



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

ارزیابی فنل و فلاونوئید کل، قدرت آنتی اکسیدانی و فعالیت ضد میکروبی عصاره آبی حنا بر تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی

حسن برزگر^{۱*}، بهروز علیزاده بهبهانی^۲، محمد نوشاد^۲

۱- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملائانی، ایران.

۲- استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملائانی، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۰۵

کلمات کلیدی:

برگ حنا،

عصاره آبی،

فعالیت ضد میکروبی،

پتانسیل آنتی اکسیدانی،

ترکیبات زیست فعال.

DOI: 10.52547/fsct.18.116.327

* مسئول مکاتبات:

hbarzegar@asnrukh.ac.ir

امروزه به دلیل اثرات سمی ترکیبات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی سنتزی، استفاده از انواع طبیعی آن‌ها از جمله عصاره‌های گیاهی افزایش یافته است. در این پژوهش، اثر ضد میکروبی عصاره آبی برگ گیاه حنا به ۴ روش دیسک دیفیوژن، چاهک آگار، تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی بر باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی موریوم*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *لیستریا اینوکوا* مورد بررسی قرار گرفت. در تمامی روش‌ها غلظت‌های بالاتر عصاره فعالیت ضد میکروبی بیشتری بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *لیستریا اینوکوا* در مقایسه با باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی*-*موریوم* نشان داد. همچنین میزان فنول و فلاونوئید عصاره به ترتیب $59/45 \pm 1/12$ میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره و $40/35 \pm 0/70$ میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره به دست آمد. پتانسیل آنتی اکسیدانی عصاره آبی به دو روش مهار رادیکال آزاد DPPH و مهار رادیکال آزاد ABTS اندازه گیری و مشخص گردید که در هر دو روش افزایش غلظت عصاره به طور معنی داری منجر به افزایش پتانسیل آنتی اکسیدانی شد. با توجه با خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی عصاره برگ حنا، این گیاه می‌تواند به عنوان یک ترکیب زیست فعال طبیعی مورد استفاده قرار گیرد.

۱- مقدمه

در چند دهه اخیر آنتی بیوتیک‌های مختلف جهت درمان بسیاری از بیماری‌های باکتریایی مورد استفاده قرار گرفته‌اند، اما استفاده مداوم از آن‌ها منجر به ایجاد مقاومت‌های دارویی در تعداد زیادی از باکتری‌ها شده است. همچنین، قیمت بالا، اثرات کوتاه مدت، عدم تأثیر آنتی بیوتیک‌ها بر ویروس‌ها و مشکلات زیست محیطی از جمله معایبی می‌باشد که استفاده از آن‌ها را محدود کرده است [۱]. این مسائل استفاده از عوامل ضد میکروبی با اثرات بیشتر و عوارض جانبی کمتر را افزایش داده است [۲]. از زمان‌های گذشته عصاره‌های گیاهی به دلیل فعالیت بیولوژیکی قابل توجه از جمله خاصیت آنتی اکسیدانی، ضد باکتری و ضد قارچ شناخته شده‌اند. با افزایش مقاومت مصرف‌کنندگان در برابر مواد افزودنی مصنوعی استفاده از محصولات طبیعی در صنایع مختلف افزایش یافته است [۳].

حنا با نام علمی *Lawsonia inermis* متعلق به خانواده *Lythraceae*، درختی پر شاخ و برگ بوده که در مناطق مدیترانه‌ای، خاور نزدیک و هند یافت می‌شود. حنا در ایران در نواحی جنوبی کشور مانند بم و بلوچستان رشد می‌کند. این گیاه به شکل علفی، درختچه و یا درخت می‌باشد و بیشتر به جهت برگ‌هایش کشت داده می‌شود. هر چند سایر قسمت‌های آن از جمله ریشه، پوست ساقه، دانه‌ها و گل‌های آن نیز در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۴-۶]. حنا در برابر باکتری‌ها به ویژه باکتری‌های گرم مثبت، ویروس‌ها، مایکوباکتریوم، انگل‌ها، کپک و مخمر اثر ضد میکروبی داشته و به دلیل داشتن خواص آنتی اکسیدانی، ضد درد، ضد تب، ضد سرطان و تعدیل‌کننده ایمنی می‌تواند در درمان زخم‌های عفونی و بیماری‌های پوستی مورد استفاده قرار گیرد [۷]. اثرات ضد میکروبی عصاره گیاه حنا در مطالعات مختلف بررسی شده است. بهدانی و همکاران (۱۳۸۸) فعالیت ضد میکروبی عصاره آبی و اتانولی حنا را بر روی دو باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* بررسی کردند [۲]. همچنین میره‌ای و همکاران (۱۳۹۵) در بررسی فعالیت ضد میکروبی نانوالیاف پلیمری با افزودنی عصاره حنا گزارش کردند که محلول‌های پلیمری حاوی ۱ درصد عصاره این گیاه در مقایسه با انواع بدون عصاره در جلوگیری

