



بررسی ترکیبات شیمیایی با استفاده از GC-MS و خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های هیدروآتانولی کدو حلوائی و برخی از گیاهان خانواده چلیپانیان

زهرا لطیفی^۱، سعید عابدیان کناری*^۲، علی اکبر مشایخ^۳

^۱ دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، نور، ایران

^۲ استاد ایمنی شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات ژنتیک ایمنی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

^۳ استاد تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی و اجتماعی، دانشگاه آزاد اسلامی، نور، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۰۸

چکیده

میوه و سبزیجات به دلیل سهم مهمی که در ارزش تغذیه‌ای و مزایای سلامتی بخش انسان دارند، بطور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند. در مطالعه حاضر، ترکیبات شیمیایی آنها توسط GC-MS و فعالیت ضد میکروبی به روش انتشار چاهک، حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* عصاره‌های هیدروآتانولی کدو حلوائی و برخی از اعضاء خانواده چلیپانیان (کلم بنفش، کلم سفید، کلم بروکلی، گل کلم) مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور، عصاره ۷۰ درصد اتانولی این گیاهان به روش ماسراسیون تهیه گردید. در عصاره هیدروآتانولی کدو حلوائی ۱۶ ترکیب شیمیایی شناسایی شده است که بالاترین میزان در ترکیب D-اریترو-پنتوز، ۲-دآکسی (۳۵/۱۵۷۳ درصد) بود. در عصاره-های هیدروآتانولی کلم بنفش و کلم سفید، بالاترین میزان ترکیب شناسایی شده مربوط به ۳-۲ دی‌هیدرو-۵-۳ دی‌هیدروکسی-۶-متیل-HF-پیران-۴-وان به ترتیب با مقادیر ۱۶/۹۰۵۳ درصد و ۲۷/۱۶۳۴ درصد بود. در کلم بروکلی و گل کلم ترکیب گاما-سیتوسترول به ترتیب با ۲۰/۶۹۴۲ درصد و ۱۹/۵۲۱۳ درصد بالاترین میزان را دارا بودند. در بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های هیدروآتانولی مشاهده شد که با افزایش غلظت عصاره، قطر هاله عدم رشد در دو گونه باکتری *اشریشیا کلای* و *استافیلوکوکوس اورئوس* افزایش معنی داری یافت ($p < 0.05$). قطر مهار رشد در باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در غلظت‌های مختلف گیاهان مورد بررسی نشان داد که خاصیت ضد باکتری ترکیب عصاره‌ها در مهار رشد باکتری *اشریشیا کلی* نسبت به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* مؤثرتر عمل کرده است. کاربرد توام هر پنج عصاره با یکدیگر به طور قابل توجهی MIC و MBC را کاهش داد که نشان دهنده مؤثر بودن خاصیت ضد میکروبی آنها بر علیه میکروارگانیسم‌های مورد بررسی در مقایسه با هر یک از عصاره‌ها به تنهایی بود.

واژه‌های کلیدی: باکتری گرم مثبت، باکتری گرم منفی، ترکیبات شیمیایی، خانواده چلیپانیان، کدو حلوائی، کروماتوگرافی گازی

* abedianlab@yahoo.co.uk

مقدمه

میوه‌ها و سبزیجات که اغلب به‌عنوان "محصولات تازه" نامیده می‌شوند، اجزای مهم یک رژیم غذایی سالم هستند. این غذاها مواد مغذی ضروری از جمله ویتامین‌ها، مواد معدنی و فیبر غذایی را تأمین می‌کنند که به حفظ فیزیولوژی مناسب بدن کمک می‌کنند. به‌طور کلی غذاهای گیاهی منبعی با طیف گسترده‌ای از ترکیبات زیست فعال هستند که به‌عنوان مواد فیتوشیمیایی نیز شناخته می‌شوند. بسیاری از مواد فیتوشیمیایی دارای خواص دارویی هستند (۱).

کدو حلوائی (*Cucurbita* spp.) گیاهی بسیار مغذی از خانواده *Cucurbitaceae* است که بیش از ۱۳۰ جنس و ۸۰۰ گونه دارد (۲). ارزش دارویی کدو حلوائی در ترکیبات شیمیایی آن است که قادر به ایجاد یک اثر فیزیولوژیکی خاص در بدن انسان است. از این نظر، با مرور مطالعات مربوط به ویژگی‌های شیمیایی، بیولوژیکی و دارویی کدو حلوائی، با در نظر گرفتن دانه‌ها و میوه‌ها، مطمئناً می‌توان اظهار داشت که ترکیبات زیست فعال، به ویژه ترکیبات ترپنوئیدی، برای سلامتی انسان بسیار مورد توجه است و در نتیجه می‌توان از خواص دارویی و تغذیه‌ای آنها در برابر انواع بیماری‌ها استفاده کرد (۳). کدو حلوائی یک منبع بالقوه برای عوامل ضد میکروبی برای صنایع دارویی، دارویی و غذایی محسوب می‌شود. عصاره پوست، گوشت و روغن دانه کدو حلوائی (*C. pepo*) برای فعالیت ضد میکروبی در برابر باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس سوبتیلیس، باسیلوس سرئوس و مخمر ساکارومایسس سرویزیه با نتایج مثبت آزمایش شد (۴).

خانواده چلیپانیان^۲ از بزرگ‌ترین خانواده‌های گیاهان گل‌دار یا آنژیوسپرم‌ها^۳ و متعلق به راسته کلم‌سانان^۴ هستند. این

خانواده متشکل از گیاهان یکساله، دوساله و همچنین چند ساله است (۵). سبزیجات خانواده چلیپانیان، منبعی غنی از مواد تقویت‌کننده سلامتی می‌باشند که خطر بسیاری از بیماری‌ها را کاهش می‌دهند. به‌غیر از گلوکوزینولات ضد سرطان، آنها دارای آنتی‌اکسیدان‌های آب دوست (ویتامین C، پلی فنول) و آبنگریز (کاروتنوئیدها، ویتامین E) هستند که می‌توانند گونه‌های اکسیژن فعال را خنثی و رادیکال‌های آزاد را خاموش کنند (۶). کلم قرمز (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra*) یک منبع غذایی غنی از مواد شیمیایی گیاهی، به‌ویژه (پلی) فنولیک‌ها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، اسید آسکوربیک، α -توکوفرول، β -کاروتن، لوتین و غیره است (۷). مطالعات اپیدمیولوژیک نشان می‌دهد که مصرف زیاد سبزیجات براسیکا ممکن است منجر به کاهش خطر بیماری‌های قلبی عروقی و سرطانی شود (۸). مطالعات دیگر، اثرات هیپوکلسترولمیک^۵ (۹)، محافظت کبدی (هپاتوپروتکتیو^۶) (۱۰) و محافظت از نورون‌ها (نوروپروتکتیو^۷) (۱۱) توسط عصاره کلم قرمز در موش را به‌دلیل محتوای فنولیک/آنتوسیانین بالای آن گزارش کرده‌اند (۹). کلم سفید (*Brassica oleracea* var. *AWC*) یکی از محصولات اصلی چلیپانیان است که به‌طور گسترده به‌عنوان منبع اسیدهای فنولیک، فلاونوئیدها، تانن‌ها، ترپنوئیدها و فیبر و مواد آنتی‌اکسیدانی گزارش شده است (۱۲، ۱۳). علاوه بر این، منبع غنی از ویتامین‌ها (مانند K، A، C، فولات، تیامین و ریوفلاوین)، مواد معدنی (کلسیم، پتاسیم و منیزیم) و آمینواسیدهای تریپتوفان است (۱۴).

گل کلم به خانواده چلیپانیان تعلق دارد و نام علمی آن *Brassica oleracea* var. *botrytis* است، که به گل نیز معروف است. گل کلم حاوی تعدادی ترکیبات مؤثر است که در پیشگیری و مبارزه با انواع سرطان مانند سرطان سینه،

⁵ Hypocholesterolaemic

⁶ Hepatoprotective

⁷ Neuroprotective

² Brassicaceae

³ Angiosperm

⁴ Brassicales

شناسایی شد. کدو، کلم بنفش، کلم سفید، کلم بروکلی و گل کلم به ترتیب دارای کدهای اختصاصی 411B0*IMPSB، 412B0*IMPSB، 413Cm*IMPSB و 410B0*IMPSB و 409B0*IMPSB می‌باشند.

آماده‌سازی عصاره‌های گیاهی

پس از خریداری این گیاهان و شستشوی کامل، آن‌ها را در شرایط سایه قرار داده تا کاملاً خشک شوند و سپس با استفاده از دستگاه آسیاب (Moulinex، مدل PDA1، فرانسه) پودر گردیدند. پودر گیاهی خشک شده در کیسه‌های کاغذی در دمای یخچال تا زمان عصاره‌گیری نگهداری شدند. عصاره‌گیری از کدو حلوائی، کلم بنفش، کلم سفید، کلم بروکلی و گل کلم به روش ماسراسیون انجام پذیرفت. بدین منظور، میزان ۳۰ گرم وزن دقیق نمونه پودر خشک شده گیاهان توسط ترازوی دیجیتال (شرکت FWE، مدل FH-200H، ژاپن) توزین شده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق بصورت جداگانه در ۱۵۰ میلی‌لیتر اتانول (Merck، آلمان) ۷۰ درصد خیسانده شدند. سپس، محتویات از طریق کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ در یک بشر ۲۵۰ میلی‌لیتری فیلتر و حلال نمونه هیدروآتانولی توسط دستگاه روتاری اواپراتور (Stuart RE300 Rotary Evaporator) در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد تبخیر گردید. سپس توسط دستگاه خشک‌کن انجمادی (شرکت ZIRBUS، مدل D-37539، آلمان) خشک و به پودر تبدیل شدند. سپس عصاره‌ها در فریزر ۷۰- درجه سانتیگراد و در مکان تاریک، تا زمان انجام آزمایشات نگهداری شدند (۲۲).

