مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی اثر روش استخراج با حلال‌های آب و اتانول بر ویژگی‌های ضداکسایشی و ضدمیکروبی عصاره برگ به‌لیمو

محمد نوشاد[1*]، بهروز علیزاده بهبهانی[1]

۱. 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: ۱۴۰۰/۰۴/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۱۶

کلمات کلیدی:

به‌لیمو،

عصاره اتانولی و آبی،

اثر ضدمیکروبی،

فعالیت آنتی‌اکسیدانی،

ترکیب زیست فعال.

DOI: 10.52547/fsct.18.09.23

* مسئول مکاتبات:

noshad@asnrukh.ac.ir

چکیده

در این مطالعه، عصاره‌های آبی و اتانولی برگ به‌لیمو به کمک روش ماسراسیون استخراج گردید. محتوای فنول کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (بر پایه مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS و احیای آهن به روش FRAP) و ظرفیت ضدمیکروبی (بر اساس روش‌های دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی) عصاره‌ها در شرایط برون‌تنی بررسی شد. محتوای فنول کل (به ترتیب ۷۲/۵۵ mg GAE/g و ۶۰/۳۲) و فلاونوئید کل (به ترتیب ۴۰/۵ mg QE/g و ۳۲/۲۵) عصاره اتانولی بالاتر از عصاره آبی بود. نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد که عصاره اتانولی کارایی بهتری در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH (۴۵/۴ mg/ml در برابر ۵۲/۵mg/ml) و ABTS (۴۱/۴۸ mg/ml در برابر ۴۷/۶۵ mg/ml) و ظرفیت احیاء کنندگی (۱۵/۱ µmol Fe/g در برابر ۱۲/۲ µmol Fe/g) در مقایسه با عصاره آبی دارد. نتایج اثر ضدمیکروبی بر میکروارگانیسم‌های پاتوژن (*اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استرپتوکوکوس پیوژنز* و *کاندیدا آلبیکنس*) نشان داد که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به انواع گرم منفی در برابر عصاره برگ به‌لیمو حساس‌تر می‌باشند و اثر عصاره اتانولی بارزتر بود. مطابق نتایج، عصاره آبی و اتانولی برگ به‌لیمو را می‌توان بعنوان عامل نگهدارنده طبیعی و به منظور کنترل فرایند اکسیداسیون و رشد میکروارگانیسم‌های پاتوژن معرفی نمود.

۱- مقدمه

به طور کلی، آلودگی و فساد غذایی ایجاد شده توسط میکروارگانیسم‌ها بر روی بسیاری از محصولات غذایی اثر داشته و منجر به نابودی آن‌ها می‌شود. تخمین زده شده است که سالیانه حدود ٤ درصد از محصولات غذایی به دلیل عوامل مختلفی از جمله آلودگی توسط میکروارگانیسم‌ها به هدر می‌رود. باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌ها از رایج‌ترین میکروارگانیسم‌های عامل آلودگی مواد غذایی می‌باشند که ترکیبات مغذی و متابولیت‌های تولیدی را مورد استفاده قرار داده و منجر به ایجاد مسمومیت غذایی می‌شوند [۱]. محافظت از مواد غذایی در برابر عوامل فسادزا و اثرات ناشی از آن‌ها از زمان گذشته با استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی انجام می‌گرفته است. برخلاف اثرات بالقوه این ترکیبات در نگهداری محصولات غذایی و کنترل بیماری‌های ناشی از مسمومیت غذای، استفاده مداوم از ترکیبات شیمیایی سبب تجمع آن‌ها در مواد غذایی، افزایش مقاومت به این مواد و اثر روی سلامتی انسان شده است. به دلیل این نگرانی‌ها، تلاش جهت گسترش نگهدارنده‌های غذایی مؤثر، ایمن و طبیعی افزایش یافته است [۲]. اثرات ضد میکروبی عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی برای به تأخیر انداختن این فرآیند از طریق ظهور مواد ضد میکروبی جدید و وجود ترکیبات فنولی موجود در آن‌ها به عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی قوی در جلوگیری از بسیاری از بیماری‌ها در نظر گرفته شده است [۳].

گیاه به‌لیمو با نام علمی *Lippia citriodora* متعلق به خانواده *Verbenaceae*، درختچه‌ای با ارتفاع ۲- ۱/۵ متر، دارای ساقه‌های بلند، منشعب و زاویه‌دار و برگ‌هایی ساده، کامل، خشن و به رنگ سبز روشن می‌باشد. گیاه به‌لیمو بومی آمریکای جنوبی بوده و در کشورهایی مانند شیلی، پرو و آرژانتین یافت می‌شود. علاوه بر این، سایر کشورها مانند کشورهای اروپایی و ایران نیز این گیاه را کشت داده یا وارد می‌کنند [٤]. برگ‌های این گیاه در اواخر تابستان جمع‌آوری شده و پودر معطر، تند، کمی تلخ و مانند بوی لیمو است. برگ‌های گیاه به‌لیمو دارای خواص درمانی بوده و از زمان‌های گذشته در طب سنتی کشورهای اروپایی و آمریکای جنوبی مورد استفاده قرار می‌گرفته است [۵]. این گیاه جهت درمان بیماری‌هایی مانند سرگیجه، تپش قلب، نفخ و سوءهاضمه، سردرد و تب و همچنین به عنوان شل کننده عضلات شکم و تسکین‌دهنده دردهای عصبی استفاده می‌شود. امروزه نقش مؤثر این گیاه در کنترل جهش‌ها و همچنین به عنوان آنتی‌اکسیدان به شدت مورد توجه قرار گرفته است [٦]. گیاه به‌لیمو سرشار از ترکیبات فلاونوئیدی بوده و به دلیل عطری که دارد، به عنوان ادویه در صنایع غذایی استفاده می‌شود و اسانس آن دارای خاصیت باکتری‌کشی و حشره‌کشی می‌باشد [۷]. به دلیل وجود متابولیت‌های مختلف در گیاه به‌لیمو در مطالعات مختلف اثرات ضد میکروبی آن مورد بررسی قرار گرفته است. قائمی و همکاران (۱۳۸۵) در بررسی اثر ضد میکروبی عصاره الکی گیاه به‌لیمو بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* مشاهده کردند که استفاده از پماد تولید شده از عصاره اتانولی می‌تواند در به تأخیر انداختن عفونت حاصل از این باکتری در محل آلودگی مؤثر باشد [٦]. غلامحسین‌پور و همکاران (۱۳۹٦) از امولسیون-های غذایی تیمار شده با غلظت‌های مختلف اسانس و عصاره آبی- الکلی جهت بررسی فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی گیاه به‌لیمو استفاده کردند. نتایج این پژوهش نشان داد که اسانس و عصاره گیاهی محصولات اکسایشی و تعداد کل میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه (*باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیا کلی* و *لیستریا مونوسیتوژنز*) را طی ۸ روز نگهداری کاهش دادند [۷]. در مطالعه دیگری، اثر ضدمیکروبی غلظت‌های مختلف اسانس گیاه به‌لیمو بررسی و مشخص گردید که *لیستریا مونوسیتوژنز*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *ساکارومایسس سرویزیه* و *آسپرژیلوس نایجر* از حساس‌ترین میکروارگانیسم‌ها به اسانس این گیاه می‌باشند [۸].

