مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

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[1*]، بهروز علیزاده بهبهانی[2]، محمد نوشاد[3]

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

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

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

اطلاعات مقاله

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

چکیده

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-سیوکالتو، 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 mg GAE/g ۱/۶۲ ± ۱۱۰/۴۹ و mg QE/g ۱/۵۷ ± ۶۲/۶۰ بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی انجیر بنگالی بر پایه روش‌های مهار رادیکال DPPH و ABTS به ترتیب معادل ۰/۴۶ ± ۴۸/۵۶ و ۰/۳۸ ± ۵۷/۲۰ 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.

۱- مقدمه

مرکبات یکی از محصولات میوه در جهان است که از اهمیت اقتصادی بالایی برخوردار است و تولید سالانه آن در سراسر جهان در سال ۲۰۱۰ بیش از ۱۲۳ میلیون تن برآورد شده است. آن‌ها بالاترین ارزش محصول میوه را در تجارت بین‌المللی دارند. از میان گونه‌های رایج کشت شده، پرتقال (*Citrus sinensis*)بخش عمده‌ای از تولید مرکبات را تشکیلمی‌دهد و تقریباً ۵۵ درصد از تولید مرکبات جهانی را بخود اختصاص می‌دهد[۱].

پذیرش پرتقال در تجارت بین‌الملل علیرغم فسادپذیری بالا، ممکن است به دلیل ارزش غذایی و درمانی بالای آن باشد. پرتقال حاویمیزان بالای ویتامین C، مقدار قابل‌توجهی ویتامینA، فولات و فیبراست که در تحریک عملکرد گلبول‌های سفید خون در سیستم ایمنی، تشکیل استخوان، سلامت چشم، تولیدDNA، کاهش خطر بیماری‌های قلبی–عروقی و غیره نقش دارند[۲, ۳].

در طول نگهداری، کیفیت میوه‌ها کاهش می‌یابد و در نتیجه طعم‌های غیرمنتظره، نرم شدن سطح بیرونی، قهوه‌ای شدن، از دست دادن آب و تجزیه بافت های سطحی ایجادمی‌شود. علاوه بر این، شرایط نگهداری نیز هجوم فلور قارچی و تولید مایکوتوکسین را تسهیل می‌کند، که یک مشکل عمده به‌ویژه بر خواص تغذیه‌ای میوه‌ها است. در نتیجه،تولید مایکوتوکسین تولید گونه‌های اکسیژن فعال را تقویت می‌کندکه می‌تواند منجر به پراکسیداسیون لیپیدیو کوتاه‌تر شدن زمان ماندگاری میوه‌ها به همراه کاهش متعاقب پذیرشمحصول توسط مصرف‌کننده گردد. علاوه بر ضرر تغذیه‌ای، آلودگی قارچی پس از برداشت ممکن است با افزایش هزینه‌های حمل‌ونقل و ذخیره‌سازی، ارزش بازاریمیوه‌ها را از کاهش دهد [٤].

نگهدارنده های مصنوعی یا ضدعفونی کننده‌های شیمیایی معمولاً برای مبارزه با فساد قارچی و آلودگی مایکوتوکسین میوه‌ها استفاده می‌شوند. ضدعفونی کننده‌های حاوی کلر و هیپوکلریت در کاهش تکثیر قارچ چندان مؤثر نیستند. بااین‌حال، استفاده بیش از حد آن‌ها ممکن است باعث تحریک پوست، مشکلات تنفسی و گوارشی شود. علاوه بر این، ازن، پراکسی استیک اسید، اسیدهای آلی و سولفید هیدروژن قادر به دستیابی به حداکثر مهار نیستند و همچنین دارای عوارض جانبی و سمیت بالقوه هستند[۵]. بنابراین نیاز به یافتن ترکیبات طبیعی که می‌توانند جایگزین ترکیبات مصنوعی شوند، پدید آمده است و محققان روی یافتن منابع ترکیباتی با فعالیت‌های بیولوژیکی که ایمن‌تر و دوستدار محیط زیست هستند متمرکز شده‌اند.

در همین راستا، اسانس‌هاو عصاره‌ها جایگزین خوبی هستند زیرا دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و همچنین فعالیت ضد قارچی و ضد باکتریایی هستند، علاوه بر این، طبیعی بوده و توسط سازمان غذا و داروی ایالات متحده بعنوان ترکیبات ایمن شناخته شده‌اند. این ترکیباتمی‌توانند برای توسعه غذاهای عملکردی جدید مورد استفاده قرار گیرند و استفاده از آن‌ها می‌تواند عمر نگهداری محصولات غذایی را بهبود ببخشد [٦–٨].

