

مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir



مقاله علمی_پژوهشی

اسانس مینای نیشابوری: قدرت آنتیاکسیدانی، فنل و فلاونوئید کل و اثر ضدمیکروبی آن بر تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی در شرایط آزمایشگاهی

محمدامین مهرنیا^{۱*}، بهروز علیزاده ببهانی^۱، حسن برزگر^۲، هادی تناور^۳

۱- استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملااثانی، ایران

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

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

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۸/۲۰

تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۹/۲۵

کلمات کلیدی:

مینای نیشابوری،

دیسک دیفیوژن،

پتانسیل آنتیاکسیدانی،

فنل کل.

DOI: 10.52547/fsct.18.03.16

* مسئول مکاتبات:

Mehrnia@asnrukh.ac.ir

مقاومت سویه‌های میکروبی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها و حفظ ایمنی مواد غذایی از مهم‌ترین مشکلات جهانی است. لذا هدف از این پژوهش بررسی محتوی فنل، فلاونوئیدی، قدرت آنتیاکسیدانی و فعالیت ضدباکتریایی اسانس مینای نیشابوری بود. در این پژوهش میزان ترکیبات فنل و فلاونوئیدی اسانس مینای نیشابوری به ترتیب با استفاده از معرف فولین-سیوکالتو و روش رنگ‌ستجی کلرید آلومینیوم اندازه‌گیری شد. پتانسیل آنتیاکسیدانی این اسانس گیاهی با روش‌های ABTS و DPPH و بتاکاروتون-لینولئیک اسید بررسی گردید. از روش‌های چاهک آگار، دیسک دیفیوژن، حداقل غلظت مهارکنندگی، حداقل غلظت کشنندگی جهت بررسی فعالیت ضدباکتریایی اسانس علیه تعدادی از باکتری‌های پاتوژن استفاده شد. بر اساس نتایج میزان فنل تام و فلاونوئید اسانس مینای نیشابوری به ترتیب $g mg QE/g ۵۵/۶۳$ و $mg GAE/g ۶۲/۲۸$ بود. قدرت آنتیاکسیدانی اسانس با استفاده از روش‌های ABTS و بتاکاروتون-لینولئیک اسید به ترتیب $۵۲/۳۹$ و $۵۲/۳۹$ و $۶۸/۳$ و $۴۹/۹۵$ بر حسب درصد اندازه‌گیری شد. بیشترین هاله اندازه‌گیری طی روش دیسک دیفیوژن با قطر $۱۶/۲$ و $۹/۷$ میلی‌متر به باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و انتروباکتر اثروژنر تعلق داشت. حداقل غلظت کشنندگی اسانس مینای نیشابوری در تمامی سویه‌ها بیشتر از حداقل غلظت مهارکنندگی بود. باکتری‌های گرم منفی مقاومت بیشتری از خود در برابر اسانس نشان دادند. اسانس مینای نیشابوری قدرت ضدباکتریایی و پتانسیل آنتیاکسیدانی مطلوبی داشت. نتایج نشان داد استفاده از این اسانس گیاهی می‌تواند موجب مهار و توقف رشد باکتری‌های بیماری‌زا شود.

۱- مقدمه

چهار گونه گیاهی از جنس *Sclerorhachis* شناسایی شده است و در این میان دو گونه آن با نام‌های *Sclerorhachisplatyrachis* و *Sclerorhachisleptoclada* اساس نتایج به دست آمده از پژوهش‌های پیشین اسانس میانی نیشابوری منبعی غنی از متابولیت‌های ثانویه محسوب می‌شود^[۸]. از عمدۀ ترین ترکیبات تشکیل دهنده این گیاه می‌توان به آلفا پینین، کامفر و بتا پینین اشاره کرد^[۱۰]. خواص درمانی میانی نیشابوری در گذشته نیز مورد توجه بوده است و در طب سنتی از آن استفاده شده است^[۱۱]. از طرفی در بعضی مناطق به دلیل عطر و رایحه مطلوب این گیاه از آن به عنوان افزودنی در مواد غذایی استفاده می‌شود. امروزه نیز با پیشرفت علم مشخص شده است که گیاه میانی نیشابوری پتانسیل آنتی اکسیدانی، خواص ضد باکتریایی و ضدقارچی قابل قبولی دارد^{[۸] و [۱۱]}.

باتوجه با پوشش گیاهی ایران امکان دسترسی ساده و ارزان به گیاهان با خواص و ترکیبات دارویی وجود دارد. استفاده از این منابع طبیعی می‌تواند تا حدودی نگرانی‌های مربوط به خطرناکی نگهدارنده‌های سنتزی و سلامت جامعه انسانی را برطرف کند. لذا هدف از این پژوهش بررسی محتوی فتل تام، فلاونوئیدی، پتانسیل آنتی اکسیدانی و قدرت ضدباکتریایی اسانس میانی نیشابوری علیه تعدادی از پاتوژن‌های مطرح صنعت غذایی بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه سویه‌های میکروبی و مواد مصرفی

در این پژوهش از ۵ سویه میکروبی استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 25923^۱، اشرشیا کلی ATCC 25922^۲، سودوموناس ائروژنوزا ATCC 27853^۳، انتروباکتر ATCC 13048^۴ و لیستریا اینکو^۵ ۳۳۰۹۰ استفاده گردید. همگی این سویه‌های میکروبی از آزمایشگاه میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشکده علوم دامی و

حفظ کیفیت و امنیت غذایی در چرخه تولید تا مصرف از مهم‌ترین اهداف پژوهشگران است. به نحوی که مصرف کنندگان با استفاده از مواد غذایی دچار مسمومیت و عفونت نشوند^[۱]. استفاده از نگهدارنده‌های سنتزی و آنتی‌بیوتیک‌ها برای کنترل فساد مواد غذایی موجب عوارض جانبی و هزینه‌های فراوانی شده است. با مرور زمان و استفاده مداوم از آنتی‌بیوتیک‌ها بسیاری از سویه‌های میکروبی نسبت به این مواد مقاوم شده اند که باعث مشکلات فراوانی می‌شود^[۲].

