



## مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: [www.fsct.modares.ac.ir](http://www.fsct.modares.ac.ir)

### مقاله علمی-پژوهشی

بررسی قدرت آنتی اکسیدانی، ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و اثر ضدباکتریایی اسانس درمنه معطر روی باکتری های بیماری زا گرم

#### مثبت و گرم منفی

محمد نوشاد<sup>۱\*</sup>، بهروز علیزاده بهبهانی<sup>۱</sup>، پریسا قاسمی<sup>۲</sup>

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

#### چکیده

#### تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۰۸

#### کلمات کلیدی:

درمنه معطر،

باکتری گرم مثبت،

باکتری گرم منفی،

محتوای فنول کل،

فلاونوئید کل،

پتانسیل آنتی اکسیدانی.

DOI: 10.48311/fsct.2026.84072.0

\* مسئول مکاتبات:

Noshad@asnrukh.ac.ir

در این مطالعه، اسانس درمنه معطر با روش تقطیر با آب استخراج گردید. سپس محتوای فنول کل به روش رنگ سنجی فولین سیوکالتو، فلاونوئید کل به روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم و فعالیت آنتی اکسیدانی به دو روش مهار رادیکال آزاد DPPH و ABTS اندازه گیری شد. علاوه براین، فعالیت ضد میکروبی اسانس با استفاده از روش های دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار و روش استاندارد میکرو دایلوشن صورت گرفت. اسانس درمنه معطر حاوی  $78.88 \pm 1.62$  mg QE/g محتوای فنول کل و  $26.14 \pm 0.48$  mg QE/g محتوای فلاونوئید کل بود. علاوه براین، اسانس قادر به مهار رادیکال آزاد DPPH و ABTS به میزان  $77.90 \pm 1.50$  درصد و  $73.1 \pm 95.28$  درصد گردید. در روش دیسک دیفیوژن، استرپتوکوکوس پیوژنز حساس ترین سویه با ناحیه مهار  $18.0 \pm 8.0/66$  mm بود، در حالی که سالمونلا تیفی موریوم مقاوم ترین سویه با ناحیه مهار  $11.80 \pm 0.27$  mm بود. در روش انتشار چاهک آگار، سالمونلا تیفی موریوم قوی ترین مقاومت را با ناحیه مهار  $12.70 \pm 0.44$  mm نشان داد، در حالی که استرپتوکوکوس پیوژنز حساس ترین سویه با ناحیه مهار  $19.50 \pm 0.28$  mm بود. نتایج نشان داد که MIC برای باسیلوس سرئوس، استرپتوکوکوس پیوژنز، شینگلا دیسانتری، کلبسیلا ائروژنز و سالمونلا تیفی موریوم به ترتیب  $16$ ،  $4$ ،  $64$ ،  $32$  و  $64$  MIB به ترتیب برای آنها  $256$ ،  $32$ ،  $64$ ،  $256$  mg/ml بود. اسانس درمنه معطر به واسطه دارا بودن مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فنلی، از خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی قوی برخوردار است. این ویژگی ها، این اسانس را به عنوان جایگزینی طبیعی برای نگهدارنده های سنتزی در صنایع غذایی معرفی می کند.

## ۱-مقدمه

افزایش تقاضا برای محصولات با ماندگاری بیشتر و کیفیت بالاتر، چالش‌های جدیدی را در صنعت مواد غذایی به وجود آورده است. مصرف‌کنندگان به دنبال جایگزین‌های طبیعی برای نگهدارنده‌های شیمیایی هستند و به همین دلیل، علاقه به استفاده از اسانس‌های گیاهی به عنوان افزودنی‌های ضد باکتری افزایش یافته است. مطالعه‌های بسیاری به بررسی اثر کل اسانس‌ها بر روی میکروارگانیسم‌های عامل فساد مواد غذایی و عوامل بیماری‌زای منتقله از غذا پرداخته شده است. شواهد نشان می‌دهد که اسانس‌ها به طور کلی بر روی باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی تاثیر گذارتر بوده‌اند [۱]. یکی از اثرهای مهم این اسانس‌ها، مهار رشد و کاهش تعداد عوامل بیماری‌زای منتقله از غذا مانند *Salmonella spp*, *Escherichia coli* 0157:H7 و *Listeria monocytogenes* است [۲ و ۳]. اسانس‌های روغنی که مخلوطی از یک دسته بزرگ و متنوع از ترکیبات ترپنوئیدی و فنولی به دست آمده از گیاهان معطر هستند، طی چند دهه اخیر به دلیل نشان دادن خواص بیولوژیکی گسترده مورد توجه فراوان قرار گرفته‌اند.

گیاهان دارویی نقش مهمی در زندگی انسان دارند و برای مقاصد تغذیه‌ای، سلامتی و درمانی مورد استفاده قرار می‌گیرند. جنس درمنه (*Artemisia*) یکی از این گیاهان دارویی است که به عطر تند خود معروف است. این جنس به تیره Asteraceae تعلق دارد که شامل تقریباً ۵۰۰ گونه است [۴]. درمنه معطر (*A. fragrans*) یک گیاه علفی چند ساله است. گیاهی با برگ و گل‌های معطر است که حدود ۴۵ سانتی‌متر ارتفاع دارد. برگ‌های این گیاه در ابتدا به دلیل وجود تعداد زیادی تریکوم (کرک‌های گیاهی) سفید رنگ هستند که با رشد گیاه ریخته می‌شوند. درمنه معطر به طور گسترده در ایران پراکنده شده است و از گیاهان غالب در شمال استان اردبیل، به ویژه در مراتع منطقه مغان می‌باشد [۵]. اسانس‌ها و عصاره‌های جدا شده از گونه‌های مختلف درمنه، منبع ترکیبات فعال و متابولیت‌های ثانویه با خاصیت ضد مالاریا، ضد تومور، ضد قارچ، ضد ویروس، ضد هپاتیت، ضد اسپاسم،

