیداسیون و پراکسیداسیون را برانگیزد (Rice-Evans and Burdon, 1994). بدین ترتیب با توجه به عوارض سوء رادیکال‌های آزاد، حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی ضروری به‌نظر می‌رسد. آنتی‌اکسیدان‌ها موادی هستند که با کاهش سرعت اکسیداسیون، مشخصاً دوره اکسیداسیون کند را افزایش می‌دهند و می توانند از اکسایش ماکرومولکول‌هایی نظیر لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک جلوگیری نمایند. به‌علاوه آنتی‌اکسیدان‌ها به‌منظور جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها در برخی از محصولات و افزایش عمر ماندگاری آن‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند (Lahmass *et al*, 2018).

آلودگی میکروبی یکی از مشکلات بزرگ در نگه‌داری مواد غذایی می‌باشد. ترکیبات ضد میکروبی موجود در مواد غذایی توان افزایش عمرنگه‌داری مواد غذایی فرآوری‌شده یا فرآوری‌نشده را دارند. استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی به جای مواد نگه‌دارنده شیمیایی نگرانی‌های ناشی از مصرف این گونه مواد را کاهش می‌دهد. ترکیب و ساختار گروه‌های عاملی اسانس‌ها و عصاره‌ها نقش مهمی در فعالیت ضدمیکروبی آن‌ها ایفا می‌کنند (Holley and Patel,

2005). به‌طور معمول ترکیبات دارای گروه‌های فنلی از این نظر موثرترند (Marino *et al*, 2001). در این پژوهش سعی بر آن شده است که ترکیبات شیمیایی، اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره حاصل از ریشه گیاه کهورک به ترتیب در روغن سویا و علیه باکتری‌های بیماری‌زا با منشاء غذایی بررسی شود.

مواد و روش‌ها

- آماده سازی، استخراج عصاره و محاسبه راندمان استخراج

نمونه‌های ریشه گیاه در فصل بهار از مناطق مختلف استان ایلام جمع‌آوری شده و مورد شناسایی قرار گرفتند. از آن‌جایی که نمونه جمع‌آوری شده ظاهری سفت و چوب مانند داشته و خرد کردن اولیه آن با آسیاب ممکن نبود، بنابراین تکه‌های نمونه پس از شستشو و حذف خاک، خشک شده و ابتدا در هاون دستی خُرد و سپس با استفاده از آسیاب به‌صورت پودر درآمدند. در نهایت توسط دستگاه سوکسله دستی به‌مدت ٤ ساعت اقدام به استخراج عصاره با حلال اتانول ۷۰ درصد در دمای ۵۰ درجه سلسیوس شد. به‌منظور حذف حلال، عصاره‌های حاصل در دستگاه آون مجهز به خلاء با دمای ۳۵ درجه سلسیوس به‌مدت ۷۲ ساعت خشک شدند (Singh, 2002; Schmeda-Hirschmann *et al*, 2015). راندمان استخراج حاصل تقسیم وزن اسانس و یا عصاره استخراجی از گیاه بر وزن گیاه است و بر حسب درصد گزارش شد (Dobravalskytė *et al*, 2012).

- شناسایی ترکیبات سازنده عصاره با استفاده از GC/MS

ابتدا عصاره که به‌صورت پودر بود در متانول حل و سپس اجزای نمونه توسط دستگاه GC/MS جداسازی و شناسایی شدند. دستگاه کروماتوگرافی گازی استفاده شده از نوع Agilent Technologies 7890 A با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ستون به‌طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۲۵ میکرومتر از نوع موئین بود. برنامه دمایی ستون به این نحو تنظیم گردید: دمای ابتدایی آون ٦۰ درجه سلسیوس، دمای انتهایی ۲۲۰ درجه سلسیوس و گرادیان حرارتی آون ٦ درجه سلسیوس در دقیقه و توقف در این دما به‌مدت ۳ دقیقه بود. دمای دریچه تزریق ۲۵۰ درجه سلسیوس و از گاز هلیوم به‌عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۱ میلی لیتر بر دقیقه استفاده شد.

- اندازه‌گیری ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی تام

مقدار ترکیبات فنولی با روش فولین سیوکالتیو اندازه‌گیری شد. نتایج بر اساس میلی‌گرم هم ارز گالیک اسید در گرم وزن خشک بیان شد (Singh, 2002). در نهایت نتایج به‌صورت میلی‌گرم هم ارز کوئرستین بر گرم وزن خشک گزارش شد (Siddique *et al*, 2010).

- سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش مدل DPPH و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن

در این مطالعه اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره ریشه گیاه کهورک، با استفاده از روش کاهش ظرفیت رادیکالی (RSC) به کمک رادیکال ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) و هم‌چنین بی‌رنگ شدن بتاکاروتن مورد ارزیابی قرار گرفت. DPPH ترکیبی بنفش رنگ است که به‌دلیل حضور گروه‌های فنیل در ساختارش به‌راحتی به‌صورت رادیکال آزاد در آمده و منبع رادیکال

آزاد می‌گردد. این ترکیب با گرفتن یک الکترون از ترکیب آنتی‌اکسیدانی، از رنگ بنفش به رنگ زرد تغییر رنگ می‌دهد. رادیکال‌های آزاد موجود در DPPH، در ۵۱۷ نانومتر حداکثر جذب نوری را دارد. جذب از قانون بیر-لامبرت پیروی می‌کند و کاهش جذب با میزان ماده آنتی‌اکسیدان رابطه خطی دارد. هرچه بر مقدار ماده آنتی اکسیدان افزوده شود، رادیکال بیشتری مصرف شده و رنگ بنفش به سمت زرد رنگ تمایل پیدا می‌کند (Kulisic *et al*, 2004).

- عدد پراکسید (PV) و عدد تیوباربیتوریک اسید (TBA)

به‌منظور تعیین عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید روغن سویا به‌مدت ۱۲ روز در دمای ۵۰ درجه سلسیوس نگه‌داری شد. برای این منظور غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ppm ۱۰۰۰ عصاره، ۱۰۰ و ppm ۲۰۰ آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT به‌کار گرفته شد. تیمار شاهد روغن سویا فاقد افزودنی بود. ظروف مورد استفاده در این آزمایش، شفاف و با دهانه باز بودند که تا حجم ۸۰ میلی لیتر روغن پر شدند (Elbadrawy and Sello, 2016).

- تعیین MIC و MBC عصاره

در این مطالعه از سوش‌های باکتریایی *سالمونلا تیفی‌موریوم* (ATCC 14028)، *اشرشیا کولای سویه* O157:H7 و *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 25923) استفاده شد. آزمون تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) به‌صورت رقت‌سازی لوله‌ای صورت گرفت. به‌عنوان کنترل مثبت لوله‌ای با محتویات (محیط کشت حاوی عصاره و فاقد باکتری) و به‌عنوان شاهد منفی لوله‌ای با محتویات (محیط کشت فاقد باکتری) نیز تهیه شدند. به‌علت رنگی بودن عصاره خواندن MIC ممکن نبود و برای رفع این مشکل از تمام لوله‌های تلقیح شده به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر-هینتون آگار به روش کشت اختلاطی پخش گردید. پلیت‌ها به انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس انتقال یافت و بعد از ۲٤ ساعت نتایج خوانده شد (CLSI, 2006).

- تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمایش‌ها حداقل در سه تکرار صورت گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه و نرم‌افزار SPSS انجام شد. با استفاده از آزمون دانکن مقایسه میانگین‌ها در سطع معنی‌داری ۰/۰۵ صورت گرفت. نمودارها توسط نرم‌افزار اکسل رسم شد.

یافته‌ها

راندمان استخراج عصاره ریشه گیاه کهورک، ۱/۸۵ بود. نتایج مربوط به مواد تشکیل دهنده عصاره ریشه گیاه کهورک در جدول (۱) آمده است.

جدول (۱)- نوع و درصد ترکیبات تشکیل‌دهنده عصاره ریشه گیاه کهورک (*Prosopis farcta*)

ترکیب	زمان بازداری (RT)	درصد
1,3-Dihydroxy-2-propanone	٤/٨٨٨	٣/٣
1,4-dimethoxy-2,6-dimethylbenzene	٨/٤١٤	١٠/٢٢
Cyclohexasiloxane	٩/٠١٧	٥/٢٧
Resorcinol	٩/٣١١	٤/٧٦
Phenol, 4-(2-aminopropyl)	٩/٦٥٠	١١/٩٨
Cycloheptasiloxane	١٠/٥٠٢	٩/٨٠
Cyclopentanol	١٠/٧٩٦	١٩/٧٠
N-Aminomorpholine	١١/٣٤٦	٢/٩٢
TETRACOSAMETHYLCYCLODODECASILOXANE	١١/٨١٣	٣/٦٤
s-Trihydroxybenzene	١٢/٠٦٩	١١/٠٠
Acetic acid dimethylamide	١٢/٦٤٩	٥/٥١
مجموع		٩٠/٠٨

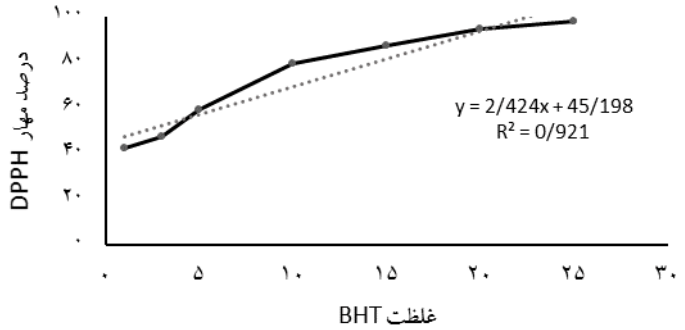
میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره ریشه گیاه کهورک در ۳ تکرار به‌ترتیب ۰/۱۷ ± ۱۷۸/۱٤ میلی‌گرم هم‌ارز اسید گالیک بر گرم و ۰/۷۷ ± ۹٤/۳۳ بر حسب میلی‌گرم هم‌ارز کوئرستین بر گرم به‌دست آمد. مطابق جدول (۲) درصد مهار رادیکال آزاد DPPH و نتایج حاصل از بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره ریشه گیاه کهورک و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT به‌روش بی‌رنگ شدن بتاکاروتن در غلظت‌های مختلف (۱، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ میکرو گرم بر میلی لیتر) تعیین و محاسبه شد. در این مدل میانگین درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره ریشه کهورک و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT به‌ترتیب برابر با ۳۹/۲۵ و ۵۷/۱۳ بود.

