



اسانس مینای نیشابوری: قدرت آنتی اکسیدانی، فنل و فلاونوئید کل و اثر ضد میکروبی آن بر تعدادی از باکتری های گرم مثبت و گرم منفی در شرایط آزمایشگاهی

محمدامین مهرنیا^{۱*}، بهروز علیزاده بهبهانی^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، ملاثانی، ایران

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

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

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۸/۲۰

تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۹/۲۵

کلمات کلیدی:

مینای نیشابوری،

دیسک دیفیوژن،

پتانسیل آنتی اکسیدانی،

فنل کل.

مقاومت سویه های میکروبی نسبت به آنتی بیوتیک ها و حفظ ایمنی مواد غذایی از مهم ترین مشکلات جهانی است. لذا هدف از این پژوهش بررسی محتوی فنلی، فلاونوئیدی، قدرت آنتی اکسیدانی و فعالیت ضدباکتریایی اسانس مینای نیشابوری بود. در این پژوهش میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی اسانس مینای نیشابوری به ترتیب با استفاده از معرف فولین-سیوکالتو و روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم اندازه گیری شد. پتانسیل آنتی اکسیدانی این اسانس گیاهی با روش های ABTS، DPPH و بتاکاروتن-لینولتیک اسید بررسی گردید. از روش های چاهک آگار، دیسک دیفیوژن، حداقل غلظت مهارکنندگی، حداقل غلظت کشندگی جهت بررسی فعالیت ضدباکتریایی اسانس علیه تعدادی از باکتری های پاتوژن استفاده شد. بر اساس نتایج میزان فنل تام و فلاونوئید اسانس مینای نیشابوری به ترتیب $55/63 \text{ mg GAE/g}$ و $62/28 \text{ mg QE/g}$ بود. قدرت آنتی اکسیدانی اسانس با استفاده از روش های ABTS، DPPH و بتاکاروتن-لینولتیک اسید به ترتیب $52/39$ ، $68/3$ و $49/95$ بر حسب درصد اندازه گیری شد. بیشترین و کمترین هاله اندازه گیری طی روش دیسک دیفیوژن با قطر $16/2$ و $9/7$ میلی متر به باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و انتروباکتر ائروژنز تعلق داشت. حداقل غلظت کشندگی اسانس مینای نیشابوری در تمامی سویه ها بیش تر از حداقل غلظت مهارکنندگی بود. باکتری های گرم منفی مقاومت بیشتری از خود در برابر اسانس نشان دادند. اسانس مینای نیشابوری قدرت ضدباکتریایی و پتانسیل آنتی اکسیدانی مطلوبی داشت. نتایج نشان داد استفاده از این اسانس گیاهی می تواند موجب مهار و توقف رشد باکتری های بیماری زا شود.

DOI: 10.52547/fsct.18.03.16

* مسئول مکاتبات:

Mehrnia@asnrukh.ac.ir

۱- مقدمه

حفظ کیفیت و امنیت غذایی در چرخه تولید تا مصرف از مهم ترین اهداف پژوهشگران است. به نحوی که مصرف کنندگان با استفاده از مواد غذایی دچار مسمومیت و عفونت نشوند [۱]. استفاده از نگهدارنده های سنتزی و آنتی بیوتیک ها برای کنترل فساد مواد غذایی موجب عوارض جانبی و هزینه های فراوانی شده است. با مرور زمان و استفاده مداوم از آنتی بیوتیک ها بسیاری از سویه های میکروبی نسبت به این مواد مقاوم شده اند که باعث مشکلات فراوانی می شود [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 گونه های گیاهان دارویی در کشورمان توانایی رشد داشته باشند [۴]. از جمله ترکیبات با ارزش گیاهی متابولیت های ثانویه آن ها است که پایه اصلی بسیاری از مواد دارویی می باشند [۱]. فنل، فلاونوئید، کاروتنوئید از مهم ترین متابولیت های ثانویه هستند که در قسمت های مختلف گیاهان مانند برگ، ساقه و شاخه ها وجود دارند. میان ترکیبات فنلی و پتانسل آنتی اکسیدانی رابطه مستقیمی برقرار است و افزایش این ترکیبات موجب بالا بردن قدرت آنتی اکسیدانی می شود [۲].

