مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی ویژگی های شیمیایی و فعالیت ضدباکتریایی اسانس شاهسپران: مطالعه در شرایط برون تنی

بهروز علیزاده بهبهانی[*1]، محمد نوشاد[1]، حسن برزگر[1]

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

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱/۲۱

کلمات کلیدی:

اسانس؛

شاهسپران؛

اثر ضدمیکروبی؛

فعالیت آنتی‌اکسیدانی؛

ترکیبات فنولی

DOI:10.22034/FSCT.21.151.197.

* مسئول مکاتبات:

B.alizade@asnrukh.ac.ir

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی ترکیبات شیمیایی، اثر آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدمیکروبی اسانس شاهسپران انجام شد. اسانس شاهسپران با کمک روش تقطیر با آب استخراج شد و سپس محتوای فنول کل (روش فولین سیوکالتو)، فلاونوئید کل (روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید)، اثر آنتی‌اکسیدانی (با استفاده از روش‌های مهار رادیکال آزاد DPPH و ABTS) و ضدمیکروبی (مطابق روش‌های دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی) اسانس ارزیابی گردید. محتوای فنول و فلاونوئید کل اسانس به ترتیب برابر با ۲۹/۵۰ میلی‌گرم گالیک اسید و ۱۴/۹۰ میلی‌گرم کوئرستین در گرم بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس قابل‌توجه بود و به ترتیب قادر به مهار ۵۰/۴۰ درصد و ۵۳/۵۵ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS بود. مطابق نتایج دیسک دیفیوژن آگار، *باسیلوس سوبتیلیس* و *سالمونلا تیفی* به ترتیب با قطر هاله عدم رشد ۱۶ و ۱۰/۵۰ میلی‌متر حساس‌ترین و مقاوم‌ترین سویه‌های باکتریایی نسبت به اسانس بودند. قطر هاله عدم رشد برای این باکتری‌ها در روش چاهک آگار به ترتیب ۱۶/۳۰ و ۱۰/۸۰ میلی‌متر بدست آمد. نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی رشد و حداقل غلظت کشندگی برای باکتری *باسیلوس سوبتیلیس* به ترتیب ۴ و ۳۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و برای باکتری *سالمونلا تیفی* به ترتیب ۶۴ و بزرگتر از ۵۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بدست آمد. مطابق نتایج، اسانس شاهسپران را می‌توان بعنوان عامل آنتی‌اکسیدان و ضد میکروب طبیعی در مواد غذایی استفاده نمود.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-14]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.151.208]

۱-مقدمه

بیماری‌های ناشی از غذا یک نگرانی مهم جهانی در سلامت عمومی است که ناشی از آلودگی میکروبی است. آلودگی میکروبی عامل اصلی بیماری‌های ناشی از غذا و کاهش کیفیت غذا است می‌باشد. برای جلوگیری از آلودگی میکروبی، معمولاً از مواد نگهدارنده مواد غذایی مصنوعی استفاده می‌شود. با این حال، استفاده از این مواد نگهدارنده مصنوعی خطراتی را برای سلامتی انسان به همراه دارد و در نتیجه عوارض نامطلوبی مانند سردرد، حالت تهوع، خستگی، اختلالات شناختی، تشنج، سرطان و از دست دادن اشتها به همراه دارد. علاوه بر این، نگرانی فزاینده‌ای در مورد ظهور میکروارگانیسم‌های مقاوم به دارو وجود دارد [۱-٤]. همچنین، صنایع غذایی از نگهدارنده های مواد غذایی مصنوعی برای جلوگیری از اکسیداسیون مواد غذایی بسته بندی شده استفاده می‌کنند. اما امروزه به دلیل اثرات نامطلوب ترکیبات مصنوعی بر سلامت و محیط زیست و مشکل روزافزون پیدایش سویه‌های مقاوم به چند دارو تمرکز صنایع غذایی به سمت استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی طبیعی استخراج شده از گیاهان به عنوان نگهدارنده معطوف شده است. نگهدارنده های طبیعی مواد غذایی ایمن، سازگار با محیط زیست و مقرون به صرفه هستند و برخلاف ترکیبات مصنوعی دارای طیف گسترده‌ای هستند. در بین محصولات طبیعی مختلف، اسانس‌ها بیشترین کاربرد را برای نگهداری مواد غذایی دارند [۵-۱۳].

اسانس‌ها مایعات معطر و فراری هستند که از قسمت‌های مختلف گیاه به عنوان متابولیت‌های ثانویه استخراج می‌شوند. متابولیت های ثانویه نقش‌های زیست محیطی و بیولوژیکی مهمی ایفا می‌کنند و برای دفاع گیاه مهم هستند زیرا اغلب دارای خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی هستند. اسانس‌ها برای قرن‌ها به طور گسترده در صنایع دارویی، کشاورزی، بهداشتی و آرایشی به کار گرفته شده‌اند و به عنوان ادویه یا گیاهان دارویی به غذاها اضافه شده‌اند. آنها از مواد گیاهی مانند گل، ریشه، پوست، دانه، پوست میوه و چوب استخراج می‌شوند [١٤].

