مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی، قدرت آنتی‌اکسیدانی، فنولی و فلاونوئید کل عصاره گزنه: یک مطالعه آزمایشگاهی

محمد نوشاد[1*]، بهروز علیزاده بهبهانی[2]، مصطفی رحمتی جنیدآباد[3]

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

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

۳- استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۲۳

کلمات کلیدی:

عصاره اتانولی،

برگ گزنه،

ترکیب زیست فعال،

فعالیت ضدمیکروبی،

اثر آنتی‌اکسیدانی.

DOI: 10.22034/FSCT.19.125.147

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.25.4

* مسئول مکاتبات:

Noshad@asnrukh.ac.ir

چکیده

هدف از این پژوهش، استخراج عصاره اتانولی از برگ گیاه گزنه و تعیین خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی آن بود. بر همین اساس، عصاره اتانولی به روش خیساندن در اتانول استخراج گردید و سپس محتوای فنول کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (به دو روش مهار رادیکال آزاد DPPHو ABTS) و اثر ضدمیکروبی آن (به چهار روش دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی رشد و حداقل غلظت کشندگی) در برابر باکتری‌های *سالمونلا تیفی*، *اشرشیا کلی*، *باسیلوس سرئوس* و *لیستریا اینوکوا* اندازه‌گیری گردید. عصاره اتانولی برگ گزنه حاوی ۰/۴۹mg GAE/g ± ۶۵/۴۲ فنول کل و ۰/۳۰mg QE/g ± ۲۲/۱۹ فلاونوئید کل بود. علاوه بر این، عصاره قادر به مهار رادیکال‌های آزاد DPPH به میزان ۰/۵۴ ± ۶۱/۹۰ درصد و ABTS به میزان ۰/۴۷ ± ۷۰/۱۰ درصد گردید. نتایج ضدمیکروبی نشان داد که باکتری‌های گرم مثبت (*باسیلوس سرئوس* و *لیستریا اینوکوا*) در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی (*سالمونلا تیفی* و *اشرشیا کلی*) نسبت به عصاره اتانولی برگ گزنه حساس‌تر بودند. بطور کلی، عصاره اتانولی برگ گزنه قادر به استفاده بعنوان ترکیب زیست فعال طبیعی جهت افزایش زمان ماندگاری محصولات غذایی را دارا می‌باشد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.25.4]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.147]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.25.4]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.147]

۱- مقدمه

در سال‌های اخیر، باکتری‌های بیماری‌زا و عامل فساد مواد غذایی منجر به ظهور یکی از چالش‌های مهم ایمنی مواد غذایی، یعنی شیوع بیماری‌های مختلف به واسطه غذاهای جدید شده‌اند. همچنین واکنش اکسیداسیون لیپیدها می‌تواند منجر به تشکیل محصولات جانبی سمی بالقوه شود که این ترکیبات سلامت انسان را تهدید می‌کنند[۱]. استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی در مواد غذایی، منجر به افزایش نگرانی مصرف‌کنندگان در رابطه با خطرات مصرف این ترکیبات بر سلامتی شده است[۲]. از این رو، تلاش‌های زیادی برای کشف ترکیبات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی جدید از منابع مختلف مانند خاک، میکروارگانیسم‌ها، حیوانات و گیاهان انجام شده است. یکی از این منابع، گیاهان دارویی است که مطالعات انجام شده روی آن‌ها منجر به کشف ترکیبات مؤثره جدیدی شده است[۳]. عصاره‌های گیاهی به دلیل دارا بودن فعالیت بیولوژیکی مختلف مانند خاصیت ضد میکروبی، ضد قارچی و آنتی‌اکسیدانی در صنایع مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرند[٤]. علاوه بر این، ترکیبات گیاهی به دلیل ماهیت طبیعی دارای اثرات سلامتی بخش می‌باشند و در مقایسه با مواد شیمیایی آلودگی‌های زیست محیطی کمتری را ایجاد می‌کنند[٥]. همچنین، ترکیبات فنولی موجود در گیاهان دارویی دارای خواص ضد سرطانی، ضد جهش و محافظت کنندگی قلب می‌باشند[٦].

گیاه گزنه (نام علمی *Urtica dioica*) گیاهی علفی با ساقه‌های منشعب از خانواده *Urticaceae*می‌باشد. گزنه گیاه دارویی بومی ایران بوده که در مناطق شمالی به‌وفور یافت می‌شود. گزنه گیاهی چند ساله است که با کرک‌های گزنده روی ساقه و برگ شناخته می‌شود. از خواص این گیاه می‌توان به خاصیت ضد باکتریایی، ضد حساسیت و ضد التهاب اشاره کرد. در طب سنتی از این گیاه جهت درمان عفونت‌های پوستی، گوارشی، تنفسی، آفت دهانی و اگزما استفاده می‌شود[۷-۹]. پیکر رویشی و برگ‌های گیاه گزنه دارای ویتامین‌های B، C، K، کاروتنوئید، کلروفیل، فلاونوئیدها، تری‌ترپن‌ها، استرول و گلوکوکپنین می‌باشد. بررسی خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاهان مختلف از جمله گزنه نشان داد که عصاره گیاه دارای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و قدرت احیا کنندگی بوده و از خاصیت ضد قارچی و ضد میکروبی بالایی برخوردار می‌باشد [۸، ۱۰]. همچنین اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی برگ‌های گیاه گزنه جمع آوری شده در مناطق بانیالوکا گزارش شده است[۱۱]. در مطالعه‌ای دیگر، بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه گزنه نشان داد که عصاره آبی گیاه دارای قدرت احیاء کنندگی، مهار رادیکال‌های آزاد، مهار هیدروژن پراکسید، مهار رادیکال‌های آنیونی سوپراکسید، چلاته‌کنندگی فلزات و مهار رادیکال آزاد بوده و دارای خاصیت ضد میکروبی در برابر ۹ میکروارگانیسم متفاوت می‌باشد[۱۲].

