Archive of SID

JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره پانزدهم، شماره اول، ۱۳۹۸، پیاپی ۳۸: ۱۲-۱

مقایسه ویژگی‌های ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی اسانس بومادران با نگهدارنده‌ها و آنتی اکسیدان‌های شیمیایی

آسیه احمدی دستگردی[1*]، مجید غلامی آهنگران[2]، مصطفی فغانی[3]، محمد سجاد انصاری چهارسوقی[4]، زهرا صافی‌زاده[5]

۱- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اردستان، دانشگاه آزاد اسلامی، اردستان، ایران

۲- دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۳- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۴- دانش آموخته دکتری حرفه‌ای، دانشکده دامپزشکی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران

۵- دانشجوی دکتری حرفه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه باهنر کرمان، کرمان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۴/۹

چکیده

گیاه بومادران جزء قدیم ترین گیاهان دارویی شناخته شده می‌باشد که به دلیل وجود ترکیبات شیمیایی خاص هم در طب سنتی هم در طب مدرن استفاده‌های گوناگونی برای آن ذکر شده است. یکی از مهم ترین خواص دارویی بومادران، تاثیرات ضد میکروبی آن بر طیف گسترده‌ای از عوامل بیماری زا در انسان و حیوان است. در این مطالعه هدف استخراج و شناسایی اجزای اصلی اسانس برگ بومادران و ارزیابی فعالیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی اسانس می‌باشد. نتایج حاصل از بررسی اجزاء اسانس به روش GC/MS تعداد ۵۸ ترکیب را در اسانس برگ اثبات کرد که بورنئول (۱۲/۳۲٪)، ۱، ۸ سینئول (۱۰/۵۱٪)، β- پینن (۹/۳۳٪) و α- پینن (۸/۸۲٪) ترکیبات عمده را تشکیل می‌دادند. اسانس به شدت رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل (IC_{50} =0.94 µg/ml) را کاهش داد. در رابطه با فعالیت ضد میکروبی اسانس، حساس‌ترین میکروارگانیسم‌ها قارچ‌ها و سپس باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و مقاوم ترین آن‌ها باکتری‌های گرم منفی تشخیص داده شدند (MIC=0.45-7.20 mg/ml). این مطالعه تایید کرد که اسانس برگ بومادران دارای ویژگی‌های آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی در *In Vitro* بود. بنابراین می‌توان استفاده از آن را به عنوان یک ترکیب آنتی اکسیدان و نگهدارنده در فرآورده‌های غذایی پیشنهاد نمود.

کلمات کلیدی: بومادران، اسانس، فعالیت ضد میکروبی، فعالیت آنتی اکسیدانی.

*نویسنده مسئول: آسیه احمدی دستگردی

آدرس: گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اردستان، دانشگاه آزاد اسلامی، اردستان، ایران. تلفن: ۰۹۱۳۲۱۲۷۰۵۱

پست الکترونیک: As.ahmadi17@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

بومادران متعلق به خانواده آستراسه آ *Asteraceae* (گل ستاره ای‌ها) و بومی اروپا، شمال آمریکا و آسیا (ترکیه، ایران، قفقاز، آسیای مرکزی، افغانستان، پاکستان، عراق و سوریه) است. در ایران در دامنه‌های البرز، تبریز، ارومیه، اشتران کوه، راه گرگان به مشهد، جنگل گلستان، اصفهان، مازندران، همدان، قزوین، کرج، دامغان، سمنان، شاهرود و به صورت علف هرز در نواحی دامنهٔ کوهستانی، کنارجاده‌ها، حاشیهٔ مزارع به خصوص مزارع گندم و باغ‌ها می‌روید. گیاهی است علفی، خودرو، ریزوم دار که دارای ساقه‌های مستقیم به ارتفاع یک متر می‌باشد (۱۰، ۱۳، ۱۵، ۱۷). بخش‌های مورد استفاده گیاه، سرشاخه‌های گلدار آن است که طعم تلخ و بوی قوی دارد به همین دلیل در سوئد گاهی بجای رازک در آبجوسازی به کار می‌رود. گزارشات بسیاری مبنی بر فعالیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی اسانس این گیاه در محیط آزمایشگاهی وجود دارد (۸، ۱۱، ۱۳، ۲۵)، ولی تاکنون گزارشی در مورد اسانس برگ این گیاه از نقطه نظر ویژگی‌های آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی آن بر ضد *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیاکلی*، *سالمونلا اینتریتیدیس*، *پنی سیلیوم گلوکوم* و *ساکارومایسس سرویزیه* ارایه نشده است.

مواد و روش کار

مواد

DPPH و BHT از سیگما آلدریچ (USA) تهیه شد. سویه‌های استاندارد شامل *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 25923)، *سالمونلا اینتریتیدیس* (ATCC 4933)، *اشرشیاکلی* (ATCC 25922)، *پنی سیلیوم گلوکوم* (ATCC 9849P) و *ساکارومایسس سرویزیه* (ATCC 60782) به صورت لیوفیلیزه از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. کلیه محیط‌های کشت از مرک آلمان تهیه شد.

روش کار

۱- جمع‌آوری و شناسایی گیاه

سرشاخه‌های گلدار گیاه از موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع استان اصفهان (ایستگاه شهید فزوه) تهیه شد. نمونه‌های گیاهی توسط هرباریوم گیاهشناسی شناسایی گردید (No. 11448).

۲- آماده کردن نمونه

برگ‌های گیاه در سایه خشک شده و در شرایط محیطی به مدت ۲ روز تا رسیدن به رطوبت نهایی نگهداری شدند. سپس در آسیاب (Mulinex, Spain) پودر شده و به صورت پودر در فریز نگهداری شدند (۱۴، ۱۵).

۳- روش تهیه اسانس

مقدار ۱۰۰ گرم پودر برگ گیاه توسط دستگاه کلونجر (مدل اشک شیشه، ایران) اسانس‌گیری شد. اسانس جمع‌آوری شده توسط سولفات سدیم آبگیری شد و تا زمان انجام آزمایش‌ها، در شیشه‌های تیره و دربسته در یخچال (دمای ۴ ^{o}C) نگهداری شد (۸، ۱۱، ۱۳). بازده اسانس بر اساس وزن خشک نمونه محاسبه گردید.