با توجه به خواص درمانی و اثرات ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی گیاه به‌لیمو هدف از این پژوهش تهیه عصاره آبی و اتانولی این گیاه و بررسی میزان فنول کل، فلاونوئید کل، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی این عصاره‌ها می‌باشد.

۲- مواد و روش

۲-۱- مواد شیمیایی و سویه‌های میکروبی

محلول تری‌فنل‌تترازولیوم، محیط‌های کشت مولر هینتون آگار، مولر هینتون براث، سابروز دکستروز آگار و سابروز دکستروز براث و دیسک بلانک از شرکت مرک (آلمان)، محلول کوئرستین، معرف فولین- سیوکالچو، محلول ABTS و محلول DPPH از شرکت سیگما (آمریکا) و اتانول ۹۶ درصد از شرکت صنایع شیمیایی غدیر (ایران) تهیه شدند. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده از درجه آزمایشگاهی برخوردار بودند.

میکروارگانیسم‌های مورد استفاده شامل *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استرپتوکوکوس پیوژنز* و *کاندیدا آلبیکنس* از کلکسیون میکروبی گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان تهیه گردید.

۲-۲- تهیه عصاره آبی و اتانولی

از روش خیساندن جهت تهیه عصاره‌های آبی و اتانولی استفاده گردید. ۵۰ گرم از برگ‌های خشک شده و پودر شده برگ به‌لیمو به ۲۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد یا آب مقطر اضافه شد. عصاره اتانولی به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری شد و هر چند ساعت یکبار با یک میله شیشه‌ای همزده می‌شد. مایع رویی حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. حجم حاصل از عصاره (مایع رویی) با اتانول یا آب مقطر به مقدار اولیه رسید. سپس نمونه‌ها پس از فیلتر شدن با کاغذ صافی واتمن (۰/۴۵ میکرومتر) در ظروف تیره و در دمای یخچال نگهداری شدند [۹].

۲-۳- تعیین میزان فنول کل

میزان فنول کل عصاره‌های آبی و اتانولی برگ به‌لیمو با استفاده از معرف فولین- سیوکالچو طبق روش بهبهانی و همکاران (۲۰۲۰) اندازه‌گیری شد. بدین منظور، ۲۰ میکرولیتر از هر یک از عصاره‌ها به ۱۱۰ میکرولیتر معرف فولین- سیوکالچو تازه (۱۰ مرتبه رقیق شده) اضافه شد. پس از آن ۷۰ میکرولیتر محلول سدیم کربنات به آن‌ها اضافه گردید. پس از گذشت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق، جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۷۶۰ نانومتر ثبت شد. از گالیک اسید (۰/۶-۱ mg/ml) جهت تهیه نمودار استاندارد استفاده و مقدار فنول کل بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره (mg GAE/g) گزارش شد [۱۰].

۲-۴- تعیین میزان فلاونوئید کل

جهت اندازه‌گیری فلاونوئید کل ۰/۱ میلی‌لیتر از هر یک از عصاره‌های آبی و اتانولی (۰/۱ mg/ml) یا کوئرستین (۰/۵ -۰ mg/ml) به محلول نیتریت سدیم (۰/۳ میلی‌لیتر؛ ۵ درصد) اضافه شد. سپس محلول تولیدی به مدت ۵ دقیقه همزده شد و ۰/۳ میلی‌لیتر آلومینیوم تری کلراید (۱۰ درصد وزنی/حجمی) به آن اضافه و به مدت ۶ دقیقه دیگر همزده شد. پس از اضافه کردن ۲ میلی‌لیتر سود ۱ مولار به آن‌ها، جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان فلاونوئید کل بر اساس میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره (mg QE/g) محاسبه و گزارش گردید [۱۱].

۲-۵- اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و اتانولی برگ به‌لیمو با استفاده از روش‌های مهار رادیکال آزاد DPPH، مهار رادیکال آزاد ABTS و قدرت احیاء کنندگی آهن فریک[1] (FRAP) بررسی گردید.

