



ارزیابی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و پتانسیل ضد میکروبی عصاره آلوئه‌ورا بر تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی: یک مطالعه آزمایشگاهی

نرگس شریفیات^۱، محمد امین مهرنیا*^۲، حسن برزگر^۱، بهروز علیزاده بهبهانی^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران

۲- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

در جوامع امروزی مصرف مواد غذایی با ترکیبات و نگهدارنده‌های طبیعی به دلیل آگاهی مصرف‌کننده به تأثیر رژیم غذایی بر سلامت و پیشگیری از بیماری‌ها افزایش یافته است. به همین منظور در این پژوهش میزان فنل و فلاونوئید تام، ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و اثر ضد میکروبی عصاره آبی به دست آمده از برگ گیاه آلوئه‌ورا مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان فنل و فلاونوئید کل به ترتیب ۴۱/۶۱ میلی‌گرم گالیک‌اسید در هر گرم عصاره و ۷۸۳/۳۳ میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم عصاره اندازه‌گیری شد. بالاترین درصد مهارکنندگی برای رادیکال آزاد DPPH، ۶۸/۳۹٪ و برای رادیکال آزاد ABTS، ۵۰/۰۷٪ در بیشترین غلظت (۶۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مشخص شد. باتوجه به نتایج به دست آمده، بیشترین اثر ضد میکروبی عصاره در روش‌های دیسک دیفیوژن آگار و چاهک آگار بر باکتری‌های گرم مثبت بود. کمترین غلظت بازدارنده از رشد برای پاتوژن‌های *اشرشیا کلی*، *شیگلا دیسانتری*، *سالمونلا تیفی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *باسیلوس سرئوس* به ترتیب برابر با ۳۲، ۶۴، ۳۲، ۱۶، ۳۲ و ۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. درکل می‌توان گفت عصاره آبی آلوئه‌ورا یک ترکیب آنتی‌اکسیدان و ضد میکروب مناسب است و می‌توان از آن به‌عنوان یک نگهدارنده طبیعی استفاده کرد.

تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۴/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۶/۵

کلمات کلیدی:

ژل آلوئه‌ورا،

ضد باکتری،

ترکیبات زیست‌فعال،

نگهدارنده طبیعی.

DOI:10.22034/FSCT.22.158.172.

* مسئول مکاتبات:

mehrnia@asnruk.ac.ir

۱-مقدمه

مواد غذایی باعث ایجاد یکسری تغییرات در محیط شده که باتوجه به خواست مهندسان صنایع غذایی می‌توانند نتایج مطلوبی را در محصول اعمال نمایند [۳، ۴ و ۵].

شرایط سخت و نامطلوب رشد گیاه و اجتماع رادیکال‌های آزاد موجب ایجاد سیستم‌های پیچیده آنزیمی و غیرآنزیمی آنتی‌اکسیدانی در آن‌ها شده است. سیستم غیرآنزیمی با مکانیسم‌های مختلف باعث افزایش مقاومت سلول‌های گیاه در برابر استرس اکسیداتیو شده و در نتیجه با مصرف توسط انسان این ویژگی را در بدن نیز تقویت می‌کند. استرس اکسیداتیو مسئول برخی از اختلالات و بیماری‌ها مانند آلزایمر، سرطان، تصلب شرایین و اختلالات قلبی عروقی در انسان می‌شود. در واقع وجود ترکیبات پلی‌فنلی باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیداسیونی و ایجاد تعادل در بدن می‌شوند. قابل ذکر است که این ترکیبات حتی در غلظت‌های پایین نیز اثر خود را اعمال خواهند کرد [۶].

امروزه مقاومت پاتوژن‌ها در برابر فعالیت مهارتی یا تخریب توسط آنتی‌بیوتیک‌ها به‌خاطر استفاده بی‌رویه و نامنظم بالا رفته است. جداسازی ترکیبات زیست‌فعال مشتق شده از گیاهان دارویی با توجه به ماهیت درمانی و ترکیبات مفید زیاد، تنوع بالا و دسترسی ارزان و آسان رویکردی مناسب برای مقابله علیه میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا ارائه می‌دهند. سازمان بهداشت جهانی^۱ مقاومت میکروبی را فوری‌ترین مسئله‌ای اعلام کرده که پزشکی با آن مواجه شده است. برای رفع این مسئله نوظهور و باتوجه به این امر که در حال حاضر نیز درصدی از داروهای مورد استفاده منشأ گیاهی دارند؛ با شناسایی ترکیبات ضد میکروب گیاهان مختلف و استفاده از آن‌ها می‌توان به کشف و تولید داروهای جدید با عملکرد مناسب در برابر پاتوژن‌های مقاوم شده به‌دست آورد. در نتیجه تعیین میزان فعالیت ضد میکروبی گیاهان مختلف به هدفی برای محققین و پژوهشگران تبدیل شده است [۷ و ۸].

آلوئه‌ورا^۲ از خانواده *Liliaceae* گونه گیاهی سبز و چندساله است که بیشتر در مناطق خشک و گرم (خاورمیانه، شمال

تاکون شواهد بسیاری در مورد اثر مستقیم مواد غذایی بر سلامت انسان به‌دست آمده که تمامی این شواهد میزان نیاز و درخواست مصرف‌کننده را برای در دسترس قرار گرفتن غذاهای سالم و مغذی بالا برده است. همچنین شیوع بیماری‌هایی چون سرطان، دیابت و مشکلات قلبی و عروقی ناشی از رژیم غذایی و نحوه زندگی نادرست در جوامع امروزی؛ باعث نگرانی مردم و تجدیدنظر در سبب مصرفی شده‌است. گیاهان برای قرن‌ها در زمینه‌های مختلفی چون مصارف غذایی و دارویی مورد استفاده انسان‌ها قرار می‌گرفتند. در واقع وجود ترکیبات مشتق شده از متابولیسم ثانویه گیاه چون ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی، تریپنئیدی و دیگر ترکیبات مفید زیستی و همچنین فیبر بالا باعث شده گیاهان نه تنها به‌عنوان منابع غذایی مصرف شوند بلکه از قدیمی‌ترین راه‌های پیشگیری یا درمان بیماری‌های مختلف باشند که تا امروز نیز این روند ادامه یافته است [۱ و ۲].