٤- بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس

اسانس برگ به دستگاه GC/MS مدل Agilent 7890 A مجهز به ستون HP-5-MS به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلیمتر و ضخامت لایه ۲۵ میکرومتر متصل به طیف نگار جرمی مدل Agilent 5975 C تزریق شد. دمای ابتدایی آون ۶۰ درجه سانتیگراد و گرادیان حرارتی ۴ درجه سانتیگراد در هر دقیقه ($4^{o}C/min$)، افزایش دما تا ۲۸۰ تا ۳۰۰ درجه سانتی گراد، دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتیگراد، گاز هلیوم با درجه خلوص ۹۹/۹۹۹٪ به عنوان فاز متحرک

www.SID.ir

Archive of SID

(گاز حامل) با سرعت جریان ۰/۸ میلی لیتر در دقیقه انتخاب شد. طیف نگار جرمی با ولتاژ ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتیگراد بود. پس از تزریق اسانس، کروماتوگرام حاصله و طیف‌های جرمی ترکیبات مختلف موجود در آن به کمک بانک اطلاعات جرمی، زمان بازداری (R_t)، شاخص کواتز (RI) و مقایسه با طیف‌های جرمی استاندارد و استفاده از منابع معتبر (Adams, 2007) و اطلاعات موجود در کتابخانه دستگاه GC/MS (Wiley & NIST) بررسی شد. شاخص کواتز با استفاده از طیف نرمال آلکان‌ها (C_{24}–C_8) محاسبه شد.

۵- طراحی آزمایشات و تهیه غلظت‌های اسانس

جهت طرح آزمایشات از نرم افزار Design Expert و محدوده غلظت ۷/۲۰ mg/ml– ۰/۴۵ استفاده شد.

٦- بررسی ویژگی‌های ضد میکروبی اسانس

سویه‌های استاندارد شامل *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 25923)، *سالمونلا اینتریتیدیس* (ATCC 4933)، *اشرشیاکلی* (ATCC 25922)، کپک *پنی سیلیوم گلوکوم* (ATCC 9849P) و مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* (ATCC 60782) به صورت لیوفیلیزه از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. جهت بررسی اثرات ضد میکروبی از دو روش چاهک و ریز رقت استفاده شد. شاهد منفی ۵٪ DMSO و شاهد مثبت کلرامفنیکل و فلوکونازول بود. هاله‌های عدم رشد باکتری پس از ۲۴ ساعت هاله‌های عدم رشد قارچ پس از ۷۲ ساعت اندازه گیری شدند. با استفاده از روش رقت لوله ای، حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) تعیین شد. آخرین رقتی که در آن هیچ گونه کدورتی مشاهده نشد (عدم رشد) به عنوان MIC در نظر گرفته شد. پس از تعیین MIC از تمامی لوله‌هایی که در آنها عدم رشد باکتری و قارچ مشاهده شد نمونه برداری شد و پلیت حاوی کمترین غلظت اسانس که در آن عدم رشد باکتری و قارچ قابل مشاهده است به عنوان MBC در نظر گرفته شد (۸، ۱۱، ۱۳، ۲۲، ۲۵).

۷- بررسی ویژگی‌های آنتی اکسیدانی اسانس

فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس، با استفاده از روش ۲ و ۲ دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل بر مبنای درصد مهار تولید رادیکال آزاد (DPPH) اندازه گیری شد. جذب نمونه‌های حاوی اسانس و شاهد، در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu, Japan) خوانده شد. آنتی اکسیدان سنتزی BHT به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. برای بررسی قدرت آنتی اکسیدانی اسانس از IC_{50} (ظرفیت بازدارندگی) استفاده شد. بدین منظور ابتدا درصد مهار DPPH توسط رابطهٔ زیر محاسبه شد و نمودار آن در مقابل غلظت اسانس رسم گردید و IC_{50} که همان غلظتی از اسانس است که باعث مهار ۵۰ درصد رادیکال DPPH می‌شود، با آنالیز رگرسیون خطی از مقادیر RSC بدست آمده محاسبه شد (۸، ۱۱، ۱۳، ۲۴).

$$\text{RSC (\%)} = \text{درصد مهار یا DPPH} = \left(1 - \frac{A_A}{A_B}\right) \times (100)$$

A_A = جذب نمونه، A_B = جذب شاهد

۸- تجزیه و تحلیل داده‌ها

طرح آماری رویه پاسخ بهینه (RSM) استفاده شد. تحلیل و ارزیابی (ANOVA) توسط نرم افزار Expert Design 8.0 (Stat-Ease, Inc., Minneapolis, MN, USA) برای تایید وجود اختلاف بین داده‌ها انجام شد. نوع مطالعه response surface optimal، نوع طراحی D-optimal و مدل طراحی Quadratic بود($P < 0.05$). با تشکیل جداول آنالیز واریانس ANOVA، معنی‌دار بودن یا نبودن آزمایش‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج

۱- بررسی میزان اسانس

در این تحقیق میزان اسانس برگ بومادران به روش تقطیر با آب براساس وزن خشک نمونه ۰/۳ درصد(w/w) به دست آمد. اسانس برگ دارای رنگ زرد شفاف و بوی ضعیف بود.

۲- بررسی اجزاء اسانس

نتایج حاصل از بررسی اجزاء اسانس به روش GC/MS تعداد ۵۸ ترکیب را در اسانس برگ این گونه از بومادران نشان داد. بورنئول، ۱، ۸ سینئول، β- پینن و α- پینن ترکیبات عمده موجود در اسانس برگ را تشکیل دادند. ترکیبات دیگر مانند α- توجون، کامفور، لاواندولیل استات، ۴- ترپینئول، لیمونن و ترانس کاروئول، ترانس β کاریوفیلن، اکسید کاریوفیلن، اسپاتولنول، جرماکرن D و بی سیکلوجرماکرن نیز به میزان جزیی در اسانس تشخیص داده شدند (جدول ۱).

