مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

ارزیابی پتانسیل آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتریایی، فنولی و فلاونوئید کل اسانس درمنه سیبری در شرایط آزمایشگاهی

بهروز علیزاده بهبهانی*[۱]، محمد نوشاد[۱]، پریسا قاسمی[۲]

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: ۱۴۰۴/۱/۲۶

کلمات کلیدی:

درمنه سیبری،
حداقل غلظت کشندگی،
حداقل غلظت مهارکنندگی،
رادیکال آزاد DPPH،
رادیکال آزاد ABTS.

DOI: 10.22034/FSCT.22.165.249.

* مسئول مکاتبات:

B.alizadeh@asnrukh.ac.ir

چکیده

گیاه درمنه سیبری (*Artemisia sieberi*)، یکی از گونه‌های جنس درمنه (Artemisia) با پراکنش گسترده در ایران و خاورمیانه، به دلیل خواص دارویی متنوع از جمله اثرات ضد-میکروبی مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این پژوهش، تعیین محتوای فنول و فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (مهار رادیکال آزاد DPPH و ABTS) و فعالیت ضد-میکروبی (دیسک و چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی) اسانس درمنه سیبری بود. مقدار فنول و فلاونوئید کل به ترتیب برابر با ۰/۵۳±۴۴/۶۲ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم و ۰/۲۹±۱۸/۲۰ میلی‌گرم کوئرستین در گرم تعیین شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز براساس درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH و ABTS به ترتیب برابر با ۵۸/۱±۲۶/۵۷ و ۱/۴۲±۶۳/۷۴ به دست آمد. نتایج حاصل از ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی به دو روش دیسک و چاهک آگار نشان داد که باکتری‌های گرم مثبت *استرپتوکوکوس پیوژنز* و *لیستریا مونوسیتوژنز* حساسترین سویه‌ها به اسانس درمنه سیبری بودند. حداقل غلظت کشندگی این اسانس روی باکتری‌های گرم مثبت؛ *استرپتوکوکوس پیوژنز*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *باسیلوس سرئوس* به ترتیب ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ۱۲۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. همچنین، این اسانس روی باکتری‌های گرم منفی مانند *شیگلا دیسانتری* و *سالمونلا تیفی موریوم* با غلظت ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر موثر بود، به جز *کلبسیلا ائروژنز* که در غلظت ۲۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر حساسیت نشان داد. بنابراین، از اسانس درمنه سیبری می‌تواند به عنوان یک ضدمیکرب طبیعی موثر در برابر عفونت‌های باکتریایی مورد استفاده قرار گیرد.

۱-مقدمه

گیاه درمنه (*Artemisia*) با بیش از ۵۰۰ گونه گیاهی علفی و درختچه‌ای، یکی از پرشمارترین و متنوع‌ترین جنس‌های تیره کاسنی (Asteraceae) به شمار می‌رود. این جنس در سراسر جهان، از مناطق معتدل شمالی تا نیمه‌گرمسیری و گرمسیری گسترش یافته است و گونه‌های آن در طیف وسیعی از زیستگاه‌ها، از جمله مراتع، بیابان‌ها، جنگل‌ها و اراضی کشاورزی یافت می‌شوند [۱]. درمنه سیبری (*Artemisia sieberi*)، درختچه‌ای سبز چند ساله است که در مزارع باز، کنار جاده‌ها، دره‌ها و بیابان‌ها با ارتفاع ۵۰ تا ۱۵۰ سانتی‌متر و برگ‌های متناوب، پنجه‌ای و کرک‌دار رشد می‌کند. این گیاه دارویی در کل منطقه خاورمیانه به طور گسترده به عنوان ضدانگل، ضد مالاریا و برای درمان زخم‌های قانقاریایی و عفونی استفاده می‌شود [۲]. درمنه سیبری سابقه دیرینه‌ای در طب سنتی جوامع مختلف دارد و به عنوان منبع غنی از ترکیب‌های ثانویه با خواص دارویی متعدد شناخته شده است [۳]. مطالعه‌های علمی نشان داده‌اند که عصاره‌ها و اسانس درمنه سیبری فعالیت ضدمیکروبی قوی علیه طیف گسترده‌ای از باکتری‌ها، قارچ‌ها و انگل‌ها دارند. این خواص به دلیل وجود ترکیبات سس‌کوئی‌ترپن لاکتون‌ها و سایر متابولیت-های ثانویه در گیاه است. همچنین، این ترکیبات به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند و از سلول‌ها در برابر آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کنند [۳و٤].

اجزای آنتی‌اکسیدان مانند فنل کل ، تانن کل و فلاونوئید کل به همراه مشتقات آن‌ها نظیر اسید گالیک، اسید تانیک و کورستین، به دلیل فواید سلامتی قابل توجه‌شان، به عنوان مواد مغذی مهم در نظر گرفته می‌شوند. مطالعه‌های اپیدمیولوژیک و آزمایشگاهی شواهد قوی و رو به رشدی را ارائه می‌کنند که نشان می‌دهد برخی از گیاهان خوراکی و ترکیبات ثانویه آن‌ها دارای فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی هستند که می‌توانند تأثیر محافظتی قابل توجهی در برابر فرآیند سرطان‌زایی در انسان داشته باشند [۵]. گونه‌های درمنه نیز دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند که می‌توانند با مقابله با استرس اکسیداتیو، خطر ابتلا به بیماری‌های پیچیده را کاهش دهند [٦].

