Archive of SID

فصلنامه علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان
شماره پیاپی ۱۰، جلد ۳، شماره ۳، تابستان ۸۹، صفحه ۹ تا صفحه ۱۸

بررسی اثر آنتی اکسیدانی و ضدسرطانی روغن زیتون خالص، تصفیه شده وتیمار شده با نور و حرارت به کمک تست ایمز

آرش شمس[۱]، صدیقه مهرابیان[۲]، نور امیر مظفری[۳]

۱- کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. ar_shamss@yahoo.com
۲- استاد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم تهران.
۳- دانشیار، گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران.

تاریخ دریافت: ۸۹/۳/۳۰ تاریخ پذیرش: ۸۹/٤/۱٦

چکیده

بر طبق بررسی‌ها و گزارش‌های انجام گرفته برخی از ترکیبات شیمیایی موجود در میوه‌ها و سبزیجات، دارای اثر حفاظتی در برابر مجموعه‌ای از بیماری‌ها مانند سرطان، بیماری‌های قلبی عروقی، آب مروارید و اختلالات مغزی می‌باشند. شناسایی ترکیبات ضد جهشی گیاهی و ارزیابی خواص سودمند آن‌ها اقدامی موثر در راه اعتلای سلامت بشری است، روغن زیتون به عنوان منبع اصلی چربی در رژیم غذایی، علاوه بر داشتن سطح بالایی از اسیدهای چرب اشباع نشده، حاوی ترکیبات بیولوژیک مانند آنتی اکسیدان‌های فنولی بوده که قادر به جلوگیری از تاثیر مخرب رادیکال‌های آزاد و جهش‌های حاصل بر ساختارهای سلولی می‌باشد. هدف از این پژوهش بررسی اثر آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی روغن زیتون خالص، تصفیه شده وتیمار شده با نور و حرارت به کمک تست ایمز است. در این بررسی از ١٦ نمونه روغن زیتون ایرانی و ١ نمونه روغن اسپانیایی استفاده گردید. آزمون تعیین توان ضد جهشی نیز بر اساس روش ایمز و با استفاده از سویه جهش یافته سالمونلا تیفی موریوم TA١٠٠ و ماده سرطان زای آزید سدیم انجام گرفت و با افزودن میکروزوم کبد موش اثر ضد سرطانی آن بررسی شد. شاهد مثبت آزید سدیم و شاهد منفی آب مقطر تعیین گشت. هر آزمون سه بار به طور هم زمان انجام و درصد بازدارندگی مطابق با فرمول، ١٠٠×(1-T/M)، تعیین گردید. در صد بازدارندگی در بالاترین سطح خود در تاریکی با توجه به واریته زیتون ٦٣/٦٤٪ و در شرایط تیمار با نور ٦٠/٧٠٪ و با تیمار نور و حرارت ٤٦/٣٦٪ بود. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که نور و حرارت موجب کاهش خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی روغن زیتون می‌گردد.

کلید واژه: روغن زیتون، سالمونلا تیفی موریوم TA١٠٠، اثر ضد جهش زایی و ضد سرطانی.

مقدمه

استفاده از ترکیبات گیاهی به عنوان عوامل ضد سرطانی برای اولین بار توسط Hartwell و همکارانش در اواخر دهه ۱۹۶۷ انجام شد، آن‌ها از Podophyllotoxin و مشتقات آن به عنوان عوامل ضدسرطانی استفاده کردند(۳۵).با شیوع وگسترش سرطان در ایران و جهان نیاز به داروهایی با عوارض جانبی و تداخلات دارویی کمتر و اثرات درمانی بهتر از طرف پژوهش گران مورد توجه قرار گرفت، به طوری که امروزه بیش از۶۰٪ ترکیبات ضد سرطانی برای درمان بیماران سرطانی از منابع گیاهی، دریایی و میکروارگانیسم‌ها بدست می آیند(۳۵). روغن زیتون با دارا بودن خواص ضد جهشی و آنتی اکسیدانی قوی به عنوان یک ماده ارزشمند غذایی محسوب می گردد این روغن حاوی ترکیبات فنولی بوده که حضور این ترکیبات در درمان بیماری‌هایی چون انواع

www.SID.ir

Archive of SID

سرطان، بیماری‌های قلبی عروقی، فشار خون، التهابات روماتیسمی، بیماری‌های گوارشی، تسکین درد، فرایند پیری وغیره نقش به سزایی دارد(۱۶،۱۷،۲۵،۳۸).

امروزه برای سنجش فعالیت ضد جهشی ترکیب‌های مختلف از باکتری‌ها استفاده می شود که در زمانی کوتاه نتایج عالی ارائه می دهند، یکی از این روش‌های سنجش ترکیب‌های بازدارنده جهش در باکتری‌ها، روش ایمز(Ames) است. ایمز و همکارانش در سال ۱۹۷۵ فعالیت ضد جهشی و ضد سرطانی ترکیبات مختلف را مورد بررسی قرار دادند. در این روش از سویه‌های سالمونلایی که بر اثر جهش زایی قدرت سنتز هیستیدین را از دست داده اند استفاده می شود(۲،۶). E . Zeiger طی مقایسه ای به این نتیجه دست یافت که سیستم‌هایی که از سویه‌های سالمونلا تیفی موریوم TA۱۰۰ در آزمون‌های خود بهره می‌گیرند از توانایی بالایی برای شناسایی میزان جهش زایی مواد شیمیایی برخوردارند(۴۰). این سویه جهش مشخصی را در اپرن هیستیدین خود دارد که آن را وابسته به منبع هیستیدین خارجی نموده است. این باکتری درتماس با یک عامل جهش زا، جهش برگشتی پیدا کرده و قادر به سنتز هیستیدین خواهد شد، از طرفی عصاره (هموژنای) کبد موش با داشتن میکروزوم‌های حاوی آنزیم‌های مختلف از جمله سیتوکروم $P_{۴۵۰}$ دارای خواص ضد سرطانی می باشد. بنابراین چنان چه ترکیب آنتی اکسیدانی با عمل ضد سرطانی سیتوکروم $P_{۴۵۰}$ نقش سینرژیک داشته باشد، می توان برای آن نقش ضد سرطانی در نظرگرفت(۹،۳۱،۳۳). عوامل مختلفی بر کیفیت و مرغوبیت روغن زیتون موثرند که مهم‌ترین آن‌ها را می توان نور و حرارت ذکر نمود. این دو عامل با اثرگذاری بر ترکیبات فنولی موجود در روغن زیتون باعث کاهش اثرات آنتی اکسیدانی آن می گردند(۱،۴). این پژوهش با استفاده ازروش ایمز به بررسی و مطالعه خواص ضدسرطانی روغن زیتون خالص، تصفیه شده وتیمار شده با نور و حرارت می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

