مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

مطالعه‌ای بر فعالیت‌های ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فیتوشیمیایی اسانس درمنه ایرانی

بهروز علیزاده بهبهانی[*1]، محمد نوشاد[1]، پریسا قاسمی[2]

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

۲- دانشجوی دکتری، 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: ۱۴۰۳/۱۲/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۲/۱

کلمات کلیدی:

فعالیت آنتی‌اکسیدانی،

اسانس،

درمنه ایرانی،

سویه‌های بیماری‌زا.

DOI: 10.22034/FSCT.22.165.238.

* مسئول مکاتبات:

B.alizadeh@asnrukh.ac.ir

چکیده

اسانس‌ها ترکیبات آلی فرار و معطری هستند که به عنوان متابولیت‌های ثانویه در گیاهان تولید می‌شوند. که اغلب دارای فعالیت‌های بیولوژیکی قابل توجهی همچون خواص ضد-میکروبی، ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی هستند. در این مطالعه، فعالیت‌های ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فیتوشیمیایی اسانس گیاه درمنه ایرانی بررسی شد. فعالیت ضد-میکروبی اسانس براساس روش‌های دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی بررسی شد. همچنین، به منظور بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی شامل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی کل از روش‌های رنگ‌سنجی فولین-سیوکالتو و کلرید آلومنیوم و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس مهار رادیکال آزاد DPPH و ADTS استفاده شد. نتایج آزمون‌های ضدمیکروبی نشان داد که اسانس مورد مطالعه، اثر مهاری قابل ملاحظه‌ای بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی از جمله *استرپتوکوکوس پیوژنز*، *شیگلا دیسانتری*، *اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سوبتلیس* و *کلبسیلا ائروژنز* از خود نشان داد. اسانس مورد بررسی حاوی مقادیر قابل قبولی از ترکیبات فنلی (mg GAE/g ۳۱/۲±۱/۲۷) و فلاونوئیدی (mg QE/g ۱۷/۴۹ ±۱/۱۹) بود و توانایی قابل توجهی در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH (۵۲/۴۳ ±۱/۴۱) و ABTS (۵۷/۴۹ ±۱/۳۷) داشت. مطالعه حاضر نشان داد که اسانس مورد بررسی، پتانسیل قابل توجهی به عنوان یک عامل درمانی برای بیماری‌های ناشی از استرس اکسیداتیو و عفونت‌های میکروبی دارد.

۱-مقدمه

در عصر حاضر، با شیوع روزافزون پدیده مقاومت دارویی، یافتن ترکیبات ضدمیکروبی جدید به یکی از مهم‌ترین اولویت‌های تحقیقاتی در حوزه سلامت جهانی تبدیل شده است. دانشمندان در سراسر جهان تلاش‌های گسترده‌ای را برای کشف و توسعه داروهای جدید با فعالیت ضدمیکروبی از منابع مختلف از جمله گیاهان، جانوران و میکروارگانیسم-ها آغاز کرده‌اند [۱]. میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا با تکامل تدریجی و جهش‌های ژنتیکی، توانایی غلبه بر داروهای ضد-میکروبی را پیدا کرده‌اند. شواهد نشان می‌دهد که این پدیده رو به گسترش است و روز به روز بر تعداد میکروب‌های مقاوم افزوده می‌شود. کشورهای در حال توسعه، به دلیل سطح آگاهی پایین نسبت به مصرف منطقی آنتی‌بیوتیک‌ها، با چالش جدی‌تری در این زمینه مواجه هستند. استفاده بی‌رویه و خودسرانه از این داروها، بدون تجویز پزشک و همچنین عدم نظارت‌های لازم، شرایط را برای تکثیر و انتشار میکروب‌های مقاوم فراهم می‌کند [۲و۳].

جنس درمنه (Artemisia) متعلق به تیره کاسنی (Asteraceae) است. این گیاه معطر بوده و از نظر اقتصادی در طب سنتی اهمیت دارد. این جنس شامل حدود ۵۰۰ گونه است و به‌طور گسترده در نیمکره شمالی، از بیابان‌های خشک تا رشته‌کوه‌های مرتفع، یافت می‌شود. در ایران، ۳٤ گونه و در ترکیه ۲۳ گونه از این جنس شناسایی شده است [٤]. درمنه ایرانی (*Artemisia persica*) گیاهی علفی چند ساله به ارتفاع تقریبی ٦۰ سانتی‌متر است که برگ‌های آن به صورت باریک و پرمانند بوده و گل‌آذین آن به شکل کاپیتول‌های زرد رنگ است [۵و ٦]. گونه‌های درمنه برای درمان برخی بیماری‌های ناشی از عفونت‌های باکتریایی مانند آبسه، آکنه و دیفتری استفاده می‌شود. این گیاه به عنوان تب-بر، ضدکرم، ضد اسهال، ضداسپاسم و ضدالتهاب به کار می-روند. همچنین از آن‌ها برای درمان مالاریا، بیماری‌های عصبی و سیستم تنفسی، التهاب و دردهای شکمی استفاده شده است [۷]. این خواص می‌تواند ناشی از وجود ترکیبات مختلف زیست فعال باشد. عطر و طعم تلخ و قوی بسیاری از گونه‌های آن ناشی از ترپنوئیدها و سس کوئی‌ترپن لاکتون‌ها است. فنول‌ها و فلاونوئیدها نیز از اجزای قابل توجه این جنس هستند و به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدمیکروبی خود حائز اهمیت هستند [۸]