گیاه شاهسپران (*Tanacetum balsamita* L.) به دلیل استفاده سنتی آن به عنوان طعم دهنده در کشورهای مدیترانه، بالکان و آمریکای جنوبی مشهور است. این گونه در جنوب شرقی اروپا و جنوب غربی آسیا پراکنده است، اما همچنین به طور گسترده در سراسر جهان وجود دارد. این گیاه در ایران، ترکیه، رومانی، آلمان، ایتالیا، اسپانیا و انگلستان کشت می‌شود و به عنوان گیاه معطر در اروپا و آسیا کاربرد سنتی دارد. برگ‌های تازه و خشک شده دارای طعم لیمویی-نعنایی قوی و طعم قابض شیرین هستند. برگ‌های خشک آن به‌عنوان طعم‌دهنده در سوپ‌ها و گوشت‌ها، سوسیس‌ها و کیک‌ها و همچنین برای تهیه چای مقوی سابقه‌ای طولانی دارد. برگ‌های شاهسپران به‌عنوان محافظ کبد، مقوی، آرام‌بخش، تسکین دهنده درد و قابض مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۱۵]. فعالیت ضد درد، ضدالتهابی، ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره شاهسپران نیز گزارش شده است [١٦-۱۸].

با توجه به استفاده گسترده از شاهسپران در داروهای ایرانی و سایر داروهای سنتی برای تسکین درد و التهاب و با توجه به محتوای بالای اسانس موجود در اندام هوایی گیاه شاهسپران، این مطالعه با هدف بررسی میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی اسانس این گیاه دارویی انجام گردید.

۲- مواد و روش‌ها

۲- ۱- مواد

مواد شیمیایی استفاده شده در این مطالعه از شرکت‌های معتبر مرک آلمان و سیگما آمریکا تهیه شدند.

۲- ۲- استخراج اسانس

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-14]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.151.208]

پس از تهیه گیاه و تأیید اسم علمی، اسانس گیری با استفاده از کلونجر و روش تقطیر با آب به مدت ۳ ساعت انجام شد. اسانس حاصل توسط سولفات سدیم آبگیری گردید و در شیشه تیره رنگ استریل تا زمان انجام آزمون‌های میکروبیولوژی و شیمیایی در یخچال (دمای ٤ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد [۱۹].

۲- ۳- فنول کل

از روش فولین سیوکالتو برای اندازه‌گیری میزان فنول کل اسانس استفاده شد. برای این منظور، ۰/۱ میلی‌لیتر اسانس یا محلول اسید گالیک (۰-۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با ۱ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتو ۱۰ درصد ترکیب و سپس ۰/۳ میلی‌لیتر Na_2CO_3 ۱۰ درصد به آن اضافه گردید. محلول به مدت ۲ ساعت در دمای محیط انکوبه شد و جذب آن در طول‌موج ۷۵٦ نانومتر ثبت شد. میزان فنول کل به صورت میلی‌گرم اسید گالیک در هر گرم اسانس بیان شد [۱].

۲- ٤- فلاونوئید کل

برای ارزیابی میزان فلاونوئید کل اسانس از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم استفاده شد. در این روش، ۰/۱ میلی‌لیتر اسانس یا محلول کوئرستین (۰-۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به ۳ میلی‌لیتر محلول ۵ درصد $NaNO_2$ اضافه شد. سپس محلول به‌دست‌آمده به مدت ۵ دقیقه مخلوط شد و ۰/۳ میلی‌لیتر $AlCl_3$ (۱۰ درصد وزنی/حجمی) به آن اضافه گردید. پس از افزودن ۲ میلی‌لیتر یک مولار NaOH، جذب در طول‌موج ۵۱۰ نانومتر خوانده شد و نتیجه فلاونوئید کل اساس به صورت میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم اسانس گزارش گردید [۱].

۲- ۵- فعالیت آنتی‌اکسیدانی

۲- ۵- ۱- مهار رادیکال DPPH

در این آزمون، ۳۷/۵ میکرولیتر از اسانس یا متانول (نمونه شاهد) با ۲ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH (۰/۰۰۰۱ مولار) مخلوط شد. نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شدند و سپس جذب آنها در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر در برابر متانول اندازه‌گیری شد. از معادله زیر برای محاسبه فعالیت مهار رادیکال DPPH اسانس استفاده شد:

$$\text{Antioxidant activity (\%)} = [(Ab - As)/Ab] \times 100$$

در این معادله، Ab و As به ترتیب جذب شاهد و نمونه می‌باشند [۲۰].

۲- ۵- ۲- مهار رادیکال ABTS

روش نوشاد و همکاران [۲۱] با تغییرات جزئی برای تعیین فعالیت مهار رادیکال ABTS اسانس استفاده شد. به طور خلاصه، حجم یکسانی از محلول ۷ میلی‌مولار ABTS و ۲/٤۵ میلی‌مولار $K_2S_2O_8$ با هم مخلوط و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱٦ ساعت در شرایط تاریک نگهداری شد. محلول کاتیونی رادیکال ABTS به دست آمده سپس با متانول ترکیب شد تا به جذب ۰/۷ در ۷۳٤ نانومتر برسد. سپس اسانس (۰/۱ میلی‌لیتر) با محلول رادیکال ABTS (۳/۹ میلی‌لیتر) مخلوط شد و محلول به‌دست‌آمده به مدت ٦ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد و سپس جذب آن در طول‌موج ۷۳٤ نانومتر (As) نسبت به نمونه شاهد اندازه‌گیری شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس در نهایت مطابق فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\text{Antioxidant activity (\%)} = [(Ab - As)/Ab] \times 100$$

در این معادله، Ab و As به ترتیب جذب شاهد و نمونه می‌باشند.

۲- ٦- فعالیت ضدمیکروبی

از روش‌های ضدمیکروبی دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار و حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی برای ارزیابی اثر ضدمیکروبی اسانس در برابر باکتری‌های *باسیلوس سوبتیلیس*، *استرپتوکوکوس پیوژنز*، *استافیلوکوکوس*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-14]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.151.208]

اورئوس، *شیگلا دیسانتری*، *انتروباکتر ائروژنز* و *سالمونلا تیفی* استفاده گردید.

