



ارزیابی فنول و فلاونوئید کل، توانایی رادیکال گیرندگی و اثر ضدقارچی عصاره اتانولی انجیر بنگالی

بر کپک‌های عامل فساد میوه پرتقال طی انبارمانی

مصطفی رحمتی جنیدآباد^{۱*}، بهروز علیزاده بهبهانی^۲، محمد نوشاد^۳

۱-استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران.

۲-استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران.

۳-دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

هدف از این مطالعه بررسی آنالیز فیتوشیمیایی و فعالیت‌های ضدقارچی عصاره اتانولی انجیر بنگالی (*Ficus benghalensis*) بر رشد سویه‌های قارچی بیماری‌زا عامل فساد میوه پرتقال طی انبارمانی (پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم و پنی‌سیلیوم ایتالیکوم) بود. میزان فنول کل مطابق روش فولین-سیوکالو، میزان فلاونوئید کل بر اساس روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس روش‌های مهار رادیکال آزاد DPPH و ABTS مورد ارزیابی قرار گرفت. روش‌های مختلفی (دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی رشد و حداقل غلظت قارچ‌کشی) برای ارزیابی فعالیت ضد قارچی عصاره اتانولی انجیر بنگالی مورد استفاده قرار گرفت. میزان فنول و فلاونوئید کل عصاره به ترتیب $110/49 \pm 1/62$ و $62/60 \pm 1/57$ mg QE/g بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی انجیر بنگالی بر پایه روش‌های مهار رادیکال DPPH و ABTS به ترتیب معادل $0/46 \pm 48/56$ و $0/38 \pm 57/20$ میکروگرم در میلی‌لیتر مشاهده گردید. مطابق نتایج آزمون‌های دیسک دیفیوژن آگار و چاهک آگار، فعالیت ضد قارچی عصاره وابسته به غلظت بود و سویه‌های قارچی پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم و پنی‌سیلیوم ایتالیکوم به ترتیب با کمترین و بیشترین قطر هاله عدم رشد، مقاوم‌ترین و حساس‌ترین‌گونه‌ها در برابر عصاره بودند. حداقل غلظت مهارکنندگی برای سویه‌های فوق به ترتیب ۱۶ و ۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی ۵۱۲ و ۱۲۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بدست آمد. مطابق نتایج، عصاره اتانولی انجیر بنگالی منبع مهمی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضد قارچی است و می‌تواند برای افزایش عمر ماندگاری محصولات باغبانی استفاده شود.

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۲۱

کلمات کلیدی:

پرتقال،
انجیر بنگالی،
عصاره زیست فعال،
پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم،
پنی‌سیلیوم ایتالیکوم.

DOI: 10.22034/FSCT.19.132.173

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.132.13.6

* مسئول مکاتبات:

Rahmati@asnrukh.ac.ir

۱- مقدمه

مركبات يكي از محصولات ميوه در جهان است كه از اهميت اقتصادي بالايي برخوردار است و توليد سالانه آن در سراسر جهان در سال ۲۰۱۰ بيش از ۱۲۳ ميليون تن برآورد شده است. آن‌ها بالاترين ارزش محصول ميوه را در تجارت بين‌المللي دارند. از ميان گونه‌هاي رايج كشت شده، پرتقال (*Citrus sinensis*) بخش عمده‌اي از توليد مركبات را تشكيل مي‌دهد و تقريباً ۵۵ درصد از توليد مركبات جهاني را بخود اختصاص مي‌دهد [۱].

پذيرش پرتقال در تجارت بين‌الملل عليرغم فسادپذيري بالا، ممكن است به دليل ارزش غذايي و درماني بالاي آن باشد. پرتقال حاويميژان بالاي ويتامين C، مقدار قابل‌توجهي ويتامين A، فولات و فيبراست كه در تحريك عملكرد گلبول‌هاي سفيد خون در سيستم ايمني، تشكيل استخوان، سلامت چشم، توليد DNA، کاهش خطر بيماري‌هاي قلبي-عروقي و غيره نقش دارند [۲، ۳].

در طول نگهداري، كيفيت ميوه‌ها کاهش مي‌يابد و در نتيجه طعم‌هاي غيرمنتظره، نرم شدن سطح بيروني، قهوه‌اي شدن، از دست دادن آب و تجزيه بافت‌هاي سطحي ايجاد مي‌شود. علاوه بر اين، شرايط نگهداري نيز هجوم فلور قارچي و توليد مايكوتوكسين را تسهيل مي‌كند، كه يك مشكل عمده به‌ويژه بر خواص تغذيه‌اي ميوه‌ها است. در نتيجه، توليد مايكوتوكسين توليد گونه‌هاي اكسيژن فعال را تقويت مي‌كند كه مي‌تواند منجر به پراكسيدايون ليپيدو کوتاه‌تر شدن زمان ماندگاري ميوه‌ها به همراه کاهش متعاقب پذيرش محصول توسط مصرف‌كننده گردد. علاوه بر ضرر تغذيه‌اي، آلودگي قارچي پس از برداشت ممكن است با افزايش هزينه‌هاي حمل‌ونقل و ذخيره‌سازي، ارزش بازاری میوه‌ها را از کاهش دهد [۴].

