بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتریایی و ضدکپکی اسانس تفاله حاصل از گلاب‌گیری گل محمدی

سپیده خراسانی[a,b*]، فاطمه شهدادی[c]

[a] استادیار گروه علوم ومهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
[b] پژوهشکده فناوری تولیدات گیاهی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
[c] استادیار گروه علوم ومهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۰۹/۱۴ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۱۰/۲۲
https://dorl.net/dor/20.1001.1.20080123.1401.19.3.3.8 DOI: 10.30495/JFTN.2022.64555.11166

چکیده

مقدمه: گل محمدی یکی از گونه‌های گل رُز، متعلق به خانواده *روزاسه* و نام علمی آن *Rosa damascene* می‌باشد. فرآورده‌های گوناگونی از گل محمدی تهیه می‌شود که از آن جمله می‌توان گلاب، اسانس و عطر را نام برد. در این پژوهش ترکیبات فنولی، فعالیت ضدرادیکالی، ضدباکتریایی (بر علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس*) و ضد کپکی (بر علیه *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس*) اسانس تفاله حاصل از گلاب‌گیری مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: تعیین ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌ترتیب بوسیله روش‌های فولین سیوکالتو و مهار رادیکال آزاد DPPH صورت گرفت. اثر ضد باکتریایی و ضدقارچی اسانس تفاله حاصل از گلاب‌گیری با استفاده از روش رقت سریالی، برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)، حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) و حداقل غلظت قارچ‌کشی (MFC) مورد آزمایش قرارگرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد میزان ترکیبات فنولی۱۱۰/۵۵ میلی‌گرم گالیک اسید/میلی لیتر اسانس و IC_{50}به میزان ۸۲/۵ میکرولیتر بر لیتر بود. با افزایش غلظت اسانس، درصد حذف رادیکال‌های آزاد DPPH افزایش یافت و غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام اسانس دارای ۹۲/۴ درصد فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH بود. در بررسی تاثیر اسانس بر ویژگی‌های میکروبی مشخص شد که بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* اثر مهاری دارد اما در مقایسه با دو آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین و پنی سیلین این اثر مهاری بسیار کمتر بود. اسانس تفاله حاصل از گلاب‌گیری گل محمدی همچنین دارای اثر مهاری خوبی در برابر کپک *آسپرژیلوس فلاووس*بود که برابر با آنتی بیوتیک نیستاتین و بسیار بهتر از آنتی‌بیوتیک فلوکونازول می‌باشد و دارای اثرات مهاری بر علیه کپک *آسپرژیلوس پارازیتیکوس*بود که این اثر مهاری دوبرابر آنتی‌بیوتیک فلوکونازول و نصف آنتی‌بیوتیک نیستاتین می‌باشد.

نتیجه‌گیری: بطور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که اسانس حاصل از تفاله گلاب‌گیری که یک محصول جنبی و ضایعات است دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی مناسبی است و می‌تواند در فرمولاسیون‌های مختلف غذایی استفاده گردد.

واژه‌های کلیدی: *اسانس، تفاله حاصل از گلاب گیری، فعالیت آنتی اکسیدانی، فعالیت ضدمیکروبی*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: khorasany@uk.ac.ir

مقدمه

گل محمدی با نام علمی *Rosa damascena* Mill. و از خانواده گل‌سرخیان است که در مناطق مختلف ایران و جهان برای تولید اسانس و گلاب و غنچه کشت می‌شود و گل ملی ایران است (Kafi and Riazi, 2001; Nikbakht and Kafi, 2004). گل محمدی در اغلب نقاط ایران دیده می‌شود ولیکن به‌منظور تهیه گلاب در وسعت زیاد باغ‌های وسیعی از آن درکاشان، کرمان، تبریز یا فارس ایجاد شده‌است (Mirbaha, 2003; Mozafarian, 2005).