آنتی اکسیدان، ضد التهاب و سایر موارد می‌باشند [۶]. اسانس درمنه معطر علاوه بر ترکیبات آلیفاتیک، حاوی ترکیبات ترپنی مختلفی از مونوترپن‌ها و مونوترپنوئیدهای هیدروکربنی تا سزکوئی ترپن‌ها است. از ترکیبات اصلی این اسانس می‌توان به ۱۸-سینئول،  $\alpha$ -تویون،  $\alpha$ -پینن،  $\beta$ -پینن، کافور و کامفن اشاره کرد [۵]. ترپنوئیدها یکی از خانواده‌های اصلی متابولیت‌های ثانویه هستند که نشان داده شده کاربردهای دارویی در بیماری‌های انسانی دارند. برای مثال، آرتمیسینین به عنوان تنها دارو برای درمان مالاریا در بیشتر نقاط جهان که به داروهای شیمیایی مقاوم شده‌اند، تجویز می‌شود [۷]. طبق مطالعات گذشته، اسانس درمنه معطر دارای اثرات بیولوژیکی مختلفی از جمله آنتی اکسیدانی، ضدباکتریایی، ضد مالاریا و حتی علف‌کشی است [۸ و ۹].

تاکنون، روش‌های مختلفی برای سنجش ظرفیت آنتی اکسیدانی غذاها و نمونه‌های بیولوژیکی معرفی شده است. ظرفیت آنتی اکسیدانی یک مفهوم کلیدی در علوم زیستی است که توانایی ترکیبات موجود در غذاها و بدن را برای خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد مضر توصیف می‌کند [۱۰]. ظرفیت آنتی اکسیدانی به جای تمرکز بر یک آنتی اکسیدان خاص، به طور کلی به توانایی یک سیستم در مقابله با استرس اکسیداتیو ناشی از تعامل پیچیده بین گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن و ترکیبات آنتی اکسیدانی مختلف اشاره دارد. در نتیجه، اندازه‌گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی می‌تواند به درک بهتر نقش تغذیه در پیشگیری و درمان بیماری‌ها کمک کند [۱۱]. در سال‌های اخیر، طیف گسترده‌ای از روش‌های اسپکتروفتومتری برای اندازه‌گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی غذاها مورد استفاده قرار گرفته است که محبوب‌ترین آن‌ها اسید ۲،۲-آزینوبیس (۳-اتیل بنزیلازولین-۶-سولفونیک) (ABTS) و ۱،۱-دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل (DPPH) است [۱۲].

فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی مختلف و ترکیبات خالص را می‌توان با استفاده از آزمایشات متعدد مانند روش‌های انتشار در آگار و همچنین روش‌های انتشار دیسک، انتشار در چاهک و روش رقت میکروپلیت اندازه‌گیری کرد. هر یک از این روش‌ها بر اساس یک ویژگی خاص مانند مهار رشد میکروارگانیسم است [۱۳ و ۱]. جهت بررسی خواص درمانی، ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی اسانس

مقطر به مخلوط اضافه گردید. در نهایت، جذب در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. کوثرستین به عنوان استاندارد استفاده شد و نتایج به صورت میلی گرم معادل کوثرستین بر گرم اسانس بیان شد [۱۶].

## ۲-۵- فعالیت آنتی اکسیدانی

### ۲-۵-۱- رادیکال آزاد DPPH

این روش براساس توانایی اسانس در کاهش رادیکال آزاد DPPH استوار است که منجر به تغییر رنگ محلول از بنفش به زرد می‌شود. ابتدا محلول ۰/۲ میلی مولار DPPH در متانول تهیه شد. سپس، ۰/۱ میلی لیتر اسانس با ۳/۹ میلی لیتر از محلول DPPH با هم مخلوط شد و مخلوط به ۱۰ ثانیه همزده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط در تاریکی قرار گرفت. در نهایت جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. درصد بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH اسانس، طبق رابطه زیر محاسبه گردید [۱۷]:

$$100 \times \frac{\text{کنترل A}}{\text{اسانس A}} - \text{کنترل A} = \text{توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH (\%)}$$

### ۲-۵-۲- رادیکال آزاد ABTS

رادیکال کاتیون ABTS (ABTS<sup>•+</sup>) با واکنش محلول ABTS (با غلظت ۷ میلی مولار در آب) با پتاسیم پرسولفات ۵.۲ میلی مولار (غلظت نهایی) به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی گراد در تاریکی (محلول مادر) تولید شد. سپس محلول مادر ABTS<sup>•+</sup> با اتانول رقیق شد تا جذب آن در طول موج ۷۵۰ نانومتر تقریباً ۰/۷ شود. واکنش با افزودن ۱۰ میکرولیتر از نمونه آزمایش به ۹۹۰ میکرولیتر از محلول رقیق شده ABTS<sup>•+</sup> آغاز کاهش جذب بعد از ۵ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق و تاریکی اندازه گیری شد. اتانول و اسید-L آسکوربیک به ترتیب به عنوان کنترل منفی و مثبت استفاده شدند. فعالیت مهارکنندگی رادیکال نمونه آزمایش شده، که بر حسب درصد مهار ABTS<sup>•+</sup> بیان می‌شود، با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید [۱۸]:

$$100 \times \frac{\text{کنترل A}}{\text{اسانس A}} - \text{کنترل A} = \text{توانایی مهار رادیکال آزاد ABTS (\%)}$$

درمنه معطر، اسانس این گیاه تهیه و میزان فنول کل، فلاونوئید کل و فعالیت‌های ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی آن مورد ارزیابی قرار گرفت.

