مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۱۳، فروردین ۱۳۹۳، ۶۶-۵۳

ارزیابی ترکیبات تام فنولی، فلاونوئیدی، آنتوسیانینی و فعالیت ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره استونی میوه ولیک

شهلا سلمانیان[۱]، علیرضا صادقی ماهونک[۲]، مهران اعلمی[۳]، محمد قربانی[۲]

دریافت مقاله: ۹۱/۹/۱۱ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۱/۹/۲۸ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۲/۲/۲۱ پذیرش مقاله: ۹۲/۴/۱

چکیده

زمینه و هدف: گیاه ولیک با نام علمی *Crataegus elbursensis* یکی از گونه‌های مهم خانواده *Rosaceae* است که توزیع گسترده‌ای در مناطق جنگلی شمال ایران دارد. در این پژوهش، ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتریایی و محتوای تام ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و آنتوسیانینی عصاره استونی میوه‌های ولیک ایرانی مورد بررسی قرار گرفت

مواد و روش‌ها: عصاره‌گیری به روش خیساندن در حلال استون ۸۰ درصد انجام شد. میزان تام ترکیبات فنول، فلاونوئید و آنتوسیانین عصاره به روش اسپکتروفتومتری تعیین گردید. فعالیت ضد رادیکالی عصاره با آزمون مهار رادیکال‌های (2,2-diphenyl-1- picrylhydrazyl) DPPH بررسی و با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT (غلظت‌های ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) مقایسه گردید. همچنین پایداری عصاره در pHهای مختلف (۴، ۷ و ۹) و نیز فعالیت ضدباکتریایی عصاره به روش براث میکرودایلوشن مورد بررسی قرارگرفت. داده‌های جمع آوری شده با استفاده از نرم افزار SAS و آزمون دانکن تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: عصاره فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری از BHT نشان داد. همچنین در بررسی پایداری عصاره در pHهای مختلف، فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره بدون تغییر باقی ماند. عصاره فعالیت ضدمیکروبی قابل ملاحظه‌ای در مقابل تمامی باکتری‌های مورد بررسی نشان داد. بیشترین اثر باکتری‌کشی عصاره مربوط به *باسیلوس سابتیلیس* (MBC=۲/۵ mg/ml) بود در حالی *که سالمونلا انتریکا* مقاوم‌ترین باکتری به عصاره (MBC=۲۰ mg/ml) شناخته شد.

نتیجه‌گیری: نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان داد که میوه ولیک به عنوان منبع غنی و بالقوه از ترکیبات زیست فعال با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی قابل استفاده در صنعت غذا و دارو در جهت حفظ سلامت انسان می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: فعالیت ضدمیکروبی، ترکیبات فنولی تام، آنتی‌اکسیدان، میوه ولیک

۱- کارشناس ارشد دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲- دانشیار گروه آموزشی علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
تلفن: ۴۴۲۶۴۳۲-۰۱۷۱، دورنگار: ۴۴۲۶۴۳۲-۰۱۷۱، پستت الکترونیکی: sadeghiaz@yahoo.com
۳- استادیار گروه آموزشی علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.1.3.4]

مقدمه

علاوه بر نقشی که اکسیداسیون در فساد مواد غذایی ایفا می‌کند، اهمیت آن در سلامت انسان بویژه در ایجاد و پیشرفت بیماری‌هایی چون بیماری‌های قلبی- عروقی، تصلب شرایین، سرطان و فرآیند پیری بسیار مورد توجه و مطالعه قرار گرفته است. رادیکال‌های آزاد ایجاد شده در فرآیند اکسیداسیون در بدن، سبب اکسیداسیون لیپید غشاء سلولی می‌شوند که این امر منجر به ناپایداری غشاء و متلاشی شدن سلول می‌شود و یا اینکه ترکیبات سلولی مانند لیپیدها، پروتئین‌ها و از همه مهم‌تر DNA مورد حمله قرار می‌گیرند. نتیجه نهایی این امر بروز بیماری و مشکلات عدیده دیگر است [۲-۱]. استرس اکسیداتیو در لیپیدهای دیواره رگ‌های خونی می‌تواند عامل مهمی در ایجاد تصلب شرایین باشد. در اثر اکسیداسیون لیپید، فرآورده‌هایی تولید می‌شوند که به اکسید شدن LDL (Low Density Lipoprotein) کمک می‌کنند که یکی از عوامل در پیشرفت تصلب شرایین است. یکی دیگر از مشکلاتی که صنعت غذا و دارو با آن مواجه است، گسترش سویه‌های میکروبی مقاوم به داروها و آنتی‌بیوتیک‌ها است. امروزه، به دلیل خاصیت سمی و سرطان‌زایی ترکیبات شیمیایی و سنتزی، استفاده از گیاهان دارویی جهت درمان بیماری‌های مزمن از جمله تصلب شرایین و سرطان توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود معطوف کرده است. از این رو، استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی طبیعی مانند اسیدهای آلی، اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی می‌توانند جایگزین مناسب و ایمنی در مواد غذایی باشند [۳].

