«مقاله پژوهشی» DOI: 10.30495/JFH.2022.1951342.1345

بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره گیاه سرخارگل (*Echinacea purpurea*) و شناسایی ترکیبات آن با کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنج جرمی (GC-MS)

متینه قائدان[۱]، نفیسه زمین‌دار[۲*]، محمد گلی[۳]، نفیسه قاسمی سپرو[۱]

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

۲. دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

۳. دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی و مرکز تحقیقات لیزر و بیوفوتونیک در فناوری‌های زیستی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

*نویسنده مسئول مکاتبات: n.zamindar@khuisf.ac.ir

(دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۱۱/۱۲پذیرش نهایی:۱۴۰۱/۶/۱۴)

چکیده

گیاه سرخارگل (*Echinacea purpurea*) به‌عنوان ضدعفونی کننده، تقویت کننده سیستم ایمنی، ضدمیکروب و آنتی‌اکسیدان به‌کار می رود. هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره گیاه سرخارگل بود. در این پژوهش استخراج عصاره هیدروالکلی از اندام هوایی به روش غرقابی و با کمک حمام اولتراسونیک انجام شد. خاصیت آنتی‌اکسیدانی، فنول کل و DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) اندازه‌گیری و خاصیت ضدمیکروبی عصاره گیاه با استفاده از روش انتشار چاهک بررسی شد. شناسایی اجزای عصاره با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی GC-MS (Gas chromatography-mass) انجام شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و با آزمون‌های آماری دانکن تجزیه و تحلیل شدند. عصاره گیاه از ترکیبات فنولی خوبی برخوردار بود و DPPH عصاره در غلظت‌های (۰/۲۲، ۰/۲۵، ۰/۲۷، ۰/۳۱، ۰/۳۵، ۰/۴۱، ۰/۵) آزمایش شد وغلظت IC۵۰ (Half maximal inhibitory concentration) نشان‌دهنده درصد بازدارندگی مناسب این عصاره بود. قطر هاله عدم رشد (میانگین و انحراف معیار) *استافیلوکوکوس اورئوس* ۱/۲۴ ± ۴/۶۷، *اشریشیا کولای* ۰/۸۴ ± ۳/۱۱ و *آسپرژیلوس نایجر* ۰/۸۹ ± ۱/۷۸ میلی‌متر برآورد شد. کروماتوگرافی گازی در مجموع ۸۱/۳۸ درصد اجزای عصاره را شناسایی کرد که بیشترین ترکیبات جرماکرن دی (۲۱/۶۷ درصد)، پاراسیمن (۵/۵۳ درصد) و آلفا هومولن (۴/۸۹ درصد) بودند. نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره گیاه سرخارگل از اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی برخوردار می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: سرخارگل، ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی، کروماتوگرافی گازی

مقدمه

گیاهانی به‌عنوان «گیاه دارویی» شناخته می‌شوند که در پیکر این گیاهان مواد خاصی به‌نام «مواد مؤثره» یا «ترکیبات زیست فعال» ساخته و ذخیره می‌شود. این مواد تأثیرات فیزیولوژیکی متعددی بر پیکر موجودات زنده بر جای می‌گذارند. ترکیبات زیست فعال در طی یک سلسله فرآیندهای ویژه و پیچیده بیوشیمیایی به مقدار بسیار کم ساخته می‌شوند و به متابولیت‌های ثانویه نیز معروف هستند. گیاهان دارویی به‌عنوان منبع بالقوه ترکیبات ارزشمندی مانند آلکالوئیدها، استروئیدها، تانن‌ها، گلیکوزیدها، روغن‌های فرار، رزین‌ها، فنول‌ها و فلاونوئیدها هستند که خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی، ضدقارچی و ضدویروسی مؤثر دارند (Ghanadi *et al*., 2012).

سرخارگل (*Echinaceae*) یکی از گیاهان تیره میناسانان (*Asteraceae*) است و نام اکیناسه‌آ (*Echinaceae*) از واژه یونانی اکینوس به معنی خار گرفته شده است. این گیاه علفی و چند ساله است (Gajalakshmi and Vijayalakshmi, 2012). گونه اکیناسه بومی آمریکای شمالی بوده و توسط مردم بومی برای طیف وسیعی از بیماری‌ها استفاده می‌شود. در طول قرن گذشته سرخارگل به‌عنوان یک گیاه دارویی، موضوع تحقیقات قابل توجهی بوده است، به‌ویژه با توجه به نقش آن در درمان و پیشگیری از بیماری‌های تنفسی یکی از محبوب‌ترین محصولات طبیعی خریداری شده در سراسر جهان می‌باشد. بسیاری از پزشکان مکمل‌های گیاه سرخارگل را برای تقویت سیستم ایمنی توصیه می‌کنند (Kembuan and Lie and Tumimomor., 2020).

ترکیبات شیمیایی واریته‌های سرخارگل شامل بخش‌های لیپوفیلیک، آلکامیدها (Alkamides) و پلی استیلین‌ها (Polyacetylene)، پلی‌ساکاریدهای محلول در آب، مشتقات اسید کافئیک، اکیناکوزید (Echinacoside)، اسید شیکوریک (Cichoric acid)، اسید کافئیک (Caffeic acid) و فلاونوئیدها، کوئرستین (Quercetin)، کامفرول (Kaempferol) و سینارین (Cynarin) می‌باشد (Kao and chindekez., 2016) این ترکیبات دارای خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی هستند و تقویت سیستم ایمنی بدن به غلظت ترکیب اسید کافئیک (Caffeic acid) و مشتقات آن بستگی دارد که میزان ترکیبات بسته به گونه *اکیناسه پورپوره آ*، نوع اندام، مرحله رشد و شرایط محیطی متفاوت خواهد بود به‌طورکلی غلظت مشتقات اسید کافئیک (Caffeic acid) در ریشه نسبت به برگ و ساقه گیاه بیشتر است (Billah *et al*., 2019) و بیشترین میزان شیکوریک اسید در برگ‌ها گزارش شده است (Landy *et al* .,2011).

هدف از انجام تحقیق حاضر بررسی خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی و ترکیبات شیمیایی عصاره گیاه دارویی سرخارگل استخراجی با امواج فراصوت است.

مواد و روش‌ها

مطالعه تجربی حاضر اردیبهشت ۱۴۰۰ در دانشگاه آزاد اسلامی اصفهان (خوراسگان) انجام شد. گیاه سرخارگل (*Echinacea purpurea*) از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی اصفهان فراهم گردید. گیاه جمع‌آوری شده پس از پاک‌سازی و جداسازی اندام هوایی (گل،

برگ، ساقه) ، در سایه و در دمای اتاق به مدت ۷-۵ روز خشک و سپس با آسیاب آزمایشگاهی کاملاً پودر شد.

