

ساخت محلول شوینده و پاک کننده سطوح مختلف با استفاده از خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی پوست سبز گردو و روغن درخت چای

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۰۵

کد مقاله: ۷۷۳۳۷

یلدا تیموری^۱، مرضیه آزادفلاح^{۱*} ترکان عینی زاده^۲

چکیده

دست به عنوان یکی از مهمترین راه انتقال عامل عفونت مطرح است و تأکید زیادی در مورد بهداشت دست صورت گرفته است. در همین راستا، هدف از این مطالعه، تعیین تأثیر عصاره پوست گردوی سبز به عنوان ماده پایه تشکیل دهنده شوینده ضد میکروبی سطوح بر دست مصرف کنندگان بود. در سالهای اخیر به استفاده از عصاره های گیاهان و اسانسها در تولید مواد شوینده تأکید به سزایی شده است. پوست سبز گردو از ضایعات کشاورزی است که به دلیل داشتن ترکیبات فنولی، میتواند به عنوان یک ترکیب طبیعی با خواص بیولوژیک مطرح باشد و باعث کاهش بسیاری از بیماری ها و جلوگیری از فعالیت اکسایش لیپیدها شده و به عنوان عوامل ضد میکروبی نیز مورد استفاده قرار گیرد. در این مطالعه عصاره آبی پوست سبز گردو در دو دمای ۲۵ و ۸۰ درجه سانتیگراد استخراج شد. میزان رطوبت (برحسب درصد وزنی) و pH عصاره استخراج شده محاسبه گردید. به علاوه جهت بررسی ویژگی های آنتی باکتریالی عصاره از روش کری بلر استفاده شد. نتایج حاکی از آن بود که عصاره استخراج شده بر اساس استانداردهای ملی ایران از درصد رطوبت و pH مناسبی برخوردار بود. همچنین، عصاره پوست سبز گردو دارای تأثیر قابل توجهی بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس داشت و میزان هاله عدم رشد قطری حدود ۱/۸ میلی متر را ایجاد کرد که این مقدار جهت استفاده از عصاره به عنوان ماده ضد میکروبی بسیار مطلوب میباشد. پوسته سبز گردو با توجه به مقادیر مناسب ترکیبات فنولی می تواند به عنوان یک ترکیب آنتی اکسیدانی و ضد میکروب طبیعی ارزان مورد استفاده قرار گیرد. به طور کلی نتایج نشان داد که عصاره پوست سبز گردو به عنوان منبع غنی و بالقوه از ترکیبات زیست فعال با خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی قابل استفاده در صنایع بهداشتی و در جهت حفظ سلامت انسان می باشد.

واژگان کلیدی: پوست گردو، خواص ضد میکروبی، شوینده ها، باکتری استافیلو کوکوس اورئوس

۱- پژوهشگر تیم پژوهشی لنترن، شرکت البرز نانو تجهیزرایان، البرز، ایران و پژوهشگر دبیرستان فرزنانگان ۷ استان تهران، ایران

۲- دکتری مهندسی مواد دانشگاه بین المللی امام خمینی قزوین، قزوین، ایران (نویسنده مسئول)

Marziyeh.azadfalalah@gmail.com

۳- کارشناس و مسئول پژوهش دبیرستان متوسطه اول فرزنانگان ۷ استان تهران، ایران

امروزه شوینده‌ها یکی از نیازهای اساسی بشر هستند که روزانه به مقدار گسترده در تمام دنیا استفاده می‌شوند. هر روز با کشف فرمول‌های شیمیایی و مواد افزودنی جدید به انواع شوینده‌ها کیفیت این مواد افزایش یافته و بر مقدار کارایی آن‌ها افزوده می‌شود. ولی اینکه این مواد چه آثار جانبی دارند و استفاده از آن‌ها در سطح گسترده چه پیامدهایی برای انسان و محیط زیست دارد، نیز از موضوعاتی است که باید بررسی شود. شوینده‌های سنتی گیاهی از دیرباز برای شست و شوی بافته‌ها استفاده می‌شدند. در ایران نیز در هر منطقه شوینده‌های سنتی ویژه‌ای کاربرد داشته که هم اثر پاک‌کنندگی مناسبی داشته‌اند و هم به علت نداشتن مواد شیمیایی خطرناک آسیبی به لیاف، انسان و محیط زیست وارد نمی‌کرده‌اند. برخی از این شوینده‌های گیاهی مانند شوینده‌های حاصل از عصاره‌های گیاهی، از شوینده‌های مؤثری بودند که در زمینه استفاده از آن‌ها فعالیت‌هایی انجام شده است. بنابراین، اگر بتوان از شوینده‌های سنتی برای نیازهای روزمره پاک‌کننده استفاده کرد و با ترکیب این شوینده‌ها با مواد شیمیایی کم‌خطر بتوان ترکیبات شوینده‌ای ساخت که مقدار آسیب‌رسانی آن در حداقل مقدار ممکن باشد، گامی بزرگ در حفظ سلامت انسان، محیط زیست و ماندگاری بیشتر بافته‌ها برداشته می‌شود (استاینمان و همکاران، ۲۰۰۸).

