مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

ارزیابی فنول و فلاونوئید کل، پتانسیل آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدمیکروبی عصاره مریم گلی تفتانی بر تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی در شرایط آزمایشگاهی

حسن برزگر[1*]، حسین جوینده[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-استاد، 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 /۱۲/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۲/۲۴

کلمات کلیدی:

گیاه مریم گلی تفتانی،

عصاره اتانولی،

خاصیت ضد میکروبی،

فعالیت آنتی‌اکسیدانی.

DOI: 10.22034/FSCT.19.125.195

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.19.8

* مسئول مکاتبات:

hbarzegar@asnrukh.ac.ir

چکیده

بیماری‌های ناشی از مصرف نگهدارنده‌های شیمیایی تمایل به استفاده از ترکیبات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی طبیعی را افزایش داده است. در این پژوهش، عصاره گیاه درمانی مریم گلی تفتانی با استفاده از حلال اتانول استخراج گردید. میزان فنول و فلاونوئید کل عصاره اتانولی به ترتیب برابر با ۳۶/۱۴ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره و ۱۷/۱۳ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره به دست آمد که نشان‌دهنده خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالای این عصاره بود. به گونه‌ای که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره بر اساس IC_{50} در روش مهار رادیکال آزاد DPPH و مهار رادیکال آزاد ABTS به ترتیب ۷۵/۳۲ و ۶۶/۶۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به دست آمد. ارزیابی خاصیت ضد میکروبی عصاره اتانولی گیاه مریم گلی تفتانی به روش‌های دیسک دیفیوژن آگار، انتشار چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی نشان داد که اگرچه اثر بخشی عصاره بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی است، بااین‌حال این گیاه می‌تواند به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در صنایع مختلف مورد استفاده قرار گیرد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-18]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.19.8]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.195]

۱- مقدمه

ایمنی مواد غذایی یک نگرانی عمده در زمینه افزایش جمعیت و کاهش منابع زمین است. غذا اغلب توسط باکتری‌ها، ویروس‌ها، قارچ‌ها و انگل‌ها آلوده می‌شود که باعث ایجاد بیماری‌هایی مختلفی در انسان می‌گردد [۱-۳]. پاتوژن های ناشی از مواد غذایی باعث میلیون‌ها مورد بیماری پراکنده و عوارض مزمن و همچنین شیوع گسترده و چالش برانگیز در بسیاری از کشورها می‌شوند. بزرگی این مشکل با نسبت قابل‌توجهی از ۱/۵ میلیارد دوره اسهالی سالانه در کودکان کمتر از ۳ سال که توسط میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای انتروپاتوژن ایجاد می‌شود، نشان داده می‌شود که منجر به بیش از ۳ میلیون مرگ در سال می‌شود [٤]. در حال حاضر، یک بحث جدی در مورد جنبه‌های ایمنی نگهدارنده‌های شیمیایی وجود دارد، زیرا آنها مسئول بسیاری از ویژگی‌های سرطان‌زایی و جهش‌زایی و همچنین سمیت باقی‌مانده‌های آنها هستند. به این دلایل، مصرف‌کنندگان به افزودنی‌های شیمیایی مشکوک می‌باشند و بنابراین تقاضا برای نگهدارنده‌های طبیعی و قابل قبول‌تر از نظر مصرف‌کننده تشدید شده است. کشف ضد میکروب‌های طبیعی برای نگهداری مواد غذایی به دلیل آگاهی مصرف‌کنندگان از محصولات غذایی طبیعی و نگرانی فزاینده مقاومت میکروبی نسبت به نگهدارنده‌های متداول توجه فزاینده‌ای را به خود جلب می‌کند [۵].

بسیاری از ادویه‌ها و گیاهان به دلیل دارا بودن اسانس و عصاره، فعالیت ضد میکروبی دارند. نیچاس (۱۹۹۵) فعالیت ضد میکروبی اسانس‌های پونه کوهی، آویشن، مریم گلی، رزماری، میخک، گشنیز، سیر و پیاز را علیه باکتری‌ها و کپک‌ها گزارش کرد [٦]. به نظر می‌رسد که اثر ضدمیکروبی اسانس‌ها و عصاره‌ها بر علیه میکروارگانیسم‌ها از مکانیسم‌های مختلفی پیروی می‌کند. اجزای فنولی موجود در اسانس‌ها/عصاره‌ها دارای فعالیت ضد میکروبی هستند و برخی از آنها به عنوان مواد ایمن طبقه‌بندی می‌شوند و بنابراین می‌توانند برای جلوگیری از رشد باکتری‌های بومی و آلاینده پس از برداشت استفاده شوند. اجزای فنولی اسانس‌ها، لایه فسفولیپیدی غشاء سلولی را حساس کرده و باعث افزایش نفوذپذیری و نشت مواد حیاتی داخل سلولی یا اختلال در سیستم‌های آنزیمی باکتریایی می‌شود [۵ و ۷].

