(مقاله پژوهشی)

بررسی خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره برگ گیاه کرچک (*Ricinus communis*) و تاثیرآن بر پایداری روغن سویا در شرایط نگه داری

مهدی اطهری [۱*]، الهام آزادفر [۱] ، سید حسین استیری [۱] ، احمد پدرام نیا [۱]، محمد مهدی نعمت شاهی [۱]

۱- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۲۲ تاریخ پذیرش:۱۳۹۸/۱۰/۰۱

چکیده

در این پژوهش ابتدا عصاره‌گیری متانولی برگ گیاه کرچک استخراج گردید. میزان کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن با بررسی قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH تعیین گردید، سپس عصاره استخراج شده در غلظت‌های مختلف به روغن سویا تصفیه شده فاقدآنتی‌اکسیدان افزوده شد و هم‌چنین پایداری اکسایشی نمونه‌ها در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت سه روز از طریق اندازه‌گیری اندیس پراکسید، اندیس تیوباربیتوریک واندیس اسیدی در نهایت با فعالیت آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام مقایسه گردید. به‌طور کلی با افزایش غلظت عصاره در روغن سویا از ۱۰۰ تا ۶۰۰ پی‌پی‌ام در یک زمان نگه‌داری ثابت، شاخص پایداری اکسایشی، میزان ترکیبات پلی فنلی و فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در روغن افزایش یافته در حالی که اندیس پراکسید، اندیس تیوباربیتوریک اسید واندیس اسیدی کاهش پیدا کرد. نتایج حاصل از بررسی پایداری اکسایشی روغن حاوی غلظت‌های مختلف عصاره نشان داد غلظت ۶۰۰پی‌پی‌ام عصاره نسبت به غلظت‌های دیگر و نمونه شاهد به دلیل داشتن مقادیر بالاتر ترکیبات پلی فنلی و توکوفرولی در پایداری اکسایشی روغن سویا مؤثرتر عمل نموده و در مقایسه با آنتی اکسیدان سنتزی BHT نیز تأثیر بیشتری داشت. نتایج نشان داد عصاره برگ گیاه کرچک از رشد باکتری‌های استافیلوکوکوس ارئوس، لیستریا مونوسیتوژنز و اشریشیاکلی جلوگیری کرد، به طوری که اثر ضد باکتریایی عصاره برگ گیاه کرچک با افزایش غلظت عصاره نیز افزایش یافت در حالی که اثری بر باکتری باسیلوس سرئوس و آسپرژیلوس نایجر نداشت.

واژه های کلیدی: فعالیت آنتی‌اکسیدانی، روغن سویا، کرچک، پایداری اکسایشی، ضدمیکروبی، میکروارگانیسم‌ها.

[*] مسئول مکاتبات: Mehdiathary@yahoo.com

۱- مقدمه

کانون توجهات تحقیقات اخیر، مواد فتوشیمیایی مشتق شده از گیاهان بوده‌اند که ناشی از اثرات مثبت آن ها بر سلامتی بشر بوده است. مواد غذایی را درطی فرآوری در کارخانجات می توان با ترکیبات فعال از قبیل ترکیبات فنولی که دارای فواید و خصوصیات فیزیولوژیکی از جمله ضدآلرژی، ضدالتهاب، ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی و... می‌باشند، غنی‌سازی نمود. اثرات سودمند موجود در ترکیبات فنولیک به خصوصیت آنتی اکسیدانی آن‌ها مربوط می شود(۵۲). پلی فنولها انواعی از آنتی اکسیدان‌ها هستند که در جلوگیری از بسیاری بیماری‌ها از جمله سرطان نقش دارند، این ترکیبات بسیار متنوع هستند و اثرات متفاوتی دارند .ترکیبات فنولی شامل ویتامین‌ها، رنگدانه‌ها و فلاونوئیدها، ویژگی‌های ضد جهشی و در نتیجه ضد سرطانی و همچنین فعالیت کاهش قند خون را بر عهده دارند(۵۳). در سال‌های اخیر ثابت شده است که رادیکال‌های آزاد مهم‌ترین عوامل اکسید کننده مواد غذایی می‌باشند که باعث اکسیداسیون چربی‌ها و روغن‌ها و تندی آن ها می‌شوند به علاوه محصولاتی که از اکسیداسیون لیپیدها حاصل می‌شوند، می‌توانند روی دیگر اجزای موجود در ماده غذایی نیز تأثیر منفی داشته باشند، به‌طوری که علاوه بر اثرات نامطلوب ارگانولپتیک در محصولات غذایی با از بین بردن ویتامین‌ها و اسیدهای چرب ضروری بدن و ایجاد ترکیبات سمی می‌توانند منجر به اثرات نامطلوب از قبیل بیماری‌های التهابی، دیابت ملیتوس، ایسکمی قلبی و مغزی، سرطان، نقص ایمنی و پیری در بدن انسان شوند(۴۲). از این رو استفاده از آنتی اکسیدان‌ها به منظور کندکردن سرعت اکسیداسیون در مواد غذایی ضروری به نظر می‌رسد، که اگر به طور صحیح و مناسب استفاده شوند می‌توانند باعث افزایش عمر محصولات غذایی در طی دوره استفاده از آن‌ها شوند(۱۸). یکی از بیماری‌های مهم که همواره انسان با آن دست به گریبان بوده، بیماری‌های باکتریایی است. مقاومت روز افزون باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها و عوارض جانبی عوامل ضد باکتریایی شیمیایی از مشکلات مهم در امر درمان بیماری‌های عفونی است(۲۳). اسانس‌های گیاهی و انواع متابولیت‌های ثانویه گیاهی به عنوان موادی با ویژگی‌های ضد میکروبی شناخته شده‌اند و دارای اثرات سمی کم و یا فاقد اثرات سمی هستند(۲۲). بنابراین می‌توان از این فراورده‌ها به عنوان جایگزنی طبیعی برای آنتی بیوتیک‌ها استفاده نمود. همچنین برای حفاظت مواد داروئی و غذایی در برابر فساد میکروبی از آن‌ها بهره جست. گیاهان دارویی دو نقش عمده در موادغذایی ایفا می‌کنند: یکی ایجاد طعم ومزه و دیگری در نگه داری مواد غذایی با به تاخیر انداختن فساد با توجه به دارا بودن ویژگی‌های ضد میکروبی و ضد اکسیداسیونی (۵۰). در همین راستا با توجه به تنوع آب و هوایی و در نتیجه فلور گیاهی بسیار متنوع در ایران امکان شناسایی مواد موثره گیاهی در گیاهان مختلف بومی کشور و استخراج آن‌ها به منظور تولید این مواد به مقدار زیاد و در مقیاس صنعتی وجود دارد. توسط امجد و همکاران سال۱۳۹۰ فعالیت ضد باکتریایی عصاره متانولی گل و برگ گیاه بو مادران مورد مطالعه قرار گرفت.در این پژوهش عصاره متانولی گل و برگ گیاه بو مادران بر باکتری باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس آرئوس بیشترین اثردهی را داشتند که با افزایش غلظت، اثر ضد باکتریایی آن‌ها نیز افزایش می‌یافت، همچنین این عصاره‌ها بر باکتری اشرشیاکلی تاثیر ضعیف‌تری داشتند. در این بررسی هیچ گونه اثر باز دارندگی از رشد بر باکتری سودو موناس آئروژینوزا مشاهده نگردید(۱۹). دنگ و همکاران نیز در سال ۲۰۱۴ تاثیر مراحل مختلف رسیده شدن میوه و حلال‌های عصاره‌گیری بر روی ترکیبات فنلی، فعالیت‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ‌های زغال اخته مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد همه عصاره‌ها علیه «اشریشیا کلی» و «قارچ‌ها» فعالیت ضد میکروبی داشتند اما فقط نمونه‌های «نیمه‌رسیده» و «رسیده بازار پسند» در مورد لیستریا مونوسیتوژنز و استافیلوکوکوس آرئوس خواص ضد میکروبی از خود نشان

دادند(۳۱و۳۰). کرچک *(Ricinus communis)* گیاه روغنی و دارویی از تیره فرفیون*(Euphorbiaceae)* می‌باشد که عموما در مناطق گرم پراکنش داشته و موطن اصلی آن آفریقای شمالی و به احتمال زیاد اتیوپی بوده است(۱۵،۵). کرچک از تیره فرفیون ، یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی و دارویی مورد استفاده در صنایع داروسازی، آرایشی و بهداشتی بیشتر کشورهای توسعه یافته است(۴۷).گیاه کرچک در مناطق سردسیر، علفی و یکساله است که ارتفاع آن به ۳-۲ متر نیز می‌رسد.در حالی که، در مناطق گرمسیری، به صورت درختچه‌های چند ساله است که ارتفاع آن به بیش از سه متر میرسد(۳۸). کرچک به صورت درختچه‌ای با برگ‌های پنجه‌ای است و میوه آن از نوع کپسول می‌باشد که در بسیاری از کشورهای آسیا، امریکای شمالی و مرکزی، آفریقا و اروپا به عنوان گیاه زینتی کشت می‌شود (۳۲). کرچک گیاهی علفی، یکساله و روز بلند است که در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری بخوبی رشد می‌کند(۴۴).کرچک به سرما حساس است و نمو آن در نقاط سرد و ساحلی اغلب به کندی صورت می‌گیرد(۲۶). با این وجود که در حال حاضر در بسیاری از مناطق آب و هوایی جهان به ویژه مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری می‌روید و دارای پراکندگی جهانی است؛ این گیاه بومی منطقه جنوب‌شرقی مدیترانه، شرق آفریقا و هند می باشد (۳۹،۴۳). این گیاه در ایران با نام های مختلفی مانند بید انجیر و یا بزانجیر و در بسیاری از مناطق کشور از جمله شمال (گیلان و مازندران)، شرق (سیستان و بلوچستان و خراسان)، جنوب (خوزستان) و مرکز (یزد) وجود داشته و حتی پرورش داده می‌شود (۲۹). در این تحقیق به ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی برگ گیاه کرچک در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزیBHT پرداخته شد. پایداری اکسایشی روغن سویا در شرایط تسریع شده و تحت تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره مورد بررسی قرار گرفت. همچنین بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره برگ گیاه کرچک در غلظت‌های ۱۰۰،۵۰۰،۴۰۰،۳۰۰،۲۰۰ و ۶۰۰ پی‌پی‌ام بر روی تعدادی از سویه‌های مختلف میکروبی شامل باکتری‌های استافیلوکوکوس ارئوس، لیستریا مونوسیتوژنز، اشریشیا کلی، باسیلوس سرئوس و کپک آسپرژیلوس نایجر به روش انتشار دیسک انجام شد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد

تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت مرک (آلمان) و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT از شرکت سیگما آلدریچ (آمریکا) خریداری شد. روغن سویا خالص تصفیه شده و عاری از هرگونه آنتی‌اکسیدان سنتزی از کارخانه روغن نباتی سه گل خراسان خریداری گردید و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۴درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. برگ گیاه کرچک نیز از عطاری تهیه گردید. سویه‌های باکتری مورد استفاده در این پژوهش از مرکز منطقه‌ای کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران شامل لیستریا مونوسیتوزنز به شماره PTCC 1297، استافیلوکوکوس آرئوس PTCC 1189، اشرشیاکلی PTCC 1399، باسیلوس سرئوس PTCC 1154 و آسپرزیلوس نایجر PTCC 5012 به صورت آمپول لیوفیلیزه به تعداد یک آمپول تهیه و آماده سازی شد.

