بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره و اسانس بادرنجبویه و اسطوخدوس بر برخی باکتری‌های مواد غذایی

مهرداد عطایی کچویی[1]، الهام فخری[2]*، فاطمه خداوردی پور[3]

۱. گروه گیاهان دارویی، دانشکده غذا و دارو، دانشگاه آزاداسلامی، واحدشهرکرد، شهرکرد، ایران.

۲. دانشجوی دکتری اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهان باغبانی، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۳. دانشجوی دکتری میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

***نویسنده مسئول:** *Elham.fakhri18@gmail.com*

چکیده

افزایش مقاومت‌های دارویی علیه باکتری‌ها و افزایش میزان دوز مصرفی داروهای متداول و آنتی‌بیوتیک‌ها و همچنین عوارض ناشی از این داروها موجب شده است تا در سال‌های اخیر توجه بیشتری به عوامل طبیعی مثل گیاهان دارویی که دارای عوارض کمتری هستند جلب شود. از این جهت در این پژوهش بعد از تهیه عصاره الکلی و اسانس از گیاهان بادرنجبویه، و اسطوخدوس این گیاهان، رقت‌های متوالی از آن‌ها جهت به دست آوردن حداقل غلظت مهار رشد(MIC) و حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) در برابر باکتری‌های *شیگلا فلکسنری* (*Shigella Flexneri*)، *سالمونلا تیفی موریوم*(*Salmonella Typhimurium*)، *اشرشیاکلای* (*Esherichia coli*) و *استافیلوکوکوس اورئوس*(*Staphylococcus aureus*) تهیه گردید. همچنین با استفاده ازروش انتشار دیسک، هاله مهار رشد باکتری نیز اندازه گیری و مورد مقایسه قرار گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده قطر هاله در اسانس‌ها بیشتر از عصاره‌ها بود و نمونه‌ها نسبت به باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* حساسیت بیشتری نشان دادند. میزان MIC وMBC برای هر کدام از اسانس‌ها و عصاره‌ها در برابر هر کدام از ۴ باکتری مورد آزمایش به روش میکرودایلوشن اندازه گیری شد ونتایج حاکی از پایین بودن میزان غلظت MIC و MBC دراسانس‌ها نسبت به عصاره‌ها بود. آنالیز ترکیبات هر کدام از اسانس‌ها توسط دستگاه GC-MS و آنالیز عصاره‌ها با دستگاه HPLC انجام شد که اسانس‌ها نسبت به عصاره‌ها دارای ترکیبات بیشتری که همین دلیل برخواص ضد آنتی‌بیوتیکی بیشتر آن‌ها می‌باشد. لذا نتایج تحقیق حاضر، مشخص کرد که اسانس و عصاره بادرنجبویه و اسطوخدوس اثرات ضد میکروبی دارند؛ بنابراین می‌توانند بعنوان فراورده‌های گیاهی طبیعی جهت کنترل عفونت‌های باکتریایی مورد استفاده قرار گیرند

کلمات کلیدی : بادرنجبویه، اسطوخدوس ،عصاره ، اسانس ، اثرات ضد میکروبی

مقدمه

مصرف گیاهان برای درمان سابقه‌ای به قدمت عمرانسان دارد. در سال‌های اخیر کاربرد گیاهان دارویی با توجه به عوارض و هزینه کمتر و سازگاری بیماران به این داروها و به لحاظ اثرات جانبی شناخته شده داروهای سنتتیک افزایش یافته است (Talei et al., 2007). بسیار پیش از آن‌که بشر وجود میکروب‌ها را کشف کند، این ایده که گیاهانی خاص توانایی شفابخشی دارند پذیرفته شده‌بود و از زمان قدیم، انسان از گیاهان برای درمان بیماری‌های عفونی رایج استفاده می‌کرد.

استفاده بی رویه از داروهای شیمیایی جهت درمان بیماری‌های عفونی منجر به ظهور نمونه‌های مقاوم میکروبی شده است که هرروزه بر تعداد آن‌ها اضافه می‌شود (Dupont et al., 1996). ظهور سویه-های مقاوم به داروهای شیمیایی، چالش برای یافتن عوامل ضد میکروبی جدید را ضروری می‌کند (Srinivasan et al., 2001) و این در حالی است که عوارض جانبی این ترکیب‌ها در مقایسه با داروهای شیمیایی کمتر است (Mashreghi & Momtazi, 2012). بنابراین بهره گیری از داروهای گیاهی به عنوان جایگزین داروهای شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌ها آزمایش شد. که ازگیاهان استفاده شده می‌توان به گیاهان خانواده نعناع اشاره کرد (Abu-Lafi et al., 2008). گونه‌های نعناع تقریباً در سراسر جهان و به خصوص درمناطق مدیترانه‌ای پراکنده‌اند. جنس‌های اسطوخدوس، بادرنجویه، رزماری و آویشن از گیاهان اصلی متعلق به منطقه مدیترانه‌ای هستند و در نواحی آفریقا و هند وجود دارد (Ahmady-asbchin & Mostafapour, 2018). گیاه بادرنجبویه با نام علمی *Melissa officinalis* به خانواده Lamiaceae تعلق دارد، این گیاه، بومی مناطق مدیترانه‌ای و غرب آسیا بوده معطر، پایا دارای میوه فندقه با بذر تخم مرغی، سیاه رنگ و براق است و پیکر رویشی گیاه بوی خاصی تقریباً شبیه به‌لیمو دارد (Basiri et al., 2007). اسانس بادرنجبویه ازگل، شاخه‌ها و برگ‌های تازه یا خشک آن، تهیه می‌شود و از ویژگی‌های آن بوی تازه لیمو و رنگ زرد کم‌رنگ می‌باشد. اسانس این گیاه از لحاظ عطر و طعم‌دهی کاربردهای متنوع و زیادی دربسیاری ازصنایع مانند آرایشی و عطرها، آشامیدنی، بستنی‌سازی و ... دارد. بادرنجبویه در طب سنتی ایران به عنوان تسکین‌دهنده، تب‌بر، ضد اسپاسم، ضد تشنج، معرق، خوشبو کننده و بادشکن کاربرد دارد. همچنین بادرنجبویه دارای اثرضد اضطراب وضد باکتری است (Venskutonis et al., 1995). اندام‌های این گیاه دارای درصدی روغن فرار است که بیشترین ترکیبات آن شامل سیترونرول، کارواکرول، ژرانیل و آلفاپینن می‌باشد همین‌طور اسانس روغنی گیاه بادرنجبویه دارای فعالیت ضد میکروبی، ضد مخمری و ضد قارچی مناسبی است (Davazdahemami et al., 2008).

Andrade و همکاران (۲۰۱۱) با اسانس-گیری گیاه بادرنجبویه، ترکیبات شیمیایی عمده اسانس را ژرانیال، بتا - سیترونلال، سیترونلال، ژرانیول و استات معرفی کردند (Andrade et al., 2011). با مطالعه و بررسی ترکیبات شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی اسانس گیاه بادرنجبویه، اسانس این گیاه بر رشد باکتری‌های بیماری‌زا، به ویژه انواع گرم مثبت، اثر مهارکنندگی قابل توجه‌ای از خود نشان داده است، کمترین بازدارندگی اسانس مربوط به سودوموناس آئروژینوزا و بیشترین آن برای *استافیلوکوکوس اورئوس* بود (Arzhang et al., 2015).

