(مقاله پژوهشی)

خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره‌های ان-بوتانولی و اتیل استاتی پوست پیاز قرمز با استفاده از روش‌های خیساندن و فراصوت

سمانه خلیلی[۱]، محمدرضا سعیدی اصل[۱]، مریم خاورپور[۲*]، سید محمد وحدت[۲]، مائده محمدی[۳]

۱-گروه علوم وصنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.

۲-گروه مهندسی شیمی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

۳-گروه مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی نوشیروانی، بابل، ایران.

تاریخ دریافت:۱۴۰۱/۰۱/۰۸ تاریخ پذیرش:۱۴۰۱/۰۳/۲۳

DOI: 10.30495/jfst.2022.1955626.1788

چکیده

عصاره پیاز قرمز (*Allium cepa* L.) غنی از ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی می‌باشد که کاربرد فراوانی در صنایع غذایی، آرایشی و دارویی‌دارد. این مطالعه با هدف بررسی اثر روش های خیساندن و فراصوت بر فعالیت ضدمیکروبی و خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های ان-بوتانولی و اتیل استاتی پوست پیاز قرمز انجام شد. نتایج نشان داد که عصاره اتیل استاتی به دست آمده با روش فراصوت بیشترین محتوای فنول و فلاوونوئید کل را به ترتیب با میانگین‌های ۴۳۹/۴۵ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم عصاره و ۳۳/۴۴ میلی‌گرم معادل کوئرستین برگرم عصاره نتیجه داد. بیشترین فعالیت مهارکنندگی DPPH، قدرت احیاکنندگی و به دام‌اندازی رادیکال نیتریک اکساید در عصاره اتیل استاتی استخراج شده با روش فراصوت به دست آمد. مقایسه نتایج تاثیر روش عصاره‌گیری بر خواص ضدمیکروبی عصاره ان-بوتانولی نشان داد که عصاره حاصل از روش خیساندن در غلظت‌های ۶/۲۵ و ۱۲/۵ میکروگرم بر میلی لیتر، خواص ضدباکتریایی بیشتری نسبت به عصاره حاصل از روش فراصوت علیه همه میکرواورگانیسم‌ها به استثنای قارچ *آسپرژیلوس نایجر* داشت ($p<۰/۰۵$). عصاره اتیل استاتی حاصل از روش فراصوت در تمامی غلظت‌ها به استثنای غلظت ۶/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی* و قارچ *کاندیدا آلبیکانس* به طور معنی‌داری تأثیر بیشتری داشت ($p<۰/۰۵$). براساس نتایج به‌دست‌آمده در مطالعه حاضر، استخراج با حلال اتیل استات به روش فراصوت بهترین نتیجه را از نظر فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی داشته است.

واژه‌های کلیدی: پیاز (*Allium cepa* L.)، خیساندن ، فراصوت، آنتی آکسیدانی، ضدمیکروبی.

*مسئول مکاتبات: mkhavarpoor@yahoo.com

۱-مقدمه

درمیان سبزیجات، پیازها یکی از غنی‌ترین منبع ترکیبات فنولی و فلاوونوئید موجود در رژیم غذایی انسان در نظر گرفته می‌شوند(۲۴). عصاره پیاز قرمز، غنی از ترکیبات فعال فنلی است که دارای خصوصیات ارزشمندی مانند ضد میکروبی، ضدالتهاب وآنتی اکسیدانی می‌باشد که در حوزه‌های غذایی، دارویی وآرایشی‌کاربرد دارد. فلاوونوئیدها سطوح بالایی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی را دارا می‌باشند. یکی از ترکیبات موثر در بین فلاونوئیدها، ماده‌ای به نام کوئرستین است. در مطالعات دارویی، بالاترین مقدار کوئرستین از بین ۲۸ سبزی و ۹ میوه که مقدار کوئرستین در آن‌ها بالاست، به پیاز تعلق گرفته است (۲۸). علاوه براین،گزارش شده است درلایه‌های مختلف پیاز، فرولیک اسید و پروتوکاتکویک اسید وجود دارد. فرولیک اسید، آنتی‌اکسیدانی است که در ساخت ترکیبات معطر مورد استفاده قرار می‌گیرد. از فرولیک اسید علاوه بر خواص ضدباکتریایی، خواص آنتی‌اکسیدانی نیز گزارش شده است. به این معنا که نسبت به رادیکال‌های آزاد از جمله گونه‌های اکسیژن فعال واکنش‌پذیر است و می‌تواند آن‌ها را مهار و از اثرات مخرب آن‌ها جلوگیری کند. مطالعات متعددی روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی‌سبزیجات *Allium* به عنوان مواد غذایی سالم انجام شده‌است (۱۱ و ۳۲). باقرلو و همکاران (۱۳۹۰) گزارش دادند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی پیاز قرمز بیشتر از پیاز سفید است(۴). این فعالیت بین پوست بیرونی(بخش دور ریختنی) و بخش درونی پیاز تفاوت معنی‌داری دارد و کمترین مقدار آن در پیازهای سفید و بیشترین آن در پیازهای قرمز ثبت شده است. همچنین، چنگ و همکاران[1] (۲۰۱۳) گزارش دادند که پیاز قرمز فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به پیاز زرد با توجه به سیستم لینولئیک اسید و آزمون DPPH دارد (۱۷). امروزه استفاده از عصاره گیاهان جایگزین بسیار مناسبی برای مواد شیمیایی ضدمیکروبی می‌باشد. عصاره‌های گیاهی دارای ترکیبات فعالی هستند که می‌توانند بر علیه بسیاری از میکرواورگانیسم‌ها به کار روند (۲). در برخی از تحقیقات، اثرات ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی بر روی باکتری‌ها و قارچ‌ها در داخل محیط کشت و یا در مدل‌های غذایی بررسی شده است (۲۷). بر همین اساس در حال حاضر از انواع گیاهان دارویی و خوراکی مخصوصاً گیاهان با مصرف پزشکی و مشتقات آن‌ها به دلیل داشتن ترکیبات ضدمیکروبی متنوع و قوی، به طور وسیعی برای جلوگیری از رشد عوامل میکروبی و قارچی‌بیماری‌زا استفاده می‌شود. انزابی (۱۳۹۵) در مطالعه‌ای خاصیت ضد باکتریایی عصاره الکلی نوعی پیاز قرمز را بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی مورد ارزیابی قرار داد (۲). نتایج نشان داد که این عصاره بر روی همه باکتری‌های مورد آزمایش اثرات ضدباکتریایی داشته است. نتایج مشابهی توسط صالحی و همکاران (۱۳۹۰) و شارما و همکاران[2] (۲۰۱۸) به دست آمده است (۷ و ۳۱). عبدالقدیر و همکاران[3] (۲۰۱۷) در مطالعه‌ای به ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی عصاره گیاهان پیاز (*Allium cepa*) و سیر (*A. sativum*) پرداختند. نتایج نشان داد که عصاره‌ها فعالیت ضدمیکروبی بهتری بر علیه سویه‌های باکتریایی‌درمقایسه‌با سویه‌های قارچی داشتند(۱۱). در تحقیقی دیگر، کابرا و همکاران[4] (۲۰۱۶) اثر ضدباکتریایی سه نوع واریته پیاز شامل پیاز قرمز، زرد و سفید را مورد مطالعه قرار دادند که هر سه نوع پیاز اثرات مهارکنندگی بر رشد همه باکتری‌های‌موردآزمایش‌داشتند (۲۰). برای استخراج ترکیبات فعال موجود در گیاهان روش های متعددی نظیر خیساندن ، سوکسله، مایکروویو و فراصوت وجود دارد. روش خیساندن روشی سنتی و روش فراصوت یکی از جدیدترین روش های استخراج‌ترکیبات‌فعال از گیاهان می باشد. در روش فراصوت، دیواره های سلول با استفاده از نیروهای برشی شکسته شده و انتقال مواد به بیرون غشاء سلولی انجام می گیرد. همچنین، به دلیل کاهش اندازه ذرات، انتشار حلال در بافت بهتر انجام می شود. عوامل گوناگونی نظیر نوع حلال، روش استخراج، مدت

1 - Cheng et al.

2 -Sharma et al. 2018

3 - Abdul Qadir et al. 2017

4 - Kabrah et al.

زمان استخراج و دما در فرایند استخراج نقش دارد. ایران به دلیل شرایط آب و هوایی مناسب در زمینه رشد گیاهان و داشتن‌منابع‌غذایی‌متعدد از بهترین مناطق دنیا محسوب می‌گردد و از گذشته تا به حال منبع تولید و مصرف گیاهان دارویی و مواد غذایی بوده است. با رشد روزافزون جمعیت و تولید غذا، هدر رفت و ضایعات مواد غذایی نیز افزایش پیدا کرده است. بسیاری از این ضایعات غذایی دارای ترکیبات طبیعی با ارزشی هستند که با استخراج آن‌ها می‌توان ارزش افزوده ایجاد کرد. پوست پیاز قرمز یکی از این ضایعات دور ریختنی است که دارای ترکیبات طبیعی سودمند می باشد. در پژوهش گذشته نشان داده شدکه عصاره‌های ان-بوتانولی و اتیل استاتی عصاره پوست‌پیازقرمزدارای میزان قابل توجهی فعالیت آنتی اکسیدانی می‌باشند(۲۳). لذا این مطالعه با هدف ارزیابی اثر روش استخراج بر محتوای فنولی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و خواص ضد میکروبی‌عصاره‌های ان-بوتانولی و اتیل استاتی پوست پیاز قرمز بر روی سویه‌های *استافیلوکوکوس آرئوس*، *اشرشیاکلی*، *سالمونلا تیفی*، *آسپرژیلوس نایجر* و *کاندیدا آلبیکانس* انجام شد.