۲-۲- تهیه عصاره برگ گیاه کرچک

برای استخراج و عصاره‌گیری به روش ماسراسیون برگ گیاه کرچک پاک شده، با آسیاب (کنوود مدلCG 100) خرد شد و پس از الک کردن، برای استخراج عصاره با حلال متانول به نسبت ۱:۱۰ وزنی حجمی (یک گرم پودر برگ گیاه کرچک با۱۰ میلی لیتر حلال متانول) مخلوط گردید و در شیکر با دورrpm ۲۵۰ به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط قرار گرفت و پس از آن تحت شرایط خلاء توسط قیف بوخنر با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف گردید. حال به منظور حذف حلال و استخراج عصاره به وسیله تبخیر کننده چرخان مدل LABORATA4000 دردمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد تغلیظ و در نهایت عصاره توسط خشک کن تخت خلاء

دردمای ۴۰ درجه سانتیگراد خشک شد و تا زمان استفاده در ظرف سربسته و غیر قابل نفوذ به هوا در دمای ۴درجه سانتیگراد قرار گرفت(۱۴).در مرحله بعدی میزان کل ترکیبات فنلی و فعالیت رادیکال گیرندگی عصاره متانولی برگ گیاه کرچک در غلظت‌های مختلف اندازه‌گیری شد، سپس عصاره برگ گیاه کرچک در غلظت‌های مختلف(۲۰۰،۱۰۰ ، ۳۰۰ ، ۴۰۰ ، ۵۰۰ و ۶۰۰ پی‌پی‌ام) به روغن سویای تصفیه شده فاقد آنتی‌اکسیدان افزوده شد و اثر آن بر روی اکسیداسیون روغن سویا در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت و در فواصل زمانی ۲۴ساعته از طریق سنجش اندیس پراکسید، شاخص تیوباربیتویک اسید واندیس اسیدی بررسی و در نهایت با فعالیت آنتی‌اکسیدان سنتزیBHT به میزان ۲۰۰ پی‌پی‌ام مورد مقایسه قرار گرفت. این مطالعه نیز به منظور بررسی اثرات ضدمیکروبی عصاره دی‌متیل‌سولفوکساید برگ گیاه کرچک در غلظت‌های ۱۰۰ ،۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ ،۵۰۰ و ۶۰۰ پی‌پی‌ام بر روی تعدادی از سویه‌های مختلف میکروبی شامل باکتری‌های استافیلوکوکوس ارئوس، لیستریا مونوسیتوژنز، اشریشیاکلی، باسیلوس سرئوس و کپک آسپرژیلوس نایجر به روش انتشار دیسک انجام شد.

۲-۳- استریل کردن عصاره برگ گیاه کرچک

برای این کار با فیلترسرنگی با قطر منافذ ۰/۴۵ میکرون صورت گرفت. استفاده از اتوکلاو جهت استریل کردن عصاره و اسانس جایز نیست چون باعث تخریب کامل آن‌ها می شود.

۲-۴- تهیه محلول ذخیره از عصاره برگ گیاه کرچک

جهت تهیه محلول ذخیره عصاره از حلال دی متیل سولفوکساید (DMSO) ۵ ٪ استفاده شد. بدین صورت که ابتدا ۵۰۰ میکرولیتر از DMSO خالص را برداشته و به آن ۹/۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه می کنیم تا محلول ٪ ۵ DMSO تهیه شود. این محلول نیز توسط فیلتر سرنگی استریل ، در مراحل بعدی جهت تهیه غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه کرچک مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۵- تهیه سوسپانسیون ۰/۵ مک فارلند

از محیط کشت مایع (کشت ۲۴ ساعته) برداشته و بعد از انتقال به دستگاه اسپکتروفتومتر جذب آن در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت شد. چنانچه جذب قرائت شده در محدوده ۰/۱۳- ۰/۰۸ باشد بدین معنی است که کشت ۲۴ ساعته آماده استفاده در مراحل بعدی آزمایش است. چنان چه این عدد بالاتر باشد با رقت سازی مناسب این نتیجه حاصل می شود. طول موج ذکر شده مربوط به استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند است و معادل cfu/ml $۱/۵\times ۱۰^{۸}$ می‌باشد.

۲-۶- تهیه کشت میکروبی

از عصاره برگ گیاه کرچک که در مرحله قبل به دست آمده غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰ و ۶۰۰ پی‌پی‌ام توسط حلال دی‌متیل‌سولفوکساید (DMSO) ۵٪ جهت استفاده در آزمایش انتشار دیسک تهیه شد . جهت تهیه مایه میکروبی ۵-۴ کلنی مجزا از باکتری مورد نظر از محیط کشت ذخیره برداشت شده و به یک لوله حاوی محیط کشت مولر هینتون براث (MHB) منتقل گردید. سپس نمونه ها درانکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۴-۲ ساعت قرار گرفت تا کدورت آنها به میزان استاندارد ۰/۵ مک فارلند برسد. پس از رقیق سازی،۵۰۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار انتقال یافت و به وسیله سوآپ استریل در ۳ جهت عمل کشت میکروبی انجام گرفت (۵۴).

۲-۳- روش ها

۲-۳-۱-اندازه گیری میزان کل ترکیبات فنولی عصاره برگ گیاه کرچک

مقدار کل ترکیبات فنولی عصاره متانولی با استفاده از معادله خط رسم شده برای اسید گالیک (ساخت شرکت مرک)، معادل میلی‌گرم گالیک اسید درگرم نمونه خشک محاسبه گردید (۴۸). و معادله خط رگرسیونی که رابطه غلظت اسید گالیک (۵۰تا۲۵۰ میلی‌گرم به لیتر) را با میزان جذب محلولها در ۷۶۵ نانومتر نشان می دهد . در این معادله Y مقدار جذب و

X مقدار ترکیبهای فنولی براساس اکی والانت اسید گالیک را نشان می دهد: (۴۵و۴۸).

$Y = 0.0034X + 0.0159 \qquad R^2 = 0.9919$

۲-۳-۲-تعیین فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH) عصاره برگ گیاه کرچک

در این آزمایش از آنتی اکسیدان سنتزی BHT به میزان ۲۰۰ پی پی ام برای مقایسه استفاده شد (۲۷).

۲-۳-۳- اندازه گیری اندیس پراکسید (PV)

اندیس پراکسید از طریق رابطه(۱) محاسبه شد (۲۰).

رابطه (۱)

$$\text{اندیس پراکسید}(meq\ /kg) = \frac{1000 \times N \times V}{W}$$

در این رابطه:N= نرمالیته تیوسولفات مصرفی،V= حجم تیوسولفات مصرفی بر حسب میلی لیتر و W= وزن نمونه روغن است .

۲-۳-٤- اندازه گیری عدد اسیدی

از طریق رابطه (۲) اندیس اسیدی محاسبه شد(۱۲).

رابطه(۲)

$$\text{اندیس اسیدی}(mg\ KOH\ /g\ Oil) = \frac{56.1 \times N \times (A-B)}{W}$$

A= حجم قلیایی مصرفی در تیتراسیون نمونه، B= حجم قلیایی مصرفی در تیتراسیون شاهد، N= نرمالیته و W= وزن نمونه

۲-۳-۵- محاسبه شاخص تیوباربیتویک اسید

مقدار جذب نمونه ها در طول موج ۵۳۲ نانومتر بعنوان شاخص تیوباربیوتیک اسید در نظر گرفته شد (۵۵).

۲-۳-٦- روش انتشار دیسک

در این روش ابتدا دیسک های استریل را در محلول عصاره انداخته و بعد از آغشته نمودن، از آن‌ها استفاده می‌شود. محیط کشت مولر هینتون آگاری که از قبل تهیه می شود به ضخامت ۵ میلی‌متر به پتری دیش های انتخابی استریل اضافه می‌گردد. توسط اپلیکاتور از محیط کشت پایه نمونه باکتری برداشته و به محیط کشت تلقیح‌گردید. تمامی این مراحل در شرایط اسپتیک صورت گرفت تا محیط کشت به باکتری دیگری که در محیط اطراف وجود دارد آلوده نشود. سپس با پنس استریل دیسک های آماده ی حاوی عصاره که حلال آن‌ها تبخیر شده است در فواصل معین بر روی محیط کشت قرار داده می شود. در هر پتری دیش ۴ دیسک قرار می گیرد، سه دیسک مربوط به غلظت‌ها و یک دیسک نیز دیسک شاهد (دیسک فاقد عصاره) می باشد که از قبل تهیه شده بود. لازم به ذکر است که فعالیت آنتی باکتریایی دیسک های آنتی بیوتیک استاندارد شامل کلرامفنیکل (در غلظت 30µg/disc)، آمپلی‌سیلین (در غلظت 10µg/disc)، جنتامایسین (در غلظت 10µg/disc) و کانامایسین(در غلظت 30µg/disc) نیز در پتری دیش های جدا گانه مورد ارزیابی قرار گرفت. در نهایت پتری دیش های تلقیح شده در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفته و بعد از ۲۴ ساعت قطر هاله های عدم رشد ایجاد شده در اطراف دیسک ها با کولیس اندازه گیری گردید (۵۴).

