مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

ارزیابی فنل و فلاونوئید کل، قدرت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدمیکروبی عصاره آبی حنا بر تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی

حسن برزگر[1*]، بهروز علیزاده بهبهانی[2]، محمد نوشاد[2]

۱- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.

۲- استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۰۵

کلمات کلیدی:

برگ حنا،

عصاره آبی،

فعالیت ضد میکروبی،

پتانسیل آنتی‌اکسیدانی،

ترکیبات زیست فعال.

DOI: 10.52547/fsct.18.116.327

* مسئول مکاتبات:

hbarzegar@asnrukh.ac.ir

چکیده

امروزه به دلیل اثرات سمی ترکیبات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی سنتزی، استفاده از انواع طبیعی آنها از جمله عصاره‌های گیاهی افزایش یافته است. در این پژوهش، اثر ضد میکروبی عصاره آبی برگ گیاه حنا به ٤ روش دیسک دیفیوژن، چاهک آگار، تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی بر باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی‌موریوم*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *لیستریا اینوکوا* مورد بررسی قرار گرفت. در تمامی روش‌ها غلظت‌های بالاتر عصاره فعالیت ضدمیکروبی بیشتری بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *لیستریا اینوکوا* در مقایسه با باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی-موریوم* نشان داد. همچنین میزان فنول و فلاونوئید عصاره به ترتیب ۱/۱۲±۵۹/٤۵ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره و ۰/۷۰±٤۰/۳۵ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره به دست آمد. پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی به دو روش مهار رادیکال آزاد **DPPH و مهار رادیکال آزاد **ABTS** اندازه-گیری و مشخص گردید که در هر دو روش افزایش غلظت عصاره به طور معنی‌داری منجر به افزایش پتانسیل آنتی‌اکسیدانی شد. با توجه با خاصیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ حنا، این گیاه می‌تواند به عنوان یک ترکیب زیست فعال طبیعی مورد استفاده قرار گیرد.**

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-15]

[DOI: 10.52547/fsct.18.116.327]

۱- مقدمه

در چند دهه اخیر آنتی‌بیوتیک‌های مختلف جهت درمان بسیاری از بیماری‌های باکتریایی مورد استفاده قرار گرفته‌اند، اما استفاده مداوم از آن‌ها منجر به ایجاد مقاومت‌های دارویی در تعداد زیادی از باکتری‌ها شده است. همچنین، قیمت بالا، اثرات کوتاه مدت، عدم تأثیر آنتی‌بیوتیک‌ها بر ویروس‌ها و مشکلات زیست محیطی از جمله معایبی می‌باشد که استفاده از آن‌ها را محدود کرده است [۱]. این مسائل استفاده از عوامل ضدمیکروبی با اثرات بیشتر و عوارض جانبی کمتر را افزایش داده است [۲]. از زمان‌های گذشته عصاره‌های گیاهی به دلیل فعالیت بیولوژیکی قابل توجه از جمله خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتری و ضد قارچ شناخته شده‌اند. با افزایش مقاومت مصرف‌کنندگان در برابر مواد افزودنی مصنوعی استفاده از محصولات طبیعی در صنایع مختلف افزایش یافته است [۳].

حنا با نام علمی *Lawsonia inermis* متعلق به خانواده *Lythraceae*، درختی پر شاخ و برگ بوده که در مناطق مدیترانه‌ای، خاور نزدیک و هند یافت می‌شود. حنا در ایران در نواحی جنوبی کشور مانند بم و بلوچستان رشد می‌کند. این گیاه به شکل علفی، درختچه و یا درخت می‌باشد و بیشتر به جهت برگ‌هایش کشت داده می‌شود. هر چند سایر قسمت‌های آن از جمله ریشه، پوست ساقه، دانه‌ها و گل‌های آن نیز در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرد [٤-٦]. حنا در برابر باکتری‌ها به ویژه باکتری‌های گرم مثبت، ویروس‌ها، مایکوباکتریوم، انگل‌ها، کپک و مخمر اثر ضدمیکروبی داشته و به دلیل داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد درد، ضد تب، ضد سرطان و تعدیل‌کننده ایمنی می‌تواند در درمان زخم‌های عفونی و بیماری‌های پوستی مورد استفاده قرار گیرد [۷]. اثرات ضدمیکروبی عصاره گیاه حنا در مطالعات مختلف بررسی شده است. بهدانی و همکاران (۱۳۸۸) فعالیت ضدمیکروبی عصاره آبی و اتانولی حنا را بر روی دو باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* بررسی کردند [۲]. همچنین میره‌ای و همکاران (۱۳۹۵) در بررسی فعالیت ضدمیکروبی نانوالیاف پلیمری با افزودنی عصاره حنا گزارش کردند که محلول‌های پلیمری حاوی ۱ درصد عصاره این گیاه در مقایسه با انواع بدون عصاره در جلوگیری از رشد باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* مؤثرتر می‌باشد [۷].

