



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

زهره الطیفی^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 مهار کنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) باکتری‌های اشریشیاکلی و استافیلکوکوس اورئوس عصاره‌های هیدروراتانولی کدو حلوائی و برخی از اعضاء خانواده چلیپائیان (کلم بنفس، 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 هیدروراتانولی کدو حلوائی ۱۶ ترکیب شیمیایی شناسایی شده است که بالاترین میزان در ترکیب D-اریترو-پنتوز، ۲-دی‌اکسی (۱۵۷۳ درصد) بود. در عصاره‌های هیدروراتانولی کلم بنفس و کلم سفید، بالاترین میزان ترکیب شناسایی شده مربوط به ۳.۲-دی‌هیدرو-۵-دی‌هیدرو-کسی-۶-متیل-H۴-پیران-۴-وان به ترتیب با مقادیر ۱۶/۹۰۵۳ درصد و ۲۷/۱۶۳۴ درصد بود. در کلم بروکلی و گل کلم ترکیب گاما-سیتوسترون به ترتیب با ۲۰/۶۹۴۲ درصد و ۱۹/۵۲۱۳ درصد بالاترین میزان را دارا بودند. در بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های هیدروراتانولی مشاهده شد که با افزایش غلظت عصاره، قطره‌های عدم رشد در دو گونه باکتری اشریشیاکلای و استافیلکوکوس-اورئوس افزایش معنی داری یافت ($p < 0.05$). قطره‌های عدم رشد در باکتری استافیلکوکوس اورئوس در غلظت‌های مختلف گیاهان مورد بررسی نشان داد که خاصیت ضد باکتری ترکیب عصاره‌ها در مهار رشد باکتری اشریشیاکلی نسبت به باکتری استافیلکوکوس-اورئوس مؤثرتر عمل کرده است. کاربرد توازن 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 میکرووارگانیسم‌های مورد بررسی در مقایسه با هر یک از عصاره‌ها به تنها یک بود.

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

* abedianlab@yahoo.co.uk

خانواده متشکل از گیاهان یکساله، دوساله و همچنین چند ساله است (۵). سبزیجات خانواده چلیپائیان، منبعی غنی از مواد تقویت‌کننده سلامتی می‌باشند که خطر بسیاری از بیماری‌ها را کاهش می‌دهند. به غیر از گلوکوزینولات ضد سرطان، آنها دارای آنتی‌اکسیدان‌های آب دوست (ویتامین C، پلی فنول) و آبگریز (کاروتونوئیدها، ویتامین E) هستند که می‌توانند گونه‌های اکسیژن فعال را خشی و رادیکال‌های آزاد را خاموش کنند (۶). کلم قرمز (*Brasica oleracea* var. *Brasica oleracea* var. *capitata* f. *rubra*) یک منبع غذایی غنی از مواد شیمیایی گیاهی، به ویژه (پلی) فنولیک‌ها، فلاونوئیدها، آنتوسيانین‌ها، اسید آسکوربیک، α -توکوفرول، β -کاروتن، لوئیزین 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 (هپاپروتکتیو)^۶ (۱۰) و محافظت از نورون‌ها (نوروپروتکتیو)^۷ (۱۱) توسط عصاره کلم قرمز در موش را به دلیل محتوای فنولیک/آنتوسيانین بالای آن گزارش کرده‌اند (۹). کلم سفید (*Brassica oleracea* var. *AWC*) یکی از محصولات اصلی چلیپائیان است که به طور گستردۀ به عنوان 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 ریبوفلافاوین)، مواد معدنی (کلسیم، پتاسیم و منیزیم) و آمینواسیدهای تریپتوфан است (۱۴).

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

مقدمه

میوه‌ها و سبزیجات که اغلب به عنوان "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. به طور کلی غذاهای گیاهی منبعی با طیف گسترده‌ای از ترکیبات زیست فعال هستند که به عنوان 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 سوتیلیس، باسیلوس سرئوس و مخمر ساکارومایسیس سرویزیه با نتایج مثبت آزمایش شد (۴).

خانواده چلیپائیان^۸ از بزرگ‌ترین خانواده‌های گیاهان گل دار یا آنزیوپسیرم‌ها^۹ و متعلق به راسته کلم‌سانان^{۱۰} هستند. این

^۵ Hypocholesterolaemic

^۶ Hepatoprotective

^۷ Neuroprotective

² Brassicaceae

³ Angiosperm

⁴ Brassicales

شناسایی شد. کدو، کلم بنفسن، کلم سفید، کلم بروکلی و گل کلم به ترتیب دارای کدهای اختصاصی ۴۱۱B0*IMPSB، ۴۱۲B0*IMPSB، ۴۱۳Cm*IMPSB، ۴۱۰B0*IMPSB و ۴۰۹B0*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 بنفسن، 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، محتويات از طریق کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ در یک بشر ۲۵۰ میلی‌لیتری فیلتر و حلال نمونه هیدرواتانولی توسط دستگاه روتاری اوپراتور (Stuart RE300 Rotary Evaporator) در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد تبخیر گردید. سپس توسط دستگاه خشک کن انجمادی (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 هیدرواتانولی تهیه شده 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

روde 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 سلطان روde بزرگ می‌شوند (۱۵). وجود مواد مغذی آلی و طبیعی موجود در گل کلم باعث افزایش ارزش غذایی آن شده و ضمن کاهش آلدگی محیط زیست، اهمیت دارویی این گیاه را نیز افزایش داده‌اند (۱۶). کلم بروکلی (*Brassica oleracea* var. *italica*) یک گیاه سبز خوراکی پر مصرف است که محصول فصل سرما می‌باشد و سر گل بزرگ آن به عنوان یک سبزی، مصرف می‌شود (۱۷، ۱۸). کلم بروکلی منبع غنی از مشتقات نیتروژن-گوگرد (گلوکوزینولات و ایزو-تیوسیانات‌ها)، مقادیر بالایی ترکیبات فولیک (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 سلطان 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 هیدرواتانولی 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 ضدمیکروبی مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

تهیه و شناسایی سبزیجات مورد مطالعه

کدو حلوائی (*Cucurbita moschata*) و چهار نوع کلم شامل کلم بنفسن، 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 هرباریوم

را بوسیله رقت‌های مایع مختلفی از عصاره که در ابتدا به آنها اشاره شده است پر شد. به عنوان 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 ۳۷ کار، تمامی محیط کشت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در حرارت ۲۶ 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 اندازه-گیری شد (۲۶-۲۴).