در سال‌های اخیر در استان کرمان بطور میانگین بالغ بر ۳۰۰۰ تن گل محمدی، سالیانه به مراکز گلاب‌گیری حمل می‌گردد که پس از طی مراحل مختلف گلاب‌گیری حدود ۱/۵ تا ۲ برابر این میزان (بدلیل افزودن آب در حین فرایند گلاب‌گیری) ضایعات تولید می‌شود (Kodori and Tabaei-Aghdaei, 2007). آنچه که پس از پایان فرایند گلاب‌گیری به صورت تفاله باقی می‌ماند، بلا استفاده بوده و معمولادر محیط اطراف دفع می‌شود. خشک کردن و اسانس‌گیری از این تفاله می‌تواند باعث افزایش ارزش افزوده آن و جلوگیری از آلودگی‌های زیست محیطی گردد. پژوهش‌های بسیار کمی در رابطه با استفاده مجدد و ترکیب شیمیایی تفاله گل محمدی بعد از گلاب‌گیری صورت گرفته‌است. در پژوهش Alizadeh و Fatahi (۲۰۲۱) میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی پسماند به دست آمده در طول فرآیند اسانس و گلاب‌گیری اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که عصاره متانولی این پسماندها دارای مقادیر قابل توجهی ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی کل بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده نیز نشان داد که نمونه‌های پسماند در روش احیای آهن فعالیتی بین ۱/۳۰-۰/۱۴ میلی‌مول یون آهن بر گرم ماده خشک را دارند. در روش دی‌فنیل‌پیکریل –هیدرازیل، آنها ۷۱-۱۷ درصد از رادیکال‌های آزاد را غیرفعال کردند. در مطالعه Jaimand و همکاران (۲۰۱۱) میزان تانن تفاله بعد از گلاب‌گیری ۲۱ اکسشن گل محمدی از ۱۲ استان کشور بررسی گردید و مشخص شد که تفاله گلاب‌گیری میزان قابل توجهی تانن دارد و می‌توان تانن آن را استخراج کرد و در صنایع غذایی و دارویی از آن استفاده کرد. در پژوهشی ترکیبات شیمیایی بقایای بعد از گلاب‌گیری تعیین شد. نتایج نشان داد که میزان ماده آلی،پروتئین خام، الیاف خام، چربی خام و NDF (فیبر محلول در شوینده خنثی) در تفاله گلاب‌گیری، بر اساس ماده خشک، به ترتیب ۹۴/۴، ۱۱، ۲۴، ۲/۴، ۵۷/۳ درصد و انرژی خام ۴۵۲۵ کالری بر گرم بود. غلظت عناصر معدنی پر نیاز شامل: کلسیم ، فسفر و منیزیم، بهترتیب ۰/۸۴، ۰/۱۴ و ۰/۸ درصد و عناصر معدنی کم نیاز شامل: آهن و مس به ترتیب ۲۵۰ و ۸/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک بود (Fazaeli *et al*., 2006). Khorami و همکاران (۲۰۱۱) نیز ترکیب شیمیایی، قابلیت هضم و تجزیه‌پذیری تفاله گل محمدی تاثیر آن بر تعادل ازت در نشخوارکنندگان رو مورد بررسی قرار دادند و میزان ماده خشک، پروتئین خام، خاکستر خام، چربی خام، ترکیب فنولی قابل استخراج، تانن کل، کلسیم و فسفر آن به به ترتیب ۹۶، ۱۲/۵، ۶/۵، ۱/۸، ۲/۷، ۱/۳، ۱/۱ و ۰/۱ درصد گزارش نمودند. تاکنون مطالعه ای در زمینه استخراج اسانس از تفاله حاصل از گلاب‌گیری و بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی آن انجام نشده‌است، بنابراین هدف این مطالعه بررسی ترکیبات فنولی، فعالیت ضدرادیکالی، ضدباکتریایی و ضدکپکی اسانس تفاله حاصل از گلاب‌گیری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

- آماده‌سازی نمونه گیاهی و اسانس‌گیری

در فصل گلاب‌گیری حدود ۲۰ کیلو تفاله تر گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.) ازلاله‌زار بردسیر تهیه و به مدت ۵ روز در سایه خشک شد. نمونه‌های خشک‌شده با دستگاه کلونجر و به‌روش تقطیر آب به‌مدت ۳ ساعت اسانس‌گیری گردید. اسانس حاصله با افزودن سولفات سدیم جهت حذف رطوبت، آبگیری شد و تا زمان آزمایشات مربوطه، در شیشه تیره و در یخچال نگهداری گردید (Borzuo *et al*.,2016). بازده اسانس ۰/۰۸ درصد نسبت به وزن خشک نمونه بود.

