

(مقاله پژوهشی)

خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره های ان-بوتانولی و اتیل استاتی پوست پیاز قرمز با استفاده از روش های خیساندن و فراصوت

سمانه خلیلی^۱، محمدرضا سعیدی اصل^۱، مریم خاورپور^{۲*}، سید محمد وحدت^۲، مائده محمدی^۳

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

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

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

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۲۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۰۸

DOI: [10.30495/jfst.2022.1955626.1788](https://doi.org/10.30495/jfst.2022.1955626.1788)

چکیده

عصاره پیاز قرمز (*Allium cepa* L.) غنی از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی می باشد که کاربرد فراوانی در صنایع غذایی، آرایشی و دارویی دارد. این مطالعه با هدف بررسی اثر روش های خیساندن و فراصوت بر فعالیت ضد میکروبی و خواص آنتی اکسیدانی عصاره های ان-بوتانولی و اتیل استاتی پوست پیاز قرمز انجام شد. نتایج نشان داد که عصاره اتیل استاتی به دست آمده با روش فراصوت بیشترین محتوای فنول و فلاونوئید کل را به ترتیب با میانگین های ۴۳۹/۴۵ میلی گرم معادل گالیک اسید بر گرم عصاره و ۳۳/۴۴ میلی گرم معادل کوئرستین بر گرم عصاره نتیجه داد. بیشترین فعالیت مهارکنندگی DPPH، قدرت احیاکنندگی و به دام اندازی رادیکال نیتریک اکساید در عصاره اتیل استاتی استخراج شده با روش فراصوت به دست آمد. مقایسه نتایج تاثیر روش عصاره گیری بر خواص ضد میکروبی عصاره ان-بوتانولی نشان داد که عصاره حاصل از روش خیساندن در غلظت های ۶/۲۵ و ۱۲/۵ میکروگرم بر میلی لیتر، خواص ضدباکتریایی بیشتری نسبت به عصاره حاصل از روش فراصوت علیه همه میکرواورگانیزم ها به استثنای قارچ اسپرژیلوس نایجر داشت ($p < 0/05$). عصاره اتیل استاتی حاصل از روش فراصوت در تمامی غلظت ها به استثنای غلظت ۶/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر بر باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و اشیریشیا کلی و قارچ کاندیدا آلیکانس به طور معنی داری تأثیر بیشتری داشت ($p < 0/05$). براساس نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر، استخراج با حلال اتیل استات به روش فراصوت بهترین نتیجه را از نظر فعالیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی داشته است.

واژه های کلیدی: پیاز (*Allium cepa* L.)، خیساندن، فراصوت، آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی.

۱- مقدمه

در میان سبزیجات، پیازها یکی از غنی ترین منبع ترکیبات فنولی و فلاونوئید موجود در رژیم غذایی انسان در نظر گرفته می شوند (۲۴). عصاره پیاز قرمز، غنی از ترکیبات فعال فنلی است که دارای خصوصیات ارزشمندی مانند ضد میکروبی، ضد التهاب و آنتی اکسیدانی می باشد که در حوزه های غذایی، دارویی و آرایشی کاربرد دارد. فلاونوئیدها سطوح بالایی از فعالیت آنتی اکسیدانی را دارا می باشند. یکی از ترکیبات موثر در بین فلاونوئیدها، ماده ای به نام کوئرستین است. در مطالعات دارویی، بالاترین مقدار کوئرستین از بین ۲۸ سبزی و ۹ میوه که مقدار کوئرستین در آن ها بالاست، به پیاز تعلق گرفته است (۲۸). علاوه بر این، گزارش شده است در لایه های مختلف پیاز، فرولیک اسید و پروتوکتانکویک اسید وجود دارد. فرولیک اسید، آنتی اکسیدانی است که در ساخت ترکیبات معطر مورد استفاده قرار می گیرد. از فرولیک اسید علاوه بر خواص ضدباکتریایی، خواص آنتی اکسیدانی نیز گزارش شده است. به این معنا که نسبت به رادیکال های آزاد از جمله گونه های اکسیژن فعال واکنش پذیر است و می تواند آن ها را مهار و از اثرات مخرب آن ها جلوگیری کند. مطالعات متعددی روی فعالیت آنتی اکسیدانی سبزیجات *Allium* به عنوان مواد غذایی سالم انجام شده است (۱۱ و ۳۲). باقرلو و همکاران (۱۳۹۰) گزارش دادند که فعالیت آنتی اکسیدانی پیاز قرمز بیشتر از پیاز سفید است (۴). این فعالیت بین پوست بیرونی (بخش دور ریختنی) و بخش درونی پیاز تفاوت معنی داری دارد و کمترین مقدار آن در پیازهای سفید و بیشترین آن در پیازهای قرمز ثبت شده است. همچنین، چنگ و همکاران^۱ (۲۰۱۳) گزارش دادند که پیاز قرمز فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به پیاز زرد با توجه به سیستم لینولیک اسید و آزمون DPPH دارد (۱۷). امروزه استفاده از عصاره گیاهان جایگزین بسیار مناسبی برای مواد شیمیایی ضد میکروبی می باشد. عصاره های گیاهی دارای ترکیبات فعالی هستند که می توانند بر علیه بسیاری از

میکروارگانسیم ها به کار روند (۲). در برخی از تحقیقات، اثرات ضد میکروبی عصاره های گیاهی بر روی باکتری ها و قارچ ها در داخل محیط کشت و یا در مدل های غذایی بررسی شده است (۲۷). بر همین اساس در حال حاضر از انواع گیاهان دارویی و خوراکی مخصوصاً گیاهان با مصرف پزشکی و مشتقات آن ها به دلیل داشتن ترکیبات ضد میکروبی متنوع و قوی، به طور وسیعی برای جلوگیری از رشد عوامل میکروبی و قارچی بیماری زا استفاده می شود. انزابی (۱۳۹۵) در مطالعه ای خاصیت ضد باکتریایی عصاره الکلی نوعی پیاز قرمز را بر باکتری های گرم مثبت و گرم منفی مورد ارزیابی قرار داد (۲). نتایج نشان داد که این عصاره بر روی همه باکتری های مورد آزمایش اثرات ضدباکتریایی داشته است. نتایج مشابهی توسط صالحی و همکاران (۱۳۹۰) و شارما و همکاران^۲ (۲۰۱۸) به دست آمده است (۷ و ۳۱). عبدالقدیر و همکاران^۳ (۲۰۱۷) در مطالعه ای به ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره گیاهان پیاز (*Allium cepa*) و سیر (*A. sativum*) پرداختند. نتایج نشان داد که عصاره ها فعالیت ضد میکروبی بهتری بر علیه سویه های باکتریایی در مقایسه با سویه های قارچی داشتند (۱۱). در تحقیقی دیگر، کابرا و همکاران^۴ (۲۰۱۶) اثر ضدباکتریایی سه نوع واریته پیاز شامل پیاز قرمز، زرد و سفید را مورد مطالعه قرار دادند که هر سه نوع پیاز اثرات مهارکنندگی بر رشد همه باکتری های مورد آزمایش داشتند (۲۰). برای استخراج ترکیبات فعال موجود در گیاهان روش های متعددی نظیر خیساندن، سوکسله، میکروویو و فراصوت وجود دارد. روش خیساندن روشی سنتی و روش فراصوت یکی از جدیدترین روش های استخراج ترکیبات فعال از گیاهان می باشد. در روش فراصوت، دیواره های سلول با استفاده از نیروهای برشی شکسته شده و انتقال مواد به بیرون غشاء سلولی انجام می گیرد. همچنین، به دلیل کاهش اندازه ذرات، انتشار حلال در بافت بهتر انجام می شود. عوامل گوناگونی نظیر نوع حلال، روش استخراج، مدت

2 - Sharma et al. 2018

3 - Abdul Qadir et al. 2017

4 - Kabrah et al.

1 - Cheng et al.

پیاز دارای قطر ۷۰-۸۵ میلی‌متر بودند. لایه بیرونی پیاز جدا و به وسیله آب سرد شسته شد. سپس، این لایه‌ها در سایه و در هوای آزاد خشک گردیدند. مواد خشک شده برای تهیه عصاره مورد استفاده قرار گرفتند.