جدول (۲)- درصد مهار رادیکال آزاد DPPH و میانگین درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مدل بتاکاروتن – لینولئیک

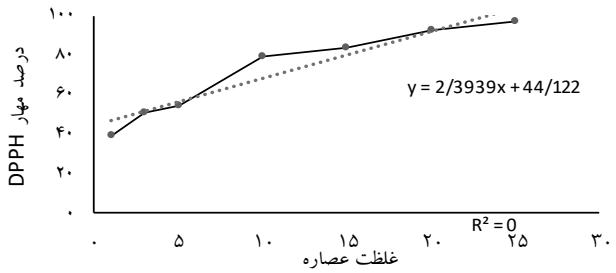
غلظت (µg/ml)	مدل DPPH		مدل بتاکاروتن – لینولئیک اسید	
	میانگین درصد مهار عصاره	میانگین درصد مهار BHT	میانگین درصد فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره	میانگین درصد فعالیت آنتی اکسیدانی BHT
۱	٣٩/٦٣^{g} ±٠/٧٦	٤٢/١٧^{g} ±٠/١١	١٧/٧٤^{g} ±١/٨٤	٢٦/٥٧^{g} ±٤/٥٢
۳	٥٣/٠٦^{f} ±٠/٢٢	٤٧/٢٣^{f} ±٠/٧٦	١٩/٢١^{f} ±١/٠٥	٣٢/٠٨^{f} ±٢/٣٩
۵	٥٤/٢٥^{e} ±١/٠٨	٥٩/١٨^{e} ±٠/٦٨	٢٤/٣٩^{e} ±٣/٦٣	٤٠/٨٥^{e} ±٢/٧٧
۱۰	٧٩/١٨^{d} ±٠/٤٧	٧٩/٢٦^{d} ±٠/٩٤	٣٢/٦٩^{d} ±٠/٨٦	٦٥/٣٧^{d} ±١/٩٤
۱۵	٨٦/٦٣^{c} ±٠/٥٣	٨٧/١٩^{c} ±٠/١٣	٤٦/٨٢^{c} ±١/٦٢	٧٣/٢٢^{c} ±١/٨٣
۲۰	٩٢/٩٣^{b} ±٠/٧٨	٩٤/٧٢^{b} ±٠/٨٢	٦١/٣٨^{b} ± ٤/٤٩	٧٧/٦٣^{b} ±١/٥٢
۲۵	٩٧/٢٩^{a} ±٠/٣٦	٩٨/١٣^{a} ±٠/٧١	٧٢/٤٧^{a} ±٢/٩٦	٨١/١٦^{a} ±٠/٦٨

*حروف متفاوت در هر ستون، نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلاف بین داده‌های استحصالی است.

همان‌طور که در نمودار (۱) و (۲) مشاهده می‌شود، IC۵۰ (Inhibitory Concentration) برای عصاره ریشه گیاه کهورک برابر با ۲/٤٥ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT (نمونه کنترل) برابر با ۱/۹۸ بود.



نمودار (۱)- میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی BHT در آزمایش تخریب رادیکال های آزاد DPPH



نمودار (۲)- میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره کهورک در آزمایش تخریب رادیکال های آزاد DPPH

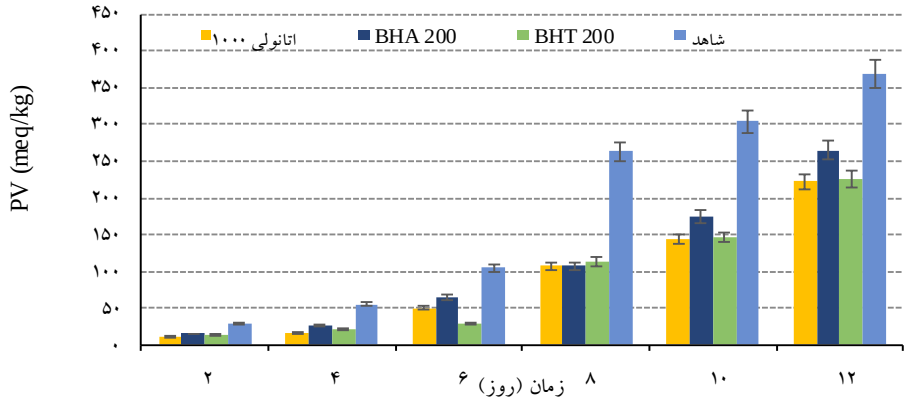
میزان پیشرفت اکسیداسیون روغن در روزهای ۲، ٤، ٦، ۸، ۱۰ و ۱۲ با اندازه‌گیری عدد پراکسید و تیوبابیتوریک تعیین شد. تغییرات عدد پراکسید نمونه‌های روغن سویا حاوی عصاره در جدول (۳) نشان داده شده است. لازم به‌ذکر است که میزان عدد پراکسید در روز صفر (زمان شروع گرم‌خانه گذاری) ۱/۱۰ میلی‌اکی‌والان پراکسید در هر کیلوگرم روغن بود. در این بررسی عدد پراکسید تمامی نمونه‌ها با افزایش مدت زمان نگه‌داری به‌تدریج افزایش یافت.