آنتی اکسیدان ها به ترکیباتی گفته می شود که با دادن الکترون یا هیدروژن رادیکال های آزاد را مهار می کنند و طی یک چرخه موجب کاهش سرعت و حتی مهار اکسیداسیون می شوند [۵]. استرس های اکسیداتیو آثار نامطلوبی بر سلامتی انسان ها دارد و موجب بسیاری از بیماری ها می شوند. استفاده از آنتی اکسیدان های سنتزی به دلیل قیمت پایین و اثربخشی بالای آن ها 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 می دهد 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 نگهدارنده های سنتزی ترجیح می دهند [۷].

مینای نیشابوری گیاهی معطر و چند ساله است که در نواحی شمال شرقی ایران و کشور افغانستان یافت می شود [۸]. این گیاه متعلق به خانواده کاسنیان می باشد و با نام علمی *Sclerorhachis platyrachis* شناخته می شود [۳].

چهار گونه گیاهی از جنس *Sclerorhachis* شناسایی شده است و در این میان دو گونه آن با نام های *Sclerorhachis platyrachis* و *Sclerorhachis leptoclada* بومی ایران هستند [۹]. بر اساس نتایج به دست آمده از پژوهش های پیشین اسانس مینای نیشابوری منبعی غنی از متابولیت های ثانویه محسوب می شود [۸]. از عمده ترین ترکیبات تشکیل دهنده این گیاه می توان به آلفا پینین، کامفر و بتا پینین اشاره کرد [۱۰]. خواص درمانی مینای 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 می شود. امروزه نیز با پیشرفت علم مشخص شده است که گیاه مینای نیشابوری پتانسیل آنتی اکسیدانی، خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی 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 می تواند تا حدودی نگرانی های مربوط به خطر زایی نگهدارنده های سنتزی و سلامت جامعه انسانی را برطرف کند. لذا هدف از این پژوهش بررسی محتوی فنل تام، فلاونوئیدی، پتانسیل آنتی اکسیدانی و قدرت ضد باکتریایی اسانس مینای نیشابوری علیه تعدادی از پاتوژن های مطرح صنعت غذایی بود.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- تهیه سویه های میکروبی و مواد مصرفی

در این پژوهش از ۵ سویه میکروبی استافیلوکوکوس اورئوس^۱ ATCC 25923، اشرشیا کلی^۲ ATCC 25922، سودوموناس اتروژینوزا^۳ ATCC 27853، اتروباکتر اتروژنز^۴ ATCC 13048 و لیستریا اینوکوا^۵ ATCC 33090 استفاده گردید. همگی این سویه های میکروبی از آزمایشگاه میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشکده علوم دامی و

1. *Staphylococcus aureus*
2. *Escherichia coli*
3. *Pseudomonas aeruginosa*
4. *Enterobacter aerogenes*
5. *Listeria innocua*

ساعت هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد [۱۳ و ۱۴].

۲-۵- تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس

مینای نیشابوری به روش میکرودايلوشن براث

در این روش ابتدا ۴ گرم اسانس مینای نیشابوری به ۹ میلی‌لیتر محیط کشت مولر هیتون براث و ۱ میلی‌لیتر امولسیفایر افزوده شد و بدین ترتیب محلول استوک با غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه گردید. غلظت‌های متوالی 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 گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت صورت پذیرفت. از معرف ۵ درصدتری فنیل تترازولیوم کلراید جهت شناسایی چاهک‌هایی که باکتری رشد کرده استفاده شد. اولین چاهکی که در آن تغییر رنگ صورت نگرفته بود به‌عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی ثبت گردید [۱۵].