اسانس‌ها ترکیبات فرار و معطری هستند که از بخش‌های مختلف گیاهان مانند گل، برگ، ساقه و ریشه استخراج می-شوند. به دلیل غلظت بالای ترکیبات فعال زیستی، از خواص درمانی و فواید سلامتی متعددی برخوردارند [۹ و۱۰]. استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی به عنوان جایگزینی طبیعی برای مواد نگهدارنده شیمیایی، روشی نوین در صنایع غذایی به شمار می‌رود. این ترکیبات با مهار رشد و کنترل میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، به حفظ سلامت و افزایش ماندگاری مواد غذایی کمک می‌کنند. با این حال، استفاده از این اسانس‌ها در دوز بالا می‌تواند بر طعم، بو و رنگ مواد غذایی تاثیر منفی بگذارد. به همین دلیل، یافتن دوز بهینه که ضمن حفظ خواص ضدمیکروبی، کم‌ترین تاثیر را بر ویژگی‌های حسی داشته باشد، از اهمیت بالایی برخوردار است [۱۱]. مطالعه نیکبخت و همکاران در سال ۲۰۱٤ بر روی ترکیبات اسانس درمنه فارسی نشان داد که این گیاه حاوی طیف وسیعی از ترکیبات آلی فرار است. از میان ۲۸ ترکیب شناسایی شده، بتا-توجون با غلظت قابل توجه ۷۵/۲۳ درصد به عنوان ترکیب اصلی این اسانس معرفی شد [٦]. این یافته حاکی از غنی بودن اسانس درمنه ایرانی از ترکیبات مونوترپنی، به ویژه بتا-توجون، است که این ترکیب به دلیل خواص دارویی متنوع از جمله فعالیت‌های ضد-میکروبی و ضدالتهابی مورد توجه محققان قرار دارد [۱۲ و ۱۳].

این پژوهش با هدف بررسی محتوای فنول و فلاونوئید کل و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی اسانس درمنه ایرانی پرداخته شده است. علاوه بر این، فعالیت ضدمیکروبی اسانس درمنه ایرانی

در برابر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا *استرپتوکوکوس پیوژنز، شیگلا دیسانتری، اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سوبتلیس و کلبسیلا ائروژنز* در شرایط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد شیمیایی

در این پژوهش از آلومنیوم‌تری کلراید، متانول، سدیم هیدروکسید، پرسولفات سدیم، معرف فولین-سیوکالچو، معرف کوئرستین، رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS ، توئین ۸۰، تری‌فنیل‌تترازولیوم کلراید، محیط‌های کشت مولر هینتون آگار و براث با برندهای مرک و سیگما استفاده شد.

۲-۲- تهیه اسانس درمنه ایرانی

جهت استخراج اسانس از گیاه درمنه ایرانی، از دستگاه اسانس‌گیری (کلونجر) استفاده شد. بدین منظور، ابتدا گیاه در شرایط سایه خشک شده و سپس توسط آسیاب آزمایشگاهی، پودر گردید. ۱۰۰ گرم از گیاه پودر شده، درون بالن تقطیر ۲ لیتری قرار داده شد و سپس آب مقطر به آن اضافه گردید. با تنظیم دما و سرعت عبور آب سرد از درون مبرد، فرآیند تقطیر به مدت ۳ ساعت انجام و اسانس گیاه استخراج گردید [۱٤].

۲-۳- تهیه استاندارد نیم مک فارلند و سوسپانسیون میکروبی

به منظور فعال‌سازی سویه‌های میکروبی جهت ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی اسانس درمنه ایرانی، از روش نیم مک فارلند استفاده شد. بدین منظور، ابتدا تمامی سویه‌ها در محیط کشت مولر هیتون آگار به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت داده شدند. سپس، سوسپانسیون باکتریایی با کدورت معادل نیم مک فارلند (colony forming unit (CFU)/mL ۱۰^۸ × ۱/۵) از هر سویه تهیه گردید [۱۵].

۲-٤- محتوای فنول کل

ابتدا، ۰/۵ میلی‌لیتر از اسانس درمنه ایرانی با ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین-سیوکالچو (۱۰ درصد، حجمی/حجمی) ترکیب شد. پس از ۱۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم (۷/۵ درصد وزنی/حجمی) به آن افزوده شد. پس از نگهداری به مدت ۳۰ در تاریکی، جذب آن در طول موج ۷٦۵ نانومتر ثبت شد. میزان محتوای فنول کل اسانس درمنه ایرانی براساس میلی‌گرم گالیک اسید در گرم اسانس (mg GAE/g) گزارش شد [۱٦].

۲-۵- محتوای فلاونوئید کل

در این پژوهش، از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم برای سنجش محتوای فلاونوئید کل اسانس درمنه ایرانی استفاده شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از اسانس با ۷۵ میکرولیتر نیتریت سدیم (۵ درصد وزنی/ حجمی) مخلوط شد و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس، ۱۵۰ میکرولیتر آلومنیوم تری کلراید (۱۰ درصد وزنی/حجمی) به آن اضافه و مجدداً ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. در نهایت، ۱ میلی‌لیتر سدیم هیدروکسید ۱ مولار به محلول اضافه شد و بلافاصله جذب آن در طول موج ۵۱۰ نانومتر ثبت شد. میزان محتوای فلاونوئید کل براساس میلی‌گرم کوئروسیتین در گرم اسانس (mg QE/g) گزارش شد [۱۷].

