جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ هفتم، شمارهٔ ٤، ص ۱۸۱-۱۷۳، ۱۳۷۹

مقالهٔ پژوهشی

بررسی فعالیت ضد میکروبی و ترکیبات شیمیایی اسانس گلهای اسطوخدوس و مریم گلی

دکتر ایرج رسولی و دکتر محمدباقر رضایی[۲]

خلاصه

روغن‌های اسانسی گل‌های اسطوخدوس (*Lavandula angustifolia*) و مریم گلی (*Salvia officinalis*) باروش تقطیر با بخار استخراج و تأثیر آن‌ها بر روی باکتری‌های *S. aureus* و *E.coli* مطالعه شد. تأثیر ضد میکروبی‌اسانس‌ها با روش دیسک پلیت در رقت‌های ۱،۲،۴،۱،۸،۱،۱ و ۱/۱۶ و در چهار مرحله زمانی صفر (روغن تازه)،یک، دو و سه ماه پس از اسانس‌گیری مطالعه شد. روغن‌های فرار مؤثر در رقت‌های مختلف در برابر سه رقت ۱۰ه، ۱۰ ٦ و ۱۰ ۷ در میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتریال قرا گرفتند تا حداقل غلظت‌های بازدارندگی (MIC) و کشندگی(MBC) آنها تعیین شود. هر دو اسانس به صورت رقیق نشده باکتریسیدال بودند. اسانس گل اسطوخدوس تأثیرضدمیکروبی بیشتری بر روی *E.coli* و اسانس گل مریم گلی تأثیر ضد میکروبی بیشتری بر روی *S.aureus* نشان‌داد. تجزیه و شناسایی ترکیبات اسانس‌ها با دستگاه گاز کروماتوگراف /طیف سنج جرمی (GC/MS) نشان می‌دهدکه هر دو اسانس در دوازده ترکیب b-Humulene, p-Cymene, Linalol, cis- a-pinene, a-pinene,b-،ocimene– b-Thujene, aCamphor, Camphene, 1,8-Cineole, Caryophyllene وTerpinene مشترک هستند. Linalol با ۳۶/۹ درصد بیشترین مقدار را در بین دوازده ترکیب مشترک و در بین کل ترکیبات اسانس گل اسطوخدوس دارد.ترکیبات اصلی اسانس گل اسطوخدوس عبارت بودند از: Linalol (٪۳۶/۹)، Cineole–۱،۸ (٪۱۶) Orneolb–(٪۱۱/۵) Camphor (٪۴/۲)، Terpinene-4ol (٪۴/۱۹). ترکیبات اصلی اسانس گل مریم گلی شامل pineneb–(٪۱۶)، Berneol (٪۹/۴)، Glubulol (٪۹/۳)، Humulene a– (٪۸/۴)، Thujenea– (٪۶/۴)، pinene a–(٪۵/۵) و Camphene (٪۵) می‌شوند. به نظر می‌رسد ترکیبات مونوترپنی باعث خاصیت ضد میکروبی‌روغن‌های اسانسی می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: اسطوخدوس، مریم گلی، اثر ضدمیکروبی، روغن‌های اسانسی

