مجله الکترونیک فرآوری و نگهداری مواد غذایی
جلد دوم، شماره چهارم، زمستان ۸۹
۵۷-۶۹
http://ejfpp.gau.ac.ir

بررسی میزان ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره استونی دو رقم ازگیل (*Mespilus germanica* L.)

سمانه ممشلو[۱]، *علیرضا صادقی ماهونک[۲]، مریم قادری قهفرخی[۳]، مهران اعلمی[۴]، مرتضی خمیری[۵] و محمد قربانی[۶]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، گروه علوم و صنایع غذائی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع‌طبیعی گرگان، [۲]استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۳]دانشجوی دکتری گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه تربیت مدرس، [۴]استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۵]دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۶]استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۹۱/۲/۲؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/٤/۳

چکیده

در این پژوهش ترکیبات فنولی کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و اثرات ضدمیکروبی دو رقم جنگلی (وحشی) و باغی میوه ازگیل (*Mespilus germanica* L.) مورد ارزیابی قرار گرفت. ترکیبات فنولی دو رقم با حلال استون استخراج گردید. مقدار کل ترکیبات فنولی عصاره استونی ازگیل جنگلی و باغی به‌ترتیب برابر ۷/٤۳ و ٤/٤۵ گرم معادل گالیک اسید در ۱۰۰ گرم ماده خشک بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با آزمون‌های به دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد DPPH، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و قدرت احیاکنندگی بررسی و با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT مقایسه شد. در تمام آزمون‌ها واریته جنگلی میوه ازگیل نسبت به نوع باغی فعالیت آنتی‌اکسیدانی بهتری از خود نشان داد. فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌ها روی ۳ باکتری گرم مثبت و ۳ باکتری گرم منفی به روش رقیق‌سازی چاهک با دستگاه ELISA مورد بررسی قرار گرفت. عصاره‌ها اثرات ضدمیکروبی قابل ملاحظه‌ای روی تمامی باکتری‌های مورد بررسی داشتند ولی باکتری‌های گرم منفی مقاومت بیش‌تری در مقابل اثرات

*مسئول مکاتبه: sadeghiaz@yahoo.com

بازدارندگی عصاره‌ها از خود نشان دادند. محدوده‌ی حداقل غلظت‌کشندگی عصاره‌های استونی برای دو نوع ازگیل وحشی و باغی به‌ترتیب ۵-۰/٦۱۵ و ۱۰-۱/۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود.

واژه‌های کلیدی: ازگیل، اثرات ضد میکروبی، فعالیت ضد رادیکالی

مقدمه

ازگیل گیاهی با نام علمی ***Mespilus germanica L.*** ازخانواده ***Rosaceae*** می‌باشد. جنس ازگیل دوگونه دارد که اولی همان ازگیل معمولی با نام علمی ***Mespilus germanica*** است. این گونه بومی جنوب غربی آسیا و احتمالا جنوب شرق اروپا است اما منشاء آن را ایران می‌دانند. گونه دیگر ***M.canescens***، که در چند سال اخیر در آمریکای شمالی کشف شده است. میوه آن گرد و کروی و گاهی گلابی شکل و قهوه‌ای رنگ است. وقتی رنگ آن‌ها قهوه‌ای است، رسیده و آماده خوردن می‌شوند. چندین واریته از این میوه در اروپا و آسیا شناخته شده است [٤]. ازگیل در تمام جنگل‌های شمال ایران از ارسباران تا گلی داغ، از چناران تا بجنورد و در تمام ارتفاعات سواحل دریا تا ارتفاعات بالای جنگل انتشار دارد. در دامنه‌های جنوبی البرز در دره کرج و مناطق استپی نیز دیده می‌شود. ازگیل در ایران در اواخر پاییز و اوایل زمستان می‌رسد و به‌طورمعمول به‌صورت خام مصرف می‌شود. میوه ازگیل سرشار از قند، آمینواسید، اسیدهای آلی و تانن می‌باشد. فروکتوز، گلوکز و ساکاروز به‌عنوان قندهای اصلی موجود در این میوه تشخیص داده شدند که مقدار آن‌ها در طی مراحل مختلف رسیدن میوه متغیر است. اسیدهای چرب اصلی موجود در مزوکارپ میوه ازگیل شامل پالمتیک اسید، آلفالینولنیک اسید و لینولئیک‌اسید می‌باشند اما مقادیری اولئیک اسید و استئاریک‌اسید نیز در آن وجود دارد. اسیدهای آلی موجود در میوه ازگیل به‌طورعمده از نوع اسیدمالیک، اسیدسیتریک و اسیدتارتاریک می‌باشند. از جمله ویتامین‌های موجود در این میوه می‌توان به ویتامین ث و ویتامین‌های گروه ب اشاره کرد [۳]. در ایران از ازگیل به‌صورت کنسرو، مربا، ژله و ترشی نیز استفاده می‌شود. تهیه شیره محلی آن به نام دوشاب در بین ساکنین مناطق شمالی کشور رواج دارد. در طب سنتی از این میوه در تقویت اعصاب، معالجه اسهال (به خصوص میوه نارس)، درمان خون‌ریزی‌های داخلی مانند بواسیر، خون‌ریزی رحمی و غیره، ورم روده، زخم دهان، تورم مخاط گلو (به‌ویژه عصاره برگ) و تقویت پوست‌های حساس استفاده می‌شود [٦]. در پژوهش‌هایی که در ترکیه روی خواص دارویی این