۲-٦- ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی

۲-٦-۱- روش مهار رادیکال آزاد DPPH

جهت اندازه‌گیری فعالیت بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH، ۰/۱ میلی‌لیتر از اسانس با ۳/۹ میلی‌لیتر از محلول متانولی DPPH با غلظت ۰/۱۲ میلی‌مولار ترکیب شد. سپس محلول همزده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت. سپس، جذب نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis اندازه گیری شد. به‌منظور تهیه نمونه کنترل، روشی مشابه نمونه اصلی انجام شد، با این تفاوت که به جای اسانس از متانول استفاده گردید. قدرت ضداکسیدانی اسانس در برابر رادیکال آزاد DPPH ، با استفاده از رابطه زیر تعیین شد [۱۸]:

فعالیت بازدارندگی (٪) = (جذب نمونه-جذب کنترل/ جذب کنترل) × ۱۰۰

۲-٦-۲- روش مهار رادیکال آزاد ABTS

ابتدا، حجم‌های مساوی از محلول پرسولفات پتاسیم (۲/۴۵ میلی‌مولار) و ABTS (۷ میلی‌مولار) با هم مخلوط شدند. این مخلوط به مدت ۱۶ ساعت در دمای اتاق و در تاریکی نگهداری شد تا رادیکال‌های ABTS تهیه شوند. سپس، متانول به آن اضافه شد تا جذب محلول رادیکال ABTS درطول موج ۷۳۴ نانومتر به ۰/۷ برسد. پس از آن، ۰/۱ میلی‌لیتر از اسانس با ۳/۹ میلی‌لیتر محلول رادیکال ABTS مخلوط و به مدت ۶ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. در نهایت، جذب محلول در طول موج ۷۳۴ نانومتر اندازه‌گیری شد. قدرت ضداکسیدانی اسانس در برابر رادیکال آزاد ABTS، با استفاده از رابطه زیر تعیین شد [۱۹]:

۱۰۰ × جذب کنترل/ (جذب نمونه–جذب کنترل)= فعالیت بازدارندگی (٪)

۲-۷- ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی اسانس

۲-۷-۱- چاهک آگار

ابتدا، در پلیت‌ها حاوی محیط کشت مولر هیتون آگار چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر ایجاد شد. سپس، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون‌های باکتریایی که بر اساس استاندارد نیم مک فارلند تهیه شده بود، روی سطح محیط کشت ریخته و با استفاده از میله L شکل به طور یکنواخت پخش شد. سپس ۶۰ میکرولیتر از اسانس درمنه ایرانی به هر چاهک اضافه و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از انکوباسیون، قطر هاله‌های عدم رشد اطراف چاهک‌ها برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری و ثبت شد [۲۰].

۲-۷-۲- حداقل غلظت بازدارندگی رشد

فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌ها و اسانس‌ها بر روی میکروارگانیسم‌های با روش رقیق‌سازی میکرو ارزیابی و حداقل غلظت بازدارندگی آن‌ها تعیین شد. بدین منظور، رقت‌های متوالی از اسانس (۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶ و ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) تهیه شد و به هر کدام از چاهک–های میکروپلیت (۹۶ خانه‌ای)، ۷۵ میکرولیتر از هر رقت و ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی با رقت نیم مک فارلند افزوده شد. سپس میکروپلیت به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از انکوبه‌گذاری، ۱۰ میکرولیتر تری‌فنیل‌تترازولیوم کلرید (۵ درصد) به هر یک از چاهک‌ها اضافه و مجدداً به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه‌گذاری انجام شد. در نهایت اولین چاهکی که در آن هیچگونه تغییر رنگی مشاهده نشد، به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی ثبت شد [۲۱].

۲-۷-۳- حداقل غلظت کشندگی باکتریایی

بدین منظور، ۵ میکرولیتر از چاهک‌های که باکتری در آن رشد نکرده بود، روی محیط کشت مولر هیتون آگار کشت داده شدند. سپس، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گردا به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گذاری شدند و غلظتی که مانع از رشد میکروارگانیسم شدند، به عنوان حداقل غلظت کشندگی تعیین گردید [۲۲].

۲-۸- آنالیز آماری

نتایج حاصل از این پژوهش با روش آنالیز واریانس یک طرفه و نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۹۵ درصد ($p>0.05$) انجام شد. لازم به ذکر است که تمامی آزمایش‌های شیمیایی و ضدمیکروبی در سه تکرار انجام شدند.

۳- نتایج و بحث

بیش از ۶۰۰ متابولیت ثانویه در گونه‌های گیاه درمنه شناسایی شده است که طیف وسیعی از اثرات بیولوژیکی و دارویی را نشان می‌دهند. برخی از ترکیبات مهم این گیاه شامل مشتقات کافئیک اسید، فلاونوئیدها، کومارین‌ها، منوترپن‌ها، سزکوئی‌ترپن‌ها، سزکوئی‌ترپن لاکتون‌ها، استرول‌ها، پلی استیلن‌ها و آرتمیزینین می‌باشد [۲۳]. شکل ۱، محتوای فنول و فلاونوئید کل اسانس استخراج شده از گیاه درمنه ایرانی را نشان می‌دهد. اسانس حاوی ۳۱/۱±۲/۲۷ mg GAE/g فنول کل و ۱۷/۴۹ ±۱/۱۹ mg QE/g فلاونوئید کل بود. هوشمند و همکاران (۱۴۰۲) در پژوهشی، به بررسی میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در عصاره اتانولی، متانولی و اتیل استات گیاه درمنه در مناطق مختلف ایران (سمنان، گلستان، گیلان)

پرداختند. یافته‌های این تحقیق نشان داد که محتوای فنول کل در حلال‌ها و مناطق مختلف در محدوده mg GAE/g ۱۷/۵۱– ٤۲/۰٦ و محتوای فلاونوئید کل در این در mg QE/g ۳/۷–۷۲/۹٤ بود[۲۳]. در مطالعه دیگر، مزارعی و همکاران (۱۳۹٦) بیشترین محتوای فنولی و فلاونوئیدی برای گیاه درمنه را در عصاره متانولی گزارش کردند. براساس یافته‌های این مطالعه، محتوای فنول کل mg GAE/g ۳۵/۲ و محتوای فلاونوئید کل را mg QE/g ۱۵/۹ بود[۲٤].

