

■ بررسی تأثیر ضد قارچی عصاره گیاه کبکج جهت حفاظت

آثار کاغذی تاریخی

مینا خوبانی ربانی | مهربان آزادی | بهزاد ذوالفقاری | پروین دهقان

■ چکیده

هدف: هدف این پژوهش، بررسی خاصیت ضد قارچی و قدرت مهارکنندگی گیاه کبکج در برابر مهم‌ترین قارچ‌های مخرب آثار کاغذی مانند گونه‌های اسپرژیلوس نایجر، اسپرژیلوس فومیگاتوس، اسپرژیلوس فلاووس، پنسیلیوم، و کلاوسپوریوم است.

روش و رویکرد پژوهش: روش پژوهش، تجربی-آزمایشگاهی بوده و روش یافته‌اندوزی، مطالعات کتابخانه‌ای و آزمایشگاهی است. غلظت‌های مناسب بر مهار رشد قارچ‌ها، با روش ترکیب دو عصاره آبی و هیدروالکلی در محیط کشت ساپورود دکستروز آگار تعیین شد. برای سنجش قدرت بازدارندگی عصاره‌ها بر روی کاغذ، نمونه‌های کاغذ فیلتر پیرسازی شده در سه گروه کنترل، آغشته شده به عصاره آبی و هیدروالکلی، با سوسپانسیون‌های قارچی تلقیح شد و تأثیر عصاره‌ها بر روی ساختار کاغذ با آزمون‌های تعیین میزان اسیدیت، مقاومت کششی، رنگ‌سنجی، و آنالیز دستگاهی ATR-FTIR مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌های پژوهش: با توجه به نتایج آزمایش‌ها، گیاه کبکج قدرت مناسبی در کنترل رشد عوامل قارچی دارد. در نمونه‌های کاغذی آغشته به عصاره آبی در نسبت ۱:۲۰، و در نمونه‌های کاغذی آغشته به عصاره هیدروالکلی تا نسبت ۱:۱۸۰، عصاره گیاه به طور کامل مانع رشد هر پنج گونه قارچی شد. بیشترین حساسیت به عصاره‌ها در جنس پنسیلیوم و کلاوسپوریوم مشاهده شد که درصد بازدارندگی عصاره هیدروالکلی با غلظت ۱:۲۰۰ در جنس پنسیلیوم ۹۹/۵۷ درصد، و کلاوسپوریوم ۹۹/۷۸ درصد بود. پس از پیرسازی در نمونه‌های کاغذی تیمار شده با هر دو عصاره، میزان pH حدود ۰/۴۶ واحد کاهش یافت. براساس نتایج رنگ‌سنجی، با افزایش پارامتر (زرد-آبی) شدت زردشدگی با کاهش پارامتر (روشنایی-تاریکی) تیرگی کاغذ بیشتر شد. پس از پیرسازی، در نمونه‌های تیمار شده با عصاره آبی، حدود ۰/۴۶ واحد و عصاره هیدروالکلی حدود ۰/۴۱ واحد، کاهش مقاومت کششی مشاهده شد. به‌طورکلی، عصاره هیدروالکلی، در مقایسه با عصاره آبی، قدرت بیشتری در مهار رشد قارچ و تأثیرات رنگی، و کاهش مقاومت کششی کمتری داشته است.

کلیدواژه‌ها

کبکج، ضد قارچ، آثار کاغذی، عصاره آبی، عصاره هیدروالکلی.

مطالعات آرشیوی

فصلنامه گنجینه اسناد: سال بیستم و ششم، دفتر اول، (بهار ۱۳۹۵)، ۱۳۳-۱۰۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۱۹ ■ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۲/۱۵

بررسی تأثیر ضد قارچی عصاره گیاه کبیکج^۱ جهت حفاظت آثار کاغذی تاریخی^۲

مینا خوبانی ربانی^۲ | مهرناز آزادی^۴ | بهزاد ذوالفقاری^۵ | پروین دهقان^۶

مقدمه

آثار کاغذی بخش مهمی از تاریخ فرهنگی، هنری، و اجتماعی جوامع بشری را در برمی گیرد و هر ساله تعداد بسیاری از این آثار به سبب آسیب‌های بیولوژیکی از بین می‌روند. قارچ‌ها از مهم‌ترین عوامل آسیب‌رسان بیولوژیکی هستند. استفاده از مواد شیمیایی برای کنترل و درمان این عوامل با وجود تأثیر مناسب، خطراتی را برای مرم‌تگر، شیء، و محیط‌زیست دارد. بنابراین، یافتن ماده‌ای مؤثر با حداقل میزان خطر ضروری است. در متون کهن، به کاربرد گیاهان به‌عنوان اقدامات حفاظتی پیشگیرانه^۷ اشاره شده است که دارای قابلیت کنترل رشد عوامل بیولوژیکی بوده و در عین حال ارزان، در دسترس، و کم‌خطر هستند. چندین پژوهش نیز در زمینه کاربرد گیاهان در حفاظت آثار کاغذی از آسیب قارچ‌ها نگاشته شده است. پرومال^۸ و ویلر^۹ (۱۹۹۷)، در بررسی حفاظت نسخ خطی ساخته‌شده از الیاف نخل اشاره می‌کنند که جهت جلوگیری از رشد قارچ و حشرات، از ترکیب گیاهانی نظیر آگیر ترکی، زیره سبز، میخک، فلفل، کنجد، و کافور استفاده می‌شود. رحیمی و پدرام (۱۳۸۲)، با بررسی خواص ضد قارچی در گیاهان آویشن، دارچین، مرزه، و مریم‌گلی به این نتیجه رسیدند که آویشن و دارچین مؤثرترین خاصیت ضد قارچی را با حداقل میزان مصرف در قارچ‌زدایی آثار سلولزی دارند. روکانتیرینی^{۱۰} (۲۰۰۵)، در بررسی خاصیت ضد قارچی تعدادی اسانس گیاهی و شیمیایی دریافت که از میان اسانس‌های گیاهی، اسانس تخم درمنه؛ و از میان اسانس‌های شیمیایی، اوژنول و لینالول^{۱۱} مؤثرترین فعالیت ضد قارچی را

1. *Ranunculus lanuginosus*
۲. برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد با عنوان «بررسی و ارزیابی تأثیر ضد قارچی عصاره گیاه کبیکج (*Ranunculus lanuginosus*) جهت حفاظت آثار کاغذی تاریخی».
۳. کارشناس ارشد، مرمت اشیای تاریخی و فرهنگی، دانشگاه هنر اصفهان، اصفهان؛ ایران (نویسنده مسئول)
Khoubani_mina@yahoo.com
۴. استادیار، دانشکده حفاظت و مرمت آثار، دانشگاه هنر اصفهان، اصفهان، ایران
Mazadi@au.ac.ir
۵. دانشیار، گروه فارماکوتکنوزی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
Zolfaghari@pharm.mui.ac.ir
۶. استادیار، گروه انگل و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
Dehghan@med.mui.ac.ir
7. Preventive measures
8. Perumal
9. Wheeler
10. Rakotoniriny
11. Linalool