بر اساس آمارهای ارائه شده ۲۵۰ تا ۵۰۰ هزار گونه گیاهی در سرتاسر جهان شناسایی شده است^[۳]. پوشش گیاهی و آب و هوای متفاوت در ایران باعث شده تا بسیاری از گونه‌های گیاهان دارویی در کشورمان توانایی رشد داشته باشند^[۴]. از جمله ترکیبات با ارزش گیاهی متابولیت‌های ثانویه آن‌ها است که پایه اصلی بسیاری از مواد دارویی می‌باشد^[۱]. فنل، فلاونوئید، کاروتونوئید از مهم‌ترین متابولیت‌های ثانویه هستند که در قسمت‌های مختلف گیاهان مانند برگ، ساقه و شاخه‌ها وجود دارند. میان ترکیبات فنلی و پتانسل آنتی اکسیدانی رابطه مستقیمی برقرار است و افزایش این ترکیبات موجب بالا بردن قدرت آنتی اکسیدانی می‌شود^[۲].

آنتی اکسیدان‌ها به ترکیباتی گفته می‌شود که با دادن الکترون یا هیدروژن رادیکال‌های آزاد را مهار می‌کنند و طی یک چرخه موجب‌گذاشش سرعت و حتی مهار اکسیداسیونی شوند^[۵]. استرس‌های اکسیداتیو آثار نامطلوبی بر سلامتی انسان‌ها دارد و موجب بسیاری از بیماری‌ها می‌شوند. استفاده از آنتی اکسیدان‌های سنتزی به دلیل قیمت پایین و اثربخشی بالای آن‌ها بسیار مرسوم است^[۶]. با این وجود استفاده از مواد سنتزی به دلیل ایجاد عوارض جانبی در مصرف کنندگان طی زمان مورد ابهام قرار گرفته است^[۵]. آمار سازمان بهداشت جهانی نیز نشان می‌دهد تمایل به استفاده از ترکیبات گیاهی افزایش یافته و حدود ۸۰ درصد از مردم استفاده از ترکیبات گیاهی فاقد عوارض جانبی را به مواد و نگهدارنده‌های سنتزی ترجیح می‌دهند^[۷].

میانی نیشابوری گیاهی معطر و چند ساله است که در نواحی شمال شرقی ایران و کشور افغانستان یافت می‌شود^[۸]. این گیاه متعلق به خانواده کاسنیان می‌باشد و با نام علمی *Sclerorhachisplatyrachis* شناخته می‌شود^[۳].

1. *Staphylococcus aureus*

2. *Escherichia coli*

3. *Pseudomonas aeruginosa*

4. *Enterobacter aerogenes*

5. *Listeria innocua*

ساعت هاله عدم رشد بر حسب میلی متر اندازه گیری شد [۱۳ و ۱۴].

۵-۲- تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس

مینای نیشابوری به روش میکرودایلوشن براث

در این روش ابتدا ۴ گرم اسانس مینای نیشابوری به ۹ میلی لیتر محیط کشت مولر هیبتون براث و ۱ میلی لیتر امولسیفایر افزوده شد و بدین ترتیب محلول استوک با غلظت ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر تهیه گردید. غلظت‌های متواتی از محلول استوک ساخته و ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌ها به چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای افزوده شد. پس از تلقیح ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون‌های میکروبی در ردیف‌های میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت صورت پذیرفت. از معرف ۵ درصدتری فنیل ترازویوم کلراید جهت شناسایی چاهک‌هایی که باکتری رشد کرده استفاده شد. اولین چاهکی که در آن تغییر رنگ صورت نگرفته بود به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی ثبت گردید [۱۵].

۶-۲- تعیین حداقل غلظت کشنده‌گی اسانس

مینای نیشابوری

جهت تعیین حداقل غلظت کشنده‌گی اسانس مینای نیشابوری میزان ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای که در آن‌ها تغییر رنگی رخ نداده برداشته و بر سطح محیط کشت مولر هیبتون آگار کشت شد. اولین پلیتی که پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد هیچ کلنی در آن رشد نکرده بود به عنوان حداقل غلظت کشنده‌گی گزارش گردید [۱۳ و ۱۶].