گیاه انجام شد، ۲ نوع ترکیب آنتی‌بیوتیکی با ساختار مونوترپن سیکلوپنتوئید در آن تشخیص داده شد. این ترکیبات شامل مشتقات کربوکسی متوکسیل جنپیک و جنپینیک اسید می‌باشند [٤]. ترکیبات فنولی دسته بزرگی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی می‌باشند که در سال‌های اخیر به‌دلیل عملکردهای بیولوژیکی مورد توجه قرار گرفته‌اند. فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی به اثبات رسیده است. هدف از این پژوهش بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی ترکیبات فنولی موجود در عصاره‌ی استونی دو رقم باغی و جنگلی ازگیل می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه‌ها و عصاره: میوه‌های مورد استفاده در این پژوهش در آبان ماه ۱۳۸۹ از مناطق جنگلی شرق استان گلستان جمع‌آوری شده و پس از آن بلافاصله در دمای ۲۰- فریز شدند. برای استخراج ترکیبات فنولی این میوه پس از خرد کردن و هم‌گن کردن آن از روش غرقابی در حلال استون ۸۰ درصد (حجمی:حجمی) استفاده شد. ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال به ۱۰ گرم پودر افزوده و مخلوط به‌دست آمده به‌مدت ٢٤ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در بن ماری شیک‌دار هم زده شد. پس از این مرحله هر یک از عصاره‌ها با استفاده از کاغذ صافی از بخش جامد جدا شدند. برای تبخیر استون از عصاره استونی از دمای ٤٥ درجه‌سانتی‌گراد در آون تحت خلاء استفاده شد و در نهایت همه عصاره‌ها توسط خشک‌کن انجمادی (FDB5503، کره) در دمای ۵۰- درجه‌سانتی‌گراد به پودر تبدیل شدند و تا زمان استفاده در ظروف غیرقابل نفوذ به هوا در فریزر ۱۸- درجه‌سانتی‌گراد قرار گرفتند.

اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی: مقدار کل ترکیبات فنولی با روش فولین سیوکالته با روش اسلینکارد و سینگلتون اندازه‌گیری شد [١٤]. در این روش۲۰ میکرولیتر از محلول عصاره با ١/١٦ میلی لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو مخلوط شد و پس از طی زمان ۸- ۱ دقیقه ۳۰۰ میکرولیتر از محلول کربنات کلسیم ۲۰ درصد (Na_2CO_3) به آن اضافه شد. سپس مخلوط به‌مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری ٤٠ درجه‌سانتی‌گراد قرار داده شد و در نهایت جذب آن در طول موج ٧٦٠ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان محتوای ترکیبات فنولی بر اساس معادله به‌دست آمده از منحنی استاندارد اسید گالیک بیان شد.