۲-۲- تهیه عصاره‌ها

عصاره‌ها به وسیله روش‌های خیساندن و فراصوت با استفاده از حلال‌های ان-بوتانول و اتیل استات تهیه شدند. در روش خیساندن ۵۰۰ میلی‌لیتر حلال به ۱۰۰ گرم پودر پوست پیاز قرمز در یک ارلن بسته افزوده و مخلوط حاصل به مدت ۷۲ ساعت توسط همزن مغناطیسی هم‌زده شد. پس از مدت زمان فوق عصاره‌های حاصل به وسیله کاغذ صافی (واتمن) از بخش جامد جدا شدند. عصاره‌های به دست آمده به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۲۵۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند. سپس، به منظور تبخیر حلال‌ها و تغلیظ عصاره‌ها، محلول رویی جمع‌آوری و در دستگاه تقطیر در خلاء (روتاری اوپراتور) در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار گرفت. بعد از اینکه عصاره‌ها کاملاً خشک شد تا زمان انجام آزمایشات در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. در روش فراصوت، به ۱۰۰ گرم از پودر پوست پیاز قرمز ۱۰۰۰ میلی‌لیتر حلال‌های فوق افزوده شد و به مدت ۴۰ دقیقه در معرض امواج صوتی با فرکانس ۶۰ Hz درون حمام فراصوت (مدل فراصوت MicroSYNTH، شرکت Milestone، دانمارک) قرار گرفت. سپس عصاره‌ها صاف و تغلیظ گردیدند (۸).

۲-۳- تعیین محتوای فنول کل^۲

مقدار فنول کل عصاره‌های به دست آمده توسط روش کالریمتریک فولین-سیوکالتو تعیین شد (۲۶). به طور خلاصه، ۰/۵ میلی‌لیتر از همه عصاره‌های محلول به طور جداگانه با ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه و ۲/۵ میلی‌لیتر واکنش‌گر فولین سیوکالتو رقیق نشده مخلوط شدند. بعد از ۵ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر سدیم کربنات Na_2CO_3 (۲۰ درصد وزنی/حجمی) اضافه و حجم محلول با آب دیونیزه

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

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

مواد اولیه مصرفی مورد استفاده در پژوهش حاضر شامل واکنشگر فولین سیوکالتو، واکنشگر گریس، گالیک اسید، کوئرستینف سدیم کربنات و اسید آسکوربیک از سیگما-آلدریج (Buchs, Switzerland) و آلومینیوم کلراید، بافر فسفات، پتاسیم فروسیانید و تری کلرواستیک اسید از فلوکا (Buchs, Switzerland) تهیه شدند. دیگر مواد شیمیایی شامل پتاسیم استات، DPPH^۱، فروس کلراید، سدیم نیتروپروساید، ان-بوتانول و اتیل استات از مرک (Darmstadt, Germany) خریداری شدند. پیاز قرمز (*Allium cepa* L.) (وارته Azar Shahr)، از بازار محلی شهرستان آمل در استان مازندران خریداری شد. غده‌های

مدت ۱۵ دقیقه نگه‌داشته شد. اسید آسکوربیک به عنوان شاهد استاندارد مثبت مورد استفاده قرار گرفت. یک شاهد (کنترل) برای هر غلظت عصاره در نظر گرفته شد. آزمون در سه تکرار انجام شد. جذب محلول حاصل در طول موج ۵۱۷ نانومتر نسبت به بلانک خوانده شد. درصد DPPH مصرف شده با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

رابطه (۱)

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

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

۲-۵-۲- آزمون قدرت احیاءکنندگی

فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با آزمون قدرت احیاءکنندگی با استفاده از پروتکل‌های شرح داده شده توسط این و دوح^۴ (۱۹۹۵) انجام شد (۳۵). در ابتدا، غلظت‌های مختلف (۳/۱۲۵، ۶/۲۵، ۱۲/۵۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) عصاره‌ها تهیه شد. سپس، ۱ میلی‌لیتر از هر عصاره در پتاسیم فروسیانید ۱ درصد و بافر سدیم فسفات ۰/۲ مولار (با pH برابر با ۶/۶) حل شد و برای ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در بن ماری انکوبه گردید. آن‌گاه، تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد به آن اضافه و به دنبال آن در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. لایه بالایی با یک حجم مساوی آب دیونیزه و کلرید آهن ۰/۱ درصد رقیق شد. اسید آسکوربیک به عنوان شاهد (کنترل) استاندارد مثبت مورد استفاده قرار گرفت. چگالی نوری^۵ نمونه‌ها در طول موج ۷۰۰ نانومتر نسبت به یک بلانک (شامل همه اجزا بدون عصاره) اندازه‌گیری شد.

۲-۵-۳- آزمون به‌دام‌اندازی نیتریک اکساید

در این آزمون، فعالیت به‌دام‌اندازی نیتریک اکساید با استفاده از روش شرح‌داده شده توسط ابراهیم زاده و همکاران^۶ (۲۰۱۳)

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

۲-۴- تعیین محتوای فلاوونوئید کل^۱

محتوای فلاوونوئید کل با روش کالریمتیک آلومینیوم کلراید شرح داده شده توسط چانگ و همکاران^۲ (۲۰۰۲) تعیین شد (۱۵). هر یک از محلول‌های عصاره (۰/۵ میلی‌لیتر) به طور جداگانه یا متانول ۹۵ درصد (۱/۵ میلی‌لیتر)، آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد (۰/۱ میلی‌لیتر)، پتاسیم استات یک مولار (۰/۱ میلی‌لیتر) و آب دیونیزه (۳ میلی‌لیتر) مخلوط شد. بعد از نگهداری به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق، جذب مخلوط حاصل با اسپکتروفوتومتر دوپرتویی مرئی ماوراء بنفش (Germany Jena, Jena, Analytik) در طول موج ۴۱۵ نانومتر نسبت به محلول بلانک بدون واکنش‌گر اندازه‌گیری شد. آزمایش در سه تکرار انجام شد. کوئرستین به عنوان استاندارد مرجع مورد استفاده قرار گرفت و نتایج بر حسب میلی‌گرم معادل کوئرستین در گرم عصاره بیان شدند.

۲-۵-۲- تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی

۲-۵-۱- آزمون به‌دام‌اندازی DPPH

آزمون به‌دام‌اندازی رادیکال DPPH عصاره‌ها با روش گزارش شده توسط سان و همکاران^۳ (۲۰۰۵) با اندکی تغییر انجام شد. به طور خلاصه، یک حجم مساوی از محلول متانولی DPPH (۰/۱ میلی‌مول/لیتر) و عصاره‌ها در غلظت‌های مختلف (۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) با شیکر مخلوط شدند. این مخلوط در تاریکی در دمای اتاق برای

4 - Yen and Duh
5 - Optical Density
6 - Ebrahimzadeh et al.

1 - Total Flavonoid Content (TFC)
2 - Chang et al.
3 - Sun et al.

اندازه‌گیری شد (۱۹). در ابتدا، ۴۰ میلی‌گرم از هر عصاره خشک شده در ۲۵ میلی‌لیتر حلال (۱۵ میلی‌لیتر متانول + ۱۰ میلی‌لیتر نرمال سالین) به منظور تهیه محلول عصاره با غلظت ۱۶۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر حل شد. برای این آزمایش، ۲۵ میلی‌گرم سدیم نیتروپروساید (۱۰ میلی‌مولار) در ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر فسفات سالین با ۳ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف محلول عصاره (۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر) مخلوط شد و برای ۱۵۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه گردید. همان مخلوط واکنش بدون عصاره اما با مقدار معادل از آب به عنوان شاهد (کنترل) ارائه شد. بعد از انکوباسیون، ۰/۵ میلی‌لیتر واکنشگر گریس اضافه شد. جذب کروموفور تشکیل شده در طول موج ۵۴۶ نانومتر خوانده شد. کوئرتستین به عنوان یک کنترل مثبت مورد استفاده قرار گرفت (۱۹).

۶-۲-۱- آزمون‌های فعالیت ضد میکروبی

۶-۲-۱-۱- میکرواوارگانسیم‌ها

ویال‌های لیوفیلیزه باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس آرنئوس (PTCC-1431)، باکتری‌های گرم منفی اشرشیا کلی (PTCC-1395) و سالمونلاتیفی (PTCC-1609) و قارچ‌های آسپرژیلوس نایجر (PTCC-5154) و کاندیدا آلبیکانس (PTCC-5027) از مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری شدند. سپس، کشت‌های خالص روی نوترینت آگار و پوتیتو دکستروز آگار کشت شدند و برای مطالعه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شدند.