آنالیز ترکیبات شیمیایی عصاره‌ها توسط GC-MS

آنالیز گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی عصاره‌های هیدروآتانولی تهیه‌شده با کروماتوگرافی گازی انجام گرفت. نوع ستون HP-5MS (phenyl methyl silox)، طول ستون ۳۰ متر، قطر ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت ۰/۲۵ میکرومتر بود و برای ردیابی از سامانه یونیزاسیون الکترونی با انرژی ۷۰ الکترون ولت استفاده شد. برنامه دمایی ستون بدین صورت بود که دمای اولیه ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و

روده بزرگ و پروستات مفید است و همچنین در درمان دیابت مؤثر است. علاوه بر این، گل کلم حاوی عناصر معدنی مانند فسفر، پتاسیم، گوگرد و غیره است؛ گیاهان خانواده چلیپائیان با داشتن ترکیبی بنام سولفورافان منجر به کاهش قابل توجهی در احتمال ابتلاء به سرطان روده بزرگ می‌شوند (۱۵). وجود مواد مغذی آلی و طبیعی موجود در گل کلم باعث افزایش ارزش غذایی آن شده و ضمن کاهش آلودگی محیط زیست، اهمیت دارویی این گیاه را نیز افزایش داده‌اند (۱۶). کلم بروکلی (*Brassica oleracea var. italica*) یک گیاه سبزی خوراکی پرمصرف است که محصول فصل سرما می‌باشد و سرگل بزرگ آن به عنوان یک سبزی، مصرف می‌شود (۱۷، ۱۸). کلم بروکلی منبع غنی از مشتقات نیتروژن-گوگرد (گلوکوزینولات و ایزوتیوسیانات‌ها)، مقادیر بالایی ترکیبات فنولیک (مشتقات اسید کلروژنیک و سیناپیک و فلاونول‌ها) و مواد مغذی ضروری (ویتامین‌ها و مواد معدنی) می‌باشد (۱۹، ۲۰). گزارش شده است که یک رژیم غذایی غنی از کلم بروکلی در پیشگیری از بیماری‌های مزمن مانند سرطان و بیماری‌های قلبی-عروقی نقش اساسی دارد (۲۱).

از آنجا که گیاهان دارای چندین هزار نوع ترکیبات فیتوشیمیایی با ساختارهای متنوع هستند، هدف از مطالعه حاضر استخراج عصاره هیدروآتانولی از پالپ کدو حلوائی و برخی از گیاهان خانواده چلیپائیان است که پس از استخراج توسط GC-MS ترکیبات شیمیایی آن‌ها شناسایی و همچنین این عصاره‌ها به تنهایی و در ترکیب با یکدیگر از نظر فعالیت ضد میکروبی مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

تهیه و شناسایی سبزیجات مورد مطالعه

کدو حلوائی (*Cucurbita moschata*) و چهار نوع کلم شامل کلم بنفش، کلم سفید، کلم بروکلی و گل کلم از مزرعه‌ای در شهرستان بابل واقع در استان مازندران خریداری شدند؛ پس از عملیات آماده‌سازی، بذور گیاهان تهیه شده با استفاده منابع معتبر گیاه‌شناسی در بانک بذر پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی با اختصاص کد هر بارיום

را بوسیله رقت‌های مایع مختلفی از عصاره که در ابتدا به آنها اشاره شده است پر شد. به‌عنوان نمونه کنترل آزمایش از آنتی‌بیوتیک جنتامایسین با توجه به حلالیت در حلال‌های مختلف در نرمال سالین ۰/۹ درصد رقیق و غلظت ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر تهیه شده، استفاده گردید. بعد از اتمام کار، تمامی محیط کشت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار داده شدند. پس از گذشت این مدت، کشت‌های باکتریایی از نظر تشکیل یا عدم تشکیل هاله رشد بر حسب میلی‌متر توسط کولیس اندازه‌گیری شد (۲۴-۲۶).

قطر هاله‌ها عکس‌العملی از غلظت عصاره مورد آزمایش می‌باشد. این پدیده یک ارتباط خطی بین هاله و لگاریتم غلظت عصاره مورد آزمایش می‌باشد که با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد میکروبی و مقایسه آن با استاندارد مشخص، قدرت ضد میکروبی عصاره مورد آزمایش تعیین شد (۲۷).

روش دوم، آزمون تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری (MIC^۹) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC^{۱۰}) بصورت رقت لوله‌ای صورت گرفت. جهت تعیین (MIC)، از عصاره الکلی تهیه شده، سری رقت‌های ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در محیط کشت مولر هینتون پراش تهیه شد. سپس به هر کدام از رقت‌ها ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده اضافه گردید. به عنوان شاهد مثبت لوله‌ای با محتویات (محیط کشت حاوی باکتری، بدون عصاره) و به‌عنوان شاهد منفی لوله‌ای با محتویات (محیط کشت بدون باکتری) نیز تهیه شدند. بعد از اتمام کار، تمام لوله‌ها به انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۴۸-۲۴ انتقال داده شدند (۲۸).

به علت رنگی بودن عصاره‌ها، خواندن MIC ممکن نیست و برای رفع این مشکل از تمام لوله‌های تلقیح شده به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار به روش پور پلیت پخش گردید، سپس پلیت‌ها به انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد انتقال یافتند تا بعد از ۲۴ ساعت نتایج خوانده شود. پس از یک شب انکوباسیون، تعداد کلنی‌های

سپس با گرادیان دمائی ۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه به دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد رسانده و به مدت ۵ دقیقه نگهداری شد و دمای نهائی با گرادیان دمائی ۱۰ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه به دمای ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد رسانده و به مدت ۱۰ دقیقه در این دما نگهداشته شد. گاز حامل هلیوم ۹۹/۹۹ درصد با شدت جریان ۱ میلی‌متر بر دقیقه و محل تزریق Split با نسبت ۱:۱ با دمای محل تزریق ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود. همچنین در طیف‌سنج جرمی، دمای محفظه یونش ۱۵۰-۲۰۰ درجه سانتی‌گراد و دمای تجزیه گر جرمی ۲۵۰-۲۳۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود. از هر نمونه عصاره ۱ میکرولیتر به دستگاه تزریق گردید و مدت زمان کل آنالیز ۶۰ دقیقه در نظر گرفته شد.

بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره‌ها

از عصاره‌های حاصله توسط حلال دی متیل سولفواکسید (DMSO) ۰/۵ درصد، غلظت‌های ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تهیه شد و در آزمون‌های انتشار چاهک و تعیین MIC/MBC از آنها استفاده گردید. سوش‌های باکتری گرم منفی *اشریشیا کلی* و باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* بصورت لیوفیلیزه از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران^۸ تهیه گردید. نمونه‌های میکروبی بر اساس روش‌های استاندارد از حالت لیوفیلیزه خارج گردیدند. به منظور تهیه سوسپانسیون میکروبی از کشت تازه و جوان باکتری چند کلنی به محیط کشت مولر هینتون پراش منتقل شد تا کدورت حاصله مشابه کدورت لوله ۰/۵ مک فارلند باشد (۲۳).

بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره‌های هیدروآتانولی به دو روش انجام شد، ابتدا از روش انتشار چاهک در آگار استفاده گردید. برای این منظور از سوش‌های یاد شده با کدورتی معادل ۰/۵ مک فارلند تهیه و به روش معمول در پلیت حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار گسترش داده شد. در مرحله بعدی در سطح پلیت، چاهک‌هایی به قطر ۵ میلی‌لیتر و به فاصله ۲ سانتی‌متر از هم ایجاد گردید. هر یک از چاهک‌ها

^۹ Minimum Inhibitory Concentration

^{۱۰} Minimal Bactericidal Concentration

^۸ Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST)

ترکیبات شیمیایی شناسایی شده توسط GC-MS در عصاره‌های هیدروآتانولی

ترکیبات شیمیایی شناسایی شده در عصاره‌های هیدروآتانولی کدو حلوائی (*C. moschata*)، کلم بنفش، کلم سفید، کلم بروکلی و گل کلم با استفاده از کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنج جرمی در جدول (۱) براساس ترکیبات اصلی گزارش شده‌است. در عصاره هیدروآتانولی کدو حلوائی ۱۶ ترکیب شیمیایی شناسایی شده‌است که بالاترین میزان ترکیب برابر با ۳۵/۱۵۷۳ درصد مربوط به ترکیب D-اریترو-پنتوز، ۲-دآکسی^{۱۱} بود. در عصاره هیدروآتانولی کلم بنفش و کلم سفید بالاترین میزان ترکیب به ترتیب برابر با ۱۶/۹۰۵۳ درصد و ۲۷/۱۶۳۴ درصد مربوط به ۳-دی‌هیدرو-۵-دی‌هیدروکسی-۶-متیل-H۴-پیران-۴-وان^{۱۲} بود. ترکیب گاما-سیتوسترول^{۱۳} بالاترین میزان در عصاره‌های کلم بروکلی (۲۰/۶۹۴۲ درصد) و گل کلم (۱۹/۵۲۱۳ درصد) بود.

رشد یافته در پلیت‌ها شمارش و با هم مقایسه گردید. پلیتی که دارای کمترین غلظت از عصاره بوده و تعداد کلنی‌های کمتری نسبت به سایرین دارد به عنوان MIC و پلیتی که حاوی کمترین غلظت از عصاره بوده و کلنی در آن رشد نکرده به عنوان MBC در نظر گرفته شد (۲۹).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تمامی آزمون‌ها در سه تکرار صورت پذیرفت. تجزیه و تحلیل آماری جهت ارزیابی این فاکتورها توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام و نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شدند. مقایسه میانگین‌ها برای متغیرهای مورد بررسی از آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA استفاده گردید. برای اختلاف میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح ۹۵ درصد استفاده شد.

