دراسة الفعالية المضادة للأكسدة والفعالية المثبطة تجاه البكتريا لمستخلص أنثوسيانين الملفوف الأحمر *Brassica oleracea L.* var. *capitata*

خالد حسك عبد الحسن*(1)

(1). قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة البصرة، البصرة، العراق.

(* للمراسلة: د. خالد حسك عبد الحسن. البريد الإلكتروني: hasakkhalid@gmail.com) .

تاريخ الاستلام: 2019/03/11 تاريخ القبول: 2019/05/26

الملخص

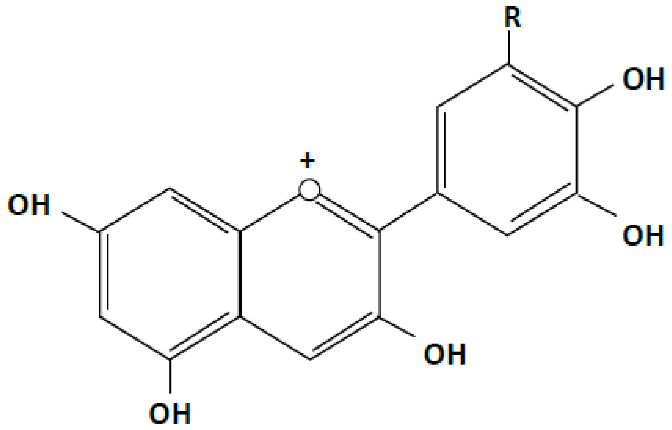
شملت الدراسة استخلاص صبغة الأنثوسيانين من الملفوف الأحمر باستخدام الكحول الإيتيلي 70% المحمض بحامض الهيدروكلوريك 1%. أُجري البحث في قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة البصرة، العراق. تم الكشف عن المركبات الفعالة في مستخلص الصبغة المتمثلة بالفينولات، والفلافونويدات، والجلايكوزيدات، والكربوهيدرات، والتي أعطت نتيجة موجبة. بينما أعطت نتيجة سالبة كل من القلويدات، والصابونينات. شخصت الصبغة بمطياف الأشعة الحمراء FTIR، الذي بين أهم القمم وحزم المجاميع الوظيفية الفعالة، وقيست فعاليتها المضادة للأكسدة، كما قيمت فعاليتها لربط أيون الحديدوز، واقتناص بيروكسيد الهيدروجين، واقتناص الأوكسجين النشط، بتراكيز تراوحت ما بين (5–25) ملغم/مل. وتمت مقارنتها مع بعض المركبات القياسية، إذ أعطت الصبغة المستخلصة فعالية بلغت 86.9%، و88.22%، و86.46% و84.31% على التوالي عند التركيز 25 ملغم/مل. قيّمت الاختبارات الميكروبية باستعمال تراكيز مختلفة من مستخلص الصبغة على نوعين من البكتريا الممرضة *Escherichia coli* و*Staphylococcus aereus* وبلغت أعلى فعالية تثبيطية بقطر 21 و 15 ملم على التوالي عند التركيز 100 ملغم/مل.

الكلمات المفتاحية: الملفوف الأحمر، الأنثوسيانين، الفعالية المضادة للأكسدة، الاختبارات الميكروبية.

المقدمة:

ازداد الاهتمام مؤخراً في العالم بالاتجاه نحو استعمال المستخلصات النباتية والتي أظهرت كفاءة في تحسين مناعة الجسم، وتعزيز صحة الإنسان، وذلك لاحتوائها أعلى المركبات الكيميائية النباتية (Phytochemicals) الموجودة بتراكيز عالية في الفواكه والخضار، لاسيما صبغة الأنثوسيانين، التي تعد من الصبغات الطبيعية والفعالة في الحد من خطورة الجذور الحرة، وكبديل طبيعي لمضادات الأكسدة الصناعية، التي أثارت العديد من الشكوك حول مدى سلامة هذه المضادات من الناحية الصحية (Yang *et al.,* 2011). واستخدمت بشكل كبير في المجالات الطبية، وفي الصناعات الغذائية، وتنتشر في كثير من النباتات. يعد الملفوف الأحمر *Brassica oleracea L.* var. *capitate* أحد الخضروات الورقية الشتوية، التي تنتمي إلى الفصيلة الصليبية، ومن المصادر المهمة للأنثوسيانينات الطبيعية. ويعد استخدامها أكثر أمناً في مجالات تصنيع الأغذية، وكبديل طبيعي للصبغات الصناعية التي لها تأثيرات جانبية على صحة الإنسان

(Delgado– Vargas *et al.*, 2000). توجد الأنثوسيانينات في النبات على هيئة جلايكوزيدات، يحتوي بناؤها على جزء سكري، وجزء عضوي، ويكون الجزء العضوي هو المسؤول عن اللون، وغالباً ما تكون أملاحها الحامضية حمراء، في حين تكون أملاحها القاعدية زرقاء، وتكون في المحاليل المتعادلة من هذه المركبات باللون البنفسجي، وهي جزيئات قطبية تحتوي على مجموعة الهيدروكسيل، والكربوكسيل، والميثوكسيل، ولها القابلية على الذوبان في الماء والمذيبات القطبية، وهذه الخاصية ساعدت على استخدامها بشكل واسع وسهولة استخلاصها وفصلها (Harborne, 1998). والأنثوسيانينات هي الصبغة الرئيسية الموجودة في الأزهار والفواكه، وتكون مسؤولة عن الألوان في النباتات من الأحمر إلى الأزرق، وذلك لوجود ستة مركبات تابعة لهذه المجموعة هيCyanidin ، Delphinidin ، Penoidin، Malvidin ، Petunidin وPelarganidin (Zhenzhen *et al.*, 2010).