از رشد باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* مؤثرتر می‌باشد [۷]. در این پژوهش میزان فنل، فلاونوئید عصاره آبی برگ حنا و همچنین خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی آن بر تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زا مانند *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی موریوم*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *لیستریا اینوکوا* بررسی گردید.

۲- مواد و روش

۲-۱- جمع‌آوری برگ حنا و تهیه عصاره از آن

پس از جمع‌آوری برگ حنا و شناسایی و خشک کردن کردن آن‌ها در دمای محیط، برگ گیاه پس از خشک شدن توسط آسیاب پودر گردید. از روش خیساندن جهت تهیه عصاره آبی استفاده شد. به این ترتیب که ۱۰۰ گرم از پودر گیاه به ۵۰۰ میلی‌لیتر آب اضافه و به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری شد. مخلوط آبی هر چند ساعت هم زده شد و به مدت ۲۰ دقیقه با شعله کم حرارت داده شد. پس از جمع‌آوری محلول رویی، محلول با سرعت ۳۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از عبور عصاره از کاغذ واتمن جهت انجام آزمون‌های مختلف در ظروف بسته در یخچال نگهداری شد [۸].

۲-۲- اندازه‌گیری فنول کل

به منظور اندازه‌گیری محتوای فنول کل از معرف فولین-سیوکالچو بر اساس روش علیزاده بهبهانی و همکاران (۲۰۲۰) با اندکی تغییر استفاده شد. بدین منظور، ۲۰ میکرولیتر عصاره به ۱۱۰ میکرولیتر معرف فولین-سیوکالچو تازه اضافه گردید. سپس ۷۰ میکرولیتر محلول سدیم کربنات به آن‌ها اضافه شد. پس از نگهداری محلول به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق، جذب نمونه در طول موج ۷۶۵ نانومتر ثبت و مقدار فنول کل بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره گزارش گردید [۹].

۲-۳- اندازه‌گیری فلاونوئید کل

جهت اندازه‌گیری فلاونوئید کل، ۱ میلی‌لیتر عصاره (۰/۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) یا محلول کوئرستین (۰/۵-۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به ۰/۳ میلی‌لیتر محلول سدیم نیتريت (۵ درصد) اضافه گردید.

سپس محلول با ۰/۳ میلی لیتر کلرید آلومینیوم (۱۰ درصد وزنی/حجمی) مخلوط و به مدت ۶ دقیقه هم زده شد. پس از افزودن ۲ میلی لیتر سدیم هیدروکسید (۱ مولار)، جذب محلول در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه گیری و میزان فلاونوئید کل بر اساس میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره برگ حنا گزارش گردید [۱۰].

۲-۴- اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی

خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره با استفاده از روش های مهار رادیکال آزاد DPPH و مهار رادیکال آزاد ABTS بررسی گردید.

۲-۴-۱- مهار رادیکال آزاد DPPH

جهت اندازه گیری میزان فعالیت عصاره برگ گیاه با استفاده از روش مهار رادیکال آزاد DPPH، ۰/۵ میلی لیتر عصاره با ۳/۹۵ میلی لیتر محلول متانولی DPPH (۰/۱ میلی گرم در میلی لیتر معادل ۲۵۰ میلی مولار) مخلوط و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق در مکانی تاریک نگهداری شد. از ۰/۰۵ میلی لیتر متانول به عنوان نمونه کنترل استفاده گردید. در پایان، جذب نمونه ها در طول موج ۵۱۸ نانومتر اندازه گیری شد. فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH با استفاده از فرمول زیر به دست آمد [۱۱]:

$$100 \times (1 - \text{Abs sample} / \text{Abs control}) = (\%) \text{ فعالیت مهارکنندگی}$$

