نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۷ شماره ۴/ سال ۱۳۹۶/ صفحات ۲۳ تا ۳۵

ارزیابی خواص آنتی‌میکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست سبز گردوی منطقه هزار جریب در روغن سویای تصفیه شده

محمد دولت آبادی[۱]، زینب رفتنی امیری[۲*] و رضا اسماعیل زاده کناری[۲]

تاریخ دریافت: ۹٤/۱۰/۲ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۲٤

[۱] دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

[۲] دانشیار گروه علوم وصنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

*مسئول مکاتبه: Email: zramiri@gmail.com

چکیده

در این تحقیق، خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست سبز گردوی منطقه هزار جریب از شهرستان بهشهر در شمال ایران، با دو آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ و BHA بر روغن سویا تصفیه شده مورد ارزیابی قرار گرفت. پارامترهای اندیس اسیدی، عدد پراکسید، عددTBA، دی‌ان مزدوج و درصد ترکیبات قطبی در یک دوره ۳۲ روزه در دمای ٦۰°C اندازه گیری شد. هم‌چنین خواص ضد میکروبی این عصاره بر روی برخی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی ارزیابی شد. نتایج نشان داد قدرت آنتی‌اکسیدانی TBHQ نسبت به BHA و عصاره پوست سبز گردو قوی‌تر بوده اما عصاره پوست سبز گردو در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام از BHA با غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام در جلوگیری از اکسیداسیون روغن موثرتر بود. عصاره پوست سبز گردو در غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تنها بر استافیلوکوکوس ارئوس و در غلظت ۱٦۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، بر کلیه باکتری‌ها اثر مهار کنندگی داشته است. هم‌چنین این عصاره در غلظت ۱٦۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس ارئوس، لیستریا منوسیتوژنز و سالمونلا تیفی اثر کشندگی داشت.

واژگان کلیدی: آنتی‌اکسیدان، اثر کشندگی، اثر مهار کنندگی، پوست سبز گردو

مقدمه

روغن سهم زیادی در مواد غذایی مورد مصرف دارد. اکسایش لیپیدها در غذا نه تنها باعث از دست رفتن کیفیت تغذیه‌ای و هضمی غذا می‌شود، بلکه باعث تولید محصولات اکسید شده‌ای مانند رادیکال‌های آزاد می‌شود که منجر به اکسایش خودبخودی و تولید ترکیبات شیمیایی نامطلوب و در نتیجه باعث تندی و بد طعمی ماده غذایی می‌گردد. به‌علاوه ترکیبات حاصل از اکسایش چربی‌ها می تواند در جذب پروتئین و یا اسید فرولیک اختلال ایجاد کند. این ترکیبات موجب بیماری‌های قلبی، عروقی و سرطان می شوند (کارپین و همکاران ۲۰۰۱). جلوگیری از اکسایش چربی‌ها در مواد غذایی از اهمیت خاصی برخوردار است. به همین منظور امروزه در صنعت از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مانند

بوتیلات هیدروکسی آنیزول (BHA)، بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT) و تترا بوتیل هیدروکینون (TBHQ) استفاده می‌شود، اما به دلیل اثرات مضر تغذیه‌ای، تمایل مصرف‌کنندگان به استفاده از ترکیبات طبیعی بیشتر شده و تحقیق در مورد کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد توجه محققین قرار گرفته است (شهسواری و همکاران ۲۰۰۸). آنتی‌اکسیدان‌ها به طور طبیعی در اکثر منابع غذایی موجود هستند که فرآوری آن‌ها ممکن است باعث تخریب این ترکیبات گردد. بنابراین افزودن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی برا ی حفظ کیفیت محصولات مورد نیاز است. خصوصا روغن‌ها و مواد غذایی با محتوی روغن بالا، که مستعد اکسیداسیون می‌باشند، نیاز به افزودن آنتی‌اکسیدان در این محصولات وجود دارد (تزیا و لیاداکسی ۲۰۰۳). یکی از بهترین منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، ترکیبات فنولی موجود در بافت‌های گیاهی می‌باشد، به همین دلیل در سال‌های اخیر توجه زیادی به ضایعات کشاورزی به عنوان منابع حاوی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی معطوف گردیده است (سیداراجو ۲۰۰۲). یکی از این منابع، بخش‌های مختلف گردو است که حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (پریرا و همکاران ۲۰۰۷ – ب). فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی، اساسا به دلیل خصوصیات اکسایش و احیا آن‌ها است که این امکان را به آن‌ها می‌دهد که به‌عنوان یک عامل احیا کننده، دهنده هیدروژن و خنثی کننده اکسیژن یگانه عمل کنند. به علاوه آن‌ها توانایی شلاته کردن فلزات را نیز دارند (ویجنگارد و همکاران۲۰۰۹). پلی‌فنول‌ها سبب کاهش سیالیت غشا می‌شوند این امر می‌تواند از انتشار رادیکال‌های آزاد جلوگیری و واکنش‌های اکسیداتیو را محدود کند (آرورا و همکاران ۲۰۰۲). علاوه بر این ترکیبات فنولی می‌توانند در سلسله فرآیندهای پالایش پراکسید هیدروژن در سلول‌های گیاهی دخالت داشته باشند (تاکاهاما و انیکی ۱۹۹۷). ترکیبات فنولی عمده شناسایی شده در پوست سبز گردو شامل هیدروکسی سینامیک اسیدها (اسید کلروژنیک اسید کافئیک، اسید فرولیک و اسید سیناپیک)، هیدروکسی بنزوئیک اسیدها (اسید گالیک، اسید الاژیک، اسید پروتوکاتئیک، اسید سیرینژیک و اسید وانیلیک)، فلاونوئیدها (کاتچین، اپی کاتچین، میرستن) و ژوگلون می باشد. در بین این ترکیبات فنولی، ژوگلون بیشترین مقدار را دارد. (استامپار و همکاران ۲۰۰۶).