مواد مشتق از گیاهان امروزه به صورت گسترده‌ای در مقابله با عوامل بیماری‌زا مورد استفاده قرار می‌گیرند. پیش از ۷۵ سال است که روغن درخت چای به عنوان یک داروی گیاهی در اشکال مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. روغن درخت چای در اوایل قرن ۲۰ در استرالیا به عنوان یک ماده ضدعفونی‌کننده مورد استفاده قرار گرفت. روغن درخت چای نخستین بار در هزاران سال پیش توسط بومیان قاره استرالیا استفاده شد. گونه اصلی این گیاه درختی با نام علمی مالوکا آلترنی فولیا است که از خانواده مورديان می‌باشد. این درخت بومی استرالیا و همیشه سبز به ارتفاع حدود شش متر با برگ‌هایی نوک تیز و معطر است. اسانس از برگ‌های درخت به روش تقطیر با بخار به دست می‌آید. از مهمترین ترکیبات این گیاه می‌توان به سینئول، نرولیدول، ترپینئول-۴، ویریدی فلورول اشاره کرد. روغن درخت چای خواص ضدعفونی‌کننده، ضدقارچی و ضدویروسی دارد. فعالیت ضدباکتریایی روغن درخت به ترپینئول-۴ که ترکیب اصلی روغن است، نسبت چای عمدتاً داده می‌شود (جانس و همکاران، ۱۹۹۲).

گردو با نام علمی *Juglans regia* از تیره Juglandaceae است که به عنوان یک گیاه دارویی (ضد قارچی) توسط بومیان روستاها مورد توجه بوده است. در ایران این گیاه از ارتفاع ۲۶ متر پایین‌تر از سطح دریا در مازندران و تا ارتفاع بیش از ۲۵۰۰ متر از سطح دریا در چهار محال و بختیاری رویش داشته و به جز استان‌های ساحلی خلیج فارس و دریای عمان در سایر استان‌های کشور کشت می‌گردد (بیلگر و همکاران، ۲۰۰۷). پوست سبز گردو یکی از مهمترین ضایعات حاصل از می‌تواند به عنوان گردو پس از جدا کردن مغز بوده و منبعی از ترکیبات فنولی با خواص بیولوژیکی مورد استفاده قرار گیرد. اثرات مفید ترکیبات فنولی از جمله: خاصیت ضد سرطانی، ضد جهش و محافظت از قلب و همچنین مشکوک به سمی بودن آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی، منجر به مطالعات متعددی برای به دست آوردن این ترکیبات از منابع طبیعی شده است. به همین منظور ضایعات صنایع غذایی و کشاورزی مورد توجه قرار گرفت. با به کار گیری این ضایعات جهت تولید آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی علاوه بر مقرون به صرفه شدن تولید، به حفظ محیط زیست نیز کمک می‌کند. ترکیبات فنولی موادی هستند که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند. این ترکیبات در تمامی بخش‌های درخت گردو (میوه، پوست و برگ) موجود است و اثر ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن شناخته شده است. بنابراین، اجزای مختلف درخت گردو می‌تواند به عنوان منبع آنتی‌اکسیدان طبیعی و عوامل ضد میکروبی، ارزشمند باشد (ویجینگار و همکاران، ۲۰۰۹).

ترکیبات فنولی عصاره پوست سبز گردو توسط Stampar و همکاران مورد تجزیه قرار گرفت و ترکیبات سازنده آن مشخص گردید. تعداد ۱۳ ترکیب فنولی 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 (کاتکین، اپی کاتکین، میرستن) و ژوگلون یا جوگلون (۵ هیدروکسی و ۴ نفتوکینون) در گردو شناسایی شده است (کاسمولسکو و همکاران، ۲۰۱۰). ترکیبات فنولی عصاره استخراجی پوست سبز گردو در چهار رقم میوه گردوی رسیده مورد بررسی قرار گرفت. در بین این ترکیب‌ها ژوگلون بیشترین میزان را دارد و ترکیب اصلی موجود در پوست سبز گردو است. پوست سبز گردو می‌تواند به عنوان منبعی از ترکیبات فنولی با خواص بیولوژیک مورد استفاده قرار گیرد. بنابراین برای استفاده از ترکیبات فنولی پوست سبز گردو، استخراج این ترکیبات ضروری می‌باشد. از روش‌های مختلفی برای استخراج ترکیبات فنولی استفاده می‌شود. از این روش‌ها می‌توان به خیساندن (غرقابی)، سوکسله، فراصوت و ماکروویو اشاره نمود. استخراج آبی ترکیبات فنولی به عنوان یکی از معمول‌ترین و بهترین روش‌های استخراج می‌باشد. در این روش به دلیل عدم استفاده از حلال‌های آلی برای استفاده در مواد غذایی ایمن و بی‌ضرر است. کارایی استخراج در این روش به شرایط محیطی استخراج مانند دما بستگی دارد که باید بررسی گردد (لی و همکاران، ۲۰۰۶).