۲-۴-۲- مهار رادیکال آزاد ABTS

پس از تهیه محلول ۷ میلی مولار ABTS در آب، با نسبت ۱:۱ با محلول ۲/۴۵ میلی مولار پرسولفات سدیم مخلوط شد. رادیکال های کاتیونی ABTS با نگهداری محلول تهیه شده در دمای محیط در مکانی تاریک به مدت ۱۶ ساعت تولید گردید. محلول رادیکال های کاتیونی ABTS با استفاده از متانول در طول موج ۷۳۴ نانومتر تا رسیدن به جذب ۰/۷ رقیق شد. سپس، ۰/۱ میلی لیتر عصاره برگ گیاه حنا با ۳/۹ میلی لیتر محلول رقیق شده رادیکال های کاتیونی ABTS مخلوط شد. پس از گذشت ۶ دقیقه در دمای اتاق جذب نمونه در طول موج ۷۳۴ نانومتر خوانده شد. میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال ABTS با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید [۱۲]:

$$100 \times \frac{\text{جذب عصاره} - \text{جذب نمونه شاهد}}{\text{درصد جذب رادیکال جذب نمونه شاهد}}$$

۲-۵- بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره

در بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره (عمل استریل کردن عصاره با فیلتر سرسنگی ۰/۴۵ میکرونی انجام شد) از ۴ روش دیسک دیفیوژن، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی استفاده شد.

۲-۵-۱- دیسک دیفیوژن آگار

ابتدا ۱۰۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون میکروبی (معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند: در طول موج ۶۲۵ نانومتر جذب معادل ۰/۰۸ تا ۰/۱۳ بود) به پلیت های حاوی محیط کشت مولر هیتون آگار اضافه شد. سپس دیسک های استریل (با قطر ۶ میلی متر) آغشته شده به غلظت های ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر روی پلیت ها تثبیت شد. پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شد و قطر هاله ها بر اساس میلی متر به عنوان مناطق مهارکننده اندازه گیری شد [۱۳].

۲-۵-۲- انتشار چاهک در آگار

پس از ایجاد چاهک هایی با قطر ۶ میلی متر در پلیت های حاوی محیط مولر هیتون آگار، سوسپانسیون های میکروبی (معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند) در سطح محیط کشت داده شد. سپس از هر یک از غلظت های عصاره در چاهک ها ریخته و پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شد. پس از اتمام زمان گرمخانه گذاری اثر ضد میکروبی بر اساس قطر هاله عدم رشد (میلی متر) اندازه گیری شد [۱۴].

۲-۵-۳- حداقل غلظت مهارکنندگی

جهت انجام این آزمون، ۲۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون های میکروبی (معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند) به چاهک های پلیت ۹۶ خانه ای اضافه شد. سپس ۲۰۰ میکرو لیتر از غلظت های مختلف عصاره به هر یک از چاهک ها اضافه گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد. پس از آن، ۲۰ میکرو لیتر محلول تری فنیل تترازولیم (۵ درصد) به چاهک ها اضافه و مجدداً به مدت ۳۰ دقیقه گرمخانه گذاری شد. پس از پایان زمان گرمخانه گذاری، اولین غلظتی که در آن هیچگونه رنگ قرمزی (عدم رشد باکتری) مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی گزارش گردید [۱۵].

۲-۵-۴- حداقل غلظت کشندگی

در این روش، ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک‌های فاقد رشد میکروبی در آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی در پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هیتون آگار کشت داده شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد. غلظتی که در آن هیچگونه رشدی مشاهده نشد، به عنوان حداقل غلظت کشندگی گزارش گردید [۱۶].