۲-٤- تجزیه و تحلیل آماری

جهت بررسی نتایج، از طرح آماری کاملا تصادفی استفاده شد. اطلاعات با استفاده از نرم افزار آماری SAS 9.1 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین ها با یکدیگر و با نمونه شاهد نیز با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۹۵ درصد ($p<۰/۰۵$) با همین نرم افزار انجام گردید. برای ترسیم نمودارها نیز از نرم افزار Microsoft Excel 2013 استفاده گردید.

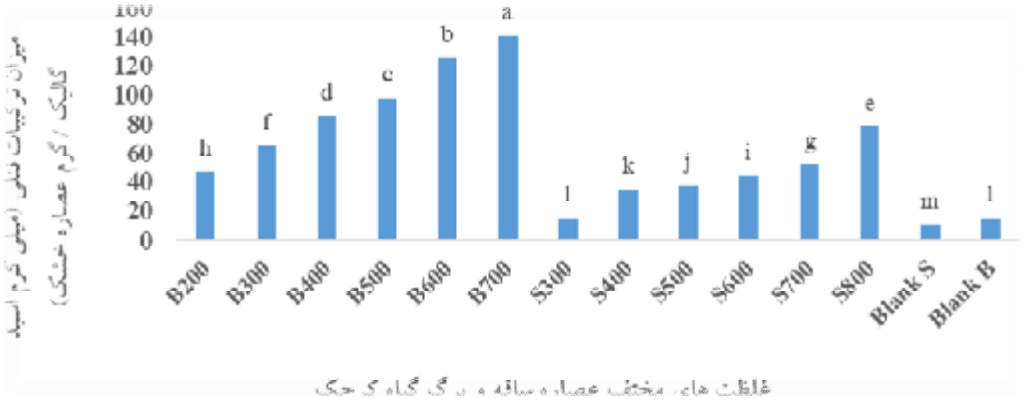
جدول ۱- تیمارها

غلظت ها	علامت اختصاری
عصاره برگ گیاه کرچک ۲۰۰ پی پی ام	B200
عصاره برگ گیاه کرچک ۳۰۰ پی پی ام	B300
عصاره برگ گیاه کرچک ٤۰۰ پی پی ام	B400
عصاره برگ گیاه کرچک ۵۰۰ پی پی ام	B500
عصاره برگ گیاه کرچک ٦۰۰ پی پی ام	B600
عصاره برگ گیاه کرچک ۷۰۰ پی پی ام	B700
عصاره ساقه گیاه کرچک ۳۰۰ پی پی ام	S300
عصاره ساقه گیاه کرچک ٤۰۰ پی پی ام	S400
عصاره ساقه گیاه کرچک ۵۰۰ پی پی ام	S500
عصاره ساقه گیاه کرچک ٦۰۰ پی پی ام	S600
عصاره ساقه گیاه کرچک ۷۰۰ پی پی ام	S700
عصاره ساقه گیاه کرچک ۸۰۰ پی پی ام	S800
نمونه شاهد برگ گیاه کرچک	Blank B
نمونه شاهد ساقه گیاه کرچک	Blank S
آنتی اکسیدان سنتزی BHT 200 ppm	BHT

۳- نتایج و بحث

۳-۱-اندازه گیری میزان ترکیبات فنلی عصاره برگ گیاه کرچک

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تغییر غلظت عصاره برگ گیاه کرچک تاثیر معنی داری بر میزان ترکیبات فنلی داشته است ($p<۰/۰۵$). نتایج مقایسه میانگین تاثیر غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه کرچک بر مقدار ترکیبات فنلی موجود در عصاره که با استفاده از تست فولین و معادله منحنی استاندارد اسیدگالیک اندازه گیری شد، در شکل (۱) نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می شود با افزایش غلظت عصاره برگ گیاه کرچک از ۲۰۰ تا ۷۰۰ پی پی ام و در عصاره ساقه کرچک از ۳۰۰ تا ۸۰۰ پی پی ام میزان ترکیبات فنلی موجود در عصاره ها افزایش یافت که این امر منجر به افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره می شود. طبق نتایج، با افزایش غلظت های مختلف این عصاره میزان این ترکیبات آنتی اکسیدان از ۴۶/۸۹ میلی گرم اسیدگالیک در گرم عصاره در غلظت ۲۰۰ پی پی ام تا ۱۴۱/۰۱میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره در غلظت ۷۰۰ پی پی ام عصاره برگ کرچک و از ۱۴/۶۴ میلی گرم اسیدگالیک در گرم عصاره در غلظت ۳۰۰ پی پی ام تا ۷۷/۸۷ میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره در غلظت ۸۰۰پی پی ام عصاره ساقه گیاه کرچک افزایش یافت و این افزایش در تمام غلظت های عصاره نسبت به غلظت ماقبل، در سطح احتمال ۹۵ درصد معنی دار بود ($p<۰/۰۵$). همان طور که مشاهده می‌شود با افزایش غلظت عصاره از ۲۰۰ تا۷۰۰ پی پی ام میزان ترکیبات فنولی موجود در عصاره افزایش یافت که این امر منجر به افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود. ترکیبات فنولی با وزن مولکولی زیاد توانایی زیادی برای مهارراديکال های آزاد دارند و توانایی بیشتر بستگی به تعداد حلقه‌های آروماتیک و ماهیت گروه‌های جابه جا شونده هیدروکسیل خواهد بود(۲۵). خاصیت آنتی اکسیدانی گیاهان به میزان هر یک از ترکیبات پلی فنلی بستگی دارد (۲۴و۴۱).

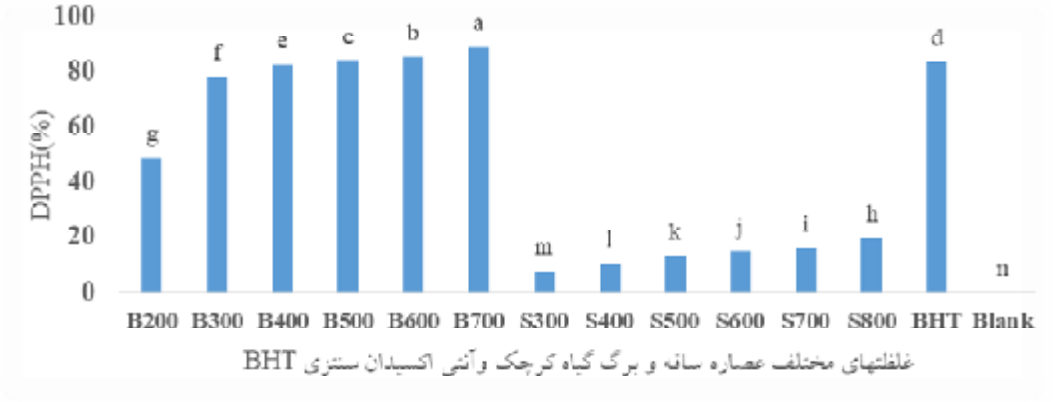


شکل ۱- تغییرات مقدار ترکیبات فنلی در غلظت های مختلف عصاره ساقه و برگ گیاه کرچک

۳-۲- فعالیت مهار کنندگی رادیکال های آزاد (DPPH) عصاره برگ گیاه کرچک

نتایج آنالیز واریانس یک طرفه حاکی از معنی دار بودن تاثیر غلظت های مختلف عصاره برگ و ساقه گیاه کرچک بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد بود ($p<۰/۰۵$). مقایسه میانگین ها نیزنشان داد که با افزایش غلظت عصاره برگ گیاه کرچک قدرت مهارکنندگی رادیکال های آزاد عصاره به طور معنی داری افزایش نشان داد بطوریکه از مقدار ۴۸/۷۷ درصد درغلظت ۲۰۰ پی پی‌ام تا میزان ۸۹/۲۷درصد در غلظت ۷۰۰ پی پی ام عصاره برگ گیاه کرچک در حالیکه از مقدار ۷/۳۶ درصد درغلظت۳۰۰ پی پی‌ام تا میزان ۱۹/۶۷درصد در غلظت۸۰۰ پی پی ام عصاره ساقه گیاه کرچک افزایش پیدا کرد (شکل ۲). در واقع این نتیجه حاکی از این واقعیت بود که توانائی عصاره در مهار رادیکال های آزاد وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت عصاره، فعالیت ضدرادیکالی آن افزایش می‌یابد. طبق نتایج مشخص شد که غلظت های ۴۰۰،۳۰۰، ۵۰۰ و۶۰۰ پی پی‌ام عصاره برگ گیاه کرچک مقدار فعالیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد به ترتیب برابر ۶۰/۲۴، ۸۲/۷۸، ۸۴/۳۶ و ۸۵/۵۱ درصد داشتند که این اختلاف از نظر آماری معنی دار بود ($p<۰/۰۵$). با مقایسه فعالیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد غلظت های مختلف عصاره با نمونه آنتی اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۲۰۰ پی پی‌ام ، فعالیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد برابر ۸۳/۵۶ درصد مشخص شد که غلظت۶۰۰،۵۰۰ و ۷۰۰ پی پی‌ام عصاره برگ گیاه کرچک فعالیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد بالاتری نسبت به آنتی اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۲۰۰ پی پی‌ام داشت(شکل ۲). مطالعات نشان می دهد که بالا بودن ترکیبات فنلی دلیل عمده بالا بودن فعالیت آنتی اکسیدانی بعضی از عصاره ها از جمله عصاره های قطبی باشد. زیرا بر اساس شواهد موجود ارتباط مثبتی بین میزان ترکیبات فنلی و قدرت آنتی اکسیدانی گیاهان وجود دارد. از طرف دیگر به نظرمی‌رسد که ترکیبات فنولی که به صورت گسترده در گیاهان یافت میشوند و قدرت آنتی اکسیدانی بالایی دارند بیشتر از طریق عصاره‌های گیاهی آن‌ها قابل استخراج باشد (۲۵،۳۶). قدرت مهار کنندگی عصاره‌های مختلف به میزان زیادی به تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل و وزن مولکولی ترکیبات فنولی بستگی دارد. در ترکیبات فنولی با وزن مولکولی پائین‌تر گروههای هیدروکسیل راحت تر در دسترس قرار می‌گیرند (۲۵). در تحقیقی مشابه جایاپراکاشا و همکارن (۲۰۰۳) فعالیت به دام اندازی رادیکال‌های آزاد هسته انگور را مورد بررسی قرار دادند و بیان نمودند که عصاره هسته انگور به عنوان یک آنتی اکسیدان اولیه از به وجود آمدن رادیکال های آزاد جلوگیری کرده و نیز با رادیکال‌های آزاد واکنش داده و آنها را پایدار می کند (۳۳).