زغال سنگ‌ها افزون بر بخش آلی دارای بخش معدنی نیز هستند که بخش بیشتر خاکستر به جای مانده پس از سوختن زغال سنگ را شامل می‌شود. آنالیزهای انجام شده بر روی خاکستر زغال سنگ‌ها نشان می‌دهد که خاکسترها ترکیبی عناصر از عناصر معدنی هستند. که دارای خاصیت شویندگی و کف کنندگی بالایی است. در مورد منشأ این عناصر تصور می‌شود که احتمال معدنی درون کانی‌های معدنی همراه زغال سنگ‌ها واقع شده‌اند (استاچ، ۱۹۸۲). یکی از پارامترهای اصلی تعیین کیفیت زغال سنگ، خاکستر آن است. زغال سنگ‌ها حاوی مواد غیر آلی و مواد زائدی مثل رس، سولفیدها، سولفات‌ها، کربنات‌ها و ... هستند که پس از سوزاندن زغال سنگ بر جا می‌مانند که به خاکستر معروفند. خاکستر زغال سنگ از نظر منشأ به دو گروه خاکستر ذاتی و خاکستر ثانویه تقسیم می‌شود. مواد غیر سوختنی همراه اجزای تشکیل دهنده را خاکستر ذاتی یا ساختمانی می‌گویند. به هنگام استخراج، زغال سنگ معمولاً با گرد و خاک‌های سنگ‌ها ی کمر بالا و پایین نیز آغشته می‌شود و میزان ناخالصی آن افزایش می‌یابد که به عنوان خاکستر ثانویه در نظر گرفته می‌شود. معمولاً سعی می‌شود با اصلاح روش‌های استخراج زغال سنگ، مقدار آغستگی به خاکستر ثانویه کمتر شود (شکاری فرد و همکاران، ۲۰۱۲).

گلیسیرین مایعی شفاف و بی رنگ، بی بو، ویسکوز، مایع جاذب رطوبت، با نقطه ی جوش بالا و طعمی شیرین می‌باشد. الکل آلی مخلوط با شکر و کاملاً محلول در آب می‌باشد. این ماده برای سلامت انسان و محیط زیست کاملاً بی‌ضرر و غیر سمی است. آمریکا و اروپا و ژاپن به ترتیب از پرمصرف ترین کشورهای جهان در مصرف گلیسیرین محسوب می‌شوند. گلیسیرین به طور تصادفی توسط یک دانشمند سوئدی در حین حرارت دادن مخلوط روغن زیتون و مونوکسید سرب در سال ۱۷۷۱ کشف شد. این ماده به دلیل خواصی که دارد در هر صنعتی استفاده های فراوانی نیز دارد. از جمله استفاده‌های رایج آن می‌توان به خاصیت غلظت‌دهندگی آن در صنایع غذا و آرایشی بهداشتی اشاره کرد. گلیسیرین قادر است پیوندهای هیدروژنی قوی با مولکول‌های آب شکل دهد. حداقل نقطه‌ی ذوب آن ۶۳- درجه‌ی فارنهایت با ۷۰ درصد گلیسیرول در آب می‌باشد. گلیسیرین به عنوان ضد انجماد پیش از جایگزینی با اتیلن گلیکول استفاده می‌شد که نقطه انجماد پایین‌تری دارد. در آزمایشگاه گلیسیرین معمولاً حلال برای عامل‌های آنزیمی نگهداری شده در دماهای زیر صفر درجه به دلیل افت دمای انجماد می‌باشد (سویتمن و همکاران، ۲۰۰۵).