- تعیین ترکیبات فنولی اسانس

میزان کل ترکیبات فنولی توسط رنگ‌سنجی به‌وسیله روش فولین–سیوکالتو مورد بررسی قرار گرفت (Alizadeh and Fatahi, 2012). میزان ۵ میکرولیتر از اسانس با

۱۸۰میکرولیتر آب مقطر مخلوط شد. سپس ۱۲۰۰ میکرولیتر معرف فولین–سیوکالتو (۱۰ درصد) به محلول فوق اضافه گردید. بعد از گذشت زمان ۵ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم (۷/۵ درصد) اضافه و نمونه‌ها بعد از هم‌زدن با شیکر لوله‌ای به مدت ۳۰ دقیقه در جای تاریک نگه‌داری شد و سپس جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتردر طول‌موج ۷۶۰ نانومتر قرائت گردید. مقدار کل ترکیبات فنولی از معادله خط رسم شده بر مبنای اسیدگالیک و به صورت میلی‌گرم گالیک‌اسید در میلی‌لیتر اسانس براساس فرمول زیر بیان شد:

فرمول (۱): $Y=0.004X+0.0315 \quad R^2=0.996$

Y: غلظت بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، X: جذب در طول موج ۷۶۰ نانومتر.

- اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH، مقادیر مشخصی اسانس رقیق‌شده بوسیله متانول (۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) در لوله آزمایش ریخته شد. سپس ۲۰۰۰ میکرولیتر محلولDPPH (۰/۰۰۶گرم DPPH در ۱۵۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد) اضافه گردید. محلول حاصل هم‌زده و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. رنگ مخلوط از بنفش تیره به بنفش روشن و زرد تغییر کرد. جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد (Nakajima *et al.*, 2004). درصد بازدارندگیDPPH نمونه‌ها با چهار غلظت رسم شد و ۵۰ درصد غلظت بازدارندگی (IC_{50}) از نمودار حاصل از نمودار به‌دست آمد.

فرمول (۲):

$$\text{درصد بازداری از DPPH} = \frac{\text{درصد جذب شاهد} - \text{درصد جذب نمونه}}{\text{درصد جذب شاهد}} \times ۱۰۰$$

- تعیین فعالیت باکتریایی اسانس

اثر ضد باکتریایی اسانس تفاله حاصل از گلاب‌گیری با استفاده از روش رقت سریالی، برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC[1]) و حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC[2]) مورد آزمایش قرار گرفت. باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 25923) و *باسیلوس سوبتیلیس* (ATCC ATCC 6051) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در محیط کشت مولر هینتون براث رشد کردند و در همان محیط رقیق شدند. رقت‌های سریالی یک برابری به صفحات میکروتیتر در حجم ۱۰۰ میکرولیتر و به دنبال آن ۱۰۰ میکرولیترباکتری اضافه شد تا تلقیح نهاییCFU/ml 10^5 به دست آمد. پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند و MIC ها تعیین گردید. سپس، ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه تست غلظت بازدارندگی۲۴ ساعته (MIC چاهک) و غلظت‌های بیشتر آن در محیط مولر هینتون آگار کشت و در دمای۳۷ درجه سانتی‌گراد برای تعیینMBC قرار داده‌شدند. مقادیر MIC و MBC بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش گردید. با توجه به نسبتMBC/MIC، فعالیت ضد باکتریایی ارزیابی شد. اگر نسبت MBC/MIC کمتر یا مساوی با ۴ باشد، اثر به عنوان باکتری‌کش، اما اگر نسبت MBC/MIC بیشتر از ۴ باشد، اثر باکتریواستاتیک (مهارکننده باکتری) در نظر گرفته‌می‌شود (Ghavam *et al.*, 2021).

- تعیین فعالیت ضدکپکی اسانس

اثر ضد قارچی اسانس با استفاده از روش قت سریالی، برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت قارچ‌کشی (MFC) مورد آزمایش قرار گرفت. کپک‌های *آسپرژیلوس فلاووس* (ATCC 24109) و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* (ATCC 28285) در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در محیط کشتSDB[3] رشد کردند و در همان محیط رقیق شدند. رقت‌های سریالی یک برابری به صفحات میکروتیتر در حجم ۱۰۰ میکرولیتر و به دنبال آن ۱۰۰ میکرولیتر قارچ اضافه شد تا تلقیح نهایی 10^5 اسپور به دست آید. کنترل مثبت بدون نمونه و کنترل منفی با محیط به تنهایی برای هر مجموعه آزمایش در نظر گرفته‌شد. پلیت‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند و MIC ها تعیین گردید. سپس،

