ارزیابی فنول و فلاونوئید کل، قدرت آنتی‌اکسیدانی و اثر ضدقارچی اسانس نعناع سبز بر سویه‌های عامل فساد میوه توت‌فرنگی

مصطفی رحمتی جنیدآباد*[۱]، بهروز علیزاده بهبهانی[۲]، محمد نوشاد[۲]

[۱]گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

[۲]گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۲۰

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی تعیین محتوای فنول و فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و اثر ضدقارچی اسانس نعناع سبز بر سویه‌های قارچی عامل فساد میوه توت‌فرنگی (*بوتریتیس سینه‌را*، *آسپرژیلوس نایجر* و *رایزوپوس استولونیفر*) در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. برای این هدف، ابتدا اسانس گیاه نعناع سبز توسط دستگاه کلونجر استخراج شد. اسانس نعناع سبز حاوی ۵۵/۱۵ mg GAE/g محتوای فنول کل و ۲۹/۲۵ mg QE/g فلاونوئید کل بود که نقش مهمی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدقارچی اسانس دارد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس، برحسب IC_{50} و مطابق روش‌های مهار رادیکال DPPH، مهار رادیکال ABTS و بتا-کاروتن/لینولئیک اسید، به ترتیب ۲۳/۳۵ µg/ml، ۱۹/۸۰ و ۲۷/۱۱ به‌دست آمد. نتایج آزمون‌های ضدمیکروبی (دیسک دیفیوژن آگار، انتشار چاهک در آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی) نشان دادند که اسانس نعناع سبز دارای فعالیت ضدقارچی بالقوه بالایی است؛ به‌طوری‌که، *آسپرژیلوس نایجر* و *بوتریتیس سینه‌را* حساس‌ترین و مقاوم‌ترین سویه‌های قارچی نسبت به اسانس بودند. حداقل غلظت مهارکنندگی برای *بوتریتیس سینه‌را* برابر با ۵۰ mg/ml، برای *رایزوپوس استولونیفر* برابر با ۲۵ mg/ml و برای *آسپرژیلوس نایجر* برابر با ۱۲/۵ mg/ml بود. مشخص شد که حداقل غلظت کشندگی برای *بوتریتیس سینه‌را* برابر با ۲۰۰ mg/ml و برای *رایزوپوس استولونیفر* و *آسپرژیلوس نایجر* برابر با ۱۰۰ mg/ml بود. مطابق نتایج، اسانس نعناع سبز به‌عنوان عامل آنتی‌اکسیدان و ضدمیکروب در مواد غذایی قابل استفاده است.

واژگان کلیدی: اثر ضدقارچی، اسانس، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، نعناع سبز.

* Rahmati@asnrukh.ac.ir

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

مقدمه

توت‌فرنگی، با اینکه میوه‌ای نافرازگرا است، اما به‌عنوان یکی از فسادپذیرترین میوه‌ها با طول عمر انبارداری بسیار پایین شناخته می‌شود که این امر عمدتاً ناشی از فعالیت متابولیکی و تنفس نسبی بالا و حساسیت به فساد و پوسیدگی قارچی، بویژه کپک خاکستری پس از برداشت می‌باشد (۱). بنابراین، لازم است تیمارهایی جهت حفظ کیفیت و افزایش عمر انبارداری توت‌فرنگی مورد استفاده قرار گیرند. استفاده از سموم شیمیایی برای کاهش خسارات پس از برداشت ناشی از عوامل بیماری‌زای گیاهی اجتناب ناپذیر است؛ به‌طوری‌که بهترین راه کنترل بیماری‌های پس از برداشت توت‌فرنگی، استفاده از قارچ‌کش‌هایی مانند بنومیل[1]، تیابندازول[2]، اورتوفنیل فنات[3] و ایمازالیل[4] است. با اینحال، کاربرد این سموم شیمیایی منجر به مسمومیت حاد یا مزمن از طریق خاصیت تجمعی در بدن یا خاصیت سرطان‌زایی در انسان می‌شود. علاوه براین، استفاده زیاد از قارچ‌کش‌ها سبب افزایش مقاومت گونه‌های قارچی به قارچ‌کش‌ها می‌شود (۲). در این راستا، توجه ویژه به سلامتی و محیط‌زیست سبب افزایش انگیزه و تقاضا برای یافتن ترکیبات جایگزین سموم شیمیایی و استفاده از مواد نگهدارنده طبیعی با منشأ گیاهی شده است.

استفاده از اسانس‌های گیاهی به‌عنوان یکی از روش‌های سالم و بی‌خطر جهت کنترل بیماری‌های پس از برداشت میوه‌ها و سبزیجات شناخته می‌شود. این ترکیبات طیف وسیعی از متابولیت‌های ثانویه با فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی و زیست تنظیمی می‌باشند. اسانس‌های گیاهی دارای ترکیبات شیمیایی پیچیده‌ای از قبیل الکل‌ها، هیدروکربن‌ها، آلدئیدها و کتون‌ها هستند و اثر ضدقارچی آن‌ها در میوه توت‌فرنگی در پژوهش‌های مختلف به اثبات رسیده است (۳ و ۴).

نعناع سبز با نام علمی *Mentha spicata* یکی از مهمترین و مشهورترین گونه‌های نعناع است که تفاوت‌هایی از لحاظ ترکیب اسانس با دیگر گونه‌های نعناع دارد. به‌طوری‌که این گونه فاقد منتول بوده و ترکیب اصلی تشکیل دهنده آن کاروون[5] است. گیاه نعناع سبز به‌طور گسترده‌ای در طب سنتی جهت هضم بهتر مواد غذایی، درمان سرماخوردگی و وبا، افزایش حرکات دستگاه گوارش و کاهش التهاب استفاده می‌شده است. همچنین، از نعناع سبز در تهیه انواع محصولات غذایی و آرایشی-بهداشتی استفاده می‌شود. علاوه بر این، گزارش شده است که اسانس نعناع سبز دارای فعالیت ضدباکتریایی، ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (۵ و ۶).