گونه‌های متعددی از جنس مریم گلی از زمان‌های قدیم در طب سنتی مورد استفاده قرار گرفته‌اند و تحقیقات گسترده‌ای به منظور شناسایی ترکیبات زیست فعال آنها انجام شده است. مطالعات علمی روی گونه‌های مریم گلی نشان‌دهنده وجود بسیاری از ترکیبات متعلق به گروه‌های اسیدهای فنولیک، گلیکوزیدهای فنولیک، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، کومارین‌ها، پلی‌ساکاریدها، استرول‌ها، ترپنوئیدها و اسانس‌ها هستند [۸]. مریم گلی تفتانی (*Salvia rhytidea* Benth) یکی از گونه‌های بومی مریم گلی در استان کرمان است. این گیاه از خانواده *Lamiaceae* است. اعضای مختلف این خانواده دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضد باکتریایی، سیتوتوکسیک، ضد قارچی، ضد تومور و التیام‌بخش هستند [۹]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی و اثر ضد میکروبی سه عصاره متانولی، اتانولی و آبی مریم گلی تفتانی در رویشگاه‌های طبیعی کرمان و سیستان و بلوچستان توسط عزیزیان شرمه و حسن‌آبادی (۱٤۰۰) مورد بررسی قرار گرفته است [۱۰]. فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره این گیاه در مطالعات مختلف نشان داده شده است [۱۱و۱۲]. مطابق این مطالعات، عصاره مریم گلی می‌تواند کاندیدای مناسبی برای درمان بیماری‌های ناشی از استرس اکسیداتیو و بیماری‌های ناشی از میکروب‌های بیماری‌زا باشد.

بنابراین، این مطالعه با هدف استخراج عصاره اتانولی مریم گلی تفتانی و بررسی محتوای فنول/فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و اثر ضدمیکروبی آن در برابر باکتری‌های پاتوژن و عامل فساد در شرایط آزمایشگاهی صورت پذیرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد شیمایی

محلول کوئرستین، محلول DPPH، محلول ABTS و معرف فولین- سیوکالچو از شرکت سیگما (آمریکا) و محیط‌های کشت مولر هینتون آگار، مولر هینتون براث، محلول تری‌فنیل‌تترازولیوم و دیسک بلانک از شرکت مرک (آلمان) تهیه شدند.

۲-۲- سویه‌های میکروبی

از باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا اینوکوا* در این پژوهش استفاده شد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-18]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.19.8]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.195]

۲-۳- تهیه عصاره اتانولی

جهت تهیه عصاره اتانولی گیاه مریم گلی، ۱۰۰ گرم گیاه پودر شده به ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد اضافه و جهت استخراج عصاره به مدت ۷۲ ساعت در دمای محیط روی همزن قرار گرفت. در مرحله بعد محلول تولیدی از کاغذ صافی عبور داده شده و محلول به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. حلال اضافی به مدت یک ساعت در دستگاه تقطیر تحت خلأ تبخیر و عصاره تغلیظ گردید. در نهایت عصاره تولیدی در ظروف استریل در دمای یخچال نگهداری شد [۱۳].

۲-٤- اندازه‌گیری فنول کل

جهت اندازه‌گیری فنول کل عصاره تولیدی ، ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره به یک میلی‌لیتر معرف فولین- سیوکالچو (۱۰ درصد وزنی/وزنی) اضافه و به مدت ۵ دقیقه مخلوط گردید. سپس ۰/۳ میلی‌لیتر محلول سدیم کربنات (۱۰ درصد) به آن اضافه شد. پس از نگهداری نمونه به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق، جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۷٦۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. از غلظت‌های ۰-۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) گالیک اسید به عنوان استاندارد استفاده شد و میزان فنول کل بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره (mg GAE/g)گزارش گردید [۳].