جدول(۳)- میانگین درصد بازدارندگی تیمارهای مختلف بر جلوگیری از افزایش عدد پراکسید روغن سویا طی نگه‌داری

عصاره (ppm)	روز (درصد بازدارندگی)					
	۲	٤	٦	۸	۱۰	۱۲
اتانولی- ۲۵۰	٤٤/۱۲^{e}	۵۳/٦۷^{d}	۳۷/۸٤^{f}	۳۹/٤۳^{f}	۲۲/٦۹^{e}	۱۷/۳۸^{f}
اتانولی- ۵۰۰	٤٤/۱۲^{e}	۵۳/٦۷^{d}	۳۷/۸٤^{f}	۳۹/٤۳^{f}	۲۲/٦۹^{e}	۱۷/۳۸^{f}
اتانولی- ۱۰۰۰	۵۷/۹۲^{b}	٦۲/۲٤^{b}	٤۱/۰۹^{d}	۵٤/۸۳^{d}	۳۸/۹٤^{d}	۳۱/۷۷^{d}
۱۰۰ -BHA	٦۵/۸۱^{a}	۷۰/۳٦^{a}	۵۲/۵۰^{a}	۵۹/٤۲^{a}	۵۲/۷٤^{a}	۳۹/۵۸^{a}
۲۰۰ - BHA	۲۹/٦۰^{g}	۳۲/۸۳^{f}	۲٦/۱۷^{g}	٤۳/٦٤^{e}	۱۹/٤۷^{f}	۹/۵۸^{g}
۱۰۰ -BHT	۵۰/۳۷^{d}	۵۱/۸٤^{e}	۳۸/۷۵^{e}	۵۹/۳٦^{a}	٤۲/۵٦^{c}	۲۸/۱۹^{e}
۲۰۰ -BHT	٤۰/۹٤^{f}	٦۱/۰٦^{c}	٤۸/۵۵^{c}	۵٦/۳۸^{c}	٤۲/٦۸^{c}	۳٦/۳۷^{c}

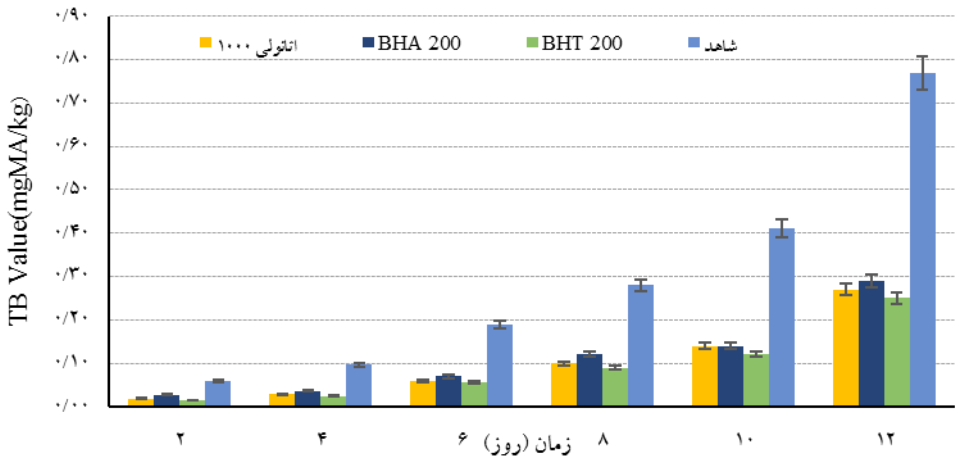
*حروف متفاوت در هر ستون، نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلاف بین داده‌های استحصالی است.

همان‌طور که در جدول فوق مشاهده می‌شود، روغن سویا حاوی ۱۰۰۰ppm با تفاوت معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها، از بیش‌ترین درصد باردارندگی (کم‌ترین عدد پراکسید) طی ۱۲ روز نگه‌داری در دمای ۵۰ درجه سلسیوس برخوردار بود. پس از تیمار حاوی ۱۰۰۰ppm عصاره، تیمارهای حاوی ۲۰۰ppm آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT و BHA قرار داشتند. به‌همین منظور در ادامه به مقایسه میزان عدد پراکسید و تیوباربیتوریک این تیمارها با تیمار شاهد (فاقد افزودنی) پرداخته شد.



نمودار (۳)- تغییرات عدد پراکسید نمونه‌های روغن سویا حاوی عصاره ریشه کهورک و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی طی نگه‌داری

در نمودار (۳) و (٤) اثر افزودن مستقیم عصاره ریشه کهورک با غلظت ۱۰۰۰ppm به روغن سویا در جلوگیری از تشکیل محصولات اولیه و ثانویه اکسیداسیون در روغن سویا نشان داده شده است. در جدول (٤) نتایج آزمون MIC و MBC نشان داده شده است.



