ویژگی‌های ترکیبات شیمیایی، ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی اسانس زیره سبز

رزاق محمودی[۱]، علی احسانی[۲*] و پیمان زارع[۳]

تاریخ دریافت: ۹۱/۲/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۱/۵/۱۰

[۱] استادیار گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز

[۲] استادیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

[۳] استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز

[*]مسئول مکاتبه: E-mail: a.ehsani@urmia.ac.ir

چکیده

اسانس‌ها و عصاره‌های حاصل از گیاهان دارویی با داشتن ترکیبات ضدمیکروبی، ضدسرطانی و آنتی‌اکسیدانی (ناشی از وجود عوامل حذف کننده رادیکال‌های آزاد) به عنوان ترکیبات دارویی جدید و طبیعی چه در زمینه بهداشت و درمان بیماری‌ها و چه محافظت از غذاهای خام و فرآوری شده از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشند. در مطالعه حاضر ترکیب شیمیایی، خصوصیات ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی اسانس زیره سبز مورد بررسی قرار گرفت. خصوصیات ضدباکتریایی آن علیه باکتری‌های پاتوژن با استفاده از روش میکروتیتر-پلیت انجام شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس با استفاده از مدل رنگبری بتا-کاروتن/اسید لینولئیک و توانایی ترکیبات زیره در بی‌اثر نمودن DPPH سنجیده شد. نتایج آنالیز اسانس زیره سبز با کروماتوگرافی گازی- اسپکترومتری جرمی نشان داد که کومین آلدهید (۲۹/۰۲٪) عمده‌ترین ترکیب اسانس زیره می‌باشد. حداقل غلظت ممانعت از رشد و نیز حداقل غلظت کشنده اسانس تحت شرایط مختلف محیطی دما و pH به ترتیب در محدوده ۹۶۰۰-۳۷/۵ و µg/ml ۹۶۰۰-۱۵۰ تعیین شد، *استافیلوکوکوس اورئوس* حساس‌ترین و *اشرشیاکلی* مقاوم‌ترین باکتری نسبت به اسانس بودند. ارزیابی آزمون آنتی‌اکسیدانی نشان داد که میزان IC_{50} اسانس زیره سبز در مهار رادیکال‌های آزاد µg/ml ۲/۱۳ و در ممانعت از اکسیداسیون لینولئیک اسید در غلظت ۲mg/ml دارای ۵۸٪ اثر مهارکنندگی از خود نشان داد. نتایج نشان می‌دهند که اسانس زیره سبز از توان ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی مناسبی برخوردار بوده و بنابراین می‌توان از آن در ترکیب با سایر نگهدارنده‌ها جهت محافظت مواد غذایی در مقابل انواع سیستم‌های اکسیداتیو و میکروارگانیسم‌های عامل عفونت و مسمومیت بهره جست.

واژه‌های کلیدی: زیره سبز، آنتی‌اکسیدان، اسانس، ضدباکتریایی

Phytochemical, antibacterial and antioxidant properties of *Cuminum Cyminum* L. essential oil

R Mahmoudi[1], A Ehsani[2]*and P Zare[3]

Received: May 02, 2012 Accepted: July 31, 2012

[1] Assistance Professor, Department of Food Hygiene and Aquatics, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[2] Assistance Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
[3] Assistance Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[*] Corresponding author: E-mail: a.ehsani@urmia.ac.ir

Abstract

Essential oils and herbal extracts from medicinal plants as a source of natural antioxidants, antimicrobial, anticancer and biologically active compounds have attracted a great deal of interesting applications in fresh and processed food preservation, pharmaceuticals, alternative medicine and natural-based therapies. In the present study, phytochemical composition, antioxidant and antibacterial properties of *Cuminum Cyminum L*. essential oil have been evaluated. Antibacterial properties were evaluated by standard Microplate serial dilution method. Antioxidant activity was evaluated through DPPH assay and β-carotene/linoleic acid assay. The chemical analysis of the essential oil by Gas chromatography/ mass spectrophotometer (GC/MS) showed that cuminaldehyde (29.02%) was the major compound. Minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of the essential oil were 37.5-9600 and 150-9600 µg/ml, respectively. *S.aureus* and *Escherichia coli* were the most sensitive and the most resistant to the essential oil, respectively. This essential oil was able to reduce the stable free radical DPPH with an IC_{50} of 2.13 µg/ml. In β-carotene/linoleic acid assay, the essential oil was not effectively able to inhibit the linoleic acid oxidation, exhibiting had only 58% inhibitions at 2 mg/ml. These results indicate that this essential oil has a high potential of antioxidant and antibacterial properties. Therefore, it can be suggested to combine this essential oil with other agents for the preservation of foods against pathogenic and toxigenic microorganisms.