مقدمه

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

یکی از مهم‌ترین مواد مؤثر گیاهان دارویی را روغن‌های‌اسانسی یا روغن‌های فرار تشکیل می‌دهند. این مواد درقسمت‌های مختلف بسیاری ازگیاهان دارویی وجود دارند.بسیاری از فرآورده‌های خام گیاهان دارویی به علت داشتن روغن‌فرار به طور مستقیم در پزشکی مصرف می‌شوند ولی در بیشترموارد، روغن‌های فرار را از مواد خام جدا نموده و به عنوان داروبه کار می‌برند (۱۵). خواص ضد میکروبی روغن‌های اسانسی اززمان‌های قدیم شناخته شده و مطالعات زیادی روی گونه‌های‌مختلف گیاهی و تأثیر اسانس یا عصاره‌های آنها بر روی‌میکروارگانیسم‌ها گزارش شده است (۵،۶،۸،۱۰،۱۶،۱۷).Bastide و همکاران (۱۹۸۷) خواص ضدمیکروبی ترکیبات‌روغن‌های فرار را روی *E. coli* و *S. aureus* مورد مطالعه قراردادند (۲). Chalchat و همکارانش (۱۹۸۷) فعالیت‌های ضدمیکروبی روغن‌های اسانسی حاصله از Pinus sylvestris, Piceaabies و Pseudostuga menziesii بر روی *E.coli* را متغیر گزارش کردند (۴). آنها همچنین فرایند گذشت زمان به طور طبیعی یاساختگی را در افزایش تأثیر ضد میکروبی مؤثر دانستند.Bagci و Digrak پس از مطالعه اثرات ضدمیکروبی انواع‌روغن‌های اسانسی، آنها را به سه دسته بی‌تأثیر، کم‌تأثیر و بسیارمؤثر طبقه‌بندی نمودند. در مطالعه آنها *E.coli* کمترین‌تأثیرپذیری را داشت (۱). مطالعات Roussis (۱۹۹۶)تأثیرپذیری *E.coli* و مقاومت *S.aureus* را در برابر روغن‌های‌اسانسی Lamium garganicum نشان داد (۱۴). ترکیبات اصلی‌روغن‌های فرار گیاهانی که بر روی میکروب‌های معینی اثرکشندگی داشتند، توسط Lis-Balchin و همکارانش (۱۹۹۸)مقایسه شده‌اند (۸). عفونت‌های میکروبی تهدیدی جدی برای‌سلامتی، مخصوصاً در افرادی با بنیه ایمنی ضعیف بوده و لذا نیازبرای یافتن مواد ضدمیکروبی ارزان و مؤثر را ایجاب می‌کند. به‌علاوه استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی برای افزایش طول عمرمحصولات غذایی و پیشرفت ثبات چربی‌ها و روغن‌های غنی ازنظر اسیدهای چرب اشباع نشده، مقبولیت بیشتری می‌یابد. به‌منظور ارزیابی تأثیرات ضدباکتریایی روغن‌های‌اسانسی گل‌های اسطوخدوس (*Lavandulaangustifolia*) ومریم گلی (*Salviaofficinalis*) که به طور سنتی در ایران‌استفاده می‌شوند و نظر به تفاوت تأثیرات روغن‌های اسانسی‌گیاهان نسبت به یکدیگر و نیز مشاهده این تفاوت در داخل یک‌واریته به دلیل تفاوت در شرایط اقلیمی (۱۱،۱۳)، لازم دانستیم باتجزیه و شناسایی ترکیبات شیمیایی گونه‌های کشت شده در باغ‌ملی گیاه‌شناسی ایران که تا به حال این گونه بررسی‌ها بر روی آنهاانجام یا گزارش نشده است، تحقیق حاضر را طراحی نماییم.

مواد و روش‌ها

مواد

الکل اتیلیک، متانول، استون، پنتان نرمال، محیط‌های کشت‌میکروبی مانند مولر هینتون، نوترینت آگار، نوترینت براث کلیه‌مواد مصرفی از کارخانه مرک آلمان می‌باشند.

سویه‌های میکروبی

S.aureus ATCC No 25923E. coli ATCC No 25922

جمع‌آوری و خشک کردن نمونه‌های گیاهی

گونه‌های مورد نظر پس از جمع‌آوری از باغ ملی گیاه‌شناسی‌ایران در اواخر بهار و ابتدای تابستان، در آزمایشگاه گیاهان‌دارویی مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مراتع دقیقاً شناسایی شدند.اندام انتخابی (گل) برای اسانس‌گیری در سایه و یا توسط دستگاه‌خشک‌کن برقی در حرارت معمولی (۳۰-۳۵c°) خشک و سپس باآسیاب برقی پودر شدند.

روش تقطیر

۵۰۰ گرم اندام خشک شده گیاهان در مخزن مخصوص‌دستگاه تقطیر با بخار آب قرار گرفت و توسط جریان بخار آب به‌مدت دو ساعت اسانس‌گیری شد. بازده اسانس اسطوخدوس ومریم گلی به ترتیب ۳/۳ و ۰/۶ درصد نسبت به وزن گیاه بود.

نگهداری اسانس‌ها

کلیه اسانس‌ها بلافاصله پس از استخراج در آزمایشات اولیه‌به عنوان اسانس تازه مورد استفاده قرار گرفتند و سپس درویال‌های سربسته ریخته و با فویل آلومینیوم پوشانده شدند و درداخل یخچال نگهداری شده و با گذشت یک، دو و سه ماه مجدداًمورد آزمایش قرار گرفتند.

