

## بررسی مقایسه‌ای خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی و اسانس گیاه نعناع آبی (*Mentha aquatica L.*)

زهرا علیزاده آملی<sup>۱</sup>، تورج مهدی‌زاده<sup>۲\*</sup>، حسین تاجیک<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت ۱۳۹۹/۰۵/۱۷ تاریخ پذیرش ۱۳۹۹/۱۰/۰۳

### چکیده

**پیش‌زمینه و هدف:** بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی، از نظر کاربرد آن در فرآوری مواد غذایی، داروسازی و طب سنتی دارای اهمیت می‌باشد. گیاه اوجی یا نعناع آبی، یکی از گونه‌های مهم خانواده نعناع بوده و توزیع گسترده‌ای در مناطق شمال ایران دارد. هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی مقایسه‌ای خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی عصاره و اسانس گیاه نعناع آبی بود.

**مواد و روش کار:** برای تعیین محتوای تام فنولی اسانس و عصاره از روش فولین سیوکالتو و نیز ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با روش فعالیت رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS اندازه‌گیری و با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT مقایسه شد. در نهایت فعالیت ضد میکروبی در قالب حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) و به روش میکرودایلوشن مورد سنجش قرار گرفت.

**یافته‌ها:** محتوای فنولی تام برای عصاره و اسانس به ترتیب ۲۳۱/۱۰ و ۲۳/۳ میلی‌گرم اسیدگالیک بر گرم بود که اختلاف معنی‌داری با همدیگر داشتند ( $p < 0.05$ ). در تست درصد بازدارندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH و ABTS)، عصاره اثر مهارکنندگی بیشتری داشت ( $p < 0.05$ ). حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس در مقابل لیستریا مونوسایتوزنز، استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیا کلای و سالمونلا تیفی موربوم به ترتیب ۵/۱۲، ۵/۱۲، ۲/۵ و ۲/۵ mg/mL<sup>-1</sup> و حداقل غلظت کشندگی به ترتیب ۱۰، ۱۰، ۵/۱۲ و ۵/۱۲ mg/mL<sup>-1</sup> بودند که اختلاف معنی‌داری بین باکتری‌های گرم مثبت و منفی مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ).

**بحث و نتیجه‌گیری:** این مطالعه حاکی از آن بود که عصاره اتانولی با وجود بالا بودن قدرت آنتی‌اکسیدانی، اثرات ضد میکروبی چندانی نشان نداد. در مقایسه اسانس روغنی آن بر روی باکتری‌های مورد مطالعه مؤثر بود. بر اساس نتایج این تحقیق می‌توان با ترکیب اسانس و عصاره اوجی جهت رسیدن به یک ترکیب با قدرت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی دست یافت.

**کلیدواژه‌ها:** فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فعالیت ضد میکروبی، اسانس، عصاره، گیاه اوجی

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و یکم، شماره یازدهم، ص ۸۷۳-۸۶۳، بهمن ۱۳۹۹

آدرس مکاتبه: ارومیه، پردیس نازلو، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، تلفن: ۰۹۱۴۱۴۰۳۲۷۸

Email: t.mehdizadeh@urmia.ac.ir

### مقدمه

برای جلوگیری از آلودگی ماده غذایی، افزایش زمان ماندگاری و حفظ کیفیت غذا پس از تولید، مصرف نگهدارنده‌های ضد میکروبی و ضد اکسیداسیون در بسیاری از محصولات غذایی بسیار رایج است (۱). با توجه به مضراتی همچون سرطان‌زایی در اثر مصرف نگهدارنده‌های شیمیایی سنتتیک و همچنین افزایش آگاهی مردم، امروزه تمایل به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی مواد غذایی به‌ویژه عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی افزایش یافته است

(۲). ترکیبات ضد میکروبی حاصل از گیاهان با مکانیسم‌های متفاوت از آنتی‌بیوتیک‌ها عمل می‌کنند که این مسئله در درمان عفونت‌های ناشی از سویه‌های مقاوم میکروبی از نظر بالینی حائز اهمیت است (۳). بررسی خواص دارویی گیاهان اندمیک هر منطقه به علت رویکرد دوباره برای مصرف داروها و فرآورده‌های گیاهی، دارای اهمیت خاصی است. از سوی دیگر بدن به ترکیبات آنتی‌اکسیدان نیاز دارد، زیرا آنتی‌اکسیدان‌ها با منع فعالیت رادیکال‌های آزاد (آسیب‌های ناشی از واکنش‌های اکسیداسیون) یا حذف

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد رشته بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه

<sup>۲</sup> دانشیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه (نویسنده مسئول)

<sup>۳</sup> استاد گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه

آنتی‌اکسیدانمی و ضد باکتریایی عصاره و اسانس گیاه نعناع آبی بود.

### مواد و روش کار

نوع مطالعه این تحقیق تجربی یا مداخله‌ای و از نوع مطالعات آزمایشگاهی بود. برای این منظور مراحل به شکل ذیل انجام شدند: - تهیه اسانس گیاه نعناع آبی: گیاه نعناع آبی در فصل بهار از شهر آمل از بخش‌های مختلف نمونه‌گیری و جمع‌آوری شده و توسط گیاه‌شناس مورد تأیید قرار گرفت. اندام‌های هوایی گیاه پس از شستشو و خشک کردن در سایه جهت اسانس‌گیری با روش تقطیر با آب و توسط دستگاه کلونجر به مدت دو الی سه ساعت مورد استفاده قرار گرفت (۲).

- آماده‌سازی عصاره اتانولی نعناع آبی: برای تهیه عصاره اتانولی از روش مسریشن<sup>۱</sup> استفاده شد. ساقه و برگ گیاه در سایه و دمای محیط خشک گردید. سپس توسط آسیاب به صورت پودر درآمده و از الک به اندازه ۶۰ مش عبور داده شد. ۲۰۰ گرم پودر در یک لیتر اتانول به مدت ۲۴ ساعت در شیکر با دور ۱۵۰ rpm در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و بعد، از کاغذ واتمن شماره ۴۱ عبور داده شد و سپس برای حذف حداقل ۹۰ درصد حلال در دستگاه روتاری با سرعت ۱۰۰ rpm و دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد، تحت خلأ قرار گرفت. تغلیظ در آون ۴۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد و نمونه تا زمان آزمایش در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (۹).

