مقاله پژوهشی، صفحات ۴۰۴-۳۸۹
DOI: 10.22034/JPR.2024.8430.3342

مقایسه محتوای فنل و فلاونویید کل و خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره‌های برگ و میوه زیتون (*Olea europaea* L.) در دو شرایط اقلیمی متفاوت

محبوبه زاهدی[۱]، مهدی دهقانی کاظمی*[۱]، حمید بیضایی[۲] و صدیقه اسمعیل‌زاده بهابادی[۱]

[۱] **ایران، زابل، دانشگاه زابل، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی**

[۲] **ایران، زابل، دانشگاه زابل، دانشکده علوم پایه، گروه شیمی**

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۳۰

چکیده

در این تحقیق، میزان ترکیبات فنلی و فلاونوییدی و خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره هیدروالکلی میوه و برگ گیاه زیتون از دو منطقه زابل و زاهدان مقایسه شده است. محتوای فنل و فلاونوئید کل به ترتیب با روش‌های فولین سیوکالتو و رنگ سنجی آلومینیوم کلرید سنجش گردید. از قابلیت بدام اندازی رادیکال‌های آزاد DPPH جهت اندازه گیری خواص آنتی‌اکسیدانی اندام‌های گیاهی استفاده شد. اثرات بازدارندگی عصاره‌های میوه و برگ گیاه هم علیه باکتریهای بیماری‌زای گرم-مثبت و گرم-منفی و سویه‌های قارچی مطالعه شد. محتوای فنل و فلاونوئید کل بترتیب در گستره ۱۲±۱۳۲- ۲۱±۲۰۷ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در هر گرم نمونه خشک و ۲/۵±۲۶/۲- ۲/۵±۳۴/۴ میلی‌گرم معادل کوئرستین در هر گرم نمونه خشک ثبت گردید. مقادیر IC_{50} بین ۲۷±۵/۱ تا ۱۴±۱۲۸/۰۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر بودند. هیچ فعالیت مهاری در بالاترین غلظت از عصاره‌ها در برابر *Bacillus cereus* ،*Escherichia coli* ،*Staphylococcus epidermidis* و *Aspergilus. fumigatus* مشاهده نشد. اکثر عصاره‌ها توانستند از تکثیر سویه‌های *Fusarium oxysporum* جلوگیری کنند، اما رشد سویه *Pseudomonas aeruginosa* تنها توسط عصاره هیدروالکلی میوه زیتون زابل مهار شد. هیچ گونه رابطه مستقیمی بین محتوای فنلی و فلاونوئیدی و خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی برگ و میوه زیتون با شرایط اقلیمی محل زیست گیاه دیده نشد. عصاره‌های برگ زیتون زاهدان و میوه زیتون زابل خواص آنتی‌اکسیدانی بالا و اثرات بازدارندگی وسیعتری در برابر میکروب‌ها نشان دادند و می‌توان از آنها در درمان عفونت‌های میکروبی و بیماری‌های مرتبط با استرس اکسایشی بهره برد.

واژه‌های کلیدی: زیتون، محتوای فنل کل، محتوای فلاونوئید کل، خواص آنتی‌اکسیدانی، اثرات ضدمیکروبی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۰۴۹۶۲۸۱۰ ، پست الکترونیکی: dehghanimehdii55@uoz.ac.ir

Preproof Article

مقدمه

استفاده از گیاهان از زمانهای قدیم در تمدن‌های باستانی رایج بوده است و امروزه نیز گیاه‌درمانی بصورت‌های مختلف، اعم از استفاده از فراورده‌های گیاهی یا عصاره‌های تام آنها در تمام دنیا رایج می‌باشد (۱۸). طبق اعلام سازمان جهانی بهداشت بیش از ۸۰ درصد از مردم دنیا برای حفظ سلامتی خود از درمان‌های سنتی به ویژه گیاهان بهره می‌برند. رادیکال‌های آزاد نقش بسزایی در فساد غذاها و مواد شیمیایی دارند و سبب ایجاد تقریبا ۱۰۰ بیماری در انسان می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌ها از تولید و فعالیت گونه‌های اکسیژن فعال جلوگیری می‌کنند و واکنش‌های رادیکالی را پایان می‌بخشند (۱۱). آنتی‌اکسیدان‌های موجود در بدن تا اندازه ای با

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۰۴-۳۸۹ DOI: 10.22034/JPR.2024.8430.3342

رادیکال‌های آزاد مقابله می‌کنند، لکن در حضور غلظت‌های بالاتر رادیکال‌ها، به آنتی‌اکسیدان‌هایی از منابع دیگر بویژه منابع گیاهی جهت مقابله نیاز است (۲۳). اسیدهای فنلی، پلی فنل‌ها و فلاونوئیدها بخاطر دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی، باعث حذف رادیکال‌های آزاد پراکسید، هیدروپراکسید و یا لیپید پراکسیل می‌گردند و به مهار واکنش‌های رادیکالی و پیشگیری از بیماری‌های استرس اکسایشی کمک شایانی می‌کنند. اعتقاد بر این است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان ناشی از متابولیت‌های ثانویه آنها بویژه ترکیبات فنلی می‌باشد (۲۱). فلاونوئیدها بزرگترین گروه از ترکیبات فنلی طبیعی هستند که در اندام‌های مختلف گیاه هم بصورت آزاد و هم بصورت گلیکوزید وجود دارند. آنها فعالیت‌های بیولوژیکی زیادی از جمله ضدمیکروبی، مهار چسبندگی میتوکندری، ترمیم زخم، ضدآرتریت، ضدرگ‌زایی، ضدسرطان و مهار پروتئین کیناز دارند (۳۶). فعالیت آنتی‌اکسیدانی فلاونوئیدها با ساختار مولکول آنها مانند وجود پیوندهای دوگانه مزدوج و وجود گروه‌های عاملی در حلقه‌ها مرتبط است (۱۷).

گیاهان هزاران ترکیب شیمیایی متنوع با فعالیت‌های بیولوژیکی متفاوت تولید می‌کنند و دسترسی آسان، قیمت ارزان و حوزه اثر وسیع سبب شده است تا از آنها در درمان بیماری‌های متعدد استفاده شود. برخی از گیاهان حتی توانایی غلبه بر سویه‌های میکروبی مقاوم دارویی را دارا هستند. بنابراین بررسی اثرات ضدمیکروبی گیاهان طبیعی می‌تواند راه را برای کشف عوامل ضدمیکروبی جدید هموار سازد (۱۴). بیشتر جایگزین‌های طبیعی برای نگهدارنده‌های مواد غذایی مصنوعی، عصاره‌های گیاهی بشکل خام یا خالص شده، اسانس‌ها یا ترکیبات خالص هستند که اغلب از زمان‌های قدیم مورد استفاده قرار گرفته‌اند. اینها به کانون توجه برای کاربرد مستقیم در محصولات غذایی تبدیل شده اند (۹). ترکیبات فنلی مواد اصلی مسئول اثر ضدمیکروبی هستند و این عمدتاً با حضور گروه‌های هیدروکسیل در مولکول‌های آنها مرتبط است. در واقع، موقعیت و تعداد این گروه‌ها، یعنی الگوی هیدروکسیلاسیون، با خواص بازدارندگی ترکیبات فنلی برعلیه میکروارگانیسم‌ها مرتبط است (۲۸، ۲۵ و ۲۰).

جنس زیتون (*Olea*) در تیره زیتون (Oleaceae) و راسته نعناسانان (Lamiales) قرار دارد (۳۷). این تیره حدود ۲۹ جنس و ۷۰۰ گونه دارد که به صورت درختی، درختچه ای و بالارونده تقریبا در همه جای جهان پراکنده شده‌اند اما مهمترین مراکز توزیع آنها استرالیا و جنوب غرب آسیا است (۳۷). تیره زیتون از لحاظ فیلوژنتیکی به تیره ایندومالزیایی Carlemanniaceae بسیار نزدیک است و همراه هم دومین شاخه ابتدایی در راسته نعناسانان را تشکیل می‌دهند (۳۹). درخت زیتون (*Olea europaea* L.) یکی از مهمترین درختان میوه در کشورهای مدیترانه ای است که حدود ۹۸ درصد نیاز مردم جهان به این محصول را فراهم می‌کند و از لحاظ اقتصادی و اجتماعی بسیار مهم است (۲۹). مورفولوژی زیتون منحصربه‌فرد نیست، اما ترکیبات شیمیایی و کیفیت ارگانولپتیک آنها منحصربه‌فرد است. بنابراین متخصصان تغذیه استفاده از آن در سبد غذایی را بسیار توصیه کرده اند (۱۶).

متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی اساسا با هدایت فرایندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند ولی ساخت آنها بطور بارزی تحت تاثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد. از آنجایی که ترکیبات فنلی بخشی از پاسخ گیاه به تنش هستند، تغییر غلظت آنها در زیتون و در روغن زیتون، نتیجه برهمکنش پیچیده بین عوامل مختلف از جمله ویژگیهای زراعی (رقم، شرایط جغرافیایی و شیوه‌های کشت) است (۱۹ و ۲۴).

در سال‌های اخیر کشت زیتون در زابل گسترش یافته و کشاورزان به کشت این محصول تشویق می‌شوند. یک باور عمومی بین مردم وجود دارد که زیتون‌های کشت شده در زابل بدلیل تحمل شرایط اقلیمی سخت ترکیبات ثانویه بیشتر و در نتیجه خواص و کیفیت بالاتری نسبت به زیتون مناطق دیگر دارد. در مطالعه حاضر، محتوای فنلی و فلاونوئیدی و خواص آنتی‌اکسیدانی و

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۰۴-۳۸۹ DOI: 10.22034/JPR.2024.8430.3342

ضدمیکروبی برگ و میوه گیاه زیتون جمع آوری شده از دو منطقه زابل و زاهدان، مقایسه شده است تا تاثیر شرایط اقلیمی بر خواص مذکور مشخص گردد و پتانسل‌های دارویی و غذایی آنها کشف گردد.

مواد و روش‌ها

جمع آوری نمونه گیاهی:

برگ و میوه گیاه زیتون (*Olea europaea*) در تابستان ۱۴۰۱ از دو منطقه زابل و زاهدان در استان سیستان و بلوچستان جمع‌آوری گردید. نمونه‌گیری به صورت تصادفی ساده و با انتخاب ۵ درخت به عنوان نماینده هر جمعیت انجام گرفت. اندام‌های گیاهی جمع‌آوری شده تمیز، مواد زائد آنها حذف و گوشت میوه از هسته جدا شد. برگها و گوشت میوه بطور جداگانه در محیط طبیعی و با استفاده از جریان هوا و در سایه به دور از رطوبت به مدت دو هفته خشک گردیدند. درنهایت، اندام‌های خشک شده جداگانه با استفاده از آسیاب برقی، پودر شدند.

تهیه عصاره هیدروالکلی

مقدار ۵ گرم از پودر نمونه‌ها با ۲۵ میلی‌لیتر اتانول و ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد و بمدت ۲۴ ساعت در دستگاه شیکر با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه همزده شد. مخلوط‌ها با کمک کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شد و محلولهای صاف شده به بشرهایی منتقل شدند. این عمل دوباره تکرار شد تا تمام ترکیبات موجود در گیاه استخراج شود. حلالها طی ۷۲ ساعت در محیط آزمایشگاه تبخیر شدند.

اندازه گیری محتوای فنل کل

برای اندازه‌گیری محتوای فنل کل عصاره‌ها از معرف فولین سیوکالتو استفاده شد (۳۴). ابتدا محلول‌هایی شامل ۱/۸۷۵ گرم سدیم کربنات در ۲۵ میلی‌لیتر آب، ۳ میلی‌لیتر معرف فولین در ۲۴ میلی‌لیتر آب مقطر و سه محلول با غلظتهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از گالیک اسید بعنوان استاندارد تهیه گردید. ۰/۵ میلی‌لیتر از هر عصاره گیاهی با ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتو ۰/۲ مولار مخلوط و بمدت ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس ۲ میلی‌لیتر محلول سدیم کربنات (۷٪/۵) به آن اضافه گردید و پس از ۲ ساعت انکوباسیون در محیط تاریک، جذب آن در طول موج ۷۶۰ نانومتر در برابر آب خالی اندازه گیری شد. همین روش برای محلول‌های گالیک اسید جهت رسم منحنی کالیبراسیون تکرار شد.

اندازه گیری محتوای فلاونوئید کل

مقدار کل فلاونوئید در عصاره‌ها بروش رنگ‌سنجی با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (۱۳). ابتدا محلول‌هایی شامل ۱ گرم آلومینیوم کلرید ($AlCl_3$) در ۱۰ میلی‌لیتر متانول، ۱/۳۶ گرم سدیم استات در ۱۰ میلی‌لیتر آب و سه محلول ۰/۵ میلی‌لیتری در غلظت‌های ۲۰۰ و ۱۰۰ و ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از کوئرستین به عنوان استاندارد ساخته شد. درنهایت، ۵۰۰ میکرولیتر از هر عصاره با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر سدیم استات ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد و پس از انکوباسیون بمدت ۴۰ دقیقه، جذب آن در طول موج ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری گردید. با استفاده از غلظت‌ها و جذب‌های بدست آمده از کوئرستین منحنی کالیبراسیون تهیه شد و غلظت فلاونوئید بصورت معادل کوئرستین بر حسب میلی‌گرم در گرم عصاره بیان شد.

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۰۴-۳۸۹ DOI: 10.22034/JPR.2024.8430.3342

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی

قدرت عصاره‌ها در بدام انداختن رادیکال‌های آزاد ۱،۱-دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل (DPPH) مورد بررسی قرار گرفت و مقادیر IC_{50} (نیمه حداکثر غلظت بازدارندگی) طبق روش بکار رفته در مطالعات قبلی تعیین گردید (۵). DPPH یک رادیکال آزاد ناپایدار است که می‌تواند با جذب یک الکترون یا رادیکال هیدروژن بحالت پایدار برسد. بعلت وجود الکترون منفرد در ساختمان DPPH، این رادیکال در طول موج ۵۱۷ نانومتر جذب خوبی دارد و دارای رنگ بنفش شدیدی است و هرگاه در حضور یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی قرار بگیرد، رنگ آن به زرد کمرنگ متمایل می‌گردد و از همین کاهش جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر جهت تعیین پتانسیل آنتی‌اکسیدانی ترکیبات استفاده می‌گردد (۱۲). IC_{50} بیانگر غلظتی از عصاره است که برای مهار ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH مورد نیاز می‌باشد. IC_{50} کمتر، نشان دهنده قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتر عصاره‌ها می‌باشد (۱۵). جهت بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی برگ و میوه زیتون دو منطقه مذکور در ابتدا ۴ غلظت ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرو گرم بر میلی‌لیتر از هر کدام از نمونه‌ها در حلال متانول تهیه گردید و سپس با ۳ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH که از حل شدن ۰/۰۰۱ گرم DPPH در ۲۵ میلی‌لیتر متانول تهیه شده بود، مخلوط گردید. محلول‌های حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک نگهداری شدند. در ادامه دستگاه با متانول کالیبره و جذب محلول‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه گیری شد و با معادله ذیل میزان بازدارندگی برحسب درصد برای هر غلظت (I%) محاسبه گردید.

$$I\% = [(A\ Blank - A\ Sample)/(A\ Blank)] \times 100$$

که در آن A مخفف جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر است. جهت محاسبه IC_{50}، نمودار I% در برابر غلظت رسم گردید و معادله خط مستقیم به صورت $y=ax+b$ محاسبه شد که در آن x حداکثر غلظت مهاری ۵۰٪ (IC_{50}) خواهد بود زمانی که y برابر ۵۰ باشد. از ویتامین C (آسکوربیک اسید) به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

بررسی فعالیت ضدمیکروبی

برای تهیه محیط کشت مایع برای قارچ و باکتری بترتیب از سابورو دکستروز براث (۳ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) و مولر-هینتون براث (۲ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) و برای محیط کشت جامد از سابورو دکستروز آگار (۴/۵ گرم در ۱۷۰ میلی‌لیتر آب مقطر) و مولر-هینتون آگار (۵/۵ گرم در ۱۷۰ میلی‌لیتر آب مقطر) استفاده شد. کلیه محیط‌ها در اتوکلاو تحت دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱۵ پاسکال استریل شدند. برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (Minimum Inhibitory Concentration MIC) از میکروپلیت کشت سلول ۹۶ خانه و برای تعیین حداقل غلظت کشندگی باکتریایی (Minimum Bactericidal Concentration MBC) و حداقل غلظت کشندگی قارچی (Minimum Fungicidal Concentration MFC) از پلیت (پتری دیش) یکبار مصرف ۱۰ سانتی‌متری درب دار استفاده شد. جهت کشت نمونه‌های میکروبی و انتقال سویه از سوآپ استریل استفاده شد. دراین مطالعه از ۹ سویه میکروبی استفاده شد که عبارتند از:

سه سویه باکتریایی گرم- منفی

Klebsiella pneumoniae (PTCC 1290, NCTC 5056)

Pseudomonas aeruginosa (PTCC 1310. ATCC 10145)

Escherichia coli (PTCC 1399, ATCC 25922)

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۰۴-۳۸۹ DOI: 10.22034/JPR.2024.8430.3342

سه سویه باکتریایی گرم-مثبت

Bacillus cereus (PTCC 1665, ATCC 14579)

Staphylococcus epidermidis (PTCC 1435, ATCC 14990)

Streptococcus pyogenes (PTCC 1447, ATCC 12204)

و سه سویه قارچی

Aspergillus fumigatus (PTCC 5009)

Fusarium oxysporum (PTCC 5115, CBS 620.87)

Candida albicans (PTCC 5027, ATCC 10231)

همه نمونه‌ها از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران[1] تهیه شدند.