## ۲- مواد و روش ها

### ۲-۱- مواد

مواد مورد استفاده در این پژوهش شامل؛ معرف فولین-سیوکالتو، معرف کوثرستین، DPPH (۲ و ۲-دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل)، ABTS (۲،۲-آزینو بیس-۳-اتیل بنزو تیازولین - ۶- سولفونیک اسید)، محیط‌های کشت مولر هیتون آگار و براث از شرکت مرک (آلمان) و سیگما آلدریج (آمریکا) بود.

### ۲-۲- استخراج اسانس

به منظور استخراج اسانس، ۱۰۰ گرم پودر گیاه توسط دستگاه کلونجر تحت فرآیند اسانس‌گیری قرار گرفت. اسانس استخراج شده با استفاده از سولفات سدیم بدون آب خشک شد و تا زمان انجام آزمایش‌ها در ظروف شیشه‌ای دربسته و تیره رنگ در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد [۱۴].

### ۲-۳- تعیین میزان فنول کل

یک میلی لیتر از اسانس با یک میلی لیتر معرف-Folin Ciocalteu مخلوط شد. پس از ۴ دقیقه، یک میلی لیتر محلول ۷ درصد کربنات سدیم اضافه شد و حجم نهایی با آب مقطر به ۱۰ میلی لیتر رسانده شد. جذب نمونه در مقابل یک نمونه شاهد (حاوی متانول به جای عصاره) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. با استفاده از منحنی کالیبراسیون اسید گالیک، میزان فنول کل بر حسب میلی گرم معادل گالیک اسید (GAE) بر گرم بیان گردید [۱۵].

### ۲-۴- تعیین میزان فلاونوئید کل

یک میلی لیتر از اسانس با ۴ میلی لیتر آب مقطر و ۳۰۰ میکرولیتر محلول ۵ درصد نیتريت سدیم مخلوط شد. پس از ۵ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر محلول ۱۰ درصد آلومنیوم تری کلراید، ۲ میلی لیتر محلول سود ۱ مولار و ۱۰ میلی لیتر آب

## ۶-۲- فعالیت ضد میکروبی

### ۶-۲-۱- دیسک دیفیوژن آگار

برای بررسی اثر ضد میکروبی اسانس از روش انتشار دیسک، از دیسک‌های ۶ میلی متری استفاده شد. باکتری‌های بیماری‌زا در محیط کشت مولر هیتون آگار در دمای ۳۷ درجه سانتی-گراد به مدت یک شبانه روز کشت داده شدند و سپس با سرم نمکی استریل به غلظت  $10^8 \times 1/5$  واحد تشکیل کلنی در میلی لیتر (CFU/ml) تنظیم شدند. ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی فوق روی محیط کشت پخش شد و سپس دیسک‌های استریل آغشته به اسانس روی هر پلیت آگار (یک دیسک به ازای هر پلیت) قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله مهار رشد باکتری در اطراف هر دیسک اندازه‌گیری شد [۱۹].

### ۶-۲-۲- انتشار در چاهک آگار

ابتدا پلیت‌های پتری با ریختن ۱۵ تا ۲۰ میلی لیتر آگار مولر-هیتون (MHA) آماده شدند. پس از بسته شدن محیط کشت، سطح آن با استیک پنبه‌ای آغشته به سوسپانسیون باکتریایی کشت داده شد. سپس حفره‌هایی به قطر ۶ میلی متر با استفاده از استوانه‌های استریل استیل ضد زنگ در محیط کشت ایجاد گردید. در این حفره‌ها اسانس مورد نظر اضافه شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. نتایج با اندازه‌گیری قطر هاله‌های مهار رشد باکتریایی در اطراف حفره‌ها ثبت گردید [۲۰].

### ۶-۲-۳- تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی

برای تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) از روش میکرودلوشن استفاده شد. کدورت سوسپانسیون میکروبی با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر روی استاندارد نیم مک فارلند ( $10^8 \times 1/5$ ) تنظیم شد تا به جذب نوری ۰/۸ تا ۰/۱ برسد. به هر چاهک به ترتیب ۵۰ میکرولیت محیط کشت همراه با اسانس و ۳۰ میکرولیت از سوسپانسیون میکروبی ریخته شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از

۲۴ ساعت، ۲۰ میکرولیتر تترازولیوم کلراید (محلول آبی ۰/۵٪) اضافه شد و سپس به مدت ۱ ساعت دیگر در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. MIC ترکیب مورد نظر، پایین‌ترین غلظتی از آن ترکیب تعریف شد که مانع رشد قابل مشاهده سلول‌ها شود، که این موضوع با TTC تأیید گردید (سلول‌های مرده رنگ نمی‌شوند) [۲۱].

### ۶-۲-۴- تعیین حداقل غلظت کشندگی

برای تعیین حداقل غلظت باکتری کشندگی (MBC)، ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک‌هایی که در آن‌ها رشدی مشاهده نشد به پتری دیش حاوی محیط کشت آگار مولر-هیتون منتقل و سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار داده شد. MBC به عنوان کاهش ۹۹/۹ درصدی (عدم رشد) در تعداد سلول‌های زنده تعریف شد [۲۲].

### ۶-۲-۷- تجزیه و تحلیل آماری

تمام آزمون‌ها سه مرتبه تکرار شدند. از نرم افزار اکسل جهت رسم نمودارها و نرم افزار آماری SPSS و آزمون چند دامنه-ای دانکن، آنالیز واریانس یک طرفه برای آنالیز داده‌ها استفاده گردید.