۲-مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

مواداولیه‌مصرفی‌مورداستفاده‌درپژوهش حاضر شامل واکنشگر فولین سیوکالتو، واکنشگر گریس، گالیک اسید، کوئرستینف سدیم‌کربنات‌واسید آسکوربیک از سیگما-آلدریچ (Buchs, Switzerland)وآلومینیوم‌کلراید،بافرفسفات،پتاسیم فروسیانید و تری‌کلرواستیک اسید از فلوکا (Buchs, Switzerland) تهیه‌شدند. دیگر مواد شیمیایی شامل پتاسیم استات، DPPH[1]، فروس کلراید، سدیم نیتروپروساید، ان-بوتانول و اتیل استات از مرک (Darmstadt, Germany) خریداری شدند. پیاز قرمز (*Allium cepa* L.) (واریته Azar Shahr)، از بازار محلی‌شهرستان‌آمل در استان مازندران خریداری شد. غده‌های پیاز دارای قطر ۸۵-۷۰ میلی‌متر بودند. لایه بیرونی پیاز جدا و به وسیله آب سرد شسته شد. سپس، این لایه‌ها در سایه و در هوای‌آزادخشک گردیدند. مواد خشک شده برای تهیه عصاره مورد استفاده قرار گرفتند.

۲-۲-تهیه عصاره‌ها

عصاره‌ها به وسیله روش‌های خیساندن و فراصوت با استفاده از حلال‌های‌ان-بوتانول‌واتیل‌استات تهیه‌شدند. در روش خیساندن ۵۰۰ میلی‌لیتر حلال به ۱۰۰ گرم پودر پوست پیاز قرمز در یک ارلن بسته افزوده و مخلوط حاصل به مدت ۷۲ ساعت توسط همزن‌مغناطیسی‌هم‌زده شد. پس از مدت زمان فوق عصاره‌های حاصل‌به‌وسیله کاغذ صافی (واتمن) از بخش جامد جدا شدند. عصاره‌های به‌دست‌آمده به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۲۵۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند. سپس، به منظور تبخیر حلال‌ها و تغلیظ عصاره‌ها، محلول رویی جمع آوری و در دستگاه تقطیر در خلاء (روتاری اواپراتور) در دمای ۸۰ درجه‌سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار گرفت. بعد از اینکه عصاره ها کاملا خشک شد تا زمان انجام آزمایشات در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری‌گردید. در روش فراصوت، به۱۰۰گرم از پودر پوست پیاز قرمز ۱۰۰۰ میلی‌لیتر حلال‌های فوق افزوده شد و به مدت ۴۰ دقیقه در معرض امواج صوتی با فرکانس ۶۰ Hz درون‌حمام‌فراصوت(مدل‌فراصوت MicroSYNTH، شرکت Milestone، دانمارک) قرار گرفت. سپس عصاره ها صاف و تغلیظ گردیدند (۸).

۲-۳-تعیین محتوای فنول کل[2]

مقدارفنول‌کل‌عصاره‌های‌به‌دست‌آمده‌توسط‌روش‌کالریمتریک فولین-سیوکالتو تعیین شد(۲۶). به طور خلاصه، ۰/۵ میلی‌لیتر از همه عصاره‌های محلول به طور جداگانه با ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه و ۲/۵ میلی‌لیتر واکنش‌گر فولین سیوکالتو رقیق نشده مخلوط‌شدند.بعداز ۵دقیقه،۲میلی‌لیترازسدیم‌کربنات Na_2CO_3 (۲۰ درصد وزنی/حجمی) اضافه و حجم محلول با آب دیونیزه

1 -2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

2 - Total Phenolic Content (TPC)

به ۲۵ میلی لیتر تنظیم شد. مخلوط برای ۶۰ دقیقه انکوبه شد و جذب با استفاده از اسپکتروفوتومتر دوگانه مرئی-ماوراء بنفش (Analytik Jena, Jena, Germany) در طول موج ۷۶۰ نانومتر نسبت یک نمونه خالی (بلانک) بدون واکنش‌گر اندازه‌گیری شد. این آزمایش در سه تکرار انجام شد. گالیک اسید به عنوان استاندارد مرجع مورد استفاده قرارگرفت و نتایج به صورت میلی‌گرم معادل گالیک اسید درگرم عصاره بیان شدند.

۲-٤-تعیین محتوای فلاوونوئید کل[1]

محتوای فلاوونوئید کل با روش کالریمتیک آلومینیوم کلراید شرح داده شده توسط چانگ و همکاران[2] (۲۰۰۲) تعیین شد (۱۵). هر یک از محلول‌های عصاره (۰/۵ میلی‌لیتر) به طور جداگانه یا متانول ۹۵ درصد (۱/۵ میلی‌لیتر)، آلومینیوم کلراید ۱۰درصد(۰/۱میلی‌لیتر)،پتاسیم‌استات‌یک مولار (۰/۱ میلی‌لیتر) و آب دیونیزه (۳ میلی لیتر) مخلوط شد. بعد از نگهداری به مدت ۳۰دقیقه‌دردمای‌اتاق،جذب‌مخلوط‌حاصل‌با اسپکتروفوتومتر دوپرتویی‌مرئی ماوراءبنفش(GermanyJena,Jena,Analytik) درطول‌موج۴۱۵نانومتر نسبت به محلول بلانک بدون واکنشگر اندازه‌گیری شد. آزمایش در سه تکرار انجام شد. کوئرستین به عنوان استاندارد مرجع مورد استفاده قرار گرفت و نتایج بر حسب میلی‌گرم معادل کوئرستین در گرم عصاره بیان شدند.

۲-۵-تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی

۲-۵-۱-آزمون به‌دام اندازی DPPH

آزمون‌به‌دام‌اندازی‌رادیکال‌DPPH عصاره‌ها با روش گزارش شده توسط سان و همکاران[3] (۲۰۰۵) با اندکی تغییر انجام شد. به طور خلاصه، یک حجم مساوی از محلول متانولی DPPH (۰/۱ میلی‌مول/لیتر) و عصاره‌ها در غلظت‌های مختلف (۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/میلی لیتر) با شیکر مخلوط شدند. این مخلوط در تاریکی در دمای اتاق برای مدت ۱۵ دقیقه نگه‌داشته شد. اسید آسکوربیک به عنوان شاهد استاندارد مثبت مورد استفاده قرار گرفت. یک شاهد (کنترل) برای هر غلظت عصاره در نظر گرفته شد. آزمون در سه تکرار انجام شد. جذب محلول حاصل در طول موج ۵۱۷ نانومتر نسبت به بلانک خوانده شد. درصد DPPH مصرف شده با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

رابطه(۱)

$$Radical\ scavenging\ activity\ (\%) = \left[\frac{A_0 - A_1}{A_0}\right] \times 100$$

که در آن، A_0 جذب اولیه یا بلانک (بدون آنتی‌اکسیدان) و A_1 جذب در حضور عصاره‌ها می باشد.

۲-۵-۲-آزمون قدرت احیاءکنندگی

فعالیت‌های‌آنتی‌اکسیدانی‌عصاره‌هاباآزمون‌قدرت‌احیاءکنندگی با استفاده از پروتکل‌های شرح داده شده توسط این و دوح[4] (۱۹۹۵) انجام شد (۳۵). در ابتدا، غلظت‌های مختلف (۳/۱۲۵، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم/میلی‌لیتر) عصاره‌ها تهیه شد. سپس، ۱ میلی‌لیتر از هر عصاره در پتاسیم فروسیانید ۱ درصد و بافر سدیم فسفات ۰/۲مولار (با pH برابر با ۶/۶) حل شد و برای۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در بن ماری انکوبه گردید. آن‌گاه، تری کلرواستیک اسید ۱۰درصدبه‌آن‌اضافه و به دنبال آن در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژگردید. لایه بالایی با یک حجم مساوی آب دیونیزه و کلرید آهن ۰/۱ درصد رقیق شد. اسید آسکوربیک به عنوان شاهد(کنترل)استاندارد مثبت مورد استفاده قرار گرفت. چگالی نوری[5] نمونه‌ها در طول موج ۷۰۰ نانومتر نسبت به یک بلانک (شامل همه اجزا بدون عصاره) اندازه‌گیری شد.

۲-۵-۳-آزمون به‌دام‌اندازی نیتریک اکساید

در این‌آزمون، فعالیت به‌دام‌اندازی نیتریک اکساید با استفاده از روش‌شرح‌داده شده توسط ابراهیم زاده و همکاران[6] (۲۰۱۳)

1 - Total Flavonoid Content (TFC)
2 - Chang et al.
3 - Sun et al.
4 - Yen and Duh
5 - Optical Density
6 - Ebrahimzadeh et al.

اندازه‌گیری‌شد(۱۹). درابتدا، ۴۰میلی‌گرم از هر عصاره خشک شده در ۲۵ میلی‌لیتر حلال (۱۵میلی‌لیتر متانول+۱۰ میلی لیتر نرمال‌سالین) به منظور تهیه محلول عصاره با غلظت ۱۶۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر حل شد. برای این آزمایش، ۲۵ میلی‌گرم سدیم نیتروپروساید (۱۰میلی‌مولار)در۱۰۰ میلی‌لیتر بافر فسفات سالین با ۳میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف محلول عصاره (۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و۸۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر) مخلوط شد و برای ۱۵۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه گردید. همان مخلوط واکنش بدون عصاره اما با مقدار معادل از آب به عنوان شاهد (کنترل) ارائه شد. بعد از انکوباسیون، ۰/۵ میلی‌لیتر واکنشگر گریس اضافه شد. جذب کروموفور تشکیل شده در طول موج ۵۴۶ نانومتر خوانده شد. کوئرستین به‌عنوان یک کنترل مثبت مورد استفاده قرار گرفت (۱۹).