جمع آوری زیتون

جهت جمع آوری زیتون به ایستگاه تحقیقات زیتون در شهرستان طارم اواخرآبان و اوایل آذر ماه۱۳۸۸ که بهترین زمان برداشت محصول زیتون روغنی در این منطقه است، مراجعه گردید.

تهیه روغن زیتون

از تمام ۱۰نوع (رقم) زیتون روغنی که در این مرکز موجود بود نمونه گیری به عمل آمد. در این نمونه گیری تلاش گردید زیتون‌ها به روش دستی جمع آوری و از تماس میوه‌ها با زمین جلوگیری به عمل آید چراکه زخمی شدن و آسیب دیدن میوه‌ها در هنگام برداشت موجب ورود میکروب‌ها به میوه و ایجاد تغییرات بیولوژیک در آن خواهد شد. پس از جمع آوری، میوه‌ها با آب شستشو داده شده تا برگ‌ها، گرد وخاک نشسته بر آن‌ها و نیزمواد زائد احتمالی حذف گردد. پس از این مرحله روغن میوه‌ها به روش پرس سرد، توسط دستگاهی که جهت استخراج روغن تنها از فشار بهره می جوید واصلا از آب گرم استفاده نمی کند، خارج و فورا درون شیشه‌های تیره جمع آوری گردید. علاوه بر نمونه‌های ذکر شده در بالا تعداد ۲ نمونه روغن زیتون که به روش سنتی تهیه شده، ۲ نمونه روغن زیتون با بو و بی بوی کارخانه ای، ۲ نمونه روغن زیتون بکر کارخانه ای با مارک‌های متفاوت تولید داخل و ۱ نمونه روغن زیتون بکر اسپانیایی به طور تصادفی از مراکز خرید نیز تهیه گردید که به این ترتیب تعداد کل نمونه‌های مورد سنجش به ۱۷ نمونه رسید.

باکتری مورد آزمایش

باکتری مورد آزمایش سالمونلا تیفی موریوم سویه TA۱۰۰ مستقیما از پرفسور ایمز دریافت و در محیط نوترینت براث کشت و از کشت شبانه جهت انجام آزمایش‌های تایید سوش مزبوراستفاده گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

آزمون‌های تایید سوش TA۱۰۰

جهش Rfa: این سویه از نظر حساسیت به کریستال ویوله آزمایش شد. برای این منظور ۰/۱ میلی لیتر از محیط کشت شبانه باکتری به ۲ میلی لیتر تاپ آگار ذوب و سرد شده اضافه و بر روی محیط نوترینت آگار پخش و بعد از بسته شدن محیط، دیسک آغشته به کریستال ویوله بر روی محیط قرار گرفت و بعد از ۱۶ ساعت گرمادهی هاله شفافی اطراف دیسک مشاهده شد که نشان گر عدم رشد سلول‌ها و وجود جهش Rfa می باشد.

آزمون R-factor: این آزمون برای بررسی وجود فاکتورمقاومت به آمپی سیلین مورد استفاده قرار می گیرد. در این آزمون از دیسک آمپی سیلین استفاده شده وعدم تشکیل هاله ی مهار رشد در اطراف دیسک آمپی سیلین مقاومت این سوش را به آمپی سیلین نشان داده و وجود فاکتور R به اثبات می‌رسد.

جهش UVrB : این آزمون برای تائید حساسیت UV در سوش‌های TA۱۰۰ است که پس از کشت متراکم نیمی از پلیت با کاغذ آلومینیومی پوشانده و در فاصله ۳۳ سانتی متر UV به مدت ۸ ثانیه قرار می‌گیرد. بعد از ۱۸ ساعت گرمادهی عدم رشد در قسمت اشعه دیده نشان دهنده جهش UVrB می باشد.

تعیین قدرت ضدجهش‌زایی روغن زیتون با استفاده از سالمونلاتیفی موریوم TA۱۰۰

این آزمون شامل آمیختن ماده مورد آزمایش با ۰/۱ میلی لیتر از ماده ی سرطان زای به کار رفته در کنترل مثبت (آزید سدیم) لوله محتوی ۳ میلی لیتر تاپ آگار، ۰/۱ میلی لیتر کشت شبانه باکتری و ۰/۱ میلی لیتر هیستیدین بیوتین و ۰/۱ میلی لیتر روغن زیتون است. محتوی این لوله به طور یکنواخت بر روی محیط گلوکز آگار حداقل ذوب و سرد شده گسترده می شود. پس از سفت شدن، پلیت‌ها را وارونه و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده و برای هر آزمایش ۳ پلیت هم زمان کشت داده شد. کنترل منفی شامل ۰/۵ میلی لیتر آب مقطر به جای آزید سدیم می باشد. شاهد منفی در واقع جهش‌های خود به خودی در باکتری‌ها را نشان می دهد و شاهد مثبت حاوی ۰/۱میلی لیتر ماده سرطان زا می باشد. بعد از دوره گرمادهی تعداد کلنی باکتری‌ها شمارش گردید.