بیشتر شوینده‌های شیمیایی موجود در بازار از مشتقات نفتی بوده و در اثر استفاده طولانی مدت به عنوان شوینده، آسیب‌های زیادی به محیط زیست و سلامت انسان وارد می‌کنند. شوینده‌های طبیعی به جهت استفاده از گیاهان تاثیر بسیار کمی بر پوست و محیط دارد و به همین دلیل صنایع بهداشتی تمایل زیادی به استفاده از این مواد دارند. در منابع طب سنتی ایران مواد طبیعی متعددی که دارای خاصیت شویندگی هستند ارائه شده است. قسمت‌های مختلف گیاهان و فرآورده‌های حاصل از آنها برای از بین بردن انواع آلاینده‌ها و لکه‌ها مورد استفاده قرار می‌گرفته است (استانیمان و همکاران، ۲۰۰۸). در این پژوهش به کاربرد عصاره حاصل از پوست سبز گردو و روغن درخت چای به عنوان گیاهان آنتی باکتریال در جهت حذف لکه‌ها و آلودگی‌ها از سطوح مختلف پرداخته می‌شود به طوری که، شوینده مورد معرفی هیچ گونه حساسیت و خطری را برای سلامت افراد در معرض استفاده از شوینده ایجاد نخواهد کرد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- میوه گردو

میوه گردو در اواسط تیر ماه از باغی در شهر کرج تهیه گردید. گردوها از نوع سوزنی و خوشه‌های و دارای ارتفاع کم بودند. عمر درخت‌ها حدود دوازده سال بود و عمل هرس کردن درختان در مواقع لازم انجام شده بود. در ضمن از هیچ گونه آفت کش شیمیایی استفاده نشده بود. در همه مراحل گردوهای کاملاً سالم، به صورت دستچین بدون هیچ گونه آسیبی به پوست سبز و به صورت کاملاً تصادفی برداشت شدند و تا پایان جداسازی پوست در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. پوست‌های سبز گردو بعد از پوست-گیری در دمای اتاق و دور از نور خورشید در زیر پنکه خشک گردید. بعد از خشک شدن کامل پوسته‌ها توسط یک آسیاب برقی به صورت پودر در آمده و برای یکنواخت شدن اندازه ذرات از الک با مش ۲۰ عبور کردند. و تا پایان آزمایش در ظروف تیره در یخچال نگهداری شدند.

۲-۲- فرآیند استخراج عصاره پوست سبز گردو

عمل استخراج عصاره با افزودن ۵ گرم پوسته خشک شده گردو در ۲۵۰ میلیلیتر آب در دمای محیط ۲۵ و ۸۰ درجه سانتیگراد با استفاده از دستگاه همزن مغناطیسی (D-ETS IKA کشور آلمان) با دور ۶۰ در دور در دقیقه انجام شد. بعد از طی مدت زمان استخراج (۴۵ دقیقه) محتوی ارلن به وسیله کاغذ صافی واتمن به شماره ۴ فیلتر گردید. و به مدت یک ساعت در فریزر ۸۰-درجه سانتیگراد (Ishin کشور کره) قرار گرفته و نهایتاً عصاره‌های آبی با خشک‌کن انجمادی (۲-Alpha کشور آلمان) طی ۱۴ ساعت لیوفیلیزه و خشک شد. عصاره خشک شده حاصل تا زمان انجام آزمون‌های مربوطه در دسیکاتور نگهداری شد.

۲-۴-۴- تعیین فعالیت ضد میکروبی عصاره

۲-۴-۴-۱- فعال سازی باکتری های مورد بررسی

باکتری‌های *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 و *E. Coli* ATCC 25922 از مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شدند. ویال لیوفیلیزه حاوی باکتری‌های فوق‌الذکر طبق دستورالعمل، تحت شرایط استریل از محل مورد نظر باز شد و از آن کشت مادر و سپس کشت ذخیره تهیه شد. کشت ذخیره در فریزر -۲۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد و در مراحل بعدی از آن استفاده شد. برای تعیین مشخصات و خصوصیات ریخت‌شناسی و تعیین ساختار میکرو جاذب از دستگاه‌های میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM مدل TESCAN 3MIRA) و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM مدل Philips em ۲۰۸) استفاده شد. از دستگاه طیف سنجی تبدیل فوریه یا طیف بینی فرسوخ مدل (Thermo Nicolet, USA). NEXUSTM 870 FTIR E.S.P برای بررسی گروه‌های عامل سطحی بر روی آبروژل در منطقه فرسوخ نزدیک استفاده شد. غلظت یون فلز سنگین بر روی یک طیف سنج نشر اتمی پلاسما جفت شده القایی (ICP) مدل (ICAP 9000) اندازه گیری شد.