۶-۲-۲- تهیه سوسپانسیون میکروبی

بدین منظور، ویال‌های لیوفیلیزه در زیر هود لامینار در کنار شعله باز شد و سپس ۲ میلی‌لیتر از محیط کشت اتوکلاو شده توسط سرنگ به ماده خشک درون ویال‌ها اضافه شد و پس از یکنواخت شدن بر روی محیط‌های کشت نوترینت برات، نوترینت آگار و پوتیتو دکستروز آگار انتقال یافتند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای باکتری‌ها و به

مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۸-۲۵ درجه سانتی‌گراد در گرمخانه قرار داده شدند. سپس از محیط کشت جدید حاوی میکرواوارگانسیم‌های رشد یافته با استفاده از لوپ استریل بر روی محیط‌های کشت جامد فوق کشت خطی انجام شد و پتری‌ها به داخل گرمخانه منتقل شده تا به عنوان منبع باکتری‌ها و قارچ‌ها در ادامه آزمایش مورد استفاده قرار گیرند. با توجه به اینکه برای تهیه سوسپانسیون میکروبی جهت استفاده در آزمایشات مورد نظر در پژوهش حاضر نیاز به کشت ۲۴ ساعته از هر میکرواوارگانسیم بود، بنابراین ۲۴ ساعت قبل از انجام هر آزمایش، از کشت ذخیره باکتری‌ها و قارچ‌ها به سطح محیط‌های کشت نوترینت آگار و PDA تلقیح گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای باکتری‌ها و ۲۸ درجه سانتی‌گراد برای قارچ‌ها گرمخانه‌گذاری شدند. سپس مقداری از باکتری‌ها و قارچ‌های مذکور به صورت جداگانه درون لوله آزمایش حاوی سرم فیزیولوژی ریخته و پس از به هم زدن با کمک شیکر، کدورت آن معادل کدورت موجود در لوله شماره ۰/۵ استاندارد مک فارلند تنظیم گردید. سوسپانسیون مورد استفاده حاوی حدود $1/5 \times 10^8$ CFU/ml از باکتری و قارچ مورد نظر بود (۱۴).

۶-۲-۳- بررسی قطر هاله عدم رشد به روش انتشار دیسک^۱

بدین منظور در ابتدا از تمام سویه‌های باکتریایی و قارچی مورد نظر غلظت $1/5 \times 10^8$ CFU/ml در محیط مایع مغذی مولر هینتون برات و یا سرم فیزیولوژی تهیه و سپس بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شدند. غلظت‌های مختلفی از عصاره‌های پوست پیاز قرمز (۲۵/۶، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به وسیله آب مقطر استریل تهیه شد. آن‌گاه، دیسک‌های بلانک پادتن طب (شرکت پادتن طب، تهران، ایران) با ۶ میلی‌متر قطر مطابق دستور شرکت سازنده به هر غلظت عصاره آغشته شد و پس از خشک شدن در شرایط استریل، با استفاده از پنس استریل در سطح محیط کشت مولر هینتون آگار حاوی باکتری و یا قارچ قرار داده

باکتری و قارچی اضافه شد. سپس میکروپلیت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری گردید. کدورت و یا عدم کدورت چاهک ها ابتدا به صورت چشمی مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی رشد باکتری ها و قارچ ها، مقدار ۵۰ میکرولیتر از معرف رنگی تری فنیل ترازولیوم کلراید ۵ میلی گرم/میلی لیتر (Sigma-Aldrich, USA) در تمام چاهک های پلیت ریخته و مجدداً به مدت ۳ ساعت در گرمخانه انکوبه شد. پس از طی مدت زمان لازم، میکروپلیت ها از گرمخانه خارج و نتایج آن ها بررسی گردید. یک غلظت بالاتر از آخرین غلظتی که رنگ قرمز را به خود گرفت به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی عصاره در نظر گرفته شد (۱۰).

۲-۶-۵- تعیین حداقل غلظت باکتری کشی^۲

جهت تعیین حداقل غلظت باکتری کشی، مقدار ۱۰ میکرولیتر از محتویات چاهک های مربوطه به جواب آزمایش حداقل غلظت بازدارندگی هر یک از باکتری های مورد آزمایش که عدم رشد باکتری مورد نظر را نشان داده بود برداشته و در سطح محیط مولر هیتون آگار کشت داده شد و بلافاصله در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید. سپس پلیت های کشت داده شده از نظر وجود رشد میکروبی کنترل شد. کنترل های منفی نیز با انکوبه کردن پلیت حاوی محیط مولر هیتون آگار برای همین مدت و در همان دما انجام شد. بالاترین رقتی از عصاره پیاز که در سطح پلیت کشت داده شده مربوطه هیچ اثری از رشد و تولید کلنی از باکتری های مورد مطالعه وجود نداشت، به عنوان حداقل غلظت باکتری کشی عصاره پیاز نسبت به سویه استاندارد هر یک از باکتری های مورد آزمایش در نظر گرفته شد (۹).

شده. بر روی هر پتری دیش یک دیسک آغشته به آب مقطر به عنوان کنترل منفی قرار داده شد. کنترل های مثبت مورد استفاده برای همه باکتری ها دیسک های آنتی بیوتیک جنتامایسین در غلظت ۱۰ میکروگرم بر دیسک (پادتن طب، ایران) و برای قارچ ها مایکونازول در غلظت ۱۰ میکروگرم بر دیسک (Rosco Diagnostica A/S, Denmark) بودند. پتری دیش ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد برای مدت ۲۴ ساعت برای باکتری ها و در دمای ۲۸-۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت برای قارچ ها گرمخانه گذاری شدند. فعالیت ضد میکروبی به صورت میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی متر) ایجاد شده توسط غلظت های مختلف هر عصاره اطراف دیسک ها بیان شد. این آزمایش در سه تکرار انجام شد (۸).

۲-۶-۴- تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد^۱

حداقل غلظت بازدارندگی با استفاده از روش برات میکرو دایلوژن^۲ روی محیط مولر هیتون برات در یک پلیت میکروتیتر با ۹۶ چاهک تعیین شد. از سوسپانسیون نیم مک فارلند تهیه شده از کشت یک شبه میکرواورگانیزم، رقت های یک دهم و سپس یک صدم تهیه گردید تا تعداد تقریبی ۱۰^۶ میکرواورگانیزم در هر میلی لیتر از سوسپانسیون ایجاد شود. در میکروپلیت های ۹۶ چاهکی ته گرد، به چاهک های ردیف اول پلیت فقط محیط کشت و سوسپانسیون باکتریایی و یا قارچی اضافه گردید. در ردیف بعدی به ۶ چاهک از پلیت ها، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محیط مایع مغذی مولر هیتون اضافه شد. سپس، به چاهک اول ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از هر یک از عصاره های پوست پیاز قرمز به طور جداگانه اضافه شد و به چاهک های بعدی به ترتیب غلظت های ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ و ۶/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر از عصاره های مورد مطالعه اضافه گردید. به هر چاهک ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون

1 - Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

2 - Microdilution

3 - Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

۲-۶-۶- تعیین حداقل غلظت قارچ کشی^۱

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

۲-۷- آنالیز آماری

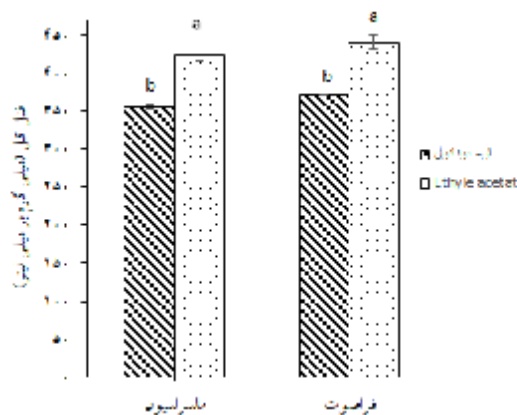
در این تحقیق تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره پوست پیاز قرمز بر باکتری‌ها و قارچ‌های مورد مطالعه، با استفاده از روش اندازه‌گیری‌های تکرار شده در سطح احتمال ($P < 0/05$) پرداخته شده است. تیمارها در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفته و نتایج به دست آمده با استفاده از روش‌های آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way - ANOVA) در سطح احتمال ($P < 0/05$) مورد بررسی قرار گرفته و همچنین مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش آزمون چنددامنه ای دانکن در سطح احتمال ($P < 0/05$) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته است. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار V.22 Spss انجام گرفته و نمودارها با استفاده از نرم افزار EXCEL 2016 رسم گردیده است.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- نتایج آنالیز محتوای فنول کل