نگهدارنده‌هاي مصنوعي يا ضدعفوني كننده‌هاي شيميايي معمولاً براي مبارزه با فساد قارچي و آلودگي مايكوتوكسين ميوه‌ها استفاده مي‌شوند. ضدعفوني كننده‌هاي حاوي كلر و هيپوكلريت در کاهش تكثير قارچ چندان مؤثر نيستند. با اين حال، استفاده بيش از حد آن‌ها ممكن است باعث تحريك پوست، مشكلات تنفسي و گوارشي شود. علاوه بر اين، ازن، پراكسي استيك اسيد، اسيدهاي آلي و سولفيد هيدروژن قادر به دستيابي به حداكثر مهار نيستند و همچنين داراي عوارض جانبي و سميت بالقوه هستند [۵]. بنا بر اين نياز به يافتن تركيبات

طبيعي كه مي‌توانند جايگزين تركيبات مصنوعي شوند، پديد آمده است و محققان روي يافتن منابع تركيباتي با فعاليت‌هاي بيولوژيكي كه ايمن‌تر و دوستدار محيط زيست هستند متمرکز شده‌اند.

در همين راستا، اسانس‌ها و عصاره‌ها جايگزين خوبي هستند زيرا داراي خواص آنتي‌اكسيداني و همچنين فعاليت ضد قارچي و ضد باكتريايي هستند، علاوه بر اين، طبيعي بوده و توسط سازمان غذا و داروي ايالات متحده بعنوان تركيبات ايمن شناخته شده‌اند. اين تركيباتي مي‌توانند براي توسعه غذاهاي عملكردی جدید مورد استفاده قرار گیرند و استفاده از آن‌ها مي‌تواند عمر نگهداري محصولات غذايي را بهبود ببخشد [۶-۸].

انجير بنگالي (*Ficus benghalensis*)، از خانواده *Moraceae*، يك درخت مهم دارويي و پراكنده است كه در مناطق مختلف هند يافت مي‌شود. گونه‌هاي اين خانواده داراي فعاليت ضدديابتي، ضدالتهابي، ضدتوموري، ضدسرطاني، محافظ سلولي و ضدزخم، ضد درد، آنتي‌اكسيدان، کاهش چربي خون، ضد هپرگليسمي و تب بر هستند. تركيبات فيتوشيميايي انجير بنگالي عبارت‌اند از روتين^۱، فريدلين^۲، تاراكسوسترول^۳، لوپنول^۴، بتا آميرين^۵ همراه با پسورالن^۶، برگاپتن^۷ و بتا سيستروئول^۸، كوئرستين-۳-گالاکتوزيد^۹ [۹]. مطالعه‌هاي مختلف نشان مي‌دهد كه عصاره و اسانس انجير بنگالي داراي فعاليت آنتي‌اكسيداني و ضد ميكروبي در برابر ميكروارگانيسم‌هاي بيماري‌زا مي‌باشد [۹].

با اين حال، با بررسي منابع علمي، مطالعات بسيار كمی در مورد فعاليت ضدقارچي عصاره اتانولي انجير بنگالي در برابر رشد قارچ‌هاي پاتوژن عامل فساد ميوه پرتقال طی انبارماني صورت گرفته است. بنا بر اين، اين مطالعه با هدف تعيين اثر ضدقارچي عصاره اتانولي انجير بنگالي در برابر پني‌سيليوم ديچيتاتوم و پني‌سيليوم ايتاليكوم انجام شد. علاوه بر اين، ميزان فنول كل، فلاونوئيد كل و فعاليت آنتي‌اكسيداني عصاره نيز بررسي گرديد.

1. Rutin
2. Friedelin
3. Taraxosterol
4. Lupeol
5. β -amyrin
6. Psoralen
7. Bergapten
8. β -sisterol
9. quercetin-3-galactoside

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

کوئرستین، اسید گالیک، $DPPH^{10}$ و $ABTS^{11}$ از شرکت سیگما آلدريج (آمریکا) و محیط‌های کشت سابورود دکستروز آگار و براث از شرکت مرک (آلمان) تهیه شدند.

۲-۲- استخراج عصاره

با افزودن ۵۰ گرم پودر انجیر بنگالی به ۲۵۰ میلی‌لیتر حلال، عصاره اتانولی تهیه شد. استخراج به مدت ۴۸ ساعت در دمای محیط انجام و سپس مخلوط عصاره و پودر برگ توسط کاغذ صافی واتمن فیلتر گردید. محلول حاصل سپس در ۳۰۰۰ برابر شتاب گرانشی به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. در نهایت به منظور تولید عصاره بدون حلال و غلیظ، محلول با استفاده از اوپراتور چرخشی تحت خلأ تغلیظ گردید. عصاره تغلیظ شده سپس در ظروف شیشه‌ای تیره در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید [۱۰].

۲-۳- اندازه‌گیری فنول کل

محتوای فنول کل عصاره اتانولی انجیر بنگالی با روش فولین-سیوکالتو اندازه‌گیری شد. به‌طور خلاصه، ۰/۸ میلی‌لیتر از عصاره با غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در آب مقطر با ۰/۱ میلی‌لیتر معرف فولین-سیوکالتو رقیق شده کاملاً مخلوط شد و به مدت ۳ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. پس از آن، ۰/۱ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۱۰ درصد به هر مخلوط نمونه اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه دیگر در تاریکی در دمای اتاق نگهداری گردید. سپس جذب نمونه در ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. گالیک اسید به عنوان استاندارد استفاده شد و نتایج بصورت میلی‌گرم معادل اسید گالیک (GAE) در گرم عصاره (mg GAE/g) بیان شد [۱۱].