در این پژوهش، با توجه به پتانسیل ضدمیکروبی اسانس نعناع سبز، تأثیر ضدقارچی آن بر قارچ‌های عامل فساد و پوسیدگی توت‌فرنگی در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. علاوه براین، مقدار فنول و فلاونوئید کل و همچنین پتانسیل آنتی‌اکسیدانی اسانس نعناع سبز نیز بررسی شد.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی و محیط‌های کشت میکروبی

بتا-کاروتن، لینولئیک اسید، معرف فولین-سیوکالتو، گالیک اسید، کوئرستین و رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS از شرکت سیگما (آمریکا) خریداری شدند. محیط‌های کشت میکروبی سابروز دکستروز آگار و سابروز دکستروز براث از شرکت مرک (آلمان) تهیه شدند. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش از درجه آزمایشگاهی برخوردار بودند.

سویه‌های میکروبی

سویه‌های میکروبی *بوتریتیس سینه‌را*[6] (ATCC 28387)، *آسپرژیلوس نایجر*[7] (PTCC 5010) و *رایزوپوس استولونیفر*[8] (ATCC 14037) از آزمایشگاه میکروبیولوژی

[1] Benomyl
[2] Tiabendazole
[3] o-phenylphenate
[4] Imazalil

[5] Carvon
[6] *Botrytis cinerea*
[7] *Aspergillus niger*
[8] *Rhizopus stolonifer*

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

صنعتی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شدند.

جمع‌آوری گیاه نعناع سبز و استخراج اسانس آن

گیاه نعناع سبز از شهرستان اهواز (خوزستان، ایران) خریداری و بعد از تأیید نام علمی آن، عمل اسانس گیری توسط دستگاه کلونجر که بر پایه تقطیر با آب استوار است، انجام شد. ابتدا گیاه موردنظر آسیاب شد و سپس به‌منظور به‌دست آوردن ذرات با اندازه یکسان از الک عبور داده شد. در ادامه، ۵۰ g از پودر نعناع سبز به دستگاه کلونجر منتقل و ۷۵۰ ml آب مقطر به آن اضافه شد. عمل اسانس گیری بعد از ۳ h تکمیل شد. پس از استخراج، اسانس توسط سولفات سدیم بدون آب آبگیری شده و اسانس حاصله در ظروف تیره‌رنگ و در دمای ۴ °C نگهداری شد (۷ و ۸).

تعیین محتوای فنول کل

در این روش به‌طور خلاصه، ۵۰۰ µl اسانس با ۲/۵ ml محلول فنول (۱۰ ٪) مخلوط و محلول به‌دست آمده به مدت ۱۰ min در مکان تاریک و در دمای اتاق نگهداری شد. سپس، ۲ ml از محلول کربنات سدیم (۷ ٪) اضافه شد و نمونه به مدت ۹۰ min نگهداری شد. جذب محلول در طول‌موج ۷۶۵ nm اندازه‌گیری و مقدار فنول کل اسانس با کمک منحنی استاندارد گالیک اسید محاسبه شد و برحسب میلی‌گرم گالیک اسید در گرم (mg GAE/g) اسانس گزارش شد (۹).

تعیین محتوای فلاونوئید کل

مقدار فلاونوئید کل اسانس نعناع سبز مطابق روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد. برای این هدف، ۵۰۰ µl از اسانس با ۵۰۰ µl از محلول ۲ ٪ متانولی آلومینیوم کلرید مخلوط و محلول حاصله به مدت ۱۵ min در دمای اتاق نگهداری شد. مقدار فلاونوئید کل با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین (۰/۵ mg/ml – ۰) محاسبه و برحسب میلی‌گرم کوئرستین در گرم اسانس (mg QE/g) گزارش شد (۱۰).

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس نعناع سبز

فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

از روش داسیلوا راموس[1] و همکاران (۱۱) با کمی اصلاحات جهت بررسی ظرفیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH اسانس نعناع سبز استفاده شد. ابتدا محلول متانولی رادیکال آزاد DPPH (۴۰ µg/ml) تهیه و سپس ۲/۷ ml از آن با ۳۰۰ µl اسانس یا متانول (کنترل) مخلوط شد. بعد از این مرحله، مخلوط به مدت ۳۰ min در مکان تاریک و در دمای محیط نگهداری و جذب آن (A) در طول‌موج ۵۱۷ nm ثبت شد. فعالیت مهارکنندگی اسانس در برابر رادیکال آزاد DPPH مطابق فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH (٪)} = [(A_{\text{کنترل}} - A_{\text{نمونه}}) / A_{\text{کنترل}}] \times ۱۰۰$$

فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS

فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد ABTS اسانس نعناع سبز مطابق روش پادماکوماری[2] و همکاران (۱۲) با کمی تغییرات بررسی شد. محلول کاتیون رادیکال ABTS ($ABTS^{+\bullet}$) از طریق واکنش محلول استوک ABTS ۷ mM با محلول ۲/۴۵ mM پتاسیم پرسولفات تهیه شد و سپس قبل از استفاده به مدت ۶ h در دمای اتاق و تاریکی نگهداری شد. محلول $ABTS^{+\bullet}$ سپس تا رسیدن به جذب ۰/۷ در طول‌موج ۷۳۴ nm رقیق شد. در ادامه ۱۰۰ µl از اسانس یا کنترل (متانول) با ۸۰۰ µl محلول $ABTS^{+\bullet}$ مخلوط و جذب آن بعد از ۷ min گرمخانه‌گذاری قرائت شد. فعالیت مهارکنندگی اسانس نعناع سبز در برابر رادیکال آزاد ABTS بصورت زیر محاسبه شد:

$$\text{فعالیت مهارکنندگی رادیکال ABTS (٪)} = [(A_{\text{کنترل}} - A_{\text{نمونه}}) / A_{\text{کنترل}}] \times ۱۰۰$$

روش رنگبری بتا-کاروتن/لینولئیک اسید

به‌طور خلاصه در این روش، ۲۰ µl از محلول بتا-کاروتن (۲۰ mg/ml در کلروفرم) به ۴۰ µl لینولئیک اسید، ۴۰۰ mg توئین ۴۰ و ۱ ml کلروفرم اضافه شد. سپس مخلوط

[1] da Silva Ramos

[2] Padmakumari

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

در دمای ۴۵ °C به مدت ۵ min و به‌منظور حذف کلروفرم، تبخیر و بلافاصله با ۱۰۰ ml آب مقطر رقیق شد. آب مقطر به آرامی به مخلوط اضافه شد و سپس مخلوط جهت تهیه امولسیون همزده شد. در ادامه، ۲/۵ ml از امولسیون به لوله آزمایش حاوی ۳۵۰ µl اسانس نعناع سبز منتقل شد. لوله آزمایش در دمای ۵۰ °C به مدت ۲ h حرارت داده شد و سپس جذب محلول (A) هر ۳۰ min یکبار در طول‌موج nm ۴۷۰ و در برابر شاهد (امولسیون فاقد بتا-کاروتن) ثبت شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی بصورت درصد بازداری اکسایش بتا-کاروتن و بصورت زیر اندازه‌گیری شد (۱۳):

$$\text{درصد بازداری (٪)} = [(A_{\text{شاهد}} - A_{\text{نمونه}})/A_{\text{شاهد}}] \times 100$$

بررسی فعالیت ضدقارچی اسانس نعناع سبز

دیسک دیفیوژن آگار

جهت بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس در برابر سویه‌های قارچی مولد فساد و پوسیدگی توت‌فرنگی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن آگار، ابتدا دیسک کاغذی بلانک (قطر ۶/۲ mm) با اسانس نعناع سبز (۲۰ µl) استریل آغشته شد و سپس به روی سطح محیط کشت سابروز دکستروز آگار حاوی سویه‌های قارچی منتقل شد. پتری دیش (حاوی سویه قارچی و اسانس) در دمای ۲۷ °C به مدت ۷۲ h گرمخانه گذاری شد و قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک توسط خط کش اندازه‌گیری و به‌عنوان فعالیت ضد میکروبی اسانس ثبت شد (۱۴).

انتشار چاهک در آگار

این روش ضدمیکروبی دارای اصول مشابهی با روش دیسک دیفیوژن آگار می‌باشد. بدین صورت که ابتدا چاهک‌هایی سطحی و با قطر مشابه در محیط کشت سابروز دکستروز آگار ایجاد و سپس سویه‌های قارچی روی محیط کشت داده شدند. در ادامه، ۲۰ µl اسانس استریل در هر یک از چاهک‌ها ریخته شد و محیط کشت به مدت ۷۲ h در دمای ۲۷ °C گرمخانه گذاری شد. هاله عدم رشد اطراف چاهک توسط خط کش اندازه‌گیری و به‌عنوان فعالیت ضدمیکروبی اسانس گزارش شد (۱۵).

حداقل غلظت مهارکنندگی[1]

از روش رقیق‌سازی در مایع مطابق روش علیزاده بهبهانی و همکاران (۷) با کمی اصلاحات جهت تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس استفاده شد. در این آزمون، غلظت‌های مختلف اسانس (با رقت‌های متوالی) به لوله‌های آزمایش ۱۰ ml حاوی سوسپانسیون میکروبی (در محیط کشت سابروز دکستروز براث) منتقل شد. سپس لوله‌های آزمایش به مدت ۷۲ h در دمای ۲۷ °C گرمخانه گذاری شدند. بعد از ۷۲ h، ظاهر شدن کدورت در لوله آزمایش بیانگر رشد میکروبی می‌باشد. اولین غلظتی از اسانس که سبب جلوگیری از کدورت شد، به‌عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی آن گزارش شد.

حداقل غلظت کشندگی[2]

جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی اسانس، از محتوای لوله آزمایشی (در آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی) که فاقد کدورت بود، بر پلیت حاوی محیط کشت سابروز دکستروز آگار کشت داده شد. گرمخانه گذاری مطابق شرایط فوق انجام شد و اولین غلظتی از اسانس نعناع سبز که فاقد کلنی میکروبی بود به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی آن در نظر گرفته شد (۱۶).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ و آزمون واریانس یک‌طرفه جهت آنالیز داده‌های حاصل از این پژوهش استفاده شد. آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ ٪ برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد. لازم به ذکر است که آزمون‌ها حداقل در ۳ تکرار انجام شدند.