در سال‌های اخیر تحقیقات زیادی به منظور ارزیابی اثرضد میکروبی انواع اسانس‌ها و عصاره‌ها صورت گرفته است که حاکی از قدرت و توانایی این ترکیبات در ممانعت از رشد دامنه وسیعی از میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا و عامل فساد در مواد غذایی می‌باشد. از آنجا که این ترکیبات، طبیعی بوده و به نوعی در بسیاری از موارد حاوی ترکیبات سلامت‌زای دیگری نیز هستند، لذا به منظور حفظ سلامت انسان بسیار مورد تاکید می‌باشند. نگی و جای‌اپراکاشا (۲۰۰۳) اعلام داشتند که یکی از ویژگی‌های عصاره‌های گیاهی خواص ضد میکروبی آن‌ها است. پریرا و همکاران (۲۰۰۷ – ب)، فعالیت ضد میکروبی شش رقم مختلف برگ گردو را بررسی کرده و گزارش کردند که این عصاره‌ها رشد باکتری‌های گرم مثبت را مهار می کنند. فرناندز و همکاران (۲۰۱۳) با بررسی تاثیر عصاره پوست سبز گردو بر رشد و فعالیت باکتری‌های گرم مثبت دریافتند که، عصاره‌های استخراج شده با حلال آب قابلیت مهار رشد باکتری‌های گرم مثبت را داشته و میزان مهار میکروبی آن را وابسته به غلظت ترکیبات فنولی عصاره اعلام داشتند. در تحقیقاتی که دولت آبادی و همکاران (۱۳۹۳) بر پوست سبز گردوی سه منطقه در شمال ایران داشتند، گزارش کردند پوست سبز گردوهای مناطق مرتفع و کوهستانی (هزار جریب) مقدار فنل و هم‌چنین خواص آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به منطقه معتدل (بندرگز) و منطقه نیمه خشک (شاهرود) داشته است و هم‌چنین اعلام کرده‌اند که اولتراسوند بهترین روش برای استخراج بوده است. لذا، در ادامه نتایج قبل،

پوست سبز گردوی منطقه هزار جریب در این تحقیق انتخاب، ترکیبات فنولی آن با روش اولتراسوند استخراج شد و خواص آنتی‌اکسیدانی آن در روغن سویای تصفیه شده فاقد آنتی‌اکسیدان سنتزی در یک دوره ۳۲ روزه در دمای ۶۰°C و هم‌چنین خواص آنتی‌میکروبی آن بر برخی باکتری‌های گرم مثبت و منفی بیماری‌زا و عامل فساد مواد غذایی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

محیط های کشت نوترینت آگار، نوترینت براث و دی متیل سولفاید و کلیه مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده با درجه خلوص تجزیه‌ای در این پژوهش از شرکت مرک و سیگما خریداری شدند. باکتری‌های اشرشیاکلی پی تی سی ۱۳۹۶، پروتئوس ولگاریس پی تی سی ۱۰۷۹، استافیلوکوکوس‌ارئوس پی تی سی ۱۱۱۳، سالمونلا تیفی پی تی سی ۱۶۰۹ و لیستریا مونوسیتوژنز پی تی سی ۱۱۶۳ از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری شد. روغن سویای تصفیه شده فاقد آنتی‌اکسیدان سنتزی از شرکت کشت و صنعت عالیا گلستان واقع در شهرستان کردکوی تهیه شد.

نمونه برداری

برداشت گردو در منطقه هزارجریب واقع در ارتفاعات البزر با آب و هوای کوهستانی در ۲۵ مهر ماه ۱۳۹۳ با انتخاب تصادفی چند درخت گردو در یکی از باغ های این منطقه، به صورت دست چین، بدون هیچ گونه آسیبی به پوست سبز آن و به صورت کاملا تصادفی انجام شد. عمر درختان گردو حدود ۳۵ تا ۴۰ سال بوده که هرس نشده بودند و از آفت‌کش شیمیایی نیز استفاده نشده بود. پس از تمیز کردن گردوهای جمع‌آوری شده، پوست سبز آن جدا شد و تا انجام آزمایش در دمای ۱۸- °C نگهداری شد.

استخراج ترکیبات فنلی وتعیین مقدار ترکیبات فنولی

پوست سبز گردو از فریزر خارج شده و بلافاصله توسط آسیاب خانگی (شرکت سانیو کشور ژاپن) خرد شد و به مقدار مساوی در چهار ارلن ریخته شد و به‌ترتیب تحت ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ دقیقه استخراج قرار گرفتند. استخراج ترکیبات فنولی به کمک امواج اولتراسوند با استفاده از روش سوتیلو و همکاران (۱۹۹۴) انجام شد. استخراج به کمک حمام اولتراسوند (مدلS30H شرکت الماسونیک اس کشور آلمان) با فرکانس ۳۷ کیلو هرتز در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد در حلال اتانول – آب به نسبت (۱:۱) انجام شد. پس از طی زمان استخراج، محلول‌ها با کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شده و عصاره‌های صاف شده ابتدا توسط تبخیر کننده چرخشی (روتاری) در دمای ۴۰°c تا خروج کامل اتانول تغلیظ و با آب مقطر مجددا به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. سپس میزان کل ترکیبات فنولی عصاره پوست سبز گردو با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو مطابق روش سیدادهارجو و همکاران (۲۰۰۲) اندازه گیری شد و عصاره با بالاترین غلظت ترکیبات فنولی انتخاب و با غلظت‌های مشخص به روغن اضافه شد.

آماده سازی روغن

تیمارها در جداول ۱ تا ۵، با کد ۱ تا ۷ بترتیب، برای نمونه های روغن فاقد آنتی‌اکسیدان (روغن سویای خالص)، روغن سویا حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام آنتی‌اکسیدان TBHQ(TBHQ -100)، روغن سویا حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام آنتی‌اکسیدان BHA(BHA -100)، روغن سویا حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام آنتی‌اکسیدان BHA (BHA -200)، روغن سویا حاوی ۲۵۰ پی‌پی‌ام عصاره پوست سبز گردو(S -250)، روغن سویا حاوی ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره پوست سبز گردو(S -500) و روغن سویا حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره پوست سبز گردو(S -1000) می باشند.

آنتی اکسیدان‌های سنتزی و عصاره به ارلن‌های حاوی روغن اضافه شدند و با استفاده از اسپاچول با حرکت دورانی آهسته بمدت یک دقیقه بطوری که کمترین هوا وارد روغن شود عصاره‌ها و آنتی اکسیدان‌های سنتزی با روغن مخلوط شدند.

عدد پراکسید روغن

عدد پراکسید نمونه روغن با انجام تیتراسیون با تیوسولفات سدیم و با معادله زیر بیان شد:

$$\mathbf{PV}=\frac{(\mathbf{V2}-\mathbf{V1})\times\mathbf{N}\times\mathbf{1000}}{\mathbf{M}} \quad [۱]$$

V1 و V2 مقدار تیوسولفات سدیم مصرفی به‌ترتیب برای شاهد و نمونه حاوی روغن، M وزن نمونه به گرم، N نرمالیته تیوسولفات سدیم و PV عدد پراکسید بر مبنای میلی اکی والان اکسیژن فعال در کیلوگرم روغن می باشد(ای ا ای سی ۲۰۰۳).