قطره‌های عکس‌العملی از غلظت عصاره مورد آزمایش می-باشد. 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 ضدمیکروبی عصاره مورد آزمایش تعیین شد (۲۷).

روش دوم، آزمون تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی رشد باکتری (MIC^9) و حداقل غلظت کشنندگی باکتری (MBC^{10}) 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 هیتنون براث 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 به عنوان 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 ۲۴-۴۸ 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 هیتنون 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 نهایی با گرادیان دمائی ۱۰ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه به دمای ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد رسانده و به مدت ۹۹/۹۹ دقیقه در این دما نگهداشته شد. گاز حامل هلیوم Split درصد باشد جریان ۱ میلی‌متر بر دقیقه و محل تزریق با نسبت ۱:۱ با دمای محل تزریق ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود. همچنین در طیف‌سنج جرمی، دمای محفظه یونش ۲۵۰-۲۰۰ درجه سانتی‌گراد و دمای تجزیه گر جرمی ۱۵۰-۲۳۰ 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 ضدمیکروبی 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 هیتنون براث منتقل شد تا کدورت حاصله مشابه کدورت لوله ۰/۵ مک فارلند باشد (۲۳).

بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره‌های هیدرواتانولی 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 هیتنون 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

⁹ Minimum Inhibitory Concentration

¹⁰ Minimal Bactericidal Concentration

⁸ Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST)

ترکیبات شیمیایی شناسایی شده توسط GC-MS در عصاره‌های هیدرواتانولی

ترکیبات شیمیایی شناسایی شده در عصاره‌های هیدرواتانولی کدو حلوائی (*C. moschata*)، کلم بنفس، کلم سفید، کلم بروکلی و گل کلم با استفاده از کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنج جرمی در جدول (۱) براساس ترکیبات اصلی گزارش شده است. در عصاره هیدرواتانولی کدو حلوائی ۱۶ ترکیب شیمیایی شناسایی شده است که بالاترین میزان ترکیب برابر با $35/1573$ درصد مربوط به ترکیب D-اریترو-پنتوز،^{۱۱} ۲-دِاکسی^{۱۱} بود. در عصاره هیدرواتانولی کلم بنفس و کلم سفید بالاترین میزان ترکیب به ترتیب برابر با $16/9053$ درصد و $27/1634$ درصد مربوط به ۳-دی‌هیدرو-۵-دی‌هیدرو-کسی-۶-متیل-۴H-پیران-۴-وان^{۱۲} بود. ترکیب گاما-سیتوسترون^{۱۳} بالاترین میزان در عصاره‌های کلم بروکلی ($20/6942$ درصد) و گل کلم ($19/5213$ درصد) بود.

رشد یافته در پلیت‌ها شمارش و با هم مقایسه گردید. پلیتی که دارای کمترین غلظت از عصاره بوده و تعداد کلی‌های کمتری نسبت به سایرین دارد به عنوان MIC و پلیتی که حاوی کمترین غلظت از عصاره بوده و کلی 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 هیدرواتانولی کدو حلوائی و گیاهان خانواده چلیپائیان

نوع گیاه	ترکیب	فرآونی (%)	زمان بازداری (دقیقه)
دی‌هیدرو-۵-دی‌هیدرو-۳،۲،۱-۴-پیران-۴-وان	D-اریترو-پنتوز، ۲-دِاکسی اتانون، ۱-۵-متیل-۳-تری‌فلورومتیل-۱H-پیرازول-۴-(y)	$35/1573$	۲۸/۲۲
N-متوكسی-فرامید	$14/0399$	۳۱/۶۸	$34/8767$
۲-هیدرو-کسی-گاما-بوتیرولاکتون	$3/8754$	۵/۵۶	$14/9322$
دی‌هیدرو-کسی-۶-متیل اوره	$1/5032$	۱۲/۷۴	$1/9322$
هیدرو-کسی متیل فورفورال	$1/4455$	۱۵/۶۳	$1/4455$
۴-پیران-۴-۳،۲،۱-دی‌هیدرو-۵-دی‌هیدرو-کسی-۶-متیل H	$1/2798$	۱۷/۳۱	$1/2798$
(Z,Z,Z)-۱۵،۱۲،۹-اکتا دکاترین-۱-آل	$1/257$	۴۹/۶۱	$1/257$
سیکلوبیتان دیون	$0/9685$	۴۷/۷۵	$0/9685$
هگزاد کانوئیک اسید، ۲-هیدرو-کسی-۱-(هیدرو-کسی متیل) اتیل استر	$16/9053$	۱۷/۸۲	$16/9053$
۳-دی‌هیدرو-۵-دی‌هیدرو-کسی-۶-متیل-۴H-پیران-۴-وان	$9/8051$	۲۸/۵۰	$8/2858$
گاما-سیتوسترون	$8/4119$	۵۷/۸۳۶	$6/2611$
۳-پیریدینون-۱-اتیل	$6/9516$	۱۳/۲۶	$5/9516$
پروپانوئیک اسید	$4/407$	۵/۷۱	$4/407$
نوانتونیک اسید		۴۹/۶۵	
۴-متوكسی-۴-وینیل فول		۲۲/۱۰	