۷-۲- تعیین محتوای فنل کل اسانس مینای

نیشابوری

بررسی میزان ترکیبات فنلی کل مطابق با روش دهقان و همکاران (۱۳۹۷)، با استفاده از واکنشگر فولین- سیوکالتو صورت پذیرفت. در این روش ابتدا ۱ میلی لیتر از اسانس مینای نیشابوری را با ۲/۵ میلی لیتر از واکنشگر فولین ترکیب کرده و ۲/۵ دقیقه در دمای اتاق و محیطی تاریک نگهداری شد. در نهایت پس از افزودن ۲ میلی لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد به

صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان تهیه شدند. رادیکال آزاد DPPH (۲،۲-فنیل پیکریل هیدرازیل)، رادیکال آزاد ABTS (۲،۲-آزینو بیس-۳-اتیل بنزو تیازولین-۶-سولفونیک اسید)، بتا-کاروتون، گالیک اسید، محیط‌های کشت میکروبی شامل: مولر هیبتون آگار و مولر هیبتون براث از شرکت سیگما-آلدریچ (آمریکا) خریداری شدند.

۲-۲- تهیه اسانس مینای نیشابوری

اسانس گیری از گیاه مینای نیشابوری با روش تقطیر با آب انجام گردید. در این روش میزان ۵۰ گرم پودر گیاه به ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر در درون دستگاه کلونجر اضافه شد و عمل اسانس گیری به مدت ۳ ساعت انجام شد. پس از اتمام عمل اسانس گیری، اسانس جمع آوری شده به درون ظروف تیره پوشیده شده با فویل آلومینیومی منتقل شده و تا زمان انجام آزمون‌های میکروبی و شیمیایی در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری گردید [۱۲].

۳-۲- بررسی فعالیت ضدمیکروبی اسانس

مینای نیشابوری به روش چاهک آگار

در این روش ابتدا پلیت‌ها با ۲۰ میلی لیتر محیط کشت مولر هیبتون آگار استریل شده توسط اتوکلاو پر شدند. ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی بر سطح محیط کشت تلقیح و پخش گردید. سپس ۲۰ میکرولیتر از اسانس استریل شده به چاهک‌های ایجاد شده توسط انتهای پی‌پت پاستور استریل (به قطر ۶ میلی‌متر) انتقال یافت. پس از طی مرحله پیش انتشار (۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد) گرمخانه گذاری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد صورت گرفت. قطر هاله عدم رشد توسط خطکش اندازه گیری و بر حسب میلی‌متر ثبت گردید [۱۳].

۴-۲- بررسی فعالیت ضدمیکروبی اسانس

مینای نیشابوری به روش دیسک دیفیوژن

این روش شباهت‌های فراوانی با روش چاهک آگار که مراحل آن گفته شد دارد. تنها تفاوت این دو روش مکان انتقال اسانس است که از دیسک‌های بلانک با قطر ۶ میلی‌متر به عنوان مکان تلقیح اسانس استفاده شد. پس از طی مرحله پیش انتشار و گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴

۱۰-۲- آنالیز آماری

جهت آنالیز داده‌های از نرم‌افزار SPSS^۱ نسخه ۱۸ استفاده شد. تمامی آزمون‌ها در سه تکرار صورت گرفت. از آزمون چند دامنه‌ای دانکن^۲ جهت مقایسه میانگین داده‌ها در سطح ۵ درصد استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

نتایج مربوط به فعالیت ضدبacterیایی اسانس مینای نیشابوری به روش دیسک دیفیوژن در جدول ۱، ذکر شده است. میانگین قطر هاله عدم رشد برای سویه‌های سودوموناسائرورژینزرا، انتروباکترائورژنر، اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس ولیستریا/ینکوا به ترتیب ۱۰/۸، ۹/۷، ۱۰/۲ و ۱۱/۶ میلی‌متر بود. بر اساس نتایج دیسک دیفیوژن انتروباکترائورژنر بیشترین مقاومت را در برابر فعالیت ضدبacterیایی اسانس مینای نیشابوری از خود نشان داد. نتایج مربوط به اثر ضدبacterیایی اسانس مینای نیشابوری به روش چاهک آگار در جدول ۲، ذکر شده است. بر اساس نتایج به دست آمده میانگین قطر هاله عدم رشد سویه‌های سودوموناسائرورژینزرا، انتروباکترائورژنر، اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس ولیستریا/ینکوا به ترتیب ۱۲/۱، ۱۰/۵، ۱۱/۳ و ۱۸/۲ و ۱۳/۵ میلی‌متر بود. نتایج نشان داد قطر هاله عدم رشد تمامی سویه‌ها به روش چاهک آگار بیش از روش دیسک دیفیوژن است. همچنین سویه‌های گرم مثبت نسبت به اسانس مینای نیشابوری حساسیت بیشتری داشتند. از دیسک‌های کلامفنیکل جهت مقایسه هاله ایجاد شده به روش دیسک دیفیوژن استفاده شده که نتایج آن در جدول ۱، ذکر شده است. نتایج نشان داد که آنتی‌بیوتیک کلامفنیکل بر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس با قطر هاله ۲۷/۸۰ میلی‌متر بیشترین اثر را داشت. مقایسه دوتایی میان اثر ضدمیکروبی اسانس مینای نیشابوری با سویه‌های بیماری‌زا با آنتی‌بیوتیک کلامفنیکل نشان داد در سطح آماری ۵ درصد اختلاف معنی‌داری برای تمامی سویه‌های بیماری‌زا مشاهده شد. به طور کلی اثر ضدمیکروبی آنتی‌بیوتیک کلامفنیکل بر سویه‌های مورد بررسی

نمونه‌ها و گذشت ۱ ساعت میزان جذب در طول موج ۷۲۵

نانومتر اندازه‌گیری و گزارش گردید [۱۷].