نتایج تحقیق حاضر با نتایج لیو و یائو (۲۰۰۷)، آلتمن و همکاران (۲۰۰۹)، شوکلا و همکاران (۲۰۰۹) و سان و همکاران (۲۰۱۱) همخوانی داشت (۵۱،۵۰،۳۴،۱۷و۵۴). این محققین گزارش نمودند که فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH عصاره‌های گیاهی وابسته به غلظت بود و با افزایش غلظت اثر مهارکنندگی شدت یافت.



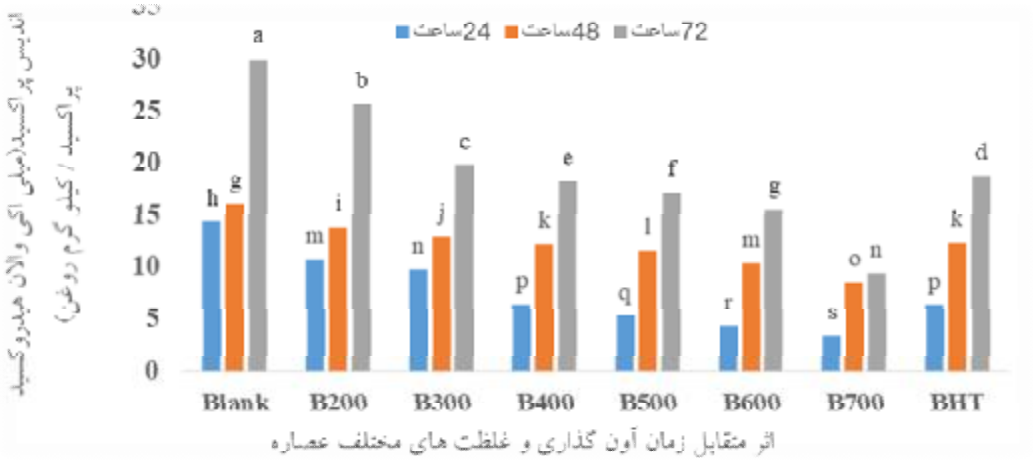
شکل۲- تغییرات فعالیت مهار کنندگی رادیکال های آزاد در غلظت های مختلف عصاره گیاه کرچک

۳-۳- ارزیابی پایداری اکسایشی روغن سویا در غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه کرچک

۳-۳-۱- اندیس پراکسید

هیدروپراکسیدها محصولات اولیه اکسیداسیون چربی‌ها هستند و به طور کلی هر قدر درجه غیر اشباعیت روغن ها بیشتر باشد روغن و یا ماده چرب آمادگی بیشتری برای اکسیداسیون دارد . وقتی که میزان پر اکسید به حد معینی برسد، تغییرات مختلفی صورت گرفته و مواد فرار آلدئیدی و کتونی ایجاد می شوند که در ایجاد بو وطعم نامطبوع مواد چرب مؤثر می باشند . در مراحل ابتدایی فرایند اکسیداسیون، میزان این ترکیبات کم است اما درمرحله انتشار، میزان هیدروپراکسیدها به سرعت افزایش می یابد. در این مرحله تعیین عدد پراکسید شاخص مناسبی از تعیین وضعیت اکسیداسیون روغن ها می باشد(۴۳). نتایج آنالیز واریانس حاکی از معنی دار بودن اثر عصاره برگ گیاه کرچک و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در کنترل و کاهش سرعت اکسیداسیون روغن سویا در طول زمان نگهداری در مقایسه با نمونه فاقد آنتی اکسیدان بود ($p<۰/۰۵$) و در این بین اثر عصاره در تاخیر اکسیداسیون بیشتر از اثر زمان در افزایش آن بود. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در نمونه شاهد (فاقد آنتی‌اکسیدان) میزان اندیس پراکسید از مقدار اولیه ۱۴/۴ تا مقدار۲۹/۹۵ میلی‌اکی والان هیدروپراکسید بر کیلوگرم روغن پس از ۷۲ ساعت نگه داری روغن در دمای ۶۵ درجه افزایش یافت در حالیکه برای نمونه های روغن حاوی ۲۰۰، ۳۰۰،۴۰۰، ۵۰۰، ۶۰۰ و ۷۰۰ پی پی‌ام عصاره برگ گیاه کرچک ، اندیس پراکسید پس از ۲۴ ساعت نگهداری در آون ۶۵ درجه افزایش یافت و از نظر آماری نیز اختلاف معنی‌داری بین این غلظت ها مشاهده گردید. طبق نتایج مشخص شد که غلظت های۲۰۰، ۳۰۰،۴۰۰، ۵۰۰، ۶۰۰ و ۷۰۰ پی پی‌ام عصاره پس از ۷۲ ساعت نگه داری از نظر آماری معنی دار بود ($p<۰/۰۵$). با مقایسه میزان اندیس پراکسید نمونه روغن حاوی غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه کرچک با نمونه روغن حاوی آنتی اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۲۰۰ پی پی ام ، مقدار اندیس پراکسید در طول ۲۴ ،۴۸ و ۷۲ ساعت نگه داری در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد برابر ۶/۴، ۱۲/۴ و ۱۸/۸ میلی‌اکی والان هیدروپراکسید بر کیلوگرم روغن مشخص شد که غلظت ۵۰۰ پی پی‌ام مقدار اندیس پراکسید در طول ۲۴،۴۸ و ۷۲ ساعت نگه داری در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد برابر ۵/۴، ۱۱/۶و۱۷/۲میلی‌اکی‌والان

هیدروپراکسید بر کیلوگرم روغن ، همچنین عصاره های ۶۰۰ و۷۰۰ پی پی ام پایداری اکسایشی بالاتری نسبت به آنتی اکسیدان‌سنتزی BHT در غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام داشت(شکل۳). که با نتایج سینگ و همکاران در سال ۲۰۰۶ مطابقت داشت(۵۲). در تحقیقاتی مشابه احمدی و همکاران (۲۰۰۷) اثر عصاره متانولی کرفس کوهی را در به تأخیر انداختن اکسیداسیون روغن آفتابگردان مورد بررسی قرار دادند. طبق نتایج آنها تیمار حاوی غلظت بیشتر عصاره به همراه آنتی اکسیدان سنتزیBHT، کمترین اندیس پراکسید را در روزهای مختلف از خود نشان داد(۱۶). کمالی روستا و همکاران (۱۳۹۰) نیز با استخراج عصاره دارچین و بررسی تأثیر آن بر پایداری روغن آفتابگردان عنوان کردند که در تیمارهای روغن آفتابگردان حاوی عصاره های استونی و متانولی، با افزایش غلظت عصاره ها اندیس پراکسید این تیمار ها در همه روزها مقاومت بیشتری در مقابل افزایش نشان داد. در بین همه تیمارهای روغن آفتابگردان در تمام روزها، نمونه روغن‌آفتابگردان حاوی ۰/۰۱ درصد TBHQ کمترین پراکسید را داشت و بعد از آن به ترتیب، تیمار حاوی ۰/۱ درصد عصاره استونی، و تیمار حاوی ۰/۱ درصد عصاره متانولی قرار داشتند. نمونه شاهد، بالاترین اندیس پراکسید را در تمام روزها دارا بود (۱۴). اسماعیل زاده و مهدی پوردرسال۱۳۹۱ نشان دادند که افزودن عصاره پوست کیوی در غلظت‌های ۴۰۰ ، ۸۰۰ پی پی ام و آنتی اکسیدان سنتزی در غلظت۱۰۰ پی پی ام در مراحل اولیه نگهداری منجر به تفاوت معنی‌داری در عدد پراکسید نمونه‌های روغن نشده بودند اما با گذشت زمان از اثر آنتی اکسیدانی غلظت ۴۰۰ پی‌پی‌ام عصاره پوست کیوی کاسته شد. اما غلظت ۸۰۰ پی‌پی‌ام به لحاظ کاهش شاخص اندیس پراکسید (محصولات اولیه اکسیداسیون) قابل مقایسه و حتی بهتر از آنتی اکسیدان سنتزی (BHT) عمل نموده است(۱). در کاری مشابه طاهانژاد و همکاران در بررسی اثر آنتی اکسیدانی عصاره پنیرک در روغن سویا با غلظت های ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ ، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام و همچنین آنتی اکسیدان سنتزی BHTو BHA در دو سطح۱۰۰ و ۲۰۰ پی پی ام در روغن سویا اعلام کردند که در تست پراکسید در غلظت های ۴۰۰ و ۸۰۰ پی پی ام بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی را داشته و معادل با آنتی اکسیدان سنتزی BHA در هر دو سطح غلظتی ۱۰۰ و ۲۰۰ پی پی‌ام عمل کرده است ولی نسبت به آنتی اکسیدان BHT در هر دو سطح بهتر عمل نموده است(۹). شهسواری و همکاران درسال ۱۳۸۷ فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس آویشن را در روغن خام سویا در شرایط دمایی تسریع یافته (۶۰ درجه سانتی گراد) به مدت ۳۲ روز با کنترل دو اندیس پراکسید و تیوباربیتوریک اسید بررسی نمودند. نتایج بررسی ها نشان داد که این اسانس در سطح غلظتی ۰/۱ درصد دارای اثر آنتی اکسیدانی معادل با آنتی اکسیدان سنتزی (BHA) در غلظت ۰/۰۲ درصد است(۷). نتایج بدست آمده با تحقیقات دیگر محققان رفیعی و همکاران (۱۳۹۰)، آرماندو و همکاران (۱۹۹۸)، کریم‌خانی (۱۳۸۸)، سلیمانیان و همکاران (۱۳۹۲)، سینگ و همکاران در سال ۲۰۰۶وبصیری و همکاران (۱۳۹۱) مطابقت دارد(۲،۴،۶،۱۳،۲۱و۴۶).