نمودار (٤)- تغییرات عدد تیوباربیتوریک اسید نمونه‌های روغن سویا حاوی عصاره ریشه کهورک و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی طی نگه‌داری

جدول (٤)- نتایج آزمون MIC و MBC عصاره ریشه گیاه کهورک بر حسب میکروگرم عصاره بر میلی‌لیتر محیط کشت

باکتری	(MIC µg/ml)	(MBC µg/ml)
سالمونلا تیفی موریوم	٤٥٠	٥٠٠
اشریشیا کولای	٤٠٠	٤١٥
استافیلوکوکوس اورئوس	٢٠٠	٣٥٠

بحث و نتیجه‌گیری

شناسایی و بررسی ترکیبات سازنده گیاهان دارویی یکی از مهم‌ترین مراحل مطالعه آن‌ها می‌باشد. بیش‌ترین میزان ترکیبات سازنده عصاره ریشه کهورک، ترکیبات فنولی و دارای گروه‌های عاملی فعال (الکی، اتری و ...) بودند. در بررسی ترکیب شیمیایی عصاره *پروسوپیس کونتزی* توسط یک مطالعه، ترکیبات فنولیک مثل ٤- وینیل فنول و هم‌چنین ترکیبات هیدروکربنی و فعال مختلف، مواد عمده تشکیل‌دهنده عصاره را تشکیل داده بودند (Scholz *et al*, 2010). در پژوهشی دیگر ترکیبات فلاونوئیدی بسیاری از عصاره گیاه *پروسوپیس ژولیفلورا* استخراج شد و نتایج تحلیل عصاره با دستگاه HPLC نشان‌دهنده وجود ترکیبات زیست‌فعال فراوان در آن بود. نتیجه پژوهش نشان داد وجود ترکیبات زیست‌فعال فراوان در عصاره گیاه *پروسوپیس ژولیفلورا* ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی بالایی را برای آن فراهم آورده است (Sirmah *et al*, 2009). بررسی عصاره حاصل از دانه‌های گیاه *پروسوپیس فلکسوزا* درصد بالای کربوهیدرات و مواد فنولیک را نشان داد (Ibañez and Ferrero, 2003). نقطه مشترک در بین این پژوهش‌ها وجود درصد بالای ترکیبات فنولیک در بین گونه‌های مختلف گیاهان خانواده کهورک می‌باشد. همان‌طور که در قسمت‌های مختلف این مطالعه گفته شد، ترکیبات فنولیک نقش عمده‌ای در فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی اسانس و عصاره‌های گیاهان دارند.

مطالعات نشان داده است که بخش اعظم ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان فقط به وجود ویتامین‌های C، E و بتا کاروتن نسبت داده نمی‌شود. بلکه به وجود اجزای دیگر از قبیل پلی‌فنول‌ها وابسته است که دارای قدرت آنتی‌اکسیدانی قوی هستند (Taji *et al*, 2010). از ترکیبات فنولیک می‌توان به‌عنوان عوامل کاهنده رادیکال‌های آزاد، شلات‌کننده فلزات و فرونشاننده اکسیژن یگانه یاد کرد. تحقیقات نشان داده که غذاهای غنی از ترکیبات فنولیک با برخی خصوصیات فیزیولوژیکی همانند خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی، ضدجهش‌زایی، بازدارنده اکسیداسیون لیپوپروتئین و تجمع پلاکت‌ها و فعالیت ضدالتهابی ارتباط دارد (Rajaei *et al*, 2011). در یک مطالعه میزان ترکیبات فنولیک در عصاره اتانولی گیاه علف مورچه نسبت به عصاره آبی میزان ترکیبات فنولی بیش‌تر ارزیابی شد. در این مطالعه میزان ترکیبات فنولیک در عصاره اتانولی و عصاره آبی پس از ٦ ساعت استخراج به‌ترتیب برابر با ٦٢/١٠٨ و ٤٢/١٤٩ میلی‌گرم هم‌ارز گالیک اسید بر گرم عصاره خشک گزارش شده بود. نکته قابل توجه در پژوهش آن‌ها این بود که با افزایش زمان استخراج و طولانی شدن آن، میزان ترکیبات فنولیک کاهش یافته بود. آن‌ها دلیل این کاهش را تخریب ترکیبات فنولیک در اثر قرار گرفتن این ترکیبات در شرایط دمایی آزمایش طی استخراج طولانی بیان کردند (Afshari and Sayyed-Alangi, 2016). در مطالعه‌ای دیگری میزان ترکیبات فنولیک در عصاره متانولی حاصل از مزوکارپ گیاه پروسوپیس بومی شیلی که از مناطق مختلف کشور شیلی جمع آوری شده بود را ۲/۵۷- ۰/۸۲ بر حسب گرم هم‌ارز گالیک اسید در صد گرم عصاره محاسبه کردند (Schmeda-Hirschmann *et al*, 2015). در مطالعه‌ای دیگر میزان ترکیبات فلاونوئیدی موجود در عصاره متانولی حاصل از مزوکارپ میوه چند نوع گیاه پروسوپیس بومی کشور شیلی که از مناطق مختلف این کشور جمع آوری شده بود، ۰/٥٦ -۰/۱۷ گرم هم‌ارز کوئرستین بر ۱۰۰ گرم عصاره را گزارش کرده‌اند (Schmeda-Hirschmann *et al*, 2015).