Keywords: Antibacterial, Antioxidant, *Cuminum Cyminum L*, Essential oil

مقدمه

امروزه بروز مقاومت دارویی در انواع میکروارگانیسم‌های بیماریزا از یک سو و از طرف دیگر اثرات مضر نگهدارنده‌های غذایی شیمیایی و سنتزی از سوی دیگر به عنوان یک چالش مهم در هر دو زمینه بهداشت و درمان انسان و دام تبدیل گردیده است. بنابراین یک نیاز مستمر در زمینه شناسایی ترکیبات ضدمیکروبی جدید جهت به حداقل رسانیدن مقاومت دارویی میکروارگانیسم‌ها و استفاده از آنها به عنوان جایگزین نگهدارنده‌های شیمیایی احساس می‌شود (سلیکارت و همکاران ۲۰۰۷؛ گراگ و همکاران ۱۹۹۷). به منظور حفظ کیفیت مواد غذایی و افزایش طول عمر نگهداری آنها از آنتی‌اکسیدان‌ها استفاده می‌شود. امروزه از آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک در صنعت غذا به طور گسترده‌ای استفاده شده ولی بی‌خطر بودن آنها مورد سئوال می‌باشد (بوت سقلو همکاران ۲۰۰۲؛ یادگارنیا و

همکاران ۲۰۰۶). اسانس‌ها و عصاره‌های حاصل از گیاهان دارویی با داشتن ترکیبات ضدمیکروبی، ضدسرطانی، آنتی‌اکسیدانی و عوامل حذف کننده رادیکال‌های آزاد از توان بسیار بالایی جهت به کارگیری‌شان به عنوان ترکیبات نگهدارنده طبیعی جدید در محافظت غذاهای خام و فرآوری شده بر خوردار می-باشند (حسین و همکاران ۲۰۰۸؛ بوزین و همکاران ۲۰۰۶). کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مشتق از منابع گیاهی و میوه‌ها توجه زیادی را به خود جلب نموده و در پیشگیری از ابتلاء به تعداد زیادی از بیماری‌ها حائز اهمیت باشند، تعدادی از ترکیبات با خواص آنتی-اکسیدانی به عنوان فرآورده‌های ثانویه توسط گیاهان ساخته می‌شود که از جمله آنها می‌توان به ترکیبات فنلی اشاره نمود (مورت و همکاران ۲۰۰۷). زیره سبز، گیاهی علفی یکساله، ظریف و معطر از خانواده چتریان بوده و با نام علمی *Cuminum cyminum* L معروف می‌باشد، این گیاه در مناطق مدیترانه‌ای و جنوب غرب و مرکز آسیا می‌روید، زیره سبز جز گیاهان دارویی مهم و اقتصادی کشورمان بوده و در مناطق مختلفی از جمله تبریز، یزد، کرمان و برخی نقاط دیگر کشت می‌شود (عظیم زاده ۲۰۰۹؛ قاسم دهکردی ۲۰۰۲). از زیره سبز در درمان بیماری‌های مختلف به عنوان ضدتشنج، ضدصرع، تقویت کننده معده، ادرار آور، ضد نفخ و سوء هاضمه و محرک تعریق استفاده شده و برای بیماران دیابتی نیز مفید است (اوانس و همکاران ۱۹۹۶). قسمت میوه زیره سبز حاوی ۵-۲ درصد اسانس است که قسمت اعظم آن از پاراسیمول، آلفا و بتا پینن، کومیک الکل، کومین آلدهید، آلفا و بتا فلاندرن، اوژنول، آلفا ترپینئول و میرسن تشکیل یافته است، بعلاوه در زیره سبز ۷/۷ درصد روغن، ۱۳/۵ درصد رزین، ۸ درصد صمغ و موسیلاژ و ۱۵/۵ درصد پروتئین یافت می‌شود (حقیرالسادات و همکاران ۲۰۱۰). در مطالعه‌ای در مورد بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره های الکلی ۲۴ گیاه دارویی از جمله زیره سبز جمع آوری شده از ایران، مقادیر IC_{50} اسانس این گیاه ۸۲/۲۵ µg /ml و مقدار ترکیبات فنولی کل گیاه ۲/۱۴۰۳ mg/g گزارش شد (سوری و همکاران ۲۰۰۸). در مطالعه نیک آور و همکاران (۲۰۰۹) آنها با استفاده از بذر ۷ گیاه دارویی خانواده چتریان از جمله زیره سبز به بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های الکلی آنها پرداختند و نتایج نشان داد که این گونه دارای مقادیر IC_{50}، ml /۲۰۸µg می‌باشد همچنین مقدار کل ترکیبات فنلی (TFC) µg/mg ۲۰/۲۱ بود. با توجه به اهمیت گیاهان دارویی به خصوص گیاهان بومی کشورمان در این تحقیق بر آن شدیم که اجزاء تشکیل دهنده و خصوصیات مهم کاربردی اسانس زیره سبز (ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی) را مورد بررسی قرار دهیم، تا بدین طریق هم امکان استفاده از یک منبع سهل الوصول و مقرون به صرفه فراهم شده، از هدر رفتن محصول و خسارت‌های ناشی از آن جلوگیری و در نهایت گامی جهت اعتلای بهداشت و ایمنی غذایی جامعه برداشته شود.