۲-۶- آنالیز آماری

تمام آزمایش‌های این پژوهش در سه تکرار انجام شدند. آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p < 0.05$) جهت بررسی معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها مورد استفاده قرار گرفت. همچنین تجزیه و تحلیل آماری نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- میزان فنول و فلاونوئید کل عصاره

ترکیبات فنولی موجود در بخش‌های مختلف گیاه با کاهش بیماری‌های قلبی دارای اثرات مفید در سلامتی انسان بوده و در بهبود پایداری غذاهای چربی نقش دارند [۱۳]. میزان کل فنول عصاره آبی برگ حنا برابر با $59/45 \pm 1/12$ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره و میزان فلاونوئید آن برابر با $40/35 \pm 0/70$ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره بود. فیلیپ و همکاران (۲۰۱۱) مقدار فنول و فلاونوئید کل عصاره آبی دانه حنا را به ترتیب $51/46$ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره و $6/86$ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره گزارش کردند [۱۷]. در مطالعه دیگری مقدار فنول عصاره آبی گیاه حنا $1/45$ میلی‌گرم تانیک در میلی‌گرم ماده خشک حنا گزارش شده است [۱۸]. نوع نمونه، نوع حلال و دمای به کار گرفته شده برای استخراج در میزان ترکیبات فنولی نقش دارند. همچنین تفاوت‌های اکولوژی گیاه از جمله ارتفاع، دما، رطوبت، اقلیم و خاک و عرض جغرافیایی در مقدار این ترکیبات مؤثر می‌باشد. ترکیبات فنولی نقش مهمی را در خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی گیاهان دارویی دارا می‌باشند [۱۹].

۳-۲- خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره

آنتی اکسیدان‌ها نقش مهمی در جلوگیری از تغییرات عطر و طعمی و کیفیت مواد غذایی ایفا می‌کنند و همچنین قادر به کاهش خطرات ناشی از بیماری‌هایی مانند سرطان و دیابت می‌باشند [۲۰]. نتایج حاصل از بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره آبی حنا به دو روش مهار رادیکال آزاد DPPH و مهار رادیکال آزاد ABTS در شکل ۱ نشان داده شده است.

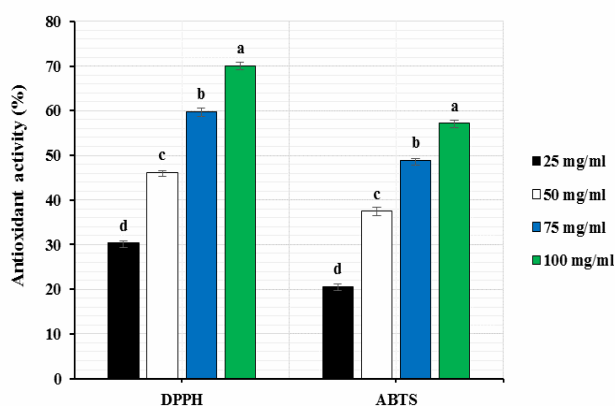


Fig 1 Antioxidant activity of *Lawsonia inermis* aqueous extract based on DPPH- and ABTS-radical scavenging methods.

همانطور که مشاهده می‌شود در هر دو روش، افزایش غلظت عصاره به طور معنی‌داری سبب افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی می‌شود. به گونه‌ای که میزان فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر برابر با ۳۰/۴۰ درصد و در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر برابر با ۷۰/۱۰ درصد بود. همچنین میزان مهار رادیکال آزاد ABTS در غلظت‌های ۲۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به ترتیب ۲۰/۶۲ درصد و ۵۷/۱۵ درصد به دست آمد. ترکیبات فیتوشیمیایی مانند ترکیبات فنولی که در گیاهان یافت می‌شود، نقش مهمی در ایجاد خاصیت آنتی اکسیدانی و سلامتی بخشی ایفا می‌کنند [۲۰]. از این رو، خاصیت آنتی اکسیدانی بالای عصاره آبی حنا را می‌توان به مقادیر بالای فنول آن نسبت داد [۲۱]. پسندی پور و فرح بخش (۲۰۲۰) در بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های آبی برگ حنای جمع‌آوری شده از مناطق مختلف، ضمن تأکید بر تأثیر غلظت عصاره و اکوتیپ گیاه در میزان فعالیت آنتی اکسیدانی گزارش کردند که افزایش غلظت عصاره سبب افزایش خاصیت

در روش چاهک آگار (شکل ۳) افزایش غلظت عصاره به طور معنی داری سبب افزایش قطر هاله عدم رشد در تمامی باکتری‌ها شد. به گونه‌ای که کمترین قطر هاله در غلظت ۲۵ میلی گرم در میلی لیتر در باکتری *اشرشیا کلی* و بیشترین مقدار آن در غلظت ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر در باکتری *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* مشاهده شد.