شکل۳- تعامل زمان ، غلظت های مختلف عصاره وآنتی اکسیدان سنتزی BHT بر شاخص پراکسید روغن سویا نگه داری شده درآون ٦٥ درجه سانتی گراد

۳-۳-۲- اندیس اسیدیته

چربی های خوراکی اعم از حیوانی و نباتی دارای مقدار معین و جزیی اسید چرب آزاد هستند ولی ممکن است در اثر عوامل فساد و رخ دادن واکنش هیدرولیز، این مقدار از حد معین تجاوز نماید. بنابراین اندیس اسیدی و اسیدیته از جمله شاخص‌هایی می باشند که به ما در تشخیص وجود فساد در روغن‌ها و چربی‌ها کمک می‌نمایند. اسیدیته روغن ها و چربی‌های خوراکی غالبا بر حسب اسیداولئیک اندازه گیری می شود و با هدف بررسی پیشرفت فساد هیدرولیکی روغن انجام می شود(۱). تغییرات اندیس اسیدی روغن سویا در طی نگهداری در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد در شکل (۴) ارائه شده است. همان طور که مشاهده می‌شود نمونه‌های روغن حاوی ۷۰۰پی پی ام عصاره برگ گیاه کرچک و آنتی‌اکسیدان سنتزی (BHT) دارای کمترین مقدار عدد اسیدی و نمونه شاهد و نمونه‌های حاوی ۲۰۰پی پی ام عصاره برگ گیاه کرچک دارای بیشترین مقدار اندیس اسیدی بودند ($p<۰/۰۵$). همچنین در نمونه‌های روغن حاوی ۷۰۰پی پی ام عصاره و آنتی‌اکسیدان سنتزی (BHT) با افزایش زمان نگهداری اندیس اسیدی روند افزایشی داشت به طوری که بالاترین مقدار آن درنمونه شاهد و نمونه روغن حاوی ۲۰۰ پی پی‌ام غلظت عصاره برگ گیاه کرچک و مربوط به روز سوم و پایین ترین مقدار اندیس اسیدی در نمونه روغن حاوی ۷۰۰پی‌پی‌ام غلظت عصاره برگ گیاه کرچک و مرتبط به روز اول مشاهده شد و نمونه روغن حاوی ۷۰۰پی پی‌ام عصاره برگ گیاه کرچک در مقایسه با نمونه روغن حاوی آنتی اکسیدانی سنتزی BHT از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری داشتند.($p<۰/۰۵$)، که با نتایج اسماعیل‌زاده و مهدی پور در سال۱۳۹۱ عیوقی و همکاران در سال ۱۳۸۸ مطابقت داشت(۱۰،۱). طبق تعریف میلی گرم هیدروکسیدپتاسیم لازم برای خنثی کردن یک گرم از اسیدهای چرب ازاد موجود در روغن را عدد اسیدی می نامند که در صورت عدم رعایت شرایط بهینه در استخراج و نگهداری روغن مقدار عددی آن افزایش می یابد (۳۵). بنابراین می‌توان گفت که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به طور مستقیم بر تغییرات اسیدیته روغن موثر نیست زیرا افزایش اسیدیته روغن بیشتر مربوط به شرایط نامناسب نگهداری روغن از نظر دما، رطوبت و اکسیژن می‌باشد. اما واضح است که افزایش فساد اکسیداتیو روغن می‌تواند در افزایش اسیدیته آن نیز موثر باشد، بنابراین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با جلوگیری از تشکیل رادیکال های آزاد و افزایش سرعت تشکیل پراکسیدها می تواند در کاهش

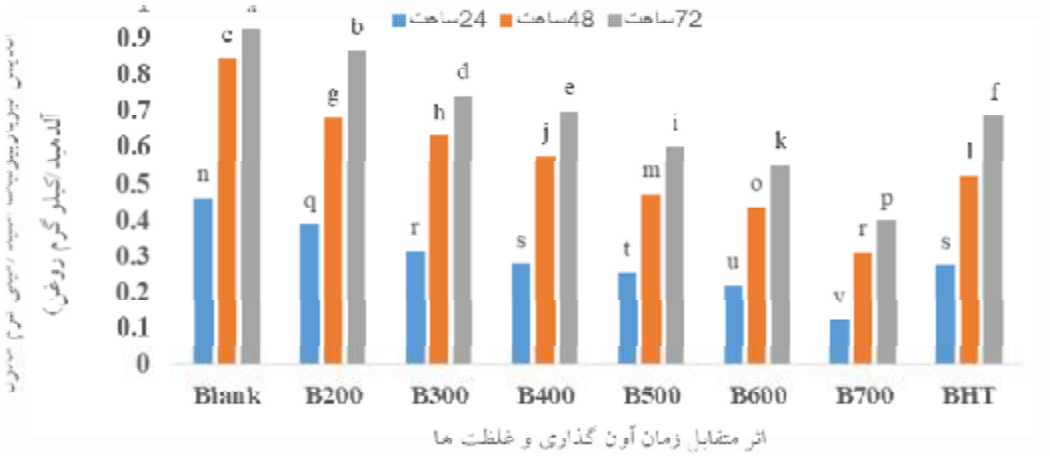
سرعت اسیدیته روغن در طول زمان نگهداری موثر باشد. احتمالا وجود ترکیبات فنولی در غلظت۱۰۰۰پی پی ام عصاره برگ کرچک باعث خنثی کردن رادیکال‌های آزاد اسید چرب و رادیکال‌های پروکسی شده که در نهایت منجر به کاهش اکسیداسیون می گردند. نتایج این تحقیق مطابق با رباباح و همکاران درسال ۱۹۸۹ بود. طاهرنژاد و همکاران درسال ۱۳۹۰تاثیر افزودن اسانس اسطوخودوس در غظت‌های (۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ پی پی ام) به روغن خام سویا را بررسی نمودند و مشاهده کردند که اسانس اسطوخودوس فعالیت آنتی اکسیدانی معادل با آنتی اکسیدان سنتزی BHT دارا بودند که به علت وجود ترکیبات فنولی در اسانس اسطوخودوس می‌باشد(۸).

شکل ٤-تعامل زمان بر میزان اندیس اسیدیته روغن سویا نگه داری شده در آون ٦٥ درجه سانتی گراد وتاثیر غلظت های مختلف عصاره گیاه کرچک ، آنتی اکسیدان BHT

۳-۳-۳- شاخص تیوباربیتویک اسید(TBA)

ترکیبی تحت عنوان مالون دی آلدئید در اثر اتواکسیداسیون اسیدهای چرب دارای سه و یا تعداد بیشتری باند دوگانه به وجود می آید که این ترکیب در مقادیر بسیار کم به عنوان معرف جهت اکسیداسیون چربی ها به کار می رود. محصولات اکسیداسیون چربی های غیر اشباع با تیوباربیتوریک اسید (TBA) ایجاد کمپلکس قرمز رنگ می کنند که این کمپلکس در طول موج ۵۳۵-۵۳۲ نانومترجذب خوبی دارد (۳). اندیس TBA میلی‌گرم مالون دی آلدئید موجود در یک کیلوگرم روغن را نشان می دهد و بیانگر مراحل ثانویه اکسیداسیون چربی وحضور ترکیبات ثانویه اکسیداسیون در نمونه است بنابراین بالا بودن این اندیس در روغن نشان دهنده اکسیداسیون بیشتر روغن و در نتیجه پایداری کمتر آن است (۱۱). نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تغییرات اندیس TBA روغن سویای نگهداری شده در آون با دمای ۶۵ درجه سانتیگراد بطور معنی داری تحت تاثیر عصاره برگ گیاه کرچک و آنتی اکسیدان سنتزی BHT قرار گرفت ($p<۰/۰۵$). نتایج مقایسه میانگین اندیس TBA حاصل از اثر غلظت های مختلف عصاره و آنتی اکسیدان BHT در شکل۶ نشان داده شده است. طبق نتایج، مقدار اندیس TBA نمونه ها در تیمار ثابت با افزایش زمان نگهداری نمونه‌ها در شرایط اکسیداسیون، مقادیر اندیس تیوباربیتوریک اسید نمونه‌ها افزایش یافت. در همه روزها نمونه شاهد بالاترین مقدار عدد TBA را دارا بود و تیمار حاوی ۲۰۰ پی پی‌ام عصاره برگ گیاه کرچک در مرتبه بعدی قرار داشت. همانطور که در شکل۵ مشاهده می‌شود در روزهای ابتدایی مقدار این اندیس بسیار پایین است، زیرا این اندیس در اثر