اسانس‌های گیاهی، عصاره‌های فرار و غلیظی هستند که از بخش‌های مختلف گیاهان استخراج می‌شوند و به دلیل عطر و طعم منحصر به فردشان شناخته شده‌اند [۷]. اسانس‌ها به دلیل اثربخشی در درمان طیف وسیعی از اختلالات باکتریایی، قارچی و ویروسی، پتانسیل بالایی در زمینه پزشکی زیستی دارند [۸]. از آنجایی که اسانس‌ها حاوی انواع مختلف آلدهیدها، فنولیک‌ها، ترپن‌ها و سایر اجزای ضدباکتری هستند، در برابر انواع بیماری‌ها موثر هستند. مطالعات قبلی نشان داده است که اسانس درمنه دارای خواص ضدمیکروبی بوده و می‌توان از آن‌ها برای مصارف دارویی مختلف استفاده کرد [۹]. علاوه‌بر این، مشخص شد که اسانس گونه‌های درمنه خاصیت ضدقارچی در برابر برخی گونه‌های فوزاریوم مانند *F. moniliforme* ، *F. solani* و *F. sporotrichioides* نیز دارد [۱۰].

مطالعات متعدد پتانسیل بالای این گیاه در دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتریایی و ضدقارچی را نشان داده‌اند [۱۱، ۱۲ و ۱۳]. این ویژگی‌ها، گیاه را به عنوان یک جایگزین طبیعی برای آنتی‌اکسیدان‌ها و آنتی‌بیوتیک‌های مصنوعی معرفی می‌کند. تاثیر مهاری عصاره‌های آبی و الکلی گیا درمنه دشتی (سیبری) بر رشد قارچ *کاندیدا آلبیکنس*، توسط طاهری و همکاران (۱۳۹۷) مورد بررسی قرار گرفت. عصاره اتانولی بیشترین اثر ضد قارچی را داشت و در غلظت‌های کم نسبت به عصاره‌های آبی و متانولی قادر به مهار رشد قارچ بود. با این حال گزارش کردند که *کاندیدا آلبیکنس* به عصاره‌های هیدروالکلی مقاومت نشان داده است [١٤]. محبوبی و همکاران (۲۰۱٤) با بررسی ویژگی‌های شیمیایی اسانس درمنه سیبری (ایران و فرانسه) بیان کردند که ترکیبات اصلی اسانس درمنه سیبری شامل بتا-توژون، کامفر، سینئول و آلفا-توژون است. همچنین فعالیت ضدمیکروبی مشابهی

برای اسانس‌ها درمنه گزارش کردند و بیشترین اثر ضد-میکروبی روی *استافیلوکوکوس اورئوس* و *کاندیدا آلبیکانس* مشاهده کردند [۱۵]. همچنین، هاشمی و همکاران (۱۳۹۳) اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس درمنه سیبری بر پایداری اکسایشی روغن سرخ کردنی را گزارش کردند [۱۶].

هدف از این مطالعه، استخراج اسانس درمنه سیبریایی و بررسی محتوای فنول کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی-اکسیدانی و ضدمیکروبی اسانس درمنه سیبری در برابر تعدادی از باکتری‌های عامل عفونت و مسمویت غذایی به منظور توسعه کاربردهای بالقوه آن در صنایع غذایی و دارویی بود.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد شیمیایی و سویه‌های میکروبی

در این پژوهش از رادیکال آزاد DPPH، رادیکال آزاد ABTS، کربنات سدیم، آلومنیوم تری کلراید، فولین سیوکالتو، کوئرستین، تری فنیل تترازولیوم کلراید، محیط‌های کشت مولر هیتون براث و آگار استفاده شد. مواد شیمیایی از شرکت مرک (آلمان) و سیگما آلدریچ (آمریکا) تهیه شدند. از سویه‌های *باسیلوس سرئوس*، *استرپتوکوکوس پیوژنز*، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *شیگلا دیسانتری*، *کلبسیلا ائروژنز* و *سالمونلا تیفی موریوم* استفاده شد. این سویه‌ها از کلکسیون میکروبی گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان تهیه شدند.

۲-۲- تهیه اسانس

گیاه درمنه سیبریایی از یکی از مراکز فروش گیاهان دارویی مورد تأیید در شهر اهواز تهیه شد. پس از تایید نام علمی گیاه توسط متخصص گیاه شناسی در دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، آسیاب شده و سپس با استفاده از دستگاه کلونجر تحت فرآیند اسانس‌گیری قرار گرفتند. در هر بار اسانس‌گیری، ۱۰۰ گرم گیاه خرد شده به همراه یک لیتر آب درون دستگاه ریخته شده و به مدت سه ساعت فرآیند استخراج انجام گرفت. اسانس استخراج شده در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد و درون بطری‌های شیشه‌ای تیره رنگ نگهداری می‌شد [۱۷].

۲-۳- میزان فنول و فلاونوئید کل

محتوای فنول کل با استفاده از روش رنگ سنجی فولین-سیوکالتو و بر حسب اسید گالیک اندازه‌گیری شد. بدین-منظور، به ۵۰۰ میکرولیتراز اسانس رقیق شده در متانول با ۲/۵ میلی‌لیتر واکنشگر فولین سیوکالتو ۱۰ درصد مخلوط شد. سپس ٤ میلی‌لیتر سدیم کربنات ۷ درصد به آن اضافه و به مدت ۱۵ دقیق در حمام آبی با دمای ٤۵ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون شد تا فاز آبی گسترش یابد و سپس جذب آن در طول موج ۷٦۵ نانومتر دستگاه اسپکتوفتومتر خوانده شد [۱۸]. محتوای فلاونوئید کل اسانس درمنه سیبری از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومنیوم مطابق با روش Heydari و همکاران (۲۰۲۰)، انجام گردید. به طور خلاصه، ۵۰۰ میکرولیتر اسانس رقیق شده با متانول (نسبت رقت ۱:۱۰) ، ۱۰۰ میکرولیتر محلول کلرید آلومینیوم ۱۰٪ ، ۱۰۰ میکرولیتر محلول استات پتاسیم ۱ مولار مخلوط و با آب مقطر به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد و جذب آن در طول موج ٤۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید. محتوای فلاونوئید کل براساس منحنی کالیبراسیون استاندارد کوئرستین و به صورت میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم (mg QE/g) محاسبه شد [۱۹].