مواد و روش‌ها

جمع آوری دانه گیاه زیره سبز

دانه خشک شده زیره سبز از استان کرمان تهیه و سپس نام علمی توسط گیاه شناس پژوهشکده گیاهان دارویی تهران وابسته به جهاد دانشگاهی دانشگاه علوم پزشکی تهران تایید گردید.

اسانس‌گیری

به منظور آنالیز شیمیایی، ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی بذر گیاه زیره سبز، اسانس گیاه در دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز تهیه شد. به منظور استخراج اسانس گیاه مذکور، دانه خشک شده گیاه کاملاً آسیاب و با استفاده از یک دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت اسانس روغنی و فرار آن به روش تقطیر توسط آب استخراج گردید.

اسانس بدست آمده به کمک سولفات سدیم خشک، آبگیری و پس از عبور از میکروفیلتر ۰/۴۵ میکرومتر در

ظرف شیشه‌ای تیره به دور از نور خورشید در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد تا زمان شناسایی و تعیین ترکیبات شیمیایی، تعیین خصوصیات ضدباکتریایی و همچنین آنتی‌اکسیدانی نگهداری شد.

آنالیز ترکیبات تشکیل دهنده اسانس با استفاده از GC-MS[1]

ابتدا نمونه آماده شده اسانس به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق شد و مناسب‌ترین برنامه ریزی دمایی ستون برای جداسازی کامل ترکیب‌های اسانس بدست آمد. همچنین درصد ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس و شاخص بازداری هر ترکیب محاسبه گردید. سپس اسانس به دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف نگار جرمی نیز تزریق شده و طیف جرمی ترکیب‌ها بدست آمد. شناسایی ترکیبات اسانس با استفاده از شاخص بازداری و بررسی طیف‌های جرمی هر یک از اجزای اسانس و مقایسه آنها با طیف‌های مرجع انجام شد. در این مطالعه دستگاه گازکروماتوگرافی از نوع Agilent 6890 با ستون مویینه به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS با برنامه دمایی ستون در ابتدا بصورت ۷۰ درجه سانتی‌گراد با توقف ۲ دقیقه در این دما سپس افزایش دما تا ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، و افزایش دمای ستون تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه استفاده شد. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده گردید. طیف نگار جرمی مورد استفاده مدل Agilent 5973 با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و شناساگر EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود.

ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی اسانس

سوش‌های میکروبی

باکتری‌های پاتوژن گرم مثبت و گرم منفی حائز اهمیت در ایجاد عفونت و مسمومیت‌های غذایی از قبیل *سالمونلا تیفی موریوم* ATCC۱۳۳۱۱ ، *اشرشیاکلی* $O_{157}H_7$ATCC٤٣٨٩٤، *لیستریا مونوسیتوژنز* ATCC۱۹۱۱۸ و *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC ٦٥٣٨ در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند.

ارزیابی MIC[2] و MBC[3] اسانس دانه زیره سبز تحت شرایط مختلف دمایی و pH

ارزیابی حداقل غلظت ممانعت کننده رشد و کشندگی این اسانس تحت تاثیر فاکتورهای ذکر شده بروی باکتری‌های پاتوژن مورد مطالعه بر اساس روش توصیف شده گولوس و همکاران (۲۰۰۷) انجام شد. ابتدا کشت باکتریایی در محیط آبگوشت قلب و مغز [4] به مدت ۱۲ ساعت برای تمامی باکتری‌های مذکور انجام شد، سپس سوسپانسیون باکتریایی با استاندارد ۰/۵ مک فارلند تنظیم گردید. اسانس گیاه مذکور در محلول دی متیل سولفوکساید ۱۰ درصد در بالاترین غلظت مورد استفاده در این تحقیق (۱۹۲۰۰ $\mu g/ml$) حل گردید، سپس ۱۰ رقت متوالی از این اسانس به صورت two-fold در محدوده ۱۹۲۰۰ $\mu g/ml$ –۳۷/۵ در لوله‌های آزمایش استریل حاوی ۱۰ میلی لیتر براث تهیه شد. میزان MIC اسانس زیره سبز علیه باکتری‌های پاتوژن مورد مطالعه بر اساس روش میکرو ول دایلوشن[5] تعیین گردید. در هر چاهک میکروپلیت مقدار ۹۵ μl نوترینت براث و ۵ μl از کشت تک تک باکتری‌های استاندارد شده با ۰/۵ مک فارلند اضافه شد. در ادامه ۱۰۰ μl از محلول‌های استوک آماده شده اسانس با غلظت‌های مورد مطالعه به ترتیب از بالاترین غلظت در هر چاهک اضافه شد. لازم به ذکر است که در هر سری آزمایش در هر کدام از فازهای یاد شده، کنترل مثبت و کنترل منفی در نظر گرفته شد. برای تنظیم pH محیط کشت از اسید استیک ۱ نرمال استفاده

1. Gas chromatography- Mass spectermetry

2. Minimum inhibition concentration
3. Minimum bactericidal concentration
4. Brain Heart Infusion Broth (BHI)
5. Micro-well dilution assay

گردید. در ادامه میکروپلیت‌ها به مدت ۲۰ ثانیه با دور ۳۰۰ rpm شیک شده و در دماهای ۸، ۱۵ و۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. سپس در پایان زمان انکوباسیون (۲٤ ساعت) مقادیر MIC به عنوان حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد و MBC به عنوان حداقل غلظت کشنده باکتری بر حسب میکروگرم به ازای میلی‌لیتر محاسبه گردیدند. رشد میکروبی از طریق بررسی میزان جذب نوری در طول ٦۰۰ نانومتر ارزیابی شد، جهت تایید میزان μl ٥ از محتویات چاهک‌های شفاف روی محیط نوترینت آگار کشت گردید.