در این پژوهش میزان فنل، فلاونوئید عصاره آبی برگ حنا و همچنین خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی آن بر تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زا مانند *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی‌موریوم*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *لیستریا اینوکوا* بررسی گردید.

۲- مواد و روش

۲-۱- جمع‌آوری برگ حنا و تهیه عصاره از آن

پس از جمع‌آوری برگ حنا و شناسایی و خشک کردن کردن آن‌ها در دمای محیط، برگ گیاه پس از خشک شدن توسط آسیاب پودر گردید. از روش خیساندن جهت تهیه عصاره آبی استفاده شد. به این ترتیب که ۱۰۰ گرم از پودر گیاه به ۵۰۰ میلی‌لیتر آب اضافه و به مدت ٢٤ ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری شد. مخلوط آبی هر چند ساعت هم زده شد و به مدت ۲۰ دقیقه با شعله کم حرارت داده شد. پس از جمع‌آوری محلول رویی، محلول با سرعت ۳۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از عبور عصاره از کاغذ واتمن جهت انجام آزمون‌های مختلف در ظروف بسته در یخچال نگهداری شد [۸].

۲-۲- اندازه‌گیری فنول کل

به منظور اندازه‌گیری محتوای فنول کل از معرف فولین- سیوکالچو بر اساس روش علیزاده بهبهانی و همکاران (۲۰۲۰) با اندکی تغییر استفاده شد. بدین منظور، ۲۰ میکرولیتر عصاره به ۱۱۰ میکرولیتر معرف فولین- سیوکالچو تازه اضافه گردید. سپس ۷۰ میکرولیتر محلول سدیم کربنات به آن‌ها اضافه شد. پس از نگهداری محلول به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق، جذب نمونه در طول‌موج ۷٦٥ نانومتر ثبت و مقدار فنول کل بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره گزارش گردید [۹].

۲-۳- اندازه‌گیری فلاونوئید کل

جهت اندازه‌گیری فلاونوئید کل، ۱ میلی‌لیتر عصاره (۰/۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) یا محلول کوئرستین (۰/۵-۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به ۰/۳ میلی‌لیتر محلول سدیم نیتریت (۵ درصد) اضافه گردید.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-15]

[DOI: 10.52547/fsct.18.116.327]

سپس محلول با ۰/۳ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم (۱۰ درصد وزنی/ حجمی) مخلوط و به مدت ٦ دقیقه هم زده شد. پس از افزودن ۲ میلی‌لیتر سدیم هیدروکسید (۱ مولار)، جذب محلول در طول‌موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری و میزان فلاونوئید کل بر اساس میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره برگ حنا گزارش گردید [۱۰].

۲-٤- اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی

خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره با استفاده از روش‌های مهار رادیکال آزاد DPPH و مهار رادیکال آزاد ABTS بررسی گردید.

۲-٤-۱- مهار رادیکال آزاد DPPH

جهت اندازه‌گیری میزان فعالیت عصاره برگ گیاه با استفاده از روش مهار رادیکال آزاد DPPH، ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره با ۳/۹۵ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH (۰/۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر معادل ۲۵۰ میلی‌مولار) مخلوط و به مدت ٦۰ دقیقه در دمای اتاق در مکانی تاریک نگهداری شد. از ۰/۰۵ میلی‌لیتر متانول به عنوان نمونه کنترل استفاده گردید. در پایان، جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۵۱۸ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPHبا استفاده از فرمول زیر به دست آمد [۱۱]:

$$\text{فعالیت مهارکنندگی}\ (\%) = (1 - \text{Abs}_{\text{sample}} / \text{Abs}_{\text{control}}) \times 100$$