۲-۵-۱- اندازه‌گیری مهار رادیکال آزاد DPPH

در این روش، ۱ میلی‌لیتر عصاره آبی و اتانولی با ۱ میلی‌لیتر محلول DPPH (۰/۲ میلی‌مولار در اتانول ۹۵ درصد) مخلوط گردید. نمونه‌ها مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در مکانی تاریک نگهداری شدند. در نمونه کنترل از آب مقطر به جای نمونه استفاده شد. در انتها، جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه به‌لیمو با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید [۱۲]:

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

نتایج آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH بر حسب IC_{50} گزارش گردید.

1. Ferric reducing antioxidant power

۲-۵-۲- اندازه‌گیری مهار رادیکال آزاد ABTS

ابتدا رادیکال آزاد ABTS از طریق افزودن پتاسیم پرسولفات به محلول آبی ۰/۷ میلی‌مولار ABTS و رسیدن غلظت نهایی به ۲/٤٥ میلی‌مولار تهیه شد. محلول تولیدی به مدت ١٦ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی نگهداری شد. محلول رادیکالی ABTS توسط متانول تا رسیدن به جذب ۰/۷ در طول‌موج ۷۳٤ نانومتر رقیق شد. در مرحله بعد، ۳۰۰ میکرولیتر از هر یک از عصاره‌های آبی و اتانولی به ۳/۹ میلی‌لیتر از محلول رادیکال ABTS اضافه شد. پس از گذشت ۵ دقیقه جذب نمونه‌ها در ۷۳٤ نانومتر اندازه‌گیری گردید [۱۳]. در این روش نیز نتایج بر حسب IC_{50} گزارش شد.

۲-۵-۳- اندازه‌گیری قدرت احیاء کنندگی آهن فریک (FRAP)

به طور خلاصه ۱/۵ میلی‌لیتر معرف FRAP به ۲۰ میکرولیتر از هر یک عصاره‌های آبی و اتانولی اضافه شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از ٦ دقیقه جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد و نتایج بر حسب میکرومول آهن در گرم عصاره (µmol Fe/g) گزارش گردید [١٤].

۲-٦- اندازه‌گیری فعالیت ضد میکروبی

از روش‌های دیسک دیفیوژن، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی جهت اندازه‌گیری خاصیت ضدمیکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی استفاده شد.

۲-٦-۱- دیسک دیفیوژن آگار

پس از کشت یک لوپ از کشت استاندارد میکروارگانیسم‌ها بر روی محیط‌های کشت مولر هینتون آگار و سابروز دکستروز آگار، دیسک‌های کاغذی آغشته شده به غلظت‌های mg/ml ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ عصاره‌های آبی و اتانولی با استفاده از پنس استریل روی محیط‌های کشت تثبیت گردید. پس از گرمخانه‌گذاری پلیت‌های حاوی باکتری به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و پلیت‌های حاوی مخمر به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله‌های عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد [۱۵].

۲-٦-۲- انتشار چاهک در آگار

پس از ایجاد چاهک‌هایی با قطر ٦ میلی‌متر در پلیت‌های حاوی محیط‌های کشت مولر هینتون آگار (برای باکتری‌ها) و سابروز دکستروز آگار (برای مخمر) با استفاده از انتهای پیپت پاستور، سوسپانسیون‌های میکروبی با استفاده از میله L شکل در سطح محیط‌ها کشت داده شد. ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های تهیه شده در چاهک‌ها ریخته شد. پلیت‌های حاوی باکتری به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و پلیت‌های حاوی مخمر به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. در پایان زمان گرمخانه‌گذاری قطر هاله‌های عدم رشد اطراف چاهک‌ها بر حسب میلی‌متر با خط کش اندازه‌گیری گردید [١٦].

۲-٦-۳- حداقل غلظت مهارکنندگی

از عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه به‌لیمو توسط محیط‌های کشت مولر هینتون براث برای باکتری و سابروز دکستروز برای مخمر رقت‌های mg/ml ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ٤۰۰ تهیه گردید. پس از افزودن ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت در میکروپلیت‌های ۹٦ خانه‌ای، ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی به آن اضافه شد. از محیط کشت همراه با سوسپانسیون میکروبی فاقد عصاره به عنوان کنترل مثبت و از محیط کشت همراه با عصاره و فاقد سوسپانسیون میکروبی به عنوان کنترل منفی استفاده شد. میکروپلیت حاوی باکتری‌ها به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و میکروپلیت حاوی مخمر به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در مرحله بعد، به هر یک از چاهک‌ها معرف تری فنل تترازولیوم[2] (۵ mg/ml) اضافه و میکروپلیت‌ها مجدداً به مدت ۳۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری شدند. در پایان کمترین غلظتی که در آن هیچگونه تغییر رنگی مشاهده نشد، به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی گزارش شد [۱۷].

۲-٦-٤- حداقل غلظت کشندگی

جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره‌های آبی و اتانولی به‌لیمو، از چاهک‌های فاقد تغییر رنگ در آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی میزان ۱۰۰ میکرولیتر در پلیت‌های حاوی محیط‌های کشت مولر هینتون آگار و سابروز دکستروز آگار کشت داده شد.

2. Triphenyltetrazolium chloride

سپس پلیت‌های حاوی باکتری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و پلیت‌های حاوی مخمر به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. غلظت‌های فاقد رشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی گزارش شد [۱۸].