در صنعت غذا نیز می‌توان از گیاهان و ترکیبات درون آن‌ها به‌صورت مستقیم و یا غیرمستقیم بهره برد. یکی از راه‌های افزایش طول عمر و ماندگاری مواد غذایی استفاده از نگهدارنده‌های مصنوعی است. این نگهدارنده‌ها به‌دلیل نگرش منفی مردم به مصنوعی بودنشان که با افزایش آگاهی آن‌ها در مورد محصولات که روزانه مصرف می‌کنند ایجاد شده‌است؛ به‌مرور در حال جایگزینی با نگهدارنده‌های طبیعی یا همان عصاره‌ها یا اسانس‌های گیاهی‌اند. عصاره‌های گیاهی مایعات سبز نام دارند که با استفاده از حلال‌های مختلفی چون آب، اتانول، متانول و اتیل استات از قسمت‌های مختلف گیاه استخراج می‌شوند. خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی از جمله ویژگی‌های ناشی از ترکیبات و ماهیت عصاره‌های گیاهی هستند. می‌توان اظهار داشت که خواص ضد میکروبی عصاره‌های اتانولی بیشتر از عصاره آبی می‌باشد. قسمت‌های مختلف گیاهان دارای مقادیر متفاوت این ترکیبات از جمله پلی‌فنل‌ها هستند که تأثیر بسزایی در کاهش اکسیداسیون دارند. در واقع عصاره‌های گیاهی با حضور در

قندها، استرول‌ها، کرومون‌ها، آنتراکینون‌ها، آلونین، آلونئامودین، استرول‌ها، لیگنین، سالیسیک اسید، فلاونوئیدها، مواد معدنی و ترکیبات فنلی هستند. در مطالعه‌ای فعالیت ضد میکروبی عصاره اتانولی برگ این گیاه در برابر سویه‌های باکتریایی چون *اشرشیا کلی*^۳، *استافیلوکوکوس اورئوس*^۴ و *باسیلوس سرئوس*^۵ و برخی قارچ‌ها بررسی شد که نتایج خوبی را نشان داد [۱۲].

همچنین میزان مواد فلاونوئیدی و همچنین پتانسیل آنتی‌اکسیدانی دو عصاره آبی و اتانولی آلونئورا بررسی شد و به اثبات رسید [۱۳]. هدف از این پژوهش، تعیین میزان فنل و فلاونوئید کل، ارزیابی اثر آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضد میکروبی عصاره آبی به دست آمده از برگ آلونئورا با روش‌های انتشار در آگار به کمک دیسک (دیسک دیفیوژن)، انتشار چاهک در آگار و تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی^۶ و حداقل غلظت کشندگی^۷ بر پاتوژن‌های *اشرشیا کلی*، *شیگلا دیسانتری*^۸، *سالمونلا تیفی*^۹، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا مونوسیتوژنز*^{۱۰} و *باسیلوس سرئوس* بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه عصاره آبی آلونئورا

برگ‌های تازه و سبز آلونئورا از بازار محلی شهر ملاثانی خریداری شد. آزمون‌های این مطالعه در آزمایشگاه‌های گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شد. برای جداسازی مایع غلیظ و تلخ زرد رنگ بین فیله و روکش‌های برگ^{۱۱}، پس از شست‌وشوی برگ‌ها به کمک یک برس و آبکشی نهایی توسط آب مقطر، سر و پایه برگ‌ها جدا شده و به مدت یک ساعت به صورت عمودی درون بشر حاوی آب مقطر قرار گرفتند. بعد از این مدت، با جداسازی تیغه‌های کناری و یک لایه از روکش سبز، فیله بی‌رنگ و آبدار درونی توسط یک قاشق استخراج شد. فیله استخراج شده به مدت ۳ دقیقه درون بلندر خانگی مخلوط و

آفریقا و مدیترانه جنوبی) می‌روید و از هزاران سال پیش به‌عنوان گیاهی دارویی برای درمان زخم، سوختگی و التهاب پوست مورد استفاده قرار می‌گرفته‌است. این گیاه دارای حدود ۹۸ درصد آب است و درون لاله‌های سبز رنگ آن فیله بی‌رنگ قرار گرفته‌است. امروزه از ژل به دست آمده از فیله درون برگ‌های گوشتی آن در صنایع دارویی، آرایشی و غذایی استفاده می‌شود. به ژل بی‌رنگی که از درون برگ‌ها به دست می‌آید، موسیلاژ آلونئورا می‌گویند. درون این ژل بیش از ۷۵ ترکیب مفید مانند ویتامین‌ها، آنزیم‌ها، مواد معدنی، آنتراکینون‌ها، اسیدهای چرب و کربوهیدرات وجود دارد که هرکدام از این ترکیبات ویژگی‌ها و خواص درمانی مهمی چون خاصیت ضد دیابت، ضد سرطان و ضد چربی خون را باعث می‌شوند. پژوهش‌های مختلفی نشان داده‌است که وجود پلی‌ساکارید آسه‌مانان به‌عنوان پلی‌ساکارید عمده و حضور آنتراکینون‌های آلونئورا، عامل اصلی خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی آن است که موجب استفاده از این ژل و یا ترکیبات جدا شده از آن به عنوان نگهدارنده در زمینه‌ها و محصولات مختلف غذایی شده‌است. همچنین ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی این گیاه تأثیر بسزایی در این امر دارند [۹ و ۱۰].

ژل آلونئورا به دلیل محتوای آب و فیبر بالای خود بین مردم به‌عنوان یک ماده خوراکی رژیمی برای کاهش وزن شناخته شده‌است. محصولات پودری، نوشیدنی و حتی ژل آن مورد مصرف بیماران دیابتی و یا افراد مبتلا به چاقی مزمن قرار می‌گیرد. از این ژل به‌واسطه دارا بودن خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی در فیلم و پوشش‌های خوراکی برای بسته‌بندی زیست فعال مواد غذایی استفاده می‌شود. افزودن این ژل به مواد خوراکی مخلفی چون سس‌ها، لبنیاتی چون پنیر و ماست و همچنین بستنی نیز گزارش شده‌است [۱۱]. ترکیبات فعال گزارش شده در برگ این گیاه که در خواص درمانی آن دخیل هستند شامل: ساپونین، آلونئوسین، آنزیم‌ها،

8- *Shigella dysenteriae*
9 - *Salmonella typhi*
10 - *Listeria monocytogenes*
11- Latex

3- *Escherichia coli*
4 - *Staphylococcus aureus*
5 - *Bacillus cereus*
6 - Minimum inhibitory concentration (MIC)
7- Minimum bactericidal concentration (MBC)

۲-۲-۳- مهار رادیکال آزاد ۲، ۲- دی فنیل-۱- پریکیل هیدرازیل^{۱۴}

تعیین کمی فعالیت مھاری رادیکال آزاد (DPPH) با اندکی تغییر از طریق روش حجتی و همکاران [۱۷] انجام گرفت. غلظت‌های مختلف عصاره (۶۰، ۸۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) تهیه و در لوله‌های آزمایش ریخته و با نسبت ۱:۱ با محلول ۰/۱ میلی‌مولار DPPH که با متانول آماده شده بود، در لوله‌ها مخلوط شدند. پس از گذشت زمان ۳۰ دقیقه نگهداری در تاریکی و دمای اتاق، جذب محلول‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر مرئی-فرابنفش گرفته شد. محلول کنترل، نمونه بدون عصاره بود و دستگاه با متانول صفر شد. درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد توسط عصاره از طریق معادله ۱ تعیین شد که $A_{Control}$: جذب محلول متانولی DPPH بدون اسانس و A_{Sample} : جذب محلول متانولی DPPH در واکنش با غلظت خاصی از عصاره می‌باشد.

