مطالعه ترکیب شیمیایی اسانس گیاه آفسنطین (*Artemisia absinthium*) و اثر مهاری اسانس و عصاره‌های آبی، الکلی آن بر برخی از باکتری‌های بیماریزای غذایی

حسن گندمی نصرآبادی[1]، سپیده عباس‌زاده[2]*، نسرین طیار هشتجین[3]، آی ناز یمرلی[4]

۱- استادیار، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران
۲- عضو هیأت علمی دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران
۳- کارشناس، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران
٤- دانشجوی دکترای عمومی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران
*آدرس مکاتبه: تهران، خیابان آزادی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی،
تلفن و نمابر: ٦١١١٧٠٤٢ (٠٢١)
پست الکترونیک: abbaszadehs@bmsu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۰/۲/۳ **تاریخ تصویب:** ۹۰/۱۰/۲۲

چکیده

مقدمه: با ارتقای سطح دانش بشر و آگاهی نسبت به مضرات نگهدارنده‌های شیمیایی، تمایل به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی به خصوص اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی در مواد غذایی افزایش یافته است.

هدف: در این مطالعه ترکیب شیمیایی اسانس گیاه آفسنطین و اثر ضدباکتریایی اسانس و عصاره آبی و الکلی (اتانولی و متانولی) آن بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا تیفی موریوم، اشرشیاکلی O157:H7، لیستریا مونوسایتوژنز و باسیلوس سرئوس که مهم‌ترین باکتری‌های ایجادکننده مسمومیت غذایی هستند، مورد بررسی قرارگرفت.

روش بررسی: در آنالیز ترکیب شیمیایی اسانس از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف نگار جرمی (GC-MS) استفاده شده و در آزمایش غربالگری حساسیت باکتری‌های مورد مطالعه به روش انتشار دیسک بررسی شد. حداقل غلظت بازدارنده (MIC) به روش براث میکرودایلوشن مورد مطالعه قرارگرفت.

نتایج: ترکیبات موجود در اسانس گیاه مورد مطالعه مشخص شد و *Beta-Thujone* (۲۹/۷۵ درصد) و *Phellandrene* (۲۰/۱۰ درصد) به عنوان مهم‌ترین ترکیبات آن شناسایی شدند. در روش انتشار دیسک، سالمونلاتیفی موریوم و اشرشیاکلی حساس‌ترین باکتری‌ها نسبت به اسانس و عصاره‌های این گیاه بودند. حداقل غلظت بازدارنده رشد برای اسانس آفسنطین در مورد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسیتوژنز ۳۰۰۰ ppm محاسبه شد و میزان MIC عصاره متانولی این گیاه در مورد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی O157:H7، لیستریا مونوسایتوژنز و باسیلوس سرئوس به ترتیب ۱۰، ۱۰، ۸ و ٤ میلی‌گرم در میلی‌لیتر محاسبه شد.

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر نشان داد که اسانس و عصاره متانولی گیاه آفسنطین اثر مهاری بیشتری بر باکتری‌های فوق داشته و می‌تواند به عنوان نگهدارنده طبیعی در مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرند.

گل‌واژگان: آفسنطین، ترکیبات شیمیایی، اسانس، عصاره آبی، عصاره الکلی، فعالیت ضدمیکروبی

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.11.9]