انجیر بنگالی (*Ficus benghalensis*)، از خانواده *Moraceae*، یک درخت مهم دارویی و پراکنده است که در مناطق مختلف هند یافت می‌شود. گونه‌های این خانواده دارای فعالیت ضددیابتی، ضدالتهابی، ضدتوموری، ضدسرطانی، محافظ سلولی و ضدزخم، ضددرد، آنتی‌اکسیدان، کاهش چربی خون، ضدهیپرگلیسمی و تب بر هستند. ترکیبات فیتوشیمیایی انجیر بنگالی عبارت‌اند از روتین[1]، فریدلین[2]، تاراکسوسترول[3]، لوپئول[4]، بتا آمیرین[5] همراه با پسورالن[6]، برگاپتن[7] و بتا سیسترول[8]، کوئرستین-۳-گالاکتوزید[9][۹]. مطالعه‌های مختلف نشان می‌دهد که عصاره و اسانس انجیر بنگالی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی در برابر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا می‌باشد[۹].

با اینحال، با بررسی منابع علمی، مطالعات بسیار کمی در مورد فعالیت ضدقارچی عصاره اتانولی انجیر بنگالی در برابر رشد قارچ‌های پاتوژن عامل فساد میوه پرتقال طی انبارمانی صورت گرفته است. بنابراین، این مطالعه با هدف تعیین اثر ضدقارچی عصاره اتانولی انجیر بنگالی در برابر *پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم* و *پنی‌سیلیوم ایتالیکوم* انجام شد. علاوه بر این، میزان فنول کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره نیز بررسی گردید.

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 آلدریچ (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 ٤٨ 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 به‌منظور تولید عصاره بدون حلال و غلیظ، محلول با استفاده از اواپراتور چرخشی تحت خلأ تغلیظ گردید. عصاره تغلیظ شده سپس در ظروف شیشه‌ای تیره در دمای ٤ 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 رقیق‌شده کاملاً مخلوط شد و به مدت ۳ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. پس از آن، ۰/۱میلی‌لیتر 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 ۷٦۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. گالیک اسید به عنوان استاندارد استفاده شد و نتایج بصورت میلی‌گرممعادل اسید گالیک (GAE) در گرم عصاره (mg GAE/g) بیان شد[۱۱].

۲- ٤- اندازه‌گیری فلاونوئید کل

برای تعیینمیزان 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 طول‌موج ٤۳۰ 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 رادیکال‌هایDPPH و ABTS برای تعیین اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی انجیر بنگالی بررسی گردید [۱۳, ۱٤].

برای تعیین فعالیتآنتی‌اکسیدانی برحسبDPPH، ۵۰ میکرولیتر عصارهیا کنترل با محلول ۰/۱۲ میلی‌مولار اتانولیDPPH (۵ میلی‌لیتر) مخلوط شد. محلول بدست آمده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شد و جذب آن در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید.

جهت تعیین فعالیت مهار ABTS، محلول ABTS و $K_2S_2O_8$ در ابتدا برای تولید محلول کاتیونی رادیکالABTS با هم مخلوط شدند. پس از آن، ۰/۱میلی‌لیتر عصاره یا کنترل با ۳/۹ میلی‌لیتر محلول رادیکالABTS مخلوط شد و جذب آن در ۷۳٤ 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- ٦- 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- ٦- ۱- دیسک دیفیوژن آگار

در این آزمون، دیسک‌های بلانک به مدت ۱۵ دقیقه در عصاره استریل (۲۰ میکرولیتر) غوطه‌ور شدند. سپس دیسک‌هایبلانک روی محیط کشت سابورود دکستروز آگار حاوی سویه‌های قارچی قرارداده شدند. پس از گرمخانه گذاری پتری‌دیش در دمای۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت، ناحیه بازداری (میلی‌متر) اطراف دیسک‌ها اندازه‌گیری و به عنوان پتانسیل ضد قارچی عصاره گزارش شد[٦, ۱۰۸].