۲-۴-۴-۲- روش چاهک گذاری در آگار

فعالیت ضد میکروبی غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرولیتر پوست سبز گردو با استفاده از روش چاهک‌گذاری در آگار (Agar well Diffusion Method) تعیین شد. باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی در محیط آبگوشت BHI 24 ساعت قبل از آزمون در دمای 37°C گرم‌خانه گذاری شد. در ادامه کشت سطحی با استفاده از ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مایع محتوی تقریباً 10^8-10^7 ml/CFU از باکتری‌های مذکور در محیط کشت جامد BHI انجام گرفت. در مرحله بعد در هر پلیت سه چاهک با قطر ۶ میلی‌متر توسط سر پیپت پاستور استریل ایجاد شد. و در درون هر چاهک بیست میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره آزاد و ریزپوشانی شده (معادل عصاره آزاد، در قسمت ارزیابی فعالیت آنتیاکسیدانی توضیح داده شد) ریخته شد. سپس پلیت‌ها در دمای 37°C به مدت ۲۴ ساعت گرم‌خانه گذاری شدند. قطر هاله‌ها با کمک کولیس با دقت ۰/۰۲ میلی‌متر اندازه‌گیری گردید. قطر هاله تشکیل شده (بر حسب میلی‌متر) به عنوان شاخص فعالیت ضد میکروبی در نظر گرفته شد. برای اطمینان از رشد یکنواخت باکتری بر روی سطح پلیت، یک پلیت کشت داده شده فاقد عصاره، در نظر گرفته شد. همچنین از یک پلیت فاقد باکتری نیز برای اطمینان از عدم آلودگی محیط‌های کشت استفاده گردید (هجیری و همکاران، ۲۰۱۰).

۲-۴-۴-۳- تعیین میزان رطوبت

مقدار ۳ گرم از نمونه در دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد تا زمان ثابت شدن وزن در آون (Germany 400, UNB) نگهداری شد. بر اساس اختلاف وزن قبل و بعد از قرار دادن در آون میزان رطوبت محاسبه شد (توین و همکاران، ۲۰۱۰).

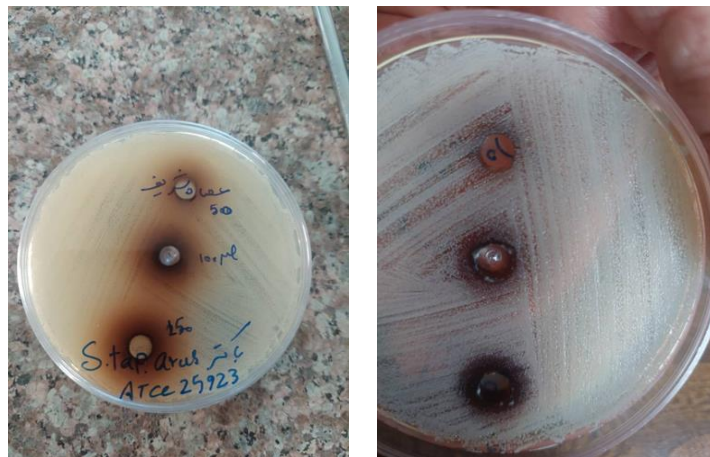
۲-۴-۴-۴- تعیین میزان pH

تعیین میزان مناسب pH، عصاره خام با استفاده از HCl با غلظت ۶ درصد و pH متر (Ultrabasic UB -10) به سطوح مختلف رسانیده شد. در نهایت پس از مخلوط شدن ترکیب در دمای ۲۵ اضافه گردید درجه سانتیگراد و زمان ۲۰ دقیقه از کاغذ صافی عبور داده شد.

۳- بحث و نتایج

۳-۱- بررسی خواص ضد میکروبی عصاره پوست سبز گردو

نتایج بدست آمده براساس آزمون انجام گرفته روی میکروارگانیسم‌ها یکسان نیست. به طوری که اغلب باکتری های گرم مثبت دارای حساسیت، نسبت به ترکیبات ضد میکروبی عصاره پوست سبز می‌باشند. به طوری که، با افزایش غلظت عصاره تغییری چندانی در قطر هاله عدم رشد باکتری گرم منفی مشاهده نشد در حالی که، با افزایش غلظت عصاره پوست گردو قطر هاله تشکیل شده در باکتری گرم مثبت افزایش نشان داد. در مورد باکترهای گرم مثبت، استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به باکتری *E. Coli* حساستر بود. به طوری که، در باکتری استافیلوکوکوس اورئوس قطر هاله عدم رشد با افزایش غلظت عصاره به میزان ۱/۸ میلی‌متر رسید.