۲-۶-آزمون‌های فعالیت ضدمیکروبی

۲-۶-۱-میکرواورگانیسم‌ها

ویال‌های لیوفیلیزه باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس آرئوس* (PTCC-1431)،باکتری‌های گرم‌منفی*اشرشیاکلی*-(PTCC (1395و*سالمونلاتیفی*(PTCC-1609)وقارچ‌های *آسپرژیلوس نایجر*(PTCC-5154)و*کاندیدا‌آلبیکانس* (PTCC-5027) از مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری شدند. سپس،کشت‌های‌خالص روی نوترینت آگار و پوتیتو دکستروز آگار کشت شدند و برای مطالعه در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگه داشته شدند.

۲-۶-۲-تهیه سوسپانسیون میکروبی

بدین منظور، ویال‌های لیوفیلیزه در زیر هود لامینار در کنار شعله باز شد و سپس۲ میلی‌لیتر از محیط کشت اتوکلاو شده توسط سرنگ به ماده خشک درون ویال‌ها اضافه شد و پس از یکنواخت شدن بر روی محیط‌های کشت نوترینت براث، نوترینت آگار و پوتیتو دکستروز آگار انتقال یافتند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای باکتری‌ها و به مدت۷۲ساعت‌در دمای ۲۸-۲۵ درجه سانتی‌گراد در گرمخانه قرارداده‌شدند.سپس‌ازمحیط‌کشت‌جدیدحاوی میکرواورگانیسم‌های رشد یافته با استفاده از لوپ استریل بر روی محیط‌های کشت جامد فوق‌کشت خطی انجام شد و پتری‌ها به داخل‌گرمخانه منتقل‌شده‌تا به عنوان منبع باکتری‌ها و قارچ‌ها در ادامه آزمایش مورداستفاده‌قرارگیرند. با توجه به اینکه برای تهیه سوسپانسیون میکروبی جهت استفاده در آزمایشات مورد نظر در پژوهش حاضر نیاز به کشت ۲۴ ساعته از هر میکرواورگانیسمی بود، بنابراین ۲۴ ساعت قبل از انجام هر آزمایش، از کشت ذخیره باکتری‌ها و قارچ‌ها به سطح محیط‌های‌کشت نوترینت آگار وPDA تلقیح‌گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای باکتری‌ها و ۲۸ درجه سانتی‌گراد برای قارچ‌ها گرمخانه‌گذاری‌شدند. سپس مقداری از باکتری ها و قارچ‌های مذکور به صورت جداگانه درون لوله آزمایش حاوی سرم فیزیولوژی ریخته و پس از به هم‌زدن با کمک شیکر، کدورت آن معادل کدورت موجود در لوله شماره ۰/۵ استاندارد مک فارلند تنظیم‌گردید. سوسپانسیون مورد استفاده حاوی حدود $۱/۵\times۱۰^{۸}$ CFU/ml از باکتری و قارچ موردنظر بود (۱۴).

۲-۶-۳-بررسی‌قطرهاله عدم رشد به روش انتشار دیسک[1]

بدین منظور در ابتدا از تمام سویه‌های باکتریایی و قارچی موردنظرغلظت $۱/۵\times۱۰^{۸}$ CFU/ml در محیط مایع‌مغذی مولر هینتون براث و یا سرم فیزیولوژی تهیه و سپس بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شدند. غلظت‌های مختلفی از عصاره‌های پوست پیاز قرمز (۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به وسیله آب مقطر استریل تهیه شد. آن‌گاه، دیسک‌های‌بلانک پادتن طب (شرکت پادتن طب، تهران، ایران) با ۶ میلی‌متر قطر مطابق دستور شرکت سازنده به هر غلظت عصاره آغشته شد و پس از خشک شدن در شرایط استریل، با استفاده از پنس استریل در سطح محیط کشت مولر هینتون آگار حاوی باکتری و یا قارچ قرار داده

1- Disk Diffuision

شد. بر روی هر پتری‌دیش یک دیسک آغشته به آب مقطر به عنوان‌کنترل منفی قرار داده شد. کنترل‌های مثبت مورد استفاده برای همه باکتری‌ها دیسک‌های آنتی‌بیوتیک جنتامایسین در غلظت۱۰ میکروگرم بر دیسک (پادتن طب، ایران) و برای قارچ‌هامایکونازول‌درغلظت۱۰میکروگرم‌بر دیسک (Rosco Diagnostica A/S, Denmark) بودند. پتری‌دیش‌ها در دمای۳۷درجه‌سانتی‌گراد برای مدت ۲۴ ساعت برای باکتری‌ها و در دمای ۲۸-۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت برای قارچ‌ها گرمخانه‌گذاری شدند. فعالیت ضدمیکروبی به صورت میانگین‌قطرهاله‌عدم‌رشد(میلی‌متر)ایجاد شده توسط غلظت‌های مختلف هر عصاره اطراف دیسک ها بیان شد. این آزمایش در سه تکرار انجام شد (۸).

۲-۶-٤-تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد[1]

حداقل‌غلظت‌بازدارندگی‌بااستفاده‌ازروش‌براث میکرودایلوشن[2] روی محیط مولرهینتون براث در یک پلیت میکروتیتر با ۹۶ چاهک تعیین شد. از سوسپانسیون نیم مک فارلند تهیه شده از کشت یک شبه میکرواورگانیسم، رقت‌های یک دهم و سپس یک صدم تهیه گردید تا تعداد تقریبی[6]۱۰ میکرواورگانیسم در هر میلی لیتر از سوسپانسیون ایجاد شود. در میکروپلیت‌های ۹۶ چاهکی ته گرد، به چاهک‌های ردیف اول پلیت فقط محیط کشت و سوسپانسیون باکتریایی و یا قارچی اضافه گردید. در ردیف بعدی به ۶ چاهک از پلیت‌ها، مقدار۱۰۰ میکرولیتر از محیط مایع مغذی مولر هینتون اضافه شد. سپس، به چاهک اول ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از هر یک از عصاره‌های پوست پیاز قرمز به طور جداگانه اضافه شد و به چاهک‌های بعدی به ترتیب غلظت‌های ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ و ۶/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره‌های مورد مطالعه‌اضافه‌گردید.به هر چاهک ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری و قارچی اضافه شد. سپس‌میکروپلیت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد‌گرمخانه‌گذاری گردید. کدورت و یا عدم کدورت چاهک‌ها ابتدا به صورت چشمی مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی رشد باکتری‌ها و قارچ‌ها، مقدار ۵۰ میکرولیتر از معرف رنگی تری فنیل تترازولیوم کلراید ۵ میلی گرم/میلی لیتر (Sigma-Aldrich, USA) در تمام چاهک‌های پلیت ریخته و مجدداً به مدت ۳ ساعت در گرمخانه انکوبه شد. پس از طی مدت زمان لازم، میکروپلیت‌ها از گرمخانه خارج و نتایج آن‌ها بررسی گردید. یک غلظت بالاتر از آخرین غلظتی که‌رنگ‌قرمزرابه‌خودگرفت‌به‌عنوان حداقل غلظت بازدارندگی عصاره در نظر گرفته شد (۱۰).

۲-۶-۵-تعیین حداقل غلظت باکتری کشی[3]

جهت تعیین حداقل غلظت باکتری‌کشی، مقدار ۱۰ میکرولیتر ازمحتویات‌چاهک‌های‌مربوط‌به جواب آزمایش حداقل غلظت بازدارندگی‌هر یک از باکتری‌های‌مورد آزمایش که عدم رشد باکتری‌موردنظر را نشان داده بود برداشته و در سطح محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد و بلافاصله در گرمخانه ۳۷ درجه‌سانتی‌گرادبه‌مدت۲۴ساعت‌انکوبه‌گردید.سپس پلیت‌های کشت‌داده‌شده‌ازنظروجودرشد میکروبی کنترل شد. کنترل‌های منفی نیز با انکوبه کردن پلیت حاوی محیط مولر هینتون آگار برای همین مدت و در همان دما انجام شد. بالاترین رقتی از عصاره پیازکه در سطح پلیت کشت‌داده‌شده مربوطه هیچ اثری از رشد وتولیدکلنی از باکتری‌های مورد مطالعه وجود نداشت، به عنوان حداقل غلظت باکتری‌کشی‌عصاره پیاز نسبت به سویه استاندارد هر یک از باکتری‌های مورد آزمایش در نظر گرفته شد (۹).

1 - Minimum Inhibitory Concentration (MIC)
2 - Microdilution
3 - Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

۲-۶-۶-تعیین حداقل غلظت قارچ‌کشی[1]

جهت تعیین حداقل غلظت قارچ کشی، مقدار ۱۰ میکرولیتر از لوله‌های مربوط به جواب آزمایش حداقل غلظت بازدارندگی را برداشته و روی محیط کشت پوتیتو دکستروز آگار کشت سپس پلیت‌های موردنظر درگرمخانه ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه‌گردید. کم‌ترین‌غلظتی‌که در آن رشدی مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت قارچ‌کشی در نظر گرفته شد (۲۱).

۲-۷-آنالیز آماری

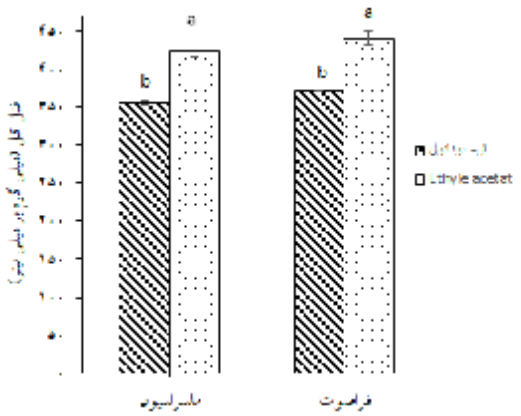
در این تحقیق تأثیرغلظت‌های مختلف عصاره پوست پیاز قرمز بر باکتری‌ها و قارچ‌های مورد مطالعه، با استفاده از روش اندازه‌گیری‌های تکرار شده در سطح احتمال (P<۰/۰۵) پرداخته شده است. تیمارها در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفته و نتایج به دست آمده با استفاده از روش‌های آنالیز واریانس یک طرفه (One- Way – ANOVA) در سطح احتمال (P<۰/۰۵) مورد بررسی قرار گرفته و همچنین مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش آزمون چنددامنه ای دانکن در سطح احتمال (P<۰/۰۵) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته‌است. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار Spss V.22 انجام‌گرفته ونمودارها با استفاده از نرم افزار EXCEL 2016 رسم گردیده است.