اسطوخدوس با نام علمی *Lavandula officinalisL* گیاهی چند ساله و همیشه سبز از

خانواده نعناعیان *Lamiaceae* است. ارتفاع گیاه اسطوخدوس بین ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متر، گل‌ها در انتهای خوشه‌ها و مجتمع در رأس ساقه است. این گیاه درختچه‌ای همیشه سبز، پرپشت و چند ساله است. گل-های آن آبی رنگ وبنفش وبسیار معطر است (Adam, 2006). اسانس اسطوخدوس دارای حدود ۴۰ درصد استات لینالیل بوده و همچنین در آن ترکیباتی نظیر اسید بوتیریک، اسید پروپیونیک و اسید والریک، لینالول آزاد و ژرانیول وجود دارد. اسانس این گیاه در طب سنتی دارای خواص درمانی بسیاری از جمله آنتی اکسیدانی، ضد التهابی، ضد باکتری، ضد اضطراب و آرام‌بخش، فعالیت ضد پلاکتی، ضد انعقادی و ضد جهش برخوردار است و در درمان بیماران با زوال عقلی شدید کاربرد دارد. ازدم‌کرده اسطوخدوس به عنوان ضد نفخ، ضد صرع، ضد دردهای روماتیسمی وکمردرد، سردردهای عصبی و میگرنی استفاده می‌شود. مهم‌ترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس آن لینالیل استات، لینالول، کامفور، ژرانیول، سینئول، تانن، کومارین، فلانوئیدها و دانه‌های خشک آن‌که حاوی پروتئین و چربی است (Ez zoubi et al., 2020)

این گیاه دارای خواص بالینی زیادی از جمله خواص ضد قارچی، ضد التهابی، ضد میکروبی، آرام-بخشی و کاهش درد است (Adam et al., 1998) همچنین اثرات آرام‌بخشی، ضد تشنجی، ضد صرعی، ضد اضطراب، ضد افسردگی، نوروپروتکتیو، ضد درد، ضد اعتیاد، ضد التهاب، ضد آپوپتوز، ضد جهش و ضد سرطان اسطوخودوس آن را مورد توجه قرار می‌دهد (Yaghoobi et al., 2016). قدری و همکاران(۱۳۸۸) نمای حساسیتی میکروارگانیسم‌ها در برابر اسانس اسطوخدوس بر اساس حساس‌ترین به مقاوم‌ترین به این ترتیب: *سودوموناس آئروژیناز، استرپتوکوکوس فکالیس، کلبسیلا پنومونیا، اشرشیاکلای و استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشد (Ghadri et al., 2010). لطفی(۱۳۹۷) در مورد اثرضد باکتریایی عصاره آبی اسطوخدوس روی برخی از باکتری‌های نشان دادند که عصاره آبی گیاه اسطوخودوس اثر بازدارندگی و مهار کنندگی قابل توجه‌ای روی *باسیلوس سوبتیلس، استرپتوکوکوس موتاس، لیستریا منوسیتوژن، یرسینیاانتروکولیتیکا و سالمونلا اینتریتیدیس* دارد و هر چقدر میزان غلظت عصاره‌ی آبی افزایش می‌یافت اثر باز دارندگی نیز بیشتر وچشمگیرتر می‌شد (Ghiami Rad & Lotfi, 2021). لذا در تحقیق حاضربه منظور بررسی تعیین خواص ضد باکتریایی عصاره و اسانس بادرنجبویه و اسطوخدوس بر روی باکتری‌های *شیگلا فلکسنری* (*Shigella Flexneri*)، *سالمونلا تیفی موریوم* (*Salmonella Typhimurium*)، *اشرشیاکلای* (*Esherichia coli*) و *استافیلوکوکوس اورئوس* (*Staphylococcus aureus*) با استفاده از روش‌های میکرودایلوشن و انتشار از دیسک مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش

مواد مورد استفاده در این تحقیق، گیاهان دارویی بادرنجبویه و اسطوخدوس که از مزارع استان چهارمحال بختیاری جمع‌آوری شد و توسط مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد مورد تأیید قرار گرفت. سپس در شرایط مناسب خشک گردیدند. باکتری‌های مورد آزمون *شیگلا فلکسنری* (ATCC 12022)، *سالمونلا تیفی موریوم* (ATCC14028)، *اشرشیا کلای* (ATCC 25922) و *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 25923) بودند. که ازمرکز مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران تهیه شدند. آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده شامل نالیدیکسیک اسید، سیپروفلوکساسین، مترونیدازول، ریفامپین، اریترومایسین(به صورت دیسک و پودری)

بودند. که از شرکت پادتن طب و شرکت سیگما تهیه شدند.

اسانس گیری از گیاهان

ابتدا گیاهان خشک شده و حلال را داخل بالن ریخته و بالن روی شعله قرار داده می‌شود. اسانس گیری با دستگاه کلونجر انجام شد پس از اسانس گیری شعله را خاموش می‌کنیم. داخل بورت مجموعه آب و اسانس جمع می‌شود. اسانس سنگین‌تر از آب شده و در انتهای بورت قرار می‌گیرد. پس از ۱۱ ساعت شیر بورت را باز نموده و اسانس در ظرفی جداگانه جمع‌آوری می‌شود (Myint et al., 1996).

تهیه عصاره الکلی

۵۰ گرم ازگیاهان خشک شده مورد مطالعه به ۱۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درجه اضافه شده و به مدت ۷۲ ساعت در آون(در دمای زیرنقطه جوش اتانول) قرار داده شد تا استخراج عصاره انجام شود عصاره به دست آمده از صافی توسط دستگاه تقطیر در خلأ یا روتاری[۱] تغلیظ شد. عصاره‌ها درپلیت‌های استریل شده به وسیله پارافیلم پوشیده شدند. سپس عصاره‌ها از فیلتر میکروبیولوژی ۰/۲۲ میکرون عبور داده شده و در ظرف درب‌دار در یخچال در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Akbary, 2014).

آماده‌سازی عصاره جهت شناسایی ترکیبات توسط GC/MS

قسمتی از عصاره اتانولی حاصله را پس از تغلیظ، جهت شناسایی ترکیبات آن توسط HPLC به روش زیر مورد آماده‌سازی قرار دادیم. عصاره را ۴۸ ساعت در دمای (۱۲-) فریزر قرار دادیم تا موم و چربی آن جدا شود. سپس درهمان فریزر با کاغذ صافی فاز عصاره اتانولی را جدا کردیم. فاز عصاره اتانولی را در یک ارلن با درپوش ریخته و به نسبت مساوی به آن هگزان افزودیم و ۱ ساعت آن را روی شیکر با دور ۱۸۶ قرار دادیم تا یکنواخت و همزده شود. سپس آن را در یک جداکننده ریخته و ۱۵ دقیقه آن را ثابت گذاشته تا دوفاز شود. سپس فاز هگزانی را جهت تزریق به HPLC مورد جدا سازی قرار دادیم.