۲-٤- ارزیابی خاصیت فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس

اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس درمنه ایرانی با استفاده از دو روش سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، شامل مهار رادیکال آزاد DPPH و مهار رادیکال آزاد ABTS، مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲-٤-۱- ارزیابی مهار رادیکال آزاد DPPH

فعالیت مهارکنندگی مهار رادیکال آزاد DPPH طبق روش علیزاده بهبهانی و همکاران (۲۰۱۹) انجام شد. در این روش، ۱ میلی‌لیتر از اسانس ۱میلی‌لیتر از محلول DPPH (۰/۲ میلی‌مولار) مخلوط شد. پس از ۳۰ دقیقه، جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. قدرت مهارکنندگی اسانس در

برابر رادیکال آزاد DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد [۲۰]:

Inhibition %=([AC-AS]/AC) ×100

در این فرمول، AC جذب نمونه‌ی کنترل (محلول متانولی DPPHبدون اسانس) است و AS جذب نمونه‌ی آزمون (محلول متانولی DPPH با اسانس) می‌باشد.

۲-٤-۲- ارزیابی مهار رادیکال آزاد ABTS

در این روش، ابتدا محلول ABTS و پتاسیم پرسولفات به منظور تولید رادیکال‌های آزاد ABTS با یکدیگر مخلوط شدند. سپس ۳ میلی‌لیتر از اسانس به ۳ میلی‌لیتر محلول رادیکالی ABTS اضافه گردید. سپس جذب نمونه در طول مو ۷۳٤ نانومتر خوانده شد. فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS اسانس با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد [۲۱]:

Inhibition %=([AC-AS]/AC) ×100

در این فرمول، AC جذب نمونه کنترل (محلول کاتیون رادیکالی ABTS بدون اسانس) است و AS جذب نمونه آزمون (محلول کاتیون رادیکالی ABTS با اسانس) می‌باشد.

۲-۵- فعالیت ضد میکروبی

مطالعه حاضر از روش‌های مختلفی برای ارزیابی اثر ضد-میکروبی اسانس درمنه سیبریایی بهره برد. این روش‌ها شامل انتشار دیسک، انتشار در چاهک آگار، تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) بود.

۲-۵-۱- دیسک دیفیوژن آگار

این آزمایش در پتری دیش‌های استریل (قطر ۸۰ میلی‌متر) حاوی محیط کشت مولر هیتون آگار انجام شد. به طور خلاصه، ۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروارگانیسم مورد آزمایش روی محیط کشت گسترش داده شد. سپس، دیسک-های کاغذی استریل (قطر ٦ میلی‌متر) آغشته به ۳۰ میکرولیتر اسانس روی سطح محیط کشت که قبلاً با میکروارگانیسم تلقیح شده بود، قرار گرفته شد. برای جلوگیری از تداخل احتمالی اثر اسانس‌ها، تنها یک دیسک در هر پتری دیش قرار داده شد. سپس به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. پس از انکوباسیون، قطر هاله مهار رشد باکتری اطراف هر دیسک اندازه گیری شد [۲۲].

۲-۵-۲- چاهک آگار

در این آزمایش، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی با غلظت تقریبی (colony forming unit (CFU)/mL $۱/۵ \times ۱۰^{۸}$) روی محیط کشت مولر هیتون آگار کشت داده شد. حفره‌هایی به قطر ٦ میلی‌متر در آگار ایجاد گردید. سپس ۵۰ میکرولیتر از اسانس درون چاهک‌ها ریخته شد. پلیت‌ها به مدت ۱۸ تا ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. فعالیت ضدمیکروبی با اندازه‌گیری قطر هاله مهار رشد باکتری‌ها در اطراف چاهک‌ها ارزیابی گردید [۲۳].

۲-۵-۳- غلظت مهار کنندگی و حداقل غلظت کشندگی

حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) و حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) با استفاده از روش رقت در محیط مایع تعیین شد [۲٤ و ۲۳]. اسانس در در محیط کشت مولر هینتون براث، حاوی توئین ۲۰ (با غلظت نهایی ۱۰ درصد حجمی/حجمی) حل شد. رقت‌های متوالی دو برابری از اسانس در پلیت ۹٦ خانه‌ای ریخته شد. سپس به همه چاهک‌ها، تلقیح باکتری انجام شد و پلیت ها به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. رشد باکتری با افزودن ۲۰ میکرولیتر محلول آبی ۰/۰۵ درصد تترازولیوم کلرید ۲،۳،۵ تری فنیل (TTC) قابل مشاهده شد. MICبه عنوان پایین‌ترین غلظت اسانس تعریف شد که مانع از رشد قابل مشاهده باکتری می‌شود. (مشاهده رسوب قرمز رنگ در ته چاهک‌ها بعد از اضافه کردن TTC). حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) نیز به عنوان پایین‌ترین غلظتی که منجر به مرگ ۹۹/۹ درصد سلول‌های باکتری می‌شود، تعریف گردید. برای تعیینMBC ، از هر چاهک که رشد باکتری در آن غیر قابل مشاهده بود، مقداری برداشته شده و روی محیط کشت مولر هینتون آگار به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت داده شد. کلیه آزمایش سه بار تکرار گردید [۲٦].