عدد اسید تیوباربیتوریک روغن

یک گرم روغن در ۱۰ میلی لیتر تتراکلریدکربن حل شده و به آن ۱۰میلی لیتر محلول اسید تیوباربیتوریک (محلول ۰/۶۷٪ اسید تیوباربیتوریک که با هم حجمش اسید استیک خالص مخلوط شده است) اضافه شد، به مدت ۵ دقیقه در سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد و قسمت محلول شفاف آن جدا شده و به مدت ۳۰دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد و سپس میزان جذب محلول فوق در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه گیری شد (گلی و همکاران ۲۰۰۵).

$$=E\frac{e}{d.a} \quad [۲]$$

e جذب نور اندازه گیری شده، d ضخامت سل نوری و a وزن نمونه بر حسب گرم می باشد.

براساس قانون بیر و لامبر E= A. B. C در این معادله B و C به ترتیب ضخامت سل نوری و غلظت می باشد. غلظت های مختلفی از اسید تیوباربیتوریک تهیه و جذب در ۵۳۲ نانومتر قرائت شد. به این ترتیب از منحنی استاندارد، A محاسبه شد و سپس غلظت بدست آمد.

اندیس اسیدی

اندیس اسیدی نمونه روغن با روش تیتراسیون و بر اساس میزان هیدرواکسید پتاسیم مصرفی بر مبنای اسید اولئیک با رابطه زیر بیان شد.[۳] $=\frac{N\times V\times 56.1}{W}$ N و V به ترتیب نرمالیته و حجم مصرفی هیدرواکسید پتاسیم و W وزن نمونه است. اندیس اسیدی بر حسب گرم پتاس مصرف شده است (ای ا ای اس ۲۰۰۷).

اندیس دی‌ان مزدوج

برای این منظور نمونه های روغن با هگزان رقیق شده به نسبت ۱:۶۰۰ گرم بر میلی لیتر و سپس جذب نمونه‌های رقیق شده در طول موج ۲۳٤ نانومتر در برابر هگزان به عنوان شاهد اندازه گیری شد. برای تعیین غلظت دی‌ان مزدوج شکل گرفته طی اکسیداسیون از ضریب ثابت ۲۹۰۰۰ مول بر لیتر مطابق فرمول زیر استفاده شد (ساگوی و همکاران ۱۹۹٦).

$$CDV=\frac{A\times 600\times 1000}{29000} \quad [٤]$$

A تفاضل میزان جذب نمونه و میزان جذب هگزان و CDV اندیس دی‌ان مزدوج می باشد.

ترکیبات قطبی

ابتدا سیلیکاژل به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۱٦۰ ^{o}C در آون خشک شد و در داخل ظرف شیشه‌ای ریخته شد و سپس به نسبت ۹۵:۵ ، آب و سیلیکاژل را مخلوط کرده و ظرف را به شدت هم زده تا از کلوخه شدن جلوگیری شود. بعد از ۲٤ ساعت یک گرم از سیلیکاژل آماده شده را برداشته و به داخل ستون کروماتوگرافی (ستون‌های پلاستیکی با ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر) که دو طرف ستون توسط پشم شیشه مسدود شده بود ریخته و سپس با میله شیشه‌ای محتوای ستون متراکم شد. ۰/۵ گرم روغن را در بالن ژوژه ۵ میلی‌لیتری وزن کرده و توسط تولوئن به حجم رسانده شد. سپس یک میلی لیتر از محتوی بالن به دقت از بالای ستون کروماتوگرافی به داخل آن ریخته شد. پس از خیس خوردن نمونه دربالای ستون کروماتوگرافی و تبخیر تولوئن، به‌ترتیب طی سه مرحله مقادیر معین از حلال جداسازی شده (۱،

۳/۵ و ۳/۵ میلی‌لیتر) به داخل ستون کروماتوگرافی انتقال یافت. پس از اتمام عملیات کروماتوگرافی، انتهای ستون با پانصد میکرولیتر تولوئن شسته شد. میزان مواد قطبی خارج شده از ستون کروماتوگرافی پس از تبخیر حلال در دمای ^{o}c ٤٠ توزین شد، درصد ترکیبات قطبی طبق رابطه زیر محاسبه شد.

$$CP = \frac{Ws-Wn}{Ws} \times 100[٥]$$

که در آن Cp، Ws و Wn به ترتیب درصد ترکیبات قطبی، وزن نمونه و وزن ترکیبات غیرقطبی می باشد (سچولت ۲۰۰٤).

فعالیت ضد میکروبی

بررسی فعالیت ضد میکروبی با استفاده از روش اسپینل و همکاران (۲۰۰۲) با کمی تغییرات انجام شد. ویال‌های سوش خالص دو گونه باکتریایی گرم مثبت (لیستریا منوسیتوژنز و استافیلوکوکوس اورئوس) و سه گونه باکتریایی گرم منفی (اشرشیاکلی، پروتئوس ولگاریس و سالمونلا تیفی) در شرایط کاملا استریل در زیر هود لامینار باز و به طور جداگانه، هریک به ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت نوترینت براث منتقل و در دمای ^{o}c ۳۷ گرم خانه گذاری شد. دانسیته سلولی کشت میکروبی، با استفاده از استاندارد نیم مک فارلند مشخص شد و جمعیت میکروبی به ^{٦} ۱۰ CFU تنظیم شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره رقیق شده با ۲ میلی‌لیتر از محیط کشت نوترینت براث استریل شده و یک لوپ از سوسپانسیون میکروبی را به لوله آزمایش استریل منتقل کرده و در دمای ^{o}c ۳۷ به مدت ۲٤ ساعت گرمخانه گذاری شد. عدم ایجاد کدورت، بیانگر عدم رشد میکروارگانیسم درغلظت عصاره مورد استفاده و در نتیجه کمترین غلظت مهارکنندگی مثبت است. برای بررسی کمترین غلظت کشندگی از غلظت مورد نظر عصاره هایی که سوسپانسیون میکروبی آن فاقد کدورت بود، بر روی نوترینت آگار کشت خطی داده و در دمای ^{o}c ۳۷ به مدت ۲٤ ساعت قرار داده شد. سپس رشد کلنی‌های باکتریایی در پلیت بررسی شد.

تجزیه و تحلیل آماری

دراین تحقیق، تیمارها، شامل دو نوع آنتی اکسیدان سنتزی BHA در دو غلظت و TBHQ در یک غلظت و عصاره پوست سبز گردو در سه غلظت و زمان انکوباسیون در پنج سطح زمانی هشت روزه می باشد. هریک از آنتی‌اکسیدان‌ها و عصاره به‌طور جداگانه به روغن سویای تصفیه شده اضافه شد و جهت تسریع در فعالیت اکسیداسیون از فاکتور افزایش دما استفاده شد و روغن‌های حاوی آنتی‌اکسیدان و عصاره به مدت ۳۲ روز دردمای ^{o}c ٦۰ نگهداری و هر ۸ روز با سه تکرار مورد آزمون قرار گرفت. در طرح‌های کاملا تصادفی اثر متغیرهای عصاره، آنتی‌اکسیدان و زمان نگهداری در ۳۲ روز با استفاده از جدول تجزیه واریانس در سطح احتمال ۵ درصد برای صفات مورد ارزیابی مشخص شد. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد و آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS – 19 و نمودارها با نرم افزار Excel رسم شد.