تهیه سوسپانسیون باکتریایی: ابتدا غلظت ۰/۵مک فارلند از ۶ نمونه باکتری مورد مطالعه تهیه شد. بدین صورت که با کمک سوآپ استریل مقداری باکتری به داخل لوله آزمایش حاوی محیط کشت مایع انتقال داده شد، سپس جذب باکتری‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. جذب باید در محدوده ۰/۰۸تا ۰/۱ باشد. این محلول‌های اولیه جهت تعیین MIC تا ۳۰۰ برابر رقیق شدند.

تهیه سوسپانسیون قارچ: از ۳ نمونه قارچ مورد مطالعه غلظت ۰/۵مک فارلند تهیه شد. بدین صورت که مانند روش فوق با سوآپ استریل مقداری قارچ به درون لوله آزمایش حاوی محیط کشت مایع انتقال داده شد و سپس جذب در طول موج ۵۳۰ نانومتر خوانده شد که مقدار آن در غلظت ۰/۵مک فارلند باید بین ۰/۱۲ تا ۰/۱۵ باشد. سپس محلول‌های اولیه تا ۱۰۰ برابر جهت تعیین MIC رقیق سازی شدند.

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی رشد (MIC): تست (MIC) با روش میکرورقیق‌سازی طبق استاندارد CLSI (Clinical Laboratory Standards Instituse) و در پلیت‌های کشت سلول ۹۶ خانه استریل انجام شد. کمترین غلظتی از عصاره‌ها که مانع رشد حداقل۹۰٪ میکروارگانیسم‌ها در محیط کشت شد، بعنوان حداقل غلظت بازدارندگی رشد (MIC) در نظر گرفته می‌شود. ابتدا از هر نمونه عصاره خشک شده، غلظتی معادل ۴۰۹۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر در حلال DMSO تهیه شد و ۲۰ میکرولیتر از آن به چاهک‌های اول و دوم در یک ردیف از میکروپلیت ۹۶ خانه منتقل شد. سپس در مرحله دوم ۲۰ میکرولیتر DMSO به کل خانه‌ها از ردیف دوم تا هشتم تزریق گردید و رقیق سازی سریالی از چاهک دوم تا هشتم صورت گرفت. در مرحله ی بعد ۸۰ میکرولیتر محیط کشت مایع و ۱۰۰ میکرولیتر باکتری یا قارچ (سوسپانسیون رقیق شده) به کلیه چاهک‌ها تزریق شد. غلظت نهایی عصاره‌ها در چاهک اول تا هشتم به ترتیب ۴۰۹۶، ۲۰۴۸، ۱۰۲۴، ۵۱۲، ۲۵۶، ۱۲۸، ۶۴، و ۳۲ میکرو گرم بر میلی‌لیتر شد. در نهایت پلیت‌ها بمدت ۲۴ ساعت در دستگاه انکوباکتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. وجود کدورت نشان دهنده رشد باکتری یا قارچ است و وجود شفافیت نشان دهنده عدم رشد باکتری یا قارچ است. چاهک فاقد کدورتی که کمترین غلظت را نشان داد به عنوان MIC در نظر گرفته شد.

تعیین حداقل غلظت کشندگی قارچی (MFC) و باکتریایی (MBC)

[1] (Persian Type Culture Collection (PTCC)

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۰۴-۳۸۹ DOI: 10.22034/JPR.2024.8430.3342

MFC و MBC بترتیب کمترین غلظتی از نمونه‌ها هستند که قارچ‌ها و باکتری‌ها را بطور کامل از بین می‌برند. ابتدا از کلیه چاهک‌های شفاف در مرحله MIC در فضای استریل روی محیط کشت آگار کشت خطی صورت گرفت و پلیت‌ها بمدت ۲۴ ساعت در دستگاه انکوباکتور نگهداری شدند. درنهایت، کمترین غلظت از عصاره‌ها که کدورت ناشی از رشد میکروارگانیسم‌ها را نشان نداد، به عنوان MFC و MBC گزارش شد.

ترسیم منحنی‌های اقلیمی آمبروترمیک

از آنجا که یکی از اهداف این مطالعه بررسی اثر اقلیم روی میزان ترکیبات فنلی و فلاونوییدی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و خاصیت ضدمیکروبی برگ و میوه زیتون در دو منطقه جغرافیایی زابل و زاهدان است، منحنی‌های آمبروترمیک مربوط به شهر زابل و زاهدان ترسیم گردیدند. بدین منظور داده‌های اقلیمی شامل متوسط دمای ماهانه و متوسط بارندگی ماهانه دو شهر مذکور در ۳۰ سال اخیر استخراج شد و با قرار دادن متوسط بارندگی ماهانه در مقابل متوسط دمای ماهانه در ماههای مختلف سال منحنی آمبروترمیک ترسیم گردید. در این منحنی هر گاه متوسط بارندگی ماهانه از دوبرابر متوسط دمای ماهانه کمتر باشد نشانه دوره خشکی است و بالعکس.

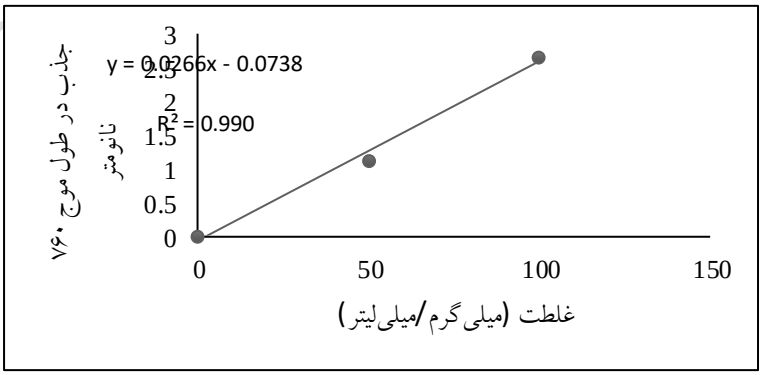
ارزیابی آماری اطلاعات بدست آمده

کلیه آزمایش‌های انجام گرفته ۳ بار تکرار شدند و نتایج بصورت میانگین ۳ آزمایش مستقل بیان شدند. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ و آزمون‌های ANOVA و Tukey در سطح معنی‌داری ۹۵٪ ($P\text{-Value} < 0.05$) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نمودارها با کمک نرم افزار Excel ترسیم شدند.

نتایج

محتویات فنل و فلاونوئید کل

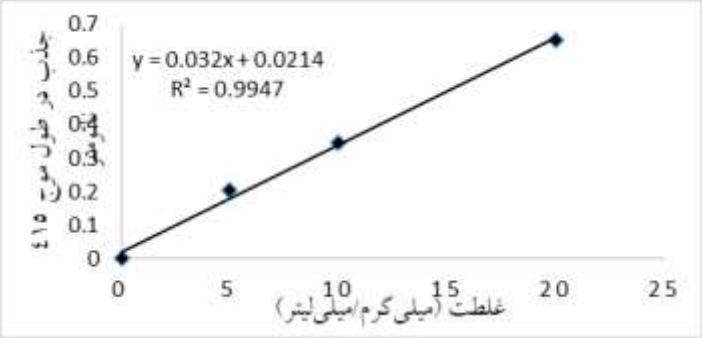
محتوای کل فنل و فلاونوئید عصاره متانولی برگ و میوه زیتون زابل و زاهدان بترتیب با کمک روش‌های فولین‌سیوکالتو و رنگ‌سنجی آلومینیوم‌کلرید تعیین شدند. معادله منحنی‌های استاندارد که با استفاده از غلظت‌های مختلف گالیک اسید و کوئرستین بدست آمدند بترتیب شامل $y=0.0266x-0.0738$ ($R^2=0.9908$) و $y=0.0032x-0.0214$ ($R^2=0.9947$) بودند که براساس آنها محتوای فنل کل و فلاونوئید کل محاسبه شد (شکل‌های ۱ و ۲).