تجزیه هیدروپراکسیدهای تشکیل شده در روزهای اول و تبدیل آن‌ها به آلدئیدها و کتون افزایش می‌یابد. در نتیجه با پیشرفت روزهای آزمایش و در روزهای پایانی مقدار این اندیس بیشتر افزایش میابد. همان طور که مشاهده می شود، اثر تیمارها نسبت به نمونه شاهد معنی‌دار بوده است. بیشترین میزان عدد تیوباربیتوریک اسید در تمامی روزها متعلق به نمونه شاهد بود بطوریکه پس از سه روز نگهداری روغن سویا در دمای ۶۵ درجه مقدار این اندیس از میزان اولیه ۰/۴۶ بعد از ۲۴ ساعت آون گذاری تا مقدار ۰/۹۳ میلی گرم مالون آلدئید بر کیلوگرم روغن افزایش یافت.از آنجائیکه مالون آلدئید از تجزیه هیدروپراکسیدها حاصل میگردد. بیشترین توانایی در جلوگیری از تشکیل محصولات ثانویه اکسیداسیون توسط تیمار ۷۰۰ پی پی ام عصاره برگ گیاه کرچک اعمال گردید به طوری که مقدار این اندیس در نمونه های تحت این تیمار در طول سه روز نگهداری به ترتیب برابر ۰/۱۲، ۰/۳۱ و ۰/۳۹۹ میلی گرم مالون آلدئید بر کیلوگرم بدست آمد . این در حالی بود که مقدار اندیس TBA برای غلظت‌های ۲۰۰،۳۰۰،۴۰۰،۵۰۰ و ۶۰۰ پی پی ام عصاره پس از ۷۲ ساعت نگهداری در آون۶۵۰ درجه سانتیگراد به ترتیب برابر ۰/۶، ۰/۷، ۰/۷۴، ۰/۸۷و ۰/۵۵ میلی گرم مالون آلدئید بر کیلوگرم بود. این نتایج نشان میدهد که در روزهای پایانی آزمایش، تشکیل محصولات ثانویه اکسیداسیون با سرعت بیشتری صورت میگیرد و مقدار زیادی از پراکسیدهای تشکیل شده در مراحل اولیه طی روزهای پایانی آزمایش، تجزیه و به مالون آلدئید تبدیل شده‌اند.با بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ گیاه کرچک در غلظت های مختلف و مقایسه آن با اثر آنتی اکسیدان سنتزی BHT در غلظت۲۰۰ پی پی ام، این نتیجه حاصل شد که هر چند این آنتی اکسیدان سنتزی توانست به مقدار قابل توجهی با جلوگیری از واکنش اکسیداسیون منجر به کاهش معنی داری در اندیس TBA نسبت به نمونه شاهد و غلظت های ۲۰۰،۳۰۰ و۴۰۰ پی پی ام شد ولی نسبت به تیمارهای ۶۰۰،۵۰۰و۷۰۰ پی پی ام قدرت آنتی اکسیدانی ضعیف تری داشت در نتیجه اندیس TBA آن بالاتر بود (شکل۶). همانطور که مشاهده شد، توانایی آنتی‌اکسیدان ها در مهار اکسیداسیون وابسته به غلظت بود. اگرچه در روزهای ابتدایی اختلاف بین غلظت های مختلف هر عصاره چندان محسوس نبود، اما با گذشت زمان نمونه‌های روغن حاوی مقادیر بیشتری از عصاره یا آنتی‌اکسیدان سنتزی ثبات اکسیداتیو بیشتری نشان دادند. افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی در نتیجه افزایش غلظت را می توان به افزایش تعداد جایگاه‌های فعال این ترکیبات برای واکنش با رادیکال های آزاد نسبت داد. نتایج به دست آمده در میزان مهار اکسیداسیون روغن با نتایج آزمون های مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد، احیاءکنندگی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل مطابقت داشت. نتایج شهیدی و بهانگر (۲۰۰۷) در بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره سیر با نتایج این پژوهش همسو بود(۴۸). نتایج مشابه توسط کریم‌خانی در مطالعهٔ فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ گل گیاه گلرنگ مشاهده شد(۱۳). سلیمانیان و همکاران در مطالعه‌ای اذعان نمودند که با افزایش غلظت عصارهٔ ولیک مقدار شاخص اسید تیوباربیتوریک کاهش می‌یابد که به نتایج این پژوهش مطابقت دارد(۶).



شکل ۵- تعامل زمان بر مقدار شاخص TBA روغن سویا نگه داری شده در آون ٦٥ درجه سانتی گراد و تاثیر غلظت های مختلف عصاره ، آنتی اکسیدان BHT

۳-٤-اثر ضدمیکروبی و ضدقارچی عصاره برگ گیاه کرچک

گیاهان انواع مختلفی از مواد زیست فعال تولید می‌کنند که آن‌ها را به عنوان یک منبع غنی از مواد دارویی معرفی می‌کند (۵۶). مطالعات انجام شده در دنیا بیانگر آن است که عصاره بسیاری از گیاهان توانایی مهار رشد میکروارگانیسم‌ها را دارد و به این لحاظ گیاهان به عنوان عوامل ضد میکروبی کاربردهای زیادی پیدا نموده‌اند. در پژوهش حاضر اثر ضد میکروبی عصاره برگ گیاه کرچک بررسی شد. برای این منظور چند سویه باکتری گرم مثبت و منفی و همچنین کپک آسپرژیلوس نایجر انتخاب و اثر غلظت های مختلف عصاره مذکور در جلوگیری از رشد این میکروارگانسیم ها بررسی شد و در نهایت با اثر چند آنتی‌بیوتیک استاندارد به عنوان نمونه شاهد مقایسه گردید. نتایج اثر غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه کرچک و همچنین آنتی بیوتیک های کلرامفنیکل (در غلظت 30µg/disc)، آمپلی‌سیلین (در غلظت 10µg/disc)، جنتامایسین (در غلظت 10µg/disc) و کانامایسین (در غلظت 30µg/disc) به عنوان استاندارد مثبت بر باکتری های استافیلوکوکوس ارئوس، لیستریا مونوسیتوژنز، اشریشیا کلی، باسیلوس سرئوس و کپک آسپرژیلوس نایجر به صورت کمی و با اندازه گیری قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی متر) در جدول(۲) آورده شده است.

جدول۲- نتایج اثر مهاری غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه کرچک بر روی میکروارگانیسم ها وآنتی بیوتیک های مورد مطالعه

قطر هاله عدم رشد (mm)					غلظت ها(ppm)
A.niger	*Bacillus cereus* (G^+)	*E.coli* (G^-)	*L. monocytogenes* (G^+)	*S.aureus* (G^+)	
-	-	4.82±0.1	5.92±0.2	5.42±0.25	B200
-	-	7.39±0.25	7.25±0.25	7.87±0.25	B300
-	-	8.84±0.4	8.92±0.1	8.73±0.25	B400
-	-	9.12±0.2	9.35±0.5	9.24±0.5	B500
-	-	9.38±0.3	9.92±0.4	9.85±0.3	B600
-	-	9.69±0.3	10.87±0.3	10.54±0.3	B700
27.29±0.9	24.98±0.4	23.01±0.7	20.98±0.15	22.67±0.4	Chloramphenicol
24.68±0.65	-	-	19.35±0.3	-	Ampicillin
25.89±0.5	18.88±0.5	20.59±0.3	17.9±0.25	16.01±0.6	Gentamycin
25.06±0.3	19.13±0.35	21.93±0.5	18.01±0.5	14.97±0.2	Kanamycin

نتایج اثر غلظت های مختلف عصاره بر جلوگیری از رشد باکتری استافیلوکوکوس ارئوس نشان داد که بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به غلظت ۷۰۰ پی پی ام بود که برابر۱۰/۵۴ میلی‌متر می‌باشد. با افزایش غلظت عصاره نیز خاصیت ضدمیکروبی آن افزایش یافت به طوری که با افزایش غلظت عصاره از ۲۰۰ تا ۷۰۰ پی پی ام قطر هاله عدم رشد حدود۵ میلی‌متر بیشتر شد. با مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره با آنتی‌بیوتیک های استاندارد به عنوان نمونه‌های شاهد نیز مشخص شد که آنتی بیوتیک آمپی‌سیلین تاثیری بر این میکروارگانیسم نداشت ولی سایر آنتی بیوتیک ها اثر ضدمیکروبی بیشتری نسبت به عصاره داشتند. در بین آنتی‌بیوتیک های استاندارد هم بیشترین تاثیر مربوط به کلرامفنیکل با قطر هاله عدم رشدی برابر ۲۷/۲۹ میلی متر بود. سمنانی و همکاران (۱۳۸۶) با بررسی و مقایسه اثر ضدمیکروبی عصاره های متانولی چند گونه گیاه از جنس‌های Phlomis و Stachys بر باکتری های S.aureus ، E.coli و چند باکتری دیگر به این نتیجه رسیدند که تاثیر غلظت های مختلف (۱۰-۱۰۰۰ µg/ml) عصاره های این دو واریته گیاهی بر باکتری های گرم مثبت بیشتر از انواع گرم منفی بود در حالی که در هیچ غلظتی بر قارچ‌های کاندیدا آلبیکنز (C.albicans) و آسپرژیلوس نایجر (A.niger) اثر بازدارندگی نداشتند. در نهایت این محققین بیان داشتند با توجه به نتایج حاصل، گیاهان مذکور تاحدی دارای اثرات ضدمیکروبی بوده ولی فاقد اثر ضدقارچی می باشند (۴۶). در مورد اثر عصاره برگ گیاه‌کرچک بر باکتری‌های L. monocytogenes و E.coli نیز روند مشابهی به دست آمد بدین معنی که با افزایش غلظت قطر هاله عدم رشد افزایش یافت. بدین ترتیب در مورد E.coli قطر هاله از مقدار۴/۸۲ میلی متر در غلظت ۲۰۰ پی پی ام عصاره تا مقدار ۹/۶۹ میلی متر در غلظت ۷۰۰ پی پی ام افزایش یافت، در حالی که در مورد باکتری L.monocytogenes قطر هاله به ترتیب۵/۹۲ میلی متر برای غلظت۲۰۰ پی پی ام و ۱۰/۸۷ میلی‌متر برای غلظت۷۰۰ پی پی ام بدست آمد که نشان دهنده تاثیر بیشتر عصاره بر L.monocytogenes می باشد. با بررسی اثر آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد به عنوان نمونه‌های شاهد مشخص شد که در مورد این دو باکتری نیز اثر این آنتی بیوتیک ها در افزایش قطر هاله عدم رشد بیشتر از عصاره می باشد. همان‌طور که در جدول (۲) مشاهده می‌شود آمپلی‌سیلین بر باکتری گرم منفی E.coli نیز مانند استافیلوکوکوس آرئوس تاثیری نداشته است ولی در

جلوگیری از رشد لستریا مونوسیتوژنز بسیار موثر واقع شده است و قطر هاله ای برابر ۱۹/۳۵ میلی متر ایجاد کرده است که نسبت به عصاره و همچنین جنتامایسین و کانامایسین موثرتر می باشد. نتایج همچنین نشان داد که عصاره برگ گیاه کرچک در هیچ کدام از غلظت های مورد آزمون تاثیری بر جلوگیری از رشد باکتری گرم مثبت Bacillus cereus و کپک A.niger نداشته است و عملا هیچ هاله عدم رشدی در محیط کشت‌های حاوی این میکروارگانیسم‌ها مشاهده نگردید (جدول۱). این در حالی بود که با مقایسه آنتی بیوتیک های استاندارد مشخص شد که این ترکیبات اثرات ضد میکروبی و ضد قارچی قابل توجهی بر جلوگیری از رشد این دو میکروارگانیسم داشتند به استثنا این‌که آمپلی‌سیلین تاثیری بر Bacillus cereus نداشت. با توجه به نتایج حاصل می توان استنباط کرد که در بین آنتی‌بیوتیک های استاندارد بیشترین تاثیر مربوط به کلرامفنیکل بود که قطر هاله عدم رشد ناشی از اثر این ترکیب برای میکروارگانیسم‌های استافیلوکوکوس ارئوس، لیستریا مونوسیتوژنز، اشریشیا کلی، باسیلوس سرئوس و کپک آسپرژیلوس نایجر به ترتیب برابر ۲۲/۶۷، ۲۰/۹۸، ۲۳/۰۱، ۲۴/۹۸ و ۲۷/۲۹ میلی متر به دست آمد و کم‌ترین تاثیر نیز به آنتی‌بیوتیک آمپلی‌سیلین تعلق داشت چرا که در بین ۵ میکروارگانیسم مورد آزمون فقط بر دو میکروارگانیسم موثر بود که البته خاصیت ضدمیکروبی مناسبی بر لیستریا مونوسیتوژنز و کپک آسپرژیلوس نایجراز خود نشان داد و قطر هاله عدم رشد آن برابر ۱۹/۳۵ و ۲۴/۶۸ میلی‌متر به دست آمد. با بررسی نتایج حاصل از تاثیر عصاره بر میکروارگانیسم های مورد آزمون نیز مشخص شد که بیشترین تاثیر عصاره بر باکتری گرم مثبت لیستریا مونوسیتوژنز می باشد به طوری که در غلظت ۷۰۰ پی پی ام هاله عدم رشد با قطر ۱۰/۸۷ میلی‌متر ایجاد شد در حالی که تاثیر همین غلظت از عصاره بر استافیلوکوکوس ارئوس و اشریشیاکلی کمتر بود و به ترتیب هاله هایی با قطر ۱۰/۵۴ و ۹/۶۹ ایجاد نمودند.

