



عصاره اوجی: فنول و فلاونوئید کل، توانایی رادیکال گیرندگی و فعالیت ضدباکتریایی آن بر تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی در شرایط برون‌تنی

بهروز علیزاده بهبهانی<sup>۱\*</sup>، محمد نوشاد<sup>۲</sup>، مصطفی رحمتی جنیدآباد<sup>۳</sup>

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

چکیده

اطلاعات مقاله

<p>این مطالعه به بررسی محتوای فنول کل، فلاونوئید کل، پتانسیل آنتی‌اکسیدانی (بر پایه مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS) و مکانیسم ضد باکتریایی (بر پایه دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی) عصاره اتانولی گیاه اوجی (<i>Mentha aquatica</i>) پرداخته است. عصاره حاوی سطوح قابل توجهی از ترکیبات فنولی زیست فعال (فنول کل: <math>88/47 \pm 0/32</math> میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره؛ فلاونوئید کل: <math>39/15 \pm 0/25</math> میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره) با توانایی قابل قبول در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH (<math>58/50 \pm 0/57</math> درصد) و ABTS (<math>51/44 \pm 0/32</math> درصد) بود. رشد باکتری‌های بیماری‌زا و عامل فاسد، به‌ویژه باکتری‌های گرم مثبت (<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i> و <i>باسیلوس سوبتیلیس</i>) در مقایسه با جفت‌های گرم منفی (<i>اشرشیا کلی</i> و <i>سالمونلا انترتیدیس</i>) به شدت توسط عصاره گیاه اوجی مهار شد. بطور کلی، باکتری‌های <i>استافیلوکوکوس اورئوس</i> و <i>سالمونلا انترتیدیس</i> به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین سویه‌های میکروبی نسبت به عصاره اتانولی گیاه اوجی بودند. مطالعه حاضر نشان داد که عصاره اتانولی گیاه اوجی با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی قابل توجه می‌تواند جهت توسعه نگهدارنده‌های طبیعی جدید برای اهداف غذایی و دارویی استفاده شود.</p>	<p>تاریخ‌های مقاله : تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۲۳</p> <p>کلمات کلیدی: گیاه اوجی، نگهدارنده طبیعی، عصاره زیست فعال، اثر آنتی‌اکسیدانی، فعالیت ضد میکروبی.</p>
	<p>DOI: 10.52547/fsct.19.123.289 DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.123.29.4</p> <p>* مسئول مکاتبات: B.alizadeh@asnruk.ac.ir</p>

## ۱- مقدمه

با توجه به اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی، در این پژوهش عصاره اتانولی گیاه اوجی تهیه و ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضد میکروبی آن بر روی باکتری‌های سالمونلا انتریتیدیس، اشرشیاکلی، باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس بررسی گردید.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد شیمیایی

مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش شامل محلول کوئرستین، پودر DPPH، معرف فولین-سیوکالچو و پودر ABTS از شرکت سیگما (آمریکا) و محیط‌های کشت مولر هیتون براث و آگار، محلول تری‌فنل‌ترازولوم، اتانول ۹۶ درصد و دیسک بلانک از شرکت مرک (آلمان) تهیه شدند.

### ۲-۲- تهیه عصاره متانولی

عصاره‌گیری از گیاه اوجی به روش خیساندن و با استفاده از اتانول ۹۶ درصد صورت گرفت. بدین منظور، ۱۰۰ گرم گیاه پودر شده به ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد اضافه گردید. مخلوط به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق همزده شد تا عصاره به طور کامل استخراج گردد. پس از صاف کردن و سانتریفیوژ عصاره با سرعت ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه محلول رویی جمع‌آوری گردید. حلال اضافی با استفاده از اواپراتور چرخشی خارج گردید. در پایان، عصاره تهیه شده در ظروف درب دار تا زمان انجام آزمون‌های شیمیایی و ضد میکروبی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [۱۴].

### ۲-۳- تعیین میزان فنول کل

۰/۵ میلی‌لیتر عصاره به همراه ۲ میلی‌لیتر سدیم کربنات (۷۵ گرم در لیتر) به ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین-سیوکالچو (۱۰ درصد حجمی-حجمی) اضافه شد. پس از ۳۰ دقیقه نگهداری نمونه در دمای اتاق، جذب آن در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. مقدار فنول کل بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره گزارش گردید [۱۵].