۲-۷- آنالیز آماری

نرم افزار SPSS (نسخه ۱۶) و آزمون واریانس یک طرفه جهت آنالیز داده‌های این پژوهش استفاده گردید. مقایسه‌ی میانگین نتایج با کمک آزمون دانکن و در سطح اطمینان ۹۵ درصد صورت پذیرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- محتوای فنول و فلاونوئید کل

عصاره اتانولی برگ به‌لیمو دارای میزان فنول کل (به ترتیب mg GAE/g ۷۲/۵۵ و ۶۰/۳۲) و فلاونوئید کل (به ترتیب mg QE/g ۴۰/۵ و ۳۲/۲۵) بالاتری در مقایسه با عصاره آبی بود (شکل ۱) که بازگوکننده اثر قابل‌توجه حلال اتانول در استخراج ترکیبات مؤثره و زیست فعال از برگ به‌لیمو می‌باشد. این اثر احتمالاً به ماهیت آبگریز ترکیبات فنولی گیاهان دارویی نسبت داده می‌شود که دارای ضریب نفوذ بالاتری در حلال‌های آلی از قبیل اتانول در مقایسه با آب می‌باشند [۱۹]. علاوه بر این، گزارش شده است که کارایی حلال‌های آلی نسبت به حلال‌های قطبی در استخراج اسیدهای فنولیک غیرقطبی و نیمه قطبی بالاتر است [۲۰] که در راستای نتایج مطالعه حاضر می‌باشد. مطابق با یافته‌های این پژوهش، نوشاد و همکاران (۱۳۹۹) گزارش نمودند که میزان فنول کل عصاره اتانولی پولک در مقایسه با عصاره آبی بالاتر می‌باشد [۲۱]. در مطالعه کومار و همکاران (۲۰۰۸) مشخص گردید که محتوای فنول کل عصاره آبی و اتانولی به‌لیمو به ترتیب mg GAE/g ۱۲ و ۵۳/۱ می‌باشد [۲۲]. میزان فنول کل بالاتر عصاره اتانولی به‌لیمو نسبت به عصاره آبی در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است [۲۳]. محتوای فلاونوئید کل عصاره آبی به‌لیمو در محدوده mg QE/g ۲-۸ در مطالعه‌ی الدین و همکاران (۲۰۱۵) نشان داده شده است[۲۴]. تفاوت در نتایج محتوای فنول و فلاونوئید کل در این مطالعه با سایر تحقیقات انجام گرفته در این مورد ناشی از شرایط مختلف آب و هوایی و جغرافیایی محل رشد گیاه، روش و شرایط مختلف استخراج عصاره و روش‌های مختلف اندازه‌گیری این ترکیبات می‌باشد [۱۳].

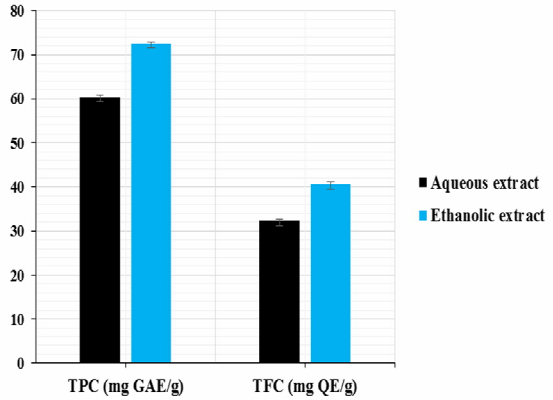

Fig 1 Total phenolic (TPC) and flavonoid (TFC) contents of ethanolic and aqueous extracts of *Lippia citriodora*.

۳-۲- فعالیت آنتی‌اکسیدانی

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و اتانولی برگ به‌لیمو در شکل ۲ نشان داده شده است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی بر حسب مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS و FRAP به ترتیب برابر با ۵۲/۵ ± ۰/۳۷ mg/ml، ۴۷/۶۵ ± ۰/۳۲ mg/ml و ۱۲/۲ ± ۰/۴۶ mol Fe/mg µ بود؛ در حالیکه فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی به ترتیب ۴۵/۴ ± ۰/۶۰ mg/ml، ۴۱/۴۸ ± ۰/۵ mg/ml و ۱۵/۱ ± ۰/۳۴ mol Fe/mg µ بدست آمد.

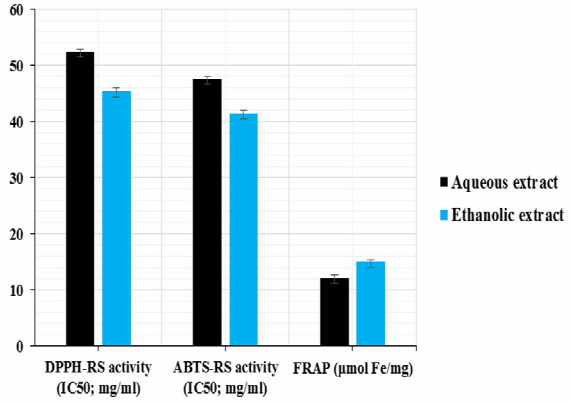

Fig 2 Antioxidant activity of ethanolic and aqueous extracts of *Lippia citriodora*.

همانطور که از نتایج مشخص است، عصاره اتانولی ظرفیت مهار رادیکال آزاد بالاتری نسبت به عصاره آبی نشان داد که در راستای نتایج میزان ترکیبات فنولی عصاره به‌لیمو می‌باشد (شکل ۱). همبستگی مثبت بین میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی در مطالعات مختلف به اثبات رسیده است [۲۱، ۲۵ و ۲۶]. با اینحال گزارش شده است که اگرچه حضور ترکیبات فنولی نقش مهمی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی ایفا می‌کنند، اما تنها عامل تعیین کننده نمی‌باشد. در این راستا، وجود سایر مولکول‌ها و اجزاء موجود در عصاره که ممکن است با کمک روش‌های مذکور تعیین نشده باشند، در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن نقش دارند. علاوه بر این، موقعیت قرارگیری گروه‌های هیدروکسیل، وجود پیوندهای دوگانه و ترکیب گروه‌های کتونی علاوه بر تعداد گروه‌های هیدروکسیل تشکیل‌دهنده ساختار آنتی‌اکسیدان بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن تأثیرگذار می‌باشند [۲۷ و ۲۸]. در راستای نتایج این پژوهش، گزارش شده است که عصاره‌های آلی به‌لیمو ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به عصاره آبی نشان می‌دهند [۲۳ و ۲۹]. لازم به ذکر است که رادیکال‌های آزاد گونه‌های بشدت واکنش‌پذیری هستند که براحتی با مولکول‌های موجود در سامانه‌های بیولوژیکی واکنش می‌دهند و اکثر ترکیبات حیاتی سلول‌ها مستعد تخریب توسط این ترکیبات می‌باشند؛ بطوریکه رادیکال‌های آزاد منجر به تخریب پروتئین، شکستن رشته‌های DNA و تسریع اکسیداسیون ترکیبات گوناگون می‌شوند [۱۰، ۳۰ و ۳۱]. با توجه به غنی بودن عصاره‌های آبی و اتانولی به‌لیمو از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجه، این عصاره‌های زیست فعال قابلیت استفاده بعنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدان طبیعی جهت خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از اکسیداسیون مواد غذایی غنی از اسیدهای چرب غیراشباع را دارا می‌باشند.