جداسازی و شناسایی توسط GC و GC/MS

به منظور جداسازی و شناسایی ترکیبات اسانسی، اسانس هرنمونه به دستگاه گاز کروماتوگراف (GC) مدل Shimadzu9A وگاز کروماتوگرافی کوپل با طیف‌سنج (GC/MS) مدل Varian3400 تزریق گردید. مشخصات ستون عبارت بودند از:DB-1 60، mmX0.25 mm fused silica capillary column با ضخامت‌فیلمی ۰/۲۵ میکرون و برنامه دمایی ۵۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گرادبا میزان ۴ درجه در دقیقه و دمای ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد انژکتور،گاز حامل هلیوم. پس از تزریق اسانس به GC و GC/MS ومشاهده طیف کروماتوگرام که حضور تعداد زیادی ترکیب رانشان می‌داد، با استفاده از زمان بازداری (Rt)، اندیس کواتس(KI)، طیف جرمی و مقایسه با ترکیب‌های استاندارد موجوددرکتابخانه اطلاعات کامپیوتری، شناسایی ترکیبات اسانس وتعیین درصد کمی در آنها انجام گردید (جدول ۳). قابل ذکر است‌که به منظور اطمینان از نتایج حاصله، شناسایی ترکیبات توسط هردو دستگاه انجام شد و تطبیق طیف‌های به دست آمده، صحت‌نتایج را ثابت نمود.

بررسی اثرات ضد میکروبی

برای مطالعه اثرات ضد میکروبی از دو روش انتشار(Diffusion test) و رقت (Dilution test) استفاده شد که از میان‌روش‌های انتشار از روش دیسک پلیت (Disk-plate) و از میان‌روش‌های رقت از روش رقت لوله‌ای استفاده شد (۹).

در روش دیسک پلیت از کاغذ واتمن شماره ۱، دیسک‌هایی‌به قطر ۶ میلی‌متر تهیه شد. غلظت سوسپانسیون میکروبی توسط‌دستگاه اسپکتروفتومتر (طول موج ۵۸۰nm) اندازه‌گیری و باروش شمارش کلنی از رقت‌های سوسپانسیون اولیه، جمعیت‌میکروبی به ازای دانسیته اپتیکال (Optical Density OD)۵۸۰ثبت شده در دستگاه اسپکتروفتومتر، تعیین گردید. از جمعیت‌اولیه باکتریال، سوسپانسیون محتوی ۸۱۰ باکتری در هر میلی‌لیترتهیه و سپس رقت‌های ۱/۱۰، ۱/۱۰۰ و ۱/۱۰۰۰ از آن تهیه‌گردیدند. بعد از کشت میکروب مورد نظر به صورت چمنی درسطح پلیت حاوی محیط کشت مولر ـ هینتون ـ آگار، دیسک‌های‌استریل تهیه شده را توسط پنس استریل با فاصله مناسب ازیکدیگر و از لبه پلیت، روی سطح پلیت

آلوده به میکروب قرارداده و بعد از تماس کامل با محیط کشت، با میکروپیپت استریل‌مقدار ۱۰Lm از رقت‌های اسانس گیاهی روی دیسک‌ها ریخته‌شد. بعد از انجام مراحل فوق پلیت‌ها را در داخل انکوباتور و دردمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده و بعد از ۱۸ تا ۲۴ ساعت،قطر مناطق عدم رشد توسط کولیس اندازه‌گیری شدند.

روش رقت لوله‌ای

برای تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی(MinimalInhibitoryconcentration) و حداقل غلظت کشندگی (Minimal Bactericidal concentration)، از روش رقت‌لوله‌ای استفاده شد (۹). مقدار ۵۰Lm اسانس با رقت‌های۲،۱،۴،۱،۸،۱،۱ و ۱/۱۶ در ۵mL سوسپانسیون میکروبی محتوی۱۰mL۷ باکتری ریخته شد و بدین ترتیب‌نسبت‌های۱۲۰۰،۱۱۰۰،۱۴۰۰، ۱۸۰۰ و ۱۱۶۰۰ اسانس در هر میلی‌لیترسوسپانسیون میکروبی به دست آمد. پس از هم زدن به مدت۲۴-۱۸ ساعت در انکوباتور قرار داده شد و سپس به وسیله‌اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۸۰nm جمعیت میکروبی تعیین ودر نتیجه MIC مشخص گردید. سپس از هر کدام از لوله‌ها که رشدجمعیت نشان نداده بودند، ۰/۱mL روی پلیت حاوی نوترینت‌آگار کشت داده شد تا MBC مشخص گردد.