نتایج و بحث

بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی

اندیس اسیدی روغن

نتایج آنالیز واریانس، نشان داد که هر یک از متغیرها (آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، عصاره پوست سبز گردو و زمان) تاثیر معنی‌داری بر مقدار اندیس اسیدی در سطح ($P<۰/۰۵$) دارند.

با توجه به جدول ۱، بالاترین عدد اسیدی در همه نمونه‌ها مربوط به روز ۳۲ دوره زمانی می باشد. بیشترین مقدار اندیس اسیدی در روز ۳۲ مربوط به روغن فاقد آنتی‌اکسیدان و کمترین مقدار مربوط به نمونه‌های حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام آنتی‌اکسیدان TBHQ می‌باشد. روغن حاوی ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره در کنترل اسیدیته موثرتر از روغن حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام BHA و مشابه روغن حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام BHA عمل نموده

است. روغن حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره بهتر از روغن حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام BHA اسیدیته را کنترل نموده است.

جدول۱- مقایسه میانگین اندیس اسیدی روغن گرمخانه‌گذاری در دمای ^{o}c ۶۰ در یک دوره ۳۲ روزه (mg NaOH/g oil)

نمونه	روز				
	۰	۸	۱۶	۲۴	۳۲
روغن خالص[۱]	۰/۰۸ ^{aA*}	۰/۱۵ ^{aB}	۰/۲۰ ^{aC}	۰/۳۰ ^{aD}	۰/٤۰ ^{aE}
TBHQ-100[۲]	۰/۰۸ ^{aA}	۰/۱۰ ^{dB}	۰/۱٦ ^{cC}	۰/۱۸ ^{dD}	۰/۲٤ ^{fE}
BHA-100[۳]	۰/۰۸ ^{aA}	۰/۱۲ ^{cB}	۰/۱۸ ^{bB}	۰/۲۲ ^{bD}	۰/۳۲ ^{cE}
BHA-200[٤]	۰/۰۸ ^{aA}	۰/۱۰ ^{dB}	۰/۱٦ ^{cC}	۰/۲۰ ^{cD}	۰/۲۸ ^{dE}
S-250[٥]	۰/۰۸ ^{aA}	۰/۱٤ ^{bB}	۰/۲۰ ^{aC}	۰/۲٤ ^{aD}	۰/۳٤ ^{bE}
S-500[٦]	۰/۰۸ ^{aA}	۰/۱۲ ^{cB}	۰/۱۸ ^{bC}	۰/۲٤ ^{aD}	۰/۲۸ ^{dE}
S-1000[۷]	۰/۰۸ ^{aA}	۰/۱۲ ^{cB}	۰/۱۸ ^{bC}	۰/۲۲ ^{bD}	۰/۲٦ ^{eE}

* حروف غیر مشابه کوچک در هر ستون و غیر مشابه بزرگ در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ می باشد.

عدد پراکسید روغن

نتایج آنالیز واریانس نشان داد اختلاف معنی‌داری بین عدد پراکسید روغن خالص و روغن حاوی عصاره و آنتی‌اکسیدان با غلظت‌های مختلف در همه دوره‌های ۸ روزه به جز زمان صفر وجود دارد ($P<0/05$).

جدول۲ مقایسه میانگین عدد پراکسید روغن گرمخانه گذاری شده در دمای ^{o}c ۶۰ در یک دوره ۳۲ روزه (meq O2/kg oil)

نمونه	روز				
	۰	۸	۱۶	۲۴	۳۲
روغن خالص[۱]	۲/۳۹ ^{Aa*}	۳/۹۵ ^{Ba}	۸/۳۸ ^{Ca}	۱۸/۷۳ ^{Da}	۳۰/۵۰ ^{Ea}
TBHQ-100[۲]	۲/۳۹ ^{Aa}	۲/۵۵ ^{Bf}	۳/۵۹ ^{Ce}	٤/٤۱ ^{Dg}	۸/۱۲ ^{Eg}
BHA-100[۳]	۲/۳۹ ^{Aa}	۳/۱۷ ^{Bd}	۵/٦۱ $^{C dcb}$	۱۸/٤۹ ^{Db}	۲۵/۲۰ ^{Ec}
BHA-200[٤]	۲/۳۹ ^{Aa}	۲/۹۸ ^{Be}	۵/٤۷ ^{Cdc}	۱۵/٦۳ ^{De}	۱٦/۲۷ ^{Ee}
S-250[٥]	۲/۳۹ ^{Aa}	۳/۷۳ ^{Bb}	٦/۳٦ ^{Cb}	۱۷/٤۳ ^{Dc}	۲۷/۰۱ ^{Eb}
S-500[٦]	۲/۳۹ ^{Aa}	۳/٤۱ ^{Bc}	۵/۹۱ ^{Ccb}	۱٦/٤٤ ^{Dd}	۱۹/۷٦ ^{Ed}
S-1000[۷]	۲/۳۹ ^{Aa}	۳/۵۳ ^{Bc}	۵/۲۷ ^{Cd}	۱۲/۰۶ ^{Df}	۱۵/۹۴ ^{Ef}

* حروف غیر مشابه کوچک در هر ستون و غیر مشابه بزرگ در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ می باشد.

مطابق جدول ۲، افزایش عدد پراکسید برای همه نمونه ها تا روز شانزدهم محدود بوده که این می‌تواند بیانگر مرحله اولیه اکسیداسیون و تشکیل کم پراکسید نمونه‌ها باشد در حالی که از روز شانزدهم به بعد عدد پراکسید افزایش ناگهانی پیدا کرده که نشان‌دهنده مرحله اکسیداسیون تند می‌باشد. غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره در روغن بهتر از سایر غلظت‌های عصاره توانسته است تشکیل پراکسید در روغن را کنترل کند و از این نظر از

آنتی اکسیدان سنتزی BHA نیز بهتر عمل کرده است. در روز ۳۲ بیشترین مقدار عدد پراکسید مربوط به روغن فاقد آنتی‌اکسیدان و کمترین مقدار عدد پراکسید متعلق به نمونه روغن حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام آنتی‌اکسیدان TBHQ و پس از آن روغن حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره می‌باشد. روغن حاوی ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره نیز بهتر از روغن حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام BHA، توانسته تولید پراکسید روغن را کنترل نماید.