نتایج

جدول ۱: ترکیب‌های شیمیایی شناسایی شده در عصاره‌های هیدروآتانولی کدو حلوائی و گیاهان خانواده چلبائیان

| نوع گیاه | ترکیب | فراوانی (%) | زمان بازداری (دقیقه) |
|------------|--|-------------|----------------------|
| کدو حلوائی | D-اریترو-پنتوز، ۲-دآکسی | ۳۵/۱۵۷۳ | ۲۸/۲۲ |
| | ۱-اتانون، ۱-متیل-۳-تری‌فلورومتیل-H-۱-پیرازول-۴-یل (γI) | ۳۴/۸۷۶۷ | ۳۱/۶۸ |
| | N-متوکسی-فرمامید | ۱۴/۰۳۹۹ | ۵/۵۶ |
| | ۲-هیدروکسی-گاما-بوتیرولاکتون | ۳/۸۷۵۴ | ۱۲/۷۴ |
| | N',N-دی‌متیل اوره | ۱/۹۳۲۲ | ۱۵/۶۳ |
| | هیدروکسی متیل فورفورال | ۱/۵۰۳۲ | ۲۰/۲۹ |
| | ۴-پیران-۴،۲،۱-دی‌هیدرو-۵-دی‌هیدروکسی-۶-متیل H | ۱/۴۴۵۵ | ۱۷/۳۱ |
| | ۹، ۱۲، ۱۵-اُکتا دکاترین-۱-اُل، (Z,Z,Z) | ۱/۲۷۹۸ | ۴۹/۶۱ |
| | ۱،۳-سیکلوپنتان دیون | ۱/۲۵۷ | ۹/۸۸ |
| | هگزادکانوئیک اسید، ۲-هیدروکسی-۱- (هیدروکسی متیل) اتیل استر | ۰/۹۶۸۵ | ۴۷/۷۵ |
| کلم بنفش | ۳-دی‌هیدرو-۵-دی‌هیدروکسی-۶-متیل-H۴-پیران-۴-وان | ۱۶/۹۰۵۳ | ۱۷/۸۲ |
| | ۶،۲-دی‌متیل-۳- (متوکسی متیل)-p-بنزو کینون | ۹/۸۰۵۱ | ۲۸/۵۰ |
| | گاما-سیتوسترول | ۸/۲۸۵۸ | ۵۷/۸۳۶ |
| | ۳-پیریدینون-۱-اتیل | ۶/۴۱۱۹ | ۱۳/۲۶ |
| | پروپانوئیک اسید | ۶/۲۶۱۱ | ۵/۷۱ |
| | نونانوئیک اسید | ۵/۹۵۱۶ | ۴۹/۶۵ |
| | ۲-متوکسی-۴-وینیل فنول | ۴/۴۰۷ | ۲۲/۱۰ |

¹³ Gamma-Sitosterol

¹¹ D-Erythro-Pentose, 2-deoxy-

¹² 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-Pyran-4-one

| | | | |
|--------|---------|--|-----------|
| ۲۱/۳۷ | ۳/۷۳۲۹ | پیرازین | |
| ۴۱/۷۵ | ۳/۳۶۰۱ | لینولنیک اسید | |
| ۴۹/۵۵ | ۳/۱۱۵۲ | ۱۲،۹-اُکتادکانوئیک اسید (Z,Z) | |
| ۳۴/۰۶ | ۳/۰۷۳۱ | هگزیل (۲-هپتین-۱-yl) آمین | |
| ۲۰/۲۴ | ۲/۸۷۶۹ | ۲،۳-دی هیدرو بنزوفوران | |
| ۲۷/۰۶ | ۲/۸۳۹۵ | ۱-دی (enyl-۲-prop) سیلاسیکلوبوتان | |
| ۵۶/۰۱ | ۲/۳۰۷۴ | کامپسترول | |
| ۳۶/۳۶ | ۲/۲۶۲۴ | ۹،۳-دیازاتریسیکلو دودکان-۸،۲-دیون | مغز بادام |
| ۳۷/۳۱ | ۲/۰۵۶۲ | هگزادکانوئیک اسید | |
| ۱۷/۷۴ | ۲۷/۱۶۳۴ | ۳،۲-دی هیدرو-۵،۳-دی هیدروکسی-۶-متیل-H۴-پیران-۴-وان | |
| ۲۸/۵۰ | ۱۱/۴۳۲۷ | دی متیل تری سولفید | |
| ۲۷/۱۸ | ۹/۴۶۲۱ | ۱-اتیل-H۱، ۴،۲،۱-تریازول-۵-آمین | |
| ۲۱/۲۴ | ۶/۲۴۱۶ | ۲-اتیل-۵-متیل-پیرازین | |
| ۱۳/۲۲ | ۵/۰۰۶۳ | N-بتا، هیدروکسی اتیل پیرولیدین | |
| ۵/۶۸ | ۴/۹۸۲۶ | پروپانوئیک اسید | |
| ۵۷/۷۵ | ۳/۲۶۷۵ | گاما-سیتوسترول | |
| ۲۷/۰۰ | ۳/۰۲۷۳ | ۴-آمینو-۶-هیدروکسی پیریمیدین | |
| ۸/۱۵ | ۲/۲۲۷ | ۱-(استیل اُکسی)-۲-پروپانول | کلم |
| ۱۴/۷۰ | ۲/۰۶۸۵ | ۲-پروپنیل-سیکلو هگزان | |
| ۳۶/۳۰ | ۱/۹۰۵ | ۹،۳-دیازاتریسیکلو دودکان-۸،۲-دیون | |
| ۷/۸۴ | ۱/۸۵۶۷ | ۲-فوران متانول | |
| ۵۸/۰۴ | ۲۰/۶۹۴۲ | گاما-سیتوسترول | |
| ۱۱/۱۸ | ۱۴/۲۰۸۵ | دی متیل تری سولفید (CAS) | |
| ۳۷/۴۱ | ۱۲/۱۷۴۶ | هگزادکانوئیک اسید | |
| ۳۶/۵۶ | ۷/۷۵۸۵ | ۹،۳-دیازاتریسیکلو دودکان-۸،۲-دیون | |
| ۴۰/۲۶ | ۷/۶۷۴۸ | فیتول | |
| ۲۲/۱۸۸ | ۶/۴۴۷۶ | ۲-متوکسی-۴-وینیل فنول | |
| ۵۶/۱۰ | ۵/۴۲۱۹ | کامپسترول | کلم بزرگ |
| ۲۸/۵۴۷ | ۵/۳۴۱۲ | ۶،۲-دی متیل-۳-(متوکسی متیل)-p-بنزو کینون | |
| ۲۰/۰۰ | ۳/۲۷۵۹ | ۳،۲-دی هیدرو-بنزوفوران | |
| ۲۵/۰۸ | ۲/۵۵۴۳ | N-(۵،۳-دی کلروفیل)-۲-(۱-پیرو لیدینیل)-استامید | |
| ۲۱/۷ | ۲/۵۱۹۱ | ایندول | |
| ۱۸/۵۳ | ۱/۹۲۴۹ | ۵،۲-دی کلروفنول | |
| ۵۶/۶۷ | ۱/۵۰۱۹ | استیگماسترول | |
| ۵۴/۴۸ | ۱/۲۹۴۷ | ویتامین E (آلفا-توکوفرول) | |
| ۸/۴۳ | ۱/۲۲۶ | ۱-بوتیل پیرو لیدین | |
| ۵۷/۸۶ | ۱۹/۵۲۱۳ | گاما-سیتوسترول | |
| ۴۹/۶۴۱ | ۱۹/۱۹۵۵ | نونانوئیک اسید | |
| ۴۱/۶۷۹ | ۱۱/۰۰۴۶ | ۱۵،۱۲،۹-اُکتادکانوئیک اسید اتیل استر (Z,Z) | |
| ۵۶/۰۵ | ۸/۹۹۵۱ | کامپسترول | |
| ۳۷/۲۸ | ۶/۹۵۷۱ | هگزادکانوئیک اسید اتیل استر | |

| | | |
|--------|--------|--|
| ۳۲/۴۶ | ۴/۲۵۴۷ | ۱-متوکسی-۳.۱-سیکلو هگزادیان |
| ۴۷/۷۳۵ | ۳/۹۸۸۶ | هگزادکانوئیک اسید-۲-هیدروکسی-۱-اتیل استر |
| ۳۶/۸۰ | ۳/۴۶۵۲ | هگزادکانوئیک اسید |
| ۴۹/۵۴ | ۲/۹۲۰۴ | ۱۲،۹-اکتادکانوئیک اسید (Z,Z) |
| ۴۱/۴۵ | ۲/۸۱۸۶ | لینولئیک اسید اتیل استر |
| ۵۶/۶۵ | ۲/۵۵۱۸ | سیگماسترون-۲۲.۵-دی‌ان-۳-اُل |
| ۳۰/۱۶ | ۲/۴۶۲۱ | ۸-فلورو-۴،۳،۲،۱-تراهیدرو کینولین-۱-کربالدهید |
| ۵/۳۱ | ۲/۴۳۶۹ | ۱.۱-دی‌متوکسی-۲-پروپانول |

معنی‌داری دارند ($p < 0.05$). هاله عدم‌رشد در باکتری *اشریشیا کلی* توسط عصاره تمام گیاهان تشکیل شده‌است ولی قطر آن با افزایش غلظت عصاره‌ها افزایش معنی‌داری یافته- است ($p < 0.05$). تمامی عصاره‌های هیدروآتانولی بروی باکتری‌های *اشریشیا کلی* اثر داشته، بیشترین هاله عدم‌رشد برای باکتری *اشریشیا کلی* برابر با 16 ± 0.5 میلی‌متر مربوط به مخلوط عصاره‌ها در غلظت ۸۰۰ ppm بوده‌است و کمترین قطر هاله مربوط به نمونه کدو حلوائی با مقدار $6/66 \pm 0.28$ میلی‌متر در غلظت ۶/۲۵ ppm می‌باشد. قطر هاله مهار شده باکتری توسط جنتامایسین به‌عنوان یک آنتی‌بیوتیک و نمونه کنترل در این مطالعه $15/13$ میلی‌متر شد که نسبت به نمونه- های گیاهان مختلف به‌جز مخلوط عصاره‌ها در غلظت ppm ۸۰۰، بالاترین هاله را دارا بوده است ($p < 0.05$).

خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های گیاهان خانواده چلیپائیان و کدو حلوائی

در پژوهش حاضر تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره ۵ گیاه (کدو حلوائی، کلم بنفش، کلم سفید، کلم بروکلی و گل کلم) در مهار رشد باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس*-*اورئوس* مورد بررسی قرار گرفته‌است و به‌ترتیب، نتایج بررسی‌ها در جدول (۲) و جدول (۳) گزارش شده‌است. همچنین تأثیر عصاره‌های گیاهی کدو حلوائی، کلم بنفش، کلم سفید، کلم بروکلی و گل کلم بصورت جداگانه و مخلوط آنها بر MIC و MBC باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در جدول (۴) ارائه شده‌است. نتایج جدول (۲) نشان داد در نمونه‌های باکتری به روش انتشار چاهک، بیشترین قطر هاله عدم‌رشد برای باکتری *اشریشیا کلی* در غلظت‌های ۸۰۰ ppm است که با سایر غلظت‌ها اختلاف

جدول ۲: بررسی قطر هاله عدم‌رشد عصاره‌های هیدروآتانولی در برابر باکتری *E. coli**

| مخلوط عصاره‌ها | گل کلم | کلم بروکلی | کلم سفید | کلم بنفش | کدو حلوائی | غلظت عصاره‌ها (µg/ml) |
|------------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|
| $9/17 \pm 0.57^{gA}$ | $7/00 \pm 0.10^{fB}$ | $6/83 \pm 0.28^{gB}$ | $7/00 \pm 1/00^{eB}$ | $7/33 \pm 1/04^{eB}$ | $6/66 \pm 0.28^{fB}$ | ۶/۲۵ |
| $10/83 \pm 0.28^{fA}$ | $7/16 \pm 0.28^{fB}$ | $7/00 \pm 0.10^{gB}$ | $7/33 \pm 0.57^{eB}$ | $7/83 \pm 0.76^{eB}$ | $7/16 \pm 0.28^{fB}$ | ۱۲/۵ |
| $11/83 \pm 0.76^{eA}$ | $7/50 \pm 0.5^{efC}$ | $7/83 \pm 0.28^{fC}$ | $7/83 \pm 0.76^{deC}$ | $9/16 \pm 0.28^{dB}$ | $7/33 \pm 0.57^{fC}$ | ۲۵ |
| $13/17 \pm 0.76^{dA}$ | $7/66 \pm 0.76^{efC}$ | $8/16 \pm 0.28^{efC}$ | $8/66 \pm 0.28^{cdC}$ | $10/16 \pm 0.28^{cdB}$ | $8/33 \pm 0.76^{eC}$ | ۵۰ |
| $14/00 \pm 1/00^{cdA}$ | $8/16 \pm 0.28^{deD}$ | $8/50 \pm 0.5^{deCD}$ | $8/66 \pm 0.28^{cdCD}$ | $9/67 \pm 0.28^{cdB}$ | $9/16 \pm 0.28^{dBc}$ | ۱۰۰ |
| $13/50 \pm 0.5^{dA}$ | $8/66 \pm 0.28^{dC}$ | $9/00 \pm 0.5^{cdC}$ | $8/83 \pm 0.28^{cdC}$ | $10/00 \pm 0.5^{cdB}$ | $9/50 \pm 0.5^{cdBC}$ | ۲۰۰ |
| $14/83 \pm 0.28^{bcA}$ | $9/66 \pm 0.5^{cBC}$ | $9/50 \pm 0.5^{cC}$ | $9/50 \pm 0.5^{cC}$ | $10/66 \pm 0.76^{bcB}$ | $10/00 \pm 0.5^{cBC}$ | ۴۰۰ |
| $16/00 \pm 0.5^{aA}$ | $11/16 \pm 0.76^{bBC}$ | $10/16 \pm 0.28^{bC}$ | $11/83 \pm 0.76^{bB}$ | $11/33 \pm 0.76^{bBC}$ | $11/00 \pm 0.5^{bBC}$ | ۸۰۰ |
| $15/13 \pm 0.39^{ab}$ | $15/13 \pm 0.39^a$ | $15/13 \pm 0.39^a$ | $15/13 \pm 0.39^a$ | $15/13 \pm 0.39^a$ | $15/13 \pm 0.39^a$ | جنتامایسین (کنترل) |

* داده‌ها بر حسب (میانگین \pm انحراف معیار) در سه تکرار گزارش شده‌است.

** حروف کوچک (a-g) مشابه در هر ستون و حروف بزرگ (A-C) مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده عدم اختلاف معنادار ($P < 0.05$) بر اساس آزمون دانکن بین داده‌ها است.

استافیلوکوکوس اورئوس مربوط به نمونه کدو حلوائی و کلم بروکلی با غلظت ۶/۲۵ ppm با میزان قطر هاله ۷/۱۶ میلی متر است که در همین غلظت اختلاف معنی داری با عصاره کلم بنفش و مخلوط عصاره‌ها داشت ($p < 0/05$). قطر مهار رشد در باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در غلظت‌های مختلف گیاهان مورد بررسی نشان داد که خاصیت ضد باکتری ترکیب عصاره‌ها در مهار رشد باکتری اشریشیا کلی نسبت به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مؤثرتر عمل کرده است.

نتایج جدول (۳) نشان داد در بررسی نمونه‌های گیاهان مختلف با غلظت‌های ۶/۲۵ ppm، ۱/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰، مخلوط عصاره‌ها و نمونه جنتامایسین، باکتری استافیلوکوکوس اورئوس به روش انتشار چاهک، بیشترین قطر هاله عدم رشد در غلظت ۸۰۰ ppm در مخلوط عصاره‌ها (۲۶/۱۷±۱/۲۵ میلی متر) بود که از لحاظ آماری اختلاف معناداری با نمونه جنتامایسین و سایر عصاره‌ها داشت ($p < 0/05$). کمترین قطر هاله عدم رشد باکتری

جدول ۳: بررسی قطر هاله عدم رشد عصاره‌های هیدروآتانولی در برابر باکتری *S. aureus**

| غلظت عصاره‌ها (µg/ml) | کدو حلوائی | کلم بنفش | کلم سفید | کلم بروکلی | گل کلم | مخلوط عصاره‌ها |
|-----------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| ۶/۲۵ | ۷/۱۶ ± ۰/۷۶ ^{eB} | ۸/۵۰ ± ۰/۵ ^{fA} | ۷/۳۳ ± ۰/۵۷ ^{fB} | ۷/۱۶ ± ۰/۲۸ ^{dB} | ۷/۳۳ ± ۰/۲۸ ^{fB} | ۸/۸۳ ± ۰/۷۶ ^{gA} |
| ۱۲/۵ | ۸/۰۰ ± ۱/۰۰ ^{deB} | ۹/۳۳ ± ۰/۷۶ ^{efAB} | ۸/۰۰ ± ۱/۰۰ ^{fB} | ۸/۱۶ ± ۰/۲۸ ^{cdB} | ۷/۸۳ ± ۰/۷۶ ^{fB} | ۱۰/۰۰ ± ۱/۰۰ ^{fgA} |
| ۲۵ | ۹/۱۶ ± ۰/۲۸ ^{cdeBC} | ۱۰/۱۶ ± ۰/۲۸ ^{defB} | ۸/۶۶ ± ۰/۷۶ ^{efC} | ۸/۳۳ ± ۰/۲۸ ^{cdC} | ۸/۳۳ ± ۱/۱۵ ^{efC} | ۱۱/۸۳ ± ۰/۷۶ ^{fA} |
| ۵۰ | ۹/۶۶ ± ۰/۲۸ ^{cdC} | ۱۱/۵ ± ۰/۵ ^{cdeB} | ۹/۱۶ ± ۰/۷۶ ^{deC} | ۸/۸۳ ± ۰/۲۸ ^{cdC} | ۸/۸۳ ± ۰/۷۶ ^{efC} | ۱۴/۳۳ ± ۰/۵۷ ^{eA} |
| ۱۰۰ | ۱۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{cdC} | ۱۱/۳۳ ± ۰/۵۷ ^{cdeB} | ۱۱/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{deB} | ۹/۸۳ ± ۰/۲۸ ^{cC} | ۹/۶۶ ± ۰/۲۸ ^{cdeC} | ۱۶/۳۳ ± ۰/۵۷ ^{deA} |
| ۲۰۰ | ۱۰/۸۳ ± ۱/۰۰ ^{cdCD} | ۱۲/۳۳ ± ۰/۷۶ ^{cdB} | ۱۱/۶۶ ± ۰/۲۸ ^{cdBC} | ۱۰/۱۶ ± ۰/۲۸ ^{bcD} | ۱۰/۳۳ ± ۰/۵۷ ^{cdD} | ۱۷/۶۷ ± ۰/۵۷ ^{cdA} |
| ۴۰۰ | ۱۱/۱۶ ± ۰/۲۸ ^{bcC} | ۱۳/۸۳ ± ۱/۰۴ ^{bcB} | ۱۴/۰۰ ± ۲/۰۰ ^{bcB} | ۱۰/۵۰ ± ۰/۵ ^{bcC} | ۱۱/۳۳ ± ۰/۲۸ ^{bcC} | ۱۹/۰۰ ± ۰/۵ ^{cA} |
| ۸۰۰ | ۱۳/۳۳ ± ۰/۷۶ ^{bcC} | ۱۵/۸۳ ± ۱/۵۲ ^{bbB} | ۱۵/۳۳ ± ۱/۵۲ ^{bbB} | ۱۲/۱۶ ± ۰/۲۸ ^{bcC} | ۱۳/۰۰ ± ۰/۵ ^{bcC} | ۲۶/۱۷ ± ۱/۲۵ ^{bA} |
| جنتامایسین (کنترل) | ۲۹/۵۰ ± ۲/۷۴ ^a | ۲۹/۵۰ ± ۲/۷۴ ^a | ۲۹/۵۰ ± ۲/۷۴ ^a | ۲۹/۵۰ ± ۲/۷۴ ^a | ۲۹/۵۰ ± ۲/۷۴ ^a | ۲۹/۵۰ ± ۲/۷۴ ^a |

* داده‌ها بر حسب (میانگین ± انحراف معیار) در سه تکرار گزارش شده است.