تأثیر حلال‌ها بر میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه

تأثیر حلال‌های مختلف که در رقیق‌سازی اسانس‌ها مورداستفاده قرار می‌گیرند، بدون رقیق‌سازی خود آنها و بر روی‌میکروب‌های مورد مطالعه با روش‌های انتشار و رقت آزمایش‌شد. کلیه رقت‌ها با حلالی که در آزمایشات تأثیر حلال‌ها برمیکروارگانیسم‌ها تأثیر باکتریسیدی یا باکتری استاتیکی نداشت(متانول)، تهیه شدند. در کلیه مراحل آزمایشات از متانول به‌عنوان شاهد مواد ضد میکروبی استفاده شد.

تهیه رقت‌های مختلف اسانس‌ها

کلیه رقت‌ها با حلالی که در آزمایشات تأثیر حلال‌ها برمیکروارگانیسم‌ها تأثیر باکتریسیدی یا باکتری استاتیکی نداشت(متانول)، به نسبت‌های ۱/۱۶، ۱/۸، ۱/۴، ۱/۲ و ۱ (خالص)تهیه شدند.

مطالعه زمان باکتریسیدی اسانس‌ها

رقت‌های ۱/۱۰، ۱/۱۰۰ و ۱/۱۰۰۰ از سوسپانسیون‌های‌میکروبی محتوی ۸۱۰ باکتری تهیه و مقدار ۵۰Lm اسانس در۵Lm سوسپانسیون ریخته شده و در فواصل زمانی ۱۵، ۳۰، ۴۵،۶۰ و ۱۲۰ دقیقه، مقدار ۱۰Lm از هر لوله برداشته پس ازرقیق‌سازی به نسبت‌های ۱/۱۰، ۱/۱۰۰ و ۱/۱۰۰۰ روی سطح‌محیط نوترینت آگار قرار داده، با میله شیشه‌ای استریل به طوریکنواخت گسترده شدند. پلیت‌ها را به مدت ۲۴ ساعت داخل‌انکوباتور گذاشته و سپس تعداد کلنی‌ها با کلنی کانتر شمارش شده‌با ضرب عکس رقت در تعداد کلنی‌ها، تعداد باکتری‌های زنده درهر میلی‌لیتر سوسپانسیون تعیین و در محاسبات نموداری به‌صورت درصد ثابت شد.

روش آماری

آنالیز واریانس دو طرفه برای مطالعات آماری مورد استفاده‌قرار گرفت.

نتایج

اسانس گل‌های اسطوخدوس (*Lavandula angustifolia*)و مریم گلی (*Salvia officinalis*) با روش تقطیر با بخار استخراج‌شدند و فعالیت ضدمیکروبی آنها بر *E.coli* و *S.aureus* موردمطالعه قرار گرفت. به دلیل لزوم استفاده از حلال برای تهیه‌رقت‌های مختلف اسانسی، تأثیر ضدمیکروبی حلال‌های مختلف‌مطالعه و متانول به دلیل عدم تأثیر ضدمیکروبی به عنوان حلال‌مطلوب انتخاب شد. تأثیر ضدمیکروبی اسانس‌ها با روش دیسک‌پلیت در رقت‌های مختلف و در چهار مرحله زمانی متفاوت به‌صورت اسانس تازه و یک تا سه ماهه مطالعه و اسانس‌ها نسبت‌به یکدیگر و نسبت به دو میکروارگانیسم *S.aureus* و *E.coli*تفاوت‌هایی نشان دادند (جدول ۱). روغن‌های فرار تازه دررقت‌های ۱، ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸ و ۱/۱۶ در برابر سوسپانسیون‌باکتریال محتوی ۷۱۰ میکروارگانیسم در میلی‌لیتر قرار گرفتند وMIC و MBC آنها تعیین گردید (جدول ۲). اسانس رقیق نشده گل‌اسطوخدوس مانع رشد *E.coli* و *S.aureus* با ایجاد هاله عدم‌رشد به ترتیب به قطرهای ۱۶ و ۲۰ میلی‌متر گردید و تا یک ماه‌پس از اسانس‌گیری خاصیت باکتری سیدال خود را حفظ نمود واسانس مریم گلی با ایجاد ۱۱ و ۲۳ میلی‌متر هاله عدم رشد به‌ترتیب در *S.aureus* و *E.coli* به صورت تازه باکتریسیدال بود.اسانس مریم گلی در رقت ۱/۲ در برابر تراکم میکروبی ۷۱۰mlسوسپانسیون *S.aureus* فقط قدرت مهارکنندگی داشت(جدول‌های ۱ و ۲). MIC و MBC اسانس تازه گل اسطوخدوس‌بر باکتری‌های *S.aureus* و *E.coli* و اسانس تازه مریم گلی برباکتری *E.coli* مشابه یکدیگر و در تمام غلظت‌های سوسپانسیون‌میکروبی برابر با ۱ می‌باشد. اسانس تازه مریم گلی در رقت ۱ دربرابر کلیه غلظت‌های سوسپانسیون میکروبی باکتریسیدال بوده ودر رقت اسانس ۱/۲ و تراکم میکروبی۷۱۰/ml باکتریوستاتیک ودر تراکم‌های میکروبی ۶۱۰/ml و ۵۱۰/ml باکتریسیدال بود. این‌اسانس در رقت ۱/۴ در برابر کلیه غلظت‌های میکروبی‌باکتریوستاتیک بود.

