مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

ارزیابی فنل و فلاونوئید کل، قدرت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدمیکروبی اسانس برازمبل بر تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی: یک مطالعه آزمایشگاهی

محمد نوشاد*[۱]، بهروز علیزاده بهبهانی[۱]، حسن برزگر[۱]

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

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱/۲۱

کلمات کلیدی:

برازمبل،

اسانس،

پاتوژن،

اکسیداسیون،

نگهدارنده طبیعی.

DOI:10.22034/FSCT.21.151.149.

* مسئول مکاتبات:

Noshad@asnrukh.ac.ir

چکیده

هدف از این مطالعه تعیین محتوای فنول و فلاونوئید کل و بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس برازمبل (*Perovskia abrotanoides*) بود. محتوای فنول کل با استفاده از روش فولین سیوکالتو، محتوای فلاونوئید کل با کمک روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم، پتانسیل آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش‌های مهار رادیکال آزاد DPPH و ABTS و فعالیت ضد میکروبی با استفاده از روش‌های دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت باکتری‌کشی ارزیابی گردید. میزان فنول کل، فلاونوئید کل، مهار رادیکال آزاد DPPH و مهار رادیکال آزاد ABTS اسانس به ترتیب برابر با ۲۴/۲۶ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم، ۱۳/۱۵ میلی‌گرم کوئرستین در گرم، ۵۲/۴۹ درصد و ۵۶/۷۹ درصد به دست آمد. نتایج ضدمیکروبی نشان داد که اثر ضدمیکروبی اسانس در برابر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به انواع گرم منفی بالاتر بود و *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تیفی* به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین سویه‌های میکروبی در برابر اسانس برازمبل بودند. قطر هاله عدم رشد در آزمون دیسک دیفیوژن آگار و چاهک آگار و همچنین حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب ۱۶/۵۰ میلی‌متر، ۱۷/۳۰ میلی‌متر، ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و ۱۲۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود و این مقادیر برای باکتری *سالمونلا تیفی* به ترتیب ۷/۶۰ میلی‌متر، ۹/۲۰ میلی‌متر، ۱۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و ۵۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. بطور کلی، اسانس برازمبل می‌تواند بعنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدان و ضد میکروب طبیعی استفاده شود.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.151.149]

۱-مقدمه

درمان عفونت‌های میکروبی بیشتر بر اساس استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های درمانی رایج است. از آنجایی که آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی به طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرند، میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا عمدتاً در برابر این مواد شیمیایی مقاوم شده‌اند. علاوه بر این، آنتی‌بیوتیک‌های درمانی رایج معمولاً با عوارض جانبی از جمله حساسیت مفرط، سرکوب سیستم ایمنی و پاسخ‌های آلرژیک همراه هستند [۱-۹].

علاوه بر این، اشکال مختلف اکسیژن فعال که به عنوان گونه‌های اکسیژن فعال نیز شناخته می‌شوند، شامل رادیکال‌های آزاد و گونه‌های رادیکال غیرآزاد می‌باشند. گونه‌های اکسیژن فعال استرس اکسیداتیو را در بدن انسان تحریک و مکانیسم دفاعی آنتی‌اکسیدانی آن را مختل می‌نمایند. ازاین‌رو، رادیکال‌های آزاد به ماکرومولکول های سلولی حمله کرده و منجر به چندین اختلال فیزیولوژیکی می‌شود. مطالعات نسبی نشان داده‌اند که استفاده طولانی مدت از نگهدارنده های شیمیایی ممکن است منجر به شیوع سرطان‌های مختلف شود [۱۰]. بنابراین استفاده از نگهدارنده های شیمیایی در چند دهه اخیر کاهش یافته است [۱۱-۱۲]. در واقع، استفاده از گیاهان دارویی به عنوان نگهدارنده اخیراً به دلیل عوارض جانبی ناخواسته کمتر آنها افزایش یافته است [٤-٦, ٨, ١٣-٢٨].

اسانس‌ها و متابولیت‌های ثانویه گیاهان کاربردهای گسترده‌ای در صنایع پزشکی، غذایی و بهداشتی دارند. اسانس گیاهی شامل ویژگی‌های مختلف سلامتی از جمله فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی است [٢٦, ٢٩]. برازمبل (*Perovskia abrotanoides*) گیاهی است چند ساله که به صورت وحشی در ایران، افغانستان، پاکستان و ترکمنستان رشد می‌کند [۳۰]. اسانس این گیاه حاوی ترکیب‌هایی است که ویژگی ضد باکتریایی دارد. همچنین دی‌ترپنهای تخلیص شده از آن نوعی سم سلولی و ضدپلاسمودیسم است. ضماد تهیه شده از ساییدن ریشه این گیاه در آب، روغن کنجد و موم در درمان بیماری لیشمانیا به کار می‌رود. از دیگر ویژگی‌های آن می‌توان به آثار مثبت آن روی عملکرد قلب، بازدارندگی آنزیم آلدوزردوکتاز، اتصال به گیرنده‌های بنزودیازپین و القای آپوپتوز اشاره کرد. بررسی‌های طب سنتی نشان داده است که این گیاه دارای آثار ضد درد و ضدالتهاب است [۳۱]. گزارش شده است که اسانس و عصاره برازمبل به دلیل وجود ترکیب‌های فنولی، فلاونوئیدی و آنتوسیانینی دارای خاصیت ضد انگلی، آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی است [۳۰, ۳۲, ۳۳]. همچنین برازمبل به دلیل داشتن اثر آنتی‌اکسیدانی بالا سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود و آنتی‌اکسیدان‌ها ضمن کاهش قند خون رادیکال‌های آزاد را مهار می‌کنند و از عوارض قند و چربی بالا می‌کاهند [۳۱].

