



ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی، فنول و فلاونوئید کل و فعالیت ضدباکتریایی بابونه آلمانی

محمد نوشاد*^۱، بهروز علیزاده بهبهانی^۱، محمدمین مهرنیا^۱

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

اطلاعات مقاله	چکیده
<p>تاریخ های مقاله :</p> <p>تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱/۲۱</p> <p>تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۳/۱</p>	<p>بابونه آلمانی (<i>Matricaria chamomilla L.</i>) یک گیاه دارویی شناخته شده است که در سراسر جهان توزیع می شود و در طب سنتی برای درمان انواع بیماری ها کاربرد فراوانی دارد. در این پژوهش، اسانس بابونه آلمانی توسط روش تقطیر با آب استخراج گردید و محتوای فنول کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی اکسیدانی و اثر ضد میکروبی آن بررسی شد. میزان فنول کل اسانس برابر با ۳۹/۷۰ mg GAE/g و فلاونوئید کل آن برابر با ۱۸/۸۰ mg QE/g بود. فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس بر پایه دو روش مهار رادیکال های آزاد DPPH و ABTS مورد ارزیابی قرار گرفت؛ اسانس قادر به مهار رادیکال های آزاد DPPH (۵۸/۶۰ درصد) و ABTS (۶۱/۶۰ درصد) بود. اثر ضد میکروبی اسانس بر علیه باسیلوس سرئوس، استرپتوکوکوس پیورنز، استافیلوکوکوس اورئوس، شیگلا دیسانتری، انتروباکتر ائروژنز و سالمونلا تیفی-موریوم توسط دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی مورد بررسی قرار گرفت. یافته های فعالیت ضد میکروبی اسانس به روش دیسک دیفیوژن آگار و چاهک آگار نشان داد که استرپتوکوکوس پیورنز و انتروباکتر ائروژنز به ترتیب حساس ترین و مقاوم ترین سویه های میکروبی نسبت به اسانس بابونه آلمانی بودند. نتایج این پژوهش نشان داد که اسانس بابونه آلمانی فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی قوی نشان داده است که می تواند کاندیدای بالقوه برای تهیه داروهای آنتی اکسیدان و ضد میکروب باشد.</p>
<p>کلمات کلیدی:</p> <p>بابونه آلمانی، اسانس، ضد میکروب، آنتی اکسیدان، ترکیبات فنولی</p> <p>DOI:10.22034/FSCT.21.154.139.</p> <p>* مسئول مکاتبات: Noshad@asnruk.ac.ir</p>	

۱- مقدمه

با وجود استفاده از روش‌های مختلف نگهداری، مسمومیت غذایی هنوز هم برای مصرف‌کنندگان و هم برای صنایع غذایی یک نگرانی است. به دلیل مقاومتی که پاتوژن‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها ایجاد می‌کنند، علاقه فزاینده‌ای به استفاده از محصولات ضد باکتری طبیعی برای نگهداری مواد غذایی مانند عصاره و اسانس گیاهان و ادویه‌ها وجود دارد. در واقع، عصاره و اسانس‌های خام طبیعی و ترکیبات فعال بیولوژیکی گونه‌های گیاهی مورد استفاده در طب سنتی ممکن است منابع ارزشمندی برای چنین نگهدارنده‌های جدیدی باشد [۴۰-۱].

علاوه بر این، در فرآوری مواد غذایی، اکسیداسیون لیپیدها نه تنها باعث کاهش کیفیت غذایی و طعمی غذاها می‌شود، بلکه محصولات اکسید شده مانند رادیکال‌های آزاد را نیز تولید می‌کند که منجر به واکنش‌های شیمیایی نامطلوب مختلفی می‌شود [۱۳]. برای جلوگیری یا به تأخیر انداختن این فرآیند، آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی معمول مانند بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA) و بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT)، پروپیل گالات (PG) و ترت بوتیل هیدروکینون (TBHQ) برای بیش از پنج دهه استفاده شده‌اند. با این حال، این آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی مشکوک به اثرات منفی بر سلامتی می‌باشند [۴۱]. به همین دلیل، علاقه فزاینده‌ای به مطالعات افزودنی‌های طبیعی به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های بالقوه وجود دارد. منابع زیادی از آنتی‌اکسیدان‌های با منشأ گیاهی در سال‌های اخیر مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. در این میان، خواص آنتی‌اکسیدانی بسیاری از گیاهان معطر و دارویی در به تعویق انداختن فرآیند پراکسیداسیون لیپیدی در روغن‌ها و غذاهای چرب مؤثر بوده و مورد توجه بسیاری از گروه‌های تحقیقاتی قرار گرفته است. بنابراین تقاضا برای این گیاهان در کشورهای صنعتی و غیر صنعتی رو به افزایش است که منجر به افزایش قیمت آنها می‌شود [۲، ۸، ۱۴].

بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.) یکی از گیاهان دارویی مهم بومی جنوب و شرق اروپا است. همچنین در آلمان، مجارستان، فرانسه، روسیه، یوگسلاوی و برزیل رشد می‌کند. این گیاهان را می‌توان در شمال آفریقا، آسیا، آمریکای شمالی و جنوبی، استرالیا و نیوزیلند یافت. مجارستان تولید کننده اصلی زیست توده گیاهی است و در خاک‌های فقیر به وفور رشد می‌کند و منبع درآمدی برای ساکنان فقیر این مناطق است. گل این گیاه برای استخراج اسانس به صورت عمده به آلمان صادر می‌شود. بابونه هزاران سال است که در داروهای گیاهی مورد استفاده قرار گرفته و در مصر باستان، یونان و روم شناخته شده است. این گیاه توسط آنگلوساکسون‌ها به عنوان یکی از ۹ گیاه مقدسی است که توسط خداوند به انسان‌ها داده شده است. گل‌های بابونه آلمانی حاوی ۰/۲ تا ۱/۹ درصد اسانس است که کاربردهای متنوعی دارد. بابونه عمدتاً به عنوان یک ضد التهاب و ضد عفونی کننده و همچنین ضد اسپاسم استفاده می‌شود. بابونه آلمانی منبع طبیعی روغن آبی رنگ (اسانس) است. گل‌ها و سرگل‌ها بخش‌های اصلی تولید اسانس هستند. روغن گل بابونه عمدتاً از مشتقات سسکوئی ترپن (۷۵ تا ۹۰ درصد) تشکیل شده است. اجزای اصلی اسانس استخراج شده از گل‌ها عبارتند از بتا-فارنسن، فارنزول، آلفا-بیزابولول، چامازولن می‌باشد. رنگ اسانس کیفیت آن را تعیین می‌کند. رنگ آبی اسانس ناشی از سسکوئی ترپن است [۴۲].

مارینو و همکاران (۲۰۰۱) اسانس‌های مریم گلی، نعنای زوفا، بابونه و پونه کوهی را از نظر اثرات بازدارنده در برابر ۹ سویه باکتری گرم منفی و شش سویه از باکتری‌های گرم مثبت آزمایش کردند. اسانس‌های مریم گلی، نعنای زوفا و بابونه نیز فعالیت باکتریواستاتیکی داشتند. به نظر می‌رسد اسانس پونه کوهی در غلظت‌های بالاتر از ۴۰۰ ppm باکتری‌کش است که احتمالاً به دلیل محتوای بالای آنها در ترکیبات فنولی باشد. فعالیت باکتریواستاتیک بیشتر در برابر باکتری‌های گرم مثبت مؤثر بود. در مقابل، فعالیت باکتری‌کشی در برابر باکتری‌های گرم منفی بیشتر بود [۴۳].

شده توسط آندوسی و همکاران [۴۵] با تغییرات مورد نیاز تعیین گردید.

برای ارزیابی توانایی اسانس در مهار رادیکال DPPH، مخلوطی از ۱۸۵ میکرولیتر از محلول ۰/۱۳۵ میلی مولار DPPH در متانول و ۱۵ میکرولیتر اسانس تهیه شد. مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق نگهداری شد. پس از آن، جذب مخلوط در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. توانایی اسانس در مهار رادیکال DPPH با استفاده از فرمول زیر تعیین گردید:

$$\text{Inhibition (\%)} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

برای تعیین ظرفیت مهار ABTS اسانس، با مخلوط کردن حجم‌های مساوی ۷ میلی مولار نمک ABTS و ۲/۴ میلی مولار پرسولفات پتاسیم، محلول استوک تهیه شد. پس از گرمخانه گذاری آن در تاریکی به مدت ۱۶ ساعت و در دمای اتاق، محلول با متانول رقیق شد تا جذب آن ۰/۷۰۶ در طول موج ۷۳۴ نانومتر برسد. سپس اسانس با ۲ میلی لیتر از محلول ABTS مخلوط و جذب در طول موج ۷۳۴ نانومتر ثبت گردید. ظرفیت مهار ABTS اسانس با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{Inhibition (\%)} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

۲-۴- اثر ضد میکروبی

اثر ضد میکروبی اسانس بابونه آلمانی در برابر باسیلوس سرئوس، استرپتوکوکوس پیورنز، استافیلوکوکوس اورئوس، شیگلا دیسانتری، انتروباکتر ائروژنز و سالمونلا تیفی موریوم مطابق روش‌های دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت بازدارندگی^۳ (MIC) و حداقل غلظت کشندگی^۴ (MBC) مورد ارزیابی قرار گرفت [۱۰، ۱۱، ۴۰].

در آزمون دیسک دیفیوژن آگار، اسانس با استفاده از فیلتر سرسرنگی ۰/۲۲ میکرومتری استریل گردید. سپس دیسک‌های بلانک به مدت ۱۵ دقیقه در اسانس خیسانده شد.