مقدمه

حضور میکروارگانیسم‌ها و به خصوص باکتری‌ها در مواد غذایی اهمیت فراوانی از نظر بهداشت و سلامت عمومی و همچنین از جهت کنترل کیفیت مواد غذایی برخوردار می‌باشد [۱]. میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای موجود در مواد غذایی، هر ساله خسارات مالی و جانی فراوانی در جهان به وجود می‌آورند. علاوه‌بر این فساد مواد غذایی در اثر رشد میکروارگانیسم‌ها همچنان به عنوان یک معضل در صنعت غذایی به شمار می‌رود. یکی از راه‌های کنترل رشد باکتری‌های در مواد غذایی، استفاده از نگهدارنده‌ها و ترکیبات ضدمیکروبی است. به منظور جلوگیری از رشد یا کشتن برخی میکروارگانیسم‌های مضر تا مدت‌ها از نگهدارنده‌های شیمیایی استفاده می‌شد. اما امروزه با توجه به افزایش سطح آگاهی و نگرانی‌های عمومی درخصوص عوارض نگهدارنده‌های شیمیایی، تمایل به مصرف محصولات فاقد نگهدارنده و یا با نگهدارنده طبیعی رو به افزایش است. بنابراین در سال‌های اخیر مطالعات زیادی پیرامون نگهدارنده‌های طبیعی مانند اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی صورت گرفته است. عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهان دارویی و اجزای تشکیل‌دهنده آنها دارای اثرات شناخته شده ضدباکتریایی می‌باشند [۲]. از جمله این گیاهان می‌توان به نوعی گیاه بومی ایران به نام آفسنطین اشاره کرد. آفسنطین با نام علمی *Artemisia absinthium* از خانواده آستراسه آ (Asteraceae) و تحت خانواده آستروئیده (Asteroideae) و از گیاهان معطر بومی به خصوص در نواحی شمالی و شرقی ایران بوده و در کشور انگلستان با نام چوب کرمی شکل (Worm Wood) و در ایران با نام های خاراگوش، گندواش، مروه و آفسنطین (Afsantine) معروف است [۳]. این گیاه در شمال امریکا، شمال و شرق آسیا و افریقا، کشورهای اطراف مدیترانه و در مناطق خشک و بایر و در خاک‌های نرم و با نیتروژن بالا رشد می‌کند [٤]. این گیاه در ایران در اطراف تهران، آذربایجان، خراسان و گیلان یافت می‌شود. در پزشکی سنتی ایران، از دم‌کرده این گیاه برای درمان نارسایی کبد، گلودرد، عفونت گوش، یبوست و اسهال مزمن و در التیام زخم‌ها و همچنین به عنوان داروی ضدکرم و ضدعفونی کننده استفاده می‌شود [۵]. هدف از این مطالعه، بررسی ترکیبات موجود در اسانس و همچنین اثر اسانس و عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گیاه آفسنطین بر روی تعدادی از مهم‌ترین باکتری‌های بیماریزای مواد غذایی می‌باشد و پاسخی به درخواست مصرف‌کنندگان، مبنی بر بهبود سطح سلامت غذا و استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی و افزایش طول نگهداری ماده غذایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه مورد مطالعه

قسمت‌های هوایی گیاه آفسنطین مورد مطالعه، از شهرستان گنبد کاووس در استان گلستان در فصل بهار جمع‌آوری و خشک شد و توسط پژوهشکده گیاهان دارویی نام علمی آن تأیید شد.

استخراج اسانس و عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گیاه آفسنطین

جهت تهیه عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی، ۵۰ گرم از گیاه خشک شده با استفاده از ٤۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر در مورد عصاره آبی و ٤۵۰ میلی‌لیتر الکل ۸۰ درصد (به ترتیب اتانول و متانول) در مورد عصاره‌های اتانولی و متانولی با استفاده از شیکر (Shaker) به مدت ۲٤ ساعت عصاره‌گیری شد. عصاره استخراج شده با دستگاه تبخیرکننده دوار (Rotary evaporator) تحت خلأ تغلیظ و در دستگاه فور در دمای ٤۰ درجه سانتی‌گراد خشک و در نهایت لیوفلیزه شد. اسانس نیز با روش تقطیر با بخار آب با استفاده از دستگاه کلونجر (Clevenger) استخراج و با سولفات سدیم رطوبت آن گرفته شد. اسانس و عصاره خشک شده تا زمان مصرف در شیشه‌های رنگی و در یخچال نگهداری شد.