** حروف کوچک (a-f) مشابه در هر ستون و حروف بزرگ (A-C) مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده عدم اختلاف معنادار ($P < 0/05$) بر اساس آزمون دانکن بین داده‌ها است.

حداقل غلظت کشندگی ترکیب پنج عصاره در باکتری اشریشیا کلی ۶۰۰ و ۱۰۰۰ و برای استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب ۴۰۰ و ۶۰۰ بود. بر اساس جدول با توجه به حداقل بودن مقدار MIC، حساسیت استافیلوکوکوس اورئوس در برابر عصاره‌های بکار برده شده به تنهایی بیشتر بود و با غلظت کمتری از عصاره مورد استفاده، رشد آن مهار شد این در حالی است. کاربرد توام هر پنج عصاره با یکدیگر به طور قابل توجهی MIC و MBC را کاهش داد که نشان‌دهنده مؤثر بودن خاصیت ضد میکروبی آنها بر علیه میکروارگانیسم‌های مورد بررسی در مقایسه با هر یک از عصاره‌ها به تنهایی بود.

شاخص‌های MIC و MBC برای عصاره‌های هیدروآتانولی گیاهان (کدو حلوائی، کلم بروکلی، کلم سفید، کلم بنفش، گل کلم) صورت گرفته در جدول (۴) نشان داد، میزان غلظت بازدارندگی در گیاهان کدو حلوائی و کلم بروکلی و کلم گل برای باکتری اشریشیا کلی با مقدار عددی µg/ml ۴۰۰ بود و حداقل غلظت بازدارندگی برای کلم سفید ۲۰۰ و کلم بنفش ۱۰۰ µg/ml می‌باشد و برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس حداقل غلظت مهارکننده یا بازدارنده برای عصاره گیاهان کدو حلوائی و کلم بروکلی و کلم گل ۲۰۰ µg/ml و برای کلم سفید و کلم بنفش به ترتیب ۱۰۰ و ۵۰ µg/ml بود و حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی و

جدول ۴: MIC و MBC عصاره‌های هیدروآتانولی علیه دو گونه باکتری بیماری‌زای انسانی

| باکتری | | MIC / MBC | عصاره |
|------------------|----------------|-----------|----------------|
| <i>S. aureus</i> | <i>E. coli</i> | | |
| ۲۰۰ | ۴۰۰ | MIC | کدو حلوائی |
| ۴۰۰ | ۸۰۰ | MBC | |
| ۵۰ | ۱۰۰ | MIC | کلم بنفش |
| ۱۰۰ | ۲۰۰ | MBC | |
| ۱۰۰ | ۲۰۰ | MIC | کلم سفید |
| ۲۰۰ | ۴۰۰ | MBC | |
| ۲۰۰ | ۴۰۰ | MIC | کلم بروکلی |
| ۴۰۰ | ۸۰۰ | MBC | |
| ۲۰۰ | ۴۰۰ | MIC | کلم گل |
| ۴۰۰ | ۸۰۰ | MBC | |
| ۴۰۰ | ۶۰۰ | MIC | مخلوط عصاره‌ها |
| ۶۰۰ | ۱۰۰۰ | MBC | |

بحث

هیچ مطالعه‌ای گزارش نشده است اما در مطالعه‌ای مبنی بر شناسایی ترکیبات عصاره اتانولی پوست انار (*Punica granatum*) که توسط GC/MS با میزان ۲۱/۱۸ درصد گزارش شده است (۳۴). هیدروکسی‌متیل فورفورال یک آلدئید حلقوی است که در اثر تخریب قند از طریق واکنش میلارد (یک واکنش قهوه‌ای رنگی غیرآنزیمی) در طی فرآوری مواد غذایی تولید می‌شود (۳۴). در مطالعات گسترده اخیر، اثبات شده است که هیدروکسی‌متیل فورفورال دارای طیف وسیعی از تأثیرات مثبت، مانند آنتی‌اکسیدانی (۳۵)، ضد آلرژی (۳۶)، ضد التهاب (۳۷) و اثرات ضد فشار خون بالا (۳۸) است. کدو حلوائی (*C. moschata*) با تنوع گسترده‌ای در ترکیبات زیست فعال و همچنین فعالیت‌های بیولوژیکی شناخته شده است. تنوع در این ترکیبات فعال موجود در عصاره گیاه به روش استخراج و نوع حلال مورد استفاده بستگی دارد (۳۹).

چندین نویسنده گزارش کرده‌اند که ترکیبات فنولی نقش مهمی در فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی سبزیجات خانواده چلیپائیان ایفا می‌کنند (۴۰، ۴۱). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که دو ترکیب ۳-۲-دی‌هیدرو-۵-۳-دی-هیدروکسی-۶-متیل-۴-پیران-وان و نونانوئیک اسید

گونه‌های کدوئیان منبع طبیعی برخی از ترکیبات زیست فعال مانند فنل‌ها، ساپونین‌ها، اسیدهای چرب، استرول‌ها و کربوهیدرات‌ها هستند (۳۰). میوه کدو حلوائی نه تنها از نظر پروتئین، ویتامین‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاروتنوئیدها و توکوفرول‌ها (۳۱) و مواد معدنی غنی است، بلکه دارای چربی و کالری کمی است (۳۲). در بررسی‌های انجام شده در دو عصاره هیدروآتانولی و آبی توسط کروماتوگرافی گازی/طیف‌سنج جرمی، ترکیبات شیمیایی مختلفی با فراوانی‌های متفاوت از انواع کربوهیدرات‌ها، اسیدهای چرب، فنل‌ها، توکوفرول و فتالات‌ها تعیین شدند، که در عصاره هیدروآتانولی کدو حلوائی بالاترین ترکیب مربوط به یک قند پنج کربنه (دآکسی ریبوز) بود. گزارش شده است که ترکیب H۴-پیران-۴-وان، ۳، ۲-دی‌هیدرو-۵-۳-دی-هیدروکسی-۶-متیل (۴DDMP)^{۱۴} که در عصاره هیدروآتانولی بذر کدو حلوائی شناسایی شده دارای فعالیت ضد میکروبی و ضد التهاب است (۳۳). در عصاره هیدروآتانولی یک ترکیب دیگر بنام هیدروکسی‌متیل فورفورال (HMF)^{۱۵} با میزان ۱/۵۰۳۲ درصد شناسایی شده است. این ترکیب در شناسایی ترکیبات فیتوشیمیایی کدو در

¹⁵ Hydroxymethylfurfurole

¹⁴ 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl

در سه گیاه کلم قرمز، کلم سفید و کلم گل مشترک بودند؛ گزارش شده که این ترکیب ویژگی ضد التهابی و ضد میکروبی دارد (۴۲). بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی گیاهان خانواده چلیپاییان در مطالعه حاضر وجود ترپنوئیدها، آلکالوئیدها، تانن‌ها، استروئیدها و ساپونین‌ها را در عصاره‌های هیدروآتانولی و آبی کلم قرمز، کلم سفید، کلم بروکلی و کلم گل را تأیید کرد. بر اساس نتایج GC-MS، عصاره‌های گیاهان مورد بررسی دارای بسیاری از ترکیبات آنتی-اکسیدانی مانند گاما-سیتوسترول و دی‌متیل تری‌سولفید، کامپسترول، هگزادکانونیک اسید، استیگماسترول و ویتامین E هستند. استیگماسترول یک فیتوسترول اشباع نشده پیش‌ساز پروژسترون است که در مکانیسم‌های بازسازی بافت مربوط به اثرات استروژن مفید است و همچنین به عنوان پیش‌ساز ویتامین D₃ و واسطه در بیوسنتز آندروژن‌ها، استروژن‌ها و کورتیکوئیدها عمل می‌کند (۴۳). با توجه به گزارشات به-دست آمده از بررسی‌های انجام شده در مطالعه حاضر می-توان اظهار نمود که گیاهان خانواده چلیپاییان با توجه به انواع ترکیبات مختلف فیتوشیمیایی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهاب، ضد سرطان و دارای خواص دارویی هستند؛ از این رو می‌توان از گیاهان این خانواده در تولید محصولات فراسودمند در صنایع غذایی و دارویی بهره‌مند گردید.

در پژوهش حاضر تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره هیدروآتانولی پنج گیاه کدو حلوائی، کلم بنفش، کلم سفید، کلم بروکلی و گل کلم به صورت جداگانه و ترکیبی در مهار رشد باکتری‌های *اشریشیاکلی* و *استافیلوکوکوس*-*اورئوس* مورد بررسی قرار گرفته شده است. نتایج تحقیق نشان داد در نمونه‌های باکتری به روش انتشار چاهک، بیشترین قطر هاله عدم رشد برای باکتری *اشریشیاکلی* در غلظت‌های ۸۰۰ µg/ml است، هاله عدم رشد در باکتری *اشریشیاکلی* توسط عصاره تمام گیاهان تشکیل شده است ولی قطر آن با افزایش غلظت عصاره‌ها افزایش یافته است. تمامی عصاره‌های هیدروآتانولی بر روی باکتری‌های *اشریشیاکلی* اثر داشته، بیشترین هاله عدم رشد برای باکتری *اشریشیاکلی* برابر با ۱۶ میلی‌متر مربوط به مخلوط عصاره‌ها