جدول ۱: *تأثیر رقت‌های مختلف اسانس‌های گل اسطوخدوس (Lavandula angustifolia)و گل مریم گلی (Salvia officinalis) بر E.coli و S.aureus*

ردیف	رقت / نام گیاه و زمان مطالعه	۱/۱۶		۱/۸		۱/۴		۱/۲		۱	
		Sa	Ec	Sa	Ec	Sa	Ec	Sa	Ec	Sa	Ec
۱	اسانس گل اسطوخدوس تازه	۱۰	R	۱۱	۹	۱۲	۱۰	۱۴	۱۳	۲۰	۱۶
	اسانس گل اسطوخدوس یک ماه پس از اسانس‌گیری	۱۰	R	۱۱	۹	۱۲	۱۰	۱۴	۱۳	۱۹	۱۵
	اسانس گل اسطوخدوس دو ماه پس از اسانس‌گیری	۹	R	۱۰	۹	۱۱	۱۰	۱۳	۱۲	۱۷	۱۴
	اسانس گل اسطوخدوس سه ماه پس از اسانس‌گیری	۹	R	۸	۷	۱۰	۹	۱۲	۱۲	۱۶	۱۴
۲	اسانس مریم‌گلی تازه	۸	R	۱۰	R	۱۵	R	۱۸	۸	۲۳	۱۱
	اسانس مریم‌گلی یک ماه پس از اسانس‌گیری	۷	R	۱۰	R	۱۴	R	۱۷	۸	۲۱	۱۰
	اسانس مریم‌گلی دو ماه پس از اسانس‌گیری	R	R	۹	R	۱۲	R	۱۵	۷	۲۰	۹
	اسانس مریم‌گلی سه ماه پس از اسانس‌گیری	R	R	۷	R	۱۱	R	۱۴	۷	۱۹	۹

اعداد قطر هاله عدم رشد برحسب میلی‌متر را نشان می‌دهند.

جدول ۲: حداقل غلظت‌های مهارکنندگی (MIC) و کشندگی (MBC) اسانس‌های تازه گل اسطوخدوس (*Lavandula angustifolia*) و گل مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) بر *E.coli* و *S.aureus* حاوی 10^7 میکروارگانیسم در هر میلی‌لیتر سوسپانسیون میکروبی

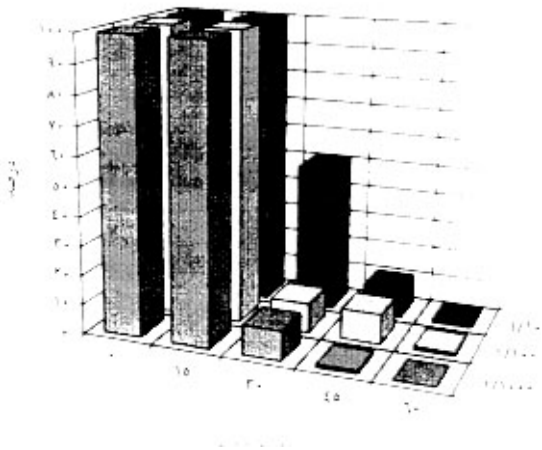
نام گیاه	رقت / آزمایش	۱/۱۶		۱/۸		۱/۴		۱/۲		۱	
		Sa	*Ec*	*Sa*	*Ec*	*Sa*	*Ec*	*Sa*	*Ec*	*Sa*	*Ec*
اسطوخدوس	آنتی‌بیوگرام	۱۰	R	۱۱	۹	۱۲	۱۰	۱۴	۱۳	۲۰	۱۶
	MIC	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	MBC	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
مریم گلی	آنتی‌بیوگرام	۸	R	۱۰	R	۱۵	R	۱۸	۸	۲۳	۱۱
	MIC	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	MBC	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