در این پژوهش پس از تهیه عصاره اتانولی گیاه گزنه و تعیین میزان فنول کل، فلاونوئید کل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی، اثر ضد میکروبی عصاره تولیدی بر تعدادی از باکتری‌های عامل فساد از جمله *سالمونلا تیفی*، *اشرشیا کلی*، *باسیلوس سرئوس* و *لیستریا اینوکوا* مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲- ۱- مواد شیمیایی

محلول تری‌فنل‌تترازولیوم، دیسک‌های بلانک و محیط‌های کشت مولر هینتون آگار و براث از شرکت مرک (آلمان)، محلول کوئرستین معرف فولین- سیوکالچو، محلولABTSو محلول DPPHاز شرکت سیگما (آمریکا) تهیه شدند.

۲- ۲- تهیه عصاره اتانولی

۱۰۰ گرم از پودر گیاه گزنه به ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹٦ درصد اضافه شد. مخلوط به مدت ٢٤ ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری هر چند ساعت یکبار همزده شد سپس نمونه به مدت ۲۰ دقیقه حرارت داده شد و با سرعت ٦۰۰ دور به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ و در دمای ٤۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک گردید. در پایان نمونه در ظروف درب دار در مکان تاریکی در یخچال نگهداری شد[۱۳].

۲-۳- تعیین میزان فنول کل

۲۰۰ میکرولیتر عصاره اتانولی با ۱ میلی‌لیتر محلول فنول مخلوط و به مدت ٦ دقیقه در مکان تاریک نگهداری شد. در مرحله بعد ۲ میلی‌لیتر محلول سدیم کربنات ۷ درصد به نمونه اضافه شد. بعد از نگهداری محلول به مدت ۲ ساعت، جذب آن در طول‌موج ۷٦۵ نانومتر ثبت گردید. مقدار فنول کل با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید و بر حسب میلی‌گرم

گالیک اسید در گرم عصاره (mg GAE/g) گزارش گردید [۱۴].

۲-۴- تعیین فلاونوئید کل

به منظور تعیین فلاونوئید کل، ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره، ۱/۵ میلی-لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر محلول متانولی آلومینیوم کلراید، ۰/۱ میلی‌لیتر پتاسیم استات و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر با یکدیگر مخلوط شدند. محلول تهیه شده به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد و جذب آن در طول‌موج ۴۱۵ نانومتر ثبت گردید. مقدار فلاونوئید کل بر حسب میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره خشک (mg QE/g) گزارش شد[۱۵].

۲-۵- بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی

اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره تهیه شده با استفاده از دو روش‌مهار رادیکال آزاد DPPHو مهار رادیکال آزاد ABTSمورد بررسی قرار گرفت.

۲- ۵- ۱- اندازه‌گیری مهار رادیکال آزاد DPPH

در این آزمون، ۱ میکرولیتر عصاره به ۳ میلی‌لیتر محلول DPPHتهیه شده در متانول، اضافه گردید. سپس محلول به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در محل تاریکی نگهداری شد. جذب نمونه به همراه نمونه شاهد (متانول) در طول‌موج ۵۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. درصد مهارکنندگی رادیکال DPPHبا استفاده از معادله زیر محاسبه و بر اساس درصد گزارش گردید[۱۶]:

درصد بازدارندگی = [$(A_{شاهد}-A_{نمونه}/A_{شاهد})\times100$]

۲- ۵- ۲- مهار رادیکال آزادABTS

در ابتدا رادیکال‌های آزاد ABTS۲ مولار با استفاده از ۵۰ میلی‌لیتر بافر فسفات (شامل ۰/۲۷ گرم KH_2PO_4، ۸/۱۸ گرم NaCl، ۰/۱۵ گرم KClو Na_2HPO_4در یک لیتر آب دیونیزه) تهیه شدند. سپس ۵۰ میلی‌لیتر از کاتیون ABTSبه ۲۰۰ میلی‌لیتر پتاسیم پرسولفات اضافه و به مدت ۱۶ ساعت در دمای اتاق در محل تاریکی نگهداری شد. رادیکال‌های کاتیونی ABTSتولید شده با استفاده از بافر فسفات تا رسیدن به جذب ۰/۷ در طول‌موج ۷۳۴ نانومتر رقیق گردید. در ادامه، ۳۰۰ میکرولیتر عصاره به ۳ میلی‌لیتر محلول کاتیونی رادیکال ABTSاضافه شد و درصد کاهش جذب در ۷۳۴ نانومتر اندازه‌گیری شد[۱۷]:

فعالیت مهارکنندگی رادیکال ABTS(درصد) = [$(A_{کنترل}-A_{نمونه}/A_{کنترل})\times100$]

۲-۶- تعیین خاصیت ضدمیکروبی عصاره

از روش‌های دیسک دیفیوژن، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی به منظور بررسی اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی گیاه گزنه استفاده شد.