داشته‌اند. آزادی (۲۰۰۸)، پس از شناسایی مواد مؤثره گلیکوزیدی^۱ و آلکالوئیدی^۲ گیاه حنظل، خاصیت ضد قارچی و ضد حشره‌ای گیاه و امکان استفاده از آن را به‌عنوان کنترل‌کننده آفات تأیید می‌کند. کارباده^۳ (۲۰۱۰)، دریافت که کورکومین^۴ استخراج‌شده از زردچوبه در غلظت بالای ۱۰۰ ppm تأثیر بازدارندگی مناسبی در برابر ۱۴ گونه قارچی داشته است و عصاره چریش و پنج‌انگشت سبب توقف رشد در قارچ رایزوپوس الیگوسپوروس^۵ شد. استوپر^۶ و همکارانش (۲۰۱۴)، در مطالعه فعالیت ضد قارچی اسانس‌های گیاهی و بنزلکونیوم کلراید^۷ در برابر قارچ‌های آسپرژیلوس نایجر، آسپرژیلوس اوکرسئوس^۸، پنسیلیوم^۹، و تریکودرما ویریده^{۱۰} ذکر می‌کند که مؤثرترین فعالیت ضد قارچی به ترتیب مربوط به مرزنجوش، رزماری، و اسطوخودوس است. دوانتن^{۱۱} (۲۰۱۰)، بیان می‌کند که در گذشته، استفاده از گیاهانی نظیر نعنا، زردچوبه، و میخک به‌منظور دورکنندگی حشرات و جلوگیری از رشد قارچ در حفاظت نسخ خطی رایج بوده است و به متن دعاگونه‌ای در صفحات آخر کتاب که توسط نویسندگان برای حفظ نسخه خطی از آفات و بلاها نوشته می‌شد، اشاره می‌کند. وجود واژه کبیکج در برگ نخست یا انتهای کتاب یکی از جنبه‌های جالب توجه در نسخ خطی اسلامی است که به‌صورت تکرار یا کبیکج و گاهی به صورت یا کبیکج اِحْفَظُ الْوَرَقَ (ای کبیکج این ورق را حفظ کن) می‌آید (گسک، ۱۹۸۶). این اعتقاد وجود داشته است که اگر واژه کبیکج در ابتدای کتاب نوشته شود، موریانه به کتاب آسیب نخواهد رساند (اشبیلی، ۱۳۷۹). کبیکج، معرب کلمه فارسی کبیکگ (کبیکه) است که به‌صورت کبیکنج نیز به‌کار می‌رفت و یکی از گونه‌های آلاله^{۱۲} است که قدما می‌پنداشتند حشرات (از جمله بید) از بوی آن گریزانند (معین، ۱۳۳۸: ۲۸۹۵). عصاره خام گونه‌های آلاله دافع حشرات (باتاچار یا^{۱۳} و همکاران، ۱۹۹۳)؛ بی‌حس‌کننده درد (کائو^{۱۴} و همکاران، ۱۹۹۲)؛ و کشنده قارچ هستند (هاچلاف^{۱۵} و همکاران، ۲۰۱۳). Aslam, et al., (2012; Qasem, 1996) رانونکولین^{۱۶} گلوکوزید^{۱۷}، بی‌ثبات موجود در خانواده آلاله است و زمانی که این ماده با بزاق ترکیب شود، به شکل آنزیمی به سم پروتوآنمونین^{۱۸} شکسته می‌شود (Berger & Wachter, 1998). پروتوآنمونین (گاهی به نام آنمونول^{۱۹} یا رانونکولول^{۲۰})، سمی گلیکوزیدی با خاصیت ضد باکتری است (Seegal & Holden, 1945). با توجه به وجود خاصیت ضد قارچی در گونه‌های موجود در خانواده آلالگان احتمال داده شد که گونه رانونکولوس لانوگینوسوس^{۲۱}، یکی از چهار گونه معرفی شده به‌عنوان گیاه کبیکج در منابع گیاه‌شناسی (قهرمان و اخوت، ۱۳۸۳: ۲۵۰)، دارای خاصیت ضد قارچی مناسبی باشد. در واقع، وجود واژه کبیکج در نسخ خطی اسلامی و اعتقاد گذشتگان به خاصیت کبیکج در جلوگیری از آسیب‌های بیولوژیکی در کتاب‌ها، سبب شکل‌گیری این پرسش‌ها در ذهن

1. Glycoside
2. Alkaloid
3. Kharbade
4. Curcumin
5. Rhizopus oligosporus
6. Stupar
7. benzalkonium chloride
8. Aspergillus ochraceus
9. Penicillium spp.
10. Trichoderma viride
11. Devanathan
12. Ranunculaceae
13. Bhattacharyya
14. Cao
15. Hachlaf
16. Ranunculin
17. Glucoside
18. protoanemonin
19. Anemonole
20. Ranunculol
21. Ranunculus lanuginosus



محقق شد:

- آیا گیاه کبیکج (گونه رانونکولوس لانوگینوسوس) دارای خاصیت ضد قارچی و مهارکنندگی رشد قارچ است؟
- عصاره‌های گیاه در چه غلظتی می‌توانند در مهار رشد قارچ بر روی کاغذ مؤثر باشند؟
- عصاره‌های گیاه در طول زمان چه تأثیری بر روی ویژگی‌های ساختاری کاغذ خواهند گذاشت؟

در پژوهش حاضر، با توجه به فقدان مطالعه در زمینه بررسی خاصیت ضد قارچی گیاه کبیکج گونه «رانونکولوس لانوگینوسوس» و تأثیرات آن بر روی کاغذ در گذشته، انجام آزمایش‌های لازم جهت شناسایی توانایی این گیاه در مهار رشد قارچ‌های مخرب کاغذ ضروری به نظر رسید و امکان استفاده از آن در منابع آرشویی برای حفاظت و پیشگیری از رشد متداول‌ترین قارچ‌های مخرب آثار کاغذی مورد بررسی قرار گرفت.

معرفی گیاه کبیکج گونه رانونکولوس لانوگینوسوس

گونه‌های مختلف جنس آلاله در بیشتر نقاط ایران، به خصوص مناطق معتدل، به صورت خودرو رشد می‌کنند (زرگری، ۱۳۹۰، صص ۸-۶۲). گونه رانونکولوس لانوگینوسوس، گیاه علفی افراشته به طول نیم متر و برگ‌هایی متناوب با بریدگی‌های نسبتاً عمیق سه‌بخشی به شکل برگ گشنیز است. گل‌های دارای ۵ کاسبرگ، و ۵ گلبرگ، به رنگ زرد است (قهرمان و اخوت، ۲۰۰۹، ص ۴۳۷). این گیاه دارای ترکیباتی نظیر تانن‌ها، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، و گلیکوزیدهای قلبی^۳ است (خوبانی، ۱۳۹۳). از دیگر ترکیبات موجود در گیاه کبیکج (ترنس)- فیتول^۴، متیل لینولئات^۵، کارواکرول متیل اتر^۶، ان-پنتاکوزین^۷، تری متیل^{۶، ۱۰، ۱۴}، پنتادکانون-^{۲، ۸}، مونوترپنوئید^۹، سسکوئی ترپن‌ها^{۱۱}، سسکوئی-ترپنوئیدها^{۱۱}، و دیترپنوئیدها^{۱۲} می‌باشند (Terzioglu, et al., 2008).

1. Tannin
2. Flavonoid
3. Cardiac glycoside
4. (Z)-Phytol
5. Methyl linoleate
6. Carvacrol methyl ether
7. n-pentacosane
8. 6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone
9. Monoterpenoids
10. Sesquiterpenes
11. Sesquiterpenoids
12. Diterpenoids
۱۳. هر بار یوم تهیه شده از گیاه کبیکج توسط محقق با شماره هر بار یوم ۲۸۳۳ در بخش هر بار یوم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان قرار داده شد.
14. Aqueous extract
15. Hydro-alcoholic extract.
16. Maceration

مواد و روش‌ها

عصاره‌گیری از گیاه کبیکج

برای بررسی اثر ضد قارچی، اندام‌های هوایی (سرشاخه‌های گل‌دار) گیاه کبیکج در فرودین از روستای شیله‌سر در شهرستان بندرانزلی جمع‌آوری شد^{۱۳}. پس از خشک و آسیاب کردن نمونه گیاه، دو عصاره آبی^{۱۴} و هیدروالکلی^{۱۵}، به روش خیساندن^{۱۶} از گیاه مورد نظر تهیه شد (مصمصام شریعت، ۱۳۷۲). به منظور تهیه عصاره هیدروالکلی، ۱۰۰ گرم نمونه پودر شده گیاه را در یک ارلن ریخته و با الکل ۷۰ درجه به حجم ۳۵۰ میلی لیتر رسانده و به مدت ۲۴



ساعت به آن زمان داده و سپس به مدت ۲ ساعت روی تکان‌دهنده^۱ قرار داده شد. سپس، عصاره را به کمک پمپ خلأ و قیف بوخنر^۲ در ارلن جداگانه‌ای ریخته و دوباره روی تگاله‌ها الکل ۷۰ درجه ریخته و اجازه داده شد تا یک شبانه‌روز بماند. این مراحل برای سه روز تکرار شد. سپس، حلال‌ها از عصاره نهایی به وسیله دستگاه روتاری^۳ جدا و با فریز درایر^۴ خشک شد. به منظور تهیه عصاره آبی نیز ۱۰۰ گرم پودر گیاه را در یک ارلن ریخته و ۵۰۰ میلی‌لیتر آب روی آن ریخته و مشابه مراحل مذکور در عصاره‌گیری هیدروالکلی، برای سه روز تکرار شد. سپس، حلال از عصاره نهایی، به وسیله دستگاه روتاری جدا و با فریز درایر خشک شد. وزن عصاره هیدروالکلی خشک شده گیاه پس از توزین، ۲۹/۴ گرم و وزن عصاره آبی خشک شده گیاه، ۲۳/۷ گرم بود.

