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[1*]، بهروز علیزاده بهبهانی[1]، حسن برزگر[2]، هادی تناور[3]

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

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

چکیده

مقاومت سویه‌های میکروبی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها و حفظ ایمنی مواد غذایی از مهم‌ترین مشکلات جهانی است. لذا هدف از این پژوهش بررسی محتوی فنلی، فلاونوئیدی، قدرت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدباکتریایی اسانس مینای نیشابوری بود.در این پژوهش میزان ترکیبات فنلی و فلاونئیدی اسانس مینای نیشابوری به ترتیب با استفاده از معرف فولین-سیوکالتو و روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم اندازه‌گیری شد. پتانسیل آنتی‌اکسیدانی این اسانس گیاهی با روش‌های DPPH، ABTS و بتاکاروتن- لینولئیک اسید بررسی گردید.از روش‌های چاهک آگار، دیسک دیفیوژن، حداقل غلظت مهارکنندگی، حداقل غلظت کشندگی 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 ۵۵/۶۳ mg GAE/g و ۶۲/۲۸ mg QE/g بود. قدرت آنتی‌اکسیدانی اسانس با استفاده از روش‌های DPPH، ABTS و بتاکاروتن- لینولئیک اسید به ترتیب ۵۲/۳۹، ۶۸/۳ و ۴۹/۹۵ بر حسب درصد اندازه‌گیری شد. بیش‌ترین و کم‌ترین هاله اندازه‌گیری طی روش دیسک دیفیوژن با قطر ۱۶/۲ و ۹/۷ میلی‌متر به باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *انتروباکتر ائروژنز* تعلق داشت. حداقل غلظت کشندگی 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.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.52547/fsct.18.112.189]

۱- مقدمه

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 [٤]. از جمله ترکیبات با ارزش گیاهی متابولیت‌های ثانویه آن‌ها است که پایه اصلی بسیاری از مواد دارویی می‌باشند [۱]. فنل، فلاونوئید، کاروتنوئید از مهم‌ترین متابولیت‌های ثانویه هستند که در قسمت‌های مختلف گیاهان مانند برگ، ساقه و شاخه‌ها وجود دارند. میان ترکیبات فنلی و پتانسل آنتی‌اکسیدانی رابطه مستقیمی برقرار است و افزایش این ترکیبات موجب بالا بردن قدرت آنتی‌اکسیدانی می‌شود[۲].

آنتی‌اکسیدان‌ها به ترکیباتی گفته می‌شود که با دادن الکترون یا هیدروژن رادیکال‌های آزاد را مهار می‌کنند و طی یک چرخه موجبکاهش سرعت و حتی مهار اکسیداسیونمی‌شوند [۵]. استرس‌های اکسیداتیو آثار نامطلوبی بر سلامتی انسان‌ها دارد و موجب بسیاری از بیماری‌ها می‌شوند. استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی به دلیل قیمت پایین و اثربخشی بالای آن‌ها بسیار مرسوم است[٦]. با این وجود استفاده از مواد سنتزی به دلیل ایجاد عوارض جانبی در مصرف‌کنندگان 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].

مینای 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]. چهار گونه گیاهی از جنس Sclerorhachis شناسایی شده است و در این میان دو گونه آن با نام‌های *Sclerorhachisplatyrachis* و *Sclerorhachisleptoclada* بومی ایران هستند [۹]. بر اساس نتایج به دست آمده از پژوهش‌های پیشین اسانس مینای نیشابوری منبعی غنی از متابولیت‌های ثانویه محسوب می‌شود[۸]. از عمده‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده این گیاه می‌توان 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 به‌عنوان افزودنی در مواد غذایی استفاده می‌شود. امروزه نیز با پیشرفت علم مشخص شده است که گیاه مینای نیشابوری پتانسیل آنتی‌اکسیدانی، 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 خطرزایی نگهدارنده‌های سنتزی و سلامت جامعه انسانی را برطرف کند. لذا هدف از این پژوهش بررسی محتوی فنل تام، فلاونوئیدی، پتانسیل آنتی‌اکسیدانی و قدرت ضدباکتریایی اسانس مینای 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*[1] ATCC 25923، *اشرشیا کلی*[2] ATCC 25922، *سودوموناس ائروژینوزا*[3] ATCC 27853، *انتروباکتر ائروژنز*[4] ATCC 13048 و *لیستریا اینوکوا*[5] ATCC 33090 استفاده گردید. همگی این سویه‌های 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*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.52547/fsct.18.112.189]

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 تیازولین-٦- سولفونیک اسید)،بتا-کاروتن، گالیک اسید،محیط‌های کشت میکروبی شامل: مولر هینتون آگار و مولر هینتون براث از شرکت سیگما-آلدریچ(آمریکا) خریداری شدند.