تهیه S_9 کبد موش جهت آزمون ضد سرطان زایی

طیف وسیعی ازعوامل سرطان زا نیاز به فعال سازی متابولیکی برای شناسایی دارند. در این تحقیق از ۵ موش صحرایی (رت) نر با وزن تقریبی ۵± ۲۰۰گرم که از انستیتو پاستور تهیه شده بود، استفاده گردید. موش‌ها به مدت یک شبانه روز دور از غذا و آب نگهداری شدند تا میزان آنزیم‌های کبدی به بالا ترین حد خود برسد، سپس موش‌ها قطع نخاعی شده و کبد آن‌ها خارج گردید با کلرید پتاسیم ۰/۱۵ مولار شستشو و با قیچی استریل آن‌ها را خرد و له کرده و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ (g۹۰۰۰) شد. تمام مراحل در دمای صفر تا ۴ درجه سلسیوس انجام گرفت. پس از سانتریفوژ، محلول رویی(S_9) در دمای ۸۰- سلسیوس ذخیره وآزمون ضد جهش زایی مطابق روش ذکر شده در حضور S_9 انجام گردید. در کنترل مثبت ۰/۱میلی لیتر کشت شبانه، ۰/۱میلی لیترماده جهش زا، ۰/۱ میلی لیتر S_9 و در پتری دیش تست علاوه بر۰/۱میلی لیتر کشت شبانه و ۰/۱میلی لیترماده جهش‌زا، ۰/۱ میلی لیتر روغن زیتون و ۰/۱ میلی لیتر S_9 اضافه شد. در کنترل منفی۰/۵ میلی لیتر آب مقطر استریل، ۰/۱میلی لیتر کشت شبانه و ۰/۱ میلی لیتر S_9 اضافه شد. لازم به ذکر است که در همه پتری دیش‌های مورد آزمایش هیستیدین و بیوتین اضافه و هر آزمایش سه بار هم زمان تکرار گردید. پس از دوره گرمادهی باکتری‌ها شمارش شدند(۶،۹).

محاسبه درصد بازدارندگی

برای محاسبه درصد بازدارندگی از فرمول اونگ استفاده شد، (۱-T/M)×۱۰۰ = درصد بازدارندگی، این فرمول توسط Ong و همکاران سال ۱۹۸۶ ارائه گردید که در آن T تعداد کلنی برگشتی در حضور ماده ضدجهش

www.SID.ir

Archive of SID

و M تعداد کلنی‌های برگشتی در هر یک از پلیت‌های شاهد مثبت است. لازم به ذکر است کلنی برگشتی در کنترل منفی از صورت و مخرج کسر می‌گردد. درصد بازدارندگی بالای ۴۰ بیان کننده اثر ضد جهشی قوی نمونه مورد بررسی، بین ۴۰-۲۵ اثر ضد جهشی متوسط و پایین‌تر از ۲۵ بیان کننده این مطلب است که نمونه مورد بررسی فاقد خاصیت ضد جهشی می باشد(۶).

تحلیل آماری

در این تحقیق اطلاعات مورد نیاز، نظیر تعداد کلنی‌های برگشت یافته در تست جهش زایی در بخش‌های SPSS وبه کمک آنالیز ANOVA مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج

درتایید ژنوتیپ سوش سالمونلا تیفی موریم TA۱۰۰، سویه جهش یافته به علت فقدان نسبی سد لیپو پلی ساکارید در پوشش سطح باکتری، رنگ کریستال ویوله به داخل دیواره نفوذ کرده و باعث مرگ باکتری‌ها وتشکیل هاله‌ای حدود ۱۴ میلی متر شد، در سویه‌های وحشی این هاله شفاف تشکیل نشد. مقاومت به آمپی سیلین به علت وجود پلاسمید R- Factor درسویه مورد آزمایش مشاهده شد. عدم رشد در ناحیه پرتو دیده مشاهده گردید که نشان دهنده جهش UvrB می باشد(جدول ۱).

اثر ضد جهشی روغن‌های زیتون مختلف در شرایط تاریکی

روغن‌ها در طول مدت آزمون ضد جهشی در ظروفی شیشه‌ای و کدر به دور از نور نگهداری شدند، هر آزمایش سه بار هم زمان انجام شد. در کنترل مثبت از ماده جهش زای آزید سدیم استفاده گردید که میانگین تعداد کلنی‌های برگشتی درحضور و عدم حضور S_9 تقریبا برابر ۲۶۰۰ کلنی بود، در حالی که این تعداد در کنترل منفی به حدود ۲۱۰ کلنی تقلیل پیدا کرد که تائیدی بر جهش‌زایی ماده آزید سدیم می باشد. اختلاف معنی داری ما بین برخی از ارقام روغن زیتون در سطح معنی $P\leq ۰/۰۵$ مشاهده گردید، لذا می توان چنین بیان داشت که سه نمونه روغن زیتون به شماره‌های ۲،۱ و ۵ دارای اثرات ضد جهشی و ضد سرطانی قوی در حدود ۶۰٪ می باشند که این مقدار در حضور S_9 افزایش پیدامی کند. نمونه‌های ۱۵، ۱۴، ۱۳، ۱۰، ۹، ۸، ۷، ۶، ۴، ۳ اثرات ضد جهشی و ضد سرطانی متوسطی نشان دادند، اما این میزان نسبت به سه نمونه ذکر شده در بالا کمتر است. با اضافه نمودن S_9 این مقدار اندکی افزایش نشان داد. روغن‌های شماره ۱۱،۱۲،۱۶،۱۷ اثر ضد جهشی نشان ندادند(جدول ۲)

اثر فاکتور نور بر خاصیت ضد جهشی روغن‌های زیتون مختلف

دراین مرحله از بررسی، نمونه روغن‌های شماره ۱۱،۱۲،۱۶،۱۷ که اثر ضد جهشی نداشتند، حذف شد.نتایج این مرحله نشان می‌دهد که روغن‌های شماره ۱،۲،۵ بالاترین میزان درصد مهار را داشتند،ولی نسبت به نمونه‌های مشابه نگهداری شده در تاریکی،اثر ضد جهشی کمتری از خود نشان داده است. در این مرحله نیز اختلاف معنی داری ما بین برخی از ارقام روغن زیتون در سطح معنی $P\leq ۰/۰۵$ مشاهده گردید.به همین ترتیب نمونه‌های ۱۵،۱۴،۱۳،۱۰،۹،۸،۷،۶،۴،۳ درصد جهش زایی متوسطی نشان دادند(جدول۳).