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی

ارزیابی DPPH

توانایی هیدروژن دهندگی عصاره‌ها، به واسطه بی-رنگ نمودن محلول متانولی ارغوانی رنگ DPPH اندازه-گیری شد. در این ارزیابی طیف سنجی، از رادیکال پایدار دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) (سیگما آلدریچ) به عنوان عامل واکنش دهنده استفاده شد (آدامز ۲۰۰۲؛ بورتیس و بوکار ۲۰۰۰). ٥۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف اسانس به ٥ میلی‌لیتر محلول متانولی ۰/۰۰٤درصد DPPH افزوده شد. بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، جذب در طول موج ٥۱۷nm در مقایسه با شاهد قرائت شد. بازداری رادیکال آزاد DPPH بر اساس درصد (I٪) به صورت زیر محاسبه شد:

$$I\% = (A_{blank} - A_{sample} / A_{blank}) \times 100$$

که A_{blank} جذب محلول شاهد (حاوی همه مواد واکنشگر به جز اسانس) و A_{sample} جذب محلول حاوی غلظت‌های مختلف اسانس است. غلظتی از اسانس که ٥۰٪ بازداری را نشان می دهد (IC_{50}) از منحنی ترسیم شده بر اساس درصد بازداری در برابر غلظت اسانس به دست آمد. آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT نیز به عنوان کنترل مثبت به کار رفت. آزمایشات در ۳ تکرار انجام شد.

ارزیابی بتا-کاروتن/ اسید لینولئیک

در این آزمایش، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از طریق اندازه‌گیری ترکیبات آلی فرار و هیدروپراکسیدهای مزدوج حاصل از اکسیداسیون اسید لینولئیک تعیین شد (داپکشیوز و همکاران ۱۹۹۸). محلول استوک بتا-کاروتن/ اسید لینولئیک (سیگما آلدریچ[1]) به این صورت تهیه شد که در ابتدا، ۰/٥ میلی‌گرم بتا -کاروتن در ۱ میلی‌لیتر کلروفرم(مرک) حل و سپس ۲٥ میکرولیتر لینولئیک اسید و ۲۰۰ میلی‌گرم از توین ٤۰ [2] (مرک آلمان) به آن افزوده شد. سپس با روش تبخیر در خلاء، کلروفرم جدا گردیده و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اشباع شده با اکسیژن (۳۰ دقیقه، ۱۰۰ml/ min) همراه با تکان شدید به آن افزوده شد. ۲/٥ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده فوق به لوله‌های آزمایش منتقل و ۳٥۰ میکرولیتر از اسانس به لوله افزوده شد، سپس در دمای اتاق به مدت ٤۸ ساعت نگهداری شد. مراحل ذکر شده در بالا در مورد بوتیلیتد هیدروکسی تولوئن به عنوان شاهد مثبت و بلانک (فقط حاوی ۳٥۰ میکرولیتر اتانول) انجام شد. پس از گرمخانه‌گذاری، جذب نوری نمونه‌ها در٤۹۰ نانومتر قرائت گردید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، از مقایسه جدب نوری نمونه‌ها با زمان صفر و از روی میزان پایداری رنگ زرد بتا کاروتن به درصد مورد سنجش قرار گرفت.

ارزیابی ترکیبات فنولیک تام

سنجش مواد فنولیک تام با استفاده از واکنشگر فولین سیوکالتو[3] (سیگما آلدریچ) و اسید گالیک (سیگما آلدریچ) به عنوان استاندارد انجام شد (داپکشیوز و همکاران ۱۹۹۸؛ چندلر و دادز ۱۹۸۳). ۰/۱ میلی‌لیتر از اسانس مذکور به ارلن مایر منتقل شد، ٤٦ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱ میلی‌لیتر واکنشگر فولین سیوکالتو به آن اضافه شد و محتویات ارلن مایر به شدت مخلوط شد. بعد از ۳ دقیقه، ۳ میلی‌لیتر از محلول۲٪ کربنات سدیم اضافه شد و

1. Sigma Aldrich
2. Tween 40
3. Folin-Ciocalteu

مخلوط به مدت ۲ ساعت روی صفحه تکان‌دهنده با شدت متوسط قرار داده و جذب آن در ۷٦۰ نانومتر قرائت شد. مراحل ذکر شده برای محلول‌های استاندارد اسید گالیک (۱۰۰۰-۰ میکروگرم در ۰/۱ میلی‌لیتر) انجام شد و یک منحنی استاندارد مطابق معادله زیر به دست آمد:

۰/۰۰۳۳ + اسیدگالیک (µg) × ۰/۰۰۱۲ = میزان جذب

آنالیز آماری

داده‌های جمع آوری شده با استفاده از نرم افزار آنالیز آماری SPSS تجزیه شدند.

