فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی واریته‌های ایرانی گلرنگ (*Cathamus tinctorius L.*)

محمد مهدی کریمخانی[1]، محمد حسین حداد خداپرست[2]، رضوان شاددل [3*]، غلامعلی گلی موحد[4]، رضا کاراژیان[5]

[1] دانش آموخته ی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار، سبزوار، ایران

[2] گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران

[3] دانشجوی دوره ی دکترای تکنولوژی مواد غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

[4] مربی پژوهشی، گروه افزودنی های غذایی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی مشهد، مشهد، ایران

[5] گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران

تاریخ دریافت:1391/12/14 تاریخ پذیرش: 1393/2/15

چکیده

این مطالعه با هدف ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی گل‌های چهار واریته ایرانی گیاه گلرنگ شامل اراک 2811، زرقان 279، اصفهان 14 و ورامین 295 انجام شد. به این منظور ابتدا گل‌ها خشک و سپس با مخلوط متانل و آب مورد استخراج قرار گرفت. قدرت احیاء آهن و بی‌رنگ شدن بتا کاروتن برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده قرار گرفت. پتانسیل آنتی‌باکتریایی عصاره‌ها نیز با روش رقتی (در محیط کشت مایع) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد واریته اراک 2811 در هر دو روش سنجش آنتی‌اکسیدانی بالاترین قدرت را داشت به طوری که مقدار قدرت احیاء آهن (FRAP) و EC_{50} در روش بی‌رنگ شدن بتا کاروتن در این واریته به ترتیب $0/32\pm0/02$ Fe^{2+}/mg dry weight و 2068/44 ppm بود. در ارزیابی قدرت ضدباکتریایی واریته اصفهان 14 موثرتر عمل کرد. MIC عصاره گل این واریته در مقابل استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا تیفی به ترتیب 30 و 60 میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود.

واژه های کلیدی: گلرنگ، قدرت احیاء آهن، آنتی‌اکسیدان طبیعی، نگهدارنده طبیعی.

*مسوول مکاتبات: r.shaddel@gmail.com

1- مقدمه

تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن مثل سوپروکسید و هیدروکسیل و نیز ترکیباتی نظیر پروکسید هیدروژن و اکسیژن یگانه با آسیب‌های سلولی و متابولیکی ارتباط دارد (10). پراکسید شدن زنجیره‌های جانبی در غشاهای بیولوژیکی که تحت تاثیر اکسیژن‌های واکنشگر[1] و یون فلزات چند ظرفیتی روی می‌دهد اثر مخربی بر عملکرد نفوذپذیری آن دارد. همچنین می‌تواند منجر به تولید ترکیبات سمی نظیر مالون آلدئید و استالدئید شود. این ترکیبات اتصالات غیر طبیعی با مولکول‌های بیولوژیکی نظیر DNA و RNA ایجاد می‌کنند (4). بنابراین عدم تعادل بین آنتی‌اکسیدان‌ها و عوامل‌اکسید کننده که به تنش اکسایشی معروف است منجر به لطمات فیزیولوژیکی می‌شود که با سرطان، پیری، تصلب شرائین و آسیب‌های التهابی ارتباط دارد (21).

مطالعات همه‌گیرشناسی بسیاری رابطه بین رژیم غذایی غنی از میوه و سبزی با کاهش خطر بیماری‌های قلبی عروقی و برخی انواع سرطان را نشان داده است (13). بلوک و همکاران (1992) مطالعاتی را که در آن ارتباط بین مصرف میوه و سبزی و سرطان‌های شش، کولون، سینه، سرویکس، مری، حفره دهانی، معده، مثانه، پانکراس و تخمدان بررسی شده بود مرور کردند. در 128 مورد از 156 مطالعه مشخص شده بود که مصرف میوه و سبزی اثر حفاظتی معنی‌داری از خود بروز داد (6). همچنین نشان داده شده است آنتی‌اکسیدان گیاهی می‌توانند از انتشار واکنش‌های رادیکال آزاد جلوگیری نمایند(5). نقش آنتی‌اکسیدان‌های موجود در میوه‌ها و سبزی‌ها با اثرات مثبت آنها در رژیم غذایی به خوبی شناخته شده است (8). بخش عمده ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها و سبزی‌ها از ترکیباتی نظیر فلاوونوئیدها، ایزوفلاوون‌ها، فلاوون‌ها، آنتوسیانین‌ها، کاتشین‌ها و ایزوکاتشین‌ها ناشی می‌شود (14).