ارزیابی ترکیب شیمیایی اسانس

اسانس توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف نگارجرمی(Gas chromatography- Mass spectrometry)

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.11.9]

(GC-MS) از شرکت Agilent Technology (HP) با دستگاه کروماتوگرافی ٦٨٩٠ و سیستم طیف نگارجرمی انتخابی ٥٩٧٣ مورد آنالیز قرار گرفت که ستون مویینه آن به طول ٣٠ متر و قطر داخلی ٢٥٠ میکرومتر و ضخامت لایه داخلی آن ٢٥ میکرومتر بود. برنامه دمایی ٤٠ تا ٢٥٠ درجه سانتی‌گراد با افزایش تدریجی ٢/٥ درجه در دقیقه و نگهداری ستون در ٢٥٠ درجه به مدت ٢٠ دقیقه استفاده شد. دمای اتاقک تزریق ٢٥٠ درجه و سرعت گاز حامل هلیم ١ میلی‌لیتر در دقیقه بود. همچنین از شناساگر EI با انرژی یونیزاسیون ٧٠ الکترون ولت و دمای منبع یونیزاسیون ٢٥٠ درجه سانتی‌گراد جهت تشخیص اجزای اسانس استفاده شد.

باکتری‌های مورد مطالعه

شامل باکتری‌های *E. coli O157:H7*، *S. typhimurium* phagetype II، *S. aureus* ATCC 6538، *L. monocytogenes* ATCC 19118 و *B. cereus* ATCC 11778 می‌باشد. ابتدا کشت‌های لیوفیلیزه در محیط آبگوشت BHI در دمای ٣٧ درجه سانتی‌گراد به مدت ١٨- ١٦ساعت، حداقل دوبار متوالی تجدید شده و سپس از کشت دوم به نسبت ٥ به ١ با گلیسیرین استریل مخلوط و در حجم‌های ٥٠٠ میکرولیتری در میکروتیوب‌های اپندرف در ٢٠- درجه سانتی‌گراد سانتی‌گراد نگهداری شد.

آماده‌سازی کشت‌های باکتریایی

ابتدا کشت‌های نگهداری شده در ٢٠- درجه سانتی‌گراد به محیط آبگوشت BHI منتقل شده و ١٦ - ١٨ ساعت تجدید شد. سپس کشت‌های شیب‌دار تهیه شده و جهت استفاده در طول آزمایش در یخچال ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای تهیه دوز تلقیح باکتری‌ها از روش سنجش جذب نوری با استفاده از اسپکتروفتومتر استفاده شد. باکتری‌ها از کشت شیب‌دار تهیه شده به محیط مغذی منتقل و به مدت ١٦ - ١٨ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. از باکتری گرمخانه‌گذاری شده، برای تهیه سوسپانسیون با جذب نوری ٠/١ استفاده شد. ابتدا دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٦٠٠ نانومتر تنظیم شده و توسط لوله شاهد حاوی BHI استریل جذب نوری را صفر نموده و بعد مقدار مناسبی از کشت باکتریایی را به کووت حاوی ٤ میلی‌لیتر محیط آبگوشت BHI استریل اضافه کرده و جذب نوری را خواندیم. از طریق افزودن باکتری این کار را تا حدی ادامه داده تا به جذب نوری ٠/١ برسیم. سپس شمارش تعداد باکتری به روش کشت سطحی صورت گرفت تا مشخص شود که سوسپانسیون باکتریایی با جذب نوری ٠/١ دارای چه مقدار باکتری در هر میلی‌لیتر می‌باشد. در مراحل بعدی با تهیه سوسپانسیون باکتریایی با جذب نوری ٠/١ و رقیق‌سازی سوسپانسیون تهیه شده، دوز تلقیح موردنظر آماده شد.

تعیین حساسیت باکتری‌های مورد مطالعه به اسانس و عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گیاه آفسنطین به روش انتشار دیسک

ابتدا سوسپانسیون باکتریایی از باکتری‌های موردمطالعه، با جذب نوری ٠/١ تهیه شده و سپس با استفاده از سوآپ سطح پلیت‌های حاوی محیط آگار BHI با باکتری‌های موردنظر تلقیح شد. بعد از خشک شدن سطح پلیت، دیسک‌های کاغذی ٦ میلی‌متری حاوی ١٠ میلی‌گرم از عصاره‌ها و ٢٠ میکرولیتر از اسانس موردمطالعه به پلیت منتقل شده و به مدت ٢٤ ساعت گرمخانه‌گذاری شد و بعد از گرمخانه‌گذاری قطر هاله مهار رشد باکتری‌ها اندازه‌گیری شد.

تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC) به روش براث میکرودایلوشن

در این روش که از پلیت‌های ٩٦ چاهکی ته گرد با حجم ٣٠٠ میکرولیتر استفاده شد، غلظت‌های مورد استفاده عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گیاه آفسنطین برابر صفر، ٢، ٤، ٦، ٨ و ١٠ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و غلظت‌های اسانس برابر صفر، ٢٥٠، ٠/٥، ١٠٠٠، ٢٠٠٠ و ٣٠٠٠ پی‌پی‌ام بود. ابتدا مقدار مناسبی از عصاره‌ها و اسانس در محلول ٥ درصد دی‌متیل سولفوکساید و محیط کشت مغذی آبگوشت BHI حل شد و سپس عصاره‌ها توسط فیلتر ٠/٤٥ میکرومتر استریل شد و غلظت‌های لازم از آنها تهیه شد. ٢٠٠ میکرولیتر از غلظت‌های

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.11.9]

مختلف عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی به هر چاهک انتقال داده شد. سپس به هر چاهک ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری اضافه شد. غلظت نهایی باکتری در هر چاهک برابر 10^4 *CFU/ml* بود (تعداد دقیق باکتری از طریق کشت سطحی و شمارش کلونی تأیید شد). در چاهک کنترل رشد ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت حاوی ۵ درصد دی‌متیل سولفوکساید، باکتری تلقیح شد.

پلیت‌ها به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شده و بعد از اتمام گرمخانه‌گذاری کدورت یا عدم کدورت در چاهک‌ها به صورت چشمی مشاهده شد.

نتایج

تعیین ترکیبات موجود در اسانس گیاه آفسنطین

جدول شماره ۱ نتیجه آنالیز ترکیبات اسانس آفسنطین مورد استفاده در این مطالعه را با استفاده از دستگاه GC-MS نشان می‌دهد. همان‌طور که در جدول مشاهده می‌شود، اصلی‌ترین ترکیبات اسانس آفسنطین مورد استفاده در این مطالعه شامل *Beta-Thujone* (۲۹/۷۵ درصد)، *Phellandrene* (۲۰/۱۰ درصد)، *Sabinene* (۱۵/۸۱ درصد) و Cymene (۷/۸۳ درصد) می‌باشد.

تعیین حساسیت باکتری‌های موردمطالعه به اسانس و عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گیاه آفسنطین به روش انتشار دیسک

در جدول شماره ۲ نتایج مربوط به تأثیر اسانس و عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گیاه آفسنطین علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلاتیفی موریوم، اشرشیاکلی O157:H7، لیستریا مونوسایتوژنز و باسیلوس سرئوس در روش انتشار دیسک آمده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، اسانس و عصاره اتانولی و متانولی گیاه آفسنطین، به ترتیب با قطر هاله مهار رشد ۱۱، ۱۲ و ۹ میلی‌متر سبب مهار رشد باکتری اشرشیاکلی O157:H7 شده‌اند و عصاره اتانولی و متانولی این گیاه نیز به ترتیب هاله مهار رشدی به قطرهای ۱۰ و ۹ میلی‌متر در پلیت حاوی باکتری لیستریا مونوسیتوژنز ایجاد کرده‌اند. در این مطالعه اسانس و عصاره‌های گیاه اثر مهاری قابل توجهی را در محیط‌های کشت حاوی بقیه باکتری‌ها ایجاد نکردند.

تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC) به روش براث میکرودایلوشن

نتایج MIC عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گیاه آفسنطین علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلاتیفی موریوم، ای‌کولای O157:H7، لیستریا مونوسایتوژنز و باسیلوس سرئوس به روش میکرودایلوشن در جدول شماره ۳ آمده است. همان‌طور که در جدول شماره ۳ مشهود است، در مورد عصاره آبی تا غلظت ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، در تمام چاهک‌های مربوط به تمام باکتری‌های مورد مطالعه، کدورت حاصل از رشد باکتری قابل تشخیص بود. در حالی‌که عصاره متانولی گیاه در غلظت‌های ۱۰، ۱۰، ۸ و ٤ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به ترتیب مانع رشد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی، لیستریا مونوسیتوژن و باسیلوس سرئوس و همچنین عصاره اتانولی گیاه نیز در غلظت ۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر مانع رشد باکتری باسیلوس سرئوس شد. میزان MIC اسانس آفسنطین برای باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا مونوسیتوژنز و سالمونلاتیفی موریوم ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام و برای باسیلوس سرئوس و ای‌کولای بالاتر از ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام محاسبه شد.