عدد اسید تیوباربیتوریک روغن

نتایج آنالیز واریانس در مورد عدد اسید تیوباربیتوریک نشان داد که در هر یک از دوره‌های زمانی به جز زمان صفر، اختلاف معنی‌داری بین همه نمونه‌های روغن وجود دارد ($P<0/05$).

جدول۳- مقایسه میانگین اسید تیوباربیتوریک روغن گرمخانه گذاری شده در دمای ۶۰ °c در یک دوره ۳۲ روزه (mg malonaldehyde/kgoil)

نمونه	روز				
	۰	۸	۱۶	۲۴	۳۲
روغن خالص[۱]	۰/۰۶^{Aa*}	۰/۲۱ ^{Ba}	۰/۵٤ ^{Ca}	۰/۷۰^{Da}	۰/۹۰ ^{Ea}
TBHQ-100[۱]	۰/۰۶^{Aa}	۰/۰۹ ^{Bf}	۰/۱۲^{Cf}	۰/۲۲ ^{Dg}	۰/٤۰ ^{Ef}
BHA-100[۳]	۰/۰۶^{Aa}	۰/۱۶ ^{Bb}	۰/۳۲ ^{Cc}	۰/٤۲ ^{Dc}	۰/۵٤ ^{Ed}
BHA--200[٤]	۰/۰۶^{Aa}	۰/۱٤^{Bcd}	۰/۲۹ ^{Cd}	۰/۳۵^{De}	۰/٤۸ ^{Ee}
S-250[۵]	۰/۰۶^{Aa}	۰/۱۵ ^{Bbc}	۰/۳٤ ^{Cb}	۰/٤۸ ^{Db}	۰/۶۹ ^{Eb}
S-500[۶]	۰/۰۶^{Aa}	۰/۱۳^{Bde}	۰/۲۸ ^{Cd}	۰/۳۹ ^{Dd}	۰/۵۸^{Ec}
S-1000[۷]	۰/۰۶^{Aa}	۰/۱۲ ^{Be}	۰/۲۶^{Ce}	۰/۳۳ ^{Df}	۰/٤۹ ^{Ee}

* حروف غیر مشابه کوچک در هر ستون و غیر مشابه بزرگ در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ می باشد.

بیشترین مقدار TBA در هر دوره زمانی مربوط به روغن فاقد آنتی‌اکسیدان می باشد. روند افزایش برای هر یک از نمونه‌ها در ۳۲ روز وجود دارد. کمترین مقدار TBA متعلق به نمونه روغن حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام آنتی‌اکسیدان TBHQ در انتهای دوره زمانی بوده و روغن حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره با روغن حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌امBHA اختلاف معنی‌داری ندارد.

جدول۴ مقایسه میانگین دی‌ان مزدوج روغن گرمخانه گذاری شده در دمای ۶۰ °c در یک دوره ۳۲ روزه (mmol/kg)

نمونه	روز				
	۰	۸	۱۶	۲۴	۳۲
روغن خالص[۱]	۰/۷۵^{Aa*}	۱/۲۷ ^{Bab}	٦/۱۳ ^{Ca}	۱۹/٤۷ ^{Da}	۱۹/۵۸ ^{Ea}
TBHQ-100[۲]	۰/۷۵^{Aa}	۰/۸۵^{Bd}	۱/۱٦ ^{Ce}	٤/٤۷ ^{Df}	٦/۹۰ ^{Eg}
BHA-100[۳]	۰/۷۵^{Aa}	۱/۱٦ ^{Bc}	۱/۷۸ ^{Cd}	٦/۱۳ ^{Dd}	۹/٦۵ ^{Ec}
BHA-200[٤]	۰/۷۵^{Aa}	۱/۲۱ ^{Bbc}	۱/۱٦ ^{Ce}	۵/۰۹ ^{De}	۸/٦۱ ^{Ee}
S-250[۵]	۰/۷۵^{Aa}	۱/۳۷ ^{Ba}	۱/۹۹^{Cc}	۸/۲۰^{Db}	۱۰/۲۷ ^{Eb}
S-500[۶]	۰/۷۵^{Aa}	۱/۳۷ ^{Ba}	۲/۲۰ ^{Cb}	۷/۱٦^{Dc}	۹/٤٤ ^{Ed}
S-1000[۷]	۰/۷۵^{Aa}	۱/۱٦ ^{Bc}	۲/۲۰ ^{Cb}	۵/۰۹ ^{De}	۷/۲۰ ^{Ef}

* حروف غیر مشابه کوچک در هر ستون و غیر مشابه بزرگ در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ می باشد.

اندیس دی‌ان مزدوج

نتایج آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد به جز زمان صفر اختلاف معنی‌داری بین مقدار دی‌ان مزدوج نمونه‌ها وجود دارد (P<۰/۰۵).

در جدول٤ روند افزایش مقدار دی‌ان مزدوج برای هر یک از نمونه‌ها در طول دوره ۳۲ روزه مشاهده می شود. در روغن‌های حاوی عصاره و آنتی‌اکسیدان سنتزی به علت کنترل اکسیداسیون، افزایش عدد دی‌ان مزدوج نسبت به روغن خالص بسیار کمتر می باشد. در روز ۳۲ بیشترین مقدار دی‌ان مزدوج مربوط به روغن شاهد بوده و نمونه حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره پس از نمونه حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام آنتی اکسیدانTBHQ کمترین مقدار دی‌ان مزدوج را دارد که مبین عملکرد بهتر عصاره نسبت به آنتی‌اکسیدان BHA در غلظت بکار رفته است.

ترکیبات قطبی

نتایج آنالیز واریانس نشان داد به جز زمان صفر اختلاف معنی‌داری بین درصد ترکیبات قطبی نمونه‌ها وجود دارد (P<۰/۰۵).

جدول۵ مقایسه میانگین درصد ترکیبات قطبی روغن گرمخانه گذاری شده در دمای ^{o}c ۶۰ در یک دوره ۳۲ روزه

نمونه	روز				
	۰	۸	۱۶	۲۴	۳۲
روغن خالص[۱]	۲/۰۰ Aa*	۳/۵۰ Ba	۵/۵۰ Ca	۷/۵۰ Da	۸/۷۰ Ea
TBHQ-100[۲]	۲/۰۰ Aa	۲/۱۰ Bd	۲/۵۰ Cd	۳/۲۰ Df	٤/۰۰ Eg
BHA-100[۳]	۲/۰۰ Aa	۲/۲۰ Bc	۲/۷۰ Cc	۳/۷۰ Dd	٦/۵۰ Ec
BHA-200[٤]	۲/۰۰ Aa	۲/۱۰ Bd	۲/۵۰ Cd	۳/۵۰ De	۵/۵۰ Eef
S-250[۵]	۲/۰۰ Aa	۲/۳۰ Bb	۴/۹۰ Cb	۴/۵۰ Db	۷/۲۰ Eb
S-500[٦]	۲/۰۰ Aa	۲/۲۰ Bc	۲/۷۰ Cc	۳/۸۰ Dc	۵/۷۰ Ed
S-1000[۷]	۲/۰۰ Aa	۲/۱۰ Bd	۲/۵۰ Cd	۳/۵۵ De	۵/٦۲ Ee

* حروف غیر مشابه کوچک در هر ستون و غیر مشابه بزرگ در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ می باشد.