PreProof Article

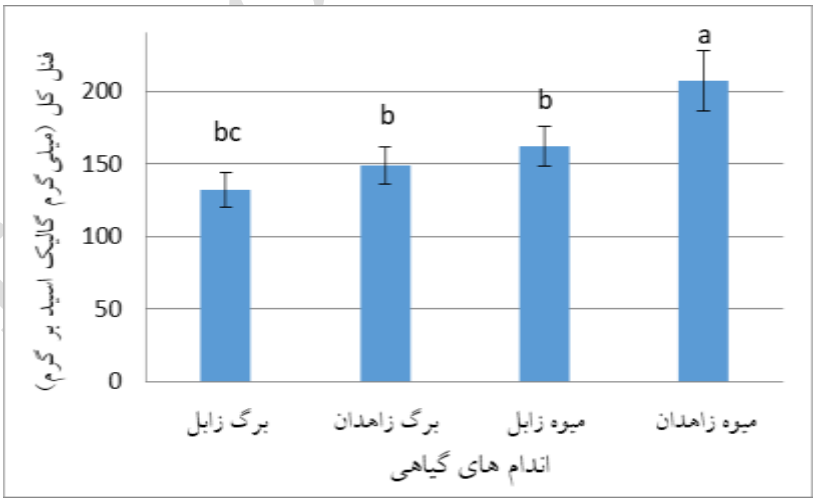
مقاله پژوهشی، صفحات ۴۰۴-۳۸۹ DOI: 10.22034/JPR.2024.8430.3342

شکل ۱: منحنی استاندارد حاصل از اندازه‌گیری جذب غلظت‌های مختلف گالیک اسید در طول موج ۷۶۰ نانومتر جهت اندازه‌گیری فنل کل برگ و میوه زیتون



شکل ۲: منحنی استاندارد حاصل از اندازه‌گیری جذب غلظت‌های مختلف کوئرستین در طول موج ۴۱۵ نانومتر جهت اندازه‌گیری فلاونویید کل برگ و میوه زیتون

محتوای فنل و فلاونوئید کل به ترتیب از ۱۲±۱۳۲ تا۲۱±۲۰۷ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در هر گرم گیاه خشک و ۲/۵±۲۶/۲ تا ۲/۵±۳۴/۴ میلی‌گرم معادل کوئرستین در هر گرم گیاه خشک متغیر بودند (شکل‌های ۳ و ۴). بیشترین مقدار فنل در میوه زاهدان و کمترین مقدار آن در برگ زابل دیده شد. همچنین بیشترین مقدار فلاونوئید در برگ زاهدان و کمترین مقدار آن در میوه زابل مشاهده گردید (شکل‌های ۳و۴).



شکل ۳. مقدار فلاونوئید کل در برگ و میوه زیتون از دو منطقه زابل و زاهدان. میانگین‌های دارای حرف مشترک از نظر آماری در سطح $p\leq$ ۰/۰۵ تفاوت معنی‌دار ندارند.

Proof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۰۴-۳۸۹
DOI: 10.22034/JPR.2024.8430.3342

شکل ۴. مقدار فنل کل در برگ و میوه زیتون از دو منطقه زابل و زاهدان. میانگین‌های دارای حرف مشترک از نظر آماری در سطح ۰/۰۵ ≥p تفاوت معنی‌دار ندارند.

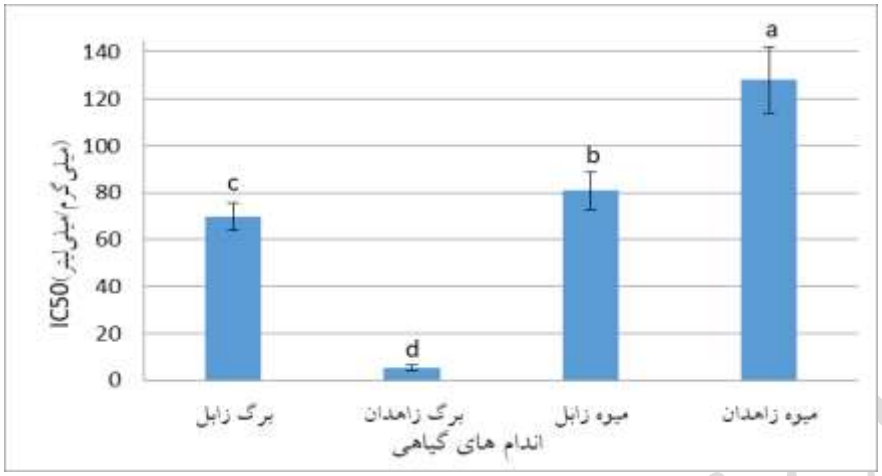
به‌طور کلی بین محتوای فلاونوئید میوه‌های دو منطقه و نیز محتوای فلاونوئید برگهای دو منطقه اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد که نشانگر عدم تاثیر شرایط محیطی دو منطقه بر محتوای فلاونوئید است. اما در هر دو منطقه مورد مطالعه میزان فلاونویید کل میوه‌ها بطور معنی‌داری از میزان فلاونویید برگ‌ها کمتر بود (شکل ۳). همچنین مقدار فنل کل میوه‌های دو منطقه مورد نظر بطور معنی‌داری از مقدار فنل کل برگ‌های مربوطه بیشتر بود. از طرف دیگر محتوای فنل کل بین برگ‌های دو منطقه زابل و زاهدان از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار نشان نداد در حالی که محتوای فنل کل میوه‌های این دو منطقه تفاوت معنی‌داری نشان می‌دهد (شکل ۴).

اثرات مهاری عصاره‌ها بر رادیکال‌های آزاد DPPH

مقادیر IC_{50} عصاره‌های متانولی برگ و میوه دو منطقه مورد مطالعه در شکل ۵ نشان داده شده است. مقادیر IC_{50} بین ۵/۲۷±۱ تا ۱۲۸/۰۳±۱۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر بودند. .بیشترین و کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بترتیب در عصاره متانولی برگ و میوه زیتون زاهدان مشاهده شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ و میوه شهر زابل با هم تفاوت معنی‌داری نشان ندادند اما فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ و میوه زیتون جمع‌آوری شده از زاهدان تفاوت معنی‌داری نشان دادند (شکل ۵).

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۰۴-۳۸۹ DOI: 10.22034/JPR.2024.8430.3342



شکل ۵. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (بر حسب IC_{50}) برگ و میوه زیتون با روش مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در دو منطقه زابل و زاهدان

خواص ضدمیکروبی

آزمایش خواص ضدمیکروبی عصاره‌های هیدروالکلی برگ و میوه زیتون از دو منطقه زابل و زاهدان در شرایط آزمایشگاهی روی طیفی از باکتری‌ها و قارچ‌ها بررسی و در جدول ۱ نشان داده شده است. هیچ فعالیت مهاری در بالاترین سطح غلظت عصاره‌ها در برابر سویه گرم منفی *E coli* و دو سویه گرم مثبت *Bacillus cereus* و *Staphylococcus epidermidis* و نمونه قارچ *Aspergillus fumigatus* بررسی شده مشاهده نشد. عصاره‌های برگ زاهدان و سپس میوه زابل طیف وسیع‌تری از اثرات بازدارندگی را نشان دادند (به ترتیب در برابر چهار و سه میکروارگانیسم اثر بازدارندگی و کشندگی اعمال کردند). این نتیجه با خواص آنتی‌اکسیدانی این دو اندام همخوانی دارد. اکثر عصاره‌ها توانستند از تکثیر سویه‌های *Fusarium oxysporum* جلوگیری کنند اما رشد سویه *Pseudomonas aeruginosa* تنها توسط عصاره میوه زابل مهار شد. حداقل غلظتی از عصاره که اثر بازدارندگی نشان داد (۲۵۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر) مربوط به عصاره برگ زاهدان روی *Candida albicans* و عصاره میوه زابل روی *F. oxysporum* بود (جدول ۱). حداقل غلظت‌های کشندگی هم بترتیب درعصاره برگ زاهدان (۲۵۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر) روی *Candida albicans* و عصاره میوه زیتون زابل (۵۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر) روی *F. oxysporum* مشاهده شد (جدول ۱).

