تعیین ترکیبات شیمیایی و خاصیت ضد میکروبی اسانس ریشه شلغم شیرازی در شرایط آزمایشگاهی

خلیل بهنام[1]، علی محمدی ثانی[1*]، مهرناز اسماعیل پور[2]

۱. باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران.

۲. گروه علوم وصنایع غذایی، واحد فسا ، دانشگاه آزاد اسلامی، فسا، ایران.

***نویسنده مسئول:** *mohamadisani@ yahoo.com*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۲/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۵/۱۱

چکیده

هدف از این مطالعه تعیین ترکیب شیمیایی و خاصیت ضد میکروبی اسانس ریشه شلغم شیرازی در فارس، ایران بود. اسانس ریشه شلغم شیرازی به روش تقطیر با آب به کمک دستگاه کلونجر استخراج و آنالیز اسانس توسط کروماتوگرافی گازی، جرمی منجر به شناسایی ۱۶ ترکیب گردید. اصلی‌ترین ترکیبات شامل متیل کاویکول با بالاترین درصد (۳۲/۳۱ درصد)، ترنس آنتول (۱۹.۵۸ درصد)، لینالول (۱۵.۴۶ درصد)، آلفا پینین (۹.۲۸ درصد)، آلفا توجون (۶/۵۹ درصد) و بتا پینین (۳/۳۴ درصد) بودند. به منظور ارزیابی خاصیت ضد میکروبی اسانس از دو روش میکرودایلوشن و انتشار دیسک استفاده گردید. یافته‌های تحقیق نشان داد که اسانس گیاه شلغم شیرازی دارای اثر قابل توجهی در کاهش رشد باکتری‌های مورد آزمون بوده است. اگرچه اسانس حاصل حداقل غلظت بازدارندگی کمی (۲.۵ میلی گرم بر میلی لیتر) روی باکتری *اشرشیاکلی* داشت اما در مقابل باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بالاترین تاثیر (حداقل غلظت بازدارندگی ۰.۶۲۵ میلی گرم بر میلی-لیتر) را از خود نشان داد. نتایج ارائه شده در این تحقیق، نشان دهنده خاصیت ضد باکتریایی اسانس ریشه شلغم شیرازی می‌باشد، بنابراین می توان از اسانس ریشه این گیاه به عنوان یک منبع بالقوه از یک ماده ضد میکروبی فعال برای صنعت غذا استفاده نمود.

واژگان کلیدی: خاصیت ضد میکروبی، اسانس، ترکیب شیمیایی، شلغم شیرازی.

مقدمه

بیماری‌های حاصل از مصرف غذاهای آلوده به باکتری‌های بیماریزا از اهمیت فراوانی در بهداشت عمومی برخوردار بوده و سالانه خسارات مالی وجانی فراوانی را به جوامع تحمیل می‌نماید (Sharon., 2001). در سال ۱۹۹۹ مرکز کنترل و پیش گیری بیماری‌ها اعلام کرد که سالانه ۷۶ میلیون نفر در ایالات متحده بر اثر میکروب‌های بیماریزا با منشاء مواد غذایی بیمار می‌شوند. چنین بیماری‌هایی سالانه منجر به ۲۲۵۰۰۰ مورد بستری در بیمارستان و ۵۰۰۰ مورد مرگ می‌گردند (Oussalah et al., 2007). مطابق ارزیابی دپارتمان کشاورزی ایالات متحده (USDA) هزینه‌های پزشکی و زیان‌های ناشی از دورریزی مواد غذایی ایجاد کننده بیماری غذایی در حدود ۶.۵ تا ۳۴.۹ بیلیون دلار در هر سال است (Vahidi et al., 2002). یکی از راه‌های کنترل رشد باکتری‌های بیماریزا در مواد غذایی استفاده از نگهدارنده‌ها و ترکیبات شیمیایی می باشد. افزودن مواد شیمیایی به منظور نگهداری مواد غذایی معمولا بر مبنای جلوگیری از رشد میکروبی و یا کشتن و از بین بردن گروه-هایی از میکروارگانیسم‌های مضر می‌باشد. با توجه به نگرانی‌های عمومی در خصوص عوارض نگهدارنده‌های شیمیایی تمایل به مصرف محصولاتی است که فاقد نگهدارنده بوده و یا در آنها از نگهدارنده‌های طبیعی استفاده شده است. به همین دلیل در سال‌های اخیر مطالعات زیادی پیرامون نگهدارنده‌های طبیعی صورت گرفته است. از جمله این نگهدارنده‌ها اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی می‌باشند (Canillac and Mourey, 2001). اسانس‌های گیاهی، مخلوط‌های کمپلکسی از ترکیبات فرار تولید شده ارگانیسم-های زنده بوده که توسط روش‌های فیزیکی چون عصاره-گیری و تقطیر از همه گیاه، یا بخش‌هایی از گیاه بدست