۲-۸-۲- تعیین ترکیبات‌فلاؤنوفیلی اسانس مینای نیشابوری

از روش رنگ‌سنگی کلرید آلومینیوم جهت تعیین میزان ترکیبات فلاموفیلی مطابق با روش انصاری‌پور و همکاران (۱۳۹۸)، استفاده شد. در ابتدا ۱ میلی‌لیتر از اسانس را به ۱/۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۷۵ میکرولیتر نیتریت سدیم ۵ درصد اضافه شد. ۱۵۰ میکرولیتر آلومینیوم تری کلراید پس از گذشت ۶ دقیقه به نمونه‌ها افزوده گردید. نمونه‌ها مجدد ۵ دقیقه در تاریکی نگهداری شدند. میزان جذب پس از افزودن یک میلی‌لیتر سود ۱ مولار در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید [۱۸].

۲-۹-۲- ارزیابی قدرت آنتی اکسیدانی اسانس مینای نیشابوری

DPPH-۱-۹-۲- روش مهارکنندگی رادیکال

در این روش از رادیکال‌های ۲، ۲- دیفنیل-۱-پیکریلهیدرازیل جهت ارزیابی قدرت آنتی اکسیدانی اسانس استفاده شد. بدین صورت که ۱ میلی‌لیتر از اسانس با ۳ میلی‌لیتر معرف DPPH ترکیب و ۳۰ دقیقه در تاریکی انکوبه گردید. میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد [۱۹].

ABTS-۲-۹-۲- روش مهارکنندگی رادیکال

طی این آزمون به وسیله پتاسیم پرسولفات محلول ABTS دچار اکسیداسیون شده و ABTS⁺ تولید می‌گردد. قدرت آنتی اکسیدانی اسانس با بررسی تغییرات رنگ در طول موج ۷۳۴ نانومتر مطابق با روش نوروزی و همکاران (۱۳۹۷)، و همکاران محاسبه شد [۲۰].

۳-۹-۲- روش بتاکاروتون لینولئیک اسید

قدرت آنتی اکسیدانی اسانس طی این آزمون با ثبت تغییرات رنگ بتاکاروتون توسط دستگاه اسپکتروفتوسکوپ زمان گذشت تعیین شد. هرچه قدرت آنتی اکسیدانی اسانس بیشتر باشد سرعت تغییر رنگ بتاکاروتون در اثر واکنش با رادیکال‌های آزاد کاهش می‌یابد [۲۱].

1. Statistical package for social science

2. Duncan

درصد وجود ندارد اما میان باکتری لیستریا اینوکوا با سایر سویه‌های میکروبی در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید. در سطح آماری ۵ درصد سویه گرم مثبت استافیلوكوکوس اورئوس با تمامی سویه‌های بیماری‌زا (سودوموناس ائروژینوزا، انتروبیکتر ائروژنر و اشرشیا کلی) تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. نتایج نشان داد میان باکتری اشرشیا کلی با لیستریا اینوکوا تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ لیستریا اینوکوا) اختلاف معنی‌داری داشت.

Table 1 The mean inhibition zone diameter (mm) *Sclerorhachisplatyrachis* essential oil (SPEO) and chloramphenicol antibiotic on some pathogenic microorganisms by disk diffusion agar method

Antimicrobial substance Microorganism	SPEO	Chloramphenicol
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10.00 ± 0.33 ^a	18.50 ± 0.60 ^b
<i>Escherichia coli</i>	10.80 ± 0.40 ^a	14.60 ± 0.50 ^b
<i>Enterobacter aerogenes</i>	9.70 ± 0.29 ^a	15.00 ± 0.30 ^b
<i>Listeria innocua</i>	11.60 ± 0.43 ^a	17.00 ± 0.45 ^b
<i>Staphylococcus aureus</i>	16.20 ± 0.30 ^a	27.80 ± 0.80 ^b

Means within the same row with different small letters differ significantly ($p < 0.05$).

Values are expressed as mean ± standard deviations, $n = 3$.

میلی‌گرم بر میلی‌لیتر قرار داشت. انتروبیکتر ائروژنر با حداقل غلظت کشنده بیش از ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و استافیلوكوکوس اورئوس با حداقل غلظت کشنده ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب بیشترین و کمترین مقاومت را در برابر انسانس مینای نیشابوری از خود نشان دادند. حداقل غلظت کشنده در تمامی سویه‌های ذکر شده بیش از حداقل غلظت مهارکننده بود.

Table 2 The minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal concentration (MBC) and well diffusion agar (WDA) of *Sclerorhachisplatyrachis* essential oil (SPEO) on some pathogenic microorganisms

Microorganism	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)	WDA (mm)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25	200	12.10 ± 0.50
<i>Escherichia coli</i>	25	200	11.30 ± 0.53
<i>Enterobacter aerogenes</i>	50	>400	10.50 ± 0.20
<i>Listeria innocua</i>	12.5	200	13.50 ± 0.51
<i>Staphylococcus aureus</i>	6.25	100	18.20 ± 0.46

فلاؤنوبئیدی انسانس مینای نیشابوری در جدول ۳، ذکر شده است. قدرت آنتی‌اکسیدانی انسانس مینای نیشابوری با سه روش مورد ارزیابی قرار گرفت که نتایج حاصل در جدول ۳ ذکر شده است. در هر سه آزمون از انسانس خالص استفاده شد. قدرت آنتی‌اکسیدانی انسانس مینای نیشابوری به روش رنگ‌سننجی بتاکاروتون لینولئیک اسید و مهار رادیکال‌های ABTS و DPPH به ترتیب ۴۸/۹۵، ۵۲/۳۹، ۶۷/۳ درصد بود.