¹³ Gamma-Sitosterol

^{۱۱} D-Erythro-Pentose, 2-deoxy-

^{۱۲} 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-اکتاد کادنوتیک اسید (Z,Z)	
۳۴/۰۶	۳/۰۷۳۱	هگزیل (2-هپتین-1-yl) آمین	
۲۰/۲۴	۲/۸۷۶۹	۲۴۳-دی هیدرو بنزووفوران	
۲۷/۰۶	۲/۸۳۹۵	۱۰۱-دی (enyl-2-prop)-سیلاسیکلوبوتان	
۵۶/۰۱	۲/۳۰۷۴	کامپسترون	
۳۶/۳۶	۲/۲۶۲۴	۹،۳-دیازاتری سیکلو دود کان-۲،۸-دیون	
۳۷/۳۱	۲/۰۵۶۲	هگزاد کانوتیک اسید	
۱۷/۷۴	۲۷/۱۶۳۴	۳،۲-دی هیدرو-۵،۳-دی هیدرو کسی-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، هیدرو کسی اتیل پیرو لیدین	
۵/۶۸	۴/۹۸۲۶	پروپانوئیک اسید	
۵۷/۷۵	۳/۲۶۷۵	گاما-سیتوسترون	
۲۷/۰۰	۳/۰۲۷۳	۴-آمینو-۶-هیدرو کسی پیرimidین	
۸/۱۵	۲/۲۲۷	۱-(استیل اکسی)-۲-پروپانون	
۱۴/۷۰	۲/۰۶۸۵	۲-پروپنیل-سیکلو هگزان	
۳۶/۳۰	۱/۹۰۵	۹،۳-دیازاتری سیکلو دود کان-۲،۸-دیون	
۷/۸۴	۱/۸۵۶۷	۲-فوران مтанول	
۵۸/۰۴	۲۰/۶۹۴۲	گاما-سیتوسترون	
۱۱/۱۸	۱۴/۲۰۸۵	دی متیل تری سولفید (CAS)	
۳۷/۴۱	۱۲/۱۷۴۶	هگزاد کانوتیک اسید	
۳۶/۵۶	۷/۷۵۸۵	۹،۳-دیازاتری سیکلو دود کان-۲،۸-دیون	
۴۰/۲۶	۷/۶۷۴۸	فیتول	
۲۲/۱۸۸	۶/۴۴۷۶	۲-متوکسی-۴-وینیل فنول	
۵۶/۱۰	۵/۴۲۱۹	کامپسترون	
۲۸/۵۴۷	۵/۳۴۱۲	۶،۲-دی متیل-۳-(متوکسی متیل)-p-بنزو کینون	
۲۰/۰۰	۳/۲۷۵۹	۳-۲-دی هیدرو-بنزووفوران	
۲۵/۰۸	۲/۵۵۴۳	N-(۵.۳-دی کلروفینیل)-۲-(پیرو لیدینیل)-استامید	
۲۱/۷	۲/۵۱۹۱	ایندول	
۱۸/۵۳	۱/۹۲۴۹	۵.۲-دی کلروفنول	
۵۶/۶۷	۱/۵۰۱۹	استیگماسترون	
۵۴/۴۸	۱/۲۹۴۷	ویتامین E (آلفا-تو کوفرول)	
۸/۴۳	۱/۲۲۶	۱-بوتیل پیرو لیدین	
۵۷/۸۶	۱۹/۵۲۱۳	گاما-سیتوسترون	
۴۹/۶۴۱	۱۹/۱۹۵۵	نو نانوئیک اسید	
۴۱/۶۷۹	۱۱/۰۰۴۶	۱۵.۱۲.۹-اکتاد کادنوتیک اسید اتیل استر (Z,Z)	
۵۶/۰۵	۸/۹۹۵۱	کامپسترون	
۳۷/۲۸	۶/۹۵۷۱	هگزاد کانوتیک اسید اتیل استر	

۳۲/۴۶	۴/۲۵۴۷	۱- متوكسی-۳-۱- سیکلوهگرا دی ان
۴۷/۷۳۵	۳/۹۸۸۶	هگزاد کانوئیک اسید-۲- هیدرو کسی-۱- اتیل استر
۳۶/۸۰	۳/۴۶۵۲	هگزاد کانوئیک اسید
۴۹/۵۴	۲/۹۲۰۴	۱۲،۹- آکتاد کادنوتیک اسید (Z,Z)
۴۱/۴۵	۲/۸۱۸۶	لینولیک اسید اتیل استر
۵۶/۶۵	۲/۵۵۱۸	سیگماسترو-۲۲.۵- دی ان-۳- آل
۳۰/۱۶	۲/۴۶۲۱	۸- فلورو-۱،۲،۳- تراهیدرو کینولین-۱- کربالدید
۵/۳۱	۲/۴۳۶۹	۱.۱- دی متوكسی-۲- پروپانون

معنی داری دارند ($p < 0.05$). هاله عدم رشد در باکتری اشريشيا كلى توسط عصاره تمام گیاهان تشکیل شده است ولی قطر آن با افزایش غلظت عصاره ها افزایش معنی داری یافته است ($p < 0.05$). تمامی عصاره های هیدرواتانولی بروی باکتری های اشريشيا كلى اثر داشته، بیشترین هاله عدم رشد برای باکتری اشريشيا كلى برابر با 16 ± 0.5 میلی متر مربوط به مخلوط عصاره ها در غلظت ppm ۸۰۰ بوده است و کمترین قطر هاله مربوط به نمونه کدو حلوائی با مقدار 0.28 ± 0.05 میلی متر در غلظت ppm ۶/۲۵ می باشد. قطر هاله مهار شده باکتری توسط جنتامایسین به عنوان یک آنتی بیوتیک و نمونه کنترل در این مطالعه $15/13$ میلی متر شد که نسبت به نمونه های گیاهان مختلف به جزء مخلوط عصاره ها در غلظت ppm ۸۰۰، بالاترین هاله را دارا بوده است ($p < 0.05$).