در این تحقیق، میزان فنول کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی-اکسیدانی و اثر ضد میکروبی اسانس برازمبل در برابر برخی میکروارگانیسم‌های پاتوژن در شرایط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲- ۱- مواد

مواد مورد استفاده در این پژوهش از درجه آزمایشگاهی برخوردار بودند و از شرکت‌های مرک آلمان و سیگما آمریکا خریداری شدند.

۲- ۲- استخراج اسانس

پودر خشک شده مواد گیاهی (۱۰۰ گرم) با استفاده از دستگاه کلونجر برای استخراج اسانس به مدت ۵ ساعت تحت تقطیر با آب قرار گرفت. اسانس استخراج شده توسط Na_2SO_4 بی‌آب خشک، فیلتر و در ویال در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [٣٤].

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.151.149]

۲- ۳- فنول کل

روش احمد و همکاران [۳۵] با برخی تغییرات برای اندازه‌گیری محتوای فنول کل اسانس استفاده شد. برای این منظور، ۰/۲ میلی‌لیتر اسانس یا اسید گالیک (۰-۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با ۲/۵ میلی‌لیتر معرف ۱۰ درصد فولین سیوکالتو مخلوط شد. سپس ۲ میلی‌لیتر Na_2CO_3 (۷/۵ درصد) اضافه شد و محلول به مدت ۱ ساعت در دمای محیط انکوبه شد. جذب محلول در ۷۵٦ نانومتر خوانده شد و محتوای فنول کل اسانس با استفاده منحنی استاندارد گالیک اسید محاسبه و به صورت میلی‌گرم معادل اسید گالیک در هر گرم از اسانس بیان شد.

۲- ٤- فلاونوئید کل

محتوای فلاونوئید کل اسانس بر اساس روش نوشاد و همکاران [۳٦] اندازه‌گیری شد. به طور خلاصه، ۰/۵ میلی‌لیتر نمونه با ۳۰۰ میکرولیتر محلول $NaNO_2$ (1:20 w/v) ترکیب شد و مخلوط به مدت ۱۰ ثانیه ورتکس گردید. مخلوط به دست آمده به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و سپس با ۳۰۰ میکرولیتر $AlCl_3$ (1:10 w/v)، ۲ میلی‌لیتر NaOH یک مولار و ۱/۹ میلی‌لیتر آب مقطر ترکیب گردید. جذب مخلوط در ۵۱۰ نانومتر ثبت شد و محتوای فلاونوئید کل اسانس به صورت میلی‌گرم معادل کوئرستین در هر گرم اسانس بیان شد [۳٦].

۲- ۵- فعالیت آنتی‌اکسیدانی

۲- ۵- ۱- مهار رادیکال DPPH

فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس در برابر مهار رادیکال‌های آزاد DPPH مطابق روش ذکر شده در منابع علمی با تغییرات مورد نیاز ارزیابی شد [۳۷]. در این آزمون، اسانس با محلول DPPH (۱ میلی‌لیتر؛ ۹۰ میکرومولار) و سپس با متانول (۹۵ درصد) تا حجم نهایی ٤ میلی‌لیتر مخلوط شد. پس از ۱ ساعت دوره گرمخانه گذاری در دمای اتاق و محیط تاریک، جذب محلول در طول‌موج ۵۱۵ نانومتر ثبت شد. قابلیت اسانس در مهار رادیکال آزاد DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{Antioxidant activity (\%)} = [(A_{blank} - A_{sample})/A_{blank}] \times 100$$

در این فرمول، A_{blank} و A_{sample} به ترتیب جذب شاهد و نمونه می‌باشند.

۲- ۵- ۲- مهار رادیکال ABTS

در این آزمون، محلول ABTS و $K_2S_2O_8$ در ابتدا با هم مخلوط شدند تا محلول کاتیونی رادیکال ABTS تولید شود. پس از آن، ۰/۱ میلی‌لیتر اسانس یا کنترل با ۳/۹ میلی‌لیتر محلول رادیکال ABTS مخلوط شد و جذب آن در ۷۳٤ نانومتر ثبت گردید. سپس فعالیت آنتی‌اکسیدانی به صورت زیر اندازه‌گیری شد:

$$\text{Antioxidant activity (\%)} = [(A_{blank} - A_{sample})/A_{blank}] \times 100$$

در این فرمول، A_{blank} و A_{sample} به ترتیب جذب شاهد و نمونه می‌باشند [۱٤].

۲- ٦- فعالیت ضدمیکروبی

اثر ضدمیکروبی اسانس در برابر باکتری‌های *باسیلوس سوبتیلیس*، *استرپتوکوکوس پیوژنز*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *شیگلا دیسانتری*، *انتروباکتر ائروژنز* و *سالمونلا تیفی* مطابق روش‌های زیر انجام گردید.

۲- ٦- ۱- دیسک دیفیوژن آگار

سوسپانسیون میکروبی روی ظروف پتری حاوی مولر هینتون آگار کشت داده شد. دیسک‌های کاغذی با قطر ٦ میلی‌متر در ۲۰ میکرولیتر اسانس غوطه‌ور شدند. در ادامه، دیسک‌ها روی سطح محیط کشت تلقیح شده قرار داده شدند و گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت انجام گردید. قطر ناحیه بازداری در اطراف دیسک‌ها بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد [۳۸].

۲- ٦- ۲- چاهک آگار

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.151.149]

در این روش، سوسپانسیون میکروبی بر روی محیط مولر هینتون آگار در ظروف پتری پخش شد. پس از آن، چندین چاهک (قطر ٦ میلی‌متر) روی سطح محیط کشت ایجاد و با ٢٠ میکرولیتر اسانس پر شدند. ظروف پتری به مدت ٢٤ ساعت در دمای ثابت ٣٧ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و قطر ناحیه بازداری در اطراف چاهک‌ها اندازه‌گیری و بر حسب میلی‌متر بیان شد [٣٨].