تعیین مقدار فنل تام (TP)<sup>۲</sup>: گیاهان با فعالیت آنتی‌اکسیدانی، گروه‌های فنولی زیادی در ترکیبات خود دارند (۵). به منظور بررسی محتوای تام فنلی گیاه از روش فولین سیوکالتو<sup>۳</sup> استفاده شد. معرف فولین سیوکالتیو واکنشگری است که به‌طور گسترده در سنجش ترکیبات فنولی بکار می‌رود. گروه هیدروکسی فنول با این واکنشگر ترکیب شده و کمپلکس آبی‌رنگی را تولید می‌کند که در ۷۶۰ نانومتر تعیین مقدار می‌گردد (۱۰). برای تعیین مقدار فنل تام و به‌منظور تهیه غلظت‌های ۰،۲، ۱ و ۰/۵ میلی‌گرم، عصاره و اسانس هر کدام در دو میلی‌لیتر اتانول حل شدند. سپس ۵۰۰ ماکرولیت از عصاره یا اسانس یا غلظت‌های مختلف اسید گالیک برداشته، ۲/۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲۵۰ ماکرولیت معرف فولین اضافه شد و پس از یک دقیقه مخلوط کردن به مدت ۵ دقیقه در تاریکی نگهداری گردید. سپس ۲ میلی‌لیتر از محلول کربنات سدیم (۷/۵ درصد) اضافه و ۱۲۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت. میزان جذب نوری در طول موج ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. در نهایت

آن‌ها و مصون داشتن سلول‌های بدن از اثرات مخرب این ترکیبات، با روند پیری، ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی، سکنه و همچنین پیشرفت سرطان در اثر آسیب به DNA مبارزه می‌کنند. همچنین در صورت تشکیل رادیکال‌های آزاد، می‌توانند تأثیر آن‌ها را بر بدن کاهش دهند (۴).

ترکیبات فنولی در همه گیاهان مانند سبزیجات برگ‌دار انتشاریافته و تأثیرات بیولوژیکی بسیاری مانند فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی دارند، همچنین این ترکیبات از متابولیت‌های ثانویه آروماتیک گیاهی می‌باشند. در نتیجه گیاهان با فعالیت آنتی‌اکسیدانی، گروه‌های فنولی زیادی در ترکیبات خود دارند (۵). فلاونوئیدها و اسیدهای فنولی مهم‌ترین گروه‌های پلی فنولی را تشکیل می‌دهند. اسیدهای فنولی عمده در گیاهان، مشتقات هیدروکسیل شده بنزوئیک و سینامیک اسیدها می‌باشند. هیدروکسی سینامیک اسیدها به فراوانی در اغلب گیاهان یافت می‌شوند، اما میزان هیدروکسی بنزوئیک اسید گیاهان خوراکی به‌طور کلی بسیار پایین است. اسیدهای فنولی به‌عنوان ترکیبات ضد اکسایشی قوی مطرح هستند و عملکرد ضد میکروبی، ضد ویروسی، ضد سرطان‌زایی، ضد التهابی و اتساع عروق آن‌ها گزارش شده است (۶). گیاه *Mentha aquatica* L. معروف به اوجی یا نعناع آبی متعلق به خانواده *Labiatae* و از جنس *Mentha* است. جنس نعناع یکی از اعضای مهم خانواده است که شامل هجده گونه و یازده هیبرید است که در میان آن‌ها چندین گونه به دلیل روغن با ارزش و طعم خوب از اهمیت اقتصادی برخوردار هستند. از نعناع‌ها در تهیه عطر، قنادی و دارویی استفاده می‌شود. گونه‌های این جنس به‌طور کلی تحت عنوان نعناع و پونه در ایران معروفند. گیاهان خانواده نعناع به دلیل غنی بودن ترکیبات فنولی توجه اکثر محققان را به خود جلب نموده‌اند. عامل اصلی بروز اثرات ضد اکسایشی، ضد میکروبی و خواص دارویی گیاهان خانواده نعناع ناشی از اسانس‌ها و اسیدهای فنولی موجود در آن‌هاست (۷). همچنین اثرات درمانی گیاه اوجی در برطرف کردن اختلالات گوارشی، استفراغ، کولیت اولسراتیو و اختلالات کبدی به اثبات رسیده است (۸).

با توجه به اینکه پتانسیل گونه‌های بومی نعناع هنوز ناشناخته مانده، لذا بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس و عصاره گونه نعناع بومی ایران (اوجی) از اهمیت بالایی برخوردار است. در نتیجه هدف از این پژوهش، تعیین میزان فنول موجود در ترکیبات گیاه و همچنین ارزیابی مقایسه‌ای در خصوصیات

<sup>3</sup> Folin-Ciocalteu

<sup>1</sup> Maceration

<sup>2</sup> Total Phenol

روش، ترکیبات آنتی‌اکسیدان با فری سیانید پتاسیم، تری کلرو استیک اسید و فریک کلراید ترکیب شده و کمپلکس سبزرنگی ایجاد می‌نمایند که در طول موج ۷۰۰ نانومتر قابل اندازه‌گیری است. افزایش در جذب نوری مخلوط واکنش بیانگر قدرت احیاء کنندگی نمونه‌ها می‌باشد (۱۲). به لوله‌های حاوی ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره یا اسانس با غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اتانول، یک میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات (pH=۶/۶) و یک میلی‌لیتر فری سیانید پتاسیم (۱ درصد) اضافه شد و بعد به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. سپس یک میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (۱۰ درصد) به مخلوط فوق اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ انجام گرفت. بعد از سانتریفیوژ کردن یک میلی‌لیتر از مایع رویی را برداشته و به آن ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر و ۵۰۰ میکرولیتر فریک کلراید (۱۰ درصد) اضافه گردید. بعد از گذشت مدت زمان ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در طول موج ۷۰۰ نانومتر میزان جذب نوری نمونه‌ها قرائت شد (۱۵).