عفونت یکی از دو طریق اصلی ایجاد بیماری‌ها با منشاء غذا محسوب می‌شود که از رشد میکروارگانیزم‌های پاتوژن بوجود می‌آید (23). به منظور جلوگیری از این موضوع استفاده از عوامل ضد میکروبی در فرمولاسیون مواد غذایی به طور گسترده رواج دارد. از سویی مصرف کنندگان نسبت به ایمنی مواد غذایی حاوی نگهدارنده‌های سنتزی نگران هستند. بر این اساس توجه زیادی برای توسعه ترکیبات ضد میکروبی موثر و غیر سمی به وجود آمده است. در این خصوص ترکیبات ضد میکروبی طبیعی نظیر عصاره گیاهان برای استفاده در مواد غذایی مورد توجه روز افزون قرار دارند (20).

منابع گیاهی با فعالیت ضدمیکروبی چه به صورت سنتی و صنعتی برای افزایش ماندگاری مواد غذایی و ایمنی آنها به گستردگی مورد استفاده بوده است (7). بسیاری از فنل‌های گیاهی خصوصیات ضدمیکروبی دارند و در صورت استفاده در غلظت‌های مناسب می‌توانند موجب تغییر میکروفلور محیط شوند (12 و 18).

گلرنگ (*Carthamus tinctorius L.*) عضوی از خانواده کومپوزیته یا آستراسه محسوب می‌شود که عمدتا به عنوان دانه روغنی و خوراک پرندگان کشت می‌شود. همچنین از گلهای آن به عنوان منبع رنگ و نیز دارو در طب گیاهی استفاده می‌شود (11). ژانگ و همکاران (1997) با مطالعه خصوصیات آنتی‌اکسیدانی ترکیبات کنجاله حاصل از روغن‌گیری دانه گلرنگ هفت ترکیب از مشتقات سروتونین را با خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی در آن شناسایی کردند (24) این ترکیبات جز گروه آمیدهای اسید اندول هیدروکسی‌سینامیک محسوب می‌شود و گزارش شده است از قدرت آنتی‌اکسیدانی بالایی در شرایط in vitro برخوردار هستند و اثرات بیولوژیکی مختلفی از خود بر وضعیت لیپیدها در پلاسما و کبد بروز می‌دهند (15).

از گل‌های گلرنگ نیز بیش از 200 ترکیب جداسازی و شناسایی شده است که عمده آنها از فلاوونوئیدهای گروه کالکون تشکیل شده‌اند. این ترکیبات پیگمان‌های طبیعی هستند که از اهمیت تجاری برخوردار می‌باشند. سالم و همکاران (2011) نشان دادند اسید گالیک مهمترین جزء ترکیبات فنلی گل‌های گلرنگ می‌باشند. آنها سایر ترکیبات اصلی را نیز شامل اسید کلروژنیک، اسید سیرینجیک،تری‌هیدرات روتین، کوئرستین-3-گالاکتوزید و نفتوروزوسینول گزارش کردند. آنها با بررسی روند تغییرات ترکیبات فنلی در طول دوره رشد گیاه گلرنگ نشان دادند گل‌های این گیاه می‌تواند به عنوان منبعی خوبی از ترکیبات زیست‌فعال مورد استفاده قرار گیرد (19).

در مطالعه حاضر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی گل‌های واریته‌های مختلف گلرنگ مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفته است.

[1] Oxygen Reactive Species (ROS)

2- مواد و روش‌ها

گل‌های واریته اراک 2811، زرقان 279، اصفهان 14 و ورامین 259 به ترتیب از اراک (مرکز ایران)، زرقان (جنوب ایران)، اصفهان (مرکز ایران) و ورامین (شمال ایران) جمع آوری شد. برگ‌ها در سایه خشک و توسط آسیاب برقی(100 CG) Kenwood ساخت کشور انگلستان پودر شدند. سایر مواد شیمیایی و محیط‌های کشت با درجه خلوص آزمایشگاهی از شرکت Merck آلمان تهیه شدند.