نتایج

فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنول و فلاونوئید کل

[1] Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

[2] Minimum Fungicidal Concentration

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

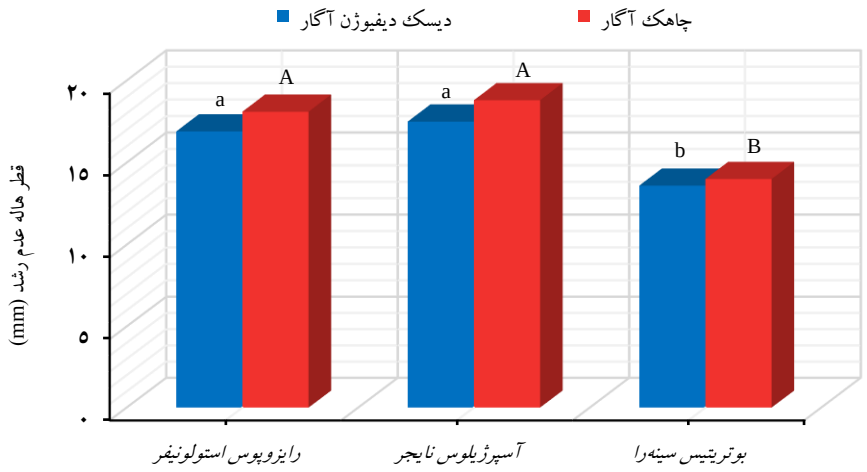
میزان فنول کل اسانس با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید محاسبه شد که بر این اساس میزان فنول کل mg GAE/g ۵۵/۱۵ به‌دست آمد. همچنین، میزان فلاونوئید موجود در اسانس نعناع سبز بر حسب میلی‌گرم کوئرستین در گرم اسانس (mg QE/g) ۲۹/۲۵ بود (جدول ۱).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس نعناع سبز بر اساس IC_{50} روش‌های فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH، فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS و رنگبری بتا-کاروتن/ لینولئیک اسید اندازه‌گیری شد (جدول ۱). نتایج حاصل برای فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH برابر با µg/ml ۲۳/۳۵، برای فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS برابر با µg/ml ۱۹/۸۰ و برای رنگبری بتا-کاروتن/ لینولئیک اسید برابر با µg/ml ۲۷/۱۱ بود که فعالیت آنتی‌اکسیدانی مناسب اسانس نعناع سبز را بازگو می‌کند.

جدول ۱. محتوای فنول کل ، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس نعناع سبز

فنول کل (mg GAE/g)	فلاونوئید کل (mg QE/g)	فعالیت آنتی اکسیدانی بر حسب IC_{50} (µg/ml)		
		مهار رادیکال DPPH	مهار رادیکال ABTS	بتا-کاروتن/ لینولئیک اسید
۵۵/۱۵±۰/۳۷	۲۹/۲۵±۰/۳۰	۲۳/۳۵±۰/۲۹	۱۹/۸۰±۰/۱۸	۲۷/۱۱±۰/۳۲

نتایج به‌صورت "انحراف معیار ± میانگین" سه تکرار(n=۳) گزارش شده‌اند.



شکل ۱. میانگین قطر هاله عدم رشد (mm) اسانس نعناع سبز بر سویه‌های عامل فساد میوه توت‌فرنگی به روش‌های دیسک دیفیوژن آگار و چاهک آگار بر حسب mm (حروف غیر مشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ ٪ می‌باشد).

جدول ۲. تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی اسانس نعناع سبز بر سویه‌های عامل فساد میوه توت‌فرنگی

قارچ	حداقل غلظت مهارکنندگی (mg/ml)	حداقل غلظت کشندگی (mg/ml)
رایزوپوس استولونیفر	۲۵	۱۰۰
آسپرژیلوس نایجر	۱۲/۵	۱۰۰
بوتریتیس سینه‌را	۵۰	۲۰۰

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

فعالیت ضدقارچی

در بررسی اثر ضدقارچی اسانس نعناع سبز با استفاده از روش دیسک دیفیوژن آگار *آسپرژیلوس نایجر* با بیشترین قطر هاله عدم رشد، کمترین میزان مقاومت و *بوتریتیس سینه‌را* با کمترین قطر هاله عدم رشد، بیشترین میزان مقاومت را در برابر اسانس نشان دادند (شکل ۱). همچنین، در روش انتشار چاهک در آگار کمترین و بیشترین میزان مقاومت به ترتیب در *آسپرژیلوس نایجر* و *بوتریتیس سینه‌را* مشاهده شد. نتایج حاصل از حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس در جدول ۲ نشان داده است. حداقل غلظت مهارکنندگی برای *بوتریتیس سینه‌را* برابر با ۵۰ mg/ml، برای *رایزوپوس استولونیفر* برابر با ۲۵ mg/ml و برای *آسپرژیلوس نایجر* برابر با ۱۲/۵ mg/ml بود. همچنین مشخص شد که حداقل غلظت کشندگی برای *بوتریتیس سینه‌را* برابر با ۲۰۰ mg/ml و برای *رایزوپوس استولونیفر* و *آسپرژیلوس نایجر* برابر با ۱۰۰ mg/ml بود.