۲- ۶- ۱- دیسک دیفیوژن آگار

پس از استریل غلظت‌های مختلف عصاره (۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر)، دیسک‌های بلانک استریل به مدت ۲۰ دقیقه در هر یک از غلظت‌ها غوطه‌ور شدند. در مرحله بعد هر یک باکتری‌های مورد مطالعه در سطح محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شدند و دیسک‌های آغشته به عصاره روی محیط تثبیت گردید. در پایان پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. قطر هاله-های عدم رشد اطراف دیسک‌ها با خط کش اندازه‌گیری و برحسب میلی‌متر گزارش گردید [۱۸].

۲- ۶- ۲- چاهک آگار

در این روش پس از کشت ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک از میکروب‌ها (معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند) در سطح محیط مولر هینتون آگار، ۲۰ میکرولیتر از عصاره به داخل چاهک‌های ایجاد شده در محیط کشت ریخته شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. در پایان قطر هاله‌های عدم رشد ایجاد شده در اطراف هر یک از چاهک‌ها بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد [۱۹].

۲- ۶- ۳- تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی

جهت تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی، ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره به ۹/۵ میلی‌لیتر محیط مولر هینتون براث اضافه و رقت‌های متوالی با اضافه کردن ۵ میلی‌لیتر از رقت قبل با مقدار مساوی محیط تهیه گردید (۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶ و ۵۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر). سپس ۲۰۰ میکرولیتر از هر یک از رقت‌های تهیه شده به چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای حاوی ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی اضافه شد. بعد از گذشت یک شبانه روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، ۲۰ میکرولیتر از معرف تری‌فنل‌تترازولیوم[1] (۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به چاهک‌ها اضافه و به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد

1. Triphenyltetrazolium chloride

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.25.4]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.147]

گرمخانه‌گذاری شد. کمترین غلظتی که در آن هیچگونه رشد باکتری و تغییر رنگ مشاهده نشد، به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی معرفی گردید [۲۰].

۲- ٦- ٤- تعیین حداقل غلظت کشندگی

با توجه به نتایج آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی، از غلظت-های فاقد رشد میکروبی در سطح محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. غلظت‌های بدون هیچگونه رشد باکتری، به عنوان حداقل غلظت کشندگی گزارش گردید [۲۱].

۲- ۷- آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل نتایج این پژوهش با استفاده از نرم‌افزارSPSSنسخه ۱۸ انجام شد. همچنین از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p<0.05$) به منظور تعیین معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها استفاده شد. تمام آزمون‌ها در ۳ تکرار انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳- ۱- فنول و فلاونوئید کل

شکل ۱، میزان فنول و فلاونوئید عصاره اتانولی برگ گزنه را نشان می‌دهد. عصاره اتانولی استخراج شده از برگ گزنه حاوی ۰/٤۹mg GAE/g ± ٦٥/٤۲ فنول کل و mg ۰/۳۰QE/g ± ۲۲/۱۹ فلاونوئید کل بود.

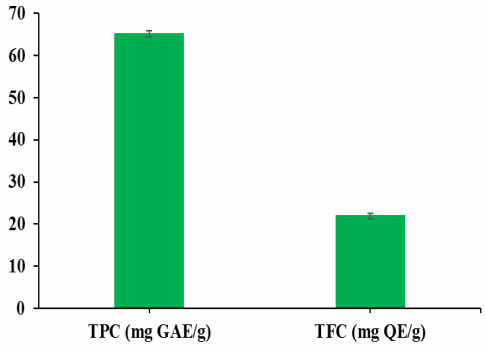

Fig 1 Total phenolic content (TPC) and total flavonoid content (TFC) of *Urtica dioica* leaf extract.

در مطالعه‌ی ریاضی و آصفی (۱۳۹٦)، میزان فنول کل و فلاونوئید کل عصاره متانولی برگ گزنه به ترتیب mg ۷۸/۱۲۷ GAE/g و ۹۱ mg QE/g گزارش گردید [۲۲].

کوکریچ و همکاران (۲۰۱۲)، با بررسی محتوای فنول کل عصاره اتانولی برگ گزنه به این نتیجه رسیدند که عصاره غنی از ترکیبات فنولی (۲۰۸/۳۷ mg GAE/g) و فلاونوئیدی (۲۰/۲۹ mg QE/g) می‌باشد. دال‌آکو و همکاران (۲۰۰۸) میزان فنول کل عصاره متانولی گزنه را ۰/۳۵ mg GAE/g گزارش نمودند [۱۱]. قره‌خانی و همکاران (۱۳۸۸) گزارش کردند که عصاره کلروفرمی گزنه دارای محتوای فنول کل بیشتری (٤۹/۰۸ mg GAE/g) نسبت به عصاره آبی (mg ۳۱/۱۰ GAE/g) و متانولی (۲٤/۲۸ mg GAE/g) می‌باشد[۲۳]. همچنین، این محققان محتوای فلاونوئید کل عصاره‌های کلروفرمی، متانولی و آبی گزنه را به ترتیب mg ۲۱۲/۵۲ QE/g، ۲٤/۱۲ و ۱۹/۵۵ گزارش نمودند [۲۳]. در مطالعه انجام شده توسط الماسی (۱۳۹۵) مشخص گردید که عصاره اتانولی گیاه گزنه حاوی ۱٤/۰۳ mg GAE/g فنول کل و ٦٥/۰۲ mg QE/g فلاونوئید کل است [۲٤]. بطور کلی، مقادیر گزارش شده توسط محققین با نتایج این تحقیق متفاوت بودند که این حالت می‌تواند ناشی از گونه‌ها، دوره بلوغ، زمان برداشت، تغییرات ژنتیکی، شرایط آب و هوایی و روش استخراج عصاره باشد [۲۵-۲۷].