با توجه به مطالب فوق، این مطالعه با هدف استخراج اسانس بابونه آلمانی و تعیین میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی آن و همچنین بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس این گیاه دارویی صورت پذیرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- استخراج اسانس

از دستگاه کلونجر به مدت ۴ ساعت جهت تهیه اسانس از گل گیاه بابونه آلمانی استفاده گردید. استخراج در ۵۰۰ میلی لیتر آب انجام شد و اسانس حاصل تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری گردید [۴۴].

۲-۲- فنول و فلاونوئید کل

محتوای فنول و فلاونوئید کل اسانس با استفاده از روش ارائه شده توسط علیزاده بهبهانی و همکاران [۱۰] مورد ارزیابی قرار گرفت. برای تعیین محتوای فنول کل، ۱۰ میکرولیتر از اسانس با ۵۰ میکرولیتر معرف Folin-Ciocalteu مخلوط و به مدت ۳ دقیقه هم زده شد. سپس ۳۰۰ میکرولیتر بی‌کربنات سدیم اضافه شد و محلول به مدت ۲ ساعت تکان داده شد. مقدار جذب محلول در طول موج ۷۶۵ نانومتر به دست آمد. محلول اسید گالیک (۰-۲۰۰ میلی گرم در لیتر) به عنوان استاندارد استفاده شد. با مقایسه جذب به دست آمده از اسانس با منحنی کالیبراسیون محلول اسید گالیک، مقدار فنول کل بر حسب میلی گرم معادل اسید گالیک بر گرم اسانس (mg GAE/g) به دست آمد. از سوی دیگر، محتوای فلاونوئید با استفاده از روش کلرید آلومینیوم محاسبه شد و پاسخ به عنوان میلی گرم معادل کوئرستین mg QE/g اسانس اندازه‌گیری شد.

۲-۳- اثر آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس با استفاده از روش‌های مهار رادیکال آزاد DPPH^۱ و ABTS^۲ و مطابق روش‌های ارائه

^۳ Minimum inhibitory concentration

^۴ Minimum bactericidal concentration

^۱ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

^۲ 2,2'-Azino-bis(3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid)

تیره در چاهک‌هایی که میکروب رشد کرده بود ظاهر شد. کمترین غلظتی که در آن رشد میکروبی و تغییر رنگی مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی در نظر گرفته شد. برای تعیین حداقل غلظت باکتری‌کشی، ۱۰۰ میکرولیتر محیط از هر چاهک (عدم رنگ قرمز در پلیت) روی محیط کشت مولر هیتون آگار کشت داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. حداقل رقت که باعث جلوگیری از تشکیل کلنی گردید، به عنوان حداقل غلظت باکتری‌کشی در نظر گرفته شد.

۲-۵- آنالیز آماری

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Minitab (نسخه ۲۱) آنالیز شدند. آزمون توکی در سطح اطمینان ۹۵ درصد برای تعیین تفاوت بین میانگین داده‌ها استفاده شد. لازم به ذکر است که آزمایش‌ها سه بار تکرار شدند.

۳- نتایج و بحث

میزان فنول کل و فلاونوئید کل اسانس بابونه آلمانی به ترتیب برابر با ۳۹/۷۰ mg GAE/g و ۱۸/۸۰ mg QE/g بدست آمد (شکل ۱). علاوه بر این، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس بابونه آلمانی بر پایه روش‌های مهار رادیکال‌های DPPH و ABTS به ترتیب برابر با ۵۸/۶۰ درصد و ۶۱/۶۰ درصد بود (شکل ۲).

در مرحله تلقیح، باکتری‌های فوق در میزان تلقیح معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند استفاده شدند پلیت‌های میکروبی به میزان ۶۰ درجه چرخانده شدند تا اطمینان حاصل شود که میکروارگانیسم‌ها کل سطح محیط را پوشانده‌اند. دیسک‌ها که در اسانس غوطه‌ور شده بودند، سپس روی سطح محیط قرار داده شدند. محیط کشت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شد و قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌ها اندازه‌گیری شد.

در آزمون چاهک آگار، محیط کشت مولر هیتون آگار تهیه و در پتری دیش ریخته شد. با استفاده از اسپریدر L شکل، مقداری سوسپانسیون میکروبی روی محیط کشت پخش گردید. سپس چندین چاهک به قطر ۶ میلی‌متر در سطح محیط کشت ایجاد شد. در ادامه، ۲۰ میکرولیتر اسانس در چاهک‌ها ریخته شد. محیط کشت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و در نهایت قطر هاله عدم رشد در اطراف چاهک‌ها اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری حداقل غلظت مهارکنندگی، ۱۲۵ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی (معادل ۰/۵ مک فارلند) به هر چاهک پلیت ۹۶ خانه‌ای اضافه و سپس اسانس (غلظت‌های ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶ و ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) اضافه گردید. گرمخانه‌گذاری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری صورت پذیرفت. پس از آن، ۲۵ میکرولیتر محلول معرف تری فنیل تترازولیوم کلرید (۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به هر چاهک اضافه شد. رنگ قرمز