جدول ۱: نتایج حاصل از بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های هیدروالکلی برگ و میوه زیتون از دو منطقه زابل و زاهدان. غلظت‌ها بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر هستند و علامت – به معنی عدم تاثیر عصاره اندام مورد نظر روی میکروارگانیسم است

میکرو ارگانیسم‌ها	سنجش	میوه زابل	برگ زابل	میوه زاهدان	برگ زاهدان
E. coli.1399	MIC	-	-	-	-

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۰۴-۳۸۹ DOI: 10.22034/JPR.2024.8430.3342

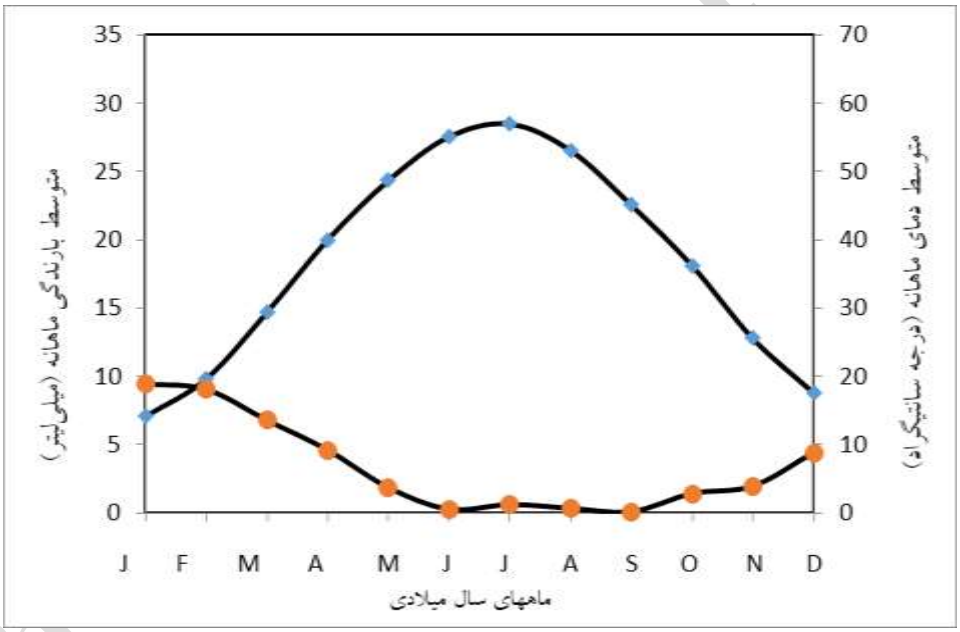
	MBC	-	-	-	-
P. aeruginosa 1310	MIC	۱۰۲۴	-	-	-
	MBC	۱۰۲۴	-	-	-
K. pneumoniae 1290	MIC	-	-	۲۰۴۸	۴۰۹۶
	MBC	-	-	۲۰۴۸	۴۰۹۶
B. cereus 1665	MIC	-	-	-	-
	MBC	-	-	-	-
S. pyogenes 1447	MIC	۲۰۴۸	-	-	۴۰۹۶
	MBC	۲۰۴۸	-	-	۴۰۹۶
S. epidermidis 1435	MIC	-	-	-	-
	MBC	-	-	-	-
C. albicans 5027	MIC	-	۱۰۲۴	-	۲۵۶
	MFC	-	۲۰۴۸	-	۲۵۶
A. fumigatus 5009	MIC	-	-	-	-
	MFC	-	-	-	-
F. oxysporum 5115	MIC	۲۵۶	-	۲۰۴۸	**۲۰۴۸**
	MFC	۵۱۲	-	۲۰۴۸	**۲۰۴۸**

Proof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۰۴-۳۸۹ DOI: 10.22034/JPR.2024.8430.3342

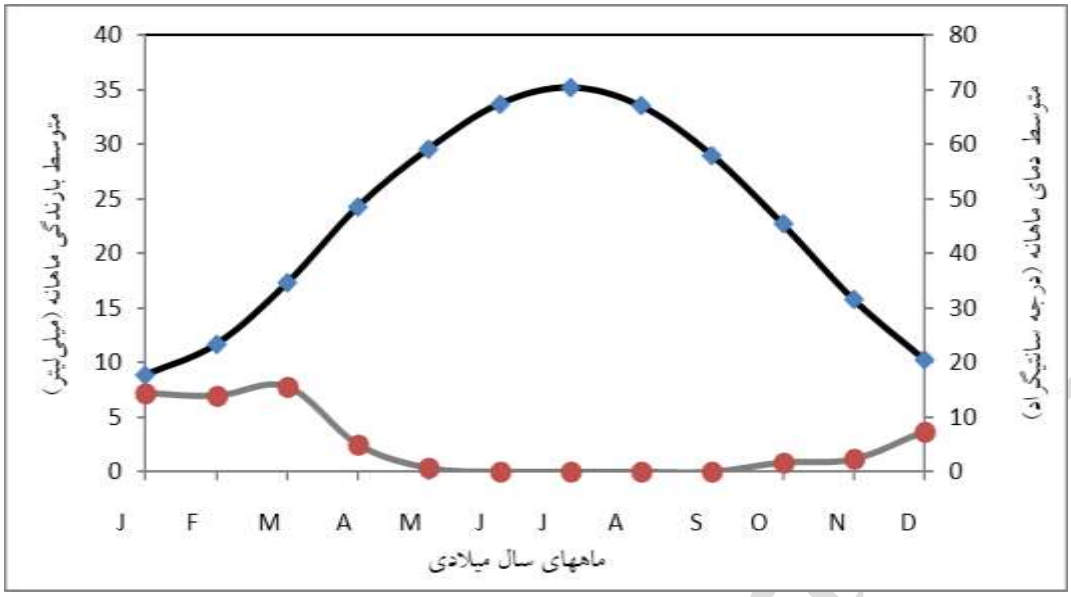
رابطه عوامل اقلیمی و خصوصیات زیستی اندام‌ها

منحنی‌های آمبروترمیک بر اساس دو عامل مهم اقلیمی یعنی دما و رطوبت رسم شده‌اند در منحنی مربوط به شهر زاهدان میانگین بارندگی سالانه ۸۱/۴۲ میلیمتر و میانگین دمای سالانه ۱۸/۴ درجه سانتیگراد می‌باشد همچنین طول دوره خشکی ۱۱ ماه است. منحنی آمبروترمیک شهر زابل دوره خشکی ۱۲ ماهه و فقدان دوره مرطوب را نشان می‌دهد همچنین در این شهر متوسط بارندگی سالانه ۶۱ میلیمتر و و میانگین دمای سالانه ۲۲/۷ درجه سانتیگراد می‌باشد (شکل ۷-۶). بنابراین متوسط بارندگی سالانه زاهدان ۲۰/۴۲ میلیمتر از زابل بیشتر و میانگین دمای سالانه آن ۴/۳ درجه سانتیگراد از زابل کمتر است. با این وجود مقایسه میزان ترکیبات فنلی و فلاونوییدی و خواص آنتی‌اکسیدان زیتون‌های مطالعه شده از این دو منطقه جغرافیایی هیچ گونه رابطه مستقیمی با شرایط اقلیمی نشان نمی‌دهد. زیرا علی رغم تفاوت‌های اقلیمی بین دو منطقه زابل و زاهدان هیچ تفاوت معناداری بین محتوای فلاونویید کل برگ‌ها و میوه‌ها و همچنین محتوای فنل کل برگ ها در دو منطقه دیده نشد و تنها محتوای فنل کل میوه‌های دو منطقه تفاوت معنادار نشان دادند.



شکل ۶. منحنی آمبروترمیک مربوط به شهر زاهدان. محور افقی ماههای سال میلادی (ژانویه تا دسامبر) و محورهای عمودی متوسط بارندگی سالیانه برحسب میلی‌متر در مقابل دوبرابر متوسط دمای سالیانه بر حسب درجه سانتیگراد را نشان می‌دهند

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۰۴-۳۸۹
DOI: 10.22034/JPR.2024.8430.3342



شکل ۷. منحنی آمبروترمیک مربوط به شهر زابل. محور افقی ماههای سال میلادی (ژانویه تا دسامبر) و محورهای عمودی متوسط بارندگی سالیانه برحسب میلی‌متر در مقابل دوبرابر متوسط دمای سالیانه بر حسب درجه سانتیگراد را نشان می‌دهند.