## ۳- نتایج و بحث

میزان فنول کل اسانس درمنه معطر برابر با  $78/88 \pm 1/62$  میلی گرم گالیک اسید در گرم و فلاونوئید کل برابر با  $26/1 \pm 4/48$  میلی گرم کوئرستین در گرم بود (شکل ۱). مقدار محتوای فنول و فلاونوئید کل به دست آمده در پژوهش ما با سایر گونه‌های دیگر درمنه از جمله درمنه ولگاریس (*Artemisia vulgaris*) قابل مقایسه است [۲۳]. پلی فنول‌ها متابولیت‌های ثانویه در گیاهان هستند. گیاهان حاوی انواع مختلفی از مشتقات فنلی از جمله اسیدهای بنزوئیک، مشتقات اسید سینامیک، فلاونوئیدها، ایزوفلاونوئیدها، لیگنان‌ها و تانن‌ها هستند [۲۴]. بندلی و همکاران (۲۰۱۷)، میزان محتوای فنولی و فلاونوئید بخش‌های مختلف گیاه درمنه عطری را مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که ریشه، برگ و شکوفه گیاه به ترتیب حاوی ۳۳/۵۱، ۱۱۷/۳۲ و ۱۱۰/۰۲ میلی گرم گالیک اسید در

میکروگرم بر میلی‌لیتر است [۲۴]. در پژوهش ما، محتوای فنول و فلاونوئید کل در اسانس درمنه معطر نسبت به تحقیقات ذکر شده بالاتر بود.

گرم محتوای فنول کل و ۰/۸، ۳/۵ و ۵/۲ میلی‌گرم کوئرسیتین درگرم بود. صفایی قمی و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که محتوای فنول کل عصاره متانولی ۳۴/۵۰

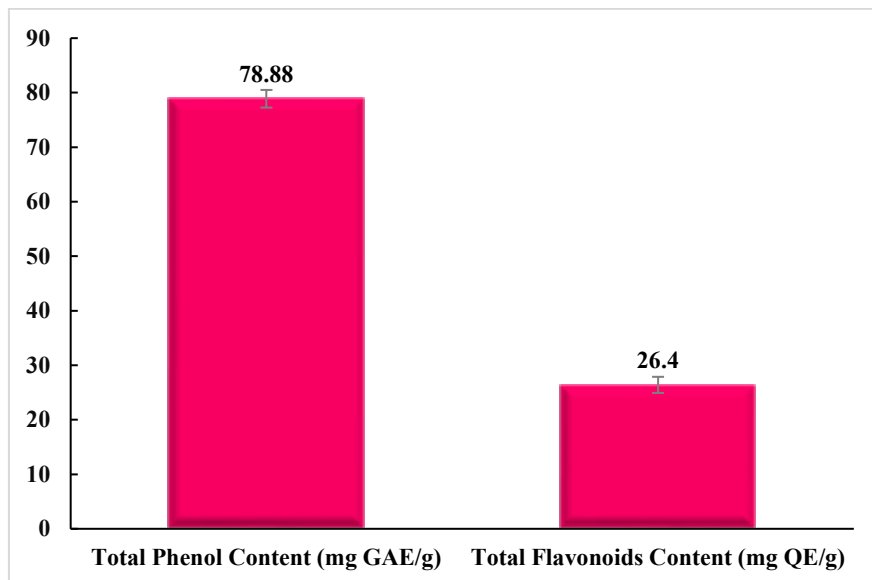


Fig 1. Total phenolics and flavonoids content of *A. fragrans* essential oil

اکسیدانی عصاره اتانولی و استونی در دو گونه از گیاه درمنه (*A. fragrans* و *A. herba-alba*) نشان دادند که عصاره اتانولی درمنه معطر در مقایسه با گونه دیگر، قوی‌ترین عملکرد را در مهار رادیکال آزاد DPPH و FRAP داشت [۲۸]. یونسی و همکاران (۱۳۹۸)، با مقایسه قدرت آنتی-اکسدانی اسانس درمنه معطر در فصول مختلف سال نشان دادند که بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (۲۸/۸۹٪) در اسانس حاصل از شهریور ماه بود [۲۹]. همچنین گزارش شده است که اسانس درمنه معطر از به طور قابل توجهی قدرت آنتی‌اکسیدانی بالای برخوردار است [۶]. طبق مطالعه آلما و همکاران (۲۰۰۳)، ترکیب‌های فنلی مانند تیمول و کارواکرول و همچنین اسانس غنی از ترکیب‌های فنلی، فعالیت قوی آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکال‌های DPPH را نشان می‌دهند [۳۰]. بنابراین، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی قوی مشاهده شده برای اسانس گیاهان، به اجزای اصلی آن‌ها نسبت داده است.

نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد که اسانس درمنه معطر از پتانسیل آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی برخوردار است (شکل ۲) بطوریکه این اسانس قادر به مهار مؤثر رادیکال‌های آزاد DPPH ( $1/50 \pm 67/90$  درصد) و ABTS ( $1/28 \pm 95/95$  درصد)، دو گونه از رادیکال‌های آزاد که در ایجاد استرس اکسیداتیو و آسیب سلولی نقش دارند، بود. این نتایج، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای اسانس به دست آمده از این گونه را توجیه می‌کند. مطالعه‌های انجام شده [۲۳] حضور مشتقات فلاونوئیدی را در درمنه معطر تأیید کرده است. فلاونوئیدها به دلیل ساختار شیمیایی منحصر به فرد خود، به عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدان قوی شناخته می‌شوند. این ترکیبات قادر به خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و محافظت از سلول‌ها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو هستند [۲۵، ۲۶ و ۲۷]. بنابراین، بنابرین، وجود این ترکیب‌ها در اسانس درمنه معطر می‌تواند علت بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن باشند. اردوغان اورهان و همکاران (۲۰۱۰) با بررسی خواص آنتی-

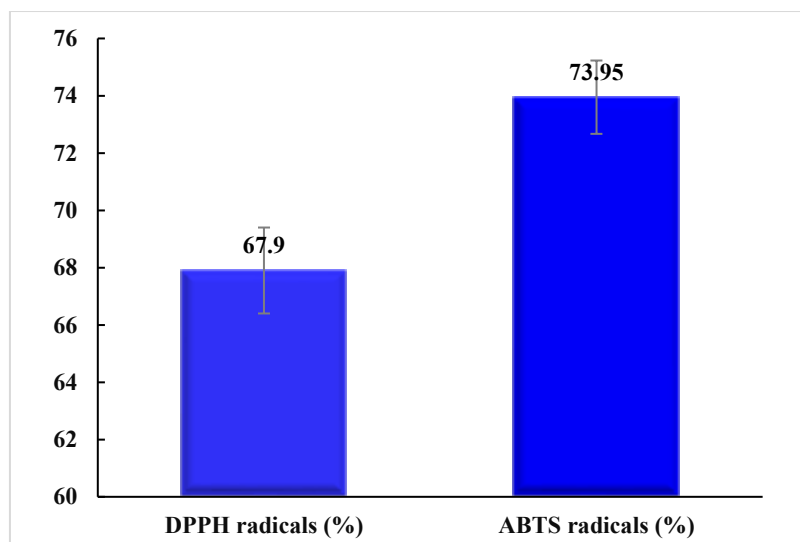


Fig 2. Antioxidant activity of *A. fragrans* essential oil.

(۲۰۱۲) اثر ضد میکروبی اسانس درمنه معطر با روش دیسک دیفیوژن بر طیف وسیعی از باکتری‌های بیماریزا مورد مطالعه قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که قطر هاله عدم رشد باکتری‌های گرم منفی به طور قابل توجهی کمتر از باکتری‌های گرم مثبت بود [۳۳]. نتایج این پژوهشگران، با یافته‌های پژوهش ما مطابقت داشت. در حالی که، نتایج یونسی و همکاران (۱۳۹۸) نشان داد که باکتری‌های گرم منفی (*E. coli*، *P. vulgaris* و *K. pneumonia*) در برابر اسانس درمنه معطر در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت (*S. aureus* و *B. subtilis*) حساس‌تر بودند [۲۹]. به طور خلاصه، نتایج مربوط به اثربخشی اسانس در برابر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی در مطالعه‌ها مختلف، متفاوت است و به عوامل متعددی از جمله نوع اسانس، گونه باکتری و غلظت اسانس بستگی دارد.

نتایج اثر ضد میکروبی اسانس درمنه معطر بر پایه روش دیسک دیفیوژن آگار در شکل ۳ آورده شده است. قطر هاله عدم رشد برای سویه‌های باکتریایی در محدوده ۱۱/۸۰ تا ۱۸/۸۰ میلی‌متر مشاهده شد و باکتری *استرپتوکوکوس پیوژنز* با قطر هاله عدم رشد  $18/80 \pm 80/66$  میلی‌متر، حساس‌ترین سویه به اسانس درمنه معطر و باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* با قطر هاله عدم رشد  $11/80 \pm 0/27$  میلی‌متر، مقاوم‌ترین سویه به این اسانس بود ( $p < 0.05$ ). دلیل اصلی حساسیت کمتر باکتری‌های گرم منفی به اسانس‌ها، وجود غشای خارجی در ساختار سلولی آن‌ها است. این غشا، لایه‌ای از لیپوپلی ساکارید (LPS) است که مانند یک سپر عمل می‌کند و از نفوذ اجزای آبگریز اسانس‌ها به داخل سلول باکتری جلوگیری می‌کند [۳۱ و ۳۲]. صفایی کمی و همکاران

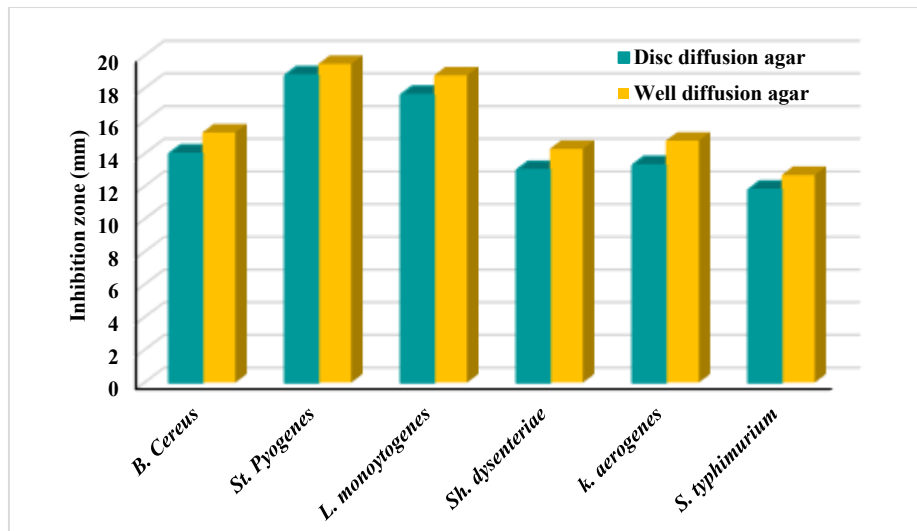


Fig 3. The antibacterial activity of *A. fragrans* essential oil based on disc diffusion agar method and well diffusion agar method.