۳-۳- فعالیت ضدمیکروبی

نتایج میانگین قطر هاله‌های رشد در روش دیسک دیفیوژن در شکل ۳(a) نشان داده شده است. در غلظت ۲۵ mg/ml عصاره آبی در باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی* و در همین غلظت عصاره اتانولی در باکتری *سالمونلا تیفی* هیچگونه هاله عدم رشد مشاهده نشد. در سایر غلظت‌ها قطر هاله‌های ایجاد شده توسط عصاره‌های آبی و اتانولی برای تمامی میکروارگانیسم‌ها دارای اختلاف معنی‌داری با یکدیگر بودند. برای هر دو عصاره آبی و اتانولی کمترین میزان قطر هاله عدم رشد در باکتری‌های گرم منفی *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی* و بیشترین مقدار آن در باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* مشاهده شد که به ترتیب نشان دهنده مقاومت و حساسیت این باکتری‌ها می‌باشد.

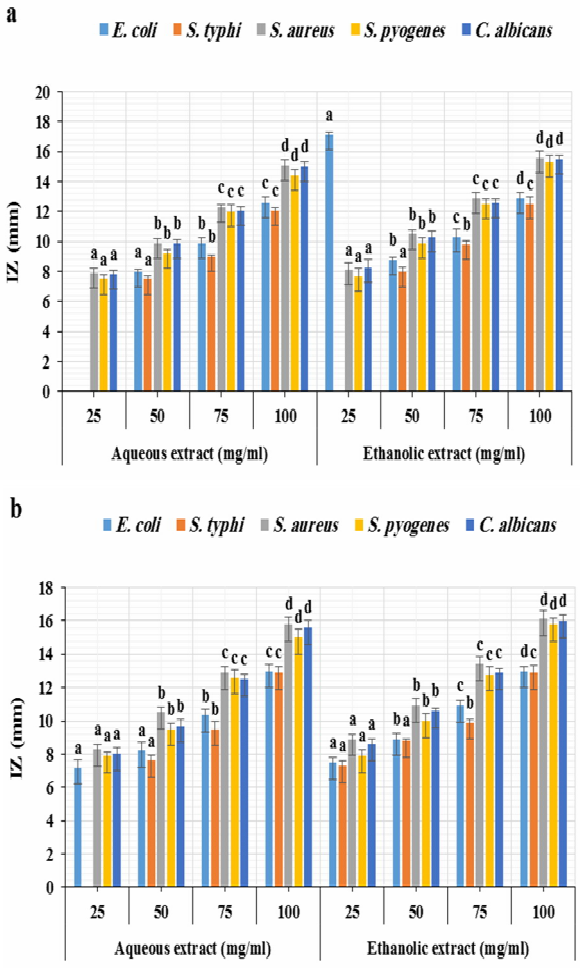

Fig 3 Antimicrobial effect (inhibition zone (IZ), mm) of ethanolic and aqueous extracts of *Lippia citriodora*, based on disc diffusion agar (a) and well diffusion agar (b).

با توجه به شکل ۳(b)، در روش ضد میکروبی چاهک آگار در غلظت ۲۵ mg/ml عصاره آبی در باکتری *سالمونلا تیفی* هاله عدم رشدی مشاهده نشد. قطر هاله‌های عدم رشد در باکتری

اشرشیا کلی در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ mg/ml عصاره آبی فاقد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر بودند، در حالی که در سایر غلظت‌ها اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. همچنین در باکتری *سالمونلا تیفی* در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ mg/ml عصاره اتانولی بین قطر هاله‌های عدم رشد ایجاد شده اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، در حالی که سایر غلظت‌ها دارای اختلاف معنی-داری بودند. در این روش نیز کمترین و بیشترین میزان قطر هاله عدم برای عصاره‌های آبی و اتانولی به ترتیب در باکتری‌های *اشرشیا کلی* – *سالمونلا تیفی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* مشاهده شد.

همانطور که مشاهده می‌شود در روش‌های دیسک دیفیوژن و چاهک آگار با افزایش غلظت عصاره خاصیت ضد میکروبی افزایش می‌یابد. در راستای این نتایج سورشجانی و همکاران (۲۰۱۴) با مطالعه اثر ضد میکروبی عصاره آبی و اتانولی کرفس کوهی گزارش کردند که افزایش غلظت عصاره‌ها سبب افزایش قطر هاله‌های عدم رشد در روش دیسک دیفیوژن می‌شود [۳۲]. در این پژوهش نیز مشابه بسیاری از مطالعات انجام شده اثر ضد میکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی در روش چاهک آگار بیشتر از روش دیسک دیفیوژن می‌باشد که علت این امر تماس مستقیم عصاره‌ها با میکروارگانیسم‌ها در روش چاهک آگار می‌باشد در حالی که در روش دیسک دیفیوژن عصاره پس از عبور از دیسک به سطح محیط کشت منتقل می‌شود و در نتیجه اثر ضد میکروبی کمتری را نشان خواهد داد [۱۷، ۳۳ و ۳۴].