۲-٤-۲- مهار رادیکال آزاد ABTS

پس از تهیه محلول ۷ میلی‌مولار ABTS در آب، با نسبت ۱:۱ با محلول ۲/٤۵ میلی‌مولار پرسولفات سدیم مخلوط شد. رادیکال‌های کاتیونی ABTS با نگهداری محلول تهیه شده در دمای محیط در مکانی تاریک به مدت ۱٦ ساعت تولید گردید. محلول رادیکال‌های کاتیونی ABTS با استفاده از متانول در طول‌موج ۷۳٤ نانومتر تا رسیدن به جذب ۰/۷ رقیق شد. سپس، ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره برگ گیاه حنا با ۳/۹ میلی‌لیتر محلول رقیق شده رادیکال‌های کاتیونی ABTS مخلوط شد. پس از گذشت ٦ دقیقه در دمای اتاق جذب نمونه در طول‌موج ۷۳٤ نانومتر خوانده شد. میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال ABTS با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید [۱۲]:

$$\text{درصد جذب رادیکال} = \frac{\text{جذب عصاره} - \text{جذب نمونه شاهد}}{\text{جذب نمونه شاهد}} \times 100$$

۲-۵- بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره

در بررسی خاصیت ضدمیکروبی عصاره (عمل استریل کردن عصاره با فیلتر سرسرنگی ۰/٤۵ میکرونی انجام شد) از ٤ روش دیسک دیفیوژن، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی استفاده شد.

۲-۵-۱- دیسک دیفیوژن آگار

ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی (معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند: در طول موج ٦۲۵ نانومتر جذب معادل ۰/۰۸ تا ۰/۱۳ بود) به پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار اضافه شد. سپس دیسک‌های استریل (با قطر ٦ میلی‌متر) آغشته شده به غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر روی پلیت‌ها تثبیت شد. پلیت‌ها به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و قطر هاله‌ها بر اساس میلی‌متر به عنوان مناطق مهارکننده اندازه‌گیری شد [۱۳].

۲-۵-۲- انتشار چاهک در آگار

پس از ایجاد چاهک‌هایی با قطر ٦ میلی‌متر در پلیت‌های حاوی محیط مولر هینتون آگار، سوسپانسیون‌های میکروبی (معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند) در سطح محیط کشت داده شد. سپس از هر یک از غلظت‌های عصاره در چاهک‌ها ریخته و پلیت‌ها به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از اتمام زمان گرمخانه‌گذاری اثر ضدمیکروبی بر اساس قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) اندازه‌گیری شد [۱٤].

۲-۵-۳- حداقل غلظت مهارکنندگی

جهت انجام این آزمون، ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون‌های میکروبی (معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند) به چاهک‌های پلیت ۹٦ خانه‌ای اضافه شد. سپس ۲۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره به هر یک از چاهک‌ها اضافه گردید و به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد.پس از آن، ۲۰ میکرولیتر محلول تری‌فنیل‌تترازولیوم (۵ درصد) به چاهک‌ها اضافه و مجدداً به مدت ۳۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری شد. پس از پایان زمان گرمخانه‌گذاری، اولین غلظتی که در آن هیچگونه رنگ قرمزی (عدم رشد باکتری) مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی گزارش گردید [۱۵].

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-15]

[DOI: 10.52547/fsct.18.116.327]

۲-۵-٤- حداقل غلظت کشندگی

در این روش، ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک‌های فاقد رشد میکروبی در آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی در پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد. سپس پلیت‌ها به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد. غلظتی که در آن هیچگونه رشدی مشاهده نشد، به عنوان حداقل غلظت کشندگی گزارش گردید [١٦].