ولیک حاوی مقدار کمی اسیدهای فنولی، ۲-۱٪ فلاونوئیدها و ۳-۲٪ پروآنتوسیانیدین ها می‌باشد [۴]. فلاونوئیدها مهم‌ترین گروه منفرد فنول‌ها در مواد غذایی می‌باشند که تنوع ساختاری در این ترکیبات ناشی از درجه و الگوی هیدروکسیلاسیون، متوکسیلاسیون و گلیکوزیلاسیون می‌باشد. آنتوسیانین‌ها یکی از اعضای فلاونوئیدها می‌باشند که شکل آگلیکون (غیرقندی) آن‌ها، آنتوسیانیدین نامیده می‌شود که بر اساس تعداد و موقعیت گروه‌های استخلافی هیدوکسیل و متوکسیل موجود در ساختارشان به انواع مختلف تقسیم می‌شوند. فعالیت بیولوژیکی آنتوسیانین‌ها و یا مواد غذایی غنی از آنتوسیانین می‌تواند در سطوح مختلف شامل جلوگیری از بیماری قلبی- عروقی، فعالیت ضدسرطانی، ضدتوموری و ضدموتاژنی، تأثیرات سودمند در بیماری دیابت (جلوگیری از جذب گلوکز و اثر محافظتی بر سلول‌های پانکراس)، اثر حفاظتی در برابر آسیب کبدی، اثرات محافظتی و بهبودی در التهاب شکمی، اثرات مثبت بر بینایی، فعالیت ضدباکتریایی و ضدویروسی و تأثیر بر روی بیماری سیستم عصبی باشد [۶-۵]. ولیک به دلیل برخورداری از بیوفلاونوئیدها و پروآنتوسیانین‌ها جایگاه ویژه‌ای در صنایع دارویی دارد که جهت درمان بیماری‌های قلبی- عروقی و نیز به عنوان منبع غنی از آنتی اکسیدان‌های طبیعی مورد استفاده قرار می‌گیرد. اثرات مهم گیاه ولیک مربوط به فلاونوئیدها و پروآنتوسیانیدین‌هاست که به مقدار زیاد در گیاه وجود دارند [۸-۷]. این ترکیبات، ویتامینC داخل سلول را افزایش داده و از شکنندگی مویرگ‌ها جلوگیری می‌کنند. فلاونوئیدهای این گیاه دارای خاصیت قوی تثبیت کلاژن بوده و درنتیجه به تاندون‌ها استحکام

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.1.3.4]

می‌بخشند. همچنین، در بیماری‌های دهان و دندان و ورم مفاصل و استخوان که کلاژن در معرض تخریب قرار می‌گیرد، ترکیبات این گیاه می‌تواند از آن جلوگیری کند. مواد مذکور از ضداکسیدان‌های قوی هستند. ولیک در کاهش فشار خون، ضدحمله‌های قلبی، کاهش کلسترول سرم و تقویت حرکات قلب بسیار موثر است و به طور گسترده‌ای در اروپا برای کاهش فشار خون و به عنوان مقوی قلب مصرف می‌شود. از نظر کلینیکی داروی مناسبی برای پرفشاری خون، تصلب شرائین و احتقان قلب، ضعف عضلات قلب و نارسایی کرونر می‌باشد. گل، برگ و میوه ولیک، برای درمان فشارخون بالا، بی‌نظمی و تند شدن حرکات قلب به کار می‌روند و بنا به گزارش‌های موجود، این گیاه ضداسپاسم و مسکن است. ولیک در معالجه تصلب شرائین و آنژین نیز کارآیی داشته است [۹-۱۰].

ولیک درختچه‌ای به ارتفاع ۵-۲ متر می‌باشد که گاهی به بیش از ۱۰ متر نیز می‌رسد. درختان ولیک در نواحی حاشیه‌های جنگلی مناطق پست‌تر و گرمتر می‌رویند. میوه اکثر گونه‌های ولیک در اوایل تا اواسط پاییز می‌رسد [۱۱]. *Crataegus elbursensis* با نام محلی سیاه ولیک، فراوان‌ترین گونه ولیک بومی ایران بوده که به فراوانی در جنگل‌های نواحی شمال کشور یافت می‌شود. با توجه به مطالب ذکر شده در بالا و این که تاکنون هیچ گزارشی مبنی بر استخراج ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و آنتوسیانینی میوه ولیک و ارزیابی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی، به ویژه گونه‌های ایرانی در منابع علمی وجود ندارد.

بنابراین، هدف از این پژوهش بررسی پتانسیل ضد رادیکالی عصاره میوه *C. elbursensis* و نیز ارزیابی فعالیت ضد میکروبی این عصاره علیه برخی باکتری‌های پاتوژن و عامل فساد مطرح مواد غذایی بوده است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه آزمایشگاهی در سال ۱۳۹۰ در آزمایشگاه تجزیه مواد غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام گرفت. شناسایی گونه ولیک مورد بررسی، با استفاده از نظر اساتید مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان (بخش هرباریوم) و نیز فلور رنگی دکتر احمد قهرمان انجام پذیرفت.

آماده‌سازی عصاره: میوه‌های سیاه ولیک در این تحقیق پس از جمع‌آوری از جنگل شصت کلاته گرگان در آون ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردیدند. جهت آزمون، میوه‌ها با آسیاب به ذرات ریز تبدیل و از الک با مش ۴۰ گذرانده شدند. سپس عصاره فنولی با روش خیساندن در حلال استون ۸۰٪ تهیه گردید. به منظور بررسی تأثیر دما بر میزان استخراج ترکیبات زیست فعال از بافت میوه، عمل استخراج در دو سطح دمایی انجام شد. بدین صورت که، ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال به ۱۰ گرم پودر میوه افزوده و مخلوط حاصله به مدت ۱۸ ساعت در دو سطح دمایی ۲۵ و ۵۰ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور شیکردار هم‌زده شد. بعد از این مرحله، بخش جامد به وسیله کاغذ صافی معمولی جدا گردید. سپس، جهت ارزیابی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره میوه ولیک، عصاره استخراجی به وسیله تبخیر کننده چرخان تحت خلاء در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ و در نهایت توسط

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.1.3.4]

خشک کن انجمادی به پودر تبدیل شدند و تا زمان استفاده در ظروف غیر قابل نفوذ به هوا در فریزر ۱۸- درجه سانتی‌گراد قرار گرفت [۱۲].