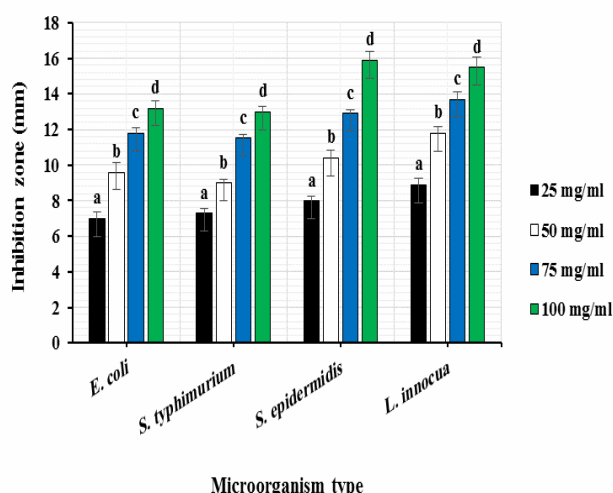


Fig 3 Antimicrobial activity of *Lawsonia inermis* aqueous extract based on well diffusion method.

همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده است، کمترین غلظت مهارکنندگی (۶/۲۵ میلی گرم در میلی لیتر) در باکتری *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و بیشترین غلظت مهارکنندگی (۲۵ میلی گرم در میلی لیتر) در باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی موریوم* مشاهده شد. حداقل غلظت کشندگی (جدول ۱) برای باکتری‌های *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *لیستریا اینوکوا* برابر با ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر و برای باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی موریوم* برابر با ۲۰۰ میلی گرم در میلی لیتر بود.

آنتی اکسیدانی می شود [۲۲]. همچنین گزارش شده است که عصاره‌های آبی و متانولی حنا به طور قابل توجهی قادر به مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS می باشد [۲۳].

۳-۳- فعالیت ضد میکروبی عصاره

نتایج خاصیت ضد میکروبی به روش دیسک دیفیوژن در شکل ۲ نشان داده شده است. مشاهده می شود که در ۲ باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* افزایش غلظت به طور معنی داری سبب افزایش قطر هاله‌های عدم رشد می شود. در حالی که در ۲ باکتری *اشرشیا کلی* و *لیستریا اینوکوا* بین غلظت-های ۵۰ میلی گرم در میلی لیتر و ۷۵ میلی گرم در میلی لیتر عصاره اختلاف معنی داری مشاهده نشد، در حالی که این غلظت‌ها با غلظت‌های ۲۵ و ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر عصاره اختلاف معنی داری نشان دادند. به طوری که باکتری *اشرشیا کلی* با کمترین قطر هاله عدم رشد در غلظت ۲۵ میلی گرم در میلی لیتر مقاوم ترین باکتری و باکتری *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* با بیشترین قطر هاله عدم رشد در غلظت ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر حساس ترین باکتری بود.

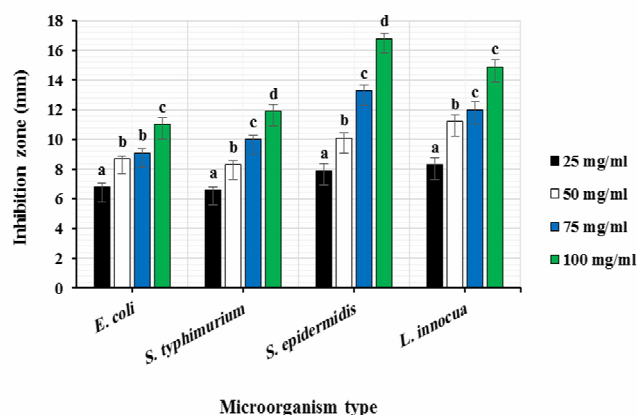


Fig 2 Antimicrobial activity of *Lawsonia inermis* aqueous extract based on disc diffusion method.

Table 1 Minimum inhibitory and bactericidal concentrations of *Lawsonia inermis* aqueous extract against some pathogenic bacterial species.