جدول ۱ نشان می‌دهد که کمترین غلظت مهارکنندگی (mg/ml ۲۵) و کشندگی (mg/ml ۴۰۰ <) عصاره آبی مربوط به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و مخمر *کاندیدا آلبیکنس* می‌باشد. همچنین کمترین غلظت مهارکنندگی عصاره اتانولی برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* برابر با ۱۲/۵ mg/ml و حداقل غلظت کشندگی برابر با ۱۰۰ mg/ml می‌باشد.

Table 1 Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal/fungicidal (MBC/MFC) of *Lippia citriodora* aqueous and ethanolic extracts against pathogenic microorganisms.

MBC/MFC (mg/ml)	MIC (mg/ml)	Microorganism type	Extract type
> 400	100	*E. coli*	Aqueous
> 400	100	*S. typhi*	Aqueous
200	25	*S. aureus*	Aqueous
200	50	*S. pyogenes*	Aqueous
200	25	*C. albicans*	Aqueous
400	50	*E. coli*	Ethanolic
400	100	*S. typhi*	Ethanolic
100	12.5	*S. aureus*	Ethanolic
200	25	*S. pyogenes*	Ethanolic
200	25	*C. albicans*	Ethanolic

با توجه به نتایج آزمون‌های ضد میکروبی عصاره اتانولی گیاه به‌لیمو در مقایسه با عصاره آبی دارای فعالیت ضد میکروبی بیشتری می‌باشد. گزارش شده است که عصاره اتانولی گیاه مخلصه نیز خاصیت ضد میکروبی بیشتری در مقایسه با عصاره آبی آن دارد [۳۵]. اثر ضد میکروبی بیشتر عصاره اتانولی در مقایسه با عصاره آبی را می‌توان به مقادیر بیشتر ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره اتانولی نسبت داد. در بررسی اثر روش‌های مختلف استخراج اسانس بر میزان فعالیت ضدمیکروبی اسانس برگ به‌لیمو گزارش شده است که مستقل از روش استخراج، باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با انواع گرم منفی از حساسیت بیشتری برخوردار می‌باشند که علت این امر به دلیل عدم وجود غشای بیرونی در باکتری‌های گرم مثبت می‌باشد مقاومت بیشتر باکتری‌های گرم منفی به دلیل پیچیدگی غشای این باکتری‌ها در مقایسه با غشای گلیکوپروتئینی– اسید تایکوئیک باکتری‌های گرم مثبت می‌باشد. ترکیبات ضد میکروبی دیواره سلولی و غشای باکتری را تخریب کرده که منجر به خروج سیتوپلاسم و مرگ

سلول می‌شود [۵]. ترکیب عصاره با محیط و رشد قارچ در چنین محیطی منجر به جلوگیری از رشد میسیلیوم‌های قارچی می‌شود. کاهش قطر میسیلیوم‌های قارچی نوعی فعالیت ضد قارچی عصاره می‌باشد [۳۶].

نصیری و همکاران (۱۳۹۹) در بررسی اثر ضد میکروبی عصاره-های آبی، استونی و اتانولی برگ گیاه بهلیمو جمع‌آوری شده در گلستان بر روی *استرپتوکوکوس پیوژن*، *استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس*، *کلبسیلاپنومونیه* و *بروسلا ملی تنسیس* گزارش کردند که با افزایش غلظت عصاره‌ها خاصیت ضدمیکروبی افزایش می‌یابد و در بین عصاره‌های تهیه شده عصاره اتانولی به-لیمو دارای بیشترین فعالیت ضد ضدمیکروبی می‌باشد [۳۷]. در شناسایی ترکیبات شیمیایی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس گیاه بهلیمو رشد کرده در یونان مشخص گردید که میکروارگانیسم‌هایی مانند *لیستریا مونوسیتوژنز*، *استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *ساکارومایسس سروزیه* و *آسپرژیلوس نایجر* از حساس‌ترین میکروارگانیسم‌ها و *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *اشرشیا کلی* از مقاوم‌ترین باکتری‌ها به اسانس می-باشند [۸]. در مطالعه ۱۶ گیاه جمع‌آوری شده از مناطق مختلف یمن، موتانا و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که عصاره متانولی گیاه بهلیمو بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سوبتیلیس* و *میکروکوکوس فلاووس* دارای اثر ضد میکروبی بوده در حالی که در برابر باکتری‌هایی مانند اشرشیا کلی فاقد خاصیت ضد میکروبی می‌باشد [۲۹].

٤- نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره‌های آبی و اتانولی برگ بهلیمو منبع سرشاری از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی می‌باشند. بدلیل محتوای فنول و فلاونوئید کل بیشتر، عصاره اتانولی فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری نسبت به عصاره آبی نشان داد. علاوه بر این، فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی برگ بهلیمو در برابر میکروارگانیسم‌های پاتوژن به اثبات رسید و عصاره اتانولی در این مورد کارایی بالاتری داشت. باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با انواع گرم منفی نسبت به عصاره برگ بهلیمو حساس‌تر بودند و رشد آنها در حضور غلظت‌های کمتری از عصاره متوقف گردید. عصاره (آبی و اتانولی) برگ بهلیمو قابلیت استفاده بعنوان ترکیب زیست فعال و نگهدارنده طبیعی در صنعت غذا را دارا می‌باشد. با اینحال، مطالعات بیشتری جهت بررسی سازوکار فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره در شرایط درون تنی و برون‌تنی مورد نیاز است.