بحث

آنتی‌اکسیدان‌ها نقش اساسی در درمان بیماری‌ها دارند. فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی منابع طبیعی آنتی‌اکسیدانی موجود در گیاهان می‌باشند (۱۷ و ۱۸). کاتچین، اپی کاتچین، روتین، میریستین، لوتئین، آپیژنین و نارنجنین از مهمترین ترکیبات فلاونوئیدی و اریوسیترین، لوتولین، رزماریک اسید و کافئیک اسید از مهمترین ترکیبات فنولی موجود در گیاه نعناع سبز می‌باشند (۱۷ و ۱۹). سابا[1] و همکاران (۲۰۱۸) میزان فنول و فلاونوئید کل موجود در اسانس گیاه نعناع سبز مناطق مختلف آب و هوایی را به ترتیب ۳۸/۱۹ mg GAE/g- ۳۱/۲۱ و ۱۴/۸۸ mg QE/g- ۸/۷۶ گزارش کردند (۲۰). در حالیکه در پژوهش دیفی[2] و همکاران (۲۰۱۳) میزان فنول اسانس این گیاه ۱۰/۳۸ mg GAE/g و میزان فلاونوئید آن ۳۸/۴ mg QE/g گزارش شده است (۱۹). تفاوت در میزان فنول و فلاونوئید در این مطالعه با سایر پژوهش‌های انجام شده به شرایط آب و هوایی و جغرافیایی محل رشد گیاه مثل میزان آب، نوع خاک و ارتفاع محیط و همچنین روش‌های مختلف اندازه‌گیری این دو ترکیب وابسته می‌باشد (۲۱).

از آنجایی که ترکیبات فنولی نقش اساسی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان معطر ایفا می‌کنند (۲۲)، بنابراین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای اسانس گیاه نعناع سبز به میزان بالای فنول و فلاونوئید موجود در اسانس نسبت داده می‌شود. در روش مهار رادیکال آزاد DPPH، توانایی اسانس در تبدیل رادیکال آزاد DPPH به فرم احیا شده آن یعنی DPPH-H بررسی می‌شود (۲۰). اسانس گونه‌های مختلف نعناع منابع بالقوه‌ای از مهارکننده‌های رادیکال آزاد DPPH می‌باشند. به عنوان مثال گولاس[3] و همکاران (۲۰۰۷) بیان کردند که اسانس *M. longifolia* فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH خوبی را نشان می‌دهد (۲۳). دورمان[4] و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که در گونه‌های مختلف نعناع مانند نعناع فلفلی، دالماتیکا[5] و نعناع سبز قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH متفاوت بوده و نعناع فلفلی دارای بیشترین میزان فعالیت و پس از آن دالماتیکا و نعناع سبز قرار دارند (۲۴). ترکیبات فنولی موجود در گیاه نعناع سبز از توانایی بالایی در اهدا هیدروژن برخوردار بوده و خواص ساختاری ایده‌آل آن‌ها برای اصلاح فعالیت رادیکال‌های آزاد، این ترکیبات را به آنتی‌اکسیدان‌های خوبی تبدیل کرده است (۲۵).

آزمون مهار رادیکال ABTS بر پایه اکسیداسیون مستقیم ABTS توسط پتاسیم پرسولفات و تولید رادیکال کاتیونی پایدار ABTS می‌باشد. رنگ آبی- سبز محلول رادیکال کاتیونی در حضور آنتی‌اکسیدان‌ها کاهش یافته و این کاهش (احیاء شدن) در طول‌موج ۷۳۴ nm اندازه‌گیری می‌شود. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با احیای مستقیم رادیکال‌های ABTS از طریق انتقال الکترون و خنثی‌سازی رادیکال با انتقال اتم هیدروژن قادر به مهار رادیکال‌های ABTS می‌باشند (۲۶). قدرت بالای مهار رادیکال ABTS

[1] Saba
[2] Dhifi
[3] Gulluce
[4] Dorman
[5] Dalmatica

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

توسط انواع گونه‌های نعناع از جمله نعناع سبز در این پژوهش نشان از فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیب می‌باشد. یانگ[1] و همکاران (۲۰۱۰)، ترکیبات شیمیایی اسانس گیاهان مختلف از جمله نعناع فلفلی، اکلیل کوهی (رزماری) و گریپ‌فروت را شناسایی و فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS هر یک از آن‌ها را بررسی کردند. بالاترین میزان فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS در نعناع فلفلی (۱/۶ ٪) مشاهده شد (۲۷). خادم[2] و همکاران (۲۰۰۹) تفاوت در میزان فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS اسانس گونه‌های مختلف نعناع را به دلیل مقادیر مختلف ترکیبات فنولی موجود در هر یک از این گونه‌ها گزارش کرده‌اند (۲۸).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس نعناع سبز با روش رنگبری بتا-کاروتن نیز اندازه‌گیری شد. رنگبری بتا-کاروتن بر اساس از بین رفتن رنگ زرد بتا-کاروتن در نتیجه واکنش با رادیکال‌های تولیدی در اثر اکسیداسیون لینولئیک اسید می‌باشد (۲۹). پراکسیدهای تولیدی Fe^{+2} را به Fe^{+3} اکسید می‌کند. سپس، Fe^{+3} با SCN^{-} تشکیل کمپلکس می‌دهد و غلظت آن از طریق جذب اندازه‌گیری می‌شود. جذب بالا نشان دهنده تولید مقادیر زیادی پراکسید و جذب پایین نشان از تولید آنتی‌اکسیدان‌ها در طول واکنش می‌باشد (۳۰). فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای اسانس و عصاره گیاه نعناع سبز در مطالعات مختلف گزارش شده است (۳۰). در مطالعه ماتا[3] و همکاران (۲۰۰۹) فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه نعناع سبز کمتر از گیاه رزماری و بیشتر از گیاه نعناع پونه گزارش شده است (۳۱). اسنوزی و همکاران (۲۰۱۵) فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس نعناع سبز را به روش‌های مختلفی اندازه‌گیری و میزان رنگبری بتا- کاروتن را ۶/۴ µg/ml گزارش کردند (۶). مارتینز[4] و همکاران (۲۰۱۲) ترکیبات شیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گونه‌های مختلف نعناع را بررسی کردند و میزان رنگبری بتا-کاروتن را ۱۴/۹ ٪ گزارش کردند. آن‌ها میزان بالای فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس را به وجود ترکیبات فنولی و ترکیباتی مانند کاروون و لیمونن نسبت داده‌اند (۳۲). فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای اسانس نعناع سبز ناشی از قابلیت اهداء الکترون یا اتم هیدروژن ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی آن می‌باشد؛ اگرچه، غلظت این ترکیبات و همچنین شرایط استخراج اسانس در فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن موثر می‌باشند.