### ۲-۴- تعیین میزان فلاونوئید کل

جهت اندازه‌گیری فلاونوئید کل ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره به ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینوم کلراید ۱۰ درصد میکرولیتر، ۰/۱ میلی‌لیتر پتاسیم استات ۱ مولار ۵ درصد و ۴/۳ میلی‌لیتر آب مقطر

یکی از روش‌های متداول جهت کنترل میکروبی محصولات غذایی استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی می‌باشد. امروزه به دلیل افزایش تمایل مصرف‌کنندگان به مواد غذایی طبیعی با ماندگاری بالا و کمترین تغییر در ساختار و همچنین به دلیل اثرات سمی نگهدارنده‌های شیمیایی، استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی از جمله روش‌های افزایش سلامت عمومی جامعه می‌باشد [۱-۴]. در بین ترکیبات ضد میکروبی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌ها با مکانیسمی متفاوت عمل می‌کنند که جهت درمان عفونت‌های حاصل از میکروارگانیسم‌های مقاوم حائز اهمیت می‌باشد. این ترکیبات با مهار پروتئین‌سازی، جلوگیری از ساخت اسیدهای نوکلئیک و دیواره سلولی و تغییر در عملکرد غشای سلولی قادر به از بین بردن باکتری‌ها و میکروب‌های مضر می‌باشند [۵]. ترکیبات ضد میکروبی طبیعی سازگار با محیط بوده و از نظر اقتصادی مصرف آن‌ها مقرون به صرفه می‌باشد. محققان این ترکیبات را به عنوان ترکیباتی با خواص ضد میکروبی زیستی و جایگزین مناسبی با مواد شیمیایی معرفی می‌کنند [۶-۱۱].

گیاه اوجی یا نعنای آبی با نام علمی *Mentha aquatica* متعلق به جنس *Mentha* و خانواده *Labiatae* می‌باشد. گیاه اوجی گونه‌ای از نعنای بدون کرک یا کرک‌دار همراه با گل‌های آبی و ساقه‌ای ایستاده می‌باشد که در مناطق مختلف ایران رشد می‌کند. این گیاه علفی و همیشه سبز دارای خواص پزشکی و معطر مختلف می‌باشد. گیاه اوجی باعث تسریع در تنفس، گرم شدن بدن، کم شدن ترشح مخاط، افزایش ادرار و افزایش تعریق پوست می‌گردد. همچنین دمنوش این گیاه در درمان آسم، حساسیت‌ها، دردهای شکمی مؤثر می‌باشد. از جمله اجزای اصلی گیاه اوجی ترکیبات فنولی است که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد [۱۲]. مقایسه اثر ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره و اسانس گیاه اوجی نشان داد که این ترکیبات دارای اثر آنتی‌اکسیدانی بوده و اثر مهارکنندگی و کشندگی مناسبی در برابر باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت نشان می‌دهد [۵]. در مقایسه غلظت‌های مختلف عصاره‌های استونی و اتانولی گیاه اوجی در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT گزارش گردید که تمام غلظت‌های عصاره‌های تولیدی عملکرد بهتری داشته و قادر به رقابت با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی می‌باشند [۱۳].

تعیین میزان خاصیت ضد میکروبی عصاره اتانولی اوجی استفاده شد.

#### ۲-۶-۱- دیسک دیفیوژن

پس از تهیه محیط مولر هیتون آگار در پتری دیش و غلظت‌های ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره، دیسک‌های بلانک استریل به مدت ۲۰ دقیقه در هر یک از غلظت‌ها غوطه‌ور گردید. سپس سوسپانسیون میکروبی روی محیط کشت داده شد و دیسک‌های آغشته شده به عصاره روی محیط کشت تثبیت گردید. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری و قطر هاله‌های عدم رشد اطراف دیسک‌ها بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد [۲۰].

#### ۲-۶-۲- چاهک آگار

در این روش پس از کشت سطحی هر یک از باکتری‌ها در سطح محیط کشت مولر هیتون آگار، ۶۰ میکرولیتر از هر یک از رقت‌های تهیه شده در چاهک‌ها ریخته شد. پس از گرمخانه‌گذاری پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قطر هاله‌های عدم رشد اطراف هر یک از چاهک‌ها بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری گردید [۲۱].

#### ۲-۶-۳- اندازه‌گیری حداقل غلظت مهارکنندگی

رقت‌های ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶ و ۵۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره با استفاده از محیط کشت مولر هیتون برات تهیه گردید. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت به همراه ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی به چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای اضافه شد. میکروپلیت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در پایان، به هر یک از چاهک‌ها معرف تری‌فنل‌تترازولیوم با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اضافه شد. میکروپلیت مجدداً به مدت ۳۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری و کمترین غلظتی که در آن هیچگونه تغییر رنگی مشاهده نشد، به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی گزارش گردید [۲۲].