تركيب الانثوسيانينات

استخدمت الأنثوسيانينات بشكل كبير في تصنيع الأغذية، وركزت الدراسات على الأنشطة الحيوية وتأثيراتها الصحية، من خلال التطبيقات الطبية، حيث تعد من المصادر المهمة كمضادات للأكسدة، إضافة إلى امتلاكها قدرة تثبيطية عالية ضد الأحياء المجهرية، والتي ساعدت في زيادة مدة حفظ الأغذية. وكذلك أجريت دراسات عديدة حول تأثيراتها الصحية على الإنسان في الحد من أمراض القلب والشرايين، ومضاد للعوامل المسرطنة والالتهابات (Casidy *et al.*, 2011). فضلاً عن امتلاكها قابلية تلوين جيدة، وذلك لثباتيتها العالية لظروف الخزن، واستخدمت كملونات غذائية آمنة وفعالة (Strack and Wray, 1994).

ونتيجة لوجود كميات كبيرة ومتوفرة على مدار السنة من الملفوف الأحمر، واحتواؤه على تراكيز عالية من صبغة الأنثوسيانينات، وعدم وجود دراسات واسعة حول استخدام الأنثوسيانينات المستخلصة من الملفوف الأحمر، تهدف الدراسة إلى استخلاص صبغة الأنثوسيانين من هذا النبات، وتقييم فعاليتها الحيوية كمضادات للأكسدة، ومدى تثبيطها لنمو بعض البكتريا الممرضة.

مواد البحث وطرائقه:

المادة النباتية: تم الحصول على الملفوف الأحمر red cabbage من الأسواق المحلية في محافظة البصرة.

استخلاص صبغة الأنثوسيانين:

تم استخلاص صبغة الأنثوسيانين وفقاً لطريقة Lees and Francis (1972) وذلك بوزن 50 غ من الملفوف المقطعة، وإضافة 500 مل كحول إيثيلي 70% المحمض بحامض الهيدروكلوريك 1% ومزجها جيداً، ثم تترك لمدة 24 ساعة في درجة حرارة المختبر، بعدها يرشح المستخلص باستعمال ورق ترشيح (What man, No.540). ثم يركّز الراشح بالمبخر المفرغ الدوار Rotary Vaccum

Evaporator عند درجة حرارة 40°م للتخلص من المذيب. بعدها يترك الراشح في أطباق بتري ليجف عند درجة حرارة الغرفة، ويوضع في زجاجات مُعتمة محكمة الغلق، ويحفظ في الثلاجة لحين الاستعمال.

الكشف عن المركبات الكيميائية الفعالة لمستخلص الصبغة:

أجريت الكشوفات الأولية على مستخلص صبغة الأنثوسيانين حسب طريقة (Horborne, 1984) للتعرف على المجاميع الرئيسة الموجودة في المستخلص، المتمثلة بالفلافونويدات، والفينولات، والجلايكوزيدات، والكربوهيدرات، والقلويدات، والصابونينات.

التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء FT-IR:

تم عمل أقراص جافة من مزيج مستخلص الصبغة مع KBr وضمن المدى الطيفي (4000–400) سم$^{-1}$، تم تسجيل طيف الأشعة تحت الحمراء بجهاز FT-IR موديل 4200 والمجهز من شركة JASCO اليابانية والتابع إلى مركز البوليمر/جامعة البصرة.

اختبار الفعالية المضادة للأكسدة:

طريقة ثايوسيانات الحديديك:

تم خلط 400 مايكرو ليتر من مستخلص الصبغة، ومضاد الأكسدة الصناعي BHT، ومضاد الأكسدة الطبيعي ألفا – توكوفيرول- αTocopherol كل على حدة بتركيز (5–25) ملغ/مل مع 200 مايكرو ليتر من حامض اللينوليك تركيز 2.5% في الايثانول، و400 مايكرو ليتر محلول دارئ الفوسفات تركيز 0.05 مولاري، ودالة حامضية 7.4. حُضّن الخليط في درجة حراره 4 °م لمدة 15 دقيقة. نقل 100 مايكرو ليتر من هذا الخليط إلى 3 مل إيثانول (70%) و100 مايكرو ليتر من ثايوسيانات الأمونيوم (300 ملغ/مل بالماء المقطر) و100 مايكرو ليتر من كبريتات الحديدوز ومتابعة تطور اللون الأحمر بقياس الامتصاصية على طول موجي 535 نانومتر (Lee *et al.*, 2002). حسبت النسبة المئوية لتثبيط بيروكسيدات الحامض الدهني لينوليك تبعاً للمعادلة الآتية:

الفعالية المضادة للأكسدة % = 1- (قراءة الامتصاص للأنموذج/ قراءة الامتصاص للعينة الضابطة) × 100

حضر أنموذج العينة الضابطة بالطريقة المذكورة باستثناء خلط 1 مل إيثانول بدلاً من المستخلص.

اقتناص بيروكسيد الهيدروجين:

خلط 1 مل من مستخلص الصبغة وحامض الجاليك بتركيز (5–25) ملغ/مل كل على حدة مع 0.6 مل من بيروكسيد الهيدروجين 0.002 مولاري، المحضر في محلول دارئ الفوسفات 0.1 مولاري ودالة حامضية 7.4، وبعدها قيس الامتصاص على طول موجي 230 نانومتر بعد مرور 10 دقائق. حضرت العينة الضابطة بالطريقة نفسها ومن دون إضافة العينة، استعملت المعادلة الآتية لحساب فعالية المستخلص في اقتناص البيروكسيد (Türkoğlu *et al.*, 2010).