پژوهشی توسط یونسی و همکاران (۲۰۱٦) به منظور تعیین مقدار ترکیبات شیمیایی (فنول‌های کل، فلاونوئیدها، فلاونول‌ها و فلاوانول‌های اسانس درمنه سفید (*Artemisia herba-alba*) انجام گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد که مقدار فنول کل، فلاونوئید کل به ترتیب برابر با mg GAE/g ۱۷/٦۵، mg QE/g ۱۳/۹٦ بود [۲۵]. بنابراین می‌توان بیان داشت میزان این ترکیبات با توجه به اکولوژی گیاه، حلال و روش‌های استخراج آن‌ها می‌تواند متفاوت باشد.

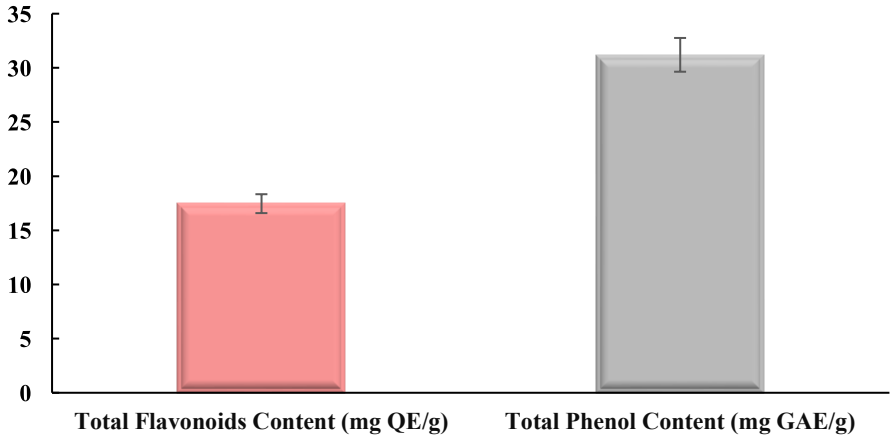

Figure 1. The total phenol content (TPC) and total flavonoid content (TFC) of *Artemisia persica* essential oil.

به دلیل ماهیت پیچیده عصاره‌های گیاهی که شامل مخلوطی از ترکیبات شیمیایی با عملکردهای مختلف هستند، از دو روش سنجش مکمل برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها استفاده شد: سنجش پراکسید رادیکال دی‌فنیل–۱–پیکریل‌هیدرازین (DPPH) و سنجش ۲,۲–آزینو بیس–۳–تیل‌بنزوتیازولین–٦–سولفونیک اسید (ABTS) . روش DPPHبه طور گسترده برای اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به کار می‌رود، چرا که در حضور یک آنتی‌اکسیدان، رادیکال DPPH پایدار به شکل احیا شده و بی‌رنگ در می‌آید. ABTS نیز روشی جایگزین برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی است که بر پایه توانایی آنتی‌اکسیدان‌ها در خنثی‌سازی رادیکال‌های کاتیونی $ABTS^{2+}$ است [۸]. نتایج حاصل از فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس درمنه ایرانی در شکل ۲، گزارش شده است. مطابق نتایج، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس در مهار رادیکال آزاد DPPH و رادیکال آزاد ABST به ترتیب ۵۲/٤۳±۱/٤۱ و ۵۷/٤۹ ±۱/۳۷ درصد بود. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که بین افزایش مقدار کل فنول و فلاونوئیدها در عصاره‌های گیاهی و افزایش فعالیت DPPHآن‌ها همبستگی مستقیمی وجود دارد [۱٤]. این همبستگی احتمالاً به دلیل توانایی فنول‌ها و فلاونوئیدها در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد DPPH از طریق اهدای هیدروژن یا الکترون است.

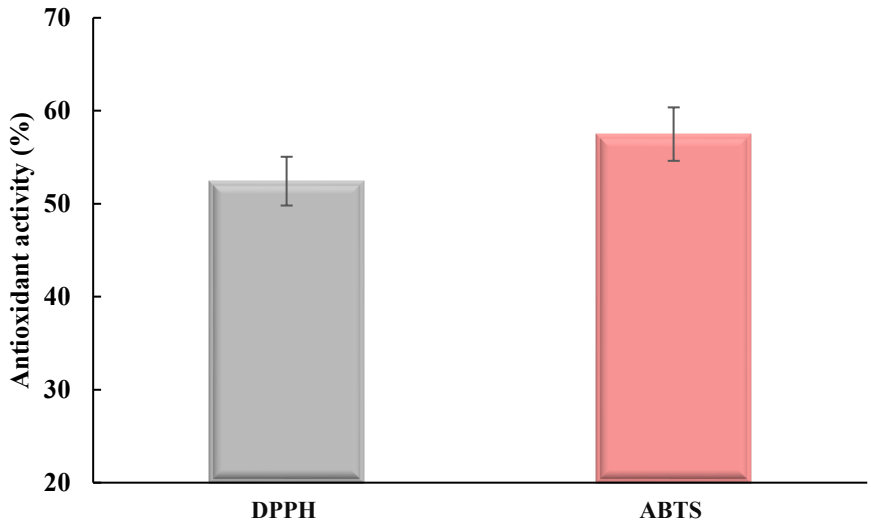

Figure 2. The antioxidant activity of *Artemisia persica* essential oil based on DPPH and ABTS radical scavenging methods.