Microorganism type	Minimum inhibitory concentration (mg/ml)	Minimum bactericidal concentration (mg/ml)
<i>E. coli</i>	25	200
<i>S. typhimurium</i>	25	200
<i>S. epidermidis</i>	6.25	100
<i>L. innocua</i>	12.5	100

خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی افزایش می‌یابد. اگرچه اثر ضد میکروبی عصاره بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *لیستریا اینوکوا* بیشتر از باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *سالمونلا* تیغی‌موریوم بود اما با توجه به خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی بالای عصاره می‌توان از این ترکیب طبیعی جهت جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا استفاده کرد.

۵- تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان جهت حمایت مالی طرح پژوهشی شماره ۹۹۱/۲۷ که این مقاله مستخرج از آن می‌باشد تشکر و قدردانی می‌نمایند.

۶- منابع

- [1] Mohammadi, M., Cheleh Mal Dezfooli Nezhad, M. and Mesbah, M., 2018. The Effect of Ethanolic Extract of *Lawsonia inermis* on the Hematological Parameters in *Cyprinus carpio*. *Journal of Animal Biology*, 10 (3), pp.55-63.
- [2] Behdani, M., Ghazvini, K., Mohammadzadeh, A. and Sadeghian, A., 2009. Antibacterial activity of Henna extracts against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Quarterly of Horizon of Medical Sciences*, 15 (2), pp. 46-52.
- [3] Duffy, C.F. and Power, R.F., 2001. Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts. *International journal of antimicrobial agents*, 17 (6), pp.527-529.
- [4] Shiravi, A. Alebooyeh, M., Hojati, V. and Akbari, H., 2011. The Effect of Extract of Henna Leaves (*Lawsonia inermis*) on Skin Wound Healing in Wistar Rats. *Journal of Animal Biology*, 3 (4), pp.45-51.
- [5] Madanifar, N., Khayatizade, J., Balanezhad, S. and Tehranipour, M., 2014. The effects of henna leaf alcoholic extract on angiogenesis of chorioallantoic membrane and some embryonic morphological abnormalities of chick embryos. *Journal of Shahrekord*

اثر ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی را می‌توان به ترکیبات زیست فعال موجود در آن‌ها نسبت داد. این ترکیبات قادر به اتصال به سطح سلولی و نفوذ به لایه‌های فسفولیپیدی غشای سلولی می‌باشند. ازدیاد و انباشته شدن این ترکیبات در سلول منجر به اختلال در یکپارچگی سلول و به دنبال آن تأثیر بر متابولیسم و در نهایت مرگ سلول می‌شود [۲۴]. در مطالعات مختلف اثر ضد میکروبی عصاره‌های تولیدی با حلال‌های گوناگون مورد بررسی قرار گرفته است. به عنوان مثال، راجا و همکاران (۲۰۱۳)، در بررسی اثر ضد میکروبی عصاره متانولی برگ گیاه حنا به روش دیسک دیفیوژن، وجود ترکیبات زیست فعال مختلف از جمله فلاونوئیدها را عامل فعالیت ضد میکروبی این عصاره بیان کردند [۲۵]. در پژوهش دیگری، خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های آبی، متانولی و استونی و کلروفورمی برگ گیاه حنا بر تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زا از جمله *اشرشیا کلی*، *سالمونلا*، *کلبسیلا* و *شیگلا* سونی مورد بررسی قرار گرفت و گزارش گردید که تمامی عصاره‌ها دارای اثر ضد میکروبی بر روی تمام باکتری‌های مورد مطالعه می‌باشند [۲۶]. سادابی (۲۰۰۷) با تأکید بر خاصیت بیشتر عصاره آبی برگ حنا در مقایسه با عصاره‌های متانولی و کلروفورمی بیان کردند که افزایش غلظت عصاره‌ها در جلوگیری بیشتر از رشد میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه مؤثرتر می‌باشد [۲۷]. لازم به ذکر است که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به انواع گرم منفی نسبت به عصاره آبی حنا حساسیت بالاتری نشان دادند که این اختلاف ناشی از تفاوت در دیواره سلولی این میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. بطوریکه غشای بیرونی باکتری‌های گرم منفی شامل ساختارهای لیپیدی ساکاریدی پیچیده‌ای است که سبب کاهش سرعت نفوذ ترکیبات ضد میکروبی به داخل سلول می‌گردد. در حالیکه باکتری‌های گرم مثبت دارای لایه موکوپتیدی ساده و نفوذپذیری می‌باشند که سبب حساسیت بیشتر این باکتری‌ها به مواد ضد میکروبی می‌گردد [۸].