فعالية اقتناص البيروكسيد %= (قراءة الامتصاص للأنموذج/ قراءة الامتصاص للعينة الضابطة) × 100

ربط أيون الحديدوز:

تم تقدير قابلية ربط أيون الحديدوز لمستخلص الصبغة، والمتضمنة خلط 0.4 مل من مستخلص الصبغة ومركب (EDTA)، ومضاد الأكسدة الصناعي BHT، تركيز (5–25) ملغ/مل كل على حدة مع 0.4 مل من كلوريد الحديدوز 0.02 مولاري، مع 0.4 مل

8-hydroxy quinoline بتركيز 0.05 مولاري (المحضر بالإيثانول 98%). حضن الخليط لمدة 10 دقائق في درجة حرارة الغرفة في مكان مظلم، ثم قيس الامتصاص عند طول موجي 562 نانومتر (Gülcin *et al.*, 2003) .

وحسبت قابلية المستخلص على ربط أيون الحديدوز وفق المعادلة الآتية:

قابلية الربط % =(1- قراءة الامتصاص للأنموذج/ قراءة الامتصاص للعينة الضابطة) × 100

اقتناص الأوكسجين النشط Superoxide activity

تم تقدير قابلية اقتناص الأوكسجين النشط وفقاً للباحثين Pownall *et al.,* (2010) والمتضمنة خلط 1 مل من مستخلص الصبغة تركيز (5-25) ملغ/مل مع 1 مل دارئ Tris-Hcl بتركيز 0.05 مولاري، ورقم هيدروجيني 8.3 محتوي على 0.001 مولاري EDTA و 0.5 مل من Pyrogallol (المحضر بتركيز 1.5 % في 0.01 مولاري HCl) في أنابيب اختبار، قيست بعدها الامتصاصيةأعلى طول موجي 420 نانومتر، في حين تتكون العينة الضابطة من كل المكونات عدا العينة، وتحسب النسبة المئوية لقابلية اقتناص الأوكسجين النشط من المعادلة التالية:

قابلية اقتناص الأوكسجين النشط % = [قراءة الامتصاصية للعينة الضابطة - قراءة الامتصاصية للعينة/ قراءة الامتصاصية للعينة]×100

اختبار القدرة التثبيطية ضد البكتريا:

أجري الاختبار بواقع ثلاث مكررات وعلى نوعين من البكتريا *Staphylococcus aereus* و *Escherichia coli* التي تم الحصول عليها من قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة البصرة، وتضمنت مرحلتين:

المرحلة الأولى : تنشيط عزلات الاختبار على الوسط Nutrient Broth بدرجة حرارة 37°م مدة 18 ساعة

المرحلة الثانية : اعتمدت طريقة الانتشار بالحفر وفقاً لطريقة Christy *et al.,* (2012)، وذلك بنقل 0.1 مل من الوسط الحاوي على بكتريا الاختبار المنشطة (10^8 خلية/مل، وكثافة ضوئية 0.14، عند الطول الموجي 540 نانومتر)، ونشرت بواسطة L-shape على أطباق بتري، وثقبت بوساطة الثاقب الفليني، وبقطر 6 ملم على سطح الوسط الزرعي Muller Hinton والمحضّر حسب توصيات الشركة المجهزة. تم إضافة 50 مايكرو لتر بوساطة ماصة دقيقة Micropipette المحضر من تراكيز صبغة الأنثوسيانين (100، 75 ، 50 ،25) ملغ/مل لكل حفرة (المعقمة بمرشحاتMillipore filter). حضّنت الأطباق في درجة حرارة 37 °م لمدة 24 ساعة، قيست أقطار التثبيط أو الهالة المحيطة بالحفر، والخالية من النمو الميكروبي بواسطة مسطرة وضمنها الحفرة.

التحليل الإحصائي:

استخدم البرنامج الإحصائي (SPSS,1998) في تحليل البيانات، واستعمل اختبار أقل فرق معنوي L.S.D عند مستوى معنوية 0.05 للمقارنة بين متوسطات القراءات.

النتائج والمناقشة:

الكشف عن المركبات الكيميائية الفعالة لمستخلص الصبغة:

يوضح الجدول (1) نتائج الاختبارات الكيميائية النوعية، للكشف عن المركبات الفعالة الكيميائية الموجودة في مستخلص صبغة الأنثوسيانين، والتي أعطت نتيجة موجبة لكل من الفلافونويدات، والفينولات، والجلايكوزيدات، والكربوهيدرات. كانت النتيجة موافقة لنتيجة