شکل ۳، نتایج حاصل از ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی اسانس درمنه ایرانی به روش چاهک آگار بر باکتری‌های بیماری‌زا را نشان می‌دهد. همانطور که در شکل مشاهده می‌شود، باکتری‌های گرم مثبت به طور قابل‌توجهی قطر هاله بازدارندگی بزرگتری نسبت به باکتری‌های گرم منفی در برابر باکتری‌های بیماری‌زا مورد آزمایش ایجاد کردند. این یافته‌ها با تفاوت‌های ساختاری و عملکردی بین دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی همخوانی دارد. باکتری‌های گرم مثبت به طور قابل‌توجهی هاله عدم رشد بزرگتری نسبت به باکتری‌های گرم منفی در برابر عامل ضدمیکروبی مورد آزمایش ایجاد می‌کنند. قطر هاله بازدارندگی در بین باکتری‌های گرم مثبت متفاوت بود، به طوری که *استرپتوکوکوس پیوژنز* با ۰/۳۶±۱۳/۸۰ میلی‌متر بزرگ‌ترین هاله را نشان داد و به دنبال آن *استافیلوکوکوس اورئوس* ۰/۴۷±۱۳/۱۰ با میلی‌متر و *باسیلوس سوبتیلیس* با ۲۰/۴۸±۱۲/۰ میلی‌متر بودند. در میان باکتری‌های گرم منفی مورد بررسی، اشریشیا کلی با قطر هاله بازدارندگی ۲۰/۲۵±۱۱/۰ میلی‌متر، بیش‌ترین حساسیت را به اسانس درمنه نشان داد. *کلبسیلا ائروژنز* با ۰/۲۳±۱۰/۵۰ میلی‌متر و *شیگلا دیسانتری* با ۰/۴۰±۹/۵۰ میلی‌متر به ترتیب بیش‌ترین حساسیت را نشان دادند ($p<0.05$).

در پژوهش ناهید و همکاران (۲۰۱۷)، قطر ناحیه بازداری برای عصاره متانولی درمنه هندی (۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به ترتیب علیه *اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس پوتیدا*، *سالمونلا انتریکا* و *استرپتوکوکوس پیوژنز* ۱۵، ۱۸، ۱۸، ۱۷ و ۱۵ میلی‌متر گزارش کردند. همچنین بیان داشتند که درمنه هندی فعالیت ضدباکتریایی بالای علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* داشته است. علاوه‌براین گزارش کردند، عصاره گیاه توانایی مهار رشد هر دو نوع باکتری گرم مثبت (*استرپتوکوکوس پیوژنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس*) و گرم منفی (*اشرشیا کلی*، *سالمونلا انتریکا* و *سودوموناس پوتیدا*) را داشته است [۲۶]. محبوبی و قاضیان بیدگلی (۱۳۸۸) در پژوهشی، اثر ضدباکتریایی و ضدقارچی اسانس درمنه کوهی را بررسی کردند. یافته‌های آن‌ها نشان داد که فعالیت ضدقارچی اسانس درمنه کوهی قوی‌تر از فعالیت ضدباکتریایی آن بوده است. باکتری‌های گرم مثبت نیز مقاومت بیشتری نسبت به باکتری‌های گرم منفی در برابر اسانس درمنه کوهی از خود نشان دادند. میانگین قطر هاله عدم رشد ایجاد شده توسط اسانس درمنه کوهی بر روی باکتری‌های گرم مثبت و قارچ‌ها بیشتر بوده است. آن‌ها

اختلاف در قطر هاله بازدارندگی بین این باکتری‌های گرم منفی را به عوامل مختلفی از جمله ساختار و ترکیب دیواره سلولی، فعالیت آنزیمی و مکانیسم‌های مقاومت به عامل ضدمیکروب نسبت دادند [۲۷].

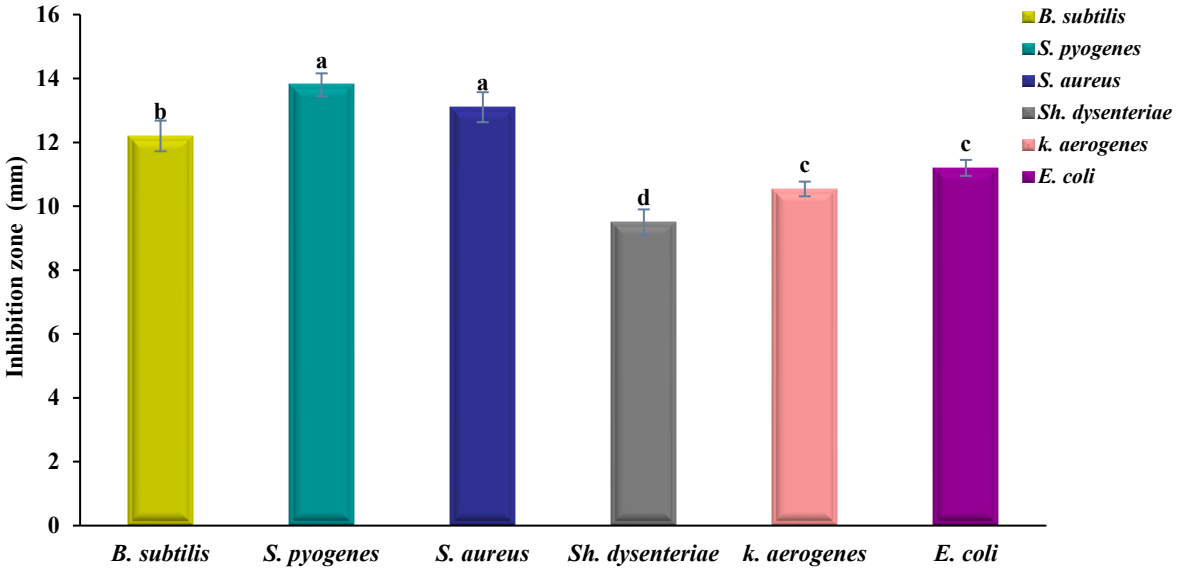

Figure 3. Antimicrobial activity of ethanolic extract of *Artemisia persica* based on well diffusion agar method.