۲-۴- اندازه‌گیری فلاونوئید کل

برای تعیین میزان فلاونوئید کل، ۱ میلی‌لیتر عصاره گیاهی با ۱ میلی‌لیتر محلول متانولی $AlCl_3$ ۲ درصد مخلوط شد. پس از گرمخانه گذاری در دمای اتاق به مدت ۱۵ دقیقه، جذب مخلوط واکنش در طول موج ۴۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. کوئرستین جهت رسم منحنی استاندارد (۰-۵۰ میلی‌گرم در

لیتر) استفاده گردید. محتوای فلاونوئید کل عصاره به صورت میلی‌گرم معادل کوئرستین در وزن خشک عصاره (mg QE/g) گزارش شد [۱۲].

۲-۵- فعالیت آنتی‌اکسیدانی

در این مطالعه، فعالیت مهار رادیکال‌های $DPPH$ و $ABTS$ برای تعیین اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی انجیر بنگالی بررسی گردید [۱۳، ۱۴].

برای تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی برحسب $DPPH$ ، ۵۰ میکرولیتر عصاره‌ها کنترل با محلول ۰/۱۲ میلی‌مولار اتانولی $DPPH$ (۵ میلی‌لیتر) مخلوط شد. محلول بدست آمده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شد و جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید.

جهت تعیین فعالیت مهار $ABTS$ ، محلول $ABTS$ و $K_2S_2O_8$ در ابتدا برای تولید محلول کاتیونی رادیکال $ABTS$ با هم مخلوط شدند. پس از آن، ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره یا کنترل با ۳/۹ میلی‌لیتر محلول رادیکال $ABTS$ مخلوط شد و جذب آن در ۷۳۴ نانومتر ثبت گردید.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره مطابق فرمول زیر محاسبه و سپس بر حسب IC_{50} (میکروگرم در میلی‌لیتر) گزارش گردید.

$$Inhibition (\%) = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100$$

۲-۶- فعالیت ضد قارچی

اثر ضد قارچی عصاره اتانولی انجیر بنگالی بر اساس روش‌های دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی بررسی گردید.

۲-۶-۱- دیسک دیفیوژن آگار

در این آزمون، دیسک‌های بلانک به مدت ۱۵ دقیقه در عصاره استریل (۲۰ میکرولیتر) غوطه‌ور شدند. سپس دیسک‌های بلانک روی محیط کشت سابورود دکستروز آگار حاوی سویه‌های قارچی قرار داده شدند. پس از گرمخانه گذاری پتری‌دیش در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت، ناحیه بازداری (میلی‌متر) اطراف دیسک‌ها اندازه‌گیری و به عنوان پتانسیل ضد قارچی عصاره گزارش شد [۶، ۱۰، ۸].

۲-۶-۲- چاهک آگار

برای این منظور، عصاره انجیر بنگالی (۲۰ میکرولیتر) به چاهک‌هایی (قطر ۶ میلی‌متر) که قبلاً روی سطح سابورود

10. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

11. 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt

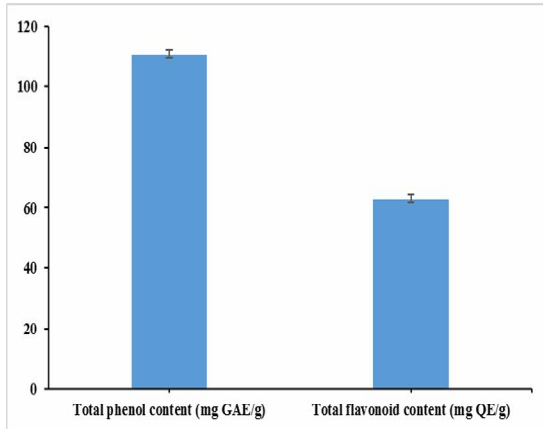


Fig 1 Total phenol and flavonoid contents of *Ficus benghalensis* ethanolic extract.

شکل ۲، نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی انجیر بنگالی را نشان می‌دهد. عصاره قادر به مهار رادیکال‌های آزاد بود و قابلیت آن در مهار رادیکال‌های DPPH و ABTS به ترتیب 0.46 ± 0.08 و 0.38 ± 0.03 میکروگرم در میلی‌لیتر بود.

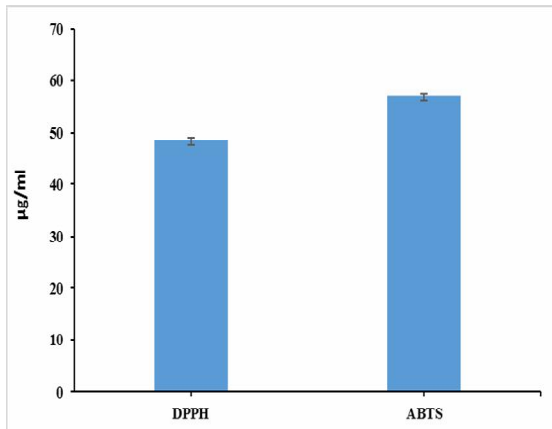


Fig 2 Antioxidant activity of *Ficus benghalensis* ethanolic extract, based on DPPH and ABTS free radical scavenging methods.