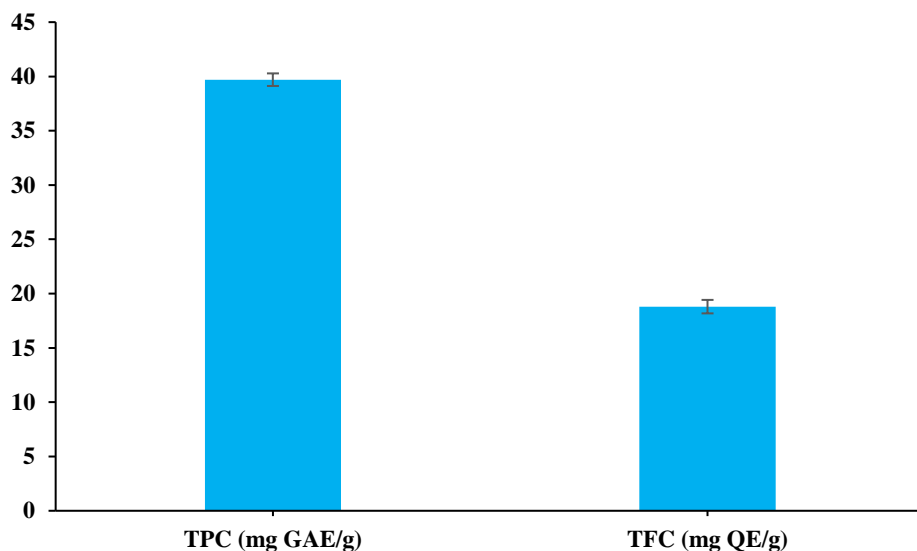


Figure 1. Total phenol content (TPC) and total flavonoid content (TFC) of *Matricaria chamomilla* essential oil. GAE = Gallic acid equivalent; QE = Quercetin equivalent.

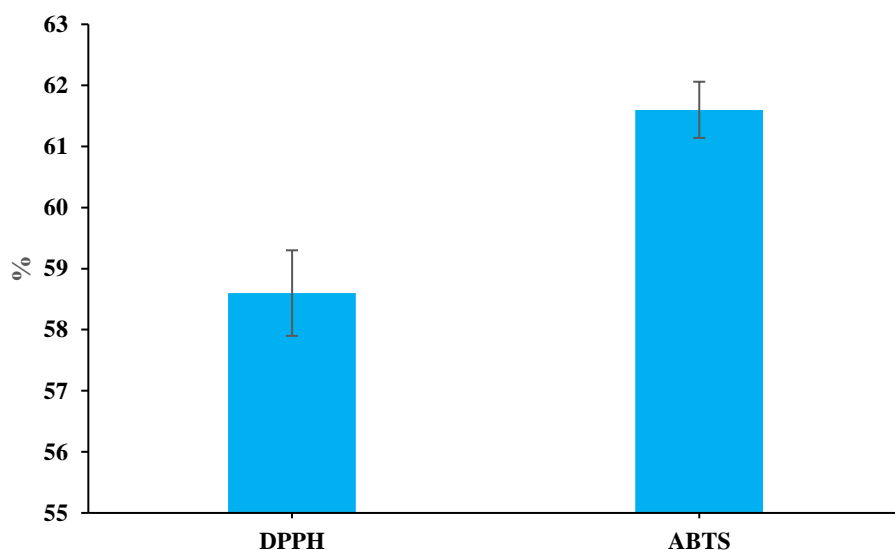


Figure 2. Antioxidant effect of *Matricaria chamomilla* essential oil based on DPPH and ABTS radical scavenging methods.

حساس‌ترین و مقاوم‌ترین سویه‌ها نسبت به اسانس بابونه آلمانی بودند ($p < 0.05$). بطور کلی، باکتری‌های گرم مثبت (باسیلوس سرئوس، استرپتوکوکوس پیورنز و استافیلوکوکوس اورئوس) در مقایسه با انواع گرم منفی (شیگلا دیسانتری، انتروباکتر ائروژنز و سالمونلا تیفی موریوم) نسبت به اسانس حساس‌تر بودند.

شکل ۳، نتایج اثر ضد میکروبی اسانس بابونه آلمانی بر پایه روش دیسک دیفیوژن آگار را نشان می‌دهد. میانگین قطر هاله عدم رشد از ۱۱/۳۰ میلی‌متر تا ۲۰/۱۰ میلی‌متر متغیر بود. باکتری‌های استرپتوکوکوس پیورنز و انتروباکتر ائروژنز به ترتیب با بالاترین و کمترین میانگین قطر هاله عدم رشد،