یکی از ویژگی‌های مهم عصاره‌های گیاهی مرتبط با خاصیت آب‌گریزی آن ها است که عصاره‌های گیاهی را قادر می‌سازد تا با پیوند روی لایه لیپیدی غشاء سلولی باکتری ها و میتوکندری آن‌ها باعث پاره شدن غشاء سلولی و خروج مولکول ها و یون های مهم باکتری به خارج از سلول و در نهایت مرگ باکتری می‌گردد. نتایج حاصل از آزمایشات کارسون و همکاران در سال ۲۰۰۲ نیز بیانگر این بود که بین ترکیبات پلی فنلی با اثر ضد میکروبی گیاهان ارتباط وجود دارد (۲۸). در تحقیقاتی مشابه سحر خیز و همکاران در سال ۲۰۰۷ اثر ضد باکتریایی اسانس گیاه بابونه گاوی گل سفید را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این تحقیق نشان داد که خواص ضدمیکروبی مربوط به ترکیبات اصلی اسانس گیاه علی الخصوص کامفور و همچنین نقش سینرژیستی که با این ترکیبات دارند، است (۵۸). ناظمی و همکاران (۱۳۸۴) نیز در مطالعه خود گزارش دادند که عصاره آبی گلپر ایرانی فاقد اثر ضدمیکروبی علیه میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه بود، در حالی که عصاره متانولی بر روی رشد ۵ گونه باکتریایی از جنس‌های باسیلوس، استرپتوکوکوس، انتروکوکوس ونوکاردیا اثر مهارکنندگی داشت. این محققین بیان داشتند عصاره متانولی گلپر ایرانی شامل مواد ضدمیکروبی با اثرات ضدباکتریایی است، بنابراین می توان تحقیقاتی در مورد استفاده از آن در درمان بیماران عفونی انجام داد (۳۷و۴۰). ساعتچی و همکاران (۲۰۰۸) نیز تاثیر ضد قارچی و آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اتانولی بادرنجبویه و سنبل الطیب را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره‌های مورد آزمایش دارای اثر ضد قارچی بالایی هستند و این اثر را ناشی از غلظت بالای کریوفیلن و کاریوفیلن اکسید دانستند و همچنین بیان کردند که ترکیبات شیمیایی عصاره‌ها از قبیل هیدروکربن های مونوترپن اثر حفاظتی قابل مشاهده دارند (۴۲و۴۹).

٤- نتیجه گیری

در این تحقیق میزان کل ترکیبات فنولی عصاره تخم طالبی تعیین گردید. در بررسی ویژگی‌های آنتی اکسیدانی عصاره برگ گیاه کرچک با غلظت‌های ۷۰۰-۲۰۰ پی پی ام در مقایسه با آنتی اکسیدان سنتزی BHT با غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام، بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی با اندازه گیری فعالیت مهار کنندگی رادیکال های آزاد (DPPH) به غلظت ۷۰۰ پی‌پی‌ام عصاره تعلق داشت .فعالیت آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف عصاره در روغن سویا توسط آزمون گرمخانه‌گذاری (اکسیداسیون تسریع یافته) مورد ارزیابی قرار گرفت و اندیس پراکسید، شاخص تیوباربیتوریک اسید و اندیس اسیدیته به عنوان شاخص مهار اکسیداسیون اندازه‌گیری گردید. طبق نتایج مشخص شد که تمامی غلظت‌های عصاره باعث مهار اکسیداسیون گردید ولی بیشترین مهار اکسیداسیون‌روغن سویا در غلظت ۶۰۰ پی پی ام عصاره مشاهده شد به‌طوری که مهار اکسیداسیون ثانویه غلظت ۷۰۰ پی پی ام عصاره از آنتی اکسیدان سنتزی BHT نیز بیشتر بود. میتوان نتیجه گرفت که عصاره برگ گیاه کرچک به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی، توانایی واکنش با رادیکالهای حاصل از اکسیداسیون لیپیدها را داشته و موجب قطع واکنش‌های زنجیری، کاهش زمان اکسیداسیون و کاهش سرعت اکسیداسیون خودبه خودی می‌شود و می‌توان عصاره برگ گیاه کرچک را به عنوان منبعی از آنتی اکسیدان های طبیعی برای جلوگیری از اکسیداسیون روغن‌ها و غذاهای حاوی روغن جایگزین آنتی اکسیدان سنتزی BHT نمود. طبق نتایج مشخص شد که عصاره برگ گیاه کرچک خاصیت ضد میکروبی بر باکتری های استافیلوکوکوس ارئوس، لیستریا مونوسیتوژنز و اشریشیا کلی داشت و با افزایش غلظت عصاره بر میزان قطر هاله عدم رشد افزوده گردید. در حالی که هیچ یک از غلظت ها بر قارچ آسپرژیلوس نایجر تاثیری نداشت و هاله ای تشکیل نشد. همچنین مشخص شد که اثر عصاره برگ گیاه کرچک بر باکتری های گرم مثبت تاثیر بیشتری نسبت به گرم منفی ها داشت. با مقایسه اثر عصاره مذکور با آنتی بیوتیک های استاندارد نیز مشخص شد که اثر آنتی بیوتیک‌ها قوی تر از عصاره برگ کرچک البته در غلظت های به کار رفته (ppm ۷۰۰ -۲۰۰) بود. در مجموع نتایج نشان داد که عصاره برگ گیاه کرچک شامل مواد ضدمیکروبی با اثرات ضدباکتریایی به ویژه بر انواع گرم مثبت بوده ولی فاقد اثر ضدقارچی می باشند. به منظور کاربرد بالینی این عصاره انجام تحقیقات بالینی ضروری است.

٥-منابع

۱. اسماعیل زاده کناری، ر.، مهدی پور، س. ز. ۱۳۹۱. اثر آنتی اکسیدانی عصاره متانولی پوست کیوی در پایداری روغن آفتابگردان، نشریه *پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران*. جلد۸، ۲۵۰- ۲٤٥.

۲. بصیری، ع. تهامی، ف. غیاثی طرزی، ب و مهستی، پ.۱۳۹۱. بررسی اثر آنتی اکسیدانی عصاره دانه رازیانه (Foeniculum vulgare) بر پایداری روغن آفتابگردان، *علوم غذایی و تغذیه*، سال دهم، شماره ۱.

۳. حداد خداپرست، م، ح. ۱۳۷۳. تکنولوژی روغن های خوراکی، نشر مولف، مشهد.

٤. رفیعی،ز.، جعفری، م.، اعلمی، م.، خمیری، م. ۱۳۹۰. ویژگی های آنتی اکسیدانی عصاره برگ زیتون و کاربرد آن در روغن آفتابگردان، *مجله پژوهش های صنایع غذایی*، جلد ۲۱، شماره۱.

٥. رضوانی مقدم، پ.، برومند رضازاده، ز.، محمد آبادی، ع. ا.، شریف، ع. ۱۳۸۷. اثر تاریخ کاشت و تیمارهای مختلف کودی بر عملکرد ،اجزاء عملکرد و درصد روغن دانه گیاه کرچک، *مجله پژوهشهای زراعی ایران*، جلد ٦، شماره ۲.

٦. سلیمانیان، ش.، صادقی ماهونک، ع. ر.، اعلمی، م.، قربانی، م. ۱۳۹۲. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره میوه ولیک در پایدارسازی روغن سویا. نشریه *پژوهشهای صنایع غذایی*، دوره۲۳، شماره۲، ۲۰۹-۱۹۹.

۷. شهسواری، ن. برزگر، م. سحری، م. نقدی بادی، ح. پاییز. ۱۳۸۷. بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس گیاه آویشن شیرازی (zataria multiflora Boiss) در روغن سویا. *فصلنامه گیاهان دارویی*، سال هفتم، دوره چهارم، شماره مسلسل بیست و هشتم.

۸. طاها نژاد، م. ۱۳۸۸. کاربرد اسانس اسطوخودوس و عصاره پنیرک به عنوان آنتی اکسیدان های طبیعی درروغن خام سویا. پایان نامه دوره کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس.

۹. طاهر نژاد، م.، برزگر، م .ع.، نقدی بادی، ح. ۱۳۹۱. ارزیابی فعالیت آنتی رادیکالی عصاره ی پنیرک(Malva sylvestris L) و کاربرد آن در سامانه روغن، *فصلنامه گیاهان دارویی*، جلد۱۱، شماره۲، ۹۷-۸٦.

۱۰. عیوقی، ف.، برزگر بفرویی، م.، سحری، م.، نقدی بادی، ح.. ۱۳۸۸. بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس شوید در روغن سویا و مقایسه آن با آنتی اکسیدانهای شیمیایی، *مجله گیاهان دارویی*، جلد۳۰ ، ۷٤ – ۷۱.

۱۱. قره خانی، م.، قربانی، م.، قره خانی، ا.، صادقی ماهونک، ع. ر.، جبرائیلی، ش. و قاسمی، ی. ۱۳۸۹. اثر عصاره های پوست و گوشت میوه پرتقال تامسون با پایههای مختلف در جلوگیری از اکسیداسیون روغن سویا. *فصلنامه گیاهان دارویی*، سال دهم، دوره دوم، شماره مسلسل ۳۸.