٢- ٦- ٣- حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی

برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی رشد اسانس از روش میکرودایلوشن در پلیت ٩٦ خانه‌ای ارائه شده توسط ال-اتکی و همکاران [٣٩] با تغییرات مورد نیاز استفاده گردید. غلظت‌های متوالی (١، ٢، ٤، ٨، ١٦، ٣٢، ٦٤، ١٢٨، ٢٥٦ و ٥١٢ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) از اسانس در محیط کشت مولر هینتون براث تهیه و از طریق فیلترهای سر سرنگی ٠/٢٢ میکرونی استریل شد. سپس ٢٠٠ میکرولیتر از هر غلظت به چاهک‌های حاوی سوسپانسیون‌های میکروبی (٢٠ میکرولیتر؛ معادل ٠/٥ مک فارلند) اضافه شد. پلیت ها در دمای ٣٧ درجه سانتی‌گراد به مدت ٢٤ ساعت انکوبه شدند و سپس محلول ٢٠ میکرولیتر محلول ٠/٥ درصد تری‌فنیل‌تترازولیوم کلراید به چاهک‌ها اضافه شد. پس از انکوباسیون مجدد در دمای ٣٧ درجه سانتی‌گراد به مدت ٣٠ دقیقه، فقدان رنگ قرمز تیره (به عنوان شاخص رشد میکروبی) در چاهک‌ها که با کمترین غلظت اسانس ایجاد شده بود، به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی رشد اسانس در نظر گرفته شد.

حداقل غلظت کشندگی اسانس بر اساس روش الغونه و همکاران [٤٠] انجام شد. بر اساس نتایج آزمایش حداقل غلظت مهارکنندگی رشد، ١٠٠ میکرولیتر از چاهک‌های بدون رشد میکروبی بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد. در مرحله بعد، محیط با توجه به شرایط ذکر شده در بالا برای آزمایش ضد میکروبی حداقل غلظت مهارکنندگی رشد انکوبه شد و کمترین غلظت اسانس که منجر به مرگ باکتری شد (یعنی عدم تشکیل کلنی قابل مشاهده) به عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته شد.

٢- ٧- آنالیز آماری

آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شدند. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Minitab (نسخه ١٦) و با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه تجزیه‌وتحلیل شد. آزمون توکی، در سطح اطمینان ٩٥٪ ($p < 0.05$)، برای تعیین اختلاف بین میانگین داده‌ها استفاده شد.

٣- نتایج و بحث

شکل ١، میزان فنول کل و فلاونوئید کل اسانس برازمبل را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که اسانس دارای غلظت قابل‌توجهی از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی می‌باشد؛ بطوریکه میزان فنول کل و فلاونوئید کل اسانس به ترتیب برابر با ٢٤/٢٦ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم و ١٣/١٥ میلی‌گرم کوئرستین در گرم بود. چندین اسید فنولیک به صورت کمی در عصاره متانولی گیاه برازمبل کشت داده شده در شرایط آزمایشگاهی و گیاه وحشی توسط قادری و همکاران (٢٠١٩) تعیین شده است. اسید رزمارینیک عمده‌ترین اسید فنولیک در عصاره هر دو نمونه بود و محتوای فنول کل در گیاه کشت شده در شرایط آزمایشگاهی (٧١ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم) بالاتر از نوع وحشی (٥٥ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم) گیاه بود [٤١]. بیات و همکاران در سال ١٤٠٠، میزان فنول کل عصاره‌های متانولی، اتانولی، هگزان و آبی در اندام‌های مختلف گیاه برازمبل (گل، ساقه و برگ) را مورد بررسی قرار دادند. میزان فنول کل در عصاره‌ها از ٠-٣ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم متغیر بود و بیشترین مقادیر فنول در عصاره متانولی به دست آمد. اگرچه تفاوت معنی‌داری بین عصاره‌های هگزانی و آبی در محتوای فنول مشاهده نشد، اما محتوای فنول در عصاره‌های آبی (به جز عصاره آبی ساقه) کمتر بود. علاوه بر این، میزان فنول کل در عصاره‌های گل در مقایسه با عصاره‌های برگ و ساقه

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.151.149]

بیشترین بود [۴۲]. در مطالعه‌ای دیگر، میزان فنول کل ۱۹–۶۶ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم و فلاونوئید کل ۲/۵۰ – ۴/۱۱ میلی‌گرم کوئرستین در گرم در عصاره متانولی برازمبل گزارش شده است [۳۲].

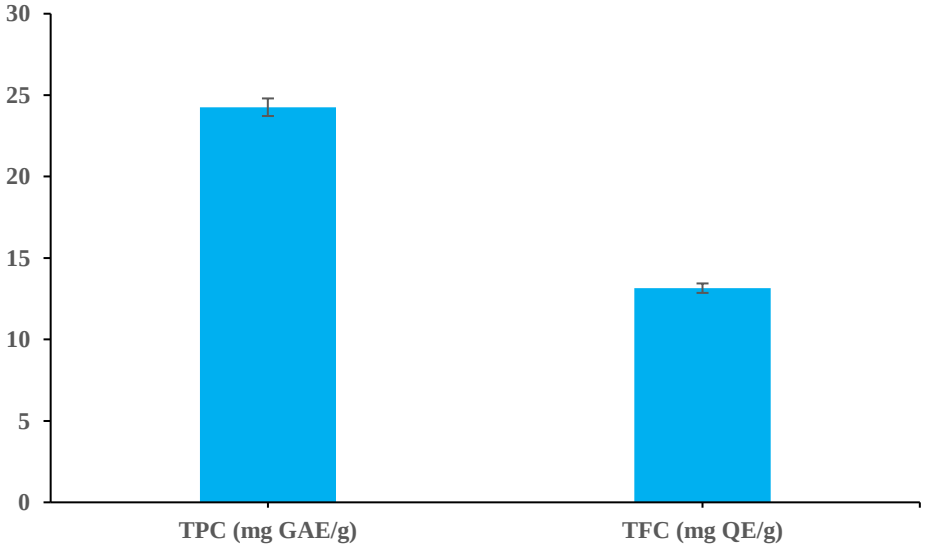


Figure 1. Total phenol content (TPC) and total flavonoid content (TFC) of *P. abrotanoides* essential oil. GAE = Gallic acid equivalent