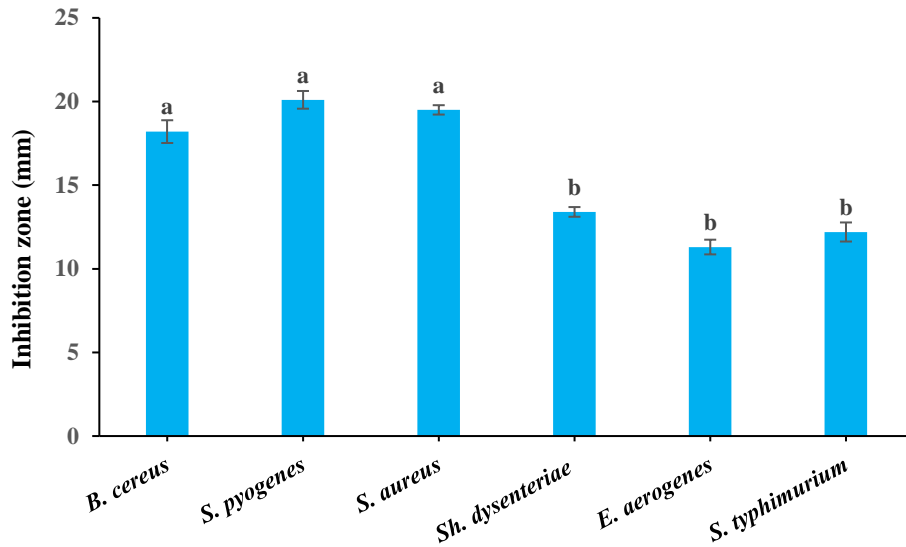


Figure 3. Antibacterial effect of *Matricaria chamomilla* essential oil based on disc diffusion agar method.

ترتیب برابر با ۲۰، ۲۱/۷۰، ۲۰/۶۰، ۱۵/۱۰، ۱۲/۹۰ و ۱۳/۳۰ میلی متر بود. در این راستا، باکتری‌های استرپتوکوکوس پیوژنز و انتروباکتر ائروژنز به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین سویه‌ها در برابر اسانس بودند که در هماهنگی با یافته‌های آزمون دیسک دیفیوژن آگار می‌باشد.

مطابق نتایج آزمون چاهک آگار (شکل ۴)، میانگین قطر هاله عدم رشد برای باکتری‌های باسیلوس سرئوس، استرپتوکوکوس پیوژنز، استافیلوکوکوس اورئوس، شیگلا دیسانتری، انتروباکتر ائروژنز و سالمونلا تیغی موریوم به

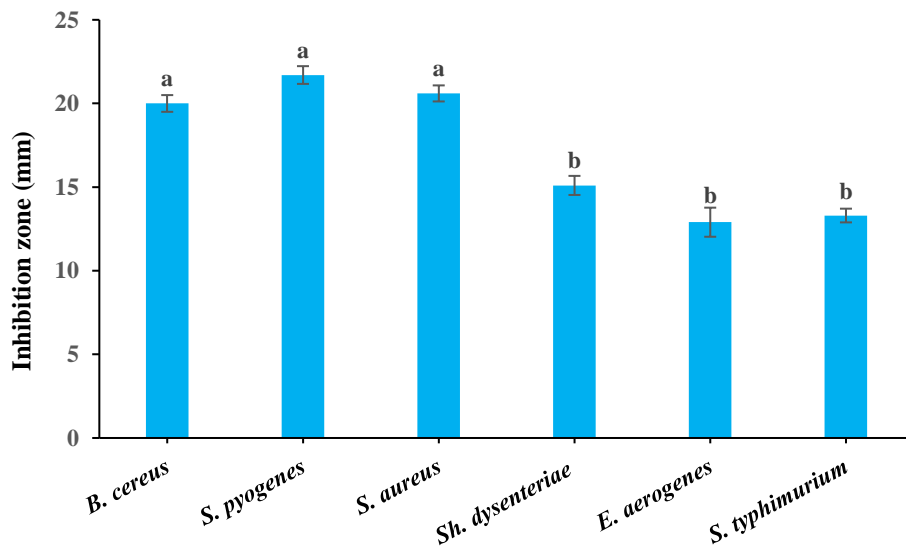


Figure 4. Antibacterial effect of *Matricaria chamomilla* essential oil based on well diffusion agar method.

غلظت مهارکنندگی رشد و حداقل غلظت باکتری‌کشی کمتری نسبت به باکتری‌های گرم منفی بودند که بیانگر حساسیت بیشتر این باکتری‌ها در برابر اسانس بابونه آلمانی می‌باشد.

نتایج آزمون‌های ضد میکروبی حداقل غلظت مهارکنندگی رشد و حداقل غلظت باکتری‌کشی اسانس در جدول ۱ ارائه شده است. مطابق نتایج، باکتری‌های گرم مثبت دارای حداقل

اسانس بابونه آلمانی، نسبت به استانداردهای مورد استفاده BHT و α -توکوفرول، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتری را نشان می‌دهد [۴۷]. در مطالعه دیگری بر روی بابونه آلمانی، اسانس و عصاره متانولی فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی با استفاده از سنجش DPPH و قدرت احیاء کنندگی نشان دادند. این فعالیت بسته به عوامل محیطی و ترکیب شیمیایی متفاوت بود. در واقع، بالاترین فعالیت توسط اسانس‌های غنی از ترکیبات اکسیژن‌دار و عصاره با محتوای فنولی بالا به دست آمد [۴۸].