۳-نتایج و بحث

۳-۱-نتایج آنالیز محتوای فنول کل

نتایج به دست آمده در شکل ۱ نشان داد که محتوای فنول کل درروش‌های‌استخراج وعصاره‌های به دست‌آمده از ان-بوتانول واتیل‌استات‌تفاوت‌آماری‌معنی‌داری‌داشتند (p<۰/۰۵). مقایسه تاثیرروش‌عصاره‌گیری بر محتوای فنول‌کل عصاره‌های پوست پیاز قرمز نشان می‌دهد که عصاره‌های به دست آمده با روش فراصوت‌دارای‌محتوای‌فنول کل بالاتر در مقایسه با عصاره‌های حاصل از خیساندن می‌باشند. شهنازی و همکاران (۱۳۹۶) در مطالعه خود روی‌گیاه‌تره (*Allium ampeloprasum*) بیان داشتندکه عصاره حاصل از روش فراصوت دارای محتوای فنول کل بالاتر (۸۹/۱ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در گرم عصاره) در مقایسه با عصاره حاصل از خیساندن (۷۵/۸ میلی‌گرم معادل گالیک اسید درگرم عصاره) بود که با نتایج مطالعه‌حاضرمطابقت دارد (۶). ابراهیم زاده و همکاران (۲۰۱۳) روش‌های‌سوکسله،فراصوت و خیساندن را جهت عصاره‌گیری از گیاه *Cucumis melo* مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد که عصاره حاصل از روش فراصوت محتوای فنول کل بالاتری نسبت به عصاره به دست آمده از روش خیساندن داشت که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد (۱۹). این امر می‌تواند به دلیل بالاتر بودن میزان پخش حلال در ماده مورد نظر و خروج آسانتر ترکیبات فنلی در روش فراصوت باشد. به طورکل،استخراج‌با اتیل‌استات بیشترین‌واستخراج با ان-بوتانول کمترین محتوای فنول را نتیجه داد.

1 - Minimum Fungicidal Concentration (MFC)

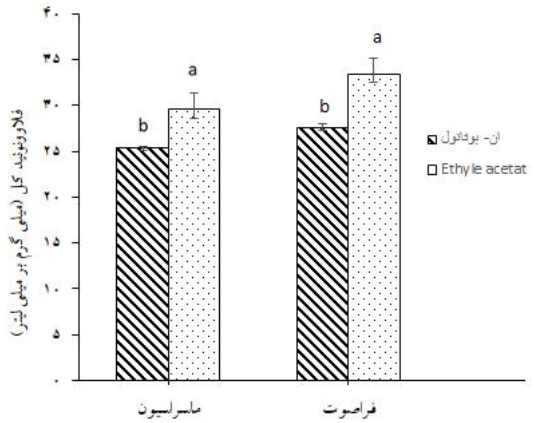


شکل ۱- مقایسه تاثیر روش عصاره‌گیری و نوع حلال بر میانگین محتوای فنول کل در عصاره‌های مختلف پوست پیاز قرمز

۳-۲-نتایج آنالیز محتوای فلاوونوئید کل

مطابق شکل۲، اثر نوع حلال و روش عصاره گیری بر محتوای فلاوونوئید عصاره‌های به دست آمده از پوست پیاز قرمز کاملا معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$) بود. نتایج به دست آمده نشان داد که عصاره‌های‌حاصل‌از روش فراصوت دارای محتوای فلاوونوئید کل بیشتری از عصاره‌های به دست آمده از روش خیساندن بود. به نظر می‌رسد به دلیل قطبیت بالاتر حلال اتیل استات نسبت به ان- بوتانول، میزان فلاوونوئید در عصاره به دست آمده با حلال اتیل استات بالاتر بوده است. از نظر روش استخراج نیز بین روش‌خیساندن و فراصوت تفاوت معنی داری مشاهده گردید($p<۰/۰۵$). روش فراصوت باعث افزایش میزان انتشار حلال به درون بافت گیاهی و درنتیجه ایجاد خلل و فرج برای خروج آسانتر مولکول ها می شود. به همین دلیل، میزان محصول ورودی به حلال آسانتر می شود. همچنین، استخراج ترکیبات‌آنتی‌اکسیدانی از مواد گیاهی به حلالیت این ترکیبات در حلال‌های مختلف بستگی داشته‌و قطبیت حلال‌ها نقش کلیدی را در افزایش حلالیت این ترکیبات بازی می‌کند. مطلبی و همکاران[1](۲۰۱۶)گل‌آذین گیاه‌زولنگ *Eryngium caucasicum* را با سه روش عصاره‌گیری نموده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های حاصل را با یکدیگر مقایسه کردند. نتایج نشان داد که روش‌های سوکسله و فراصوت در استخراج ترکیبات فلاوونوئید در این‌گیاه مؤثرتر از روش کلاسیک خیساندن عمل می‌کنند که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد(۲۵). باباخانی و همکاران (۱۳۹۶) نیز در مطالعه خود روی‌گیاه *Nonnea lutea* بیان داشتند که محتوای فلاوونوئید کل برای عصاره به دست آمده از روش فراصوت بالاتر (۹۱/۹۵ میلی‌گرم معادل کوئرستین در گرم عصاره) از عصاره حاصل از خیساندن (۸۰/۹۷ میلی‌گرم معادل کوئرستین درگرم عصاره) بود که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد (۳).

1 - Motallebi et al.



شکل ۲- مقایسه تاثیر روش عصاره‌گیری و نوع حلال بر میانگین محتوای فلاوونوئید کل در عصاره‌های مختلف پوست پیاز قرمز

۳-۳- نتایج فعالیت آنتی اکسیدانی

۳-۳-۱- نتایج فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH

آزمون‌مهارکنندگی‌رادیکال DPPH به طور وسیع برای تخمین توانایی‌به دام اندازی رادیکال آزاد در نمونه های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. ترکیب DPPH یک رادیکال آزاد با اتم مرکزی نیتروژن است‌که با احیاء شدن تولید مولکول پایداری می‌کند که از ارغوانی به زرد تغییر رنگ می‌دهد. مقایسه‌تاثیرروش عصاره‌گیری بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH عصاره‌های پوست پیاز قرمز در جدول ۱ نشان می‌دهد که برای عصاره ان-بوتانولی در غلظت‌های ۶/۲۵ تا ۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر، فعالیت مهارکنندگی عصاره حاصل از روش فراصوت بیشتر از روش خیساندن بوده، در حالی که در غلظت‌های بالاتر یعنی ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر عصاره حاصل از روش خیساندن دارای فعالیت مهارکنندگی بیشتر در مقایسه با عصاره به دست آمده از روش فراصوت بود. نتایج برای عصاره اتیل استاتی نیز نشان می‌دهد که عصاره حاصل از روش فراصوت دارای فعالیت مهارکنندگی بیشتری در مقایسه با عصاره به دست آمده از روش خیساندن بود. ساپتارینی و وارداتی[1] (۲۰۲۰) گزارش دادند که عصاره اتیل استاتی پیاز در مقایسه با عصاره آبی و روش استخراج برگشتی (رفلاکس) در مقایسه با روش‌های خیساندن ، پرکولاسیون و سوکسله فعالیت مهارکنندگی DPPH بیشتری را نشان داده است (۳۰). نتایج مقایسه‌تأثیرنوع حلال بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH درجدول۱نشان می‌دهد که در روش خیساندن عصاره ان-بوتانولی فعالیت مهارکنندگی بیشتری نسبت به عصاره اتیل استاتی دارد، درحالی‌که در روش فراصوت نتیجه برعکس می‌باشد.بالاترین‌وپایین‌ترین‌فعالیت رادیکال‌گیرندگی عصاره‌ها به ترتیب به روش‌استخراج فراصوت و حلال اتیل استات و روش استخراج خیساندن و حلال اتیل استات مربوط می شود. بنابراین، کارایی حلال مورد استفاده به طور معنی داری به روش استخراج وابسته است. به طور کلی، نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که عصاره‌های تهیه شده توانایی مهارکردن رادیکال‌های آزاد را دارند. نتایج مطالعه حاضر با نتایج گزارش شده توسط آلوسمن و همکاران[2] (۲۰۰۹)، زو و همکاران[3] (۲۰۱۱)، دو و همکاران[4] (۲۰۱۴) و سینق و همکاران[5] (۲۰۱۷) به ترتیب در مطالعه فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH

1 - Saptarini and Wardati

2 - Alothman et al.
3 - Zhu et al.
4 - Do et al.
5 - Singh et al.

عصاره‌های آناناس خام، ریشه گندم، *L. aromatica* و *A. cepa* مطابقت دارد (۱۳، ۳۶، ۱۸ و ۳۲). نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر فعالیت مهارکنندگی DPPH عصاره‌ها را در یک رفتار وابسته به غلظت نشان می‌دهد که با نتایج قاسم‌زاده و همکاران (۲۰۱۱) در مورد رفتار وابسته به غلظت فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH عصاره‌های دو واریته زنجبیل مطابقت دارد (۲۰).