بررسی خاصیت بازدارندگی گیاه کبکج در مقابل قارچ‌ها

برای بررسی میزان تأثیر عصاره‌های گیاه موردنظر، روی قارچ‌های مورد مطالعه، از روش ترکیب محیط کشت سابورود دکستروز آگار^۵ و عصاره‌ها در غلظت‌های مشخص استفاده شد (Zabka et al, 2011). با توجه به فراوانی قارچ‌های آسیب‌رسان، گونه‌های اسپرژیلوس نایجر، اسپرژیلوس فومیگاتوس^۶، اسپرژیلوس فلاووس^۷، پنسیلیوم^۸، و کلادوسپوریوم^۹ مورد بررسی قرار گرفت (قهری، ۱۳۸۵). قارچ‌های مورد مطالعه، از سوش‌های استاندارد مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران بودند و کدهای ارائه شده از سوی این سازمان برای قارچ‌های تهیه شده عبارت است از: قارچ اسپرژیلوس نایجر (PTCC-5013)، قارچ اسپرژیلوس فلاووس (PTCC-5006)، قارچ اسپرژیلوس فومیگاتوس (PTCC-5009)، قارچ پنسیلیوم (PTCC-5251)، و قارچ کلادوسپوریوم (PTCC-5202). در ابتدا، برای تعیین غلظت مناسب مهارکنندگی، عصاره‌ها از نسبت ۱:۵ با محیط کشت ترکیب شده و سپس رقت عصاره‌ها در محیط کشت افزایش یافت (جدول ۱). سپس، دیسکی به قطر ۰/۴ سانتی‌متر از حاشیه کلنی قارچ‌های موردنظر (کشت هفت روزه)، روی محیط کشت قرار داده و در انکوباتور^{۱۰} در دمای $25 \pm 2^\circ\text{C}$ به مدت ۱۵ روز نگهداری شد. پس از اندازه‌گیری قطر کلنی‌ها، از فرمول $GI = (DC - DT) / DC \times 100$ ، برای تعیین درصد بازدارندگی عصاره‌ها استفاده گردید. در این فرمول، GI درصد بازدارندگی، DC قطر کلنی قارچ در نمونه کنترل، و DT قطر کلنی قارچ در نمونه‌های حاوی عصاره می‌باشد. (Pandey, et al., 1982)

1. Shaker
2. Büchner funnel
3. Rotary
4. Freeze dryer
5. Sabouraud dextrose agar
۶. محیط کشت مورد استفاده برای این آزمون محیط سابورود دکستروز آگار محصول شرکت Biolife از کشور ایتالیا بوده که بر اساس دستور تهیه شرکت تولیدکننده ۶۵ گرم از پودر محیط کشت در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل و سپس جوشانده شد و برای استریل شدن، محیط تهیه شده برای مدت ۲۰ دقیقه در دمای 120°C سانتری‌گراد و فشار ۱۲۰ psi در اتوکلاو قرار داده شد.
7. *Aspergillus fumigatus*
8. *Aspergillus flavus*
9. *Cladosporium* spp.
10. Incubator



عصاره‌ها	غلظت نمونه‌ها	مقدار عصاره به صورت حجمی (میکرولیتر)	مقدار محیط کشت به صورت حجمی (میلیلیتر)
نمونه‌های ترکیب شده با عصاره آبی	1:5	1000 μl	5 ml
	1:20	500 μl	10 ml
	1:40	250 μl	10 ml
	1:60	250 μl	15 ml
	1:70	250 μl	17.5 ml
نمونه‌های ترکیب شده با عصاره هیدروالکلی	1:120	125 μl	15 ml
	1:160	62.5 μl	10 ml
	1:180	62.5 μl	11.2 ml
	1:190	62.5 μl	11.8 ml
	1:200	62.5 μl	11.5 ml

جدول ۱

غلظت نمونه‌های ترکیب شده عصاره آبی و هیدروالکلی با محیط کشت

آزمایش خاصیت ضد قارچی عصاره گیاه کبیکج بر روی نمونه‌های کاغذی

بر اساس نتایج آزمایش بررسی خاصیت ضد قارچی عصاره‌های گیاه و تعیین غلظت‌های مناسب، نمونه‌های کاغذی^۱ با قطر ۶ سانتی‌متری در غلظت‌های ۱:۱۲۰، ۱:۱۴۰، ۱:۱۶۰، ۱:۱۹۰، ۱:۱۸۰، ۱:۲۰۰ و ۱:۲۰۰ در عصاره هیدروالکلی؛ و غلظت‌های ۱:۴۰، ۱:۲۰، ۱:۱۰، ۱:۵، ۱:۵۰ و ۱:۱۹۰ در عصاره آبی آغشته شده و پس از خشک شدن نمونه‌ها، ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تهیه شده از قارچ‌ها با تعداد اسپور^۲ 5×10^6 CFU/ml روی نمونه‌ها تلقیح شد. سپس، در دمای $27 \pm 2^\circ\text{C}$ به مدت ۴۵ روز در انکوباتور با رطوبت ۷۵ درصد نگهداری گردید.

بررسی میزان پایداری عصاره‌های هیدروالکلی و آبی گیاه کبیکج

برای بررسی پایداری عصاره‌های گیاه کبیکج، نمونه‌های کاغذی با غلظت‌های ۱:۱۲۰، ۱:۱۶۰، ۱:۱۴۰، ۱:۱۸۰، ۱:۱۹۰، ۱:۲۰۰ و ۱:۲۰۰ در عصاره هیدروالکلی؛ و غلظت‌های ۱:۵، ۱:۴۰، ۱:۲۰، ۱:۱۰، ۱:۵۰ و ۱:۵۰ در عصاره آبی به روش غوطه‌وری تیمار گردیدند. سپس، در شرایط پیرسازی تسریعی^۳ بر اساس استاندارد ISIRI-4706 و در آون ساخت شرکت ممرتف به مدت ۳۶۰ ساعت نگهداری شدند. بعد از فرآیند پیرسازی، نمونه‌های کاغذی با ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون قارچی با تعداد اسپور 1×10^5 CFU/ml تلقیح شد. سپس، در دمای $27 \pm 2^\circ\text{C}$ و رطوبت ۷۵ درصد در انکوباتور نگهداری گردید.

۱. از کاغذ فیلتر آزمایشگاهی مونکتل شماره ۳۹۲ # ساخت کشور آلمان دارای وزن پایه g/m^2 ۱۰۰ برای تهیه نمونه‌های مطالعاتی استفاده گردید.
2. Colony Forming Unit
3. Accelerated aging



بررسی نمونه‌ها با استفاده از طیف‌سنجی FTIR-ATR^۱

بررسی پیوندهای شیمیایی و تغییرات ساختار کاغذ طی فرآیند درمان و پیرسازی، با استفاده از دستگاه FTIR Spectrometer مدل Nicolet Nexus ۶۷۰ محصول شرکت Thermo Nicolet، مجهز به ATR و متصل به نرم‌افزار OMNIC، با پیمایش در محدوده $4000-400\text{ cm}^{-1}$ انجام شد.

بررسی میزان تغییر رنگ با استفاده از رنگ‌سنجی^۲

تغییر رنگ در نمونه‌های پیرسازی شده، با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج Color Tector Alpha ساخت شرکت Salu Tron Messtechnik GmbH و براساس استاندارد TAPPI TIS 0804-04، مورد سنجش قرار گرفت.

بررسی میزان اسیدیته^۳ گیاه کبیکج و نمونه‌های کاغذی

میزان اسیدیته عصاره‌های گیاه کبیکج و نمونه‌های کاغذی، با استفاده از دستگاه pH متر دیجیتال مدل ۷۴۴ ساخت شرکت METROHM بررسی شد. تغییرات اسیدیته در نمونه‌های کاغذی، در قبل و پس از پیرسازی، براساس استاندارد TAPPI T 529-om99 دمای $25 \pm 5/0^\circ\text{C}$ مورد ارزیابی قرار گرفت.