می‌آیند. اسانس‌های گیاهی ترکیبات معطر، آب گریز، تغلیظ شده و فراری هستند که در سلول‌ها و کرک‌های ترشحی منفرد یا مجتمع، غده‌های ترشحی، مجاری ترشحی در قسمت‌های سطحی و درونی اندام‌های مختلف از جمله: برگ، گل، میوه، جوانه و شاخه‌های گیاهان وجود دارند (Tajkarim et al., 2010). البته عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهان دارویی و اجزای تشکیل دهنده آنها دارای اثرات شناخته شده ضد باکتریایی می‌باشند (Canillac and Mourey, 2001). همچنین عصاره و اسانس‌های گیاهی بدست آمده از گیاهان معطر علاوه بر داشتن خاصیت ضد باکتریایی، دارای خاصیت ضد قارچی، ضد اکسایشی و ضد سرطانی بوده و قادر هستند رشد پاتوژن‌ها و تولید سم توسط ریزسازواره‌ها را کنترل کنند (Tajkarim et al., 2010). اسانس‌های استخراج شده از گیاهان علاوه بر خواص توضیح داده شده به طور گسترده‌ای در صنایع عطر سازی ، صنایع دارویی، آرایشی و به عنوان نگهدارنده طبیعی مواد غذایی کاربرد دارند(Olajuyigbo and Ashafa, 2014).

در این مطالعه خواص ضد باکتریایی اسانس ریشه گیاه شلغم بر روی تعدادی از باکتری‌های بیماریزای غذایی مورد بررسی قرار گرفته است. گیاهان خانواده *Brassicacea* به طور گسترده‌ای در سراسر جهان کشت داده شده و مورد استفاده قرار می‌گیرند. شلغم گیاهی از خانواده شبو بوده و نوع گیاه بصورت بوته است. شلغم گیاهی با برگ‌های ناصاف و بریدگی‌های زیادی به رنگ سبز و سفید است. ریشه آن غده‌ای و به شکل‌های گرد یا دراز به رنگ سفید با لکه‌های بنفش است. شلغم در هوای سرد بسیار خوب رشد می‌کند و شاید علت آن باشد که که برای درمان بیماری‌هایی که در فصل سرما زیاد است و بیماری‌های تنفسی بکار می‌رود. قسمت‌های قابل استفاده آن شامل: غده (ریشه)، برگ و دانه می‌باشد. ویتامین‌ها، املاح (آهن)، روغن فرار، راپین و گلوکوزینولات از مهمترین مواد موثر دارویی شلغم هستند (Sasaki and Takahashi, 2002). شلغم دارای ترکیبات بیولوژیک فعالی نظیر: ۱- فلاوونوئیدها شامل ایزو رامنتین، کیمپفرول و گلوکوزیدهای کوئرستین ۲- مشتقات فنیل پروپانوئید (Romani et al., 2006)، ۳- آلکالوئیدهای ایندول ۴- گلوکوزیدهای استرول(Schonhof et al., 2004) می‌باشد. فلاوونوئیدها دارای اثرات بسیار مفیدی بخصوص در بیماری دیابت هستند (Sasaki and Takahashi, 2002). بنابراین هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی خاصیت ضد باکتریایی و شناسایی ترکیبات موجود در اسانس گیاه شلغم شیرازی در شرایط آزمایشگاهی بود.

مواد و روش کار

تهیه گیاه و استخراج اسانس

گیاه شلغم در پاییز ۱۳۹۳ از شهر شیراز خریداری گردید. پس از جداکردن شلغم‌های نامرغوب و شسته شدن، ریشه گیاه به قطعات کوچک تبدیل شد. جهت تهیه اسانس ریشه خشک شده را در آسیاب برقی پودر و توزین کرده، سپس ۱۰۰ گرم از پودر را داخل دستگاه کلونجر ریخته و به مدت ۴ ساعت به روش تقطیر با آب و با دستگاه کلونجر مدل آپاراتوس اسانس‌گیری انجام شد. پس از آب‌گیری از محصول به وسیله سولفات سدیم بدون آب، اسانس به دست آمده در ظروف شیشه‌ای تیره رنگ و دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد (Diao et al., 2013).