جدول ۱- مقایسه تاثیر روش عصاره‌گیری و نوع حلال بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH در غلظت های مختلف عصاره پوست پیاز قرمز

روش عصاره‌گیری	حلال	غلظت (میلی‌گرم بر لیتر)				
		۶/۲۵	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰
خیساندن	**n-بوتانولی**	۲۰/۳۵Aa	۲۵/۶۳Ba	۵۸/۶۱Ba	۷۶/۴۶Aa	۸۵/۴۹Aa
فراصوت		۲۱/۳۰ Ab	۴۰/۶۱Ab	۶۱/۶۸Ab	۷۱/۱۳Bb	۷۹/۴۱Ba
خیساندن	اتیل استات	۱۵/۹۳Bb	۲۴/۵۶Ba	۵۱/۱۰Bb	۶۸/۷۱Bb	۷۸/۰۰Ab
فراصوت		۲۸/۲۴Aa	۴۴/۲۴Aa	۶۶/۳۴Aa	۷۴/۷۶Aa	۸۱/۶۶Aa

*حروف متفاوت بزرگ در هر ستون و حروف متفاوت کوچک در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار به ترتیب بین روش‌های استخراج و غلظت عصاره می‌باشد ($p<۰/۰۵$)

۳-۳-۲- نتایج قدرت احیاکنندگی

مقایسه‌تاثیرروش‌عصاره‌گیری‌برقدرت احیاکنندگی عصاره‌های مختلف پوست پیاز قرمز در جدول ۲ نشان داده شده است. عصاره‌های ان-بوتانولی و اتیل استاتی به دست آمده از روش فراصوت دارای قدرت احیاکنندگی بیشتری در مقایسه با عصاره‌های‌حاصل‌از روش‌خیساندن بودند. باباخانی و همکاران (۱۳۹۶) در مطالعه بر روی گیاه چشم‌گربه‌ای بیان داشتندکه فعالیت‌احیاکنندگی‌عصاره حاصل از روش فراصوت در تمامی غلظت‌ها بیشتر از عصاره به دست آمده از روش خیساندن بود که مطابق با نتایج پژوهش حاضر می‌باشد (۳). آزمایش قدرت احیاکنندگی پارامتر مهم مورد استفاده در ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی‌عصاره‌های‌گیاهی‌می‌باشد.این‌پارامترپراکسیداسیون لیپید را با اهداء یک اتم هیدروژن‌که منجر به پایان‌دهی واکنش زنجیره‌ای رادیکال آزاد می‌شود، نشان می‌دهد. حضور آنتی‌اکسیدان‌هادرنمونه‌موجب احیاء کمپلکسFe^{3+}/ferricyanide به شکل Fe^{2+} می‌شود که با اندازه‌گیری تشکیل Prussian blue Perl's در طول موج ۷۰۰ نانومتر مورد ارزیابی قرار می‌گیرد (۱۸). نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که عصاره اتیل استاتی بیشترین قدرت احیاکنندگی را در گستره غلظت ۶/۲۵ تا ۴۰۰ میکروگرم برمیلی‌لیتر به ترتیب با میانگین جذب ۰/۰۹۸ تا ۲/۸۳۹ نشان داد و از غلظت ۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر به بالابه طور معنی داری بالاتر از قدرت احیاکنندگی عصاره‌های ان-بوتانولی بود. با توجه به نتایج جدول ۲، عصاره‌ها درجات مختلفی از ظرفیت اهداء الکترون را در یک رفتار وابسته به غلظت نشان دادندکه با نتایج‌گزارش‌شده توسط دو و همکاران (۲۰۱۴) مطابقت دارد. (۱۸) همچنین نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعه ین و دو[1] (۱۹۹۳) همخوانی‌داردکه‌گزارش کردند که قدرت احیاکنندگی عصاره پوست میوه بادام زمینی با افزایش غلظت افزایش می‌یابد و همبستگی خوبی با اندازه فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد (۳۴). آنها همچنین نشان دادندکه پتانسیل احیاکنندگی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به طور نزدیکی با

1 - Yen and Duh

محتوای فلاوونوئید کل آن مرتبط است. در مطالعه حاضر، عصاره اتیل استاتی با محتوای فلاوونوئید کل بالاتر همچنین قدرت احیاکنندگی آهن بیشتری را در مقایسه با عصاره n- بوتانولی نشان داد.

۳-۳-۳-آنالیز فعالیت به دام اندازی رادیکال نیتریک اکساید

نتایج حاصل از مقایسه تاثیر روش عصاره‌گیری بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال نیتریک اکساید عصاره‌های مختلف پوست پیاز قرمز در جدول ۳ نشان می‌دهد که فعالیت مهارکنندگی عصاره‌های ان-بوتانولی و اتیل استاتی حاصل از روش فراصوت در تمامی غلظت‌ها (به استثناء ۱۶۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در مقایسه با عصاره‌های به دست آمده از روش خیساندن بیشتر بود. غلظت‌های مختلف عصاره‌ها (۱۶۰۰-۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مهار نیتریک اکساید را در گستره‌ای از ۱۷/۵۶ تا ۴۰/۱۸ درصد نشان دادند. عصاره اتیل استاتی مهارکنندگی نیتریک اکساید بالاتری در مقایسه با عصاره ان-بوتانولی در غلظت‌های مورد مطالعه نشان داد. بیشترین فعالیت مهارکنندگی نیتریک اکساید برای عصاره اتیل استاتی (۴۰/۱۸ درصد) در غلظت ۱۶۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر به روش خیساندن حاصل شد. نتایج مطالعه حاضر فعالیت مهارکنندگی نیتریک اکساید عصاره‌ها را در یک رفتار وابسته به غلظت نشان می دهد که با نتایج گزارش شده توسط راو و همکاران[1] (۲۰۱۶) و آدبایو و همکاران[2] (۲۰۱۹) مطابقت‌دارد (۲۸، ۱۲). آدبایو و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند بیشترین مهارکنندگی نیتریک اکساید برای عصاره‌ها با استفاده از اتیل استات و استون به وجود آمد که با نتایج به دست آمده برای عصاره اتیل استاتی در مطالعه حاضر همخوانی دارد (۱۲).

جدول۲- مقایسه تاثیر روش عصاره‌گیری و نوع حلال بر قدرت احیاکنندگی در غلظت‌های مختلف عصاره پوست پیاز قرمز

روش عصاره‌گیری	حلال	غلظت (میلی‌گرم بر لیتر) ۶/۲۵	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰	۲۰۰	٤۰۰
خیساندن	n-بوتانولی	۰/۰۵۹Bb	۰/۰۹۸Ab	۰/۱۱٦Bb	۰/۱۳۲Bb	۰/۲٦۵Bb	۰/۳۰۱Bb	۰/۳٦۵Bb
فراصوت		۰/۰۹۱Aa	۰/۱۰۱Aa	۰/۱۸۹Ab	۰/۳۳۰Ab	۰/۳۹۷Ab	۰/۹۱۰Ab	۱/۱۸۰Ab
خیساندن	اتیل استاتی	۰/۰۸۵Ba	۰/۱٦۲Aa	۰/۱۸۰Ba	۰/۲٦۹Ba	۰/۲۸۷Ba	۰/۳٦۰Ba	۰/۳۸۷Ba
فراصوت		۰/۰۹۸Aa	۰/۱۰۷Ba	۰/۵۸٦Aa	۰/۷۲۹Aa	۱/۰۳۰Aa	۲/۳۳۰Aa	۲/۸٤۰Aa

* حروف متفاوت بزرگ در هر ستون و حروف متفاوت کوچک در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار به ترتیب بین روش‌های استخراج و غلظت عصاره می‌باشد ($p<۰/۰۵$)

1 - Rao et al.
2 - Adebayo et al.

جدول ۳- مقایسه تاثیر روش عصاره‌گیری و نوع حلال بر فعالیت به دام‌اندازی رادیکال نیتریک اکساید در غلظت‌های مختلف عصاره پوست پیاز قرمز

روش عصاره‌گیری	حلال	غلظت (میکروگرم بر میلی‌لیتر)				
		۱۰۰	۲۰۰	٤۰۰	۸۰۰	۱٦۰۰
خیساندن	**n-بوتانولی**	۲٦/۰٥Ba	۱۷/٥٦Bb	۲۲/۰۷Ba	۲۹/٦۸Ba	۳٦/۷۳Ab
فراصوت		۲۹/۱٤Ab	۲۹/۰٥Ab	۳۰/۱۳Ab	۳٥/٦۱Aa	۳٦/٦۳Ab
خیساندن	**اتیل استاتی**	۲۲/٤۳Bb	۲۰/۹۸Ba	۲۰/۹۳Bb	۲۹/۰۳Ba	٤۰/۱۸Aa
فراصوت		۳۳/٤٦Aa	۳۳/۸۸Aa	۳٤/۹۸Aa	۳٦/۱۳Aa	۳۸/۹٥Aa

* حروف متفاوت بزرگ در هر ستون و حروف متفاوت کوچک در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار به ترتیب بین روش‌های استخراج و غلظت عصاره می‌باشد ($p<۰/۰٥$)

۳-٤- نتایج اثرات ضد میکروبی

عصاره بسیاری از گیاهان قادر به مهار رشد میکروارگانیسم ها می باشد. عوامل متعددی مانند واریته گیاه، چگونگی خشک کردن، روش‌عصاره‌گیری‌و نوع حلال بر خواص ضد میکروبی عصاره‌گیاه‌تاثیردارد(۱). در این مطالعه، اثر روش‌عصاره گیری و نوع حلال برخواص‌میکروبی عصاره پوست پیاز قرمز بررسی گردید. برای این منظور چند سویه باکتری‌گرم مثبت و منفی و همچنین قارچ‌انتخاب و اثر غلظت‌های مختلف عصاره به دست آمده در مهار رشد این میکروارگانیسم‌ها بررسی شد و در انتها با اثر چند آنتی بیوتیک استاندارد به عنوان نمونه شاهد مقایسه گردید. نتایج تاثیر روش عصاره‌گیری و نوع حلال بر خواص ضدمیکروبی‌عصاره پوست‌پیاز قرمز به صورت کمی و با اندازه گیری قطر هاله عدم رشد در جدول ۶ نشان داده شده است. به استثنای قارچ *آسپرژیلوس نایجر*، عصاره ان- بوتانولی و اتیل‌استاتی‌حاصل از روش خیساندن در غلظت‌های پائین نسبت به‌عصاره‌حاصل‌از روش فراصوت علیه همه میکرواورگانیسم‌ها خواص ضدباکتریایی بیشتری داشت ($p<۰/۰٥$). در تمامی غلظت‌ها برای قارچ *آسپرژیلوس نایجر*، عصاره ان-بوتانولی و اتیل‌استاتی‌حاصل‌ازخیساندن‌درمقایسه‌با فراصوت‌اثر مهارکنندگی بیشتری داشته است.