تهیه وکشت باکتری

باکتری‌هاپس ازجداسازی و شناسایی در آزمایشگاه به صورت لیوفیلیزه تهیه شدند و بعد ازاحیای باکتری ابتدا ۲۴ ساعت درمحیط مولر هینتون براث در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شده و پس از رشد باکتری هرکدام روی محیط کشت جامد مخصوص خود کشت داده شد و مجدد ۲۴ ساعت انکوبه شد تا توانستیم ازباکتری‌ها کلونی‌های مورد نظر را به دست آوریم.

تهیه محلول استاندارد نیم مک فارلند

مواد مورد استفاده برای تهیه استاندار نیم مک فارلند شامل: باریم کلرید($BaCl_{22}H_2O$) دهیدراته و اسید سولفوریک (H_2SO_4) بوده که تهیه شدند. با مخلوط کردن ۰/۰۵میلی‌لیتر باریم کلرید دهیدارته ($BaCl_{22}H_2O$)، ۱/۱۷۵ درصد با ۹/۹۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک (H_2SO_4)۱ درصد استاندارد نیم مک فارلند تهیه شد. با مخلوط این دو ترکیب رسوب سولفات باریم که سبب ایجاد کدورت در محلول می‌شود، ایجاد شد. از آنجایی که تعداد باکتری تلقیح شده یکی از مهم‌ترین متغیرهایی است که بر نتیجه هر پژوهش اثر می‌گذارد، تراکم سوسپانسیون میکروبی تلقیحی باید استاندارد باشد پس برای تهیه سوسپانسیون میکروبی، از کشت تازه و جوان باکتری با استفاده از سوآپ استریل چند کلنی به لوله حاوی سرم فیزیولوژی استریل منتقل شده و پس از هم‌زدن محلول، کدورت حاصله در مقابل چراغ مطالعه با کدورت محلول نیم مک‌فارلند که توسط

۱ Rotary eveprator

ورتکس هم زده شد، مقایسه گردید. این عملیات برای هر باکتری به طور جداگانه انجام شد.

ارزیابی فعالیت ضد میکروبی نمونه‌ها به روش دیسک دیفیوژن

محیط کشت مولر هینتون آگار بر مبنای دستور العمل کارخانه سازنده آماده‌سازی شد. از سوسپانسیون نیم مک‌فارلند هر کدام از باکتری‌ها با سوآپ روی محیط به صورت چمنی کشت داده شد. سپس دیسک-های بلانک استریل را با پنس روی محیط قرار داده و غلظت‌های تهیه شده با آب مقطر برای هرکدام از اسانس‌ها شامل: بادرنجبویه واسطوخدوس غلظت‌های (۰/۰۵، ۰/۰۲۵، ۰/۰۱۲۵، ۰/۰۰۶۲۵)گرم برمیلی‌لیتر می‌باشد.

ازدیسک‌های آنتی‌بیوتیک نالیدیکسیک اسید، سیپروفلوکساسین، مترونیدازول، ریفامپین و اریترومایسین به عنوان شاهد برای هر کدام ازباکتری‌ها استفاده شد. از هر کدام از پتری‌های نمونه‌ها سه تکرار انجام شده وتمامی آن‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار داده شد. تعیین فعالیت ضد باکتریایی نمونه‌ها بر مبنای اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد دیسک‌ها بر حسب میلی‌متر توسط کولیس اندازه‌گیری شد.

تعیین MIC و MBC به روش میکرودایلوشن

برای تعیین غلظت‌های مختلف اسانس‌ها و عصاره‌ها شامل بادرنجبویه و اسطوخدوس، (۰/۰۵ گرم برمیلی‌لیتر) بود. آزمایش MBC و MIC درپلیت ۹۶ خانه استریل و با روش میکرودایلوشن طبق دستورالعمل[1] CLSI انجام شد. نحوه کار به این صورت بود که ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت مولر هینتون براث اضافه شد سپس برای هر کدام ازاسانس‌ها غلظت اول درخانه اول به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر اضافه گردید و جهت رقت‌سازی بعد از شیک ۱۰۰ میکرولیتر از خانه اول برداشته شده در خانه دوم ریخته شد و این کار تا خانه شماره ۹ ادامه پیدا کرد و در آخر هم از خانه نهم ۱۰۰ میکرولیتر به بیرون ریخته شد، سپس از سوسپانسیون باکتری‌های مذکور به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به ۹ خانه اضافه گردید. و خانه‌های آخر جهت کنترل مثبت (محیط کشت حاوی باکتری، بدون عصاره) و منفی(محیط کشت بدون باکتری) در نظر گرفته شد.

در نهایت لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷درجه سانتی‌گراد انکوبه و سپس نتایج قرائت شد و برای هر کدام از رقت‌های اسانس و عصاره الکلی، آخرین رقتی که در آن هیچ‌گونه کدورتی مشاهده نشد (عدم رشد) به عنوان MIC در نظر گرفته شد و از تمام لوله‌های بدون کدورت روی محیط مولر هینتون براث آگار کشت داده شد. آخرین رقتی از عصاره‌ها که قادر به مرگ ۹۹/۹ ٪درصد از باکتری‌های زنده اولیه بود، به عنوان MBC عصاره‌ها در نظر گرفته شد (Hall, 2013).

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار MiniTab16 به صورت اسپلیت پلات در پلات اصلی باکتری و پلات فرعی به صورت فاکتوریل هرکدام ازاسانس‌ها و عصاره‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفت و آزمایش‌های خصوصیات ضد میکروبی در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و آزمون همبستگی به روش پیرسون و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون LSD سطح احتمال ۱ و ۵ درصد صورت پذیرفت.

نتایج

[1] Clinical and Laboratory Standards Institute

نتایج حاصل از این مطالعه تجربی در جدول‌های زیر درج شده است. در جدول شماره ۱ ، قطر هاله عدم رشد اسانس و عصاره گیاهان بادرنجبویه و اسطوخدوس و همین‌طور تأثیر ۵ آنتی‌بیوتیک نالیدیک اسید، سیپروفلوکساسین، مترونیدازول، ریفامپین، اریترومایسین بر روی چها باکتری مورد بررسی بیان شده است. بررسی مقایسه‌ی خاصیت ضد باکتریایی (قطرهاله‌ی عدم رشد) اسانس و عصاره گیاهان بادرنجبویه و اسطوخدوس توسط نرم افزار MiniTab16با آزمون LSD سطح احتمال ۱ و ۵ درصد به عنوان نتایج معنی‌دار محسوب می‌شود.