[1] Minimum Inhibitory Concentration
[2] Minimum Bactericidal Concentration
[3] Sabouraud Dextrose Broth

۱۰۰ میکرولیتر از نمونه تست غلظت بازدارندگی ۴۴ ساعته (MIC چاهک) و غلظت‌های بیشتر آن در محیط SDA[1] کشت و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در تاریکی برای تعیینMFC قرار داده‌شدند. مقادیر MIC و MFC[2] بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش گردید.با توجه به نسبت MFC/MIC، فعالیت ضدکپکی ارزیابی شد. اگر نسبت MFC/MIC کمتر یا مساوری با ۴ باشد، اثر به عنوان قارچ‌کش، اما اگر نسبت MFC/MIC بیشتر از ۴ باشد، اثر فانجیواستاتیک (مهارکننده قارچ) در نظر گرفته می‌شود (Halvani *et al*.,2014).

- تجزیه و تحلیل آماری

نتایج در قالب طرح کاملا تصادفی، با استفاده از نرم افراز SPSS: 24 آنالیز شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد صورت گرفت.

یافته‌ها

اسانس بدست‌آمده از تفاله حاصل از گلاب‌گیری، به رنگ زرد کم رنگ و با بوی ویژه گل محمدی و بازده آن ۰/۰۸ درصد نسبت به وزن خشک گیاه بود.

- فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس

جدول ۱ میزان ترکیبات فنولی و IC_{50} اسانس تفاله حاصل از گلاب‌گیری را نشان می‌دهد.

نتایج جدول ۲ نشان می‌دهد که با افزایش غلظت، درصد حذف رادیکال‌های آزاد DPPH افزایش می‌یابد.

- فعالیت ضدباکتریایی اسانس

در جدول ۳ مقادیر MIC و MBC اسانس بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* نشان داده شده است. مطابق نتایج این جدول، فعالیت مهاری اسانس بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* بسیار کمتر از دو آنتی بیوتیک استرپتومایسین و پنی سیلین است. با توجه به نسبت MBC/MIC که (برای هر دو باکتری کمتر از ۴ است)، فعالیت ضدباکتریایی این اسانس بر علیه دو باکتری مورد مطالعه به عنوان باکتری‌کش تعریف می‌گردد.

- فعالیت ضدکپکی اسانس

نتایج جدول ۴ نشان می‌دهد که اسانس تفاله حاصل از گلاب‌گیری گل محمدی دارای اثر مهاری خوبی در برابر کپک *آسپرژیلوس فلاووس* است که برابر با آنتی بیوتیک نیستاتین و بسیار بهتر از آنتی‌بیوتیک فلوکونازول می باشد. همچنین نتایج جدول ۴ حاکی از آن است که اسانس مورد مطالعه دارای اثرات مهاری خوبی بر علیه کپک *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* است که این اثر مهاری دوبرابر آنتی‌بیوتیک فلوکونازول می‌باشد و در مقایسه با آنتی‌بیوتیک نیستاتین این اثر بسیار کمتر (حدود نصف) است. با توجه به نسبت MFC/MIC که (برای هر دو کپک کمتر و مساوی با ۴ است)، فعالیت ضدقارچی این اسانس بر علیه دو کپک مورد مطالعه به عنوان قارچ‌کش تعریف می‌گردد.

جدول ۱- میزان ترکیبات فنولی و IC_{50} اسانس تفاله حاصل از گلاب‌گیری

Table 1- Total phenolic compounds and IC_{50} of essential oil from rose water production residues

	IC_{50}(µl/l)	Total phenolic content (mg gallic acid/ml essential oils)
Essential oil from rose water production residues	82.5±3.2	110.55±8.5

جدول ۲- درصد بازداری از رادیکال آزاد DPPH غلظت‌های مختلف اسانس

Table 2- Percentage of DPPH free radical scavenging from different concentrations of essential oil

Essential oil (µl/l)	DPPH free radical scavenging (%)
50	35.8^{e*}±1.4
100	58.7^{d}±2.2
250	69.6^{c}±1.5
500	81.5^{b}±2.7
1000	92.4^{a}±1.8

* Numbers with different letters are statistically significant (P <0.05)

[1] Sabouraud Dextrose Agar

[2] Minimum fungicide concentration

جدول ۳- اثر ضدباکتریایی اسانس تفاله حاصل از گلاب‌گیری بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس*

Table 3- Anti-Bacterial effect of essential oil from rose water production residues against *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*