بررسی مقاومت کششی نمونه‌های کاغذی

بررسی مقاومت کششی نمونه‌های کاغذی در قبل و پس از مرحله پیرسازی بر اساس استاندارد ۲-۸۲۷۳-ISIRI در آزمایشگاه فیزیک الیاف دانشکده نساجی در دانشگاه صنعتی اصفهان با دستگاه Zwic Materialprüfung 1446 انجام گرفت.

بحث و تحلیل یافته‌ها

بر اساس نتایج به دست آمده در شکل ۱ و ۲ و محاسبه درصد بازدارندگی رشد قارچ‌ها در محیط‌های کشت ترکیب شده با عصاره‌های گیاه کبیکج، ملاحظه شد این گیاه قدرت ضد قارچی و مهارکنندگی مناسبی دارد. این خاصیت می‌تواند به دلیل وجود دسته ترکیبات شیمیایی موجود در ساختار گیاه نظیر تانن، فلاونوئید، آلکالوئید، و گلیکوزیدهای قلبی باشد. مطالعات بر روی آلکالوئیدها نشان داده است که این ترکیبات دارای اثرات ضدقارچی (Riviere et al., 1991: 347) و ضدباکتری (Roberts, 2013) و حشره‌کشی (Mann & Kaufman, 2012) هستند. فلاونوئیدها نیز طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های بیولوژیکی

۱. طیف‌سنجی انعکاسی کل تضعیف شده

فروسرخ فوریه

2. Colorimetric analysis

3. Acidity

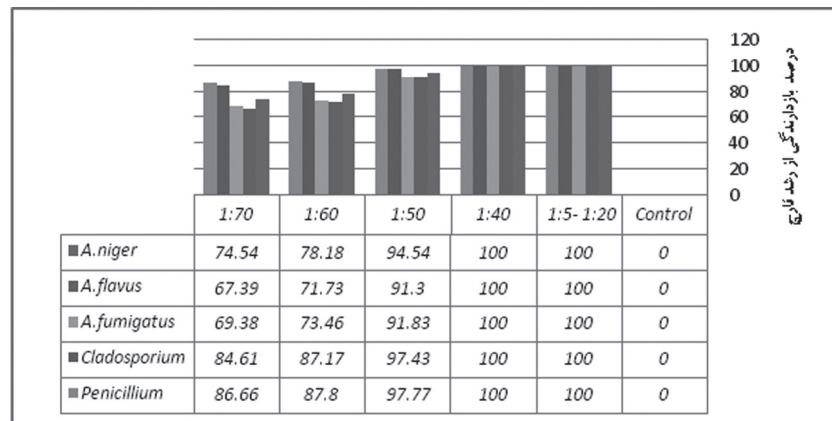


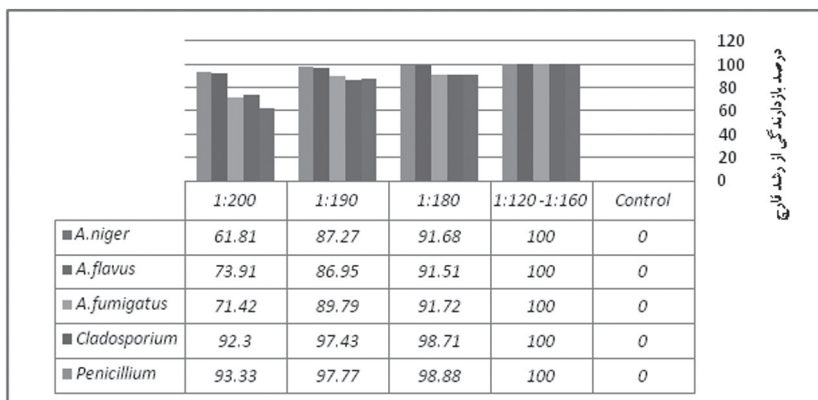
از جمله فعالیت‌های ضد باکتری، ضد حشره، آنتی اکسیدان، و ضد قارچی را دارا می باشند (Tringali, 2003; Orhan et al., 2010). ترکیب کارواکرول متیل اتر نیز دارای قدرت ضد قارچی و ضد باکتری نسبتاً بالایی است (Numpaque et al., 2011; Roller & Seed, 2002). به طور کلی، ترکیبات فنولی؛ آنتوسیانین‌ها؛ تریپنئوئیدها (شامل مونو، دی، سسکوئی‌ترین‌ها)؛ و آلکالوئیدها دارای خاصیت دورکنندگی و حتی کشندگی در حشرات هستند (Hanley et al., 2007). مشاهده شد عصاره آبی تا غلظت ۱:۴۰ مانع رشد گونه‌های قارچی مورد مطالعه می‌شود و در رقت ۱:۷۰ به ترتیب قارچ‌های پنسیلیوم (۸۶/۶۶ درصد)، کلادوسپوریوم (۸۴/۶۱ درصد)، و اسپرژیلوس نایجر (۷۴/۵۴ درصد) بیشترین حساسیت را به عصاره آبی گیاه کبیکج داشتند. در مطالعه‌ای مشابه بر روی خاصیت ضد قارچی گیاه رانونکولوس سلاراتوس^۱، در شرایط آزمایشگاهی، عصاره گیاه در غلظت ۱:۴۰ قدرت کشندگی هایفای^۲ قارچی گونه‌های اسپرژیلوس نایجر، فلاووس، و فومیگاتوس را داشته است که حتی بعد از گذشت ۱۵ روز در دمای اتاق توانایی خود را حفظ کرد (Misra & Dixit, 1978). در محیط‌های ترکیب شده با عصاره هیدروالکلی، قدرت مهار کنندگی بیشتری در مقایسه با عصاره آبی گیاه کبیکج مشاهده شد و عصاره هیدروالکلی تا غلظت ۱:۱۶۰ مانع رشد قارچ گردید و در رقت ۱:۲۰۰ بیشترین حساسیت به عصاره در قارچ‌های پنسیلیوم (۹۳/۳۳ درصد) و کلادوسپوریوم (۹۲/۳ درصد)؛ و سپس قارچ اسپرژیلوس فومیگاتوس (۷۱/۴۲ درصد) مشاهده شد.

1. *Ranunculus sceleratus*
2. Hypha

نمودار ۱

درصد بازدارندگی در نمونه‌های ترکیب شده با عصاره آبی گیاه کبیکج

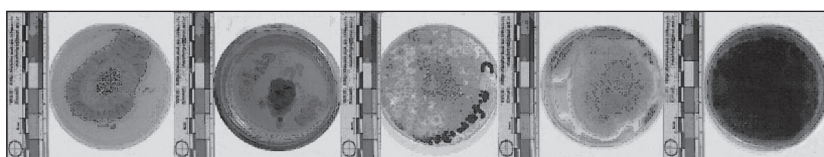




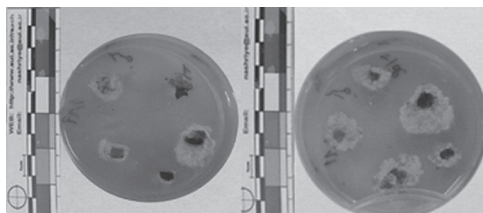
نمودار ۲

درصد بازدارندگی در نمونه‌های ترکیب شده با عصاره هیدروالکلی گیاه کبکج

شکل ۱



نمونه‌های کنترل قارچ‌های مورد مطالعه از راست به چپ اسپرژیلوس نایجر، اسپرژیلوس فلاووس، اسپرژیلوس فومیگاتوس، کلادوسپوریوم و پنسیلیوم پس از گذشت ۷ روز



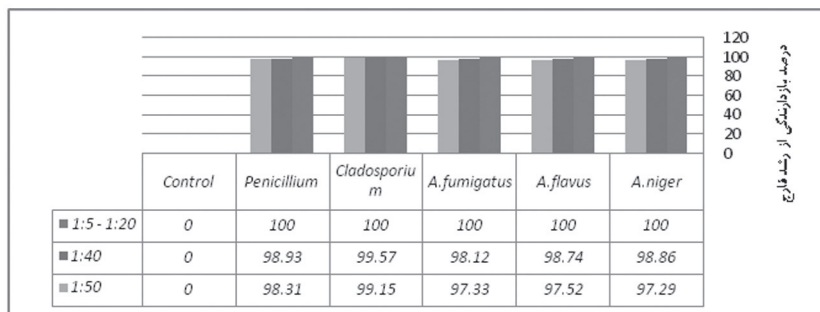
شکل ۲

رشد قارچ‌ها پس از گذشت ۷ روز در نمونه‌های ترکیب شده با عصاره آبی (۱:۵۰) و عصاره هیدروالکلی (۱:۱۸۰) به ترتیب از راست به چپ

میزان رشد قارچ‌ها در نمونه‌های کاغذی آغشته به عصاره‌های آبی و هیدروالکلی گیاه نشان می‌دهد که گیاه قابلیت بازدارندگی مناسبی بر روی نمونه‌های کاغذ دارد. با مشاهده نتایج رشد قارچ‌ها در شکل‌های ۲ و ۳ می‌توان دریافت که نمونه‌های کاغذی آغشته به عصاره هیدروالکلی در مقایسه با نمونه‌های آغشته به عصاره آبی از قابلیت بازدارندگی بهتری برخوردار است. در نمونه‌های آغشته به عصاره آبی تا غلظت ۱:۲۰، و در نمونه‌های آغشته به عصاره هیدروالکلی تا غلظت ۱:۱۸۰ رشدی مشاهده نشد و قارچ‌های اسپرژیلوس نایجر، اسپرژیلوس فلاووس، و اسپرژیلوس فومیگاتوس در برابر عصاره‌های آبی و هیدروالکلی مقاومت بیشتری نشان دادند.