۳- روش رادیکال کاتیون ABTS؛ روش رادیکال کاتیون ABTS بر مبنای احیاء رادیکال کاتیون ABTS بوده که جذب بالایی در ۷۳۴ نانومتر دارد. این روش سنجش مستلزم تولید کروموفور ABTS با اکسیداسیون ABTS در حضور یک اکسیدکننده (معمولاً پتاسیم پرسولفات) است. در این روش میزان کاهش رنگ زمانی که آنتی‌اکسیدانت به محلول سبز مایل به آبی ABTS<sup>•+</sup> اضافه می‌شود مورد سنجش قرار می‌دهند (۱۶). ابتدا محلول‌های پایه شامل ABTS (۷ میلی‌مولار) و پتاسیم پرسولفات (۲/۴۵ میلی‌مولار) تهیه شد و در ادامه محلول اصلی ABTS<sup>•+</sup> به‌وسیله مخلوط کردن دو محلول پایه به مقدار مساوی با یکدیگر، تهیه شده، در ادامه این مخلوط در دمای اتاق و محیط تاریک به مدت ۱۶ ساعت به‌منظور تکمیل واکنش نگهداری شد. محلول تهیه شده برای رسیدن جذب نوری به (±۰/۲) در طول موج ۷۳۴ نانومتر با اتانول رقیق شد. به ۲ میلی‌لیتر از محلول تازه تهیه شده ABTS میزان ۰/۲ میلی‌لیتر از غلظت‌های ۰/۲، ۰/۵، ۰/۲۵ و ۰/۱۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسانس، عصاره و BHT اضافه شد و بعد از نگهداری به مدت ۶ دقیقه در تاریکی، جذب نوری نمونه‌ها در ۷۳۴ نانومتر اندازه‌گیری شد. درصد بازدارندگی نمونه‌ها از رابطه زیر محاسبه و به‌صورت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل اسید آسکوربیک گزارش شد:

$$x\% = \frac{A_{blank} - A_{sample}}{A_{blank}} \times 100$$

محتوای تام فنلی برحسب مقدار میلی‌گرم گالیک اسید به ازای هر گرم ترکیب و با استفاده از معادله رگرسیون حاصل از منحنی استاندارد محاسبه شد (۱۱).

### تست‌های آنتی‌اکسیدانی:

ارزیابی قدرت آنتی‌اکسیدان عصاره و اسانس با استفاده از سه روش که به شرح زیر است، انجام شد:

۱- روش به دام انداختن رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل<sup>۴</sup> DPPH: مولکول DPPH رادیکالی آزاد بوده که توانایی شروع واکنش‌های زنجیره‌ای لیپید پراکسیداسیون و اتواکسیداسیون از طریق واکنش مستقیم با آنتی‌اکسیدان‌ها را دارد. با به دام انداختن این رادیکال توسط آنتی‌اکسیدانت‌ها، DPPH<sup>•</sup> احیاء و مولکول پایدار DPPH-H تشکیل می‌شود (۱۲). شدت جذب با احیاء شدن، کاهش یافته و ترکیب زردرنگی تولید می‌شود که در طول موج nm ۵۱۷ جذب دارد. با افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل حلقه فنول آنتی‌اکسیدان، تعداد اتم هیدروژن بیشتری برای واکنش با DPPH<sup>•</sup> و پایدار کردن آن وجود خواهد داشت (۱۳). به‌منظور تهیه غلظت ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، عصاره و اسانس هر کدام در دو میلی‌لیتر اتانول حل شدند. سپس رقت‌سازی تا غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر انجام گرفت. دو میلی‌لیتر از محلول DPPH، که با حل کردن پودر DPPH (۲/۴ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول) تهیه شده بود، به ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره و اسانس اضافه گردید. پس از نگهداری نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در یک مکان تاریک، با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر، میزان جذب نوری آن‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. از هر غلظت سه تکرار قرار داده شد. BHT هم به‌عنوان آنتی‌اکسیدان سنتتیک، با غلظت یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌عنوان کنترل مثبت تهیه گردید (۱۴).

درصد مهار رادیکال آزاد با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$100 * (A_c - A_s) / A_c = \text{درصد مهار رادیکال آزاد}$$

در این فرمول  $A_c$  میزان جذب کنترل و  $A_s$  میزان جذب نمونه است.

۲- روش تعیین قدرت احیاء کنندگی (RP<sup>۵</sup>): در آزمایش توان احیاء کنندگی، احیاء آهن III (فریک) به آهن II (فرو) برای بیان پتانسیل الکترون‌دهی به کار می‌رود. در این روش، سنجش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی بر اساس جذب نوری صورت می‌گیرد. افزایش در جذب نوری مخلوط واکنش بیانگر افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و بدون واحد اندازه‌گیری می‌باشد زیرا از جذب نوری برای شدت خاصیت احیاء کنندگی استفاده می‌شود. در این

<sup>۶</sup> 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)

<sup>۴</sup> 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

<sup>۵</sup> Reducing power

عصاره و باکتری‌ها افزوده شد. همچنین از هر کدام از رقت ۳- باکتری مورد نظر و رقت ۱- عصاره، ۲۰۰ ماکرولیتر به لوله‌های کنترل انتقال یافت.

سوسپانسیون میکروبی ( $10^5$  cfu/mL) معادل رقت ۰/۰۵ استاندارد مک فارلند تهیه گردید. بعد از پر کردن چاهک‌ها و لوله‌ها، میکروپلیت و لوله‌ها، به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. اولین خانه‌ای که در آن کدورتی دیده نشد به‌عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) در نظر گرفته شد و برای تعیین MBC نیز از رقت‌های بعد از MIC بر روی آگار کشت داده شد و کمترین رقتی که در آن ۹۹ درصد رشد میکروبی متوقف شده بود به‌عنوان MBC گزارش شد (۱۸).

- تجزیه و تحلیل آماری: پس از اندازه‌گیری شاخص‌های مورد نظر، تجزیه و تحلیل آماری مشاهدات با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ۲۰ انجام گرفت. از روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها و تعیین وجود تفاوت آماری معنی‌دار بین تیمارها استفاده شد و سپس از آزمون دانکن به‌منظور گروه‌بندی تیمارها بر اساس تفاوت آماری بین آن‌ها و مقایسه میانگین‌ها استفاده شد.

## یافته‌ها

### ۱- نتایج تست آنتی‌اکسیدانی DPPH

غلظت‌های مختلف اسانس، عصاره و BHT با درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH در نمودار ۱ آورده شده است. نتایج نشان داد با افزایش غلظت‌ها مهار رادیکال‌های آزاد هم بیشتر شد. اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره در تمام غلظت‌ها به طور قابل توجهی بالاتر از اسانس بود. اما عصاره و اسانس تأثیر کم و عملکرد نسبتاً پایین را در مقایسه با BHT نشان دادند.