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که بیشترین و کمترین محتوای فنلی بترتیب در عصاره متانولی میوه زیتون زاهدان و برگ زیتون زابل (به ترتیب ۱۳۲±۱۲ و ۲۱±۲۰۷ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در هر گرم گیاه خشک) و بیشترین و کمترین مقدار فلاونوئید در عصاره متانولی برگ زیتون زاهدان و میوه زیتون زابل (به ترتیب ۲/۵±۲۶/۲ و ۲/۵±۳۴/۴ میلی‌گرم معادل کوئرستین در هر گرم ماده خشک) مشاهده گردید. مقادیر IC_{50} بین ۱±۵/۲۷ تا ۱۴±۱۲۸/۰۳میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر بودند، بیشترین و کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره متانولی برگ زیتون زاهدان (IC_{50}=۵ /۲۷) مشاهده شد اما پایین ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در میوه زیتون زاهدان دیده شد. همچنین عصاره‌های برگ زیتون زاهدان و میوه زیتون زابل طیف وسیع تری از اثرات بازدارندگی را نشان دادندکه این نتیجه با خواص آنتی‌اکسیدانی این دو اندام همخوانی دارد.

میزان ترکیبات فنلی در عصاره متانولی برگ‌های زیتون واریته پرتغالی ۴۰/۱-۱۱/۷ و در میوه آن ۱۳/۹-۳۰/۵ میلی‌گرم معادل اسید تانیک در هر گرم نمونه خشک گزارش شده است. بعلاوه فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه بالاتر از برگ‌ها بوده است اما این نتایج با یافته‌های این مطالعه همخوانی ندارد (۳۳). در تحقیقی که مقادیر فنل و فلاونوئید کل برگ پنج رقم زیتون جمع آوری شده از ایران مقایسه شدند، مقدار فنل در نمونه‌ها بسیار کم و از ۱۶۵/۵ تا ۲۱۲/۵ میکروگرم معادل اسید تانیک در هر گرم ماده خشک بود در حالی که مقدار فلاونویید کل بسیار بالاتر از مقدار فنل کل و بین ۸۵۹/۹۱ تا ۹۰۰/۱۳ میکروگرم روتین در هر گرم عصاره متغیر بود (۲۷). تفاوت مقدار فنل کل مطالعه مذکور با نتایج این مقاله می تواد تا حدودی ناشی از تفاوت استاندارد های مورد استفاده باشد اما بالاتر بودن مقدار فلاونوییدها از مقدار فنل کل احتمالا بدلیل خطای محاسباتی نویسندگان یا خطا در انجام مراحل آزمایش رخ داده است. به هر حال تاثیر شرایط استخراج روی مقدار فنل و فلاونویید کل به اثبات رسیده (۶). بررسی محتوای فنل

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۰۴-۳۸۹ DOI: 10.22034/JPR.2024.8430.3342

و فلاونویید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ زیتون طبیعی در منطقه مدیترانه و زیتون کشت شده در فرانسه و صربستان، مقادیرمتفاوتی از فنل کل (۵۱/۷۱-۳۱۴/۶۷ میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم عصاره) فلاونویید کل (۲۲/۲۲-۱۲۹/۳۹ میلی‌گرم روتین در هر گرم عصاره) و IC_{50} (۳۰/۰۴ -۲۳۱/۳۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر) را نشان داده است که ارتباط شدید این پارامترها با شرایط زیستگاهی را مشخص می‌سازد (۳۵). این نتایج به‌طور مستقیم با یافته های این مطالعه قابل مقایسه نیست اما دامنه تغییرات مقدار فنل و فلاونویید کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی تا حدودی با یافته ای ما همخوانی دارد. به هر حال عصاره برگ زیتون زاهدان خاصیت آنتی‌اکسیدانی بسیار بالاتری را نشان داد. محتوای فنلی کل عصاره‌های آبی اتانولی و استونی برگ‌های زیتون واریته‌های کرونایکی ۱۰۵/۶۵ تا ۱۹۶/۶ میلی‌گرم معادل اسید تانیک در گرم عصاره گزارش شده است که به دلیل استفاده از استانداردهای مختلف با نتایج این مطالعه قابل مقایسه نیستند. اما توانایی عصاره‌ها در مهار رادیکال‌هایDPPH (۴۱/۶-۲۷۷ میکروگرم در میلی‌لیتر) بسیار کمتر از مقادیر بدست آمده در مطالعه حاضر می‌باشد (۳۰). مطالعه ترکیبات فنلی و خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره اتانولی برگ و میوه زیتون جمع آوری شده از مزرعه فدک قم نشان داد که برگها محتوای فنلی بالاتر (۵۹۸ در مقابل ۴۲۳ میکروگرم معادل اسیدگالیک بر گرم ماده خشک) و خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به میوه‌ها (IC50 ۲۹/۰۹ در مقابل ۵۸/۸۲ میکروگرم/میلی‌لیتر) دارند و همچنین در غلظت پایین‌تری (۵۰ در مقابل ۱۰۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) مانع رشد باکتری *Pseudomonas aeruginosa* می‌شوند (۳). در مطالعه حاضر هم میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی برگها نسبت به میوه‌ها بیشتر بود و عصاره‌ها در غلظت‌های بسیار کمتر رشد باکتری *Pseudomonas aeruginosa* را مهار کردند اما میزان ترکیبات فنلی برگ‌ها کمتر از میوه‌ها بود. به هر حال، تفاوت‌های مشاهده شده می‌تواند ناشی از عوامل مختلفی مانند نژاد زیتون، شرایط اقلیمی حاکم بر منطقه، زمان برداشت اندام‌ها و... باشد. محتوای پلی‌فنل‌ها در گیاهان به عوامل مختلفی بستگی دارد و بسته به عملکرد گونه، واریته، اندام و مرحله ی فیزیولوژیک می‌تواند متفاوت باشد (۸ و ۴۱). مطالعات نشان داده است که گیاهانی که ترکیبات فنل بالاتری دارند فعالیت ضد رادیکالهای آزاد بالاتری نشان می‌دهند (۲۶).

یافته‌های این پژوهش نشان داد که عصاره‌های برگ زاهدان و میوه زابل پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بالاتری دارند و طیف وسیع‌تری از بازدارندگی در برابر میکروب‌ها نشان می‌دهند اما رابطه مستقیمی بین شرایط اقلیمی زیستگاه گیاه و محتوای فنل و فلاونوویدکل و خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی برگ و میوه آن دیده نشد هرچند نتایج پاره‌ای از مطالعات حاکی از اثر اقلیم بر سنتز برخی ترکیبات ثانویه است و تفاوت در محتوای فنلی و فلاونوییدی و خواص آنتی‌اکسیدانی را به دنبال دارد(۱و۳). پتاسیل ضدمیکروبی زیتون در مطالعات متعددی به اثبات رسیده است. در این مطالعه عصاره هیدروالکلی برگ و میوه زیتون در بالاترین غلظت (۴۰۹۶ میکرولیتر /میلی‌لیتر) روی باکتری‌های *اشرشیاکولی*، *باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *آسپرژیلوس* بی‌تاثیر بود. غلظت عصاره‌ها تاثیر زیادی روی میزان خواص ضدمیکروبی آنها دارد. بعنوان مثال در مطالعه والی و همکاران (۱۳۹۴) عصاره‌های متانولی برگ زیتون در غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر حدود۹۰٪ بازدارندگی روی باکتری *Bacillus cereus* داشته است (۴). اما از آنجا که در این مطالعه بالاترین غلظت عصاره‌ها ۴/۰۹۶ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر بود خاصیت ضدباکتریایی علیه این سویه مشاهده نشد. بعلاوه استفاده از حلال‌های مختلف ممکن است باعث استخراج موادی شود که بتوانند مانع تکثیر این پاتوژن‌ها شوند و همچنین با راندمان بالاتری با سایر باکتری‌ها و قارچ‌ها مقابله کنند (۵ و ۳۲). بسته به نوع حلال، نوع میکروب، شرایط جغرافیایی و ژنوتیپ‌های مختلف نتایج متنوعی از تاثیر عصاره‌های زیتون بر میکروب‌ها بدست آمده است. در مطالعه حاضر عصاره هیدروالکلی برگ زاهدان و زابل روی *کاندیدا آلبیکنس* اثر بازدارندگی و کشندگی نشان داد اما عصاره

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۰۴-۳۸۹
DOI: 10.22034/JPR.2024.8430.3342