نتایج به دست آمده در شکل ۱ نشان داد که محتوای فنول کل در روش‌های استخراج و عصاره‌های به دست آمده از ان-بوتانول

و اتیل استات تفاوت آماری معنی‌داری داشتند ($p < 0/05$). مقایسه تأثیر روش عصاره‌گیری بر محتوای فنول کل عصاره‌های پوست پیاز قرمز نشان می‌دهد که عصاره‌های به دست آمده با روش فراصوت دارای محتوای فنول کل بالاتر در مقایسه با عصاره‌های حاصل از خیساندن می‌باشند. شهنازی و همکاران (۱۳۹۶) در مطالعه خود روی گیاه تره (*Allium ampeloprasum*) بیان داشتند که عصاره حاصل از روش فراصوت دارای محتوای فنول کل بالاتر (۸۹/۱ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در گرم عصاره) در مقایسه با عصاره حاصل از خیساندن (۷۵/۸ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در گرم عصاره) بود که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد (۶). ابراهیم زاده و همکاران (۲۰۱۳) روش‌های سوکسله، فراصوت و خیساندن را جهت عصاره‌گیری از گیاه *Cucumis melo* مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد که عصاره حاصل از روش فراصوت محتوای فنول کل بالاتری نسبت به عصاره به دست آمده از روش خیساندن داشت که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد (۱۹). این امر می‌تواند به دلیل بالاتر بودن میزان پخش حلال در ماده مورد نظر و خروج آسانتر ترکیبات فنلی در روش فراصوت باشد. به طور کل، استخراج با اتیل استات بیشترین استخراج با ان-بوتانول کمترین محتوای فنول را نتیجه داد.

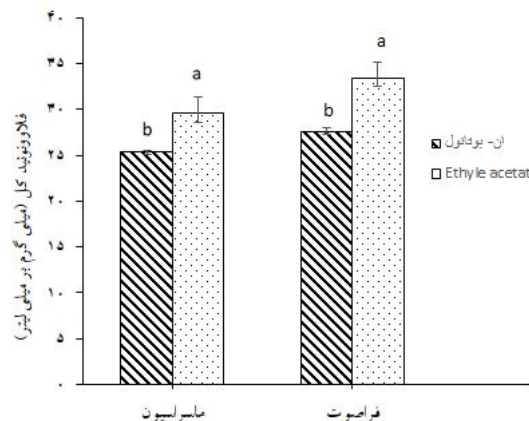


شکل ۱- مقایسه تاثیر روش عصاره‌گیری و نوع حلال بر میانگین محتوای فنول کل در عصاره‌های مختلف پوست پیاز قرمز

در حلال‌های مختلف بستگی داشته و قطبیت حلال‌ها نقش کلیدی را در افزایش حلالیت این ترکیبات بازی می‌کند. مطلبی و همکاران^(۲۰۱۶) گل‌آذین گیاه زولنگ *Eryngium caucasicum* را با سه روش عصاره‌گیری نموده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های حاصل را با یکدیگر مقایسه کردند. نتایج نشان داد که روش‌های سوکسله و فراصوت در استخراج ترکیبات فلاوونوئید در این گیاه مؤثرتر از روش کلاسیک خیساندن عمل می‌کنند که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد^(۲۵). باباخانی و همکاران^(۱۳۹۶) نیز در مطالعه خود روی گیاه *Nonnea lutea* بیان داشتند که محتوای فلاوونوئید کل برای عصاره به دست آمده از روش فراصوت بالاتر (۹۱/۹۵ میلی‌گرم معادل کوئرستین در گرم عصاره) از عصاره حاصل از خیساندن (۸۰/۹۷ میلی‌گرم معادل کوئرستین در گرم عصاره) بود که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد^(۳).

۳-۲- نتایج آنالیز محتوای فلاوونوئید کل

مطابق شکل ۲، اثر نوع حلال و روش عصاره‌گیری بر محتوای فلاوونوئید عصاره‌های به دست آمده از پوست پیاز قرمز کاملاً معنی‌دار بود ($p < 0.05$). نتایج به دست آمده نشان داد که عصاره‌های حاصل از روش فراصوت دارای محتوای فلاوونوئید کل بیشتری از عصاره‌های به دست آمده از روش خیساندن بود. به نظر می‌رسد به دلیل قطبیت بالاتر حلال اتیل استات نسبت به آن- بوتانول، میزان فلاوونوئید در عصاره به دست آمده با حلال اتیل استات بالاتر بوده است. از نظر روش استخراج نیز بین روش خیساندن و فراصوت تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید ($p < 0.05$). روش فراصوت باعث افزایش میزان انتشار حلال به درون بافت گیاهی و در نتیجه ایجاد خلل و فرج برای خروج آسانتر مولکول‌ها می‌شود. به همین دلیل، میزان محصول ورودی به حلال آسانتر می‌شود. همچنین، استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از مواد گیاهی به حلالیت این ترکیبات



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

۳-۳-۳- نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی

۳-۳-۳-۱- نتایج فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH

مقایسه با عصاره آبی و روش استخراج برگشتی (رفلاکس) در مقایسه با روش‌های خیساندن، پرکولاسیون و سوکسله فعالیت مهارکنندگی DPPH بیشتری را نشان داده است (۳۰). نتایج مقایسه تأثیر نوع حلال بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH در جدول ۱ نشان می‌دهد که در روش خیساندن عصاره ان-بوتانولی فعالیت مهارکنندگی بیشتری نسبت به عصاره اتیل استاتی دارد، درحالی‌که در روش فراصوت نتیجه برعکس می‌باشد. بالاترین و پایین‌ترین فعالیت رادیکال‌گیرندگی عصاره‌ها به ترتیب به روش استخراج فراصوت و حلال اتیل استات و روش استخراج خیساندن و حلال اتیل استات مربوط می‌شود. بنابراین، کارایی حلال مورد استفاده به طور معنی‌داری به روش استخراج وابسته است. به طور کلی، نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که عصاره‌های تهیه شده توانایی مهارکردن رادیکال‌های آزاد را دارند. نتایج مطالعه حاضر با نتایج گزارش شده توسط آلوسمن و همکاران^۲ (۲۰۰۹)، زو و همکاران^۳ (۲۰۱۱)، دو و همکاران^۴ (۲۰۱۴) و سینق و همکاران^۵ (۲۰۱۷) به ترتیب در مطالعه فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH

آزمون مهارکنندگی رادیکال DPPH به طور وسیع برای تخمین توانایی به دام اندازی رادیکال آزاد در نمونه‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. ترکیب DPPH یک رادیکال آزاد با اتم مرکزی نیتروژن است که با احیاء شدن تولید مولکول پایدار می‌کند که از ارغوانی به زرد تغییر رنگ می‌دهد. مقایسه تأثیر روش عصاره‌گیری بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH عصاره‌های پوست پیاز قرمز در جدول ۱ نشان می‌دهد که برای عصاره ان-بوتانولی در غلظت‌های ۶/۲۵ تا ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، فعالیت مهارکنندگی عصاره حاصل از روش فراصوت بیشتر از روش خیساندن بوده، در حالی‌که در غلظت‌های بالاتر یعنی ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره حاصل از روش خیساندن دارای فعالیت مهارکنندگی بیشتر در مقایسه با عصاره به دست آمده از روش فراصوت بود. نتایج برای عصاره اتیل استاتی نیز نشان می‌دهد که عصاره حاصل از روش فراصوت دارای فعالیت مهارکنندگی بیشتری در مقایسه با عصاره به دست آمده از روش خیساندن بود. سابتارینی و وارداتی^۱ (۲۰۲۰) گزارش دادند که عصاره اتیل استاتی پیاز در

2 - Alothman et al.