### ۲- نتایج میزان فنل تام (TP)

در این تست، مقادیر فنل عصاره و اسانس با استفاده از منحنی استاندارد اسید گالیک به دست آمد (نمودار ۲) سپس میزان همبستگی میان فنول کل و مقادیر فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH مقایسه گردید (جدول ۱) و مشاهده شد عصاره با بالاترین میزان ترکیبات فنلی به طور معناداری دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بهتری بود.

### ۳- نتایج ارزیابی قدرت احیاکنندگی

در مقایسه قدرت احیاکنندگی، بین اسانس، عصاره اتانولی نعنای آبی و BHT اختلاف معنی‌داری وجود داشت ( $p < 0/05$ ). قدرت احیاکنندگی در غلظت دو میلی‌گرم برای اسانس، عصاره اتانولی و BHT به ترتیب ۰/۴۱۲، ۲/۶۲ و ۳ می‌باشد که بیشترین میزان احیاکنندگی مربوط به BHT بوده و عصاره نیز نسبت به

در این فرمول Ablank میزان جذب نوری کنترل را نشان می‌دهد و Asample بیانگر قدرت جذب نوری غلظت‌های مختلف عصاره و اسانس گیاه است (۱۷).

- ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس و عصاره: باکتری‌های گرم مثبت مورد بررسی در این مطالعه شامل لیستریا مونوسیتوژنز (PTCC ۱۹۱۱۵)، استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC ۲۵۹۲۳) و باکتری‌های گرم منفی شامل سالمونلا تیفی موریوم (۱۴۰۲۸) PTCC، اشیریشیا کلای (PTCC ۱۵۳۳) بودند. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس و عصاره به ترتیب با استفاده از روش رقیق‌سازی در برات میکروداپلوشن و برات ماکروداپلوشن تعیین شد.

ارزیابی ضد میکروبی اسانس: برای این منظور از میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای استریل استفاده شد. ابتدا ۱۶۰ ماکرولیتر از محیط کشت BHI برات به هر چاهک انتقال یافت. یک میلی‌لیتر اسانس با ۱/۲۵ میلی‌لیتر DMSO به یک میلی‌لیتر محیط کشت BHI برات در رقت اول افزوده، سپس غلظت‌های مختلف اسانس با رقیق‌سازی محلول پایه تا رقت ۸- (هر لوله حاوی یک میلی‌لیتر BHI برات) تهیه و از هر رقت به میزان ۲۰ ماکرولیتر به ترتیب در چاهک‌ها ریخته شد. جهت تهیه میزان تلقیح باکتری‌ها از کشت استوک در داخل محیط آگار کشت داده شد و به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. پس از کشت اول، کشت مجددی در محیط برات داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. از کشت دوم مقادیر مختلفی به داخل لوله‌هایی که حاوی ۵ میلی‌لیتر BHI برات استریل بودند منتقل گردید تا جذب نوری در طول موج ۶۰۰ نانومتر به دست آید. سپس با انتقال یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون مورد نظر باکتری به لوله‌ی حاوی ۹ میلی‌لیتر آب پیتونه ۰/۱ درصد، رقت‌های متوالی تا رقت ۳- تهیه و سپس ۲۰ ماکرولیتر از رقت ۳- به چاهک‌ها منتقل گردید. محیط BHI برات به میزان ۱۸۰ ماکرولیتر به هر کدام از چاهک‌های کنترل اسانس و باکتری‌ها افزوده شد. همچنین از هر کدام از رقت ۳- باکتری مورد نظر و رقت ۱- اسانس، ۲۰ ماکرولیتر به لوله‌های کنترل انتقال یافت.

ارزیابی ضد میکروبی عصاره: ابتدا ۹۰۰ ماکرولیتر از محیط کشت BHI برات به هر لوله انتقال یافت. ۰/۴ گرم در ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت BHI برات در رقت اول افزوده، سپس غلظت‌های مختلف عصاره با رقیق‌سازی محلول پایه تا رقت ۴- (هر لوله حاوی ۴ میلی‌لیتر BHI برات) تهیه و از هر رقت به میزان ۹۰۰ ماکرولیتر به ترتیب در لوله‌ها ریخته شد. از رقت ۳- تهیه شده از باکتری مورد نظر، ۲۰۰ ماکرولیتر به لوله‌ها منتقل گردید. محیط BHI برات به میزان ۱۸۰۰ ماکرولیتر به هر کدام از لوله‌های کنترل

طبق جدول ۳، اسانس مورد بررسی در غلظت‌های مختلف توانست بر کلیه باکتری‌های مورد بررسی اثرات بازدارندگی و کشندگی داشته باشد. باکتری‌های *اشریشیا کلای* و *سالمونلا تیفی* موربوم، بیشترین (با MIC معادل  $2/5 \text{ mg mL}^{-1}$  و MBC معادل  $5/12 \text{ mg mL}^{-1}$ ) و باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا مونوسایتوژنز*، کمترین (با MIC معادل  $5/12 \text{ mg mL}^{-1}$  و MBC معادل  $10 \text{ mg mL}^{-1}$ ) حساسیت به اسانس را از خود نشان دادند. بر اساس نتایج این تحقیق، عصاره اتانولی اثرات ضد میکروبی از خود نشان نداد.

اسانس با اختلاف معنی‌داری دارای قدرت احیاکنندگی بالاتری بود ( $p < 0.05$ ) (نمودار ۳).

#### ۴- ارزیابی قدرت مهارکنندگی رادیکال ABTS

در این تست، درصد بازدارندگی عصاره تقریباً در تمام غلظت‌ها به طور قابل توجهی بالاتر از اسانس بود. اما عصاره و اسانس تأثیر کم و عملکرد نسبتاً پایین را در مقایسه با BHT نشان دادند (جدول ۲). به علاوه یک اثر وابسته به غلظت دیده شد یعنی با افزایش غلظت اسانس و عصاره، خاصیت حذف رادیکال آزاد نیز بیشتر گردید.