شکل ۱- بررسی خواص ضد میکروبی عصاره

۳- بررسی میزان رطوبت و pH عصاره پوست گردو

با توجه به نتایج حاصل، میزان رطوبت عصاره براساس درصد وزنی حدود ۹۶/۹۷ درصد بود که براساس استاندارد ملی ایران عصاره حاصل از میزان رطوبت مناسبی جهت استعمال در شوینده ها و پاک کننده ها برخوردار است. میزان رطوبت، عامل مهمی برای پایداری نمونه است. افزایش رطوبت عصاره باعث تأثیر در دمای گذار شیشه‌ای می‌شود که منجر به حالت چسبندگی و کلوخه‌ای می‌گردد. نتایج نشان داد که در شرایط ثابت با افزایش دمای خشک کردن، میزان رطوبت کاهش می‌یابد. افزایش دما باعث افزایش اختلاف دما بین محیط و دمای ذره می‌شود که موجب افزایش نسبت انتقال رطوبت به بیرون، انتقال دما به داخل و در نتیجه افزایش فشار و سرعت برای خروج رطوبت می‌گردد. با افزایش نسبت عصاره استخراج شده میزان رطوبت پودر افزایش یافت، که ناشی از افزایش مواد جامد خوراک ورودی و کاهش مقدار آب برای تبخیر است (کیم و همکاران، ۲۰۱۲).

براساس شکل ۲ میزان pH عصاره پوست گردو حدود ۵/۵۸ گزارش شد. براساس مطالعات مختلف pH=5 عصاره‌های گیاهی موجب افزایش شفافیت عصاره استخراج شده تا ۸۲ درصد میشود. همچنین، در انتخاب pH مناسب عصاره‌ها باید به سلامت جامعه نیز توجه شود. اهمیت به میزان pH در پژوهش حاضر در افزایش میزان کارایی پاک کننده و شوینده گیاهی تأثیر بسزایی داشته است به طوری که، میزان pH بهینه موجب افزایش کیفیت رنگ و شفافیت عصاره به عنوان ماده اصلی شوینده شده است (موراس و همکاران، ۲۰۰۱).

عصاره پوست گردو سرشار از ترکیبات فنولی است. این ترکیبات به دلیل داشتن گروه‌های هیدروکسیل، توانایی خنثی سازی رادیکال آزاد را دارند. تفاوت در میزان فعالیت آنتی-رادیکالی به دلایل مختلف مرتبط می‌باشد. ولی عمده‌ترین آن تفاوت در نوع و مقدار ترکیبات مؤثر موجود در عصاره می‌باشد. مهم آن است که تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در ساختار آنتی‌اکسیدانی معمولاً فاکتور تعیین کننده نیست. بلکه موقعیت گروه‌های هیدروکسیل، حضور گروه‌های عاملی دیگر مانند پیوند دوگانه و ترکیب گروه‌های هیدروکسیل و گروه کتونی نقش مهمی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی ایفا می‌کنند. ترکیبات فنلی و کوئرستین و مشتقات آن در پوست گیاه گردو از طریق مهار آنزیم DNA ژیراز موجب مهار رشد باکتری می‌شود و از آنجا که کوئرستین ۳ گالاکتوزید ترکیب اصلی فنول‌ها می‌باشد. می‌توان نتیجه گرفت مکانیسم مهار عصاره‌ها از طریق غیرفعال کردن آنزیم DNA ژیراز باکتری و به دنبال آن مهار تکثیر باکتری اتفاق می‌افتد (بیلگر و همکاران، ۲۰۰۷).

ردیف	شرح آزمون	نتیجه آزمون	واحد	حدود مجاز	روش مرجع آزمون
۱	رطوبت	۹۶/۹۷	درصد وزنی	-	استاندارد ملی ایران شماره: ۲۲-۵
۲	pH	۵/۵۸	-	-	استاندارد ملی ایران شماره: ۲۹

توضیحات: بررسی صحت عدد تکالیبی به روش گرمی بر طبق نشان میله‌ها که عصاره مورد آزمون بر روی باکتری ان اسی (E.Coli) به عنوان پاک باکتری گرم منفی مورد استفاده می‌شود. روش باکتری استاتوفورگوس (ATCC29223) به عنوان شاخص باکتری های گرم مثبت مورد استفاده و علامت های مورد مشاهده در نظر ۱/۸ میلی متر ایجاد کرد.