معادله ۱: تعیین درصد مھار رادیکال‌های آزاد

$$RSE^{15\%} = [(A_{Control} - A_{Sample}) / A_{Control}] \times 100$$

۲-۲-۴- مھار رادیکال آزاد ۲، ۲- آزینو بیس-۳- اتیل

بنزو تیازولین-۶- سولفونیک اسید^{۱۶}

تعیین فعالیت مھارکنندگی در برابر رادیکال آزاد ($ABTS^+$) از روش کاپاراکو و همکاران [۱۸] با اندکی تغییر انجام شد. ابتدا محلول ۷ میلی‌مولار از رادیکال آزاد تهیه شد سپس با محلول ۲/۴۵ میلی‌مولار پتاسیم پرسولفات مخلوط و به مدت ۱۶ ساعت در تاریکی انکوبه شد. پس از گذشت این مدت زمان، محلول به دست آمده تاجایی با متانول رقیق شد که به جذب 0.02 ± 0.07 در طول موج ۷۳۴ نانومتر برسد. محلول کاتیونی رقیق شده (محلول کنترل) سپس به نسبت ۱:۱ با غلظت‌های (۶۰، ۸۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) از عصاره مخلوط و پس از ۶ دقیقه جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۳۴ و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد (دمای اتاق) قرائت شد.

موسیلاژی هموزن حاصل شد که با عبور و فیلتر این موسیلاژ از پارچه موسلین، عصاره تازه آلوئه‌ورا به دست آمد [۱۴].

۲-۲-۲- آزمون‌های شیمیایی

۲-۲-۲-۱- تعیین فنل کل^{۱۲} عصاره آبی آلوئه‌ورا

میزان فنل تام عصاره آلوئه‌ورا به روش رنگ سنجی فولین-سیوکالتیو و اندازه‌گیری برحسب گالیک اسید انجام شد. منحنی استاندارد گالیک اسید با استفاده از غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۷۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر گالیک‌اسید رسم شد. برای تعیین میزان فنل تام، مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره با غلظت معین با ۲/۵ میلی‌لیتر از فولین-سیوکالتیو ۱۰٪ مخلوط شد و پس از گذشت ۶ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر سدیم‌کربنات ۷/۵٪ به آن اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در یک مکان تاریک نگهداری شد. در نهایت جذب محلول در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر WPA (Biowave II)، ساخت کشور انگلیس) خوانده شد. جذب به دست آمده از محلول عصاره در رابطه‌ای که از نمودار استاندارد گالیک اسید به دست آمد، جایگذاری و میزان ترکیبات کل فنل موجود در عصاره محاسبه شد [۱۵].

۲-۲-۲-۲- تعیین فلاونوئید کل^{۱۳} عصاره آلوئه‌ورا

تعیین فلاونوئید کل عصاره آلوئه‌ورا به روش رنگ‌سنجی با آلومینیوم کلراید و برحسب کوئرستین به‌عنوان استاندارد انجام گرفت. ابتدا ۱ میلی‌لیتر از عصاره آلوئه‌ورا با غلظت معین به مقدار ۷۵ میکرولیتر از نیتريت سدیم ۵٪ اضافه و هم‌زده شد. پس از گذشت مدت زمان ۶ دقیقه، ۱۵۰ میکرولیتر آلومینیوم کلراید ۱۰٪ به محلول اضافه و ۵ دقیقه دیگر در دمای اتاق نگهداری شد. در آخر ۱ میلی‌لیتر از سدیم هیدروکسید ۱ مولار افزوده و پس از گذشت یک دقیقه جذب محلول در طول موج ۵۱۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد. میزان فلاونوئید تام عصاره به کمک رابطه منحنی استاندارد کوئرستین به دست آمد [۱۶].

15 - Radical Scavenging Effect
16- 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), (ABTS)

12 - Total phenolic content
13- Total flavonoid content
14 -2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار گرفتند. فعالیت ضدباکتریایی عصاره با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد باکتری دور دیسک بر حسب میلی‌متر، بررسی شد [۲۰].

۲-۳-۳- فعالیت ضد میکروبی به روش چاهک در آگار

در این روش، روی محیط کشت مولر هیتون آگار مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون‌های میکروبی آماده شده به روش کشت سطحی تلقیح شد. پس از آماده‌سازی چاهک‌ها و بستن ته چاهک به کمک محیط کشت مذاب، مقدار ۲۰ میکرولیتر از عصاره خالص درون چاهک ریخته و یک چاهک حاوی آب مقطر به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. پس از گرمخانه‌گذاری پلیت‌های دارای چاهک در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، قطر هاله بازدارنده از رشد باکتری با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری و براساس میلی‌متر ثبت شدند [۲۱].

۲-۳-۴- تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره

آلئوئورا

برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره آلئوئورا علیه باکتری‌های موردنظر، ابتدا غلظت ۵۱۲ از عصاره و محیط مولر هیتون برات^{۱۷} به همراه ۵ میلی‌لیتر DMSO (دی متیل سولفوکساید) تهیه شد سپس رقت‌های متوالی با افزودن ۵ میلی‌لیتر از رقت قبلی به ۵ میلی‌لیتر از محیط کشت مولر هیتون برات آماده شدند. از رقت‌های آماده‌شده مقدار ۱۰۰ میکرولیتر با سمپلر برداشته و به درون خانه‌های پلیت ۹۶ خانه انتقال داده شد. سپس به هر خانه میزان ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون‌های میکروبی اضافه شد. برای هر باکتری، کنترل مثبت (رقت تهیه شده از عصاره با محیط کشت) و کنترل منفی (محیط کشت به همراه سوسپانسیون باکتری) در نظر گرفته شد. پس از ۲۴ ساعت ماندن در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، مقدار ۲۰ میکرولیتر معرف رنگی تری فنیل ترازولیم کلراید^{۱۸} (۵ درصد) به خانه‌های پلیت ۹۶ خانه اضافه و برای تعیین حداقل غلظت، دوباره به مدت ۳۰ دقیقه به انکوباتور منتقل شد. بر اساس اضافه شدن این معرف، مشاهده رنگ قرمز نشان‌دهنده رشد باکتری بود که اولین

درصد مهار این رادیکال توسط عصاره از معادله ۱ به دست آمد که در این معادله A_{Control}: جذب محلول متانولی ABTS بدون اسانس و A_{sample}: جذب محلول متانولی ABTS در واکنش با غلظت خاصی از عصاره می‌باشد.

۲-۳-۲- فعالیت ضد میکروبی عصاره آلئوئورا

از روش‌های دیسک دیفیوژن، چاهک در آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی برای ارزیابی اثر ضد میکروبی عصاره آبی به دست آمده از برگ آلئوئورا در برابر ۶ باکتری پاتوژن، که شامل *اشرشیا کلی* ATCC ۱۲۴۳۵، *شیکلا دیسانتری* ATCC ۱۳۳۱۳، *سالمونلا تیفی* ATCC ۶۵۱۵۴ (باکتری‌های گرم منفی)، *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC ۱۴۱۵۴، *لیستریا مونوسیتوژنز* ATCC ۱۹۱۱۵ و *باسیلوس سرئوس* ATCC ۱۰۸۷۶ (باکتری‌های گرم مثبت) استفاده شد.