#### ۲-۶-۴- اندازه‌گیری حداقل غلظت کشندگی

به منظور تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره تولیدی، ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک‌های ۹۶ خانه‌ای که در آن‌ها باکتری رشد نکرد و تغییر رنگی ایجاد نشد، در پلیت‌های حاوی محیط‌های کشت مولر هیتون آگار کشت داده شد. پس از گرمخانه‌گذاری پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد اولین پلیتی که در آن هیچ کلنی رشد نکرد به عنوان حداقل غلظت کشندگی گزارش شد [۲۳].

مخلوط گردید. پس از نگهداری نمونه به مدت ۳ جذب آن در طول موج ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان فلاونوئید کل بر حسب میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره گزارش گردید [۱۶].

#### ۲-۵- تعیین میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی

روش‌های مهار رادیکال آزاد DPPH و مهار رادیکال آزاد ABTS جهت بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره مورد استفاده قرار گرفت.

#### ۲-۵-۱- اندازه‌گیری مهار رادیکال آزاد DPPH

مولکول DPPH دارای ساختار رادیکال-کروموژن است و ترکیبات آنتی‌اکسیدان قادر به اهداء اتم هیدروژن به رادیکال DPPH و تبدیل آن به مولکول پایدار DPPH-H می‌باشند؛ در این راستا، تغییر رنگ ارغوانی به زرد (فعالیت آنتی‌اکسیدانی) با اندازه‌گیری جذب محلول واکنش در ۵۱۷ نانومتر ارزیابی می‌گردد [۱۷]. عصاره تولیدی با یک میلی‌لیتر محلول ۹۰ میکرومولار DPPH مخلوط گردید. سپس نمونه به مدت ۶۰ دقیقه نگهداری شد. جذب نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری و درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید:

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

که در این رابطه  $A_{\text{sample}}$  جذب نمونه و  $A_{\text{blank}}$  جذب نمونه کنترل می‌باشد. از متانول جهت صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده گردید [۱۸].

#### ۲-۵-۲- تعیین مهار رادیکال آزاد ABTS

جهت تهیه رادیکال‌های آزاد ABTS محلول آبی با غلظت ۷ میلی‌مولار ABTS در آب تهیه شد. غلظت نهایی محلول با استفاده از پتاسیم پرسولفات به ۲/۴۵ میلی‌مولار رسید. محلول در مکان تاریکی نگهداری شد. با استفاده از متانول رادیکال‌های ABTS تولید شده تا رسیدن به جذب ۰/۷ در طول موج ۷۳۴ نانومتر رقیق شدند. در ادامه، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره یا متانول به عنوان کنترل با ۳/۹ میلی‌لیتر محلول رادیکال ABTS مخلوط و پس از ۶ دقیقه جذب آن ثبت شد [۱۹].

$$\text{فعالیت مهارکنندگی (\%)} = (A_{\text{کنترل}} - A_{\text{نمونه}} / A_{\text{کنترل}}) \times 100$$

#### ۲-۶- تعیین خاصیت ضد میکروبی عصاره

از روش‌های دیسک دیفیوژن، چاهک آگار، اندازه‌گیری حداقل غلظت مهارکنندگی و اندازه‌گیری حداقل غلظت کشندگی جهت

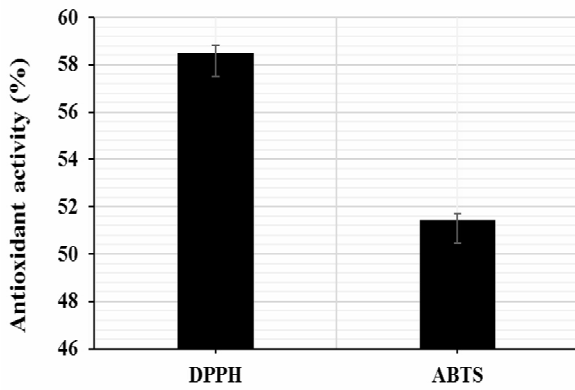


Fig 2 Antioxidant activity of *Mentha aquatica* extract.

باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با قطر هاله عدم رشد ۱۶/۸۰ میلی متر و باکتری سالمونلا انترتیدیس با قطر هاله عدم رشد ۱۴/۱۰ میلی متر به ترتیب حساس ترین و مقاوم ترین سویه های میکروبی نسبت به عصاره اتانولی گیاه اوجی (غلظت ۸۰ میلی گرم در میلی لیتر) بودند. همچنین لازم به ذکر است که باکتری های گرم مثبت در مقایسه با انواع گرم منفی نسبت به عصاره اتانولی گیاه اوجی حساس تر بودند.