اندازه‌گیری ترکیبات فنولی تام: میزان تام ترکیبات فنولی با روش فولین سیوکالتو اندازه گیری شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره بیان شد [۱۳]. روش فولین سیوکالتو از متداول‌ترین روش‌های اندازه‌گیری ترکیبات فنولی می‌باشد. اساس کار در این روش، احیاء معرف فولین توسط ترکیبات فنولی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ است که حداکثر جذب را در طول موج ۷۶۰ نانومتر نشان می‌دهد. به طور خلاصه در این روش، ۲۰ میکرولیتر از محلول عصاره درون لوله آزمایش با ۱/۱۶۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو مخلوط شدند.

بعد از گذشت ۱ تا ۸ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم (۲۰٪ وزنی/حجمی) به محتوای لوله آزمایش افزوده شد. لوله‌های آزمایش بعد از تکان دادن، درون حمام آب با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و پس از گذشت ۳۰ دقیقه جذب آن‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد گالیک‌اسید، محلول پایه‌ای از این ماده با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه گردید. سپس از این محلول پایه غلظت‌های مختلف (۱۰،۲۰،...و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) آماده گردید و پس از انجام مراحل مختلف مطابق روش ذکر شده در بالا مقدار جذب نمونه‌ها خوانده شد. پس از رسم منحنی کالیبراسیون گالیک اسید، با قرار دادن مقدار جذب عصاره در معادله خطی مربوط به منحنی استاندارد، مقدار فنل تام موجود در عصاره محاسبه شد. در نهایت، داده‌ها بر اساس معادل میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم عصاره بیان گردید.

اندازه‌گیری ترکیبات فلاونوئیدی تام: میزان فلاونوئید تام به روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد. در این روش میزان ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول عصاره با ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵٪، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰٪، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید. بعد از نگهداری نمونه‌ها در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه، جذب مخلوط در ۴۱۵ نانومتر خوانده شد. از کوئرستین به منظور رسم منحنی استاندارد استفاده شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم عصاره بیان شد. بدین صورت که محلول پایه‌ای از این ماده با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه گردید.

سپس از این محلول پایه غلظت‌های مختلف (۱۰،۲۰،... و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) آماده گردید و پس از انجام مراحل مختلف مطابق روش ذکر شده در بالا مقدار جذب نمونه‌ها خوانده شد. پس از رسم منحنی کالیبراسیون کوئرستین، با قرار دادن مقدار جذب عصاره در معادله خطی مربوط به منحنی استاندارد، مقدار فلاونوئید تام موجود در عصاره محاسبه شد. در نهایت، داده‌ها بر اساس معادل میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره بیان گردید.

اصول روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید، تشکیل کمپلکس‌های اسیدی آلومینیوم کلرید با گروه کتو و یا گروه هیدروکسیل فلاونوئیدها است که این ترکیبات بیشترین جذب را در طول موج ۴۱۵ نانومتر دارند [۱۴].

اندازه‌گیری ترکیبات آنتوسیانینی تام: میزان ترکیبات آنتوسیانینی تام عصاره با اسپکتروفتومتر و با روش اختلاف

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.1.3.4]

pH (pH-differential method) اندازه‌گیری شد [۱۵]. دو سیستم بافر، بافر پتاسیم کلرید (۰/۰۲۵ مولار) با pH=۱ و بافر سدیم استات (۰/۴ مولار) با pH=۴/۵ استفاده شد. به طور خلاصه در این روش، ۴۰۰ میکرولیتر از محلول عصاره با ۳/۶ میلی‌لیتر از هر یک از بافرها بطور جداگانه مخلوط شد و هر یک در دو طول موج ۵۱۰ و ۷۰۰ نانومتر خوانده شد. نتایج بر حسب میلی‌گرم در لیتر معادل سیانیدین-۳-گلیکوزید در عصاره بر اساس فرمول زیر بیان گردید:

غلظت رنگدانه آنتوسیانین مونومری در عصاره برحسب میلی‌گرم بر لیتر برابر است با $(A\times MW\times DF\times 1000)/(\varepsilon\times 1)$ که در فرمول بالا DF، MW، ε و A به ترتیب فاکتور رقت نمونه‌ها، وزن مولکولی سیانیدین، ضریب مولی سیانیدین و مقدار جذب را نشان می‌دهد. مقدار جذب به صورت زیر محاسبه می‌گردد:

$A = (A_{510} - A_{700})\ pH\ 1.0 - (A_{510} - A_{700})\ pH4.5$

A_{510} و A_{700} به ترتیب بیانگر جذب در طول موج ۵۱۰ نانومتر و ۷۰۰ نانومتر است.

تعیین پایداری عصاره در pHهای مختلف: پایداری عصاره فنولی میوه ولیک در pHهای ۴، ۷ و ۹ به ترتیب با بافرهای آبی سدیم استات، سدیم فسفات و تریس با روش ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل انجام شد. ۳۰ دقیقه بعد از حل شدن عصاره در بافر آزمون آغاز شد. روش ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بر مبنای احیای مولیبدن ۶ ظرفیتی به مولیبدن ۵ ظرفیتی در محیط اسیدی می‌باشد که با تشکیل کمپلکس سبز رنگ فسفومولیبدن با بیشینه جذب در ۶۹۵ نانومتر همراه است. به طور خلاصه، ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول عصاره با ۱ میلی‌لیتر از معرف (اسید سولفوریک ۰/۶ مولار، فسفات سدیم ۲۸ میلی‌مولار و آمونیوم مولیبدات ۴ میلی‌مولار) را در لوله اپندورف ریخته و پس از محکم نمودن در لوله اپندروف به مدت ۱/۵ ساعت در حمام آب با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از سرد کردن، جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۹۵ نانومتر خوانده شد. [۱۶].

ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) DPPH): ۲،۲- دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH)، رادیکال چربی دوستی است که دارای جذب بیشینه در طول موج ۵۱۷ نانومتر است. در آزمون DPPH، گروه‌های هیدروکسیل ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با دادن H به رادیکال‌های آزاد DPPH منجر به کاهش مولکول‌های DPPH می‌گردند که با تغییر رنگ محلول واکنش از رنگ بنفش تیره به زرد روشن همراه است. در نتیجه جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر کاهش می‌یابد. جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر بیانگر مقدار DPPH باقی‌مانده است.