تهیه میکروارگانیسم‌های مورد آزمون

چهار گونه باکتریایی مورد آزمون در این تحقیق شامل *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC 1431)، *باسیلوس سرئوس*(PTCC 1212)، *سالمونلا تیفی موریوم* (PTCC 1074) و *اشرشیا کلی* (PTCC 1330) که این میکروارگانیسم‌ها از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های ایران مربوط به سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه گردیدند.

بررسی خاصیت ضد میکروبی اسانس

بررسی خاصیت ضد میکروبی اسانس ریشه شلغم شیرازی به دو روش انتشار دیسک برای تعیین هاله عدم رشد و رقیق-سازی در براث برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) انجام شد.

روش انتشار دیسک

از آنجایی که در این تکنیک تعداد باکتری تلقیح شده یکی از مهم‌ترین متغیرهایی است که بر نتیجه تحقیق تاثیر می-گذارد، برای انجام هر آزمون جهت بررسی اثرات ضد باکتری، کشت تازه ۲۴ ساعته تهیه گردید (Khosravi and Malekan, 2004). بدین منظور سویه‌های باکتریایی ابتدا در محیط کشت مولر هینتون آگار به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد کشت داده شدند. در نهایت، کدورت سوسپانسیوین‌های میکروبی با کدورت برابر با محلول ۰.۵ مک فارلند تنظیم شدند به نحوی که در این حالت غلظت باکتری‌ها در حدود $۱/۵\times۱۰^{۸}$ (CFU/ml) بود (Kanaani et al., 2015). سپس از سوسپانسیون‌های مزبور با استفاده از سوآب استریل پس از آغشته کردن آن به سوسپانسیون میکروبی، تمام سطح پلیت حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار به صورت خطوط موازی در سه جهت (عمودی، افقی، مورب) بر هم کشت داده به گونه‌ای که تمام سطح پلیت از یک لایه میکروبی یکنواخت پوشیده شد (Khosravi and Malekan, 2004). پس از این مرحله دیسک‌های ۶ میلیمتری آغشته شده با ۱۵ میکرولیتر از هر غلظت بر روی سطح پلیت کشت داده شده قرار گرفتند. به پلیت‌های دیسک‌گذاری شده به مدت یک ساعت در محیط آزمایشگاه زمان داده شد تا عصاره و اسانس در داخل محیط کشت انتشار یابند و سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. پس از گذشت زمان گرمخانه‌گذاری، هاله عدم رشد اطراف هر دیسک به میلی متر گزارش گردید (Koochak et al., 2010).

سنجش حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)

در این آزمون برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی اسانس از روش میکرو براث دایلوشن استفاده گردید. برای این منظور از میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای استفاده شد. از هر غلظتی از اسانس رقیق شده با حلال دی متیل سولفوکساید ۱۰۰ میکرولیتر به چاهک‌های مورد نظر انتقال داده شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون آگار نیز به چاهک ها اضافه شد (Mohamadi sani et al., 2016) و در نهایت ۲۰ میکرولیتر از هر سویه میکروبی در میکروپلیت تلقیح گردید (Al-Reza et al., 2010) (سوسپانسیون میکروبی معادل ۱.۵×۱۰^{۶} CFU/ml). حجم نهایی در هر چاهک میکروپلیت به میزان ۲۲۰ میکرولیتر رسید و پس از این مراحل میکروپلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه‌گذاری شدند و پس از طی زمان گرمخانه‌گذاری چاهک‌های میکروپلیت از لحاظ رشد باکتری مورد بررسی قرار گرفتند. در این آزمون کمترین غلظتی از اسانس که هیچ باکتری در آن رشد نکرده بود، به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی در نظر گرفته شد.(Laciar et al., 2009).

سنجش حداقل غلظت کشندگی (MBC)

حداقل غلظت کشندگی اسانس با توجه به نتایج MIC تعیین شد. میزان ۵ میکرولیتر از چاهک‌هایی که رشد باکتری در آنها کاملا متوقف شده بود، به پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار منتقل گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در گرمخانه نگهداری شدند. غلظت‌هایی از اسانس که فاقد رشد باکتری بودند، به عنوان مقادیر MBC گزارش گردید(Celiktas et al., 2007).