باکتری گرم مثبت آزمایش شده و یک باکتری گرم منفی موثر بود، اما علیه سودوموناس آئروژینوزا موثر نبود [۳۴]. پژوهش‌های دیگری نیز اثر ضد میکروبی اسانس را در برابر باکتری‌های گرم منفی و مثبت تایید کرده‌اند [۳۳ و ۳۵]. نتایج بررسی حداقل غلظت کشندگی رشد (MIC) نشان داد (شکل ۴) حداقل غلظت مورد نیاز اسانس گیاه درمنه معطر جهت جلوگیری از رشد باکترهای گرم مثبت به طور قابل توجهی کمتر از باکترهای گرم منفی می‌باشد. این موضوع نشان‌دهنده حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت به این اسانس است. علاوه بر این، حداقل غلظت مورد نیاز اسانس برای از بین بردن باکترهای گرم مثبت کمتر از باکترهای گرم منفی بود (شکل ۵).

شکل ۳، نتایج فعالیت ضد میکروبی اسانس بر اساس روش چاهک آگار را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد قطر هاله عدم رشد برای سویه‌های باکتریایی در محدوده ۱۲/۷۰ تا ۱۹/۵۰ میلی‌متر مشاهده شد. که قوی‌ترین و حساس‌ترین سویه باکتریایی نسبت به اسانس درمنه معطر، به ترتیب مربوط به باکتری سالمونلا تیفی موریوم و استریتوکوکوس پیوژنز بود ( $p < 0.05$ ). در یک مطالعه، فعالیت ضد باکتریایی اسانس در برابر دو باکتری گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس و انتروکوکوس فکالیز) و دو باکتری گرم منفی (شرشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا) با استفاده از روش انتشار در چاهک آگار مورد بررسی قرار گرفت. اسانس علیه هر دو

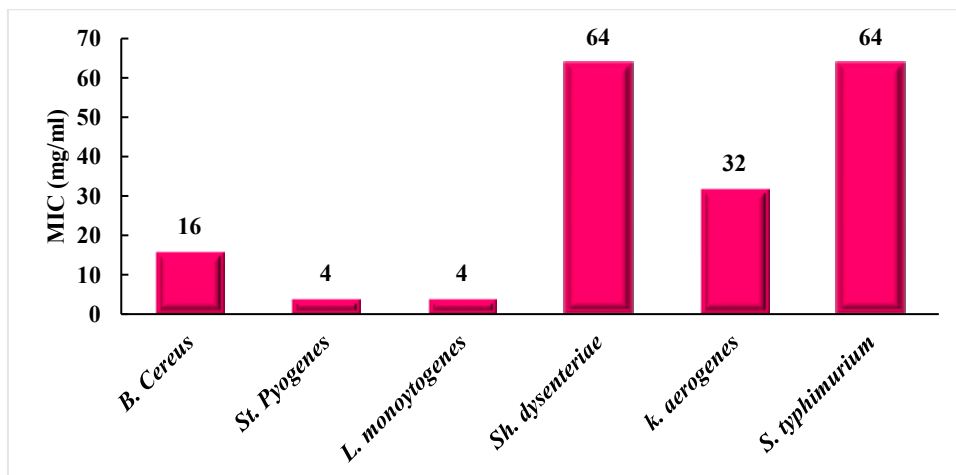


Fig 4. The antibacterial activity of *A. fragrans* essential oil based on minimum inhibitory concentration

اثر بازدارندگی اسانس درمنه معطر بر باکترهای گرم مثبت و

۱۸-سینثول موجود در اسانس درمنه معطر را بررسی نمودند، نتایج آن‌ها نشان داد که این ترکیب فعالیت بازدارندگی بالای در علیه قارچ *کاندیدا آلبیکانس* با حداقل غلظت کشندگی برابر ۳۱/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر داشت. همچنین بیان داشتند که تنها میکروارگانیزم حساس دیگر پروتئوس ولگاریس، با حداقل غلظت کشندگی ۶۲/۵۰ میکروگرم در میلی لیتر بود.

منفی نیز توسط ولی زاده و همکاران (۲۰۱۲) مورد بررسی قرار گرفته است [۳۵]. در پژوهشی، حداقل غلظت کشندگی اسانس درمنه معطر برای باکتری‌های *سالمونلا پاراتیفی* و *تیفی*، *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس*، *اشرشیا کلی*، *شیگلا فلکسنری*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیس* و *انترکوکوس فکالس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* ۲۵، ۲۵، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۶/۲۵ و ۳/۱۲ میلی گرم بر میلی لیتر گزارش کردند. علاوه بر این، حداقل غلظت مهارکنندگی برای آن‌ها به ترتیب ۱۰۰، ۱۰۰، ۱۰۰، ۲۵، ۱۲/۵ و ۱۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر بود [۴]. در پژوهش دیگر [۳۳]، فعالیت ضد میکروبی ترکیب