۲-۶- تعیین حداقل غلظت کشندگی اسانس

مینای نیشابوری

جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی 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 هیتون آگار کشت شد. اولین پلیتی که پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد هیچ کلنی در آن رشد نکرده بود به عنوان حداقل غلظت کشندگی گزارش گردید [۱۳ و ۱۶].

۲-۷- 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 میلی‌لیتر از اسانس مینای نیشابوریا با ۲/۵ میلی‌لیتر از واکنشگر فولین ترکیب کرده و ۲/۵ دقیقه در دمای اتاق و محیطی تاریک نگهداری شد. در نهایت پس از افزودن ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد به

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

۲-۲- تهیه اسانس مینای نیشابوری

اسانس‌گیری از گیاه مینای نیشابوریا روش تقطیر با آب انجام گردید. در این روش میزان ۵۰ گرم پودر گیاه به ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر در درون دستگاه کلونجر اضافه شد و عمل اسانس‌گیری به مدت ۳ ساعت انجام شد. پس از اتمام عمل اسانس‌گیری، 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 سانتی‌گراد نگهداری گردید [۱۲].

۲-۳- بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس

مینای نیشابوری به روش چاهک آگار

در این روش ابتدا پلیت‌ها با ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت مولر هیتون 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 پاستوراستریل (به قطر ۶ میلی‌متر) انتقال یافت. پس از طی مرحله پیش انتشار (۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) گرمخانه‌گذاری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. قطر هاله عدم رشد توسط خط‌کش اندازه‌گیری و بر حسب میلی‌متر ثبت گردید [۱۳].

۲-۴- بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس

مینای نیشابوری به روش دیسک دیفیوژن

این روش شباهت‌های فراوانی با روش چاهک‌آگار که مراحل آن گفته شد دارد. تنها تفاوت این دو روش مکان انتقال اسانس است که از دیسک‌های بلانک با قطر ۶ میلی‌متر به‌عنوان مکان تلقیح اسانس استفاده شد. پس از طی مرحله پیش انتشار و گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴

نمونه‌ها و گذشت ۱ ساعت میزان جذب در طول موج ۷۲۵ نانومتر اندازه‌گیری و گزارش گردید [۱۷].

۲-۸- تعیین ترکیبات فلاونوئیدی اسانس مینای

نیشابوری

از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم جهت تعیین میزان ترکیبات فلاونوئیدی 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 نیتريت سدیم ۵ درصد اضافه شد. ۱۵۰ میکرولیتر آلومینیوم تری کلراید پس از گذشت ۶ دقیقه به نمونه‌ها افزوده گردید. نمونه‌ها مجدداً 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- ارزیابی قدرت آنتی‌اکسیدانی اسانس

مینای نیشابوری

۲-۹-۱- روش مهارکنندگی رادیکال DPPH

در این روش از رادیکال‌های ۲،۲-دیفنیل-۱-پیکریلهیدرازیل جهت ارزیابی قدرت آنتی‌اکسیدانی 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].