اثر ضدمیکروبی اسانس نعناع سبز و سایر گونه‌های نعناع در پژوهش‌های مختلف بررسی شده است (۵ و ۶). به عنوان مثال، هادیان[5] و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که برخی از اسانس‌های گیاهان دارویی از جمله نعناع فلفلی دارای اثر ضدقارچی بر قارچ‌های آلوده کننده توت‌فرنگی از جمله *بوتریتیس سینه‌را*، *آسپرژیلوس نایجر* و *رایزوپوس* می‌باشند (۳۳). همچنین اثر ضدقارچی اسانس‌های گیاه نعناع ذرتی (وحشی) و زنجبیل گزارش شده است (۳۴). در پژوهشی دیگر اثر ضدباکتریایی و ضدقارچی اسانس گیاهان نعناع، پونه و *Mentha viridis* بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و قارچ‌هایی مانند *موکور رامانیانوس* و *آسپرژیلوس اوکراسئوس* بررسی و قطر هاله‌های ایجاد شده توسط این اسانس‌ها برای *موکور رامانیانوس* mm ۴۰-۳۵ و برای *آسپرژیلوس اوکراسئوس* mm ۳۲ - ۴۳ گزارش شده است. اثر ضد قارچی اسانس‌ها ممکن است به دلیل هم‌افزایی بین اجزای آن‌ها باشد. بنابراین، احتمال ایجاد نژادهای مقاوم قارچ پس از استفاده از اسانس‌ها در میوه و سبزیجات ناچیز خواهد بود (۳۵). فعالیت ضدقارچی بالای اسانس نعناع سبز می‌تواند ناشی از ترکیبات فرار ضدقارچی و بخارات آن باشد که منجر به کاهش جوانه‌زنی کنیدی و در نهایت مرگ قارچ می‌شوند (۳۶). همچنین، ترکیبات فنولی موجود در اسانس‌های گیاهی قادر به ایجاد صدمات شدید به غشای میکروارگانیسم از طریق اختلالات مستقیم و متابولیکی می‌باشند. تغییر عملکرد طبیعی میتوکندری، ممانعت از سنتز ATP در میتوکندری و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در سلول نیز به‌عنوان مکانیسم‌های ضدقارچی اسانس‌ها گزارش شده‌اند که در نهایت منجر به آپوپتوزیس[6] سلول می‌شوند

[1] Yang
[2] Mkaddem
[3] Mata
[4] Martins
[5] Hadian
[6] Apoptosis

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

(۳۷). علاوه براین، گزارش شده است که اسانس‌های گیاهی اثر ضدقارچی خود را به‌طور مستقیم از طریق جذب بخار اسانس و یا به‌طور غیر مستقیم از طریق محیط کشتی که اسانس را جذب کرده است، نشان می‌دهند. با توجه به اینکه قارچ‌ها عمدتاً در سطح محیط کشت رشد می‌کنند، بنابراین نسبت به اثر مستقیم اسانس‌های گیاهی حساس‌تر می‌باشند (۱۴).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که اسانس نعناع سبز دارای محتوای فنول و فلاونوئید کل و متعاقباً فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجهی است. علاوه براین، رشد سویه‌های مولد فساد و پوسیدگی میوه توت‌فرنگی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر اسانس نعناع سبز قرار گرفت و *آسپرژیلوس نایجر* حساس‌ترین و *بوتریتیس سینه‌را* مقاوم‌ترین سویه‌ها نسبت به اسانس بودند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدقارچی اسانس نعناع سبز بدلیل حضور ترکیبات زیست فعال مختلف در آن می‌باشد. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، می‌توان اسانس نعناع سبز را به‌عنوان ترکیب آنتی‌اکسیدان طبیعی جهت کنترل واکنش اکسیداسیون و به‌عنوان ترکیب ضدمیکروب برای کنترل رشد قارچ‌های مولد فساد بسیاری از محصولات غذایی مورد استفاده قرار داد.

تقدیر و تشکر

مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی با کد ۹۹۱/۱۱ می‌باشد، لذا 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.

منابع

۱. نوروزی فاز ف، میردهقان س، کریمی ح، علایی ح. تأثیر اسانس‌های تیمول و منتول به همراه بسته بندی با پوشش سلوفان در حفظ کیفیت پس از برداشت میوۀ توتفرنگی رقم پاروس. علوم باغبانی ایران. ۱۳۹۵؛ ۷۴(۱): ۸۱-۹۱.

۲. علیزاده ح، فرزانه م، اعظمی ذ. تأثیر نانو امولسیون اسانس دارچین در کاهش پوسیدگی های پس از برداشت میوۀ توت‌فرنگی. کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی. ۱۳۹۴؛ ۴(۱): ۵۷-۶۴.

۳. رستگار س، طهماسبی س. استفاده از اسانس گل راعی، مورخوش و سالویا در جلوگیری از رشد قارچ بوتریتیس سینرر در دو رقم میوه توت‌فرنگی. نشریه ی نوآوری در علوم و فناوری غذایی. ۱۳۹۷؛ ۱۰(۳): ۸۳-۹۴.