با توجه به جدول ۵ تغییرات درصد ترکیبات قطبی تا روز ٢٤ در روغن های حاوی عصاره و آنتی اکسیدان کم بوده است در حالی که در روغن فاقد آنتی اکسیدان از زمان شروع به بعد با توجه به افزایش اکسیداسیون، مقدار درصد ترکیبات قطبی هم افزایش نشان داده است. بخشی از مواد قطبی در روغن در اثر اکسیداسیون تری‌گلسیرید حاصل می‌شود، این مواد با پیشرفت اکسیداسیون افزایش می‌یابند. قدرت فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها از روز ٢٤ کاهش یافته و پیشرفت اکسیداسیون در روغن‌های تیمار شده افزایش می‌یابد به این ترتیب ترکیبات قطبی نیز افزایش یافته است. در روز ۳۲، بیشترین مقدار درصد ترکیبات قطبی مربوط به روغن شاهد و کمترین مقدار این ترکیبات متعلق به نمونه روغن حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام آنتی اکسیدان TBHQ می باشد. نمونه روغن حاوی ۱۰۰۰پی‌پی‌ام عصاره با نمونه حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA از نظر درصد ترکیبات قطبی دارای اختلاف معنی‌داری نبوده و همچنین عصاره حاوی ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره بهتر از روغن حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام آنتی‌اکسیدان BHA بوده و با آن اختلاف معنی‌داری دارد.

فعالیت ضد میکروبی

نتایج بررسی تاثیر عصاره استخراجی پوست سبز گردوی منطقه هزارجریب بر باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا و باکتری‌های گرم

منفی اشرشیاکلی، پروتئوس و سالمونلا در جداول ٦ و ۷ نشان داده شده است. عصاره پوست سبز گردوی مورد استفاده با غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، اثر مهارکنندگی بر هیچیک از باکتری‌های گرم منفی مورد آزمون نداشت. در غلظت ١٦٠ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر مهارکنندگی بر همه میکروارگانیسم‌ها مشاهده می‌شود. در غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر مهارکنندگی بر روی باکتری استافیلوکوکوس ارئوس وجود دارد.

جدول۶ اثر غلظت‌های مختلف عصاره پوست سبز گردو بر باکتری‌های مختلف و تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)

نوع باکتری	نام باکتری	غلظت عصاره برحسب میلی گرم بر میلی لیتر				
		١٠	٢٠	٤٠	٨٠	١٦٠
گرم مثبت	استافیلوکوکوس ارئوس	–	–	–	+	+
	لیستریا منوسیتوژنز	–	–	–	–	+
گرم منفی	اشرشیاکلی	–	–	–	–	+
	پروتئوس ولگاریس	–	–	–	–	+
	سالمونلا تیفی	–	–	–	–	+

+ و – ، به‌ترتیب نشان‌دهنده مهار و عدم مهار رشد میکروارگانیسم‌ها می‌باشد.

جدول۷- اثر غلظت‌های مختلف عصاره پوست سبز گردو بر باکتری‌های مختلف و تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC)

نوع باکتری	نام باکتری	غلظت عصاره برحسب میلی گرم بر میلی لیتر	
		٨٠	١٦٠
گرم مثبت	استافیلوکوکوس ارئو س	–	+
	لیستریا منوسیتوژنز	–	+
گرم منفی	اشرشیاکلی	–	–
	پروتئوس ولگاریس	–	–
	سالمونلا تیفی	–	+

+ و – ، به‌ترتیب نشان‌دهنده قدرت اثر کشندگی و عدم کشندگی بر میکروارگانیسم‌ها می‌باشد.

اثر کشندگی در غلظت ١٦٠ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای باکتری‌های استافیلوکوکوس ارئوس، لیستریا منوسیتوژنز و سالمونلا تیفی مشاهده شده است.

بحث

اسیدیته روغن یکی از شاخص های وجود اسیدهای چرب آزاد در روغن می باشد. اسیدهای چرب آزاد در اثر اکسیداسیون تری گلسیریدها و سایر گلسیریدها حاصل می شوند. عوامل موثر بر افزایش اندیس اسیدی، مهیا بودن عوامل اکسیداسیون از جمله حرارت، اکسیژن کافی و عدم یا کم بودن حضور آن در محیط را می توان بیان کرد (قوامی و همکاران ۲۰۰۳). همان طور که دراین پژوهش مشاهده شد اندیس اسیدی در روغن خالص که فاقد هرگونه آنتی‌اکسیدان بود بیشترین افزایش را داشته و سایر نمونه‌ها با سطوح مختلفی از عصاره یا آنتی‌اکسیدان اثربخشی متفاوتی بر کنترل اسیدیته از خود نشان داده‌اند. همان‌طور که در جدول ۱ و۲ مشاهده می‌شود با افزایش اندیس پراکسید، اندیس اسیدی هم افزایش داشته است که نتایج بدست آمده در این پژوهش با تحقیقات انجام گرفته توسط فرهوش و

همکاران (۲۰۰۹) بر مقدار پراکسید و دی‌ان مزدوج در روغن‌های سرخ کردنی و همچنین زانگ و همکاران (۲۰۱۰) در مورد ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عناب در مواد غذایی، مطابقت دارد.

با افزایش اکسیژن دریافتی، عدد دی‌ان مزدوج نیز افزایش می یابد (حقیقت خرازی و همکاران ۱۳۹۲). طی فرایند اکسیداسیون، موقعیت باند دوگانه چربی‌های حاوی دی‌ان یا پلی‌ان، جابجا شده که این جابجایی باعث افزایش عدد دی‌ان مزدوج می گردد. یکی از روش های تعیین مقاومت روغن‌ها به اکسیداسیون، اندازه‌گیری عدد دی‌ان مزدوج می‌باشد. نتایج حاصله نشان داد بیشترین عدد دی‌ان مزدوج مربوط به نمونه شاهد (۸/۸٤) و کمترین مربوط به نمونه حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام آنتی‌اکسیدان TBHQ (۲/۸۲) بود و بهترین در بین نمونه‌های حاوی عصاره، روغن حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره (۳/۲۸) بوده است. رشد کمتر دی‌ان مزدوج نمونه‌ها نسبت به نمونه شاهد که همگی حاوی روغن سویا با درصد بالای اسید چرب غیراشباع و شرایط دمایی و زمانی یکسان گرمخانه‌گذاری بوده‌اند، می تواند به اثر عصاره و آنتی‌اکسیدان نسبت داده شود.