۲- ٦- ۱- دیسک دیفیوژن آگار

دیسک‌های بلانک با ۲۰ میکرولیتر اسانس آغشته و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند. سپس دیسک‌های بلانک روی محیط کشت مولر هینتون آگار آلوده به سویه‌های باکتریایی قرار داده شدند. پس از گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت، هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها اندازه‌گیری شد و به عنوان پتانسیل ضد باکتریایی اسانس گزارش شد [۲۲].

۲- ٦- ۲- چاهک آگار

برای این منظور، اسانس (۲۰ میکرولیتر) به چاهک‌های با قطر ٦ میلی‌متر که قبلاً روی سطح محیط کشت مولر هینتون آگار در پتری دیش‌ها ایجاد شده و آلوده به سویه‌های باکتریایی بود، اضافه شد. پتری دیش‌ها به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و سپس هاله عدم رشد اطراف چاهک‌ها اندازه‌گیری و به عنوان اثر ضد باکتریایی اسانس گزارش گردید [۲۲].

۲- ٦- ۳- حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی

از روش ارائه شده توسط طباطبایی یزدی و همکاران [۱۹] با تغییرات مورد نیاز برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی اسانس استفاده گردید. برای این منظور، ابتدا یک استوک مادر با غلظت ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه و سپس غلظت‌های متوالی از آن تهیه شد (۵۱۲، ۲٥٦، ۱۲۸، ٦٤، ۳۲، ۱٦، ۸، ٤، ۲ و ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر). در ادامه، میزان ۱۰۰ میکرولیتر از هر غلظت و ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی استاندارد به درون هر چاهک میکروپلیت ۹٦ خانه‌ای اضافه شد. بلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شدند. پس از طی زمان ۲٤، ۲۰ میکرولیتر معرف تری‌فنیل‌ترازولیوم کلراید ۵ درصد، به چاهک‌ها اضافه گردید. چنانچه اسانس توانسته باشد از رشد سویه میکروبی جلوگیری کند رنگ قرمز ارغوانی یا صورتی تشکیل نمی‌شود. اولین غلظتی که در آن تغییر رنگ مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی از رشد اسانس تعیین گردید.

در آزمون تعیین حداقل غلظت کشندگی اسانس، از چاهک‌های میکروپلیت ۹٦ خانه‌ای که در آن تغییر رنگی مشاهده نشد، ۱۰ میکرولیتر تحت شرایط استریل برداشته و بر سطح محیط کشت مولر هینتون آگار کشت انجام گردید. پلیت‌ها برای رشد به گرمخانه با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد منتقل و بعد از ۲٤ ساعت، پلیت‌های میکروبی از نظر رشد مورد بررسی قرار گرفت. اولین غلظتی از اسانس که از تشکیل کلنی میکروبی جلوگیری نمود به عنوان حداقل غلظت کشندگی آن گزارش گردید [۱۹].

۲- ۷- آنالیز آماری

آزمایش‌ها سه بار تکرار شدند. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Minitab (نسخه ۱٦) مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت و برای تعیین تفاوت بین میانگین داده‌ها از آزمون توکی در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳- ۱- فنول و فلاونوئید کل

نتایج میزان فنول و فلاونوئید کل اسانس شاهسپران در شکل ۱ ارائه شده است. مطابق نتایج، اسانس حاوی ۲۹/۵۰ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم فنول کل و ۱٤/۹۰ میلی‌گرم در گرم فلاونوئید کل بود.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-14]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.151.208]

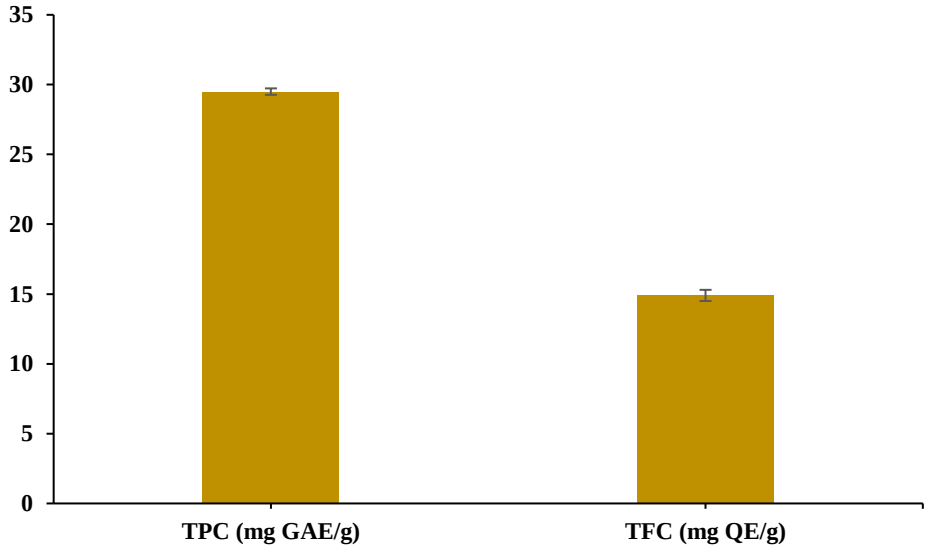

Figure 1. Total phenol content (TPC) and total flavonoid content (TFC) of the essential oil. GAE = Gallic acid equivalent; QE = quercetin equivalent.