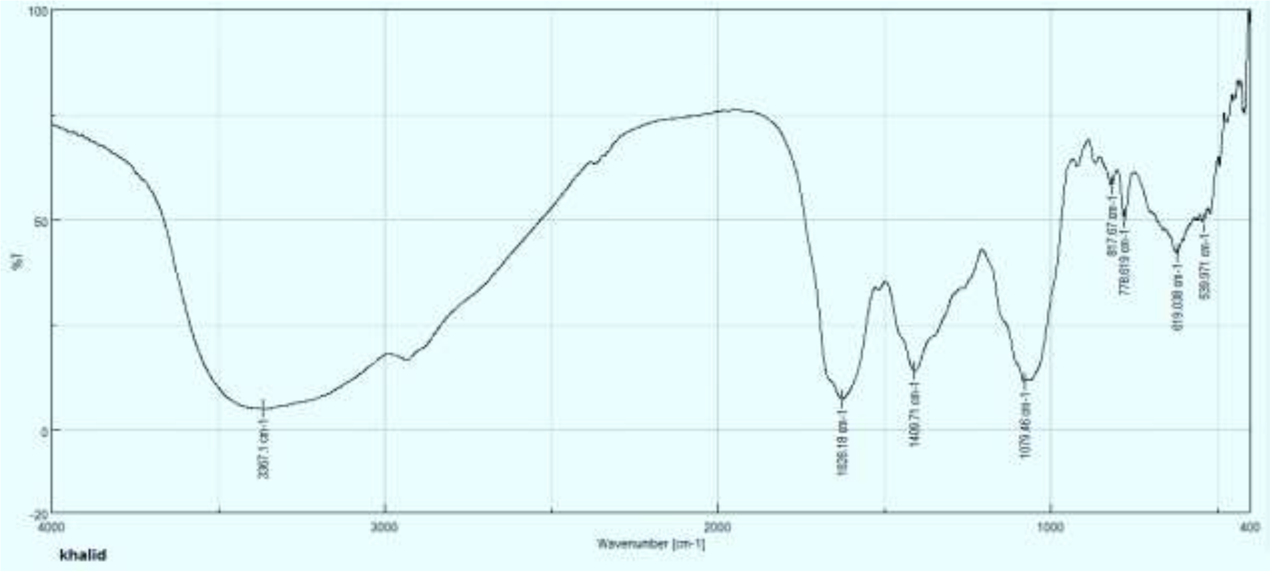
الباحثين Al–Salhi *et al.*, (2009) في الكشف عن المركبات الفعالة في مستخلص صبغة الأنثوسيانين من نبات زهرة صباح المجد *IPOMOEA PURPUREA*.

الجدول 1. نتائج التحاليل الكيميائية للكشف عن بعض المركبات في مستخلص صبغة الأنثوسيانين

الفلافونويدات	الفينولات	الغليكوسيدات	الكاربوهيدرات	القلويدات	الصابونينات
+	+	+	+	-	-

التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء FT–IR

يبين الشكل (1) الخط البياني لمطياف الأشعة تحت الحمراء FT–IR لصبغة الأنثوسيانين المستخلصة، والذي يظهر فيه مواقع أهم القمم وحزم المجاميع الوظيفية الفعالة، إذ ظهرت حزمة عند التردد 3367.1 سم$^{-1}$ والتي تدل على وجود مجموعة O–H وحزمة عند التردد 1626.18 سم$^{-1}$ التي تمثل مجموعة c=o الأروماتية، في حين ظهرت حزمة عند التردد 1409.71 سم$^{-1}$ عائدة لمجموعة الكاربوكسيل، وحزمة عند التردد 1079.46 سم$^{-1}$ تعود الى مجموعة C–O ، وجاءت نتائج FTIR مقاربة لنتائج كل من Liu *et al.* (2007) و(2015) Syafinar *et al.*, .

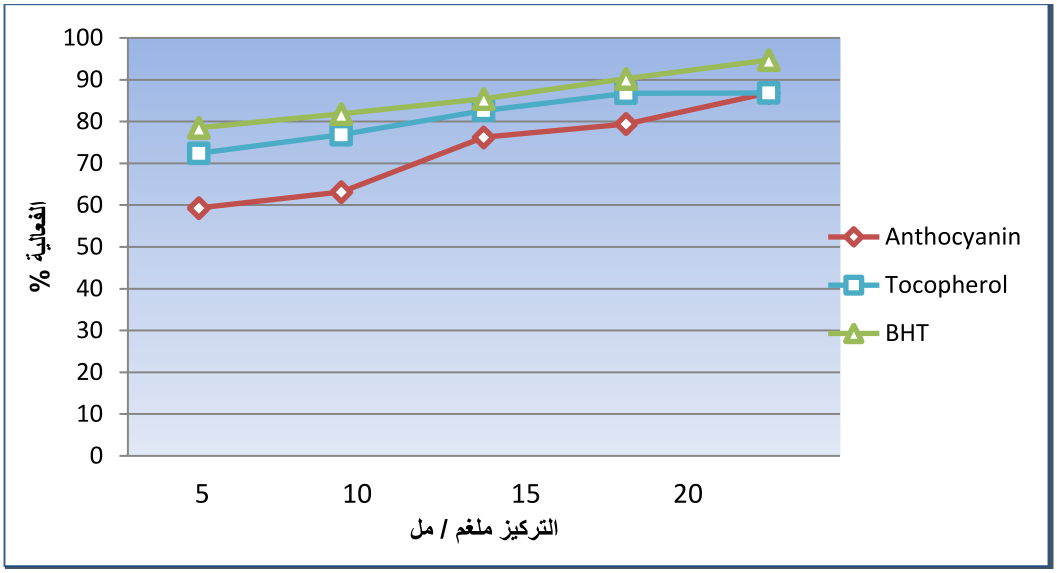


الشكل 1. طيف الأشعة تحت الحمراء لصبغة الأنثوسيانين المستخلصة

الفعالية المضادة للأكسدة:

طريقة ثايوسيانات الحديديك:

يوضح الشكل (2) النسبة المئوية للفعالية المضادة للأكسدة في نظام تثبيط أكسدة حامض اللينوليك لصبغة الأنثوسيانين المستخلصة من الملفوف الأحمر، والمحضرة بتراكيز تراوحت (5–25 ملغ/مل) ومقارنتها مع مضاد الأكسدة الصناعي BHT و α –Tocopherol إذ أعطت الصبغة المستخلصة فعالية مضادة للأكسدة بلغت 59.33% عند التركيز 5 ملغ/مل، وكانت هذه النسبة أقل من مضاد الأكسدة الصناعي BHT و α–Tocopherol التي بلغت 78.52% و72.41% على التوالي، عند نفس التركيز، وتشير النتائج إلى أن الفعالية المضادة للأكسدة تزداد بزيادة التركيز للصبغة المستخلصة وكل من BHT و α–Tocopherol إذ بلغت أقصى فعالية ومقدارها 86.90% عند التركيز 25 ملغ/مل وبذلك كانت مقاربة في فعاليتها بالمقارنة مع α–Tocopherol البالغة 86.83% بينما بلغت فعالية BHT 94.72% عند نفس التركيز.



الشكل 2. الفعالية المضادة للأكسدة بطريقة ثايوسيانات الحديديك لصبغة الأنثوسيانين المستخلصة من الملفوف الأحمر

بينت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية عند مستوى ($p<0.05$) بين BHT والأنثوسيانين في جميع التراكيز، وعدم وجود فرق معنوي بين صبغة الأنثوسيانين وα−Tocopherol عند التركيز 25 ملغ/مل. يعتبر الأنثوسيانين من مضادات الأكسدة القوية ومضادة لبيروكسيدات الدهون المتكونة في بداية مرحلة الأكسدة وممكن أن تثبط نواتج الأكسدة الثانوية في المراحل الأخيرة من الأكسدة، وذلك بسبب امتلاكها لبعض الخصائص التي تعتمد على التركيب الكيميائي (Withy *et al.*, 2004).

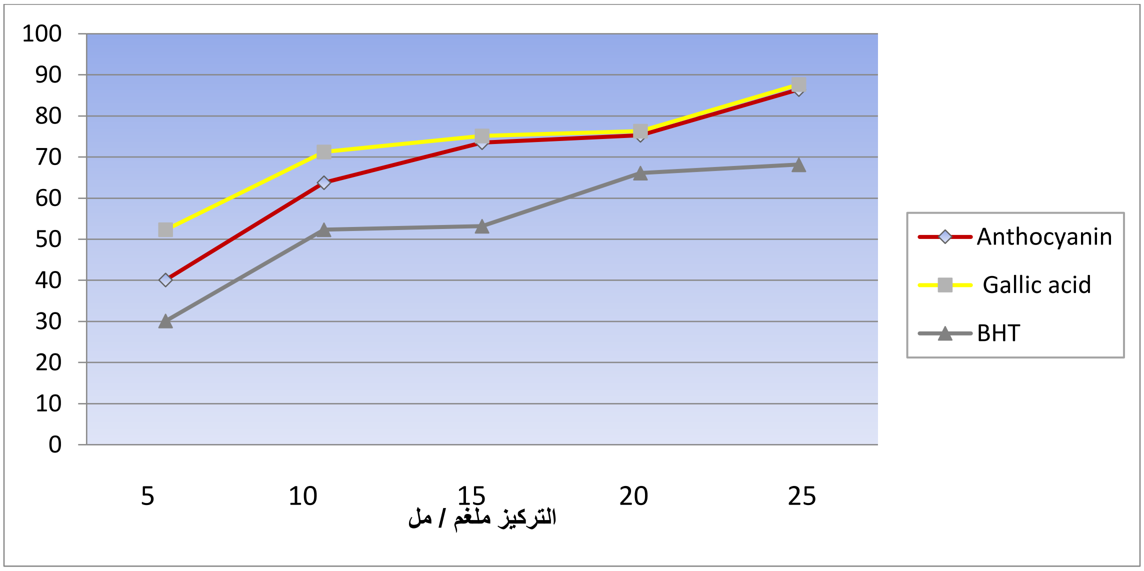
ربط أيون الحديدوز:

يوضح الشكل (3) قدرة مستخلص صبغة الأنثوسيانين على ربط أيون الحديدوز ومقارنتها مع كل من EDTA وBHT والمحضّرة بتراكيز تراوحت 5−25 ملغ/مل، إذ ظهر أن قابلية ربط أيون الحديدوز ازدادت بشكل واضح وبلغت 88.22% عند التركيز 25 ملغ/مل، في حين كانت قابلية الربط لمركب EDTA أعلى والتي بلغت 98.2% عند نفس التركيز، بينما كانت أعلى من قابلية الربط لمضاد الأكسدة الصناعي BHT التي بلغت 56.5%. أظهرت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية عند مستوى ($p<0.05$) بين صبغة الأنثوسيانين وبين كل من BHT و EDTA في جميع التراكيز. وجاءت هذه النتائج مقاربة لما وجده Ponmozhi *et al.*, (2011)، إذ بلغت قابلية ربط أيون الحديدوز 92.95% لصبغة الأنثوسيانين المستخلصة من غلاف ثمرة Pithecellobiumdulce fruit (اللوز الهندي) بالميثانول المحمض. تعود قابلية الأنثوسيانينات على ربط أيونات المعادن إلى احتوائها على مجموعتي هيدروكسيل في حلقة الفنيل بشكل متجاور Ortho وتكّون معقدات بسهولة غير قابلة للذوبان مع أيونات المعادن، تمنع التفاعل بين المعادن والدهون التي تعطي الحماية من التلف التأكسدي من خلال تثبيط ROS وبيروكسيدات الدهون (Basu *et al.*, 2012).