بررسی نتایج اسانس‌گیری در این مطالعه نشان داد که بازده اسانس زیره سبز ۲/۵ درصد بر اساس وزن خشک نمونه می‌باشد. ترکیبات عمده تشکیل دهنده اسانس زیره سبز همراه با زمان بازداری و درصد هر ترکیب در جدول شماره یک نشان داده شده است. بیشترین ترکیبات اسانس دانه زیره سبز را کومین آلدهید (٪ ۲۹/۰۲)، آلفا ترپینن (٪ ۲۰/۷۰)، گاما ترپینن (٪ ۱۲/۹٤)، گاما ترپینن ۷ ال (٪۸/۹۰)، پارا سیمن (٪ ۸/۵۵) و بتا پینن (٪ ۷/۷۲) تشکیل می‌دهند.

نتایج

اجزاء تشکیل دهنده اسانس زیره سبز

جدول ۱- آنالیز اسانس دانه زیره سبز با استفاده از GC/MS *

نام ترکیب	زمان بازداری (دقیقه)	شاخص بازداری	درصد
بتاپینن	۱۳/۰٦	۹۸۰	۷/۷۲
میرسن	۱۳/۸۰	۹۹۱	۱/۱۰
پاراسیمن	۱۵/٦۰	۱۰۲۷	۸/۵۵
۱و۸ سینئول	۱۵/۸۰	۱۰۳۱	۰/۸٤
گاماترپینن	۱۷/۳۸	۱۰٦۱	۱۲/۹٤
سس دیهیدرو کارون	۲۳/۹۹	۱۱۹۵	٤/٤۵
کومین آلدهید	۲٦/٤۵	۱۲٤۷	۲۹/۰۲
آلفا ترپینن	۲۸/٤۰	۱۲۸۹	۲۰/۷۰
گاما ترپینن ۷ ال	۲۹/۱۱	۱۳۰٤	۸/۹۰

* در این جدول به ترکیبات اساسی از لحاظ دارا بودن بیشترین درصد اشاره شده و از ذکر ترکیبات جزئی پرهیز شده است.

فعالیت ضد باکتریایی اسانس دانه زیره سبز

اثرات ضدباکتریایی اسانس زیره سبز با استفاده از تعیین حداقل غلظت مهاری مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول شماره ۲). بر اساس یافته‌های این مطالعه MIC و MBC اسانس مذکور در تیمارهای مختلف ذکر شده (شرایط مختلف دمایی و pH) به ترتیب در محدوده *µg/ml* ۹٦۰۰- ۳۷/۵ و ۹٦۰۰-۱۵۰ قرار داشت. بیشترین تاثیر ضدباکتریایی اسانس علیه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بود و مقاومترین باکتری‌ها نسبت به این اسانس باکتری‌های گرم منفی *اشرشیاکلی* و *سالمونلا تیفی موریوم* بودند (جدول شماره ۲). نتایج نشان دهنده افزایش توان ضدمیکروبی اسانس با کاهش مقایر pH و دما بود ($P<۰/۰۵$). بیشترین میزان ممانعت از رشد باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت در این مطالعه در تیمار دمایی ۸ درجه سانتی‌گراد، pH = ٦ مشاهده گردید. کمترین میزان MIC اسانس در این مطالعه مربوط به باکتری *استافیلوکوکوس اوروئوس* در تیمار دمایی ۸ درجه سانتی‌گراد، pH= ٦ به میزان *µg/ml* ۳۵ بود. همچنین با بالا رفتن دما و pH افزایش همسو در هر دو

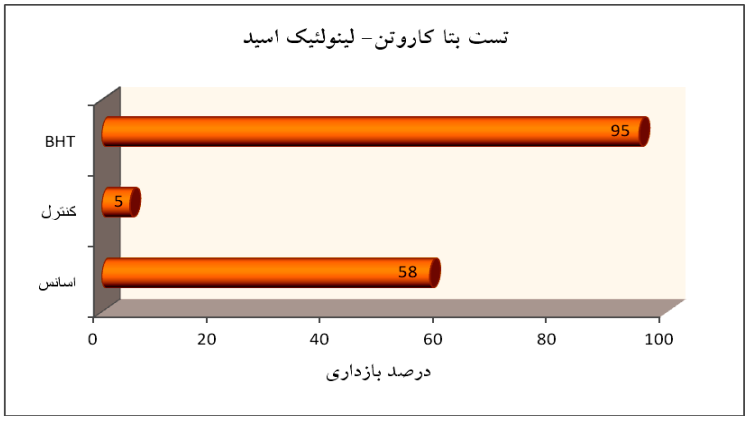
مورد حداقل غلظت‌های ممانعت از رشد و کشندگی اسانس کاملاً مشهود بود ($P<۰/۰۵$).