میزان فنول کل در عصاره برگ، ریشه و گل شاهسپران به ترتیب ۳۰/۸۲، ٤۳/٤۱ و ۵۹/۷۵ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم و این مقادیر برای میزان فلاونوئید کل به ترتیب برابر با ۱۸/۹۷، ۳/۷٤، ٤۱/۰۲ میلی‌گرم کوئرستین در گرم گزارش شده است [۲۳]. باژک و همکاران [۲٤] ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی اسانس و عصاره شاهسپران را مورد بررسی قرار دادند. در میان ترکیبات فنولی، ۵ اسید ۳،٤-دی هیدروکسی-سینامیک (کافئیک)، ٤-هیدروکسی-۳-متوکسی سینامیک (فرولیک)، ۳-کافئوئیلکینیک (کلروژنیک)، ۳،٤-دی هیدروکسی سیناموئیل-۳-(۳، ٤-دی هیدروکسی فنیل) لاکتیک (رزمارینیک) و دی کافئویل تارتاریک (سیکوریک) شناسایی شدند. در مورد فلاونوئیدها، ٤ ترکیب کوئرستین، آپیژنین ۷-O-گلوکوزید (کوزموزین)، لوتئولین ۷-O-گلوکوزید و لوتئولین ۳′-متیل اتر (کریزوریول) در اسانس و عصاره شاهسپران شناسایی شدند [۲٤]. در مطالعه‌ی گسی-بسلر و همکاران [۲۵]، میزان فنول کل و فلاونوئید کل عصاره بابونه گاوی (*Tanacetum cilicicum*) به ترتیب ۹۹/۵۳ – ۲٦۸/۰۲ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم و ۲٦/۷٦ – ۸٦/٤۱ میلی‌گرم کوئرستین در گرم گزارش شده است. تفاوت در نتایج این پژوهش با یافته‌های سایر محققین نشان می‌دهد که ترکیب و کیفیت عصاره و اسانس حاصل از منابع گیاهی به شدت تحت تأثیر سن و تنوع گیاه، شرایط جغرافیایی، روش‌های خشک کردن و روش‌های استخراج قرار دارد [۲۰, ۲٦].

۳- ۲- فعالیت آنتی‌اکسیدانی

آنتی‌اکسیدان‌ها با به تأخیر انداختن یا مهار اکسیداسیون، آسیب اکسیداتیو در غذاها و گیاهان را مختل می‌کنند و ماندگاری و کیفیت این غذاها را افزایش می‌دهند. بنابراین، مصرف آنها می‌تواند در درمان بیماری‌های مرتبط با آسیب اکسیداتیو مانند بیماری‌های قلبی عروقی، التهاب‌ها، دیابت و سرطان کمک کننده باشد [۲۷]. نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس شاهسپران در شکل ۲ ارائه شده است. در این راستا، اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس در برابر رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS به ترتیب برابر با ۵۰/٤۰ درصد و ۵۳/۵۵ درصد بدست آمد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-14]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.151.208]

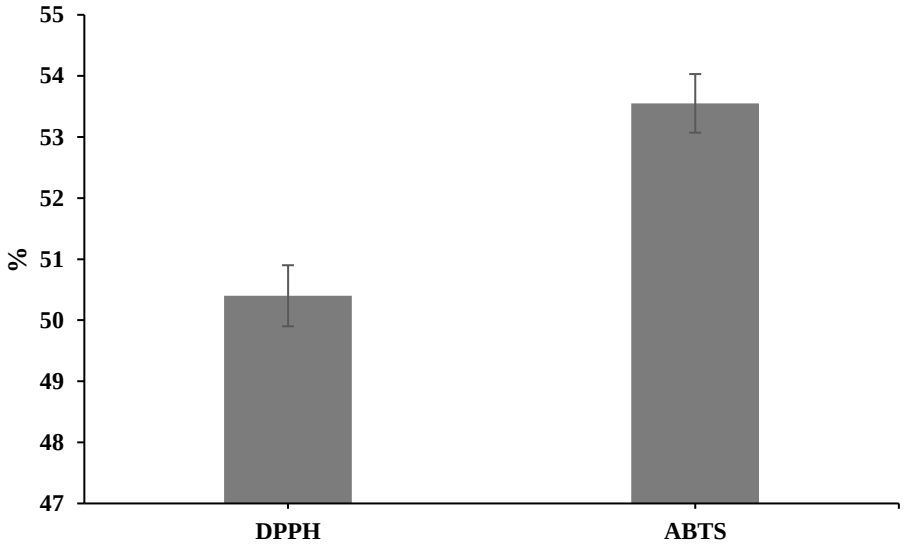

Figure 2. Antioxidant effect of the essential oil based on DPPH and ABTS radical scavenging methods.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره قسمت‌های مختلف گیاه شاهسپران بر پایه روش‌های مهار رادیکال آزاد DPPH و ABTS در مطالعه گورنووا و همکاران بررسی شده است. نتایج این محققین نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ، ریشه و گل شاهسپران بر پایه روش مهار DPPH به ترتیب ۴۳/۸۷، ٤٤/۸۷ و ۸٤/٥٤ معادل تورولوکس در گرم و این مقادیر برای آزمون مهار رادیکال ABTS به ترتیب برابر با ٦٥/٦٤، ۹۱/٥۲، ۹٦/۳٥ معادل تورولوکس در گرم بود [۲۳]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره و اسانس بابونه گاوی بر پایه روش‌های قدرت احیاء کنندگی، مهار رادیکال آزاد DPPH، مهار آنیون سوپراکسید، شلاته کنندگی و فریک تیوسیانات نیز گزارش شده است [۲۵]. به نظر می‌رسد که پتانسیل آنتی‌اکسیدانی اسانس شاهسپران را می‌توان عمدتاً به حضور اسیدهای فنولیک نسبت داد. مشتقات اسید کافئیک، به ویژه اسید رزمارینیک، به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا شناخته شده‌اند [۲۸]. با اینحال، گزارش شده است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره شاهسپران نه تنها می‌تواند با اسیدهای فنولیک، بلکه به فلاونوئیدها نیز مرتبط باشد [٢٤]. فلاونوئیدهایی که دارای گروه‌های هیدروکسیل در ساختار شیمیایی خود هستند از نظر مهار رادیکال‌های آزاد بسیار مؤثر هستند و به ویژه این گروه‌های هیدروکسیل زمانی که روی حلقه B جایگزین شوند مؤثر هستند. اسیدهای فنولیک با گروه‌های هیدروکسیل متعدد نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی از خود نشان می‌دهند. فرض بر این است که ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی ممکن است با اهداء الکترون و واکنش با رادیکال‌های آزاد برای تبدیل آنها به محصولات پایدارتر و پایان دادن به واکنش زنجیره‌ای رادیکال آزاد، رفتاری مشابه به عنوان عوامل کاهنده داشته باشند [۲۵].