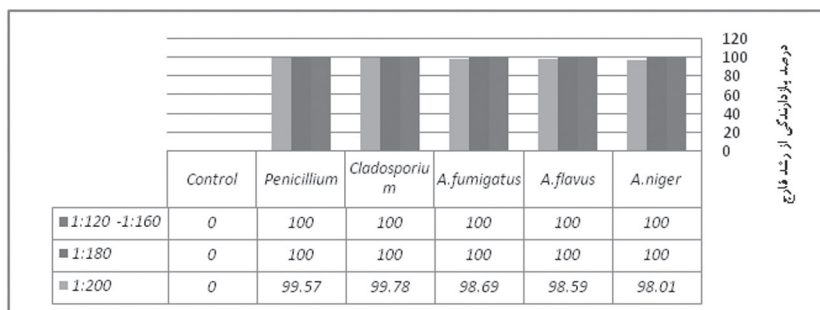
نمودار ۳

میزان رشد قارچ در نمونه‌های کاغذی آغشته به عصاره آبی گیاه کبیکج



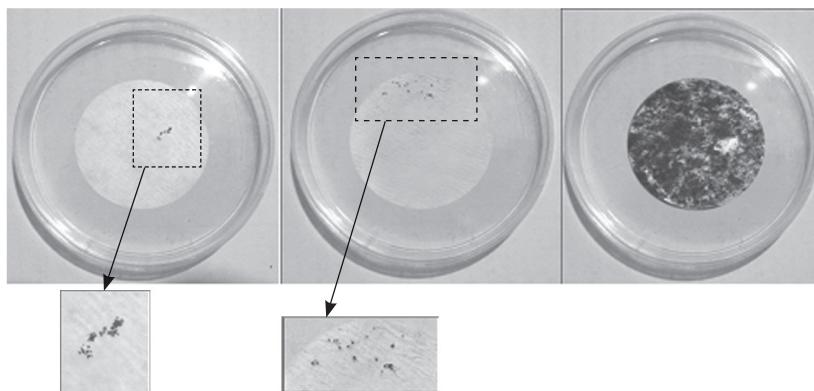
نمودار ۴

میزان رشد قارچ در نمونه‌های کاغذی آغشته به عصاره هیدروالکلی گیاه کبیکج



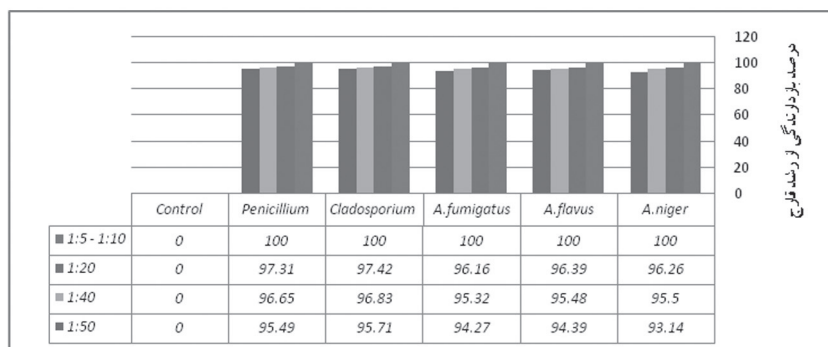
شکل ۳

میزان رشد قارچ اسپرژیلوس نایجر در نمونه‌های کاغذی کنترل، آغشته به عصاره آبی (۱:۵۰)، آغشته به عصاره هیدروالکلی (۱:۲۰۰) از راست به چپ



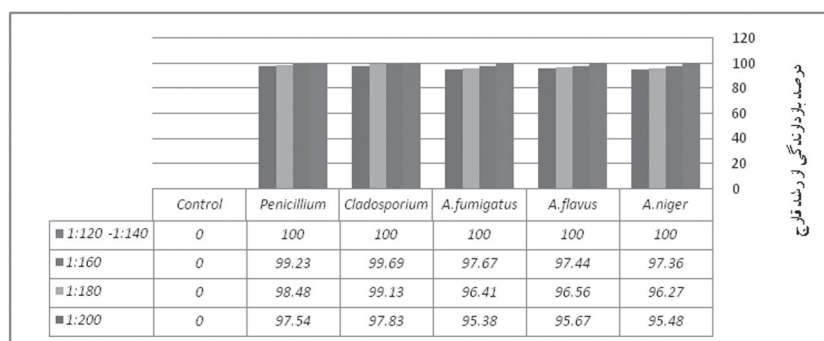
پس از پیرسازی نمونه‌های تیمار شده با عصاره آبی و هیدروالکلی گیاه کبیکج، مشاهده شد که عصاره‌ها خاصیت بازدارندگی خود را در برابر قارچ‌ها حفظ کرده‌اند؛ ولی عصاره هیدروالکلی قابلیت بازدارندگی بهتری از خود نشان داد و تا غلظت ۱:۱۴۰ سبب مهار رشد قارچ به‌طور کامل گردید. در نمونه‌های تیمار شده با عصاره آبی در رقت ۱:۵۰ بیشترین حساسیت مربوط به قارچ کلادوسپوریوم (۹۵/۷۱ درصد) و سپس پنسیلیوم (۹۵/۴۹ درصد)

است و در نمونه‌های تیمار شده با عصاره هیدروالکلی در رقت ۱:۲۰۰ بیشترین حساسیت در قارچ کلادوسپوریوم (۹۷/۸۳ درصد) و سپس پنسیلیوم (۹۷/۵۴ درصد) مشاهده گردید؛ اگرچه میزان تأثیرگذاری آن بر روی قارچ‌ها در مقایسه با نمونه‌های پیرسازی نشده کاهش یافت (شکل ۵ و ۶).



نمودار ۵

میزان رشد قارچ در نمونه‌های کاغذی آغشته به عصاره آبی گیاه کبکج بعد از پیرسازی



نمودار ۶

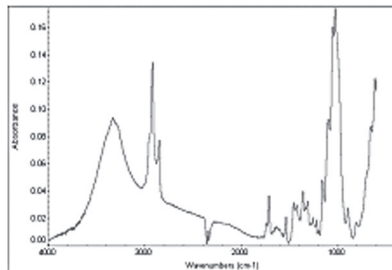
میزان رشد قارچ در نمونه‌های کاغذی آغشته به عصاره هیدروالکلی گیاه کبکج بعد از پیرسازی

در اثر پیرسازی روند فرآیندهای تخریبی نظیر اکسیداسیون سرعت یافته و پیوندهای گلوکزی ازمگسیخته و زنجیره سلولزی دچار شکست می‌شود. در اثر هیدرولیز و اکسیداسیون سلولز، معمولاً محصولات ناشی از این تخریب در محدوده 1500 تا 1900 cm^{-1} به صورت گروه‌های کربنیل (C=O) ظاهر می‌شوند (Lojewski et al., 2005). در طیف‌های مربوط به نمونه کاغذی بدون تیمار، قبل و پس از پیرسازی؛ و نمونه‌های کاغذی تیمار شده با عصاره آبی و هیدروالکلی یک پیک قوی در محدوده 1050 - 1150 cm^{-1} دیده می‌شود که مربوط به باند کششی گروه اتتری C-O است و پیک شاخص سلولز محسوب می‌شود. ولی شدت جذب در ناحیه 1047 cm^{-1} که مربوط به باند کششی C-O است، در نمونه‌های تیمار شده با عصاره آبی و هیدروالکلی افزایش یافته است و در مقایسه طیف نمونه کاغذ در