خاصیت ضد میکروبی عصاره های گیاهان خانواده چلیپائیان و کدو حلوائی

در پژوهش حاضر تأثیر غلظت های مختلف عصاره ۵ گیاه (کدو حلوائی، کلم بنفش، کلم سفید، کلم بروکلی و گل کلم) در مهار رشد باکتری های اشريشيا كلى و استافیلکوکوس-اورئوس مورد بررسی قرار گرفته است و به ترتیب، نتایج بررسی ها در جدول (۲) و جدول (۳) گزارش شده است. همچنین تأثیر عصاره های گیاهی کدو حلوائی، کلم بنفش، کلم سفید، کلم بروکلی و گل کلم بصورت جداگانه و مخلوط آنها بر MIC و MBC باکتری های اشريشيا كلى و استافیلکوکوس اورئوس در جدول (۴) ارائه شده است. نتایج جدول (۲) نشان داد در نمونه های باکتری به روش انتشار چاهک، بیشترین قطر هاله عدم رشد برای باکتری اشريشيا كلى در غلظت های ppm ۸۰۰ است که با سایر غلظت ها اختلاف

جدول ۲: بررسی قطر هاله عدم رشد عصاره های هیدرواتانولی در برابر باکتری *E. coli*

غلظت عصاره ها (µg/ml)	کدو حلوائی	کلم بنفش	کلم سفید	کلم بروکلی	گل کلم	مخلوط عصاره ها
۶/۲۵	۶/۶۶ ± ۰/۲۸ ^{FB}	۷/۳۳ ± ۱/۰۴ ^{EB}	۷/۰۰ ± ۱/۰۰ ^{EB}	۶/۸۳ ± ۰/۲۸ ^{gB}	۷/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{FB}	۹/۱۷ ± ۰/۰۵ ^{gA}
۱۲/۵	۷/۱۶ ± ۰/۲۸ ^{FB}	۷/۸۳ ± ۰/۷۶ ^{EB}	۷/۳۳ ± ۰/۵۷ ^{EB}	۷/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{gB}	۷/۱۶ ± ۰/۲۸ ^{FB}	۱۰/۸۳ ± ۰/۲۸ ^{fA}
۲۵	۷/۳۳ ± ۰/۵۷ ^{FC}	۷/۱۶ ± ۰/۲۸ ^{dB}	۹/۱۶ ± ۰/۲۸ ^{dB}	۷/۸۳ ± ۰/۲۸ ^{dC}	۷/۵۰ ± ۰/۵ ^{efC}	۱۱/۸۳ ± ۰/۷۶ ^{gA}
۵۰	۸/۱۳ ± ۰/۲۸ ^{cdC}	۸/۱۶ ± ۰/۲۸ ^{cDB}	۱۰/۱۶ ± ۰/۲۸ ^{cDB}	۸/۶۶ ± ۰/۲۸ ^{efC}	۷/۶۶ ± ۰/۰۷ ^{efC}	۱۳/۱۷ ± ۰/۷۶ ^{dA}
۱۰۰	۹/۱۶ ± ۰/۲۸ ^{dBC}	۹/۶۷ ± ۰/۲۸ ^{cDB}	۹/۶۷ ± ۰/۲۸ ^{deD}	۸/۵۰ ± ۰/۰۵ ^{deCD}	۸/۱۶ ± ۰/۰۵ ^{fA}	۱۴/۰۰ ± ۱/۰۰ ^{cdA}
۲۰۰	۹/۵۰ ± ۰/۵ ^{cdbc}	۹/۰۰ ± ۰/۵ ^{cdbc}	۸/۸۳ ± ۰/۲۸ ^{cdC}	۹/۰۰ ± ۰/۰۵ ^{cdC}	۸/۶۶ ± ۰/۰۵ ^{dA}	۱۳/۵۰ ± ۰/۵ ^{dA}
۴۰۰	۱۰/۰۰ ± ۰/۵ ^{cBC}	۱۰/۶۶ ± ۰/۰۷ ^{bcb}	۱۰/۶۶ ± ۰/۰۷ ^{bcb}	۹/۵۰ ± ۰/۰۵ ^{cC}	۹/۶۶ ± ۰/۰۵ ^{bcA}	۱۴/۸۳ ± ۰/۰۵ ^{bca}
۸۰۰	۱۱/۰۰ ± ۰/۵ ^{bBC}	۱۱/۳۳ ± ۰/۰۷ ^{bBC}	۱۱/۸۳ ± ۰/۰۷ ^{bB}	۱۰/۱۶ ± ۰/۰۷ ^{bC}	۱۱/۱۶ ± ۰/۰۷ ^{bBC}	۱۶/۰۰ ± ۰/۰۵ ^{aA}
جنتامایسین (کنترل)	۱۵/۱۳ ± ۰/۳۹ ^a	۱۵/۱۳ ± ۰/۳۹ ^a	۱۵/۱۳ ± ۰/۳۹ ^a	۱۵/۱۳ ± ۰/۰۳۹ ^a	۱۵/۱۳ ± ۰/۰۳۹ ^a	۱۵/۱۳ ± ۰/۰۳۹ ^{ab}

* داده ها بر حسب (میانگین ± انحراف میار) در سه تکرار گزارش شده است.

** حروف کوچک (a-g) مشابه در هر ستون و حروف بزرگ (A-C) مشابه در هر ردیف نشان دهنده عدم اختلاف معنادار ($p < 0.05$) بر اساس آزمون دانکن بین داده ها است.

استافیلوکوکوس اورئوس مربوط به نمونه کدو حلوائی و کلم بروکلی با غلظت ppm ۶/۲۵ با میزان قطر هاله ۷/۱۶ میلی متر است که در همین غلظت اختلاف معنی داری با عصاره کلم بنفس و مخلوط عصاره ها داشت ($p < 0.05$). قطر مهار رشد در باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در غلظت های مختلف گیاهان مورد بررسی نشان داد که خاصیت ضد باکتری ترکیب عصاره ها در مهار رشد باکتری اشریشیاکلی نسبت به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مؤثر تر عمل کرده است.