نتایج‌به‌دست‌آمده‌برای‌جلوگیری‌ازرشدباکتری *استافیلوکوکوس ارئوس* نشان‌دادکه بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به عصاره گیری با روش فراصوت، حلال اتیل استات و غلظت ۴۰۰ میکروگرم برمیلی‌لیترعصاره بودکه برابر با ۲۴ میلی‌متر می باشد. با افزایش غلظت عصاره‌خاصیت ضدباکتریایی‌آن افزایش یافت به طوری که با افزایش غلظت عصاره از ۶/۲۵ تا ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر قطر هاله عدم رشد حدود ۱۶ میلی متر بیشتر شد. در مورد اثر روش عصاره‌گیری و نوع حلال بر خواص ضد باکتریایی عصاره‌پوست‌گیازقرمز علیه باکتری‌های *اشرشیاکلی* و *سالمونلا تیفی*‌نیز روند مشابهی به دست‌آمد به این صورت که با افزایش غلظت قطر هاله عدم رشد افزایش یافت. در مورد *اشرشیاکلی* قطر هاله برای روش فراصوت و حلال اتیل استات از مقدار ۶/۶۷میلی‌متردرغلظت۶/۲۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر تا ۱۶میلی متر درغلظت۴۰۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر افزایش یافت و برای باکتری *سالمونلا تیفی* به ترتیب ۶/۶۷ میلی متر برای غلظت ۶/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر و ۱۸/۳۳ میلی متر برای غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد که نشان‌دهنده تاثیر بیشتر عصاره بر باکتری*سالمونلاتیفی* است. به طورکلی‌تاثیرغلظت‌های مختلف (۶/۲۵ تا۴۰۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر)عصاره پوست پیاز بر باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس ارئوس* بیشتر از باکتری های گرم منفی *اشرشیاکلی* و سالمونلا تیفی بود. در مورد آنتی بیوتیک

جنتامایسین،قطرهاله‌عدم‌رشدعلیه‌باکتری های *استافیلوکوکوس ارئوس*، *اشرشیاکلی* و *سالمونلا تیفی* به ترتیب برابر با ۱۹/۶۷، ۱۷/۳۳ و ۳۱ به دست آمد. با مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره با آنتی‌بیوتیک‌استاندارد جنتامایسین‌مشخص‌شد که آنتی بیوتیک جنتامایسین اثر ضد باکتریایی بیشتری نسبت به عصاره علیه باکتری های گرم منفی *اشرشیاکلی* و سالمونلا تیفی داشت. در رابطه با اثر مهارکنندگی روی قارچ *کاندیدا آلبیکانس*، عصاره اتیل استاتی حاصل از هر دو روش فراصوت و خیساندن در تمامی غلظت ها اثر مهارکنندگی بیشتری در مقایسه با عصاره ان- بوتانولی داشت. قطر هاله عدم رشد برای آنتی بیوتیک استاندارد مایکونازول علیه قارچ های *اسپرژیلوس نایجر* و *کاندیدا آلبیکانس* به ترتیب برابر با ۲۳ و ۲۱ میلی‌متر بدست آمدکه نشان می‌دهد مایکونازول اثر ضد قارچی بیشتری نسبت به عصاره پوست پیاز قرمز علیه قارچ *کاندیدا آلبیکانس* دارد. همچنین با توجه به نتایج، اثر ضد قارچی عصاره ان- بوتانولی و اتیل استاتی روش خیساندن علیه قارچ *کاندیدا آلبیکانس* با افزایش غلظت عصاره تغییر چندانی نشان نداده است. همچنین براساس نتایج تأثیر روش عصاره‌گیری بر خواص ضدمیکروبی عصاره‌اتیل‌استاتی‌درجدول۴، عصاره حاصل از روش فراصوت درتمامی‌غلظت‌ها به‌استثنای‌غلظت ۶/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* و قارچ *کاندیدا آلبیکانس* به طور معنی‌داری تأثیر بیشتری داشت ($p<۰/۰۵$). در رابطه با باکتری سالمونلا تیفی در غلظت‌های پائین‌تر از ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره حاصل از روش خیساندن و در غلظت‌های بالاتر از آن عصاره به دست آمده با روش فراصوت قطر هاله عدم رشد بیشتری را حاصل آوردند. بررسی داده‌ها نشان داد که عصاره اتیل استاتی حاصل از روش خیساندن درهمه‌غلظت‌ها به استثنای ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر خواص ضدقارچی بیشتری در مقایسه با عصاره به دست آمده ازروش‌فراصوت‌برقارچ *آسپرژیلوس نایجر* داشت ($p<۰/۰۵$). باباخانی‌وهمکاران(۱۳۹۶)درمطالعه‌خودروی‌گیاه چشم‌گربه‌ای بیان‌داشتندکه‌عصاره‌حاصل از روش فراصوت اثر مهارکنندگی بیشتری بر باکتری‌های *سودوموناس آئروژینوزا*، *اشریشیا کلی* و *باسیلوس سابتیلیس* داشته، در حالی‌که تاثیر عصاره حاصل از خیساندن بر *باکتری استافیلوکوکوس اورئوس* بیشتر از عصاره به دست آمده از روش فراصوت بوده است (۳). انزابی (۱۳۹۵) در مطالعه خود بیان داشت که عصاره هیدروالکلی پیاز قرمز سبب مهار رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* با میانگین قطر هاله به ترتیب ۱۵ و ۸ میلی‌متر در غلظت ۱۲۵ و ۲۵۰میکروگرم بر میلی‌لیتر شده است (۲). حافظ قرآن و همکاران (۱۳۹۳) نشان دادند که عصاره اتیل استاتی پیاز گیاه سنبل کوهی در غلظت‌های مختلف قطر هاله بیشتری را در مقایسه با عصاره‌های کلروفرمی و هیدروالکلی نتیجه داد که با نتایج تحقیق حاضر در رابطه با تاثیر بیشتر عصاره اتیل استاتی مطابقت دارد (۵).

جدول ٤- مقایسه تاثیر روش عصاره گیری و نوع حلال بر فعالیت میکروبی عصاره پوست پیاز قرمز علیه میکرواورگانیسم‌های مورد مطالعه

روش عصاره‌گیری	نوع حلال	میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)* غلظت عصاره (میکروگرم بر میلی‌لیتر)						
		٦/٢٥	١٢/٥	٢٥	٥٠	١٠٠	٢٠٠	٤٠٠
		استافیلوکوکوس اورئوس						
خیساندن	ان-بوتانولی	٨/٣٣A	٩/٣٣A	١٠/٠٠A	١٠/٣٣B	١٢/٦٧B	١٤/٠٠B	١٦/٣٣B
	اتیل استاتی	٨/٦٧A	٩/٠٠A	١٠/٣٣A	١٠/٦٧B	١٣/٣٣B	١٤/٣٣B	١٧/٦٧B
فراصوت	ان-بوتانولی	٧/٠٠B	٨/٣٣B	٩/٦٧A	١١/٣٣A	١٤/٠٠A	١٦/٦٧A	١٩/٠٠A
	اتیل استاتی	٧/٦٧B	٩/٦٧B	١١/٠٠A	١٣/٣٣A	١٦/٣٣A	١٩/٠٠A	٢٤/٠٠A
		اشریشیا کلی						
خیساندن	ان-بوتانولی	٧/٦٧A	٨/٣٣A	٨/٦٧A	٩/٣٣A	٩/٦٧B	١١/٣٣B	١٢/٣٣B
	اتیل استاتی	٧/٠٠A	٧/٣٣A	٨/٠٠B	٨/٣٣B	٨/٦٧B	٩/٣٣B	١٠/٣٣B
فراصوت	ان-بوتانولی	٦/٣٣B	٧/٦٧A	٨/٣٣A	٩/٣٣A	١١/٣٣A	١٢/٦٧A	١٥/٣٣A
	اتیل استاتی	٦/٦٧A	٧/٦٧A	٩/٣٣A	١٠/٠٠A	١١/٦٧A	١٣/٣٣A	١٦/٠٠A
		سالمونلا تیفی						
خیساندن	ان-بوتانولی	٨/٦٧A	٩/٦٧A	١٠/٣٣A	٩/٦٧A	١٠/٣٣B	١٠/٦٧B	١١/٦٧B
	اتیل استاتی	٩/٠٠A	٩/٦٧A	١٠/٣٣A	١٠/٦٧A	١٠/٣٣A	١١/٣٣A	١٢/٠٠A
فراصوت	ان-بوتانولی	٦/٦٧B	٧/٦٧B	٨/٦٧B	٩/٣٣A	١١/٣٣A	١٢/٣٣A	١٤/٦٧A
	اتیل استاتی	٦/٦٧B	٨/٣٣B	١٠/٠٠A	١٠/٦٧A	١١/٣٣A	١٤/٣٣A	١٨/٣٣A
		آسپرژیلوس نایجر						
خیساندن	ان-بوتانولی	٧/٦٧A	٩/٣٣A	١٠/٦٧A	١٢/٦٧A	١٦/٣٣A	٢٢/٠٠A	٢٤/٣٣A
	اتیل استاتی	١٠/٣٣A	١١/٦٧A	١٣/٦٧A	١٥/٠٠A	١٩/٠٠A	٢٢/٣٣A	٢٣/٦٧A
فراصوت	ان-بوتانولی	٦/٦٧B	٨/٠٠B	٩/٠٠B	٩/٣٣B	١٠/٣٣B	١٣/٦٧B	١٦/٠٠B
	اتیل استاتی	٩/٣٣B	١١/٠٠A	١٢/٣٣B	١٤/٠٠B	١٥/٦٧B	١٨/٣٣B	٢٤/٣٣A
		کاندیدا آلبیکانس						
خیساندن	ان-بوتانولی	٧/٣٣A	٧/٦٧A	٧/٣٣B	٧/٦٧B	٧/٦٧B	٧/٦٧B	٧/٦٧B
	اتیل استاتی	٩/٠٠A	٩/٣٣A	١٠/٠٠B	٩/٦٧B	١٠/٣٣B	١٠/٦٧B	١١/٦٧B
فراصوت	ان-بوتانولی	٧/٠٠A	٧/٣٣A	٨/٦٧A	٩/٦٧A	١١/٦٧A	١٤/٣٣A	١٦/٣٣A
	اتیل استاتی	٨/٦٧A	١٠/٠٠A	١١/٠٠A	١٣/٠٠A	١٤/٦٧A	١٧/٠٠A	١٩/٦٧A