تاثیر تواما فاکتورهای نور و حرارت بر خاصیت ضد جهشی روغن‌های زیتون مختلف

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپی سویه‌های سالمونلا تیفی موریوم۱۰۰ TA

سویه مورد آزمایش	جهش rfa	جهشUvrB	پلاسمید R- Factor
سالمونلا تیفی موریوم TA۱۰۰	+	+	+

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- نتایج بررسی اثر بازدارندگی و تعدیل جهش زایی توسط انواع روغن زیتون با استفاده از سالمونلا تیفی موریوم TA۱۰۰ و در حضور و عدم S_9

نمونه	تعداد کلنی برگشتی	تعداد کلنی در حضور S_9		تعداد کلنی در عدم حضور S_9	
		میانگین و انحراف معیار	میانگین در صد مهار	میانگین و انحراف معیار	میانگین در صد مهار
کنترل +		۲۶۳۶/۳۳±۸۵۴/۱۰		۲۶۶۴/۳۳±۱۰۵۰/۹۸	
کنترل –		۲۱۰/۶۷±۷۸/۵۱		۲۳۵/۶۷±۵۲/۵۱	
نمونه ۱		۲۰.۹۵±۱۰۲۱.۳۳	۶۱.۲۶	۱۹.۸۷±۱۰۴۳.۳۳	۶۰.۸۴
نمونه ۲		۶۹.۵۰±۹۵۸.۶۷	۶۳.۶۴	۲۱.۲۳±۱۰۲۲.۳۳	۶۱.۶۳
نمونه ۳		۲۸.۱۹±۱۳۳۵.۳۳	۴۹.۳۵	۳۲.۲۷±۱۳۷۴.۶۷	۴۸.۴۰
نمونه ۴		۲۲.۰۵±۱۵۹۰.۶۷	۳۹.۶۶	۲۱.۶۴±۱۴۹۶.۶۷	۴۳.۸۳
نمونه ۵		۱۲.۶۶±۱۰۳۰.۳۳	۶۰.۹۲	۲۶.۰۴±۱۰۸۴.۶۷	۵۹.۲۹
نمونه ۶		۱۳.۱۰±۱۴۷۴.۶۷	۴۴.۰۶	۲۴.۱۴±۱۴۹۷.۳۳	۴۳.۸۰
نمونه ۷		۳۲.۳۶±۱۳۳۹.۳۳	۴۹.۲۰	۱۸.۹۱±۱۳۶۲.۶۷	۴۸.۸۶
نمونه ۸		۳۳.۱۸±۱۶۲۵.۰۰	۳۸.۳۶	۳۰.۵۱±۱۶۵۰.۰۰	۳۸.۰۷
نمونه ۹		۲۷.۰۵±۱۸۲۸.۶۷	۳۰.۶۴	۲۰.۰۴±۱۸۵۲.۳۳	۳۰.۴۸
نمونه ۱۰		۲۶.۲۳±۱۷۲۱.۳۳	۳۴.۷۱	۳۶.۲۳±۱۷۴۵.۳۳	۳۴.۴۹
نمونه ۱۱		۲۴.۵۴±۲۱۶۹.۰۰	۱۷.۷۳	۶۰.۳۰±۲۲۴۶.۶۷	۱۵.۶۸
نمونه ۱۲		۱۷.۵۶±۲۰۳۶.۳۳	۲۲.۷۶	۱۹.۶۰±۲۰۶۳.۳۳	۲۲.۵۶
نمونه ۱۳		۲۳.۵۵±۱۵۲۴.۰۰	۴۲.۱۹	۲۱.۶۵±۱۵۵۲.۰۰	۴۱.۷۵
نمونه ۱۴		۲۴.۰۹±۱۶۵۹.۳۳	۳۷.۰۶	۲۵.۹۶±۱۶۸۱.۰۰	۳۶.۹۱
نمونه ۱۵		۲۵.۱۷±۱۵۰۹.۶۷	۴۲.۷۴	۴۱.۶۵±۱۵۴۶.۶۷	۴۱.۹۵
نمونه ۱۶		۸.۶۴±۲۰۱۲.۰۰	۲۳.۶۸	۷.۸۷±۲۰۰۳.۰۰	۲۴.۸۲
نمونه ۱۷		۱۰.۵۳±۲۰۳۳.۶۷	۲۲.۸۶	۱۴.۳۴±۲۰۵۲.۳۳	۲۲.۹۷

جدول۳-مقایسه میانگین و انحراف از معیار تاثیر عوامل محیطی بر روی میزان خاصیت ضد جهشی روغن زیتون‌های مختلف