تعیین ترکیب اسانس با استفاده از کروماتوگرافی گازی/ طیف سنجی جرمی (GC/MS)

تعیین ترکیب اسانس شلغم شیرازی با استفاده از کروماتوگرافی گازی/ طیف سنجی جرمی برای اندازه‌گیری ترکیبات اسانس شلغم، از دستگاه کروماتوگرافی گازی (مدل Agilent Technologies 7890 A، آمریکا) متصل به طیف سنج جرمی (مدل Agilent Technologies 5975 C، آمریکا) استفاده شد. در این قسمت نمونه‌ها مجددا به وسیله سولفات سدیم بی آب، خشک و به وسیله یک میلی لیتر نرمال هگزان رقیق شدند. پس از مخلوط کردن کامل نمونه با حلال، یک میکرولیتر از آن به دستگاه GC/MS تزریق گردید. دمای قسمت تزریق نمونه، ۲۸۰ درجه سیلسیوس و گاز مورد استفاده هلیم (۹۹.۹۹٪) با سرعت جریان یک میلی متر در دقیقه بود. سیستم در حالت تقسیم نسبت ۱:۱۰۰ تنظیم شده بود. ستون دستگاه (مدل Agilent Technologies Inc., HP-5 MS، آمریکا) از نوع مویینه با طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰.۲۵ میلیمتر و ضخامت فیلم ۰.۲۵ میکرومتر بود. دمای ستون، با سرعت ۳ درجه سلسیوس در دقیقه، از ۶۰ درجه سلسیوس به ۲۱۰ درجه سلسیوس رسانده شد. بلافاصله پس از آن با سرعت ۲۰ درجه سلسیوس در دقیقه به دمای ۲۴۰ درجه سلسیوس رسانده شد و به مدت ۸.۵ دقیقه در این دما نگهداری شده، کل زمان اجرایی دستگاه ۶۰ دقیقه بود. زمان تاخیر حلال در شناساگر طیف سنج جرمی ۳ دقیقه، دامنه جرم 45- 550 amu، دمای منبع طیف سنج جرمی ۲۳۰ درجه سلسیوس، دمای کواد طیف سنج جرمی ۲۵۰ درجه سلسیوس و دمای خط انتقال ۲۸۰ درجه سلسیوس بود. پس از انجام تزریقات و بدست آوردن کروماتوگرام، شناسایی و تعیین مقدار هر یک از ترکیبات با استفاده از طیف جرمی آن‌ها انجام شد. تعیین نوع ماده ورودی به طیف سنج جرمی بر اساس داده‌های کتابخانه‌ای وایلی (Wiley Registry 10th Edition/NIST 2012 Mass Spectral Library (Upgrade), ISBN: 978-1-118-61613-0) صورت گرفت. ضمنا نمونه استانداردی از آلکان‌های نرمال با همان برنامه دمایی و ستون تزریق شد. شاخص ماند ترکیبات موجود در اسانس شلغم با استفاده از زمان ماند آلکان‌های نرمال تزریق شده، تعیین گردید.

نتایج

شناسایی ترکیبات اسانس

در این مطالعه شناسایی ترکیبات اسانس ریشه گیاه شلغم به روش GC/MS انجام شد. پس از مطالعه طیف‌های جرمی ترکیب‌های شناسایی شده در این اسانس در جدول ۱ بیان گردیدند. ترکیبات شناسایی شده در این اسانس ۱۶ ترکیب بود که ترکیبات اصلی شامل متیل کاویکول با بالاترین درصد (۳۲.۳۱ درصد)، ترنس آنتول (۱۹.۵۸ درصد)، لینالول (۱۵.۴۶ درصد)، آلفا پینین (۹.۲۸ درصد)، آلفا توجون (۶.۵۹ درصد) و بتا پینین (۳.۳۴ درصد) بودند.

نتایج حاصل از آزمون انتشار دیسک

نتایج حاصل از آزمون انتشار دیسک در جدول ۲ ثبت گردید. همانطور که از نتایج بر می‌آید اسانس ریشه شلغم شیرازی دارای خاصیت ضد باکتریایی بالایی بر روی همه باکتری‌های مورد آزمون می‌باشد. در این مطالعه بیشترین هاله عدم رشد حاصل از اسانس گیاه، مربوط به باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* به میزان ۱±۲۶ میلیمتر بود و پس از آن باکتری *باسیلوس سرئوس* که دارای هاله عدم رشد 2±26 میلیمتر می‌باشد. نتایج تعیین مقادیر MIC و MBC.حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی اسانس ریشه شلغم شیرازی بر علیه چهار باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *سالمونلا تیفی موریوم* و *اشرشیا کلی* به روش میکروبراث دایلوشن در جدول ۳ ثبت گردیده است. همانطور که از نتایج بر می‌آید اسانس گیاه دارای اثرات ضد میکروبی مشهودی بر روی تمام میکروارگانیسم-های مورد آزمون بوده است. البته بالاترین حساسیت به اسانس، مربوط به باکتری‌های گرم مثبت می‌باشد به ویژه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* که دارای MIC=0.625

میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. همانطور که نتایج نشان می‌دهد *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی موریوم* (MIC=2.5 mg/ml) مقاومترین باکتری به اسانس گیاه، دو باکتری گرم منفی می باشند.