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها

ارزیابی میزان مهار رادیکال‌های آزاد: میزان مهار رادیکال‌های دی‌پی‌پی‌اچ (DPPH)، با روش شیمادا و همکاران [۱۳] مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور، محلول‌هایی با غلظت‌های ۱۰۰۰-۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر از عصاره‌ی استونی میوه ازگیل و نیز آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در حلال متانول آماده شدند. روش آزمایش به‌این صورت بود که یک میلی‌لیتر از محلول متانولی DPPH (با غلظت ۱ میلی‌مولار) به ۳ میلی‌لیتر از عصاره افزوده و مخلوط به‌دست آمده به شدت هم زده شد. لوله‌های آزمایش به‌مدت ۳۰ دقیقه در محل تاریک قرار گرفتند. بعد از این مدت میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. لازم به ذکر است در نمونه کنترل ، عصاره با ۳ میلی‌لیتر متانول جایگزین شد. در نهایت درصد مهار رادیکال‌های DPPH توسط عصاره با فرمول زیر محاسبه گردید:

رابطه (۱-۱) $$\text{مهار رادیکال‌های آزاد DPPH (درصد)} = \frac{(A_c - A_s)}{A_C} \times 100$$

که در این رابطه A_c و A_s به‌ترتیب جذب کنترل و جذب نمونه می‌باشند.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل: در این روش ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول عصاره در غلظت‌های مختلف با ۱ میلی‌لیتر از معرف (اسید سولفوریک ۰/٦ مولار، فسفات سدیم ۲۸ میلی‌مولار و آمونیوم مولیبدات ٤ میلی‌مولار) در لوله آزمایش مخلوط شد و به‌مدت ۱/۵ ساعت در حمام آب با دمای ۹۵ درجه‌سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از سرد کردن، جذب نمونه‌ها در طول موج ٦۹۵ نانومتر قرائت گردید [۱۱].

قدرت احیاءکنندگی: توانایی عصاره در احیاء آهن ۳ ظرفیتی به‌این صورت انجام شد که پس از آماده‌سازی غلظت‌های مختلف از پودر عصاره خشک شده در حلال مورد استفاده (غلظت‌های ۱۰۰۰-۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر)، ۱ میلی‌لیتر از محلول عصاره را با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات (pH =٦/٦) و ۲/۵ میلی‌لیتر پتاسیم فری‌سیانید (۱۰ گرم در لیتر) مخلوط شد و به‌مدت نیم‌ساعت در حمام آب با دمای ۵۰ درجه‌سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از افزودن ۲/۵ میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک اسید ۱۰ درجه‌سانتی‌گراد (وزنی:حجمی) نمونه‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱٦۵۰g سانتریفوژ (Centurion K2042) شدند. از محلول رویی پس از سانتریفوژ ۲/۵ میلی‌لیتر به دقت برداشته شد و پس از افزودن ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر، جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت گردید [۱۵]. بالاترین جذب نشان‌دهنده بالاترین قدرت احیاکنندگی می‌باشد.

ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ها

تهیه سویه‌های میکروبی: میکروارگانیسم‌های مورد بررسی در این مطالعه شامل باکتری‌های گرم مثبت شامل *باسیلوس‌سرئوس* (PTCC 1015)، *استافیلوکوکوس‌اورئوس* (ATCC 1885)، *میکروکوکوس‌لوتئوس* (ATCC 7984) و باکتری‌های گرم منفی شامل *اشرشیاکلی* (+Esbl)، *شیگلادیسانتری* (PTCC 1188) و *یرسینیا انتروکولیتیکا* (PTCC 1151) بودند. سویه‌های خالص این باکتری‌ها از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران خریداری شدند.

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی(MIC)[1]: حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره‌های استونی دو واریته با استفاده از روش رقت‌سازی در چاهک (میکروبراث دایلوشن) مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور از پلیت‌های استریل ۹۶ خانه‌ای استفاده شد. محلول استوک عصاره در دی‌متیل‌سولفوکساید تهیه گردید و غلظت‌های مختلف عصاره (از ٤٠ تا ۰/۱۵٦ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) با رقیق‌سازی محلول استوک با محیط کشت مولر هینتون براث تهیه شد. باکتری‌ها به‌مدت یک شبانه‌روز قبل از انجام آزمایش، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد روی محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شدند. جهت تهیه سوسپانسیون میکروبی (10^6 cfu/ml) از رقت ۰/۵ مک فارلند استفاده شد. بعد از پر کردن چاهک‌ها، میکروپلیت‌ها به‌مدت ٢٤ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه‌سانتی‌گراد قرار داده شد و بعد از طی این دوره میزان کدورت توسط دستگاه الایزا ریدر (بیوتک اینسترومنت) در طول موج ٦۳۰ نانومتر قرائت شد. اولین خانه‌ای که در آن کدورتی دیده نشد به‌عنوان حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) تعیین شد. آزمایشات در ۳ تکرار و ۳ زمان مختلف انجام شد [۹].