جدول ۲- حداقل غلظت ممانعت از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس دانه زیره سبز

pH	دما(ċ)	باکتری	MIC(µg/ml)	MBC(µg/ml)
٦	۳۵	*S.aureus*	۳۰۰	۱۲۰۰
		L.monocytogenes	۱۲۰۰	۲٤۰۰
		E.coli	٤۸۰۰	۹٦۰۰
		S.typhimurium	۲٤۰۰	٤۸۰۰
٦	۱۵	*S.aureus*	۱۵۰	٦۰۰
		L.monocytogenes	٦۰۰	۲٤۰۰
		E.coli	٦۰۰	۲٤۰۰
		S.typhimurium	۱۲۰۰	٤۸۰۰
٦	۸	*S.aureus*	۳۷/۵	۱۵۰
		L.monocytogenes	۱۵۰	۳۰۰
		E.coli	۳۰۰	٦۰۰
		S.typhimurium	۳۰۰	۱۲۰۰
۷/۳	۳۵	*S.aureus*	٦۰۰	٤۸۰۰
		L.monocytogenes	۱۲۰۰	۹٦۰۰
		E.coli	٤۸۰۰	-
		S.typhimurium	۹٦۰۰	-
۷/۳	۱۵	*S.aureus*	۳۰۰	۱۲۰۰
		L.monocytogenes	٦۰۰	٤۸۰۰
		E.coli	۱۲۰۰	۹٦۰۰
		S.typhimurium	۱۲۰۰	۹٦۰۰
۷/۳	۸	*S.aureus*	۱۵۰	۳۰۰
		L.monocytogenes	۳۰۰	۱۲۰۰
		E.coli	٦۰۰	۲٤۰۰
		S.typhimurium	٦۰۰	۱۲۰۰

فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولیک اسانس دانه زیره سبز

توانایی مهار رادیکال‌های آزاد توسط آزمایش دی پی پی اچ ارزیابی شد. در این تحقیق میزان IC_{50} زیره سبز ۲/۱۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده که در مقایسه با بوتیلتید هیدروکسی تولوئن (BHT) ضعیف‌تر می‌باشد. همچنین نتایج نشان داد که با افزایش غلظت اسانس مهار رادیکال‌های آزاد با قدرت بیشتری صورت می‌گیرد. بر اساس اطلاعات موجود در شکل شماره ۱ در ممانعت از اکسیداسیون لینولئیک اسید در سیستم بتاکاروتن-لینولئیک اسید در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ۵۸ درصد اثر مهاری توسط اسانس حاصل شد، در ضمن در ارتباط با آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیلید هیدروکسی تولوئن ۹۵ درصد اثر مهاری در آزمایش بتاکاروتن-لینولئیک اسید حاصل شد. میزان ترکیبات فنولی ۸۳/۱٤ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم اسانس تعیین شد.



شکل ۱- اثر اسانس ، کنترل مثبت بوتیلتید هیدروکسی تولوئن و کنترل منفی در ممانعت از اکسیداسیون لینولئیک اسید

بحث

نتایج حاصل از بررسی ترکیب شیمیایی اسانس دانه زیره سبز در مطالعه حاضر تا حدودی با سایر بررسی-های صورت گرفته در این راستا همخوانی داشت (بتائیب و همکاران ۲۰۱۰؛ هاجوئی و همکاران ۲۰۱۰؛ الله قدری و همکاران ۲۰۱۰) در اغلب این مطالعات ترکیباتی همچون کومین آلدهید، آلفا ترپینن، بتا پینن، گاما ترپینن، سیمن و پارامنت عمده‌ترین اجزاء اسانس زیره سبز بوده و در مطالعه حاضر نیز کومین آلدهید و آلفا ترپینن ترکیبات عمده موجود در اسانس بودند (جدول شماره ۱). فعالیت ضدمیکروبی اسانس زیره سبز علیه طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها (باکتری‌ها و قارچ‌ها) قابل مقایسه با داروهای استاندارد بوده و توسط بسیاری از محققین گزارش شده است (نیکولا و همکاران ۲۰۰۵؛ اکوبلیس و همکاران ۲۰۰۷). یافته‌های بدست آمده در بخش MIC و MBC مطالعه حاضر نیز نشان داد که اسانس زیره سبز از فعالیت ضدباکتریایی مناسبی برخوردار و بیشترین تاثیر آن علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* بود. باکتری‌های گرم منفی *اشرشیاکلی* و *سالمونلا تیفی موریوم* مقاومترین باکتری‌ها نسبت به آن بودند (جدول شماره ۲). باکتری‌های گرم مثبت نسبت به عصاره‌ها واسانس‌های گیاهی در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی حساسیت بیشتری نشان می‌دهند (ساهین و همکاران ۲۰۰۲؛ کارامن و همکاران ۲۰۰۳). در مطالعه ما نیز مقادیر MIC و MBC تعیین شده اسانس زیره سبز در تمامی تیمارها در مورد باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت بالاتر بوده که این امر می‌تواند ناشی از تفاوت در ساختار دیواره سلولی باکتری‌ها باشد (کیتیک و همکاران ۲۰۰۲؛ ساهین و همکاران ۲۰۰۲). افزایش توان ضدباکتریایی اسانس با کاهش مقادیر pH و دما کاملاً مشهود بوده ($P<۰/۰۵$) به گونه-ای که بیشترین میزان ممانعت از رشد باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت در تیمار دمایی ۸ درجه سانتی‌گراد و pH = ٦ مشاهده شد ($P<۰/۰۵$) که این امر می‌تواند ناشی از تاثیر مستقیم pH پائین بر روی حلالیت بهتر اسانس در فاز چربی غشا سلولی باکتری باشد (بستی و همکاران ۲۰۰۷؛ کوتسو مانیس ۱۹۹۹). ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسانس دانه زیره سبز نشان داد که این اسانس از خواص آنتی‌اکسیدانی مناسبی برخوردار می-باشد. در مطالعه سوری و همکاران میزان IC_{50} اسانس این گیاه ٥/٧٦ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده (سوری و همکاران ۲۰۰۸) در صورتی که در مطالعه ما این میزان ۲/۱۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد که نشان‌دهنده برتری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسانس مطالعه ما در مقایسه با مطالعه سوری می‌باشد. ارزیابی اثرات ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی و سیتوتوکسیتی اسانس