برای این منظور، محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف (۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) از عصاره و نیز آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT (Butylated Hydroxy Toluene) در حلال متانول آماده شدند. یک میلی‌لیتر از محلول متانولی DPPH (با غلظت یک میلی‌مولار معادل با ۰/۳۹۴ میلی‌گرم) به ۳ میلی‌لیتر از عصاره افزوده و مخلوط حاصله به شدت هم‌زده شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در محل تاریک قرار گرفتند. بعد از این مدت، میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. لازم به ذکر است که در نمونه کنترل، عصاره با ۳ میلی‌لیتر متانول جایگزین شد. در نهایت درصد مهار

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.1.3.4]

رادیکال‌های DPPH توسط عصاره با فرمول زیر محاسبه گردید:

درصد مهار رادیکال آزاد = $(A_c-A_s)/A_c\times100$

که در این رابطه A_c و A_s به ترتیب جذب کنترل و جذب نمونه می‌باشند [۱۷].

ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره استونی حاصل از میوه کامل ولیک: باکتری‌های گرم مثبت مورد بررسی در این مطالعه شامل *باسیلوس سابتیلیس* (PTCC ۱۰۲۳)، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* (PTCC ۱۴۳۵) و باکتری‌های گرم منفی شامل *اشریشیاکلی* (PTCC ۱۳۳۰)، *سالمونلا انتریکا* (PTCC ۱۶۳۹) و شیگلا دیسانتری (PTCC ۱۱۸۸) بودند. سویه‌های خالص این باکتری‌ها از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران خریداری شدند.

حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC= Minimum Inhibitory Concentration) و حداقل غلظت کشندگی (MBC= Minimum Bactericidal Concentration) عصاره با استفاده از روش رقت‌سازی در چاهک (Broth MicroDilution) مورد بررسی قرار گرفت. در این روش، امکان بررسی همزمان ۹ غلظت از عصاره با سه تکرار وجود دارد. برای این منظور از پلیت‌های استریل ۹۶ خانه‌ای استفاده شد. آزمایشات در سه تکرار و در سه زمان مختلف انجام شد. محلول پایه عصاره در محیط کشت مولرهینتون براث و دی‌متیل‌سولفوکساید تهیه و با عبور از فیلتر سرنگی ۰/۲۲ میکرون استریل گردید. سپس، غلظت‌های مختلف عصاره (۴۰- ۰/۱۵۶ میکروگرم در میلی‌لیتر) با رقیق‌سازی محلول پایه با محیط کشت مولرهینتون براث تهیه گردید. جهت فعال‌سازی سویه‌های باکتری از محیط کشت مولرهینتون براث استفاده شد و کشت تازه باکتری‌ها ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش در محیط کشت نوترینت آگار تهیه گردید.

سوسپانسیون میکروبی (10^6 cfu/ml) معادل رقت ۰/۵ استاندارد مک‌فارلند تهیه گردید (cfu= colony forming unit). بعد از پرکردن چاهک‌ها میکروپلیت به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس میزان کدورت در طول موج ۶۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. اولین خانه‌ای که در آن کدروتی دیده نشد به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) در نظر گرفته شد. از خانه‌هایی که در آن‌ها هیچ کدروتی مشاهده نشد به میزان ۱۰ میکرولیتر به محیط کشت مولرهینتون آگار منتقل گردید و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و اولین غلظتی که در آن هیچ رشدی مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی (MBC) تعیین گردید [۱۸].

تجزیه و تحلیل آماری: در این پژوهش، داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس (تیمارها در سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی) تجزیه و تحلیل شدند. همچنین، مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۵٪ (α=۰/۰۵) صورت گرفت. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام شد. میزان P-value معادل با ۰/۰۰۰۱ می‌باشد.

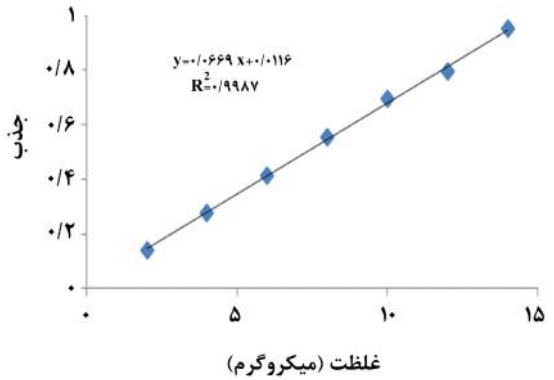
نتایج

مقدار تام ترکیبات فنولی: میزان تام ترکیبات فنولی عصاره استونی میوه ولیک بر مبنای مقادیر جذب ناشی از واکنش عصاره با معرف فولین سیوکالتو و بر اساس مقایسه آن با محلول‌های استاندارد گالیک اسید و بر طبق معادله

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.1.3.4]

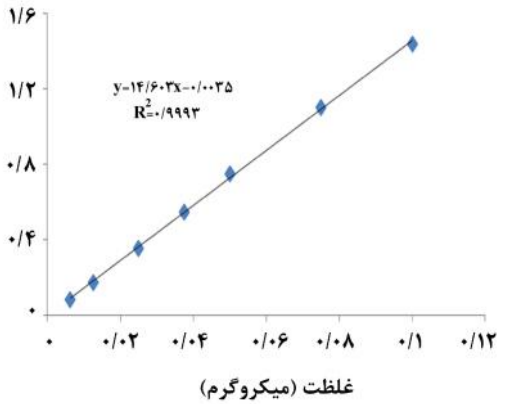
خط به دست آمده از منحنی استاندارد گالیک اسید ($y = ۰/۰۶۶۹ x + ۰/۰۱۱۶$، $r^2 = ۰/۹۹۸$) محاسبه گردید (شکل ۱).