۲-٦- آنالیز آماری

تمام آزمایش‌های این پژوهش در سه تکرار انجام شدند. آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p<0.05$) جهت بررسی معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها مورد استفاده قرار گرفت. همچنین تجزیه و تحلیل آماری نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- میزان فنول و فلاونوئید کل عصاره

ترکیبات فنولی موجود در بخش‌های مختلف گیاه با کاهش بیماری‌های قلبی دارای اثرات مفید در سلامتی انسان بوده و در بهبود پایداری غذاهای چربی نقش دارند [۱۳]. میزان کل فنول عصاره آبی برگ حنا برابر با ۱/۱۲±۵۹/٤٥ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره و میزان فلاونوئید آن برابر با ۰/۷۰±٤۰/۳۵ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره بود. فیلیپ و همکاران (۲۰۱۱) مقدار فنول و فلاونوئید کل عصاره آبی دانه حنا را به ترتیب ۵۱/٤٦ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره و ٦/٨٦ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره گزارش کردند [۱۷]. در مطالعه دیگری مقدار فنول عصاره آبی گیاه حنا ۱/٤٥ میلی‌گرم تانیک در میلی‌گرم ماده خشک حنا گزارش شده است [۱۸]. نوع نمونه، نوع حلال و دمای به کار گرفته شده برای استخراج در میزان ترکیبات فنولی نقش دارند. همچنین تفاوت‌های اکولوژی گیاه از جمله ارتفاع، دما، رطوبت، اقلیم و خاک و عرض جغرافیایی در مقدار این ترکیبات مؤثر می‌باشد. ترکیبات فنولی نقش مهمی را در خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی دارا می‌باشند [۱۹].

۳-۲- خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره

آنتی‌اکسیدان‌ها نقش مهمی در جلوگیری از تغییرات عطر و طعمی و کیفیت مواد غذایی ایفا می‌کنند و همچنین قادر با کاهش خطرات ناشی از بیماری‌هایی مانند سرطان و دیابت می‌باشند [۲۰]. نتایج حاصل از بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی حنا به دو روش مهار رادیکال آزاد DPPH و مهار رادیکال آزاد ABTS در شکل ۱ نشان داده شده است.

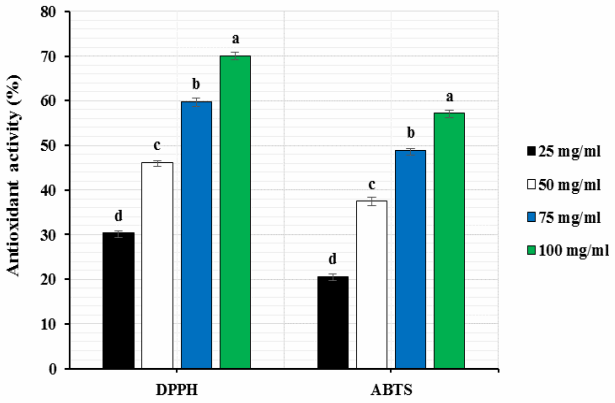

Fig 1 Antioxidant activity of *Lawsonia inermis* aqueous extract based on DPPH- and ABTS-radical scavenging methods.

همانطور که مشاهده می‌شود در هر دو روش، افزایش غلظت عصاره به طور معنی‌داری سبب افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود. به گونه‌ای که میزان فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر برابر با ۳۰/٤۰ درصد و در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر برابر با ۷۰/۱۰ درصد بود. همچنین میزان مهار رادیکال آزاد ABTS در غلظت‌های ۲۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به ترتیب ۲۰/٦۲ درصد و ۵۷/۱۵ درصد به دست آمد. ترکیبات فیتوشیمیایی مانند ترکیبات فنولی که در گیاهان یافت می‌شود، نقش مهمی در ایجاد خاصیت آنتی‌اکسیدانی و سلامتی بخشی ایجاد می‌کنند [۲۰]. از این رو، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالای عصاره آبی حنا را می‌توان به مقادیر بالای فنول آن نسبت داد [۲۱]. پسندی پور و فرح بخش (۲۰۲۰) در بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی برگ حنای جمع‌آوری شده از مناطق مختلف، ضمن تأکید بر تأثیر غلظت عصاره و اکوتیپ گیاه در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی گزارش کردند که افزایش غلظت عصاره سبب افزایش خاصیت

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-15]

[DOI: 10.52547/fsct.18.116.327]

آنتی‌اکسیدانی می‌شود [۲۲]. همچنین گزارش شده است که عصاره‌های آبی و متانولی حنا به طور قابل‌توجهی قادر به مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS می‌باشد [۲۳].