در غلظت ۸۰۰ µg/ml بوده است و کمترین قطر هاله مربوط به نمونه کدو حلوائی با مقدار ۶/۶۶ میلی‌متر می‌باشد. قطر هاله عدم رشد باکتری توسط جنتامایسین به عنوان یک آنتی-بیوتیک و نمونه کنترل در این پژوهش ۱۵/۱۳ میلی‌متر شد که نسبت به نمونه‌های گیاهان مختلف بجز مخلوط عصاره‌ها، بالاترین هاله را دارا بوده است این در حالی است که غلظت ۸۰۰ µg/ml در تمام نمونه‌های حاصل از گیاهان مختلف با مقدار عددی حدوداً ۱۱ دارای خاصیت ضد میکروبی بوده است اما نمونه شاهد با نمونه‌های با غلظت‌های پایین دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال (p<۰/۰۵) است. با افزایش مقدار غلظت عصاره گیاهان مختلف قطر هاله افزایش و خاصیت ضد میکروبی افزایش یافته است. بین عصاره‌های گیاهان مختلف عصاره حاصل از کلم سفید دارای خاصیت ضد میکروبی بالایی بوده این در حالی است که تمامی نمونه-ها بجز مخلوط عصاره‌ها از نمونه کنترل میزان خواص ضد باکتری کمتری داشتند، غلظت ۸۰۰ µg/ml عصاره‌ها با هم اختلاف آماری معنی‌داری داشتند (p<۰/۰۵) که مخلوط عصاره‌ها دارای مقدار عددی بیشتر و کمترین میزان هاله تشکیل شده مربوط به گیاه کلم بروکلی با مقدار ۱۰/۱۶ میلی‌متر بوده است. قطر هاله عدم رشد در باکتری *استافیلوکوکوس/اورئوس* در غلظت‌های مختلف گیاهان مورد بررسی نسبت به نمونه کنترل اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال (p<۰/۰۵) داشت و این نتایج نشان داد که خاصیت ضد باکتری ترکیب عصاره‌ها در مهار رشد باکتری *اشریشیاکلی* نسبت به باکتری *استافیلوکوکوس/اورئوس* مؤثرتر عمل کرده است. غلظت‌های متفاوت عصاره نیز در اثر ضد میکروبی آن مؤثر است و در مطالعه‌های متعددی با تغییر میزان غلظت عصاره، آثار ضد میکروبی گیاه تغییر کرده است بنابراین با کاهش غلظت عصاره، اغلب از قطر هاله عدم رشد باکتری نیز کاسته می‌شود. همچنین، بیشترین فعالیت ضد میکروبی در رقت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره مشاهده گردید. این نتیجه با نتایج بدست آمده توسط رفیعی و رضانی (۲۰۱۲) که بیان نمودند با افزایش غلظت، قطر هاله بازداری بیشتر می‌گردد، مطابقت دارد. در بین باکتری‌های

گرم مثبت، باکتری *استرپتوکوکوس پیوژنز* با قطر هاله ۲۰ میلی‌متر بیش‌ترین حساسیت را نسبت به عصاره نشان داد و در بین باکتری‌های گرم منفی، *کلبسیلا پنومونیه* با قطر هاله ۱۸ میلی‌متر دارای بیشترین قطر هاله عدم رشد بودند (۴۴). در مطالعه‌ای دیگر مشاهده شد که مناطق مهار رشد با افزایش غلظت عصاره گیاهی افزایش یافت، نتایج نشان داد که عصاره میخک و به‌دنبال آن عصاره نعنای (۸۰۰ $\mu\text{g/ml}$) دارای مناطق مهار کنندگی بالا، به ترتیب ۳۸، ۳۵ میلی‌متر در مقایسه با سیروفلو کس‌اسین (۴۰ میلی‌متر) در برابر باکتری‌های بیماری‌زا است که در غلظت ۸۰۰ $\mu\text{g/ml}$ در مقایسه با دو غلظت ۴۰۰ و ۲۰۰ $\mu\text{g/ml}$ بالاترین فعالیت ضد میکروبی را نشان دادند (۴۵). با توجه به اینکه در پژوهش حاضر با افزایش یافتن غلظت عصاره‌ها میزان قطر هاله افزایش یافته می‌توان تأثیر افزایش غلظت بر بالا بردن خواص ضد میکروبی را در هر دو مطالعه مشاهده و هم‌راستا خواند.

بر اساس جدول (۴) با توجه به حداقل بودن مقدار MIC، حساسیت *استافیلوکوکوس اورئوس* در برابر عصاره‌های بکار برده شده به تنهایی بیشتر بود و با غلظت کمتری از عصاره مورد استفاده، رشد آن مهار شد این در حالی است با توجه به حداکثر بودن MIC، حساسیت *اشریشیا کلی* در برابر عصاره‌های بکار برده شده به تنهایی کمتر بود. کاربرد توأم هر پنج عصاره با یکدیگر به‌طور قابل توجهی MIC و MBC را کاهش داد که نشان‌دهنده مؤثر بودن خاصیت ضد میکروبی آن‌ها بر علیه میکروارگانیزم‌های مورد بررسی در مقایسه با هر یک از عصاره‌ها به تنهایی بود. به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً اثر آنتی‌باکتریال عصاره‌ها بر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به گرم منفی بیشتر است از طرفی استخراج هیدروالکلی عصاره‌ها سبب افزایش غشاء تراوایی شده و میزان ترکیبات خروجی از غشا افزایش یافته است.

فعالیت ضد میکروبی گونه‌های مختلف سبزیجات، گیاهان و مشتقات آنها از زمان‌های قدیم به‌طور گسترده‌ای شناخته شده است (۴۶). کدو حلوائی منبع بالقوه‌ای برای عوامل ضد میکروبی برای صنایع دارویی و غذایی در نظر گرفته می‌شود. در مطالعه‌ای تمامی جدایه‌ها از نظر فعالیت ضد میکروبی کدو

حلوائی ژاپنی با استفاده از روش انتشار دیسک غربالگری شدند، برخی از گونه‌های باکتری، متشکل از *باسیلوس* - سرئوس، *اشریشیا کلی* و *کورینه باکتریوم* و *استافیلوکوک*‌های *کواگولاز منفی*، با استفاده از پلی‌ساکارید و عصاره کاروتنوئیدی به‌دست آمده از محصول جانبی کدو حلوائی ژاپنی مهار شدند (۴۷). همچنین عصاره پوست، گوشت و روغن دانه کدو حلوائی (*C. pepo*) برای فعالیت ضد میکروبی در برابر باکتری‌های گرم مثبت *باسیلوس سوبتیلیس* و *باسیلوس سرئوس* و مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* با نتایج مثبت ارزیابی شد (۴). سبزیجات دارای انواع مختلفی از مولکول‌ها هستند که حمله باکتری‌های بیماری‌زا و میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا گیاهی را مهار می‌کنند که گیاهان خانواده چلیپائیان از این امر مستثنی نیستند؛ به‌عنوان مثال، عصاره‌های اتیل استات-اتانول و اتیل استات-کلروفرم کلم بروکلی به ترتیب در برابر *اشریشیا کلی* و *کاندیدا آلیکنس* فعالیت ضد میکروبی نشان دادند و عصاره آبی گلچله‌ها دارای اثر مهار کنندگی در برابر *کلبسیلا پنومونیه* بود (۴۸، ۴۹). در مطالعه‌ای گزارش شده است که کلم بروکلی حاوی اسید آسکوربیک، اسیدهای مالیک، ترکیبات فنولیک و اسیدهای کافنیک است که به‌نظر می‌رسد مسئول اثر مهار کنندگی در برابر باکتری *لیستریا مونوسیژنوز* هستند (۵۰). در گیاهان خانواده چلیپائیان، *گلیکوزیلاسیون تری*-ترین‌ها یکی از مکانیسم‌های دفاعی گیاه است که خواص فیزیولوژیکی و فعالیت‌های بیولوژیکی تری‌ترین‌ها را به ساپونین‌های تری‌ترینیک تغییر می‌دهد (۵۱) که منشأ چندین ویژگی عملکردی از جمله ضد التهابی، ضد قارچی، ضد باکتریایی، ضد قارچی، فعالیت‌های انگلی، ضد سرطانی و ضد ویروسی است (۵۲). پتانسیل زیست فعال گلوکوزینولات‌های تولید شده توسط سبزیجات خانواده چلیپائیان مشهود است و آنها را به کاندیدای عالی در کنترل زیستی پاتوژن‌هایی تبدیل می‌کند که باعث عفونت‌های جدی در انسان می‌شوند. بر اساس مطالعات ارائه شده توسط Prasad و همکاران (۲۰۱۵)، عصاره اتانولی کلم سفید و گل

می‌شود جایگزین‌های خوبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها و نگهدارنده‌های شیمیایی باشند (۶۰).

ممکن است اسانس یا عصاره یک گیاه دارویی بر یک میکروارگانیسم اثر قابل توجهی داشته باشد ولی بر میکروارگانیسم دیگری دارای اثر کمتر و یا بدون اثر باشد. البته باید توجه داشت که عوامل مختلفی مانند: تعیین غلظت ممانعت از رشد مناسب، روش و حلال بکار برده شده جهت عصاره‌گیری و محیط کشت مورد استفاده جهت انجام آزمایشات ضدباکتریایی، نوع پاسخ دریافتی این گونه آزمایشات را تحت تأثیر قرار می‌دهد، تفاوت در تأثیر عصاره‌های گیاهی بر باکتری‌ها به عوامل مختلفی وابسته است که از آن میان می‌توان به منطقه جغرافیایی رویش، رقم و سن گیاه، روش خشک کردن گیاه، روش استخراج ترکیبات مؤثره، نوع حلال، غلظت عصاره و نوع محیط کشت اشاره نمود (۶۱).