#### ۵- نتایج ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس و عصاره

### جدول (۱): مقایسه مقادیر فنل کل عصاره اتانولی و اسانس نعنای آبی و میزان همبستگی میان فنل کل و مقادیر فعالیت آنتی‌اکسیدانی

سنجش آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH		میلی گرم گالیک اسید / گرم عصاره	
R	مقدار (P)Sig		
۰/۹۴۲	۰/۰۰۵xx	$a^{*231/81 \pm 10/80}$	مقدار فنل کل عصاره اتانولی
۰/۹۶۸	۰/۰۰۲xx	$b^{22/10 \pm 3/41}$	مقدار فنل اسانس

× آنالیز آماری به روش دانکن، حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است ( $p < 0.05$ ).  
 \*\*همبستگی در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار است

### جدول (۲): درصد بازدارندگی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل آسکوربیک اسید غلظت‌های مختلف عصاره الکلی، اسانس نعنای آبی و BHT

درصد بازدارندگی	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل آسکوربیک اسید ( میلی گرم بر میلی لیتر)	غلظت ( میلی گرم بر میلی لیتر)
$10/68 \pm 7/51^{aA}$	$10/1 \pm 0/0^{aA}$	عصاره
$17/93 \pm 1/68^{bA}$	$10/2 \pm 0/0^{bA}$	اسانس
$67/95 \pm 12/07^{cA}$	$10/1 \pm 0/0^{cA}$	BHT
$47/23 \pm 13/59^{aB}$	$10/7 \pm 0/0^{aB}$	عصاره
$36/07 \pm 0/25^{aB}$	$10/5 \pm 0/0^{bB}$	اسانس
$93/53 \pm 2/47^{bB}$	$10/9 \pm 0/0^{cB}$	BHT
$85/49 \pm 0/86^{aC}$	$10/3 \pm 0/0^{aC}$	عصاره
$55/55 \pm 4/49^{bC}$	$10/8 \pm 0/0^{aC}$	اسانس
$94/66 \pm 6/39^{cB}$	$10/9 \pm 0/0^{bB}$	BHT
$86/40 \pm 2/03^{aC}$	$10/3 \pm 0/0^{aC}$	عصاره
$77/51 \pm 9/77^{dD}$	$10/1 \pm 0/0^{aD}$	اسانس
$95/73 \pm 5/45^{bB}$	$10/9 \pm 0/0^{bB}$	BHT
$92/29 \pm 3/23^{dD}$	$10/9 \pm 0/0^{aD}$	عصاره
$84/74 \pm 9/10^{aE}$	$10/3 \pm 0/0^{bE}$	اسانس
$98/93 \pm 2/33^{bB}$	$10/2 \pm 0/0^{aB}$	BHT

آنالیز آماری به روش دانکن، در هرستون حروف کوچک غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح  $p \leq 0.05$  بین عصاره، اسانس و BHT در غلظت یکسان می‌باشد.

حروف بزرگ غیر مشابه نیز نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین غلظت‌های مختلف یک ترکیب در سطح  $p \leq 0.05$  می‌باشد.

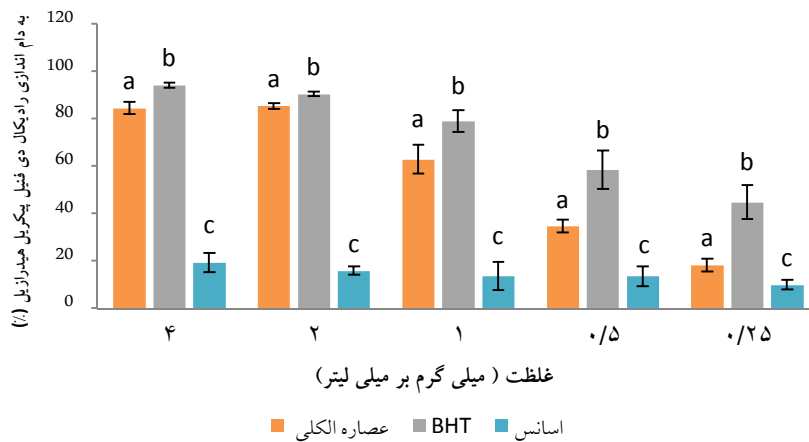
**جدول (۳):** حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و کشندگی (MBC) برحسب میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس اوجی

MBC** (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)	MIC* (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)	باکتری	گرم مثبت
۵/۱۲a	۲/۵a	اشریشیا کلای (PTCC ۱۵۳۳)	
۱۰b	۵/۱۲b	استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC ۲۵۹۲۳)	
۱۰b	۵/۱۲b	لیستریا مونوسیتوزنز (PTCC ۱۹۱۱۵)	گرم منفی
۵/۱۲a	۲/۵a	سالمونلا تیفی موریوم (PTCC ۱۴۰۲۸)	

×حداقل غلظت مهارکنندگی

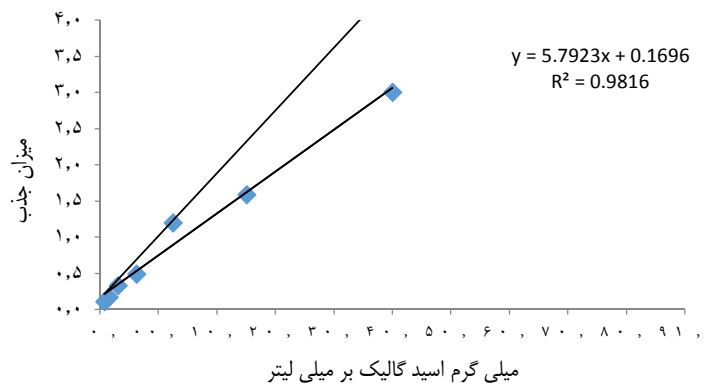
××حداقل غلظت کشندگی

آنالیز آماری به روش دانکن، در هرستون حروف کوچک غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح  $p \leq 0.05$

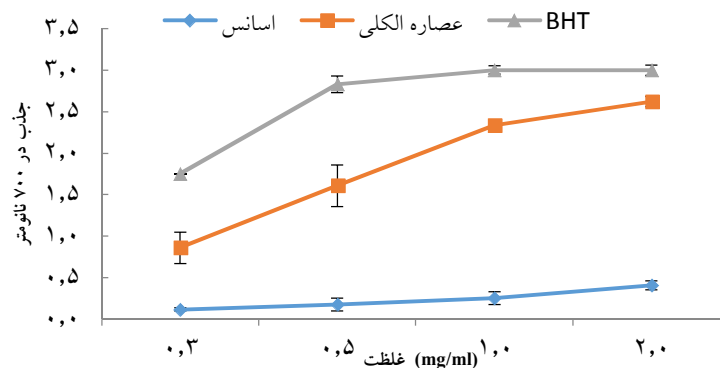


**نمودار (۱):** میزان به دام‌اندازی رادیکال DPPH غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی و اسانس نعنای آبی در مقایسه با BHT

آنالیز آماری به روش دانکن، حروف غیر مشابه در هر غلظت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است ( $p < 0.05$ ).