مطالعات نشان داده‌اند که اکثر گیاهانی که حاوی مشتقات فنولی هستند قابلیت آنتی‌اکسیدانی بالایی را نیز از خود نشان می‌دهند و ارتباط مثبت و معنی‌دار فعالیت آنتی‌اکسیدانی مواد گیاهی با محتویات ترکیبات فنولی آنها به اثبات رسیده است [۱۰]. مطابق نتایج ارائه شده در شکل ۲، اسانس برازمبل قادر به مهار رادیکال‌های آزاد DPPH (۵۲/۴۹ درصد) و ABTS (۵۶/۷۹ درصد) بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی برازمبل در مطالعه‌ی غفاری و همکاران در سال ۲۰۱۸ گزارش شده است [۳۲]. علاوه بر این، بیات و همکاران در سال ۱۴۰۰ نشان دادند که گیاه برازمبل و مخصوصاً گل‌ها غنی از ترکیبات فنولی می‌باشد و متانول بعنوان بهترین حلال جهت استخراج ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد [۴۲]. با اینحال، تفاوت در میزان نتایج ارائه شده در این پژوهش با یافته‌های سایر محققین می‌تواند به تغییر در ترکیب و کیفیت اسانس و عصاره حاصل از منابع گیاهی در اثر سن و تنوع گیاه، شرایط جغرافیایی، روش‌های خشک‌کردن و روش‌های استخراج نسبت داده شود [۲, ۱۳, ۱۵]. با توجه به نتایج، اسانس برازمبل می‌تواند بعنوان جایگزین طبیعی برای آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی به منظور بهبود پایداری اکسایشی بسیاری از محصولات غذایی استفاده گردد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.151.149]

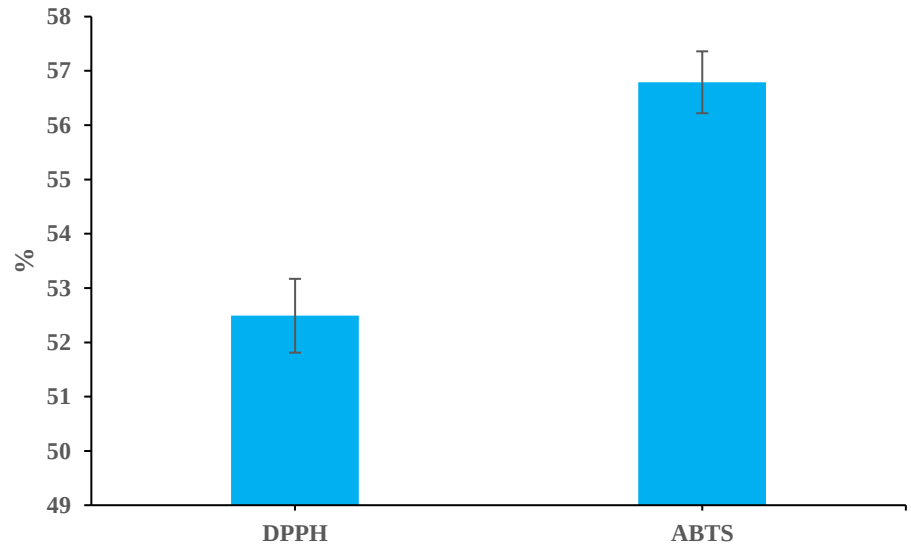


Figure 2. Antioxidant effect of *P. abrotanoides* essential oil based on DPPH and ABTS radical scavenging methods.

نتایج اثر ضدمیکروبی اسانس برازمبل در برابر باکتری‌های پاتوژن بر پایه روش دیسک دیفیوژن آگار در شکل ۳ ارائه شده است. مطابق نتایج، اثر ضدمیکروبی وابسته به نوع باکتری بود و باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تیفی* به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین سویه‌ها در برابر اسانس بودند ($p < 0.05$). میانگین قطر هاله عدم رشد برای باکتری‌های *باسیلوس سوبتیلیس*، *استرپتوکوکوس پیوژنز*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *شیگلا دیسانتری*، *انتروباکتر ائروژنز* و *سالمونلا تیفی* به ترتیب ۱۳/٤٥، ۱٤/۸۰، ۱٦/٥۰، ۸/۹۰، ۱۰ و ۷/٦۰ میلی‌متر به دست آمد.

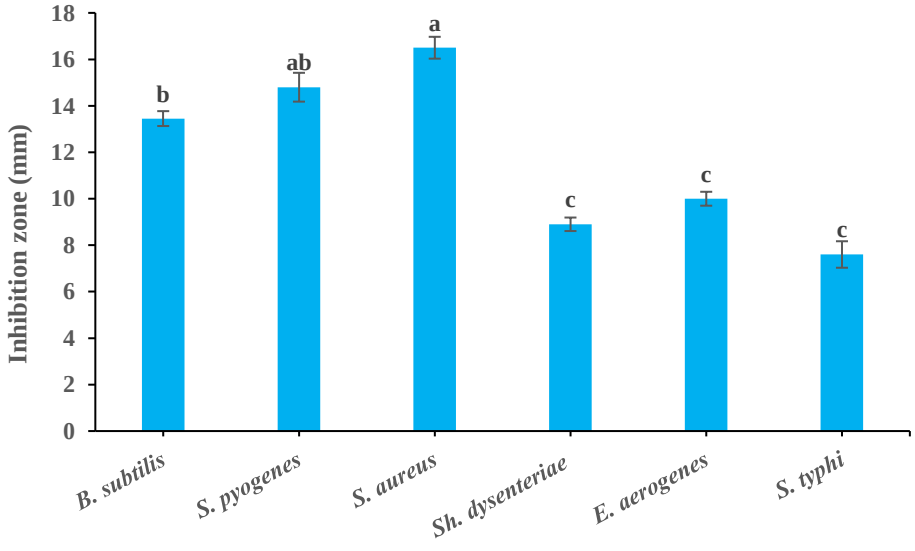


Figure 3. Antibacterial effect of *P. abrotanoides* essential oil based on disc diffusion agar method.