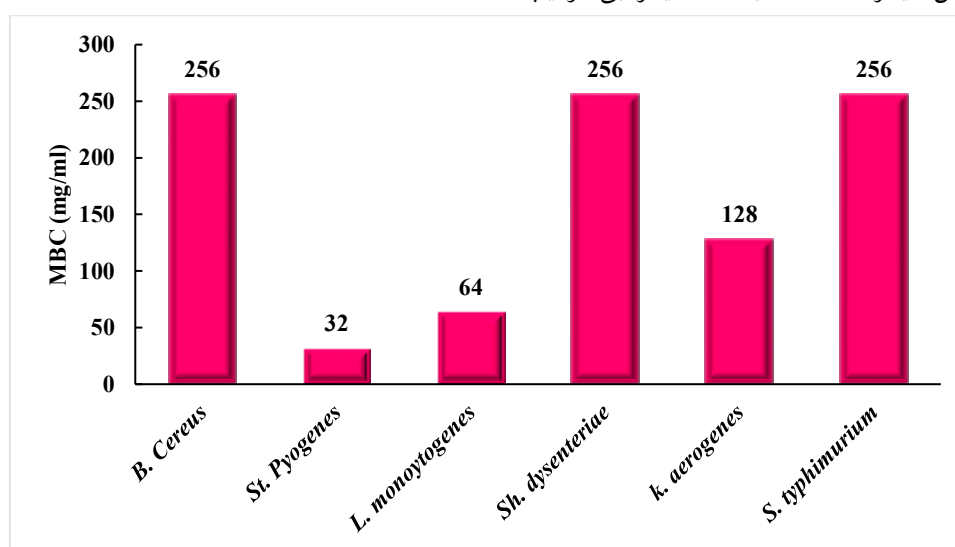


Fig 5. The antibacterial activity of *A. fragrans* essential oil based on minimum antibacterial concentration methods

*سالمونلا تیفی* موریوم نشان داد. با توجه به این نتایج، اسانس درمنه معطر به عنوان یک منبع طبیعی از ترکیبات زیست فعال با پتانسیل کاربرد در صنایع غذایی به منظور جایگزینی نگهدارنده‌های شیمیایی پیشنهاد می‌شود.

#### ۵- 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.

#### ۶- منابع

[1] Carović-Stanko, K., Orlić, S., Politeo, O., Strikić, F., Kolak, I., Milos, M., & Satovic, Z. (2010). Composition and antibacterial activities of essential

#### ۴- نتیجه گیری

گیاه درمنه معطر (*A. fragrans*) به طور سنتی برای اهداف دارویی استفاده می‌شود. بیشتر اثرات دارویی آن به اسانس آن نسبت داده می‌شود. مطالعه حاضر نشان داد که اسانس درمنه معطر به دلیل غنی بودن از ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی، دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قوی بوده و قادر به مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS است. همچنین، این اسانس اثرات ضد میکروبی قابل توجهی علیه طیف وسیعی از باکتری‌های بیماری‌زا از جمله *استرپتوکوکوس پیورنر* و *oils of seven Ocimum taxa*. *Food chemistry*, 119(1), 196-201.

[2] 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.
- [3] 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.
- [4] Aminkhani, A., Sharifi, S., & Hosseinzadeh, P. (2021). Chemical constituent, antimicrobial activity, and synergistic effect of the stem, leaf, and flower essential oil of the *Artemisia fragrans* Willd. from Khoy. *Chemistry & Biodiversity*, 18(8), e2100241.
- [5] Ebadollahi, A., Setzer, W. N., & Palla, F. (2024). *Artemisia fragrans* Willd. Essential Oil: Chemical Profile and Insecticidal Potential against the Confused Flour Beetle, *Tribolium confusum* du Val. *Plants*, 13(13), 1725.
- [6] Farghadan, M., Ghafoori, H., Vakhshiteh, F., Fazeli, S. A. S., Farzaneh, P., & Kokhaei, P. (2016). The effect of *Artemisia fragrans* Willd: Essential oil on inducible nitric oxide synthase gene expression and nitric oxide production in lipopolysaccharide-stimulated murine macrophage cell line. *Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology*, 515-524.
- [7] Akbari, P., Asnaashari, S., Rahimpour, Y., & Asgharian, P. (2022). In Vitro Antimalarial Activity and Phytochemical Analysis of Aerial Parts of *Artemisia fragrans* Willd. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 17(2).
- [8] Pouresmaeil, M., Nojadeh, M. S., Movafeghi, A., & Maggi, F. (2020). Exploring the bio-control efficacy of *Artemisia fragrans* essential oil on the perennial weed *Convolvulus arvensis*: Inhibitory effects on the photosynthetic machinery and induction of oxidative stress. *Industrial Crops and Products*, 155, 112785.
- [9] Najm, M., Hadighi, R., Heidari-Kharaji, M., Alipour, M., Hajizadeh, M., Rafiei-Sefiddashti, R., ... & Badirzadeh, A. (2021). Anti-Leishmanial Activity of *Artemisia persica*, *A. spicigera*, and *A. fragrans* against *Leishmania major*. *Iranian journal of parasitology*, 16(3), 464.
- [10] Floegel, A., Kim, D. O., Chung, S. J., Koo, S. I., & Chun, O. K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of food composition and analysis*, 24(7), 1043-1048.
- [11] Yu, M., Gouvins, I., Rocha, J., & Barros, A. I. (2021). Phytochemical and antioxidant analysis of medicinal and food plants towards bioactive food and pharmaceutical resources. *Scientific reports*, 11(1), 10041.
- [12] Kim, D. O., Lee, K. W., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2002). Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 50(13), 3713-3717.
- [13] Alizadeh Behbahani, B., Shahidi, F., Yazdi, F. T., & Mohebbi, M. (2013). Antifungal effect of aqueous and ethanolic mangrove plant extract on pathogenic fungus" in vitro".
- [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] 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.
- [16] Alizadeh, B. 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.
- [17] 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.
- [18] 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.
- [19] Tabatabai Yazdi, F., Falah, F., Alizadeh Behbahani, B., & Vasiee, 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.
- [20] 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.
- [21] 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*.
- [22] Tabatabai Yazdi, F. T., 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).
- [23] Demirbolat, I., Inal, E., Ulusoy, S., & Kartal, M. (2022). Variations in chemical compositions and biological activities of *Artemisia vulgaris* L. (common mugwort) essential oils at different growth stages. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 25(2), 393-402.
- [24] Bandli, J. K., Heidari, R., & Mohammadkhani, N. (2017). Phenolic content and ferric reducing antioxidant power of *Artemisia fragrans* Willd. and *Artemisia vulgaris* L. herbs. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 51(1), 52-55.
- [25] Safaei-Ghomi, J., Ahmadi, T., Batooli, H., & Kashi, F. J. (2012). Antioxidant and antimicrobial activity of *Artemisia fragrans* Willd essential oil and methanol extracts. *chemija*, 23(2), 100-107.
- [26] 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.
- [27] 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.
- [28] Erdogan Orhan, I., Belhattab, R., Şenol, F. S., Gülpinar, A. R., Hoşbaş, S., & Kartal, M. (2010). Profiling of cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of *Artemisia absinthium*, 566-71.
- [29] Younessi, M., Farmani, B., Alirezalu, K., Fathizadeh, O., & Sabzi Nojadeh, M. (2019). Study of phytochemical composition and antibacterial effects of *Artemisia fragrans* Willd. essential oil in different seasons. *Journal of food science and technology (Iran)*, 16(91), 357-367.
- [30] Alma, M. H., Mavi, A., Yildirim, A., Digrak, M., & Hirata, T. (2003). Screening chemical composition and in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from *Origanum syriacum* L. growing in Turkey. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 26(12), 1725-1729.
- [31] Alizadeh Behbahani, B. 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.
- [32] 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).
- [33] Safaei-Ghomi, J., Ahmadi, T., Batooli, H., & Kashi, F. J. (2012). Antioxidant and antimicrobial activity of *Artemisia fragrans* Willd essential oil and methanol extracts. *chemija*, 23(2), 100-107.
- [34] Shafaghat, A., Noormohammadi, Y., & Zaifzadeh, M. (2009). Composition and antibacterial activity of essential oils of *Artemisia fragrans* Willd. leaves and roots from Iran. *Natural Product Communications*, 4(2), 1934578X0900400223.
- [35] Einollah, V., Behboud, J., Jalil, D. S., & Vahid, N. B. (2012). Evaluating antibacterial activity from essential oil of *Artemisia fragrans* Willd. in North-Western of Iran. *African Journal of Microbiology Research*, 6(4), 834-837.