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی اسانس برگ *A.millefolium* به روش GC/MS

ترکیب	Rt[a](دقیقه)	RI[b]	درصد
2-Hexenal	۳/۷۵۰	۷۶۵	۰/۵۳
1-Nonene	۴/۳۳۳	۷۹۰	۰/۱۸
Thujeneα-	۵/۱۰۰	۹۲۴	۰/۲۵
Pineneα-	۵/۲۶۶	۹۳۲	۸/۸۲
Camphene	۵/۶۰۹	۹۴۷	۰/۴۸
Sabinene	۶/۱۶۴	۹۷۲	۱/۶۲
Pineneβ-	۶/۲۶۷	۹۷۶	۹/۳۳
Terpineneα-	۷/۲۵۷	۱۰۱۶	۰/۳۳
p-Cymene	۷/۴۷۵	۱۰۲۳	۲/۱۵
Limonene	۷/۵۹۵	۱۰۲۷	۰/۶۲
1,8-Cineole	۷/۶۸۱	۱۰۳۰	۱۰/۵۱
Terpineneγ-	۸/۴۳۶	۱۰۵۷	۰/۸۱
trans-Sabinene hydrate	۸/۶۹۹	۱۰۶۶	۰/۴۴
Cis-Sabinene Hydrate	۹/۶۳۸	۱۰۹۸	۰/۴۹
Compholen	۱۰/۴۹۶	۱۱۲۶	۰/۶۰
trans-Pinocarveol	۱۰/۹۳۱	۱۱۳۹	۲/۰۶
Camphor	۱۱/۱۲۵	۱۱۴۵	۱/۴۵
Pinocarvone	۱۱/۶۹۲	۱۱۶۳	۱/۵۹
Borneol	۱۱/۸۴۶	۱۱۶۸	۱۲/۳۲
Terpinene-4-ol	۱۲/۱۶۷	۱۱۷۸	۱/۶۴
Terpineolα-	۱۲/۵۸۴	۱۱۹۱	۳/۳۱
Methyl chavicol	۱۲/۸۱۹	۱۱۹۸	۷/۳۸
Ethanone	۱۳/۲۰۲	۱۲۱۰	۰/۴۲
Trans-Carveol	۱۳/۴۷۷	۱۲۱۸	۰/۴۸
Bornyl Acetate	۱۵/۶۴۶	۱۲۸۵	۰/۵۹
Lavandulyl Acetate	۱۵/۷۷۲	۱۲۸۹	۰/۱۸
Thymol	۱۵/۸۴۰	۱۲۹۱	۰/۷۳
Eugenol	۱۷/۹۵۲	۱۳۵۷	۰/۳۰
Copaeneα-	۱۸/۵۳۰	۱۳۷۵	۰/۲۷
Trans-Caryophyllene	۱۹/۹۱۴	۱۴۲۱	۱/۴۴
Humuleneα-	۲۰/۹۶۱	۱۴۵۵	۰/۳۰
Germacrene D	۲۱/۸۱۴	۱۴۸۳	۲/۷۰
Iononeβ-	۲۱/۹۲۸	۱۴۸۷	۰/۳۳
Bicyclo Germacrene	۲۲/۲۷۹	۱۴۹۸	۰/۵۹
3,4'-Difluoro-4-Methoxybiphenyl	۲۲/۳۶۳	۱۵۰۱	۰/۲۲
Amorpheneα-	۲۲/۷۸۱	۱۵۱۵	۰/۳۲
delta-Cadinene	۲۳/۰۴۴	۱۵۲۴	۰/۳۸
1,5-epoxysalvial-4(14)-ene	۲۴/۳۳۷	۱۵۶۹	۰/۲۸
Spathulenol	۲۴/۶۷۵	۱۵۸۰	۲/۸۶
Caryophyllene Oxide	۲۴/۸۴۷	۱۵۸۶	۴/۰۹
Alpha-Guaiene	۲۵/۳۹۶	۱۶۰۶	۰/۳۴
alpha-Bisabolene epoxide	۲۵/۵۶۸	۱۶۱۲	۰/۷۲
azulene-7-ol	۲۶/۱۲۸	۱۶۳۲	۰/۶۰
Caryophyllenol	۲۶/۲۲۶	۱۶۳۵	۱/۱۹
Caryophylla -4(12),8(13)-dien-5	۲۶/۳۴۰	۱۶۳۹	۳/۰۰
Cadineneγ-	۲۶/۴۳۷	۱۶۳۴	۰/۸۹
Benzene, hexamethyl	۲۶/۶۳۸	۱۶۵۰	۰/۴۴
Eudesmolβ-	۲۶/۷۱۸	۱۶۵۳	۰/۲۸
Eudesmolα-	۲۶/۸۰۹	۱۶۵۶	۳/۲۲
Valerenal	۲۷/۱۴۷	۱۶۶۸	۰/۵۲
Vulgarol B	۲۷/۲۸۴	۱۶۷۳	۰/۷۷
Ledenoxide	۲۷/۷۱۹	۱۶۷۷	۲/۲۹
longipinanol	۲۷/۸۳۳	۱۶۹۳	۰/۸۵
2,4,6-tri-(t-butyl)pyrimidine	۳۰/۳۰۵	۱۷۹۰	۰/۲۱

گازکروماتوگرافی مجهز به اسپکترومتری جرمی روی ستون HP-5-MS انجام شد. Rt[a]: زمان بازداری، RI[b]: اندیس بازداری

۳- بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس

نتایج حاصل از بررسی حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس برگ بومادران واریته *A. millefolium* بر روی میکروارگانیسم‌های مورد بررسی در جدول شماره ۲ آورده شده است. نتایج نشان داد که اسانس، سطوح متفاوتی از فعالیت ضد میکروبی

www.SID.ir

Archive of SID

را علیه نمونه‌های باکتریایی و قارچی نشان دادند و از رشد تمام گونه‌های میکروبی جلوگیری کرد. حساس ترین میکروارگانیسم (کمترین MIC) در بین میکروارگانیسم‌های مورد بررسی *P. گلوکوم*، *S. سرویزیه* و *S. اورئوس* و مقاومترین آن‌ها *S. اینتریتیدیس* و *اشرشیاکلی* بودند بود. این نتایج نشان داد اسانس برگ اثرات قابل توجهی علیه باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس* داشته و بر باکتری‌های گرم منفی این تاثیر ضعیف تر بوده است.