۲-۵- اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل

با استفاده از روش رنگ سنجی آلومینیوم کلراید میزان فلاونوئید کل عصاره اتانولی گیاه مریم گلی بررسی گردید. بدین ترتیب که، ۵۰۰ میکرولیتر عصاره (۰/۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) با ۱۰۰ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلرید (۱۰ درصد)، ۱۰۰ میکرولیتر پتاسیم استات (۱ مولار) و ٤/۳ میلی-لیتر آب مقطر مخلوط شد. پس از نگهداری محلول به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق جذب نمونه در طول‌موج ٤۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. از کوئرستین به عنوان استاندارد استفاده و میزان فلاونوئید کل بر اساس میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره (mg QE/g) محاسبه گردید [١٤].

۲-٦- تعیین خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره

دو روش مهار رادیکال آزاد DPPH و مهار رادیکال آزاد ABTS به منظور تعیین خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی گیاه مریم گلی تفتانی مورد استفاده قرار گرفت و نتایج بر حسب IC_{50} گزارش گردید.

در روش اندازه‌گیری مهار رادیکال آزاد DPPH، یک میلی‌لیتر محلول DPPH (۰/۰۰٤ گرم DPPH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول) با ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره اتانولی مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در مکان تاریکی نگهداری شد. سپس جذب نمونه در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر ثبت گردید. فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH عصاره اتانولی با استفاده از فرمول زیر اندازه‌گیری شد [۱۵].

فعالیت مهارکنندگی DPPH (درصد) = $(A_{\text{شاهد}} - A_{\text{اسانس}} / A_{\text{شاهد}}) \times 100$

در روش مهار رادیکال آزاد ABTS، رادیکال آزاد ABTS با مخلوط کردن نسبت‌های یکسانی از ABTS ۰/۷ میلی‌مولار و پرسولفات پتاسیم ۲/٤۵ میلی‌مولار و نگهداری آن در دمای محیط به مدت ١٦ ساعت تهیه گردید. محلول رادیکالی ABTS تولید شده با استفاده از متانول تا رسیدن به جذب ۰/۷ در طول‌موج ۷۳٤ نانومتر رقیق گردید. سپس، ۱/۰ میلی-لیتر عصاره اتانولی گیاه مریم گلی یا متانول (به عنوان کنترل) به ۳/۹ میلی‌لیتر از محلول رقیق شده رادیکال ABTS اضافه و جذب آن‌ها پس از ٦ دقیقه در ۷۳٤ نانومتر ثبت گردید [١٦].

۲-۷- اندازه‌گیری فعالیت ضد میکروبی

از ٤ روش دیسک دیفیوژن آگار، انتشار چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی به منظور بررسی خاصیت ضدمیکروبی عصاره اتانولی گیاه مریم گلی تفتانی استفاده شد.

در روش دیسک دیفیوژن آگار، پس از کشت سطحی هر یک از باکتری‌ها روی محیط‌های کشت مولر هینتون آگار، دیسک-های آغشته شده به غلظت‌های ۱۰، ۳۰، ۵۰ و ۷۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره روی محیط کشت تثبیت گردید. قطر هاله‌های عدم رشد اطراف هر دیسک پس از گرمخانه‌گذاری پلیت‌ها به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد.

در روش چاهک آگار ٦۰ میکرولیتر از هر یک از غلظت‌های ۱۰، ۳۰، ۵۰ و ۷۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره اتانولی درون چاهک‌های ایجاد شده در محیط کشت مولر هینتون آگار ریخته شد. پلیت‌ها به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-18]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.19.8]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.195]

گرمخانه‌گذاری شدند و قطر هاله‌های عدم رشد بر حسب میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد [۱۷].

جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی با استفاده از محیط کشت مولر هینتون براث رقت‌های ۸، ۱۶، ۳۲، ٦٤، ۱۲۸، ۲٥٦ و ٥۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره اتانولی گیاه مریم گلی تهیه گردید. ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک از رقت‌های تهیه شده به همراه ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی به خانه‌های میکروپلیت‌های ۹٦ خانه‌ای اضافه شد. میکروپلیت‌ها به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس، مقدار ٥ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به هر یک از چاهک‌ها اضافه و میکروپلیت مجدداً به مدت ۳۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری شد. کمترین غلظتی که در آن هیچگونه تغییر رنگی مشاهده نشد، به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی گزارش گردید.

به منظور تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره اتانولی، ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک‌های فاقد تغییر رنگ در آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی در پلیت‌های حاوی محیط‌های کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد و به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه‌گذاری شدند. غلظت‌های فاقد رشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی گزارش گردید [۱۸].

۲-۸- آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل آماری نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹٥ درصد ($p<0.05$) به منظور بررسی معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها استفاده شد. تمامی آزمایش‌های این پژوهش در سه تکرار انجام شدند.