نتایج اثر ضد قارچی عصاره اتانولی انجیر بنگالی بر اساس روش دیسک دیفیوژن آگار در شکل ۳ گزارش شده است. فعالیت ضد قارچی عصاره وابسته به غلظت و نوع سویه قارچی بود. افزایش غلظت عصاره از ۱۵ به ۶۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر سبب افزایش معنی‌دار قطر هاله عدم رشد از ۸ به ۱۷/۱۰ میلی‌متر در پنی‌سیلیوم *دیفیتاتوم* و ۹/۹۰ به ۱۹/۸۰ میلی‌متر در پنی‌سیلیوم *ایتالیکوم* گردید. همانطور که مشاهده می‌شود، پنی‌سیلیوم *دیفیتاتوم* با کمترین و پنی‌سیلیوم *ایتالیکوم*

دکستروز آگار در پتری‌دیش ایجاد شده بود و آلوده به سویه‌های قارچی بود، اضافه شد. پتری‌دیش به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و سپس مناطق بازداری به عنوان اثر ضد قارچی عصاره ثبت گردید [۶، ۱۰۸].

۲-۶-۳- حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی

حداقل غلظت مهارکنندگی با روش ماکرودایلوژن براث بررسی گردید. غلظت‌های متوالی (۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶، ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) عصاره در محیط ساپورود دکستروز براث از طریق فیلترهای سرنگی ۰/۴۵ میکرومتری استریل شده و در لوله‌های آزمایشگاهی ریخته شد. سپس سوسپانسیون‌های میکروبی استاندارد درون هر لوله اضافه گردید. سپس لوله‌های حاوی کشت شده در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شدند. پس از آن لوله‌ها از نظر کدورت به صورت چشمی بررسی شد. اولین لوله‌ای که در آن کدورت مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره در نظر گرفته شد.

بر اساس نتایج آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی رشد، ۱۰۰ میکرولیتر از لوله‌های بدون رشد میکروبی روی محیط کشت ساپورود دکستروز آگار کشت داده شد. در مرحله بعد، محیط کشت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت نگهداری گردید و کمترین غلظت عصاره که منجر به مرگ قارچ شد به عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته شد [۶، ۱۰۸].

۲-۷- آنالیز آماری

نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۸) و با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و اختلاف میانگین داده‌ها با آزمون دانکن در $p < 0.05$ تعیین شد. تمام آزمون‌ها در سه مرتبه تکرار شدند.

۳- نتایج و بحث

نتایج میزان فنول و فلاونوئید کل عصاره اتانولی انجیر بنگالی در شکل ۱ ارائه شده است. مطابق نتایج، عصاره دارای 110.49 ± 1.62 mg GAE/g فنول کل و 62.60 ± 1.57 mg QE/g فلاونوئید کل بود.

پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم و پنی‌سیلیوم ایتالیکوم به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین سویه‌های قارچی در برابر عصاره بودند. حداقل غلظت مهارکنندگی برای این سویه‌ها به ترتیب ۱۶ و ۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی برای این سویه‌ها به ترتیب برابر با ۵۱۲ و ۱۲۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر مشاهده گردید.

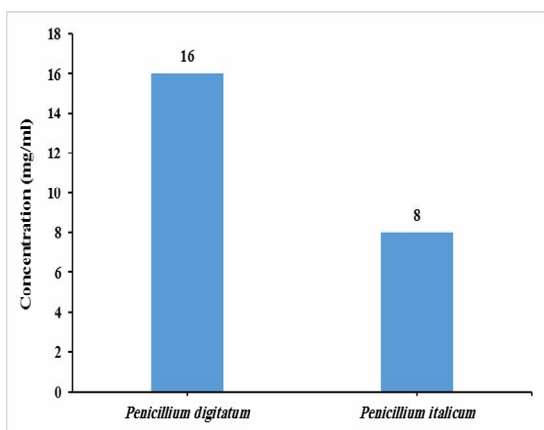


Fig 5 Antifungal effect of *Ficus benghalensis* ethanolic extract, according to the minimum inhibitory concentration test.

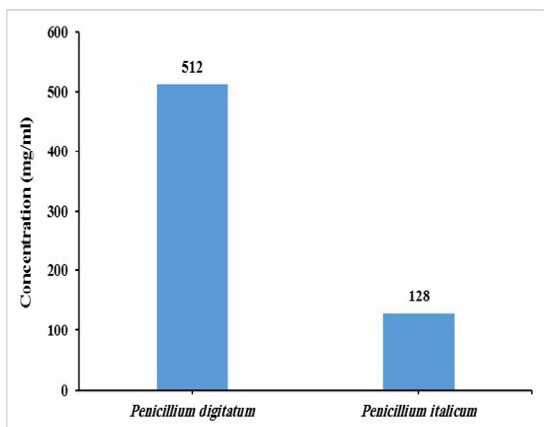


Fig 6 Antifungal effect of *Ficus benghalensis* ethanolic extract, according to the minimum fungicidal concentration test.