در سنجش اثربخشی ضدمیکروبی عصاره گیاهان، دو معیار مهم حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی(MBC) وجود دارد.MIC، کم‌ترین غلظت عصاره است که می‌تواند از رشد ۹۰ درصد باکتری‌ها جلوگیری کند، در حالی که MBC کمترین غلظت عصاره است که ۹۹/۹ درصد باکتری‌ها را از بین می‌برد. شکل ٤، نتایج ضدمیکروبی اسانس درمنه ایرانی بر اساس حداقل غلظت بازدارندگی در برابر باکتری‌های بیماری‌زا را نشان می‌دهد. کم‌ترین غلظت بازدارندگی (١٦ mg/mL) در باکتری *استرپتوکوکوس پیوژنز* و بیشتری غلظت بازدارندگی (٢٥٦ mg/mL) در باکتری *شیگلا دیسانتری* مشاهده شد.

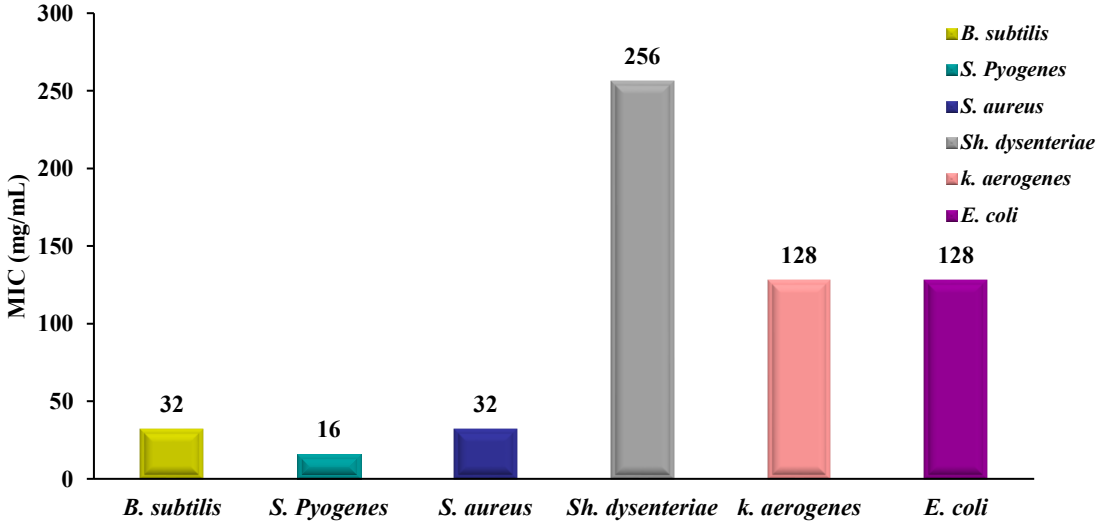

Figure 4. Antimicrobial activity of essential oil of *Artemisia persica* based on minimum inhibitory concentration (MIC) method.

نتایج ضدمیکروبی اسانس درمنه ایرانی بر اساس حداقل غلظت کشندگی در برابر باکتری‌های بیماری‌زا در شکل ۵، نشان داده شده است. حداقل غلظت مهارکنندگی برای باکتری *باسیلوس سوبتلیس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کلی* برابر با ۲۵۶ mg/mL، *شیگلا دیسانتری* و *کلبسیلا ائروژنز* برابر با ۵۱۲ mg/mL و *استرپتوکوکوس پیوژنز* برابر با ۱۲۸ mg/mL بود.

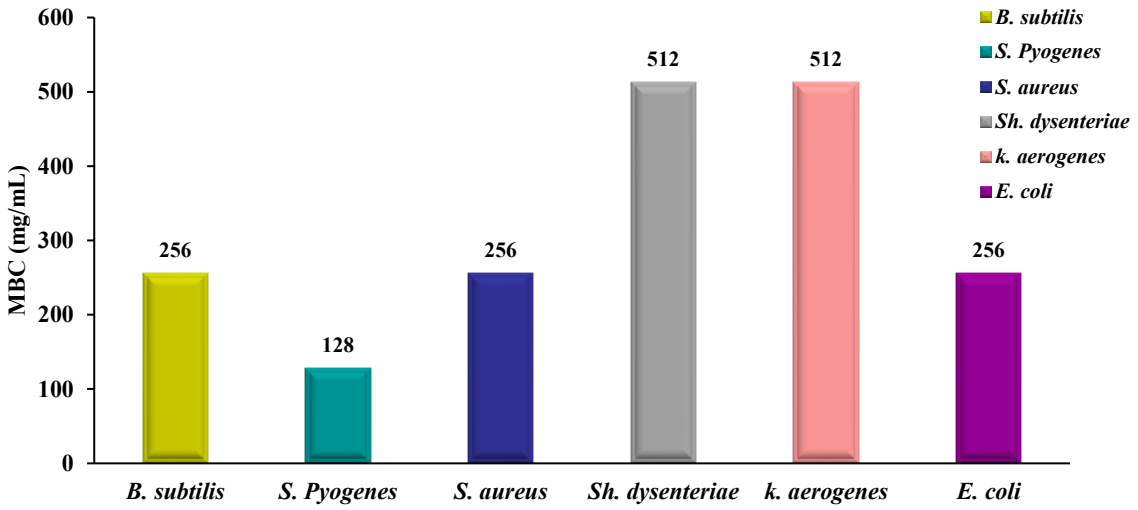

Figure 5. Antimicrobial activity of essential oil of *Artemisia persica* based on minimum bactericidal concentration (MBC) method.