۲-۹-۲- روش مهارکنندگی رادیکال ABTS

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

۲-۹-۳- روش بتاکاروتن لینولتیک اسید

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

۲-۱۰- 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 ضدباکتریایی اسانس مینای نیشابوری به روش دیسک دیفیوژن در جدول ۱، ذکر شده است. میانگین قطر هاله عدم رشد برای سویه‌های سودوموناس ترورژنز، انتروباکتر ترورژنز، اشرشیاکلی، استفیلوکوکوس اورئوس و لیستریا/ینوکوا به ترتیب ۱۰، ۹/۷، ۱۰/۸، ۱۶/۲ و ۱۱/۶ میلی‌متر بود. بر اساس نتایج دیسک دیفیوژن انتروباکتر ترورژنز بیش‌ترین مقاومت را در برابر فعالیت ضدباکتریایی اسانس مینای نیشابوری از خود نشان داد. نتایج مربوط به اثر ضدباکتریایی 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 سودوموناس ترورژنز، انتروباکتر ترورژنز، اشرشیاکلی، استفیلوکوکوس اورئوس و لیستریا/ینوکوا به ترتیب ۱۰/۵، ۱۱/۳، 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 کلرامفنیکل 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 کلرامفنیکل بر باکتری گرم مثبت استفیلوکوکوس اورئوس با قطر هاله ۲۷/۸۰ میلی‌متر بیش‌ترین اثر را داشت. مقایسه دوتایی میان اثر ضد میکروبی اسانس مینای نیشابوری با سویه‌های بیماری‌زا با آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل نشان داد در سطح آماری ۵ درصد اختلاف معنی‌داری برای تمامی سویه‌های بیماری‌زا مشاهده شد. به طور کلی اثر ضد میکروبی آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل بر سویه‌های مورد بررسی

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 استفیلوکوکوس اورئوس با تمامی سویه‌های بیماری‌زا (سودوموناس اثرورژینوزا، انتروباکتر اثرورژنز، اشرشیا کلی و لیستریا اینوکوا) اختلاف معنی‌داری داشت.

بیشتر از اثر اسانس مینای نیشابوری بود. مقایسه میان اثر ضد میکروبی اسانس مینای نیشابوری بر سویه‌های بیماری‌زا نشان داد در سطح آماری ۵ درصد میان باکتری‌های سودوموناس اثرورژینوزا، انتروباکتر اثرورژنز و اشرشیا کلی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. نتایج نشان داد میان باکتری اشرشیا کلی با لیستریا اینوکوا تفاوت معنی‌داری در سطح ۵

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, $n = 3$.

میلی گرم بر میلی لیتر قرار داشت. انتروباکتر اثرورژنز با حداقل غلظت کشندگی بیش از ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر و استفیلوکوکوس اورئوس با حداقل غلظت کشندگی ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین مقاومت را در برابر اسانس مینای نیشابوری از خود نشان دادند. حداقل غلظت کشندگی در تمامی سویه‌های ذکر شده بیش از حداقل غلظت مهارکنندگی بود.

نتایج مربوط به حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی اسانس مینای نیشابوری در جدول ۲، ذکر شده است. حداقل غلظت مهارکنندگی برای باکتری‌های سودوموناس اثرورژینوزا، انتروباکتر اثرورژنز، اشرشیا کلی، استفیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا به ترتیب ۲۵، ۲۵، ۶/۲۵ و ۱۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر بود. حداقل غلظت کشندگی اسانس مینای نیشابوریسته به نوع باکتری در محدوده ۱۰۰ تا بیش از ۴۰۰

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

فلاونوئیدی اسانس مینای نیشابوری در جدول ۳، ذکر شده است. قدرت آنتی‌اکسیدانی اسانس مینای نیشابوری با سه روش مورد ارزیابی قرار گرفت که نتایج حاصل در جدول ۳، ذکر شده است. در هر سه آزمون از اسانس خالص استفاده شد. قدرت آنتی‌اکسیدانی اسانس مینای نیشابوری به روش رنگ‌سنجی بتاکاروتن لینولیک اسید و مهار رادیکال‌های DPPH و ABTS به ترتیب ۴۸/۹۵، ۵۲/۳۹، ۶۸/۳ درصد بود.