گزارش شده است که ترکیبات فنولی توانایی حذف رادیکال‌های آزاد را دارند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی عمدتاً به دلیل خواص ردوکس آنها است که به آنها اجازه می‌دهد به عنوان عوامل احیا کننده، اهدا کننده هیدروژن و خاموش کننده‌های اکسیژن یگانه عمل کنند [۱۵-۱۷]. در این راستا، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد جهش‌زایی عصاره آبی

با بیشترین قطر هاله عدم رشد، به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین سویه‌های قارچی در برابر عصاره اتانولی انجیر بنگالی بودند.

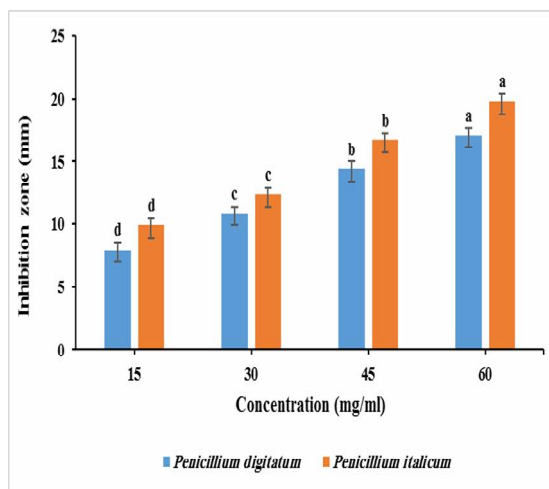


Fig 3 Antifungal effect of *Ficus benghalensis* ethanolic extract, according to the disk diffusion agar test.

یافته‌های آزمون چاهک آگار مطابق نتایج آزمون دیسک دیفیوژن آگار بود (شکل ۴) و مقاوم‌ترین و حساس‌ترین سویه‌های قارچی در برابر عصاره اتانولی انجیر بنگالی به ترتیب پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم و پنی‌سیلیوم ایتالیکوم بودند و اثر ضد میکروبی عصاره با افزایش غلظت بطور معنی‌داری افزایش نشان داد. با اینحال لازم به ذکر است که قطر هاله عدم رشد در آزمون چاهک آگار بزرگ‌تر از دیسک دیفیوژن آگار بود.

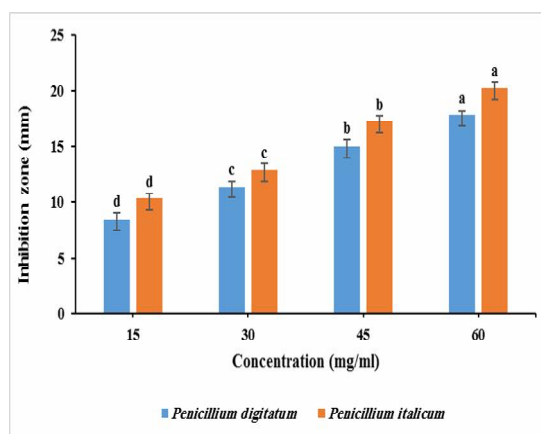


Fig 4 Antifungal effect of *Ficus benghalensis* ethanolic extract, according to the well diffusion agar test.

علاوه بر این، نتایج آزمون‌های حداقل غلظت مهارکنندگی (شکل ۵) و حداقل غلظت کشندگی (شکل ۶) نشان داد که

انجیر بنگالی در مطالعه ساتیش و همکاران (۲۰۱۳) گزارش شده است [۹]. باسکارا راتو و همکاران (۲۰۱۴) نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی انجیر بنگالی در مهار رادیکال DPPH وابسته به غلظت بود و محتوای فنول و فلاونوئید کل عصاره را به ترتیب $53/004 \text{ mg GAE/g}$ و $142/99 \text{ mg QE/g}$ گزارش نمودند [۱۸]. این محققین، همچنین نشان دادند که عصاره حاوی ترکیبات پلی‌فنولی گالیک اسید، تئوفلاوین، کاتچین و فلاون می‌باشد. در مطالعه‌های دیگر، محتوای فنول و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی انجیر بنگالی و فراکسیون‌های آبی، اتیل استات، دی کلرومتان، هگزان و بوتانول آن توسط راحل و همکاران (۲۰۱۷) مورد بررسی قرار گرفت. محتوای فنول در بخش اتیل استات بیشترین میزان (mg GAE/g) در حالی که کمترین آن در عصاره متانولی خام (mg GAE/g) بود. محتوای فنولی در عصاره‌های مختلف به ترتیب اتیل استات < آبی < دی کلرومتان < هگزان < n- بوتانول < متانول کاهش یافت. محتوای فلاونوئید کل در فراکسیون آبی ($0/51 \text{ mg GAE/g}$) بالاترین و در فراکسیون‌های n-هگزان و دی کلرومتان (mg GAE/g) کمترین بود. میزان فلاونوئیدهای کل در عصاره‌های مختلف به ترتیب آبی < اتیل استات < n-بوتانول < خام < دی کلرومتان < هگزان کاهش یافت. بالاترین فعالیت مهار رادیکال در بین تمام عصاره‌ها مربوط به عصاره متانولی خام بین $71/77$ تا $82/6$ درصد بود [۱۹]. ترکیبات پلی‌فنولی مانند فلاونوئیدها، اسیدهای فنولیک و تانن‌ها به عنوان عوامل اصلی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی، میوه‌ها و سبزی‌ها در نظر گرفته می‌شوند [۲۰]. با اینحال، تفاوت بین نتایج در این مطالعه با مطالعات قبلی عمدتاً ناشی از این حقیقت است که رشد گیاه و ترکیب/فعالیت بیولوژیکی عصاره آن به شدت تحت تأثیر عوامل مختلفی از قبیل ژنتیک، مرحله رشد، دما، رطوبت و شرایط استخراج عصاره قرار دارد [۲۱، ۲۲].