نمودار ۱- منحنی استاندارد گالیک اسید جهت اندازه‌گیری ترکیبات فنولی تام عصاره میوه ولیک

مقادیر فنول تام استخراج شده از عصاره میوه ولیک در دو سطح دمایی ۲۵ و ۵۰ درجه سانتی‌گراد در مدت زمان ۱۸ ساعت استخراج تعیین گردید. نتایج نشان داد که در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد میزان ترکیبات فنولی بیشتری (۳/۹۶±۱۰۰/۷۵ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره) از بافت میوه نسبت به دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (۳/۴۴±۶۹/۴۴ میلی‌گرم در گرم عصاره) از ماده گیاهی استخراج گردید. لذا استخراج ترکیبات میوه در شرایط دمایی ۵۰ درجه سانتی‌گراد منجر به خروج بیشتر ترکیبات فنولی از بافت میوه می‌گردد.

ارزیابی مقدار تام ترکیبات فلاونوئیدی و آنتوسیانینی عصاره: میزان تام ترکیبات فلاونوئیدی عصاره میوه به روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد. پس از قرار دادن میزان جذب عصاره میوه در معادله خط منحنی استاندارد کوئرستین ($y = ۱۴/۶۰۳x - ۰/۰۰۳۵$، $r^2 = ۰/۹۹۹$) محاسبه میزان ترکیبات فلاونوئیدی صورت گرفت (شکل ۲).



نمودار ۲- منحنی استاندارد کوئرستین جهت اندازه‌گیری ترکیبات فلاونوئیدی تام عصاره میوه ولیک

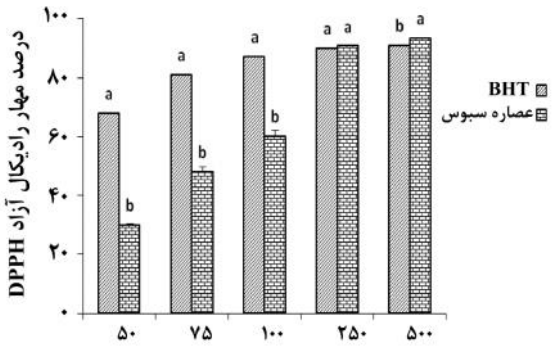
مقدار تام ترکیبات فلاونوئیدی و آنتوسیانینی استخراج شده از میوه ولیک در طی مدت زمان ۱۸ ساعت و در دمای استخراج ۵۰ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۰/۰۹±۲/۱۴ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره و ۰/۱۰±۰/۸۶ میلی‌گرم سیانیدین در گرم عصاره اندازه‌گیری شد. این عصاره حاوی مقادیر قابل ملاحظه‌ای از ترکیبات فلاونوئیدی و غنی از رنگدانه‌های آنتوسیانینی بود.

ارزیابی پایداری عصاره فنولی میوه ولیک در pHهای مختلف: فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره استونی میوه ولیک در pHهای ۴، ۷ و ۹ با روش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در غلظت ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر از عصاره به ترتیب ۰/۰۱±۰/۸۱، ۰/۰۰۹±۰/۸۵ و ۰/۰۰۲±۰/۸۲ اندازه‌گیری شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره استونی در هر سه محیط اسیدی، خنثی و قلیایی یکسان بود و اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند ($p<۰/۰۵$). یکسان بودن اعداد جذب مربوط به هر سه نوع pH بیانگر این است که خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره در pHهای مختلف تغییری نکرده است. در واقع، ترکیبات موثره عصاره در pHهای متفاوت اثر آنتی‌اکسیدانی مشابهی دارند. در نتیجه به علت

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.1.3.4]

پایداری بالای عصاره در pHهای مختلف، می‌توان از عصاره میوه در رنج وسیعی از مواد غذایی و دارویی استفاده نمود.

توانایی مهار رادیکال DPPH توسط عصاره: خاصیت ضدرادیکالی عصاره میوه ولیک به وسیله معرف DPPH مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به دست آمده حاصل از ۳ بار تکرار به صورت مقایسه میانگین در شکل ۳ آمده است.



شکل ۳- مقایسه میانگین درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH توسط عصاره میوه ولیک و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در غلظت‌های مختلف حروف غیر مشابه (حروف دانکن a و b) در هر غلظت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۵٪ است.

نتایج آنالیز واریانس درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH در حضور غلظت‌های مختلف عصاره میوه ولیک و نیز آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT نشان داد که نوع و غلظت نمونه‌ها تأثیر معنی‌داری بر مهار رادیکال آزاد DPPH دارد. فعالیت ضدرادیکالی در عصاره و نیز در آنتی‌اکسیدان سنتزی وابسته به غلظت بود. به طوری که با افزایش غلظت، عصاره میوه فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد بالاتری نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT نشان داد و از این نظر قابل رقابت با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT بود. در محدوده غلظت ۵۰ تا ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد توسط آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT، از ۶۷/۹۵ به ۹۱/۰۴٪ و درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد توسط عصاره استونی از ۲۹/۹۸ به ۹۳/۳۸ درصد افزایش یافت. همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، در غلظت ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر فعالیت ضد رادیکالی عصاره میوه ولیک نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT بالاتر بود و از این لحاظ عملکرد بهتری را نشان داد. بررسی‌های آماری نشان می‌دهد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره استونی در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در سطح اطمینان ۵٪ اختلاف معنی داری دارد (p=۰/۰۰۰۱). بنابراین، این گونه ولیک دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی قویی است و با افزایش مواد فنولی و فلاونوئیدی (ترکیبات فعال شناخته شده با خاصیت آنتی‌اکسیدانی) خاصیت آنتی‌اکسیدانی به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد.

ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی عصاره: فعالیت ضدمیکروبی عصاره میوه ولیک بر تعدادی از باکتری‌های پاتوژن و فسادزای مواد غذایی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج به دو شکل MIC (کمترین غلظت مهارکنندگی) و MBC (کمترین غلظت کشندگی) در جدول ۱ نشان داده شده است. عصاره مورد بررسی در غلظت‌های مختلف بر کلیه باکتری‌های مورد بررسی اثرات بازدارندگی و کشندگی داشت، اما میکروارگانیسم‌های مختلف پاسخ‌های متفاوتی به عصاره نشان دادند. در کل، باکتری‌های گرم مثبت به عصاره حساسیت بیشتری نشان دادند و از بین باکتری‌های گرم منفی نیز *شیگلا دیسانتری* نسبت به بقیه مقاومت کمتری به عصاره نشان داد. کمترین مقدار MBC (۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) با بیشترین حساسیت به عصاره مربوط به باکتری *باسیلوس سابتیلیس* می‌باشد و مقاوم‌ترین باکتری با بیشترین مقدار MBC (۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) *سالمونلا انتریکا* بود. بنابراین، عصاره میوه ولیک مورد بررسی از خاصیت ضدباکتریایی بالایی

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.1.3.4]

برخوردار است که این اثر ناشی از ترکیبات فعال موجود در عصاره میوه است. عصاره غنی از ترکیبات فعال این میوه علاوه بر فعالیت مهارکنندگی از رشد باکتری‌های مورد بررسی، توانایی کشندگی باکتری‌ها را نیز دارا بود.

جدول ۱- حداقل غلظت‌های بازدارندگی (MIC) و کشندگی (MBC) بر حسب میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره میوه ولیک

باکتری	نوع باکتری (+/-)	MIC	MBC
باسیلوس سابتیلیس	+	۲/۵	۲/۵
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	+	۵	۵
لیستریا مونوسیتوژنز	+	۵	۱۰
اشریشیا کلی	-	۱۰	۱۰
سالمونلا انتریکا	-	۱۰	۲۰
شیگلا دیسانتری	-	۲/۵	۵

بحث

امروزه اثرات مفید مصرف برخی از منابع غذایی گیاهی بر سلامت انسان به اثبات رسیده است. این اثرات در نتیجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدرادیکالی ترکیبات فیتوشیمیایی گیاهی به ویژه ترکیبات فنولی حاصل می‌شود که به پیشگیری مؤثر بسیاری از بیماری‌ها نظیر سرطان و بیماری‌های قلبی- عروقی منجر می‌گردد [۱۹]. در این مطالعه، عصاره استونی میوه ولیک از فعالیت ضدرادیکالی و ضدمیکروبی بالایی برخوردار بود که این امر ناشی از غنی بودن عصاره میوه از ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و آنتوسیانینی است. در بررسی محتوای فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گونه دیگری از میوه ولیک (*C. monogyna*) گزارش شده است که محتوای فنولی عصاره اتانولی سه برابر عصاره آبی و نیز فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH عصاره اتانولی دو برابر عصاره آبی بود [۲۰]. بنابراین، می‌تواند بین مقدار ترکیبات فنولی موجود در عصاره میوه و افزایش فعالیت آنتی-اکسیدانی عصاره، همبستگی وجود داشته باشد که این نتیجه‌گیری با گزارش ذکر شده مطابقت دارد. همچنین، در تحقیقات مختلف این موضوع نشان داده شده است که منشا بسیاری از مواد دارویی و درمانی به دلیل متابولیسم ثانویه در گیاهان است که پلی- فنول‌ها با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی مهم‌ترین گروه از این متابولیت‌ها را شامل می‌شوند [۲۱]. در زمینه استخراج ترکیبات فنولی از بافت‌های گیاهی، محققان بسیاری بیان نموده‌اند که افزایش دمای استخراج به طور مطلوبی میزان استخراج ترکیبات فنولی از بافت گیاهی را افزایش می‌دهد و دلیل این افزایش را نرم شدن بافت‌های گیاهی، ضعیف شدن برهم‌کنش ترکیبات فنولی با پروتئین و پلی ساکاریدها و در نتیجه خروج مقدار بیشتری از این ترکیبات از نمونه گیاهی به حلال دانستند [۲۲]. در بررسی تأثیر دمای خیساندن بر میزان استخراج ترکیبات فنولی از میوه لیچی (Litchi) نیز نتایج نشان داده است با افزایش دما (۸۰-۳۰ درجه سانتی‌گراد) مقدار ترکیبات فنولی استخراج شده به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت [۲۳]. نتایج این تحقیق نیز حاکی از خروج بیشتر ترکیبات فنولی از میوه ولیک با افزایش دما بود که با نتایج این محققان مبنی بر تأثیر افزایش دما بر میزان استخراج بیشتر ترکیبات فنولی مطابقت داشت. پتانسیل آنتی‌اکسیدانی و ویژگی‌های ضدمیکروبی ترکیبات فنولی موجود در عصاره‌های گیاهی ناشی از نوع و غلظت این ترکیبات و نیز تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل موجود در حلقه آروماتیک این ترکیبات است. در کل، افزایش غلظت ترکیبات فنولی به طور مستقیم میزان توانایی عصاره‌های مختلف را در مهار رایکال آزاد افزایش

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.1.3.4]