از واکنشگر فولین-سیوکالتو جهت تعیین میزان ترکیبات فنلی اسانس مینای نیشابوری استفاده شد. بر اساس نتایج به دست آمده میزان ترکیبات فنلی در یک گرم از اسانس معادل با ۵۵/۶۳ میلی گرم گالیک اسید بود. فلاونوئیدها دسته‌ای از ترکیبات فنلی محسوب می‌شوند که توانایی مهار عوامل اکسید کننده را دارند. نتایج نشان داد میزان این ترکیبات برابر با ۶۲/۲۸ میلی گرم کوئرستین در هر گرم از اسانس 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 $\pm$ 0.65	68.30 $\pm$ 0.50	52.39 $\pm$ 0.63	62.28 $\pm$ 0.46	55.63 $\pm$ 0.29

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 می‌کنند و موجب گسستگی در غشا و نشت مواد درون سلولی به خارج و در نهایت مرگ سلول می‌شوند [۲۲]. Tahmasebi و همکاران (۲۰۱۲)، درصد مهار رشد شعاعی هیف‌های دو قارچ *Aspergillus flavus* و *Fusarium verticillioides* توسط اسانس مینای نیشابوری مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد با افزایش غلظت اسانس مینای نیشابوری درصد مهارکنندگی از رشد افزایش پیدا کرد [۲۳]. Sonboli و همکاران (۲۰۱۴)، اثر ضد میکروبی اسانس *Sclerorhachisleptoclada* را به روش دیسک دیفیوژن و حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد بر ۹ سویه میکروبی مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد سویه‌های *باسیلوس سابتلیس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* با حداقل غلظت مهارکنندگی ۱/۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر حساس‌ترین سویه‌ها در برابر فعالیت اسانس بودند. همچنین *سودوموناس آئروژینوزا* مقاومت بسیار بالایی از خود نشان داد و بعد از آن *انتروکوکس فکالیس* با حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد برابر با ۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مقاوم‌ترین سویه میکروبی در برابر اسانس *Sclerorhachisleptoclada* گزارش شد [۲۴]. Al-Shukaili و همکاران (۲۰۱۹)، اثر ضد میکروبی 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 ضد میکروبی آن‌ها بر علیه تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد عصاره گل و بذر گیاه آفتاب‌گردان دارای خاصیت ضد میکروبی قابل قبولی در برابر باکتری‌های

گرم مثبت و منفی می‌باشد. عصاره آبی گل و بذر نسبت به سایر حلال‌های به کار برده شده بیش‌ترین فعالیت ضد میکروبی 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 دماهای 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 متانولی (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 بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک گزارش کردند [۲۶]. Fazly Bazzaz 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 پژوهش‌گرن همخوانی داشت. Akhlaghi و همکاران (۲۰۱۵)، عصاره گیاه مینای نیشابوری را با استفاده از حلال‌های متانول، 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 متانولی مشاهده شد [۹].

۴- نتیجه گیری

با توجه به نتایج می توان گفت اسانس مینای نیشابوری بر هر دو نوع باکتری های گرم مثبت و گرم منفی موثر است. با این وجود باکتری های گرم منفی مقاومت بیشتری در برابر این اسانس از خود نشان می دهند و قطر هاله های اندازه گیری شده باکتری های گرم منفی نسبت به باکتری های گرم مثبت کم تر بود. اسانس مینای نیشابوری دارای محتوی فنلی و فلاونوئیدی و آنتی اکسیدانی مطلوبی است. لذا در صورت استفاده از این ترکیب گیاهی به تنهایی یا همراه با آنتی بیوتیک ها می توان رشد بسیاری از باکتری های بیماری زا را کنترل کرد و به این ترتیب نگرانی های مربوط به حفظ ایمنی و کیفیت مواد غذایی را برطرف کرد.

۵- تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان جهت حمایت مالی طرح پژوهشی شماره ۹۹۱/۰۲ که این مقاله مستخرج از آن می باشد تشکر و قدردانی می نمایند.