اتانولی زیتون شمال روی این قارچ بی تاثیر بوده است (۳۲). همچنین عصاره هیدروالکلی برگ و میوه زیتون در مطالعه حاضر روی *Bacillus cereus* بی تاثیر بود. در حالی که Tassou و همکاران (۱۹۹۱) بیان کردند که Oleuropein (یک ترکیب فنلی تلخ در برگ میوه و دانه زیتون) خالص اثر ضدمیکروبی کمتری نسبت به عصاره خام زیتون سبز روی *Bacillus cereus* دارد (۳۸). در مطالعه دیگر الئوروپین خالص شده در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر توانست رشد آن را در نوترینت براث بطور کامل متوقف کند (۳۱). ترکیبات فنلی متعددی در برگ و میوه زیتون وجود دارد اما مشتقات النولیک اسید قوی‌ترین ترکیبات ضدمیکروبی هستند و بهمراه هیدروکسی‌تیروزول گزینه‌های مناسب برای استفاده به عنوان نگهدارنده‌های طبیعی می‌باشند (۱۰ و ۴۰). ترکیبات فنلی نقش مهمی در خاصیت ضدمیکروبی گیاهان دارند. این ترکیبات میکروارگانیسم‌ها را از طریق اختلال در عملکرد غشا و آنزیم‌ها، تخریب دیواره سلولی و پروتین‌ها، و تاثیر بر تکثیر DNA و RNA از بین می‌برند (۲۲).

نتیجه‌گیری

در این تحقیق، میزان ترکیبات فنلی و فلاونوییدی ، ظرفیت آنتی اکسیدانی و خواص ضدمیکروبی عصاره‌های هیدرواتانولی برگ و میوه گیاه زیتون در دو اقلیم متفاوت زابل و زاهدان مورد بررسی قرار گرفت. برمبنای مقادیر IC_{50}، ترتیب قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها بصورت برگ زیتون زاهدان > برگ زیتون زابل > میوه زیتون زابل > میوه زیتون زاهدان می‌باشد که پتانسیل بالاتر برگ‌ها در هر دو اقلیم نسبت به میوه‌ها را نشان می‌دهد. این روند بیشترین همخوانی را با محتوای فلاونوئیدی گیاهان (برگ زیتون زاهدان > برگ زیتون زابل > میوه زیتون زاهدان > میوه زیتون زابل) نشان می دهد و می‌توان نتیجه گرفت که مولکول‌هایی که قابلیت بدام اندازی رادیکال‌های آزاد را دارند، بایستی از اعضای این خانواده باشند. روند متفاوتی از آزمایشات تعیین حساسیت ضدمیکروبی مشاهده گردید. عصاره‌ها براساس گستره اثر دارای روند برگ زیتون زاهدان > میوه زیتون زابل > میوه زیتون زاهدان > برگ زیتون زابل می باشند که در غلظت‌های کمتر از پنج میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب توانستند مانع از رشد چهار، سه، دو و یک سویه میکروبی از میان نه سویه بررسی شده گردند. بهترین نتایج در هر دو آزمون آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی از عصاره برگ زاهدان مشاهده شد که دارای بالاترین محتوای فلاونوئیدی است و احتمالا اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی عصاره از مولکولهای فعال زیستی این خانواده ناشی می شود. عصاره های میوه محتوای فنلی بیشتری نسبت به اندام های برگ داشتند که با هر دو روند خواص ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی همخوانی نداشت و می توان پیش بینی کرد که همه ترکیبات فنلی توانایی مقابله با باکتری ها، قارچ ها و قطعات رادیکالی آزاد را ندارند بلکه گروه خاصی از آنها که فلاونویید نامیده می شوند در این پتانسل‌ها نقش دارد. از آنجا که برگ زیتون زاهدان بیشترین مقدار فلاونویید و بالاترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی را دارد پژوهش روی این اندام برای اهداف تغذیه ای و دارویی پیشنهاد می‌شود. از آنجاییکه پتانسیل آنتی‌اکسیدانی ترکیبات رابطه مستقیمی با بسیاری از بیماری‌های وابسته به استرس اکسایشی از قبیل آلزایمر، پارکینسون، دیابت، فشار خون بالا، تصلب شرایین و سکته مغزی دارد، پتانسیل برگ زاهدان در مقابله با این گونه بیماری‌ها می‌تواند هدف محققین در پژوهش‌های آینده باشد.

تقدیر و تشکر

این مقاله مستخرج از پایان نامه نویسنده اول خانم محبوبه زاهدی است که در گروه زیست شناسی دانشگاه زابل انجام گرفته است. هزینه های مادی این تحقیق توسط دانشگاه زابل از طریق پژوهانه‌های شماره IR-UOZ-GR-0331 و IR-UOZ-GR-

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۰۴-۳۸۹ DOI: 10.22034/JPR.2024.8430.3342

4711 تامین شده است. از همکاری خانم زهرا ابراهیم نژاد در طول انجام کارهای آزمایشگاهی این تحقیق صمیمانه تقدیر می‌شود.

منابع

۱- آروین پ.، فیروزه ر. ۱۴۰۱. بررسی فیتوشیمیایی و فعالیت آنتی اکسیدانی ریشه، برگ و میوه گیاه کور Capparis spinosa L. در دو رویشگاه از استان خراسان شمالی. مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)(علمی) ۳۶(۴):۳۸۹-۴۰۴.

۲- بابائی م.، حسن ج.، کوهی م.، قاسم‌زاده م. ۱۴۰۲. مقایسه اثرات ضد میکروبی وآنتی‌اکسیدانی اولئوروپین استخراج شده از برگ زیتون واریته آربیکن با عصاره برگ ومیوه آن. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد. ۳۱ (۱۰) :۷۱۲۹-۷۱۴۳.

۳- زرگوش ز. ، قوام م. ، طویلی ع. ۱۳۹۸. مقایسه خاصیت آنتی‌اکسیدانی و فنول کل گیاه تشنه‌داری(Scropholaria striata Boiss.) در اقالیم مختلف در استان ایلام. مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)(علمی) ۳۲(۴):۷۵۹-۷۶۸.

۴- عباس والی، م.، اسماعیلی کوتمهر، م.، مشتاقی، ح، و اسکندری، م. ۱۳۹۴. مقایسه اثر ضدباکتریایی عصاره برگ چهار رقم زیتون (Olea europaea) بر باسیلوس سرئوس. بهداشت مواد غذایی، ۵(۲ (پیاپی ۱۸))، ۴۱-۵۲.

5- Adem SR, Ayangbenro AS, Gopane RE., 2020. Phytochemical screening and antimicrobial activity of Olea europaea subsp. africana against pathogenic microorganisms. Scientific African. 10:e00548.

6- Altıok E, Bayçın D, Bayraktar O, Ülkü S., 2008 Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (Olea europaea L.) by adsorption on silk fibroin. Separation and Purification Technology. 62(2):342-8.

7- Beyzaei H, Kamali Deljoo M, Aryan R, Ghasemi B, Zahedi MM, Moghaddam-Manesh MJCCJ., 2018. Green multicomponent synthesis, antimicrobial and antioxidant evaluation of novel 5-amino-isoxazole-4-carbonitriles. Chemistry Central Journal. 12(1):1-8.

8- Carbone K, Giannini B, Picchi V, Lo Scalzo R, Cecchini F., 2011. Phenolic composition and free radical scavenging activity of different apple varieties in relation to the cultivar, tissue type and storage. Food Chemistry. 127(2):493-500.

9- Carocho M, Barreiro MF, Morales P, Ferreira I., 2014. Adding Molecules to Food, Pros and Cons: A Review on Synthetic and Natural Food Additives. Comprehensive reviews in food science and food safety. 13(4):377-99.

10- Charoenprasert S, Mitchell A., 2012. Factors influencing phenolic compounds in table olives (Olea europaea). Journal of agricultural and food chemistry. 60(29):7081-95.

11- Chaudhary P, Janmeda P, Docea AO, Yeskaliyeva B, Abdull Razis AF, Modu B, et al., 2023. Oxidative stress, free radicals and antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. Frontiers in chemistry. 11:1158198.

12- Chidambara Murthy KN, Jayaprakasha GK, Singh RP., 2002. Studies on antioxidant activity of pomegranate (Punica granatum) peel extract using in vivo models. Journal of agricultural and food chemistry.50(17):4791-5.

13- Dehghani Kazemi M, Beyzaei H, Ebrahimnezhad Z., 2023. Chemical Composition, Antioxidant Potential, and Antimicrobial Activity of Nannorrhops ritchiana (Griff) Aitch. Archives of Advances in Biosciences. 14(1):1-9.