اثر ضدمیکروبی عصاره متانولی درمنه ایرانی بر دو باکتری گرم مثبت توسط نیاکان و همکاران (۱۳۹۶) مورد بررسی قرار گرفت. گزارش کردند که حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC)عصاره برای هر دو باکتری ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت کشندگی(MBC) عصاره برای *استافیلوکوکوس اورئوس* ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای *باسیلوس سوبتیلیس* ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود [۲۸]. در پژوهشی دیگر، فعالیت ضدباکتریایی و حداقل غلظت‌های بازدارنده و کشنده (MIC و MBC) اسانس درمنه روی طیف وسیعی از باکتری‌ها بررسی شد. دریافتند که اسانس اثر مهاری قوی‌تری بر باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *باسیلوس سوبتلیس*) نسبت به باکتری‌های گرم منفی (*اشریشیا کلی*، *کلبسیلا پنومونی* و *پروتئوس وولگاریس*) داشته است [۴]. خضری و همکاران (۲۰۲۱) در پژوهشی به ارزیابی اثر ضد-باکتریایی اسانس درمنه ایرانی با غلظت‌های ۷۵ و ۱۵۰ ppm به همراه باکتری *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* در افزایش ماندگاری و بهبود کیفیت میکروبی و حسی دوغ پرداختند. نتایج این پژوهش حاکی از آن بود که ترکیب اسانس درمنه ایرانی با غلظت ۱۵۰ ppm و پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* اثری هم‌افزایی در مهار رشد باکتری‌های پاتوژن *لیستریا مونوسیتوژنز* و *اشریشیا کلی* در دوغ داشته است [۲۹].

۴. نتیجه‌گیری

در این پژوهش، اسانس درمنه ایرانی از نظر ترکیبات فیتوشیمیایی؛ فنول و فلاونوئید کل و همچنین فعالیت آنتی-اکسیدانی و ضدمیکروبی آن مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد که اسانس درمنه حاوی مقادیر قابل توجهی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی می‌باشد. حضور این ترکیبات به عنوان یک عامل آنتی‌اکسیدانی، می‌تواند مکانیسم

اصلی بروز فعالیت‌های ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی مشاهده شده در این اسانس باشد. همچنین، نتایج حاکی از آن است که اسانس مورد مطالعه به دلیل دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی، پتانسیل بالایی برای کاربرد در درمان بیماری‌های ناشی از استرس‌های اکسیداتیو و عفونت‌های میکروبی دارد. با این حال، برای گسترش کاربردهای این اسانس در صنایع غذایی و دارویی، انجام مطالعات گسترده‌تری جهت شناسایی دقیق مکانیسم‌های مولکولی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی ضروری است.

۵- تقدیر و تشکر

مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی با کد ۱۴۰۳/۲۴ می‌باشد، لذا از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

۶-منابع

[1] Alizadeh Behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., Shahidi, F., & Mohebbi, M. (2012). Antimicrobial activity of Avicennia marina extracts ethanol, methanol & glycerin against Penicillium digitatum (citrus green mold). *Scientific Journal of Microbiology, 1*(7), 147-151.

[2] Alizadeh Behbahani, B., Farideh Tabatabaei, Y., Ali, M., Mohammad Mahdi, G., Fatemeh, Z., & Alireza, V. (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.

[3] 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.

[4] Younessi-Hamzekhanlu, M., Sanjari, S., Dejahang, A., Karkaj, E. S., Nojadeh, M. S., Gönenç, T. M., & Ozturk, M. (2020). Evaluation of essential oil from different Artemisia fragrans willd. Populations: chemical composition, antioxidant, and antibacterial activity. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, *23*(6), 1218-1236.

[5] Mirjalili, B. F., Meybody, M. H. H., Ardakani, M. M., Rustaiyan, A., Ameri, N., Masoudi, S., & Bamoniri, A. (2006). Chemical composition of the essential oil from aerial parts, leaves, flowers and roots of Artemisia persica Boiss. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, *18*(5), 544-547.

[6] Nikbakht, M. R., Sharifi, S., Emami, S. A., & Khodaie, L. (2014). Chemical composition and antiprolifrative activity of Artemisia persica Boiss. and Artemisia turcomanica Gand. essential oils. *Research in pharmaceutical sciences*, *9*(2), 155-163.

[7] Rustaiyan, A., & Masoudi, S. (2011). Chemical constituents and biological activities of Iranian Artemisia species. *Phytochemistry letters*, *4*(4), 440-447.

[8] Ranjbar, M., Naghavi, M. R., & Alizadeh, H. (2020). Chemical composition of the essential oils of Artemisia species from Iran: a comparative study using multivariate statistical analysis. *Journal of Essential Oil Research*, *32*(4), 361-371.

[9] 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.

[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] Tabatabai Yazdi, F., & 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).

[12] Hosseinzadeh, M. H., Arab, A., Emad, N., Bodaghabadi, F., Boroughani, M., Rajabzadeh, F., ... & Ebrahimzadeh, M. A. (2023). Pharmacological and biological activities of Artemisia persica: A review. *Tabari Biomedical Student Research Journal*, *5*(1), 25-32.

[13] Khezri, S., Khezerlou, A., & Dehghan, P. (2021). Antibacterial activity of Artemisia persica Boiss essential oil against Escherichia coli O157: H7 and Listeria monocytogenes in probiotic Doogh. *Journal of Food Processing and Preservation*, *45*(5), e15446.