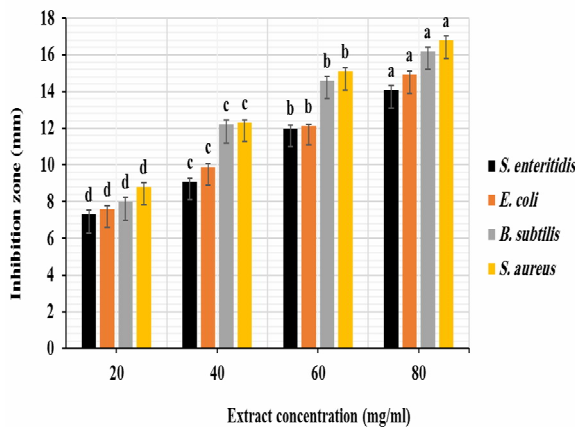


Fig 3 Antimicrobial activity of *Mentha aquatica* extract, through disk diffusion agar.

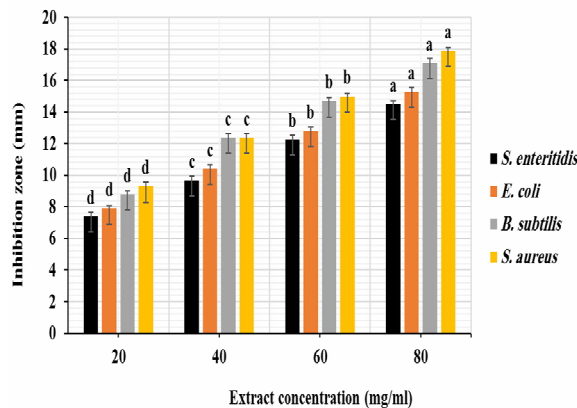


Fig 4 Antimicrobial activity of *Mentha aquatica* extract, through well diffusion agar.

## ۲-۷- آنالیز آماری

آزمون های این پژوهش در سه تکرار انجام شدند. تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ انجام شد. جهت تعیین معنی دار بودن اختلاف بین میانگین ها، از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ ( $p < 0.05$ ) استفاده شد.

## ۳- نتایج و بحث

عصاره های گیاهی حاوی ترکیبات فنولی متعددی می باشند که نقش مهمی در فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی این مواد ایفا می کنند. عصاره اتانولی گیاه اوجی حاوی فنول کل معادل  $88/47 \pm 0/32$  میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره و فلاونوئید کل معادل  $39/15 \pm 0/25$  میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره بود (شکل ۱).

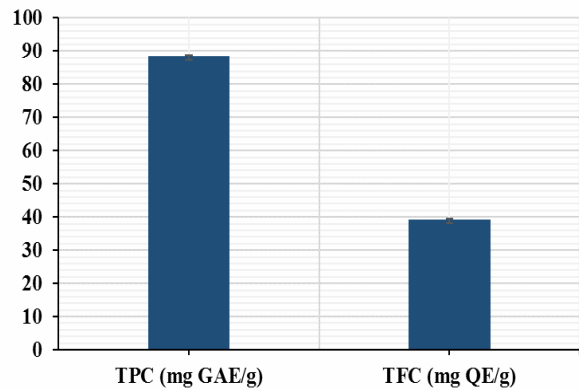


Fig 1 Total phenol content (TPC) and total flavonoid content (TFC) of *Mentha aquatica* extract.

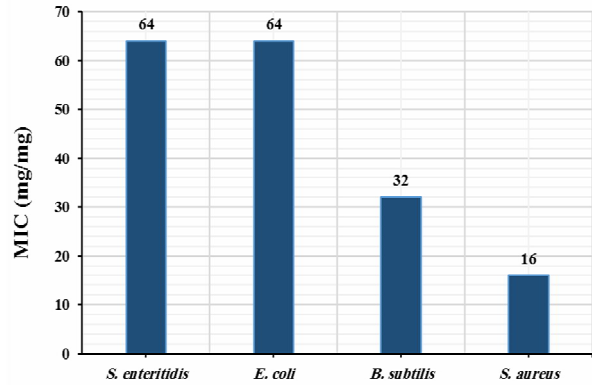
نتایج فعالیت آنتی اکسیدانی نشان داد که عصاره اتانولی گیاه اوجی از پتانسیل آنتی اکسیدانی قابل قبولی برخوردار است (شکل ۲)؛ بطوریکه این ترکیب قادر به مهار رادیکال های آزاد DPPH ( $58/50 \pm 0/57$  درصد) و ABTS ( $51/44 \pm 0/32$  درصد) بود.

نتایج فعالیت ضد میکروبی عصاره اتانولی گیاه اوجی مطابق روش های دیسک دیفیوژن آگار نشان داد که اثر ضد میکروبی عصاره وابسته به غلظت آن و نوع میکروارگانیسم می باشد (شکل ۳). افزایش غلظت عصاره از ۲۰ میلی گرم در میلی لیتر به ۸۰ میلی گرم در میلی لیتر سبب افزایش معنی دار قطر هاله رشد برای تمامی باکتری های مورد مطالعه گردید.