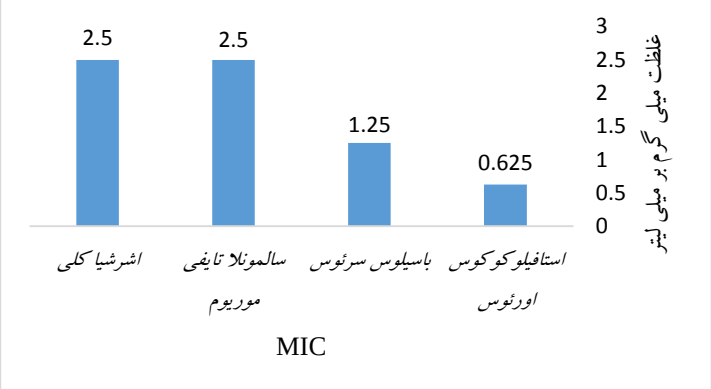
جدول ۱- شناسایی ترکیبات حاصل از اسانس ریشه شلغم شیرازی (درصد)

Component (%)	EO from Shirazi Root (%)
α-Pinene	9.28
Linalool	15.46
β- Pinene	3.34
Cineol	1.39
Terpineol	0.8
Cis-Anethole	0.26
α- Thujone	6.59
Camphene	1.32
α-Terpinene	1.43
Limonene	2.01
Methyl chavicol	32.31
Trans anethole	19.58
Anisaldehyde	0.93
Anisic acid	1.56
Camazolen	0.46
Thymol	0.18
Total identified constituents	97.04

جدول ۲- نتایج حاصل از آزمون انتشار دیسک برای اسانس ریشه شلغم شیرازی (میلیمتر).

پاتوژن	قطر هاله عدم رشد
S. aureus	۲۶±۱
B. cereus	26±2
S. typhimurium	۲۳±۱
E. coli	۱۷±۱

میانگین نتایج حاصل از سه تکرار.

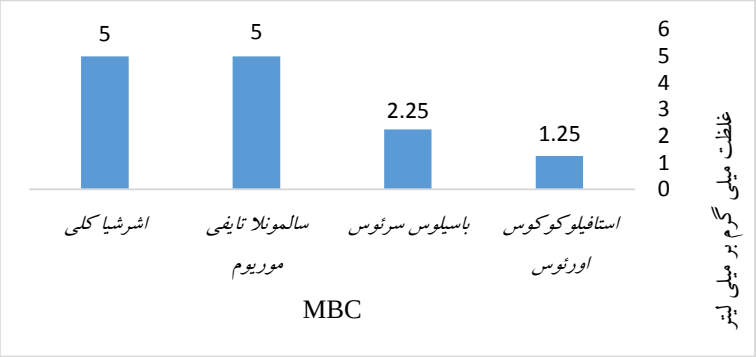


نمودار ۱- حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) اسانس ریشه شلغم شیرازی (mg/ml).

جدول ۳- فعالیت ضد باکتریایی (MIC & MBC بر حسب mg/ml) اسانس ریشه شلغم شیرازی به روش میکرودایلوشن.

پاتوژن	MIC	MBC
S. aureus	۰.۶۲۵	۱.۲۵
B. cereus	۱.۲۵	۲.۲۵
S. typhimurium	۲.۵	۵
E. coil	۲.۵	۵

میانگین نتایج حاصل از سه تکرار.



نمودار ۲- حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس ریشه شلغم شیرازی (mg/ml).