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.11.9]

جدول شماره ۱- نتایج آنالیز اسانس آفسنطین با استفاده از GC – MS

شماره	ترکیب شیمیایی	درصد	شاخص بازداری
۱	Alpha-Pinene	۰/٤۲	۸۵۸
۲	Sabinene	۱۵/۸۱	۹۰۵
۳	Beta-Pinene	۳/٥٤	۹۰۷
٤	Phellandrene	۲۰/۱۰	۹۳۷
٥	Alpha-Terpinene	۰/٥۲	۹٤۲
٦	Cymene	۷/۳۷	۹٥۱
۷	Delta-3-carene	۰/٤٥	۹٥۳
۸	Gamma-terpinene	۱/۱۹	۹۸۱
۹	Alpha-terpinolele	۰/۲٥	۱۰۰٤
۱۰	2,5-octadiene	۰/٤۹	۱۰۱۱
۱۱	Beta-Thujone	۲۹/۷٥	۱۰۳۸
۱۲	3-Methyl-3-butenyl 3-methyl-2-butenyl ether	۰/٥۸	۱۰٥۲
۱۳	4,4,7,7-Tertamethyl-delta-octalin-1,6-dione	۰/٦٥	۱۰٥٥
۱٤	4-terpineol	۳/۲۷	۱۰۸۸
۱٥	3,7,7-Trimethyl-bicyclo[4.1.0]hept-2-ene	۰/۲۷	۱۰۹٥
۱٦	(1-methyl-1,2-propadienyl)-Cyclopropane	۰/٦٥	۱۱۰٦
۱۷	Alpha-Copaene	۰/۳۸	۱۲۹۳
۱۸	Alpha-Cedrene	۰/۲٤	۱۳۱۸
۱۹	Trans-Caryophyllene	۰/۳٤	۱۳۲۳
۲۰	Delta-Selinene	۰/۳۲	۱۳٤۱
۲۱	Germacrene D	۲/۱۹	۱۳٦٦
۲۲	Alloaromadendrene	۰/۷۲	۱۳٦۹
۲۳	Spiro (tricycle [6.2.1.0 (2,7)] undeca-2,4,6-triene)-7,1'-cyclopropane	٦/٥٤	۱۳۸٦
۲٤	Naphthalene, 1,2-dihydro-2,5,8-trimethyl-	۰/۳۱	۱۳۸۷
۲٥	Alpha-Amorphene	۰/٤٤	۱۳۹۰
۲٦	Delta-Cadinene	۰/۳۸	۱۳۹۳
۲۷	Cis-alpha-Bisabolene	۰/۲٦	۱٤۱۰
مجموع		۹۷/۹٦	

جدول شماره ۲- قطر هاله مهار رشد باکتری‌های مورد مطالعه (میلی‌متر) تحت تأثیر اسانس و عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گیاه آفسنطین در روش انتشار دیسک

ترکیب بازدارنده	قطر هاله مهار رشد (میلی‌متر)				
	استافیلوکوکوس اورئوس	سالمونلاتیفی موریوم	لیستریا مونوسیتوژنز	باسیلوس سرئوس	اشرشیاکلی O157:H7
عصاره آبی	٦	۸	۷	٦	٦
عصاره اتانولی	۷	۸	۱۰	۸	۱۲
عصاره متانولی	۷	۷	۹	۷	۹
اسانس	٦	۷	۸	۸	۱۱

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.11.9]

جدول شماره ۳- حداقل غلظت بازدارنده رشد عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گیاه آفسنطین برعلیه باکتری‌های مورد مطالعه به روش میکرودایلوشن