دیسک‌ها به محیط حاوی باکتری‌های بیماری‌زا و عامل فساد ناشی می‌شود [۲۵].

مطالعات گسترده‌ای در مورد فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره و اسانس گیاه اوجی و سایر اعضای خانواده نعنائیان صورت پذیرفته است. عزیزاده آملی و همکاران (۱۳۹۹) با بررسی خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی و اسانس گیاه نعناع آبی نشان دادند که محتوای فنول کل برای عصاره و اسانس به ترتیب ۲۳۱/۱۰ و ۲۳/۳ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم می‌باشد و نتایج درصد بازدارندگی رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS نشان داد که اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره بطور معنی‌داری بالاتر از اسانس است. با اینحال عصاره اتانولی اثرات ضد میکروبی چندانی در برابر میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه نشان نداد، اما حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس در مقابل *Salmonella typhi* موریموم، *Aeromonas hydrophila*، *Staphylococcus aureus* و *Listeria monocytogenes* به ترتیب ۲/۵، ۲/۵، ۵/۱۲ و ۵/۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی به ترتیب ۵/۱۲، ۵/۱۲، ۱۰ و ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود [۵]. حیدری و باقری (۱۳۹۸) گزارش نمودند که نانومولسیون عصاره آبی گیاه نعناع فلفلی در غلظت‌های ۱ تا ۵ درصد دارای فعالیت ضد میکروبی قابل توجهی علیه باکتری گرم منفی *Aeromonas hydrophila* می‌باشد [۸]. اثر بازدارندگی اسانس اوجی بر *Clavibacter michiganensis* و خواص حسی در دوغ ایرانی نیز توسط اقدسی و همکاران (۱۳۹۵) مورد بررسی قرار گرفته است [۱]. سلمانیان و همکاران (۱۳۸۹) ترکیبات فنولی گیاه اوجی را با حلال‌های استون و اتانول (خالص، ۵۰ درصد و ۷۰ درصد) استخراج و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های حاصل را اندازه‌گیری نمودند. بالاترین میزان فنول تام در غلظت ۵۰ درصد حلال بدست آمد و میزان فنول تام عصاره‌های اتانولی و استونی به ترتیب برابر با ۴۰/۳۶ و ۵۳/۴۱ میلی‌گرم گالیک اسید در عصاره بود. بیشترین درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH برای عصاره‌های اتانولی و استونی به ترتیب در غلظت‌های ۲۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر با درصد مهارکنندگی ۸۰/۸۵ درصد و ۸۳/۱۸ درصد مشاهده گردید [۱۳]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره/اسانس به محتوای فنول آنها نسبت داده می‌شود؛ بطوریکه در اکثر موارد، افزایش غلظت ترکیبات فنولی سبب افزایش قابلیت عصاره/اسانس در مهار رادیکال‌های آزاد

بطور کلی، نتایج ضد میکروبی مشابهی در آزمون‌های چاهک آگار (شکل ۴)، حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (شکل ۵) و حداقل غلظت کشندگی (جدول ۱) در مورد اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی گیاه اوجی بر باکتری‌های *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli*، *Bacillus subtilis* و *Salmonella enteritidis* مشاهده گردید.



**Fig 5** Antimicrobial activity of *Mentha aquatica* extract, through minimum inhibitory concentration.

**Table 1** The minimum bactericidal concentration (MBC) of *Mentha aquatica* extract on some microorganism pathogen.

Microorganism	MBC (mg/mL)
<i>Salmonella enteritidis</i>	> 512
<i>Escherichia coli</i>	512
<i>Bacillus subtilis</i>	512
<i>Staphylococcus aureus</i>	512

اثر ضد میکروبی بالاتر عصاره در برابر باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با انواع گرم منفی ناشی از این حقیقت است که باکتری‌های گرم منفی دارای یک لایه لیپوپلی ساکارید پیچیده بر روی غشای سلولی خارجی هستند که می‌تواند سرعت انتشار اجزای آبریز عصاره در غشای سلول را کاهش دهد، در حالی که لایه موکوپتید منفرد با انتشار بالا در باکتری‌های گرم مثبت یافت می‌شود که آنها را قادر می‌سازد نسبت به ترکیبات عصاره حساس تر باشند [۲۴]. همچنین قابل ذکر است که قطر هاله بازدارندگی بالاتر (قدرت ضد میکروبی بیشتر) در روش چاهک آگار در مقایسه با دیسک دیفیوژن آگار برای میکروارگانیسم‌های آزمایش شده را می‌توان به این واقعیت نسبت داد که عصاره در روش چاهک آگار در تماس مستقیم با باکتری‌ها است، اما اثر مهاری عصاره در تکنیک دیسک دیفیوژن آگار از انتشار ترکیبات ضد میکروبی آن از سطح

افزایش کاربرد آن در بسیاری از محصولات غذایی مورد نیاز است.