۳ -۲- اثر آنتی‌اکسیدانی

مطابق نتایج قدرت آنتی‌اکسیدانی (شکل ۲)، عصاره اتانولی برگ گزنه قادر به مهار رادیکال‌های آزاد DPPH(۰/٥٤ ± ٦۱/۹۰ درصد) و ABTS(۰/٤۷ ± ۷۰/۱۰ درصد) بود.

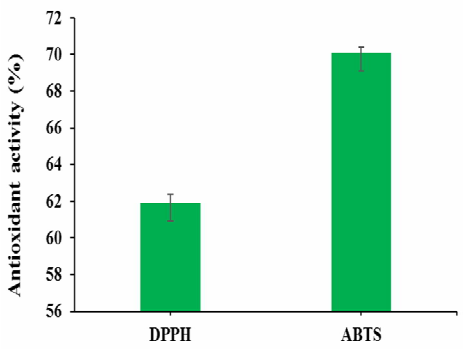

Fig 2 Antioxidant activity of *Urtica dioica* leaf extract.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر حسب مهار رادیکال آزاد DPPH در مطالعه‌ی حق‌جو و همکاران (۱۳۹٤) معادل ٥۰/۹٤ درصد گزارش شده است [۹]. در مطالعه‌ی ریاضی و آصفی (۱۳۹٦)، میزان فنول کل و فلاونوئید کل عصاره متانولی برگ گزنه به

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.25.4]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.147]

ترتیب ۷۸/۱۲۷ mg GAE/g و ۹۱ mg QE/g گزارش گردید [۲۲]. علاوه بر این، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی برگ گزنه با روش‌هایDPPH و ABTSبه ترتیب معادل ۳۱/۳۸µg/ml و ۲۳/۵۵ گزارش شده است [۱۱]. دال‌آکو و همکاران (۲۰۰۸) میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی گزنه به روش مهار رادیکال DPPHرا ۴۱۹ µg/ml گزارش نمودند [۲۸]. قره‌خانی و همکاران (۱۳۸۸)، با مقایسه قدرت آنتی‌اکسیدانیعصاره‌های آبی، متانولی و کلروفرم گزنه، نشان دادند که عصاره کلروفرمی و متانولی به ترتیب بالاترین (۷۷/۵۳ µg/ml) و کمترین (۱۹۹/۷۱ µg/ml) فعالیت آنتی‌اکسیدانی برپایه روش به دام اندازی رادیکال آزاد DPPHرا دارا می‌باشند و قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتر عصاره کلروفرمی را به بالاتر بودن محتوای فنول کل آن نسبت داده شد [۲۳]. الماسی (۱۳۹۵) گزارش نمود که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی گزنه بر اساس توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH، وابسته به غلظت می‌باشد و افزایش غلظت عصاره از ۵۰ µg/ml تا ۲۰۰ سبب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی از۵۰ تا ۶۰ درصد گردید؛ علاوه بر این، افزودن عصاره به روغن سویا منجر به افزایش پایداری اکسایشی آن گردید[۲۴]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاهان عمدتاً به غلظت ترکیبات پلی فنولیک آنها نسبت داده می‌شود [۲۹, ۳۰]؛ بطوریکه قدرت آنتی‌اکسیدانی برگ‌های گزنه به حضور ترکیبات فنولی از قبیل گالیک اسید، کلروژنیک اسید، کافئیک اسید، روتین، کوئرستین، ایزورمانتین، ۲-O-کافئیل مالیک، ۳-O-روتینوزید و ۳-O-گلیکوزید مرتبط دانسته شده است [۱۰].

۳- ۳- اثر ضدمیکروبی

نتایج اثر ضدمیکروبی عصاره اتانولی برگ گزنه بر اساس روش دیسک دیفیوژن آگار در شکل ۳ آورده شده است.

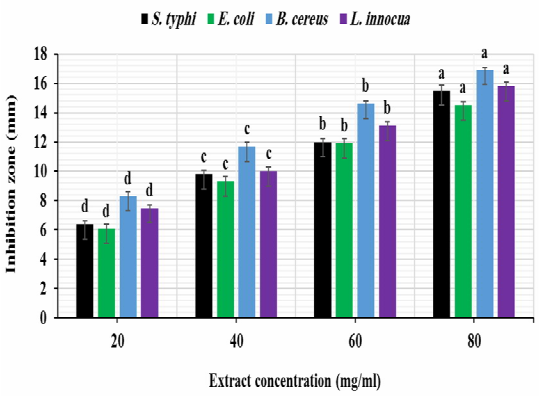

Fig 3 Mean inhibition zone diameter (mm) of *Urtica dioica* leaf extracton some microorganism pathogen (disk diffusion agar).