۳-۳- فعالیت ضدمیکروبی عصاره

نتایج خاصیت ضدمیکروبی به روش دیسک دیفیوژن در شکل ۲ نشان داده شده است. مشاهده می‌شود که در ۲ باکتری *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* افزایش غلظت به طور معنی‌داری سبب افزایش قطر هاله‌های عدم رشد می‌شود. در حالی که در ۲ باکتری *اشرشیا کلی* و *لیستریا اینوکوا* بین غلظت‌های ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و ۷۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، در حالی که این غلظت‌ها با غلظت‌های ۲۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره اختلاف معنی‌داری نشان دادند. به طوری که باکتری *اشرشیا کلی* با کمترین قطر هاله عدم رشد در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر مقاوم‌ترین باکتری و باکتری *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* با بیشترین قطر هاله عدم رشد در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر حساس‌ترین باکتری بود.

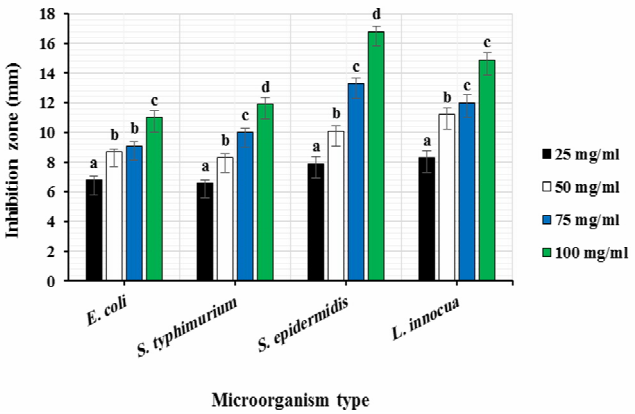

Fig 2 Antimicrobial activity of *Lawsonia inermis* aqueous extract based on disc diffusion method.

در روش چاهک آگار (شکل ۳) افزایش غلظت عصاره به طور معنی‌داری سبب افزایش قطر هاله عدم رشد در تمامی باکتری‌ها شد.به گونه‌ای که کمترین قطر هاله در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در باکتری *اشرشیا کلی* و بیشترین مقدار آن در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در باکتری *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* مشاهده شد.

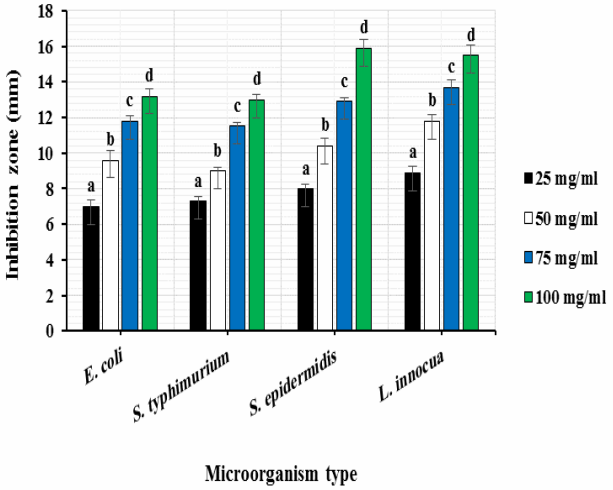

Fig 3 Antimicrobial activity of *Lawsonia inermis* aqueous extract based on well diffusion method.

همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده است، کمترین غلظت مهارکنندگی (۶/۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) در باکتری *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و بیشترین غلظت مهارکنندگی (۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) در باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی‌موریوم* مشاهده شد. حداقل غلظت کشندگی (جدول ۱) برای باکتری‌های *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *لیستریا اینوکوا* برابر با ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و برای باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی‌موریوم* برابر با ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود.

Table 1 Minimum inhibitory and bactericidal concentrations of *Lawsonia inermis* aqueous extract against some pathogenic bacterial species.