زیره سبز توسط الله قدری و همکاران نشان داد که میزان IC_{50} اسانس ٥/٤ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده و همچنین محتوای ترکیبات کل فنولیک این گیاه دارویی ٣٣/٤٣ میکروگرم بوده (الله قدری و همکاران ۲۰۱۰) که در مقایسه با یافته‌های مطالعه ما از خواص آنتی-اکسیدانی و ترکیبات فنلی کمتری برخوردار می‌باشد. بررسی ترکیبات شیمیایی و خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس زیره سبز بومی استان یزد نشان داد که این اسانس از لحاظ ظرفیت آنتی‌اکسیدانی دارای IC_{50} ١/٤٩ میکروگرم بر میلی‌لیتر اسانس و محتوای ترکیب فنولی ٩٠/٢٢ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم اسانس بود (حاجیرو السادات و همکاران ۲۰۱۰)، که یافته‌های این افراد نیز همسو با نتایج مطالعه ما می‌باشد. نیک وار و همکاران (۲۰۰۹) خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره الکلی زیره سیاه را بررسی و یافته‌ها نشان داد که این گیاه دارای IC_{50} ١٤٩/٩ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده و همچنین TFC (محتوای کل ترکیبات فنلی) ٥٦/٩٢ میلی گرم گالیک اسید بر گرم عصاره بود که در مقایسه با یافته‌های مطالعه ما ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای ترکیبات فنولی کمتری را نشان داد. اختلاف مشاهده شده در خواص آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی در مطالعات مختلف می تواند به علت اختلاف ترکیبات تشکیل دهنده گیاهان مذکور (تحت تاثیر ژنتیک، آب و هوا، فصل برداشت و ... قرار) بویژه در ترکیبات فنولی و پلی‌فنلی آنها باشد به گونه‌ای که ارتباط مستقیم بین میزان فنل و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاهان دارویی وجود دارد (مورت و همکاران ۲۰۰۷). با توجه به بومی بودن گیاه زیره سبز و مصرف غذایی و دارویی آن از زمان-های دور در کشورمان، این بررسی می‌تواند مقدمه‌ای جهت بکارگیری عملی از اسانس گیاه زیره سبز با توجه به ترکیب شیمیایی، خصوصیات ضدباکتریایی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مناسب آن باشد، تا بدین طریق هم امکان استفاده از یک منبع سهل الوصول و مقرون به صرفه فراهم، همچنین از هدر رفتن محصول و خسارت‌های ناشی از آن جلوگیری شود، در نهایت گامی جهت اعتلای بهداشت و ایمنی غذایی جامعه برداشته شود.

منابع مورد استفاده

Adams RP, 2002. Identification of essential oils components by gas chromatographylquadrupole mass spectroscopy. Illinois, USA: Allured publishing Corporation.

Allahghadri T, Rasooli I, Owlia P, Jalali Nadooshan M, Ghazanfari T, Taghizadeh M and Darvish Alipoor Astaneh S, 2010. Antimicrobial property, antioxidant capacity, and cytotoxicity of essential oil from cumin produced in Iran . Journal of Food Science 75: 54–61.

Azimzadeh M, 2009. Genetic assessment of Iranian *Bunium persicum Boiss* using ITS. MSc thesis. Tehran: University of Tehran.

Basti AA, Misaghi A and Khaschabi D, 2007. Growth response and modelling of the effects of Zataria multiflora Boiss. Essential oil, pH and temperature on *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. LWT- Food Science and Technology 40: 973-981.

Bettaieb I, Bourgou S, Wannes WA, Hamrouni I, Limam F and Marzouk B, 2010. Essential oils, phenolics, and antioxidant activities of different parts of cumin (Cuminum cyminum L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry 58: 10410-10418.

Botsoglou NA, Christaki E and Fletouris DJ, 2002. The effect of dietary oregano essential oil lipid oxidation in raw and cooked chicken during refrigerated storage. Meat Science 62: 265-259.