۲-٦- آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ انجام گرفت و جهت سنجش معناداری اختلاف بین

میانگین‌ها، از آزمون ANOVA یک‌طرفه و آزمون تعقیبی دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p<0.05$) استفاده شد. جهت ترسیم نمودارها از نرم افزار اکسل نسخه (۹) استفاده گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- محتوای فنول و فلاونوئید کل

گیاهان دارویی به واسطه سابقه طولانی در درمان بیماری‌ها، جایگاه ویژه‌ای در طب سنتی و نوین یافته‌اند. در میان ترکیبات فعال موجود در گیاهان دارویی، ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی به دلیل نقش قابل توجه‌شان در سلامت انسان، مورد توجه ویژه محققان قرار گرفته‌اند [۱۱]. نتایج حاصل از اندازه‌گیری ترکیبات فنول کل به روش فولین–سیوکالتو و فلاونوئید با روش رنگ‌سنجی کلرید آلومنیوم در شکل ۱، نشان داده شده است. محتوای فنول کل برابر با ۰/۵۳±۴۴/۶۲ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم و محتوای فلاونوئید کل برابر با ۰/۲۹±۱۸/۲۰ میلی‌گرم کوئرستین در گرم بود. یافته‌های ما با چندین مطالعه دیگر که وجود این ترکیبات در همین گونه گیاهی اما در مناطق مختلف جهان گزارش کرده‌اند، مطابقت دارد [۱۱]. در پژوهشی، به بررسی ترکیبات زیست فعال عصاره متانولی گونه‌های از درمنه پرداخته شد، آن‌ها گزارش کردند که گونه سیبری دارای ۱۹۴/۳۰ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم فنول کل و ۱۸/۲۲ میلی‌گرم کوئرستئین فلاونوئید کل بود و به دنبال آن *A. judaica* و *A. monosperma* قرار داشتند [۲۷]. علاوه‌براین، آریانفر و همکاران (۱۳۹۷) خصوصیات فیتوشیمیایی دو گونه از گیاه درمنه (کوهی و سیبری) را مورد بررسی قرار دادند، نتایج آن‌ها نشان داد که گونه درمنه سیبری نسبت به گونه درمنه کوهی فنول و فلاونوئید کل بیشتری داشت[۲۸].

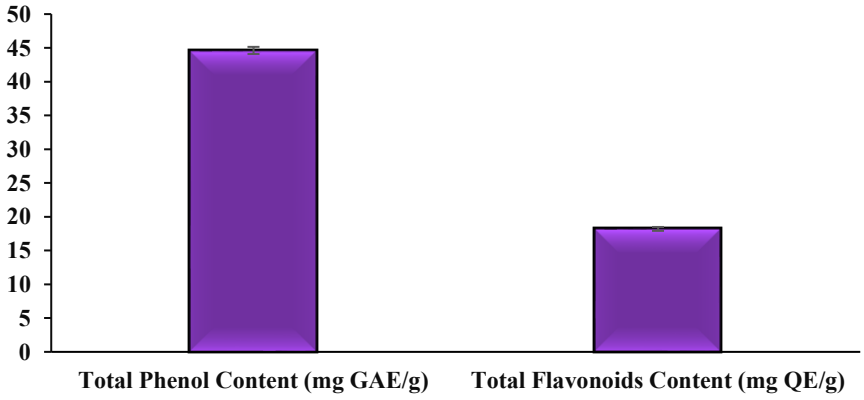

Fig. 1- Total phenolic and flavonoid content of *Artemisia sieberi* essential oil

پژوهش‌های متعددی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را به وجود ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی نسبت داده‌اند. این ترکیب‌ها توانایی بالایی در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد غیرفیزیولوژیکی مانند DPPH و ABTS دارند [۱۱]. میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS به ترتیب ۲۶/۵۷±۵۸/۱ و ۱/۴۲±۶۳/۷۴ درصد بود (شکل ۲). مطالعه‌های پیشین توسط نصر و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد که این گونه از درمنه دارای فعالیت آنتی‌اکسیدنی (مهار رادیکال‌های آزاد DPPH برابر با ۰/۲۹±۶۱/۳ و ABTS برابر با ۲/۳±۷۱/۳ درصد) است [۶]، که با یافته‌های ما مطابق دارد. محبوبی و همکاران (۲۰۱۵) طی بررسی روی اسانس گیاه درمنه سبریایی، نشان دادند که این اسانس حاوی فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی است که آن به ترکیب‌های از جمله ۸، ۱–سینئول،کافور ، α - توژون، β - توجون، بورنئول و الکل سنتولینا نسبت دادند [۲۹]. پژوهش‌ها نشان داده است که درمنه سیبری دارای پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بالایی است [۳۰ و ۳۱]. قاسمی و همکاران (۲۰۲۱) در پژوهشی، به بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره گونه از درمنه سیبریایی (*Artemisia sieberi Besser*) پرداختند. یافته‌های آن‌ها نشان داد اسانس و عصاره این گونه به ترتیب دارای ۸۴/۰۴ و ۸۹/۳۳ درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH) است

[۳۲]. علاوه بر این، گونه‌های مختلف جنس درمنه از نظر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تفاوت‌های وجود دارد [۳۳]. این تفاوت می‌تواند به مقدار ترکیبات فنلی، از جمله فلاونوئید، و همچنین شرایط آب و هوایی و ویژگی‌های خاک مناطق رویشی آن‌ها نسبت داده شود.

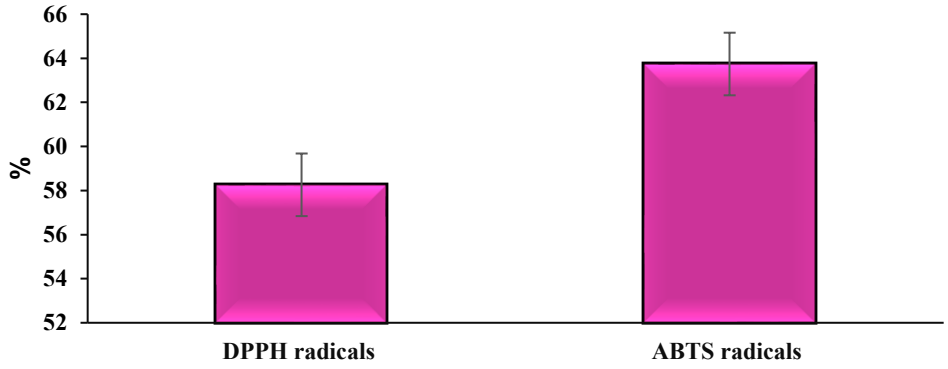

Fig. 2- Antioxidant activity of *Artemisia sieberi* essential oil.