مطالعه‌ی سرواستاوا و همکاران (۲۰۲۲) نشان داد که عصاره آبی انجیر بنگالی قادر به مهار رشد *کاندیدا/آلبیکنس* در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد [۲۳]. تاچنکو و همکاران (۲۰۱۷)، فعالیت ضد میکروبی عصاره اتانولی تهیه شده از برگ انجیر بنگالی در برابر باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس* و *استرپتوکوکوس پنومونیه*)، باکتری‌های گرم منفی (*سودوموناس*

اثرورثینوزا، *کلبسیلا پنومونیه* و *اشرشیاکلی*) و قارچ *کاندیدا/آلبیکنس* را ارزیابی نمودند. عصاره اتانولی فعالیت ضد باکتریایی متوسطی را در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیا کلی* و *سودوموناس اثرورثینوزا* نشان داد، در حالی که فعالیت ضد باکتریایی معنی‌داری در برابر *کلبسیلا پنومونیه* و *استرپتوکوکوس پنومونیه* و *کاندیدا/آلبیکنس* نشان نداد. در میان سویه‌های میکروبی آزمایش‌شده، باکتری‌ها نسبت به قارچ‌ها حساس‌تر بودند و فعالیت ضد باکتریایی روی باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی بارزتر بود. فعالیت‌های ضد باکتریایی گسترده این عصاره به متابولیت‌های ثانویه گیاهمانند کربوهیدرات‌ها، قندهای احیاکننده، استرول‌ها، گلیکوزیدها، ترکیبات فنولی، تانن‌ها، ساپونین‌ها و فلاونوئیدها نسبت داده شد [۲۴]. فعالیت ضد قارچی عصاره اتانولی برگ انجیر بنگالی و فراکسیون‌های آن در برابر قارچ *کاندیدا/آلبیکنس* در مطالعه بانواز و آلاگادای (۲۰۱۶) گزارش شده است [۲۵]. فعالیت ضد قارچی بالاتر عصاره اتانولی انجیر بنگالی در روش چاهک آگار در مقایسه با روش دیسک دیفیوژن آگار ممکن است ناشی از تماس مستقیم عصاره با میکروارگانیسم‌ها در این روش باشد. در حالی که در آزمون ضد میکروبی دیسک دیفیوژن آگار، عصاره بایستی از سطوح دیسک به داخل محیط انتشار یابد تا اثر بازدارندگی خود را نشان دهد [۱۳، ۱۴، ۲۱]. رحمتی جنیدآباد و عزیزاده بهیانی (۲۰۲۱) نشان دادند که فعالیت بیولوژیکی عصاره و اسانس‌های گیاهی ناشی از حضور ترکیبات فنولی در آنها است که فعالیت ضد میکروبی خود را به دلیل وجود هسته آروماتیک و گروه OH فنولیک‌روز داده و قادر به تشکیل پیوندهای هیدروژنی با گروه‌های SH- در مکان‌های فعال آنزیم‌های هدف و در نتیجه غیرفعال سازی آنزیم‌های قارچی می‌باشند. علاوه بر این، ماهیت آگریز ترکیبات عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی سبب جذب شدن آنها به میسلیم قارچی و جلوگیری از رشد آن می‌گردد [۲۶، ۲۷]. مطابق نتایج این مطالعه، عصاره اتانولی انجیر بنگالی قادر به جلوگیری از رشد پاتوژن‌های قارچی میوه‌ها و سبزی‌های میوه‌هاست و می‌تواند بعنوان ترکیبی طبیعی جهت افزایش عمر نگهداری محصولات غذایی استفاده گردد.

۴- نتیجه‌گیری

به دلیل محتوای فنولی و فلاونوئیدی بالا، عصاره اتانولی انجیر

Essential Oils as a Novel Green Strategy Against Fungal Spoilage, Mycotoxin Contamination, and Quality Deterioration of Stored Fruits: An Overview," *Frontiers in microbiology*, vol. 12, p. 768414, 2021.