ترکیب بازدارنده	حداقل غلظت بازدارنده رشد				
	استافیلوکوکوس اورئوس	سالمونلا تیفی موریوم	لیستریا مونوسیتوژنز	باسیلوس سرئوس	اشرشیا کلی O157:H7
عصاره آبی (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)	>۱۰	>۱۰	>۱۰	>۱۰	>۱۰
عصاره اتانولی (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)	>۱۰	>۱۰	>۱۰	۸	>۱۰
عصاره متانولی (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)	۱۰	>۱۰	۸	٤	۱۰
اسانس (پی‌پی‌ام)	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	>۳۰۰۰	>۳۰۰۰

بحث

با توجه به نگرانی مصرف‌کنندگان و متولیان بهداشتی در مورد استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی و مضرات آنها، در سال‌های اخیر تولیدکنندگان مواد غذایی به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی به خصوص گیاهان دارویی در مواد غذایی گرایش پیدا کرده‌اند. آفسنطین یکی از گیاهان دارویی بومی کشور بوده که از گذشته دیرباز از خواص درمانی آن استفاده می‌شده است. مطالعات متعددی روی ترکیبات این گیاه در مناطق مختلف ایران و جهان صورت گرفته است. اوراو و همکارانش در مطالعه جامعی بر گیاه آفسنطین جمع‌آوری شده از کشورهای مختلف (استونی، آلمان، بلژیک، مجارستان، روسیه، لیتوانی، اسپانیا و ایتالیا) مهم‌ترین ترکیبات موجود در این گیاه را *Sabinene*، *Beta thujone*، *E-Sabinyl acetate* و *Myrcene* بیان کردند و اسانس این گیاه را به سه گروه شیمیایی اصلی تقسیم کردند؛ اسانس غنی از *Thujone*، اسانس غنی از *Sabinene* و اسانس غنی از *Epoxyocimene* [٦]. بر این اساس اسانس مورد استفاده در مطالعه حاضر، از نوع غنی از *Thujone* می‌باشد. رضایی نودهی و خانقلی نیز ترکیبات اصلی اسانس گیاه آفسنطین برداشت شده از منطقه دیلمان استان گیلان را *Beta thujone* (۱۸/٦ درصد)، *Beta pinene* (۲۳/۸ درصد) و *Sabinene* (۸/۹ درصد) گزارش کردند [۷]. همچنین در مطالعات نژادعلی و پارسا که این گیاه را از کوه‌های بینالود در استان خراسان رضوی برداشت نمودند، ترکیبات اصلی موجود در اسانس گیاه *Camphore* و *Cymene* گزارش شد [۸]. نتایج مطالعات مذکور و مطالعه حاضر ترکیبات مشابهی از این گیاه را با مقادیر متفاوت نمایان می‌سازد. علت این امر می‌تواند ناشی از تفاوت جغرافیای منطقه، فصل برداشت، سن گیاه، مرحله رشد و روش خشک کردن و استخراج اسانس باشد [۹]. مطالعات مختلفی در ارتباط با اثر اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی مختلف بر روی باکتری‌های بیماریزای با منشأغذایی در محیط کشت و غذا انجام شده است [۱۰،۱۱،۱۲]. دولگر و همکارانش (۱۹۹۹) در مطالعه‌ای اثر ضدمیکروبی عصاره اتیل استات، استون، کلروفرم و اتانولی گیاه آفسنطین را با روش انتشار دیسک، در ارتباط با ٤٥ نوع میکروارگانیسم مورد آزمایش قرار دادند. در این مطالعه اثر ضدمیکروبی این عصاره‌ها بر برخی باکتری‌های گرم مثبت و منفی به اثبات رسید اما این عصاره‌ها هیچ‌گونه اثری بر مخمرهای موردمطالعه نداشتند [۱۳]. لی و همکارانش نیز در سال ۲۰۰۷ اثر ضدقارچی اسانس ۳۹ گیاه از جمله آفسنطین را بر پنج نوع قارچ بیماریزای گیاهی مورد مطالعه قرار دادند ولی اسانس آفسنطین بر هیچ کدام از قارچ‌های بوتریتیس سینرا (*Botrytis cinerea*)، کولتوتریکوم گلوسپوروئیدس (*Colletotrichum gloeosporioides*)، فوزاریوم اوکسیسپوروم (*Fusarium oxysporum*)، پیتیوم اولتیموم (*Pythium ultimum*) و ریزوکتونیا سولانی (*Rhizoctonia solani*) اثر مهاری نداشت [١٤]. در مطالعه‌ای که توسط کالینز والدز و همکارانش در بلژیک صورت گرفت، اثرات مهاری عصاره سه گیاه بومی کشور کوبا بر برخی انگل‌ها، قارچ‌ها و باکتری‌ها و همچنین سمیت سلولی آنها بر سلول‌های MRC-5 انسانی مورد بررسی قرار گرفت. یکی از