۳-۲- دیسک دیفیوژن و چاهک آگار

نتایج اثر ضدمیکروبی اسانس درمنه سیبریایی در برابر سویه‌های باکتریایی بیماری‌زا بر اساس روش دیسک دیفیوژن آگار در شکل ۳ ارائه شده است. نتایج نشان داد که باکتری‌های گرم مثبت؛ *باسیلوس سرئوس* (۱۲/٤۰±۰/٦۲)، *استرپتوکوکوس پیوژنز* (۰/۵۲ ± ۱٦/٦۰) و *لیستریا مونو سیتوژنز* (۱۵/۳۰±۰/٤۳) نسبت به باکتری‌های گرم منفی؛ *شیگلا دیسانتری* (۰/۲۸ ± ۱۰/۸۰)، *کلبسیلا ائروژنز* (۱۲/۰±۰۰/٤٦) و *سالمونلا تیفی موریوم* (۱۱/٦۰±۰/٤۸) قطر هاله بازدارندگی بزرگ‌تری مشاهده گردید ($p<0.05$). همچنین نتایج نشان داد، روش چاهک آگار، مشابه روش دیسک دیفیوژن آگار بود. در این بررسی، *استافیلوکوکوس پیوژنز* به عنوان حساس‌ترین سویه و *سالمونلا تیفی موریوم* به عنوان مقاوم‌ترین سویه نسبت به اسانس درمنه سیبری شناخته شدند (شکل ٤). در حالی که قطر هاله بازدارندگی در روش چاهک آگار برای میکروارگانیسم‌های آزمایش شده بالاتر از روش دیسک دیفیوژن آگار بود. این امر را می‌توان به تماس مستقیم عصاره با باکتری‌ها در روش چاهک آگار نسبت داد، در حالی که در روش دیسک دیفیوژن آگار، اثر مهاری عصاره از طریق انتشار ترکیبات ضدمیکروبی آن از سطح دیسک‌ها به محیط حاوی باکتری‌ها اعمال می‌شود [۳٤ و ۳۵]. بنابراین، روش چاهک آگار به دلیل تماس مستقیم عصاره با باکتری‌ها، حساسیت سویه‌های باکتریایی را به طور دقیق‌تر نشان می‌دهد.

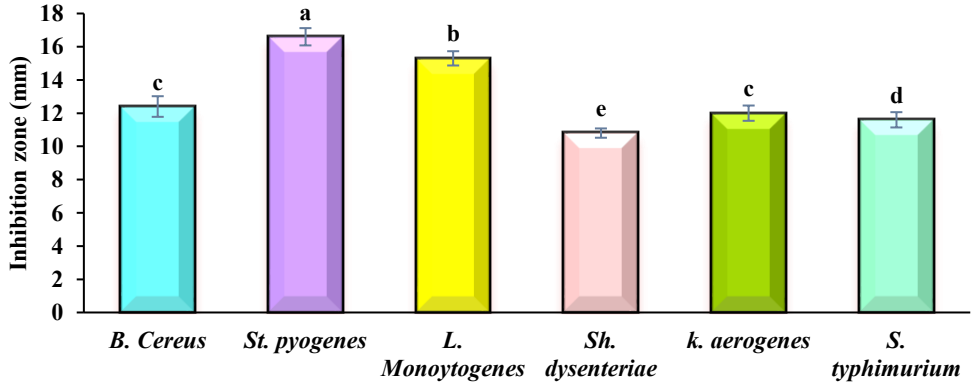

Fig. 3- Antimicrobial activity of *Artemisia sieberi* essential oil based on disk diffusion agar assay.

در پژوهش محبوبی و همکاران (۲۰۱۵) اثر ضد میکروبی اسانس درمنه سیبری را علیه سویه‌های باکتریایی (*سودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کلی*) به روش دیسک دیفیوژن بررسی نمودند. نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد که *سودوموناس آئروژینوزا* حساس‌ترین و اشریشیاکلی مقاوم‌ترین باکتری نسبت به اسانس درمنه سیبری بوده‌اند[۲۹]. نتایج این پژوهشگران با نتایج حاصل از پژوهش ما قابل مقایسه است. پژوهشی دیگر اثر ضدمیکروبی اسانس درمنه سیبری را نشان داد. نتایج این مطالعه نشان داد که اسانس درمنه سیبری حاوی آلفا–تویون، بتاتویون و کافور به عنوان ترکیبات اصلی، فعالیت ضد میکروبی قابل توجهی در برابر طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا از جمله باکتری‌ها و قارچ‌ها بود. به طوری که باکتری‌های گرم مثبت و قارچ‌ها نسبت به باکتری‌های گرم منفی حساس‌تر (قطر هاله بازدارندگی بزرگ‌تر) بودند. در میان باسیل‌های گرم مثبت، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *باسیلوس سرئوس* و در بین کوکسی‌های گرم مثبت، استرپتوکوکوس موتانس حساسیت بیشتری نسبت به سایرین نشان دادند [۳۶]. همچنین فعالیت ضدباکتریایی و ضدقارچی این اسانس توسط محمدی و همکاران (۲۰۱۷) گزارش شد [۳۷].