۴- نتیجه‌گیری

در این مطالعه خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی عصاره آبی برگ حنا نشان داده شد. در روش‌های مختلف ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی مشخص گردید که با افزایش غلظت عصاره

- [13] Hojjati, M. and Alizadeh Behbahani, B., 2020. Evaluation of the effect of aqueous and methanolic extraction methods on the antioxidant and antimicrobial characteristics of *Allium jesdianum* extract: in vitro study. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 17 (1), pp. 83-91.
- [14] Noshad, M., Hojjati, M. and Behbahani, B.A., 2018. Black Zira essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some pathogenic strain causing infection. *Microbial pathogenesis*, 116, pp.153-157.
- [15] Kiarsi, Z., Hojjati, M., Behbahani, B.A. and Noshad, M., 2020. In vitro antimicrobial effects of *Myristica fragrans* essential oil on foodborne pathogens and its influence on beef quality during refrigerated storage. *Journal of Food Safety*, 40(3), p.e12782.
- [16] Behbahani, B.A., Noshad, M. and Falah, F., 2019. Cumin essential oil: Phytochemical analysis, antimicrobial activity and investigation of its mechanism of action through scanning electron microscopy. *Microbial pathogenesis*, 136, 103716.
- [17] Philip, J.P., Madhumitha, G. and Mary, S.A., 2011. Free radical scavenging and reducing power of *Lawsonia inermis* L. seeds. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 4(6), pp.457-461.
- [18] Hosein, H.K.M. and Zinab, D., 2007. Phenolic compounds and antioxidant activity of henna leaves extracts (*Lawsonia inermis*). *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 2(1), pp.38-41.
- [19] Noshad, M., Alizadeh Behbahani, B., Dehghani, S., 2020. Improving oxidative and microbial stability of beef by using a bioactive edible coating obtained from Barhang-e-Sagheerseed mucilage and loaded with Avishan-e-Baghi. *Food Science and Technology*, 17(4), pp. 1-13.
- [20] Hsouna, A.B., Trigui, M., Culioli, G., Blache, Y. and Jaoua, S., 2011. Antioxidant constituents from *Lawsonia inermis* leaves: Isolation, structure elucidation and antioxidative capacity. *Food Chemistry*, 125(1), pp.193-200.
- [21] Uma, D.B., Ho, C.W. and Wan Aida, W.M., 2010. Optimization of extraction parameters of total phenolic compounds from *University of Medical Sciences*, 16 (4), pp.100-109.
- [6] Rastegari, S., Alich, M., Samih, M.A., Minaei, K. and Saharkhiz, J., 2016. Toxicity effect of henna, *Lawsonia inermis* L. and madder *Rubia tinctorum* L. extracts on *Rhopalosiphum padi* L. versus pesticidal effect of pirimicarb and imidacloprid. *Journal of Plant Protection*, 38 (4), pp.55-66.
- [7] Mirei, Z S., Sadri, M. and Salimi, A., 2016. Investigation of antimicrobial activity of polymeric nanofibers using henna additive. *Nova Biologica Reperta*, 3 (3), pp.210-217.
- [8] Noshad, M., Alizadeh Behbahani, B. and Dehghani, S., 2020. Evaluation of the effect of aqueous and ethanolic extraction methods on extraction yield, phenolic compounds, and antioxidant and antimicrobial activity of *Stachys schtschegleevii* extract. *Food Science and Technology*, 17 (3), pp.117-125.
- [9] Alizadeh Behbahani, B., Falah, F., Lavi Arab, F., Vasiee, M. and Tabatabaee Yazdi, F., 2020. Chemical composition and antioxidant, antimicrobial, and antiproliferative activities of *Cinnamomum zeylanicum* bark essential oil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020, pp. 1-8.
- [10] Barzegar, H., Behbahani, B.A. and Mehrnia, M.A., 2020. Quality retention and shelf life extension of fresh beef using *Lepidium sativum* seed mucilage-based edible coating containing *Heracleum lasiopetalum* essential oil: an experimental and modeling study. *Food Science and Biotechnology*, 29(5), pp.717-728.
- [11] Noshad, M., Alizadeh Behbahani, B., Jooyandeh, H., Rahmati-Joneidabad, M., Hemmati Kaykha, M.E. and Ghodsi Sheikhan, M., 2021. Utilization of *Plantago major* seed mucilage containing *Citrus limon* essential oil as an edible coating to improve shelf-life of buffalo meat under refrigeration conditions. *Food Science & Nutrition*, 9(3), pp.1625-1639.
- [12] Tanavar, H., Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B. and Mehrnia, M.A., 2020. *Mentha pulegium* essential oil: chemical composition, total phenolic and its cytotoxicity on cell line HT29. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 16 (5), pp. 643-653.