بیشتر از اثر انسانس مینای نیشابوری بود. مقایسه میان اثر ضدمیکروبی انسانس مینای نیشابوری بر سویه‌های بیماری‌زا نشان داد در سطح آماری ۵ درصد میان باکتری‌های سودوموناس ائروژینوزا، انتروبیکتر ائروژنر و اشرشیا کلی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. نتایج نشان داد میان باکتری اشرشیا کلی با لیستریا اینوکوا تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ لیستریا اینوکوا) اختلاف معنی‌داری داشت.

نتایج مربوط به حداقل غلظت مهارکننده و کشنده انسانس مینای نیشابوری در جدول ۲، ذکر شده است. حداقل غلظت مهارکننده برای باکتری‌های سودوموناس ائروژینوزا، استافیلوكوکوس اورئوس و انتروبیکتر ائروژنر، اشرشیا کلی، استافیلوكوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا به ترتیب ۶/۲۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت کشنده انسانس مینای نیشابور بسته به نوع باکتری در محدوده ۱۰۰ تا بیش از ۴۰۰

از واکنشگر فولین- سیوکالتو جهت تعیین میزان ترکیبات فنلی انسانس مینای نیشابوری استفاده شد. بر اساس نتایج به دست آمده میزان ترکیبات فنلی در یک گرم از انسانس معادل با ۵۵/۶۳ میلی‌گرم گالیک اسید بود. فلانوبئیدها دسته‌ای از ترکیبات فنلی محسوب می‌شوند که توانایی مهار عوامل اکسید کننده را دارند. نتایج نشان داد میزان این ترکیبات برابر با ۶۲/۲۸ میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم از انسانس مینای نیشابوری بود. نتایج مربوط به اندازه‌گیری محتوی فنلی و

Table 3 The total phenolic content, total flavonoids content and antioxidant activity of *Sclerorhachisplatyrachis* essential oil (SPEO)

Antioxidant activity (%)		Total flavonoid content (mg QE/g)	Total phenolic content (mg GAE/g)
β-carotene-linoleic acid assay	ABTS	DPPH	
48.95±0.65	68.30±0.50	52.39±0.63	62.28±0.46
			55.63±0.29

گرم مثبت و منفی می‌باشد. عصاره آبی گل و بذر نسبت به سایر حلال‌های به کار برده شده بیشترین فعالیت ضدمیکروبی را داشتند [۲۵].

در گیاهان ترکیبات فنلی گوناگونی وجود دارد و فلاونوئیدها از جمله مشتقات آن‌ها محسوب می‌شوند. وجود رابطه مستقیم میان ترکیبات فنلی و قدرت آنتی اکسیدانی در بسیاری از پژوهش‌های پیشین اثبات شده است. علت این امر را می‌توان به گروه‌های هیدروکسیل موجود در ساختار ترکیبات فنلی مرتبط دانست. گروه‌های هیدروکسیل به عنوان دهنده هیدروژن عمل کرده و موجب کنترل عوامل اکسید کننده می‌شوند به این ترتیب از اکسیداسیون جلوگیری می‌کنند [۱۹]. مهریار و اسکندرخانی (۱۳۹۷)، میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصاره دانه آفتاب‌گردان متعلق به خانواده آستراسه را در زمان و دماهی متفاوت مورد بررسی قرار دادند. بر اساس نتایج به دست آمده افزایش زمان و دمای استخراج باعث افزایش ترکیبات فنلی کل شد. بیشترین ترکیبات فنلی در عصاره متنالولی (۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت) و کمترین آن در عصاره استونی (۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه) به ترتیب برابر با ۱۵۲/۰۲ و ۳۰/۳۴ برحسب میلی‌گرم گالیک Fazly Bazzaz [۲۶] اسید بر گرم وزن خشک گزارش کردند. و همکاران (۲۰۰۸) محتوی فلاونوئیدی ۴۲۲ گونه گیاهی منطقه خراسان را مورد بررسی قرار دادند. نتایج وجود ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه مینای نیشابوری تایید کرد [۲۷]. نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های این پژوهشگران همخوانی داشت. Akhlaghi و همکاران (۲۰۱۵)، عصاره گیاه مینای نیشابوری را با استفاده از حلال‌های متنالول، کلروفرم و اتیل استات تهیه کردند. جهت بررسی ترکیبات فنلی از روش فولین- سیوکالتو استفاده شد. نتایج نشان داد میزان ترکیبات فنلی در محدوده ۵۲/۴ تا ۱۷۲/۳ بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم ماده خشک گیاه قرار دارد. بیشترین میزان ترکیبات فنلی در عصاره متنالولی مشاهده شد [۹].