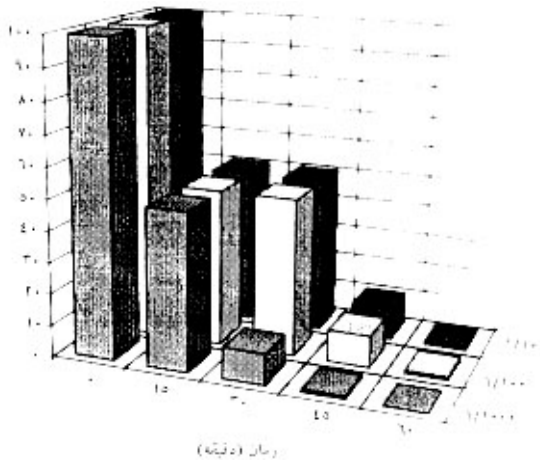
E.c=E.coli *Sa=S.aureus* R= مقاوم

اعداد قطر هاله عدم رشد برحسب میلی‌متر را نشان می‌دهند. + = تأثیرگذاری - = عدم تأثیر

جدول ۳: ترکیبات شیمیایی اسانس‌ها

شماره	ترکیبات اسانس گل اسطوخدوس	درصد	شماره	ترکیبات اسانس گل مریم گلی	درصد
۱	β-Caryophyllene	۰/۴۷	۱	β-Caryophyllene	۱/۶
۲	α-Humulene	۳/۱	۲	α-Humulene	۸/۴
۳	α-pinene	۰/۶۹	۳	α-pinene	۵/۵
۴	β-pinene	۱/۱۴	۴	β-pinene	۱۶
۵	α-Thujene	۰/۰۶	۵	α-Thujene	۶/۴
۶	1,8-Cineole	۱۶	۶	1,8-Cineole	۲
۷	Camphene	۰/۲۷	۷	Camphene	۵
۸	Camphor	۴/۲	۸	Camphor	۲/۹
۹	cis-β-ocimene	۱/۷۴	۹	cis-β-ocimene	۰/۶
۱۰	Linalol	۳۶/۹	۱۰	Linalol	۰/۱
۱۱	P-Cymene	۰/۲۸	۱۱	P-Cymene	۰/۳
۱۲	Terpinene-4-ol	۴/۱۹	۱۲	Terpinene-4-ol	۰/۲۵
۱۳	β-Orneol	۱۱/۵	۱۳	Berneol	۹/۴
۱۴	Linyl acetate	۳/۷	۱۴	Glubulol	۹/۳
۱۵	trans-β-ocimene	۰/۷۴	۱۵	Bernyl acetate	۴/۲
۱۶	Myrcene	۰/۵۸	۱۶	γ-Murolene	۳/۱
۱۷	α-terpineole	۰/۲۷	۱۷	Limonene	۱/۷
۱۸	Geroniol	۰/۱۱	۱۸	β-Gurjunene	۱/۴
			۱۹	Armadendrone	۱/۳
			۲۰	α-Gurjunene	۱/۲
			۲۱	β-Qubene	۰/۸
			۲۲	α-Murolene	۰/۷
			۲۳	γ-Terpinene	۰/۶
			۲۴	Micane	۰/۵
			۲۵	Thujene	۰/۴
			۲۶	trans-Sabinene hydrate	۰/۳
			۲۷	Tricyclene	۰/۳
			۲۸	α-Terpinene	۰/۲
			۲۹	cis-Sabinene hydrate	۰/۲
			۳۰	Octane-3-ol	۰/۲
			۳۱	Terpinolene	۰/۲





رقت‌های باکتریسیدال هر کدام از روغن‌های فرار تازه دربرابر سه رقت ۱۰^۷، ۱۰^۶ و ۱۰^۵ در میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتریال‌قرار داده شدند تا درصد میکروب‌کشی آنها در زمان‌های مختلف‌به دست آید. هر دو اسانس به صورت رقیق نشده رقت‌های‌مختلف سوسپانسیون *E.coli* را بطور مشابه و در عرض ۱۵ دقیقه‌کشتند ولی نسبت به *S.aureus* تفاوت‌هایی نشان دادند(نمودارهای ۲ و ۱). تجزیه و شناسایی ترکیبات اسانس‌ها، ۱۸ترکیب از اسانس گل اسطوخدوس و ۳۱ ترکیب از اسانس گل‌مریم گلی را نشان داد (جدول ۳).