نمونه آزمایشی	S_9 + تاریکی	S_9 – تاریکی	S_9 + نور	S_9 – نور	S_9 + نور و حرارت	S -۹ نور و حرارت
۱	۱۰۲۱/۳۳±۲۰/۹۵	۱۰۴۳/۳۳±۱۹/۸۷	۱۱۲۰/۶۷±۲۵/۰۴	۱۱۳۹/۰۰±۲۵/۳۵	۱۳۸۷/۶۷±۱۶/۶۶	۱۳۷۹/۰۰±۱۳/۶۴
۲	۹۵۸/۶۷±۶۹/۵۰	۱۰۲۲/۳۳±۲۱/۲۳	۱۰۳۶/۰۰±۸/۶۰	۱۰۵۳/۰۰±۱۴/۷۲	۱۴۱۴/۰۰±۱۶/۰۶	۱۴۲۹/۰۰±۱۲/۳۳
۳	۱۳۳۵/۳۳±۲۸/۱۹	۱۳۷۴/۶۷±۳۲/۲۷	۱۳۴۸/۳۳±۲۲/۶۵	۱۳۶۹/۶۷±۱۷/۷۵	۱۶۰۰/۶۷±۲۰/۱۵	۱۶۱۹/۳۳±۲۴/۱۴
۴	۱۵۹۰/۶۷±۲۲/۰۵	۱۴۹۶/۶۷±۲۱/۶۴	۱۶۱۸/۶۷±۲۲/۴۸	۱۶۳۲/۰۰±۱۴/۹۷	۱۶۸۳/۳۳±۹/۷۴	۱۶۹۵/۶۷±۱۱/۰۹
۵	۱۰۳۰/۳۳±۱۲/۶۶	۱۰۸۴/۶۷±۲۶/۰۴	۱۰۴۵/۶۷±۱۰/۸۷	۱۰۵۸/۶۷±۹/۹۸	۱۲۵۶/۳۳±۱۳/۸۹	۱۲۶۳/۳۳±۱۳/۷۲

www.SID.ir

Archive of SID

در این مرحله از بررسی، تنها از ۵ نمونه اول جدول که نسبت به بقیه نمونه‌ها دارای بالاترین اثر ضد جهشی بودند استفاده گردید.نتایج این مرحله نشان داد که اختلاف معنی داری در سطح معنی $P\leq ۰/۰۵$ وجود دارد به طوری که درصد بازدارندگی در نمونه اول و در شرایط تاریکی از حدود ۶۰٪ به حدود ۴۷٪ در شرایط تیمار با نور و حرارت رسیده است که نشان دهنده تاثیر شدید نور و حرارت بر خاصیت ضد جهشی روغن زیتون است(جدول۳).

بحث و نتیجه‌گیری

در قرن حاضر یکی از علل شایع مرگ و میر در جوامع صنعتی و پیشرفته سرطان می باشد. امروزه انواع متفاوتی از مواد جهش زا و سرطان زای شیمیایی شناخته شده اند. دانشمندان بر این عقیده اند که آسیب‌ها و تغییرات ژنتیکی اعم از تغییرات ایجاد شده در توالی و انسجام DNA، بروز جهش یا جهش زایی در ژن‌ها و دیگر تغیرات ژنتیکی در ساختار کروموزومی، در سرطان زایی نقش به سزایی دارند. روش ایمز جهت غربال گری و شناسایی مواد جهش زا و ضد جهشی متداول است. در این روش با استفاده از سالمونلا تیفی موریوم جهش یافته، برخی ترکیبات گیاهی را ضد جهشی و ضد سرطانی معرفی نموده اند(۳۱).

بررسی نتایج حاصل از نمونه‌های نگهداری شده در تاریکی

بررسی نتایج ضد جهشی و ضد سرطانی ارقام مختلف زیتون با شاهد مثبت آزید سدیم نشان می دهد که سه نمونه روغن زیتون به شماره‌های ۱،۲،۵ دارای اثرات ضد جهشی و ضد سرطانی قوی می باشند و این مقدار در حضور S_9 افزایش پیدا می نماید. علت بالا بودن میانگین در صد مهار این سه نمونه را می توان به نوع واریته هر یک نسبت داد(۵). نتایج تحقیق حاضربا نتایج بررسی ای که در سال ۲۰۰۵ توسط رامون کولومر و همکاران انجام گردید و به بررسی تاثیر رژیم غذایی مدیترانه ای، روغن زیتون و سرطان می پرداخت، در معرفی روغن زیتون به عنوان یک ماده ضد سرطانی هم سویی دارد (۱۱).نمونه‌های ۳،۴،۶،۷،۸،۹،۱۰،۱۳،۱۴،۱۵ اثرات ضد جهشی و ضد سرطانی متوسطی نشان دادند که این طور می توان نتیجه گیری کرد که، این ارقام زیتون دارای مواد ضد جهشی بوده اما این میزان نسبت به سه نمونه ذکر شده در بالا کمتر است. با اضافه نمودن S_9 این مقدار اندکی افزایش نشان داد. این نتایج نشان می دهند استفاده از روغن زیتون در رژیم غذایی می تواند در پیش گیری از سرطان موثر باشد که با بررسی اوون و همکاران در سال ۲۰۰۴ و تاکید بر نقش زیتون و روغن زیتون در پیش گیری به سرطان هم سویی دارد(۲۷).روغن‌های شماره ۱۱،۱۲،۱۶،۱۷ اثر ضد جهشی نشان ندادند که این امر به منزله عدم یا ناچیز بودن خاصیت آنتی اکسیدانی در نمونه‌های یاد شده است.این بررسی با نتایج پژوهشی که در سال ۱۳۸۷ توسط مریم فهیم دانش و همکاران، با عنوان بررسی میزان ترکیبات فنولی و توکوفرولی در تعدادی از روغن‌های زیتون تجاری ایرانی با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا صورت گرفت و بیان می داشت میزان ترکیبات فنولی روغن‌های زیتون ایرانی بسیار ناچیز است و در گروه روغن‌های با میزان پلی فنول کم قرار می گیرند، هم سویی دارد(۵).علت پائین بودن در صد مهار ۴ نمونه ذکر شده در بررسی حاضر را نیز می توان ناشی از زمان و درجه حرارت بالای مرحله مالاکساژ، نحوه استخراج و نوع واریته زیتون دانست(۵،۷،۸،۱۵،۱۸،۱۹،۲۹،۳۶).در تحقیق حاضر از هموژن کبد موش (S_9) نیز استفاده شد. با اضافه نمودن میکروزوم، اثر ضد جهشی روغن زیتون افزایش پیدا نمود که نشان دهنده اثر ضد سرطانی آن می باشد، زیرا سیتوکروم P_{450} در مقابل مواد آنتی اکسیدان و ضد جهش باعث تقویت این اثر شده و در نتیجه مواد مورد آزمایش، ضد سرطان نامیده می شود(۳۱). نتایج حاصل از این بررسی، با بررسی‌ها و پژوهش‌های انجام شده در خصوص خواص ضد جهشی و ضد سرطانی روغن زیتون هم سویی دارد مانند:

بررسی مروری اسکریچ وهمکارانشان در سال ۲۰۰۷

www.SID.ir

Archive of SID

که به بررسی مکانیسم مولکولی اثرروغن زیتون و دیگر لیپیدها دررژیم غذایی سرطان پرداختند و نتیجه آن که تاثیر رژیم غذایی حاوی روغن زیتون در کاهش نرخ ابتلا به سرطان به دلیل وجود ترکیبات فنولی ونیز اسیدهای چرب غیر اشباع یا MUFA بود(۱۴). هم چنین بررسی اثرات ضد جهشی روغن زیتون در سال ۲۰۰۶ توسط جان کامپوس سانچز وهمکارانشان، که با ایجاد جهش در دروزوفیلا ملانوگاسترهایی که هتروزیگوت هستند برای دو مارکر ژنتیکی که به صورت موهایی بر روی بال نمود پیدا می کنند و تیمار با روغن زیتون نشان دادند که روغن زیتون دارای اثرات ضد جهشی قوی می باشد (۱۰). نتایج بررسی‌های سرجیو لوپز و همکارانشان در سال ۲۰۰۴ بر روی روغن زیتون و سرطان که نشان می داد اسیدهای چرب غیر اشباع پلی که در اصطلاح PUFA نامیده می شوند و به صورت n-۶ وجود دارند مستعد تبدیل شدن به ترکیبات آلدئیدی در طی پراکسیداسیون می باشند در حالی که اسیدهای چرب غیر اشباع مونو با مهار رادیکال‌های آزاد و میزان پایین واکنش با اکسیژن نقشی مهم در کاهش آسیب به DNA دارند. هم چنین این پژوهش آثار مفید و ارزشمند روغن زیتون را در برخی سرطان‌ها از جمله سرطان‌های پستان، پروستات، کولون، مثانه و سیستم ادراری، معده و ریه تائید نمود، و مشخص نمود که واکنش‌های گروه اکسیژن که در اصطلاح (ROS =reactive oxygen species) خوانده می شوند و شامل سوپر اکسید آنیون، هیدروژن پراکسید، رادیکال‌های هیدروکسیل، رادیکال‌های آلکوکسیل می باشند منجر به شکسته شدن یک یا هر دو رشته DNA می گردند، وجود ترکیبات فنولی روغن زیتون می تواند عاملی برای از بین بردن این تاثیرات مخرب باشد(۲۲).در سال ۲۰۰۰ مارتین مارون و همکاران در بررسی ای بر روی نقش روغن زیتون در کاهش ریسک ابتلا به سرطان، به تائید این نقش پرداختند(۲۳).در سال ۱۹۹۷ نیز هارولد نیو مارک با بررسی برروی اسکوآلن، روغن زیتون و ریسک ابتلا به سرطان، تاثیر مفید این ترکیب را در محافظت بخشی در برابر تومورهای سرطانی و کاهش ریسک ابتلا به سرطان‌های پستان و پانکراس بیان نمود(۲۶).میشائیل استونهام و همکاران در سال ۲۰۰۰ تاثیر روغن زیتون را بر سرطان کولون را مورد بررسی قرار دادند که یافته‌های آن‌ها حاکی از آن بود که حضور آنتی اکسیدان‌ها و ترکیبات فنولی و نیز اسیدهای چرب غیر اشباع مونو نقشی مهم در کاهش میزان ابتلا به این سرطان دارند(۳۶).در سال ۱۹۹۹ نیز کورتیس متلین در بررسی آمار مرگ ومیر جهانی سرطان پستان به جایگاه مهم روغن زیتون به عنوان عاملی ضد سرطان تاکید دارد(۲۴).

بررسی نتایج حاصل از نمونه‌های تیمار شده با نور

بررسی نتایج و میانگین درصد مهار نمونه‌های تیمار شده با نور مستقیم آفتاب، نشان داد که میزان مهارکنندگی در شرایط نور(۵۷/۴۹٪) از میزان در صد مهار تاریکی(۶۱/۲۶٪) کمتر است. علت این امر را می توان به اثر مخرب اشعه ماورا بنفش (UV) بر ساختار ترکیبات فنولی نسبت داد(۲۰،۲۱،۲۸).این نتایج با نتایج پریستوری و همکاران در سال ۲۰۱۰ که بر روی تاثیر پارامترهای مختلف، ازجمله نحوه و شرایط بسته بندی، میزان اکسیژن، نور، دما و زمان انبار داری برکیفیت روغن زیتون بررسی می کردند، هم سویی دارد، بر طبق یافته‌های ایشان اشعه ماورا بنفش آفتاب تاثیری سو بر ترکیبات آنتی اکسیدانی روغن زیتون داشته و در نتیجه باعث افت کیفیت آن می گردد(۲۸).در سال ۲۰۰۹ نیز کریستینا سابلیوو به اتفاق همکاران به بررسی اثر دما و نور UV بر کاهش میزان آلفا توکوفرول‌های آزاد و محلول در متانول و هگزان پرداختند، نتایج این بررسی نشان داد که نور UV اثر تخریبی بیشتری بر روی آلفا توکوفرول‌های محلول دارد. UV با ایجاد رادیکال‌های متوکسی، پراکسید هیدروژن و تبدیل توکوفرول به رادیکال‌های اکسی منجر به تخریب ویتامین می گردد(۳۲). تحقیق حاضر نیز اثر مخرب نور را بر خاصیت ضد جهشی و ضد سرطانی روغن زیتون نشان

www.SID.ir

Archive of SID

داده است.غزالی و همکارانشان در سال ۲۰۰۶ نیز به بررسی تاثیر نور بر مقاومت اکسیداتیو روغن خرما پرداختند، نتایج این بررسی نشان داد که نور UV باعث تسریع روند اکسیداسیون روغن گردیده که نتیجه آن افزایش پراکسید و به طبع آن کاهش مرغوبیت و کیفیت آن است(۱۶). نتایج تحقیق حاضر با نتایج جمعی از پژوهشگران ایتالیایی که بیان داشته اند، نگهداری روغن زیتون در شیشه‌های روشن و تماس مستقیم آن با نور خورشید موجب کاهش قابل توجهی از پتانسیل آنتی اکسیدانی و ارزش غذایی آن می گردد، هم سویی دارد(۳).