۲-۳-۱- تهیه سوسپانسیون میکروبی

کشت تازه از سویه‌های موردنظر ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایشات بر روی محیط کشت مولر هیتون آگار به دست آمد. سوسپانسیون از کلنی خالص باکتری‌ها براساس کدورت نیم‌مک‌فارلند (1.5×10^8 CFU/mL) آماده شدند. برای تهیه سوسپانسیون با این کدورت پس از برداشتن مقداری از کلنی باکتری‌ها با استفاده از لوپ، آن به سرم فیزیولوژی درون لوله‌های آزمایش اضافه کرده و با شیکر هم زدیم. کدورت سوسپانسیون‌ها باید در طول موج ۶۲۵ نانومتر جذبی بین ۰/۰۸ تا ۰/۱۳ نشان دهد [۱۹].

۲-۳-۲- فعالیت ضد میکروبی عصاره آلئوئورا به روش

دیسک دیفیوژن

عصاره آبی آلئوئورا ابتدا از فیلتر سرنگی ۰/۲۲ میکرون عبور داده و استریل شد. سپس ۲۰ میکرولیتر از عصاره استریل به دیسک‌های بلانک انتقال داده شد. یک دیسک بلانک (به عنوان شاهد منفی) با فاصله مشخص از دیواره و همدیگر روی محیط کشت مولر هیتون آگار حاوی سوسپانسیون باکتری‌ها (استاندارد نیم مک‌فارلند) قرار گرفتند. محیط‌های کشت به مدت ۱۵ دقیقه در دمای یخچال قرار گرفته و سپس

خانه‌ای که در آن رنگ قرمز پدیدار نشد، به‌عنوان کمترین غلظت بازدارنده از رشد باکتری‌ها ثبت شد [۲۲].

۲-۳-۵- تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره آلوئه‌ورا

برای تعیین حداقل غلظتی از عصاره که خاصیت کشندگی بر باکتری‌های مورد نظر را اعمال می‌کند؛ از هر چاهک پلیت ۹۶ خانه‌ای که تغییر رنگی دیده نشد میزان ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و بر محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد. پس از گرم‌خانه‌گذاری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌سانتی‌گراد، غلظتی از عصاره که کلنی‌های باکتری در آن مشاهده نشد به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی ثبت شد [۲۳].

۲-۴- آنالیز آماری داده‌ها

تمامی آزمون‌ها با سه تکرار انجام گرفت. برای مقایسه بین میانگین داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۶) استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ارزیابی ترکیبات و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی آلوئه‌ورا

برگ گیاهان خوراکی حاوی مقادیر زیاد ترکیبات فعال زیستی مانند ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی هستند که از آن‌ها به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی یاد می‌شود [۲۴ و ۲۵]. ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی (فیتوکمیکال‌ها) از طریق واکنش با رادیکال‌های آزاد با مکانیسم‌های مختلفی موجب مهار آن‌ها می‌شوند. در نتیجه با بالا بودن میزان این ترکیبات زیست‌فعال، می‌توان به قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتری دست یافت. در مطالعه حاضر، مقدار فنل تام 0.78 ± 41.61 میلی‌گرم گالیک‌اسید در هر گرم عصاره^{۱۹} و مقدار فلاونوئید تام 5.13 ± 783.33 میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم عصاره^{۲۰} آبی آلوئه‌ورا به‌دست آمد. کومار و همکاران به بررسی فیتوکمیکال‌ها و قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی برگ‌های آلوئه‌ورا به‌دست آمده توسط پژوهشگران مختلف پرداختند. مقدار فنل تام گزارش شده از $63/2$ تا $32/9$

میلی‌گرم گالیک‌اسید در گرم عصاره متغیر بود. در همه مطالعات وجود ترکیبات فنلی عصاره در مقادیر قابل توجهی ثبت شد. همچنین در این مطالعه و مطالعات قبلی به این نتیجه رسیدند که میان محتوای فنلی و قدرت آنتی‌اکسیدانی یک رابطه خطی معنادار وجود دارد [۲۶ و ۲۷]. شارما و همکاران محتوای فنلی و فلاونوئیدی کل دو عصاره آبی و متانولی برگ آلوئه‌ورا را باهم مقایسه کردند که براساس نتایج گزارش‌شده از این پژوهش، مقدار این دو ترکیب در عصاره‌های مختلف تفاوت قابل توجهی نداشتند [۲۸]. بیستا و همکاران نیز مقدار فنل و فلاونوئید تام عصاره‌های متانولی و اتانولی برگ آلوئه‌ورا را باهم مقایسه کردند که نتایج نشان داد مقدار این ترکیبات در عصاره متانولی بالاتر و برابر با $30/53$ میلی‌گرم گالیک‌اسید و $73/26$ میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم وزن خشک عصاره بود. بر اساس مطالعات متعدد، میزان فلاونوئید در تمامی عصاره‌های برگ آلوئه‌ورا از میزان فنل کل بالاتر بود. تفاوت در مقادیر به‌دست آمده در مطالعات مختلف می‌تواند به دلایل مختلفی چون شرایط محیط رشد گیاه، زمان برداشت، مکان جغرافیایی، روش‌های مختلف و حلال‌های متفاوت در استخراج عصاره، غلظت مورد استفاده در آزمون و همچنین منحنی‌های استاندارد مختلف باشد. با همه این تفاوت‌ها، براساس چندین مطالعه، میزان ترکیبات شیمیایی زیست‌فعال معمولاً در عصاره آبی بیشتر از بقیه عصاره‌ها تعیین شد [۲۹ و ۳۰].

قدرت مهار رادیکال آزاد در واقع توانایی خشی سازی رادیکال آزاد از طریق دادن یک الکترون به آن و جلوگیری از واکنش و استرس اکسیداتیو است که باعث می‌شود با ترکیب الکترون و مهار رادیکال و رسیدن آن به حالت پایدارتر، رنگ محلول کمتر شده و جذب آن در طول موج مشخص ضعیف‌تر شود [۳۱ و ۳۲]. نتایج بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به دو روش مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS در جدول ۱ آورده شده‌است. براساس نتایج مشاهده‌شده، میزان قدرت عصاره آبی آلوئه‌ورا در مهار رادیکال آزاد (DPPH) بیشتر از رادیکال آزاد (ABTS⁺) بود.

و همکاران نشان داد که درصد اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره آلوه‌ورا به‌روش DPPH برای عصاره متانولی برابر با ۸۱/۹۱ درصد بود که بالاتر از قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی در این پژوهش و خلاف مطالعات سابق در قوی‌تر بودن عصاره آبی است [۲۹]. اثر آنتی‌اکسیدانی آلوه‌ورا ناشی از ترکیبات زیست‌فعال (پلی‌فنل‌ها، آنزیم‌ها، پلی‌ساکاریدها و آنتراکینون‌ها) موجود در آن می‌باشد. آسه‌مانان^{۲۱} پلی‌ساکارید ذخیره‌ای و ترکیب زیست‌فعال اولیه و مهم آلوه‌ورا است که نقش مهمی در مهار رادیکال آزاد ABTS ایفا می‌کند [۳۳]. کاپاراکو و همکاران [۱۸] فعالیت آنتی‌اکسیدانی ژل آلوه‌ورا را بررسی و به‌صورت کمی گزارش کردند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH از ۱/۶۴ تا ۹/۲۱ میکرومول ترولوکس در هر میلی‌لیتر^{۲۲} از ژل و برای ABTS، معادل ۰/۷۳ تا ۵/۱۴ میکرومول ترولوکس در هر میلی‌لیتر از ژل برآورد شد. براساس نتایج میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی از روش ABTS ضعیف‌تر از DPPH بود که مطابق با نتایج مطالعه حاضر است.