در پژوهش حاضر، از روش خیساندن غرقابی (Maceration) به‌منظور تهیه عصاره هیدروالکلی استفاده شد. برای عصاره‌گیری، مقدار ۵۰ گرم از گیاه (اندام هوایی گیاه) پودر شده در ۲۵۰ میلی‌لیتر (نسبت۱ به۵) مخلوط حلال اتانول(Merck, Germany)- آب با نسبت ۷۰ درصد به ۳۰ درصد خیسانده شد و به مدت ٤٨ ساعت در دمای اتاق بر روی هم‌زن مغناطیسی (Behdad, Iran)قرار گرفت. پس از اتمام زمان عصاره‌گیری، مخلوط حاصل به مدت ۲۰ دقیقه، در دمای ۳۰ درجه سلسیوس در حمام فراصوت (Pars Nahand, Iran)با فرکانس ۲۸ کیلوهرتز قرار داده شد (در آزمون‌های اولیه روش اولتراسوند به تنهایی تأثیر کمتری نسبت به ترکیب روش‌های اولتراسوند و غرقابی داشت به این دلیل از روش ترکیبی استفاده شد). سپس محلول با کاغذ صافی واتمن (Whatman, England) (شماره ۱) فیلتر گردید. عمل جداسازی حلال از عصاره توسط دستگاه روتاری (Buchi CO, Germany) (در دمای۳۵ درجه سلسیوس و ٦٠ دقیقه) با کمک پمپ خلاء (Buchi CO, Germany) صورت گرفت. بعد از حذف کامل حلال در روتاری، عصاره‌ها با فیلترسرسرنگی استریل (Merck, Germany) ۰/٤٥ میکرون، استریل شده و به علت حساسیت بالا به نور، اکسیژن و حرارت تا زمان انجام آزمون‌ها درون ظروف استریل و کدر درب بسته تا پایان ازمون‌ها به مدت ۲ روز در دمای ٤ درجه سلسیوس نگهداری شدند (Yahya *et al.*, 2019).

- اندازه‌گیری فنول کل

محتوی فنول کل موجود در عصاره هیدرو الکلی بر اساس روش فولین- سیوکالتو اندازه‌گیری گردید. برای این منظور، ۰/۵ میلی‌لیتر از هر یک از عصاره با غلظت‌های مختلف، با ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین- سیوکالتو (Merck, Germany) (رقیق شده با آب مقطر به نسبت ۱:۱۰) مخلوط شد. پس از گذشت ۵ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر سدیم کربنات (Merck, Germany) (۷/۵ درصد وزنی- حجمی) به مخلوط اضافه گردید و پس از ۱۵ دقیقه نگهداری در تاریکی، جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر(Unico, Malaysia) در طول موج ۷٦٥ نانومتر قرائت و نتایج بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید موجود در هر گرم وزن خشک گزارش شد (Gadjalova and Mihaylova. 2019). آزمون در سه تکرار انجام شد.

- ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی یا مهارکنندگی رادیکال DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره، مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره با غلظت‌های مختلف (۰/۲۲، ۰/۲۵ ، ۰/۲۷ ، ۰/۳۱ ، ۰/۳۵ ، ۰/٤١ ، ۰/۵) ، با ۳/۹ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH (Merck, Germany) (۰/۱ میلی‌مولار) مخلوط گردید. پس از نگهداری نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی، جذب نوری آن‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتربا استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت شد. درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH طبق رابطه (۱-۱) محاسبه گردید. آزمون در سه تکرار انجام شد.

رابطه (۱-۱) $\text{درصد بازدارندگی رادیکال DPPH} = \frac{A_{control}-A_{sample}}{A_{control}} \times ۱۰۰$

در فرمول فوق، $A_{control}$ جذب نمونه شاهد و A_{sample} جذب هر یک از عصاره‌ها است. غلظتی از عصاره که ۵۰ درصد رادیکال DPPH را مهار می‌کند، به‌عنوان IC۵۰ (Half maximal inhibitory concentration) گزارش شد (Gadj) and Mihaylova. 2019).

- بررسی اثر ضد میکروبی عصاره‌ها

- تهیه سوش‌های باکتریایی و قارچی

میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه در این تحقیق شامل *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC۲۵۹۲۳)، *اشریشیا کولای* (ATCC۲۳۵۹۱) و *آسپرژیلوس نایجر* (ATCC۹۰۲۹) ، از مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید.

- آماده‌سازی سوسپانسیون میکروبی

باکتری‌های مورد نظر پس از انجماد زدایی، در محیط نوترینت براث (Merck, Germany) به مدت ٤٨ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری شد و همچنین به‌منظور بررسی کلنی‌های خالص، بر روی محیط جامد تریپتیک سوی آگار (TSA) (Merck, Germany) کشت خطی داده شده و به مدت ٢٤ ساعت در گرم خانه ۳۷ درجه سلسیوس گرم خانه گذاری شدند. *آسپرژیلوس نایجر* نیز پس از انجمادزدایی، ابتدا در محیط پوتیتو دکستروز براث (PDB) (Merck, Germany) به مدت ۳ تا ۵ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری شد و همچنین به‌منظور بررسی کلنی‌های خالص، *بر روی محیط جامد* پوتیتو دکستروز آگار (PDA) (Merck, Germany) کشت خطی داده شد و به مدت ۳ تا۵ روزدر گرم خانه ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفت. سپس از کلنی‌های خالص هر باکتری و قارچ در آب مقطر استریل، سوسپانسیونی با کدورت معادل استاندارد نیم مک‌فارلند تهیه و برای اطمینان از غلظت باکتری‌ها و قارچ‌ها جذب آن‌ها توسط دستگاه اسپکتوفتومتر UV-Vis در طول موج ٦٢٠-٦٠٠ نانومتر ثبت گردید (تراکم باکتری‌ها و قارچ‌ها با غلظت $۱/۵\times ۱۰^{۸}$ cfu/ml، می‌بایست جذبی معادل ۰/۱-۰/۰۸ داشته باشد) (Debalk *et al*., 2018).