٥- تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

٦- منابع

[1] Gonelimali, F. D. Lin, J. Miao, W. Xuan, J. Charles, F. Chen, M. and Hatab, S. R. 2018. Antimicrobial properties and mechanism of action of some plant extracts against food pathogens and spoilage microorganisms. *Frontiers in microbiology*. 9: 1639.

[2] Mostafa, A. A. Al-Askar, A. A. Almaary, K. S. Dawoud, T. M. Sholkamy, E. N. and Bakri, M. M. 2018. Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 25(2): 361-366.

[3] Scur, M. C. Pinto, F. G. S. Pandini, J. A. Costa, W. F. Leite, C. W. and Temponi, L. G. 2016. Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil and different plant extracts of *Psidium cattleianum* Sabine. *Brazilian Journal of Biology*. 76(1): 101-108.

[4] Mojab, F. Javidnia, K. Zarghi, A. and Yamohammadi, M. 2002. Essential oil of *Lippia Citriodora* H.B.K. (Verbenaceae). *Journal of Medicinal Plants*. 1(4): 41-46.

[5] Golmakani, M. Ghassemi, A. Eskandari, M. and Niakosari, M. 2016. Effect of different microwave-extraction methods on active components and antimicrobial activities of *lemon verbena* essential oils. *Research and Innovation in Food Science and Technology*. 5(1): 105-118.

[6] Ghaemi, E. Khorshidi, D. Moradi, A. Seifi, A. Mazendrani, M. and Bazouri, M. 2006. The Efficacy of Ethanol Extract of *Lemon verbena* on the Skin Infection due to *Staphylococcus aureus* in an Animal Model. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*. 22(3): 242-249.

[7] Gholamhosseinpour, A. A. Hashemi, S. M. B. and Shokri, S. 2019. Studying the Effects of pH and Storage Time on Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oil and Extracts of *Lemon Verbena* (*Lippia citriodora*) in Model Food System. *Journal of Food Technology & Nutrition*. 16(1): 5-20.

[8] Fitsiou, E. Mitropoulou, G. Spyridopoulou, K. Vamvakias, M. Bardouki, H. Galanis, A. and Pappa, A. 2018. Chemical composition and evaluation of the biological properties of the essential oil of the dietary phytochemical *Lippia citriodora*. Molecules. 23(1): 123.

[9] Alizadeh, B. B. Tabatabaei, Y. F. Mortazavi, A. Zendeboodi, F. Gholian, M. M. and Vasiee, A. 2013. Effect of aqueous and ethanolic extract of *Eucalyptus camaldulensis* L. on food infection and intoxication microorganisms "in vitro". *Journal of Paramedical Sciences*. 4(3): 89-99.

[10] 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: 1-8.

[11] 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): 717-728.

[12] Barzegar, H. Mehrnia, M. A. and Behbahani, B. A. 2019. Determination of the chemical composition, antioxidant activity and the antimicrobial effect of *Heracleum Lasiopetalum* on infection and food poisoning microorganisms. *Journal of Applied Microbiology in food industry*. 4(4): 15-28.

[13] Sosani Gharibvand, Z. Alizadeh Behbahani, B. Noshad, M. and Jooyandeh, H. 2020. Investigation of the Functional Groups of Bioactive Compounds, Radical Scavenging Potential, Antimicrobial Activity and Cytotoxic Effect of *Callistemon Citrinus* Aqueous Extract on Cell Line HT29: A Laboratory Study. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*. 19(5): 463-484.

[14] Moradi, S. Razavi, S. H. and Vasiee, A. 2014. Antioxidant and antimicrobial activity of Thymus vulgaris L. on some pathogenic bacteria 'in vitro'. *Agricultural Advances*. 3(4): 124-130.

[15] Alizadeh Behbahani, B. Tabatabaei Yazdi, F. Heidari Sureshjani, M. Mortazav, A. and Tabatabaei Yazdi, F. 2014 Antimicrobial Effect of the Aqueous and Ethanolic *Satureja bachtiarica* Extracts " in vitro". *Iranian Journal of Infectious Diseases*. 19(64): 13-20

[16] Alizadeh Behbahani, B. and Shahidi, F. 2021. Evaluation of the antimicrobial effect of *Carum copticum* essential oil on some standard microbial strains, indices of infection and food poisoning: an in vitro study. *Food Science and Technology*. 18(2): 37-44.

[17] 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): 1-9.

[18] Ebrahimi, M. Jooyandeh, H. Alizadeh Behbahani, B. and Noshad, M. 2020. Antimicrobial potential of *Cordia myxa* fruit on pathogenic bacteria: A study "in vitro". *Food Science and Technology*. 17(4): 71-80.

[19] Ait-Ouazzou, A., Cherrat, L., Espina, L., Lorán, S., Rota, C. and Pagán, R. 2011. The antimicrobial activity of hydrophobic essential oil constituents acting alone or in combined processes of food preservation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 12(3): 320-329.

[20] Thippeswamy, N.B. and Naidu, K.A. 2005. Antioxidant potency of cumin varieties—cumin, black cumin and bitter cumin—on antioxidant systems. *European food research and technology*. 220(5-6): 472-476.

[21] 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*. 100(17): 117-125.

[22] Kumar, N. K. Kumar, K. S. Raman, B. Reddy, I. Ramarao, M. and Rajagopal, S. 2008. Antibacterial activity of *Lippia citriodora* a folklore plant. *JPAM. 2*(1): 249-252.

[23] Choupani, M. Arabshahi Delouee, S. and Alami, M. 2014. Antioxidant Properties of Various Solvent Extracts of *Lemon Verbena* (*Lippia Citriodora*) Leaves. *International journal of Advanced Biological and Biomedical Research*. 2(4): 1340-1346.