2-1- استخراج عصاره

سی گرم گل خشک آسیاب‌شده به 300 میلی‌لیتر مخلوط متانل- آب (نسبت هشت به دو) اضافه شد و به مدت 24 ساعت در دمای اتاق روی شیکر هم زده شد. سپس مخلوط صاف شد و عمل استخراج یک مرتبه دیگر روی تفاله حاصل اعمال شد. دو عصاره حاصل با هم مخلوط و در دمای 38 درجه سانتیگراد در دستگاه تبخیرگردان Heidolph مدل Laborota 4003 تغلیظ گردید. در نهایت عصاره در آون خلاء Labtech مدل 2030 – 70 L ساخت کشور کره جنوبی و در دمای 38 درجه سانتیگراد تا رسیدن به دمای ثابت خشک شد. پودر حاصل تا زمان انجام آزمایش‌های لازم در دمای یخچال نگهداری شد (3).

2-2- سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی به روش احیاء آهن[1] (FRAP)

میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌ها با استفاده از روش احیاء آهن اندازه‌گیری شد. این روش بر پایه احیاء کمپلکس Fe^{3+}-TPTZ[2] در شرایط اسیدی عمل می‌کند. بر اثر این واکنش میزان جذب در طول موج 593 نانومتر ناشی از کمپلکس Fe^{2+}-TPTZ افزایش می‌یابد. در این آزمایش واکنشگر FRAP به صورت تازه از طریق مخلوط کردن 25 میلی‌لیتر بافر استات (غلظت 300 میلی‌مولار با pH (3/6)، 2/5 میلی‌لیتر محلول TPTZ (غلظت 10 میلی‌مولار) و 2/5 میلی‌مولار $FeCl_3$ (غلظت 20 میلی‌مولار) تهیه شد. 100 میکرولیتر محلول عصاره با غلظت معلوم با 4/5 میلی‌لیتر واکنشگر FRAP مخلوط شد و پس از هم‌زدن به مدت 30 دقیقه نگهداری شد. پس از گذشت زمان میزان جذب نمونه در اسپکتروفتومتر Shimadzu ساخت کشور ژاپن در مقایسه با بلانک (واکنشگر FRAP) قرائت گردید. منحنی استاندارد با غلظت‌های مختلف سولفات آهن ترسیم گردید. نتایج بر اساس میکرومول یون فرو در میلی‌گرم عصاره خشک محاسبه و گزارش گردید (16). از اسید ال آسکوربیک به عنوان شاهد مثبت استفاده شد.

2-3- روش بی‌رنگ شدن بتا کاروتن

ده میلی‌گرم بتا کاروتن در ده میلی‌لیتر کلروفرم حل شد. 0/2 میلی‌لیتر از این محلول به 20 میلی‌گرم اسید لینولئیک و 200 میلی‌گرم توین 40[3] اضافه شد. عمل اختلاط در دمای بالا انجام شد. سپس کلروفرم از مخلوط تبخیر گردید. پنجاه میلی‌لیتر آب مقطر به آهستگی به باقیمانده اضافه شد و سپس مخلوط به شدت هم زده شد تا امولسیون بوجود آید. پنج میلی‌لیتر از امولسیون حاصل با 0/2 میلی‌لیتر محلول عصاره مخلوط شد. جذب مخلوط بلافاصله در طول موج 470 نانومتر قرائت شد و سپس به مدت پنج دقیقه در حمام آب 50 درجه سانتیگراد قرار داده شد و دوباره جذب قرائت شد. از هیدروکسی تولوئن بوتیله (BHT) به عنوان شاهد مثبت استفاده شد. در شاهد منفی از حلال عصاره به جای عصاره استفاده شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر حسب درصد در بیرنگ شدن بتا کاروتن با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{درصد بازداری (\%)} = [(At-Ct)/(C_0-Ct)]\times 100$$

در این فرمول At و Ct و به ترتیب جذب نمونه، شاهد منفی پس از حرارت دادن بود. C_0 نیز مقدار جذب در نقطه شروع بود. غلظتی از عصاره که 50 درصد بازداری ایجاد کردند (EC_{50}) نیز با استفاده از منحنی برازش شده رابطه بین غلظت و درصد بازداری محاسبه شد (9).

2-4- تعیین فعالیت ضد میکروبی

فعالسازی سویه‌ها: آمپول‌های حاوی استافیلوکوکوس شماره PTC (ATCC25923) 1431 اورئوس و سالمونلا تیفی لیوفیلیزه باشماره 1609 طبق توصیه سازنده پس از ضد عفونی با الکل و در مجاورت شعله باز و در محیط تریپتون سوی براث کشت شد.