اثر فعالیت ضد باکتریایی اسانس و عصاره بادرنجبویه و اسطوخدوس بر قطر هاله رشد

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس اسانس گیاه بادرنجبویه نشان می‌دهد که اسانس بادرنجبویه در سطح احتمال ۱ درصد برقطر هاله عدم رشد هر ۴ باکتری معنی‌دار است همچنین طبق جدول (۱) مقایسات میانگین اسانس گیاه بادرنجبویه بر باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* و *شیگلا فلکسنری* نشان داده است که بیشترین قطرهاله عدم رشد مربوط به آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین و کمترین قطرهاله عدم رشد مربوط به غلظت ۰/۰۰۶۲۵گرم بر میلی‌لیتر اسانس گیاه بادرنجبویه بوده است. با توجه به جدول مقایسات میانگین (جدول ۱) بیشترین قطر هاله عدم رشد در باکتری *اشرشیاکلای* و *استافیلوکوکوس اورئوس* مربوط به آنتی‌بیوتیک ریفامپین و کمترین را غلظت‌های ۰/۰۰۶۲۵ و۰/۰۱۲۵گرم برمیلی‌لیتر اسانس بادرنجبویه داشته‌اند.

بر اساس تجزیه واریانس اسانس گیاه اسطوخدوس می‌توان گفت، اسانس گیاه اسطوخدوس در سطح احتمال ۱ درصد بر قطر هاله عدم رشد هر ۴ باکتری معنی‌دار بوده است. همچنین با توجه به جدول (۱) و نتایج مقایسات میانگین اسانس گیاه اسطوخدوس بر باکتری *سالمونلا تیفی* موریوم و *شیگلا فلکسنری* بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین برای باکتری *سالمونلا تیفی* موریوم کمترین قطرهاله عدم رشد راغلظت ۰/۰۰۶۲۵گرم بر میلی‌لیتر و برای باکتری *شیگلا فلکسنری* کمترین قطر هاله عدم رشد مربوط به غلظت‌های ۰/۰۰۶۲۵ و ۰/۰۱۲۵گرم بر میلی‌لیتر اسانس گیاه اسطوخدوس داشته است. با توجه به جدول (۱) مقایسات میانگین اسانس گیاه اسطوخدوس برای باکتری *اشرشیاکلای* و *استافیلوکوکوس اورئوس* آنتی‌بیوتیک ریفامپین بیشترین قطر هاله عدم رشد و کمترین قطر هاله عدم رشد در باکتری *اشرشیاکلای* مربوط به غلظت ۰/۰۰۶۲۵گرم برمیلی‌لیتر و برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس آنتی‌بیوتیک نالیدیک اسید کمترین قطر هاله عدم رشد در اسانس گیاه اسطوخدوس نشان داده است.

جدول۱- جدول مقایسات میانگین اسانس گیاهان بادرنجبویه و اسطوخدوس

نام نمونه	غلظت (گرم برمیلی لیتر)	میانگین مربعات			
		سالمونلاتیفی موریوم	شیگلافلکسنری	اشرشیاکلای	استافیلوکوکوس اورئوس
اسانس بادرنجبویه	۰/۰۰۶۲۵	۹/۳۳۳^{klm}	۸/۳۰۰^{lmn}	۸/۴۳۳^{lmn}	۹/۱۰۰^{hij}
	۰/۰۱۲۵	۱۰/۵۳۳^{ijk}	۹/۴۰۰^{jklm}	۹/۱۳۳^{klmn}	۹/۴۶۶^{ghi}
	۰/۰۲۵	۱۱/۵۰۰^{ghi}	۱۰/۱۳۳^{ijk}	۱۰/۴۶۶^{fghij}	۱۰/۴۶۶^{fgh}
	۰/۰۵	۱۲/۳۶۶^{fg}	۱۱/۲۶۶^{fghi}	۱۱/۲۶۶^{efgh}	۱۱/۴۶۶^{ef}
اسانس اسطوخدوس	۰/۰۰۶۲۵	۹/۰۶۶^{lm}	۷/۴۰۰^{n}	۸/۳۶۶^{lmn}	۷/۲۳۳^{klm}
	۰/۰۱۲۵	۱۰/۵۳۳^{ijk}	۸/۲۳۳^{lmn}	۹/۶۰۰^{jkl}	۸/۲۳۳^{ijk}
	۰/۰۲۵	۱۲/۰۶۶^{fgh}	۱۱/۰۶۶^{ghi}	۱۰/۹۶۶^{fghi}	۹/۴۶۶^{ghi}
	۰/۰۵	۱۳/۱۳۳^{ef}	۱۲/۴۶۶^{def}	۱۱/۵۶۶^{ef}	۱۰/۳۰۰^{fgh}
عصاره بادرنجبویه	۰/۰۰۶۲۵	۸/۳۳۳^{f}	۷/۵۰۰^{g}	۷/۲۳۳^{g}	۱۳/۲۳۳^{f}
	۰/۰۱۲۵	۹/۱۶۶^{f}	۸/۳۶۶^{fg}	۸/۳۶۶^{f}	۱۴/۴۰۰^{ef}
	۰/۰۲۵	۹/۶۶۶^{ef}	۹/۵۳۳^{ef}	۹/۵۳۳^{e}	۱۵/۲۳۳^{de}
	۰/۰۵	۱۰/۶۳۳^{e}	۱۰/۵۳۳^{e}	۱۰/۵۳۳^{e}	۱۶/۳۳۳^{d}
عصاره اسطوخدوس	۰/۰۰۶۲۵	۹/۴۶۶^{f}	۸/۹۰۰^{f}	۸/۰۶۶^{g}	۱۳/۰۳۳^{f}
	۰/۰۱۲۵	۱۰/۳۰۰^{ef}	۹/۴۰۰^{ef}	۹/۵۳۳^{f}	۱۳/۴۳۳^{ef}
	۰/۰۲۵	۱۰/۵۰۰^{ef}	۱۰/۲۶۶^{e}	۱۰/۴۶۶^{ef}	۱۴/۴۶۶^{de}
	۰/۰۵	۱۱/۴۳۳^{e}	۱۱/۴۰۰^{d}	۱۱/۵۳۳^{e}	۱۵/۱۶۶^{d}
آنتی بیوتیک					
نالیدیک اسید		۱۵/۹۶۶^{d}	۱۰/۱۶۶^{ijk}	۱۸/۰۳۳^{c}	۶/۵۳۳^{m}
سیپروفلوکساسین		۳۰/۰۶۶^{a}	۲۹/۹۰۰^{a}	۳۰/۱۰۰^{b}	۲۰/۱۰۰^{c}
مترونیدازول		۱۱/۰۰۰^{hij}	۱۲/۰۳۳^{efg}	۱۲/۹۰۰^{d}	۶/۸۰۰^{lm}
ریفامپین		۲۱/۲۰۰^{b}	۲۳/۰۶۶^{b}	۴۵/۰۶۶^{a}	۴۱/۸۶۶^{a}
اریترومایسین		۱۹/۱۳۳^{c}	۱۶/۸۶۶^{c}	۳۱/۰۳۳^{b}	۳۶/۱۳۳^{b}

در هر ستون تیمارهایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند از نظر آماری در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند

بر اساس تجزیه واریانس عصاره گیاه بادرنجبویه ، این عصاره در سطح احتمال۱ درصد بر قطر هاله عدم رشد هر ۴ باکتری معنی‌دار بوده است. مقایسه میانگین عصاره گیاه بادرنجبویه بر عدم رشد باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* و باکتری *شیگلا فلکسنری* نشان می‌دهد که آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین بیشترین قطر هاله عدم رشد را داشته است و کمترین قطر هاله عدم رشد برای باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* مربوط به غلظت‌های ۰/۰۰۶۲۵ و ۰/۰۱۲۵گرم بر میلی‌لیتر و برای باکتری *شیگلا فلکسنری* غلظت ۰/۰۰۶۲۵ گرم بر میلی‌لیتر عصاره گیاه بادرنجبویه بوده است (جدول ۱). مقایسات میانگین عصاره گیاه بادرنجبویه (جدول ۱) نشان داده است که برای باکتری *اشرشیاکلای* و باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* آنتی‌بیوتیک ریفامپین دارای بیشترین قطر هاله عدم رشد بوده و کمترین قطر هاله عدم رشد برای باکتری *اشرشیاکلای* مربوط به غلظت ۰/۰۰۶۲۵گرم بر میلی‌لیتر عصاره بادرنجبویه و برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های نالیدیک اسید و مترونیدازول بوده است (جدول ۱). تجزیه واریانس عصاره گیاه

اسطوخدوس نشان می‌دهد که این عصاره در سطح احتمال ۱ درصد بر قطر هاله عدم رشد هر ۴ باکتری معنی‌دار بوده است. نتایج مقایسات میانگین عصاره گیاه اسطوخدوس روی باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* و باکتری *شیگلا فلکسنری* (جدول ۱) حاکی از آن است که آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین بیشترین قطر هاله عدم رشد و کمترین قطر هاله برای باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* و باکتری *شیگلا فلکسنری* مربوط به غلظت۰/۰۰۶۲۵گرم بر میلی‌لیتر عصاره گیاه اسطوخدوس و همین طور برای *شیگلا فلکسنری* بوده است. با توجه به نتایج مقایسات میانگین عصاره گیاه اسطوخدوس روی باکتری *اشرشیاکلای* و باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (جدول ۱)، آنتی‌بیوتیک ریفامپین بیشترین قطر هاله عدم رشد را داشته است و کمترین قطر هاله عدم رشد برای باکتری *اشرشیاکلای* مربوط به غلظت۰/۰۰۶۲۵گرم بر میلی‌لیتر عصاره گیاه اسطوخدوس و برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های نالیدیک اسید و مترونیدازول بوده است.

اثر فعالیت ضد باکتریایی اسانس و عصاره بادرنجبویه و اسطوخدوس بر میزان MIC و MBC

در جدول (۲)، در مورد باکتری سالمونلا تیفی موریوم کمترین غلظت به عنوان MBC باغلظت ۰/۰۰۳۱ گرم بر میلی‌لیتر و کمترین غلظت به عنوان MIC با غلظت ۰/۰۰۱۵۶گرم بر میلی‌لیتر مربوط به اسانس اسطوخدوس بود. نتایج به دست آمده در خصوص باکتری *شیگلا فلکسنری* حاکی از این بود حداقل غلظت مهارکنندگی یا MIC مربوط به غلظت ۰/۰۰۶۲۵ گرم برمیلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی یا MBC آن نیز۰/۰۱۲۵ گرم برمیلی‌لیتر که در اسانس بادرنجبویه و اسانس و عصاره اسطوخدوس بود. در مورد باکتری *اشرشیاکلای* اسانس هر دو گیاه دارای حداقل غلظت MBC به میزان ۰/۰۰۶۲۵ گرم برمیلی‌لیتر و همچنین حداقل غلظت مهارکنندگی MIC به میزان ۰/۰۰۳۱۲گرم بر میلی‌لیتر مربوط به این دو اسانس بود. با این حال در خصوص تنها باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* اسانس بادرنجبویه دارای کمترین غلظت به عنوان MBC باغلظت ۰/۰۰۰۳۹گرم بر میلی‌لیتر و غلظت ۰/۰۰۰۱۹گرم بر میلی‌لیتر برای MIC بوده است. در نتیجه می‌توان تفسیر کرد که باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* نسبت به اسانس اسطوخدوس حساسیت بیشتری نشان داده است وباکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* نیز به اسانس اسانس بادنجبویه حساسیت بیشتری داشته است.

جدول ۲- حداقل غلظت مهارکنندگی(MIC) وحداقل غلظت کشندگی (MBC)اسانس و عصاره بادرنجبویه و اسطوخدوس علیه باکتری‌های موردآزمایش بر حسب گرم بر میلی لیتر

نمونه‌ها	سالمونلاتیفی موریوم		شیگلافلکسنری		اشرشیاکلای		استافیلوکوکوس اورئوس	
	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC
اسانس بادرنجبویه	۰/۰۰۰۶۲ g.ml^{-1}	۰/۰۰۳۱۲ g.ml^{-1}	۰/۰۱۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۰۶۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۰۶۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۰۳۱۲ g.ml^{-1}	۰/۰۰۰۳۹ g.ml^{-1}	۰/۰۰۰۱۹ g.ml^{-1}
اسانس اسطوخدوس	۰/۰۰۳۱ g.ml^{-1}	۰/۰۰۱۵۶ g.ml^{-1}	۰/۰۱۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۰۶۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۰۶۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۰۳۱۲ g.ml^{-1}	۰/۰۰۶۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۰۳۱۲ g.ml^{-1}
عصاره بادرنجبویه	۰/۰۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۱۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۱۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۱۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۰۶۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۱۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۰۶۲۵ g.ml^{-1}
عصاره اسطوخدوس	۰/۰۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۱۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۱۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۰۶۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۱۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۱۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۰۶۲۵ g.ml^{-1}
ریفامپین	۰/۰۰۵ g.ml^{-1}	۰/۰۱ g.ml^{-1}	۰/۰۰۱۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۰۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۰۱۵۶ g.ml^{-1}	۰/۰۰۰۳۱۲ g.ml^{-1}	۰/۰۰۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۰۵ g.ml^{-1}

مترونیدازول	۰/۰۰۵ g.ml^{-1}	۰/۰۱ g.ml^{-1}	۰/۰۰۵ g.ml^{-1}	۰/۰۱ g.ml^{-1}	۰/۰۰۰۶۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۰۱۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۰۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۰۵ g.ml^{-1}
سیپروفلوکساسین	۱۲×۱۰$^{-۷}$ g.ml^{-1}	۲۴×۱۰$^{-۷}$ g.ml^{-1}	۲۴×۱۰$^{-۷}$ g.ml^{-1}	۴۸×۱۰$^{-۷}$ g.ml^{-1}	۴۸×۱۰$^{-۷}$ g.ml^{-1}	۹۷×۱۰$^{-۷}$ g.ml^{-1}	۰/۰۰۲۵ g.ml^{-1}	۰/۰۰۵ g.ml^{-1}
نالیدیک اسید	۹۷×۱۰$^{-۷}$ g.ml^{-1}	۱۹×۱۰$^{-۶}$ g.ml^{-1}	۲۴×۱۰$^{-۷}$ g.ml^{-1}	۴۸×۱۰$^{-۷}$ g.ml^{-1}	۹۷×۱۰$^{-۷}$ g.ml^{-1}	۱۹×۱۰$^{-۶}$ g.ml^{-1}	۲۴×۱۰$^{-۷}$ g.ml^{-1}	۴۸×۱۰$^{-۸}$ g.ml^{-1}
اریترومایسین	۰/۰۰۵ g.ml^{-1}	۰/۰۱ g.ml^{-1}	۰/۰۰۵ g.ml^{-1}	۰/۰۱ g.ml^{-1}	۰/۰۰۵ g.ml^{-1}	۰/۰۱ g.ml^{-1}	۷۸×۱۰$^{-۶}$ g.ml^{-1}	۱۵×۱۰$^{-۵}$ g.ml^{-1}