حداقل غلظت کشندگی (MBC)[2]: از خانه‌هایی که در آن‌ها کدورتی مشاهده نشد، ۵ میکرولیتر به محیط کشت جامد (مولر هینتون آگار) منتقل و یک شب در دمای ۳۷ درجه نگه‌داری شد. اولین غلظتی که در آن هیچ رشدی دیده نشد به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی (MBC) می‌باشد [۱۰].

آنالیز آماری: در این پژوهش تیمارها در سه تکرار انجام شده و نتایج به‌دست آمده با استفاده از روش آنالیز واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال (P<۰/۰۵) صورت گرفت. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS.9.1 و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

1- Minimum Inhibitory Concentration
2- Minimum Bactericidal Concentration

نتایج و بحث

مقدار کل ترکیبات فنولی عصاره‌های استونی میوه ازگیل: نتایج مربوط به اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنولی کل عصاره‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود عصاره‌های مورد بررسی از این نظر اختلاف معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) با یکدیگر داشتند.

جدول ۱- مقدار ترکیبات فنولی کل عصاره‌های استونی دو واریته میوه ازگیل.

نوع واریته	مقدار کل ترکیبات فنولی (گرم گالیک اسید/ ۱۰۰گرم ماده خشک)
جنگلی	۷/٤۳۷ ^{a} ± ۰/٦٤
باغی	٤/٤٥ ^{b} ± ۰/۱۷

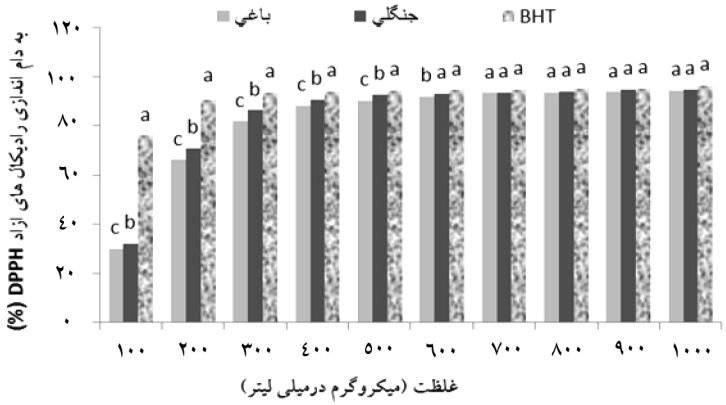
نتایج حاصل از میانگین ۳ تکرار ± SD می‌باشند

حروف غیر مشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

در زمینه اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنولی میوه ازگیل مطالعات اندکی صورت گرفته است. نبوی و همکاران [۸]. تاثیر نوع حلال (آب و متانول) را بر میزان استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی برگ، پوست درخت و میوه ازگیل وحشی مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد بیش‌ترین بازدهی استخراج مربوط به عصاره متانولی میوه و کم‌ترین آن مربوط به عصاره آبی پوسته ساقه می‌باشد. حلال متانول بیش‌ترین کاریی را از نظر استخراج ترکیبات فنولی میوه و برگ داشت اما در مورد پوسته درخت عصاره آبی بیش‌ترین مقدار ترکیبات فنولی را دارا بود. در بخش ترکیبات فلاونوئیدی نیز بیش‌ترین مقدار این ترکیبات در عصاره متانولی و آبی برگ وجود داشت. مقدار ترکیبات فنولی در عصاره آبی: متانولی: اسیدی میوه ازگیل در آخرین مراحل رسیدگی ۹۳ میلی‌گرم معادل گالیک‌اسید در ۱۰۰ گرم میوه تازه بود. راپ و همکاران [۱۲]. گزارش کردند مقدار ترکیبات فنولی میوه ازگیل در هنگام رسیدن به‌تدریج کاهش می‌یابد که در نتیجه‌ی افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز می‌باشد. در مطالعه دیگری مقدار ترکیبات فنولی عصاره آبی، متانول (۸۰ درصد)، اتانول (۸۰ درصد) و استون (۸۰ درصد) ۲۱٤ روز پس از گل‌دهی اندازه‌گیری شد. مقدار این ترکیبات در عصاره‌هایی که در بالا ذکر شد به‌ترتیب ۱٦/۲، ٤۸/۷، ۳۸/٤ و ۳۵۱/۱۷ میلی‌گرم معادل کاتچین در ۱۰۰ گرم ماده مرطوب بود [۱].