۳- ۳- اثر ضدمیکروبی

فعالیت ضد باکتریایی اسانس شاهسپران در برابر برخی باکتری‌های بیماری‌زای گرم مثبت (*باسیلوس سوبتیلیس*، *استرپتوکوکوس پیوژنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس*) و گرم منفی (*شیگلا دیسانتری*، *انتروباکتر ائروژنز* و *سالمونلا تیفی*) با استفاده از روش‌های دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی بررسی و نتایج در شکل‌های ۳ و ٤ و جدول ۱ گزارش شده است.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-14]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.151.208]

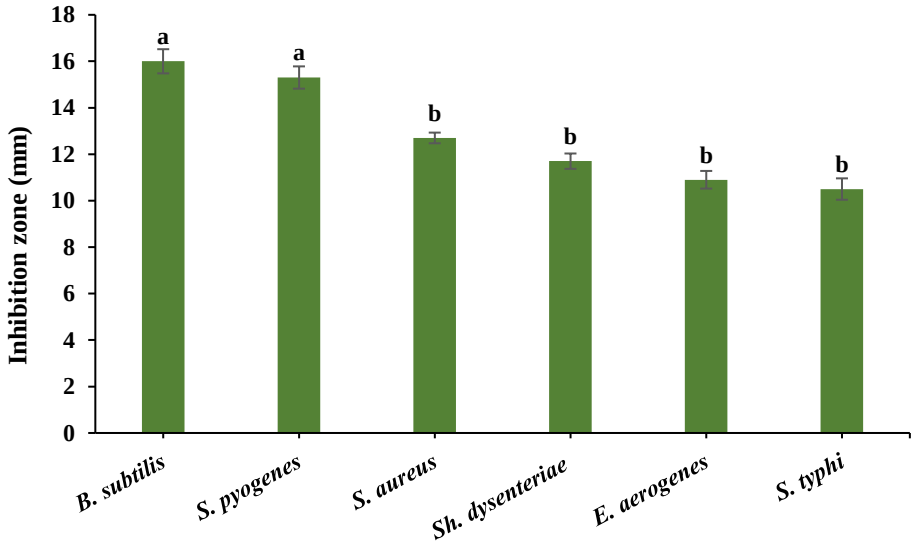

Figure 3. Antibacterial effect of the essential oil based on disc diffusion agar method.

اسانس دارای اثر ضد باکتریایی قوی بر روی همه میکروارگانیسم‌های آزمایش‌شده بود و اثر ضد میکروبی آن وابسته به نوع باکتری بود ($p < 0.05$). بالاترین (۱۶ میلی‌متر) و کمترین (۱۰/۵۰ میلی‌متر) قطر هاله عدم رشد بر اساس نتایج آزمایش دیسک دیفیوژن آگار به ترتیب مربوط به باکتری‌های *باسیلوس سوبتیلیس* و *سالمونلا تیفی* بود ($p < 0.05$) (شکل ۳). این اعداد در روش چاهک آگار به ترتیب ۱۶/۳۰ میلی‌متر و ۱۰/۸۰ میلی‌متر بودند (شکل ٤). علاوه بر این، فعالیت ضد باکتریایی یا قطر هاله عدم رشد در روش چاهک آگار در مقایسه با روش دیسک دیفیوژن آگار بالاتر بود. در واقع، گونه‌های باکتریایی در روش چاهک آگار در تماس مستقیم با اسانس هستند، اما سرعت انتشار عامل ضد میکروبی از سطوح دیسک به محیط، اثر بازدارندگی آن را در آزمایش دیسک دیفیوژن آگار تعیین می‌کند [۸, ۲۹, ۳۰].

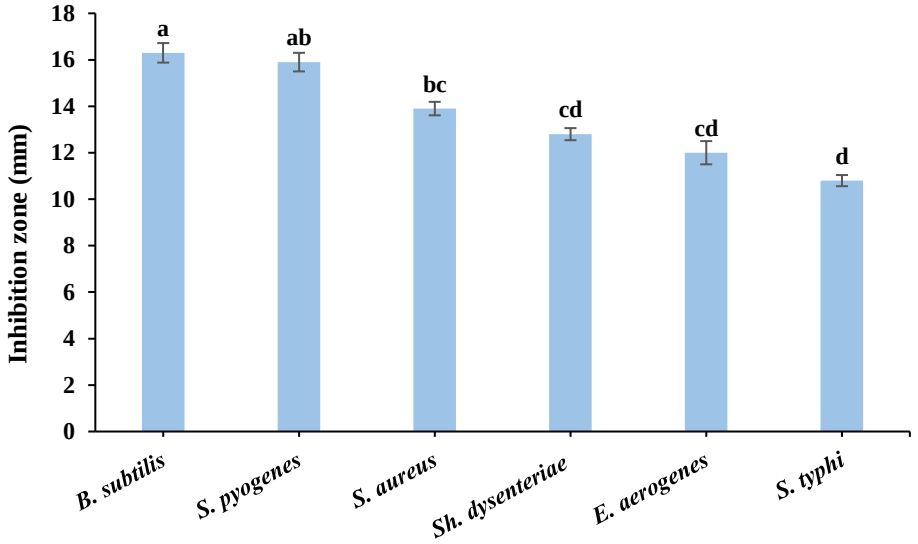

Figure 4. Antibacterial effect of the essential oil based on well diffusion agar method.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-14]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.151.208]