اثر ضد باکتریایی اسانس و عصاره بابونه آلمانی توسط چندین مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. به طور کلی، روش انتشار آگار، با استفاده از دیسک‌ها یا چاهک، بیشترین استفاده را برای غربالگری فعالیت ضد باکتریایی اسانس‌ها و عصاره‌ها دارد. با استفاده از این تکنیک، استاجونیک و همکاران (۲۰۱۶) فعالیت ضد باکتریایی اسانس بابونه آلمانی را گزارش کردند. حساس‌ترین سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* و مقاوم‌ترین سویه *سودوموناس اثرورژینوزا* بود [46]. به طور مشابه، اولیا و همکاران [۴۹] هیچ گونه فعالیتی را با استفاده از روش انتشار دیسک در برابر *سودوموناس اثرورژینوزا* گزارش نکردند. با این حال، اسانس توانست تشکیل بیوفیلم و تولید آلزینات را کاهش دهد و کارایی خود را در کنترل باکتری‌های تولید کننده بیوفیلم نشان دهد. از سوی دیگر، نتایج نشان داد که *باسیلوس سوبتیلیس* حساس‌ترین باکتری به اسانس بابونه آلمانی کشت شده در مراکش است [۵۰]. در مطالعه حاضر، باکتری‌های گرم مثبت کمترین مقادیر حداقل غلظت مهارکنندگی را نشان دادند. این نتایج را می‌توان با تفاوت در ساختار دیواره سلولی توضیح داد زیرا باکتری‌های گرم منفی غشای پیچیده و سفت و سخت غنی از لیپوپلی‌ساکاریدی دارند که دسترسی مولکول‌های ضد میکروبی را محدود می‌کند [۱۳، ۴۰].

۴- نتیجه‌گیری نهایی

در این پژوهش، خواص آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضد میکروبی اسانس بابونه آلمانی مورد بررسی قرار گرفت.

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

Bacterial type	Minimum inhibitory concentration (mg/mL)	Minimum bactericidal concentration (mg/mL)
<i>B. cereus</i>	4	64
<i>S. pyogenes</i>	4	64
<i>S. aureus</i>	4	128
<i>Sh. dysenteriae</i>	32	> 512
<i>E. aerogenes</i>	64	> 512
<i>S. typhimurium</i>	64	> 512

فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس و عصاره‌های بابونه آلمانی در مطالعات مختلف نشان داده شده است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس بابونه آلمانی از نظر کاربرد احتمالی آنها به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و عوامل ضد میکروبی توسط استاجونیک و همکاران (۲۰۱۶) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده وجود ۵۲ جزء را ثابت کرد که در آنها بیشترین محتوای β -فارنیزین (۲۹/۸ درصد)، α -فارنیزین (۹/۳ درصد)، α -بیزابولول و اکسید آن (۱۵/۷ درصد)، شامازولن (۶/۴ درصد)، ژرماکرن D (۶/۲ درصد) و اسپیرواتر (۵/۶ درصد) تعیین شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش DPPH مورد بررسی قرار گرفت و این میزان برابر با ۲/۰۷ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. فعالیت ضد میکروبی اسانس بابونه با استفاده از روش انتشار آگار مورد آزمایش قرار گرفت که در آن اسانس اثر ضد باکتریایی قابل توجهی با قطر ناحیه مهار از ۱۳/۳۳ میلی‌متر (در لیستریا مونوسیترنوزا) تا ۴۰ میلی‌متر (بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس*) نشان داد و اسانس بابونه بر روی باکتری *سودوموناس اثرورژینوزا* هیچ گونه فعالیت ضد میکروبی نداشت [۴۶]. علاوه بر این، گزارش شده است که

به طیف‌سنج جرمی شناسایی نمود تا درک بهتری از فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس فراهم گردد.

۵- تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان جهت حمایت مالی طرح پژوهشی شماره ۱۴۰۲/۵۲ که این مقاله مستخرج از آن می‌باشد تشکر و قدردانی می‌نمایند.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس قابل توجه بود و بنابراین اسانس بابونه آلمانی می‌تواند به پیشگیری و درمان بیماری‌ها کمک کند. فعالیت ضد میکروبی اسانس با استفاده از روش دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی ارزیابی شد. باکتری‌های *استرپتوکوکوس پیورنز* و *انتروباکتر ائروژنز* به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین سویه‌ها در برابر اسانس بودند. بنابراین، اسانس مورد بررسی را می‌توان به عنوان منبع مواد دارویی مورد نیاز برای تهیه داروهای ضد میکروبی جدید توصیه کرد. با اینحال، پیشنهاد می‌شود که ترکیبات مؤثره اسانس را با کمک روش کروماتوگرافی گازی متصل