بررسی نتایج حاصل از تیمار تواما نمونه‌ها با نور و حرارت

نتایج حاصل از مراحل تیمار تواما روغن زیتون با نور و حرارت، میزان افت قابل توجه میانگین درصد مهار را نشان می دهد(۴۷/۳۶٪).علت این امر را می توان چنین توجیه نمود که حرارت باعث هیدرولیز یا شکسته شدن اسیدهای چرب با مولکول بزرگ می گردد که نتیجه آن تولید پراکسید و نهایتا کاهش اثر آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی روغن زیتون است (۱،۱۶،۲۸،۳۰،۳۴،۳۷،۳۹). گارسیا و همکاران در سال ۲۰۰۵ به بررسی اثر دما و نوع ماده غذایی در ثبات آنتی اکسیدانی پرداختند، یافته‌های این پژوهش حاکی از آن بود که دمای بالا منجر به بی ثباتی و نا پایداری ترکیبات آنتی اکسیدانی بر حسب وزن مولکولی می گردد، به این معنا که ترکیبات فنولی با وزن مولکولی کم مانند BHA،BHT،DBP در درجه حرارت‌های بالا از پایداری بیشتری برخوردار می‌باشند درحالی که ترکیبات فنولی با وزن مولکولی متوسط مانند AO ۲۲۴۶ و AO ۴۲۵ پایداریشان تابعی از درجه حرارت بوده و در نهایت ترکیبات فنولی و آنتی اکسیدانی با وزن مولکولی بالا که در برابر تغییرات حرارتی حتی درجه حرارت‌های پایین بسیار ناپایدار و بی ثبات هستند (۱۲).در سال ۲۰۰۹ کریستینا سابلیوو به اتفاق همکاران به بررسی اثر دما و نور UV بر کاهش میزان آلفا توکوفرول‌های آزاد و محلول در متانول و هگزان پرداختند، نتایج این بررسی نشان داد نور و حرارت هر دو برماهیت و ساختار اسیدهای چرب غیر اشباع مونو و نیز ترکیبات آنتی اکسیدانی مانند توکوفرول‌های موجود در روغن زیتون تاثیر سو داشته و منجر به کاهش موارد یاد شده می گردند(۳۲).در سال ۱۹۹۹ ایلکر دوراک و همکاران به بررسی اثر دماهای بالا بر سیستم‌های آنتی اکسیدانی و تولید محصولات سمی در روغن‌های تغذیه ای پرداختند، نتایج این بررسی نشان داد دمای بالاتر از ۱۸۰ درجه سانتی گراد تا حد قابل توجهی پتانسیل مقاومت آنتی اکسیدان‌ها (Antioxidant defense potential) (AOP) را کاهش داده و از سوی دیگر میزان سطح مالون دی آلدئید (MDA) را افزایش می دهد که این امر سبب تولید پراکسید خواهد شد که این مهم زمینه بروز انواع بیماری را فراهم می‌آورد(۱۳). برونو زانونی و همکاران در سال ۲۰۰۵ با مدل سازی جهت پیش بینی ثبات روغن زیتون تحت اثر پارامترهای مختلف نشان دادند که اثر نورUV و نیز قرار گرفتن روغن در حرارت‌های بالا منجر به فرسایش روغن،ناپایداری و در نتیجه کاهش طول عمر مفید آن می گردد(۳۹).

منابع

۱- پروانه، ویدا. ۱۳۷۷. کنترل کیفی و آزمایش‌های شیمیایی مواد غذایی. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ چهارم.

۲- جورج بروکس، جان. ۱۳۸۱. باکتری‌های گرم منفی روده‌ای در میکروبیولوژی. نوروزی، جمیله. انتشارات حیان.

۳- رنجزاد، ژیلا.۱۳۸۷. روغن زیتون، معاونت غذا و دارو دانشگاه علوم پزشکی تبریز. شبکه بهداشت و درمان میانه.

۴- رواقی، مریم.، حداد خدا پرست، محمد حسین. ۱۳۸۴. بررسی مزایای تصفیه فیزیکی روغن زیتون وروغن پومیس. اولین همایش تخصصی روغن زیتون.

۵- فهیم دانش، مریم.، قوامی، مهرداد.، حمصی، امیر هومن.۱۳۸۷. بررسی میزان ترکیبات فنولی و توکو فرولی

www.SID.ir

Archive of SID

در تعدادی از روغن‌های زیتون تجاری ایرانی با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، دوره ۵، شماره ۳.

۶- مهرابیان، صدیقه.، مجد، احمد.، دانا، راضیه.۱۳۸۸. بررسی مقایسه ای اثر ضد جهشی و ضد سرطانی بخش‌های رویشی و زایشی بارهنگ کبیر در دو منطقه کرج و لنگرود. فصلنامه علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی زنجان. سال اول، شماره دوم. ۳۲-۲۳.

7.Alonso, S. G., Fregapane, G. (2002). Changes in phenolic composition and antioxidant activity of virgin Olive oil during Frying. J. Agric. Food Chem., 51 (3); 667–672.

8.Aparicio, N.T. (2009). Thermal deterioration of Virgin Olive Oil Monitored by ATR-FTIR analysis of trans content. J. Agric. Food Chem., 57 (21); 9997–10003.

9. Bentley ,K .W. (2000). Phenylethylamines and the isoquinoline aikaloids. J Royal Society of Chemistry,10(1039/a900251k);247-265.