۳- نتایج و بحث

فنول‌ها و مشتقات آن‌ها از جمله فلاونوئیدها به دلیل دارا بودن گروه‌های هیدروکسیل در ساختار خود به عنوان عوامل احیاء کننده قوی قادر به مهار رادیکال‌های آزاد می‌باشند. این مواد همچنین با تشکیل کمپلکس با ترکیبات پروتئینی از جمله آنزیم‌های الکل دهیدروژناز و لیپوکسیژناز (مؤثر در اکسیداسیون) در فرایند اکسیداسیون اختلال ایجاد می‌کنند [۱۹]. میزان فنول و فلاونوئید کل عصاره اتانولی گیاه مریم گلی در نمودار ۱ نمایش داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود میزان فنول کل برابر با ۳٦/۱٤ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره و میزان فلاونوئید کل برابر با ۱۷/۱۳ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره بود.

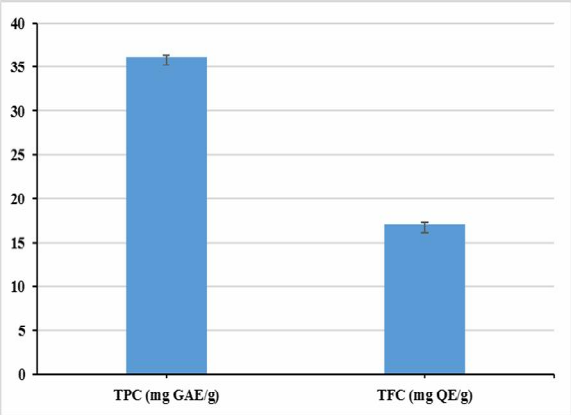

Fig 1 Total phenols (TPC) and total flavonoids (TFC) contents of *Salvia rhytidea* Benth ethanolic extract.

مقادیر فنول و فلاونوئید گیاهان با قدرت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها متناسب بوده و نوع حلال و نحوه استخراج در میزان مواد مؤثره طبیعی و اثرات آنتی‌اکسیدانی گیاهان اثرات بسزایی دارد [۱۱]. به دلیل خواص آنتی‌اکسیدان‌ها در جلوگیری از اثرات رادیکال‌های مؤثر در ایجاد بیماری و فساد مواد غذایی، امروزه بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌ها از رایج‌ترین موضوعات مورد مطالعه می‌باشد که این بررسی اغلب با استفاده از دو یا چند روش انجام می‌گیرد [۱۰] در این پژوهش نیز به منظور بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی گیاه مریم گلی از دو روش مهار رادیکال آزاد DPPH و مهار رادیکال آزاد ABTS استفاده شد که نتایج آن‌ها در نمودار ۲ نشان داده شده است. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره بر اساس IC_{50} در روش مهار رادیکال آزاد DPPH و مهار رادیکال آزاد ABTS به ترتیب ۷٥/۳۲ و ٦٦/٦۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به دست آمد. عزیزیان شرمه و حسن‌آبادی (۱٤۰۰) میزان فنول کل عصاره اتانولی تهیه شده از گیاه مریم گلی تفتانی در منطقه سیستان و بلوچستان و کرمان را به ترتیب ۲۸/۰۸ و ۲۱/۱۱ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم نمونه و میزان فلاونوئید آن‌ها را به ترتیب ۱٦/٤۸ و ۱۳/۸۲ میلی‌گرم کوئرستین در گرم نمونه گزارش کردند. این پژوهشگران همچنین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های تهیه شده با استفاده از روش مهار رادیکال آزاد DPPH بر حسب IC_{50} را ٥۱/۸۹ و ۹٥/۱۷ میلی‌گرم در میلی‌لیتر گزارش کردند [۱۰]. مزارعی و فهمیده (۱۳۹۷)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-18]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.19.8]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.195]

میانگین فنول و فلاونوئید عصاره متانولی گیاه مریم گلی را به ترتیب ۱۹/۳۲ و ۶۱/۱۳۷ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و میزان مهار رادیکال آزاد DPPH عصاره تولیدی را ۷۰/۰۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر گزارش کردند و بیان کردند بین میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره ارتباط مستقیمی وجود دارد و با افزایش غلظت این خواص نیز افزایش می‌یابند [۲۰]. دلیل تفاوت در نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی گیاه مریم گلی در مطالعات مختلف را می‌توان به شرایط اقلیمی، روش خشک کردن و تفاوت روش‌های اندازه‌گیری ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبت داد [۱۵].