با مقایسه غلظت‌های به دست آمده MIC و MBC در اسانس‌ها و عصاره‌ها و با توجه به این که در اسانس‌ها این غلظت‌ها بسیار کمتر از غلظت‌ها در عصاره‌ها است به طوری که کمترین غلظت برای MIC در اسانس بادرنجبویه دربرابرباکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* ۰/۰۰۰۱۹گرم بر میلی‌لیتربه دست آمده است در حالی که در عصاره‌ها کمترین غلظت MIC ۰/۰۰۶۲۵گرم بر میلی‌لیتر تعیین شد می‌توان این گونه نتیجه‌گیری کرد که اسانس‌ها تأثیرات بیشتری روی باکتری‌ها داشته‌اند وقدرت آن‌ها در مهار و از بین بردن باکتری‌ها بیشتر بوده است و این موضوع را با توجه به ترکیبات بیشتر و خاص‌تر موجود در اسانس‌ها می‌توان توجیه کرد. کمترین غلظت MIC و MBC درمورد باکتری *سالمونلاتیفی موریوم* و *اشرشیا کلای* مربوط به آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین بود و آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین و نالیدیک اسید در باکتری شیگلا فلکسنری دارای کمترین غلظت MIC و MBC بودند. در باکتری استافیلوکوکوس اورئوس هم آنتی‌بیوتیک نالیدیک اسید کمترین غلظت MIC و MBC را داشت.

شناسایی ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس و گیاهان بادرنجبویه و اسطوخدوس

ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی بررسی شد که در اسانس بادرنجبویه حدود۵۵ ترکیب شناسایی گردید. مهم‌ترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس و فراوانی این ترکیبات در جدول ۳ مشخص شده است. بیشترین ترکیبات اسانس شامل سیترال (۳۴/۱۸ درصد)، نرول استات (۱۴/۹۹ درصد)، نرال (۱۷/۵۹ درصد) و اکسید کاریوفیلن (۹/۶۳ درصد) بود. در اسانس اسطوخدوس حدود ۴۲ ترکیب شناسایی گردید. مهم‌ترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس و فراوانی این ترکیبات در جدول ۴ مشخص شده است. بیشترین ترکیبات اسانس شامل: بورنئول (۲۹/۳۸ درصد)، لینالول (۲۴/۷۶ درصد) و کامفور (۱۱/۸۱ درصد)، اوکالیپتول (۹/۱۱ درصد) بود.

جدول ۳- ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه بادرنجبویه و اسطوخدوس

نمونه	نام ترکیب	درصد ترکیب	زمان بازدارندگی(دقیقه)
اسانس بادرنجبویه	وینیل هگزانول	۱/۹۴	۱۰/۳۲
	ترپین	۱/۳۷	۱۱/۵۲
	اکسیدسیس رز	۱/۱	۱۳/۳۸
	سیترنلال	۱/۳۷	۱۴/۳۳
	منتول	۱/۹۱	۱۴/۷۹
	نرال	۱۷/۵۹	۱۶/۳

	اکتنوئیک اسید	۱/۵۲	۱۶/۵۷
	سیترال	۳۴/۱۸	۱۶/۹۲
	نرول استات	۱۴/۹۹	۱۸/۹۹
	بتایونون	۱/۰۲	۲۰/۹
	سودولیمونن	۱/۲۳	۱۰/۱۹
	اوکالیپتول	۹/۱۱	۱۱/۶۴
	آلفاترپینئول	۳/۸	۱۲/۵۹
اسانس اسطوخدوس	وربنون	۳/۲	۱۲/۹۴
	لینالول	۲۴/۷۶	۱۳/۴۵
	کامفور	۱۱/۸۱	۱۴/۳۱
	بورنئول	۲۹/۳۸	۱۴/۸۳
	ترپینن-۴-اول	۲/۶۳	۱۴/۹۹
	کریپتون	۱/۳۲	۱۵/۱۶

ترکیبات تشکیل دهنده عصاره نیز توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی بررسی شد که درعصاره بادرنجبویه حدود ۲۶ ترکیب شناسایی شد. مهم‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده عصاره و فراوانی این ترکیبات در جدول ۴ مشخص شده است. بیشترین ترکیبات در عصاره گیاه بادرنجبویه شامل: پارازایلین (۴۱/۴۵ درصد)، متازایلین (۱۵/۹۹ درصد) و اتیل بنزن (۱۳/۴۱ درصد) بوده است. و ترکیبات تشکیل دهنده عصاره اسطوخدوس حدود ۲۵ ترکیب شناسایی شد. که مهم‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده عصاره و فراوانی آن در جدول ۴ آمده است. بیشترین ترکیبات درعصاره گیاه اسطوخدوس شامل: ترانس بورنئول (۲۶/۰۸ درصد) و گرانیال (۲۶/۰۴ درصد) بود.

جدول ۴- ترکیبات شیمیایی عصاره گیاه بادرنجبویه و اسطوخدوس

نمونه	نام ترکیب	درصد ترکیب	زمان بازدارندگی(دقیقه)
عصاره بادرنجبویه	۲،۲-دی متوکسی بوتان	۸/۲۳	۴/۷۶
	۳،۳-دی متوکسی-۲-بوتانون	۱/۰۳	۶/۹۶
	اتیل بنزن	۱۳/۴۱	۷/۲۵
	پارازایلین	۴۱/۴۵	۷/۴۶
	متازایلین	۱۵/۹۹	۸/۰۷
	۴،۲-دی-تری-بوتیل فنل	۲/۹۳	۲۱/۳۲
	۷-فنیل ایکوزان	۱/۱۷	۲۳/۳۴
	فنیل بنزان-۲	۲/۱۴	۲۴/۴۵
	فنل،۲(۱،۱-دی متیل اتیل)-۴(۱،متیل-۱-فنیل اتیل)	۳/۲۶	۲۵/۶۶
	بنزن،(۱-متیل هگزادسیل)	۱/۱۲	۲۶/۰۳
	اتیل بنزن	۵/۴۵	۷/۲۳
	پارازایلین	۱۵/۹۸	۷/۴۴
	اورتو-زایلین	۵/۹۷	۸/۰۶
	لینالول	۲/۰۸	۱۳/۱۵

عصاره اسطوخدوس	ترانس-بورنئول	۲۶/۰۸	۱۴/۶۳
	گرانیال	۲۶/۰۴	۱۵/۱۴
	۳-متیل هگزیل-۳-متیل بوتانوئات	۴/۲	۱۶/۳۷
	ترانس-۸-هیدروکسینالول	۱/۹۵	۱۶/۹
	۶-متیل-سیکلودک-۵-انول	۱/۲۶	۱۷/۸۷
	۷،۳-سیکلوندکادین-۱-اول،۱،۵،۵،۸-تترامتیل	۱/۴۲	۱۸/۱۱
	۵،۳-دی-تری-بوتیل فنل	۳/۵۶	۲۱/۲۹