* حروف متفاوت برای هر میکرواورگانیسم در روش‌های استخراج در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p<0/05$)

نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی، حداقل غلظت باکتری‌کشی و حداقل غلظت قارچ‌کشی برای عصاره ان-بوتانولی و اتیل استاتی به روش خیساندن و فراصوت در جدول ۷ نشان داده شده است. در هر دو روش خیساندن و فراصوت عصاره ان-بوتانولی و اتیل استاتی بیشترین اثر مهارکنندگی را بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و قارچ *آسپرژیلوس نایجر* داشته است و کم‌ترین اثر مهارکنندگی برای قارچ کاندیدا آلبیکانس به روش خیساندن و با حلال ان- بوتانول بدست آمد. نتایج به دست آمده برای عصاره ان-بوتانولی استخراج شده به روش فراصوت‌نشان‌می‌دهدکه کمترین‌اثرمهارکنندگی‌برای باکتری‌های *اشریشیا کلی* و*سالمونلا تیفی* به دست‌آمد. برای حداقل غلظت مهارکنندگی‌عصاره‌اتیل‌استاتی استخراج‌شده به روش‌خیساندن، دو باکتری *اشرشیاکلی* و *سالمونلا تیفی* از نظر حساسیت مشابه بودند و *اسپرژیلوس نایجر* در مقایسه با *کاندیدا آلبیکانس* حساسیت بیشتری نسبت به عصاره داشت. با توجه به جدول ۵، بهترین نتیجه خاصیت باکتری‌کشی برای عصاره اتیل استاتی پوست پیاز قرمز به روش فراصوت به دست آمد که دارای حداقل غلظت باکتری کشی برابر با ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بود و منجر به مرگ باکتری *استوفیلوکوکوس ارئوس* گردیده است. به طورکلی، عصاره های گیاهی دارای خاصیت آب‌گریزی هستند که توانایی ایجاد پیوند روی لایه لیپیدی غشاء سلول باکتری و میتوکندری را دارد که منجر به پاره شدن غشاء و خروج یون‌ها و مولکول‌های مهم از سلول باکتری و درنهایت مرگ باکتری می شود. همچنین، عصاره ان- بوتانولی به روش خیساندن دارای ضعیفترین خاصیت ضد قارچی با حداقل غلظت قارچ‌کشی ۱۶۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بود که علیه قارچ *کاندیدا آلبیکانس* بدست آمد.

جدول ۵- نتایج تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی،حداقل غلظت باکتری‌کشی و حداقل غلظت قارچ کشی عصاره‌های ان-بوتانولی و اتیل استاتی پوست پیاز قرمز علیه میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه

روش استخراج	میکروارگانیسم ها	حداقل غلظت مهارکنندگی (میکروگرم بر لیتر)		حداقل غلظت باکتری کشی		حداقل غلظت قارچ کشی	
		ان-بوتانولی	اتیل استاتی	ان-بوتانولی	اتیل استاتی	ان-بوتانولی	اتیل استاتی
خیساندن	*استافیلوکوکوس اورئوس*	۱۰۰	۱۰۰	۲۰۰	۲۰۰	-----	-----
	اشریشیاکلی	۲۰۰	٤۰۰	٤۰۰	۸۰۰	-----	-----
	سالمونلا تایفی	٤۰۰	٤۰۰	۸۰۰	۸۰۰	-----	-----
	آسپرژیلوس نایجر	۱۰۰	۱۰۰	-----	-----	۲۰۰	۲۰۰
	کاندیدا آلبیکنس	۸۰۰	٤۰۰	-----	-----	۱٦۰۰	۸۰۰
فراصوت	*استافیلوکوکوس اورئوس*	۱۰۰	۵۰	۲۰۰	۱۰۰	-----	-----
	اشریشیاکلی	٤۰۰	۲۰۰	۸۰۰	٤۰۰	-----	-----
	سالمونلا تایفی	٤۰۰	۲۰۰	۸۰۰	٤۰۰	-----	-----
	آسپرژیلوس نایجر	۲۰۰	۱۰۰	-----	-----	٤۰۰	۲۰۰
	کاندیدا آلبیکنس	۲۰۰	۲۰۰	-----	-----	٤۰۰	٤۰۰

٤- نتیجه‌گیری

پوست پیاز قرمزیکی از ضایعات دورریختنی مواد غذایی است که دارای ترکیبات طبیعی سودمندی می باشد. با عصاره‌گیری پوست پیاز قرمز و استخراج این ترکیبات می توان گام موثری درجهت تولید و استفاده از این مواد طبیعی در صنایع غذایی و دارویی برداشت. در تحقیق حاضر، عصاره ان-بوتانولی و اتیل استاتی‌پوست‌پیازقرمز (*Allium cepa* L.) که غنی از ترکیبات فنولی‌وفلاوونوئیدی‌می‌باشد با روش های خیساندن و فراصوت به‌دست‌آمد.سپس، اثرروش‌استخراج بر خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره ها بررسی و نتایج مقایسه گردید. نتایج نشان داد که عصاره اتیل استاتی بدست آمده با روش فراصوت دارای‌بیشترین‌محتوای‌فنول و فلاوونوئید کل می باشد. بیشترین فعالیت‌مهارکنندگیDPPH،قدرت‌احیاکنندگی‌وبه دام‌اندازی رادیکال نیتریک اکساید نیز برای عصاره اتیل استاتی استخراج شده با روش فراصوت به دست آمد. نتایج نشان داد که عصاره ان-بوتانولی‌حاصل‌ازروش‌خیساندن‌درغلظت‌های پائین خواص ضدباکتریایی‌بیشتری‌نسبت به عصاره حاصل از روش فراصوت علیه‌همه میکرواورگانیسم‌ها به استثنای قارچ *آسپرژیلوس نایجر* داشت($p<۰/۰۵$). عصاره‌اتیل استاتی حاصل از روش فراصوت درتمامی‌غلظت‌ها به‌استثنای‌غلظت ۶/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* و قارچ *کاندیدا آلبیکانس* به طور معنی‌داری تأثیر بیشتری داشت ($p<۰/۰۵$). با افزایش غلظت عصاره بر میزان قطر هاله عدم رشد و درنتیجه خاصیت ضد باکتریایی‌آن افزوده گردید. با مقایسه‌اثرضدمیکروبی‌عصاره مذکور با آنتی بیوتیک استاندارد جنتامایسین‌مشخص‌شد که اثر ضدباکتریایی آنتی بیوتیک قوی تر از عصاره پوست پیاز قرمز در غلظت های به کار رفته است. نتایج نشان‌دادکه غلظت های مختلف (۶/۲۵ تا ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) عصاره پوست پیاز شامل مواد ضد میکروبی با اثرات‌ضدباکتریایی‌به‌ویژه‌برباکتری‌گرم مثبت *استافیلوکوکوس ارئوس* نسبت به باکتری های گرم منفی *اشرشیاکلی* و *سالمونلا تیفی* می باشد. همچنین اثرات ضد قارچی عصاره علیه قارچ *اسپرژیلوس نایجر* بیشتر از قارچ *کاندیدا آلبیکانس* بدست آمد. به طورکلی در مجموع براساس نتایج به دست آمده، استخراج عصاره پوست پیاز قرمز با حلال اتیل استات به روش فراصوت بهترین نتیجه را از نظر اثرات ضدمیکروبی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی داشته است.

٥-منابع

۱. اطهری م، آزادفر ا، استیری س.ح، پدرام‌نیا، ا، نعمت‌شاهی م. م. بررسی‌خواص آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی‌عصاره‌برگ‌گیاه‌کرچک (Ricinus communis) و تاثیرآن بر پایداری روغن سویا در شرایط نگه داری، *نشریه نوآوری در علوم وفناوری‌غذایی*. ۱٤۰۰؛ ۱٤(۲):٤۷-۲۹.

۲. انزابی ی. ارزیابی اتنوفارماکولوژی، میزان فنل، فلاوونوئید و خاصیت ضدباکتریایی عصاره الکلی گیاه بومی *Allium cepa* L. var. *Ilkhichi*، *فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی*. ۱۳۹۵؛ ٤(٤): ۹۹-۸۵.

۳. باباخانی ب، جانباز ف، ابراهیم‌زاده م. ع. تاثیرروش‌های مختلف استخراج بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنتی باکتریال گیاه *Nonnea lutea*، *مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران*. ۱۳۹٦؛ ۲۷(۱٥٦): ۱٤٥-۱۲۹.

٤. باقرلو، م.، حیدری، ر.، قادرپور، ص. و جامعی، ر.، ۱۳۹۰. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی چند رقم از پیاز(*Allium cepa* L.) ایرانی‌و توانایی آن‌ها در خنثی‌سازی رادیکال‌های‌آزاد، *نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی*. ۱۳۹۰؛ ۲۱(۷): ٤٦٥-٤٥٥.