تمامی باکتری‌های مورد مطالعه (*سالمونلا تیفی*، *اشرشیا کلی*، *باسیلوس سرئوس* و *لیستریا اینوکوا*) نسبت به عصاره اتانولی گزنه حساس بودند و اثر ضدمیکروبی تابع غلظت عصاره و نوع میکروارگانیسم بود. افزایش غلظت عصاره سبب افزایش معنی‌دار قطر هاله عدم رشد گردید؛ بطوریکه افزایش غلظت عصاره از ۲۰ mg/ml به ۸۰ به ترتیب سبب افزایش ۲/۴۲، ۲/۳۸، ۲/۰۴ و ۲/۱۱ برابری میانگین قطر هاله عدم رشد برای باکتری‌های *سالمونلا تیفی*، *اشرشیا کلی*، *باسیلوس سرئوس* و *لیستریا اینوکوا*گردید. باکتری‌های *باسیلوس سرئوس* و *اشرشیا کلی* به ترتیب با بیشترین (۱۶/۹۰mm) و کمترین (۱۴/۵۰mm) قطر هاله عدم رشد، حساس‌ترین و مقاوم‌ترین سویه‌ها در برابر غلظت ۸۰mg/ml عصاره اتانولی برگ گزنه بودند.

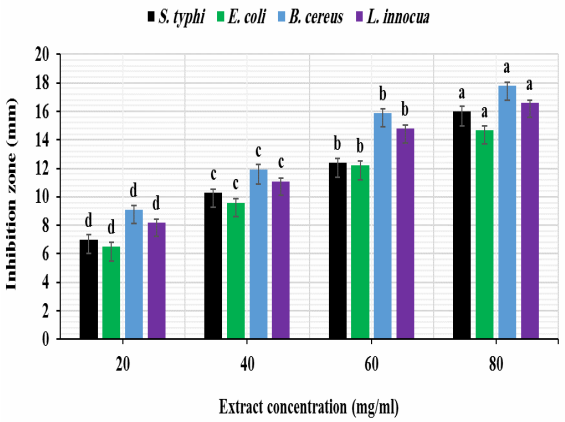

Fig 4 Mean inhibition zone diameter (mm) of *Urtica dioica* leaf extracton some microorganism pathogen (well diffusion agar).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.25.4]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.147]

بطور کلی باکتری‌های گرم مثبت (*باسیلوس سرئوس* و *لیستریا اینوکوا*) در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی (*سالمونلا تیفی* و *اشرشیا کلی*) نسبت به عصاره اتانولی برگ گزنه حساس‌تر بودند. نتایج ضدمیکروبی بر اساس روش چاهک آگار مشابه روش دیسک دیفیوژن آگار بود و باکتری‌های *باسیلوس سرئوس* و *اشرشیا کلی* به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین سویه‌ها نسبت به عصاره اتانولی برگ گزنه بودند (شکل ٤).

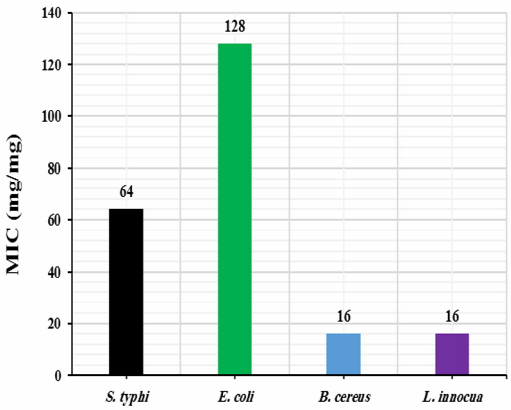

Fig 5 Minimum inhibitory concentration (MIC) of *Urtica dioica* leaf extracton some microorganism pathogen.

علاوه بر این، نتایج ضدمیکروبی بر پایه روش حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (شکل ٥) نشان داد که حداقل غلظت موردنیاز عصاره اتانولی برگ گزنه جهت جلوگیری از رشد باکتری‌های گرم مثبت کمتر از انواع گرم منفی می‌باشد که حساسیت بالاتر سویه‌های گرم مثبت نسبت به عصاره را بازگو می‌کند. علاوه بر این، حداقل غلظت موردنیاز عصاره برای از بین بردن باکتری‌های گرم مثبت کمتر از انواع گرم منفی بود (جدول ١).