بیشترین درصد مهار DPPH، مربوط به غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر معادل ۶۸/۳۹ درصد و کمترین قدرت مهار برای غلظت ۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره برابر با ۳۶/۳۵ درصد مشخص شد. قدرت مهار همین غلظت‌ها برای رادیکال آزاد ABTS به‌ترتیب برابر با ۵۰/۰۷ درصد و ۴۱/۶۴ درصد بود. باتوجه به نتایج جدول ۱ با افزایش تدریجی غلظت عصاره از ۶۰ تا ۶۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، افزایش قدرت مهار قابل‌توجهی (بیش از ۳۰ درصد) برای DPPH مشاهده شد ولی با افزایش غلظت به همین نسبت، میزان مهار رادیکال ABTS روند افزایشی کندتری (کمتر از ۱۰ درصد) را نشان داد. باین‌حال در هر دو روش، غلظت عصاره با درصد مهار رابطه مستقیم داشته و اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها بود. مانیه و همکاران قدرت عصاره‌های آبی و متانولی آلوه‌ورا را در مهار رادیکال آزاد DPPH تعیین و مقایسه کردند. باتوجه به گزارش داده‌شده، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی به‌طور معنی‌داری بالاتر از عصاره متانولی بود. درصد مهار رادیکال DPPH برای عصاره آبی در محدوده ۳۴/۸-۶۵/۴ درصد و برای عصاره متانولی در محدوده ۱۵/۴-۴۸/۱ درصد گزارش شد [۱۳]. مطالعه بیستا

Table 1. DPPH and ABTS radical scavenging activity of *Aloe vera* extract

Concentration (mg/mL)	Scavenging effect (%)	
	DPPH	ABTS
60	36.35 ± 0.40 ^A	41.64 ± 0.13 ^A
80	45.01 ± 0.30 ^B	42.61 ± 0.36 ^B
100	61.18 ± 0.12 ^C	43.67 ± 0.15 ^C
200	63.67 ± 0.24 ^D	44.29 ± 0.21 ^D
400	64.77 ± 0.55 ^E	47.95 ± 0.59 ^E
600	68.39 ± 0.44 ^F	50.07 ± 0.18 ^F

The data written in table, indicate "mean ± standard deviation", n=3. The capital English letters in each column show a significant difference at P< 0.05 between antioxidant activity of different extract concentrations.

ویروس‌ها را دارد. پژوهش‌هایی در گذشته قدرت ضد میکروبی عصاره را بر بسیاری از قارچ‌ها ارزیابی کرده و به نتایج مطلوبی رسیده‌اند [۳۴ و ۳۵]. روش انتشار در آگار به‌کمک دیسک که به روش کربی-بائر نیز معروف است، یکی از انعطاف‌پذیرترین روش‌های تعیین حساسیت میکروب‌ها به عوامل بازدارنده است که قدرت ضد میکروبی

۳-۲- بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره آبی آلوه‌ورا
فعالیت ضد میکروبی ژل آلوه‌ورا در مطالعات متعددی تاکنون بررسی شده‌است. این عصاره دارای خاصیت مهارکنندگی از رشد یا قابلیت کشندگی برخی باکتری‌ها، قارچ‌ها و

هاله مربوط به باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* با قطر ۱۵/۴۰ میلی متر و کمترین قطر هاله مربوط به باکتری گرم منفی *شیگلا دیسانتری* با قطر ۹/۲۰ میلی متر می باشد. میان گرم مثبت ها، *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به طور معناداری بالاترین قطر را داشتند و باکتری *لیستریا مونوسیٹوژنز* پس از آن ها کمترین مقاومت را نسبت به عصاره داشت. میان گرم منفی ها، *سالمونلا تیفی* به عنوان مقاوم ترین باکتری به عامل ضد میکروبی مشخص شد.

ماده براساس اندازه گیری هاله عدم رشد میکروب دور دیسک ها ارزیابی می شود [۳۶]. روش انتشار به کمک چاهک آگار بیشتر برای ارزیابی اثر ضد میکروب گیاهان و یا عصاره های میکروبی مورد استفاده قرار می گیرد. این روش مشابه دیسک دیفیوژن است با این تفاوت که به جای استفاده از دیسک، چاهک هایی در آگار آماده خواهد شد [۳۷]. براساس این دو روش،

نتایج فعالیت ضد میکروبی عصاره خالص در جدول ۲ و ۳ گزارش شد. جدول ۲، قطر هاله مهارکننده از رشد باکتری ها را دور دیسک حاوی عصاره نشان می دهد که بیشترین قطر

Table 2. Inhibition zone (mm) of *Aloe vera* extract on bacterial growth using disk diffusion agar method

Inhibition zone (mm)	Pathogenic bacteria					
	<i>E. coli</i>	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. typhi</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>B. cereus</i>
Aloe vera	10.10 ± 0.30 ^A	9.20 ± 0.40 ^A	12.00 ± 0.50 ^B	15.40 ± 0.20 ^C	13.30 ± 0.80 ^B	15.00 ± 0.60 ^C

The data written are "mean ± standard deviation", n=3. Similar capital letters show a significant difference at P< 0.05 between antimicrobial activity on different pathogens.

باسیلوس سرئوس به طور معناداری نزدیک به هم و بیشتر از بقیه مشاهده شد. در هر دو روش دیسک دیفیوژن و چاهک آگار، اثر ضد باکتریایی عصاره بر باکتری های گرم مثبت بیشتر از گرم منفی بود ولی قطر هاله ها در روش چاهک آگار کمی بیشتر از روش دیسک دیفیوژن مشاهده شد.

جدول ۳، نتایج مربوط به خاصیت ضد میکروبی عصاره را بر باکتری های مورد استفاده براساس روش انتشار در چاهک نشان می دهد. در این روش بیشترین قطر هاله مربوط به باکتری *باسیلوس سرئوس* گرم مثبت (۱۶/۲۰ میلی متر) و کمترین قطر مشابه با روش دیسک دیفیوژن مربوط به باکتری *شیگلا دیسانتری* گرم منفی (۱۰/۰۰ میلی متر) بود. اثر بازدارندگی رشد بر دو پاتوژن *استافیلوکوکوس اورئوس* و

Table 3. Inhibition zone (mm) of *Aloe vera* extract on bacterial growth using well diffusion agar method

Inhibition zone (mm)	Pathogenic bacteria					
	<i>E. coli</i>	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. typhi</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>B. cereus</i>
Aloe vera	11.30 ± 0.60 ^A	10.00 ± 0.30 ^B	12.050 ± 0.40 ^C	16.10 ± 0.50 ^D	13.90 ± 0.50 ^E	16.20 ± 0.20 ^D

The data written are "mean ± standard deviation", n=3. Similar capital letters in the data row, show a significant difference at P< 0.05 between antimicrobial activity on different pathogens.