بحث

با توجه به نگرانی مصرف کنندگان و متولیان بهداشتی در مورد استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی و مضرات آنها در سال‌های اخیر تولیدکنندگان مواد غذایی گرایش به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی در مواد غذایی پیدا کرده‌اند. لذا مطالعات مختلفی در ارتباط با اثر اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی مختلف بر روی باکتری‌های بیماریزای با منشاء غذایی در محیط کشت و غذا انجام شده است (گندمی نصر آبادی و همکاران، ۱۳۹۱). در خصوص اثرات ضد میکروبی گیاه شلغم و ترکیبات آن مطالعاتی انجام شده است، از جمله وریفرد و همکاران (۱۳۹۴) خاصیت سینرژیسمی نانوذرات نقره و عصاره الکلی گیاه شلغم بر روی برخی از باکتری‌های بیماریزا در شرایط آزمایشگاهی را بررسی و اثرات ضد میکروبی آن‌ها را گزارش نمودند. MIC و MBC این ترکیبات اندازه‌گیری شد. یافته‌ها نشان دهنده خاصیت ضد باکتریایی بیشتر نانوذرات نقره در مقایسه با عصاره الکلی گیاه شلغم بودند. عصاره شلغم بر روی باکتری‌های گرم مثبت تاثیر بیشتری داشت در حالیکه نانوذره نقره بر روی باکتری‌های گرم منفی تاثیر زیادی داشت. در نهایت تاثیر ترکیب عصاره شلغم و نانو نقره بسیار بیشتر از تاثیر هرکدام از تک تک ترکیبات بود (وریفرد و همکاران، ۱۳۹۴). همچنین هانگ و کیم (۲۰۰۸) نیز در مطالعه‌ای به بررسی خاصیت ضد سرطانی و فعالیت ضد میکروبی بتا-فنیل اتیل ایزوتیوسیانات در شلغم، پرداختند. در این تحقیق فعالیت ضد میکروبی بتا-فنیل اتیل ایزوتیوسیانات موجود در شلغم، در مقابل پاتوژن‌های غذایی از جمله *ویبریو پاراهمولیتیکوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهند که این ترکیب در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر دارای خاصیت ضد میکروبی در برابر باکتری *ویبریو پاراهمولیتیکوس* می‌باشد (Hong and Kim, 2008). مطالعه‌ای نیز در سال ۲۰۱۴ به منظور بررسی خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی عصاره ریشه و اندام هوایی گیاه شلغم

با حلال‌های مختلف انجام شد. نتایج بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های مختلف حاصل از ریشه و اندام هوایی نشان داد که همه عصاره‌ها اثر مهاری مثبتی بر روی *کاندیدا آلبیکنس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *باسیلوس سرئوس* داشتند (Beltagy, 2014). تا کنون درباره خاصیت ضد باکتریایی اسانس ریشه شلغم مطالعه‌ای صورت نگرفته و این مطالعه می‌تواند از این نظر حائز اهمیت باشد. در این مطالعه نیز که بررسی خاصیت ضد میکروبی اسانس ریشه شلغم شیرازی مورد بررسی قرار گرفت، حداقل غلظت کشندگی برای باکتری‌های مورد آزمون بین 1.25-5 mg/ml متغییر بود. با توجه به نتایج به دست آمده باکتری *S. aureus* با MBC=1.25 mg/ml ضعیف ترین باکتری در برابر اسانس و دو باکتری گرم منفی با MBC=2.5 mg/ml مقاومترین در برابر اسانس ریشه شلغم بودند. این آزمایشات نشان داد که باکتری‌های گرم منفی در مقابل اسانس‌های گیاهی مقاومترند. نتایج این پژوهش با نتایج دورمن و دنیس مطابقت دارد (Dorman and Deans, 2008) و بررسی‌ها نشان داده‌اند که باکتری-های گرم منفی مقاومتر از باکتری‌های گرم مثبت به اسانس می‌باشندکه این موضوع مربوط به تفاوت ترکیبات، ساختار و ضخامت دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت در مقابل باکتری‌های گرم منفی می‌باشد (Gonzalez et al., 2007; Zhang et al., 2006)همانگونه که در نتایج نیز بیان گردید اسانس گیاه شلغم اثرات قابل توجهی علیه باکتری‌های گرم مثبت از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* داشته و اثر ضعیف‌تری بر علیه باکتری‌های گرم منفی داشته است، این نتایج در هر دو روش مورد بررسی در این مطالعه قابل مشاهده می‌باشد که علت احتمالی آن با توجه به توضیحات، وجود لیپو پلی ساکاریدهای دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی می‌باشد که مانند سدی از عبور مولکول‌های بزرگ و آبگریز ممانعت می‌کند و از آنجایی که اکثر ترکیبات موثر موجود در عصاره‌ها و اسانس‌ها ماهیت آبگریزی دارند لذا می‌توان چنین نتیجه گرفت که این مواد امکان نفوذ و دسترسی به نقاط فعال داخل باکتری‌های گرم منفی را ندارند و به همین دلیل معمولا باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت مقاومت بیشتری نسبت به ترکیبات گیاهان نشان می‌دهند (علیزاده وهمکاران، ۱۳۹۲). در ارتباط با فعالیت ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی در تمامی موارد از مکانیسم مشابهی برخوردار نبوده با این وجود در اغلب موارد تاثیر اسانس‌های گیاهی بر ساختار دیواره سلولی تایید شده است، ویژگی آبگریزی اسانس‌ها سبب نفوذ آنها در لیپید غشاء سلولی و افزایش نفوذپذیری آن می‌گردد، که این امر سبب در اختلال در کلیه فعالیت‌های حیاتی وابسته به غشاء سلولی، خروج یون‌ها، ترکیبات حیاتی و در نهایت مرگ سلول خواهد شد (Palmer et al., 2001; Burt, 2004). اثرات سمی روی ساختار و عملکرد غشاء به طور کلی توجیه کننده عملکرد ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی و ترکیبات مونوترپنوئید-های آنها می‌باشد. در حقیقت مکانیسم عملکرد اسانس‌های گیاهی شامل تخریب دیواره سلولی، صدمه به غشاء سیتوپلاسمی و انعقاد سیتوپلاسم، نشت محتویات سلولی و کاهش شدید ATP داخل سلولی (به علت کاهش سنتز و افزایش هیدرولیز) می‌باشد (Burt, 2004).