Table 1 The minimum bactericidal concentration (MBC) of *Urtica dioica* leaf extracton some pathogenic microorganisms

Microorganism	MBC (mg/mL)
Salmonella typhi	512
Escherichia coli	> 512
Bacillus cereus	256
Listeria innocua	256

این امر می‌تواند ناشی ازوجود یک غشای موکوپپتیدی در غشای سلولی باکتری‌های گرم مثبت باشد که آن‌ها را نسبت به عوامل ضدمیکروبی حساس می‌کند؛ اما غشای سلولی باکتری‌های گرم منفی از لایه‌های لیپوپلی‌ساکاریدی و فسفولیپیدی و پیچیده‌ای تشکیل شده که کاهش سرعت نفوذ ترکیبات ضدمیکروبی به داخل سلول را سبب می‌شود [٣١-٣٣]. نتایج مختلفی در مورد اثر ضدمیکروبی عصاره‌های آبی و الکلی گیاه گزنه در برابر میکروارگانیسم‌های پاتوژن و مولد فساد گزارش شده است. مجد و همکاران (١٣٨٢) نشان دادند که عصاره اتانولی بخش‌های مختلف گیاه گزنه دارای اثر ضدمیکروبی قابل‌توجهی بر باکتری‌های *باسیلوس سوبتیلیس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *اشرشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* و قارچ *کاندیدا البکینز* می‌باشد [٨]. کوکریچ و همکاران (٢٠١٢) با بررسی فعالیت ضدباکتریایی عصاره اتانولی برگ گزنه بیان داشتند که عصاره قادر به جلوگیری از رشد باکتری‌های *باسیلوس سوبتیلیس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *اشرشیا کلی* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* می‌باشد و حداقل غلظت مهارکنندگی رشد و حداقل غلظت کشندگی به ترتیب در محدوده‌ی mg/ml ٣٦/٢١ – ٧٢/٤٣ و ١٤٤/٨٦ ≤ گزارش گردید [١١]. اثر ضدمیکروبی عصاره الکلی گزنه در برابر باکتری‌های *باسیلوس سرئوس* و *ویبریوپاراهمولایتیکوس* در مطالعه‌ی مدرسی چهاردهی و همکاران (١٣٩١) گزارش شده است [٣٤]. در مطالعه‌ای دیگر، اثر ضدمیکروبی اسانس گزنه نسبت به باکتری‌های *باسیلوس سوبتیلیس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *شیگلا دیسانتره* نشان داده شده است [٣٥]. علاوه بر این، مشخص شده است که اسانس و عصاره (آبی و اتانولی) گیاه گزنه قادر به جلوگیری از رشد میسلیوم *آسپرژیلوس فلاوس* و تولید آفلاتوکسین می‌باشند [٣٦].

٤- نتیجه‌گیری نهایی

بطور کلی، عصاره اتانولی برگ گزنه دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و همچنین قابلیت ضدمیکروبی بر روی باکتری‌های گرم مثبت (*باسیلوس سرئوس* و *لیستریا اینوکوا*) و گرم منفی (*سالمونلا تیفی* و *اشرشیا کلی*) بود. بنابراین، می‌توان عصاره اتانولی برگ گزنه را بعنوان یک ترکیب زیست فعال جهت کنترل واکنش‌های اکسیداتیو و رشد میکروارگانیسم‌های پاتوژن در انواع محصولات غذایی بکار برد. با اینحال، مطالعات بیشتری در زمینه تعیین غلظت مؤثر عصاره و اثرات جانبی آن بایستی انجام گردد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.25.4]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.147]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.25.4]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.147]

۵- تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

٦- منابع

[1] B. Alizadeh Behbahani, M. Noshad, and F. Falah, "Study of chemical structure,antimicrobial, cytotoxic and mechanism of action of Syzygium aromaticum essential oil on foodborne pathogens," Potravinarstvo, vol. 13, no. 1, 2019.

[2] B. Alizadeh Behbahani, F. T. Yazdi, F. Shahidi, H. Noorbakhsh, A. Vasiee, and A. Alghooneh, "Phytochemical analysis and antibacterial activities extracts of mangrove leaf against the growth of some pathogenic bacteria," *Microbial pathogenesis,* vol. 114, pp. 225-232, 2018.

[3] B. Alizadeh Behbahani, Shahidi, F., Yazdi, F. T., & Mohebbi, M "Antifungal effect of aqueous and ethanolic mangrove plant extract on pathogenic fungus in vitro" International Journal of Agronomy and Plant Production, 4(7), 1652-1658, 2013.

[4] H. Barzegar, B. Alizadeh Behbahani, and M. Noshad, "Evaluation of total phenol and flavonoid contents, antioxidant and antimicrobial activity of Lawsonia inermis aqueous extract against some gram- positive and gram- negative bacteria," *mdrsjrns,* vol. 18, no. 116, pp. 327-335, 2021.

[5] B. Alizadeh Behbahani, F. T. Yazdi, A. Mortazavi, F. Zendeboodi, and M. M. Gholian, "Effect of aqueous and ethanolic extract of Eucalyptus camaldulensis L," *Archives of Advances in Biosciences,* vol. 4, no. 3, 2013.

[6] B. Alizadeh Behbahani, and A. A. I. Fooladi, "Antibacterial activities, phytochemical analysis and chemical composition Makhlaseh extracts against the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection," *Microbial pathogenesis,* vol. 114, pp. 204-208, 2018.

[7] S. Shojaeizad, R. Tavakoli, and M. A. Sheykholeslami, "Preparation and Characterization of Wound Dressing based on Chitosane Including Urtica Dioica," *Research-in-Medicine,* vol. 44, no. 3, pp. 454-459, 2020.

[8] A. Majd, S. Mehrabian, and Z. Jafary, "The study of Antimicrobial effects of urtica dioica's extract," *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research,* vol. 19, no. 3, pp. 286-312, 2003.