[1] Ferric reducing antioxidant power
[2] Ferric-tripyridyltriazine
[3] Tween 40

کشت‌های مستر و ساب مستر روی محیط تریپتون سوی آگار تهیه شد.

آماده‌سازی سوسپانسیون میکروبی نیم مک‌فارلند: سویه‌های باکتریایی از کشت‌های ساب مستر در محیط نوترینت آگار شیب‌دار در لوله کشت شد و به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتیگراد در انکوباتور VELP FOC 225i گرمخانه‌گذاری شد. پس از گرمخانه‌گذاری، ارگانیزم‌ها با استفاده از محلول نمکی شستشو شد. سوسپانسیون میکروبی به طور مکرر با محلول نمکی رقیق‌سازی شد تا جذب آن در طول موج 530 نانومترمعادل جذب استاندارد نیم مک‌فارلند (1.5×10^8 cfu/ml) گردید (17).

تعیین اثر ضدباکتریایی عصاره‌ها: روش رقتی[1] (محیط مایع) با محیط کشت مولر هینتون براث برای ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی مورد استفاده قرار گرفت. عصاره‌ها با غلظت صفر تا 120 میلی‌گرم در میلی لیتر به محیط کشت مولر هینتون براث اضافه شد. محیط کشت در لوله‌های آزمایش 16mm×80mm توزیع شد و با سوش‌های باکتریایی تلقیح شد (5×10^5 cfu/ml). گرمخانه‌گذاری در دمای 37 درجه سانتیگراد و به مدت 24-18 ساعت انجام شد. حداقل غلظتی از عصاره که در آن هیچ کدورتی مشاهده نشده به عنوان MIC[2] تعیین شد. از لوله‌هایی که در آنها کدورت مشاهده نشد در محیط نوترینت آگار در دمای 37 درجه سانتیگراد به مدت 24 ساعت کشت شدو کمترین غلظت باکتری‌کشی[3] (MBC) غلظتی از عصاره بود که در آن هیچ رشدی در نوترینت آگار مشاهده نشد (1).

2-5- روش آماری

آزمایشات به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار انجام شد. مقایسه میانگین ها با استفاده از روش حداقل تفاوتهای معنی دار (LSD) صورت گرفت و تجزیه تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار آمار SAS9.1 و رسم نمودارهای با نرم افزار EXCEL صورت گرفت.

3- نتایج و بحث

3-1- فعالیت آنتی‌اکسیدانی

نتایج آزمون‌های FRAP و بی‌رنگ شدن بتا کاروتن در جدول یک آورده شده است. همانطور که مشخص است در هر دو روش واریته اراک 2811 نسبت به سایر واریته‌ها بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را از خود نشان داد.

اساس روش FRAP احیاء کمپلکس فریک-تری‌پیریدیل‌تری‌آزین در حضور عوامل احیاءکننده می‌باشد. قدرت احیاءکنندگی نشان می‌دهد این ترکیبات عوامل دهنده هیدروژن هستند و می‌توانند باعث کاهش ترکیبات واسطه اکسیدشده در واکنش زنجیری پراکسیداسیون شوند. به این ترتیب این ترکیبات می‌توانند به عنوان آنتی‌اکسیدان اولیه و ثانویه عمل نمایند (19). میزان شاخص FRAP مقیاسی از مقدار عوامل احیاءکننده در ماده خشک عصاره محسوب می‌شود. این مقدار در عصاره حاصل از واریته اراک 2811 بیشترین مقدار بود (0/02±0/32 میکرومول یون فرو در میلی‌گرم عصاره خشک).

در روش بی‌رنگ شدن بتاکاروتن این ترکیب در غیاب آنتی‌اکسیدان مناسب به سرعت متحمل بی‌رنگ شدن می‌شود. در این آزمایش اسید لینولئیک موجود اکسید می‌شود و تولید رادیکال آزاد می‌کند. در این شرایط بتا کاروتن اکسید و شکسته می‌شود و در نتیجه کروموفور خود را از دست داده رنگ نارنجی از بین می‌رود. این تغییرات رنگی توسط اسپکتروفوتومتر قابل اندازه‌گیری می‌باشد (9). غلظتی از عصاره که واکنش اکسایش اسید لینولئیک را به میزان 50 درصد کاهش می‌هد به عنوان EC_{50} شناخته می‌شود و به عنوان شاخصی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این میزان برای عصاره حاصل از واریته اراک 2811 معادل 15/64±2068 ppm بود که در بین واریته‌های مورد بررسی کمترین مقدار محسوب می‌شود. بنابراین این واریته در روش بی‌رنگ شدن بتاکاروتن نیز بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان داد. شایان ذکر است EC_{50} ترکیب سنتزی BHT در این روش معادل 4/35±311/55 ppm محاسبه شد. در واقع فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیاری از عصاره‌های گیاهی کمتر از ترکیبات سنتزی می‌باشد.