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر ترکیبات شیمیایی توسط GC-MS عصاره هیدروآتانولی کدو حلوائی و چهار گیاه خانواده چلیپائیان (کلم بنفش، کلم سفید، کلم بروکلی و گل کلم) را بررسی کرد. کدو حلوائی (*C. moschata*) به دلیل داشتن ترکیبات شیمیایی متنوع از جمله کربوهیدرات، اسید چرب، توکوفرول، فنل‌ها و سایر ترکیبات، به عنوان یک ترکیب غذایی مهم به حساب می‌آید. بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی گیاهان خانواده چلیپائیان در مطالعه حاضر وجود تریپنئیدها، آلکالوئیدها، تانن‌ها، استروئیدها و ساپونین‌ها را در عصاره‌های هیدروآتانولی و آبی کلم بنفش، کلم سفید، کلم بروکلی و کلم گل را تأیید کرد. بر اساس نتایج GC-MS، عصاره‌های گیاهان مورد بررسی دارای بسیاری از ترکیبات آنتی-اکسیدانی مانند گاما-سیتوسترول و دی‌متیل تری‌سولفید، کامپسترول، هگزادکانوئیک اسید، استیگماسترول و ویتامین E هستند. عصاره‌های گیاهان به خصوص ترکیب آنها با یکدیگر در مطالعه حاضر نشان داد که بر مهار رشد باکتری-های گرم مثبت و منفی اثر قابل توجهی داشتند. بنابراین،

کلم دارای فعالیت بازدارنده بر علیه *اشریشیاکلی*، *باسیلوس-سوتیلیس* و *سالمونلا/پیدرمیس* با مهار ۸۵-۶۵ درصدی در برابر کنترل (استرپتومایسین) است، این تأیید می‌کند که امکان دستیابی به اثراتی نزدیک به اثرات نشان داده شده توسط داروهای تجاری وجود دارد (۵۳). نتایج مطالعه‌ای همچنین تأیید می‌کند که استخراج اتانول باعث بهبود عملکرد ترکیبات ضد میکروبی در گیاهان می‌شود (۵۴).

مطابق با نتایج مطالعه حاضر باکتری‌های گرم منفی حساسیت کمتری به عوامل ضد میکروبی دارند که علت احتمالی آن وجود لیپولی ساکاریدهای دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی می‌باشد که مانند سد از عبور مولکول‌های بزرگ و آب‌گریز ممانعت می‌کند و از آنجایی که اکثر ترکیبات مؤثر موجود در عصاره‌ها و اسانس‌ها ماهیت آبگریزی دارند لذا می‌توان نتیجه گرفت که این مواد امکان نفوذ و دسترسی به نقاط فعال داخل باکتری‌های گرم منفی را ندارند و به همین دلیل معمولاً باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت مقاومت بیشتری نسبت به ترکیبات گیاه و سایر عوامل ضد میکروبی نشان می‌دهند (۵۵). اثر ترکیبات فنولیک بر رشد میکروب‌ها در تغییرپذیری دیواره سلولی و خروج ماکرومولکول‌ها از درون سلول مؤثر است و به ناپودی میکروارگانیسم منجر می‌گردد (۵۶-۵۸). پاد اکسند‌های طبیعی مانند ترکیبات فنولی به دلیل فواید آنها برای سلامتی انسان، کاهش ریسک بیماری‌های کشنده توسط کاهش استرس اکسیداتیو و جلوگیری از اکسیداسیون ماکرومولکول‌ها اهمیت بسیار زیادی دارند (۵۹). ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی عمدتاً ناشی از قدرت احیا کنندگی و ساختار شیمیایی آنهاست که آنها را قادر به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، تشکیل کمپلکس و یون‌های فلزی و خاموش کردن ملکول‌های اکسیژن سه‌گانه می‌سازد. ترکیبات فنلی از طریق اهداء الکترون به رادیکال‌های آزاد، واکنش‌های اکسیداسیون چربی را مهار می‌کنند. علاوه بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی مطالعات متعددی فعالیت ضد میکروبی فنول‌ها و عصاره‌های فنولی را اثبات کرده است که باعث

سلامتی در نظر گرفته شود؛ از این رو، مصرف آنها فواید مختلفی برای بهبود سلامت دارد.

عصاره استخراج شده از کدو حلوائی و گیاهان خانواده چلیپائیان با توجه به ترکیبات شیمیایی متنوع آنها می‌توانند به عنوان منبع ترکیب‌هایی با پتانسیل دارویی بالا و مزایای

منابع

- Jongen W. Fruit and vegetable processing: Improving quality: Elsevier; 2002.
- Perez Gutierrez RM. Review of *Cucurbita pepo* (pumpkin) its phytochemistry and pharmacology. Med chem. 2016;6(1):2161-0444.1000316.
- Montesano D, Rocchetti G, Putnik P, Lucini L. Bioactive profile of pumpkin: An overview on terpenoids and their health-promoting properties. Current Opinion in Food Science. 2018;22:81-7.
- Badr SE, Shaaban M, Elkholy YM, Helal MH, Hamza AS, Masoud MS, et al. Chemical composition and biological activity of ripe pumpkin fruits (*Cucurbita pepo* L.) cultivated in Egyptian habitats. Natural product research. 2011;25(16):1524-39.
- Raza A, Hafeez MB, Zahra N, Shaukat K, Umbreen S, Tabassum J, et al. The plant family *Brassicaceae*: Introduction, biology, and importance. The plant family *brassicaceae*: Springer; 2020. p. 1-43.
- Leja M, Kamińska I, Kołton A. Phenolic compounds as the major antioxidants in red cabbage. Folia Horticulturae. 2010;22(1):19-24.
- Singh J, Upadhyay A, Bahadur A, Singh B, Singh K, Rai M. Antioxidant phytochemicals in cabbage (*Brassica oleracea* L. var. capitata). Scientia Horticulturae. 2006;108(3):233-7.
- Kristal AR, Lampe JW. Brassica vegetables and prostate cancer risk: a review of the epidemiological evidence. Nutrition and cancer. 2002;42(1):1-9.
- Oancea S, Mila L, Ketney O. Content of Phenolics, in vitro Antioxidant Activity and Cytoprotective Effects against Induced Haemolysis of Red Cabbage Extracts. Biotech Lett. 2019;24:1-9.
- Singab A, Ayoub N, Noaman E, Fadia S. Hepatoprotective activity of different extracts of *Brassica oleracea* capitata rubra leaves (red cabbage) against CCl₄ induced hepatotoxicity in rats. Youssef Bull Facult Pharm Cairo Univ. 2009;47(3).
- Heo HJ, Lee CY. Phenolic phytochemicals in cabbage inhibit amyloid β protein-induced neurotoxicity. LWT-Food Science and Technology. 2006;39(4):331-7.
- Aziz M, Karboune S. Natural antimicrobial/antioxidant agents in meat and poultry products as well as fruits and vegetables: A review. Critical reviews in food science and nutrition. 2018;58(3):486-511.
- Seong G-U, Hwang I-W, Chung S-K. Antioxidant capacities and polyphenolics of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. Pekinensis) leaves. Food Chemistry. 2016;199:612-8.
- Verma AK, Pathak V, Singh VP, Umaraw P. Storage study of chicken meatballs incorporated with green cabbage (*Brassica oleracea*) at refrigeration temperature (4±1°C) under aerobic packaging. Journal of applied animal research. 2016;44(1):409-14.
- Jaafar NA. In vitro efficacy assessment of cauliflower (*Brassica oleracea* var. Botrytis) alcoholic extract in mortality percentage of motile stage of mite (*Teranychusurticae* Koch). Annals of Tropical Medicine and Health. 2020;23:94-102.
- Hussein M. Response of Cauliflower plants to spray with nutrients solutions from different sources. Iraqi Journal of Agricultural Sciences. 2016;47(5).
- Shu J, Liu Y, Li Z, Zhang L, Fang Z, Yang L, et al. Detection of the diversity of cytoplasmic male sterility sources in broccoli (*Brassica oleracea* var. Italica) using mitochondrial markers. Frontiers in plant science. 2016;7:927.
- Marino D, Ariz I, Lasa B, Santamaría E, Fernández-Irigoyen J, González-Murua C, et al. Quantitative proteomics reveals the importance of nitrogen source to control glucosinolate metabolism in Arabidopsis thaliana and Brassica oleracea. Journal of experimental botany. 2016;67(11):3313-23.
- Branca F, Picchi V, De Barros A, Bifera R, Donzella E, Tribulato A, et al., editors. Phytochemical content of the wild and cultivated Brassica (n= 9) collection of the ECPGR "COCHEVA BRAS" project. VII International Symposium on Brassicas 1202; 2017.
- Maggioni L, Branca F, editors. Exploiting Sicilian *Brassica oleracea* L. complex species for the innovation of the agricultural systems and products: A review analysis. International Symposium on Survey of Uses of Plant Genetic Resources to the Benefit of Local Populations 1267; 2017.
- Scrob T, Hosu A, Cimpoiu C. The Influence of in vitro gastrointestinal digestion of *Brassica oleracea* florets on the antioxidant activity and chlorophyll, carotenoid and phenolic content. Antioxidants. 2019;8(7):212.
- Chauhan H, Singh M. Phytochemical characterization and antibacterial potential of