نتایج مشابهی در آزمون چاهک آگار مشاهده گردید (شکل ٤) و میانگین قطر هاله عدم رشد برای باکتری‌های *باسیلوس سوبتیلیس*، *استرپتوکوکوس پیوژنز*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *شیگلا دیسانتری*، *انتروباکتر ائروژنز* و *سالمونلا تیفی* به ترتیب ۱٤، ۱٦/۱۰، ۱۷/۳۰، ۹/٦۰، ۱۰/۲۰ و ۹/۲۰

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.151.149]

میلی‌متر بود. همانطور که مشاهده می‌شود، میانگین قطر هاله عدم رشد در آزمون چاهک آگار بزرگ‌تر از روش دیسک دیفیوژن آگار بود. مطابق یافته‌های علیزاده بهبهانی و همکاران، این تفاوت ممکن است ناشی از این حقیقت باشد که گونه‌های باکتریایی در روش چاهک آگار در تماس مستقیم با اسانس هستند، اما سرعت انتشار عامل ضد میکروبی از سطوح دیسک به محیط، اثر بازدارندگی آن را در آزمایش دیسک دیفیوژن آگار تعیین می‌کند [۱۵, ۱۷, ۳۸].

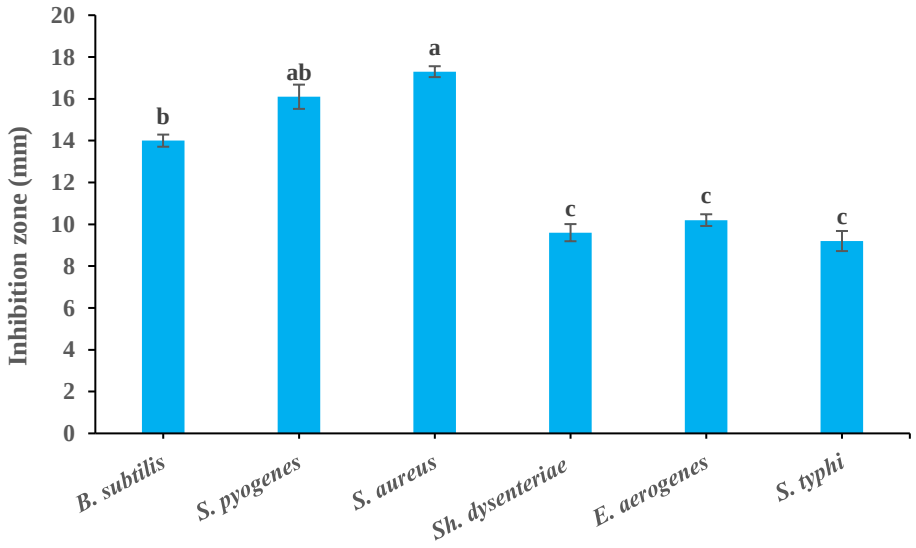
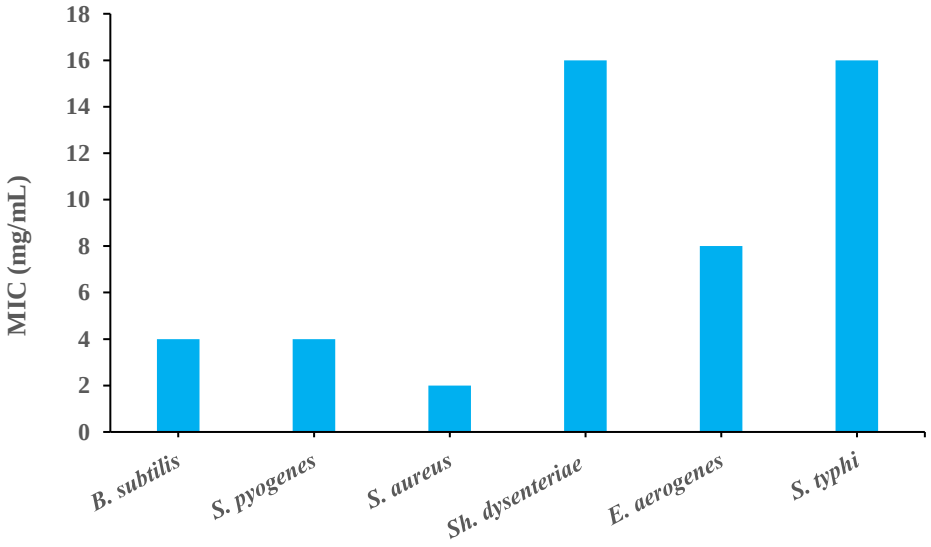


Figure 4. Antibacterial effect of *P. abrotanoides* essential oil based on well diffusion agar method.

نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی اسانس در برابر باکتری‌های پاتوژن در شکل‌های ۵ و ٦ نمایش داده شده است. حداقل غلظت مهارکنندگی برای باکتری‌های *باسیلوس سوبتیلیس*، *استرپتوکوکوس پیوژنز*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *شیگلا دیسانتری*، *انتروباکتر ائروژنز* و *سالمونلا تیفی* به ترتیب ٤، ٤، ۲، ١٦، ۸ و ١٦ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی برای باکتری‌های فوق به ترتیب برابر با ۱۲۸، ۱۲۸، ۱۲۸، ۵۱۲، ۵۱۲ و ۵۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. مطابق نتایج، باکتری‌های گرم منفی نسبت به انواع گرم مثبت در برابر اسانس مقاوم‌تر بودند.