۶- منابع

- [1] Shahnian 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 ld_{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 روش های رنگ سنجی بتاکاروتن لینولئیک اسید و مهار رادیکال های DPPH و ABTS جهت بررسی قدرت آنتی اکسیدانی اسانس مینای نیشابوری استفاده شد. آنتی اکسیدان به ترکیباتی گفته می شود که مانع از عمل مخرب رادیکال های آزاد می شوند. 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 آنتی اکسیدانی متفاوتی دارند [۲۸]. Akhlaghi و همکاران (۲۰۱۵)، عصاره مینای نیشابوری را با استفاده از حلال های کلروفرم، اتیل استات و متانول استخراج کردند. این پژوهشگران قدرت آنتی اکسیدانی عصاره های استخراجی را با روش مهار رادیکال DPPH مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد قدرت آنتی اکسیدانی عصاره مینای نیشابوری استخراجی با حلال های کلروفرم، اتیل استات و متانول به ترتیب برابر با ۹۲/۳، ۱۰۳/۴ و ۷۱/۱ میکروگرم بر میلی لیتر بر حسب IC_{50} بود [۹]. نتایج مطالعه حاضر با یافته های این پژوهشگران همخوانی داشت. مهریار و اسکندر خانی (۱۳۹۷)، قدرت آنتی اکسیدانی عصاره استخراجی از دانه های آفتاب گردان 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 تأثیری مستقیم بر افزایش قدرت آنتی اکسیدانی داشت. بیشترین قدرت آنتی اکسیدانی در عصاره متانولی (۹۷/۷۶٪) استخراج شده در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲ ساعت مشاهده شد [۲۶]. Omokhua و همکاران (۲۰۱۹)، قدرت آنتی اکسیدانی عصاره *Tithonia rotundifolia* متعلق به خانواده آستراسه را به روش مهار رادیکال های DPPH و ABTS مورد بررسی قرار دادند. از حلال های اتانول، متانول، استون و آب جهت استخراج استفاده شد. بر اساس نتایج به دست آمده تمامی عصاره ها دارای توان آنتی اکسیدانی مطلوبی بودند و بیشترین قدرت آنتی اکسیدانی در عصاره استونی مشاهده گردید. میزان قدرت آنتی اکسیدانی عصاره استونی این گیاه بر حسب مهار رادیکال های DPPH و ABTS به ترتیب ۱۵۲/۵۶ و ۵۲/۰۶ میکروگرم بر میلی لیتر بر حسب IC_{50} گزارش شد [۲۹]. نتایج مطالعه حاضر با یافته های 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 (*pistachiaatlantica*) hull extract on oxidative stability of soybean oil. Innovative Food Technologies. 2018; 5(3): 499-507 [in Persian].
- [18] Ansari pour 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 *Ocimum basilicum* 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. 2017. 13(4): 503-516 [in Persian].
- [7] Albakhit S, khademvatan S, Doudi M. The evaluation of methanolic and aqueous extracts effect of *zizyphus 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 *sclerorhachis platyrachis* 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. *Sclerorhachis platyrachis* (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 *anthesis talyshensis* A. fedor. And *Sclerorhachis platyrachis* (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 microwave based 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 *Sclerorhachis platyrachis* and *Sclerorhachis leptoclada* 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 *Sclerorhachis leptoclada* (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”**

Mehrniam 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

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received 10 November 2020 Accepted 15 December 2020 Keywords: <i>Sclerorhachisplatyrachis</i>, Disk diffusion agar, Antioxidant poteinal, Tota phenolcontent. DOI: 10.52547/fsct.18.03.16 *Corresponding Author E-Mail: Mehrniam@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 <i>Sclerorhachisplatyrachis</i> essential oil were evaluated. Phenolic content and flavonoids of <i>Sclerorhachisplatyrachis</i> essential oil were measured using Folincioaltea 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 <i>Sclerorhachisplatyrachis</i> 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 <i>Staphylococcus aureus</i> and <i>Enterobacter aerogenes</i> respectively. In all strains MBC was higher than MIC and Gram-negative bacteria were more resistant to essential oil. <i>Sclerorhachisplatyrachis</i> essential oil showed favorable antibacterial and antioxidant capacity and its usage will inhibit growth of pathogenic bacteria.