- روش انتشار از چاهک در آگار (Well Diffusion Method)

بررسی اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی عصاره گیاهان با روش انتشار از چاهک در آگار انجام شد. بدین‌منظور، از سوسپانسیون هر میکروب نیم مک فارلند تهیه شد و بر روی پلیت شیشه‌ای ۱۰ cm استریل حاوی مولر هینتون آگار (Merck, Germany) برای باکتری‌ها و پوتیتو دکستروز آگار برای قارچ تاسطح پلیت (تقریبا دو سوم ارتفاع) ریخته و با سوآپ استریل (به روش کشت چمنی یا توپر) در سه جهت به‌صورت انبوه کشت داده شد. سپس در سطح هر یک از پلیت‌های کشت داده شده چاهک‌هایی ایجاد گردید و درون هر چاهک مقدار ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرولیتر از عصاره که با فیلترسرسرنگی استریل۰/٤٥ میکرون (Merck, Germany)، فیلتر و استریل شده، ریخته شد. از آنتی بیوتیک‌های ضدباکتریایی سفیکسیم (Padtanteb, Iran) و ضد قارچی نیستاتین (Padtanteb, Iran) (Akhzari *et al*.,2021) با مقدار ۵۰ میکرولیتر به‌عنوان کنترل مثبت و از محلول دی متیل سولفوکسید (DMSO) (Merck,

Germany) با مقدار ۵۰ میکرولیتر به‌عنوان کنترل منفی استفاده گردید. در مرحله بعد، محیط‌های کشت باکتریایی در گرمخانه ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲٤ ساعت و کشت‌های قارچی در گرمخانه ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۳ تا ۵ روز قرار داده شدند. در نهایت پس از گذشت این زمان، کشت‌های میکروبی از نظر تشکیل یا عدم تشکیل هاله عدم رشد مورد بررسی قرار گرفت و قطر هاله‌های تشکیل شده بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری و گزارش گردید (Debalk *et al.*, 2018). آزمون در سه تکرار انجام شد.

- تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (Minimum Inhibitory Concentration)

MIC در این پژوهش با استفاده از روش رقت لوله‌ای (ماکرودایلوشن) تعیین شد. بدین منظور، برای عصاره از یک سری ۹ تایی از لوله‌های آزمایش استفاده گردید. ٦ لوله برای آزمایش رقت‌های مختلف هر عصاره و یک لوله به‌عنوان کنترل مثبت و یک لوله به‌عنوان کنترل منفی مورد استفاده قرار گرفت. از عصاره‌های آماده شده، سری‌های رقت mg/ml مختلف در محیط کشت مولر هینتون براث تهیه شد، به گونه‌ای که از عصاره مربوطه استوکی با غلظت ۱۰۰۰mg/ml برای ازمایش فراهم شد سپس ۱ میلی لیتر از غلظت استوک به اولین لوله که حاوی ۱ میلی لیتر محیط کشت مربوطه هست اضافه شد و پس از مخلوط کردن با شیکر لوله (Behdad, Iran)، ۱ میلی‌لیتر از محتویات آن را برداشته شد و به لوله دوم انتقال داده شد و این کار را تا لوله چهارم انجام شد تا به ترتیب غلظت‌های mg/ml ۱۲۵-۲۵۰-۵۰۰ - ٦۲/۵تهیه شد. سپس به هر یک از رقت‌ها ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده (سوسپانسیونی با کدورت معادل استاندارد نیم مک‌فارلند)، اضافه شد. به‌عنوان کنترل مثبت لوله‌ای با محتویات (محیط کشت حاوی باکتری یا قارچ، بدون عصاره) و به‌عنوان کنترل منفی لوله‌ای با محتویات (محیط کشت بدون باکتری یا قارچ) نیز آماده گردید. پس از ۲٤ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس برای باکتری‌ها و ۷۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس برای قارچ، لوله‌ها از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری و قارچ تلقیح شده، مورد بررسی قرار گرفتند. کمترین غلظتی که در آن هیچ گونه رشد باکتری یا قارچ مشاهده نشد (فاقد کدورت) به‌عنوان حداقل غلظت مهارگنندگی گزارش گردید. البته به علت رنگی بودن عصاره ممکن است خواندن MIC با خطا همراه باشد لذا برای رفع این مشکل و دقت بالاتر از تمام لوله های تلقیح شده بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت انجام شد، برای این منظور ۱۰ میکرولیتر از لوله‌ها به پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار انتقال داده شد، پلیت‌ها به انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس انتقال یافته و تا بعد ۲٤ ساعت نتایج به‌صورت رشد یا عدم رشد کلنی‌های میکروبی در رقت‌های مختلف بر روی پلیت بررسی گردید (Ahmad *et al.*, 2020). آزمون در سه تکرار انجام شد.

- تعیین حداقل غلظت کشندگی (Minimum Bactericidal Concentration)

به‌منظور تعیین MBC، در کنار شعله از محتوی لوله‌ها که در آن‌ها عدم رشد میکروارگانیسم مشاهده شد، با لوپ استریل برداشته و روی محیط کشت مولر هینتون آگار برای باکتری‌ها و بر روی محیط کشت پوتیتو دکستروز آگار برای قارچ کشت داده شد. محیط‌های

کشت تهیه شده به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس برای باکتری‌ها و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس برای قارچ گرمخانه گذاری شدند. در نهایت با مشاهده عدم رشد باکتری یا قارچ، MBC گزارش شد (Ahmad *et al*., 2020). آزمون در سه تکرار انجام شد.

- جداسازی و شناسایی ترکیبات

- کروماتوگرافی گازی- طیف سنج جرمی (Gas chromatography-mass)

به‌منظور شناسایی ترکیبات موجود در عصاره هیدروالکلی گیاه مورد بررسی در این تحقیق، از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC-MS) استفاده شد. نوع ستون HP-5MS به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر بود. برنامه دمایی ستون از ۵۰ تا ۲۵۰ درجه سلسیوس با سرعت افزایش دمای ۳ درجه سلسیوس در دقیقه تنظیم گردید. از گاز هلیوم به‌عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۱۵ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. طیف نگار جرمی مورد استفاده مدل ۵۹۷۳ Agilent با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سلسیوس بود. شناسایی اجزای عصاره از طریق مقایسه طیف سنج جرمی آن‌ها با بانک طیفی و مقایسه شاخص‌های کواتس آن‌ها با شاخص‌های کواتس استاندارد ترکیبات انجام گرفت. شاخص بازداری کواتس KI (Kovats index) با استفاده از زمان‌های بازداری آلکان‌های نرمال که با همان دستگاه و تحت همان شرایط تزریق شده بودند، محاسبه گردید. مقایسه نسبی اجزاء از روی سطح کل پیک‌ها توسط نرم افزار دستگاه صورت گرفت (Keskes *et al*., 2017).

- طرح مطالعه و تجزیه و تحلیل آماری

در این تحقیق بررسی خواص آنتی اکسیدانی (فنولیک کل، IC۵۰) و فعالیت ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی گیاه سرخارگل با نرم افزار SPSS آزمون آنالیز واریانس یکطرفه در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار صورت گرفت. مقایسات میانگین با آزمون دانکن و رسم نمودار با استفاده از Excel انجام شد.

یافته‌ها

اثر عصاره بر میکروارگانیسم‌های مختلف نشان داد که عصاره سرخارگل بر باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و قارچ مؤثر بوده است اما میزان اثر بخشی آن بسته به نوع میکروارگانیسم متفاوت است (جدول ۱). بر اساس روش چاهک پلیت *استافیلوکوکوس اورئوس* در مقایسه با *اشریشیا کولای* حساس تر به عصاره و *اشریشیا کولای* نسبت به *آسپرژیلوس نایجر* حساس‌تر به عصاره می‌باشد متوسط قطر هاله‌ها نسبت این حساسیت را نشان می‌دهد (جدول۲).