[9] S. Haghjoo, B. Ghanbarzadeh, H. Hamishekar, S. Asni Ashari, and J. Dehghannia, "Evaluation of Colloidal and Antioxidant Properties of Nanoliposome Loaded with Urticadioica L. Extract," *Innovative Food Technologies,* vol. 2, no. 3, pp. 11-23, 2015.

[10] P. Pinelli, F. Ieri, P. Vignolini, L. Bacci, S. Baronti, and A. Romani, "Extraction and HPLC analysis of phenolic compounds in leaves, stalks, and textile fibers of Urtica dioica L," *Journal of agricultural and food chemistry,* vol. 56, no. 19, pp. 9127-9132, 2008.

[11] Z. Z. Kukrić, L. N. Topalić-Trivunović, B. M. Kukavica, S. B. Matoš, S. S. Pavičić, M. M. Boroja, and A. V. Savić, "Characterization of antioxidant and antimicrobial activities of nettle leaves (Urtica dioica L.)," *Acta periodica technologica*, no. 43, pp. 257-272, 2012.

[12] I. Gülçin, Ö. İ. Küfrevioğlu, M. Oktay, and M. E. Büyükokuroğlu, "Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities ofnettle (Urtica dioica L.)," *Journal of ethnopharmacology,* vol. 90, no. 2-3, pp. 205-215, 2004.

[13] F. T. Yazdi, and B. A. Behbahani, "Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic Teucrium polium L. extracts on gram positive and gram negative bacteria "in vitro"," *Archives of Advances in Biosciences,* vol. 4, no. 4, 2013.

[14] P. Namazi, H. Barzegar, B. Alizadeh behbahani, and M. A. Mehrnia, "Evaluation of functional groups of bioactive compounds, antioxidant potential, total phenolic and total flavonoid content of red bell pepper extracts," *mdrsjrns,* vol. 18, no. 113, pp. 301-311, 2021.

[15] H. Zanganeh, S. A. Mortazavi, F. Shahidi, and B. Alizadeh Behbahani, "Evaluation of the chemical and antibacterial properties of Citrus paradise essential oil and its application in Lallemantia iberica seed mucilage edible coating to improve the physicochemical, microbiological and

Sadeghi Mahoonak, "Effect of nettle (Urtica dioica) leaves extract on the inhibition of soybean oil oxidation," *Journal of Food Processing and Preservation,* vol. 1, no. 2, pp. 85-102, 2012.

[24] H. Almasi, "Comparison of direct addition and using of antioxidant active film containing nettle leaves extract in oxidative stability of soybean oil," *Journal of Food Research,* vol. 26, no. 3, pp. 411-427, 2016.

[25] B. Alizadeh Behbahani, F. Falah, F. Lavi Arab, M. Vasiee, and F. Tabatabaee Yazdi, "Chemical composition and antioxidant, antimicrobial, and antiproliferative activities of Cinnamomum zeylanicum bark essential oil," *Evidence-based complementary and alternative medicine,* vol. 2020, 2020.

[26] B. Alizadeh Behbahani,, F. Shahidi, F. T. Yazdi, S. A. Mortazavi, and M. Mohebbi, "Antioxidant activity and antimicrobial effect of tarragon (Artemisia dracunculus) extract and chemical composition of its essential oil," *Journal of Food Measurement and Characterization,* vol. 11, no. 2, pp. 847-863, 2017.

[27]M. Rahmati-Joneidabad, and B. Alizadeh Behbahani, "Identification of chemical compounds, antioxidant potential, and antifungal activity of (Thymus daenensis) essential oil against spoilage fungi causing apple rot," *Iranian Food Science and Technology Research Journal,* vol. 17, no. 5, pp20.21,700-691.

[28] S. Dall'Acqua, R. Cervellati, M. C. Loi, and G. Innocenti, "Evaluation of in vitro antioxidant properties of some traditional Sardinian medicinal plants: Investigation of the high antioxidant capacity of Rubus ulmifolius," *Food Chemistry,* vol. 106, no. 2, pp. 745-749, 2008/01/15/, 2008.

[29] F. Falah, K. Shirani, A. Vasiee, F. T. Yazdi, and B. Alizadeh Behbahani, "In vitro screening of phytochemicals, antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activity of Echinops setifer extract," *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology,* vol. 35, pp. 102102, 2021.

[30] S. Roshanak, B. Alizadeh Behbahani, F. Shahidi, F. Tabatabaei Yazdi, A. Vasiee, and N. Hashemi, "Evaluation of antioxidant potential and antimicrobial activity of Mocheh (Lepidium draba)extract "in vitro"," *Iranian Food Science and Technology Research Journal,* vol. 17, no. 3, pp. 17-24, 2021.

sensory properties of lamb during refrigerated storage," *Journal of Food Measurement and Characterization,* vol. 15, no. 6, pp. 5556-5571, 2021.

[16] B. Majdi, M. A. Mehrnia, H. Barzegar, and B. Alizadeh Behbahani, "Determination of the structure, chemical composition, antioxidant activity and the cytotoxic effect of Turmeric essential oil," *Iranian Food Science and Technology ResearchJournal,* vol. 17, no. 2, pp. 261-271, 2021.

[17] M. Rahmati-Joneidabad, B. Alizadeh Behbahani, and M. Noshad, "Antifungal effect of Satureja khuzestanica essential oil on Aspergillus niger, Botrytis cinerea, and Rhizopus stolonifer causing strawberry's rot and mold," *mdrsjrns,* vol. 18, no. 115, pp. 171-180, 2021.