3 - Zhu et al.

4 - Do et al.

5 - Singh et al.

1 - Saptarini and Wardati

و همکاران (۲۰۱۱) در مورد رفتار وابسته به غلظت فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH عصاره‌های دو وارسته زنجبیل مطابقت دارد (۲۰).

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

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

پیاز قرمز

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

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

۳-۲-۳- نتایج قدرت احیاکنندگی

مقایسه تاثیر روش عصاره‌گیری بر قدرت احیاکنندگی عصاره‌های مختلف پوست پیاز قرمز در جدول ۲ نشان داده شده است. عصاره‌های ان-بوتانولی و اتیل استاتی به دست آمده از روش فراصوت دارای قدرت احیاکنندگی بیشتری در مقایسه با عصاره‌های حاصل از روش خیساندن بودند. باباخانی و همکاران (۱۳۹۶) در مطالعه بر روی گیاه چشم‌گره‌ای بیان داشتند که فعالیت احیاکنندگی عصاره حاصل از روش فراصوت در تمامی غلظت‌ها بیشتر از عصاره به دست آمده از روش خیساندن بود که مطابق با نتایج پژوهش حاضر می‌باشد (۳). آزمایش قدرت احیاکنندگی پارامتر مهم مورد استفاده در ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی می‌باشد. این پارامتر پراکسیداسیون لیپید را با اهداء یک اتم هیدروژن که منجر به پایان‌دهی واکنش زنجیره‌ای رادیکال آزاد می‌شود، نشان می‌دهد. حضور آنتی‌اکسیدان‌ها در نمونه موجب احیاء کمپلکس $Fe^{3+}/ferricyanide$ به شکل Fe^{2+} می‌شود که با اندازه‌گیری تشکیل Prussian blue Perls

در طول موج ۷۰۰ نانومتر مورد ارزیابی قرار می‌گیرد (۱۸). نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که عصاره اتیل استاتی بیشترین قدرت احیاکنندگی را در گستره غلظت ۶/۲۵ تا ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ترتیب با میانگین جذب ۰/۰۹۸ تا ۲/۸۳۹ نشان داد و از غلظت ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر به بالا به طور معنی‌داری بالاتر از قدرت احیاکنندگی عصاره‌های ان-بوتانولی بود. با توجه به نتایج جدول ۲، عصاره‌ها در جات مختلفی از ظرفیت اهداء الکترون را در یک رفتار وابسته به غلظت نشان دادند که با نتایج گزارش شده توسط دو و همکاران (۲۰۱۴) مطابقت دارد. (۱۸) همچنین نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعه ین و دو^۱ (۱۹۹۳) همخوانی دارد که گزارش کردند که قدرت احیاکنندگی عصاره پوست میوه بادام زمینی با افزایش غلظت افزایش می‌یابد و همبستگی خوبی با اندازه فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد (۳۴). آنها همچنین نشان دادند که پتانسیل احیاکنندگی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به طور نزدیکی با

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

۳-۳-۳- آنالیز فعالیت به دام اندازی رادیکال نیتریک اکساید
نتایج حاصل از مقایسه تاثیر روش عصاره‌گیری بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال نیتریک اکساید عصاره‌های مختلف پوست پیاز قرمز در جدول ۳ نشان می‌دهد که فعالیت مهارکنندگی عصاره‌های ان-بوتانولی و اتیل استاتی حاصل از روش فراصوت در تمامی غلظت‌ها (به استثناء ۱۶۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در مقایسه با عصاره‌های به دست آمده از روش خیساندن بیشتر بود. غلظت‌های مختلف عصاره‌ها (۱۰۰-۱۶۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مهار نیتریک اکساید را در گستره‌ای از ۱۷/۵۶ تا

۴۰/۱۸ درصد نشان دادند. عصاره اتیل استاتی مهارکنندگی نیتریک اکساید بالاتری در مقایسه با عصاره ان-بوتانولی در غلظت‌های مورد مطالعه نشان داد. بیشترین فعالیت مهارکنندگی نیتریک اکساید برای عصاره اتیل استاتی (۴۰/۱۸ درصد) در غلظت ۱۶۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به روش خیساندن حاصل شد. نتایج مطالعه حاضر فعالیت مهارکنندگی نیتریک اکساید عصاره‌ها را در یک رفتار وابسته به غلظت نشان می‌دهد که با نتایج گزارش شده توسط راو و همکاران^۱ (۲۰۱۶) و آدبایو و همکاران^۲ (۲۰۱۹) مطابقت دارد (۲۸، ۱۲). آدبایو و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند بیشترین مهارکنندگی نیتریک اکساید برای عصاره‌ها با استفاده از اتیل استات و استون به وجود آمد که با نتایج به دست آمده برای عصاره اتیل استاتی در مطالعه حاضر همخوانی دارد (۱۲).

جدول ۲- مقایسه تاثیر روش عصاره‌گیری و نوع حلال بر قدرت احیاکنندگی در غلظت‌های مختلف عصاره پوست پیاز قرمز

عصاره‌گیری	روش	حلال	غلظت (میلی‌گرم بر لیتر)						
			۴۰۰	۲۰۰	۱۰۰	۵۰	۲۵	۱۲/۵	۶/۲۵
خیساندن فراصوت	n-بوتانولی		۰/۳۶۵Bb	۰/۳۰۱Bb	۰/۲۶۵Bb	۰/۱۳۲Bb	۰/۱۱۶Bb	۰/۰۹۸Ab	۰/۰۵۹Bb
			۱/۱۸۰Ab	۰/۹۱۰Ab	۰/۳۹۷Ab	۰/۳۳۰Ab	۰/۱۸۹Ab	۰/۱۰۱Aa	۰/۰۹۱Aa
خیساندن فراصوت	اتیل استاتی		۰/۳۸۷Ba	۰/۳۶۰Ba	۰/۲۸۷Ba	۰/۲۶۹Ba	۰/۱۸۰Ba	۰/۱۶۲Aa	۰/۰۸۵Ba
			۲/۸۴۰Aa	۲/۳۳۰Aa	۱/۰۳۰Aa	۰/۷۲۹Aa	۰/۵۸۶Aa	۰/۱۰۷Ba	۰/۰۹۸Aa

* حروف متفاوت بزرگ در هر ستون و حروف متفاوت کوچک در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار به ترتیب بین روش‌های استخراج

و غلظت عصاره می‌باشد ($p < 0.05$)

1 - Rao et al.

2 - Adebayo et al.

جدول ۳- مقایسه تاثیر روش عصاره گیری و نوع حلال بر فعالیت به دام اندازی رادیکال نیتریک اکساید در غلظت های مختلف عصاره پوست پیاز قرمز

روش عصاره گیری	حلال	غلظت (میکروگرم بر میلی لیتر)				
		۱۶۰۰	۸۰۰	۴۰۰	۲۰۰	۱۰۰
خیساندن	n-بوتانولی	۳۶/۷۳Ab	۲۹/۶۸Ba	۲۲/۰۷Ba	۱۷/۵۶Bb	۲۶/۰۵Ba
فراصوت		۳۶/۶۳Ab	۳۵/۶۱Aa	۳۰/۱۳Ab	۲۹/۰۵Ab	۲۹/۱۴Ab
خیساندن	اتیل استاتی	۴۰/۱۸Aa	۲۹/۰۳Ba	۲۰/۹۳Bb	۲۰/۹۸Ba	۲۲/۴۳Bb
فراصوت		۳۸/۹۵Aa	۳۶/۱۳Aa	۳۴/۹۸Aa	۳۳/۸۸Aa	۳۳/۴۶Aa

* حروف متفاوت بزرگ در هر ستون و حروف متفاوت کوچک در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار به ترتیب بین روش های استخراج و غلظت عصاره می باشد ($p < 0.05$)

۳-۴- نتایج اثرات ضد میکروبی

عصاره بسیاری از گیاهان قادر به مهار رشد میکروارگانیسم ها می باشد. عوامل متعددی مانند وارته گیاه، چگونگی خشک کردن، روش عصاره گیری و نوع حلال بر خواص ضد میکروبی عصاره گیاه تاثیر دارد (۱). در این مطالعه، اثر روش عصاره گیری و نوع حلال بر خواص میکروبی عصاره پوست پیاز قرمز بررسی گردید. برای این منظور چند سویه باکتری گرم مثبت و منفی و همچنین قارچ انتخاب و اثر غلظت های مختلف عصاره به دست آمده در مهار رشد این میکروارگانیسم ها بررسی شد و در انتها با اثر چند آنتی بیوتیک استاندارد به عنوان نمونه شاهد مقایسه گردید. نتایج تاثیر روش عصاره گیری و نوع حلال بر خواص ضد میکروبی عصاره پوست پیاز قرمز به صورت کمی و با اندازه گیری قطر هاله عدم رشد در جدول ۶ نشان داده شده است. به استثنای قارچ اسپرژیلوس نایجر، عصاره ان- بوتانولی و اتیل استاتی حاصل از روش خیساندن در غلظت های پائین نسبت به عصاره حاصل از روش فراصوت علیه همه میکروارگانیسم ها خواص ضدباکتریایی بیشتری داشت ($p < 0.05$). در تمامی غلظت ها برای قارچ اسپرژیلوس نایجر، عصاره ان- بوتانولی و اتیل استاتی حاصل از خیساندن در مقایسه با فراصوت اثر مهارکنندگی بیشتری داشته است.