۴. بهداد م، اعتمادی ن، بهداد ا، زینلی ح. بررسی اثر ضدقارچی اسانس چند گیاه دارویی در کنترل قارچ *Rhizopus stolonifer* عامل پوسیدگی نرم روی میوه توتفرنگی. فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۱۳۹۲؛ ۲۹(۲): ۳۹۹-۴۱۱.

۵. زارع بیدکی م، عرب م، خزاعی م، افکار ا. ۱۳۹۳. اثر ضدباکتریایی اسانس نعناع سبز (*Mentha spicata* L.) بر هشت گونه باکتری بیماریزای مهم دستگاه گوارش. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۹۳؛۲۱(۳): ۲۷۴-۲۸۲.

6. Snoussi M, Noumi E, Trabelsi N, Flamini G, Papetti A, and De Feo V. *Mentha spicata* essential oil: chemical composition, antioxidant and antibacterial activities against planktonic and biofilm cultures of Vibrio spp. strains. *Molecules*, 2015; *20*(8): 14402-14424.

۷. علیزاده بهبهانی ب، نوشاد م، فلاح ف. بررسی فعالیت ضدمیکروبی اسانس رازیانه بر تعدادی از ریزاندامگان عامل عفونت و مسمومیت غذایی و برهمکنش آن با آنتیبیوتیک کانامایسین. علوم و صنایع غذایی. ۱۳۹۸؛ ۹۱(۱۶): ۲۳۳-۲۴۱.

8. Behbahani BA, Yazdi FT, Shahidi F, Mortazavi SA, and Mohebbi M. Principle component analysis (PCA) for investigation of relationship between population dynamics of microbial pathogenesis, chemical and sensory characteristics in beef slices containing Tarragon essential oil. *Microbial pathogenesis*. 2017; *105*: 37-50.

۹. علیزاده بهبهانی ب، فلاح ف، وسیعی ع، طباطبایی یزدی ف، مرتضوی ع. اثر ضد میکروبی اسانس بهار نارنج بر تعدادی از ریزاندامگان بیماریزا با منشاء غذایی و تعیین ترکیبات شیمیایی، فنل کل، فلاونوئید و پتانسیل

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

آنتی‌اکسیدانی آن. علوم و صنایع غذایی. ۱۳۹۸؛ ۸۷(۱۶): ۲۷۵-۲۸۸.

10. Moosavy MH, Hassanzadeh P, Mohammadzadeh E, Mahmoudi R, Khatibi SA, and Mardani K. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of Lemon (Citrus limon) peel in vitro and in a food model. *Journal of food quality and hazards control*. 2017; *4*(2): 42-48.

11. da Silva Ramos R, Rodrigues ABL, Farias ALF, Simões RC, Pinheiro MT, Ferreira R, et al. Chemical composition and in vitro antioxidant, cytotoxic, antimicrobial, and larvicidal activities of the essential oil of *Mentha piperita* L.(Lamiaceae). *The Scientific World Journal*. 2017; 4927214.

12. Padmakumari KP, Sasidharan I, and Sreekumar MM. Composition and antioxidant activity of essential oil of pimento (*Pimenta dioica* (L) Merr.) from Jamaica. *Natural product research*. 2011; *25*(2): 152-160.

13. Lee WC, Mahmud R, Pillai S, Perumal S, and Ismail S. Antioxidant activities of essential oil of *Psidium guajava* L. leaves. *APCBEE Procedia*. 2012; *2*: 86-91.

14. Behbahani BA, Shahidi F, Yazdi FT, Mortazavi SA, and Mohebbi M. Use of Plantago major seed mucilage as a novel edible coating incorporated with Anethum graveolens essential oil on shelf life extension of beef in refrigerated storage. *International journal of biological macromolecules*. 2017; *94*: 515-526.

۱۵. طباطبایی یزدی ف، علیزاده بهبهانی ب، وسیعی ع، روشنک س، مرتضوی ع. تولید پوشش خوراکی ضد میکروبی بر پایه موسیلاژ دانه بارهنگ کبیر در ترکیب با اسانس گلپر: بررسی ویژگیها و کاربرد آن در گوشت گاو نگهداری شده در دمای یخچال. فصلنامه میکروبیولوژی کاربردی در صنایع غذایی. ۱۳۹۷؛ ۳(۳): ۱-۲۱.

16. Alizadeh Behbahani B, and Imani Fooladi AA. Development of a novel edible coating made by Balangu seed mucilage and Feverfew essential oil and investigation of its effect on the shelf life of beef slices during refrigerated storage through intelligent modeling. *Journal of food safety*. 2018; *38*(3): e12443.

17. Scherer R, Lemos MF, Lemos MF, Martinelli GC, Martins JD, and da Silva AG. Antioxidant and antibacterial activities and composition of Brazilian spearmint (Mentha spicata L.). Industrial crops and products. 2013; 50: 408-413.

18. Hosseinimehr SJ, Pourmorad F, Shahabimajd N, Shahrbandy K, and Hosseinzadeh R. In vitro antioxidant activity of Polygonium hyrcanicum, Centaurea depressa, Sambucus ebulus, Mentha spicata and Phytolacca americana. Pakistan Journal of Biological Sciences. 2007; 10(4): 637-640.

19. Dhifi W, Jelali N, Mnif W, Litaiem M, and Hamdi N. Chemical composition of the essential oil of Mentha spicata L. from Tunisia and its biological activities. Journal of Food Biochemistry. 2013; 37(3): 362-8.

20. Saba I, and Anwar F. Effect of Harvesting Regions on Physico-chemical and Biological Attributes of Supercritical Fluid-Extracted Spearmint (Mentha spicata L.) Leaves Essential Oil. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 2018; 21(2): 400-419.