الشكل 3. قابلية الصبغة الأنثوسيانين المستخلصة من الملفوف الأحمر أعلى ربط أيون الحديدوز

اقتناص بيروكسيد الهيدروجين:

يمثل الشكل (4) قابلية اقتناص بيروكسيد الهيدروجين لصبغة الأنثوسيانين وبتراكيز تراوحت 5–25 ملغ/مل ومقارنتها مع كل من حامض الجاليك وBHT . بينت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فرق معنوي عند مستوى ($P< 0.05$) بين الأنثوسيانين، وحامض الجاليك للتراكيز 15–25 حيث تراوحت ما بين 73.53–86.46 %، بينما تراوحت فعالية حامض الجاليك عند التراكيز نفسها ضمن المجال 75.13–87.66%، في حين تفوقت صبغة الأنثوسيانين بفروق معنوية على فعالية BHT وفي جميع التراكيز.



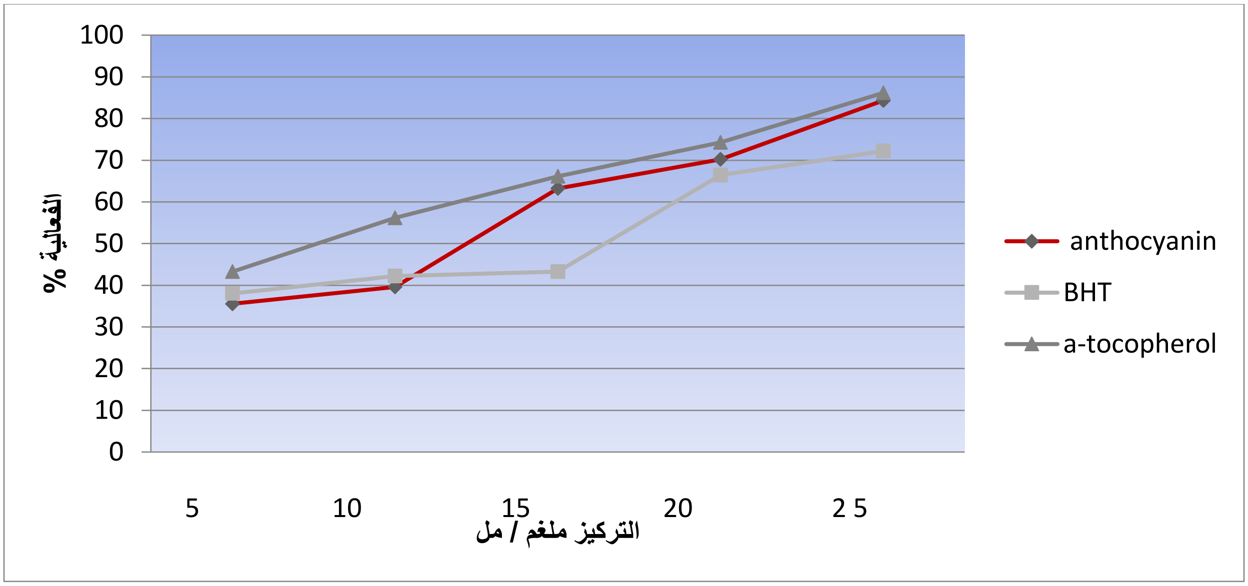
الشكل 4. قابلية الصبغة الأنثوسيانين المستخلصة من الملفوف الأحمر أعلى اقتناص بيروكسيد الهيدروجين

يعتبر بيروكسيد الهيدروجين عامل مؤكسد ضعيف وغير فعال، ولكنه يعد مصدر لإنتاج جذور الأوكسجين الفعالة مثل جذر الهيدروكسيل، وتكمن خطورة البيروكسيد من خلال تراكم جذر الهيدروكسيل، نتيجة تفاعله مع بعض أيونات المعادن كالحديد والنحاس. ومن الممكن أن يثبط عمل بعض الأنزيمات من خلال أكسدة مجاميع السلفا (SH). لذا فإن اقتناص بيروكسيد الهيدروجين عامل مهم في التخلص من

الجذور الحرة (Kumaran *et al.*, 2007). يمكن أن يعود السبب إلى قابلية اقتناص البيروكسيد، إلى التركيب الهيكلي للصبغات بوجود مجموعتين فعالة OH وO_2 .

اقتناص الأوكسجين النشط:

يوضح الشكل (5) النسبة المئوية لقابلية صبغة الأنثوسيانين والمحضرة بتراكيز تراوحت 5–25 ملغ/مل على اقتناص الأوكسجين الفعال ومقارنتها مع BHT و α–Tocopherol إذ بلغت أقصى فعالية 84.31% عند التركيز 25 ملغ/مل، وكانت متقاربة مع فعالية – αTocopherol التي بلغت 86.14%، بينما كانت أعلى من قابلية BHT التي بلغت 72.18% عند نفس التركيز. وتشير نتائج التحليل الإحصائي إلى عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى ($P< 0.05$) بين صبغة الأنثوسيانين و a–Tocopherol عند التراكيز (15،20،25) ملغ/مل مع تفوق صبغة الأنثوسيانين بشكلٍ معنويٍ على فعالية BHT. وكانت النتيجة أعلى مما حصل عليه Ponmozhi *et al.*, (2011) في دراسة قابلية صبغة الأنثوسيانين على اقتناص الأوكسجين النشط المستخلص من غلاف ثمرة Pithecellobiumdulce fruit (اللوز الهندي) بالميثانول المحمض والميثانول إذ بلغت 56.62 و55.42% على التوالي، في حين كانت أقل مما حصل عليه Jiao *et al.*, (2012) عند تقدير نسبة قنص الأوكسجين النشط للأنثوسيانين المستخلص من البطاطا الحلوة (*Ipomoea batatas* L.) إذ بلغت 86.1% عند التركيز 0.05 ملغ/مل.