نتیجه‌گیری

با توجه به اثرات ضد باکتریایی اسانس ریشه شلغم شیرازی بر روی باکتری‌های مورد آزمون که عامل بسیاری از بیماری‌های غذازاد هستند، این اسانس می‌تواند به عنوان یک نگهدارنده و بازدارنده گیاهی و طبیعی و جایگزین نگهدارنده‌های شیمیایی در صنعت غذا و دارو استفاده گردد.

منابع

۱. علیزاده، هادی.، قیامی راد، مهدی و ابراهیمی اصل، سعیده. (۱۳۹۲). اثر ضد باکتریایی عصاره الکلی شلغم بر روی تعدادی از باکتری‌های بیماریزا. مجله پزشکی

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی تبریز، دوره ۳۵، شماره ۶، صفحه ۷۹-۷۴.

۲. گندمی نصر آبادی، حسن.، اعظمی ساروکلایی، لیلا.، میثاقی، علی.، عباس زاده، سپیده.، شریعتی فر، نبی و طیار هشتجین، نسرین. (۱۳۹۱). مطالعه اثر ضد باکتریایی عصاره‌های آبی و االکلی گلبرگ زعفران بر برخی از باکتری‌های بیماریزای غذایی. فصل نامه گیاهان دارویی، سال یازدهم، دوره دوم، شماره مسلسل چهل و دوم، صفحه ۱۹۶-۱۸۹.

۳. وریفرد، مهتاب.، هادی علیزاده و ابراهیم حضرتی.(۱۳۹۴). بررسی خاصیت سینرژیسمی نانوذرات نقره و عصاره الکلی گیاه شلغم بر روی برخی از باکتری-های بیماریزا در شرایط آزمایشگاهی. سومین کنفرانس بین المللی دستاوردهای نوین در علوم مهندسی و پایه، اروپا، اوکراین، مرکز پژوهشی زمین کاو، انجمن علوم مهندسی لندن، http://www.civilica.com/Paper-AEBSCONF03-AEBSCONF03_003.html.

4. Al-Reza, S.M., Rahman, A., Lee, J.H and Kang, S.C. 2010. Potential roles of essential oil and organic extracts of *Zizyphus jujuba* in inhibiting foodborne pathogens. Food Chem. 119(3): 981–986.

5. Beltagy A.M. 2014. Investigation of new antimicrobial and antioxidant activities of *Brassica rapa* L. Int J Pharm Pharm Sci. 6(6): 84-88.

6. Burt S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. Int J Food Microbiol. 94: 223–253.

7. Canillac, N and Mourey, A. 2001. Antibacterial activity for the essential oil of *picea excelsa* on *Listeria Staphylococcus aureus* and colifom bacteria. Food Microbiol. 18: 261-268.

8. Celiktas, O.Y., Hames Kocabas, E.E., Bedir, E., Vardar Sukan, F., Ozek, T and Baser, K.H.C. 2007. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. Food Chem. 100(2): 553-559.

9. Diao, W.R., Hu, Q.P., Feng, S.S., Li, W.Q and Xu, J.G. 2013. Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil from Green Huajiao (*Zanthoxylum schinifolium*) against Selected Foodborne Pathogens. J Agric Food Chem. 61(25):6044-6049.

10. Dorman, H.J.D and Deans, S.G. 2008. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. J Appl Microbiol. 88(2): 308-316.

11. Gonzalez, L., Geeraerd, A.H., Spilimbergo, S., Elst, K., Van Ginnekn, L and Debevere, J., et al. 2007. High pressure carbon dioxide inactivation of microorganisms in food: the past, the present and the future. Int J Food Microbiol. 117(1): 1-28.

12. Hong, E and Kim, G.H. 2008. Anticancer and Antimicrobial Activities of β-Phenylethyl Isothiocyanate in *Brassica rapa* L. Food Sci Tech Res. 14 (4), 377–382.