نتایج به دست آمده برای جلوگیری از رشد باکتری استافیلوکوکوس ارنوس نشان داد که بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به عصاره گیری با روش فراصوت، حلال اتیل استات و غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر عصاره بود که برابر با ۲۴ میلی متر می باشد. با افزایش غلظت عصاره خاصیت ضدباکتریایی آن افزایش یافت به طوری که با افزایش غلظت عصاره از ۶/۲۵ تا ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر قطر هاله عدم رشد حدود ۱۶ میلی متر بیشتر شد. در مورد اثر روش عصاره گیری و نوع حلال بر خواص ضد باکتریایی عصاره پوست گیاز قرمز علیه باکتری های اشرشیاکلی و سالمونلا تیفی نیز روند مشابهی به دست آمد به این صورت که با افزایش غلظت قطر هاله عدم رشد افزایش یافت. در مورد اشرشیاکلی قطر هاله برای روش فراصوت و حلال اتیل استات از مقدار ۶/۶۷ میلی متر در غلظت ۶/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر تا ۱۶ میلی متر در غلظت ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر افزایش یافت و برای باکتری سالمونلا تیفی به ترتیب ۶/۶۷ میلی متر برای غلظت ۶/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر و ۱۸/۳۳ میلی متر برای غلظت ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد که نشان دهنده تاثیر بیشتر عصاره بر باکتری سالمونلا تیفی است. به طور کلی تاثیر غلظت های مختلف (۶/۲۵ تا ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) عصاره پوست پیاز بر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس ارنوس بیشتر از باکتری های گرم منفی اشرشیاکلی و سالمونلا تیفی بود. در مورد آنتی بیوتیک

پائین‌تر از ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره حاصل از روش خیساندن و در غلظت‌های بالاتر از آن عصاره به دست آمده با روش فراصوت قطر هاله عدم رشد بیشتری را حاصل آوردند. بررسی داده‌ها نشان داد که عصاره اتیل استاتی حاصل از روش خیساندن در همه غلظت‌ها به استثنای ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر خواص ضدقارچی بیشتری در مقایسه با عصاره به دست آمده از روش فراصوت بر قارچ اسپرژیلوس نایجر داشت ($p < 0/05$).
 باباخانی و همکاران (۱۳۹۶) در مطالعه خود روی گیاه چشم‌گره‌ای بیان داشتند که عصاره حاصل از روش فراصوت اثر مهارکنندگی بیشتری بر باکتری‌های سودوموناس آنروژینوزا، اشیریشیا کلی و باسیلوس سابتیلیس داشته، در حالی که تاثیر عصاره حاصل از خیساندن بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بیشتر از عصاره به دست آمده از روش فراصوت بوده است (۳). انزابی (۱۳۹۵) در مطالعه خود بیان داشت که عصاره هیدروالکلی پیاز قرمز سبب مهار رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و اشیریشیا کلی با میانگین قطر هاله به ترتیب ۱۵ و ۸ میلی‌متر در غلظت ۱۲۵ و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر شده است (۲). حافظ قرآن و همکاران (۱۳۹۳) نشان دادند که عصاره اتیل استاتی پیاز گیاه سنبل کوهی در غلظت‌های مختلف قطر هاله بیشتری را در مقایسه با عصاره‌های کلروفرمی و هیدروالکلی نتیجه داد که با نتایج تحقیق حاضر در رابطه با تاثیر بیشتر عصاره اتیل استاتی مطابقت دارد (۵).

جنتامایسین، قطر هاله عدم رشد علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشیریشیا کلی و سالمونلا تیفی به ترتیب برابر با ۱۹/۶۷، ۱۷/۳۳ و ۳۱ به دست آمد. با مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره با آنتی‌بیوتیک استاندارد جنتامایسین مشخص شد که آنتی‌بیوتیک جنتامایسین اثر ضد باکتریایی بیشتری نسبت به عصاره علیه باکتری‌های گرم منفی اشیریشیا کلی و سالمونلا تیفی داشت. در رابطه با اثر مهارکنندگی روی قارچ کاندیدا آلبیکانس، عصاره اتیل استاتی حاصل از هر دو روش فراصوت و خیساندن در تمامی غلظت‌ها اثر مهارکنندگی بیشتری در مقایسه با عصاره ان-بوتانولی داشت. قطر هاله عدم رشد برای آنتی‌بیوتیک استاندارد مایکونازول علیه قارچ‌های اسپرژیلوس نایجر و کاندیدا آلبیکانس به ترتیب برابر با ۲۳ و ۲۱ میلی‌متر بدست آمد که نشان می‌دهد مایکونازول اثر ضد قارچی بیشتری نسبت به عصاره پوست پیاز قرمز علیه قارچ کاندیدا آلبیکانس دارد. همچنین با توجه به نتایج، اثر ضد قارچی عصاره ان-بوتانولی و اتیل استاتی روش خیساندن علیه قارچ کاندیدا آلبیکانس با افزایش غلظت عصاره تغییر چندانی نشان نداده است. همچنین براساس نتایج تاثیر روش عصاره‌گیری بر خواص ضد میکروبی عصاره اتیل استاتی در جدول ۴، عصاره حاصل از روش فراصوت در تمامی غلظت‌ها به استثنای غلظت ۶/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشیریشیا کلی و قارچ کاندیدا آلبیکانس به طور معنی‌داری تاثیر بیشتری داشت ($p < 0/05$). در رابطه با باکتری سالمونلا تیفی در غلظت‌های

جدول ۴- مقایسه تاثیر روش عصاره گیری و نوع حلال بر فعالیت میکروبی عصاره پوست پیاز قرمز علیه میکرواورگانسیم های مورد مطالعه