۲- ٦- ۲- چاهک آگار

برای این منظور، عصاره انجیر بنگالی (۲۰ میکرولیتر) به چاهک‌هایی (قطر ٦ میلی‌متر) که قبلاً روی سطح سابورود

10. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
11. 2,2′-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt

دکستروز آگار در پتری‌دیش ایجاد شده بود و آلوده به سویه‌های قارچی بود، اضافه شد. پتری‌دیش به مدت ۷۲ ساعت در دمای۲۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و سپس مناطق بازداری به عنوان اثر ضد قارچی عصاره ثبت گردید [۱۰۸ ,٦].

۲- ٦- ۳- حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی

حداقل غلظت مهارکنندگی با روش ماکرودایلوشن براث بررسی گردید. غلظت‌های متوالی (۱، ۲، ٤، ۸، ۱٦، ۳۲، ٦٤، ۱۲۸، ۲٥٦، و ٥۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) عصاره در محیط سابورود دکستروز براث از طریق فیلترهایسر سرنگی۰/٤٥ میکرومتری استریل شده و در لوله‌های آزمایشگاهی ریخته شد. سپس سوسپانسیون‌های میکروبی استاندارد درون هر لوله اضافه گردید. سپس لوله‌های حاوی کشت شده در دمای۲۷ 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 سابورود دکستروز آگار کشت داده شد. در مرحله بعد، محیط کشت در دمای۲۷ 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[۱۰۸ ,٦].

۲- ۷- آنالیز آماری

نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۸) و با استفاده از آنالیز واریانسیک‌طرفه 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 mg GAE/g ± ۱/٦۲ ۱۱۰/٤۹ فنول کل و mg QE/g ± ۱/٥۷ ٦۲/٦۰ فلاونوئید کل بود.

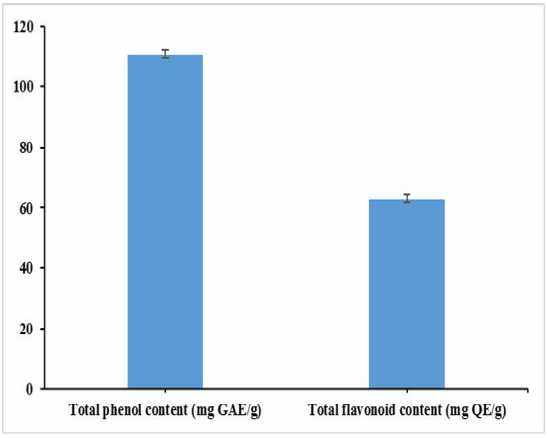

Fig 1 Total phenol and flavonoid contents of *Ficus benghalensis* ethanolic extract.

شکل ۲، نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی انجیر بنگالی را نشان می‌دهد. عصاره قادر به مهار رادیکال‌های آزاد بود و قابلیت آن در مهار رادیکال‌هایDPPH و ABTS به ترتیب ۰/٤٦± ٤۸/٥٦ و ۰/۳۸± ٥۷/۲۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بود.

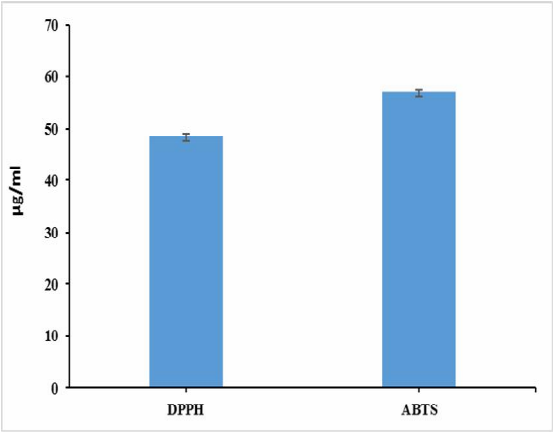

Fig 2 Antioxidant activity of *Ficus benghalensis* ethanolic extract, based on DPPH and ABTS free radical scavenging methods.

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 ۱٥ به ٦۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر سبب افزایش معنی‌دار قطر هاله عدم رشد از ۸ به ۱۷/۱۰ میلی‌متر در *پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم* و ۹/۹۰ به ۱۹/۸۰ میلی‌متر در *پنی‌سیلیوم ایتالیکوم* گردید. همانطور که مشاهده می‌شود، *پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم* با کمترین و *پنی‌سیلیوم ایتالیکوم*