۱۲. قوامی، م، قراچورلو، م. وغیاثی طرزی، ب. ۱۳۸۷. تکنیک های آزمایشگاهی روغن ها و چربی ها،دانشگاه ازاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات ، تهران، ۲۳۰صفحه.

۱۳. کریم‌خانی، م. م. ۱۳۸۸. ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی عصارهٔ گل گیاه گلرنگ. پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار.

۱٤. کمالی روستا، ل.، قوامی، م.، قراچورلو، م.، عزیزی نژاد، ر. ۱۳۹۰. استخراج عصاره دارچین و بررسی تاثیر آن بر پایداری روغن آفتابگردان، *مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران*. ۱، ۲۲-۱۳.

۱۵. ناصری، ف. ۱۳۷۵. دانه های روغنی. (ترجمه). موسسه چاپ و انتشارات آستان قدس رضوی.

16. Ahmadi, F., Kadivar, M. and Shahedi, M. 2007. Antioxidant activity of Kelussia odoratissima Mozaff. in model and food systems. *Food Chemistry*, 105(1):57-64.
17. Alothman, M., Bhat, R. and Karim, A. A. 2009. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry*, 115: 785–788.
18. Ames, B. M. 1983. Dietry carcinogens and anticarcinogenes Oxygen radical and degenerative disease. *Sci*. 221: 1256 - 63.
19. Amjad, L., Mohammadi Kamalabadi, M., Mohammadi Sichani, M. 2012. The antibacterial activity of methanol extract of Yarrow leaf and flower. *journal of Medical Sciences University of Qom*,5(3):50-56
20. AOAC. 2000. Official methods of analysis (17th ed.). Washington,DC: Association of Official Analytical Chemists (Methods 37.1.12).
21. Armando, C., Maythe, S. and Beatriz, N. P. 1998. Antioxidant activity of

Grapefruit seed extract on vegetableb oils. *J. Sci. Food Agric*, 463-467.
22. Beg, A.Z. and Ahmad, I. 2000. Effect of Plumbago zeylanica extract and certain curing agents on multidrug resistant bacteria of clinical origin. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 16(8-9): 841-844.
23. Buhner, S.H. 1999. Herbal Antibiotics Natural Alternatives for treating Drug-Resistant Bacteria. 1st ed., North Adams: Storey Publishing, LLC, pp: 8-20.
24. Burits, M., Bucar, F. 2000. Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil. *Phytotheraphy Research*, 14:323–328.
25. Carson, C.F., Mee, B.J. and Riley, T.V. 2002. Mechanism of action of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil on Staphylococcus aureus determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(6): 1914-1920.
26. Castor Oil Plant. Available from:http://iranlants.com. html. 4.3.2014.
27. Chatchawan, C., Soottawat, B., Jakul, H., Nattiga, S. 2008. Antioxidant components and properties of five long-grained rice bran extracts from commercial available cultivars in Thailands. *Food Chem*,111 (3): 636-641.
28. Choilt, O. 1988. Reports of the crop experimental station (special crops). Suwan, Korea.
29. Deng,Y, et al. 2014. Influences of ripening stages and extracting solvents on the polyphenolic compounds, antimicrobial and antioxidant activities of blueberry leaf extracts, *Journal of Food control*, 38:184-191.
30. Doan, L. G. 2004. Ricin: mechanism of toxicity, clinical manifestations, and vaccine development. *Clinical Toxicology*, 42(2): 201-208.
31. Frankel, E.N. 1984. Chemistry of Autoxidation: Mechanism Products, and flavor, significance: 1-37.
32. Golluce, M., Sahin, F., Sokmen, M., Ozer, H., Daferera, D., Sokmen, A., Polissiou, M., Adiguzel, A., Ozken, H. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from Mentha longifolia L. ssp. longifolia. *Food Chem*, 103: 1449-1456.
33. Jayaprakasha, G. K. 2003. Antibacterial and antioxidant activities of grape (Vitis vinifer) seed extracts. *Food Research International*, 117-122.
34. Liu, Q. and Yao, H. 2007. Antioxidant activity of barley seeds extracts. Food Chemistry, 102: 732-737.
35. Marter, A. D. 1981. Castor: Markets, Utilization and Prospects. Trop. Prod. *Inst*, 152: 55-78.
36. McKeon, TA., Chen, GQ., Lin, JT. 2000. Biochemical aspects of castor oil biosynthesis. *Biochem Soc Trans*, 28: 972–74.
37. Nazemi, A., Hashemi, M., Khataminezhad, M.R., Purshamsian, K. 2006. The first study of antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of Heracleum persicum herb. *The medical sciences journal of Islamic Azad University*, 15(2):91-94.
38. Ogunniyi, D. S. 2006. Castor oil: A vital industrial raw material. *Bioresour Technol*. 97:1086-1091.
39. Puchard, N. A. and Kelly, F. J. 1996. Free radical approach. Unites state: Oxford university press, pp. 101-131.
40. Robards, K., Kerr, A. and Patsalides, E. 1988. Rancidity and its measurement in edible oils and snack foods. A Review Analyst, 113: 213 - 24.
41. Roxas-Duncan, VI., Smith, LA. 2012. Ricin perspective in bioterrorism. In: Morse SA, Editor. Bioterrorism.1st ed. Croatia: InTech;. 133-58.
42. Saatchi, A., Kadivar, M. and Slymanyanzhad, P. 2008. Antifungal and antioxidant effects of ethanol extract of lemon balm and lavender. National Congress of Food Science and Industries, Mashhad, 24 to 25 October.
43. Sagdic, O. 2003. Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme

and oregano hydrosols. *LWT-Food Science and Technology*, 36(5): 467-473.

44. Samsam Shariat, H. 1996. Growing and propagation of medicinal plants. Mafi publishing. 275 pp.
45. Seabury, k. 2002. The effect of antioxidants in preventing farther oxidation in TBA analysis. California state science fair. Project number, Jo404.
46. Semnani, M., Saeedi, M., Mahdavi, M. R., Rahimi, F. 2008. Studying and comparing the antimicrobial effect of methanol extracts of a few herbal species from the genus of Phomis and Stachys. *The journal of Medical Sciences University in Mazandaran*, 17(57):57-66.
47. Shahidi , F., Naczk M. 2004. .Phenolic in Food and Nutraceuticals..Chemical Rubber Company press .558p.
48. Shahidi, I. and Bhanger, M. 2007. Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. *Food Chemistry*, 100: 246-254.
49. Shahin, F., Gulluce, M., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., Polissiou, M., Agar, G. and Ozer, H. 2004. Biological activities of the essential oils and methanol extract of Origanum vulgare ssp vulgare in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control*, 15: 549-557.
50. Shukla, Sh., Mehta, A., Bajpai, VK. and Shukla, S. 2009. In vitro antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic leaf extract of Stevia rebaudiana Bert. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 2338–2343.
51. Shun, YM., Wen, YH., Yong, CY., Jian, GS. 2003. Two benzyl dihydroflavones from phellinus igniarius. *Chinese Chemical Letters*, 14(8): 810-13.
52. Singh, G. and Marimuthu, P.2006. Antioxidant and biocidal activities of Carum nigrum(seed) essential oil,oleoresin,and their selected components. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 54:174-181.
53. Sukanya, S.L., Sudisha, J., Hariprasad, P., Niranjana, S.R., Prakash, H.S. and Fathima, S.K. 2009. Antimicrobial activity of leaf extracts of Indian medicinal plants against clinical and phytopathogenic bacteria. *African Journal of Biotechnology*, 8(23): 6677-6682.
54. Sun, L., Zhang, J., Lu, X., Zhang, L. and Zhang, Y. 2011. Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (Diospyros kaki L.) leaves. *Food and Chemical Toxicology* 49: 2689-2696.
55. Wiseman, H. and Halliwell, B. 1996. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: Role of inflammatory disease and progression to cancer. *Biochem. J*, 313: 17 – 29.
56. Yaghmure, A. and Aserin, A. 2001. Evaluation of Argan Oil for Deep-Fat fring. Lebensm. *Journal of Lebensm Wiss u - Technology*. 34:124-130

(Original Research Paper)

Study of Antioxidant Effect and Antimicrobial Properties Extract of Ricinus Communis and its Effect on Soybean Oil Stability in Storage Conditions

Mahdi Athari[1*], Elham Azadfar[1], Seyyed Hussein Stiri[1], Ahmad Pedram Nia[1] , Mohammad Mahdi NematShahi[1]

1-Young Researchers and Elite Club, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.

Received:12/06/2019 Accepted:22/12/2019

Abstract

In this research,we first obtained methanol extracts of Ricinus communis Laef and identified their constituents.the total amount of phenolic compounds in the extract as well as its antioxidant activity were determined by investigating the inhibitory power of DPPH free radicals. The extracts were then added at various concentrations to purified antioxidant-free soya bean oil.The inhibition of the activity of the free radicals by the extracts and the oxidative stability of the oil at 65 degrees centigrade were studied for3 days by measuring the peroxide index,TBA and the Acidite index. Finally, the activities of the extracts were compared with those of the synthetic antioxidant BHT that, at the concentration of 200ppm,had been added to the purified soya bean oil. In general, results obtained showed that addition of 100 to600 ppm extracts to soya bean oil at a given storage time increased the oxidative stability index the quantities of polyphenolic compounds and the inhibition of the activities of the free radicals in the oil, but decreased the peroxide index,the acidite index diene.On the other hand,at a given concentration of the extracts, the peroxide index,the TBA index and the number of the DNA conjugates increased by increasing the storage period of the oil from one to three days,but the duration of induction decreased. Therefore, results obtained from investigating the oxidative stability of the oil extracts at the concentration of 600ppm,as compared with the other concentrations of extracts and the control sample, were more effective with respect to the oxidative stability of soya bean oil. were more effective than the BHT added at the concentration of 200 ppm to the oil. finally, it can be inferred that with regard to the gained results, extract including antimicrobial materials has had antibacterial effects but, it has less antifungoid effect.

Keywords: Antioxidant Activity, Soya bean Oil, Ricinus Communis, Oxidative Stability, Antimicrobial, Microorganisms.

* Corresponding Author: mehdiathary@yahoo.com