بر اساس نتایج به دست آمده از پژوهش‌های پیشین باکتری‌های گرم منفی در برابر اسانس و عصاره‌های گیاهی مقاومت بیشتری نسبت به باکتری‌های گرم مثبت از خود نشان می‌دهند. دلیل این امر را به وجود لایه‌ای خارجی روی دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی نسبت می‌دهند. در صورتی که در باکتری‌های گرم مثبت ترکیبات مستقیماً با غشای دولایه فسفولیپیدی تماس پیدا می‌کند و موجب گستنگی در غشا و نشت مواد درون سلولی به خارج و در نهایت مرگ سلول می‌شوند [۲۲]. Tahmasebi و همکاران (۲۰۱۲)، درصد مهار Aspergillus flavus و Fusarium verticillioides توسط اسانس مینای نیشابوری مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد با افزایش غلاظت اسانس مینای نیشابوری درصد مهارکنندگی از رشد افزایش پیدا کرد [۲۳]. Sonboli و همکاران (۲۰۱۴)، اثر ضدمیکروبی اسانس Sclerorhachis leptoclada را به روش دیسک دیفیوژن و حداقل غلاظت مهارکنندگی از رشد بر ۹ سویه میکروبی مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد سویه‌های باسیلوس سابتلیس و استافیلکوکوس اپلیکار می‌باشد با حداقل غلاظت مهارکنندگی ۱/۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر حساس‌ترین سویه‌ها در برابر فعالیت اسانس بودند. همچنین سودوموناس آتروژینوزا مقاومت بسیار بالایی از خود نشان داد و بعد از آن انتروكوکس فکالیس با حداقل غلاظت مهارکنندگی از رشد برابر با ۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مقاوم‌ترین سویه میکروبی در برابر اسانس Sclerorhachis leptoclada گزارش شد [۲۴]. Al-Shukaili و همکاران (۲۰۱۹)، اثر ضدمیکروبی گل و دانه‌های گیاه آفتاب‌گردان متعلق به خانواده آستراسه را مورد بررسی قرار دادند. در ابتدا عصاره گل و دانه با استفاده از حلال‌های مختلف استخراج شد و فعالیت ضدمیکروبی آن‌ها بر علیه تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی‌مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد عصاره گل و بذر گیاه آفتاب‌گردان دارای خاصیت ضدمیکروبی قابل قبولی در برابر باکتری‌های

۴- نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج می‌توان گفت اسانس مینای نیشابوری بر هر دو نوع باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی موثر است. با این وجود باکتری‌های گرم منفی مقاومت بیشتری در برابر این اسانس از خود نشان می‌دهند و قطره‌های اندازه‌گیری شده باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت کمتر بود. اسانس مینای نیشابوری دارای محتوى فلئی و فلاونوئیدی و آنتی‌اکسیدانی مطلوبی است. لذا در صورت استفاده از این ترکیب گیاهی به تنهایی یا همراه با آنتی‌بیوتیک‌ها می‌توان رشد بسیاری از باکتری‌های بیماری‌زا را کنترل کرد و به این ترتیب نگرانی‌های مربوط به حفظ ایمنی و کیفیت مواد غذایی را برطرف کرد.

۵- تشکر و قدردانی

نویسنده‌گان از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان جهت حمایت مالی طرح پژوهشی شماره ۹۹۱۰۰۲ که این مقاله مستخرج از آن می‌باشد تشکر و قدردانی می‌نمایند.

۶- منابع

- [1] Shahnia M, Khaksar R. Antimicrobial effects and determination of minimum inhibitory concentration (mic) methods of essential oils against pathogenic bacteria. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology. 2013; 7(5): 949-955 [in Persian].
- [2] Fazelinasab B, Mirzaei N. Evaluation of total phenol and flavonoid content in a widerange of local and imported plants. Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences. 2018; 26(2): 141-154 [in Persian].
- [3] Rezaei Seresht H, Cheshomi H, Hossein Zadeh Hesari M, Azarshab A, Landarani M. Evaluation of intraperitoneal IC_{50} of methanolic extract of aerial parts of *sclerorhachisplatyrachis* in rats. 2017; 7(26): 35-42 [in Persian].
- [4] Nekoei M. Evaluation of different extraction methods on essential oil composition of *Sclerorhachisplatyrachis* Boiss. by using