[24] Aldeen, M. G. N. Mansoor, R. and AlJoubbeh, M. 2015. Fluctuations of phenols and flavonoids in infusion of *lemon verbena* (*Lippia citriodora*) dried leaves during growth stages. *Nutrition & Food Science*. 45(5): 766-773.

[25] Alizadeh Behbahani, B. Shahidi, F. Tabatabaei Yazdi, F. Mortazavi, S.A. and Mohebbi, M. 2017. Use of Plantago major seed mucilage as a novel edible coating incorporated with *Anethum graveolens* essential oil on shelf life extension of beef in refrigerated storage. *International Journal of Biological Macromolecules*. 94: 515-526.

[26] Alizadeh Behbahani, B. Shahidi, F. Tabatabaei Yazdi, F. Mortazavi, S.A. and Mohebbi, M. 2017. Antioxidant activity and antimicrobial effect of tarragon (*Artemisia dracunculus*) extract and chemical composition of its essential oil. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 11: 847-863.

[27] Hojjati, M. and Alizadeh Behbahani, B. 2021. 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): 83-91.

[28] Tabatabaei Yazdi, F. Alizadeh Behbahani, B. Vasiee, A. Roshanak, S. and Mortazavi, A. 2017. Production of an antimicrobial edible coating based on Plantago major seed mucilage in combination with *Heracleum persicum* essential oil: its properties and application in beef. *Applied Microbiology in Food Industries*. 3(3): 1- 21.

[29] Mothana, R. A. Abdo, S. A. Hasson, S. Althawab, F. Alaghbari, S. A. and Lindequist, U. 2010. Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities and phytochemical screening of some yemeni medicinal plants. *Evidence-based Complementary and alternative medicine*. *7*(3): 323-330.

[30] Barzegar, H. Mehrnia, M.A. and Alizadeh Behbahani, B. 2018. Determination of the chemical composition, antioxidant activity and the antimicrobial effect of *Heracleum Lasiopetalum* on infection and food poisoning microorganisms. *Applied Microbiology in Food Industries*. 4(4): 15-28.

[31] Namazi, P. Barzegar, H. Alizadeh Behbahani, B. and Mehrnia, M.A. 2021. Evaluation of functional groups of bioactive compounds, antioxidant potential, total phenolic and total flavonoid content of red bell pepper extracts. *Food Science and Technology*. 113(18): 301-311.

[32] Sureshjani, M. H. Yazdi, F. T. Mortazavi, S. A. Behbahani, B. A. and Shahidi, F. 2014. Antimicrobial effects of *Kelussia odoratissima* extracts against food borne and food spoilage bacteria" in vitro". *Archives of Advances in Biosciences*. 5(2).

[33] Shahidi, F. Yazdi F, T. Roshanak, S. Behbahani, B.A. Vasiee, A. and Norouzi, N. 2019. Antimicrobial Activity of *Taraxacum pseudocalocephalum* Leaves Extract on Pathogenic Microorganisms and Comparison with Common Therapeutic Antibiotics in vitro. *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine*. 23(83): 37-46.

[34] Alizadeh, B. B. and Noshad, M. 2021. Evaluation of the minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of *Hyssopus officinalis* extract on a number of Gram-positive and Gram-negative bacteria: A study "in vitro". *Food Science and Technology* 18(1): 1-9.

[35] Behbahani, B. A. and Fooladi, A. A. I. 2018. Antibacterial activities, phytochemical analysis and chemical composition Makhlaseh extracts against the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection. *Microbial pathogenesis*. 114: 204-208.

[36] Raghavendra, T. P. K. H. 2017. Antifungal activity of *Helichrysum buddleioides* DC. against seed borne fungi. *EC Microbiology*. 6: 54-59.

[37] Nasiri Semnani, S. and Ghassempoor, N. 2020. Evaluation of the Antimicrobial Effect of *Lemon verbena* leaves Extracts on *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae* and *Brucella melitensis* in vitro and Animal Model Study. *Journal of Animal Physiology and Development*. 13(4): 87-98.

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Evaluation of the effect of aqueous and ethanolic extraction methods on the antioxidant and antimicrobial characteristics of *Lippia citriodora* extract

Noshad, M. [*1], Alizadeh Behbahani, B. [1]

1. 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.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2021/07/03
Accepted 2021/08/07

Keywords:

Lippia citriodora,
Ethanolic and aqueous extract,
Antimicrobial effect,
Antioxidant activity,
Bioactive compound.

DOI: 10.52547/fsct.18.09.23

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

ABSTRACT

In this study, aqueous and ethanolic extracts of *Lippia citriodora* were obtained by the Maceration method. The total phenol content, total flavonoid content, antioxidant activity (based on DPPH and ABTS free radical scavenging activity and FRAP methods) and antimicrobial effect (based on disc diffusion agar, well diffusion agar, minimum inhibitory concentration, and minimum bactericidal/fungicidal concentration) of the extracts were investigated. Total phenols (72.55 *vs*. 60.32 mg GAE/g) and flavonoid (40.5 *vs*. 32.25 mg QE/g) contents of the ethanolic extract were higher compared to the aqueous extract. Antioxidant activity results revealed that the ethanolic extract was more effective in scavenging DPPH free radicals (45.4 mg/ml *vs*. 52.5 mg/ml) and ABTS free radicals (41.48 mg/ml *vs*. 47.65 mg/ml) with a greater reducing power (15.1 µmol Fe/g *vs*. 12.2 µmol Fe/g) in comparison to the aqueous one. Antimicrobial effect of the extracts against pathogenic microorganisms (*Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, and *Candida albicans*) showed that Gram-positive organisms were generally more sensitive than the Gram-negative ones, and the antimicrobial activity was more pronounced in the presence of the ethanolic extract. Based on the results, the aqueous and ethanolic extracts of *L. citriodora* could be introduced as natural preservatives to control the oxidation reaction and the growth of pathogenic microorganisms.