## 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.

## ۶- منابع

- [1] S. Aghdasi, H. Kaboosi, and L. Golestan, "The Antimicrobial and Organoleptic Effects of Mentha aquatica Essential Oil on Kluyveromyces marxianus in Iranian Yoghurt Drink," (in en), *Journal of Food Technology and Nutrition*, vol. 14, no. 1, pp. 13-22, 2016.
- [2] 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.
- [3] B. Alizadeh Behbahani, F. Tabatabaei Yazdi, A. L. I. Mortazavi, F. Zendeboodi, M. M. Gholian, and A. Vasiee, "Effect Of aqueous and ethanolic extract of Eucalyptus camaldulensis L. on food infection and intoxication microorganisms "in vitro", (in English), *Journal of Paramedical Sciences*, Article vol. 4, no. 3, pp. 89-99, 2013.
- [4] M. Nooshkam, M. Varidi, and M. Bashash, "The Maillard reaction products as food-born antioxidant and antibrowning agents in model and real food systems," *Food chemistry*, vol. 275, pp. 644-660, 2019.
- [5] Z. Alizadeh Amoli, T. Mehdizadeh, and T. Hossein, "Comparative study of antioxidant and antimicrobial properties of mentha aquatica l. ethanolic extract and essential oil," *Studies in Medical Sciences*, vol. 31, no. 11, pp. 873-863, 2021.
- [6] B. Alizadeh Behbahani, F. Tabatabaei Yazdi, H. Noorbakhsh, F. Riazi, A. Jajarmi, and F. Tabatabaei Yazdi, "study of the antibacterial activity of methanolic and aqueous extracts of myrtus communis on pathogenic strains causing infection," (in English), *Zahedan Journal of Research in*

می‌گردد [۲۶-۲۸]. افزایش غلظت ترکیبات فنولی، بدلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل، عصاره/اسانس گیاهی را قادر می‌سازد که از طریق اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد آنها را خنثی سازد [۲۹-۳۲]. مطالعه‌ی وائیرین و همکاران (۱۹۹۹) نشان داد که عصاره اتانولی گیاه اوجی حاوی ترکیبات فلاونوئیدی از قبیل زانتومیکرول<sup>۱</sup>، پیرلین<sup>۲</sup>، سالوینین<sup>۳</sup> و گاردنین<sup>۴</sup> می‌باشد [۳۳].

در مطالعه سلمانیان و همکاران (۱۳۹۲)، اسیدهای فنولی، فعالیت ضد رادیکالی و ضد میکروبی عصاره متانولی برگ‌های گیاه اوجی مورد بررسی قرار گرفت. این محققین بیان داشتند که عصاره حاوی فنول کل ۷۹/۵۳ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم می‌باشد و با افزایش غلظت عصاره، میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH افزایش یافت (۲۶/۴۶ - ۸۷/۲۳ درصد). فعالیت ضد میکروبی عصاره متانولی گیاه اوجی در برابر باکتری‌های باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی و سالمونلا انتریکا قابل توجه بود؛ بطوریکه بیشترین اثر باکتری کشتی عصاره مربوط به سالمونلا انتریکا بود و مقاوم‌ترین باکتری به عصاره اشرشیا کلی شناخته شد. علاوه بر این، کلروژنیک اسید فراوان‌ترین اسید فنولی موجود در برگ گیاه اوجی بود [۳۴]. به طور کلی، عصاره گیاه اوجی حاوی ترکیبات زیست فعال با فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عالی است که باعث می‌شود از آن به عنوان یک منبع طبیعی از عوامل نگهدارنده در محصولات غذایی مختلف برای مهار رشد میکروبی و اکسیداسیون لیپید و افزایش زمان ماندگاری و کیفیت آنها استفاده گردد.