نتایج جدول (۳) نشان داد در بررسی نمونه های گیاهان مختلف با غلظت های ۶/۲۵ ppm، ۱/۵، ۰/۲۵، ۰/۱۰، ۰/۰۵، ۰/۰۰ مخلوط عصاره ها و نمونه جنتامايسین، باکتری استافیلوکوکوس اورئوس به روش انتشار چاهک، بیشترین قطر هاله عدم رشد در غلظت ۸۰۰ ppm در مخلوط عصاره ها معناداری با نمونه جنتامايسین و سایر عصاره ها داشت ($p < 0.05$). کمترین قطر هاله عدم رشد باکتری

جدول ۳: بررسی قطر هاله عدم رشد عصاره های هیدرواتانولی در برابر باکتری *S. aureus*

غلظت عصاره ها ($\mu\text{g/ml}$)	کدو حلوائی	کلم بنفس	کلم سفید	کلم بروکلی	گل کلم	مخلوط عصاره ها
۶/۲۵	۷/۱۶ ± ۰/۷۶ ^{cB}	۸/۵۰ ± ۰/۰۵ ^{fA}	۷/۳۳ ± ۰/۵۷ ^{fB}	۷/۱۶ ± ۰/۲۸ ^{dB}	۷/۳۳ ± ۰/۰۲ ^{fB}	۸/۸۳ ± ۰/۷۶ ^{gA}
۱۲/۲۵	۸/۰۰ ± ۱/۰۰ ^{deB}	۹/۰۰ ± ۱/۰۰ ^{deB}	۹/۳۳ ± ۰/۷۶ ^{efAB}	۸/۰۰ ± ۰/۲۸ ^{cdB}	۷/۸۳ ± ۰/۷۶ ^{fgA}	۱۰/۰۰ ± ۱/۰۰ ^{fgA}
۲۵	۹/۱۶ ± ۰/۲۸ ^{cdeBC}	۹/۶۶ ± ۰/۲۸ ^{cdeC}	۸/۶۶ ± ۰/۷۶ ^{efC}	۸/۳۳ ± ۰/۲۸ ^{cdC}	۸/۳۳ ± ۰/۱۵ ^{efC}	۱۱/۸۳ ± ۰/۷۶ ^{efA}
۵۰	۹/۶۶ ± ۰/۲۸ ^{cdeC}	۱۱/۵ ± ۰/۰۵ ^{cdeB}	۱۱/۵ ± ۰/۷۶ ^{deC}	۸/۸۳ ± ۰/۲۸ ^{cdC}	۸/۸۳ ± ۰/۷۶ ^{efC}	۱۴/۳۳ ± ۰/۰۵ ^{fgA}
۱۰۰	۱۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{cdeC}	۱۱/۳۳ ± ۰/۰۵ ^{cdB}	۱۱/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{deB}	۹/۸۳ ± ۰/۲۸ ^{ccC}	۹/۶۶ ± ۰/۰۲ ^{cdC}	۱۶/۳۳ ± ۰/۰۵ ^{deA}
۲۰۰	۱۰/۸۳ ± ۱/۰۴ ^{cCD}	۱۲/۳۳ ± ۰/۰۷ ^{cdB}	۱۰/۱۶ ± ۰/۲۸ ^{bcD}	۱۱/۶۶ ± ۰/۲۸ ^{cdBC}	۱۰/۱۶ ± ۰/۲۸ ^{cdC}	۱۷/۶۷ ± ۰/۰۵ ^{cda}
۴۰۰	۱۱/۱۶ ± ۰/۲۸ ^{bcC}	۱۳/۸۳ ± ۱/۰۴ ^{bcB}	۱۰/۵۰ ± ۰/۰۵ ^{bcC}	۱۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{deB}	۱۱/۳۳ ± ۰/۰۵ ^{cdC}	۱۹/۰۰ ± ۰/۰۵ ^{cA}
۸۰۰	۱۳/۳۳ ± ۰/۰۷ ^{bC}	۱۵/۸۳ ± ۱/۰۵ ^{bB}	۱۲/۱۶ ± ۰/۰۵ ^{bC}	۹/۶۶ ± ۰/۰۲ ^{cdC}	۱۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{cdC}	۲۶/۱۷ ± ۱/۲۵ ^{ba}
جنتامايسین (کنترل)	۲۹/۰۰ ± ۲/۷۴ ^a	۲۹/۵۰ ± ۲/۷۴ ^a	۲۹/۵۰ ± ۲/۷۴ ^a	۲۹/۵۰ ± ۰/۷۶ ^a	۷/۱۶ ± ۰/۷۶ ^{cB}	۲۹/۵۰ ± ۰/۷۶ ^{gA}

* داده ها 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 دهنه عدم اختلاف معنادار ($p > 0.05$) بر اساس آزمون دانکن بین داده ها است.

حداقل غلظت کشنندگی ترکیب پنج عصاره در باکتری اشریشیاکلی $600 \mu\text{g/ml}$ و ۱۰۰۰ $\mu\text{g/ml}$ و برای استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب $400 \mu\text{g/ml}$ و $600 \mu\text{g/ml}$ بود. بر اساس جدول با توجه به حداقل بودن مقدار MIC، حساسیت استافیلوکوکوس اورئوس در برابر عصاره های بکار برده شده به تنها 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 نشان دهنده مؤثر بودن خاصیت ضد میکروبی آنها بر علیه میکرووارگانیسم های مورد بررسی در مقایسه با هر یک از عصاره ها به تنها بود.