عوامل متعددی مقدار ترکیبات فنولی موجود در بافت‌های گیاهی را تحت تاثیر قرار می‌دهند که از آن جمله می‌توان به فاکتورهای ژنتیکی، میزان تابش نور خورشید، شرایط خاک، درجه رسیدگی در زمان برداشت، شرایط محیطی و آب و هوایی، عملیات پس از برداشت و شرایط نگه‌داری اشاره کرد. علاوه‌بر این درجه قطبیت حلال‌های مختلف میزان استخراج ترکیبات پلی‌فنولی را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۲].

توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH: نتایج آنالیز واریانس نشان داد، نوع و غلظت عصاره‌ها و آنتی‌اکسیدان سنتزی تاثیر معنی‌داری بر میزان مهار رادیکال‌های آزاد دارد. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود عصاره استونی واریته جنگلی پس از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT درغلظت‌های ۱۰۰ تا ۶۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر دارای قدرت مهارکنندگی بالاتری نسبت به عصاره باغی بود.



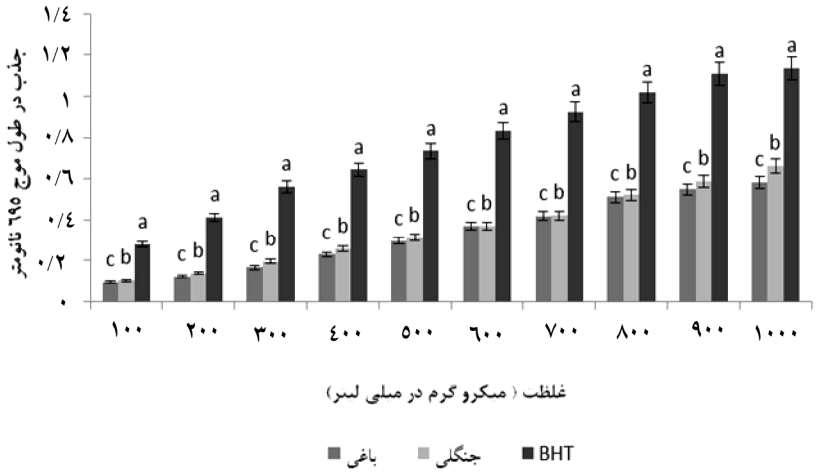
شکل ۱- مقایسه میانگین درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH غلظت‌های مختلف عصاره‌های استونی میوه دو واریته ازگیل

حروف غیر مشابه در هر غلظت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

قدرت مهارکنندگی عصاره‌های مختلف به‌میزان زیادی به تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل و وزن مولکولی ترکیبات فنولی بستگی دارد. در ترکیبات فنولی با وزن مولکولی پایین‌تر گروه‌های هیدروکسیل راحت‌تر در دسترس قرار می‌گیرند [۵].

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل: اساس کار در این روش احیاء مولیبدن ۶ ظرفیتی به مولیبدن ۵ ظرفیتی در محیط اسیدی و دمای بالا است. این واکنش با تشکیل کمپلکس‌های سبز رنگ فسفومولیبدن همراه

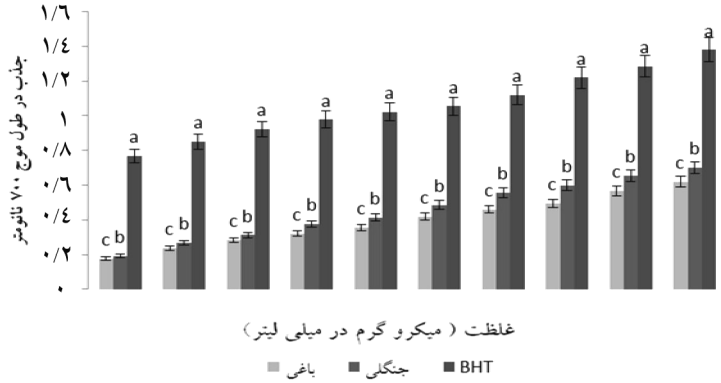
است که در طول موج ٦٩٥ نانومتر دارای حداکثر میزان جذب می‌باشد [۱۱]. همان‌طور که در شکل ۲ نیز مشاهده می‌شود، عصاره استونی واریته جنگلی در تمامی غلظت‌های مورد بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیش‌تری نسبت به عصاره باغی داشت.