[1] Broth dilution method tween40
[2] Minimum Inhibitory Concentration
[3] Minimal Bactericidal Concentration

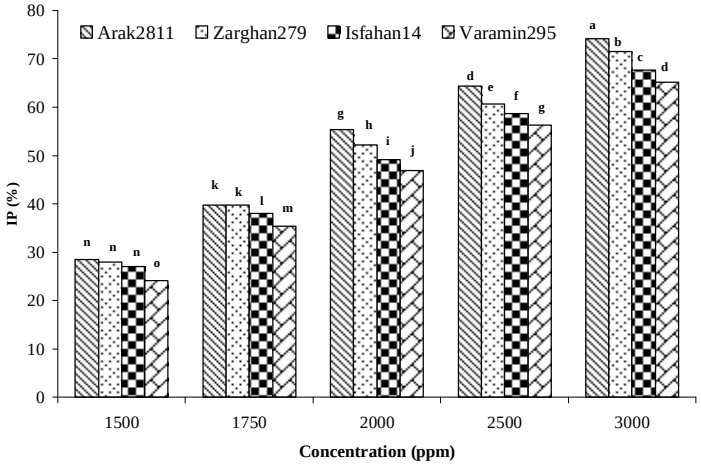
جدول 1- فعالیت آنتی‌اکسیدانی گل‌های چهار واریته ایرانی گلرنگ

واریته	مقدار FRAP[1]	بی‌رنگ شدن بتا کاروتن(EC_{50})[2]
اراک 2811	0/32±0/02 b	2068/44±15/64 d
زرقان 279	0/29±0/02 bc	2133/85±29/82 c
اصفهان 14	0/28±0/03 c	2222/29±33/53 b
ورامین 295	0/26±0/01 c	2317/11±27/77 a
BHT	-	311/55±4/35 e
اسید آسکوربیک	7/9±0/14 a	-

[1] بر حسب میکرومول یون فرو در میلی‌گرم عصاره خشک [2] بر حسب غلظت به ppm. در هر ستون اختلاف میانگین‌هایی که حرف مشترک دارند معنی دار نمی‌باشد ($p<0.05$)

جدول 2- شمارش سوش‌های باکتریایی در حضور عصاره گل‌های چهار واریته ایرانی گلرنگ (log cfu/ml)

باکتری	عصاره	غلظت (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)						
		0	7/5	15	30	60	120	240
استافیلوکوکوس اورئوس	Isfahan14	8/66±0/08	7/80±0/05	6/79±0/04	5/64±0/08	3/84±0/05	0	0
	Zarghan279	8/73±0/03	7/85±0/06	6/85±0/05	5/67±0/08	3/88±0/04	0	0
	Arak2811	8/80±0/04	7/90±0/05	6/90±0/03	5/69±0/06	3/91±0/04	0	0
	Varamin295	8/83±0/05	7/94±0/03	6/94±0/04	5/70±0/06	3/96±0/03	0	0
سالمونلا تیفی	Isfahan14	8/78±0/06	8/10±0/03	7/62±0/08	6/79±0/05	5/63±0/08	3/77±0/05	0
	Zarghan279	8/84±0/05	8/13±0/02	7/69±0/07	6/84±0/04	5/67±0/04	3/83±0/05	0
	Arak2811	8/88±0/04	8/15±0/04	7/75±0/06	6/89±0/04	5/69±0/05	3/87±0/03	0
	Varamin295	8/90±0/05	8/18±0/03	7/81±0/05	6/92±0/03	5/70±0/05	3/91±0/03	0



شکل 1- اثر غلظت بر درصد بازداری از اکسایش عصاره گل‌های چهار واریته ایرانی گلرنگ

اثر غلظت عصاره بر درصد ممانعت از اکسایش[1] (IP) در شکل یک نشان داده شده است. مقدار IP با افزایش غلظت افزایش یافت. بالاترین مقدار IP (74/16 درصد) در نمونه حاوی عصاره حاصل از واریته اراک 2811 با غلظت 3000 ppm مشاهده شد. کمترین مقدار (24/14 درصد) نیز به نمونه حاوی عصاره واریته ورامین 295 با غلظت 1500 ppm تعلق داشت.