	Staphylococcus aureus			*Bacillus subtilis*		
Samples	MIC (µg/mL)	MBC (µg/mL)	MBC/MIC	MIC (µg/mL)	MBC (µg/mL)	MBC/MIC
Essential oil	250[a*]	500[a]	2	62.5[a]	62.5[a]	1
Streptomycin	31.25[b]	31.25[b]	1	15.625[b]	15.625[b]	1
Penicillin	0.97[c]	0.97[c]	1	3.9[c]	3.9[c]	1

* In each column, Numbers with different letters are statistically significant (P <0.05)

جدول ٤- اثر ضدکپکی اسانس تفاله حاصل از گلاب‌گیری بر کپک‌های *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس*

Table 4 - Anti-Bacterial effect of essential oil from rose water production residues against *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*

	flavus Aspergillus			*parasiticus Aspergillus*		
Samples	MIC (µg/mL)	MFC (µg/mL)	MFC/MIC	MIC (µg/mL)	MFC (µg/mL)	MFC/MIC
Essential oil	15.625[b*]	62.5[b]	4	15.625[b]	31.5[b]	2
Streptomycin	15.625[b]	31.25[c]	2	7.8[c]	15.625[c]	2
Penicillin	62.5[a]	125[a]	2	31.25[a]	62.5[a]	2

* In each column, Numbers with different letters are statistically significant (P <0.05)

بحث

- فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس تفاله حاصل از گلاب‌گیری

تاکنون مطالعه‌ای در زمینه تعیین ترکیبات فنولی کل اسانس حاصل از تفاله گلاب‌گیری انجام نشده است ولی مطالعات مختلف بر روی اسانس گلبرگ‌های گل محمدی، میزان ترکیبات فنولی اسانس را متفاوت گزارش نموده‌اند.در پژوهش حاضر میزان ترکیبات فنولی اسانس تفاله حاصل از گلاب‌گیری ۱۱۰/۵۵ میلی‌گرم گالیک اسید/میلی لیتر اسانس بدست آمد. در مطالعه Mohamadi و همکاران (۲۰۱۹) میزان ترکیبات فنولی کل اسانس گل محمدی ۳۲/۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه گزارش شد که بسیار بیشتر از پژوهش حاضر است. Dehghan Bidgoli و همکاران (۲۰۱۷) میزان ترکیبات فنولی گل محمدی را با روش‌های آبیاری و نوع کوددهی مختلف در محدوده ۲۲۰–۱۱۵ میلی‌گرم معادل اسیدگالیک در میلی‌لیتر گزارش نمودند که میزان ترکیبات فنولی در مطالعه حاضر نزدیک به مقدار حد پایین (آبیاری غرقابی) مطالعه ایشان بود. در مطالعه‌ای دیگر میزان ترکیبات فنولی کل اسانس گلبرگ گل محمدی ۲۳۳/۵۶ میلی‌گرم معادل گالیک‌اسید بر گرم وزن خشک نمونه بود (Gokturk and Baydar, 2013).

در این مطالعه با افزایش غلظت اسانس درصد حذف رادیکال آزاد افزایش یافت. در غلظت‌های بالاتر اسانس، میزان ترکیبات فنولی به دلیل افزایش گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهدای هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی نیز افزایش می‌یابد. گزارش شده که غلظت اسانس‌ها و عصاره‌ها رابطه مستقیمی با میزان ترکیبات فنولی دارد و ترکیبات فنولی نیز تأثیر معناداری بر درصد مهار رادیکال آزاد دارند (Shahdadi *et al*., 2021; Ghorbani *et al*., 2018). Alizadeh و Fatahi (۲۰۲۱) در مطالعه ترکیبات فعال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پسماند باقی‌مانده از اسانس و گلاب‌گیری ۲۴ جمعیت گل محمدی آذربایجان شرقی و غربی، درصد حذف رادیکال‌های آزاد را بین ۷۱–۱۷ درصد گزارش کردند که کمتر از مقادیر بدست آمده در پژوهش ما بود. در مطالعه‌ای دیگر میزان مهار رادیکال آزاد DPPHدر نمونه‌های مختلف اسانس گل محمدی در محدوده ۹۷/۶–۲۹/۸۷ درصد گزارش شد (Dehghan Bidgoli, 2017) که در تطابق با نتایج ما بود.