در مطالعه اخیر اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره ریشه گیاه کهورک، با استفاده از روش کاهش ظرفیت رادیکالی (RSC) به کمک رادیکال ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) مورد ارزیابی قرار گرفت. برای عصاره و هم‌چنین آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT بالاترین قدرت آنتی‌اکسیدانی مربوط به غلظت ۲۵ میکروگرم بر میکرولیتر و پایین‌ترین قدرت آنتی‌اکسیدانی را غلظت ۱ میکروگرم بر میکرولیتر بود. میزان IC٥٠ برای عصاره برابر با ۲/٤٥ میکروگرم بر میلی‌لیتر و نمونه کنترل BHT ۱/۹۸ گزارش شد. هرچه مقدار IC٥٠ کم‌تر باشد نشان‌دهنده قدرت بازدارندگی بیشتر رادیکال DPPH توسط آنتی‌اکسیدان می‌باشد. در یک مطالعه میزان IC٥٠ در عصاره‌های اتانولی و آبی گیاه علف مورچه نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT به‌ترتیب برابر با ۹۰/٤۹٦، ۱٤۲/۷۲٦ و ۸۷/۷٤۳ گزارش شده بود. نتیجه قابل توجه این پژوهش اثر بالاتر عصاره‌های اتانولی و آبی حاصل از گیاه نسبت به آنتی اکسیدان BHT است که در عصاره آبی بیشتر مشهود بوده است (Afshari and Sayyed-Alangi, 2016). نتیجه یک پژوهش نشان داد که با افزایش غلظت عصاره برگ‌های گیاه *پروسوپیس ژولیفلورا* مقدار IC٥٠ افزایش یافته است (Sathiya and

Muthuchelian, 2010). با مقایسه نتایج این پژوهش با مطالعات دیگر می‌توان دریافت که عصاره ریشه گیاه کهورک ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قابل قبولی داشته است.

در بین تیمارها، BHT از بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برخوردار بود. غلظت ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر کم‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و غلظت ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در بین تمامی تیمارها از خود نشان دادند. دلیل این امر افزایش غلظت ترکیبات فنولیک در امولسیون و در نتیجه افزایش قدرت آن‌ها در جلوگیری از بی‌رنگ شدن بتاکاروتن است نکته قابل توجه این است که بر خلاف مدل DPPH، عصاره اتانولی با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT اثر آنتی‌اکسیدانی مشابه را از خود نشان نمی‌دهد که این تفاوت می‌تواند به‌دلیل تفاوت در مدل سیستم آزمایش باشد که به‌دلیل غلظت پایین نمونه‌ها در این مدل آزمایش جوابگوی سطح فاز چربی در امولسیون حاصل نبوده و در نتیجه سبب ممانعت اکسیداسیون به‌صورت کارآمد، نگردد. بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی ٤ گونه از خانواده پروسوپیس آمریکای جنوبی نشان داد که توان تخریب رادیکال آزاد به‌روش بتاکاروتن در عصاره آبی بهتر از عصاره الکلی (خالص) بوده است (Cardozo *et al*, 2010).

پراکسید محصول اولیه اکسیداسیون مواد چرب است و به‌طور کلی با افزایش درجه اکسیداسیون روغن‌ها یا مواد چرب، آمادگی برای اکسیداسیون بیشتر می‌گردد. به‌عنوان مثال روغن سویا که در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفته است با داشتن حدود ٦٠ درصد اسیدهای چرب غیر اشباع که حدود ۱۰ درصد آن را لینولنیک اسید با سه پیوند دوگانه تشکیل می‌دهد، جزو روغن‌های حساس به اکسیداسیون به‌شمار می‌رود (Yetella and Min, 2008). لازم به‌ذکر است که میزان عدد پراکسید در روز صفر (زمان شروع گرم‌خانه گذاری) ۱/۱۰ میلی اکی والان پراکسید در هر کیلوگرم روغن بود. در این بررسی عدد پراکسید تمامی نمونه‌ها با افزایش مدت زمان نگه‌داری در دمای ۵۰ درجه سلسیوس به‌تدریج افزایش یافت. عصاره ریشه گیاه کهورک دارای اثر آنتی‌اکسیدانی بسیار خوبی در مقایسه با BHT بود. به طوری‌که غلظت ppm ۱۰۰۰ آن با غلظت ppm ۲۰۰ آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT نتایج بسیار نزدیکی داشت و دو نمودار در اکثر نقاط تقریباً منطبق بودند. در کلیه نمونه‌ها روند کاهش اکسیداسیون مشاهده شد. نرخ رشد افزایش عدد پراکسید تا روز چهارم نگه‌داری روغن سویا بسیار کم و از آن‌جا به بعد شیب بیش‌تری پیدا کرده بود که این نرخ رشد در غلظت‌های بالاتر اسانس کم‌تر بوده است و این بیان‌گر دوره القای طولانی‌تر در حضور غلظت‌های بالای عصاره بوده است.