روش عصاره گیری	نوع حلال	میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی متر)*						
		۶/۲۵	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰	۲۰۰	۴۰۰
<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>								
خیساندن	ان-بوتانولی	۸/۳۳A	۹/۳۳A	۱۰/۰۰A	۱۰/۳۳B	۱۲/۶۷B	۱۴/۰۰B	۱۶/۳۳B
	اتیل استاتی	۸/۶۷A	۹/۰۰A	۱۰/۳۳A	۱۰/۶۷B	۱۳/۳۳B	۱۴/۳۳B	۱۷/۶۷B
فراصوت	ان-بوتانولی	۷/۰۰B	۸/۳۳B	۹/۶۷A	۱۱/۳۳A	۱۴/۰۰A	۱۶/۶۷A	۱۹/۰۰A
	اتیل استاتی	۷/۶۷B	۹/۶۷B	۱۱/۰۰A	۱۳/۳۳A	۱۶/۳۳A	۱۹/۰۰A	۲۴/۰۰A
<i>اشریشیا کلی</i>								
خیساندن	ان-بوتانولی	۷/۶۷A	۸/۳۳A	۸/۶۷A	۹/۳۳A	۹/۶۷B	۱۱/۳۳B	۱۲/۳۳B
	اتیل استاتی	۷/۰۰A	۷/۳۳A	۸/۰۰B	۸/۳۳B	۸/۶۷B	۹/۳۳B	۱۰/۳۳B
فراصوت	ان-بوتانولی	۶/۳۳B	۷/۶۷A	۸/۳۳A	۹/۳۳A	۱۱/۳۳A	۱۲/۶۷A	۱۵/۳۳A
	اتیل استاتی	۶/۶۷A	۷/۶۷A	۹/۳۳A	۱۰/۰۰A	۱۱/۶۷A	۱۳/۳۳A	۱۶/۰۰A
<i>سالمونلا تیفی</i>								
خیساندن	ان-بوتانولی	۸/۶۷A	۹/۶۷A	۱۰/۳۳A	۹/۶۷A	۱۰/۳۳B	۱۰/۶۷B	۱۱/۶۷B
	اتیل استاتی	۹/۰۰A	۹/۶۷A	۱۰/۳۳A	۱۰/۶۷A	۱۰/۳۳A	۱۱/۳۳A	۱۲/۰۰A
فراصوت	ان-بوتانولی	۶/۶۷B	۷/۶۷B	۸/۶۷B	۹/۳۳A	۱۱/۳۳A	۱۲/۳۳A	۱۴/۶۷A
	اتیل استاتی	۶/۶۷B	۸/۳۳B	۱۰/۰۰A	۱۰/۶۷A	۱۱/۳۳A	۱۴/۳۳A	۱۸/۳۳A
<i>آسپرژیلوس نایجر</i>								
خیساندن	ان-بوتانولی	۷/۶۷A	۹/۳۳A	۱۰/۶۷A	۱۲/۶۷A	۱۶/۳۳A	۲۲/۰۰A	۲۴/۳۳A
	اتیل استاتی	۱۰/۳۳A	۱۱/۶۷A	۱۳/۶۷A	۱۵/۰۰A	۱۹/۰۰A	۲۲/۳۳A	۲۳/۶۷A
فراصوت	ان-بوتانولی	۶/۶۷B	۸/۰۰B	۹/۰۰B	۹/۳۳B	۱۰/۳۳B	۱۳/۶۷B	۱۶/۰۰B
	اتیل استاتی	۹/۳۳B	۱۱/۰۰A	۱۲/۳۳B	۱۴/۰۰B	۱۵/۶۷B	۱۸/۳۳B	۲۴/۳۳A
<i>کاندیدا آلبیکانس</i>								
خیساندن	ان-بوتانولی	۷/۳۳A	۷/۶۷A	۷/۳۳B	۷/۶۷B	۷/۶۷B	۷/۶۷B	۷/۶۷B
	اتیل استاتی	۹/۰۰A	۹/۳۳A	۱۰/۰۰B	۹/۶۷B	۱۰/۳۳B	۱۰/۶۷B	۱۱/۶۷B
فراصوت	ان-بوتانولی	۷/۰۰A	۷/۳۳A	۸/۶۷A	۹/۶۷A	۱۱/۶۷A	۱۴/۳۳A	۱۶/۳۳A
	اتیل استاتی	۸/۶۷A	۱۰/۰۰A	۱۱/۰۰A	۱۳/۰۰A	۱۴/۶۷A	۱۷/۰۰A	۱۹/۶۷A

*حروف متفاوت برای هر میکرواورگانسیم در روش های استخراج در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار می باشد (p<۰/۰۵)

حساسیت بیشتری نسبت به عصاره داشت. با توجه به جدول ۵، بهترین نتیجه خاصیت باکتری‌کشی برای عصاره اتیل استاتی پوست پیاز قرمز به روش فراصوت به دست آمد که دارای حداقل غلظت باکتری‌کشی برابر با ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود و منجر به مرگ باکتری استوفیلوکوکوس اورئوس گردیده است. به طور کلی، عصاره‌های گیاهی دارای خاصیت آب‌گریزی هستند که توانایی ایجاد پیوند روی لایه لیپیدی غشاء سلول باکتری و میتوکندری را دارد که منجر به پاره شدن غشاء و خروج یونها و مولکول‌های مهم از سلول باکتری و در نهایت مرگ باکتری می‌شود. همچنین، عصاره ان-بوتانولی به روش خیساندن دارای ضعیف‌ترین خاصیت ضد قارچی با حداقل غلظت قارچ‌کشی ۱۶۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که علیه قارچ کاندیدا آلبیکانس بدست آمد.

نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی، حداقل غلظت باکتری‌کشی و حداقل غلظت قارچ‌کشی برای عصاره ان-بوتانولی و اتیل استاتی به روش خیساندن و فراصوت در جدول ۷ نشان داده شده است. در هر دو روش خیساندن و فراصوت عصاره ان-بوتانولی و اتیل استاتی بیشترین اثر مهارکنندگی را بر باکتری استوفیلوکوکوس اورئوس و قارچ اسپرژیلوس نایجر داشته است و کم‌ترین اثر مهارکنندگی برای قارچ کاندیدا آلبیکانس به روش خیساندن و با حلال ان-بوتانول بدست آمد. نتایج به دست آمده برای عصاره ان-بوتانولی استخراج شده به روش فراصوت نشان می‌دهد که کمترین اثر مهارکنندگی برای باکتری‌های اشرشیا کلی و سالمونلا تیفی به دست آمد. برای حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره اتیل استاتی استخراج شده به روش خیساندن، دو باکتری اشرشیا کلی و سالمونلا تیفی از نظر حساسیت مشابه بودند و اسپرژیلوس نایجر در مقایسه با کاندیدا آلبیکانس

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

روش استخراج	میکروارگانیسم‌ها	حداقل غلظت مهارکنندگی (میکروگرم بر لیتر)		حداقل غلظت باکتری‌کشی		حداقل غلظت قارچ‌کشی	
		ان-بوتانولی	اتیل استاتی	ان-بوتانولی	اتیل استاتی	ان-بوتانولی	اتیل استاتی
خیساندن	استوفیلوکوکوس اورئوس	۱۰۰	۱۰۰	۲۰۰	۲۰۰	-----	-----
	اشرشیا کلی	۲۰۰	۴۰۰	۴۰۰	۸۰۰	-----	-----
	سالمونلا تایفی	۴۰۰	۴۰۰	۸۰۰	۸۰۰	-----	-----
	اسپرژیلوس نایجر	۱۰۰	۱۰۰	-----	-----	۲۰۰	۲۰۰
	کاندیدا آلبیکانس	۸۰۰	۴۰۰	-----	-----	۱۶۰۰	۸۰۰
فراصوت	استوفیلوکوکوس اورئوس	۱۰۰	۵۰	۲۰۰	۱۰۰	-----	-----
	اشرشیا کلی	۴۰۰	۲۰۰	۸۰۰	۴۰۰	-----	-----
	سالمونلا تایفی	۴۰۰	۲۰۰	۸۰۰	۴۰۰	-----	-----
	اسپرژیلوس نایجر	۲۰۰	۱۰۰	-----	-----	۴۰۰	۲۰۰
	کاندیدا آلبیکانس	۲۰۰	۲۰۰	-----	-----	۴۰۰	۴۰۰

۴- نتیجه گیری

پوست پیاز قرمز یکی از ضایعات دورریختنی مواد غذایی است که دارای ترکیبات طبیعی سودمندی می باشد. با عصاره گیری پوست پیاز قرمز و استخراج این ترکیبات می توان گام موثری در جهت تولید و استفاده از این مواد طبیعی در صنایع غذایی و دارویی برداشت. در تحقیق حاضر، عصاره ان-بوتانولی و اتیل استاتی پوست پیاز قرمز (*Allium cepa* L.) که غنی از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی می باشد با روش های خیساندن و فراصوت به دست آمد. سپس، اثر روش استخراج بر خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره ها بررسی و نتایج مقایسه گردید. نتایج نشان داد که عصاره اتیل استاتی بدست آمده با روش فراصوت دارای بیشترین محتوای فنول و فلاونوئید کل می باشد. بیشترین فعالیت مهارکنندگی DPPH، قدرت احیاکنندگی و به دام اندازی رادیکال نیتریک اکساید نیز برای عصاره اتیل استاتی استخراج شده با روش فراصوت به دست آمد. نتایج نشان داد که عصاره ان-بوتانولی حاصل از روش خیساندن در غلظت های پائین خواص ضدباکتریایی بیشتری نسبت به عصاره حاصل از روش فراصوت علیه همه میکرواورگانیزم ها به استثنای قارچ اسپرژیلوس نایجر داشت ($p < 0.05$). عصاره اتیل استاتی حاصل از روش فراصوت در تمامی غلظت ها به استثنای غلظت ۶/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر بر باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی و قارچ کاندیدا آلیکانس به طور معنی داری تأثیر بیشتری داشت ($p < 0.05$). با افزایش غلظت عصاره بر میزان قطر هاله عدم رشد و در نتیجه خاصیت ضد باکتریایی آن افزوده گردید. با مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره مذکور با آنتی بیوتیک استاندارد جنتامایسین مشخص شد که اثر ضدباکتریایی آنتی بیوتیک قوی تر از عصاره پوست پیاز قرمز در غلظت های به کار رفته است. نتایج نشان داد که غلظت های مختلف (۶/۲۵ تا ۴۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) عصاره پوست پیاز شامل مواد ضد میکروبی با اثرات ضدباکتریایی به ویژه بر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به باکتری های گرم منفی اشرشیا کلی و سالمونلا