در مطالعه حاضر میزان IC_{50} اسانس برابر با ۸۲/۵ میکرولیتر بر لیتر بود. در آزمایش Mohamadi و همکاران (۲۰۱۹) درصد بازدارندگی از رادیکال آزاد DPPH در غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برابر با ۵۳/۵ درصد بودکه در مقایسه با تحقیق حاضر بسیار بیشتر بود. Yassa و همکاران (۲۰۰۹) میزان IC_{50} اسانس گل محمدی استان گیلان را حدود ۳/۵

میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند که در مقایسه با آنتی‌اکسیدانی سنتزی BHA بسیار کم‌تر بود.

دریک پژوهش، Khademi و Mardani Nejad (۲۰۱۵) محتوای فنولی کل گلبرگ گل محمدی و غلظت مهار ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH به‌ترتیب ۱۳/۸۸ میلی‌گرم معادل گالیک‌اسید بر گرم وزن خشک نمونه و ۱۵۶/۷۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. در مطالعه ایشان نیز با افزایش غلظت درصد مهار رادیکال آزاد DPPH افزایش یافت.

در مطالعه Ozkan و همکاران (۲۰۰۴) عصاره‌های الکلی گلبرگ‌های تازه و گلبرگ‌های اسانس‌گیری شده به‌ترتیب حاوی ۲۷۶/۲ و ۲۴۸/۹۷ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم نمونه بودند. در غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام این عصاره‌های درصد جذب رادیکال آزاد DPPH به‌ترتیب ۷۵/۹۴ و ۷۴/۵۱ درصد بود. نتایج آن‌ها نشان داد عصاره گلبرگ تازه دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به عصاره گلبرگ‌ها بعد از فرایند اسانس گیری بود.

- فعالیت ضدمیکروبی اسانس تفاله حاصل از گلاب‌گیری

در پژوهش حاضر اسانس تفاله حاصل از گلاب‌گیری فعالیت ضدباکتریایی و ضدقارچی از خود نشان داد. تاکنون پژوهشی در زمینه اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی اسانس باقیمانده‌های حاصل از گلاب‌گیری منتشر نشده‌است. اما در تحقیقات مختلف گزارش شده است که در اسانس گل محمدی ترکیباتی متعددی وجود دارند که می‌توانند خواص ضدمیکروبی قوی داشته باشند از جمله این ترکیبات می‌توان به سیترونلال[1] (ضدباکتری)، سیترونلول[2] (ضدباکتری و ضدکپک و ضدقارچ‌هایی که میسیلیوم تولید می‌کنند)، جرانیال[3]، جرانیول[4]، نرال[5]، نرول[6] (ضدباکتری)، فنیل اتیل الکل (مهارکننده رشد باکتری‌ها و از بین برنده قارچ‌ها، در برابر میکورارگانیسم‌های گرم مثبت و گرم منفی بسیار فعال است) و غیره اشاره کرد(Rao *et al*., 2000; Babu *et al*., 2002). همچنین، اثرات ضدقارچی اسانس گل محمدی می‌تواند مربوط به ترکیبات فعال اکسیژن‌دار مانند لینالول باشد (Halawani *et al*., 2014).

در مطالعه‌ای Ozkan و همکاران (۲۰۰۴) فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌های الکلی گلبرگ تازه و گلبرگ‌های اسانس‌گیری شده گل محمدی را بر علیه طیف وسیعی از باکتری‌ها مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد هر دو عصاره خاصیت ضدباکتریایی بسیار خوبی در برابر باکتری‌های مورد مطالعه از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* نشان دادند.

Shohayeb و همکاران (۲۰۱۴) در پژوهشی اثرات ضد میکروبی و ضدقارچی گل محمدی را بررسی کردند که نتایج پژوهش نشان دهنده‌ی حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی نسبت به اسانس گل محمدی بود. در مطالعه ایشان MIC و MBC اسانس گل محمدی در برابر باکتری‌های *باسیلوس سوبتیلیس* به ترتیب ۰/۲۵ و ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌ترتیب ۰/۲۵ و ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. همچنین اثرات مهاری اسانس گل محمدی بر رشد کپک‌های *آسپرژیلوس نیجر* و *پنی سیلیوم کریزوژنوم* مشاهده شد. Gholami و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره اتانولی گل محمدی به میزان ۲۵ میلی‌گرم/میلی‌لیترمی‌باشد. عصاره آبی گل محمدی نسبت به باکتری مورد مطالعه فاقد خاصیت ضد میکروبی بوده‌است. Mohammadi و همکاران نیز در بررسی خواص ضدباکتریایی اسانس گل محمدی، در آزمایش انتشار در دیسک با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، قطر هاله‌ی مهاری اسانس گل محمدی علیه پاتوژن‌های*استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی* را به ترتیب ۳۰/۵ و ۲۵/۲ میلی‌لیتر گزارش کردند.