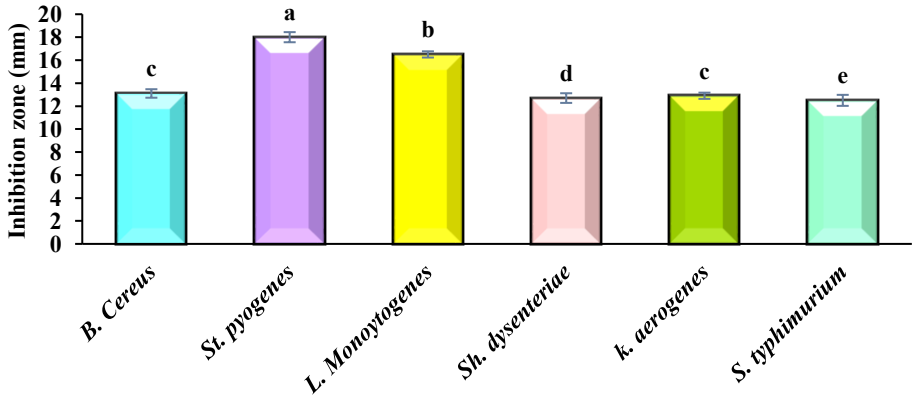

Fig. 4- Antimicrobial activity of *Artemisia sieberi* essential oil based on well diffusion agar assay.

باکتری‌ها بودند ($p<0.05$). این یافته‌ها با نتایج حاصل از روش‌های دیسک دیفیوژن آگار و چاهک آگار همخوانی داشت. در مطالعه‌ای توسط محمدی و همکاران (۲۰۱۷)، نتایج نشان دادند که این اسانس فعالیت ضدباکتریایی قوی در برابر *باسیلوس سوبتلیس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* با حداقل غلظت‌های کشندگی (MIC) به ترتیب ۵۰ و ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و باکتری‌های گرم منفی، *اشرشیا کلی* و *سودوموناس آئروژینوزا*، کمی ضعیف‌تر بود، به طوری که MICبرای هر دو باکتری ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود [۳۷].

۳-۳- حداقل غلظت کشندگی و مهارکنندگی

نتایج فعالیت ضدمیکروبی اسانس درمنه سیبری براساس روش حداقل غلظت کشندگی و مهارکنندگی در شکل ۵ و ۶ ارائه شده است. *استرپتوکوکوس پیوژنز* و *لیستریا مونوسیتوژنز* با ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر حساس‌ترین باکتری‌ها به اسانس درمنه سیبری بودند. در مقابل *شیگلا دیسانتری* و *سالمونلا تیفی موریوم* ۱۲۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مقاوم‌ترین

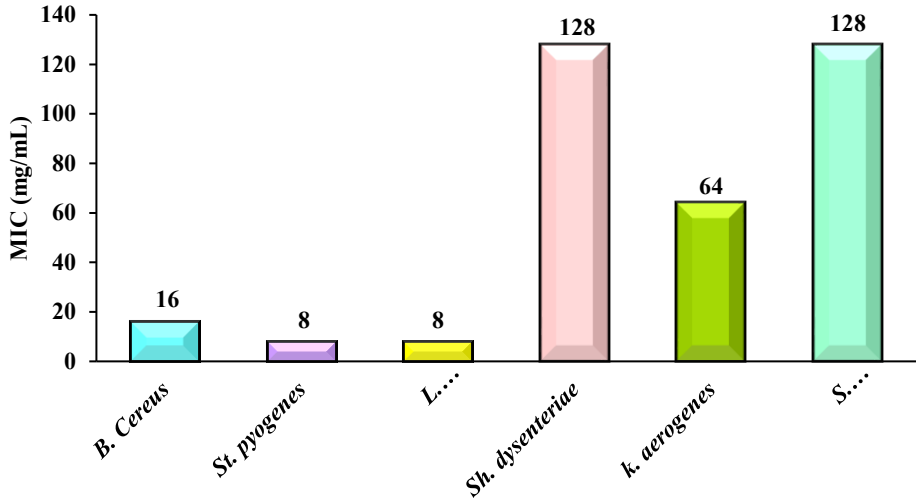

Figure 5. Antimicrobial activity of essential oil of *Artemisia sieberi* based on minimum inhibitory concentration method.

در پژوهشی که توسط قاسمی و همکاران (۲۰۲۱) انجام شد، اثرات ضدقارچی اسانس درمنه سیبری بر روی قارچ بوتریتیس سینئریا مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که این اسانس فعالیت ضدقارچی قوی در برابر این قارچ داشت و در غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میکرولیتر بر لیتر به طور کامل رشد میسلیوم قارچ را مهار کرد و آن را به ترکیبات مونوترپن که عامل اصلی فعالیت ضدقارچی قوی اسانس روغنی درمنه سیبری هستند، نسبت دادند [۳۲]. مونوترپن‌ها دسته‌ای از ترکیبات آلی فرار هستند که به طور طبیعی در بسیاری از گیاهان یافت می‌شوند و به دلیل خواص ضد-میکروبی و ضدقارچی قوی خود شناخته شده‌اند [۳۸]. فعالیت ضدمیکروبی اسانس درمنه سیبری توسط تحقیقات متعددی به اثبات رسیده است. نصر و همکاران (۲۰۲۱) و سینگ و همکاران (۲۰۲۳) ،اثر ضد باکتریایی و قارچی اسانس درمنه سیبری را با روش‌های حداقل غلظت کشندگی (MIC)و حداقل غلظت مهارکنندگی (MBC) گزارش کردند [۳۳ و ۳۰]. جمال و همکاران (۲۰۲۳) فعالیت ضدمیکروبی اسانس درمنه سیبری در برابر چهار گونه باکتریایی مختلف (*باسیلوس سوبتیلیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیا کلی* و *سودوموناس آئروژینوزا*) و همچنین یک گونه قارچی (*کاندیدا تروپیکالیس*) مورد آزمایش قرار دادند. یافته‌های این مطالعه نشان‌دهنده پتانسیل قابل توجه اسانس درمنه سیبری به عنوان یک عامل ضدمیکروبی طبیعی در برابر طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا است. به طور خاص، فعالیت ضدقارچی و ضدباکتریایی قوی این اسانس علیه برخی از پاتوژن‌های مهم انسانی، از جمله *باسیلوس سوبتیلیس* و *استافیلوکوکوس اورئوس*، قابل توجه است [۲]