۲-۲- تهیه اسانس مینای نیشابوری

اسانس‌گیری از گیاه مینای نیشابوریبا 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 ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید[۱۲].

۲-۳- بررسی فعالیت ضدمیکروبی اسانس مینای نیشابوری به روش چاهک آگار

در این روش ابتدا پلیت‌ها با ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت مولر هینتون 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 ٦ میلی‌متر) انتقال یافت. پس از طی مرحله پیش انتشار (۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد) گرمخانه گذاری به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. قطر هاله عدم رشد توسط خط‌کش اندازه‌گیری و برحسب میلی‌متر ثبت گردید [۱۳].

۲-٤- بررسی فعالیت ضدمیکروبی 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 ٦ میلی‌متر به‌عنوان مکان تلقیح اسانس استفاده شد. پس از طی مرحله پیش انتشار و گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ٢٤ ساعت هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد [۱۳ و ١٤].

۲-۵- تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس مینای نیشابوری به روش میکرودایلوشن براث

در این روش ابتدا ٤ گرم اسانس مینای نیشابوری به ۹ میلی‌لیتر محیط کشت مولر هینتون براث و ۱ میلی‌لیتر امولسیفایر افزوده شد و بدین ترتیب محلول استوک با غلظت ٤۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه گردید. غلظت‌های متوالی از محلول استوک ساخته و ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌ها به چاهک‌های میکروپلیت ۹٦ خانه‌ای افزوده شد. پس از تلقیح ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون‌های میکروبی در ردیف‌های میکروپلیت ۹٦ خانه‌ای گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ٢٤ 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].

۲-٦- تعیین حداقل غلظت کشندگی اسانس مینای نیشابوری

جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی اسانس مینای نیشابوری میزان۱۰۰ میکرولیتر از چاهک‌های میکروپلیت ۹٦ خانه‌ای که در آن‌ها تغییر رنگی رخ نداده برداشته و بر سطح محیط کشت مولر هینتون آگار کشت شد. اولین پلیتی که پس از ٢٤ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد هیچ کلنی در آن رشد نکرده بود به عنوان حداقل غلظت کشندگی گزارش گردید [۱۳ و ١٦].

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 نیشابوریرا 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

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.52547/fsct.18.112.189]

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

۲-۸- تعیین ترکیباتفلاونوئیدی 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 نیتریت سدیم ۵ درصد اضافه شد. ۱۵۰ میکرولیتر آلومینیوم تری کلراید پس از گذشت ٦ دقیقه بهنمونه‌ها 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- 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 ۷۳٤ نانومتر مطابق با روش نوروزی و همکاران (۱۳۹۷)، و همکاران محاسبه شد [۲۰].

۲-۹-۳- روش بتاکاروتن لینولئیک اسید

قدرت آنتی‌اکسیدانی اسانس طی این آزمون با ثبت تغییرات رنگبتاکاروتن 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[1]نسخه ۱۸ استفاده شد. تمامی آزمون‌ها در سه تکرار صورت گرفت. از آزمون چند دامنه‌ای دانکن[2] 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 *سودوموناسائروژینوزا*، *انتروباکترائروژنز*، *اشرشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* *ولیستریااینوکوا* به ترتیب ۱۰، ۹/۷، ۱۰/۸، ۱٦/۲ و ۱۱/٦ میلی‌متر بود. بر اساس نتایج دیسک دیفیوژن *انتروباکترائروژنز* بیش‌ترین مقاومت را در برابر فعالیت ضدباکتریایی اسانس مینای نیشابوری از خود نشان داد.نتایج مربوط به اثر ضدباکتریایی اسانس مینانیشابوری به روش چاهک آگار در جدول ۲، ذکر شده است. بر اساس نتایج به دست آمده میانگین قطر هاله عدم رشد سویه‌های *سودوموناسائروژینوزا*، *انتروباکترائروژنز*، *اشرشیاکلی*، *استافیلوکوکوساورئوس* *ولیستریااینوکوا* به ترتیب ۱۲/۱، 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 بهاسانس 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 *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 کلرامفنیکل نشان داد در سطح آماری ۵ درصد اختلاف معنی‌داری برای تمامی سویه‌های بیماری‌زا مشاهده شد. به طور کلی اثر ضدمیکروبی آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل بر سویه‌های مورد بررسی

1. Statistical package for social science
2. Duncan

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.52547/fsct.18.112.189]

بیشتر از اثر اسانس مینای نیشابوری بود. مقایسه میان اثر ضدمیکروبی اسانس مینای نیشابوری بر سویه‌های بیماری‌زا نشان داد در سطح آماری ۵ درصد میان باکتری‌های *سودوموناس ائروژینوزا*، *انتروباکتر ائروژنز* و *اشرشیا کلی* تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. نتایج نشان داد میان باکتری *اشرشیا کلی* با *لیستریا اینوکوا* تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ 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 *استافیلوکوکوس اورئوس* با تمامی سویه‌های بیماری‌زا (*سودوموناس ائروژینوزا*، *انتروباکتر ائروژنز*، *اشرشیا کلی* و *لیستریا اینوکوا*) اختلاف معنی‌داری داشت.