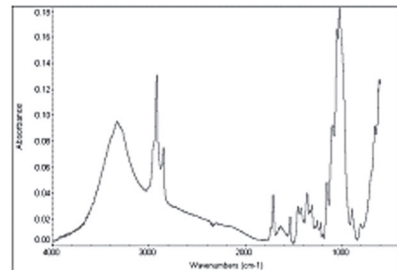
قبل و پس از پیرسازی، افزایش جذب در پیک پیرامون 1750 cm^{-1} دیده می شود که می تواند مربوط به گروه های عاملی کربونیل ($\text{C}=\text{O}$) یا آلکن ($\text{C}=\text{C}$) که از محصولات ناشی از تخریب سلولز در طول فرآیند پیرسازی در دما و رطوبت زیاد هستند، باشد و شدت این پیک در طیف مربوط به نمونه درمان شده با عصاره آبی افزایش یافته است. در محدوده $3200-3600 \text{ cm}^{-1}$ ، پیک پهن و ارتعاشات خمشی گروه $\text{C}-\text{H}$ دیده می شود. در محدوده $3200-3600 \text{ cm}^{-1}$ ، پیک پهن و قوی گروه $\text{O}-\text{H}$ دیده می شود که به دلیل حضور دمای بالا و شکسته شدن زنجیره هیدروژن درون مولکولی تشکیل شده اند.

نمودار ۷

طیف مربوط به کاغذ فیلتر بدون تیمار پیش از پیرسازی (الف)، کاغذ فیلتر بدون تیمار پس از پیرسازی (ب)



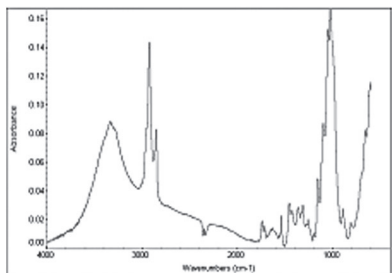
(ب)



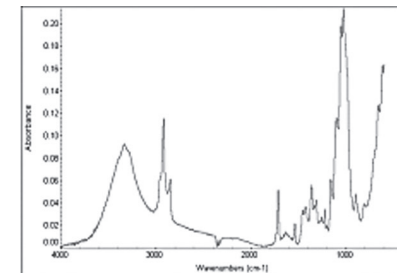
(الف)

نمودار ۸

طیف مربوط به کاغذ تیمار شده با عصاره هیدروآلکلی گیاه کبیکج پس از پیرسازی (الف)، کاغذ تیمار شده با عصاره آبی گیاه کبیکج پس از پیرسازی (ب)



(ب)



(الف)

شکل ۸. طیف مربوط به کاغذ تیمار شده با عصاره هیدروآلکلی گیاه کبیکج پس از پیرسازی (الف)، کاغذ تیمار شده با عصاره آبی گیاه کبیکج پس از پیرسازی (ب) با توجه به میزان تغییرات رنگی در پارامترهای ذکر شده در جدول ۲ می توان گفت پس از پیرسازی در نمونه کاغذ بدون تیمار تغییرات رنگی به علت تخریب پیوندهای سلولزی رخ داده است و پارامتر افزایش یافته و رنگ کاغذ به سمت زردی رفته و پارامتر کاهش یافته

و سبب تیره‌تر شدن رنگ کاغذ شده است. در نمونه‌های کاغذی تیمار شده با عصاره هیدروالکلی و آبی، شدت زردشدگی و تیرگی کاغذ بیشتر شده و پارامتر کاهش یافته و رنگ کاغذ به سمت رنگ سبز رفته است و شدت تغییرات رنگی در عصاره آبی بیشتر از عصاره هیدروالکلی گیاه است.

ΔE	ΔL^*	Δa^*	Δb^*	L^*	a^*	b^*	تغییرات در پارامترهای L^*, a^*, b^* نمونه‌های کاغذ
-	-	-	-	۹۲/۱	-۱/۸	۴/۲	نمونه کاغذی بدون تیمار (پیش از پیرسازی)
۱/۴۸	-۰/۵	۰/۱	۱/۴	۹۱/۶	-۱/۹	۵/۶	نمونه کاغذی بدون تیمار (پس از پیرسازی)
۳/۴	-۱/۶	۰/۱	۳	۹۰/۵	-۱/۷	۷/۲	نمونه کاغذی تیمار شده با عصاره هیدروالکلی در غلظت ۱:۱۸۰ (پیش از پیرسازی)
۱/۵۸	۰/۹	۰/۱	۱/۳	۸۹/۶	-۱/۶	۸/۵	نمونه کاغذی تیمار شده با عصاره هیدروالکلی در غلظت ۱:۱۸۰ (پس از پیرسازی)
۵/۰۴	-۳/۴	۰/۴	۳/۷	۸۷/۷	-۱/۴	۷/۹	نمونه کاغذی تیمار شده با عصاره آبی در غلظت ۱:۵۰ (پیش از پیرسازی)
۲/۱	-۱/۱	۰/۱	۱/۹	۸۷/۶	-۱/۳	۹/۸	نمونه کاغذی تیمار شده با عصاره آبی در غلظت ۱:۵۰ (پس از پیرسازی)

جدول ۲

میزان تغییر رنگ در نمونه‌های کاغذی تیمار شده با عصاره آبی و هیدروالکلی گیاه کبکج در قبل و پس از پیرسازی

با توجه به نتایج تعیین میزان اسیدیته، pH عصاره هیدروالکلی ۶۷۹ است و اسیدیته‌ای نزدیک به محدوده خنثی دارد، در حالی که عصاره آبی دارای اسیدیته‌ای اسیدی (pH=5/67) است. بر اساس شکل ۹ مشاهده می‌شود که پیش از فرآیند پیرسازی، pH نمونه‌های کاغذی بدون تیمار نزدیک به محدوده خنثی است و نمونه‌های تیمار شده با عصاره آبی و هیدروالکلی اندکی اسیدی است. با توجه به میزان اسیدیته در نمونه‌ها می‌توان گفت که در طول فرآیند پیرسازی، به علت وجود دما و رطوبت بالا و ایجاد تخریب اکسیداسیون سلولزی، در تمامی نمونه‌ها میزان pH کاهش یافته، ولی در نمونه‌های کاغذی تیمار شده با عصاره آبی این تغییر بیشتر بوده و pH نمونه اسیدی شده است. به نظر می‌رسد وجود ترکیباتی در عصاره گیاه نظیر تانن‌ها و ترکیبات فنولی که ماهیت اسیدی ضعیفی دارند به این کاهش pH کمک کرده است.



نمودار ۹

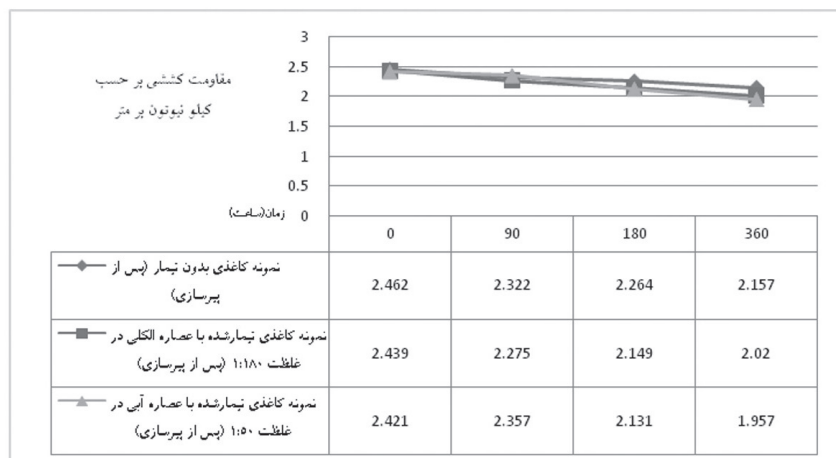
میزان اسیدینه سطح نمونه های کاغذی



با توجه به میزان تغییرات بر روی نمونه های کاغذی آغشته به عصاره در مقایسه با نمونه کاغذ بدون تیمار در شکل ۱۰ می توان گفت کاهش مقاومت حتی در نمونه های کاغذ بدون تیمار نیز دیده می شود، اما شدت کاهش مقاومت کششی در نمونه های کاغذی تیمار شده با عصاره ها در طول فرآیند پیرسازی بیشتر بوده است؛ و میزان کاهش مقاومت در نمونه های تیمار شده با عصاره آبی در مقایسه با نمونه های تیمار شده با عصاره هیدروالکلی بیشتر بوده است. در نمونه های تیمار شده با عصاره آبی، حدود ۶/۴۱٪ واحد و عصاره هیدروالکلی حدود ۱/۴۱٪ واحد، کاهش مقاومت کششی مشاهده شد. دلیل اصلی کاهش مقاومت کششی را می توان تسریع روند اکسیداسیون در سلولز و از هم گسیختگی پیوندهای سلولزی در حضور دما و رطوبت زیاد در فرآیند پیرسازی تسریعی کاغذ در اثر گذشت زمان دانست.