21. Barzegar H, Behbahani BA, and Mehrnia MA. 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*. 2020; 29: 717–728.

22. Zaidi S, and Dahiya P. In vitro antimicrobial activity, phytochemical analysis and total phenolic content of essential oil from Mentha spicata and Mentha piperita. International Food Research Journal. 2015; 22(6): 2440.

23. Gulluce M, Sahin F, Sokmen MU, Ozer H, Daferera D, Sokmen AT, Polissiou M, Adiguzel A, and Ozkan H. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from Mentha longifolia L. ssp. longifolia. Food chemistry. 2007; 103(4): 1449-1456.

24. Dorman HD, Koşar M, Kahlos K, Holm Y, and Hiltunen R. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from Mentha species, hybrids, varieties, and cultivars. Journal of agricultural and food chemistry. 2003; 51(16): 4563-4569.

25. Kanatt SR, Chander R, and Sharma A. Antioxidant potential of mint (Mentha spicata L.) in radiation-processed lamb meat. Food Chemistry. 2007; 100(2): 451-458.

26. Nooshkam M, Varidi M, and Bashash M. The Maillard reaction products as food-born antioxidant and antibrowning agents in model and real food systems. Food chemistry. 2019; 275: 644-60.

27. Yang SA, Jeon SK, Lee EJ, Shim CH, and Lee IS. Comparative study of the chemical composition and antioxidant activity of six essential oils and their components. Natural Product Research. 2010; 24(2): 140-151.

28. Mkaddem M, Bouajila J, Ennajar M, Lebrihi A, Mathieu F, and Romdhane M. Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of Mentha (longifolia L. and viridis) essential oils. Journal of food science. 2009; 74(7): M358-363.

29. Shahsavari N, Barzegar M, Sahari MA, and Naghdibadi H. Antioxidant activity and chemical characterization of essential oil of Bunium

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

persicum. Plant foods for human nutrition. 2008; 63(4): 183-188.
30. Hussain AI, Anwar F, Shahid M, Ashraf M, and Przybylski R. Chemical composition, and antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of spearmint (Mentha spicata L.) from Pakistan. Journal of Essential Oil Research. 2010; 22(1): 78-84.
31. Mata AT, Proença C, Ferreira AR, Serralheiro ML, Nogueira JM, and Araújo ME. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. Food chemistry. 2007; 103(3): 778-786.
32. Martins MR, Tinoco MT, Almeida AS, and Cruz-Morais J. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of three essential oils from Portuguese flora. 2012; 3(1): 39-44.
33. Hadian J, Ghasemnezhad M, Ranjbar H, Frazane M, and Ghorbanpour M. Antifungal potency of some essential oils in control of postharvest decay of strawberry caused by Botrytis cinerea, Rhizopus stolonifer and Aspergillus niger. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2008; *11*(5): 553-562.
34. Tripathi P. *Evaluation of some plant products against fungi causing postharvest diseases of some fruits* (Doctoral dissertation, Ph. D. thesis, Department of Botany, Banaras Hindu University). 2001.
35. Tripathi P, and Dubey NK. Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. Postharvest biology and Technology. 2004; 32(3): 235-245.
36. Reddy MB, Angers P, Gosselin A, and Arul J. Characterization and use of essential oil from Thymus vulgaris against Botrytis cinerea and Rhizopus stolonifer in strawberry fruits. *Phytochemistry*. 1998; *47*(8): 1515-1520.
37. Farzaneh M, Kiani H, Sharifi R, Reisi M, and Hadian J. Chemical composition and antifungal effects of three species of Satureja (S. hortensis, S. spicigera, and S. khuzistanica) essential oils on the main pathogens of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 2015; *109*: 145-151.

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

Evaluation of total phenols and flavonoids, antioxidant power, and antifungal effect of *Mentha spicata* essential oil against species causing strawberry's rot

Mostafa Rahmati-Joneidabad[1*], Behrooz Alizadeh Behbahani[2], Mohammad Noshad[2]

[1] Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
[2] Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

Abstract

This study was aimed to investigate the total phenols and flavonoids content, antioxidant activity, and antifungal effect of *Mentha spicata* essential oil on fungi species causing strawberry's rot (*Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, and *Rhizopus stolonifer*). For these purposes, the essential oil of *M. spicata* was firstly extracted by the Clevenger apparatus. The *M. spicata* essential oil contained 55.15 mg GAE/g total phenols and 29.25 mg QE/g total flavonoids, which show an important role in its antioxidant and antifungal activities. The antioxidant activity (IC_{50}) of the essential oil was found to be 23.35, 19.80, and 27.11 µg/ml, respectively, based on the DPPH radical scavenging, ABTS radical scavenging, and beta-carotene/linoleic acid assays. The antimicrobial tests (disk diffusion agar, well diffusion agar, minimum inhibitory concentration, and minimum fungicidal concentration) showed that the essential oil of *M. spicata* had a potentially high antifungal activity; *Aspergillus niger* and *Botrytis cinerea* were the most sensitive and resistant fungi species to the essential oil. The minimum inhibitory concentration for *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, and *Rhizopus stolonifer* was 12.5, 50 and 25 mg/mL, respectively. The minimum fungicidal concentration for *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, and *Rhizopus stolonifer* was 100, 200 and 100 mg/mL, respectively. Based on the results, the *M. spicata* essential oil can be used as an antioxidant and antimicrobial agent in food products.

Keywords: Antifungal effect, Essential oil, Antioxidant activity, *Mentha spicata*.

* Rahmati@asnrukh.ac.ir

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]