**نمودار (۲):** منحنی استاندارد اسید گالیک



نمودار (۳): میزان قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها و اسانس نعناع آبی در مقایسه با BHT

### بحث و نتیجه‌گیری

کامکار و همکاران (۱۳۸۸) قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی نعناع را با دو تست DPPH و بتا کاروتن لینولئیک اسید مورد ارزیابی قرار دادند و عصاره‌ی نعناع با  $IC_{50}$  (غلظتی از عصاره که در آن ۵۰ درصد از رادیکال‌های آزاد موجود در محیط واکنش مهار شوند) معادل  $12 \mu\text{g/ml}$  در تست DPPH و ۶۱ درصد قدرت آنتی‌اکسیدانی در تست بتا کاروتن لینولئیک، به‌عنوان منبع آنتی‌اکسیدانی مناسب معرفی شد (۱۹). همچنین بن‌عبدالله و همکاران در سال ۲۰۱۶ فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی نعناع آبی را مورد بررسی قرار دادند. میزان توتال فنل عصاره برابر با  $43/21$  میلی‌گرم گالیک اسید در گرم بود که تا حدودی با تحقیق حاضر همخوانی دارد. همچنین در این تحقیق میزان فلاونوئید و تانین نیز به ترتیب  $31/77$  و  $8/67$  میلی‌گرم برحسب روتین و کاتچین در هر گرم بود (۲۰).

در یک بررسی دیگر تای و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که میزان توتال فنل عصاره آبی نعناع آبی از عصاره اتانولی بالاتر بود ( $7/51$  در مقایسه با  $9/35$  برحسب اسید گالیک) (۲۱). این اختلافات در میزان توتال فنل در تحقیقات مختلف می‌تواند با روش استخراج و ویژگی‌های ذاتی گیاهان از جمله وارپته، خواستگاه، فصل برداشت و قسمت مورد استفاده برای عصاره‌گیری ارتباط داشته باشند. علاوه بر شرایط محیطی، زمان برداشت، عملیات پس از برداشت و شرایط نگهداری نیز منجر به اختلاف میزان و نوع ترکیبات فنولی در گونه‌های مختلف یک جنس می‌شود (۲۲).

سینگ و همکاران (۲۰۱۵)،  $IC_{50}$  میزان قدرت احیاکنندگی عصاره نعناع لفللی (*Mentha piperita*) را  $0/6 \text{ mg/ml}$  به دست آوردند که در مقایسه با تحقیق حاضر قدرت آن پایین‌تر بود (۲۳). در بررسی فرحات و همکاران (۲۰۱۶) بررسی عصاره‌های متانولی،

کلروفومی و استونی بخش‌های هوایی و ریشه نعناع آبی نشان داد که در آزمون ABTS موثرترین عصاره مربوط به عصاره استونی استخراج شده از ریشه گیاه بود (۲۴). مطالعات گسترده‌ای نشان دادند که خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان خانواده نعناع وابسته به حضور ترکیبات فنلی مانند فلاونوئیدهای موجود در این گیاهان است. این ترکیبات به‌عنوان جمع‌آوری‌کننده‌های رادیکال‌های آزاد و نیز مهارکننده پراکسیداسیون لیپیدی شناخته شده‌اند بر اساس این یافته‌ها می‌توان از منابع گیاهی با قابلیت زیست فعال بالقوه و با ارزش استفاده کرد. علاوه بر این، باید توجه داشت که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ممکن است به ساختار شیمیایی ترکیبات و همچنین اثر هم افزایی یا آنتاگونیستی ترکیبات موجود در عصاره نیز نسبت داده شود.

بر اساس گزارش ابوطالبیان (۲۰۰۶) اثر آنتی‌اکسیدانی نعناع، پونه و ریحان در روغن آفتابگردان در غلظت  $600 \text{ ppm}$  با اثر آنتی‌اکسیدانی BHT در غلظت  $200 \text{ ppm}$  قابل قیاس است و در بین گیاهان مورد استفاده، عصاره استخراجی از گیاه پونه بالاترین اثر آنتی‌اکسیدانی را از خود نشان داد و به دنبال آن گیاهان نعناع و ریحان قرار گرفتند (۲۵). اگرچه قبلاً از کلروفوم، استون و متانول برای استخراج نعناع آبی استفاده شده است ولی نتیجه پروفایل متفاوتی از ترکیبات فیتوشیمیایی به‌عنوان مثال استروئیدها، فلاونوئیدها و تری‌ترپنوئیدها و محتوای فنلی بدست آمده است (۲۴).

مطالعات معدودی خواص ضد باکتریایی اسانس نعناع را مورد مطالعه قرار دادند که از این موارد می‌توان به مطالعه محبویی و حقی (۲۰۰۸) اشاره نمود که خواص ضد باکتریایی اسانس نعناع را به روش دیسک دیفیوژن و برات میکروآبلوژن مورد بررسی قرار دادند و حداقل غلظت مهارکنندگی آن را برای باکتری‌های گرم

همچنین با توجه به گسترده بودن روش‌های بررسی آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی انجام سایر روش‌ها و نیز آنالیز شیمیایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس و عصاره به روش‌های کروماتوگرافی توصیه می‌شود. همچنین امروزه روش‌های جدیدی نیز در مورد استخراج عصاره‌های گیاهی مانند روش‌های مبتنی بر حلال‌های یوتکتیک ژرف (DES)، استخراج با امواج اولتراسوند و... نیز ابداع شده و در حال انجام می‌باشند که بنظر می‌رسد بهتر باشد در تحقیقات بعدی مورد نظر قرار گیرد.