Bowles BL and Juneja VK, 1998. Inhibition of food-borne bacterial pathogens by naturally occurring food additives. Journal of Food Safety 18: 101-112.

Bozin B, Mimica-Dukic N, Simin N and Anackov G, 2006. Characterization of the volatile composition of essential oils of some lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry 54: 1822-1828.

Burits M and Bucar F, 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. Phytochemical Research 14: 323-328.

Celiktas OY, Kocabas EEH, Bedir E, Sukan FV, Ozek T and Baser KHC. 2007. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of Rosmarinus officinalis, depending on location and seasonal variations. Food Chemistry 100: 553-559.

Chandler SF and Dodds JH. 1983. The effect of phosphate, nitrogen and sucrose on the production of phenolics and solasidine in callus cultures of *Solanum lacinitum*. Plant Cell Reports 2: 205-208.

Dapkevicius A, Venskutonis R, Van Beek TA and Linssen PH, 1998. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. Journal Science Food and Agriculture 77: 140-146.

Evanse W, Trease C and Evan S, 1996. Pharmacognosy. 14 th ed. London: Saunders Company Ltd, Pp. 267-268.

Ghassemi Dehkordi N, Sajjadi SE, Ghannadi A, Amanzadeh Y, Azadbakht M and Asghari GR, 2002. *Iranian Herbal Pharmacopoeia*. Drug Administration of Iran, Division of Harmaceuticals and Narcotic Affairs, Ministry of Health of Iran.

Gill AO and Holley RA, 2006. Disruption of *E. coli*, *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus sakei* cellular membranes by plant oil aromatics. Inernational Journal Food Microbiology 108: 1-9.

Gragg GM, Newman DJ and Sander KM, 1997. Natural products in drug discovery and development. Journal Natural Product 60: 52-60.

Gulluce M, Sahin F, Sokman M, Ozer H, Daferera D and Sokman A, 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. *longifolia*. Food Chemistry 103: 1449-1456.

Haghiroalsadat F, Bernard F, Kalantar SM, Sheikhha MH, Hokmollahi F and Azimzadeh M, 2010. *Bunium persicum (Black Caraway)* of Yazd province: chemical assessment and evaluation of its antioxidant effects. Journal Shaheed Sadoughi University Medicine Science 18: 284-291.

Haghiroalsadat F, Vahidi A, Sabour M, Azimzadeh M, Kalantar M and Sharafadini M, 2010. The indigenous cuminum cyminum L. of yazd province: chemical assessment and evaluation of its antioxidant effects. Journal Shahid Sadoughi University Medicine Science 19: 472-481.

Hajlaoui H, Mighri H, Noumi E, Snoussi M, Trabelsi N, Ksouri R and Bakhrouf A, 2010. Chemical composition and biological activities of Tunisian Cuminum cyminum L. essential oil: a high effectiveness against Vibrio spp. strains. Food Chemical Toxicology 48: 2186-2192.

Hussain AI, Anwar F, Sherazi STH and Przybylski R, 2008. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (Ocimum basilicum) essential oils depends on seasonal variations. Food Chemistry 108: 986-995

Iacobellis NS, Cantore PL, Capasso F and Senatore F, 2007. Antibacterial Activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. Essential Oils. Journal Agriculture Food Chemistry 53: 57-61.

Karaman I, Sahin F, Gulluce M, Ogutcu H and Sengul M, 2003. Addiguzel A. Antimicrobial activity of aqueoua and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. Journal Ethnopharmacology 85: 231-235.

Kitic D, Jovanovic T, Ristic M, Palic R and Stojanovic G, 2002. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Calamintha nepata* (L.) Savi ssp. *glandulosa* (Req.) P.W. Ball from Montenegro. Journal Essential Oil Research 14: 150-152.

Koutsoumanis K, Lambropoulou K and Nychas GJE, 1999. A predictive model for the non-thermal inactivation of salmonella entritidis in a food model system supplemented with a natural antimicrobial. International Journal of Food Microbiology 49: 63-74.

Muret K, Sevgi K, Sengul K, Esra U, Cemalettin B and Fedra V, 2007. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. Food Chemistry 100: 534-526.

Nicola S, Cantore LP, Capasso F and Senatore F, 2005. Antibacterial Activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. Essential Oils. Journal Agriculture Food Chemistry 53: 57–61.

Nikavar B and Abolhasani F, 2009. Screening of antioxidant properties of seven umbellifreae fruits from Iran. Pakistanian Journal Pharmacology Science 22: 30-35.

Sahin F, Karaman I, Gulluce M, Ogutcu H, Sengul M and Adiguzel A, 2002. Evaluation of antimicrobial activities of *Satureja hortensis* L. Journal Ethnopharmacology 87: 61-65.

Souri E, Amin G, Farsam H, Barazandeh Tehrani M. 2008. Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plants extracts. Daru 16: 83-87.

Yadegarinia D, Gachkar L, Rezaei MB, Taghizadeh M, Astaneh SA and Rasooli I, 2006. Biochemical activities of Iranian Mentha piperita L. and Myrtus communis L. essential oils. Phytochemistry 67: 1249-1255.