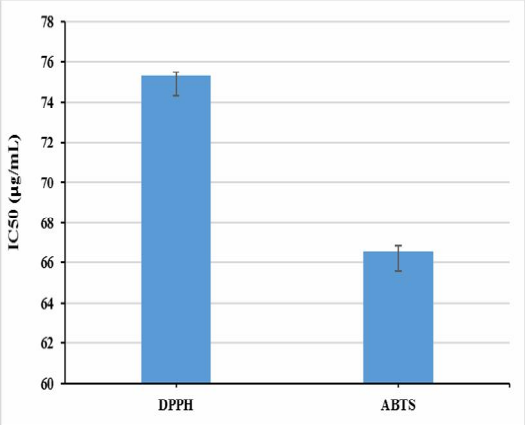

Fig 2 DPPH and ABTS radical scavenging activity of *Salvia rhytidea* Benth ethanolic extract.

در نمودار ۳ میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره اتانولی گیاه مریم گلی به روش دیسک دیفیوژن آگار نشان داده شده است. مشاهده می‌شود که قطر هاله‌های ایجاد شده در تمامی باکتری‌ها با افزایش غلظت عصاره به صورت معنی‌داری افزایش یافته است.

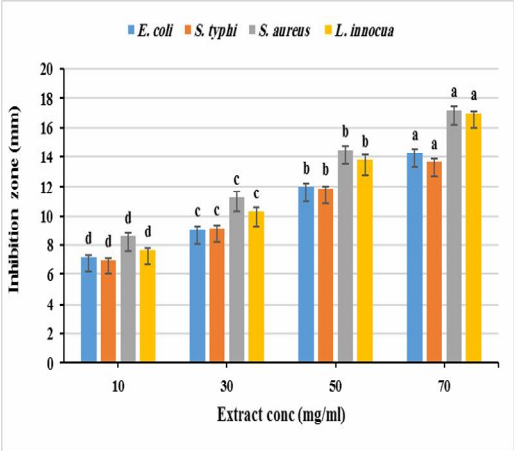

Fig 3 Antimicrobial activity of *Salvia rhytidea* Benth ethanolic extract according to disk diffusion agar.

در این روش باکتری گرم منفی *سالمونلا تیفی* با کمترین قطر هاله مقاوم‌ترین باکتری و باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* با بیشترین قطر هاله حساس‌ترین باکتری به عصاره بودند.

میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره اتانولی گیاه مریم گلی بر اساس روش چاهک آگار در نمودار ٤ آورده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود در این روش نیز با افزایش غلظت عصاره قطر هاله‌های ایجاد شده به طور معنی‌داری در تمامی باکتری‌ها افزایش می‌یابد. بیشتر بودن قطر هاله‌ها در این روش در مقایسه با روش دیسک دیفیوژن به دلیل اثر مستقیم عصاره روی باکتری‌ها بوده درحالی‌که در روش دیسک دیفیوژن عصاره پس از عبور از صفحات دیسک با قدرت کمتری به عنوان مهارکننده برای باکتری‌ها عمل می‌کند [۲۱].

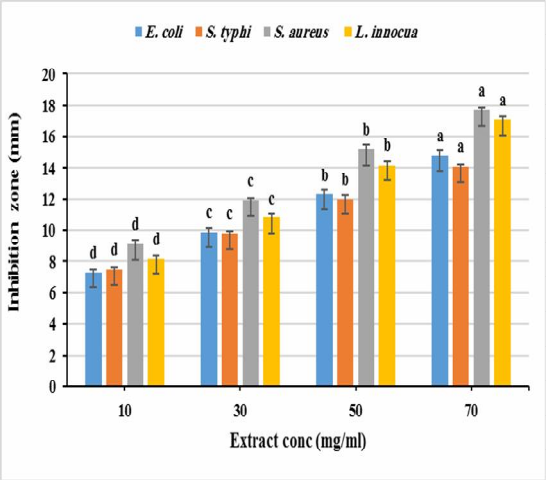

Fig 4 Antimicrobial activity of *Salvia rhytidea* Benth ethanolic extract according to well diffusion agar.

با توجه به جدول ۱ کمترین غلظت مهارکنندگی و کشندگی عصاره اتانولی مریم گلی در باکتری‌های گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا اینوکوا* بیشترین غلظت مهارکنندگی و کشندگی عصاره در باکتری گرم منفی *سالمونلا تیفی* مشاهده شد.