شاخص های MIC و MBC برای عصاره های هیدرواتانولی گیاهان (کدو حلوائی، کلم بروکلی، کلم سفید، کلم بنفس، گل کلم) صورت گرفته در جدول (۴) نشان داد، میزان غلظت بازدارندگی در گیاهان کدو حلوائی و کلم بروکلی و کلم گل برای باکتری اشریشیاکلی با مقدار عددی $\mu\text{g/ml}$ بود و حداقل غلظت بازدارندگی برای کلم سفید ۲۰۰ و ۴۰۰ $\mu\text{g/ml}$ می باشد و برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس حداقل غلظت مهار کننده یا بازدارنده برای عصاره گیاهان کدو حلوائی و کلم بروکلی و کلم گل $20 \mu\text{g/ml}$ و برای کلم سفید و کلم بنفس به ترتیب $50 \mu\text{g/ml}$ و $100 \mu\text{g/ml}$ بود و حداقل غلظت ممانعت کنندگی و

جدول ۴: MIC و MBC عصاره‌های هیدرواتانولی 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	

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). هیدروکسی متیل فورفورال یک آلکلید حلقوی است که در اثر تخریب قند از طریق واکنش میلارد (یک واکنش قهقهه‌ای رنگی غیرآنزیمی) در طی فرآوری مواد غذایی تولید می‌شود (۳۴). در مطالعات گسترده اخیر، اثبات شده است که هیدروکسی متیل فورفورال دارای طیف وسیعی از تأثیرات مثبت، مانند آنتی اکسیدانی (۳۵)، ضدآلرژی (۳۶)، ضدالتهاب (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 حال مورد استفاده بستگی دارد (۳۹).

چندین نویسنده گزارش کرده‌اند که ترکیبات فنولی نقش مهمی در فعالیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی سبزیجات خانواده چلیپائیان ایفا می‌کنند (۴۰، ۴۱). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که دو ترکیب ۳.۲-دی‌هیدرو-۵.۳-دی-هیدروکسی-۶-متیل-H₄-پیران-۴-وان و نونانوئیک اسید

بحث

گونه‌های کدوئیان منبع طبیعی برخی از ترکیبات زیست فعال مانند فللهای ساپونین‌ها، اسیدهای چرب، استرول‌ها و کربوهیدرات‌ها هستند (۳۰). میوه کدو حلوائی نه تنها از نظر پروتئین، ویتامین‌های آنتی اکسیدانی مانند کاروتونوئیدها و توکوفرول‌ها (۳۱) و مواد معدنی غنی است، بلکه دارای چربی و کالری کمی است (۳۲). در بررسی‌های انجام شده در دو عصاره هیدرواتانولی و آبی توسط کروماتوگرافی کازی/طیف‌سنج جرمی، ترکیبات شیمیایی مختلفی با فراوانی‌های متفاوت از انواع کربوهیدرات‌ها، اسیدهای چرب، فللهای توکوفرول و فتالات‌ها تعیین شدند، که در عصاره هیدرواتانولی کدو حلوائی بالاترین ترکیب مربوط به یک قند پنج کربنه (داؤکسی ریبوز) بود. گزارش شده است که ترکیب H₄-پیران-۴-وان، ۲،۳-دی‌هیدرو-۵-دی-هیدروکسی-۶-متیل (۱⁴DDMP) که در عصاره هیدرواتانولی بذر کدو حلوائی شناسایی شده دارای فعالیت ضد میکروبی و ضد التهاب است (۳۳). در عصاره هیدرواتانولی یک ترکیب دیگر بنام هیدروکسی متیل فورفورال (HMF^{۱۵}) با میزان ۱/۵۰۳۲ درصد شناسایی شده است. این ترکیب در شناسایی ترکیبات فیتوشیمیایی کدو در

^{۱۵} Hydroxymethylfurfurole

^{۱۴} 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl

در غلظت $\mu\text{g}/\text{ml}$ ۸۰۰ بوده است و کمترین قطر هاله مربوط به نمونه کدو حلوائی با مقدار ۶/۶۶ میلی متر می باشد. قطر هاله عدم رشد باکتری توسط جنتامایسین به عنوان یک آنتی-بیوتیک و نمونه کنترل در این پژوهش ۱۵/۱۳ میلی متر شد که نسبت به نمونه های گیاهان مختلف بجز مخلوط عصاره ها، بالاترین هاله را دارا بوده است این در حالی است که غلظت $\mu\text{g}/\text{ml}$ ۸۰۰ در تمام نمونه های حاصل از گیاهان مختلف با مقدار عددی حدوداً ۱۱ دارای خاصیت ضد میکروبی بوده است اما نمونه شاهد با نمونه های با غلظت های پایین دارای اختلاف معنی داری در سطح احتمال ($p < 0.05$) است. با افزایش مقدار غلظت عصاره گیاهان مختلف قطر هاله افزایش و خاصیت ضد میکروبی افزایش یافته است. بین عصاره های گیاهان مختلف عصاره حاصل از کلم سفید دارای خاصیت ضد میکروبی بالایی بوده این در حالی است که تمامی نمونه ها بجز مخلوط عصاره ها از نمونه کنترل میزان خواص ضد باکتری کمتری داشتند، غلظت $\mu\text{g}/\text{ml}$ ۸۰۰ عصاره ها با هم اختلاف آماری معنی داری داشتند ($p < 0.05$) که مخلوط عصاره ها دارای مقدار عددی بیشتر و کمترین میزان هاله تشکیل شده مربوط به گیاه کلم بروکلی با مقدار ۱۰/۱۶ میلی متر بوده است. قطر هاله عدم رشد در باکتری استافیلکوکوس اورئوس در غلظت های مختلف گیاهان مورد بررسی نسبت به نمونه کنترل اختلاف معنی داری در سطح احتمال ($p < 0.05$) داشت و این نتایج نشان داد که خاصیت ضد باکتری ترکیب عصاره ها در مهار رشد باکتری اشریشیا کلی نسبت به باکتری استافیلکوکوس اورئوس مؤثرتر عمل کرده است. غلظت های متفاوت عصاره نیز در اثر ضد میکروبی آن مؤثر است و در مطالعه های 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 می شود. همچنین، بیشترین فعالیت ضد میکروبی در رقت ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره مشاهده گردید. این نتیجه با نتایج بدست آمده توسط رفیعی و رمضانی (۲۰۱۲) که بیان نمودند با افزایش غلظت، قطر هاله بازداری بیشتر می گردد، مطابقت دارد. در بین باکتری های