[18] B. Alizadeh Behbahani, and A. A. I. Fooladi, "Evaluation of phytochemical analysis and antimicrobial activities Allium essential oil against the growth of some microbial pathogens," *Microbial pathogenesis,* vol. 114, pp. 299-303, 2018.

[19] M. A. Mehrnia, B. Alizadeh Behbahani, H. Barzegar, and H. Tanavar, "Sclerorhachis platyrachis essential oil: Antioxidant power, total phenolic and flavonoid content and its antimicrobial activity on some Gram-positive and Gram-negative bacteria "in vitro"," *mdrsjrns,* vol. 18, no. 112, pp. 189-198, 2021.

[20] M. Yeganegi, F. T. Yazdi, S. A. Mortazavi, J. Asili, B. Alizadeh Behbahani, and A. Beigbabaei, "Equisetum telmateia extracts: Chemical compositions, antioxidant activity and antimicrobial effect on the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection," *Microbial pathogenesis,* vol. 116, pp. 62-67, 2018.

[21] A. Alghooneh, B. Alizadeh Behbahani, H. Noorbakhsh, and F. T. Yazdi, "Application of intelligent modeling to predict the population dynamics of Pseudomonas aeruginosa in Frankfurter sausage containing Satureja bachtiarica extracts," *Microbial pathogenesis,* vol. 85, pp. 58-65, 2015.

[22] S. Riazi, and N. Asefi, "Antioxidative effect of Urtica dioica extract on quality characteristics of rapeseed oil and comparison with TBHQ during deep frying," *Journal of Food Research,* vol. 27, no. 3, pp. 151-163, 2017.

[23] M. Gharekhani, M. Ghorbani, M. A. Ebrahimzadeh, S. M. Jafari, and A. R.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.25.4]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.147]

[31] H. Barzegar, B. Alizadeh Behbahani, and M. A. Mehrnia, "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,* vol. 29, no. 5, pp. 717-728, 2020.

[32] B. Alizadeh Behbahani, and F. Shahidi, "Melissa officinalis essential oil :Chemical compositions, antioxidant potential, total phenolic content and antimicrobial activity," *Nutrition and Food Sciences Research,* vol. 6, no. 1, pp. 17-25, 2019.

[33] Z. Kiarsi, M. Hojjati, B. Alizadeh Behbahani, and M. Noshad, "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,* vol. 40, no. 3, pp. e12782, 2020.

[34] A. Modarresi Chahardehi, D. Ibrahim, S. Fariza Sulaiman, and F .Aboulhassani, "Determination of Antimicrobial Activity of Various Extracts of Stinging Nettle (Urtica dioica)," *jmpir,* vol. 11, no. 42, pp. 98-104, 2012.

[35] H. Niknejad, and A. Asgharian, "Determination of antibacterial and antioxidant activity and identifying chemical compounds of Urtica dioica L. leaf essence as a potent antibacterial agent," *Pajoohandeh,* vol. 20, no. 4, pp. 234-239, 2015.

[36] A. Gorran, B. Salehnia, H. R. Alizadeh, A. Mirzaei, and M. Farzaneh, "Inhibitory Effects of Essential Oilsand Extracts of Nettle (Urtica Dioica L.) and Mentha Piperita on Growth and Aflatoxin B1 Production by Aspergillus Flavus," *Journal of Agricultural Engineering Research,* vol. 16, no. 3, pp. 67-78, 2015.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.25.4]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.147]

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Evaluation of antimicrobial activity, antioxidantpotential, total phenolic and flavonoid contents of nettle extract: A laboratory study

Noshad, M. [1]*, Alizadeh Behbahani, B. [2], Rahmati-Joneidabad, M. [3]

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.
3. Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

ABSTRACT

The aim of this study was to isolate ethanolic extract from *Urtica dioica*leaves, and determination of its antioxidant and antimicrobial properties. On this point, the ethanolic extract was obtained by the maceration method and its total phenol content, total flavonoid content, antioxidant activity (DPPH and ABTS radical scavenging activity) and antimicrobial effect (disk diffusion agar, well diffusion agar, minimum inhibitory concentration, and minimum bactericidal concentration) against *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, and *Listeria innocua*, were determined. The extract contained 65.42 ± 0.49 mg GAE/g total phenol content and 22.19 ± 0.30 mg QE/g total flavonoid content. The ethanolic extract of *U.dioica*leaves was able to scavenge DPPH (61.90 ± 0.54%) and ABTS (70.10 ± 0.47%) free radicals. The antimicrobial effect results showed that Gram-positive bacteria (*Bacillus cereus* and *Listeria innocua*) were more sensitive than Gram-negative ones (*Salmonella typhi* and *Escherichia coli*) toward the ethanolic extract. Generally, *U.dioica* leaves' ethanolic extract is able to be used as a natural bioactive compound to improve shelf-life of food products.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2022/ 01/ 02
Accepted 2022/ 02/ 12

Keywords:

Ethanolic extract,
*Urtica dioica*leaf,
Bioactive compound,
Antimicrobial activity;
Antioxidant effect.

DOI: 10.22034/FSCT.19.125.147
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.25.4

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

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.25.4]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.125.147]