بر اساس نتایج بدست آمده، با افزایش اکسیداسیون عدد قطبی افزایش یافت. مقدار کل ترکیبات قطبی، بیانگر سنجش میزان تخریب روغن‌ها طی مدت زمان نگهداری می‌باشد (سوتیلو و همکاران ۱۹۹٤). حقیقت خرازی و همکاران (۱۳۹۲) با بررسی ارقام مختلف زیتون اعلام داشتند که روند افزایش درصد ترکیبات قطبی، وابسته به مقدار پیشرفت اکسیداسیون می باشد که این روند در این تحقیق نیز مشاهده شد. همچنین نتایج این تحقیق با تحقیقات فرهوش و همکاران (۲۰۰۳) در مورد تاثیر آنتی‌اکسیدان‌ها در روغن کانولا و مخلوط آن با سایر روغن‌های گیاهی و همچنین فرهوش و موسوی (۲۰۰۹) در روغن کانولا و تاثیر بر میزان ترکیبات قطبی همسو بوده است.

عدد TBA مبین تشکیل مالون‌آلدئید از تجزیه هیدروپراکسید است. به نظر می‌رسد که در روزهای ابتدایی مقدار عدد اسید تیوباربیتوریک پایین است ولی بعد از گذشت زمان که مقدار محصولات اولیه اکسیداسیون افزایش می‌یابد شرایط تجزیه برای آن‌ها فراهم شده و سپس مقدار مالون‌آلدئید افزایش و پیرو آن عدد اسید تیوباربیتوریک افزایش می‌یابد. این شاخص نیز مانند عدد پراکسید با افزایش غلظت عصاره کاهش یافت. نتایج پژوهش رضایی‌ارمی و همکاران (۱۳۹۱) در مورد مقایسه تاثیر عصاره برگ گردو و آنتی‌اکسیدان‌های BHA و BHT در ممانعت از اکسیداسیون روغن سویا با نتایج این تحقیق از این نظر مشابه بود.

طبق گزارشات پریرا و همکاران (۲۰۰۷- آ) کوئرستین۳-گالاکتوزید ترکیب اصلی فنولی موجود در برگ و پوست سبز گردو می‌باشد که یکی از اثرات مهارکنندگی این عصاره روی میکروارگانیسم‌ها به دلیل مهار آنزیم DNA گیراز باکتری‌ها و جلوگیری از تکثیر آن‌ها می باشد. در بررسی دیگرانجام شده توسط پریرا و همکاران (۲۰۰۷- ب) بر فعالیت ضدمیکروبی عصاره آبی برگ شش واریته گردو (لارا، فرانکوت، ماربوت، مایته، پاریزین و ملانایز) بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی گزارش کردند کمترین غلظت مهارکنندگی عصاره‌های لارا، فرانکوت و ملانایز روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ۰/۱ و در مورد عصاره‌های مایته، پاریزین و ماربوت ۱۰میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است. کمترین غلظت مهارکنندگی عصاره‌ها روی باکتری‌های گرم منفی ۱۰۰میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است و باکتری‌های گرم مثبت حساس‌تر از باکتری گرم منفی نسبت به عصاره شناخته شده است. نتایج به دست آمده در این پژوهش با نتایج گزارش شده محقق مشابهت دارد. از بین دو باکتری گرم مثبت، عصاره با غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس اثر مهارکنندگی نشان داد در

حالی که بر باکتری لیستریا منوسیتوژنز، غلظت ۱۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر مهارکنندگی را نشان داده است مشابه با نتایج حاصله، اولیورا و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی اثر مهار کنندگی (MIC) عصاره‌های آبی واریته‌های مختلف پوست سبز گردو گزارش کردند که استافیلوکوکوس ارئوس حساس‌ترین باکتری بوده است.

نتیجه‌گیری

پوست سبز گردو می‌تواند به‌عنوان منبع طبیعی استخراج ترکیبات فنلی با خواص آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده قرار گیرد. ارزیابی پارامترهای اندیس اسیدی، پراکسید، دی‌ان مزدوج، TBA و عدد قطبی نمونه های روغن حاوی عصاره پوست سبز گردوی با غلظت‌های مختلف و آنتی‌اکسیدان‌های BHA و TBHQ در یک دوره زمانی ۳۲ روزه در دمای $60\ ^{o}c$ نشان داد که عصاره پوست سبز گردو در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام از آنتی اکسیدان BHA با غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام در جلوگیری از فعالیت‌های اکسیداسیون روغن موثرتر بوده است. پوست سبز گردو علاوه بر جلوگیری از فعالیت اکسیداسیون در روغن بر رشد و فعالیت برخی میکروارگانیسم‌های گرم مثبت (لیستریا منوسیتوژنز، استافیلوکوکوس ارئوس) و گرم منفی (اشرشیاکلی، پروتئوس ولگاریس و سالمونلا تیفی) موثر بوده است. عصاره پوست سبز گردو با غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر باکتری استافیلوکوکوس ارئوس و با غلظت ۱۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر سایر میکروارگانسیم‌ها اثر مهارکنندگی از رشد را داشته است. هم‌چنین این عصاره در غلظت ۱۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر باکتری سالمونلاتیفی، استافیلوکوکوس ارئوس و لیستریا منوسیتوژنز اثر کشندگی داشته است. پوست سبز گردو از ضایعات کشاورزی بوده که کاربرد آن در مواد غذایی، علاوه بر حفظ سلامت انسان در مقابل مخاطرات حاصل از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، موجب افزایش بهروری در صنعت کشاورزی و حمایت از محیط زیست می‌گردد. با بررسی خصوصیات توکسیکولوژی عصاره پوست سبز گردو و کسب مراتب مجوز تایید مصرف در مواد غذایی از مراجع ذیصلاح، این عصاره به‌عنوان ماده آنتی‌باکتریال و آنتی‌اکسیدان در مواد غذایی می تواند مورد استفاده قرار گیرد.

منابع مورد استفاده

حقیقت خرازی س، اسماعیل‌زاده‌کناری ر و رفتنی‌امیری ز، ۱۳۹۲. اثر تیمار حرارتی بر تغییرات شیمیایی و پایداری اکسایشی روغن زیتون بکر ارقام رایج ایرانی منطقه رودبار: مطالعه‌ای بر زرد، ماری و فیشمی، جلد نهم، شماره ٤. صفحه‌های ۳۳۰ تا ۳۳۹.