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 چلپایان در مطالعه حاضر وجود ترینوئیدها، آلکالوئیدها، تانن ها، استروئیدها و ساپونین ها را در عصاره های هیدرواتانولی و آبی کلم قرمز، کلم سفید، کلم بروکلی و کلم گل را تأیید کرد. بر اساس نتایج GC-MS، عصاره های گیاهان مورد بررسی دارای بسیاری از ترکیبات آنتی-اکسیدانی مانند گاما-سیتوسترون و دی متیل تری سولفید، کامپسترون، هگزاد کانوئیک اسید، استیگماماسترون و ویتامین E هستند. استیگماماسترون یک فیتوسترون اشباع نشده پیش ساز پروژسترون است که در مکانیسم های بازسازی بافت مربوط به اثرات استروژن مفید است و همچنین به عنوان پیش ساز ویتامین D₃ و واسطه در بیوسترن آندروژن ها، استروژن ها و کورتیکوئیدها عمل می کند (۴۳). با توجه به گزارشات به دست آمده از بررسی های انجام شده در مطالعه حاضر می توان اظهار نمود که گیاهان خانواده چلپایان با توجه به انواع ترکیبات مختلف فیتوشیمیایی دارای خواص آنتی اکسیدانی، ضد التهاب، ضد سرطان و دارای خواص داروئی هستند؛ از این رو می توان از گیاهان این خانواده در تولید محصولات فراسودمند در صنایع غذایی و داروئی بهره مند گردید.

در پژوهش حاضر تأثیر غلظت های مختلف عصاره هیدرواتانولی پنج گیاه کدو حلوائی، کلم بنفش، کلم سفید، کلم بروکلی و گل کلم به صورت جداگانه و ترکیبی در مهار رشد باکتری های اشریشیا کلی و استافیلکوکوس اورئوس مورد بررسی قرار گرفته شده است. نتایج تحقیق نشان داد در نمونه های باکتری به روش انتشار چاهک، بیشترین قطر هاله عدم رشد برای باکتری اشریشیا کلی در غلظت های $\mu\text{g}/\text{ml}$ ۸۰۰ است، هاله عدم رشد در باکتری اشریشیا کلی توسط عصاره تمام گیاهان تشکیل شده است ولی قطر آن با افزایش غلظت عصاره ها افزایش یافته است. تمامی عصاره های هیدرواتانولی بر روی باکتری اشریشیا کلی اثر داشته، بیشترین هاله عدم رشد برای باکتری اشریشیا کلی برابر با ۱۶ میلی متر مربوط به مخلوط عصاره ها

حلوائی ژاپنی با استفاده از روش انتشار دیسک غربالگری شدند، برخی از گونه‌های باکتری، متشکل از باسیلوس-سرئوس، اشريشیاکلی و کورینه‌باکتریوم و استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی، با استفاده از پلی‌ساکارید و عصاره کاروتونوئیدی به دست 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 سوبتیس و باسیلوس سرئوس و مخمر ساکارومایسیس سروزیریه با نتایج مثبت ارزیابی شد (۴۸). سبزیجات دارای انواع مختلفی از مولکول‌ها هستند که حمله باکتری‌های بیماری‌زا و میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا گیاهی را مهار می‌کنند که گیاهان خانواده چلپیائیان از این امر مستثنی نیستند؛ به عنوان مثال، عصاره‌های اتیل استات-اتانول و اتیل استات-کلروفرم کلم بروکلی به ترتیب در برابر اشريشیا کلی و کاندیدا آلیکس فعالیت ضد میکروبی نشان دادند و عصاره آبی گلچه‌ها دارای اثر مهارکنندگی در برابر کلبسیلا پنومونیه بود (۴۹، ۵۰). در مطالعه‌ای گزارش شده است که کلم بروکلی حاوی اسید آسکوربیک، اسیدهای مالیک، ترکیبات فنولیک و اسیدهای کافئیک است که به نظر می‌رسد مستول اثر مهارکنندگی در برابر باکتری لیستریا مونوستیوژنر هستند (۵۱). در گیاهان خانواده چلپیائیان، گلیکوزیلاسیون تری-ترین‌ها یکی از مکانیسم‌های دفاعی گیاه است که خواص فیزیکوشیمیایی و فعالیت‌های بیولوژیکی تری‌ترین‌ها را به ساپونین‌های تری‌ترپنیک تغییر می‌دهد (۵۲) که منشأ چندین ویژگی عملکردی از جمله ضد التهابی، ضد قارچی، ضد باکتریایی، ضد قارچی، فعالیت‌های انگلی، ضد سرطانی و ضد ویروسی است (۵۳). پتانسیل زیست فعال گلوکوزینولات‌های تولید شده توسط سبزیجات خانواده چلپیائیان 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

گرم مثبت، باکتری استرپتوکوکوس پیوژنر 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 به دنبال آن عصاره نعناع ($800 \mu\text{g}/\text{ml}$) دارای مناطق مهار کنندگی بالا، به ترتیب 38 ، 35 میلی‌متر در مقایسه با سپیروفلوکسازین (40 میلی‌متر) در برابر باکتری‌های بیماری‌زا است که در غلظت $800 \mu\text{g}/\text{ml}$ و $200 \mu\text{g}/\text{ml}$ با افزایش غلظت عصاره‌ها میزان قدر 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 تنها یک 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 اشريشیا کلی در برابر عصاره‌های بکار برده شده به تنها یک کمتر بود. کاربرد توأم 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 تنها یک بود. به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً اثر آنتی‌باکتریال عصاره‌ها بر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به گرم منفی بیشتر است از طرفی استخراج هیدرووالکلی عصاره‌ها سبب افزایش غشاء تراوایی شده و میزان ترکیبات خروجی از غشا افزایش یافته است.