جدول۱)- بررسی متوسط قطر هاله عدم رشد ۱۵۰ میکرولیترعصاره سرخارگل بر میکروارگانیسم

متوسط قطر هاله عدم رشد (mm)	عصاره گیاه سرخارگل- میکروارگانیسم
٤/٦٧١±٢٤^{ef}	عصاره -*استافیلوکوکوس اوئوس*
٣/١١±٠/٨٤^{ef}	عصاره -*اشریشیا کولای*
١/٧٨±٠/٨٩^{e}	عصاره -*آسپرژیلوس نایجر*
٣٤±٠/٥٨^{a}	آنتی‌بیوتیک (سفیکسیم) -*استافیلوکوکوس اوئوس*
٣٠±٠/٥٨ ^{b}	آنتی‌بیوتیک (سفیکسیم) -*اشریشیا کولای*
٢٥±٠/٥٨^{cd}	آنتی‌کپک (نیستاتین)-*آسپرژیلوس نایجر*

a، b، c، d، e و f: تفاوت بین میانگین‌های دارای حروف متفاوت در هر ستون معنی‌دار بود (p≤۰/۰۵).

بررسی عصاره گیاه در میکرولیترهای مختلف و اثر کلی آن روی میکروارگانیسم‌های گفته شده بیانگر آن است که عصاره گیاه در مقدار۵۰ و ۱۰۰ میکرولیتر هیچ اثری رو میکروارگانیسم‌ها نداشته ولی در مقدار ۱۵۰ میکرولیتر بیشترین هاله عدم رشد را دارد که در مقایسه با اثر آنتی‌بیوتیک اثر قابل توجهی نیست. اثر ضدمیکروبی عصاره هیدروالکلی گیاه سرخارگل بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکولای* و قارچ *آسپرژیلوس نایجر* معنی‌دار نیست اما تفاوت معنی‌داری با سفیکسیم و نیستاتین دارد (P<۰/۰۵).

جدول (۲) بیانگر این است که حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره هیدروالکلی گیاه سرخارگل بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکولای* و قارچ *آسپرژیلوس نایجر* تفاوت معنی داری دارد (P<۰/۰۵).

جدول۲) حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره بر میکروارگانیسم‌ها

میکروارگانیسم	حداقل غلظت بازدارندگی(mg/ml)	حداقل غلظت کشندگی(mg/ml)
استافیلوکوکوس اوئوس	١٠٠±٠/١٧٣٢^{c}	١٢٠±٠/١١٥٥^{c}
اشریشیا کولای	١٢٠±٠/١٧٣٢^{b}	١٤٠±٠/١٧٣٢^{b}
آسپرژیلوس نایجر	١٤٠±٠/٠٥٥٧^{a}	١٦٠±٠/٢٣٠٩^{a}

a، b و c: تفاوت بین میانگین‌های دارای حروف متفاوت در هر ستون معنی‌دار بود (p≤۰/۰۵).

- شناسایی ترکیبات شیمیایی

عصاره حاصل از اندام هوایی گیاه سرخارگل به رنگ سبز روشن و دارای بوی نافذ بود. در جدول (۳) نوع و مقدار ترکیبات تشکیل دهنده عصاره هیدروالکلی گیاه سرخارگل قابل مشاهده است. همان‌طور که در جدول (۳) مشخص است، ۳۲ نوع ترکیب در عصاره گیاه سرخارگل شناسایی شد که ۸۱/۳۸ درصد کل را شامل می‌شود که بیشترین ترکیبات تشکیل دهنده عصاره گیاه سرخارگل را از لحاظ کمی به‌ترتیب، جرماکرن D (Germacrene- D) (٪۲۱/٦٧)، P- سیمن (P- Cymene)

(۵/۵۳ درصـــد)، α- هومولن (α- Humulene) (٤/٨٩ درصـد)، بورنئول (Borneol) (٤/٥٨ درصد)، کاریوفیلن اکسـید (Caryophyllene oxide) (٤/٣٦ درصـد)، β- کـاریوفیلن (β-Caryophyllene) (٤/٢١ درصـــد)، β- بیســابولن (Bisabolene) (٣/٧٤ درصـــد)، فارنســول (Farnesol) (٣/٤٢ درصـــد) و تیمول (Thymol) (٢/٨٦ درصـــد) به خود اختصـــاص داده‌اند. شـــاخص بازداری ترکیبات شـناسـایی شـده در عصـاره گیاه سـرخارگل با مقالات مرتبط مقایسـه شد و صحت شناسایی آن‌ها تأیید گردید.