۶- منابع

- [1] 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.
- [2] Alizadeh Behbahani, B., Falah, F., Lavi Arab, F., Vasiee, M., & Tabatabaei 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.
- [3] Alizadeh Behbahani, B., Falah, F., Vasiee, A., & Tabatabaei Yazdi, F. (2021). Control of microbial growth and lipid oxidation in beef using a *Lepidium perfoliatum* seed mucilage edible coating incorporated with chicory essential oil. *Food Science & Nutrition*, 9(5), 2458-2467.
- [4] Alizadeh Behbahani, B., & Imani Fooladi, A. A. (2018b). Shirazi balangu (*Lallemantia royleana*) seed mucilage: Chemical composition, molecular weight, biological activity and its evaluation as edible coating on beefs. *International Journal of Biological Macromolecules*, 114, 882-889.
- [5] Alizadeh Behbahani, B., & Imani Fooladi, A. A. (2018a). 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.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] 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.
- [10] Alizadeh Behbahani, B., Shahidi, F., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., & Mohebbi, M. (2017). Antioxidant activity and antimicrobial effect of tarragon (*Artemisia dracuncululus*) extract and chemical composition of its essential oil. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11, 847-863.
- [11] 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 .
- [12] Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B., & Falah, F. (2021). Safety, probiotic properties, antimicrobial activity, and technological performance of *Lactobacillus* strains isolated from Iranian raw milk cheeses. *Food Science & Nutrition*, 9(8), 4094-4107.
- [13] 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.
- [14] 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 .
- [15] 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 .
- [16] 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 .
- [17] 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 .
- [18] Falah, F., Vasiee, A., Behbahani, B. A., Yazdi, F. T., Moradi, S., Mortazavi, S. A., & Roshanak, S. (2019). Evaluation of adherence and anti-infective properties of probiotic *Lactobacillus fermentum* strain 4-17 against *Escherichia coli* causing urinary tract infection in humans. *Microbial Pathogenesis*, 131, 246-253.
- [19] Falah, F., Zareie, Z., Vasiee, A., Tabatabaee Yazdi, F., Mortazavi, S. A., & Alizadeh Behbahani, B. (2021). Production of synbiotic ice-creams with *Lactobacillus brevis* PML1 and inulin: functional characteristics, probiotic viability, and sensory properties. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(6), 5537-5546.
- [20] 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.
- [21] Hojjati, M., Behbahani, B. A., & Falah, F. (2020). Aggregation, adherence, anti-adhesion and antagonistic activity properties relating to surface charge of probiotic *Lactobacillus brevis* gp104 against *Staphylococcus aureus*. *Microbial Pathogenesis*, 147, 104420.
- [22] 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.
- [23] Jooyandeh, H., Ebrahimi Hemmati Kaykha, M., Alizadeh Behbahani, B., & Noshad, M. (2022). Evaluating the quality of mutton meat coated with *Cordia myxa* fruit mucilage containing *Rosmarinus officinalis* essential oil during cold storage. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 17(3), 2062-2074.
- [24] Noshad, M., Alizadeh Behbahani, B., Jooyandeh, H., Rahmati-Joneidabad, M., Hemmati Kaykha, M. E., & Ghodsi Sheikhan, M. (2021). Utilization of *Plantago major* seed mucilage containing *Citrus limon* essential oil as an edible coating to improve shelf-life of buffalo meat under refrigeration conditions. *Food Science & Nutrition*, 9(3), 1625-1639.
- [25] 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.
- [26] Noshad, M., Hojjati, M., & Behbahani, B. A. (2018). Black Zira essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some pathogenic strain causing

- infection. *Microbial Pathogenesis*, 116, 153-157 .
- [27] Rahmati- Joneidabad, M., & Alizadeh Behbahani, B. (2021). Identification of chemical compounds, antioxidant potential, and antifungal activity of (*Thymus daenensis*) essential oil against spoilage fungi causing apple rot. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 17(5), 691-700.
- [28] Rahmati-Joneidabad, M., Alizadeh Behbahani, B., & Noshad, M. (2021). Antifungal effect of *Satureja khuzestanica* essential oil on *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, and *Rhizopus stolonifer* causing strawberry's rot and mold. *Journal of food science and technology (Iran)*, 18(115), 171-180 .
- [29] Saboktakin-Rizi, M., Alizadeh Behbahani, B., Hojjati, M., & Noshad, M. (2021). Identification of *Lactobacillus plantarum* TW29-1 isolated from Iranian fermented cereal-dairy product (Yellow Zabol Kashk): probiotic characteristics, antimicrobial activity and safety evaluation. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(3), 2615-2624.
- [30] 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*, 17, 2663–2675.
- [31] 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.
- [32] 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 .
- [33] 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 .
- [34] Tabatabaei Yazdi, F., Falah, F., Alizadeh Behbahani, B., Vasiee, A., & Mortazavi, A. (20) .\۹Antimicrobial effect of *Citrus aurantium* essential oil on some food-borne pathogens and its determination of chemical compounds, total phenol content, total flavonoids content and antioxidant potential. *Journal of Food Science and Technology*, 16(87), 291-304.
- [35] Tabatabaei Yazdi, F., Nooshkam, M., Shahidi, F., Asadi, F., & Alizadeh-Behbahani, B. (2018). Evaluation of antimicrobial activity and antioxidant potential of chitosan Maillard-based conjugates in vitro. *Applied Microbiology In Food Industries*, 4(3), 1-15.
- [36] 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.
- [37] 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 .
- [38] 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 .
- [39] 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.
- [40] 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.
- [41] Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., & Milos, M. (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry*, 85(4), 633-640.