فعالیت ضد میکروبی گونه‌های مختلف سبزیجات، گیاهان و مشتقهای آنها از زمان‌های قدیم به طور 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

می شود جایگزین های خوبی برای آنتی بیوتیک ها و نگهدارنده های شیمیایی باشند (۶۰).

ممکن است انسانس یا عصاره یک گیاه دارویی بر یک میکروار گانیسم اثر قابل توجهی داشته باشد ولی بر میکروار گانیسم 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 عصاره گیری و محیط کشت مورد استفاده جهت انجام آزمایشات ضربکتریایی، نوع پاسخ دریافتی این گونه آزمایشات را تحت تأثیر قرار می دهد، تفاوت در تأثیر عصاره های گیاهی بر باکتری ها به عوامل مختلفی وابسته است که از آن میان می توان 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).

نتیجه گیری

مطالعه حاضر ترکیبات شیمیایی توسط GC-MS عصاره هیدرواتانولی 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، فنل ها و سایر ترکیبات، به عنوان یک ترکیب غذایی مهم به حساب می آید. بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی گیاهان خانواده چلیپائیان در مطالعه حاضر وجود ترپنوتئیدها، آلکالوئیدها، تانن ها، استروئیدها و ساپونین ها را در عصاره های هیدرواتانولی و آبی کلم بنفش، کلم سفید، کلم بروکلی و گل کلم را تأیید کرد. بر اساس نتایج GC-MS، عصاره های گیاهان مورد بررسی دارای بسیاری از ترکیبات آنتی اکسیدانی مانند گاما- سیتوسترونول و دی متیل تری سولفید، کامپسترونول، هگزاد کانوئیک اسید، استیگماسترونول و ویتامین E هستند. عصاره های گیاهان به خصوص ترکیب آنها بایکدیگر 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 /شریشیا کلی، باسیلوس- سوبتیلیس و سالمونلا /پیدرمیس با مهار ۸۵- ۶۵ درصدی در برابر کنترل (استرپتومایسین) است، این تأیید می کند که امکان دستیابی به اثرات نزدیک به اثرات نشان داده شده توسط داروهای تجاری وجود دارد (۵۳). نتایج مطالعه ای همچنین تأیید می کند که استخراج اتانول باعث بهبود عملکرد ترکیبات ضد میکروبی در گیاهان می شود (۵۴). مطابق با نتایج مطالعه حاضر باکتری های گرم منفی حساسیت کمتری به عوامل ضد میکروبی دارند که علت احتمالی آن وجود لیپوپلی ساکاریدهای دیواره سلولی باکتری های گرم منفی می باشد که مانند سدی از عبور مولکول های بزرگ و آب گریز ممانعت می کند و از آنجایی که اکثر ترکیبات مؤثر موجود در عصاره ها و انسانس ها ماهیت آبگریزی دارند لذا می توان نتیجه گرفت که این مواد امکان نفوذ و دسترسی به نقاط فعال داخل باکتری های گرم منفی را ندارند و به همین دلیل معمولاً باکتری های گرم منفی در مقایسه با باکتری های گرم مثبت مقاومت بیشتری نسبت به ترکیبات گیاه و سایر عوامل ضد میکروبی نشان می دهند (۵۵). اثر ترکیبات فنولیک بر رشد میکروب ها در تغییرپذیری دیواره سلولی و خروج ماکرومولکول ها از درون سلول مؤثر است و به تابودی میکروار گانیسم منجر می گردد (۵۶-۵۸). پاد اکسیدهای طبیعی مانند ترکیبات فنولی به دلیل فواید آنها برای سلامتی انسان، کاهش ریسک بیماری های کشنده توسط کاهش استرس اکسیداتیو و جلوگیری از اکسیداسیون ماکرومولکول ها اهمیت بسیار زیادی دارند (۵۹). ویژگی های آنتی اکسیدانی ترکیبات فنلی عمدتاً ناشی از قدرت احیا کنندگی و ساختار شیمیایی آن هاست که آن ها را قادر به خشی کردن رادیکال های آزاد، تشکیل کمپلکس و یون های فلزی و خاموش کردن ملکول های اکسیژن سه گانه می سازد. ترکیبات فلی از طریق اهداء الکترون به رادیکال های آزاد، واکنش های اکسیداسیون چربی را مهار می کنند. علاوه بر فعالیت آنتی اکسیدانی مطالعات متعددی فعالیت ضد میکروبی فنول ها و عصاره های فنولی را اثبات کرده است که باعث

سلامتی در نظر گرفته شود؛ از این‌رو، 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 منع ترکیب‌هایی با پتانسیل دارویی بالا و مزایای

منابع

1. Jongen W. Fruit and vegetable processing: Improving quality: Elsevier; 2002.
2. Perez Gutierrez RM. Review of *Cucurbita pepo* (pumpkin) its phytochemistry and pharmacology. *Med chem.* 2016;6(1):2161-0444.1000316.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. Leja M, Kamińska I, Kołton A. Phenolic compounds as the major antioxidants in red cabbage. *Folia Horticulturae.* 2010;22(1):19-24.
7. 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.
8. Kristal AR, Lampe JW. Brassica vegetables and prostate cancer risk: a review of the epidemiological evidence. *Nutrition and cancer.* 2002;42(1):1-9.
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.
10. 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).
11. Heo HJ, Lee CY. Phenolic phytochemicals in cabbage inhibit amyloid β protein-induced neurotoxicity. *LWT-Food Science and Technology.* 2006;39(4):331-7.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. Hussein M. Response of Cauliflower plants to spray with nutrients solutions from different sources. *Iraqi Journal of Agricultural Sciences.* 2016;47(5).
17. 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.
18. 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.
19. 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.
20. 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.
21. Scrob T, Hosu A, Cimpoi 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.
22. 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 fauer EJ, Tenoyer M, Yolken FC, Robert H. 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 *Helicobactor 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 sintenisi* 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, Chellia 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 Latifi¹, 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