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

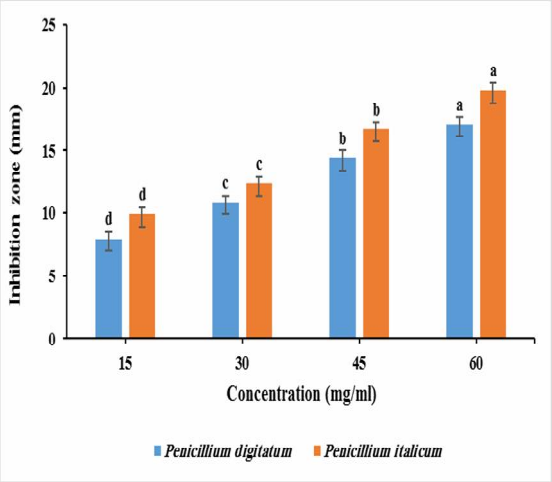

Fig 3 Antifungal effect of *Ficus benghalensis* ethanolic extract, according to the disk diffusion agar test.

یافته‌های آزمون چاهک آگار مطابق نتایج آزمون دیسک دیفیوژن آگار بود (شکل ٤) و مقاوم‌ترین و حساس‌ترینسویه‌های قارچی در برابر عصاره اتانولی انجیر بنگالی به ترتیب *پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم* و *پنی‌سیلیوم ایتالیکوم* بودند و اثر ضدمیکروبی 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.

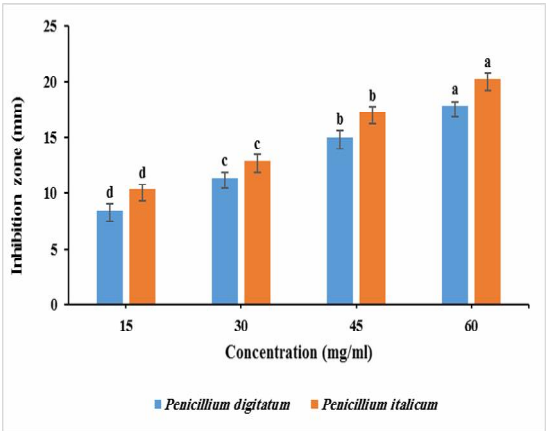

Fig 4 Antifungal effect of *Ficus benghalensis* ethanolic extract, according to the well diffusion agar test.

علاوه بر این، نتایج آزمون‌های حداقل غلظت مهارکنندگی (شکل ٥) و حداقل غلظت کشندگی (شکل ٦) نشان داد که *پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم* و *پنی‌سیلیوم ایتالیکوم* به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترینسویه‌های قارچی در برابر عصاره بودند. حداقل غلظت مهارکنندگی برای این سویه‌ها به ترتیب ١٦ و ٨ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی برای این سویه‌ها به ترتیب برابر با ٥١٢ و ١٢٨ میلی‌گرم در میلی‌لیتر مشاهده گردید.

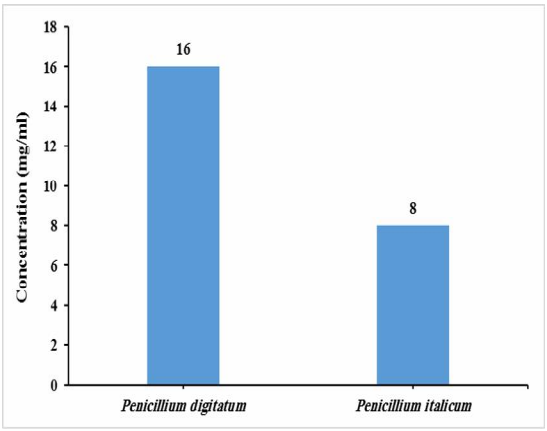

Fig 5 Antifungal effect of *Ficus benghalensis* ethanolic extract, according to the minimum inhibitory concentration test.

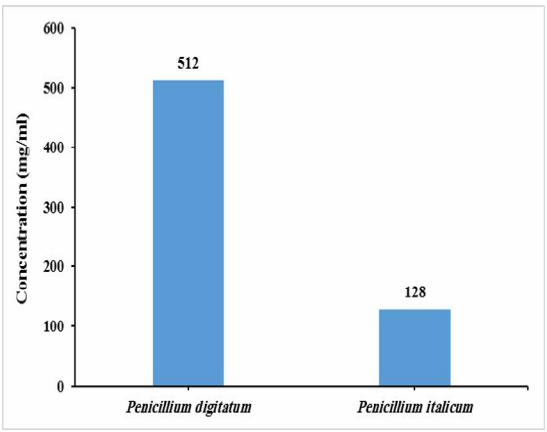

Fig 6 Antifungal effect of *Ficus benghalensis* ethanolic extract, according to the minimum fungicidal concentration test.