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.11.9]

گیاهان مورداستفاده در این مطالعه، عصاره اتانولی آفسنطین بود که غلظت مهاری ۵۰ درصد (IC50) آن در ارتباط با استاف اورئوس، اشرشیاکلی، کاندیدا آلبیکنس و میکروسپوروم کنیس بیشتر از ٦٤ میکروگرم در میلی‌لیتر گزارش شد [۱۵]. سنگولا و همکاران نیز فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی و آبی سه نوع گیاه جمع‌آوری شده از کشور ترکیه از جمله آفسنطین را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه که با استفاده از روش انتشار دیسک صورت گرفته است، به وضوح دیده شد که اثر مهاری عصاره متانولی این گیاه بر باکتری‌ها و قارچ‌های موردمطالعه بسیار بیشتر از عصاره آبی آن بوده و اثر آن بر قارچ‌ها نیز کمتر از باکتری‌ها گزارش شده بود [١٦]. در تمام مطالعات اشاره شده به جز مطالعه کالینز، ارزیابی اثر ضدمیکروبی به روش انتشار دیسک صورت گرفته در حالی‌که روش انتشار دیسک یک روش غربالگری برای تعیین حساسیت میکروارگانیسم‌ها نسبت به مواد بازدارنده می‌باشد و این روش تحت تأثیر میزان و سرعت انتشار مواد بازدارنده در محیط کشت قرار دارد و بنابراین برای اندازه‌گیری دقیق فعالیت ضدمیکروبی مناسب نمی‌باشد [۱۹]. در مطالعه حاضر نیز نتایج روش انتشار دیسک با نتایج تعیین MIC قابل مقایسه نیست. از طرفی روش‌های ارزیابی مختلف، می‌تواند سبب به دست آمدن نتایج متفاوت در اندازه‌گیری میزان اثر ضدمیکروبی محاسبه شده در تحقیقات مختلف شود [۱۸]. در مطالعه حاضر علاوه بر روش انتشار دیسک از روش کمی اندازه‌گیری MIC نیز جهت ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی استفاده شد که از این نظر حائز اهمیت می‌باشد. همچنین همان‌طور که نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد، اثر عصاره متانولی بر باکتری‌های گرم مثبت موردمطالعه، بیشتر از باکتری‌های گرم منفی می‌باشد (جدول شماره ۳) که نشان دهنده تفاوت حساسیت باکتری‌های مختلف نسبت به عصاره‌های مختلف می‌باشد. اسلام و همکاران نیز در مطالعه‌ای که به روش انتشار دیسک بر روی ١٦ گونه گیاهی علیه ده نوع باکتری انجام دادند، نشان دادند که اثر عصاره‌های گیاهان بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی می‌باشد [١٧]. نتایج این مطالعه به طور کلی نشان‌دهنده اثر مهاری مطلوب‌تر اسانس و عصاره متانولی گیاه آفسنطین، بر باکتری‌های مورد مطالعه می‌باشد، به همین دلیل امکان استفاده از این اسانس و عصاره متانولی آن در صنایع غذایی وجود دارد تا نیاز مصرف‌کننده برای استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی در مواد غذایی و ارتقای سطح سلامت غذا تأمین شود. با این حال جهت استفاده عملی از این مواد، بررسی اثرات بازدارندگی آنها در مدل‌های غذایی امری ضروری محسوب می‌شود. همچنین بایستی سمیت سلولی این مواد در مدل‌های مناسب مورد ارزیابی قرار گیرد.