## ۴- نتیجه‌گیری نهایی

عصاره اتانولی گیاه اوجی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و اثر ضد باکتریایی قوی به خصوص در مورد باکتری‌های گرم مثبت نشان داد. نتایج مثبت این مطالعه، پتانسیل خوب عصاره را برای استفاده در محصولات غذایی به عنوان یک ماده زیست فعال نشان می‌دهد. با این حال، مطالعات بیشتری برای کشف مکانیسم فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره جهت

1. Xanthomicrol
2. Pebrellin
3. Salvigenin
4. Gardenin B

- Comparison of Antimicrobial Effects of Chevil (*Ferulago Angulata*) Extract with a Variety of Common Therapeutic Antibiotics In Vitro," *HBI\_Journals*, vol. 17, no. 3, pp. 35-46, 2014.
- [15] M. Rahmati-Joneidabad and B. Alizadeh behbahani, "Evaluation of chemical activity and antifungal effect of Vitex agnus-castus essential oil on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* causing orange rot," *Journal of food science and technology(Iran)*, vol. 18, no. 114, pp. 82-73, 2021.
- [16] M. Rahmati-Joneidabad and B. Alizadeh behbahani, "Boswellia sacra essential oil: Antioxidant activity and antifungal effect on some spoilage fungi causing strawberry rot," *Journal of food science and technology(Iran)*, vol. 18, no. 114, pp. 25-34, 2021.
- [17] F. Tabatabaei Yazdi, M. Nooshkam, F. Shahidi, A. Asadi, and B. Alizade Behbahani, "Evaluation of antimicrobial activity and antioxidant potential of chitosan Maillard-based conjugates in vitro," *Applied Microbiology In Food Industries*, vol. 4, no. 3, pp. 1-15, 2018.
- [18] M. Noshad and B. Alizadeh Behbahani, "Investigation of Phytochemical Compounds, antioxidant Potential and the Antimicrobial Effect of Bergamot Essential Oil on some Pathogenic Strains Causing Infection In vitro," *Ilam-University-of-Medical-Sciences*, vol. 26, no. 6, pp. 122-132, 2019.
- [19] 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," (in eng), *Journal of food science and technology(Iran)*, vol. 18, no. 113, pp. 301-311, 2021.
- [20] M. Ebrahimi Hemmati Kaykha, H. Jooyandeh ,B. Alizadeh Behbahani, and M. Noshad, "Antimicrobial Activity of Rosemary Essential Oil and its Interaction with Common Therapeutic Antibiotics on some Gram Positive and Gram Negative Bacteria," *IRANIAN Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine* ,(vol. 24, no. 87, pp. 25-34, 2020.
- [21] F. Shahidi, F. Tabatabaei Yazdi, B. Alizade Behbahani, S. Roshanak, N. Norouzi, and A. Vasiee, "Aantibacterial *Medical Sciences*, Article vol. 18, no. 2, pp. 1-6, 2016.
- [7] B. Alizadeh Behbahani, F. Tabatabaei Yazdi, F. Shahidi, and F. Riazzi, "antifungal effect of the aqueous and ethanolic *avicennia marina* extracts on *alternaria citri* and *penicillium digitatum*," (in English), *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, Article vol. 18, no. 2, pp. 1-6, 2016.
- [8] M. Heydari and M. Bagheri, "The Antimicrobial Effects of Hydro-Extract of *Mentha Piperita* Lamiaceae Essential Oil Nanoemulsion on Gram-negative Bacteria of *Escherichia coli*: A Laboratory Study," *The Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*, vol. 18, no. 6, pp. 515-528, 2019.
- [9] M. Nooshkam, M. Varidi, and D. K. Verma, "Functional and biological properties of Maillard conjugates and their potential application in medical and food: A review," *Food Research International*, vol. 131, p. 109003, 2020.
- [10] M. Nooshkam, F. Falah, Z. Zareie, F. T. Yazdi, F. Shahidi, and S. A. Mortazavi, "Antioxidant potential and antimicrobial activity of chitosan-inulin conjugates obtained through the Maillard reaction," *Food science and biotechnology*, vol. 28, no. 6, pp. 1861-1869, 2019.
- [11] F. Shahidi, F. Tabatabaei Yazdi, M. Nooshkam, Z. Zareie, and F. Fallah, "Chemical modification of chitosan through non-enzymatic glycosylation reaction to improve its antimicrobial and anti-oxidative properties," *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, vol. 16, no. 1, pp. 117-129, 2020.
- [12] F. Safari, Z. Alangi, and H. Alami, "Investigation of quantitative and qualitative parameters of dried *Mentha aquatic* plant by fluidized bed and microwave methods," (in fa), *Journal of Innovation in Food Science and Technology*, vol. 9, no. 3, pp. 129-141, 2017.
- [13] S. Salmanian, A. Sadeghi Mahoonak, Y. Maghsoudlou, H. Rabiee, and B. Tabatabaei Amid, "Extraction of bioactive compounds and determination of antioxidant activity of ethanolic and acetic extracts of *Mentha aquatic* leaves," (in fa), *Electronic Journal of Food Processing and Preservation*, vol. 2, no. 3, pp. 85-100, 2012.
- [14] F. Tabatabaei Yazdi, B. Alizade Behbahani, and M. Heidari Sureshjani" ,*The*