مقادیر حداقل غلظت مهارکنندگی رشد و حداقل غلظت کشندگی اسانس شاهسپران در برابر باکتری‌های فوق نیز در جدول ۱ گزارش شده است. باکتری‌های *باسیلوس سوبتیلیس* و *سالمونلا تیفی* به ترتیب با حداقل غلظت مهارکنندگی ٤ و ٦٤ میلی‌گرم در میلی‌لیتر حساس‌ترین و مقاوم‌ترین سویه‌ها نسبت به اسانس بودند. علاوه بر این، حداقل غلظت کشندگی برای باکتری‌های فوق به ترتیب ۳۲ و بزرگتر از ۵۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود.

Table 1. Antibacterial effect of the essential oil based on minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration methods.

Bacterial type	Minimum inhibitory concentration (mg/ml)	Minimum bactericidal concentration (mg/ml)
B. subtilis	4	32
S. pyogenes	8	128
S. aureus	8	256
Sh. dysenteriae	32	512
E. aerogenes	32	> 512
S. typhi	64	> 512

همانطور که به وضوح مشاهده می‌شود، باکتری‌های گرم مثبت نسبت به غلظت‌های کمتر اسانس در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی حساس‌تر بودند که این اثر عمدتاً به دلیل وجود یک لایه موکوپپتیدی منفرد در غشای سلولی آنها است که باعث می‌شود نسبت به عوامل ضد میکروبی حساس‌تر شوند. در مقابل، غشاء سلولی باکتری‌های گرم منفی حاوی یک لایه لیپوپلی‌ساکارید و فسفولیپید پیچیده است که سبب کاهش سرعت انتشار ترکیبات ضد میکروبی به داخل سلول می‌شود [۲۰]. باژک و همکاران [۲٤] نشان دادند که اسانس شاهسپران قادر به جلوگیری از رشد و همچنین از بین بردن باکتری‌های گرم مثبت (*باسیلوس سرئوس*، *باسیلوس سوبتیلیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا مونوسیتوژنز*) و گرم منفی (*انتروباکتر ائروژنز*، *اشرشیا کلی*، *کلبسیلا پنومونیا*، *سالمونلا انتریکا*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *شیگلا سونی* و *یرسینیا انتروکولیتیکا*) می‌باشد.

نتایج مشابهی توسط یوسف زادی و همکاران گزارش شده است [۳۱]. علاوه بر این، گزارش شده است که قطر هاله عدم رشد برای باکتری‌های *باسیلوس سوبتیلیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی موریوم* در حضور اسانس شاهسپران به ترتیب ۱۳، ۱۷، ۱۵ و ۱۳ میلی‌متر می‌باشد [۱۷]. فعالیت ضد باکتریایی مشاهده شده در اسانس شاهسپران را می‌توان به وجود ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها مرتبط دانست. این ترکیبات قادر به مهار سنتز اسید نوکلئیک، مهار عملکرد غشای سیتوپلاسمی و اختلال در متابولیسم انرژی سلول‌های باکتری می‌باشند [۲٤].

٤- نتیجه‌گیری نهایی

این مطالعه یک بررسی دقیق از میزان ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و اثر ضدمیکروبی اسانس شاهسپران را ارائه می‌دهد. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که اسانس حاوی ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی می‌باشد که منجر به فعالیت آنتی‌اکسیدانی معنی‌دار آن گردید. اثر ضدمیکروبی اسانس وابسته به نوع باکتری بود و باکتری‌های *باسیلوس سوبتیلیس* و *سالمونلا تیفی* به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین سویه‌ها در برابر اسانس بودند. بنابراین اسانس شاهسپران می‌تواند انتخاب مناسبی برای تولید داروهای ضد میکروب و آنتی‌اکسیدان جدید باشد که عوارض جانبی کمتری نسبت به داروهای شیمیایی دارند. با اینحال، شناسایی ترکیبات مؤثره مرتبط با فعالیت بیولوژیکی این اسانس و بررسی اثر بیولوژیکی آن در شرایط درون تنی در مطالعات آینده پیشنهاد می‌گردد.

۵- تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان جهت حمایت مالی طرح پژوهشی شماره ۱٤۰۲/۳۳ که این مقاله مستخرج از آن می‌باشد تشکر و قدردانی می‌نمایند.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-14]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.151.208]

٦-منابع

[1] Noshad, M., Behbahani, B. A., Nikfarjam, Z., & Zargari, F. (2023). Antimicrobial activity between Coriandrum sativum seed and Cuminum cyminum essential oils against foodborne pathogens: A multi-ligand molecular docking simulation. *LWT*, *185*, 115217. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115217.

[2] Sureshjani, M. H., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., Behbahani, B. A., & Shahidi, F. (2014). Antimicrobial effects of Kelussia odoratissima extracts against food borne and food spoilage bacteria" in vitro. *Journal of Paramedical Sciences*, *5*(2), 115-120.

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

[4] Falah, F., Shirani, K., Vasiee, A., Yazdi, F. T., & Behbahani, B. A. (2021). In vitro screening of phytochemicals, antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activity of Echinops setifer extract. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *35*, 102102 .