- [42] Singh, O., Khanam, Z., Misra, N., & Srivastava, M. K. (2011). Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): An overview. *Pharmacogn Rev*, 5(9), 82-95.
- [43] Marino, M., Bersani, C., & Comi, G. (2001). Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. *International Journal of Food Microbiology*, 67(3), 187-195.
- [44] Tolouee, M., Alinezhad, S., Saberi, R., Eslamifar, A., Zad, S. J., Jaimand, K., Taeb, J., Rezaee, M.-B., Kawachi, M., Shams-Ghahfarokhi, M., & Razzaghi-Abyaneh, M. (2010). Effect of *Matricaria chamomilla* L. flower essential oil on the growth and ultrastructure of *Aspergillus niger* van Tieghem. *International Journal of Food Microbiology*, 139(3), 127-133.
- [45] Adewusi, E. A., Moodley, N., & Steenkamp, V. (2011). Antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activity of selected southern African medicinal plants. *South African Journal of Botany*, 77(3), 638-644.
- [46] Stanojevic, L. P., Marjanovic-Balaban, Z. R., Kalaba, V. D., Stanojevic, J. S., & Cvetkovic, D. J. (2016). Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Chamomile Flowers Essential Oil (*Matricaria chamomilla* L.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19(8), 2017-2028.
- [47] Mahdavi, B., Ghorat, F., Nasrollahzadeh, M. S., Hosseini-Tabar, M., & Rezaei-Seresht, H. (2020). Chemical composition, antioxidant, antibacterial, cytotoxicity, and hemolyses activity of essential oils from flower of *Matricaria chamomilla* var. *chamomilla*. *Anti-Infective Agents*, 18(3), 224-232 .
- [48] Formisano, C., Delfino, S., Oliviero, F., Tenore, G. C., Rigano, D., & Senatore, F. (2015). Correlation among environmental factors, chemical composition and antioxidative properties of essential oil and extracts of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) collected in Molise (South-central Italy). *Industrial Crops and Products*, 63, 256-263 .
- [49] Owlia, P., Rasooli, I., Sadari, H., & Aliahmadi, M. (2007). Retardation of biofilm formation with reduced productivity of alginate as a result of *Pseudomonas aeruginosa* exposure to *Matricaria chamomilla* essential oil. *Pharmacognosy Magazine*, 3(10), 83-89 .
- [50] El-Assri, E.-M., Eloutassi, N., El Barnossi, A., Bakkari, F., Hmamou, A., & Bouia, A. (2021). Wild chamomile (*Matricaria recutita* L) from the Taounate province, Morocco: extraction and valorisation of the antibacterial activity of its essential oils. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 5(5), 883-888 .



Scientific Research

Evaluation of antioxidant activity, total phenol and flavonoid and antibacterial activity of German chamomile

Mohammad Noshad^{*1}, Behrooz Alizadeh Behbahani¹, Mohammad Amin Mehrnia¹

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

ABSTRACT

Article History:

Received: 2024/4/9

Accepted: 2024/5/21

Keywords:

German chamomile,

Essential oil,

Antimicrobial,

Antioxidant,

Phenolic compounds.

DOI: 10.22034/FSCT.21.154.139.

*Corresponding Author E-Noshad@asnruk.ac.ir

German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) is a well-known medicinal plant that is distributed worldwide and is widely used in traditional medicine for the treatment of various diseases. In this study, the essential oil of *M. chamomilla* was extracted by water distillation method and its total phenol content, total flavonoid content, antioxidant activity, and antimicrobial effect were investigated. The total phenol content of the essential oil was 39.70 mg GAE/g and its total flavonoid content was 18.80 mg QE/g. The antioxidant activity of the essential oil was evaluated based on two methods of inhibiting free radicals DPPH and ABTS; the essential oil was able to inhibit free radicals DPPH (58.60 %) and ABTS (61.60 %). The antimicrobial effect of the essential oil against *Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella dysenteriae*, *Enterobacter aerogenes*, and *Salmonella typhimurium* was investigated by disk diffusion agar, well diffusion agar, minimum inhibitory concentration, and minimum bactericidal concentration. The findings of the antimicrobial activity of the essential oil by the disk diffusion agar and well diffusion agar, showed that *S. pyogenes* and *E. aerogenes* were the most sensitive and resistant microbial strains to *M. chamomilla* essential oil, respectively. The results of this study showed that the essential oil of *M. chamomilla* has shown strong antioxidant and antimicrobial activity, which can be a potential candidate for the preparation of antioxidant and antimicrobial drugs.