نمودار ۱۰

مقاومت کششی نمونه های کاغذی در قبل و پس از پیرسازی



همان‌طور که در پیشینه تحقیق گفته شد، پیش از این مطالعه‌ای در زمینه قدرت ضد قارچی گیاه کبیکج گونه رانونکولوس لانوگینوسوس انجام نشده است، اما مطالعات محدودی هم‌راستای پژوهش حاضر در جهت بهره‌گیری از گیاهان دارای خاصیت ضدقارچی یا بازدارنده رشد عوامل قارچی در حوزه حفاظت آثار کاغذی انجام گرفته است (Rakotonirainy, 2010; Lavédrine, 2005; Kharbade, 2010; رحیمی و پدرام، ۱۳۸۲). نکته قابل توجه در این مطالعات آن است که در بیشتر این پژوهش‌ها از اسانس‌های گیاهی حاوی مقادیر بیشتری ماده مؤثره استفاده شده است که می‌توانند در غلظت‌های کم و به‌صورت فومیگانت^۱ (بخور) استفاده شوند. این مسئله سبب افزایش تأثیرگذاری و کاهش تغییراتی نظیر تغییرات رنگی و مقاومت کششی در ساختار کاغذ می‌شود. در حالی که، در پژوهش حاضر، از عصاره آبی و هیدروالکلی گیاه کبیکج استفاده شده که در غلظت بیشتر و با وجود مقادیر کمتری ماده مؤثره قابلیت مهارکنندگی و ضدقارچی مناسبی از خود نشان داد تغییرات ناشی از استفاده عصاره‌های گیاه کبیکج در میزان pH نمونه‌های کاغذی حدود ۰/۴ واحد بوده است که این میزان از شدت تغییرات اسیدیته (بیش از یک واحد کاهش pH) در پژوهشی مشابه بر روی اثر ضد قارچی لینالول بر روی آثار کاغذی بسیار کمتر است (Rakotonirainy & Lavédrine, 2005). همچنین، با وجود ترکیبات رنگی مانند آلکالوئیدها و فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها در عصاره گیاه (Alkema & Seager, 1982: 185; Grinkevich & Safronich, 1983: 131)، تغییر میزان روشنایی، سبزی، و زردی کاغذ امری بدیهی است که به‌همراه شرایط پیرسازی و تخریب سلولز سبب زردشدگی بیشتر نمونه‌های کاغذی شده‌اند. بنابراین، این مسئله استفاده مستقیم از عصاره این گیاه را بر روی آثار تاریخی غیرممکن می‌سازد؛ اما می‌توان از آن برای حفاظت پیشگیرانه (توقف یا جلوگیری از رشد عوامل قارچی) در موزه‌ها و آرشیوها بهره جست.

نتیجه‌گیری

دو عصاره آبی و هیدروالکلی گیاه کبیکج هم در ترکیب با محیط کشت و هم در نمونه‌های کاغذی تیمار شده خاصیت بازدارندگی مناسبی در برابر قارچ‌های مورد مطالعه داشتند. میزان تأثیرگذاری عصاره هیدروالکلی در مقایسه با عصاره آبی بر روی قارچ‌های مورد مطالعه بیشتر بود و همچنین، عصاره هیدروالکلی در غلظت ۱:۸۰ و عصاره آبی در غلظت ۱:۲۰ در نمونه‌های کاغذی آلوده شده به قارچ، مانع رشد کامل قارچ شد. قارچ‌های پنسیلیوم و کلادوسپوریوم نسبت به قارچ‌های جنس آسپرژیلوس، بیشترین حساسیت را به عصاره هیدروالکلی و آبی نشان دادند. در بررسی پایداری خاصیت ضد قارچی عصاره‌ها، نتایج نشان دادند که بعد از پیرسازی نمونه‌ها در شرایط رطوبت و دمای بالا،

1. Fumigant



هر دو عصاره خاصیت مهارکنندگی رشد قارچ را حفظ کرده‌اند؛ اما عصاره هیدروالکلی قابلیت بازدارندگی بهتری از خود نشان داد، اگرچه میزان تأثیرگذاری آن بر روی قارچ‌ها در مقایسه با نمونه‌های پیرسازی نشده کاهش یافت. هر دو عصاره در فرآیند پیرسازی کمی اسیدی شده و این میزان کاهش pH حدود ۰/۴ واحد بود. بر اساس نتایج مقاومت کششی، کاهش مقاومت در نمونه‌های آغشته به عصاره رخ داد. این کاهش در نمونه‌های آغشته به عصاره آبی حدود ۰/۴۶ واحد و در عصاره هیدروالکلی حدود ۰/۴۱ واحد مشاهده گردید. بر اساس آزمون رنگ‌سنجی، میزان زردشدگی و تیرگی کاغذ افزایش یافته و این تغییرات در نمونه‌های تیمار شده با عصاره آبی بیشتر از نمونه‌های تیمار شده با عصاره هیدروالکلی بود. بر اساس طیف‌سنجی ATR-FTIR در تمامی نمونه‌ها، بر اثر اکسیداسیون سلولز تحت شرایط پیرسازی مصنوعی تخریب صورت گرفته و محصولات تخریب خود را به صورت گروه‌های کربنیلی نشان داده‌اند. اگرچه نمونه‌های کاغذی بدون تیمار نیز پس از پیرسازی، کمی اسیدی شده و تغییرات رنگی مانند زردشدگی و تیرگی کاغذ و کاهش مقاومت کششی در آنها رخ داده است. به‌طور کلی مشخص شد که پیشینه گیاه کبیکج به‌عنوان بازدارنده آسیب‌های کتاب در برابر عوامل بیولوژیکی در متون کهن و اعتقادات مردم قابل تأمل بوده و براساس آزمایش‌های صورت گرفته، این گیاه قدرت مهار رشد مناسبی در برابر مهم‌ترین قارچ‌های مخرب کاغذ دارد؛ اما به دلیل وجود ترکیبات رنگ‌ساز در ساختار گیاه، نظیر فلاونوئیدها و سایر ترکیبات فنلی، تغییرات رنگی روی نمونه‌های کاغذی اجتناب‌ناپذیر بود. با توجه به قدرت مهارکنندگی مناسب عصاره‌های گیاه کبیکج می‌توان به‌منظور پیشگیری از رشد قارچ در کتابخانه و آرشیوها، از کاغذهای تیشوی (که فاقد آهار و دارای سلولز خالص هستند و از لحاظ اسیدیته خنثی هستند) آغشته شده به عصاره گیاه کبیکج در قفسه‌ها و محل نگهداری کتاب‌ها و اسناد کاغذی یا لابه‌لای اوراق کاغذ و کتاب استفاده کرد که نیازمند برنامه‌ریزی برای پژوهش‌های آتی و بررسی بیشتر برای جلوگیری از تأثیرات ناخواسته رنگی بر روی کاغذ است. همچنین، به نظر می‌رسد استفاده از یک ماده اسیدزدای مناسب نظیر منیزیم متوکسید و هیدروکسید کلسیم، بتواند به افزایش میزان pH عصاره گیاه و بالا بردن ذخیره فلیابی در کاغذ و جلوگیری از تغییرات رنگی، ساختاری و مقاومت کششی ناشی از آن کمک شایانی نماید.

منبع

اشبیلی، بکر بن ابراهیم (۱۳۷۹). ترجمه فارسی التیسیر فی صناعة التفسیر (محمد آصف فکرت، مترجم)، نامه بهارستان، ۱(۲)، ۵-۱۸.