- [5] B. Ramos, F. Miller, T. Brandão, P. Teixeira, and C. Silva, "Fresh fruits and vegetables—an overview on applied methodologies to improve its quality and safety," *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, vol. 20, pp. 1-15, 2013.
- [6] B. Alizadeh Behbahani, F. Shahidi, F. T. Yazdi, and M. Mohebbi, "Antifungal effect of aqueous and ethanolic mangrove plant extract on pathogenic fungus" in vitro", *International Journal of Agronomy and Plant Production*, vol. 4, no. 7, pp. 1652-1658, 2013.
- [7] B. Alizadeh Behbahani, F. T. Yazdi, A. Mortazavi, F. Zendeboodi, and M. M. Gholian, "Effect of aqueous and ethanolic extract of Eucalyptus camaldulensis L on food infection and intoxication microorganisms "in vitro", *Archives of Advances in Biosciences*, vol. 4, no. 3, 2013.
- [8] M. Yeganegi, F. T. Yazdi, S. A. Mortazavi, J. Asili, B. A. Behbahani, and A. Beigbabaie, "Equisetum telmateia extracts: Chemical compositions, antioxidant activity and antimicrobial effect on the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection," *Microbial pathogenesis*, vol. 116, pp. 62-67, 2018.
- [9] A. Satish, R. P. Kumar, D. Rakshith, S. Satish, and F. Ahmed, "Antimutagenic and antioxidant activity of Ficus benghalensis stem bark and Moringa oleifera root extract," *International Journal of Chemical and Analytical Science*, vol. 4, no. 2, pp. 45-48, 2013.
- [10] B. A. Behbahani, F. T. Yazdi, F. Shahidi, H. Noorbakhsh, A. Vasiee, and A. Alghooneh, "Phytochemical analysis and antibacterial activities extracts of mangrove leaf against the growth of some pathogenic bacteria," *Microbial pathogenesis*, vol. 114, pp. 225-232, 2018.
- [11] T. Venkatesan, Y.-W. Choi, and Y.-K. Kim, "Impact of different extraction solvents on phenolic content and antioxidant potential of Pinus densiflora bark extract," *BioMed research international*, vol. 2019, p. 3520675 2019.
- [12] A. Gedikoğlu, M. Sökmen, and A. Çivit,

بنگالی فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجهی داشت. علاوه بر این، عصاره اتانولی انجیر بنگالی اثر ضد میکروبی قابل‌توجهی بر روی سوبه‌های قارچی پاتوژن عامل فساد میوه پرتقال طی انبارمانی (پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم و پنی‌سیلیوم ایتالیکوم) نشان داد. نتایج نشان می‌دهد که عصاره اتانولی انجیر بنگالی می‌تواند منبع مهمی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی باشد و ممکن است برای افزایش عمر ماندگاری بسیاری از محصولات غذایی و کشاورزی بکار رود. بطور ویژه، پیشنهاد می‌شود که اثر آنتی‌اکسیدانی و ضد قارچی عصاره اتانولی انجیر بنگالی روی میوه پرتقال و طی زمان/دماهای مختلف نگهداری بررسی گردد.

۵- تقدیر و تشکر

مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی با کد ۱۴۰۱/۲۸ می‌باشد، لذا نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

۶- منابع

- [1] S. B. Akinde, M. A. Adeniyi, A. A. Adebunmi, O. O. Oluwajide, and O. O. Ogunnaiké, "Comparative effectiveness of chemical biocides and Acalypha wilkesiana leaf extract against postharvest fungal detriogens of sweet orange (Citrus sinensis) fruits," *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, vol. 4, no. 2, pp. 143-152, 2017.
- [2] J. M. J. Favela-Hernández, O. González-Santiago, M. A. Ramírez-Cabrera, P. C. Esquivel-Ferriño, and M. D. R. Camacho-Corona, "Chemistry and pharmacology of Citrus sinensis," *Molecules*, vol. 21, no. 2, p. 247, 2016.
- [3] M. V. Sujitha and S. Kannan, "Green synthesis of gold nanoparticles using Citrus fruits (Citrus limon, Citrus reticulata and Citrus sinensis) aqueous extract and its characterization," *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 102, pp. 15-23, 2013.
- [4] S. Das, A. Ghosh, and A. Mukherjee, "Nanoencapsulation-Based Edible Coating of