عصاره اتانولی برگ آلوئه ورا بود، این عصاره قطر هاله بازدارندگی معادل ۱۸ میلی متر در برابر باکتری گرم منفی *اشرشیا کلی* در غلظت ۳۰ میکرولیتر نشان داد؛ همچنین هاله

دیش و همکاران نتایج متفاوت با نتایج پژوهش حاضر را بیان کردند. بر اساس گزارش آن ها در مورد اثر ضد میکروبی

مورد استفاده در این پژوهش تنها در برابر باکتری *اشرشیا کلی* هاله عدم رشد (۱۰/۳۳ میلی‌متر) نشان داد [۲۰]. در مطالعه دیگری که بر روش اثر ضد میکروبی عصاره آبی آلوئه‌ورا بر باکتری‌های گرم منفی انجام شد، قطر هاله عدم رشد باکتری *اشرشیا کلی* برابر با ۱۸ میلی‌متر گزارش شد. در همین مطالعه، MIC و MBC این باکتری در برابر عصاره آبی آلوئه‌ورا بررسی و به ترتیب (۰/۶۲۵ و ۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) گزارش شد. نتایج ضد میکروبی به شدت به غلظت به کار رفته بستگی دارد. در برخی موارد حتی غلظت‌های بالاتر از عصاره می‌تواند نتایج کم‌تری نسبت به غلظت‌های پایین‌تر از خود نشان دهد [۳۸].

کم‌ترین غلظتی که باعث بازدارندگی از رشد باکتری‌ها می‌شود (MIC) و کم‌ترین غلظتی که موجب مرگ باکتری خواهد شد (MBC) ارزیابی و در جدول ۴ گزارش شد.

به دست آمده در برابر باکتری‌های گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* که عصاره آبی بالاترین اثر را بر آن‌ها داشت مقادیری برابر با به ترتیب ۱۳ و ۱۴ میلی‌متر بود. این مقادیر با جدول ۳ و ۴ مغایرت داشت ولی در کل باتوجه به داده‌های گزارش شده در هر دو اثر می‌توان گفت اثر ضد میکروبی عصاره آبی و اتانولی برگ آلوئه‌ورا بر گرم مثبت‌ها بیشتر است. در واقع اثر ضد میکروبی عصاره آبی آلوئه‌ورا بر سه باکتری ذکر شده، کم‌تر از عصاره اتانولی برگ این گیاه است [۱۲]. بندجدید و همکاران اثر ضد باکتریایی عصاره آلوئه‌ورا را با ۵ حلال مختلف در غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بررسی کرده و بیشترین اثر ضد میکروبی را مربوط به عصاره ان-بوتانول^{۳۳} و استونی آلوئه‌ورا (به ترتیب با قطر هاله عدم رشد ۲۵/۳۳ و ۲۲ میلی‌متر نسبت به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*) گزارش کردند. عصاره آبی

Table 4. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of *Aloe vera* extract

Pathogenic bacteria	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)
<i>E. coli</i>	32	>512
<i>S. dysenteriae</i>	64	>512
<i>S. typhi</i>	32	512
<i>S. aureus</i>	16	256
<i>L. monocytogenes</i>	32	512
<i>B. cereus</i>	16	256

دیسانتیری بود. بیش‌ترین به کم‌ترین اثر ضد میکروبی عصاره بر باکتری‌ها به ترتیب حداقل غلظت بازدارندگی، *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* *کلیستریا مونوسیترنوز*، *سالمونلا تیفی* و *اشرشیا کلی* *کشیگلا دیسانتری* مشخص شد. کم‌ترین غلظت کشندگی عصاره بر باکتری‌ها در جدول ۴ آورده شده است. MBC دو باکتری گرم منفی *اشرشیا کلی* و *کشیگلا دیسانتری* بزرگتر از ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود ولی باکتری گرم منفی *سالمونلا تیفی* در غلظت ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره از بین رفت. دو باکتری گرم مثبت

برای تعیین این دو معیار، ابتدا غلظت‌های مختلف عصاره از روش رقت‌سازی متوالی انجام گرفت. رقت‌های متوالی (۵۱۲، ۲۵۶، ۱۲۸، ۶۴، ۳۲، ۱۶، ۸، ۴، ۲ و ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) از عصاره تهیه شد. باتوجه به نتایج به دست آمده پایین‌ترین غلظتی از عصاره که توانست از رشد میکروارگانیسم جلوگیری کند، ۱۶ میلی‌لیتر بر میلی‌گرم در برابر باکتری گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بود. بالاترین درصد از عصاره که توانایی مهار رشد را داشت، ۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در برابر باکتری گرم منفی *کشیگلا*

باکتری‌های نام‌برده بود. آلوئه‌ورا در این مطالعه در همان غلظت مهاری (۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) توانست اثر کشندگی بر روی باکتری گرم منفی *اشرشیا کلی* داشته باشد [۴۳].

۴- نتیجه‌گیری کلی

در مطالعه حاضر، میزان فنل کل و فلاونوئید عصاره آبی برگ آلوئه‌ورا به دست آمد. براساس نتایج به دست آمده، این عصاره پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بالایی داشته و فعالیت ضد میکروبی مناسبی در برابر ۶ پاتوژن منتخب از خود نشان داد. درصد مهار کاتیون DPPH توسط این عصاره در غلظت‌های یکسان، بالاتر از ABTS مشاهده شد. همچنین اثر ضد میکروبی عصاره آبی آلوئه‌ورا بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از گرم منفی‌ها گزارش شد. در کل می‌توان از پتانسیل این عصاره به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در صنعت غذا بهره برد.

۵- تقدیر و تشکر

مقاله حاضر مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد می‌باشد، لذا 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.