می‌دهد. در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنولی، به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد [۲۴]. در این تحقیق نیز، عصاره ولیک با دارا بودن مقادیر قابل ملاحظه‌ای از ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و آنتوسیانینی، فعالیت ضدرادیکالی بالایی را نسبت به ترکیب استاندارد BHT نشان داد. همچنین، در بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های گیاهی مختلف توسط محققان، نتایج نشان داده است که در کل، باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی حساسیت بیشتری دارند [۲۶-۲۵]. باکتری‌های گرم منفی علاوه بر لایه پپتیدوگلیکان، دارای یک غشای خارجی در دیواره سلولی خود می‌باشند. سطح هیدروفیلی این غشا که غنی از مولکول‌های لیپوپلی‌ساکاریدی می‌باشد به عنوان مانع در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها عمل می‌کند. اما در مورد باکتری‌های گرم مثبت، مواد ضدمیکروبی به راحتی دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی را تخریب کرده که منجر به نشت سیتوپلاسم و انعقاد آن می‌شوند [۲۷]. با توجه به موارد گفته شده علت MBC بالاتر عصاره ولیک در مورد باکتری‌های گرم منفی نسبت به انواع گرم مثبت توجیه می‌شود. در بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های مختلف پوست انار گزارش شده است که عصاره استونی دارای بالاترین خاصیت ضدمیکروبی است که این اثر را ناشی از حضور ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی فعال در عصاره این گیاه دانستند [۲۸]. اگرچه فعالیت ضدمیکروبی بسیاری از عصاره‌های گیاهی مورد مطالعه قرار گرفته است، اما تاکنون، مکانیسم دقیق ضدمیکروبی آن‌ها گزارش نشده-است که به دلیل اختلاف ساختار دیواره سلولی باکتری‌ها و نوع ترکیبات ضدمیکروبی موجود در عصاره گیاهی است [۲۹]. مکانیسم عمده و اصلی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های گیاهی، تخریب دیواره سلولی، آسیب به غشای سیتوپلاسمی و پروتئین‌های غشایی، کوآگولاسیون سیتوپلاسم، نشت محتوای درون سلولی و درنتیجه مرگ سلول باکتری توسط ترکیبات فنولی بیان شده است [۳۰]. در نتیجه، استفاده از فرآورده‌های طبیعی به عنوان مواد ضدباکتریایی روشی مناسب جهت کنترل حضور باکتری‌های پاتوژن و نیز افزایش عمر نگهداری مواد غذایی فرآوری شده است [۳۱].

نتیجه‌گیری

با در نظر گرفتن فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالقوه و مقادیر غنی از ترکیبات فنولی بویژه فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها در میوه ولیک و نیز پایداری بالای عصاره‌ی این میوه در pHهای مختلف، می‌توان از عصاره این گیاه در صنعت دارو و غذا به جای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و سایر نگهدارنده‌های شیمیایی جهت به تأخیر انداختن پراکسیداسیون لیپید و جلوگیری از رشد پاتوژن‌های غذایی استفاده نمود. با توجه به اثرات نامطلوب ترکیبات شیمیایی بر سلامت انسان و نیز مقاومت سویه‌های باکتری به آنتی‌بیوتیک‌ها، مطالعات بیشتر در زمینه کاربرد این عصاره در سیستم‌های بیولوژیکی پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از سرکار خانم دکتر سعیده عربشاهی دلویی که ما را از راهنمایی‌های ارزنده خویش بهره‌مند ساختند و همچنین، جناب آقای مهندس محمدعلی پورملک شاه گروه جنگل‌داری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان که در جمع‌آوری نمونه‌ها کمک‌های ارزنده نموده‌اند، تقدیر و تشکر می‌گردد.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.1.3.4]

References

[1] Kaur C, Kapoor HC. Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium's health. *Int J Food Sci Tech* 2001; 36: 703–25.

[2] Shukla Sh, Mehta A, Bajpai VK, Shukla S. In vitro antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic leaf extract of Stevia rebaudiana Bert. *Food Chem Toxicol* 2009; 47: 2338-43.

[3] Negi PS. Review plant extracts for the control of bacterial growth: efficacy, stability and safety issues for food application. *Int J Food Microbiol* 2012; 156: 7-17.

[4] Zhang Z, Chang Q, Zhu M, Huang Y, Ho WKK, Chen ZY. Characterization of antioxidants present in hawthorn fruits. *Nutritional Biochem* 2001; 12: 144-52.

[5] Andersen ØM, Markham KR.. Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications. London New York : Taylor and Francis. 2006; pp: 1198.

[6] Pascual-Teresa SD, Sanchez-Ballesta MT. Anthocyanins: from plant to health. *Phytochemical Review* 2008; 7: 281-99.

[7] Ding XP, Wang XT, Chen LL, Qi J, Xu T, Yu BY. Quality and antioxidant activity detection of Crataegus leaves using on-line high-performance liquid chromatography with diode array detector coupled to chemiluminescence detection. *Food Chem* 2010; 120: 929-33.

[8] Cui HY, Jia XY, Zhang X, Zhang J, Zhang ZQ. Optimization of high-speed counter-current chromatography for separation of polyphenols from the extract of hawthorn (Crataegus laevigata) with response surface methodology. *Sep Purif Technol* 2011; 77: 269-74.

[9] Edwards JE, Brown PN, Talent N, Dickinson TA, Shipley PR. A review of the chemistry of the genus Crataegus. *Phytochemistry* 2012; 79: 5-26.

[10] Kwok CY, Wong CN, Yau MY, Yu PH, Au ALS, Poon CC, et al. Consumption of dried fruit of Crataegus pinnatifida (hawthorn) suppresses high-cholesterol diet-induced hypercholesterolemia in rats. *J Funct Foods* 2010; 2: 179-186.

[11] Özcan M, Hacıseferoğulları H, Marakoğlu T, Arslan D. Hawthorn (Crataegus spp.) fruit: some physical and chemical properties. *Food Eng* 2005; 69: 409-13.

[12] Arabshahi-Delouee S, Urooj A. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (Morus indica L.) leaves. *Food Chem* 2007; 102: 1233-40.

[13] Slinkard K, Singleton VL. Total phenol analysis; automation and comparison with manual methods. *Am J Enol Viticult* 1977; 28: 49-55.

[14] Chang C, Yang M, Wen H, Chern J. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.1.3.4]

Complementary Colorimetric Methods. *Food and Drug Analysis* 2002; 10: 178-82.

[15] Muanda FN, Soulimani R, Diop B, Dicko A. Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extracts from stevia rebaudiana Bertoni leaves. *LWT - Food Sci Tech* 2011; 44: 1865-72.