در پایان می‌توان نتیجه‌گیری کرد که عصاره گیاه نعناع آبی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبتاً خوب و در عین حال اسانس آن دارای اثر ضد میکروبی نسبتاً قوی در برابر برخی از میکروارگانیسم‌های پاتوژن است. با توجه به این نتایج، عصاره و اسانس نعناع آبی می‌توانند به‌عنوان منابع آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی طبیعی و بالقوه در صنایع غذایی و دارویی مفید واقع شوند. البته با توجه به قدرت آنتی‌اکسیدانی نسبتاً بالای عصاره و قدرت ضد میکروبی مناسب اسانس این گیاه به‌منظور استفاده کاربردی‌تر بهتر است که از ترکیب این دو به‌منظور حصول بهترین و مؤثرترین نتیجه بهره گرفت. همچنین انتظار می‌رود تحقیقات بیشتر این ملاحظات را در نظر گرفته و به ایجاد استانداردهای مناسب برای کاربردهای مؤثر ترکیبات این گیاه بخصوص در آزمایشات *in vivo* در آینده کمک کند.

### تشکر و قدردانی

این تحقیق مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد (به شماره: ۸۲۸-۲۰۲۰) بوده و با حمایت مالی معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه ارومیه انجام شده است. همچنین بدین‌وسیله از کارشناسان محترم، کلیه پرسنل و کارکنان آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه که در انجام این تحقیق، مساعدت و همراهی نمودند، تشکر و قدردانی می‌شود.

### References:

1. Campêlo MCS, Medeiros JMS, Silva JBA. Natural products in food preservation. *Int. Food Res J* 2019; 26(1): 41-6.
2. Omidbeygi M, Barzegar M, Hamidi Z, Naghdibadi H. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. *Food control* 2007; 18 (12): 1518-23.

مثبت بین  $4 - 25 \mu\text{l/ml}$  و برای لیستریا مونوسایتوزنز  $1 \mu\text{l/ml}$  گزارش نمودند (۲۶). کاظم الوندی و همکاران (۱۳۸۹) در طی مطالعه‌ای اثر ممانعت‌کنندگی اسانس نعناع فلفلی را بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا کلای* و *سالمونلا* به ترتیب ۳۰۰، ۱۵۰ و ۲۵۰ ppm به دست آوردند (۲۷). در مطالعه فرها و همکاران (۲۰۱۷) اثرات ضد باکتریایی عصاره‌های مختلف نعناع آبی نشان داده شد به طوری‌که میزان MIC بر علیه باکتری *اشریشیاکلای* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب ۱۲۸ و ۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که در مقایسه با مطالعه حاضر قدرت بالاتری در مهار باکتری‌ها داشتند (۲۴). در یک مطالعه نوری و همکاران (۲۰۲۰) اثر باکتریوسیدی نانو ذرات نقره سنتز شده با عصاره نعناع آبی را بررسی کردند بر باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و باکتری گرم منفی *سودوموناس آئروژینوزا* به کار رفت که نتایج میزان MIC به میزان ۱۹۸ و ۲/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بدست آمد که نشان‌دهنده افزایش اثربخشی در شکل نانوذرات می‌باشد (۲۸). به طور کلی مقایسه نتایج به دست آمده در مورد خواص ضد باکتریایی اسانس‌های مختلف بسیار مشکل است که از دلایل آن می‌توان به گونه گیاهی، تفاوت در روش‌های مختلف بررسی خواص ضدباکتریایی اسانس‌ها، منابع تهیه آن‌ها و سویه‌های باکتریایی به کار برده شده، روش عصاره‌گیری، فاز رشد و میزان باکتری، نوع محیط کشت مورد استفاده، عوامل خارجی و داخلی مواد غذایی نظیر pH، چربی، پروتئین، آب، آنتی‌اکسیدان‌ها، مدت‌زمان و دمای انکوباسیون اشاره کرد (۲۹).

در تحقیق حاضر عصاره الکلی استخراج شده اثر ضد میکروبی چندانی نشان نداد که می‌تواند ناشی از روش بکار برده شده برای استخراج و نیز نوع تست ضد میکروبی مورد استفاده باشد. از طرفی تحقیق حاضر بر روی نمونه‌های جمع‌آوری شده در فصل بهار انجام پذیرفت که بنظر می‌رسد برای تکمیل و مقایسه بهتر باشد که گیاهان در سایر فصول و همچنین در سایر مناطق نیز بررسی شود چرا که این عوامل بر نتایج تحقیق تاثیر گذار می‌باشند.

3. Tariq S, Wani S, Rasool W, Shafi K, Bhat MA, Prabhakar A, et al. A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. *Microb Pathog* 2019; 134: 103580.
4. Dzah CS, Duan Y, Zhang H, Wen C, Zhang J, Chen G, et al. The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial



- activity of polyphenol extracts: A review. *Food Biosci* 2020 ;35:100547..
5. Burri SC, Ekholm A, Håkansson Å, Tornberg E, Rumpunen K. Antioxidant capacity and major phenol compounds of horticultural plant materials not usually used. *J Funct Foods* 2017; 38: 119-27.
  6. Mattila P, Hellström J. Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products. *J Food Compos Anal* 2007; 20: 152-60.
  7. Kamkar A, Javan AJ, Asadi F, Kamalinejad M. The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. *Food Chem Toxicol* 2010; 48: 1796-1800.
  8. Ahvazi M, Akbarzadeh M. Traditional Uses of some Medicinal Plants in Gastrointestinal tract Treatment in East-Mazandaran (Iran). *J Med Plants* 2017; 3(63): 43-56.
  9. Mehdizadeh T, Tajik H, Razavi Rohani SM, Oromiehie AR. Antibacterial, antioxidant and optical properties of edible starch-chitosan composite film containing pomegranate peel extract. *Urmia Med J* 2012; 23: 315-23.
  10. Khalili M, Ebrahimzadeh MA. A review on antioxidants and some of their common evaluation methods. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2015; 24:188-208.
  11. Ordonez A, Gomez JD, Vattuone MA. Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. *Food Chem* 2006; 97: 452-58.
  12. Vijayalakshmi M, Ruckmani K. Ferric reducing antioxidant power assay in plant extract. *Bangladesh J Pharmacol* 2016; 11(3): 570-2.
  13. Sirivibulkovit K, Nouanthavong S, Sameenoi Y. Paper-based DPPH assay for antioxidant activity analysis. *Anal Sci* 2018; 34(7): 795-800.
  14. Züleyha Ö. Investigation of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of *Mentha spicata* L. subsp. *spicata* and *M. longifolia* (L.) L. subsp. *typhoides* (Briq.) Harley Decoction and Infusion. *J. Turkish chem soc* 2018; 5(2): 445-56.
  15. Dubey K, Dubey R, Gupta RA, Gupta AK. Anti-diabetic and antioxidant potential of saponin extract of leaves of *Ziziphus mauritiana*. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics* 2019; 9(2-A): 75-7.
  16. Srinivasan R, Chandrasekar MJN, Nanjan MJ, Suresh B. Antioxidant activity of *Caesalpinia digyna* root. *J Ethnopharmacol* 2007; 113: 284-91.
  17. Lim S, Choi AH, Kwon M, Joung EJ, Shin T, Lee SG, et al. Evaluation of antioxidant activities of various solvent extract from *Sargassum serratifolium* and its major antioxidant components. *Food Chem* 2019; 278: 178-84.
  18. Sun XH, Zhou TT, Wei CH, Lan WQ, Zhao Y, Pan YJ, et al. Antibacterial effect and mechanism of anthocyanin rich Chinese wild blueberry extract on various foodborne pathogens. *Food Control* 2018; 94: 155-61.
  19. Kamkar A, Asadi F, Jebeli Javan A, Jamshidi R. Antioxidant capacity of essential oil and extract of Iranian *Mentha spicata*. *JVLR* 2010; 1: 64-72.
  20. Benabdallah A, Rahmoune C, Boumendjel M, Aissi O, Messaoud C. Total phenolic content and antioxidant activity of six wild *Mentha* species (Lamiaceae) from northeast of Algeria. *Asian Pac J Trop Biomed* 2016; 6(9): 760-6.
  21. Thi NQN, Duc LT, Minh LV, Tien LX. December. Phytochemicals and Antioxidant Activity of Aqueous and Ethanolic Extracts of *Mentha aquatica* L. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. IOP Publishing 2020; 991(1): 012027.
  22. Özcan MM, Fındık S, AlJuhaimi F, Ghafoor K, Babiker EE, Adiamo OQ. The effect of harvest time and varieties on total phenolics, antioxidant activity and phenolic compounds of olive fruit and leaves. *J Food Sci Technol* 2019; 56(5): 2373-85.
  23. Singh R, Shushni MAM, Belkheir A. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. *Arab J Chem* 2015; 8: 322-8.
  24. Ferhat M, Erol E, Beladjila KA, Çetintaş Y, Duru ME, Öztürk M, et al. Antioxidant, anticholinesterase and

- antibacterial activities of *Stachys guyoniana* and *Mentha aquatica*. *Pharm Biol* 2017; 55(1): 324-9.
25. Abootalebian M, Keramat J, Kadivar M, Ahmadi F, Abdinian M. Comparison of total phenolic and antioxidant activity of different *Mentha spicata* and *M. longifolia* accessions. *Ann Agric Sci* 2016; 61(2): 175-9.
26. Mahboubi M, Haghi Gh. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. *J Ethnopharmacol* 2008; 2: 325 - 7.
26. Kazem Alvandi R, Sharifan A, Aghazadeh Meshghi M. Study of chemical composition and antimicrobial activity of peppermint essential oil. *J Comp Pathob* 2010; 7(4): 355-64.
28. Nouri A, Yaraki MT, Lajevardi A, Rezaei Z, Ghorbanpour M, Tanzifi M. Ultrasonic-assisted green synthesis of silver nanoparticles using *Mentha aquatica* leaf extract for enhanced antibacterial properties and catalytic activity. *Colloids Interface Sci* 2020; 35: 100252.
29. Anwar F, Abbas A, Mehmood T, Gilani AH, Rehman NU. *Mentha*: A genus rich in vital nutraceuticals—A review. *Phytother Res* 2019; 33(10):2548-70.

## COMPARATIVE STUDY OF ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF *MENTHA AQUATICA* L. ETHANOLIC EXTRACT AND ESSENTIAL OIL

Zahra Alizadeh Amoli <sup>1</sup>, Tooraj Mehdizadeh <sup>2\*</sup>, Hossein Tajik <sup>3</sup>

Received: 07 August, 2020; Accepted: 23 December, 2020

### Abstract

**Background & Aims:** Antioxidant and antimicrobial activity of plant essential oils and extracts has been the basis of various scientific applications in food processing, pharmaceuticals, and traditional medicine. *Mentha aquatica* is one of the most important species of the mint family and has a wide distribution in northern Iran. The objective of the present study was to evaluate antioxidant and antibacterial properties of extract and essential oil of *M. Aquatica* L. and the difference between them.

**Materials & Methods:** In the present study, the total phenolic contents were measured with folin ciocalteu method. The antioxidant capacity of the extract was assessed by DPPH and ABTS radicals-scavenging activity and compared to synthetic antioxidant BHT. Eventually, the antibacterial activity was assessed using the microdilution method.

**Results:** The total phenolic content of extract and EO was 231.10 and 23.3 mg Gallic acid /g, respectively. In testing percent of inhibition of free radicals (DPPH and ABTS), the extract showed a significant inhibitory effect ( $p < 0.05$ ), but there is a significant difference between ethanolic extract and EO. Both extracts also showed reducing effect which was relatively low performance compared to the BHT. Minimum inhibitory concentration (MIC) values of EO against *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli* and *S.typhimurium* were 5.12, 5.12, 2.5 and 2.5 mg mL<sup>-1</sup>, respectively and MBC also was 10, 10, 5.12 and 5.12 mg mL<sup>-1</sup>, respectively.

**Conclusion:** Based on our results the ethanolic extract did not show any antimicrobial effect. Nevertheless, it is possible to combine essential oil and extracts to achieve a compound with proper antimicrobial and antioxidant effects.

**Keywords:** Antioxidant activity, Antimicrobial activity, Essential oil, Extract, *Mentha aquatica*.

**Address:** Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Nazloo Pardis, Urmia, Iran.

**Tel:** +984431942673

**Email:** t.mehdizadeh@urmia.ac.ir

SOURCE: STUD MED SCI 2020: 31(11): 873 ISSN: 2717-008X

<sup>1</sup> MSc of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia, Iran.

<sup>2</sup> Associate Professor, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia, Iran. (Corresponding Author)

<sup>3</sup> Professor, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia, Iran.