14- Dehghani M, Saeidi S., 2023. Antimicrobial Effects of Medicinal Plant Species on Salmonella typhimurium Strains Isolated from Poultry Feces Samples. Jentashapir J Cell Mol Biol. 14(4):e135947.

15- Ebrahimnezhad Z, Dehghani M, Beyzaei H., 2022. Assessment of Phenolic and Flavonoid Contents, Antioxidant Properties, and Antimicrobial Activities of Stocksia Brahuica Benth. Int J Basic Sci Med. 7(1):34-40.

16- Granados-Principal S, Quiles JL, Ramirez-Tortosa CL, Sanchez-Rovira P, Ramirez-Tortosa MC., 2010. Hydroxytyrosol: from laboratory investigations to future clinical trials. Nutrition Reviews. 68(4):191-206.

17- Hassanpour SH, Doroudi A., 2023. Review of the antioxidant potential of flavonoids as a subgroup of polyphenols and partial substitute for synthetic antioxidants. Avicenna journal of phytomedicine. 13(4):354-76.

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۰۴-۳۸۹ DOI: 10.22034/JPR.2024.8430.3342

18- Hosseinzadeh S, Jafarikukhdan A, Hosseini A, Armand R., 2015. The Application of Medicinal Plants in Traditional and Modern Medicine: A Review of Thymus vulgaris. International Journal of Physical Medicine and Rehabilitation. 06:635-42.
19- Jukić Špika M, Liber Z, Montemurro C, Miazzi MM, Ljubenkov I, Soldo B, et al., 2022. Quantitatively Unraveling Hierarchy of Factors Impacting Virgin Olive Oil Phenolic Profile and Oxidative Stability. Antioxidants. 11(3).
20- Kauffmann AC, Castro VS., 2023. Phenolic Compounds in Bacterial Inactivation: A Perspective from Brazil. Antibiotics (Basel, Switzerland). 12(4).
21- Lin D, Xiao M, Zhao J, Li Z, Xing B, Li X, et al., 2016. An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes. Molecules. 21(10).
22- Lobiuc A, Pavăl N-E, Mangalagiu II, Gheorghiță R, Teliban G-C, Amăriucăi-Mantu D, et al., 2023. Future Antimicrobials: Natural and Functionalized Phenolics. Molecules. 28(3).
23- Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N., 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. Pharmacognosy reviews. 4(8):118-26.
24- Malheiro R, Rodrigues N, Pereira J., 2015. 4-Olive Oil Phenolic Composition as Affected by Geographic Origin, Olive Cultivar, and Cultivation Systems. Olive and Olive Oil Bioactive Constituents, AOCS Press. 93-121
25- Miklasińska-Majdanik M, Kępa M, Wojtyczka RD, Idzik D, Wąsik TJ., 2018. Phenolic Compounds Diminish Antibiotic Resistance of Staphylococcus Aureus Clinical Strains. International journal of environmental research and public health. 15(10).
26- Moazzen A, Öztinen N, Ak-Sakalli E, Koşar M., 2022. Structure-antiradical activity relationships of 25 natural antioxidant phenolic compounds from different classes. Heliyon. 8(9):e10467.
27- Mohammadi B, zia jahromi N, sadeghi H, Mirzaei A., 2016. Compare the amount of phenols, flavonoids and antioxidant activity of five varieties of Iranian olive leaf hydroalcholic extract. yums-armaghan. 20(10):888-98.
28- Oh E, Jeon B., 2015. Synergistic anti-Campylobacter jejuni activity of fluoroquinolone and macrolide antibiotics with phenolic compounds. Front Microbiol. 6:1129.
29- Pereira AP, Ferreira IC, Marcelino F, Valentão P, Andrade PB, Seabra R, et al., 2007. Phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of Olive (Olea europaea L. Cv. Cobrançosa) Leaves. Molecules. 12(5):[1153-62 pp.].
30- Rafiei Z, Jafari S, Alami M, Khomeiri M., 2011. Antioxidant properties of olive leaf extract and its application in sunflower oil. Research Journal of Food. 21(1):11-23.
31- Serra AT, Matias AA, Nunes AVM, Leitão MC, Brito D, Bronze R, et al., 2008. In vitro evaluation of olive- and grape-based natural extracts as potential preservatives for food. Innovative Food Science & Emerging Technologies. 9(3):311-9.
32- Shialy Z, Zarrin M, Sadeghi Nejad B, Yusef Naanaie S., 2015. In vitro antifungal properties of Pistacia atlantica and olive extracts on different fungal species. Current medical mycology. 1(4):40-5.
33- Silva S, Gomes L, Leitão F, Coelho AV, Boas LV., 2006. Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Olea europaea L. Fruits and Leaves. Food Science and Technology International. 12(5):385-95.
34- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. Methods in Enzymology. 299: Academic Press. p. 152-78.
35- Stanković M, Ćurčić S, Zlatić N, Bojović B., 2017. Ecological variability of the phenolic compounds of Olea europaea L. leaves from natural habitats and cultivated conditions. Biotechnology & Biotechnological Equipment. 31(3):499-504.
36- Sulaiman CT, Sadashiva CT, George S, Goplakrishnan VK, Balachandran I., 2013. Chromatographic Studies and in vitro Screening for Acetyl Cholinesterase Inhibition and Antioxidant Activity of three Acacia Species from South India. Analytical Chemistry Letters. 3(2):111-8.
37- Takhtajan A., 2009. Flowering plants: Springer.
38- Tassou CC, Nychas GJ, Board RG., 1991. Effect of phenolic compounds and oleuropein on the germination of Bacillus cereus T spores. Biotechnology and applied biochemistry. 13(2):231-7.
39- The Angiosperm Phylogeny Group., 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. Botanical Journal of the Linnean Society. 161(2):105-21.

Proof of Article

مقاله پژوهشی، صفحات ۴۰۴-۳۸۹ DOI: 10.22034/JPR.2024.8430.3342

40- Thielmann J, Kohnen S, Hauser C., 2017. Antimicrobial activity of Olea europaea Linné extracts and their applicability as natural food preservative agents. International journal of food microbiology. 251:48-66.
41- Zagoskina NV, Zubova MY, Nechaeva TL, Kazantseva VV, Goncharuk EA, Katanskaya VM, et al., 2023. Polyphenols in Plants: Structure, Biosynthesis, Abiotic Stress Regulation, and Practical Applications (Review). International journal of molecular sciences. 24(18).

Comparison of chemical composition and antioxidant and antimicrobial properties of the leaf and fruit extracts of olive (*Olea europaea* L.) in two different climatic conditions

Mahboobeh Zahedi[1], Mehdi Dehghani Kazemi[1*], Hamid Bayzaei[2], Sedigheh Esmaeilzadeh Bahabadi [1]

1 Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Zabol, Zabol, Iran

2 Department of Chemistry, Faculty of Basic Sciences, University of Zabol, Zabol, Iran

Preproof Article

Abstract

This research compared phenolic and flavonoid compounds and antioxidant and antimicrobial properties of the fruits and leaves of *Olea europaea* from Zabul and Zahedan. The Folin Ciocalteu and aluminum chloride colorimetry methods measured the total phenolic and flavonoid contents. DPPH free radical scavenging method was used to measure the antioxidant properties of the organs. Inhibitory properties of hydroalcoholic extracts were studied against several Gram-positive and Gram-negative pathogenic bacteria and fungal strains. The total phenolic and flavonoid contents ranged from 132±12 to 207±21 mg of gallic acid equivalent per gram and 26.2±2.5 to 34.4±2.5 mg of quercetin equivalent per gram of dried samples, respectively. IC_{50} values ranged from 5.27±1 to 128.03±14 µg/ml. No inhibitory activity was observed at the highest concentration of the extracts against strains of *E. coli*, *B. cereus*, *S. epidirmidis*, and *A. fumigatus*. Most of the extracts were able to prevent the growth of *Fusarium oxysporum*, but the growth of *Pseudomonas aeruginosa* strain was inhibited only by Zabul fruit extract. There was no obvious relationship between the climatic conditions of the plant's habitat and the total phenolic and flavonoid contents, antioxidant capacity, and antimicrobial properties of the extracts. Consistent with their high antioxidant properties, extracts of Zahedan leaf and Zabul fruit showed a wider range of inhibitory effects against pathogens and can be used in the treatment of microbial infections and diseases caused by oxidative stress.

Keywords: *Olea europaea*, Total phenolic content, Total flavonoid content, Antioxidant capacity, Antimicrobial properties