جدول ۳)- ترکیبات شیمیایی عصاره سرخارگل

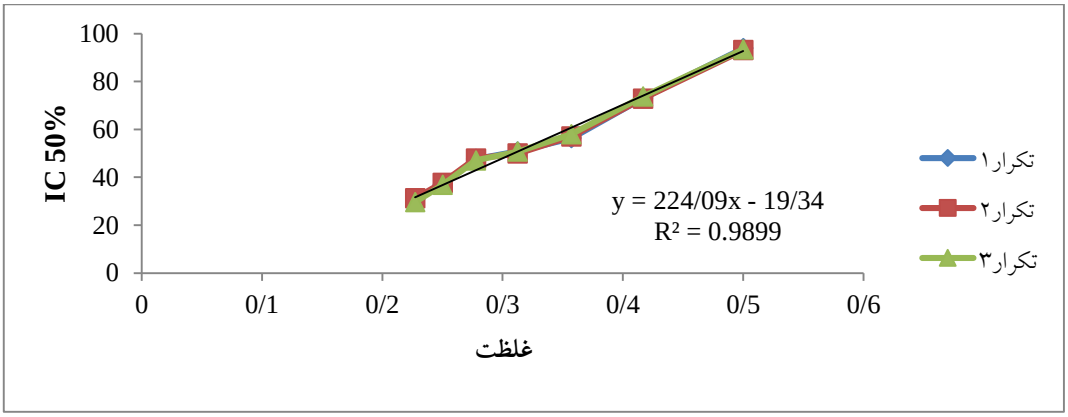
ردیف	ترکیب	فرمول شیمیایی	شاخص بازداری	میزان ترکیب (درصد)
١	آلفا پینن(α-Pinene)	$C_{١٠}H_{١٦}$	٩١٩	٢/٢٣
٢	سابینن (Sabinene)	$C_{١٠}H_{١٦}$	٩٢٨	١/٢٥
٣	بتا پینن(β-Pinene)	$C_{١٠}H_{١٦}$	٩٥٩	١/٣٢
٤	لیمونن(Limonene)	$C_{١٠}H_{١٦}$	٩٨٣	٢/١١
٥	آلفا فلاندرن(α –Phellandrene)	$C_{١٠}H_{١٦}$	٩٩٢	٠/١٦
٦	المن (Elemene)	$C_{١٥}H_{٢٤}$	١٠٠٥	٠/٢٢
٧	پی سیمن(ρ-Cymene)	$C_{١٠}H_{١٤}$	١٠١٨	٥/٥٣
٨	بتا کاریوفیلن(β-Caryophyllene)	$C_{١٥}H_{٢٤}$	١٠٣٣	٤/٢١
٩	آلفا تریپینن(α –Terpinene)	$C_{١٠}H_{١٦}$	١٠٣٩	٠/٩٢
١٠	پینوکارون(Pinocarvone)	$C_{١٠}H_{١٤}O$	١١٢١	١/٤٢
١١	آلفا هومولن(α –Humulene)	$C_{١٥}H_{٢٤}$	١١٧٨	٤/٨٩
١٢	برنئول(Borneol)	$C_{١٠}H_{١٨}O$	١٢٠٦	٤/٥٨
١٣	جرمان کرن دی(Germacrene D)	$C_{١٥}H_{٢٤}$	١٢٧٤	٢١/٦٧
١٤	میرتنول(Myrtenal)	$C_{١٠}H_{١٤}O$	١٣٠٩	٢/٠٩
١٥	کارواکرول(Carvacrol)	$C_{١٠}H_{١٤}O$	١٣١٥	٠/٦٩
١٦	متیل استات(methyl acetate)	$C_{٣}H_{٦}O_{٢}$	١٤١٢	٠/٣٢
١٧	بتا بیسابولن(β-Bisabolene)	$C_{١٥}H_{٢٤}$	١٤٣٦	٣/٧٤
١٨	کوپائن(Copaene)	$C_{١٥}H_{٢٤}$	١٤٩٧	١/٠٥
١٩	کاریوفیلن اکسید(Caryophylene oxide)	$C_{١٥}H_{٢٤}O$	١٥١٥	٤/٣٦
٢٠	گلوبولول(Globulol)	$C_{١٥}H_{٢٤}O$	١٥٣٦	٢/١٧
٢١	آلفا کادینول(α-Cadinol)	$C_{١٥}H_{٢٦}O$	١٥٦٩	٠/٢٤
٢٢	اسپاتولنول(Spathulenol)	$C_{١٥}H_{٢٤}O$	١٥٧٤	٠/٢١
٢٣	فارنسول (Farnesol)	$C_{١٥}H_{٢٦}O$	١٥٩٦	٣/٤٢
٢٤	والنسن (Valencene)	$C_{١٥}H_{٢٤}$	١٦٠٥	١/١٢
٢٥	بیس (٢-اتیل هگزیل) فتالات (DEHP)	$C_{٢٤}H_{٣٨}O_{٤}$	٢٥٢٥	٠/٨٦
٢٦	میریستیسین(Myristicin)	$C_{١١}H_{١٢}O_{٢}$	١٥٠٧	٢/٣٤
٢٧	تیمول(Thymol)	$C_{١٠}H_{١٤}O$	١٢٧٩	٢/٦٨

ادامه جدول ۳)- ترکیبات شیمیایی عصاره سرخارگل

ردیف	ترکیب	فرمول شیمیایی	شاخص بازداری	میزان ترکیب (درصد)
۲۸	فیتول (Phytol)	$C_{۲۰}H_{٤۰}O$	۲۱۰۲	۰/۱٤
۲۹	آلفا کادینن (α-Cadinene)	$C_{۱۵}H_{۲٤}$	۱۵۳۷	۲/۰۵
۳۰	بتا المن (β-Elemene)	$C_{۱۵}H_{۲٤}$	۱۳۹۲	۱/۰٤
۳۱	میرتنول (Myrtenal)	$C_{۱۰}H_{۱٤}O$	۱۱۹۷	۱/۳۳
۳۲	ترینول (Terpinene-4-ol)	$C_{۱۰}H_{۱۸}O$	۱۱۷۵	۱/۰۲
	مجموع			**۸۱/۳۸ درصد**

- فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی

مقدار فنول کل عصاره گیاه سرخارگل برابر با ۳/٤٦۷ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک به‌دست آمده است. مقدارفعالیت آنتی‌اکسیدانی IC۵۰ عصاره گیاه سرخارگل در غلظت‌های (۰/۲۲، ۰/۲۵، ۰/۲۷، ۰/۳۱، ۰/۳۵، ۰/٤۱، ۰/۵) آزمایش شد و نمودار شماره (۱) با غلظت و درصد DPPH رسم شد که از طریق فرمول نمودار، غلظتی از عصاره که ۵۰ درصد رادیکال DPPH را مهار می‌کند، ۰/۳۰ g/ml به‌دست آمد. نتایج نشان می‌دهد با افزایش غلظت عصاره درصد بازدارندگی رادیکال DPPH بیشتر می‌شود وغلظت IC۵۰ نشان دهنده درصد بازدارندگی مناسب این عصاره است. هرچه عدد IC۵۰ کوچکتر یعنی در غلظت کمتر ۵۰ درصد اثر بازدارندگی رادیکال DPPH مشاهده می‌شود.



نمودار ۱)- بررسی DPPH عصاره در غلظت‌های مختلف

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان دهنده این است که عصاره شامل ترکیبات فنولی و دارای اثر آنتی‌اکسیدانی و درصد بازدارندگی (DPPH) بسیار مطلوبی بوده به گونه‌ای که جزء گیاهان با خواص آنتی‌اکسیدانی بالا معرفی می‌شود و دارای قدرت بازدارندگی مناسبی است که برای سلامت بدن و جلوگیری از بسیاری از بیماری‌ها و سرطان مؤثر است. برخی پژوهشگران فعالیت آنتی‌اکسیدانی

و ضدمیکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه سرخارگل را مورد مطالعه قرار دادند (Izadi and Mirazi, 2020). نتایج آنها نشان داد عصاره اتانولی بیشترین میزان ترکیبات فنولی و شیکوریک اسید را دارا است. همچنین عصاره اتانولی با غلظت ۳۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بیشترین درصد مهار رادیکال‌های آزاد را داشت. همان‌طور که نتایج حاصل از اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی عصاره هیدروالکلی سرخارگل در مطالعه حاضر نشان داد، جرماکرن دی با ۲۱/٦۷ درصد، ترکیب عمده این عصاره بود. در این پژوهش یافته‌ها نشانگر آن است که ترکیب‌های عمده شناسایی شده: جرماکرن دی ، پاراسیمن، برنئول، آلفا هومولن، بتاکاریوفیلن، بتا بیسابولن و تیمول بوده و بخش عمده عصاره گیاه حاوی ترکیب جرماکرن دی بوده است. برخی منابع میزان و اجزای اسانس سرخارگل را گزارش نموده‌اند. با توجه به نظربرخی از پژوهشگران که برای بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه سرخارگل، از دو روش اولتراسوند و کلاسیک (غوطه‌وری در اتانول ۷۰ درصد) استفاده کردند مشخص شد محتوی فنول و فلاونوئید کل در عصاره به‌دست آمده با روش اولتراسوند به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. IC۵۰ عصاره حاصل از روش کلاسیک و اولتراسوند نیز به‌ترتیب، ۳٤/۱٦ و ٦۵/٤۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شد. طبق گزارش برخی از پژوهشگران عصاره اتانولی گیاه سرخارگل دارای ۱۱ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم فنول کل می‌باشد (Lee *et al* 2009). این محققان درصد بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH عصاره با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر را برابر با ۸۵/۱ درصد و IC۵۰ آن را ۰/۲۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری کردند. در حالی که عده ای دیگر از پژوهشگران بیان نمودند که عصاره اتانولی گیاه سرخارگل دارای ۱۰/۵۷ گرم گالیک اسید بر ۱۰۰ گرم فنول کل و ۰/۱۳ گرم کوئرسیتین بر ۱۰۰ گرم فلاونوئید کل است (Jukić *et al*., 2015). نتایج تحقیقات آن‌ها نشان داد که با افزایش غلظت عصاره از ۵ تا ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر درصد بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH افزایش می‌یابد. این محققان IC۵۰ عصاره را برابر با ۱۵/٦۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند. با بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی گیاه سرخارگل، محتوی فنول کل، فلاونوئید کل، کافئیک اسید و IC۵۰ را به‌ترتیب، ۱۳۷/۵ میلی‌اکی والان گالیک اسید بر میلی‌لیتر، ۰/٦۲ میلی‌اکی والان کوئرسیتین بر میلی‌لیتر و ٤/۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شد (Arland *et al*., 2017). در مقایسه حلال‌های مختلف (پترولیوم اتر، اتیل استات، متانول، بوتانول و متیل کلراید)، عصاره استخراج شده با اتیل استات بیشترین محتوی فنول کل را داشت و عصاره متانولی بالاترین محتوی فلاونوئید را به خود اختصاص داد. عصاره این گیاه فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجهی داشت و عصاره استخراج شده با بوتانول کمترین IC۵۰ (۷۰/۲۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر) را نشان داد (Hussun *et al*., 2020). در پژوهشی دیگر میرسنن (۲٦/۱ درصد)، بتا پینن (۱۳ درصد) و جرماکرن دی (۷ درصد) را به‌عنوان ترکیبات اصلی این عصاره گزارش شد (Thappa *et al*., 2004). ترکیبات این پژوهش با مقالات متفاوت است و این نشان دهنده این است که عوامل مختلفی از جمله آب و هوا، شرایط کشت، زمان جمع‌آوری و اندام مورد استفاده متفاوت است و ممکن است بر خاصیت آنتی‌میکروبی آن اثرگذار باشد. به نظر می‌رسد،

نوسان‌های شدید نوع و میزان ترکیب‌های موجود در عصاره این گیاه ناشی از تفاوت‌های بوم شناختی (اکولوژیک: طول و عرض جغرافیایی، ارتفاع، دما، رطوبت، اقلیم، خاک) بوده و شرایط متفاوت اقلیمی و ادافیکی (adophic) مسیرهای متابولیکی و بیوسنتز مواد مؤثره را در این گیاه تحت تاثیر قرار داده و در نتیجه متابولیت‌های ثانویه متنوعی تحت شرایط محیطی متفاوت بیوسنتز می‌شود.

نتایج پژوهش حاضر نشان دهنده این است که عصاره دارای اثر ضدمیکروبی هم بود که این تأثیر بیشتر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* (گرم مثبت) و به میزان کمتر روی *اشریشیا کولای* و *آسپرژیلوس نایجر* مشاهده شد. بر اساس بررسی‌های انجام شده، باکتری های گرم مثبت نسبت به عصاره حساس‌تر از باکتری های گرم منفی هستند به دلیل وجود غشاهای خارجی احاطه کننده دیواره سلولی در باکتری‌های گرم منفی منطقی تر به نظر می‌رسد که این باکتری ها در برابر اثر ضدباکتریایی عصاره‌ها حساسیت کمتری از خود نشان می‌دهد. این غشای خارجی انتشار مواد هیدروفوب از میان این لایه پوشاننده لیپوپلی ساکاریدی را محدود می‌کند. در باکتری‌های گرم مثبت تماس مستقیم ترکیب‌های هیدروفوب عصاره‌ها با این فسفولیپید دو لایه‌ای صورت می‌گیرد. این محل جایی است که این ترکیب‌ها اثر خود را بر جای می‌گذارند. این اثر یا به صورت افزایش نفوذپذیری یون‌ها و یا نشت ترکیب‌های حیاتی سلول رخ می‌دهد و یا این که به صورت ناتوانی سیستم آنزیمی باکتریایی بروز می‌کند (Sandri *et al.*, 2007).

بر اساس بررسی منابع، ویژگی‌های ضد میکروبی اسانس‌های روغنی و عصاره گیاهان دارویی خانواده میناسانان بر میکروارگانیسم‌های متفاوت در مناطق مختلف گزارش شده است (Polatoglu *et al.*, 2010).

به نظر می‌رسد که اثر قارچ‌کشی عصاره این گیاه مربوط به محتوی جرماکرن دی آن است. در عین حال نباید اثر هم‌افزایی و برهم کنش‌های منفی سایر ترکیبات عصاره در بروز ویژگی‌های ضدمیکروبی را از نظر دور داشت، زیرا عصاره مخلوطی از اجزای شیمیایی مختلف است و پژوهش‌ها نشان داده‌اند که خواص ضد میکروبی اسانس در گیاهانی مانند مریم گلی (*Salvia officinalis L.*)، آویشن (*Thymus vulgaris L.*) و مرزنجوش (*Origanum vulgare L.*) به دلیل اثرات هم‌افزایی که ترکیبات جزئی اسانس با سایر ترکیب‌های آن دارند، افزایش می‌یابد (Burret *et al.*, 2004).

مقایسه نتایج عصاره این گیاه نشان دهنده این است که این گیاه دارای اثرات آنتی‌میکروبی هست ولی روش استخراج بسیار حائز اهمیت است عصاره اثر کمتری نسبت به میکروارگانیسم‌ها دارد در صورتی که اسانس اثر بسیار چشم‌گیری در کاهش میکروارگانیسم طبق پژوهش‌های سایر پژوهشگران دارد (Izadi and Mirazi, 2020) و در شناسایی ترکیبات نیز مشخص است که مقدار ترکیبات آنتی‌میکروبی در اسانس بیشتر می‌باشد ولی در مقایسه با اسانس تفاوت کمتری در خواص انتی‌اکسیدانی مشاهده می‌شود.