مقدار TBA نشان دهنده مراحل ثانویه اکسیداسیون بوده و سبب ایجاد طعم بد در مواد غذایی می‌شود. در بین نمونه‌ها از نظر مقایسه تشکیل مالون آلدئید طی نگه‌داری، به‌ترتیب نمونه‌های حاوی BHT 200> اتانول ۱۰۰۰ > BHT 100> BHA 200 <اتانول ۵۰۰ < BHA 100> اتانول ۲۵۰> نمونه فاقد آنتی‌اکسیدان قرار داشتند. مطالعات بسیاری در ارتباط با خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان داروئی صورت گرفته است. در یکی از این مطالعات پژوهشگران استفاده از غلظت ppm۱۰۰۰ عصاره حاصل از برگ‌های گیاه علف مورچه را جایگزین مناسبی برای BHT پیشنهاد کردند

(Afshari and Sayyed-Alangi, 2016). با توجه به نتایج حاصل به‌نظر می‌رسد که غلظت ۱۰۰۰ppm عصاره ریشه گیاه کهورک، جایگزین مناسبی برای آنتی‌اکسیدان‌های BHT و BHA باشد. بررسی اثر اسانس دارچین، رزماری و میخک روی فندق و روغن خشخاش در دمای ۵۰ درجه سلسیوس نشان داد که در دوره نگه‌داری BHA با غلظت ۰/۰۲ درصد بهتر از سایر اسانس‌ها عمل کرده است ولی در میان اسانس‌ها در انتهای دوره در روغن فندق به‌ترتیب میخک، دارچین و رزماری بیش‌ترین اثر را داشتند (Özcan and Akgul, 1995).

مقدار MIC عصاره حاصل از *پروسوپیس ژولیفلورا* منطقه بوشهر ایران بر *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیس*، *اشریشیا کولای* و *سودوموناس آیروجنس* به‌ترتیب ۰/۳۱۲، ۰/۰۸۷، ۱/۲۵ و ۱/۲۵ بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است (Tajbakhsh *et al*, 2015). هم‌چنین مطالعه‌ای دیگر نشان داد که اثر مهار کنندگی عصاره متانولی این گیاه بر باکتری‌ها و قارچ‌های مورد مطالعه بسیار بیشتر از عصاره آبی آن بوده و اثـر آن بر قارچ‌ها نیز کمتر از باکتری‌ها گزارش شده است (Sengul *et al*, 2010). میزان MIC عصاره آبی- الکلی *پروسوپیس شیلی* (بومی کشور شیلی) برای *باسیلوس سوبتیلیس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌ترتیب ۰/۱۶ و ۰/۶۲ (بر حسب میلی‌گرم عصاره بر میلی‌لیتر محیط کشت) گزارش شده است (Schmeda-Hirschmann *et al*, 2015). نتیجه این مطالعات نشان می‌دهد که عصاره ریشه گیاه کهورک از نظر خاصیت ضد میکروبی در سطح قابل قبولی بوده است.

همان‌طور که در قسمت‌های مختلف این پژوهش ذکر شد، خانواده پروسوپیس دارای گونه‌های متفاوتی است که بیشتر آن‌ها دارای ترکیبات زیست‌فعال و خاصیت دارویی هستند. گیاه *Prosopis farcta* یک از گیاهان بومی ایران است که به‌طور عمده در نواحی غرب کشور و بالاخص استان ایلام و هم‌چنین مناطقی از استان سیستان و بلوچستان می‌روید. از این رو مهم‌ترین هدف این پژوهش، شناسایی ترکیبات عصاره حاصل از ریشه کهورک و به‌کارگیری آزمون‌های گوناگون به‌منظور تعیین و اثبات خاصیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن بود. نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره ریشه کهورک از خاصیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی بالایی برخوردار می‌باشد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچگونه تعارض منافعی برای اعلام ندارند.

منابع

- Afshari, A. and Sayyed-Alangi, S.Z. (2016). Antioxidant effect of leaf extracts from against oxidation process in soybean oil. Food Science and Nutrition, 5(2): 324-333.
- Cardozo, M.L., Ordoñez, R.M., Zampini, I.C., Cuello, A.S., Dibenedetto, G. and Isla, M.I. (2010). Evaluation of antioxidant capacity, genotoxicity and polyphenol content of non-conventional foods: Prosopis flour. Food Research International, 43(5): 1505-1510.

- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), (2006). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard. 7th ed. Document M7-A7. Wayne, PA.
- Dobravalskytė, D., Venskutonis, P.R. and Talou, T. (2012). Antioxidant properties and essential oil composition of *Calamintha grandiflora* L. Food Chemistry, 135(3): 1539-1546.
- Elbadrawy, E. and Sello, A. (2016). Evaluation of nutritional value and antioxidant activity of tomato peel extracts. Arabian Journal of Chemistry, 9(2): 1010-1018.
- Holley, R.A. and Patel, D. (2005). Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. Food Microbiology, 22(4): 273-292.
- Ibañez, M.C. and Ferrero, C. (2003). Extraction and characterization of the hydrocolloid from *Prosopis flexuosa* DC seeds. Food Research International, 36(5): 455-460.
- Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V. and Milos, M. (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. Food Chemistry, 85(4): 633-640.
- Lahmass, I., Ouahhoud, S., Elyoubi, M., Benabbas, R., Sabouni, A., Asehraou, A. and Saalaoui, E. (2018). Evaluation of antioxidant activities of saffron stigma and spath as by-product of *Crocus sativus* L . MOJ Biology and Medicine, 3(4): 154-158.
- Malik, S., Mann, S., Gupta, D. and Gupta, R.K. (2013). Nutraceutical properties of *Prosopis cineraria* (*L*.) Druce Pods: A component of" Panchkuta". Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 2(2): 66-73.
- Marino, M., Bersani, C. and Comi, G. (2001). Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. International Journal of Food Microbiology, 67(3): 187-195.
- Mozafarina, V. (2008). Flora of Ilam Province. Farhang Moaser Publication, pp. 419-420. [In Persian]
- Namiki, M. (1990). Antioxidants/antimutagens in food. Critical Reviews in Food Science & Nutrition, 29(4): 273-300.
- Özcan, M. and Akgül, A. (1995). Antioxidant activity of extracts and essential oils from Turkish spices on sunflower oil. Acta Alimentaria, 24(1): 81-90.
- Rajaei, A., Barzegar, M. and Sahari, M.A. (2011). Investigation on antioxidative and antimicrobial activities of pistachio (*Pistachia vera*) green hull extracts. Iranian Journal of Food Science and Technology. 8(9): 111-120. [In Persian]
- Ranjbar Heidari, A., Khayyat-Zadeh, J. and Keshtahgar, M. (2012). Study of root aqueous extract of *Prosopis farcta* effect on wound healing of diabetic adult male rats. Journal of Birjand University of Medical Sciences. 19(3): 245-254. [In Persian]
- Rice-Evans, C.A. and Burdon, R.H. (Eds.). (1994). Free Radical Damage and Its Control. Elsevier. 113: 46-49.
- Sathiya, M. and Muthuchelian, K. (2010). Evaluation of antioxidant and antitumor potentials of *Prosopis juliflora* DC. Leaves *in vitro*. Pharmacology Online, 2: 328-343.
- Schmeda-Hirschmann, G., Quispe, C., Soriano, M.D.P.C., Theoduloz, C., Jiménez-Aspée, F., Pérez, M.J. *et al*. (2015). Chilean Prosopis mesocarp flour: Phenolic profiling and antioxidant activity. Molecules, 20(4): 7017-7033.
- Scholz, G., Windeisen, E., Liebner, F., Bäucker, E. and Bues, C.T. (2010). Wood anatomical features and chemical composition of *Prosopis kuntzei* from the Paraguayan Chaco. IAWA Journal, 31(1): 39-52.
- Sengul, M., Ercisli, S., Yildiz, H., Gungor, N., Kavaz, A. and Çetin, B. (2011). Antioxidant, antimicrobial activity and total phenolic content within the aerial parts of Artemisia absinthum, Artemisia santonicum and Saponaria officinalis. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 10(1): 49-56.
- Sharma, N., Garg, V. and Paul, A. (2010). Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidative potential of *Prosopis cineraria* bark. Indian Journal of Clinical Biochemistry, 25(2): 193-200.

- Siddique, N.A., Mujeeb, M., Najmi, A.K. and Akram, M. (2010). Evaluation of antioxidant activity, quantitative estimation of phenols and flavonoids in different parts of Aegle marmelos. African Journal of plant science, 4(1): 1-5.
- Singh B.H. (2002). Extraction of phenolic compounds from red grape marce for using as food lipid antioxidant.nFood Chemistry, 66: 209-215.
- Sirmah, P., Dumarcay, S., Masson, E. and Gerardin, P. (2009). Unusual amount of mesquitol from the heartwood of *Prosopis juliflora*. Natural Product Research, 23(2): 183-189.
- Stoilova, I., Krastanov, A., Stoyanova, A., Denev, P. and Gargova, S. (2007). Antioxidant activity of a ginger extract (*Zingiber officinale*). Food Chemistry, 102(3): 764-770.
- Tajbakhsh, S., Barmak, A., Vakhshiteh, F. and Gharibi, M. (2015). In vitro antibacterial activity of the Prosopis juliflora seed pods on some common pathogens. Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR, 9(8): 13-15.
- Taji, F., Shirzad, H., Ashrafi, K., Parvin, N., Kheiri, S., Namjoo, A. *et al*. (2010). Comparing the antioxidant effect of fresh and old garlic extracts. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences, 14 (5): 25-29. [In Persian]
- Yettella, R.R. and Min, D.B. (2008). Quenching mechanisms and kinetics of trolox and ascorbic acid on the riboflavin-photosensitized oxidation of tryptophan and tyrosine. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56(22): 10887-10892.