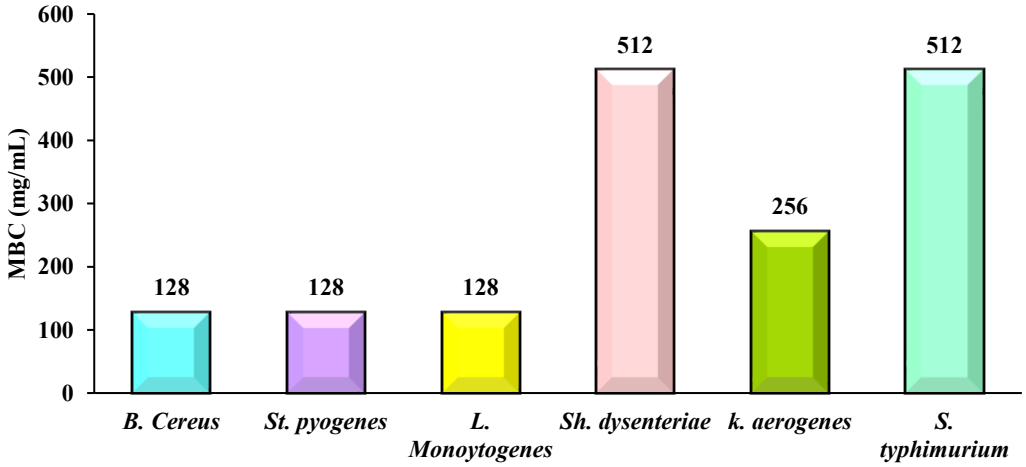

Figure 6. Antimicrobial activity of essential oil of *Artemisia sieberi* based on minimum bactericidal concentration method.

٤- نتیجه‌گیری کلی

نتایج ما نشان داد که بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی آن، همبستگی مثبت و قوی وجود دارد. این یافته‌ها حاکی از آن است که ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی نقش اصلی در ایجاد فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها ایفا می‌کنند. براساس نتایج بدست آمده از بررسی فعالیت ضدباکتریایی، اسانس درمنه سیبری فعالیت ضد-باکتریایی گسترده‌ای علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی از خود نشان داده است و بیشترین اثرگذاری آن روی *استرپتوکوکوس پیوژنز* و *لیستریا مونوسیتوژنز* مشاهده شد. بنابراین، اسانس درمنه سیبری به دلیل دارا بودن ترکیبات زیست فعال با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی، پتانسیل بالایی برای کاربرد در صنایع دارویی و غذایی به عنوان یک منبع طبیعی از ترکیبات زیست فعال دارد. با این حال، برای کاربرد این اسانس به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در صنایع غذایی، مطالعات گسترده‌تر در زمینه ایمنی، سازگاری با سایر افزودنی‌های غذایی و پایداری در شرایط مختلف فرآوری، ضروری است.

٥- تقدیر و تشکر

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

٦-منابع

[1] Mohamed, T. A., Hegazy, M. E. F., Abd El Aty, A. A., Ghabbour, H. A., Alsaid, M. S., Shahat, A. A., & Paré, P. W. (2017). Antimicrobial sesquiterpene lactones from Artemisia sieberi. *Journal of Asian natural products research*, *19*(11), 1093-1101.

[2] Jamal, K., Al-Taweel, A., Bukhari, S. I., Orfali, R., Moubayed, N. M., Al-Qahtani, J., ... & Perveen, S. (2023). Isochlorogenic Acid Glucosides from the Arabian Medicinal Plant Artemisia sieberi and Their Antimicrobial Activities. *Molecules*, *28*(22), 7460.

[3] Bidgoli, R. D., Pessarakli, M., Heshmati, G. A., Barani, H., & Saeedfar, M. (2013). Bioactive and fragrant constituents of Artemisia sieberi Besser grown on two different soil types in Central Iran. *Communications in soil science and plant analysis*, *44*(18), 2713-2719.

[4] Shadat, A. A., Ibrahim, A. Y., Ezzeldin, E., & Alsaid, M. S. (2015). Acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of some medicinal plants for treating neuro degenarative disease. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, *12*(3), 97-103.

[5] Salih, A. M., Qahtan, A. A., & Al-Qurainy, F. (2023). Phytochemicals identification and bioactive compounds estimation of Artemisia Species grown in Saudia Arabia. *Metabolites*, *13*(3), 443.

[6] Nasr, F. A., Noman, O. M., Mothana, R. A., Alqahtani, A. S., & Al-Mishari, A. A. (2020). Cytotoxic, antimicrobial and antioxidant activities and phytochemical analysis of Artemisia judaica and A. sieberi in Saudi Arabia. *African journal of pharmacy and pharmacology*, *14*(8), 278-284.

[7] 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.

[8] 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.

[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] Mehani, M., Segni, L., Terzi, V., Morcia, C., Ghizzoni, R., Goudgil, B., & Benchikh, S. (2018). Antifungal activity of Artemisia herba-alba on various fusarium. *Phytothérapie*, *16*(2), 87.

[11] Azimian, F., & Roshandel, P. (2015). Magnetic field effects on total phenolic content and antioxidant activity in Artemisia sieberi under salinity. *Indian Journal of Plant Physiology*, *20*, 264-270.