MBC	MIC		
۷/۲	۶/۵۳	ATCC 25923	*استافیلوکوکوس اورئوس*
-	-	ATCC 4933	*سالمونلا اینتریتیدیس*
-	۷/۲	ATCC 25922	*اشرشیاکلی*
۲/۴۱	۱/۶۷	ATCC 9849P	*پنی سیلیوم گلوکوم*
۳/۸۳	۲/۴۱	ATCC 60782	*ساکارومایسس سرویزیه*

نتایج برحسب mg/ml گزارش شده است.

جدول ۳ نشان می‌دهد قوی ترین اثر و بزرگ ترین قطر هاله عدم رشد، مربوط به *P. گلوکوم*، *S. سرویزیه* و سپس *S. اورئوس* در غلظت ۷/۲۰ mg/ml بود که در برخی غلظت‌ها در مقایسه با آنتی بیوتیک‌های شیمیایی کلرامفنیکل و فلوکونازول بیشتر بود. همچنین با افزایش غلظت اسانس، قطر هاله عدم رشد افزایش یافته است.

جدول ۲- فعالیت ضد میکروبی اسانس برگ *Achillea millefolium*

میکروارگانیسم	نژاد	اسانس برگ

جدول ۳- فعالیت ضد میکروبی اسانس برگ *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* در مقایسه با مواد شیمیایی

غلظت	*استافیلوکوکوس اورئوس*	*سالمونلا اینتریتیدیس*	*اشرشیاکلی*	*پنی سیلیوم گلوکوم*	*ساکارومایسس سرویزیه*
۰/۴۵	-	-	-	-	-
۱/۰۲	-	-	-	-	-
۱/۶۷	-	-	-	-	-
۲/۴۱	-	-	-	۱۲	۸
۳/۱۲	-	-	-	۱۸	۱۷
۳/۸۳	-	-	-	۱۸	۱۸
۴/۵	-	-	-	۲۱	۱۹
۵/۱۸	-	-	-	۲۱	۲۰
۵/۸۵	-	-	-	۲۱/۵	۲۱
۶/۵۳	۵/۵	-	-	۲۲	۲۲
۷/۲۰	۱۰	-	-	۲۳	۲۳
شاهد -	-	-	-	-	-
شاهد +	۹/۵	۱۱/۵	۱۱/۵	-	-
	-	-	-	۱۲	۱۰

قطر چاهک: mm ۶؛ شاهد منفی: ۵٪DMSO، شاهد مثبت: کلرامفنیکل، فلوکونازول (۳۰µg/ml) ؛ قطر هاله بصورت mm گزارش شده است.

جدول ٤- آنالیز واریانس (ANOVA) درصد قدرت بازدارندگی (RSC) و قطر هاله اسانس برگ

	منبع	مجموع مربعات	DF	میانگین مربعات	F value	Pr > F	انحراف معیار	R-Squared	Predicted R-squared	Adj R-Squared
RSC	اسانس برگ	۸۹۴۶/۹۸	۴	۲۲۳۶/۷۵	۲۳۹/۷۰	<۰/۰۰۰۱	۳/۰۵	۰/۹۸۶۶	۰/۹۷۲۷	۰/۹۸۲۵
	BHT	۱۱/۴۱	۲	۵/۷۱	۲۸/۵۹	<۰/۰۰۰۱	۰/۴۵	۰/۷۹۲۲	۰/۶۹۶۲	۰/۷۶۴۵
قطرهاله	*S. a*	۳۴۳/۴۹	۶	۵۷/۲۵	۲۲۹/۴۷	<۰/۰۰۰۱	۰/۵۰	۰/۹۹۲۱	۰/۹۳۸۰	۰/۹۸۷۸
	P. g	۱۰۶۱/۸۶	۱	۱۰۶۱/۸۶	۲۸/۶۳	<۰/۰۰۰۱	۶/۰۹	۰/۶۴۱۵	۰/۵۲۵۰	۰/۶۱۹۱
	S. c	۱۱۵۳/۰۱	۱	۱۱۵۳/۰۱	۳۶/۵۰	<۰/۰۰۰۱	۵/۶۲	۰/۶۹۵۲	۰/۵۹۹۷	۰/۶۷۶۲

مقادیر "Prob > F" کمتر از ۰/۰۵ اشاره می کند که معنی‌دار است; *S. a: استافیلوکوکوس اورئوس*، *P. g*: *پنی سیلیوم گلوکوم*، *S. c*: *ساکارومایسس سرویزیه*

www.SID.ir

Archive of SID

٤- بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس

فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس برگ *Achillea millefolium* با مهار و به دام انداختن رادیکال‌های DPPH و مقایسه با آنتی اکسیدان سنتزی BHT بررسی شد. جدول ۵ قدرت اسانس برگ را در غلظت‌های مختلف در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در مقایسه با آنتی اکسیدان سنتزی BHT نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که اسانس برگ قادر به احیاء رادیکال پایدار و بنفش رنگ DPPH به DPPH-H زرد رنگ با IC_{50} = ۰/۹۴mg/ml شد. فاکتور IC_{50} نسبت معکوسی با فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس دارد. همانطور که مشخص است رابطه مستقیمی بین غلظت اسانس و اثر مهارکنندگی رادیکالی آن برقرار می‌باشد و با افزایش غلظت اسانس، اثر ضد رادیکالی و آنتی اکسیدانی آن افزایش می یابد. اما در مورد BHT در غلظت‌های بالا افزایشی در میزان RSC مشاهده نشد.

جدول ٥- مقایسه درصد قدرت بازدارندگی (RSC) اسانس برگ بومادران و BHT، بر اساس خنثی سازی DPPH

	غلظت										
منبع	۰/۱۴	۰/۲۸	۰/۴۵	۱/۰۲	۱/۶۷	۲/۴۱	۳/۱۲	۳/۸۳	۴/۵	۵/۱۸	۵/۸۵	۶/۵۳	۷/۲۰	IC_{50}
اسانس	-	-	۴۳/۷۱	۴۵/۵۹	۵۱/۲۷	۵۶/۰۹	۸۲/۶۹	۸۵/۶۳	۸۹/۲۵	۹۲/۳۳	۹۴/۳۱	۹۵/۳۲	۹۷/۰۶	۰/۹۴
BHT	۹۵/۹۷	۹۶/۱۳	۹۶/۲۸	۹۶/۴۵	۹۵/۴۷	۹۵/۲۲	۹۵/۰۷	۹۵/۰۱	۹۵/۰۰	۹۵/۰۰	۹۴/۷۰	۹۴/۱۳	۹۳/۳۳	۱/۳۴

غلظت و IC_{50} بر حسب mg/ml گزارش شده است.