3-2- فعالیت ضد میکروبی

شمارش سویه‌ها نشان داد عصاره گل‌های گلرنگ از فعالیت ضدباکتریایی برخوردار بود (جدول 2). در غلظت 240 میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره هیچ گونه رشدی مشاهده نشد. در غلظت 120 میلی‌گرم عصاره، از رشد استافیلوکوکوس اورئوس به طور کامل جلوگیری شد، اما متوسط جمعیت سالمونلا تیفی log cfu/ml 3/85 بود. اثر متقابل غلظت عصاره و واریته گلرنگ بر رشد استافیلوکوکوس اورئوس معنی‌دار بود و واریته اصفهان 14 نسبت به سایر واریته‌ها بیشترین فعالیت ضد باکتریایی را مقابل این باکتری از خود نشان داد به طوری که جمعیت این باکتری در غلظت 60 میلی‌گرم در میلی‌لیتر معادل log cfu/ml 0/05±3/84 بود. مقدار متوسط MIC و MBC عصاره‌های مورد بررسی در برابر استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب معادل 30 و 120 میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. کسری کرمانشاهی و همکاران (2006) میزان MIC و MBC عصاره اتانلی گیاه گلرنگ (دانه و ریشه) را به ترتیب 31/2 و 125 میلی‌گرم در میلی‌لیتر گزارش کردند. لازم به توضیح است که این محققین در بررسی خود از روش پخش‌شدن دیسک[2] برای ارزیابی فعالیت ضد میکروبی استفاده کردند (2).

MIC و MBC عصاره گل‌های گلرنگ در مقابل سالمونلا تیفی به ترتیب 60 و 240 میلی‌گرم در میلی‌لیتر تعیین شد. واریته اصفهان 14 در مقابل این باکتری نیز بالاترین فعالیت را از خود نشان دادبه طوری که جمعیت این باکتری را تا log cfu/ml 3/77 کاهش داد.

[1] Inhibition of peroxidation
[2] Disc diffusion method

4- نتیجه‌گیری

در این تحقیق فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی عصاره گل‌های چهار واریته ایرانی گلرنگ مورد بررسی قرار گرفت. روش‌های FRAP و بی‌رنگ شدن بتا کاروتن نشان داد واریته اراک 2811 بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را از خود بروز داد. واریته اصفهان 14 نیز بیشترین فعالیت ضدباکتریایی را از خود نشان داد. با توجه به وفور گل‌های گلرنگ به عنوان محصول جانبی این گیاه در صنعت تولید روغن، استخراج ترکیبات موثره از آن می‌تواند به افزایش ارزش افزوده گلرنگ و نیز تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدان و ضدباکتریایی طبیعی برای استفاده در مواد غذایی کمک کند.

5- منابع

1- رضایی، م. و رسولی، الف. 1379. فعالیت بیولوژیکی و ترکیبات شیمیایی اسانس آویشن (*Thymus x-porlock*) و پونه (*Mentha longifolia*). دانشور، جلد 31، شماره 8، 1-8.

2- کسری کرمانشاهی، ر. معطر، ف. و سلیمانی منش، ع. 1385. ارزیابی اثرات ضد باکتریایی عصاره های آبی و الکلی گیاه گلرنگ بر روی تعدادی از باکتری ها. مجله علوم دانشگاه شهید چمران، شماره 15، 26-18.

3- هاربون ، چ،ب، (ترجمه دکتر یعقوب آینه چی) . روشهای تجزیه شیمیایی گیاهان. تهران: انتشارات دانشگاه تهران

4- Al-Mamary, M.A. 2002. Antioxidant activity of commonly consumed vegetables in yemen. *Malaysian Journal OF Nutrition*, 8(2): 179-189.

5- Bae, S.H. and Suh, H.J. 2007. Antioxidant activities of five different mulberry cultivars in Korea. *LWT* Food Science and Technology, 40(6): 955-962.