[14] Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M., & Falah, F. (2020). The combined effect of the combined Fennel and Clove essential oils on Staphylococcus epidermidis, Bacillus cereus, Salmonella typhi and Enterobacter aerogenes using Checkerboard assay (fractional inhibitory concentration index). *Journal of food science and technology (Iran)*, *17*(106), 75-83.

[15] Tabatabai Yazdi, F., Behbahani, B. A., 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).
[16] Alizadeh Behbahani, B., Falah, F., Vasiee, A., Tabatabaei, Y. F., & Mortazavi, S. A. (2019). Antimicrobial effect of Citrus aurantium essential oil on some foodborne pathogens and determination of its chemical compounds, total phenol content, total flavonoids content and antioxidant potential. *FSCT*, 16 (87) :291-304.
[17] Jalil Sarghaleh, S., Alizadeh Behbahani, B., Hojjati, M., Vasiee, A., & Noshad, M. (2023). Evaluation of the constituent compounds, antioxidant, anticancer, and antimicrobial potential of Prangos ferulacea plant extract and its effect on Listeria monocytogenes virulence gene expression. *Frontiers in microbiology*, *14*, 1202228.
[18] Tabatabai Yazdi, F., Tanhaeian, A., Azghandi, M., Vasiee, A., Behbahani, B. A., Mortazavi, S. A., & Roshanak, S. (2019). Heterologous expression of thrombocidin-1 in Pichia pastoris: evaluation of its antibacterial and antioxidant activity. *Microbial pathogenesis*, *127*, 91-96.
[19] Alizadeh Behbahani, B., Falah, F., Vasiee, A., & Tabatabaei 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.
[20] 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.
[21] 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.
[22] Alizadeh Behbahani, B. A., 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).
[23] Houshmand, S., Alizadeh-Salteh, S., Bolandnazar, S., & Aryakia, E. (2023). Investigating of Phytochemical Compositions and Antioxidant Potential of Ethanol and Ethyl Acetate Extracts of Three Ecotypes of Medicinal Plant Artemisia absinthium. *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology*, *24*(3), 345-358.
[24] Mazarie, A., Mousavi-Nik, S. M., & Fahmideh, L. (2018). Assessments of phenolic, flavonoid and antioxidant activity of aqueous, alcoholic, methanol and acetone extracts of thirteen medicinal plants. *Nova Biologica Reperta*, *4*(4), 299-309.
[25] Younsi, F., Trimech, R., Boulila, A., Ezzine, O., Dhahri, S., Boussaid, M., & Messaoud, C. (2016). Essential oil and phenolic compounds of Artemisia herba-alba (Asso.): Composition, antioxidant, antiacetylcholinesterase, and antibacterial activities. *International journal of food properties*, *19*(7), 1425-1438.
[26] Mahboubi, M., & Bidgoli, Q. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of Artemisia aucheri Boiss. essential oil. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, *25*(3), 429-440.
[27] Nahid, A., Neelabh, C., & Navneet, K. (2017). Antioxidant and antimicrobial potentials of Artemisia Indica collected from the Nepal region. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, *9*(10), 1822-1826.
[28] Niakan, M., Attarpourizdi, M. M., Safayi Ghomy, J., Khalooei, M., & Jafari, Z. (2011). The effect of methanolic extract of Iranian Artemisia (Artemisia persica) on the growth kinetics of Staphylococcus aureus and Bacillus subtilis bacteria. Journal of Medicinal Plants, *10*(4), 40-49.
[29] Khezri, S., Khezerlou, A., & Dehghan, P. (2021). Antibacterial activity of Artemisia persica Boiss essential oil against Escherichia coli O157: H7 and Listeria monocytogenes in probiotic Doogh. *Journal of Food Processing and Preservation*, *45*(5), e15446.

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

A study on the antimicrobial, antioxidant, and phytochemical compounds of the essential oil of *Artemisia persica*

Behrooz Alizadeh Behbahani*[1], Mohammad Noshad[1], Parisa Ghasemi[2]

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

2- PhD student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran. Iran.

ARTICLE INFO

Article History:

Received:2025/3/11

Accepted:2025/4/21

Keywords:

Antioxidant activity,

Essential oil,

Artemisia persica,

Pathogenic strains.

DOI: 10.22034/FSCT.22.165.238.

*Corresponding Author E-

B.alizadeh@asnrukh.ac.ir

ABSTRACT

Essential oils are volatile, aromatic organic compounds produced as secondary metabolites in plants. They often exhibit significant biological activities, including antimicrobial, anti-inflammatory, and antioxidant properties. In this study, the antimicrobial, antioxidant activities and phytochemical compounds of the essential oil of Iranian Artemisia were investigated. The antimicrobial activity of the essential oil was evaluated based on agar disk diffusion, agar well diffusion, minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration methods. Furthermore, to investigate the phytochemical compounds, including total phenolic and flavonoid contents, Folin-Ciocalteu and aluminum chloride colorimetric methods were used, respectively. Antioxidant activity was evaluated based on DPPH and ABTS radical scavenging activity. Antimicrobial tests revealed that the essential oil under investigation exhibited significant inhibitory effects against both Gram-positive and Gram-negative bacteria, including *Streptococcus pyogenes*, *Shigella dysenteriae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, and *Klebsiella aerogenes*. The examined essential oil contained acceptable amounts of phenolic compounds (31.2 ± 1.27 mg GAE/g) and flavonoid compounds (17.49 ± 1.19 mg QE/g) and had a significant ability to inhibit DPPH free radicals. (52.43±1.41) and ABTS (57.49±1.37). The present study showed that the investigated essential oil has a significant potential as a therapeutic agent for diseases caused by oxidative stress and microbial infections.