شکل ۲- مقایسه میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف عصاره‌های میوه‌ی ازگیل و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT.

حروف غیر مشابه در هر غلظت بیان‌گر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ٥ درصد است.

قدرت احیاءکنندگی: شکل ۳ مقایسه میانگین میزان جذب غلظت‌های مختلف عصاره استونی و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT را به‌عنوان شاخصی از قدرت احیاءکنندگی در طول موج ۷۰۰ نانومتر نشان می‌دهد. پس از BHT عصاره‌ی استونی میوه ازگیل جنگلی بیش‌ترین میزان قدرت‌کاهندگی را به خود اختصاص داده است. در کل ویژگی‌های احیاءکنندگی با حضور ترکیبات اهداءکننده‌ی الکترون همراه است. به‌عبارتی با افزایش میزان ترکیبات فنولی موجود در عصاره، قدرت احیاءکنندگی آن افزایش می‌یابد، در نتیجه عصاره قادر خواهد بود با اهداء تعداد بیش‌تری الکترون یا اتم‌های هیدروژن واکنش‌های زنجیری تشکیل رادیکال‌های آزاد را شکسته و اکسیداسیون چربی را به تاخیر بیاندازد.



شکل ۳- مقایسه میانگین قدرت احیاءکنندگی غلظت‌های مختلف عصاره‌های میوه‌ی ازگیل و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT.

حروف غیرمشابه در هر غلظت بیان‌گر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های مختلف میوه ازگیل: فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های استونی دو واریته ازگیل بر تعدادی از باکتری‌های عامل فساد موجود در موادغذایی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج به دو شکل MIC و MBC در جدول‌های ۲ و ۳ نشان داده شده است. میزان MIC عصاره‌های استونی دو واریته جنگلی و باغی میوه ازگیل به‌ترتیب در محدوده غلظت ۱/۲۵-۰/۳۱۲ و ۵-۰/۳۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر متغیر بود.

جدول ۲- حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) (میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) عصاره‌های استونی میوه دو واریته ازگیل.

باکتری	شماره باکتری	نوع باکتری (+/-)	واریته	
			جنگلی	باغی
باسیلوس سرئوس	PTCC 1015	+	۰/۳۱۲	۰/۳۱۲
استافیلوکوکوس اورئوس	ATCC 1885	+	۰/۳۱۲	۰/۳۱۲
میکروکوکوس لوتئوس	ATCC 79840	+	۰/۳۱۲	۰/۶۲۵
اشرشیا کلی	Esbl+	-	۰/۶۲۵	۵
یرسینیا انتروکولیتیکا	PTCC 1151	-	۱/۲۵	۱/۲۵
شیگلا دیسانتری	PTCC 1188	-	۱/۲۵	۲/۵

نتایج نشان داد هر دو عصاره مورد بررسی در غلظت‌های مختلف توانستند روی باکتری‌های مورد بررسی اثرات مهارکنندگی و کشندگی داشته باشند. در کل باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی حساسیت بیش‌تری نشان دادند. همان‌طور که در جدول ۲ دیده می‌شود، عصاره استونی واریته جنگلی در غلظت ۰/۳۱۲ mg/ml روی تمامی باکتری‌های گرم مثبت اثر مهارکنندگی قابل توجه‌ای از خود نشان داد و اختلافی بین باکتری‌های گرم مثبت از این نظر دیده نشد. در مورد واریته باغی برای مهار رشد *استافیلوکوکوس اپیدرمیس* نسبت به دیگر باکتری‌های گرم مثبت مورد بررسی به غلظت‌های بیش‌تری از عصاره نیاز بود (۰/٦۲۵ mg/ml). از نظر مهار رشد *یرسینیا انتروکولیتیکا* بین عصاره دو واریته اختلافی دیده نشد اما میزان MIC عصاره استونی ازگیل باغی برای مهار رشد *شیگلا دیسانتری* و *اشرشیا کلی* بیش‌تر از دیگر واریته مورد بررسی بود.

جدول ۳- حداقل غلظت کشندگی (MBC) (میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) عصاره‌های استونی میوه دو واریته ازگیل.