13. Kanaani, S., Mohamadi Sani, A and Yaghooti, F. 2015. Antibacterial effects and chemical composition of essential oils from *Cotoneaster nummularioides* pojark and *Sonchus arvensis* L. leaves extracts on typical food-borne pathogens. Int J Bio Sci. 6(2): 357-365.

14. Khosravi, A and Malekan, M.A. 2004. Determination of Alcoholic and aqueous extract of Lavender Astvkas on *Staphylococcus aureus* and other Gram-negative bacteria. J Qazvin Uni Med Sci. 29: 3-9.

15. Koochak, H., Seyyednejad, S.M and Motamedi, H. 2010. Preliminary study on the antibacterial activity of some medicinal plants of Khuzestan (Iran). Asian Pacific J Trop Med. 180-184.

16. Laciar, A., Vaca Ruiz, M.L., Carrizo Flores, R and Saad, J.R. 2009. Antibacterial and antioxidant activities of the essential oil of

flavonoids and hydrocinnamic derivatives in turnip top (*Brassica rapa* L. Subsp. Sylvestris L). J Agric Food Chem. 54(4): 1342-1346.

22. Sasaki, K and Takahashi, T. 2002. A flavonoid from Brassica rapa flower as the UV-absorbing nectar guide. Phytochem. 61(3): 339-343.

23. Schonhof, I., Krumbein, A and Bruckner, B. 2004. Genoypic effects on glucosinolates and sensory properties of broccoli and cauliflower. Nahrung/Food. 48(1): 25-33.

24. Sharon B. 2001. Electroimmunoassay technology for foodborn pathogen detection. IVD Tech. 16: 13-34.

25. Tajkarim, M.M., Ibrahim, S.A and Cliver, D.O. 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. Food Control. 21: 1199-18.

26. Vahidi, H., Kamalinejad, M. and Sedaghati, N. (2002). Antimicrobial Properties of *Croccus sativus* L. IJPR. 1: 33-35.

27. Zhang, J., Davis, T.A., Matthews, M.A., Drews, M.J., Laberg, M and An, Y.H. 2006. Sterilization using high- pressure carbon dioxide. J Supercrit Fluids. 38(3): 354-372.

Artemisia echegarayi Hieron. (Asteraceae). Revista Argentina de Microb. 41: 226-231.

17. Mohamadi sani, A., Khiabani, A and Yaghooti, F. 2016. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Artemisia aucheri* aerial parts. J Essent Oil Bear Pl. 19 (4): 875 – 884.

18. Olajuyigbe, O and Ashafa, A. 2014. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oil of *Cosmos bipinnatus* Cav. Leaves from South Africa. Iranian J Pharm Res. 13(4): 1417-1423.

19. Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L. and Lacroix, M. 2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E.coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Food Control. 18: 414-420.

20. Palmer, A.S., Steward, J and Fyfe, L. 2001. The potential application of plant essential oils as natural preservatives in soft cheese. Food Microb. 18: 463-470.

21. Romani, A., Vignolini, P and Isolani, L. 2006. HPLCDAD/MS characterization of

Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil from Shirazi Turnip root (*Brasica rappa* L.) in in-vitro conditions
Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil from Turnip

Mohamadi Sani A[*1] esmaeilpour M[2] Behnam kh[1]

1. Young Researchers and Elite Club, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran.

2. Department of Food Science and Technology, Fasa Branch, Islamic Azad University, Fasa, Iran.

***Corresponding Author:** *mohamadisani@ yahoo.com*

Accepted: 02 August 2017 Received: 21April 2017

Abstract

The aim of this study was to evaluate the chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of Turnip (Brassica rapa) root in Fars-Iran. The essential oil was obtained by hydro-distillation and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) which revealed 16 compounds in which Methyl chavicol (32.31 %), Trans anethole (19.58 %), Linalool (15.46 %), α-Pinene (9.28 %), α- Thujone (6.59 %) and β- Pinene (3.34 %) were the main components. The antimicrobial activity was measured by disk-diffusion and micro-dilution method for determination of MIC and MBC. The results showed that the essential oil of turnip has a significant effect in reducing the growth of bacteria have been tested. However the essential oil had the lowest MIC on (MIC=2.5 mg/ml) *E. coli* but the results showed the highest effects against (MIC=0.625 mg/ml) *S. aureus.* Results presented here suggest that the essential oils of turnip possesses antibacterial properties, and is therefore a potential source of active ingredients for food industry.

Keywords: antimicrobial activity, essential oil, chemical composition, Shirazi turnip.