[5] Sharma, K., Guleria, S., Razdan, V. K., & Babu, V. (2020). Synergistic antioxidant and antimicrobial activities of essential oils of some selected medicinal plants in combination and with synthetic compounds. *Industrial Crops and Products*, *154*, 112569. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112569.

[6] Tabatabaei Yazdi, F., Alizadeh Behbahani, B., Vasiee, A., Mortazavi, S. A., & Yazdi, F. T. (2015). An investigation on the effect of alcoholic and aqueous extracts of Dorema aucheri (Bilhar) on some pathogenic bacteria in vitro. *Archives of Advances in Biosciences*, *6*(1), 58-64 .

[7] Alizadeh Behbahani, B., Yazdi, F. T., Mortazavi, A., Gholian, M. M., Zendeboodi, F., & Vasiee, A. (2014). Antimicrobial effect of Carboxy Methyl Cellulose (CMC) containing aqueous and ethanolic Eucalyptus camaldulensis L. leaves extract against Streptococcus pyogenes, Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus epidermidis. *Archives of Advances in Biosciences*, *5*(2), 59-69 .

[8] Yazdi, F. T., Falah, F., Behbahani, B. A., Vasiee, A., & Mortazavi, S. A. (2019). Identification of Chemical Compounds, Antioxidant Potential, Phenolic Content and Evaluation of Inhibitory and Bactericidal/Fungicidal Effects of Ginger Essential Oil on Some Pathogenic Microorganisms in Vitro. *Qom University of Medical Sciences Journal 13*(3), 50-62 .

[9] Alizadeh Behbahani, B., Falah, F., Vasiee, A., & Tabatabaee Yazdi, F. (2021). Control of microbial growth and lipid oxidation in beef using a Lepidium perfoliatum seed mucilage edible coating incorporated with chicory essential oil. *Food Science & Nutrition*, *9*(5), 2458-2467 .

[10] Heydari, S., Jooyandeh, H., Alizadeh Behbahani, B., & Noshad, M. (2020). 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*, *8*(12), 6497-6512 .

[11] Tanavar, H., Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B., & Mehrnia, M. A. (2021). Investigation of the chemical properties of Mentha pulegium essential oil and its application in Ocimum basilicum seed mucilage edible coating for extending the quality and shelf life of veal stored in refrigerator (4°C). *Food Science & Nutrition*, *9*(10), 5600-5615. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/fsn3.2522

[12] Yazdi, F. T., & Behbahani, B. A. (2013). Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic Teucrium polium L. extracts on gram positive and gram negative bacteria “in vitro”. *Archives of Advances in Biosciences*, *4*(4), 56-62 .

[13] Jalil Sarghaleh, S., Alizadeh Behbahani, B., Hojjati, M., Vasiee, A., & Noshad, M. (2023).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-14]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.151.208]

Evaluation of the constituent compounds, antioxidant, anticancer, and antimicrobial potential of Prangos ferulacea plant extract and its effect on Listeria monocytogenes virulence gene expression. *Front Microbiol*, *14*, 1202228. https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1202228

[14] Tohidi, B., Rahimmalek, M., & Arzani, A. (2017). Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of Thymus species collected from different regions of Iran. *Food Chemistry*, *220*, 153-161. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.203

[15] Hassanpouraghdam, M.-B., Tabatabaie, S.-J., Nazemiyeh, H., Vojodi, L., Aazami, M.-A., & Shoja, A. M. (2008). Chrysanthemum balsamita (L.) Baill.: a forgotten medicinal plant. *Facta Universitatis, Medicine and Biology*, *15*(3), 119-124 .

[16] Ivashchenko, I. (2017). Antimicrobial properties of Tanacetum balsamita L.(Asteraceae) introduced in Ukrainian Polissya. *Ukrainian Journal of Ecology*, *7*(1), 52-57 .

[17] Bagci, E., Kursat, M., Kocak, A., & Gur, S. (2008). Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Tanacetum balsamita L. subsp .balsamita and T. chiliophyllum (Fisch. et Mey.) Schultz Bip. var. chiliophyllum (Asteraceae) from Turkey. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, *11*(5), 476-484. https://doi.org/10.1080/0972060X.2008.10643656.

[18] Sharif, M., Najafizadeh, P., Asgarpanah, J., & Mousavi, Z. (2020). In vivo analgesic and anti-inflammatory effects of the essential oil from Tanacetum balsamita L. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, *56* .

[19] Tabatabaei Yazdi, F., Falah, F., Alizadeh Behbahani, B., Vasiee, A., & Mortazavi, A. (2019). Antimicrobial effect of Citrus aurantium essential oil on some food-borne pathogens and its determination of chemical compounds, total phenol content, total flavonoids content and antioxidant potential. *Journal of Food Science and Technology*, *16*(87), 291-304 .

[20] Alizadeh Behbahani, B., Falah, F., Lavi Arab, F., Vasiee, M., & Tabatabaee Yazdi, F. (2020). Chemical Composition and Antioxidant, Antimicrobial, and Antiproliferative Activities of Cinnamomum zeylanicum Bark Essential Oil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2020*, 5190603. https://doi.org/10.1155/2020/5190603

[21] Noshad, M., Alizadeh Behbahani, B., Jooyandeh, H., Rahmati-Joneidabad, M., Hemmati Kaykha, M. E., & Ghodsi Sheikhjan, M. (2021). Utilization of Plantago major seed mucilage containing Citrus limon essential oil as an edible coating to improve shelf-life of buffalo meat under refrigeration conditions. *Food Science & Nutrition*, *9*(3), 1625-1639. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/fsn3.2137

[22] Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B., & Mehrnia, M. A. (2020). Quality retention and shelf life extension of fresh beef using Lepidium sativum seed mucilage-based edible coating containing Heracleum lasiopetalum essential oil: an experimental and modeling study. *Food Science and Biotechnology*, *29*(5), 717-728. https://doi.org/10.1007/s10068-019-00715-4

[23] Gevrenova, R., Zengin, G., Sinan, K. I., Zheleva-Dimitrova, D., Balabanova, V., Kolmayer, M., Voynikov, Y., & Joubert, O. (2023). An In-Depth Study of Metabolite Profile and Biological Potential of Tanacetum balsamita L. (Costmary). *Plants*, *12*(1). DOI: 10.3390/plants12010022.