استافیلوکوکوس اورئوس و *باسیلوس سرئوس* در غلظت پایین‌تری از عصاره MBC داشتند که نشان‌دهنده اثر ضد میکروبی بالاتر عصاره بر این دو باکتری است. و در نهایت باکتری گرم مثبت *لیستریا مونوسیژنوز* دارای MBC در غلظت ۵۱۲ عصاره بود. به طور کلی می‌توان گفت که عصاره آبی آلوئه‌ورا اثر ضد میکروبی بالاتری بر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به گرم منفی‌ها داشت. عوامل ضد میکروبی مختلف، با هدف قرار دادن قسمت‌های مختلف غشای باکتری‌ها موجب مهار و یا کشندگی می‌شوند. در واقع می‌توان با استناد بر تفاوت ساختار غشای باکتری‌های گرم مثبت و منفی، مقاومت بالاتر گرم منفی‌ها را در برابر این عصاره توجیح کرد [۳۹، ۴۰ و ۴۱]. ارباب و همکاران نیز به بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره ژل آلوئه‌ورا بر باکتری‌های دخیل در عفونت‌های پوستی (*اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *شیگلا* و *سالمونلا*) پرداختند که ژل فعالیت بالایی نشان داد به طوری که نتایج بر روی ۴ سوبه بسیار نزدیک به هم بود. در این پژوهش نیز اثر عصاره اتانولی بر روی پاتوژن‌ها بیشتر مشخص شد [۴۲]. فعالیت ضد میکروبی ژل آلوئه‌ورا بر روی دو پاتوژن *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کلی* توسط محبی و همکاران مورد بررسی قرار گرفت؛ هرچند این ماده در غلظت‌های پایین‌تری (به ترتیب ۲ و ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) قادر به مهار رشد

۶- منابع

- [1] Veiga, M., Costa, E. M., Silva, S., & Pintado, M. (2020). Impact of plant extracts upon human health: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(5), 873-886.
- [2] Tanavar, H., Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B., Mehrnia, M. A. (2021). Investigation of the chemical properties of *Mentha pulegium* essential oil and its application in *Ocimum basilicum* seed mucilage edible coating for extending the quality and shelf life of veal stored in refrigerator (4°C). *Food Science & Nutrition*, 9(10), 5600-5615.
- [3] Olszewska, M. A., Gędas, A., & Simões, M. (2020). Antimicrobial polyphenol-rich extracts: Applications and limitations in the food industry. *Food Research International*, 134, 109214.
- [4] Kolawole, F. O., Kolawole, S. K., Owa, F. A., Adebayo, A. O., Ajibola, O. O., & Hassan, S. B. (2023). Chapter 22 - Green nanomaterials and their

anticorrosive properties. pp. 453-477 In C. Verma, V. Srivastava, T. W. Quadri, C. Mustansar Hussain, & E. E. Ebenso Eds. *Smart Anticorrosive Materials*: Elsevier.

[5] Noshad, M., Alizadeh Behbahani, B., Jooyandeh, H., Rahmati-Joneidabad, M., Hemmati Kaykha, M. E., 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):1625-1639.

[6] Chaves, N., Santiago, A., & Alías, J. C. (2020). Quantification of the Antioxidant Activity of Plant Extracts: Analysis of Sensitivity and Hierarchization Based on the Method Used. *Antioxidants*, 9(1). 76.

- [7] Vaou, N., Stavropoulou, E., Voidarou, C., Tsigalou, C., & Bezirtzoglou, E. (2021). Towards Advances in Medicinal Plant Antimicrobial Activity: A Review Study on Challenges and Future Perspectives. *Microorganisms*, 9(10). 2041.
- [8] Zanganeh, H., Mortazavi, S., Shahidi, F., & Alizadeh Behbahani, B. (2021). Evaluation of the chemical and antibacterial properties of Citrus paradise essential oil and its application in *Lallemantia iberica* seed mucilage edible coating to improve the physicochemical, microbiological and sensory properties of lamb during refrigerated storage. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(1), 1-16.
- [9] Sánchez, M., González-Burgos, E., Iglesias, I., & Gómez-Serranillos, M. P. (2020). Pharmacological Update Properties of Aloe Vera and its Major Active Constituents. *Molecules*, 25(6). 1324.
- [10] Nicolau-Lapeña, I., Colàs-Medà, P., Alegre, I., Aguiló-Aguayo, I., Muranyi, P., & Viñas, I. (2021). Aloe vera gel: An update on its use as a functional edible coating to preserve fruits and vegetables. *Progress in Organic Coatings*, 151, 106007.
- [11] Sonawane, S. K., Gokhale, J. S., Mulla, M. Z., Kandu, V. R., & Patil, S. (2021). A comprehensive overview of functional and rheological properties of aloe vera and its application in foods. *Journal of Food Science and Technology*, 58(4), 1217-1226.
- [12] Danish, P., Ali, Q., Hafeez, M., & Malik, A. (2020). ANTIFUNGAL AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ALOE VERA PLANT EXTRACT. *Biological and Clinical Sciences Research Journal*, 2020(1).
- [13] Manye, S. J., Saleh, J. S., Ishaya, H. B., Chiroma, S. M., Attah, M. O. O., & Dibal, N. I. (2023). Phytochemical screening and in-vitro antioxidant activities of aqueous and methanol extracts of Aloe vera. *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine*, 8, 100291.
- [14] Maan, A. A., Reiad Ahmed, Z. F., Iqbal Khan, M. K., Riaz, A., & Nazir, A. (2021). Aloe vera gel, an excellent base material for edible films and coatings. *Trends in Food Science & Technology*, 116, 329-341.
- [15] Ghazanfari, N., Mortazavi, S. A., Yazdi, F. T., & Mohammadi, M. (2020). Microwave-assisted hydrodistillation extraction of essential oil from coriander seeds and evaluation of their composition, antioxidant and antimicrobial activity. *Heliyon*, 6(9), 2405-8440.
- [16] Ebrahimi Hemmati Kaykha, M., Jooyandeh, H., Alizadeh Behbahani, B., & Noshad, M. (2022). Identification of chemical compounds, antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents and cytotoxicity effect of *Rosmarinus officinalis* essential oil. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 18(4), 467-482.
- [17] Kiarsi, Z., Hojjati, M., Alizadeh Behbahani, B., & 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), e12782.
- [18] Kaparakou, E. H., Kanakis, C. D., Gerogianni, M., Maniati, M., Vekrellis, K., Skotti, E., & Tarantilis, P. A. (2021). Quantitative determination of aloin, antioxidant activity, and toxicity of Aloe vera leaf gel products from Greece. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 101(2). 414-423.
- [19] Sureshjani, M. H., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., Behbahani, B. A., & Shahidi, F. (2014). Antimicrobial effects of *Kelussia odoratissima* extracts against food borne and food spoilage bacteria" in vitro. *Journal of Paramedical Sciences*, 5(2), 115-120.
- [20] Bendjedid, S., Lekmine, S., Tadjine, A., Djelloul, R., & Bensouici, C. (2021). Analysis of phytochemical constituents, antibacterial, antioxidant, photoprotective activities and cytotoxic effect of leaves extracts and fractions of *Aloe vera*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 33, 101991.
- [21] Hojjati, M., Omidi-Mirzaei, M., & Kiarsi, Z. (2020). Evaluation of chemical constituents and antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of two citrus species. *FSCT*. 17(100), 127-138.
- [22] Omidi Mirzaei, M., Hojjati, M., Alizadeh Behbahani, B., & Noshad, M. (2020). Determination of chemical composition, antioxidant properties and antimicrobial activity of coriander seed essential oil on a number of pathogenic microorganisms. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 16(2), 221-233.
- [23] Safari, E., Barzegar, H., Jooyande, H., & Alizadeh Behbahani, B. (2023). Identification of Functional Groups, Total Phenol and Flavonoids Contents, Antioxidant Potential and Antimicrobial Activity of Black Pepper (*Piper nigrum* L.) Aqueous Extract and Its Interactions with Chloramphenicol and Amphotericin B. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 19(1), 79-93.
- [24] Wojdyło, A., & Oszmiański, J. (2020). Antioxidant Activity Modulated by Polyphenol Contents in Apple and Leaves during Fruit Development and Ripening. *Antioxidants*, 9(7), 567.
- [25] Zeb, A. (2021). Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods. *J Food Biochem*. 44(9), e13394.
- [26] Kumar, S., Yadav, A., Yadav, M., & Yadav, J. P. (2017). Effect of climate change on phytochemical diversity, total phenolic content and in vitro antioxidant activity of *Aloe vera* (L.) *Burm.f*. *BMC Research Notes*, 10(1), 60.
- [27] Heydari, S., Jooyandeh, H., Behbahani, B., & Noshad, M. (2020). The impact of Qodume Shirazi seed mucilage-based edible coating containing