آزماینده: [نام و نام خانوادگی] / مسئول: [نام و نام خانوادگی]

مختبر تخصصی محیط زیست، منابع طبیعی و توسعه پایدار

Address: No. 2, Gahvin Alley, Urmia
Iran, P.O. Box: 38415-3333, Urmia, Iran

شکل ۲- نتایج میزان رطوبت و pH عصاره پوست سبز گردو

همان طوری که زرین قلم و همکاران در سال ۲۰۰۶ مطالعه ای در این زمینه روی فلفل سیاه و قرمز و آویشن شیرازی انجام دادند این مطلب را تأیید می‌کند. که از طریق غیرفعال کردن آنزیم DNase، استافیلوکوکوس اورئوس مهار می‌گردد. همچنین پیشنهاد شده است که ماهیت هیدروفوب ترکیبات تشکیل دهنده عصاره‌ها و اسانس‌ها توانایی نفوذ آن‌ها به لیپیدهای غشای سلولی و میتوکندری را فراهم نموده و سبب بهم ریختگی ساختار و افزایش نفوذپذیری غشا و لذا نشت یون‌ها، ATP و سایر ترکیبات سلولی می‌شوند و یا برهمکنش آنها با آنزیم‌هایی که بر دیواره سلولی قرار گرفته‌اند، مکانیسم اصلی برای عملکرد ضد میکروبی آن‌ها است (زرین قلم و همکاران، ۲۰۰۶).

ترکیبات فنولیک موجود در پوست سبز گردو در بسیاری از گیاهان دیگر نیز وجود دارد که اثر ضد میکروبی و تاثیر آن روی میکروارگانیسم‌ها تابع محل و تعداد گروه‌های هیدروکسیل روی حلقه فنولی است. در صورت اکسید شدن فنول‌ها اثرات شدیدتری روی میکروارگانیسم‌ها قابل مشاهده خواهد بود (سوچیا و همکاران، ۱۹۹۶). ترکیبات فنولیک با مکانیسم‌هایی خاص قادر به اعمال اثر ضد میکروبی خود هستند. ترکیب پروتئین‌های خارج سلولی با تشکیل کمپلکس با دیواره سلولی و با ایجاد اختلال در غشای سلول میکروارگانیسم‌ها از محتمل‌ترین مکانیسم‌های عمل طبق تحقیق پیرا و خواص ضد میکروبی ترکیبات فنولی هستند. کوئرستین ۳-گالاکتوزید به عنوان ترکیب اصلی فنولی موجود در پوست سبز گردو با مهار آنزیم DNA گیراز در میکروارگانیسم‌ها موجب جلوگیری از تکثیر آنها شد (پیرا و همکاران، ۲۰۰۷).

براساس پژوهش دولت آبادی و همکاران در سال ۱۳۹۳ پوست سبز گردو از فعالیت میکروارگانیسم‌های گرم مثبت مانند لیستریا مونوسیتوژنز، استافیلوکوکوس اورئوس و میکروارگانیسم‌های گرم منفی مانند اشرشیاکلی، پروتئوس غلظت ۸۰ ولگاریس و سالمونلا تیفی جلوگیری می‌کند (دولت آبادی و همکاران، ۲۰۱۳). غلظت ۸۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره پوست سبز گردو بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و غلظت ۱۶۰ میلی گرم بر میلی لیتر بر سایر میکروارگانیسم‌ها اثر مهارکنندگی رشد دارد. لازم به ذکر است که این عصاره در غلظت ۱۶۰ میلی گرم بر میلی لیتر بر باکتری‌های سالمونلا تیفی، استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسیتوژنز اثر کشندگی داشت. حشمتی و همکاران در سال ۱۳۹۵ در تحقیقی، مهار ۳ میکروارگانیسم ساکارومایسس سرویزیه، اسپریلوس نایجر و باسیلوس لچنی فرمیس را توسط عصاره‌های اتانولی و متانولی برگ و پوست سبز میوه گردو را اثبات کردند. در این مطالعه مشخص گردید که بیشترین اثر مهارکنندگی عصاره استخراج شده از برگ و پوست سبز میوه گردو بر روی ساکارومایسس سرویزیه بود (حشمتی و همکاران، ۱۳۹۵).

رتبه بندی‌های به وجود آمده روی باکتری‌های گرم مثبت و منفی نشان می‌دهد که با افزایش میزان غلظت عصاره آزاد و ریزپوشانی شده در باکتری‌های گرم مثبت میزان هاله عدم رشد نیز به مراتب افزایش می‌یابد، و در باکتری‌های گرم منفی هاله‌هایی مشاهده نگردید. که همه این موارد به محتوای فنولی و ترکیبات فلاونوئیدی و همچنین کوئرستین و مشتقاتش در عصاره‌ها مرتبط دانست. به طوری که کوئرستین و مشتقات از طریق مهار آنزیم DNA ژیراز موجب مهار رشد باکتری می‌شود (رضایی و همکاران، ۲۰۱۲). و از آنجا که کوئرستین ۳ گالاکتوزید ترکیب اصلی فنولها میباشد. می - توان نتیجه گرفت مکانیسم مهار عصاره‌ها از طریق غیرفعال کردن آنزیم DNA ژیراز باکتری و به دنبال آن مهار تکثیر باکتری اتفاق می‌افتد (رحیمی پناه و همکاران، ۲۰۱۱). همان طوری که زرین قلم و همکاران در سال ۲۰۰۶ مطالعه ای در این زمینه روی فلفل سیاه و قرمز و آویشن شیرازی انجام دادند این مطلب را تأیید می‌کند. که از طریق غیرفعال کردن آنزیم DNase، استافیلوکوکوس اورئوس مهار میگردد (زرین قلم و همکاران، ۲۰۰۷).