## Scientific Research

## An investigation into the antioxidant capacity, phenolic and flavonoid compounds, and antibacterial activity of the essential oil of *Artemisia fragrans* against Gram-positive and Gram-negative pathogenic bacteria

Mohammad Noshad<sup>\*1</sup>, Behrooz Alizadeh Behbahani<sup>1</sup>, Parisa Ghasemi<sup>2</sup>

- 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                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | ABSTRACT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><b>Article History:</b></p> <p>Received: 2025/07/13</p> <p>Accepted: 2025/08/30</p> <p><b>Keywords:</b></p> <p><i>Artemisia fragrans</i>,<br/>Gram positive bacteria,<br/>Gram negative bacteria,<br/>Total phenol content,<br/>Total flavonoid,<br/>Antioxidant potential.</p> <p><b>DOI:</b> 10.48311/fsct.2026.84072.0</p> <p>*Corresponding Author E-<br/>Noshad @asnrukh.ac.ir</p> | <p>In this study, the essential oil of <i>Artemisia fragrans</i> was extracted using the hydrodistillation method. Subsequently, the total phenolic content was determined using the Folin-Ciocalteu colorimetric method, total flavonoid content was measured using the aluminum chloride colorimetric method, and antioxidant activity was evaluated using both the DPPH and ABTS radical scavenging assays. Additionally, the antimicrobial activity of the essential oil was evaluated using the agar disk diffusion, agar well diffusion, and standard microdilution methods. The essential oil of <i>Artemisia dracunculus</i> contained a total phenolic content of <math>62.88 \pm 1.78</math> mg GAE/g and a total flavonoid content of <math>48.14 \pm 0.26</math> mg QE/g. Furthermore, the essential oil exhibited significant antioxidant activity, with DPPH and ABTS radical scavenging activities of <math>50.1 \pm 90.67\%</math> and <math>28.1 \pm 95.73\%</math>, respectively. In the agar disk diffusion assay, <i>Streptococcus pyogenes</i> was found to be the most sensitive strain with a zone of inhibition of <math>18.80 \pm 6.6</math> mm, while <i>Salmonella typhimurium</i> was the most resistant strain with a zone of inhibition of <math>11.80 \pm 2.7</math> mm. In the agar well diffusion method, <i>Salmonella typhimurium</i> exhibited the strongest resistance with a zone of inhibition of <math>12.70 \pm 0.44</math> mm, while <i>Streptococcus pyogenes</i> was the most sensitive strain with a zone of inhibition of <math>19.50 \pm 0.19</math> mm. The results showed that the MIC for <i>Bacillus cereus</i>, <i>Streptococcus pyogenes</i>, <i>Shigella dysentery</i>, <i>Klebsiella aerogenes</i>, and <i>Salmonella typhimurium</i> were 16, 4, 4, 64, 32, and 64 mg/ml, respectively, and the MIB for them was, respectively, 256, 32, 64, 256, 128 and 256. Due to its high content of phenolic compounds, the essential oil of tarragon possesses potent antioxidant and antimicrobial properties. These attributes make it a promising natural alternative to synthetic preservatives in the food industry.</p> |