بحث و نتیجه گیری

بررسی میزان اسانس

میزان اسانس حاصل از برگ گیاه بومادران با سایر تحقیقات در مورد این واریته قابل مقایسه است. برای مثال کاظمی (۲۰۱۵) میزان اسانس بدست آمده از بخش‌های هوایی این گونه را ۰/۹۶٪ (v/w) و رحیم مالک و همکاران (۲۰۰۹) میزان اسانس برگ را ۰/۱۵- ۰/۶۳٪ (w/w) گزارش کردند. میزان اسانس بدست آمده از این گونه در ترکیه ۰/۶٪ (v/w) بدست آمد (۱۳).

احتمالا دلیل این اختلاف، اختلافات ژنتیکی، فاکتورهای محیطی مختلف و یا زمان نمونه برداری است که از عوامل مهم موثر بر میزان اسانس بدست آمده از نمونه‌های گیاهی می‌باشند (۲۸). در ضمن، روش‌های متفاوت استخراج اسانس و دستگاه‌های اسانس گیری و روش خشک کردن بر میزان اسانس تاثیر زیادی دارد (۲، ۱۴، ۱۵۱، ۲۳).

بررسی اجزاء اسانس

آزولن در اسانس برگ مشاهده شد که با نتایج تحقیق بر روی *A. millefolium* ایرانی مطابقت نداشت (۴)، در حالی که Lamaison و همکاران (۱۹۸۸) حضور مقادیر ناچیز آزولن را در *A. millefolium* فرانسوی گزارش کرد. ترکیباتی از قبیل grandisol، cis-nerolidol، farnesol، 2 hydroxycyclopentadecanone، cis-a-santalol acetate و olic aldehyde که قبلا در این گونه از ایران گزارش شده بود در این اسانس مشاهده نشد (۴). Rahimmalek و همکاران (۲۸) در برگ انواع مختلف *A. millefolium* کشت داده شده در نقاط مختلف ایران ۳۶ ترکیب تشخیص دادند که بورنئول، کامفور، جرماکرن D، کوپاان، اسپاتولنول و کاریوفیلن اکسید ترکیبات اصلی اسانس را تشکیل داده بودند. در سایر نقاط دنیا نیز نتایج کم و بیش مشابهی بدست آمده است. به عنوان مثال در اسانس *A. millefolium* کشت شده در ترکیه ۳۶ ترکیب گزارش

www.SID.ir

Archive of SID

شد که ترکیبات اصلی آن شامل مونوترپن‌های ائوکالیپتول، کامفور، α- ترپینئول، β- پینن و بورنئول بود (۱۳).

مقایسه نتایج این تحقیق با نتایج محققین دیگر نشان داد که اجزای مهم اسانس با توجه به مناطق مختلف تغییر می‌کند. ترکیبات شیمیایی اسانس تحت تاثیر فاکتورهای مختلف همچون شرایط محیطی و جغرافیایی، زمان رشد گیاه، زمان جمع‌آوری گیاه، نور، رطوبت، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک، شرایط آب و هوایی، روش خشک کردن گیاه، روش استخراج اسانس، سن گیاه و ... است (۷، ۲۵، ۲۸). یک رابطه معکوس بین کامازولن و اسپاتولنول در *A.millefolium* وجود دارد. در این بررسی نیز همان نتایج مشاهده شد، یعنی اسانس برگ فاقد کامازولن و دارای اسپاتولنول بود (۲۸).

بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس

بررسی‌های صورت گرفته در خصوص مکانیسم عمل اسانس‌ها ثابت نموده است که این ترکیبات نفوذپذیری غشا را افزایش می‌دهند. اجزاء اسانس با نفوذ در غشا منجر به متورم شدن غشا گردیده و فعالیت آن را تحت تاثیر قرار می‌دهند و در نهایت منجر به مرگ سلول خواهند شد (۱۸).

از نتایج بدست آمده واضح است که ترکیبات شیمیایی اسانس و نقش سینرژیستی ترکیبات تاثیر مهمی بر فعالیت ضد میکروبی این گیاه دارند. معمولا ترکیبات حاوی گروه‌های فنولیک موثرتر هستند. ترکیبات فنلی موجود در اسانس عبارتند از: تیمول، اوژنول، آلفا ترپینئول، متیل چاویکول، جرماکرن D، ترپینن -۴ ال و کاریوفیلن. ترکیبات آروماتیک و فنولیک اثرات ضد میکروبی خود را در غشای سیتوپلاسمی با تغییر ساختار و عملکرد آن انجام می‌دهند. توانایی فنولیک‌ها در مداخله در متابولیسم سلولی از طریق مکانیسم‌هایی مانند شکستن غشا، غیرفعالسازی آنزیمی و شلاته کردن فلزات است. همچنین توانایی آن‌ها در نفوذ به غشا فاکتور مهمی در مقاومت یا حساسیت سلول می‌باشند. نفوذپذیری غشای سیتوپلاسمی عامل مرگ سلول است. همچنین ترکیبات غیر فنولیک اسانس نیز موثر می‌باشند (۱۸). ترپن‌های فرار کارواکرول، سینئول، بورنئول، توجون، پینن، کامفون، وربنون، اوژنول، بورنیل استات، سیمن، کاروون، ترپینن، تیمول، ترپینولن، ترپینن ۴ ال نیز مسئول فعالیت ضد میکروبی هستند (۱۸، ۶، ۱۲، ۲۲، ۲۷، ۳۰، ۳۱). ترپن‌ها توانایی شکستن و نفوذ به ساختار لیپیدی دیواره سلولی باکتری‌ها را دارند که منجر به دناتوراسیون پروتئین‌ها، شکستن غشای سلولی، نشت سیتوپلاسمی، تخریب سلولی و نهایتا مرگ سلولی می‌شوند (۱۶). کامفور یک مونوترپن اکسیژن‌دار است که قویاً ضدعفونی کننده و به عنوان یک ترکیب آنتی پاتوژن و مخصوصاً به عنوان ضد قارچ و ضد باکتری شهرت یافته است (۲۲، ۱). سینئول نوعی مونوترپن معروف است که دارای خاصیت ضد میکروبی است (۱). P- سیمن هیدروفوبیک است و باعث تورم غشای سیتوپلاسمی به ویژه در در لایه لیپیدی باکتری می‌شود (۱۲). تیمول به عنوان یک ترکیب ضد میکروب قوی قادر به شکستن غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی و آزادسازی لیپوپلی ساکاریدها و افزایش نفوذپذیری غشای سیتوپلاسمی با اتصال به پروتئین‌های غشا توسط پیوندهای هیدروفوبیک و هیدروژنی است. مکانیسم دیگر آن شلاته کردن کاتیون‌ها در غشای خارجی است. گروه هیدروکسیل موجود در مولکول اجزای اسانس مانند تیمول و منتول برای بروز خاصیت ضد میکروبی آن‌ها بسیار مهم است. ترکیبات شیمیایی دارای گروه‌های هیدروکسیل یا گروه‌های آلدئید