از روش‌های رنگ‌سنجی بتاکاروتن لینولئک اسید و مهار رادیکال‌های ABTS و DPPH جهت بررسی قدرت آنتی‌اکسیدانی اسانس مینای نیشابوری استفاده شد. آنتی‌اکسیدان به ترکیباتی گفته می‌شود که مانع از عمل مخرب رادیکال‌های آزاد می‌شوند. ترکیبات به دست آمده از گیاهان به دلیل تنوع ژنتیکی و فیزیولوژی گیاهی، شرایط آب و هوایی منطقه رشد، نوع کشت صورت گرفته و روش استخراج قدرت آنتی‌اکسیدانی متفاوتی دارند [۲۸]. Akhlaghi و همکاران (۲۰۱۵)، عصاره مینای نیشابوری را با استفاده از حلال‌های کلروفرم، اتیل استات و متانول استخراج کردند. این پژوهشگران قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراجی را با روش مهار رادیکال DPPH مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره مینای نیشابوری استخراجی با حلال‌های کلروفرم، اتیل استات و متانول به ترتیب برابر با $10^{3/4}$ و $9^{2/3}$ و $7^{1/1}$ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر حسب IC_{50} بود [۹]. نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های این پژوهشگران همخوانی داشت. مهریار و اسکندرخانی (۱۳۹۷)، قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره استخراجی از دانه‌های آفتاب‌گردان آجیلی (متعلق به خانواده آستراسه) را طی زمان و دماهای متفاوت استخراج مورد بررسی قرار دادند. بر اساس نتایج به دست آمده زمان و دمای استخراج تاثیری مستقیم بر افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی داشت. بیشترین قدرت آنتی‌اکسیدانی در عصاره متانولی (۹۷/۷۶٪) استخراج شده در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت مشاهده شد [۲۶]. Omokhua و همکاران (۲۰۱۹)، قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره *Tithonia rotundifolia* رادیکال‌های ABTS و DPPH مورد بررسی قرار دادند. از حلال‌های اتانول، متانول، استون و آب جهت استخراج استفاده شد. بر اساس نتایج به دست آمده تمامی عصاره‌ها دارای توان آنتی‌اکسیدانی مطلوبی بودند و بیشترین قدرت آنتی‌اکسیدانی در عصاره استونی مشاهده گردید. میزان قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره استونی این گیاه بر حسب مهار رادیکال‌های DPPH و ABTS به ترتیب $152/56$ و $520/6$ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر حسب IC_{50} گزارش شد [۲۹]. نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های این محققین همخوانی داشت.

- analysis, antimicrobial activity and investigation of its mechanism of action through scanning electron microscopy. *Microbial pathogenesis.* 2019; 136:103716.
- [13] Tanavar H, Barzegar H, Alizadeh Behbahani B, Mehrnia M.A. 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.* 2020; 97(16): 77-87 [in Persian].
- [14] Alizadeh Behbahani B, Yazdi FT, Shahidi F, Riazi F. Antifungal Effect of the Aqueous and Ethanolic *Avicennia marina* Extracts on *Alternaria citri* and *Penicillium digitatum*. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences.* 2016;18(2): 1-6.
15. Alizadeh Behbahani B, Imani Fooladi AA. Development of a novel edible coating made by Balangu seed mucilage and Feverfew essential oil and investigation of its effect on the shelf life of beef slices during refrigerated storage through intelligent modeling. *Journal of food safety.* 2018;38(3):e12443.
- [16] Alghooneh A, Alizadeh Behbahani B, Noorbakhsh H, Yazdi FT. Application of intelligent modeling to predict the population dynamics of *Pseudomonas aeruginosa* in Frankfurter sausage containing Saturejabachtiarica extracts. *Microbial pathogenesis.* 2015; 85: 58-65.
- [17] Dehghan N, Barzegar H, Mehrnia MA, Jooyandeh H. Investigation on the effect of methanolic bene (*pistaciaatlantica*) hull extract on oxidative stability of soybean oil. *Innovative Food Technologies.* 2018; 5(3): 499-507 [in Persian].
- [18] Ansaripour A, Mehrnia MA, Noshad M, Barzegar H, Alizadeh Behbahani B. Antimicrobial effect of garlic essential oil on a number of foodborne pathogens and determination of its chemical composition and antioxidant activity. *Food Science and Technology.* 2019; 91(16): 17-29 [in Persian].
- [19] Barzegar H, Alizadeh Behbahani B, Mehrnia MA. Identification of the chemical compounds and antibacterial activity of *Ocimumbasilicum* essential oil and the effects of its interaction with tetracycline and chloramphenicol antibiotics on some pathogenic microorganisms causing infection and food poisoning. *Food Science and*
- micro extraction and hydro distillation. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants.* 2016; 14(2): 67-77 [in Persian].
- [5] Mehrnia M.A, Dehghan N, Heidary M. Effect of drying method and solvent type on antioxidant properties and chemical composition of sacred fig (*Ficus religiosa*). *Food Science and Technology.* 2019; 16(95): 27-37 [in Persian].
- [6] Maghsoudlou E, Esmaeilzadeh Kenari R, Raftani Amiri Z. Evaluating antioxidant properties of pulp and skin of fig extracts and application in canola oil as replacing synthetic antioxidant. *Iranian Food Science and Technology Research Journal.* 2917. 13(4): 503-516 [in Persian].
- [7] Albakhit S, khademvatan S, Doudi M. The evaluation of methanolic and aqueous extracts effect of *szizyphus spina-Christi* against *leishmania major* (mhom/ir/75/er) promastigotes using mtt assay. *Iranian Journal of Medical Microbiology.* 2016; 10(3): 54-60 [in Persian].
- [8] Rezaei Seresht H, Cheshomi H, Sadat Aldaghi L, Kaskani A. Antioxidant activity and cytotoxicity effect of various extracts of *sclerorhachisplatyrachis* on the human breast adenocarcinoma cells. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences.* 2020; 25(1): 33-42 [in Persian].
- [9] Akhlaghi H, Sadat Akhlaghi S, Mahdavi B, Rezaei H. *Sclerorhachisplatyrachis* (boiss.) podlech ex rech. F.: an indigenous medicinal plant from northeastern iran; essential oil composition, total flavonoid content and antioxidant activity. *Journal of Chemical Health Risks.* 2015; 5(2):129-135.
- [10] Aghajani Z, Masoudi S, Rustaiyan A. Volatile oils of anthemis talyshensis A. fedor. And *Sclerorhachisplatyrachis* (Boiss.) podlech ex rech.f. from iran. *Journal of Essential Oil Research.* 2005; 17(4): 355-357.
- [11] Nekoei M, Mohammadhosseini M. Screening of profiles of essential oils from the aerial parts of *sclerorhachis platyrachis* (boiss.) podlech ex rech.f. using classical and microwavebased methods: comparison with the volatiles using headspace solid-phase microextraction. *Journal of Essential Oil Bearing Plants.* 2018; 21(5): 1199-1209.
- [12] Alizadeh Behbahani B, Noshad M, Falah F. Cumin essential oil: Phytochemical