در پژوهش‌های گوناگون اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی گیاهان مختلف بررسی شده است. به عنوان مثال، نوشاد و علیزاده بهبهانی (۱٤۰۰) با بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های آب و اتانولی برگ به‌لیمو با تأکید بر اثربخشی بیشتر عصاره اتانولی و حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با انواع گرم مثبت این نوع عصاره‌های گیاهی را به

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-18]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.19.8]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.195]

عنوان نگهدارنده‌های طبیعی معرفی کردند [۲۲]. علاوه بر این، علیزاده بهبهانی و همکاران (۱۳۹۳) اثر ضد میکروبی بیشتر عصاره اتانولی در مقایسه با عصاره آبی گیاه مرزه بختیاری را به استخراج بیشتر مواد مؤثره با استفاده از این نوع حلال نسبت دادند [۲۳].

Table 1 Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of *Salvia rhytidea* Benth ethanolic extract against some pathogenic bacteria.

Microorganism	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)
E. coli	16	512
S. typhi	32	> 512
S. aureus	8	128
L. innocua	8	256

حساسیت کمتر باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت به عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی به دلیل وجود غشاهای خارجی اطراف دیواره سلولی در این باکتری‌ها می‌باشد درحالی‌که در باکتری‌های گرم مثبت تماس مستقیم این ترکیبات با لایه فسفولیپیدی سبب اثربخشی بیشتر ترکیبات ضد میکروبی می‌شود. ترکیبات مؤثره موجود در اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی با نفوذ به درون غشا منجر به تورم و در نهایت مرگ سلول می‌شوند [۲٤]. مطابق با نتایج این پژوهش گزارش شده است که عصاره هیدروالکی گیاه مریم گلی دارای اثر بازدارندگی روی تعدادی از باکتری‌ها از جمله *استرپتوکوکوس موتانس* و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* می‌باشد. همچنین اثرات ضد میکروبی و ضد قارچی ٤ گونه از گیاه مریم گلی بر سویه‌های *اشرشیا کلی*، *شیگلا فلکسنری*، *کلبسیلا پنومونیو* و *کاندیدا آلبیکنس* امکان استفاده از این گیاه دارویی به عنوان مهارکننده‌ای برای گونه‌های مختلف میکروبی را فراهم کرده است [۲۵]. بر اساس مطالعه سوکتو و همکاران (۲۰۱۳)، عصاره روغن گیاه مریم گلی با مهار چسبندگی *کاندیدا آلبیکانس* به سلول‌های میزبان دارای اثرات ضد قارچی می‌باشد [۲٦]. گزارش شده است که فراکسیون هیدروالکلی گیاه مریم گلی اثر ضد باکتریایی قوی بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* داشته و قادر به کنترل رشد این باکتری می‌باشد [۲۷]. در پژوهش دیگری، خاصیت ضد میکروبی عصاره آبی و نانوذرات عصاره آبی ریشه گیاه مریم گلی به دو روش حداقل غلظت مهارکنندگی و دیسک دیفیوژن آگار علیه باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس* و *سالمونلا تیفی موریوم* بررسی و گزارش گردید که ترکیبات تولیدی به عنوان مواد میکروب‌زدا در صنایع مختلف می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند [۱۲]. ترکیبات فنولی دارای طیف وسیعی از فعالیت‌های ضد میکروبی بوده که اثرات خود را با دو مکانیسم مختلف از طریق غشای سلولی و دیواره سلولی میکروارگانیسم‌ها بر جای می‌گذارند. ترکیبات فنولی می‌توانند با برهمکنش با پروتئین‌های غشایی از طریق گروه‌های هیدروکسیل خود، نقش تخریب‌کنندگی خود را بر روی غشای سلولی باکتری ایفا کنند [۱۵].

٤- نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره اتانولی گیاه مریم گلی تفتانی دارای پتانسیل آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی قابل‌توجهی است و میزان آنتی‌اکسیدان‌ها از جمله ترکیبات فنولی با توجه به عوامل مختلف ژنتیکی، شرایط پس از برداشت و عوامل محیطی مختلف در گونه‌های مختلف متفاوت می‌باشد. با توجه به ترکیبات مؤثره موجود در گیاه مریم گلی، عصاره‌ها و اسانس‌های این گیاه می‌توانند به عنوان یک منبع اقتصادی مهم در صنایع دارویی و شیمیایی مورد استفاده قرار گیرند. این ترکیبات می‌توانند به عنوان منبع طبیعی ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی جهت جلوگیری از زیان‌های اقتصادی و مخاطرات بهداشتی ناشی از اکسیداسیون و فعالیت میکروارگانیسم‌ها مورد استفاده قرار گیرند.