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

Antimicrobial substance Microorganism	SPEO	Chloramphenicol
Pseudomonas aeruginosa	10.00 ±0.33[a]	18.50 ±0.60[b]
Escherichia coli	10.80 ±0.40[a]	14.60 ±0.50[b]
Enterobacter aerogenes	9.70 ±0.29[a]	15.00 ±0.30[b]
Listeria innocua	11.60 ±0.43[a]	17.00 ±0.45[b]
Staphylococcus aureus	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.

نتایج مربوط به حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی اسانس مینای نیشابوری در جدول ۲، ذکر شده است. حداقل غلظت مهارکنندگی برای باکتری‌های *سودوموناسائروژینوزا*، *انتروباکترائروژنز*، *اشرشیاکلی*، *استافیلوکوکوساورئوس* و *لیستریااینوکوا* به ترتیب ۲۵،۵۰، ۲۵، ۶/۲۵ و ۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت کشندگی اسانس مینای نیشابوریبسته به نوع باکتری در محدوده ۱۰۰ تا بیش از ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر قرار داشت.*انتروباکتر ائروژنز* با حداقل غلظت کشندگی بیش از ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و *استافیلوکوکوساورئوس* با حداقل غلظت کشندگی ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر 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.

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)
Pseudomonas aeruginosa	25	200	12.10 ±0.50
Escherichia coli	25	200	11.30 ±0.53
Enterobacter aerogenes	50	>400	10.50 ±0.20
Listeria innocua	12.5	200	13.50 ±0.51
Staphylococcus aureus	6.25	100	18.20 ±0.46

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 میلی‌گرم 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 میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم از اسانس مینای نیشابوری بود. نتایج مربوط به اندازه‌گیری محتوی فنلی و 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 لینولئیک اسید و مهار رادیکال‌های DPPH و ABTS به ترتیب ۴۸/۹۵، ۵۲/۳۹، ۶۸/۳ درصد بود.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-06]
[DOI: 10.52547/fsct.18.112.189]

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)
ß-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

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 مستقیما 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 (۲۰۱٤)، اثر ضدمیکروبی 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 *استافیلوکوکوساپیدرمیدیس* 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 [۲٤]. 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 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 آنتی‌اکسیدانی 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 به‌عنوان 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 ۳۰/۳٤ برحسب میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک گزارش کردند[۲٦].Fazly Bazzaz و همکاران (۲۰۰۸)، محتوی فلاونوئیدی ٤۲۲ 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 ۵۲/٤ 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].

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.52547/fsct.18.112.189]

از روش‌های رنگ‌سنجی بتاکاروتن لینولئیک اسید و مهار رادیکال‌های DPPH و ABTS 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 ۹۲/۳، ۱۰۳/٤ و ۷۱/۱ 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(۹۷/۷٦٪)استخراج شده در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت مشاهده شد[۲٦].Omokhua و همکاران (۲۰۱۹)، قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره *Tithonia rotundifolia* متعلق به خانواده آستراسه را به روش مهار رادیکال‌های DPPH و ABTS 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 ۱۵۲/۵٦ و ۵۲/۰٦ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر حسب IC_{50} گزارش شد[۲۹]. نتایج مطالعه حاضربا یافته‌های این محققین همخوانی داشت.

٤- 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 قطر هاله‌های اندازه‌گیری شده باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت کم‌تر بود. اسانس مینای نیشابوری دارای محتوی فنلی 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.

٥- تشکروقدردانی

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 می‌باشد تشکر و قدردانی می‌نمایند.

٦- 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 ld50 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

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.52547/fsct.18.112.189]

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] Ansaripour A, Mehrnia MA, Noshad M, Barzegar H, Alizadeh Behbahani B. Antimicrobial effect of garlic essential oilon a number offoodborne 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 andantibacterial activity of *Ocimumbasilicum* essential oil and the effects of its interactionwith 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 propertiesand 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*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*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.: anindigenous medicinal plant from northeastern iran;essential oil composition, total flavonoid content andantioxidant 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 platy-rachis*(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

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.52547/fsct.18.112.189]

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 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.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.52547/fsct.18.112.189]

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

*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

ARTICIE INFO

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

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

ABSTRACT

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 Folinciocalteu 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.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.52547/fsct.18.112.189]