- Microorganisms “in vitro”. *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine*, 24(85), pp.1-9.
- [25] Raja, W., Ovais, M. and Dubey, A., 2013. Phytochemical screening and antibacterial activity of *Lawsonia inermis* leaf extract. *medicine*, 6(8).
- [26] Gull, I., Sohail, M., Aslam, M.S. and Athar, M.A., 2013. Phytochemical, toxicological and antimicrobial evaluation of *Lawsonia inermis* extracts against clinical isolates of pathogenic bacteria. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 12(1), pp.1-6.
- [27] Saadabi, M. A. (2007). Evaluation of *Lawsonia inermis* Linn.(Sudanese henna) leaf extracts as an antimicrobial agent. *Research Journal of Biological Sciences*, 2(4), 419-423.
- henna (*Lawsonia inermis*) leaves. *Sains Malaysiana*, 39(1), pp.119-128.
- [22] Pasandi Pour, A. and Farahbakhsh, H., 2020. *Lawsonia inermis* L. leaves aqueous extract as a natural antioxidant and antibacterial product. *Natural product research*, 34(23), pp.3399-3403.
- [23] Guha, G., Rajkumar, V., Kumar, R.A. and Mathew, L., 2011. Antioxidant activity of *Lawsonia inermis* extracts inhibits chromium (VI)-induced cellular and DNA toxicity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011.
- [24] Shahidi, F., Yazdi, F.T., Roshanak, S., Behbahani, B.A., Norouzi, N. and Vasiee, A., 2019. Antimicrobial Activity of *Lepidium draba* Extract on some Pathogenic



Evaluation of total phenol and flavonoid contents, antioxidant and antimicrobial activity of *Lawsonia inermis* aqueous extract against some Gram- positive and Gram- negative bacteria

Barzegar, H.^{1*}, Alizadeh Behbahani, B.², Noshad, M.²

1. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
2. 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

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received 2021/04/17 Accepted 2021/05/26 Keywords: <i>Lawsonia inermis</i> leaf, Aqueous extract, Antimicrobial property, Antioxidant property, Bioactive compounds. DOI: 10.52547/fsct.18.116.327 *Corresponding Author E-Mail: hbarzegar@asnrukh.ac.ir	The toxic effects of synthetic antimicrobial and antioxidants compounds have led to an increase in the use of natural types, such as plant extracts. In this study, the antimicrobial effect of <i>Lawsonia inermis</i> aqueous extract was investigated against <i>Escherichia coli</i>, <i>Salmonella typhimurium</i>, <i>Staphylococcus epidermidis</i>, and <i>Listeria innocua</i>, by disc diffusion agar, well diffusion agar, minimum inhibitory concentration, and minimum bactericidal concentration methods. The higher concentrations of the extract showed higher antimicrobial effects against <i>S. epidermidis</i> and <i>L. innocua</i> compared to <i>E. coli</i> and <i>S. typhimurium</i>. Moreover, the total phenolic and flavonoids contents of the extract were 59.45±1.12 mg gallic acid per gram of extract and 40.35±0.70 mg quercetin per gram of extract, respectively. The antioxidant properties of aqueous extract were measured based on the DPPH and ABTS free radical scavenging activities. It was found that the antioxidant activity increased significantly as a function of <i>L. inermis</i> aqueous extract concentration. The antimicrobial and antioxidant properties of <i>L. inermis</i> leaf aqueous extract could make it a natural bioactive compound to be used.