- Pharmaceutical Research. 2014; 13(3): 1097-1104.
- [25] Al-Shukaili NBMBA, Hossain MA. Antimicrobial and cytotoxic potential of seeds and flowers crude extracts of sunflower. *Grain & Oil Science and Technology*. 2019; 2(4): 103-108.
- [26] Mehryar L, Eskandarkhani M. Investigation and optimization of phenolic compounds extraction from sunflower seeds and comparing its antioxidant activity with synthetic antioxidants in oxidative stability of sunflower oil. *Journal of Food Science and Technology*. 2019; 90(16): 113-125 [in Persian].
- [27] Fazly Bazzaz BS, Haririzadeh G, Imami SA, Rashed MH. Survey of iranian plants for alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins [khorasan province]. *International Journal of Pharmacognosy*. 2008; 35(1): 17-30.
- [28] Amiri E, Aminzare M, Hassanzad Azar H, Mehrasbi MR. Combined antioxidant and sensory effects of corn starch films with nanoemulsion of *Zataria multiflora* essential oil fortified with cinnamaldehyde on fresh ground beef patties. *Meat Science*. 2019; 153: 66-74.
- [29] Omokhua AG, Ondua M, van Staden J, McGaw LJ. Synergistic activity of extracts of three South African alien invasive weeds combined with conventional antibiotics against selected opportunistic pathogens. *South African Journal of Botany*. 2019; 124: 251-257.
- Technology. 2019; 90(16): 113-125 [in Persian].
- [20] Noruzi F, Hojjati M, Jooyandeh H, Barzegar H. Study of the possibility of application of tarragon essential oil in mayonnaise as a natural additive. *Journal of Food Research (Agricultural scienc)*. 2018; 28(3): 85-99 [in Persian].
- [21] Mazzutti S, Riehl C.A.S, Ibanez E, Ferreira S.R.S. Green-based methods to obtain bioactive extracts from *Plantago major* and *Plantago lanceolate*. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2017; 119: 211-220.
- [22] Tabatabaei Yazdi F, Alizadeh Behbahani B, Vasiee A, Roshanak S, Mortazavi A. 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. *Journal of Applied Microbiology in food industry*. 2017; 3(3): 1-21 [in Persian].
- [23] Tahmasebi A, Andi SA, Ahmadi MR, GhodsAlavi BS, Tahmasebi A. Inhibitory effect of essential oils of *Sclerorhachisplatyrachis* and *Sclerorhachisleptoclada* on phytopathogenic fungi. *International Journal of AgriScience*. 2010; 2(1): 48-53.
- [24] Sonbolia A, Mirjalilib MH, Hadianb J, Yousefzadi M. The Biological Activity and Composition of the Essential Oil of *Sclerorhachisleptoclada* (Asteraceae-Anthemideae) from Iran. *Iranian Journal of*



***Sclerorhachisplatyrachis* essential oil: Antioxidant power, total phenolic and flavonoid content and its antimicrobial activity on some Gram-positive and Gram-negative bacteria “*in vitro*”**

Mehrnam M. A.^{1*}, Alizadeh Behbahani, B. ¹, Barzegar, H. ², Tanavar, H. ³

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
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
3. 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

ARTICIE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received 10 November 2020
Accepted 15 December 2020

Keywords:

Sclerorhachisplatyrachis,
Disk diffusion agar,
Antioxidant poteinal,
Tota phenolcontent.

DOI: [10.52547/fsct.18.03.16](https://doi.org/10.52547/fsct.18.03.16)

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

Resistance of microbial strains to antibiotics and controlling food safety are two of greatest global problems. In this research phenolic content, flavonoids, antioxidant capacity and antibacterial properties of *Sclerorhachisplatyrachis* essential oil were evaluated. Phenolic content and flavonoids of *Sclerorhachisplatyrachis* essential oil were measured using Folincioalteu method and aluminum chloride colorimetric method respectively. Antioxidant capacity evaluated using DPPH, ABTS and β -carotene bleaching assay. Agar well diffusion, agar disk diffusion, minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were used to evaluate antibacterial activity of essential oil against some pathogens. Results showed that total phenolic content and flavonoid of *Sclerorhachisplatyrachis* were 55.63 mg GAE/g and 62.28 mg QE/g respectively. Antioxidant capacity using DPPH, ABTS and β -carotene bleaching assay were 52.39, 68.3 and 49.95 percent respectively. In disk diffusion method the highest and lowest zones were 16.2 and 9.7 mm, belonged to *Staphylococcus aureus* and *Enterobacter aerogenes* respectively. In all strains MBC was higher than MIC and Gram-negative bacteria were more resistant to essential oil. *Sclerorhachisplatyrachis* essential oil showed favorable antibacterial and antioxidant capacity and its usage will inhibit growth of pathogenic bacteria.