[24] Bączek, K. B., Kosakowska, O ,.Przybył, J. L., Pióro-Jabrucka, E., Costa, R., Mondello, L., Gniewosz, M., Synowiec, A., & Węglarz, Z. (2017). Antibacterial and antioxidant activity of essential oils and extracts from costmary (Tanacetum balsamita L.) and tansy (Tanacetum vulgare L.) .*Industrial Crops and Products*, *102*, 154-163. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.03.009

[25] Gecibesler, I. H., Kocak, A., & Demirtas, I. (2016). Biological activities, phenolic profiles and essential oil components of Tanacetum cilicicum (BOISS.) GRIERSON. *Natural Product Research*, *30*(24), 2850-2855. https://doi.org/10.1080/14786419.2016.1163692

[26] Nooshkam, M., Varidi, M., & Alkobeisi, F. (2022). Bioactive food foams stabilized by licorice extract/whey protein isolate/sodium

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-14]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.151.208]

alginate ternary complexes. *Food Hydrocolloids*, *126*, 107488. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107488

[27] Shirani, K., Falah, F., Vasiee, A., Yazdi, F. T., Behbahani, B. A., & Zanganeh, H. (2022). Effects of incorporation of Echinops setifer extract on quality, functionality, and viability of strains in probiotic yogurt. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *16*(4), 2899-2907. https://doi.org/10.1007/s11694-022-01399-x.

[28] Bakota, E. L., Winkler-Moser, J. K., Berhow ,M. A., Eller, F. J., & Vaughn, S. F. (2015). Antioxidant Activity and Sensory Evaluation of a Rosmarinic Acid-Enriched Extract of Salvia officinalis. *Journal of Food Science*, *80*(4), C711-C717. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1750-3841.12837

[29] Shahidi, F., Tabatabaee Yazdi, F., Nooshkam, M., Zareie, Z., & Fallah, F. (2020). Chemical modification of chitosan through non-enzymatic glycosylation reaction to improve its antimicrobial and anti-oxidative properties. *Iranian Food Science and Technology Research Journal* *16*(1), 117-129. https://doi.org/https://doi.org/10.22067/ifstrj.v16i1.75740.

[30] Tabatabaei Yazdi, F., Nooshkam, M., Shahidi, F., Asadi, F., & Alizadeh-Behbahani, B. (2018). Evaluation of antimicrobial activity and antioxidant potential of chitosan Maillard-based conjugates in vitro. *Applied Microbiology In Food Industries*, *4*(3), 1-15 .

[31] Yousefzadi, M., Ebrahimi, S. N., Sonboli, A., Miraghasi, F., Ghiasi, S., Arman, M., & Mosaffa, N. (2009). Cytotoxicity, Antimicrobial Activity and Composition of Essential Oil from Tanacetum balsamita L. Subsp. Balsamita. *Natural Product Communications*, *4*(1), 1934578X0900400126. https://doi.org/10.1177/1934578X0900400126 .

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-14]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.151.208]

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Investigating the chemical properties and antibacterial activity of *Tanacetum balsamita* L. essential oil: a study *in vitro*

Behrooz Alizadeh Behbahani[*1], Mohammad Noshad[1], Hassan Barzegar[1]

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

ARTICLE INFO

Article History:
Received:2024/3/2
Accepted:2024/4/9

Keywords:

Essential oil;

Tanacetum balsamita;

Antimicrobial activity;

Antioxidant activity;

Phenolic compounds.

DOI: **10.22034/FSCT.21.151.197.**

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

ABSTRACT

This study aimed to investigate the chemical composition, antioxidant properties, and antimicrobial activity of *Tanacetum balsamita* L. essential oil. The essential oil was extracted using the water distillation method, and then the total phenolic content (using the Folin-Ciocalteu method), total flavonoid content (using the aluminium chloride colorimetric method), antioxidant activity (using DPPH and ABTS free radical scavenging methods), and antimicrobial activity (using disk diffusion agar, well diffusion agar, minimum inhibitory concentration, and minimum bactericidal concentration methods) were evaluated. The total phenolic and flavonoid contents of the essential oil were found to be 29.50 mg gallic acid equivalent per gram and 14.90 mg quercetin equivalent per gram, respectively. The essential oil exhibited significant antioxidant activity, with the ability to scavenge 50.40% and 53.55% of free radicals DPPH and ABTS, respectively. According to the results of disc diffusion agar method, *Bacillus subtilis* and *Salmonella typhi* were the most sensitive and resistant bacterial strains, respectively, with zone of inhibition diameters of 16 mm and 10.50 mm. The zone of inhibition diameters for these bacteria in the well diffusion agar method were obtained as 16.30 mm and 10.80 mm, respectively. The minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration for *B. subtilis* were determined as 4 mg/mL and 32 mg/mL, respectively, and for *S. typhi*, they were 64 mg/mL and greater than 512 mg/mL, respectively. According to the results, *T. balsamita* essential oil can be used as a natural antioxidant and antimicrobial agent in food products.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-14]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.151.208]