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[١٥–١٧]. در این راستا، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد جهش‌زایی عصاره آبی

انجیر بنگالی در مطالعه ساتیش و همکاران (۲۰۱۳) گزارش شده است [۹]. باسکارا رائو و همکاران (۲۰۱٤) 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 ترتیب۵۳/۰۰٤ mg GAE/g و ۱٤۲/۹۹ mg QE/g گزارش نمودند [۱۸]. این محققین، همچنین نشان دادند که عصاره حاوی ترکیبات پلی‌فنولی گالیک اسید، تئوفلاوین، کاتچین و فلاون می‌باشد. در مطالعه‌ای 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 ۳/۲۷) درحالی‌که کمترین آن در عصاره متانولی خام (mg GAE/g ۰/۰۰٤) بود. محتوای فنولی در عصاره‌های مختلف به ترتیب اتیل استات > آبی> دی کلرومتان >n–هگزان >n–بوتانول > متانول کاهش یافت.محتوای فلاونوئیدکل در فراکسیون آبی (mg GAE/g ۰/۵۱)بالاترین و در فراکسیون‌هایn–هگزان و دی کلرومتان (mg GAE/g ۰/۰۰۱)کمترین بود. میزان فلاونوئیدهای کل در عصاره‌های مختلف به ترتیب آبی> اتیل استات >n–بوتانول > خام > دی کلرومتان>n–هگزان کاهش یافت.بالاترین فعالیت مهار رادیکال در بین تمام عصاره‌ها مربوط به عصاره متانولی خام بین۷۱/۷۷ تا ۸۲/٦ 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 سریواستاوا 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 ائروژینوزا*، *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 ائروژینوزا* نشان داد، درحالی‌که فعالیت ضد باکتریاییمعنی‌داری 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 رویباکتری‌های 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 [۲٤]. فعالیت ضد قارچی عصاره اتانولی برگ انجیر بنگالی و فراکسیون‌های آن در برابر قارچ *کاندیدا آلبیکنس* در مطالعه بانواز و آلاگاوادی (۲۰۱٦) 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. درحالی‌که در آزمون ضد میکروبیدیسک دیفیوژن آگار، عصاره بایستی از سطوح دیسک به داخل محیط انتشار یابد تا اثر بازدارندگی خود را نشان دهد [۱۳, ۱٤, ۲۱]. رحتمی جنیدآباد و علیزاده بهبهانی (۲۰۲۱) نشان دادند که فعالیت بیولوژیکی عصاره و اسانس‌های گیاهی ناشی از حضور ترکیبات فنولی در آنها است که فعالیت ضد میکروبیخود را به دلیل وجود هسته آروماتیک و گروه OH فنولیبروز 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 آبگریز ترکیبات عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی سبب جذب شدن آنها به میسلیوم قارچی و جلوگیری از رشد آن می‌گردد[۲٦, ۲۷]. مطابق نتایج این مطالعه، عصاره اتانولی انجیر بنگالی قادر به جلوگیری از رشد پاتوژن‌های قارچی میوه‌ها و سبزی‌هامی‌باشد و می‌تواند بعنوان ترکیبی طبیعی جهت افزایش عمر نگهداری محصولات غذایی استفاده گردد.

٤- نتیجه‌گیری

به دلیل محتوای فنولی و فلاونوئیدی بالا، عصاره اتانولی انجیر

بنگالی فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجهی داشت. علاوه بر این، عصاره اتانولی انجیر بنگالی اثر ضد میکروبی قابل‌توجهی بر روی سویه‌های قارچی پاتوژن عامل فساد میوه پرتقال طی انبارمانی (*پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم* و *پنی‌سیلیوم ایتالیکوم*) نشان داد. نتایج نشان می‌دهد که عصاره اتانولی انجیر بنگالیمی‌تواند 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.

٦- منابع

[1] S. B. Akinde, M. A. Adeniyi, A. A. Adebunmi, O. O. Oluwajide, and O. O. Ogunnaike, "Comparative effectiveness of chemical biocides and Acalypha wilkesiana leaf extract against postharvest fungal deteriogens 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 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. Beigbabaei, "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,

"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 antimitotic, 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 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. Alizade 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.

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

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 horticulturalproducts.

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@asnrukh.ac.ir