[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.151.149]

Figure 5. Antibacterial effect of *P. abrotanoides* essential oil based on minimum inhibitory concentration (MIC) method.

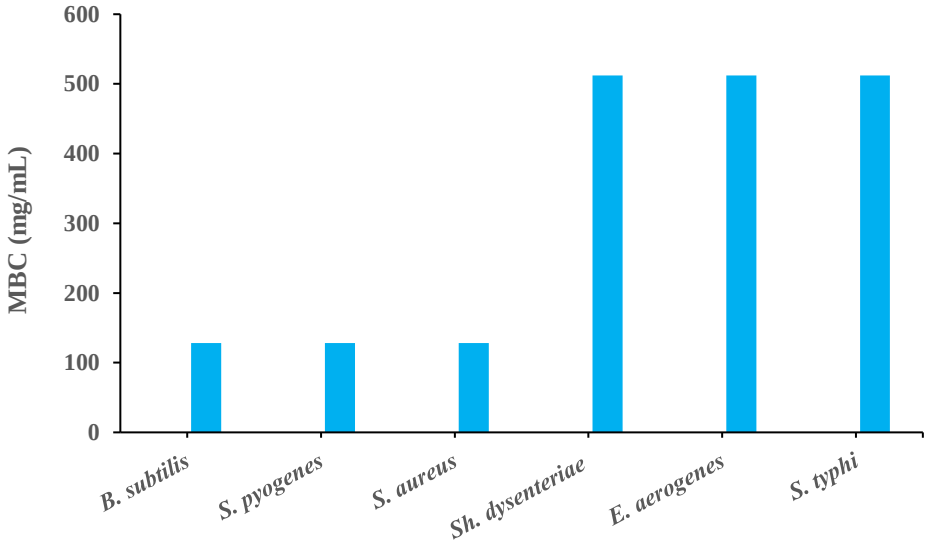


Figure 6. Antibacterial effect of *P. abrotanoides* essential oil based on minimum bactericidal concentration (MBC) method.

در راستای نتایج این پژوهش، محبوبی و کاظمپور در سال ۲۰۰۹، فعالیت ضدمیکروبی اسانس برازمبل را در برابر میکروارگانیسم‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *اشرشیا کلی*، *سودوموناس ائروژینوزا*، *کاندیدا البیکنز* و *آسپرژیلوس نایجر* بررسی کردند. نتایج این محققین نشان داد که *کاندیدا البیکنز* و باکتری‌های گرم مثبت به ویژه *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به اسانس بسیار حساس بودند و اثر ضدمیکروبی اسانس به حضور ترکیبات ۱،۸-سینئول، کافور و آلفا-پینن نسبت داده شد. بطور کلی، باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت نسبت به اسانس برازمبل مقاوم بودند [۳۰]. لایه بیرونی باکتری‌های گرم منفی از لیپوپلی‌ساکاریدی تشکیل شده است. این لایه یک سد نفوذپذیری آبگریز را تشکیل می‌دهد که انتشار ترکیبات آبگریز را از طریق پوشش لیپوپلی‌ساکاریدی آن محدود می‌کند [۳۸]. اسانس‌ها همیشه ترکیب پیچیده‌ای از اجزای شیمیایی مختلف را نشان می‌دهند. ماهیت و نسبت تک تک اجزای اسانس می‌تواند بر فعالیت ضد میکروبی آنها تأثیر بگذارد. محبوبی و کاظمپور گزارش کردند که ۱،۸-سینئول یک ترکیب چربی دوست است و خاصیت چربی دوست آلفا-پینن بیشتر از کافور است. به طور کلی، یک ترکیب چربی دوست میل بیشتری به غشای سلولی داشته و سمیت بیشتری را نشان می‌دهد. بنابراین، ۱،۸-سینئول بهترین اثر را بر زنده ماندن استافیلوکوکوس اورئوس داشت و اثر آلفا پینن و سپس کافور کمتر بود. پس از ۲٤ ساعت، اثر کافور بر زنده ماندن باکتری‌ها بیشتر از آلفا-پینن و ۱،۸-سینئول بود. علاوه بر ساختار چربی دوست اجزاء، تفاوت در فعالیت ضد میکروبی اجزاء به حلالیت آبی آنها نسبت داده می‌شود. جذب مونوترپن ها با حلالیت آبی و نفوذپذیری پوشش بیرونی میکروارگانیسم‌ها تعیین می‌شود. حلالیت آبی کافور بیشتر از سایرین است و فعالیت ضد میکروبی بیشتری نسبت به سایر اجزا در برابر همه میکروارگانیسم‌ها دارد. ۱،۸-سینئول احتمالاً به این دلیل غیرفعال هستند که قادر به نفوذ مؤثر به غشای خارجی برای مدت طولانی نبودند. کافور و آلفا-پینن در غلظت بالایی در اسانس برازمبل یافت شد و دارای فعالیت ضد میکروبی بود. غلظت بالای آلفا-پینن و کافور در اسانس احتمالاً توضیحی برای فعالیت ضد میکروبی آن در برابر

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.151.149]

باکتری‌های گرم مثبت و مخمر است. آلفا-پینن یکپارچگی سلولی باکتری‌های گرم مثبت را از بین می‌برد و فعالیت تنفسی را در میتوکندری مخمر مهار می‌کند و تا حدی فعالیت ضد قارچی داشت، اما باکتری‌های گرم منفی نسبت به آن مقاوم‌تر بودند [۳۰]. فعالیت ضدمیکروبی اسانس برازمبل در برابر میکروارگانیسم‌های پاتوژن در مطالعه‌ی اشرف و همکاران در سال ۲۰۱٤ نیز گزارش شده است [۳٤].