نتایج یک پژوهش نشان داد که اسانس گل محمدی اثرات مهاری زیادی در برابر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیس*، *استرپتوکوکوس پیوژنز* و *باسیلوس سوبتیلیس* داشت. همچنین دارای اثر مهاری و کشنده قابل توجهی در برابر قارچ‌های *آسپرژیلوس برازیلینسیس* و *کاندیدا آلبیکانس* (MIC وMBCحدود۱۲۵ میکروگرم/میلی‌لیتر)، که معادل آنتی بیوتیک نیستاتین (حدود ۱۲۵ میکروگرم/میلی‌لیتر) بود (Ghavam *et al*.,

[1] Citronellal [2] Citronellol [3] Geranial [4] Geraniol [5] Neral [6] Nerol

2021). بررسی فعالیت ضد باکتریایی اسانس گل محمدی در شرایط آزمایشگاهی با آزمایش انتشار دیسک بر علیه *اشریشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* نشان داد که این اسانس دارای فعالیت ضد میکروبی زیادی بر علیه *استافیلوکوکوس اورئوس*می‌باشد (Andogan *et al*., 2002).

نتیجه‌گیری

بطور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که اسانس تفاله حاصل از گلاب‌گیری گل محمدی به عنوان یک فراورده جانبی و ضایعات بلا استفاده در صنعت گلاب‌گیری، دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی به ویژه ضدکپکی مناسبی است و می تواند در فرمولاسیون‌های غذایی و درمان‌های دارویی به عنوان یک فرآورده سودمند مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

Alizadeh, Z. & Fattahi, M. (2012). Essential oil, total phenolic, flavonoids, anthocyanins, carotenoids and antioxidant activity of cultivated Damask Rose (*Rosa damascena*) from Iran: With chemotyping approach concerning morphology and composition. Scientia Horticulturae, 288, 1-14.

Alizadeh, Z. & Fattahi, M. (2021). Study of active compounds and antioxidant activity of essential oil residues and pollination of 24 Mohammadi flower populations in East and West Azerbaijan: By-product. Journal of Plant Research, 26 (2): Online Publishing [In Persian].

Andogan B. C., Baydar, H. & Kaya, S. (2002). Antimicrobial activity and chemical composition ofsome essential oils. Archives of Pharmacal Research, 25, 860–4.

Babu K. G. D., Singh B., Jushi V. P. & Singh, V. (2002). Essential oil composition of Damask rose (*Rosadamascena* Mill) under different pressure and temprature. Flavour and Fragrance Journal 17, 136-140.

Dehghani Bidgoli, R., Abdollah Pour, Z. & Akhbari, M. (2017). The effect of two irrigation methods and two types of fertilizer on phenolic compounds and antioxidant activity of rosemary extract. Journal of Medicinal Plants Ecophytochemistry, 19 (3), 13-1[In Persian].

Ghavam, M., Afzali, A. & LetiziaManca, M. (2021). Chemotype of damask rose with oleic acid (9 octadecenoic acid) and its antimicrobial effectiveness. Scientific Reports, 11, 1-7.

Gholami, S., Rahimpour Jahani, H., Abadi Bakhsh, N. & Besharti, R. (2019). Antimicrobial effect of different extracts of *Rosa damascena* on *E. coli*. Journal of North Khorasan University of Medical Sciences, 11 (3), 1-4[In Persian].

Gokturk, N. & Baydarb, H. (2013). Phenolic compounds, antiradical activity andantioxidant capacity of oil-bearing rose (*Rosa damascena* Mill.) extracts. Industrial Crops and Products ,41, 375–380.

Halawani, E. M. (2014). Antimicrobial activity of Rosa damascena petals extracts and chemical composition by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) analysis. African Journal of Microbiology Research, 24, 2359–2367.

Khademi, S. & MardaniNejad, S. (2015). Investigation of antioxidant activity of some dark rose plants as a substitute for synthetic antioxidants in food industry. Food Science and Nutrition, 12 (2), 40-33[In Persian].