[12] Arab, H. A., Rahbari, S., Rassouli, A., Moslemi, M. H., & Khosravirad, F. (2006). Determination of artemisinin in Artemisia sieberi and anticoccidial effects of the plant extract in broiler chickens. *Tropical Animal Health and Production*, *38*, 497-503.

[13] Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The scientific world journal*, *2013*(1), 162750.

[14] Taheri, A. A., Gholampourazizi, I., Hashemi, M. A. S. O. U. D., Farhadi, L., Servatyari, K., & Rouhi, S. (2018). Inhibitory effect of aquatic and alcoholic extracts of Artemisia sieberi on growth of Candida albicans: an in vitro study.
[15] Mahboubi, M., Valian, M., & Kazempour, N. (2015). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of Artemisia sieberi oils from different parts of Iran and France. *Journal of essential oil research*, *27*(2), 140-147.
[16] Hashemi, Z., Hojjati, M., & Taharnejad, M. (2014). Evaluation of antioxidant activity of Artemisia sieberi essential oil on oxidative stability of frying oil. *Food Processing and Preservation Journal*, *6* (1), 19-35.
[17] 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.
[18] Tabatabai Yazdi, F., 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.
[19] 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.
[20] 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 phenolcontent, total flavonoids content and antioxidant potential.
[21] 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.
[22] 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).
[23] 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".
[24] 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.
[24] 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.
[25] 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.
[27] Salih, A. M., Qahtan, A. A., & Al-Qurainy, F. (2023). Phytochemicals identification and bioactive compounds estimation of Artemisia Species grown in Saudia Arabia. *Metabolites*, *13*(3), 443.
[28] Arianfar, M., Akbarinodehi, D., Hemati, K., & Rostampoor, M. (2018). Effects of altitude and aspect on efficiency of producing essence and phytochemical properties of Artemisia aucheri Boiss and Artemisia sieberi Besser in South Khorasan rangelands. *Rangeland*, *12*(3), 281-294.
[29] Mahboubi, M., Valian, M., & Kazempour, N. (2015). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of Artemisia sieberi oils from different parts of Iran and France. *Journal of essential oil research*, *27*(2), 140-147.
[30] Zhang LaiBin, Z. L., Duan JiNao, D. J., & Lv JieLi, L. J. (2017). Phytochemistry and bioactivities of sesquiterpenoids from the Artemisia species.
[31] Boroomand, N., Sadat-Hosseini, M., Moghbeli, M., & Farajpour, M. (2018). Phytochemical components, total phenol and mineral contents and antioxidant activity of six major medicinal plants from Rayen, Iran. *Natural product research*, *32*(5), 564-567.
[32] Ghasemi, G., Alirezalu, A., Ishkeh, S. R., & Ghosta, Y. (2021). Phytochemical properties of essential oil from Artemisia sieberi Besser (Iranian accession) and its antioxidant and antifungal activities. *Natural Product Research*, *35*(21), 4154-4158.
[33] Nasseri, M. A., Kakouee, Z., & Allahresani, A. (2015). The comparison of the antioxidant capacity of methanol extract in three species of Artemisia (A. sieberi Besser, A. aucheri, and A. deserti Krasch). *Iranian chemical communication*, *3*(3, pp. 180-282, Serial No. 8), 180-186.
[34] 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).

[35] 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.
[36] 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.
[35] Mohamed, T. A., Hegazy, M. E. F., Abd El Aty, A. A., Ghabbour, H. A., Alsaid, M. S., Shahat, A. A., & Paré, P. W. (2017). Antimicrobial sesquiterpene lactones from Artemisia sieberi. *Journal of Asian natural products research*, *19*(11), 1093-1101.
[37] 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).

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Evaluation of the antioxidant, antibacterial, phenolic, and flavonoid potential of the total essential oil of *Artemisia sieberi* in laboratory conditions

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.

ARTICLE INFO

Article History:

Received:2025/3/11

Accepted:2025/4/15

Keywords:

Artemisia sieberi,

Minimum inhibitory concentration,

Minimum bactericidal concentration,

DPPH free radical,

ABTS free radical.

DOI: 10.22034/FSCT.22.165.249.

*Corresponding Author E-

B.alizadeh@asnrukh.ac.ir

ABSTRACT

Artemisia sieberi plant (*Artemisia sieberi*), one of the Artemisia species with wide distribution in Iran and the Middle East, has received attention due to its various medicinal properties, including antimicrobial effects. The aim of this study was to determine the total phenolic and flavonoid content, antioxidant activity (DPPH and ABTS radical scavenging), and antimicrobial activity (agar disk and well diffusion, minimum inhibitory concentration, and minimum bactericidal concentration) of the essential oil of *Artemisia sieberi*. The total phenolic and flavonoid contents were determined to be 44.62 ± 0.53 mg gallic acid equivalent (GAE)/g and 18.20 ± 0.29 mg quercetin equivalent (QE)/g, respectively. Antioxidant activity, expressed as the percentage of DPPH and ABTS radical scavenging, was found to be 58.26 ± 1.57% and 63.74 ± 1.42%, respectively. The results of the antimicrobial activity evaluation, using both disk diffusion and well diffusion methods, demonstrated that the Gram-positive bacteria *Streptococcus pyogenes* and *Listeria monocytogenes* were the most susceptible strains to *Artemisia sieberi* essential oil. The minimum inhibitory concentration of this essential oil against the Gram-positive bacteria *Streptococcus pyogenes*, *Listeria monocytogenes*, and *Bacillus cereus* was determined to be 8 mg/mL, 128 mg/mL, and 128 mg/mL, respectively. Furthermore, this essential oil was effective against Gram-negative bacteria such as *Shigella dysenteriae* and *Salmonella typhimurium* at a concentration of 512 mg/mL, except for Klebsiella pneumoniae, which showed sensitivity at a concentration of 256 mg/mL. Therefore, Siberian wormwood essential oil can be used as an effective natural antimicrobial agent against bacterial infections.