- lavender essential oil on the quality enhancement and shelf life improvement of fresh ostrich meat: An experimental and modeling study. *Food Science & Nutrition*, 8(12), 6497-6512.
- [28] Sharma, S., Verma, O., Devi, L., & Kumar, R. (2021). ANTIOXIDANT ACTIVITY, TOTAL PHENOLIC AND FLAVONOID CONTENTS OF ALOE VERA LEAVES EXTRACT. *Journal of Phytochemical Research*. 34(1), 49.
- [29] Bista, R., Ghimire, A., & Subedi, S. (2020). Phytochemicals and Antioxidant Activities of Aloe Vera (*Aloe Barbadensis*). *J Nut Sci Heal Diet 1*(1): 25-36.
- [30] Yeganegi, M., Yazdi, F.T., Mortazavi, S.A., Asili, J., Behbahani, B.A. and Beigbabaei, A. (2018). *Equisetum telmateia* extracts: Chemical compositions, antioxidant activity and antimicrobial effect on the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection. *Microbial pathogenesis*, 116, pp.62-67.
- [31] Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, R.P., & Chang, C.M. (2022). Determination of Antioxidants by DPPH Radical Scavenging Activity and Quantitative Phytochemical Analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules*.27(4):1326.
- [32] Alizadeh Behbahani, B., Falah, F., Vasiee, A., & Tabatabaee Yazdi, F. (2021). Control of microbial growth and lipid oxidation in beef using a *Lepidium perfoliatum* seed mucilage edible coating incorporated with chicory essential oil. *Food Science & Nutrition*, 9(5), 2458-2467.
- [33] Comas-Serra, F., Estrada, P., Minjares-Fuentes, R., & Femenia, A. (2023). Evaluation of Acemannan in Different Commercial Beverages Containing Aloe Vera (*Aloe barbadensis* Miller) Gel. *Gels*, 9(7).
- [34] Kahramanoğlu, İ., Chen, C., Chen, J., & Wan, C. (2019). Chemical Constituents, Antimicrobial Activity, and Food Preservative Characteristics of Aloe vera Gel. *Agronomy*, 9(12). 831.
- [35] Behbahani, B. A., Shahidi, F., Yazdi, F. T., & Mohebbi, M. (2013). Antifungal effect of aqueous and ethanolic mangrove plant extract on pathogenic fungus" in vitro". *International Journal of Agronomy and Plant Production*, 4(7), 1652-1658.
- [36] Tenover, F. C. (2019). Antimicrobial Susceptibility Testing. In T. M. Schmidt (Ed.), *Encyclopedia of Microbiology* (Fourth Edition) (pp. 166-175). Oxford: Academic Press.
- [37] Balouri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S.K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal*. 6(2):71-79.
- [38] Arsene, M. M. J., P. I. Viktorovna, G. V. Sergei, F. Hajjar, Y. N. Vyacheslavovna, Z. A. Vladimirovna, V. E. Aleksandrovna, S. A. Nikolayevich & N. Sachivkina (2022). Phytochemical Analysis, Antibacterial and Antibiofilm Activities of Aloe vera Aqueous Extract against Selected Resistant Gram-Negative Bacteria Involved in Urinary Tract Infections. *Fermentation*, 8(11), 626.
- [39] Epand, R. M., Walker, C., Epand, R. F., & Magarvey, N. A. (2016). Molecular mechanisms of membrane targeting antibiotics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1858(5), 980-987.
- [40] Tabatabaei Yazdi, F., & Alizadeh Behbahani, B. (2013). Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic *Teucrium polium* L. extracts on gram positive and gram negative bacteria "in vitro". *Archives of Advances in Biosciences*, 4(4). 55-61.
- [41] Alghooneh, A., Alizadeh Behbahani, B., Noorbakhsh, H., Yazdi, F. T. (2015). Application of intelligent modeling to predict the population dynamics of *Pseudomonas aeruginosa* in Frankfurter sausage containing Satureja extract. *Microbial Pathogenesis*. 85, 58-65.
- [42] Arbab, S., Ullah, H., Weiwei, W., Wei, X., Ahmad, SU., Wu, L., & Zhang, J. (2021). Comparative study of antimicrobial action of aloe vera and antibiotics against different bacterial isolates from skin infection. *Vet Med Sci*. 7(5), 2061-2067.
- [43] Mohebbi, M., Alizadeh Behbahani, B., Ansarifard, E., & Noshad, M. (2015). Antimicrobial effect of Aloe vera and chitosan "in vitro". { اثر ضد میکروبی آلونه ورا و کیتوزان در شرایط آزمایشگاهی}. *IRANA JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES AND TROPICAL MEDICINE*. 19(67), 21-29.



Scientific Research

Evaluation of antioxidant properties and antimicrobial potential of *Aloe vera* extract on a number of Gram-positive and Gram-negative bacteria: an *in vitro* study

Narges Sharifat¹, Mohammad Amin Mehrnia^{*2}, Hassan Barzegar², Behrooz Alizadeh Behbahani²

1–M. Sc Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

2–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

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received:2024/7/3
Accepted:2024/8/26

Keywords:

Aloe vera gel,
Antibacterial,
Bioactive compounds,
Natural preservative.

DOI: 10.22034/FSCT.22.158.172.

*Corresponding Author E-
mehrnia@asnrukh.ac.ir

Nowadays food products who contain "natural" ingredients are trending among consumers as a result of raising knowledge and awareness about food ingredients and their influence on human's body health. The aim of this study was to investigate the biochemical (total phenol and flavonoid) of Aloe vera aqueous extract as a natural preservative and determination of antioxidant and antibacterial activity of the extract. Total phenol and total flavonoid content of the aqueous extract was measured as 41.61 ± 0.78 mg GAE/g extract and 783.33 ± 5.13 mg QE/g extract respectively. Free radical scavenging activity determined at different concentrations of Aloe extract; at highest concentration (600 mg/ml) %68.395 inhibitory effect was estimated through DPPH assay and %50.075 through ABTS assay. Aloe extract showed a greater effect on Gram-positive bacteria through disk diffusion agar and well diffusion agar methods. Minimum inhibitory concentrations (MIC) for *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and *Bacillus cereus* estimated 32, 64, 32, 16, 32 and 16 mg/mL respectively. Based on results in this study, Aloe vera aqueous extract can be a candidate to use as a preservative in food products.