Mohammadi, S., Hosseini, P. & Faizi, S. (2019). Investigation of antioxidant and antibiotic properties of Golmohammadi essential oil, the 2nd Annual Tabari Student National Congress and the 22nd Annual Congress of the Student Research Committee of Mazandaran University of Medical Sciences, Sari[In Persian].

Nikajima, J., Tanaka, I., Seo, S., Yamazaki, M. & Saito, K. (2004). LC/PDA/ESI/MS profiling and radical scavenging of various berries. BioMed Research International, 12, 241-247.

Ozkan, G., Sagdiç O., Baydar N.G. & Baydar, H. (2004). Antioxidant and Antibacterial Activities of Rosa Damascena Flower Extracts. Food Science and Technology International, 10(4), 24-32.

Rao, B. R. R., Sastry, K. P., Saleem, S. M., Rao, E. V. S., Symasundra, K. V. & Ramesh, S. (2000). Volatile flower oils of three genotypes of rose scented geranium. Flavour and Fragrance Journal, 15, 105-109.

Shohayeb, M., Abdel-Hameed, E. S., Bazaid, S. A. & Maghrabi, I. (2014). Antibacterial and antifungal activity of Rosa damascenaMILL.essential oil, different extracts of rose petals. Global Journal of Pharmacology, 8(1), 1-7.

Kodori, M. R. & Tabaei-Aghdaei, S. R. (2007). Evaluation of flower yield and yield components in nine *Rosa damascena* Mill. Accessions of Kerman Province. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 23(1), 100-110.

Yassa, N., Masoomi, F., RohaniRankouhi, S. E. & Hadjiakhoondi, A. (2009). Chemical Composition and Antioxidant Activity of the Extract and Essential oil of *Rosa damascena* from Iran, Population of Guilan. DARU, 17(3), 175-161.

Yousefi, B., Qasempour, H.R., Yousefi, B., TabaieAghdi, S. R. & Jaymand, K. (2016). Investigation of diversity in chemical compositions

of essential oil 25 Mohammadi flower cultivation cultivated in Kermanshah province using multivariate statistical methods. Iranian Medicinal and Aromatic Plants Research, 32 (1), 114-98[In Persian].

Evaluation of Antioxidant, Antibacterial, and Anti-Fungal Effects of Rose Water Production Residues Essential Oil

S. Khorasani [a, b *], F. Shahdadi [c]

[a] Assistant Professor of the Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

[b] Research and Technology Institute of Plant Production (RTIPP), Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

[c] Assistant Professor of the Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran

Received: 5 December 2021 Accepted: 2 January 2022

Abstract

Introduction: Damask rose is one of the rose species belonging to the Rosaceae family and its scientific name is *Rosa damascene*. Various products are prepared from Damask rose, including rose water, essential oil and perfume. In this study, phenolic compounds, anti-radical, antibacterial (against *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*) and anti-fungal activity (against *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*) of the essential oil obtained from residues of the rose water production were studied.

Materials and Methods: Phenolic compounds and antioxidant activity were determined by Folin- Ciocâlteu and DPPH free radical scavenging methods, respectively. The antibacterial and antifungal effect was tested using the serial dilution method to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC), Minimum Bactericidal Concentration (MBC), and Minimum Fungicidal Concentration (MFC).

Results: The results showed that the amount of phenolic compounds was 110.55 mg gallic acid/ml of essential oil and IC_{50} was 82.5 µl/l. By increasing the concentration of essential oil, the percentage of scavenging of DPPH free radicals increased and the concentration of 1000 ppm of essential oil had 92.4% of free radical scavenging activity of DPPH. In case study of anti-microbial properties, it was found that it has an inhibitory effect on *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*, but this inhibitory effect was much less compared to the two antibiotics streptomycin and penicillin. The essential oil also had a good inhibitory effect against *Aspergillus flavus*, which is equivalent to the nystatin and much better than the fluconazole, and had inhibitory effects against *Aspergillus parasiticus*. Inhibition is twice that of the antibiotic fluconazole and half that of the antibiotic nystatin.

Conclusion: In general, the results of this study indicated that the essential oil of rose water production residues, which is a by-product and waste, has good antioxidant and antimicrobial activity and can be used in various food formulations.

***Keywords*:** *Antimicrobial Activity, Antioxidant Activity, Essential Oil, Rose Water Production Residues*.

* Corresponding Author: khorasany@uk.ac.ir