10. Campos Sanchez, J., El Hamss.(2006). Antigeno toxicity studies of Olive oil. I Congreso De Cultura Del Olivo, 783-795.

11. Colomer, R., Menéndez, J. A. (2006). Mediterranean diet. Olive oil and Cancer Journal, 8 (1).

12. Dopico-Garc´a, M.S., Lo´pez-Vilarin˜o, J.M., Gonza´lez-Rodrı´guez, M.V. (2005). Effect of temperature and type of food simulant on antioxidant Stability. stability of antioxidants in food simulants, doi, 10(1002/app.23391); 656-663.

13. Durak, I., Yalcin, S. (2010). High-temperature rature effects on antioxidant systema and toxic product formation in nutritional Oils. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A, 57;585–589.

14. Escrich, E., Moral, R., Grau, L. (2007). Review molecularm mechanisms of the effects of olive oil and other dietary lipids on cancer. Mol. Nutr. Food Res, 51; 1279 – 1292.

15. Evangelista, C.M.W., Greggi Antunes, L.M. (2006). In vivo cytogenetic effects of multiple doses of dietary vegetable oils. Genetics and Molecular Biology, 29 (4).

16. Ghazali, Z., Wan Nik, W.B.(2006). The Effect of light on the oxidative stability of *Palm olein.* 1st International Conference on Natural Resources Engineering & Technology , 24-25th July 2006; Putrajaya, Malaysia, 631-637.

17. Hrncirik, K., Fritsche, S.(2004). Eur. J. Lipid Sci. Technol,106 ; 540–549.

18. Hernandez ,A., Sarmiento, M., Ochoa, M. (2002). Mutagenicity and antimutagenicity studies of lipidic extracts. Food and Chimical Toxicology,40 ;1469-1474.

19. Isidori, M., Parrella, A.(2009). Genotoxicity of aqueous extract from heated cooking oils and its suppression by *Lactobacilli*. Food Science and Technology International , 15; 267.

20. Kiritsakis, A., Nanos, G.D. (1998). Effect of fruit storage conditions on Olive oil. Quality, JAOCS, 75(6).

21. Lamuela-Raventós,Rosa M., Gimeno, E., Fitó, M., Castellote, I. (2004). Interaction of Olive oil phenol antioxidant components with low-density lipoprotein. Biol Res, 37;247-252.

22.López, S., Pacheco, Y. M., Bermúdez, B. (2004). Olive oil and cancer.Grasas y Aceites, 55(1) ; 33-41.

23. Martin,M., Jose, M. (2000).The role of olive oil in lowering cancer risk: Is this real gold or simply pinchbeck?. J Epidemiol Community Health, 54;726-727 .doi:10.1136/jech.54.10.726.

24. Mettlin, C. (1999). Global breast cancer mortality statistics, Ca—A cancer. Journal for Clinicians , 49 (3).

25. Moller, P.,Wallin, H.,Knudsen, L.E. (1996). Oxidative stress associated psychological stress

www.SID.ir

Archive of SID

and life-style factor. Chem Bio Interact,102;1-36.

26. Newmark, H.L. (1997). Squalene, Olive oil, and cancer risk: A review and hypothesis. Cancer Epidemiology,Blornarkers & Prevention, 6;1101-1103.

27. Owen, R.W., Haubner, R., Wu¨ rtele, G. (2004). Olives and olive oil in cancer prevention.European Journal of Cancer Prevention,13 (4).

28. Pristouri, G., Badeka, A., Kontominas, M.G. (2010). Effect of packaging material headspace, oxygen and light transmission, temperature and storag time on quality characteristics of extra virgin olive oil. Food Control , 21 ; 412–418.

29. Psomiadou, E., Tsimidou, M. (1999). On the role of squalene in Olive oil stability. J. Agric. Food Chem., 47 (10); 4025–4032.

30. Ramirez ,T.M., Carmen, L. M., Gomez, M.C.(1999). Extra-virgin Olive oil increases the resistance of LDL to oxidation more than refined Olive oil in free-living men with peripheral vascular disease.Journal of Nutrition, 129;2177-2183.

31. Rosenkranz, H .S. (2003). Synergy between systemic toxicity and genotoxicity: relevance to human cancer risk. Mut. Res, 529;117-127.

32. Sabliov, C.M., Khachaturyan, M. (2009). Effects of temperature and UV light on degradation of a-toco pherol in free and dissolved form. J Am Oil Chem Soc, 86;895–902.

33. Sato, F., Hashimoto, T., Hachiya, A. (2001). Metabolic engineering of plant alkaloid biosynthesis. PNAS , 98 (1) ;367-372.

34. Sillani, J. (2002). Anticancer and health protective properties af fruit components. Asia Pac J Clin Nutr, 11;79-84.

35. Srivastava, V. , Negi, A. S. , Kuma ,J. K. R., Gupta ,M .M ., Khanuja, S. P. S.(2005).Plant-based anticancer molecules: A chemical and biological profile of some important leads. Bioorganic & Medicinal Chemistry,13;5892–59036.

36. Stoneham, M., Goldacre, M., Seagroatt, V. (2000). Olive oil, diet and colorectal cancer: an ecological study and a hypothesis. J Epidemiol Community Health ,54;756–760.

37. Tena, N. (2009). Evaluation of virgin Olive oil thermal deterioration by fluorescence spectroscopy.J. Agric. Food Chem, 57 (22); 10505–10511.

38. Vitaglione, P., Fogliano, V. (2004). Use of antioxidants to minimize the human health risk associated to mutagenic/carcinogenic heterocyclic amines in food. J. Chromatogr. B, 802 ; 189–199.

39. Zanoni, B. Bertuccioli, M. (2005). A preliminary approach to predictive modeling of extra virgin olive oil stability. Journal of the Science of Food and Agriculture, 85;1492–1498 .

40. Zeiger ,E., Shloy,J. A., Bakaleetal, G. (1996). Prediction of *Salmonella* mutagenicity. J. Mutagenesis, 11(Abstract).

www.SID.ir