در پژوهشی ، اثر ضدباکتریایی اسانس و عصاره اندام‌های گیاهی سرخارگل بر باکتری *پکتوباکتریوم کاراتووروم* (*Pectobacterium carotovorum*) (عامل پوسیدگی نرم سیب‌زمینی) را مورد بررسی قرار دادند

(Andargani *et al*., 2004). نتایج نشان داد حساسیت باکتری به اسانس گل بیشتر از عصاره‌های سایر اندام‌ها بود. عصاره حاصل از ریشه نسبت به عصاره‌های به‌دست آمده از سایر قسمت‌های گیاه بازدارندگی بیشتری داشت. همچنین عصاره‌های استونی و آبی اثر چندانی بر باکتری از خود نشان ندادند. بر اساس نتایج حاصل مواد ضدباکتریایی در اندام‌های مختلف گیاهی از قبیل ریشه، ساقه، برگ و گل پراکنده‌اند و بر حسب حلال مورد استفاده مقادیر مختلفی از آن‌ها استخراج می‌شود. در میان حلال‌های آب، اتانول، متانول و استون، استون تنها حلالی است که نتوانسته مواد ضدباکتریایی را از ریشه استخراج کند. عصاره اتانولی گل از لحاظ دارا بودن مواد ضدباکتریایی و اثر کشندگی باکتری با اسانس با غلظت ۱ میکرولیتر قابل رقابت بود. به‌طور کلی، تجمع مواد ضدمیکروبی در عصاره ریشه و نیز اسانس گل به‌طور قابل توجهی بیشتر بود (Izadi and Mirazi, 2020).

برخی پژوهشگران مشخص کردند عصاره آبی سرخارگل در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر هیچ اثر مهاری بر رشد باکتری‌های گرم منفی نداشت. بیشترین قطرهاله عدم رشد عصاره‌های آبی و اتانولی این گیاه در غلظت ٤۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مربوط به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و کمترین قطر هاله عدم رشد در همین غلظت مربوط به باکتری *سودوموناس آئروجینوزا* بود. عصاره‌های سرخارگل بر باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی اثر بازدارندگی بیشتری از خود نشان داد. همچنین مشخص شد که عصاره اتانولی در مقایسه با عصاره آبی اثر بازدارندگی بیشتری بر روی سویه‌های مورد آزمون داشت و با افزایش غلظت هر دو نوع عصاره از ۲۵ تا ٤۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر قطر هاله عدم رشد بیشتر شد؛ اما در این پژوهش با این ترکیب روش غرقابی و اولتراسوند در عصاره‌گیری، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به تحقیقات پیشین به‌دست آمد و اثر بازداری بر روی آسپرژیلوس نایجر از خود نشان داد که علت تفاوت نتایج انتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی، تفاوت در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی گیاهان، عواملی همچون شرایط اقلیمی، خاک، زمان، جمع‌آوری گیاه، روش خشک کردن، استحصال ذکر شده است (Alizadeh Behbahani *et al* 2018) علاوه بر آن، اختلافات مشاهده، شده در ترکیبات شیمیایی عصاره‌ها در مطالعات مختلف می‌تواند به دلیل تفاوت در فصل برداشت گیاه، شرایط آب و هوایی، منطقه جغرافیایی رویش، روش و مدت زمان استخراج مورد آزمایش باشد (Burt *et al* 2004).

با توجه به بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصاره گیاه سرخارگل، در دو روش اولتراسوند و کلاسیک (غوطه‌وری در اتانول ۷۰ درصد) مشاهده شد که صرف نظر از نوع روش استخراج، عصاره این گیاه فعالیت ضدمیکروبی خوبی در برابر *اشریشیا کولای، سودوموناس آئروجینوزا، باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس* داشت (Stanisavljevic *et al*.,2009). عصاره گیاه سرخارگل بیشترین فعالیت ضدمیکروبی را بر باکتری‌های *کاندیدا آلبیکانس و ساکارومایسس سرویزیه Saccharomyces cerevisiae* داشت، درحالی‌که هیچ اثر بازداری بر روی *آسپرژیلوس نایجر* از خود نشان نداد (Arland *et al*., 2017). در تحقیق دیگری که در رابطه با فعالیت آنتی‌اکسیدانی و

ضدمیکروبی عصاره سرخارگل انجام گرفت، نتایج نشان داد که با افزایش غلظت عصاره از ۳۰ تا ۱۰۰ppm قطر هاله عدم رشد باکتری‌های مورد آزمایش افزایش یافت. به علاوه در غلظت ۱۰۰ ppm، بیشترین اثر ضدمیکروبی مربوط به ساکارومایسس سرویزیه بوده است. عصاره این گیاه در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ ppm بر *اشریشیا کولای*، *انتروکوکوس فکالیس*، *کاندیدا آلبیکانس*، *ساکارومایسس سرویزیه*، *آسپرژیلوس اورایزا* (*Aspergillus oryzae*) و *آلترنریا سولانی* (*Alternaria solani*) اثر ضدمیکروبی از خود نشان داد. درحالی‌که غلظت ppm ۳۰، فقط اثر بازدارندگی بر اشریشیا کولای، *استرپتوکوکوس فکالیس* و *ساکارومایسس سرویزیه* داشت (Hussun *et al*., 2020).

به‌طورکلی عصاره اتانولی با ترکیب روش غرقابی و اولتراسوند، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به تحقیقات پیشین دارد و اثر بازداری بر روی *آسپرژیلوس نایجر* از خود نشان داد. از بین باکتری گرم مثبت و منفی و قارچ مورد پژوهش بیشترین اثر ضدمیکروبی بر باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اوئوس* مشاهده شد و جرمان کرن دی عمده ترکیب شناسایی شده در عصاره گیاه سرخارگل بود.

تعارض منافع

نویسندگان هیچگونه تعارض منافعی برای اعلام ندارند.

منابع

- Aarland, R.C., Banuelos-Hernandez, A.E., Fragoso-Serrano, M., Sierra-Palacios, E.D.C., Díaz de León-Sánchez, F., Pérez-Flores, L.J. *et al*., (2017). Studies on phytochemical, antioxidant, anti-inflammatory, hypoglycaemic and antiproliferative activities of *Echinacea purpurea* and *Echinacea angustifolia* extracts. Pharmaceutical Biology, 55(1): 649–656.
- Ahmad, E., Wahab, SH., Nisar, N., Dera, A.A., Alshahrani, M.Y., Abullias, S.S. *et al*., (2020). Evaluation of antibacterial properties of Matricaria aurea on clinical isolates of periodontitis patients with special reference to red complex bacteria. Saudi Pharmaceutical Journal, 28(10): 1203–1209.
- Akhzari, A., Nasrollai, Z., Yazdanpanah,Y., Abolhasani, A. and Abolhasani, H. (2021). Antifungal evaluation of aqueous and ehanolic extract of Iranian Dandelion root, compared with fluconazole and nystatin. Qom University of Medical Sciences Journal, 15(1): 20-27. [In Persian]
- Alizadeh Behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., Vasiee, A. and 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.
- Andargani, S., Jamshidi, S. and Orei, M. (2014). Antibacterial effect of flower essential oil and extract of *Echinacea* on *Pectobacterium caratovorum* subsp. Caratovorum in laboratory conditions. Journal of Plant Disease Research, 2(2): 25-34. [In Persian]
- Billah, M.M., Hosen, M.B., Khan, F. and Niaz, K. (2019). In: Nabavi, S.M. and Sanches Siva, A. (Editors), Nonvitamin and nonmineral nutritional supplements. 1st Edition, Charlotte Cockle, London, pp. 205–210.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. International Journal of Food Microbiology, 94(3): 223-253.