Microorganism type	Minimum inhibitory concentration (mg/ml)	Minimum bactericidal concentration (mg/ml)
E. coli	25	200
S. typhimurium	25	200
S. epidermidis	6.25	100
L. innocua	12.5	100

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-15]

[DOI: 10.52547/fsct.18.116.327]

اثر ضدمیکروبی عصاره‌های گیاهی را می‌توان به ترکیبات زیست فعال موجود در آن‌ها نسبت داد. این ترکیبات قادر به اتصال به سطح سلولی و نفوذ به لایه‌های فسفولیپیدی غشای سلولی می‌باشند. ازدیاد و انباشته شدن این ترکیبات در سلول منجر به اختلال در یکپارچگی سلول و به دنبال آن تأثیر بر متابولیسم و در نهایت مرگ سلول می‌شود [۲٤]. در مطالعات مختلف اثر ضدمیکروبی عصاره‌های تولیدی با حلال‌های گوناگون مورد بررسی قرار گرفته است. به عنوان مثال، راجا و همکاران (۲۰۱۳)، در بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره متانولی برگ گیاه حنا به روش دیسک دیفیوژن، وجود ترکیبات زیست فعال مختلف از جمله فلاونوئیدها را عامل فعالیت ضدمیکروبی این عصاره بیان کردند [۲۵]. در پژوهش دیگری، خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های آبی، متانولی و استونی و کلروفورمی برگ گیاه حنا بر تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زا از جمله *اشرشیا کلی*، *سالمونلا*، *کلبسیلا* و *شیگلا سونی* مورد بررسی قرار گرفت و گزارش گردید که تمامی عصاره‌ها دارای اثر ضدمیکروبی بر روی تمام باکتری‌های مورد مطالعه می‌باشند [۲٦]. سادابی (۲۰۰۷) با تأکید بر خاصیت بیشتر عصاره آبی برگ حنا در مقایسه با عصاره‌های متانولی و کلروفورمی بیان کردند که افزایش غلظت عصاره‌ها در جلوگیری بیشتر از رشد میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه مؤثرتر می‌باشد [۲۷]. لازم به ذکر است که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به انواع گرم منفی نسبت به عصاره آبی حنا حساسیت بالاتری نشان دادند که این اختلاف ناشی از تفاوت در دیواره سلولی این میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. بطوریکه غشای بیرونی باکتری‌های گرم منفی شامل ساختارهای لیپوپلی‌ساکاریدی پیچیده‌ای است که سبب کاهش سرعت نفوذ ترکیبات ضدمیکروبی به داخل سلول می‌گردد. در حالیکه باکتری‌های گرم مثبت دارای لایه موکوپپتیدی ساده و نفوذپذیری می‌باشند که سبب حساسیت بیشتر این باکتری‌ها به مواد ضدمیکروبی می‌گردد [۸].

٤- نتیجه‌گیری

در این مطالعه خاصیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی برگ حنا نشان داده شد. در روش‌های مختلف ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی مشخص گردید که با افزایش غلظت عصاره خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابد. اگرچه اثر ضدمیکروبی عصاره بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *لیستریا اینوکوا* بیشتر از باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی‌موریوم* بود اما با توجه به خاصیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی بالای عصاره می‌توان از این ترکیب طبیعی جهت جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا استفاده کرد.

٥- تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان جهت حمایت مالی طرح پژوهشی شماره ۹۹۱/۲۷ که این مقاله مستخرج از آن می‌باشد تشکر و قدردانی می‌نمایند.

٦- منابع

[1] Mohammadi, M., Cheleh Mal Dezfooli Nezhad, M. and Mesbah, M., 2018. The Effect of Ethanolic Extract of *Lawsonia inermis* on the Hematological Parameters in *Cyprinus carpio*. *Journal of Animal Biology, 10 (3)*, pp.55-63.

[2] Behdani, M., Ghazvini, K., Mohammadzadeh, A. and Sadeghian, A., 2009. Antibacterial activity of Henna extracts against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Quarterly of Horizon of Medical Sciences, 15 (2)*, pp. 46-52.

[3] Duffy, C.F. and Power, R.F., 2001. Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts. *International journal of antimicrobial agents*, *17* (6), pp.527-529.

[4] Shiravi, A. Alebooyeh, M., Hojati, V. and Akbari, H., 2011. The Effect of Extract of Henna Leaves (*Lawsonia inermis*) on Skin Wound Healing in Wistar Rats. *Journal of Animal Biology*, *3 (4)*, pp.45-51.