- [28] S. Heydari, H. Jooyandeh, B. Alizadeh Behbahani, and M. Noshad, "The impact of Qodume Shirazi seed mucilage - based edible coating containing lavender essential oil on the quality enhancement and shelf life improvement of fresh ostrich meat: An experimental and modeling study," *Food Science & Nutrition*, vol. 8, no. 12, pp. 6497-6512, 2020.
- [29] 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.
- [30] 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, p. 102102, 2021.
- [31] 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.
- [32] 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 Slovak Journal of Food Sciences*, vol. 13, no. 1, pp. 875-883, 2019.
- [33] B. Voirin, C. Bayet, O. Faure, and F. Jullien, "Free flavonoid aglycones as markers of parentage in *Mentha aquatica*, *M. citrata*, *M. spicata* and *M. x piperita*," *Phytochemistry*, vol. 50, no. 7, pp. 1189-1193, 1999.
- [34] S. Salmanian, A. Sadeghi Mahoonak, M. Khomeiri, and M. Masteri Farahani, "Phenolic acid content, antiradical and antimicrobial properties of *Mentha aquatica* leaf methanolic extract," (in eng), *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, Research vol. 8, no. 2, pp. 145-154, 2013.
- Effect of *Tragopogon graminifolius* Extract on *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* and *Salmonella typhi* "in vitro"," *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine*, vol. 24, no. 84, pp. 1-10, 2019.
- [22] F. Shahidi, F. Tabatabaei Yazdi, S. Roshanak, B. Alizade Behbahani, A. Vasiee, and N. Norouzi, "Antimicrobial Activity of *Taraxacum pseudocalocephalum* Leaves Extract on Pathogenic Microorganisms and Comparison with Common Therapeutic Antibiotics in vitro," *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine*, vol. 23, no. 83, pp. 37-46, 2019.
- [23] 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"," (in eng), *Journal of food science and technology(Iran)*, vol. 18, no. 112, pp. 189-198, 2021.
- [24] B. Alizadeh Behbahani, M. Noshad, and H. Jooyandeh, "Improving oxidative and microbial stability of beef using Shabri Balangu seed mucilage loaded with Cumin essential oil as a bioactive edible coating," *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, vol. 24, p. 101563, 2020.
- [25] 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.
- [26] F. Tabatabaei Yazdi, B. Alizadeh Behbahani, and H. Zanganeh, "the comparison among antibacterial activity of *Mespilus germanica* extracts and number of common therapeutic antibiotics "in vitro"," *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, vol. 17, no. 12, e5190, 2015.
- [27] 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, p. e12782, 2020.







## ***Mentha aquatica* extract: total phenols and flavonoids content, radical scavenging potential and its antibacterial activity on a number of Gram-positive and Gram-negative bacteria “in vitro”**

Alizadeh Behbahani, B. <sup>1\*</sup>, Noshad, M. <sup>2</sup>, Rahmati-Joneidabad, M. <sup>3</sup>

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

### ABSTRACT

This study investigated the total phenols and flavonoids content, antioxidant potential (based on DPPH and ABTS free radical scavenging methods), and antibacterial mechanism (based on disk diffusion agar, well diffusion agar, minimum inhibitory concentration, and minimum bactericidal concentration) of ethanolic extract of *Mentha aquatica*. The extract contained significant levels of bioactive phenolic compounds (total phenol:  $88.47 \pm 0.32$  mg gallic acid per gram of extract; total flavonoids:  $39.15 \pm 0.25$  mg quercetin per gram of extract) with acceptable ability in scavenging DPPH ( $58.50 \pm 0.57\%$ ) and ABTS ( $51.44 \pm 0.32\%$ ) free radicals. The growth of pathogenic and spoilage bacteria, especially Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*) in comparison with Gram-negative pairs (*Escherichia coli* and *Salmonella enteritidis*) was strongly inhibited by the plant extract. In general, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enteritidis* were the most sensitive and resistant microbial strains to the ethanolic extract of *M. aquatica*, respectively. The present study showed that the ethanolic extract of *M. aquatica* with significant antioxidant and antimicrobial properties can be used to develop new natural preservatives for food and medicinal purposes.

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received 2022/ 01/ 09  
Accepted 2022/ 02/ 12

#### Keywords:

*Mentha aquatica*,  
Natural preservative,  
Bioactive extract,  
Antioxidant effect,  
Antimicrobial activity.

**DOI:** 10.52547/fsct.19.123.289

**DOR:** 20.1001.1.20088787.1401.19.123.29.4

\*Corresponding Author E-Mail:  
B.alizadeh@asnrukh.ac.ir