الشكل 5. قابلية الصبغة الأنثوسيانين المستخلصة من الملفوف الأحمر أعلى اقتناص الأوكسجين النشط

التأثير التثبيطي لصبغة الأنثوسيانين ضد بعض أنواع البكتريا:

يوضح الجدول (2) امتلاك صبغة الأنثوسيانين فعالية تثبيطية ضد نوعين من البكتريا الاختبارية، إذ أظهرت الدراسة تباين واضح في القدرة التثبيطية حسب نوع البكتريا، والتراكيز المستعملة. فقد أوضحت النتائج أن القدرة التثبيطية ازدادت بزيادة التركيز حتى بلغ أقصى قطر تثبيط 21 ملم تجاه بكتريا *E.Coli* عند التركيز 100 ملغ/مل، في حين بلغ قطر التثبيط 15 ملم تجاه بكتريا *Staphylococcus aereus* عند التركيز نفسه، وكانت أقل للتراكيز الأخرى. توافقت النتائج مع Leong *et al.,* (2017) الذين وجدوا فعالية تثبيطية لصبغة الأنثوسيانين المستخلصة من حبوب *Clitoria ternatea* (بازلاء الفراشة) ضد أنواع مختلفة من البكتريا، إذ بلغ قطر التثبيط 17.3 ملم لبكتريا *E.Coli* و10 ملم لبكتريا *Staphylococcus aereus* عند تركيز 50 ملغ/مل. كما اتفقت النتيجة مع Atwan

and Saiwan, (2010) اللذين وجدا زيادة قطر التثبيط بزيادة التركيز للانثوسيانينات المستخلصة من زهرة نبات بنت القنصل *Hibiscus rosa siensis* تجاه البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام. تعود فعالية الأنثوسيانينات المضادة للبكتريا، من خلال التأثير في جدار الخلية البكتيرية، أو التداخل مع البروتينات، مؤدية إلى تغيير طبيعتها وعرقلة عمل غشاء الخلية (Cowan, 1999). ويعتقد أن دور المستخلصات النباتية في التثبيط البكتيري ناشئ عن امتلاكها محتوىً عالياً من مجاميع الهيدروكسيل التي ترتبط مع المجاميع الفعالة للأنزيمات المسؤولة عن التفاعلات الأيضية وتثبط فعاليتها (Randhir *et al.*, 2004).

الجدول 2. التأثير التثبيطي لصبغة الأنثوسيانين المستخلصة من الملفوف الأحمر ضد البكتريا

التركيز ملغ/مل	معدل قطر مناطق التثبيط النمو بالملم	
	Staphylococcus aereus	*E.Coli*
25	9	11
50	10	14
75	12	17
100	15	21

الاستنتاجات:

تستنتج الدراسة احتواء صبغة الأنثوسيانين المستخلصة من الملفوف الأحمر على مركبات فعالة كالفلافونويدات، والفينولات، والجلايكوزيدات والكربوهيدرات. كما امتلكت الصبغة فعالية عالية للأكسدة، والقدرة على تثبيط البكتريا المرضية مع إمكانية استخدام صبغة الأنثوسيانين في الحفاظ على الأغذية وإطالة فترة حفظها.

كلمة شكر:

أتوجه بالشكر الجزيل إلى الدكتور محمد زيارة إسكندر في قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة البصرة لمساعدته لي في إبداء ملاحظاته القيمة.

المراجع:

Al-Salhi, N.J.; F. Saiwan, and Z.W. Atwan (2009). The antibacterial activity of ipomoea purpurea and anthocyanine pigment extracts against gram positive and negative bacteria. Bas. J. Vet. Res., 8 (2):181-191.

Basu, S.; A. Roychoudhury; S. Sanyal; and D.N. Sengupt (2012). Carbohydrate content and antioxidative potential of the seed of three edible Indica rice (*Oryza sativa L.*) cultivars. Indian Journal of Biochemistry and Biophysics. 49: 115-123.

Cassidy, A.; E.J. O'Reilly; C. Kay; L. Sampson; M. Franz; J.P. Forman; G. Curhan; and E.B. Rimm (2011). Habitual intake of flavonoid subclasses and incident hypertension in adults. Am. J. Clin. Nutr., 93: 338–347.

Christy, J. E.; S. Jenothiny; M.K. Pathmanathan; and J.P. Jeyadevan (2012). Antibacterial activity of sequentially extracted organic solvent extracts of fruits, flowers and leaves of Lawsonia inermis L. from Jaffna. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2(10): 798-802.

Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. Clin.Microb. Rev., 12(4): 564-582.

Delgado-Vargas, F.; A.R. Jimenez; and O. Paredes-Lopez (2000). Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains--characteristics, biosynthesis, processing, and stability. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 40(3): 173-289.

Gülcin, I.; M. Oktay; E. Kirecci; and O. Küfrevioĝlu (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum L.*) seed extracts. Food Chemistry. 83: 371-382.

Harborne, J.B. (1998). Phenolic compounds in phytochemical methods – a guide to modern techniques of plant analysis. Third edition. Chapman and Hall, New York. 66-74.

Harborne, J.B. (1984). Photochemical methods. 2nd ed. Chapman and Hall, London, New York. Pp. 284.