[5] Madanifar, N., Khayatzade, J., Balanezhad, S. and Tehranipour, M., 2014. The effects of henna leaf alcoholic extract on angiogenesis of chorioallantoic membrane and some embryonic morphological abnormalities of chick embryos. *Journal of Shahrekord*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-15]

[DOI: 10.52547/fsct.18.116.327]

[6] Rastegari, S., Alichi, M., Samih, M.A., Minaei, K. and Saharkhiz, J., 2016. Toxicity effect of henna, *Lawsonia inermis* L. and madder *Rubia tinctorum* L. extracts on *Rhopalosiphum padi* L. versus pesticidal effect of pirimicarb and imidacloprid. *Journal of Plant Protection, 38 (4)*, pp.55-66.

[7] Mirei, Z S., Sadri, M. and Salimi, A., 2016. Investigation of antimicrobial activity of polymeric nanofibers using henna additive. *Nova Biologica Reperta*, *3 (3)*, pp.210-217.

[8] Noshad, M., Alizadeh Behbahani, B. and Dehghani, S., 2020. Evaluation of the effect of aqueous and ethanolic extraction methods on extraction yield, phenolic compounds, and antioxidant and antimicrobial activity of *Stachys schtschegleevii* extract. *Food Science and Technology, 17 (3)*, pp.117-125.

[9] Alizadeh Behbahani, B., Falah, F., Lavi Arab, F., Vasiee, M. and Tabatabaee Yazdi, F., 2020. Chemical composition and antioxidant, antimicrobial, and antiproliferative activities of *Cinnamomum zeylanicum* bark essential oil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2020*, pp. 1-8.

[10] Barzegar, H., Behbahani, B.A. and Mehrnia, M.A., 2020. Quality retention and shelf life extension of fresh beef using *Lepidium sativum* seed mucilage-based edible coating containing *Heracleum lasiopetalum* essential oil: an experimental and modeling study. *Food Science and Biotechnology*, *29*(5), pp.717-728.

[11] Noshad, M., Alizadeh Behbahani, B., Jooyandeh, H., Rahmati-Joneidabad, M., Hemmati Kaykha, M.E. and Ghodsi Sheikhjan, M., 2021. Utilization of Plantago major seed mucilage containing *Citrus limon* essential oil as an edible coating to improve shelf-life of buffalo meat under refrigeration conditions. *Food Science & Nutrition*, *9*(3), pp.1625-1639.

[12] Tanavar, H., Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B. and Mehrnia, M.A., 2020. *Mentha pulegium* essential oil: chemical composition, total phenolic and its cytotoxicity on cell line HT29. *Iranian Food Science and Technology Research Journal, 16 (5)*, pp. 643-653.

[13] Hojjati, M. and Alizadeh Behbahani, B., 2020. Evaluation of the effect of aqueous and methanolic extraction methods on the antioxidant and antimicrobial characteristics of *Allium jesdianum* extract: in vitro study. *Iranian Food Science and Technology Research Journal, 17 (1)*, pp. 83-91.

[14] Noshad, M., Hojjati, M. and Behbahani, B.A., 2018. Black Zira essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some pathogenic strain causing infection. *Microbial pathogenesis*, *116*, pp.153-157.

[15] Kiarsi, Z., Hojjati, M., Behbahani, B.A. and Noshad, M., 2020. In vitro antimicrobial effects of *Myristica fragrans* essential oil on foodborne pathogens and its influence on beef quality during refrigerated storage. *Journal of Food Safety*, *40*(3), p.e12782.

[16] Behbahani, B.A., Noshad, M. and Falah, F., 2019. Cumin essential oil: Phytochemical analysis, antimicrobial activity and investigation of its mechanism of action through scanning electron microscopy. *Microbial pathogenesis*, *136*, 103716.

[17] Philip, J.P., Madhumitha, G. and Mary, S.A., 2011. Free radical scavenging and reducing power of *Lawsonia inermis* L. seeds. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, *4*(6), pp.457-461.

[18] Hosein, H.K.M. and Zinab, D., 2007. Phenolic compounds and antioxidant activity of henna leaves extracts (*Lawsonia inermis*). *World Journal of Dairy & Food Sciences*, *2*(1), pp.38-41.