بحث

استفاده درست و به‌جا از گیاهان دارویی مستلزم این است که اطلاعات دقیق و علمی ازآن‌ها داشته باشیم و ترکیبات شیمیایی موجود در آن‌ها را بشناسیم زیرا اثرات درمانی هر گیاه ناشی از ترکیبات شیمیایی موجود در آن است. با توجه به این که عصاره محلولی است که حاوی تمام مواد مفید گیاه مانند تانن، موسیلاژ، اسانس، ویتامین‌ها و املاح گیاه است اما اسانس تنها شامل ترکیبات ترپنی و یا مشتقات ترپنی گیاه می‌باشد در بررسی اسانس‌ها و عصاره با GC-MS اسانس‌ها دارای ترکیبات بیشتر و خاص‌تری بودند مهم-ترین ترکیبات اسانس‌ها از این قرار بود: اسانس گیاه بادرنجبویه (سیترال، نرول استات، نرال، اکسیدکاریوفیلن)، اسانس گیاه اسطوخدوس (بورنئول، لینالول، کامفور، اوکالیپتول). با مطالعه روی اسانس‌ها و عصاره‌ها مشخص شد که باکتری گرم مثبت(*استافیلوکوکوس اورئوس*) حساس‌تراز باکتری‌های گرم منفی (*سالمونلا تیفی موریوم، شیگلا فلکسنری و اشرشیاکلای*) بودند و از طرف دیگر میزان حساسیت تابعی از نوع و میزان اسانس یا عصاره است (Akgül & Chialva, 1989) به طوری که دراین تحقیق اسانس‌ها اثرضد باکتریایی بیشتری داشتند و با افزایش غلظت قطر هاله عدم رشد و خاصیت ضد باکتریایی در اسانس‌ها و عصاره‌ها بیشتر می‌شد.

علت حساسیت کمترباکتری‌های گرم منفی به اثرات ضد باکتریایی اسانس‌ها و عصاره‌ها به خاطر غشاء خارجی اطراف دیواره سلولی گرم منفی‌ها می‌باشد که باعث محدود کردن انتشار اجزاء آب‌گریز اسانس‌ها و عصاره‌ها به لایه لیپو پلی ساکاریدی می‌شود. غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی دارای کاتیون‌های دو ظرفیتی و قسمت پلی ساکاریدی لیپوپلی ساکارید در سطح سلول است. این ترکیبات آب‌دوست بوده و به عنوان یک سد در برابر ماکرومولکول‌ها و ترکیبات آب-گریز مانند ترکیبات موجود در اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی عمل می‌کنند. البته گاهی مواردااستثنایی نیز مشاهده می‌شود که حساسیت گرم مثبت‌ها کمتر بوده است. هرجزء از اجزاء اسانس‌ها و عصاره‌ها درجات متفاوتی ازفعالیت را در برابر باکتری‌های گرم مثبت یاگرم منفی نشان می‌دهند و این‌طور می‌توان تفسیرکرد که اسانس‌ها به خاطر داشتن ترکیباتی با درجات بالاتر فعالیت ضد باکتریایی اثر بیشتری نسبت به باکتری‌ها دراین تحقیق ازخودنشان داده‌اند.

همچنین ترکیبات شیمیایی اسانس‌ها و عصاره-های به دست آمده از یک گونه گیاهی خاص برحسب این که ازمناطق مختلف جغرافیایی و یا مراحل مختلف برداشت به دست آمده باشد ممکن است متفاوت باشد و این دلیل هم می‌تواند علت تأثیرات مختلف اسانس‌ها و عصاره‌ها بین باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی باشد. با وجود این‌که در اسانس‌ها و عصاره ترکیبات شیمیایی متعددی وجود دارد اما نمی‌توان مکانیسم واحدی برای اثرات ضد باکتریایی آن‌ها تعیین کرد به

طوری که این مکانیسم‌ها جداگانه و به تنهایی عمل نمی‌کنند و برخی از آن‌ها توسط سایرمکانیسم‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرند به طور مثال هر قدر ترکیباتی فنولیک مانند کارواکرول، تیمول و اوژنول در اسانس‌ها بیشتر باشد فعالیت ضد باکتریایی آن‌ها در برابر باکتری-ها بیشتراست، مکانیسم اثر این ترکیبات مانند سایر ترکیبات فنولیک شامل: اختلال در غشاء سیتوپلاسمی، بر هم زدن نیروی حرکت پروتونی و جریان الکتریکی و انعقاد محتویات سلولی می‌باشد (Cseke et al., 2016).

با توجه به نتایج به دست آمده از آزمایشات دیسک دیفیوژن، میکرودایلوشن، شناسایی ترکیبات با GC-MS و ارزیابی صفات فیتوشیمیایی این گیاهان می‌توان گفت که اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهان دارای اثرات ضد باکتریایی در برابر باکتری-های بررسی شده بودند و باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* دارای بیشترین حساسیت نسبت به اسانس‌ها و عصاره‌ها بود به نحوی که در برابر این باکتری برخی از اسانس‌ها و عصاره‌ها قطر هاله عدم رشد بیشتری نسبت به قطر هاله عدم رشد بعضی از آنتی‌بیوتیک‌های شاهد (مترونیدازول، نالیدیک اسید) داشتند. وجود برخی تفاوت‌ها در میزان اثرات ضد باکتری مشاهده شده در این مطالعه و تحقیقات مشابه می‌تواند به سبب تفاوت مکان رشدی این گیاهان و همپنین روش استخراج اسانس و عصاره باشد.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج بدست آمده از دیسک دیفیوژن و میکرودایلوشن و مقایسه نتایج می‌توان گفت که، اسانس و عصاره بادرنجبویه و اسطوخدوس اثرات ضد میکروبی علیه باکتری‌های مورد بررسی در این تحقیق داشتند و باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* دارای بیشترین حساسیت به اسانس بادرنجبویه می‌باشد. بنابراین خالص سازی و ارزیابی اثرات ضد باکتریایی ترکیبات فعال در عصاره و اسانس این دو گیاه به منظور ترکیب ضد باکتریایی و نگهدارنده مواد غذایی با عنوان یک ماده طبیعی گیاهی جایگزینی مناسب برای ترکیبات شیمیایی علیه میکروارگانیسم‌های مسمومیت‌زا و منتقله از مواد غذایی در جهت بهبود کیفیت و سلامت غذایی استفاده کرد. همچنین امروزه یکی از مشکلات بارز در مورد درمان عفونت‌ها و استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک-هاست که توجه ویژه را برای درمان می‌طلبد و از آنجایی که اثرات ضد باکتریایی اسانس و عصاره این دو گیاه نه تنها در این تحقیق که در مطالعات دیگر نیز به اثبات رسیده است، این مواد می‌توانند گزینه‌های مناسبی برای درمان عفونت‌هایی که توسط باکتری‌های مقام به آنتی‌بیوتیک‌ها ایجاد می‌شوند، توصیه می‌گردد.