همچنین پیشنهاد شده است که ماهیت هیدروفوب ترکیبات تشکیل دهنده عصاره‌ها و اسانس‌ها توانایی نفوذ آن‌ها به لیپیدهای غشای سلولی و میتوکندری را فراهم نموده و سبب بهم ریختگی ساختار و افزایش نفوذپذیری غشا و لذا نشت یون‌ها، ATP و سایر ترکیبات سلولی می‌شوند و یا برهمکنش آنها با آنزیم‌هایی که بر دیواره سلولی قرار گرفته‌اند، مکانیسم اصلی برای عملکرد ضد میکروبی آن‌ها است (حسینی و همکاران، ۲۰۱۳). به طور عمده باکتری‌های گرم منفی به نسبت گرم مثبت‌ها مقاوم تر می‌باشند. این پدیده به علت وجود لایه خارجی لیپوپلی ساکاریدی اطراف دیواره سلولی در باکتری‌های گرم منفی است که نفوذ ترکیبات هیدروفیل را محدود نموده و لذا کارایی اثر ضد میکروبی اسانس کاهش می‌یابد (رحیمی پناه و همکاران، ۲۰۱۱).

Oliveira و همکاران هم در گزارشی در سال ۲۰۰۸ اعلام کردند که عصاره پوسته گردو با MIC 0/1 بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مؤثر است استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان حساس ترین باکتری بوده است که نتایج حاصله با مطالعه فوق مطابقت دارد. با توجه به اینکه در این تحقیق تا غلظت ۲ ml/mg عصاره استفاده شده بود، عدم جلوگیری از فعالیت باکتری اشرشیاکلی به این دلیل است که این مقدار برای جلوگیری از رشد کافی نبوده به طوری که محققین حداقل غلظت بازدارندگی عصاره پوست سبز گردو را برای اشرشیاکلی ۱۰۰ میلیگرم بر میلی‌لیتر به دست آوردند (الیویرا و همکاران، ۲۰۰۸).

- [17] Kim, S. H., Choi, Y. J., Lee, H., Lee, S. H., Ahn, J. B., Noh, B. S., & Min, S. C. (2012). Physicochemical properties of jujube powder from air, vacuum, and freeze drying and their correlations. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 55(2), 271-279.
- [18] Tuyen, C. K., Nguyen, M. H., & Roach, P. D. (2010). Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder. *Journal of Food Engineering*, 98(3), 385-392.
- [19] Moraes, E. & Machado, N. R. (2001). Clarification of *Stevia rebaudiana* (Bert.) extract by adsorption in modified zeolites. *Journal of Acta Scientiarum*. 23(6), 1375 -1380.
- [20] Hejri A, Gharanjig K, Hejazi M. Microwave-assisted extraction of phenolics from bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Research International* 2010; 43:516-9[in Persian].
- [21] Steinemann A., Toxic chemicals in scented laundry detergent fabric softener and health, 2008.
- [22] Sweetman SC, ed. *Martindale: The complete drug reference*. London. Pharmaceutical Press, 2005.
- [23] Stach, E., Mackowsky, M. T., Teichmüller, M., Taylor, G. H., Chandra, D. & Teichmüller, R., (eds.) 1982- *Stach's textbook of coal petrology*, Gebrüder Borntraeger, Berlin, 535 pp.
- [24] Shekarifard, A., Baudin, F., Seyed-Emami, K., Schnyder, J., Laggoun-Défarge, F., Riboulleau, A., Brunet, M. F. & Shahidi, A., 2012- Thermal maturity of the Upper Triassic-Middle Jurassic Shemshak Group (Alborz Range, Northern Iran) based on organic petrography, geochemistry and basin modelling: implications for source rock evaluation and petroleum exploration. Published in "Geological Magazine 149(1) :19-38.
- [24] Johns MR, Johns JE, Rudolph V. Steam distillation of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil. *J Sci Food Agric* 1992; 58: 49 -53 .