- Debalk, D., Birhan, M., Kinubeh, A. and Yayeh, M. (2018). Assessments of antibacterial effects of aqueous-ethanolic extracts of *Sida rhombifolia*'s aerial part. The Scientific World Journal, DOI: 10.1155/Sci. World J.2018.8429809.
- Gadjalova, A.V. and Mihaylova, D.S. (2019). Ultrasound-assisted extraction of medicinal plants and evaluation of their biological activity. Food Research, 3(5): 530 – 536.
- Gajalakshmi, S., Vijayalakshmi, S. and Devirajeswari, V. (2012). Echinacea purpurea-A potent immunostimulant. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 14(2):47-52.
- Ghanadi, A., Zolfaghari, B. and Shamashian, S. (2011). Necessity, importance and applications of traditional medicine knowledge in different nations. Journal of Islamic and Iranian Traditional Medicine, 2(2):161-176. [In Persian]
- Hassan, R.A., Ali, S.M., Mohamed, A.H. and Hamed. S.E. (2020). Antioxidant and antimicrobial activities of *Echinacea purpurea L*. extracts. Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology, 11(10):279-283.
- Izadi, Z. and Mirazi, N. (2020). Antioxidant and antimicrobial activities of aqueous and ethanolic extracts of *Echinacea purpurea L*. on a number of gram-positive and gram-negative bacteria. Armaghane-Danesh, 25(2): 162-180. [In Persian]
- Jukić, H., Habeš, S., Aldžić, A., Durgo, K. and Kosalec, I. (2015). Antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds of the extracts of *Echinacea purpurea* (L.). Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina, 44:43-52.
- Kembuan, G., Lie, W. and Tumimomor, A.H. (2020). Potential usage of immune modulating supplements of the Echinacea genus for COVID-19 infection. International Journal of Medical Reviews and Case Reports, 4(9):13-17.
- Keskes, H., Belhadj, S., Jlail, L., El Feki, A., Damak, M., Sayadi, S. *et al*., (2017). LC-MS–MS and GC-MS analyses of biologically active extracts and fractions from Tunisian Juniperus phoenice leaves. Pharmaceutical Biology, 55(1):88-95.
- Landy, N., Ghalamkari, G.H., Toghyani, M. and Moattar, F. (2011). The effects of Echinacea purpurea L. (purple coneflower) as an antibiotic growth promoter substitution on performance, carcass characteristics and humoral immune response in broiler chickens. Journal of Medicinal Plants Research, 5(11): 2332-2338.
- Lee, T., Chen, C., Shieh, Z., Lin, J. and Yu, B. (2009). Study on antioxidant activity of *Echinacea purpurea* L. extracts and its impact on cell viability. African Journal of Biotechnology, 8 (19): 5097-5105.
- Polatoglu, K., Demirci, F., Demirci, B., Gören, N. and Başer, K.H. (2010). Antibacterial activity and the variation of *Tanacetum parthenium (L.)* Schultz Bip essential oils from Turkey. Journal of Oleo Science, 59(4): 177-184.
- Sandri, I.G., Zacaria, J., Fracaro, F., Delamare, A.P.L. and Echeverrigaray, S. (2007). Antimicrobial activity of the essential oils of Brazilian species of the genus Culina against foodborne pathogens and spoiling bacteria. Food Chemistry, 103(3):823-828.
- Stanisavljevic, I., Stojicevic, S., Velickovic, D., Veljkovic, V. and Lazic, M. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of Echinacea *(Echinacea purpurea L.)* extracts obtained by classical and ultrasound extraction. Chinese Journal of Chemical Engineering, 17(3): 478-483.
- Thappa, R.K., Bakshi, S.K., Dhar, P.L., Agarwa, S.G., Kitchlu, S., Kaul, M.K. *et al*., (2004). Quantitation analysis of polysaccharids and glycoprotein fractions in *Echinaceae purpurea* and *Echinaceae anngustifolia* by HPLC-ELSD for quality control of raw material. Flavour and Fragrance Journal,19: 452-454.

Yahya, M., Shah, J.A., Kadir, K.A., Yusof, Z.M., Khan, S. and Warsi, A. (2019). Motion capture sensing techniques used in human upper limb motion: a review. Sensor Review, 39(4): 504-511.

"Research article" DOI:10.30495/JFH.2022.1951342.1345

Evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of (*Echinacea purpurea*) extract and identification of extract compounds by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

Ghaedan, M.[1], Zamindar, N.[2*], Goli, M.[3], Ghasemi Sepro, N.[1]

1. M.Sc. Graduate of Food Science and Technology, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Laser and Biophotonics in Biotechnologies Research Center, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

*Corresponding author: n.zamindar@khuisf.ac.ir

(Received: 2022/2/1 Accepted: 2022/9/5)

Abstract

This study aimed to investigate the antioxidant and antimicrobial properties of *Echinacea purpurea*, which is used as an antiseptic, immune system booster, antimicrobial, antioxidant and anti-poisoning herbaceous plant. Antioxidant and antimicrobial properties, total phenolic compounds and DPPH radical scavenging of the extract were measured. Antimicrobial properties of the extract were assessed using well-diffusion method. The components of the extract were identified using gas chromatography-mass spectrometry (GC MS). The data were analyzed using SPSS and Duncan's statistical test. The plant extract showed high level of phenolic compounds. The DPPH radical scavenging of the extract was tested at concentrations of 0.22, 0.25, 0.27, 0.31, 0.35, 0.41, 0.50 g/ml. The concentration of IC50 indicated sufficient inhibitory potential of the extract. The diameter (means ± SD) of the growth inhibition zone for *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Aspergillus niger* was estimated at 4.67 ± 1.24, 3.11 ± 0.84 and 1.78 ± 0.89 mm, respectively. Based on well-diffusion assay, *S. aureus* was found more sensitive than *E. coli*, and *E. coli* was more sensitive than *A. niger*. Using the gas chromatography-mass spectrometry, 81.38% of the total extract compounds were identified. Important components of the extract consisted of germacrene D (21.67%), paracetamol (5.53%), Bernoulli (4.58%), respectively. The results showed that *Echinacea* extract had excellent antioxidant and antimicrobial effects.

Conflict of interest: None declare.

Keywords: *Echinacea purpurea*, Antimicrobial, Antioxidant, Gas Chromatography-Mass (GC-MS)