www.SID.ir

Archive of SID

فعالیت ضد میکروبی قوی نشان می‌دهند. گروه‌های هیدروکسیل، پیوندهای هیدروژنی تشکیل می‌دهد که با مکان فعال آنزیم واکنش می‌دهد و آن را غیرفعال می‌سازد. گروه‌های آلدئیدی نیز با گروه‌های سولفیدریل واکنش می‌دهند و از رشد میکروبی جلوگیری می‌کنند (۱۲، ۱). گزارشات حاکی از آن است که اسانس‌های حاوی اوژنول بالاترین اثرات ضد باکتریایی را دارند. اوژنول نوعی فنیل پروپانید است که باعث فساد دیواره سلولی و تخریب سولی می‌شود. گروه‌های هیدروکسیل اوژنول به پروتئین‌ها متصل می‌شوند و از عملکرد آنزیم جلوگیری می‌کنند (۱، ۱۲). پینوکاروون اختلاف pH و پتانسیل غشای سلولی را از هم می‌پاشد و انرژی متابولیک سلول را بهم می‌زند (۱۲). سزکوئی ترپن‌های موجود در گیاه مانند کاریوفیلن، کاریوفیلن اکسید و جرماکرینD فعالیت ضد باکتری و ضد قارچی قابل قبولی دارند (۱، ۲۲، ۳۲). لیمونن، پینن، نئومنتول و ترپینن موجود در اسانس برگ دارای اثرات قوی باکتریواستاتیک هستند (۱). ترپینن-۴-ال یک مونوترپن حلقوی است که تنفس اکسیداتیو را در سلول باز می‌دارد و باعث تورم غشا و افزایش نفوذپذیری غشا می‌شوند (۱۸).

همانگونه که مشاهده شد اجزاء اسانس اثرات ضد میکروبی متفاوتی دارند. در واقع با شناسایی ترکیبات موجود در هر اسانس می توان به این نکته پی برد که بین ترکیبات موجود در هر اسانس و خواص ضد میکروبی آن رابطه مستقیمی وجود دارد ولی اساساً نقش اصلی را ترکیب عمده یا شاخص بازی می کند. مقایسه بین نتایج گزارش شده درباره ویژگی‌های ضد میکروبی اسانس‌های مختلف به دلیل تفاوت در روش‌های ارزیابی ویژگی‌های ضد میکروبی، منبع اسانس روغنی و تفاوت میکروارگانیسم‌های بکار رفته بسیار مشکل است (۷).

جدول ۲ و ۳ نشان می‌دهد که به طور معمول قارچ‌ها نسبت به باکتری‌ها در برابر اسانس‌ها حساس تر هستند که این امر ناشی از ساختار سلولی متفاوت آن‌هاست (۷). کاظمی (۱۹، ۲۰) نشان داد اسانس *A. millefolium* دارای فعالیت ضد میکروبی علیه همه میکروارگانیسم‌های مورد بررسی بود، اما بر روی قارچ‌ها موثرتر از باکتری‌ها بود. بر اساس تحقیقات صورت گرفته باکتری‌های گرم مثبت نسبت به اسانس‌ها حساس تر از باکتری‌های گرم منفی هستند. نتایج بدست آمده در این تحقیق (بالاتر بودن MIC اسانس علیه باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت) نیز حاکی از حساس تر بودن باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی بود. به دلیل وجود غشاهای خارجی نسبتا نفوذ ناپذیر احاطه کننده دیواره سلولی در باکتری‌های گرم منفی (لیپوپلی ساکاریدهای دیواره سلولی) منطقی بنظر می‌رسد که این باکتری‌ها در برابر اثرات ضد میکروبی اسانس‌ها حساسیت کمتری از خود نشان دهند. این غشاء خارجی انتشار مواد هیدروفوب از میان این لایه پوشاننده لیپوپلی ساکاریدی را محدود می‌کند. لیپوپلی ساکاریدهای دیواره سلولی احتمالا مانع از رسیدن ترکیبات فعال اسانس به غشای سیتوپلاسمی باکتری‌های گرم منفی می‌شود (۱۲، ۱۶). علاوه بر این، اختلاف در هیدروفوبیسیتی سطح سلول می‌تواند از جمله فاکتورهای موثر دیگر باشد. سلول‌های گرم منفی سطح هیدروفوبیک تری دارند که توسط پروتئین‌های پورین در غشای خارجی سلول‌های گرم منفی منشعب شده‌اند. این امر کانال‌های بزرگی ایجاد می‌کند که عبور ترکیباتی مانند ترکیبات فنولیک موجود در را محدود

www.SID.ir

Archive of SID

می‌کند (۱۸). یکی از ویژگی‌های مهم اسانس‌ها، خاصیت آبگریزی یا هیدروفوبیسیتی آنهاست که آن‌ها را قادر می‌سازد تا با پیوند روی لایه لیپیدی غشاء سلولی باکتری‌ها و میتوکندری آنها باعث پاره شدن غشاء سلولی و خروج مولکول‌ها و یون‌های مهم باکتری به خارج از سلول و در نهایت مرگ باکتری گردد. پیچیدگی فیزیکوشیمیایی بیشتر دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی نیز حاکی از تفاوت در حساسیت دو گروه از باکتری‌ها است (۱۸).