باکتری	نوع باکتری (+/-)	واریته	
		جنگلی	باغی
باسیلوس سرئوس	+	۰/٦۲۵	۱/۲۵
استافیلوکوکوس اورئوس	+	۱/۲۵	۲/۵
میکروکوکوس لوتئوس	+	۲/۵	۲/۵
اشرشیا کلی	-	۵	۱۰
یرسینیا انتروکولیتیکا	-	۵	۱۰
شیگلا دیسانتری	-	۵	۵

همان‌طور که در جدول ۳ ملاحظه می‌گردد، عصاره‌های استونی میوه ازگیل هر دو واریته علاوه‌بر اثر مهار رشد، روی تمامی باکتری‌های مورد بررسی اثر کشندگی اعمال نمودند. میزان MIC عصاره‌ها در مورد تمامی باکتری‌های مورد بررسی بیش‌تر از MBC بود. این بدان معناست که اگرچه رشد باکتری‌ها در غلظت‌های پایین عصاره‌ها مهار می‌گردد، اما جهت اعمال اثر کشندگی به غلظت‌های بیش‌تری از عصاره‌ها نیاز است. عصاره استونی واریته وحشی در غلظت ۵ mg/ml روی تمامی باکتری‌های گرم منفی اثر کشندگی داشت. باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *یرسینیا انتروکولیتیکا* مقاومت بیش‌تری به عصاره استونی واریته باغی نشان دادند و این عصاره در غلظت ۱۰ mg/ml اثر کشندگی

روی باکتری‌های ذکر شده داشت. در مورد باکتری‌های گرم مثبت نیز مشاهده شد، هر دو عصاره توانستند اثر کشندگی خود را در غلظت‌های ۵ mg/ml بر *استافیلوکوکوس اپیدرمیس* اعمال کنند، اما جهت ایجاد این اثر روی باکتری‌های *باسیلوس‌سرئوس* و *استافیلوکوکوس‌اورئوس* به غلظت‌های بالاتری از هر دو عصاره نیاز بود. وجود مقادیر زیادی از ترکیبات فنولی در عصاره استونی این میوه بی‌شک محکم‌ترین دلیل برای اثر ضدمیکروبی این عصاره بر روی میکروارگانیسم‌های عامل فساد می‌باشد. راپ و همکاران [۱۲] در بررسی که در راستای شناسایی ترکیبات فنولی میوه ازگیل انجام دادند، به حضور ترکیباتی مانند کوئرسیتین، وانیلین، رزوراتول، کاتچین، اپی‌کاتچین و کلروژنیک‌اسید در این میوه پی بردند. بی‌شک حضور چنین ترکیباتی در میوه ازگیل فعالیت ضدمیکروبی قابل توجه آن را تائید می‌نماید. در زمینه بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصاره میوه ازگیل تاکنون بررسی علمی دقیقی در ایران و جهان انجام نشده است اما پژوهش‌هایی در زمینه اثر ضدباکتریایی عصاره‌های سایر گیاهان به وفور انجام شده و بیانگر فعالیت ضدمیکروبی این عصاره‌ها می‌باشد. عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی می‌توانند عملکردهای مختلفی را در مقابل سویه‌های باکتریایی از خود نشان دهند که از آن جمله می‌توان به تداخل با غشای فسفولیپیدی دو لایه‌ای سلول اشاره کرد که به دنبال آن نفوذپذیری غشا افزایش و مواد درون سلولی کاهش می‌یابد. از سایر مکانیسم‌ها می‌توان به آسیب به آنزیم‌های دخیل در تولید انرژی و ترکیبات ساختاری سلول و نیز غیرفعال کردن ترکیبات ژنتیکی اشاره کرد [۷].

منابع

1.Ayaz, F.A., Demir, A., Torun, H., Kolcuoglu, Y., & Colak, A. (2008). Characterization of polyphenoloxidase (PPO) & total phenolic contents in medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit during ripening & over ripening. *Food Chemistry*, 106, 291–298.

2.Faller, A.L.K., & Fialho, E. (2009). The antioxidant capacity & polyphenol content of organic & conventional retail vegetables after domestic coking. *Food Research International*, 42, 210-215.

3.Glew, R.H., Ayaz, F.A., Sanz, C., Vanderjagt, D.J., Huang, H.S., Chuang, L.T., & Strnad, M. (2003). Changes in sugars, organic acids & amino acids in medlar (*Mespilus germanica* L.) during fruit development. *Food Chemistry*, 83, 363–369.