- Action of Syzygium Aromaticum Essential Oil On Foodborne Pathogens," *Potravinarstvo*, vol. 13, no. 1, pp. 875-883, 2019.
- [21] B. Alizadeh Behbahani, M. Noshad, and F. Falah, "Cumin essential oil: Phytochemical analysis, antimicrobial activity and investigation of its mechanism of action through scanning electron microscopy," *Microbial pathogenesis*, vol. 136, p. 103716, 2019.
- [22] H. Tanavar, H. Barzegar, B. Alizadeh Behbahani, and M. A. Mehrnia, "Mentha pulegium essential oil: chemical composition, total phenolic and its cytotoxicity on cell line HT29," *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, vol. 16, no. 5, pp. 643-653, 2020.
- [23] K. Srivastava, J. M. Philip, H. M. Abraham, and C. Venkatakrishnan, "Antifungal activity of Ficus benghalensis and Vachellia nilotica against denture plaque Candida albicans-an invitro study," *Journal of Positive School Psychology*, vol. 6, no. 3, pp. 3966-3974-3966-3974, 2022.
- [24] H. Tkachenko, L. Buyun, Z. Osadowski, V. Honcharenko, and A. Prokopiv, "The antimicrobial efficacy of ethanolic extract obtained from Ficus benghalensis L.(Moraceae) leaves," *Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality*, no. 1, 2017.
- [25] A. S. Bhanwase and K. R. Alagawadi, "Antioxidant and Immunomodulatory activity of Hydroalcoholic extract and its fractions of leaves of Ficus benghalensis Linn," *Pharmacognosy Research*, vol. 8, no. 1, p. 50, 2016.
- [26] M. Rahmati-Joneidabad, B. Alizadeh Behbahani, and M. Noshad, "Antifungal effect of Satureja khuzestanica essential oil on Aspergillus niger, Botrytis cinerea, and Rhizopus stolonifer causing strawberry's rot and mold," *Food Science and Technology*, vol. 18, no. 115, pp. 171-180, 2021.
- [27] M. Rahmati-Joneidabad and B. Alizadeh Behbahani, "Identification of chemical compounds, antioxidant potential, and antifungal activity of Thymus daenensis essential oil against spoilage fungi causing apple rot," (in fa), *Iranian Food Science and Technology Research*, vol. 17, no. 5, pp. 691-700, 2021.
- "Evaluation of Thymus vulgaris and Thymbra spicata essential oils and plant extracts for chemical composition, antioxidant, and antimicrobial properties," *Food science & nutrition*, vol. 7, no. 5, pp. 1704-1714, 2019.
- [13] B. Alizadeh Behbahani, F. Falah, A. Vasiee, and F. Tabatabaee Yazdi, "Control of microbial growth and lipid oxidation in beef using a Lepidium perfoliatum seed mucilage edible coating incorporated with chicory essential oil," *Food Science & Nutrition*, vol. 9, no. 5, pp. 2458-2467, 2021.
- [14] Noshad, M., Rahmati-Joneidabad, M., & Badvi, Z. 2019. Effects of natural mucilage as an edible coating on quality improvement of freshly-cut apples. *Nutrition and Food Sciences Research*, vol. 6, no. 2, pp. 21-27, 2019.
- [15] B. Alizadeh Behbahani and A. A. I. Fooladi, "Evaluation of phytochemical analysis and antimicrobial activities Allium essential oil against the growth of some microbial pathogens," *Microbial pathogenesis*, vol. 114, pp. 299-303, 2018.
- [16] B. Alizadeh Behbahani and F. Shahidi, "Melissa officinalis essential oil: Chemical compositions, antioxidant potential, total phenolic content and antimicrobial activity," *Nutrition and Food Sciences Research*, vol. 6, no. 1, pp. 17-25, 2019.
- [17] F. Falah, K. Shirani, A. Vasiee, F. T. Yazdi, and B. A. Behbahani, "In vitro screening of phytochemicals, antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activity of Echinops setifer extract," *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, vol. 35, p. 102102, 2021.
- [18] K. Bhaskara Rao, V. Ojha, Preeti, G. Kumar, and L. Karthik, "Phytochemical composition and antioxidant activity of Ficus benghalensis (Moraceae) leaf extract," *Journal of Biologically Active Products from Nature*, vol. 4, no. 3, pp. 236-248, 2014.
- [19] R. Raheel, Z. Saddiqe, M. Iram, and S. Afzal, "In vitro antimutagenic, antiproliferative and antioxidant activity of stem bark extracts of Ficus benghalensis L.," *South African Journal of Botany*, vol. 111, pp. 248-257, 2017.
- [20] B. Alizadeh Behbahani, M. Noshad, and F. Falah, "Study of Chemical Structure, Antimicrobial, Cytotoxic And Mechanism of



Evaluation of total phenol and flavonoids, radical scavenging ability and antifungal effect of *Ficus benghalensis* ethanolic extract on fungi species causing rot in orange fruit during storage

Rahmati-Joneidabad, M. ^{1*}, Alizadeh Behbahani, A. ², Noshad, M. ³

1. Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the phytochemical analysis and antifungal activities of ethanolic extract of *Ficus benghalensis* on the growth of fungal strains causing rot in orange fruit during storage (*Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*). Total phenol content was evaluated according to Folin-Ciocalteu method, total flavonoid content was evaluated according to aluminum chloride colorimetric method, and antioxidant activity was evaluated based on DPPH and ABTS free radical scavenging methods. Various methods (disk diffusion agar, well diffusion agar, minimum inhibitory concentration, and minimum fungicidal concentration) were used to evaluate the antifungal activity of ethanolic extract of *F. benghalensis*. The amount of phenol and flavonoids in the whole extract was 110.49 mg GAE/g and 62.60 mg QE/g, respectively. Antioxidant activity of ethanolic extract of *F. benghalensis* based on DPPH and ABTS radical inhibition methods was 48.56 and 57.20 µg/ml, respectively. The results of disk diffusion agar and well diffusion agar tests showed that the antifungal activity of the extract was concentration dependent and the fungal strains of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* with the lowest and highest diameter of growth inhibition zone, were the most resistant and sensitive species to the extract, respectively. The minimum inhibitory concentrations for the above strains were 16 and 8 mg/ml, respectively, and the minimum fungicidal concentrations were 512 and 128 mg/ml, respectively. According to the results, ethanolic extract of *F. benghalensis* is an important source of antioxidant and antifungal compounds and can be used to increase the shelf life of horticultural products.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2022/ 11/ 08
Accepted 2022/ 12/ 12

Keywords:

Orange,
Ficus benghalensis,
Bioactive extract,
Penicillium digitatum,
Penicillium italicum.

DOI: 10.22034/FSCT.19.132.173
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.132.13.6

*Corresponding Author E-Mail:
Rahmati@asnruk.ac.ir