تیفی می باشد. همچنین اثرات ضد قارچی عصاره علیه قارچ اسپرژیلوس نایجر بیشتر از قارچ کاندیدا آلیکانس بدست آمد. به طور کلی در مجموع براساس نتایج به دست آمده، استخراج عصاره پوست پیاز قرمز با حلال اتیل استات به روش فراصوت بهترین نتیجه را از نظر اثرات ضد میکروبی و فعالیت آنتی اکسیدانی داشته است.

۵- منابع

۱. اطهری م، آزادفر ا، استیری س.ح، پدرام نیا، ا، نعمت شاهی م. م. بررسی خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره برگ گیاه کرچک (*Ricinus communis*) و تأثیر آن بر پایداری روغن سویا در شرایط نگه داری، نشریه نوآوری در علوم و فناوری غذایی. ۱۴۰۰؛ ۱۴(۲): ۲۹-۴۷.
۲. انزابی ی. ارزیابی اتنوفارماکولوژی، میزان فنل، فلاونوئید و خاصیت ضدباکتریایی عصاره الکلی گیاه بومی *Allium cepa* L. var. *Ilkhichi*، فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی. ۱۳۹۵؛ ۴(۴): ۸۵-۹۹.
۳. باباخانی ب، جانباز ف، ابراهیم زاده م. ع. تأثیر روش های مختلف استخراج بر فعالیت آنتی اکسیدانی و فعالیت آنتی باکتریال گیاه *Nonnea lutea*، مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران. ۱۳۹۶؛ ۲۷(۱۵۶): ۱۴۵-۱۲۹.
۴. باقرلو، م، حیدری، ر.، قادرپور، ص. و جمعی، ر.، ۱۳۹۰. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های متانولی چند رقم از پیاز (*Allium cepa* L.) ایرانی و توانایی آن ها در ختنی سازی رادیکال های آزاد، نشریه پژوهش های صنایع غذایی. ۱۳۹۰؛ ۲۱(۷): ۴۶۵-۴۵۵.
۵. حافظ قرآن س، میقانی ح، ابراهیمی پ. اثر ضد میکروبی عصاره های کلروفرمی، اتیل استاتی و هیدروالکلی پیاز گیاه سنبل کوهی در شرایط آزمایشگاهی، مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان. ۱۳۹۳؛ ۱۱۶(۱): ۱۱۳- ۱۰۶.

13. Alothman M, Bhat R, Karim A. A. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry*. 2009; 115: 785-788.
14. Anzabi Y, Khaki A1. Antibacterial activity of *Ziziphora tenuior* Lam. extract and essential oil against bacteria isolated from urogenital tract infections. *Medical Laboratory Journal*. 2016; 10(6): 54-59.
15. Boora F, Chirisa E. Mukanganyama S. Evaluation of nitrite radical scavenging properties of selected Zimbabwean plant extracts and their phytoconstituents. *Journal of Food Process Engineering*. 2014; 1-7.
16. Chang C, Yang M, Wen H, Chern J. Estimation of total flavonoid contenting propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2002; 10(3): 178-182.
17. Cheng AT, Chen X, Jin Q, Wang W, Shi J, Liu, Y. Comparison of phenolic content and antioxidant capacity of red and yellow onions. *Czech Journal of Food Science*. 2013;31(5): 501-508.
18. Do Q. D, Angkawijaya A. E, Tran-Nguyen P. L, Huynh L. H, Soetaredjo F. E, Ismadji S, Ju Y. H. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatic*. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2014; 22(3): 296-302.
19. Ebrahimzadeh M. A, Askari M, Forouzani M. Evaluation of three methods for the extraction of antioxidants from *Cucumis melo* L. fruit and leaves, Int. *International Journal of Forest, Soil and Erosion*. 2013; 3(3): 95-99.
20. Ghasemzadeh A, Jaafar H. Z. E, Rahmat A. Effects of solvent type on phenolics and flavonoids content and antioxidant activities in two varieties of young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011; 5(7):1147-1154.
21. Hindler J. F, Jorgensen J. H. Antimicrobial susceptibility testing: Procedures in antimicrobial susceptibility testing. In: Mahon, C. R., Lehman, D. C. & Manuselis, G. (eds.) *Textbook of Diagnostic Microbiology*. 3rd ed. China: Saunders Elsevier. 2007.
۶. شهنازی ر، مهردادفر ف، ابراهیم‌زاده م. ع. بررسی تاثیر روش استخراج بر محتوای تام فنلی، فلاونوئیدی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌هیپوکسی گیاه تره *Allium ampeloprasum* مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران. ۱۳۹۶؛ ۲۷(۱۵۸): ۲۷-۴۴.
۷. صالحی م، سلیم‌پور ف، نویدی قهرودی م. مطالعه اثر ضد باکتری عصاره اتانولی گیاه والک (*Allium akaka*)، مقاله تحقیقی. ۱۳۹۰؛ ۶۸-۶۳.
۸. صفرزائی ع، سرحدی ح، داشی پور ع. شرایط بهینه استخراج الکلی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی برگ و ریشه گیاه کبر به روش فراصوت. نشریه نوآوری در علوم و فناوری غذایی. ۱۴۰۰؛ ۱۳(۴): ۳۱-۵۰.
۹. علیزاده بهبهانی ب، شهیدی ف، طباطبایی‌یزدی ف، مرتضوی س. ع، محبی م. اثر ضد میکروبی و برهمکنش عصاره‌های (*Plantago* آبی و اتانولی بارهنگ کبیر بر استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا *major*) اینوکوا، اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزادر شرایط برون‌تنی، فصلنامه بیماری‌های عفونی و گرمسیری وابسته به انجمن متخصصین بیماری‌های عفونی و گرمسیری. ۱۳۹۵؛ ۲۱(۷۵): ۸-۱.
۱۰. نصیرپور م، یاورمنش م، محمدی ثانی ع، محمدزاده مقدم م. بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره درمنه کوهی (*Artemisia aucheri*)، درمنه‌دشتی (*Artemisia sieberi*) و زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) بر برخی از باکتری‌های بیماری‌زا با منشاء غذایی. فصلنامه علوم و صنایع غذایی. ۱۳۹۴؛ ۱۲(۴۶): ۷۳-۸۴.
11. Abdul Qadir M, Shahzadi S. K, Bashir A, Munir A, Shahzad, S. H. Evaluation of phenolic compounds and antioxidant and antimicrobial activities of some common herbs. *International Journal of Analytical Chemistry*. 2017; 1-6.
12. Adebayo S. A, Ondua M, Shai L. J, Lebelo S. L. Inhibition of nitric oxide production and free radical scavenging activities of four South African medicinal plants. *Journal of Inflammation Research*. 2019; 12: 195-203.

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

(Original Research Paper)

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

Samaneh Khalili¹, Mohammad Reza Saeidi Asl¹, Maryam Khavarpour^{2*}, Seyyed Mohammad Vahdat³, Maedeh Mohammadi⁴

1-Department of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.

2-Department of Chemical Engineering, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

3-Department of Chemical Engineering, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

Received:28/03/2022

Accepted:13/06/2022

Abstract

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

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

* Corresponding Author: mkhavarpour@yahoo.com