4.Haciseferogullaria, H., Ozcan, M., Sonmete, M.H., & Ozbek, O. (2005). Some physical & chemical parameters of wild medlar *(Mespilus germanica*) fruit

grown in Turkey. *Journal of Food Engineering*, 69, 1-7.
5.Jung, C.H., Seog, H.M., Choi, I.W., Park, M.W., & Cho, H.Y. (2006). Antioxidant properties of various solvent extracts from wild ginseng leaves. LWT, 39, 266-274.
6.Khoshbakht, K., & Hammer. (2005). Notes on neglected & underutilized crops. *Genetic Resources & Crop Evolution*. 52, 249–265.
7.Kotzekidou, P., Giannakidis, P., & Boulamatsis, A. (2008). Antimicrobial activity of some plant extracts & essential oils against foodborne pathogens in vitro & on the fate of inoculated pathogens in chocolate. *LWT*, 41, 119–127.
8.Nabavi, F., Nabavi, M., Ebrahimzadeh, M.A., & Asgarirad, H. (2011). The antioxidant activity of wild medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit, stem bark & leaf. *African Journal of Biotechnology*, 10 (2), 283-289.
9.National committee for clinical laboratory standards. (2000). Methods for dilution antimicrobia susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard Pennsylvania, Wayne, M7-A5, 5th ed.
10.Oroojalian, F., Kasra-Kermanshahi., Azizi, M., & Bassami, M.R. (2010). Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species & their antibacterial effects on food-borne pathogens. *Food Chemistry*, 120, 765–770.
11.Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269, 337-341.
12.Rop, O., Sochor, J., Jurikova, T., Zitka, O., Skutkova, H., Mlcek, J., Salas, P., Krska, B., Babula, P., Adam, V., Kramarova, V., Beklova, M., Provaznik, I., & Kizek, R. (2011). Effect of Five Different Stages of Ripening on Chemical Compounds in Medlar (*Mespilus germanica* L.). *Molecules*, 16, 74-91.
13.Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., & Nakamura, T. (1992). Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 945-948.
14.Slinkard, K., & Singleton, V.L. (1977). Total phenol analysis; automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 49-55.
15.Yildirim, A., Mavi, A., & Kara, A.A. (2001). Determination of antioxidant & antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4083-4089.

EJFPP, Vol. 2 (4): 57-69
http://ejfpp.gau.ac.ir

Evaluation of phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of acetonic extract of two Medlar (*Mespilus germanica* L.) types

S. Mamashloo[1], *A.R. Sadeghi Mahoonak[2], M. Ghaderi Ghahfarrokhi[3], M. Aalami[4], M. Khomeiri[5] and M. Ghorbani[6]

[1]M.Sc Student, Dept. of Food Sciences and Technology, Gorgan University of Agricultural sciences & Natural Resources, Gorgan, Iran., [2]Assistant Professor, Dept. of Food Sciences and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran., [3]Ph.D Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran, [4]Assistant Prof., Dept. of Food Sciences and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran, [5]Associate Prof., Dept. of Food Sciences and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, [6]Professor, Dept. of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Received: 2012-4-21; Accepted: 2012-6-23

Abstract

In this study, total phenolics content, antioxidant and antimicrobial activity of acetonic extract of two Medlar types, *wild* and *domestic*, were evaluated. Phenolic compound were extracted with acetone. Total phenolic content of acetonic extract of *wild* and *domestic* type were 7.53 and 4.45 g GAE/ gr dry powder, respectively. Extracts were also tested for their antioxidant activities using scavenging activity of DPPH radicals, total antioxidant capacity and reducing power test and compared with synthetic antioxidant. In all tests, extract from wild type showed highest antioxidant activity than another type. The antibacterial effects of the extracts were assessed on three gram positive and three gram negative bacteria by micro broth dilution technique using ELISA reader. The extracts also showed good antimicrobial activity against all of tested microorganisms and the tested gram-negative bacteria showed higher resistant to the inhibitory effect of extracts. The ranges of minimum bactericidal concentration (MBC) of the extracts were 0.615-5 and 1.25-10 mg/ml for *wild* and *domestic* type, respectively.

Keywords: Medlar; Antimicrobial activity; Radical scavenging activities

*Corresponding author; Email: sadeghiaz@yahoo.com