٤- نتیجه‌گیری نهایی

در این مطالعه اسانس برازمبل با استفاده از روش کلونجر و تقطیر با آب استخراج شد. نتایج نشان داد که اسانس حاوی مقادیر معنی‌داری از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی می‌باشد. همچنین، اسانس قادر به مهار رادیکال‌های آزاد ABTS و DPPH بود که قابلیت اسانس در جلوگیری از واکنش‌های اکسایشی را نشان می‌دهد. علاوه بر این، نتایج ضدمیکروبی نشان داد که اسانس با شدت بیشتری قادر به جلوگیری از رشد و همچنین از بین بردن باکتری‌های گرم مثبت نسبت به سویه‌های گرم منفی بود. کمترین قطر هاله عدم رشد اسانس برای باکتری *سالمونلا تیفی* و بیشترین قطر هاله عدم رشد برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* مشاهده گردید. با توجه به غلظت قابل قبول ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در اسانس، این ماده طبیعی می‌تواند جهت مهار رادیکال‌های آزاد و رشد پاتوژن های غذایی استفاده شود. با اینحال، مطالعات بیشتر برای بررسی سمیت بالقوه اسانس برازمبل جهت استفاده در شرایط درون تنی ضروری است.

٥- تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان جهت حمایت مالی طرح پژوهشی شماره ۱۴۰۲/۳۳ که این مقاله مستخرج از آن می‌باشد تشکر و قدردانی می‌نمایند.

٦-منابع

[1] 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*, *17*(106), 75-83. https://doi.org/10.52547/fsct.17.106.75

[2] Alizadeh Behbahani, B., Shahidi, F., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., & Mohebbi, M. (2017). Antioxidant activity and antimicrobial effect of tarragon (Artemisia dracunculus) extract and chemical composition of its essential oil. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *11*, 847-863 .

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

[4] 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*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1202228

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

[6] 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 .

[7] Tabatabaei Yazdi, F., Falah, F., Alizadeh Behbahani, B., Vasiee, A., & Mortazavi, A. (2019). Antimicrobial effect of Citrus aurantium essential oil on some food-borne pathogens and

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.151.149]

its determination of chemical compounds, total phenol content, total flavonoids content and antioxidant potential. *Journal of Food Science and Technology*, *16*(87), 291-304 .

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

[9] Zanganeh, H., Mortazavi, S. A., Shahidi, F., & Alizadeh Behbahani, B. (2021). Evaluation of the chemical and antibacterial properties of Citrus paradise essential oil and its application in Lallemantia iberica seed mucilage edible coating to improve the physicochemical, microbiological and sensory properties of lamb during refrigerated storage. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *15*(6), 5556-5571. https://doi.org/10.1007/s11694-021-01129-9

[10] Alizadeh Behbahani, B., & Shahidi, F. (2019). Melissa officinalis Essential Oil: Chemical Compositions, Antioxidant Potential, Total Phenolic Content and Antimicrobial Activity. *Nutrition and Food Sciences Research*, *6*(1), 17-25. https://doi.org/10.29252/nfsr.6.1.17

[11] Nooshkam, M., Varidi, M., & Bashash, M. (2019). The Maillard reaction products as food-born antioxidant and antibrowning agents in model and real food systems. *Food Chemistry*, *275*, 644-660. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.083

[12] Nooshkam, M., Varidi, M., & Verma, D. K. (2020). Functional and biological properties of Maillard conjugates and their potential application in medical and food: A review. *Food Research International*, *131*, 109003. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109003

[13] Nooshkam, M., Varidi, M., & Alkobeisi, F. (2022). Bioactive food foams stabilized by licorice extract/whey protein isolate/sodium alginate ternary complexes. *Food Hydrocolloids*, *126*, 107488. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107488

[14] 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 .

[15] Alizadeh Behbahani, B ,.Noshad, M., & Jooyandeh, H. (2020). Improving oxidative and microbial stability of beef using Shahri Balangu seed mucilage loaded with Cumin essential oil as a bioactive edible coating. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *24*, 101563. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101563

[16] Alizadeh Behbahani, B., Shahidi, F., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., & Mohebbi, M. (2017). Use of Plantago major seed mucilage as a novel edible coating incorporated with Anethum graveolens essential oil on shelf life extension of beef in refrigerated storage. *International Journal of Biological Macromolecules*, *94*, 515-526. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.10.055

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

[18] Behbahani, B. A., Noshad, M., & Falah, F. (2019). Cumin essential oil: Phytochemical analysis, antimicrobial activity and investigation of its mechanism of action through scanning electron microscopy. *Microbial Pathogenesis*, *136*, 103716 .

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

[20] Behbahani, B. A., Yazdi, F. T., Vasiee, A., & Mortazavi, S. A. (2018). Oliveria decumbens essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some clinical and standard strains causing infection. *Microbial Pathogenesis*, *114*, 449-452 .

[21] 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 .

[22] Heydari, S., Jooyandeh, H., Alizadeh Behbahani, B., & Noshad, M. (2020). The impact of Qodume

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.151.149]

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 .

[23] Saffari Samani, E., Jooyandeh, H., & Alizadeh Behbahani, B. (2023). The impact of Zedo gum based edible coating containing Zataria multiflora Boiss essential oil on the quality enhancement and shelf life improvement of fresh buffalo meat. *Journal of Food Measurement and Characterization*. https://doi.org/10.1007/s11694-023-01811-0

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

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

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

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

[28] Yazdi, F. T., Tanhaeian, A., Azghandi, M., Vasiee, A., Alizadeh Behbahani, B., 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. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.11.047

[29] Alizadeh Behbahani, B., & Imani Fooladi, A. A. (2018). Development of a novel edible coating made by Balangu seed mucilage and Feverfew essential oil and investigation of its effect on the shelf life of beef slices during refrigerated storage through intelligent modeling. *Journal of Food Safety*, *38*(3), e12443. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jfs.12443

[30] Mahboubi, M & ,Kazempour, N. (2009). The Antimicrobial Activity of Essential Oil from Perovskia abrotanoides Karel and its Main Components. *Indian J Pharm Sci*, *71*(3), 343-347. https://doi.org/10.4103/0250-474x.56016

[31] Rastegar Moghadam Ghaemi, N., Tehranipour, M., & Shahrokhabadi, K. (2021). Effect of hydroalcoholic extract of Perovskia abrotanoides on blood glucose and lipid profile by intraperitoneal injection in male diabetic rats. *Research-in-Medicine*, *45*(3), 25-30 .