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس

مقادیر بالای بورنئول، پینن و سینئول در اسانس برگ احتمالا مسئول اثرات آنتی اکسیدانی قوی آن است (جدول ۵). همچنین ترکیبات فنولی مانند تیمول، اوژنول، متیل چاویکول، جرماکرن D، ترپینن -۴ ال و کاریوفیلن و برخی الکل‌های مونوترپن مانند نئومنتول و α ترپینئول احتمالا بیشترین فعالیت مهارکنندگی را در این اسانس داشتند. فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیباتی مانند بورنئول، کامفور، پینن، ترپینن -۴ ال، سینئول و تیمول قبلا گزارش شده است (۱۱، ۱۳، ۱۹، ۲۰).

نتایج بدست آمده از تحقیقات قبلی نیز اثرات قوی آنتی اکسیدانی اسانس *A.millefolium* را تایید می‌کند. این تحقیقات نشان داد تفاوت در فعالیت‌های بیولوژیکی با تفاوت در ترکیبات موجود در ماده گیاهی اولیه مورد آزمون مرتبط بود (۱۱). نیک آور و همکاران (۲۶) نشان دادند که این گیاه می‌تواند به عنوان یک منبع آنتی اکسیدانی از حمله رادیکال‌ها در سیستم‌های بیولوژیکی و غذایی جلوگیری کند.

در این تحقیق نشان داده شد که فرآورده‌های طبیعی بویژه اسانس‌های روغنی و ترکیبات آن‌ها بعنوان عوامل آنتی اکسیدان و ضد میکروب ایفاء نقش می‌کنند. اسانس برگ بومادران سطوح مختلفی از فعالیت‌های آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی را از خود نشان داد. بنابراین می‌تواند بعنوان منبع امیدبخش جهت تامین منابع طبیعی آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی باشد تا به این وسیله در تامین سلامت بیشتر در جامعه نقش داشته باشیم.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود واجب می دانند مراتب سپاس و قدردانی را از دکتر حسین زینلی، استادیارگروه علوم طبیعی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی؛ دکتر حسین باخدا، دانشیار گروه مکانیزاسیون کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، پژوهشکده قلب و عروق اصفهان و مرکز تحقیقات بهداشت مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد به عمل آورند.

منابع

۱. قاسمی، ع. (۱۳۸۸). گیاهان دارویی و معطر: شناخت و بررسی اثرات آن‌ها. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد.

۲. همامی، س.، رضایی، م.، جایمند، ک. و افضل زاده، ر. (۱۳۹۲). بررسی و مقایسه ترکیب‌های شیمیایی اسانس گیاه بومادران با دو روش تقطیر با آب و دستگاه مایکروویو. *مجله گیاهان دارویی اکوفیتوشیمی*: ۱-۱۰.

3. Adams, R. P. (2007). Identification of Essential Oils components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Illinois, USA.

4. Afsharypuor, S., Asgari, S. & Lockwood, G. B. (1996[a]). Volatile constituents of *Achillea millefolium L. ssp. millefolium* from Iran. *Journal of Flavour and Fragrance*, **11:** 265–267.

5. Afsharypuor, S., Asgari, S. & Lockwood, G. B. (1996[b]). Constituents of essential oil of *A. wilhelmsii* from Iran. *Planta Medica*, **62:** 77–78.

6. Aligiannis, N., Kalpoutzakism, E., Chinou, I. B., Mitakou, S., Gikas, E, & Tsarbopoulos, A. (2000). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of five taxa of *Sideritis* from Greece. *Journal*

www.SID.ir

Archive of SID

is citrus the answer?. (2008). *Trends in Food Science and Technology*, **19:** 156-164.

17. Franz, Ch., Bauer, R., Carle, R., Tedesco, D., Tubaro, A. & Zitterl-Eglseer K. (2005). Assessment of Plants/Herbs, Plant/Herb Extracts And Their Naturally Or Synthetically Produced Components As "Additives" For Use In Animal Production. **4:** 9-10.
18. Holley, R. A. & Patel, D. (2005). Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*, **22:** 273–292.
19. Kazemi, M. (2015). Phytochemical and antioxidant properties of *Achillea millefolium* from the eastern region of Iran. *International Journal of Food Properties*, **18:** 2187-2192.
20. Kazemi, M. (2015). Chemical composition and antimicrobial, antioxidant activities and anti-inflammatory potential of *Achillea millefolium* L., *Anethum graveolens* L., and *Carum copticum* L. essential oils. *Journal of Herbal Medicine.* **5:** 217-222.
21. Knobloch, K., Pauli, A., Iberi, B., Wegand, H. & Weis, N. (1989). Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *Journal of Essential Oil Research*, **1:** 119–128.
22. Magiatis, P., Skaltsounis, A. L., Chinou, I. & Haroutounian, S. (2002). Chemical composition and in-vitro antimicrobial activity of the essential oils of three Greek *Achillea* species. *Antimicrobial Achillea* **57:** 287-290.
23. Marzouki, H., Piras, A., Porcedda, S., Falconieri, D. & Bagdonaite, E. (2014). Influence of Extraction Methods on the Composition of Essential Oils of *Achillea millefolium* L. from Lithuania. *Journal of Biodiversity Management and Forestry*, **3**.
24. Marxen, K., Heinrich Vanselow, K., Lippemeier, S., Hintze, R., Ruser, A. & Hansen, U-P. (2007). Determination of DPPH Radical Oxidation Caused by Methanolic Extracts of Some Microalgal Species by Linear Regression Analysis of Spectrophotometric Measurements. *Sensors*, **7:** 2080–2095.
25. Mazandarani, M., Mirdeilami, S. Z. & Pessarakli, M. (2013). Essential oil *of Agriculture and Food Chemistry*, **49:** 811-815.
7. Alsohaili, S. & Al-fawwaz, A. (2014). Composition and antimicrobial activity of *Achillea Fragrantissima* essential oil using food model media. *Journal of European Scientific*, **10:** 156-165.
8. Baris, O., Gulluce, M., Sahin, F., Ozer, H., Kilis, H., Ozkan, H., Sokmen, M. & Zbek, T. (2006). Biological Activities of the Essential Oil and Methanol Extract of *Achillea biebersteinii* Afan. (*Asteraceae*). *Turkey Journal of Biology*, **30:** 65-73.
9. Benedek, B., Rothwangl-Wiltschnigg, K., Rozema, E., Gjoncaj, N., Reznicek, G., Jurenitsch, J., Kopp, B. & Glasl, S. (2008). Yarrow (*Achillea millefolium* L. s.l.): Pharmaceutical quality of commercial samples. *Pharmazie*, **63:** 23–26.
10. Benedek, B. & Kopp, B. (2007). *Achillea millefolium* L. s.l. revisited: Recent findings confirm the traditional use. *WMW*, **157/13–14:** 312–314.
11. Bozin, B., Mimica-Dukic, N,, Bogavac, M., Suvajdzic, L., Simin, N., Samojlik, I. & Couladis, M. (2008). Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Properties of *Achillea collina* Becker ex Heimerls.l. and *A. pannonica* Scheele Essential oils. *Molecules*, **13:** 2058-2068.
12. Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *Journal of Food Microbiology*, **94:** 223–253.
13. Candan, F., Unlu, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sökmen, A. & Akpulat, H. A. (2003). Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium subsp. millefolium Afan.* (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, **87:** 215–220.
14. Dokhani, S., Durance, T. D., Cottrell, T. & Mazza, G. (2012). Drying Effects on Major Volatile and Phenolic Components of *Achillea filipendulina* Lam. *Journal of Essential Oil Bearing Plants,* **15:** 885-894.
15. Dokhani, S., Cottrell, T., Khajeddin, J. & Mazza, G. (2005). Analysis of Aroma and Phenolic Components of Selected *Achillea* Species. *Plant Foods for Human Nutrition*, **60:** 55–62.
16. Fisher, K. & Phillips, K. Potential antimicrobial uses of essential oils in food:

www.SID.ir

Archive of SID

composition and antibacterial activity of *Achillea millefolium* L. from different regions in North east of Iran. *Journal of Medical Pantsl Research*, **7:** 1063-1069.

26. Nickavar, B., Kamalinejad, M., Haj-Yahya, M. & Shafaghi, B. (2006). Comparison of the free radical scavenging activity of six Iranian *Achillea* species. *Pharm Biology*, **44:** 208–212.
27. Pattnaik, S., Subramanyam, V. R, Bapaji, M. & Kole, C. R. (1997). Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils. *Microbios*, **89:** 39–46.
28. Rahimmalek, M., Tabatabaeib, B. E. S., Etemadic, N., Goli, S. A. H., Arzani, A. & Zeinali, H. (2009). Essential oil variation among and within six *Achillea* species transferred from different ecological regions in Iran to the field condition. *Industrial crops and product*, **29:** 348–355.
29. Sharafzadeh, S. (2013). Major constituents of the volatile oils of genus *Achillea* from Iran. *Concise Review of Researches Science and Agriculture*, **2:** 1-2.
30. Tabanca, N., Kirimer, N., Demirci, B., Demirci, F. and Baser, K. H. C. (2001). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Micromeriacristata* subsp. phyrgiaand the Enantiomeric Distribution of Borneol. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **49:** 4300–4303.
31. Tzakou, O., Pitarokili, D., Chinou, I. B. & Harvala, C. (2001). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Salvia ringens*. *Planta Medica*, **67:** 81–83.
32. Ulubelen, A., Topcu, G., Eris, C., Sonmez, U., Kartal, M., Kurucu, S. & Bozok-Johansson, C. (1994). Terpenoids from Salvia sclarea. *Phytochemistry*, **36:** 971-974.
33. Yousefzadeh, N. & Zeinivand, J. (2013). Essential oil composition of *Achillea millefolium* growing in Darrehshahr township. *Iranian Chemistry Communication*, **1:** 14-19.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 15, Issue 1, 2019

Comparison of Essential Oil of *Achillea millefolium* with Chemical Antioxidants and Preservatives

Ahmadi-Dastgerdi, A.[1]*., Gholami-Ahangaran, M[2]., Faghani, M.[3], Ansari-Chaharsooghi S[4]., Saafizadeh Z[5].

1. Asistant Professor in Department of Food Science and Technology, Ardestan Branch,
1. Islamic Azad University, Ardestan, Iran
2. Associate Professor in Department of Poultry Diseases, Veterinary Medicine Faculty, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
3. Assistant Professor in Department of Animal Science, Agriculture Faculty, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
4. Graduated from Veterinary Medicine Faculty, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran
5. Student of Veterinary Medicine Faculty, Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

Received: 13 January2018 Accepted: 30 June2018

Abstract

Achillea millefolium is one of the oldest known medicinal plants, due to the presence of certain chemical compounds are used traditional and modern medicine. One of the most important medicinal properties of Yarrow, its antimicrobial effects on a wide range of pathogens in humans and animals. The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil from leaves of Achillea millefolium subsp. millefolium were examined. GC-MS analysis of the essential oil resulted in the identification of fifty-eight compounds constituting 98.71% of the total essential oil of leave. The essential oil of leaves were characterized by a high number of monoterpenes borneol (12.32%), 1, 8-cineole (10.51%), β-pinene (9.33%) and α-pinene (8.82%). Regarding anti-oxidation, the investigated essential oil from leaves strongly reduced the diphenylpicrylhydrazyl radical (IC_{50}=0.94 mg/ml). This essential oil showed antimicrobial activity as well against Staphylococcus aureus, Salmonella enteritidise, Escherichia coli, Penicillium glaucum and Saccharomyces cervesiae (MIC values 0.45-7.20 mg/ml). This study confirms that the essential oil from leaves of Achillea millefolium possessed antioxidant and antimicrobial properties in vitro.

Keywords: Achillea millefolium; antimicrobial activity; antioxidant activity; essential oil.

**Corresponding author: Ahmadi-Dastgerdi, A.*
Adress: Department of Food Science and Technology, Ardestan Branch, Islamic Azad University, Ardestan, Iran.
Tel: 09132127051.
Email: as.ahmadi17@gmail.com

www.SID.ir