منابع

1- Abu-Lafi, S., Odeh, I., Dewik, H., Qabajah, M., Hanuš, L., & Dembitsky, V. (2008). Thymol and carvacrol production from leaves of wild Palestinian *Majorana syriaca*. Bioresource Technology, 99(9), 3914-3918.

2- Adam, K., Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T., & Arsenakis, M. (1998). Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *46*(5), 1739-1745.

3- Adam, K. L. (2006). Lavender production, products, markets, and entertainment farms. *Retrieved November*, 5, 2006.

4- Ahmady-asbchin, S., & Mostafapour, M. J. (2018). Anti-bacterial interactions Rosemary (Officinalis rosmarinus) and essential oils of lavender (Lavandula stoechas) on two Gram-positive and three Gram-negative bacteria in vitro. *Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology)*, *31*(2), 121-136.

5- Akbary, P. (2014). In vitro inhibitory activity of the leaf methanol extract of green tea (*Camellia sinensis*) against *Lactococcus garvieae* and *Aeromonas hydrophila* isolated of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Advances in Microbiology*, *4*(12), 829.

6- Akgül, A., & Chialva, F. (1989). Constituents of the essential oil of *Echinophora tenuifolia* L. subsp. *sibthorpiana* (Guss.) Tutin from Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, *4*(2), 67-68.

7- Andrade, E. H. A., Alves, C. N., Guimarães, E. F., Carreira, L. M. M., & Maia, J. G. S. (2011). Variability in essential oil composition of Piper dilatatum LC Rich. *Biochemical Systematics and Ecology*, *39*(4-6), 669-675.

8- Arzhang, M., Dakhili, M., & Farahani, F. (2015). Investigation of chemical compounds and anti-microbial activity of essential Oil of *Melissa officinalis* L. *Qom University of Medical Sciences Journal*, *9*(1), 7-13.

9- Basiri, S., Esmaily, H., Vosough-Ghanbari, S., Mohammadirad, A., Yasa, N., & Abdollahi, M. (2007). Improvement by *Satureja khuzestanica* essential oil of malathion-induced red blood cells acetylcholinesterase inhibition and altered hepatic mitochondrial glycogen phosphorylase and phosphoenolpyruvate carboxykinase activities. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *89*(2), 124-129.

10- Cseke, L. J., Kirakosyan, A., Kaufman, P. B., Warber, S., Duke, J. A., & Brielmann, H. L. (2016). *Natural Products from Plants*. CRC press.

11-Davazdahemami, S., Sefidkon, F., Jahansooz, M., & Mazaheri, D. (2008). Comparison of biological yield, essential oil content and composition and phenological stages of moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) in three planting dates. *Iranian journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, *24*(3), 263-270.

12- Dupont, B. F., Dromer, F., & Improvisi, L. (1996). The problem of azole resistance in Candida. Commentary. *Journal de Mycologie Médicale. Supplément*, *6*(2), 12-19.

13- Ez zoubi, Y., Bousta, D., & Farah, A. (2020). A Phytopharmacological review of a Mediterranean plant: Lavandula stoechas L. *Clinical Phytoscience*, 6, 1-9.

14- Ghadri, T., Mousavi Gargari, S. L., Sharafi, S. M., Darvish Alipour Astaneh, S., & Rezaee, M. B. (2010). Antimicrobial, antioxidant, hematologic and cytotoxic properties of Lavandula angustifolia essential oil. *Pathobiology Research*, *12*(4), 45-58.

15- Ghiami Rad, M., & Lotfi, A. (2021). Evaluation of Anti-Bacterial Activity of Lavandula angustifalia Alcoholic and Aquatic Extracts on some Pathogenic Bacteria.

16- Hall, G. S. (2013). Bailey & Scott's Diagnostic microbiology, 13th edn. In: American Society for Clinical Pathology.

17- Mashreghi, M., & Momtazi, F. (2012). Comparison of the antibacterial effects of various concentrations of alcoholic extracts of *Rosmarinus officinalis*, *Hypericum perforatum* and *Carthamus tinctorius* on the growth phases of *Esherichia coli* O157. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences, 11*(2), 103-114.
18- Myint, S., Daud, W. R. W., Mohamad, A. B., & Kadhum, A. A. H. (1996). Gas chromatographic determination of eugenol in ethanol extract of cloves. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, 679*(1-2), 193-195.
19- Srinivasan, D., Nathan, S., Suresh, T., & Perumalsamy, P. L. (2001). Antimicrobial activity of certain Indian medicinal plants used in folkloric medicine. *Journal of Ethnopharmacology, 74*(3), 217-220.
20- Talei, G., Meshkatalsadat, M., & Mosavi, Z. (2007). Antibacterial Activity and Chemical Composition of Essential Oils from Four Medicinal Plants of Lorestan, Iran. *Journal of Medicinal Plants, 6*(21), 45-52.
21- Venskutonis, P., Dapkevičius, A., & Baranauskienė, M. (1995). Flavour composition of some lemon-like aroma herbs from Lithuania. In *Developments in food Science* (Vol. 37, pp. 833-847). Elsevier.
22- Yaghoobi, K., Kaka, G., Sh, D., & Ashayeri, H. (2016). Therapeutic effects of *Lavandula angustifolia*. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences*, *17*(4), 1-9.

JFM

مجله میکروب شناسی مواد غذایی

Investigating the antimicrobial effects of lemongrass and lavender extract and essential oil on some food bacteria

Mehrdad Ataei Kachoei[1], Elham Fakhri[2*], Fatemeh Khodaverdipour[3]

1. Department of Medicinal Plants, College of Food and Drug, Islamic Azad University , Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.
2. Ph.D Student of Horticultural Plant Breeding and Biotechnology, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture and Food Industry, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3. Ph.D Student of Microbiology, Department of Biology, Faculty of Basic Siences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

*__Corresponding author__: *Elham.fakhri18@gmail.com*

Abstract

In recent years, the increase in drug resistance against bacteria and the increased dosage of common drugs and antibiotics, as well as the side effects caused by, have brought natural factors such as medicinal plants with fewer side effects, which have received more attention. For this reason, in this study, we prepared alcoholic extracts and essential oils from lemongrass and lavender plants and then serially diluted them to obtain the minimum growth inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) against *Shigella Flexnerl*, *Salmonella Typhimurium*, *Esherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria were prepared. Zones of inhibition of bacterial growth were also measured and compared using the disc diffusion method. The results obtained showed that the halo diameter of the essential oil was larger than that of the extract, indicating a higher susceptibility of the sample to the Gram-positive bacterium *Staphylococcus aureus*. The amount of MIC and MBC in essential oil and extract, respectively, against each of the four bacteria tested was measured by microdilution method, which showed that the concentration of MIC and MBC in essential oil was lower than in extract. Analysis of compounds in each essential oil and extract was performed using a GC-MS device, essential oils contain more compounds than extracts and therefore have more antibiotic properties. Therefore, the results of this study demonstrate that lemongrass and lavender essences and extracts revealed antibacterial effects. Therefore, they can be used as natural plant products to combat bacterial infections.

Keywords: Lemon balm, Lavender, Extract, Essential oil, Antibacterial effects