دولت‌آبادی م، رفتنی‌امیری ز و اسماعیل‌زاده‌کناری ر، ۱۳۹۳. مقایسه فنل کل و خواص آنتی‌اکسیدانی پوست سبز گردوی سه منطقه از شمال ایران (شاهرود، بندرگز و هزارجریب)، جلد یازدهم، شماره ٤٥. صفحه‌های ۱۸۳-۱۹۲.

رضایی‌ارمی س، جعفری س م، خمیری م و بیات ه، ۱۳۹۱. مقایسه ویژگیهای آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ گردو واریته تویسرکانی حاصل از دو روش استخراج غرقابی با حلال و استخراج به کمک امواج مایکروویو، جلد هشتم، شماره ۲. صفحه‌های ۲۱۹ تا ۲۳٤.

AOAC, 2003. Official Methods of Analysis, Association of official Analytical chemists. 15th ed. Washington,DC. USA.

AOCS, 2007. Official methods and recommended practices of the American oils chemists' society. AOCS press. Champaign. IL.

Arora A, Saira RK and Srivastara GC, 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. Current Science 82: 1227-1238.

Espinel-Ingroff A, Fothergill A and Peter J, 2002. Testing conditions for determination of minimum fungicidal concentrations of new and established antifungal agents for Aspergillus spp: NCCLS collaborative study. Journal of clinical microbiology 40(9): 3204-8.

Farhoosh R, Esmailzadeh Kenari R and Poorazarng H, 2009. Frying stability of canola oil belended with palm olein, olive and corn oils. Journal of the American Oil Chemists' Society 86(1): 71-76.

Farhoosh R and Moosavi S, 2009. Evaluating the perfomanceof proxide and conjugated diene values in monitoring quality of used frying oils. Journal of Agriculture Science and Technology 11: 173-179.

Ghavami M, Gharachorloo M and Ezatpanah H, 2003. Effect of frying on the oil quality properties used in the industry potato chips. Journal of Agricultural Science 9(1): 1-15.

Goli AH, Barzegar M and Sahari MA, 2005. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (Pistachiavera) hull extracts. Food Chemistry 92:521-5.

Karpin A, Ska M, Borowski J and Danowska- Oziewicz M, 2001. Use of natural antioxidants in readyto-serve food. Food Chemistry 72: 5-9.

Negi PS and Jayaprakasha GK, 2003. Antioxidant and Antibactrial Activitis of punica granatum peel extracts. Food microbiology and safety 68(4): 1473-1477.

Oliveria I, Souse A, Ferreira IC, Bento A, Estevinho L and Pereira JA, 2008. Total phenols antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*juglans regia l.*) green husks. Food and Chemical Toxisologv 46(7): 2326-2331.

Pereira AP, Ferreira IC, Marcelino F, Valnto P, Andrade F, Seabra R, Estevinho L, Bento A and Perera JA, 2007a . Phenolic compounds and antimicrobial activity of olive (*oliea europaea l. cv. cobrabc –osa*) leaves. Molecules 12: 1153-1162.

Pereira JA, Oliveria L, Souse A, Valento P, Andrade PB, Ferreira IC, Ferreres F, Bento A, Seabra R and Estevinho L, 2007b. Walnut (*juglans regia l.*) leaves: phenolic compumds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. Food and Chemical Toxicology 45(11): 2287-2295.

Saguy IS, Shani A, Weinberg P, Garti N, 1996. Utilization of jojoba oil for deep-fat frying of foods. Lebensmittel-Wissenschaft and Technology 29(5-6): 573-577.

Schulte E, 2004. Economical micro method for determination of polar components in frying fats. European Journal of lipid science and technology 106: 772-776.

Shahsavari N, Barzegar MA and Naghdabadi H, 2008. Antioxidant activity and chemical characterization of essential oil of bumimum persicom. Plant food human nutrition 63: 183-188.

Siddhuraju P, Mohan PS and Becker K, 2002. Studies in the antioxidant activity of Indian laburnum (*Cassia fistula L.*): A preliminary assessment of crude extracts from stem bark, leaves, flowers and fruit pulp. Food Chemistry 79: 61–67.

Sotillo RD, Hadley M and Holm ET, 1994. Potato peel waste: Stability and antioxidant activity of a freeze-dried extract. Journal of Food Science 59(5): 1031-1033.

Stampar F, Solar A, Hudina M, Veberic R and Colaric M, 2006. Traditional walnut liqueur-cocktail of phenolics. Food Chemistry 95(4): 627-631.

Takahama U and Oiniki T. 1997. A peroxide/phenolic/ system can scavenge peroxide in plant cell. Physical Plant 101: 845-852.

Tzia C and Liadakis G, 2003. Extraction Optimization in Food Engineering. Marcel Dekker, Inc.

Wijngaard HH, Rle C and Brunton, 2009. A survey of Irish fruit and vegetable waste and by-products as a source of polyphenol antioxidants. Food Chemistry 116(1): 202-207.

Zhang H, Jiang L, Ye S, Ye Y and Ren F, 2010. Systematism evaluation of antioxidant capacities of the ethanoic extract of different tissues of jujube (zizipjus jujube mill.) from china. Food and Chemical Toxicology 48(6): 1461-1465.

Assessment of anti -microbial and anti -oxidant properties of Hezarjerib originated walnut green husk extract in refined soybean oil

M Dolat abadi[1], Z Raftani Amiri[2*] and R Esmailzadeh Kenari[2]

Received: December 23, 2015 Accepted: February 12, 2017
[1]MSc Student, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Iran
[2]Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Iran
[*]Corresponding author: Email: zramiri@gmail.com

Abstract
In this study, the antioxidant properties of walnut green husk extract of Hezarjerib area of the city of Behshahr in northern Iran was compared with TBHQ and BHA on the refined soybean oil. Chemical parameters of oil including acidity, peroxide value (PV), thiobarbituric acid value (TBA), dien conjugates and the percent of polar compounds were measured during incubation at 60 degree centigrade for a period of 32 days. Moreover, antimicrobial effect of walnut green husk extract was evaluated on gram positive and gram negative bacteria. The results showed that the antioxidant properties of a solution of 1000 ppm of walnut green husk extract was more effective than the synthetic antioxidants of BHA with a concentration of 200 ppm. The walnut green husk extract with 80 mg/ml concentration had inhibitory effect only on *Staphylococcus aureus*. The walnut green husk extract with 160 mg/ml concentration had inhibitory effects on all grams negative and grams positive bacteria and also a bactericidal effect on *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhi.*

Key words: Antioxidant, Inhibition effect, Bactericidal effect, Walnut green husk