٥- تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند که از حمایت‌های مادی و معنوی معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان جهت انجام طرح پژوهشی با شماره ۱٤۰۰/۳٤ که این مقاله مستخرج از آن می‌باشد صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

٦- منابع

[1] Saravanan, A., Senthil Kumar, P., Hemavathy, R. V., Jeevanatham, S., Kamalesh, R., Sneha, S. and Yaashikaa, P. R. 2021. Methods of detection of food-borne

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-18]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.19.8]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.195]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-18]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.19.8]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.195]

pathogens: a review, *Environmental Chemistry Letters.* 19 (1):189-207.

[2] Namazi, P., Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, 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. [in Fa.]. *Iranian Journal of Food Science and Technology*. 113 (18): 301- 311.

[3] Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M., and Falah, F. 2019. Study of Chemical Structure, antimicrobila, cytotoxic and mechanism of action of *syzygium aromaticum* essential oil on foodborne pathogenes. *Potravinarstvo.* 13 (1): 875-883.

[4] Heredia, N. and García, S. 2018. Animals as sources of food-borne pathogens: A review, *Animal nutrition.* 4(3): 250-255.

[5] Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B. 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.* vol. 29, no. 5, pp. 717-728, 2020.

[6] Nychas, G. 1995. Natural antimicrobials from plants. in *New methods of food preservation*: Chapman and Hall, Glasgow, pp. 58-89.

[7] Singh, N., Singh, R., Bhunia, A. and Stroshine, R. 2002. Efficacy of chlorine dioxide, ozone, and thyme essential oil or a sequential washing in killing Escherichia coli O157: H7 on lettuce and baby carrots. *LWT-Food Science and Technology.* 35(8): 720-729.

[8] Rowshan, V., Khoi, M. K. and Javidnia, K. 2010. Effects of salicylic acid on quality and quantity of essential oil components in Salvia macrosiphon. *Journal of Biological & Environmental Sciences*. 4(11): 77-82.

[9] Zahabi, Z. F., Sharififar, F., Almani, P. G. N. and Salari, S. 2020. Antifungal activities of different fractions of Salvia rhytidea Benth as a valuable medicinal plant against different Candida species in Kerman province (Southeast Iran). *Gene Reports,* 19: https://doi.org/10.1016/j.genrep.2020.100624.

[10] Azizian-Shermeh, O. and Hassanabadi, A. 2021. Variation on biological activities and total phenol and flavonoids contents in different extracts from *Salvia rhytidea* Bent. collected from natural habitats of Kerman and Sistan and Baluchestan provinces. *Ecophysiology & Phytochemistry of Medicinal and Aromatic Plants.*9(1): 27-41.

[11] Azizian Shermeh, O., Taherizadeh, M., Valizadeh, M. and Qasemi, A. 2018. Antimicrobial and Antioxidant Activities and Determining Phenolic and Flavonoid Contents of the Extracts of Five Species from Different Families of the Medicinal Plants Grown in Sistan and Baluchestan Province. *Journal of Advanced Biomedical Sciences.* 7(4): 465-479.

[12] Azizian-Shermeh, O., Mollashahi, E. and Taherizadeh, M. 2020. Phytosynthesis of stable silver nanoparticles using aqueous extract of *Salvia rhytidea* Benth. and comparison of its antimicrobial activities with natural plant extract. *Ecophytochemistry journal of Medicinal Plants.* 8(2): 89-11.

[13] Nosratollahi, K., Barzegar, H., Jooyandeh, H. and Ghorbani, M. R. 2018. Effect of savory (*Satureja hortensis*) extract on the quality and shelflife of raw chicken meat stored at refrigerator. [in Fa.]. *Journal of Food science and Technology*. 82 (15): 167-176.

[14] Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B. and Noshad, M. 2021. Evaluation of total phenol and flavonoid contents, antioxidant and antimicrobial activity of *Lawsonia inermis* aqueous extract against some Gram- positive and Gram- negative bacteria. [in Fa.]. *Iranian Journal of Food Science and Technology*. 16 (18): 327-335.

[15] Alizadeh Behbahani, B. and Fooladi, A. A. I. 2018. Evaluation of phytochemical analysis and antimicrobial activities Allium essential oil against the growth of some microbial pathogens. *Microbial pathogenesis.*114: 299-303.