[19] Noshad, M., Alizadeh Behbahani, B., Dehghani, S., 2020. Improving oxidative and microbial stability of beef by using a bioactive edible coating obtained from Barhang-e-Sagheerseed mucilage and loaded with Avishan-e-Baghi. *Food Science and Technology*, *17*(4), pp. 1-13.

[20] Hsouna, A.B., Trigui, M., Culioli, G., Blache, Y. and Jaoua, S., 2011. Antioxidant constituents from *Lawsonia inermis* leaves: Isolation, structure elucidation and antioxidative capacity. *Food Chemistry*, *125*(1), pp.193-200.

[21] Uma, D.B., Ho, C.W. and Wan Aida, W.M., 2010. Optimization of extraction parameters of total phenolic compounds from *University of Medical Sciences*, *16 (4)*, pp.100-109.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-15]

[DOI: 10.52547/fsct.18.116.327]

henna (*Lawsonia inermis*) leaves. *Sains Malaysiana*, *39*(1), pp.119-128.

[22] Pasandi Pour, A. and Farahbakhsh, H., 2020. *Lawsonia inermis* L. leaves aqueous extract as a natural antioxidant and antibacterial product. *Natural product research*, *34*(23), pp.3399-3403.

[23] Guha, G., Rajkumar, V., Kumar, R.A. and Mathew, L., 2011. Antioxidant activity of *Lawsonia inermis* extracts inhibits chromium (VI)-induced cellular and DNA toxicity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2011*.

[24] Shahidi, F., Yazdi, F.T., Roshanak, S., Behbahani, B.A., Norouzi, N. and Vasiee, A., 2019. Antimicrobial Activity of *Lepidium draba* Extract on some Pathogenic Microorganisms "in vitro". *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine, 24*(85), pp.1-9.

[25] Raja, W., Ovais, M. and Dubey, A., 2013. Phytochemical screening and antibacterial activity of *Lawsonia inermis* leaf extract. *medicine*, *6*(8).

[26] Gull, I., Sohail, M., Aslam, M.S. and Athar, M.A., 2013. Phytochemical, toxicological and antimicrobial evaluation of *Lawsonia inermis* extracts against clinical isolates of pathogenic bacteria. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, *12*(1), pp.1-6.

[27] Saadabi, M. A. (2007). Evaluation of *Lawsonia inermis* Linn.(Sudanese henna) leaf extracts as an antimicrobial agent. *Research Journal of Biological Sciences*, *2*(4), 419-423.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-15]

[DOI: 10.52547/fsct.18.116.327]

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Evaluation of total phenol and flavonoid contents, antioxidant and antimicrobial activity of *Lawsonia inermis* aqueous extract against some Gram- positive and Gram- negative bacteria

Barzegar, H.[1*], Alizadeh Behbahani, B. [2], Noshad, M. [2]

1. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
2. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

ARTICIE INFO

Article History:

Received 2021/ 04/ 17
Accepted 2021/ 05/ 26

Keywords:

Lawsonia inermis leaf,
Aqueous extract,
Antimicrobial property,
Antioxidant property,
Bioactive compounds.

DOI: 10.52547/fsct.18.116.327

*Corresponding Author E-Mail:
hbarzegar@asnrukh.ac.ir

ABSTRACT

The toxic effects of synthetic antimicrobial and antioxidants compounds have led to an increase in the use of natural types, such as plant extracts. In this study, the antimicrobial effect of *Lawsonia inermis* aqueous extract was investigated against *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus epidermidis*, and *Listeria innocua*, by disc diffusion agar, well diffusion agar, minimum inhibitory concentration, and minimum bactericidal concentration methods. The higher concentrations of the extract showed higher antimicrobial effects against *S. epidermidis* and *L. innocua* compared to *E. coli* and *S. typhimurium*. Moreover, the total phenolic and flavonoids contents of the extract were 59.45±1.12 mg gallic acid per gram of extract and 40.35±0.70 mg quercetin per gram of extract, respectively. The antioxidant properties of aqueous extract were measured based on the DPPH and ABTS free radical scavenging activities. It was found that the antioxidant activity increased significantly as a function of *L. inermis* aqueous extract concentration. The antimicrobial and antioxidant properties of *L. inermis* leaf aqueous extract could make it a natural bioactive compound to be used.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-15]

[DOI: 10.52547/fsct.18.116.327]