Jiao, Y.; Y. Jiang; W. Zhai; and Z. Yang (2012). Studies on antioxidant capacity of anthocyanin extract from purple sweet potato (*Ipomoea batatas L*). African Journal of Biotechnology. 11(27):7046-7054.

Kumaran, A.; and R.J. Karunakaran (2007). In vitro antioxidant activities of methanolic extract of Phyllanthus species from India. LWT-Food Science and Technology. 40: 322-352.

Lee, J.C.; H.R. Kim; J. Kim; and Y.S. Yang (2002). Antioxidant property of an ethanol extract of Optuniaficus-indica Saboten. J. Agri. Food Chem., 50: 6490-6496.

Lees, D.H. and F.G. Francis (1972). Standardization of pigment analysis in cranberries. Hort. Science. Alexandria. 7 (1): 83-84.

Leong, C.R.; M.A. Azizi.; M.D. Abu Taher; S. Wahidin; K.C. Lee; W.N. Tan; and W.Y. Tong (2017). Anthocyanins from Clitoria ternatea Attenuate Food-Borne Penicillium expanse and its Potential Application as Food Bio preservative. Natural Product Sciences. 23(2): 125-131.

Liu, X; S. Xiang; Y. Yue; X. Su; W. Zhang; C. Song; and P. Wang (2007). Preparation of poly (acrylamide-co-acrylic acid) aqueous latex dispersions using anionic polyelectrolyte as stabilizer. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 311:1-3. Pp. 131-9.

Ponmozhi, P.; M. Geetha; S.M. Kumar; and S.P. Devi (2011). Extraction of anthocyanin and analyzing its antioxidant properties from *Pithecellobium dulce* fruit pericarp. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. 4: 41-45.

Pownall, T.L.; C.C. Udenigwe; and R.E. Aluko (2010). Amino acid composition and antioxidant properties of pea seed (*Pisum sativum L.*) enzymatic protein hydrolysate fractions. J. Agric. Food Chem., 58: 4712.

Randhir, R.; Y.T. Lin; and K. Shetty (2004). Phenolics, their antioxidant and antibacterial activity in dark germinated fenugreek sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. Asia Pac. J. Clin. Nutr., 3(3):295- 307.

Saiwan, F.; and Z.W. Atwan (2010). The antibacterial activity of cold aqueous and pigment of *hibiscus rosa siensis* extracts against gram positive and negative bacteria. Bas. J. Vet. Res., 10(2):109-118.

Strack, D. and V. Wray (1994). The anthocyanins. In: The Flavonoids: Advances in Research Since1986. (J.B. Harborne, ed.). Chapman and Hall.

Syafinar, R.; N. Gomesh; M. Irwanto; M. Fareq; and Y.M. Irwan (2015). Ft-ir and uv-vis spectroscopy photochemical analysis of dragon fruit. Asian Research Publishing. (10)15:6354-6358.

Türkoğlu, S.; S. Çelik; Đ. Türkoğlu; U. Çakılcıoğlu; and M. Bahsi (2010). Determination of the antioxidant properties of ethanol and water extracts from different parts of *Teucrium parviflorum Schreber*. African Journal of Biotechnology. 9 (40): 6797-6805.

Withy, L.M.; T.T Nguyen; R.E. Worlstad; and D.A. Heatherbel (2004). Storage changes in anthocyanin content of red raspberry juice concentrate. Journal of Food Science. 58 (1):190-192.

Yang, P.; H.Q. Ke; P.Z. Hong; S.K. Zeng; and W.H. Cao (2011). Antioxidant activity of bigeye tuna (Thunnus Obesus) head protein hydroiysate prepared with alcalase. Int. J. Food Sci. Tech., 46:2460- 2466.

Zhenzhen, X.; W. Jihong; Z. Yan; H. Xiaosong; L. Xiaojun; and W. Zhengfu (2010.). Extraction of anthocyanins from red cabbage using high pressure CO2. Bioresource Technology. 101: 7151-7157.

Studies on Antioxidants and Antibacterial Activity of Anthocyanin Extract from the Red Cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*)

Khalid Hassak Abdulhasan*(1)

(1). Department of food Science, Faculty of Agriculture, University of Basra. Iraq.
(*Corresponding author: Dr. Khalid Hassak Abdulhasan. E-Mail: hasakkhalid@gmail.com).

Received: 11/03/2019 Accepted: 26/05/2019

Abstract

The study included the extraction anthocyanin pigment from the red cabbage using 70% ethyl alcohol, which is 1% hydrochloric acid. The research was conducted at Department of Food Science, College of Agriculture, University of Basra, Iraq. The active compounds were detected in these extracts i.e., phenolic, flavonoids, glycosides and carbohydrates, which all gave a positive result while negative results were given to alkaloids and saponins .The dye was characterized by the infrared spectrum (FTIR), which showed the most important peeks and bands of active functional groups and measured Antioxidant Activity for linoleic acid oxidation , also evaluated the Activity of Chelating ferrous Ion**,** Scavenging of hydrogen peroxide and scavenge the radical of the active oxygen in different concentrations ranged(5-25)mg\ml, and were compared with some standard compound , which gave the antioxidant activity reached 86.9% , 88.22% , 86.46% and 84.31% respectively at concentration 25mg\ml. The microbiological tests were estimated for different concentrations of pigment extracts and different isolates from the pathogenic bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aereus* .The highest inhibitory zones effect was 21 and 15 mm in dimeter respectively at concentration.100 ml/ml.

Key Words: red cabbage, anthocyanin pigment, Antioxidant activity, Microbiological tests