[32] Ghaffari, Z., Rahimmalek, M., & Sabzalian, M. R. (2018). Variations in Essential Oil Composition and Antioxidant Activity in Perovskia abrotanoides Kar. Collected from Different Regions in Iran. *Chemistry & Biodiversity*, *15*(6), e1700565. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/cbdv.201700565

[33] Arabi, F., Moharramipour, S., & Sefidkon, F. (2008). Chemical composition and insecticidal activity of essential oil from Perovskia abrotanoides (Lamiaceae) against Sitophilus oryzae (Coleoptera: Curculionidae) and Tribolium castaneum (Coleoptera: Tenebrionidae). *International Journal of Tropical Insect Science*, *28*(3), 144-150. https://doi.org/10.1017/S1742758408079861

[34] Ashraf, S. N., Zubair, M., Rizwan, K., Tareen, R. B., Rasool, N., Zia-Ul-Haq, M., & Ercisli, S. (2014). Compositional studies and Biological activities of Perovskia abrotanoides Kar. oils. *Biological Research*, *47*(1), 12. https://doi.org/10.1186/0717-6287-47-12

[35] Ahmed, A. F., Attia, F. A. K., Liu, Z., Li, C., Wei, J., & Kang, W. (2019). Antioxidant activity and total phenolic content of essential oils and extracts of sweet basil (Ocimum basilicum L.) plants. *Food Science and Human Wellness*, *8*(3), 299-305. https//:doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.07.004

[36] Noshad, M., Alizadeh Behbahani, B., Jooyandeh, H., Rahmati–Joneidabad, M., Hemmati Kaykha, M. E., & Ghodsi Sheikhjan, M. (2021).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.151.149]

Utilization of Plantago major seed mucilage containing Citrus limon essential oil as an edible coating to improve shelf-life of buffalo meat under refrigeration conditions. *Food Science & Nutrition*, *9*(3), 1625-1639. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/fsn3.2137

[37] Mimica-Dukić, N., Božin, B., Soković, M., Mihajlović ,B., & Matavulj, M. (2003). Antimicrobial and Antioxidant Activities of Three Mentha Species Essential Oils. *Planta Med*, *69*(05), 413-419. https://doi.org/10.1055/s-2003-39704

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

[39] El Atki, Y., Aouam, I., El Kamari, F., Taroq, A., Nayme, K., Timinouni, M., Lyoussi, B., & Abdellaoui, A. (2019). Antibacterial activity of cinnamon essential oils and their synergistic potential with antibiotics. *J Adv Pharm Technol Res*, *10*(2), 63-67. https://doi.org/10.4103/japtr.JAPTR_366_18

[40] Alghooneh, A., Alizadeh Behbahani, B., Noorbakhsh, H., & Tabatabaei Yazdi, F. (2015). Application of intelligent modeling to predict the population dynamics of Pseudomonas aeruginosa in Frankfurter sausage containing Satureja bachtiarica extracts. *Microbial Pathogenesis*, *85*, 58-65. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.micpath.2015.06.003

[41] Ghaderi, S., Nejad Ebrahimi, S., Ahadi, H., Eslambolchi Moghadam, S., & Mirjalili, M. H. (2019). In vitro propagation and phytochemical assessment of Perovskia abrotanoides Karel. (Lamiaceae) – A medicinally important source of phenolic compounds. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *19*, 101113. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101113

[42] Bayat, H., Noghondar, M. A., & Aminifard, M. H. (2022). Determination and Comparison of Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Water, Methanolic, Ethanolic and Hexane Extracts from Different Parts of Perovskia abrotanoides Karel. *Journal of Innovation in Food Science & Technology*, *13*(4), 1-11 .

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.151.149]

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Evaluation of total phenol and flavonoid, antioxidant power and antimicrobial activity of *Perovskia abrotanoides* essential oil for study from Gram-positive and Gram-negative laboratories: a laboratory study

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

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

ARTICLE INFO

Article History:
Received: 2024/1/31
Accepted:2024/4/9

Keywords:

Perovskia abrotanoides,

Essential oil,

Pathogen,

Oxidation,

Natural preservative.

DOI: 10.22034/FSCT.21.151.149.

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

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the total phenol and flavonoid content and investigate the antioxidant and antimicrobial activity of *Perovskia abrotanoides* essential oil. The total phenol content was determined using the Folin Ciocalteu method, the total flavonoid content using the colorimetric aluminum chloride method, the antioxidant potential using the DPPH and ABTS free radical inhibition methods, and the antimicrobial activity using the disc diffusion agar, well diffusion agar, minimum inhibitory concentration, and minimum bactericidal concentration methods. The total phenol, total flavonoid, DPPH free radical inhibition, and ABTS free radical inhibition of the essential oil were found to be 24.26 mg of gallic acid per gram, 13.15 mg of quercetin per gram, 52.49%, and 56.79%, respectively. The antimicrobial results showed that the antimicrobial effect of the essential oil was higher against Gram-positive bacteria than Gram-negative types, and *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi* were the most sensitive and resistant microbial strains against *P. abrotanoides* essential oil, respectively. The diameter of the growth inhibition zone in the disc diffusion agar and well diffusion agar tests, as well as the minimum inhibitory and bactericidal concentrations for *S. aureus*, were 16.50 mm, 17.30 mm, 2 mg/mL, and 128 mg/mL, respectively, and these values for *S. typhi* were 7.60 mm, 9.20 mm, 16 mg/mL, and 512 mg/mL, respectively. In general, *P. abrotanoides* essential oil can be used as a natural antioxidant and antimicrobial compound.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.151.149]