6- Block, G., Patterson B. and Subar, A. 1992. Fruit, vegetables, and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. *Nutrition and Cancer*, 18(1): 1-29.

7- Brul, S. and Coote, P. 1999. Preservative agents in foods. Mode of action and microbial resistance mechanisms. *International Journal of Food Microbiology*, 50(1): 1-17.

8- Cao, G., Booth, S., Sadowski J. and Prior, R. 1998. Increases in human plasma antioxidant capacity after consumption of controlled diets

Activity during Flower Development of Safflower (Carthamus tinctorius L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59: 4455–63.

20- Smid, E.J. and Gorris, L.G.M. 1999. Natural antimicrobials for food preservation. In: Handbook of Food Preservation. (Editor: Rahman, M.S). Marcel Dekker, New York, pp. 285-308.

21- Su, L., Yin, J.J., Charles, D., Zhou, K., Moore J. and Yu, L. 2007. Total phenolic contents, chelating capacities, and radical-scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. *Food Chemistry*, 100 (3): 990-997.

22- Tachakittirungrod, S., Okonogi S. and Chowwanapoonpohn, S. 2007. Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: Mechanism of antioxidant action of guava leaf extract. *Food Chemistry*, 103(2): 381-388.

23- Vattem, D. A., Lin, Y. T., Labbe, R. G. and Shetty, K. 2004. Phenolic antioxidant mobilization in cranberry pomace by solid-state bioprocessing using food grade fungus Lentinus edodes and effect on antimicrobial activity against select food-borne pathogens. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5(1): 81-91.

24- Zhang, H.L., Nagatsu, A., Watanabe, T., Sakakibara, J. and Okuyama, H. 1997. Antioxidative compounds isolated from safflower (Carthamus tinctorius L.) oil cake. *Chemical and pharmaceutical bulletin* (Tokyo), 45(12): 1910-14.

high in fruit and vegetables. *American Journal of Clinical Nutrition*, 68(5): 1081-87.

9- Cao, L., Si, J.Y., Liu, Y., Sun, H., Jin, W., Li, Zh. Et al. 2009. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant properties of Mosla chinensis Maxim. *Food chemistry*, 115(3): 801-805.

10- Dasgupta, N. and De, B. 2007. Antioxidant activity of some leafy vegetables of India: A comparative study. *Food Chemistry*, 101(2): 471-474.

11- Ekin, Z. 2008. Resurgence of safflower (Carthamus tinctorius L.) utilization: A global view. *Journal of Agronomy*, 4(2): 83-87.

12- Heinaaho, M., Pusenius, J. and Julkunen-Tiitto, R. 2006. Effects of different organic farming methods on the concentration of phenolic compounds in sea buckthorn leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(20): 7678-7685.

13- Hou, W.C., Wu, W.C., Yang, C.Y., Chen, H.J., Liu S.Y. and Lin, Y.H. 2004. Antioxidant activities of methanolic and hot-water extracts from leaves of three cultivars of Mai-Men-Dong (Liriope spicata L.). *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 45: 285-290.

14- Karadeniz, F., Burdurlu, H.S., Koca N. and Soyer, Y. 2005. Antioxidant activity of selected fruits and vegetables grown in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 29(4): 297-303.

15- Koyama, N., Kuribayashi, K., Seki, T., Kobayashi, K., Furuhata, Y., Suzuki, K. et al. 2006. Serotonin derivatives, major safflower (Carthamus tinctorius L.) seed antioxidants, inhibit low-density lipoprotein (LDL) oxidation and atherosclerosis in apolipoprotein E-Deficient mice. Journal of *Agricultural and Food Chemistry*, 54: 4970-76.

16- Kukic, J., Popovic, V., Petrovic, S., Mucaji, P., Ciric, A., Stojkovic, D. et al. 2008. Antioxidant and antimicrobial activity of Cynara cardunculus extracts. *Food Chemistry*, 107(2): 861-868.

17- Mahon C.R. and Manuselis, G. 1995. Diagnostic Microbiology. W. B. Saunders Company, London, pp. 58-96.

18- Puupponen-Pimia, R., Nohynek, L., Meier, C., Kahkonen, M., Heinonen, M., Hopia A. et al. 2001. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *Journal of Applied Microbiology*, 90: 494-507.

19- Salem, N., Msaada, K., Hamdaoui, Gh., Limam, F. and Marzouk, B. 2011. Variation in Phenolic Composition and Antioxidant