[16] Arabshahi-Delouee S, Devi DV, Urooj A. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their heat, pH and storage stability. *Food Chem* 2007; 100: 1100-5.

[17] Shimada K, Fujikawa K, Yahara K, Nakamura T. Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Agric Food Chem* 1992; 40: 945-8.

[18] National committee for clinical laboratory standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically (5^{th} ed.). Approved standard 2000; M7-A5. Pennsylvania: Wayne.

[19] Dillard CG, German GB. Phytochemicals: nutraceuticals and human health. J Sci Food Agric 2000; 80: 1744-1756.

[20] Bernatonienė J, Masteikova R, Majienė D, Savickas A, Kėvelaitis E, Bernatonienė R, et al. Free radical-scavenging activities of Crataegus monogyna extracts. Medicina (Kaunas) 2008; 44(9): 706-12.

[21] Maganha EG, Halmenschlager RC, Rosa RM, Henriques JA, Ramos AL, Saffi J. Pharmacological evidences for the extracts and secondary metabolites from plants of the genus Hibiscus. *Food Chem* 2010; 118(1): 1-10.

[22] Shi J, Yu J, Pohorly J, Young JC, Bryan M, Wu Y. Optimization of the extraction of polyphenols from grape seed meal by aqueous ethanol solution. *Food Agric Enviro* 2003; 1(2); 42-7.

[23] Ruenroengklin N, Zhong J, Duan X, Yang B, Li J, Jiang Y. Effects of various temperatures and pH values on the extraction yield of Phenolics from Litchi fruit pericarp tissue and the antioxidant of the extracted anthocyanins. *Int J Molecule Sci* 2008; 9: 1333-41.

[24] Zhang Z, Liao L, Moore J, Wu T, Wang Z. Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (Juglans regia L.). *Food Chem* 2009; 113(1): 160-5.

[25] Bajpai VK, Al-Reza SM, Choi UK, Lee JH, Kang SC. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of leaf essential oil and extracts of Metasequioa glyptostroboides Miki ex Hu. *Food Chem Toxicol* 2009; 47: 1876-83.

[26] Weerakkody NS, Caffin N, Turner MS, Dykes, GA. In vitro antimicrobial activity of less-utilized spice and herb extracts against selected food-borne bacteria. *Food Control* 2010; 21: 1408-14.

[27] Duffy CF, Power RF. Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts. *Int J Antimicrob Ag* 2001; 17: 527-9.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.1.3.4]

[28] Negi PS, Jayaprakasha GK, Jena BS. Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts. *Food Chem* 2003; 80(3); 393-7.

[29] Kalemba D, Kunicka A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr Med Chem* 2003; 10(10): 813-29.

[30] Negi PS. Review Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. *Int J Food Microbiol* 2012; 156: 7-17.

[31] Almajano MP, Carbo´ R, Jime´nez AL, Gordon MH. Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Food Chem* 2008; 108: 55-63..

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.1.3.4]

Evaluation of Total Phenolic, Flavonoid, Anthocyanin Compounds, Antibacterial and Antioxidant Activity of Hawthorn *(Crataegus Elbursensis)* Fruit Acetonic Extract

S.H. Salmanian[1], A.R. Sadeghi Mahoonak[2], M. Alami[3], M. Ghorbani[2]

Received: 01/12/2012 Sent for Revision: 18/12/2012 Received Revised Manuscript: 11/05/2013 Accepted: 22/06/2013

Background and Objective: *Crataegus elbursensis* is one of the important species of *Rosaceae* family and commonly found in the North of Iran. In this study, the antioxidant, antibacterial properties, total phenolic, flavonoid and anthocyanin contents in acetonic extract of Iranian Hawthorn (*Crataegus elbursensis*) fruits were examined.

Materials and Methods: Extraction of fruit bioactive compound was done using %80 acetone. Total phenolic, flavonoid and anthocyanin contents were measured spectrophotometrically. The antioxidant capacity of the extract were assessed by DPPH (2,2-diphenyl-1- picrylhydrazyl) radical-scavenging activity and compared to synthetic antioxidant BHT (at different concentration of 50, 75, 100, 250, 500 µg/ml). In addition, the stability of the acetonic extract to pH (4, 7 and 9) and also antimicrobial activity of the extract by the broth microdilution method was investigated. Data were analyzed using Duncan's multiple test by SAS software

Results: The extract showed higher radical scavenging activity than BHT. Also, the results of extract stability tests in different pH showed that antioxidant activity of the extract remained constant. The extract revealed significant antimicrobial activity against all of tested bacterial. The most efficient bactericidal activity of the extract was against *Bacillus subtilis* (MBC= 2.5 mg/ml) while *Salmonella enteric* was the most resistant bacterium (MBC= 20 mg/ml).

Conclusion: The results obtained in this study clearly indicate that *C. elbursensis* studied proved to be a rich source of bioactive compounds with antioxidant and antimicrobial properties which could be used in food and drug industry and serve to protect human health.

Key words: Antimicrobial activity, Total phenolic compounds, Antioxidant, Hawthorn fruit

Funding: This research was funded by Gorgan University of Agricultural Science & Natural Resources, Gorgan, Iran.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: None declared.

How to cite this article: Salmanian SH, Sadeghi Mahoonak AR, Alami M, Ghorbani M Evaluation of Total Phenolic, Flavonoid, Anthocyanin Compounds, Antibacterial and Antioxidant Activity of Hawthorn *(Crataegus Elbursensis)* Fruit Acetonic Extract. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2014; 13(1): 53-66. [Farsi]

1- MSc. Dep. Of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Science & Natural Resources, Gorgan, Iran
2- Associate Prof, Dept. Of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Science & Natural Resources, Gorgan, Iran (Corresponding Author): Tel: (0171) 4426432, Fax: (0171) 4426432, E-mail: sadeghiaz@yahoo.com
3- Assistant Prof, Dept. Of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Science & Natural Resources, Gorgan, Iran

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.1.3.4]