منابع

1. Brunelle S. Electro immunoassay technology for food borne pathogen detection. *IVD Technol*. 2000; 16: 13 - 34.

2. Canillac N, Mourey A. Antibacterial activity of the essential oil of Picea excelsa on *Listeria, Staphylococcus aureus and colifom* bacteria. *Food Microbiol*. 2001; 18 (3): 261 - 8.

3. Zhang CY, Yam KL, Chikindas ML. Effective control of Listeria monocytogenes by combination of nisin formulated and slowly released into a broth system. *Int. J. Food Microbiol*. 2004; 90 (1): 15 - 22.

4. Wright CW. Artemisia. Taylor and Francis Inc., New York. 2002.

5. Zargari A, Medicinal Plants University of Tehran Press, Tehran (in Persian). 1997, 3: 80 - 8.

6. Orav A, Raal B, Arak E, Muurisepp M, Kailas T. Composition of the essential oil of *Artemisia absinthium* L. of different geographical origin. *Proc. Estonian Acad. Sci. Chem*. 2006; 55 (3): 155

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.11.9]

– 65.

7. Rezaeinodehi A, Khangholi S. Chemical composition of the essential Oil of Artemisia absinthium growing wild in Iran. *Pakistan J. Biological Sci.* 2008; 11 (6): 946 - 9.

8. Nezhadali A, Parsa M. Study of the volatile compounds in Artemisia absinthium from Iran using HS/SPME/GC/MS. *Advances in Applied Science Res*. 2010; 1 (3): 174 - 9.

9. Mazutti M, Mossi AJ, Cansian RL, Corazza ML, Dariva C, Oliveira JV. Chemical profile and antimicrobial activity of Boldo (peumus boldus Molina) extracts obtained by compressed carbon dioxide extraction. *Braz. J. Chem. Eng*. 2008; 25 (2): 427 – 34.

10. Bernadette FM, Adams MR. Synergistic inhibition of Listeria monocytogenes by nisin and garlic extract. *Food Microbiol.* 2001; 18 (2): 133 - 9.

11. Erturk O. Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice plants. *Section Cell. Mol. Biol.* 2006; 61 (3): 275 - 8.

12. Ozkan G, Ozcan M, Karahan AG, Sagdic O. Effect of some spice extracts on bacterial inhibition. *Food Sci. Technol. Int*. 2003; 9 (5): 353 - 8.

13. DÜLGER B, CEYLAN M, ALITSAOUS M, UGURLU E. Antimicrobial Activity of *Artemisia absinthium* L. *Tr. J. of Biology* 1999; 23: 377 – 84.

14. Lee S, Musa N, Wendy W, Musa N, song CT. Antimicrobial property of 12 spices and methanol extract of Ornamental sea anemone against Edwardsiella agent and other bacteria. *Adv. Biol. Res*. 2007; 1 (5 - 6): 164 - 6.

15. Calienes Valdés AF, MendiolaMartínez J, Scull Lizama1 R, Vermeersch M, Cos P, Maes L. In vitro anti-microbial activity of the Cuban medicinal plants SimaroubaglaucaDC, *Melaleuca leucadendron* L and *Artemisia absinthium* L. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 2008; 103 (6): 615 - 8.

16. Sengula M, Ercislib S, Yildizb H, Gungorc N, Kavaza A, Çetina B, Antioxidant, Antimicrobial Activity and Total Phenolic Content within the Aerial Parts of Artemisia absinthium, Artemisia santonicum and Saponaria officinalis. *Iranian J. Pharmaceutical Res*. 2011; 10 (1): 49 - 56.

17. Islam MJ, Barua S, Das S, Khan M and Ahmad A. Antibacterial activity of some indigenous medicinal plants. *J. Soil. Nature*. 2008; 2 (3): 26 - 8.

18. Singh G, Marimuthu P, Heluani CS, Catalan C. Chemical constituents and antimicrobial and antioxidant potentials of essential oil and acetone extract of *Nigella sativa* seeds. *J. Sci. Food Agric*. 2005; 85: 2297 – 306.

19. Almedia AAP, Farah A, Silva DAM, Nunan EA, Beatriz MAG. Antibacterial activity of coffee extracts and selected coffee chemical compounds against Enterobacteria. *J. Agric. Food Chem*. 2006; 54: 8738 - 43.

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.11.9]