- خوبانی ربانی، مینا (۱۳۹۳). *بررسی و ارزیابی تأثیر ضد قارچی گیاه کبیکج (Ranunculus lanuginosus) جهت حفاظت آثار تاریخی کاغذی*، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، گروه مرمت آثار، دانشکده مرمت، دانشگاه هنر اصفهان، اصفهان.
- رحیمی، شهریار؛ پدرام، نرگس (۱۳۸۲). *قارچ زدایی آثار سلولزی با استفاده از گیاهان*. پایان‌نامه کارشناسی ارشد مرمت اشیای تاریخی و فرهنگی، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده هنر و معماری، تهران.
- زرگری، علی (۱۳۹۰). *گیاهان دارویی (ج ۱)*. تهران: انتشارات دانشگاه تهران.
- صمصام شریعت، هادی (۱۳۷۱). *عصاره‌گیری و استخراج مواد موثره گیاهان دارویی و روشهای شناسایی و ارزشیابی آنها*. اصفهان: نشرمانی.
- قهرمان، احمد؛ اخوت، احمد رضا (۲۰۰۹). *شرح تطبیقی گیاهان دارویی کهن (ج ۲)*. تهران: نشر دانشگاه تهران.
- (۱۳۸۳). *تطبیق نام‌های کهن گیاهان دارویی با نام‌های علمی: تاریخ گیاهان دارویی*. تهران: نشر دانشگاه تهران.
- قهری، محمد (۱۳۸۵). *مروری بر عوامل قارچی مخرب کاغذ، آسیب شناسی و راههای پیشگیری و مقابله، دوفصلنامه مرمت و پژوهش*، (۱)، ۲۷-۴۲.
- گسک، آدام (۱۳۸۲). *کبیکج در دستنوشته‌های اسلامی (افسانه منفرد، مترجم)*. *جهان کتاب*، (۱۶۹)، ۲۶.
- معین، محمد (۱۳۶۸). *فرهنگ فارسی*. تهران: انتشارات امیرکبیر.
- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، روش تسریع در کهنه شدن کاغذ و مقوا در دمای ۸۰ درجه سلسیوس و رطوبت ۶۵ درصد، شماره ۴۷۰۶- ISIRI.
- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، کاغذ و مقوا - اندازه گیری ویژگی های کششی، ۸۲۷۳-۳- ISIRI.
- Alkema, J. & Seager, S.L. (1982). The chemical pigments of plants. *Journal of Chemical Education*, 59, 183-186.
- Aslam, M.s, Ghoudhary, B., Uzair, M. & Ijaz, A.S. (2012). The Genus RANUNCULUS: A Phytochemical and Ethnopharmacological Review, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, (4), 15-22.
- Berger, Artur & Wachter, Helmut (1998). *Hunnus Pharmazeutisches Wörterbuch (in German)*, (8 ed.). Walter de Gruyter Verlag. ISBN 3-11-015793-4.
- Bhattacharyya, P. R., Nath, S. C., & Bordoloi, D. N. (1993). Insecticidal activity of Ranunculus sceleratus (L.) against Drosophila melanogaster and Tribolium castaneum. *Indian journal of experimental biology*, 31(1), 85.



- Boyaghchi, M. A.(2008). The importnace using of the extract of Hanzal as inhibitors in paper manuscripts,Fouth Islamic manuscripts conference, *Queen's college, uni-vestiy of Cambridge*, 6-9 july.
- Cao, B. J., Meng, Q. Y., & Ji, N. (1992). Analgesic and anti-inflammatory effects of Rannunculus japonicus extract. *Planta medica*, 58(6), 496-498.
- Devanathan, .R.(2013). Conservation of Manuscripts – The Natural Way, International *Journal of Current Pharmaceutical Review and Research*, 3(4), 99-104.
- Grinkevich, N. I., & Safronich, L. N. (1983). Chemical analysis of medicinal plants. *Vysshaya Shkola, Moscow*, 170-172.
- Hachelaf, A., Zellagui, A., Touil, A., & Rhouati, S. (2013). CHEMICAL COMPOSITION AND ANALYSIS ANTIFUNGAL PROPERTIES OF RANUNCULUS ARVENSIS L. *Pharmacophore*, 4(3).
- Hanley, M. E., Lamont, B. B., Fairbanks, M. M., & Rafferty, C. M. (2007). Plant structural traits and their role in anti-herbivore defence. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution andSystematics*, 8(4), 157-178.
- Kharbade, B. V. (2010). Research And Innovation In Conservation Of Manuscripts- An Interim Report. *Research Project of National Mission of Manuscripts NMM*),Accessed on, 2, 2012.
- Łojewska, J., Mi kowiec, P, Łojewski, T., & Proniewicz, L. M. (2005). Cellulose oxidative and hydrolytic degradation: In situ FTIR approach. *Polymer degradation and stability*, 88(3), 512-520.
- Mann, S.R., Kaufman, P.E.(2012). Natural product pesticides: their development, delivery and use against insect vectors. *Mini-reviews in organic chemistry*, 9(2), 185-202.
- Numpaque, M. A., Oviedo, L. A., Gil, J. H., García, C. M., & Durango, D. L. (2011). Thymol and carvacrol: biotransformation and antifungal activity against the plant pathogenic fungi Colletotrichum acutatum and Botryodiplodia theobromae. *Tropical plant pathology*, 36(1), 3-13.



- Orhan, D. D., Özçelik, B., Özgen, S., & Ergun, F. (2010). Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of some flavonoids. *Microbiological research*, 165(6), 496-504.
- Pandey, DK, Tripathi, NN, Tripathi, RD & Dixit, SN.(1982). Fungitoxic and phytotoxic properties of essential oil of Hyptis suaveolens. *Pflanzenkrankheit Pflanzenschutz*, 89,344-349.
- Perumal, P.& Wheeler, M.(1997). Traditional practices for the control of insects in India. *V&A Conservation Journal*, 23, 8-9.
- Qasem, J. R. (1996). Fungicidal activity of Ranunculus asiaticus and other weeds against Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici. *Annals of applied biology*, 128(3), 533-540.
- Rakotonirainy, M. S., & Lavédrine, B. (2005). Screening for antifungal activity of essential oils and related compounds to control the biocontamination in libraries and archives storage areas. *International biodeterioration & biodegradation*, 55(2), 141-147.
- Riviere, J. E., Craigmill, A. L., & Sundlof, S. F. (1991). Handbook of comparative pharmacokinetics and residues of veterinary antimicrobials. *Handbook of comparative pharmacokinetics and residues of veterinary antimicrobials*.
- Roberts, M. F. (Ed.). (2013). *Alkaloids: biochemistry, ecology, and medicinal applications*. Springer Science & Business Media.
- Roller, S., Seedhar, P. (2002). Carvacrol and cinnamic acid inhibit microbial growth in fresh-cut melon and kiwifruit at 4° and 8° C. *Letters in Applied Microbiology*, 35(5), 390-394.
- Seegal, B. C., & Holden, M. (1945). The antibiotic activity of extracts of Ranunculaceae. *Science*, 101(2625), 413-414.
- Stupar, M., Grbi , M. L., Džami , A., Unkovi , N., Risti , M., Jeliki , A., & Vukojevi , J. (2014). Antifungal activity of selected essential oils and biocide benzalkonium chloride against the fungi isolated from cultural heritage objects. *South African Journal of Botany*, 93, 118-124.



- TAPPI T 529 om-99,(1999). Hydrogen Ion Concentration (pH) of Paper Extracts (Cold Extraction Method). Technical Association of the Pulp and Paper Industry, Atlanta.
- TAPPI TIS 0804-04,1996. determination of instrumental color differences . Technical Association of the Pulp and Paper Industry, Atlanta.
- Terzioglu, S., Yasar, A., Yayli, N., Yilmaz, N., Karaoglu, S., & Yayli, N. (2008). Antimicrobial activity and essential oil compositions of two *Ranunculus* species from Turkey: *R. constantinopolitanus* and *R. arvensis*. *Asian Journal of Chemistry*, 20(4), 3277.
- Tringali, C. (2003). *Bioactive compounds from natural sources: isolation, Characterization and biological properties*. CRC Press.
- Zabka, M., Pavela, R., & Gabrielova-Slezakova, L. (2011). Promising antifungal effect of some euro-asiatic plants against dangerous pathogenic and toxinogenic fungi. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(3), 492-497.