- Indian and Chinese cabbage genotypes against human pathogens in Uttarakhand, India. *International Journal of Recent Scientific Research*. 2019; 10(12): 36462-36466.
23. Murray P, Baron R. P, Tenover FC, Tenover MC. *Manual of clinical microbiology* 7th Ed, American society for microbiology. 1999:1564-70.
 24. Shirazi M, Fazeli M, Sultan Dallal M, Eshraghi S, Jamalifar H, Alamulhoda E. A comparative study on the Antimicrobial Effect of some Medicinal Herbal Extracts and Selective Antibiotics against the clinical Isolates of *Helicobacter pylori*. *Journal of Medicinal Plants*. 2003;3(7):53-60.
 25. Skočibušić M, Bezić N, Dunkić V, Radonić A. Antibacterial activity of *Achillea clavennae* essential oil against respiratory tract pathogens. *Fitoterapia*. 2004;75(7-8):733-6.
 26. Sökmen A, Vardar-Ünlü G, Polissiou M, Daferera D, Sökmen M, Dönmez E. Antimicrobial activity of essential oil and methanol extracts of *Achillea sintenisii* Hub. Mor.(Asteraceae). *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*. 2003;17(9):1005-10.
 27. Oguntibeju OO. Hypoglycaemic and anti-diabetic activity of selected African medicinal plants. *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology*. 2019;11(6):224.
 28. Reller LB, Weinstein M, Jorgensen JH, Ferraro MJ. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. *Clinical infectious diseases*. 2009;49(11):1749-55.
 29. Stojanović G, Radulović N, Hashimoto T, Palić R. In vitro antimicrobial activity of extracts of four *Achillea* species: The composition of *Achillea clavennae* L.(Asteraceae) extract. *Journal of ethnopharmacology*. 2005;101(1-3):185-90.
 30. Enneb S, Drine S, Bagues M, Triki T, Boussora F, Guasmi F, et al. Phytochemical profiles and nutritional composition of squash (*Cucurbita moschata*) from Tunisia. *South African Journal of Botany*. 2020;130:165-71.
 31. Stevenson DG, Eller FJ, Wang L, Jane J-L, Wang T, Inglett GE. Oil and tocopherol content and composition of pumpkin seed oil in 12 cultivars. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2007;55(10):4005-4013.
 32. Kim MY, Kim EJ, Kim Y-N, Choi C, Lee B-H. Comparison of the chemical compositions and nutritive values of various pumpkin (*Cucurbitaceae*) species and parts. *Nutrition research and practice*. 2012;6(1):21-7.
 33. Rane Z, Anish-Kumar P, Bhaskar A. Phytochemical evaluation by GC-MS and in vitro antioxidant activity of *Punica granatum* fruit rind extract. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2012;4(6):2869-73.
 34. Vijayalakshmi K, Ashok Kumar K. GC-MS analysis of phytochemical constituents in ethanolic extract of *Punica granatum* peel and *Vitis vinifera* seeds. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2011;2(4):461-68.
 35. Zhao L, Chen J, Su J, Li L, Hu S, Li B, et al. In vitro antioxidant and antiproliferative activities of 5-hydroxymethylfurfural. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2013;61(44):10604-11.
 36. Yamada P, Nemoto M, Shigemori H, Yokota S, Isoda H. Isolation of 5-(hydroxymethyl) furfural from *Lycium chinense* and its inhibitory effect on the chemical mediator release by basophilic cells. *Planta medica*. 2011;77(05):434-40.
 37. Kitts DD, Chen X-M, Jing H. Demonstration of antioxidant and anti-inflammatory bioactivities from sugar-amino acid Maillard reaction products. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2012;60(27):6718-6727.
 38. Lin S-M, Wu J-Y, Su C, Ferng S, Lo C-Y, Chiou RY-Y. Identification and mode of action of 5-hydroxymethyl-2-furfural (5-HMF) and 1-methyl-1, 2, 3, 4-tetrahydro- β -carboline-3-carboxylic acid (MTCA) as potent xanthine oxidase inhibitors in vinegars. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2012;60(39):9856-62.
 39. Hayouni EA, Abedrabba M, Bouix M, Hamdi M. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food chemistry*. 2007;105(3):1126-34.
 40. Rubab M, Chelliah R, Saravanakumar K, Mandava S, Khan I, Tango CN, et al. Preservative effect of Chinese cabbage (*Brassica rapa* subsp. *pekinensis*) extract on their molecular docking, antioxidant and antimicrobial properties. *PloS one*. 2018;13(10):e0203306.
 41. Rubab M, Chelliah R, Saravanakumar K, Kim J-R, Yoo D, Wang M-H, et al. Phytochemical characterization, and antioxidant and antimicrobial activities of white cabbage extract on the quality and shelf life of raw beef during refrigerated storage. *RSC Advances*. 2020;10(68):41430-42.
 42. Ramalakshmi S, Muthuchelian K. Studies on cytotoxicity, phytotoxicity and volatile profile of flower extract of *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC. *Medicinal Plants-International Journal of Phytomedicines and Related Industries*. 2012;4(3):154-61.

43. Panihar N. Preliminary Study of Antioxidant Potential and Gas Chromatography-mass Spectroscopy (GC-MS) Analysis of *Brassica oleracea* Florets. International Journal of Green Pharmacy (IJGP). 2018;12(02).
44. Rafei F, Ramzani. Antimicrobial Effects of Essential Oil and Extract (Water) of Lime Sour on Oral Microorganisms. Journal of Microbiology Biotechnology, Islamic Azad University. 2012;4(14).
45. Saad AM, Mohamed AS, El-Saadony MT, Sitohy MZ. Palatable functional cucumber juices supplemented with polyphenols-rich herbal extracts. LWT. 2021;148:111668.
46. Koley H, Howlader DR, Bhaumik U. Assessment of antimicrobial activity of different phytochemicals against enteric diseases in different animal models. New look to phytomedicine: Elsevier; 2019. p. 563-80.
47. Tadee P, Chukiatsiri K, Amornlerdpisan D, Paserakung A, Kittiwat N. Antimicrobial effect of Japanese pumpkin (*Cucurbita maxima*) extract on local mastitis pathogen. Veterinary Integrative Sciences. 2020;18(3):141-52.
48. Caroling G, Tiwari SK, Ranjitham AM, Suja R. Biosynthesis of silver nanoparticles using aqueous broccoli extract-characterization and study of antimicrobial, cytotoxic effects. Asian J Pharm Clin Res. 2013;6(4):165-72.
49. Motawea H, Hashem F, El-Shabrawi A, El-Sherbini S. Brassica oleracea L. var italica: a nutritional supplement for weight loss. Australian Journal of Medical Herbalism. 2010;22(4):127-31.
50. Corrêa C, Martin J, Alencar SMd, Porto E. Antilisterial activity of broccoli stems (*Brassica oleracea*) by flow cytometry. International Food Research Journal. 2014;21(1):395.
51. Bönisch F, Frotscher J, Stanitzek S, Rühl E, Wüst M, Bitz O, et al. A UDP-glucose: monoterpenol glucosyltransferase adds to the chemical diversity of the grapevine metabolome. Plant Physiology. 2014;165(2):561-81.
52. Mugford ST, Osbourn A. Saponin synthesis and function. Isoprenoid synthesis in plants and microorganisms: Springer; 2012. p. 405-24.
53. Prasad M, Joshi S, Narendra K, Nadiya S, Masthani S, Phani N, et al. A comparative study of phytochemical analysis and In vitro antimicrobial activity of three important vegetables from Brassicaceae family. International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy. 2015;6(6):767-72.
54. Redfern J, Kinninmonth M, Burdass D, Verran J. Using soxhlet ethanol extraction to produce and test plant material (essential oils) for their antimicrobial properties. Journal of microbiology & biology education. 2014;15(1):45-6.
55. Damyeh MS, Niakousari M, Saharkhiz MJ. Ultrasound pretreatment impact on Prangos ferulacea Lindl. and Satureja macrosiphonia Bornm. essential oil extraction and comparing their physicochemical and biological properties. Industrial Crops and Products. 2016;87:105-15.
56. Kouidhi B, Al Qurashi YMA, Chaieb K. Drug resistance of bacterial dental biofilm and the potential use of natural compounds as alternative for prevention and treatment. Microbial pathogenesis. 2015;80:39-49.
57. Anagnostopoulou MA, Kefalas P, Kokkalou E, Assimopoulou AN, Papageorgiou VP. Analysis of antioxidant compounds in sweet orange peel by HPLC–diode array detection–electrospray ionization mass spectrometry. Biomedical chromatography. 2005;19(2):138-48.
58. Sadegh pour M. Antibacterial effect of hydroalcoholic extract of orange peel (citrus sinensis peel) in laboratory conditions. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2017;27(147).
59. Silva BM, Andrade PB, Valentão P, Ferreres F, Seabra RM, Ferreira MA. Quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit (pulp, peel, and seed) and jam: antioxidant activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2004;52(15):4705-12.
60. Pokorný J. Are natural antioxidants better—and safer—than synthetic antioxidants? European Journal of Lipid Science and Technology. 2007;109(6):629-42.
61. Chan EWC, Lim YY, Omar M. Antioxidant and antibacterial activity of leaves of Etlingera species (*Zingiberaceae*) in Peninsular Malaysia. Food chemistry. 2007;104(4):1586-93.

Investigation of chemical compounds using GC-MS and antimicrobial properties of hydroethanolic extracts of pumpkin and some plants of the *Cruciferous* Family (*Brassicaceae*)

Zahra Latifi ¹, Saeid Abediankenari^{2*}, Aliakbar Mashayekh³

¹ Ph.D. Student of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Nour Branch, Mazandaran, Iran

² Professor of immunology (PhD), Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Assistant Professor of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Humanities and Social Sciences, Islamic Azad University, Nour Branch, Mazandaran, Iran

Abstract:

Fruits and vegetables are widely used because of their important contribution to the nutritional value and health benefits of humans. In the present study, their chemical composition by GC-MS and antimicrobial activity by disc diffusion method, minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bacterial concentration (MBC) of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria of hydroethanolic extracts of pumpkin and some members of the *cruciferous* family (purple cabbage, white cabbage, broccoli, cauliflower) were investigated. For this purpose, 70% ethanol extract of these plants was prepared by maceration method. In the hydroethanolic extract of pumpkin have been identified 16 chemical compounds, the highest amount of which was D-erythro-pentose, 2-deoxy compound (35.1573%). In the hydroethanolic extracts of purple cabbage and white cabbage, the highest amount of the detected compound was related to 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-Pyran-4-one with values of 16.9053% and 27.1634%, respectively. In broccoli and cauliflower, gamma-sitosterol composition was the highest with 20.6942% and 19.5213%, respectively. In the investigation of the antimicrobial activity of hydroethanolic extracts, it was observed that with increasing the concentration of the extract, the diameter of the halo of non-growth in *E. coli* and *S. aureus* increased significantly ($p < 0.05$). The diameter of growth inhibition in *S. aureus* bacteria in different concentrations of the studied plants showed that the antibacterial property of the combination of extracts was more effective in inhibiting the growth of *E. coli* bacteria than *S. aureus* bacteria. The combined use of all five extracts together significantly reduced the MIC and MBC, which indicated the effectiveness of their antimicrobial properties against the investigated microorganisms compared to each of the extracts alone.

Keywords: Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria, chemical compounds, *Cruciferous* family, Pumpkin, Gas chromatography

* abedianlab@yahoo.co.uk