[16] Haghjoo, L., Barzegar, H. and Jooyandeh, H. 2020. The effect of different drying methods on chemical composition and antioxidant properties of methanolic extract of olive leaf. [in Fa.]. *Journal of Food Science and Technology*. 97 (16): 149-159.

[17] Shahidi, F., Tbabatabaie, F., Roshanak, S., Alizadeh Behbahani, B., , 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

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-18]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.19.8]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.195]

of *Lippia citriodora* extract. *Journal of food science and technology.* 18 (118): 273-283.

[23] Alizade Behbahani, B. Tabatabaei Yazdi, F., Heidari Sureshjani, M., Mortazavi, A. and Tabatabaei Yazdi, F. 2014. Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic *Satureja bachtiarica* extracts "in vitro". *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine.* 19(64): 13-19.

[24] Saeedi, M., Yeganegi, M., Alizadeh Behbahani, B., Vasiee, A. and Tabatabaie, F. 2017. Antimicrobial effects of leek (*Allium ampeloprasum* l. Subsp. Iranicum) extract on some food-borne pathogens in vitro. *Iranian Journal of Food Science and Technology.* 14(68): 73-82.

[25] Salimpour, F., Mazooji, A., Mazhar, F. and Barzin, G. 2014. Comparative study of antibacterial properties of four species of Salvia L. as a medicinal plant. *PAJOUHESH DAR PEZESHKI.* 37(4): 205-210.

[26] Sookto, T., Srithavaj, T., Thaweboon, S., Thaweboon, B. and Shrestha, B. 2013. In vitro effects of *Salvia officinalis* L. essential oil on *Candida albicans*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.* 3(5): 376-380.

[27] Garcia, C. S. C. *et al.* 2012. Assessment of *Salvia officinalis* L. hydroalcoholic extract for possible use in cosmetic formulation as inhibitor of pathogens in the skin. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada.* 33(4): 509-514.

Infectious diseases and Tropical Medicine. 23 (83): 37-46.

[18] Tanavar, H., Barzegar, H., Alizade Behbahani, B. and Mehrnia, M. A. 2020. Evaluation of the antimicrobial activity of *Mentha pulegium* essential oil on some foodborne pathogens and its interaction with gentamicin and chloramphenicol in vitro. *Food Science and Technology.* 16(97): 77-87.

[19] 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): 643-653.

[20] Mazarei, A. and Fahmideh, L. 2018. Comparative evaluation of phenolic and flavonoids compounds, antioxidant and antibacterial activity of methanol extract of *Artemisia annua* L., *Thymus vulgaris* L., *Matricaria chamomilla* L., *Salvia officinalis* L. and *Pistacia atlantica* var mutica. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants.* 6(3):78-95.

[21] Alizadeh Behbahani, B. and Shahidi, F. 2019. *Melissa officinalis* essential oil: Chemical compositions, antioxidant potential, total phenolic content and antimicrobial activity. *Nutrition and Food Sciences Research.* 6(1): 17-25.

[22] Noshad, M. and Alizadeh behbahani, B. 2021. Evaluation of the effect of aqueous and ethanolic extraction methods on the antioxidant and antimicrobial characteristics

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Evaluation of total phenol and flavonoids, antioxidant potential and antimicrobial activity of sage extract on some Gram-positive and Gram-negative bacteria "in vitro"

Barzegar, H. [1*], Jooyandeh, H. [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. 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 2022/ 03/ 04
Accepted 2022/ 05/ 14

Keywords:

Salvia rhytidea Benth,
Ethanolic extract,
Antimicrobial properties,
Antioxidant activity.

DOI: 10.22034/FSCT.19.125.195

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.19.8

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

ABSTRACT

Diseases caused by the use of chemical preservatives have increased the tendency to use natural antimicrobial and antioxidant compounds. In this study, the herbal extract of *Salvia rhytidea* Benth was extracted using ethanol solvent. The content of total phenols and flavonoids in the ethanolic extract were found to be 36.14 mg GAE/g and 17.13 mg QE/g, respectively, indicating the high antioxidant properties of the extract. The antioxidant activity of the extract based on IC_{50} in DPPH free radical scavenging and ABTS free radical scavenging was 75.32 and 66.60 mg/ml, respectively. Evaluation of antimicrobial properties of ethanolic extract of *S. rhytidea* by disk diffusion agar, well diffusion agar, minimum inhibitory concentration, and minimum bactericidal concentration showed that although the extract was more effective against Gram-positive bacteria than Gram-positive bacteria, the plant can be used as a natural preservative in various industries.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-18]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.19.8]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.195]