۵. حافظ قرآن س، میقانی ح، ابراهیمی پ. اثر ضد میکروبی عصاره‌های کلروفرمی، اتیل استاتی و هیدروالکلی پیازگیاه‌سنبل‌کوهی‌درشرایط‌آزمایشگاهی، *مجله‌علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان*. ۱۳۹۳؛ ۱٦(۱):۱۱۳ - ۱۰٦.

٦. شهنازی ر، مهردادفر ف، ابراهیم‌زاده م. ع. بررسی تاثیر روش استخراج بر محتوای تام فنلی، فلاونوئیدی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی هیپوکسی گیاه تره *Allium ampeloprasum*، *مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران*. ١٣٩٦؛ ٢٧(١٥٨): ٤٤-٢٧.

٧. صالحی م، سلیم‌پور ف، نویدی قهرودی م. مطالعه اثر ضد باکتری عصاره اتانولی گیاه والک (*Allium akaka*)، *مقاله تحقیقی*. ١٣٩٠؛. ٦٨-٦٣.

٨. صفرزائی ع، سرحدی ح، داشی پور ع. شرایط بهینه استخراج الکلی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی برگ و ریشه گیاه کبر به روش فراصوت. *نشریه نوآوری در علوم و فناوری غذایی*. ١٤٠٠؛ ١٣(٤):. ٥٠-٣١

٩. علیزاده بهبهانی ب، شهیدی ف، طباطبایی‌یزدی ف، مرتضوی س. ع، محبی م. اثر ضد میکروبی و برهمکنش عصاره های (*Plantago* آبی و اتانولی بارهنگ کبیر بر *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا major*) اینوکوا، اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزادرشرایط برون‌تنی، *فصلنامه بیماری‌های عفونی و گرمسیری وابسته به انجمن متخصصین بیماری‌های عفونی وگرمسیری*. ١٣٩٥؛ ٢١(٧٥): ٨-١.

١٠. نصیرپور م، یاورمنش م، محمدی ثانی ع، محمدزاده مقدم م. بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره درمنه کوهی(*Artemisia aucheri*)،درمنه‌دشتی (*Artemisia sieberi*) و زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) بر برخی از باکتری‌های بیماری‌زا با منشاء غذایی. *فصلنامه علوم و صنایع غذایی*. ١٣٩٤؛ ١٢(٤٦): ٨٤-٧٣.

11. Abdul Qadir M, Shahzadi S. K, Bashir A, Munir A, Shahzad, S. H. Evaluation of phenolic compounds and antioxidant and antimicrobial activities of some common herbs. *International Journal of Analytical Chemistry* . 2017; 1-6.

12. Adebayo S. A, Ondua M, Shai L. J, Lebelo S. L. Inhibition of nitric oxide production and free radical scavenging activities of four South African medicinal plants. *Journal of Inflammation Research*. 2019; 12: 195–203.

13. Alothman M, Bhat R, Karim A. A. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry*. 2009; 115: 785-788.

14. Anzabi Y, Khaki A1. Antibacterial activity of Ziziphora tenuior Lam. extract and essential oil against bacteria isolated from urogenital tract infections. *Medical Laboratory Journal*. 2016; 10(6): 54-59.

15. Boora F, Chirisa E. Mukanganyama S. Evaluation of nitrite radical scavenging properties of selected Zimbabwean plant extracts and their phytoconstituents. *Journal of Food Process Engineering*. 2014; 1-7.

16. Chang C, Yang M, Wen H, Chern J. Estimation of total flavonoid contenting propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2002; 10(3): 178-182.

17. Cheng AT, Chen X, Jin Q, Wang W, Shi J, Liu, Y. Comparison of phenolic content and antioxidant capacity of red and yellow onions. *Czech Journal of Food Science*. 2013;31(5): 501–508.

18. Do Q. D, Angkawijaya A. E, Tran-Nguyen P. L, Huynh L. H, Soetaredjo F. E, Ismadji S, Ju Y. H. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of Limnophila aromatic. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2014; 22(3): 296-302.

19. Ebrahimzadeh M. A, Askari M, Forouzani M. Evaluation of three methods for the extraction of antioxidants from Cucumis melo L. fruit and leaves. Int. *International Journal of Forest, Soil and Erosion. 2013;* 3(3): 95-99.

20. Ghasemzadeh A, Jaafar H. Z. E, Rahmat A. Effects of solvent type on phenolics and flavonoids content and antioxidant activities in two varieties of young ginger (Zingiber officinale Roscoe) extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011; 5(7):1147-1154.

21. Hindler J. F, Jorgensen J. H. Antimicrobial susceptibility testing: Procedures in antimicrobial susceptibility testing. *In:* Mahon, C. R., Lehman, D. C. & Manuselis, G. (eds.) *Textbook of Diagnostic Microbiology*. 3rd ed. China: Saunders Elsevier. 2007.

22. Kabrah A. M, Faidah H. S, Ashshi A. M, Turkistani S. A. Antibacterial effect of onion. *Scholars Journal of Applied Medical Sciences*. 2016; 4(11): 4128-4133.
23. Mahdian Kouchaksarayi S, Vahdat S.M, Hejazi M, Khavarpour M, Salimi Z. Sequential Solvent Extraction of Red-Onion (Allium cepa L) Skin: Influence of Solvent Polarity on Antioxidant and Radical Scavenging Activity. *Journal of Food Biosciences and Technology, Islamic Azad University, Science and Research Branch*. 2021; 11(1): 81-92.
24. Manohar C. M. 2017. Antioxidant and antiproliferative activity of flavonoids from Ontario grown onions by pressurized low polarity water technology. M. Sc. Thesis, *The University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada*, 95.
25. Motallebi Riekandeh S, Mazandarani M, Ebrahimzadeh M. A, Zargari M. Antioxidant activities of Eryngium caucasicum Inflorescence. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2016; 20(5): 946-949.
26. Ordonez A. A. L, Gomez J. D, Vattuone M. A, Isla M. I. Antioxidant activities of Sechium edule (Jacq.) Swart extracts, *Food Chemistry*. 2008; 97: 452-458.
27. Panahi J, Havasiyan M. R, Gheitasi S, Pakzad I, Jaliliyan A, Hoshmandfar R, Havasiyan M. The in vitro inhibitory effectsof the aqueous extracts of summer onionon Candida albicans. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 2013; 21(1): 54-59.
28. Pérez-Gregorio M. R, Gonzalez-Barreiro C, Rial-Otero R. Simal-Gandara logies on the quality appearance and antioxidant levels in onion slices. *Food Control*. 2011; 22(12): 2052-2058.
29. Rao U. S. M, Ahmad B. A, Mohd K. S. In vitro nitric oxide scavenging and anti-inflammatory activities of different solvent extracts of various parts of Musa paradisiaca. *Malaysian Journal of Analytical Science*. 2016; 20(5): 1191–1202.
30. Saptarini N. M, Wardati Y. Effect of Extraction Methods on Antioxidant Activity of Papery Skin Extracts and Fractions of Maja Cipanas Onion (Allium cepa L. var. ascalonicum). *Scientific World Journal*. 2020; 1-6.
31. Sharma K, Mahato N, Lee Y. R. Systematic study on active compounds as antibacterial and antibiofilm agent in aging onions. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2018; 26: 518-528.
32. Singh V, Krishan P, Shri, R. Extraction of antioxidant phytoconstituents from onion waste. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2017; 6(1): 502-505.
33. Sun T, Tang J, Powers J.R. Effect of pectolytic enzyme preparations on the phenolic composition and antioxidant activity of asparagus juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005; 53: 4–48.
34. Yen G. C, Duh P. D. Antioxidant properties of methanolic extracts from peanut hulls. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 1993; 70: 383–386.
35. Yen G.C, Duh P. D. Antioxidant activity of methanolic extracts of Peanut huls from various cultivars. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 1995; 72:1065-1067.
36. Zhu K. X, Guo X. N, Lian, C. X, Peng W. Antioxidant activities and total phenolic content of various extracts from defatted wheat germ. *Food Chemistry*. 2011; 126(3): 1122-1126.

(Original Research Paper)

Antioxidant and Antimicrobial Properties of Ethyl Acetate and n-butanol Extracts of Red-Onion (Allium Cepa) Skin Using Maceration and Ultrasonic Mmethods

Samaneh Khalili[1], Mohammad Reza Saeidi Asl[1], Maryam Khavarpour[2*] , Seyyed Mohammad Vahdat[3], Maedeh Mohammadi[4]

1-Department of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.
2-Department of Chemical Engineering, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.
3-Department of Chemical Engineering, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

Received:28/03/2022 Accepted:13/06/2022

Abstract

Red onion extract is rich of phenol and flavonoid component which has many application in food, cosmetic and pharmaceutical industries. This study aims to investigate the effect of maceration and ultrasonic methods on antimicrobial activity and antioxidant properties of ethyl acetate and n-butanol extract of red onion skin. The results showed that the ethyl acetate extract obtained by ultrasonic method had the highest content of total phenols and flavonoids with averages of 439.45 mg equivalent of gallic acid per gram of extract and 33.44 mg equivalent of quercetin per gram of extract, respectively. The highest DPPH scavenging activity, reducing power and nitric oxide scavenging activity was obtained in ethyl acetate extract extracted by sonication. Comparison of the results of the effect of extraction method on the antimicrobial properties of n-butanol extract showed that the extract obtained by maceration method at low concentrations had more antibacterial properties than the extract obtained by ultrasounic method against all microorganisms except *Aspergillus niger* ($p < 0.05$). Ethyl acetate extract obtained by ultrasounic at all concentrations except 6.25 µg/ml had a significantly greater effect on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* and *Candida albicans* ($p < 0.05$). Based on the results obtained in the present study, extraction with ethyl acetate by ultrasonic method had the best results in terms of antimicrobial and antioxidant activity.

Keywords: Onion (*Allium cepa L.*), Maceration, Ultrasounic, Phenol,Antioxidant, Antimicrobial.

* Corresponding Author: mkhavarpoor@yahoo.com