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه اسانس گل اسطوخدوس تأثیر ضد میکروبی‌بیشتری بر روی *E.coli* نسبت به اسانس گل مریم گلی داشت ومریم گلی نیز تأثیر ضدمیکروبی بیشتری بر روی *S.aureus* نسبت‌به اسانس گل اسطوخدوس داشت. متغیر بودن فعالیت‌های ضدمیکروبی روغن‌های اسانسی بر روی *E.coli* را Chalchat وهمکارانش (۱۹۸۷) با سایر روغن‌های فرار گزارش کرده‌اند (۴)و مطالعه حاضر نیز نتیجه‌گیری آنان را تأیید می‌کند. اختلاف‌اسانس‌ها در اندازه قطر هاله‌های ممانعت رشد میکروب‌ها،علاوه بر متغیر بودن تأثیر اسانس‌ها بر میکروارگانیسم‌های‌مختلف، تأثیر عوامل دیگری مانند اندازه ملکولی و نفوذپذیری‌مواد ضدمیکروبی را تأیید می‌کند (۱۸،۳). گذشت زمان تأثیرضدمیکروبی اسانس‌ها را کاهش می‌دهد. آنالیز واریانس دوطرفه‌مبتنی بر اندازه قطر هاله‌های عدم رشد میکروبی (جدول ۱) نیزنشان داد که گذشت زمان در قدرت ضدمیکروبی اسانس‌ها تأثیردارد. از آنجایی که اندازه قطر هاله‌های عدم رشد دقیقاً نمی‌تواندبیانگر MIC و MBC باشد، پس ایجاب می‌نماید که آزمایشات‌تعیین حداقل غلظت‌های مهار کنندگی (MIC) و کشندگی (MBC)با روغن‌های اسانسی تازه در رقت‌های مختلف انجام و بررسی‌شوند. مقایسه اثر ضد باکتریایی، اسانس گل مریم گلی در برابرسوسپانسیون *S.aureus* را مؤثرتر از اسطوخدوس نشان داد درحالی که در تأثیر ضد مالاریایی روغن‌های فرار اسطوخدوس‌مؤثرتر از مریم گلی گزارش شده است (۱۰). این اختلاف تأثیرروغن‌های فرار بر عوامل بیماری‌زا، نشان دهنده ترکیبات‌شیمیایی متفاوت و خاص آنها نسبت به یکدیگر و نسبت به‌عوامل بیماری‌زا است.

مطالعه تأثیر ضدمیکروبی روغن‌های فرار گیاهان فوق وزمان تأثیرگذاری آنها بر سه رقت از ۱۰^۸ باکتری در هر میلی‌لیترسوسپانسیون میکروبی نشان می‌دهد که از نظر

زمانی خاصیت‌ضدمیکروبی اسانس‌ها سریع بوده و در عرض ۳۰ دقیقه پس ازمواجهه با میکروب‌ها، باعث مرگ آنها می‌شوند(نمودارهای ۲ و ۱). افزایش رقت اسانس‌ها از تأثیرضدمیکروبی آنها در برابر *S.aureus* می‌کاهد که این موضوع‌ارتباط مستقیم بین غلظت و فعالیت ضدمیکروبی اسانس‌ها علیه‌میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش را توجیه می‌کند. این اختلاف‌بر اساس غلظت میکروبی قابل توجیه است. King و همکارانش(۱۹۷۲) نشان دادند که آنتی‌بیوتیک بیشتری در برابر غلظت‌میکروبی زیاد، لازم است (۷). این موضوع با روغن‌های اسانسی‌نیز نشان داده شده است (۱۲) و مطالعه حاضر نتایج فوق را تأییدمی‌کند. به دلیل اختلاف ساختاری در دیواره باکتری‌های گرم‌مثبت و گرم منفی، به نظر می‌رسد که باکتری گرم منفی *E.coli*تأثیرپذیری بیشتری نسبت به باکتری گرم مثبت *S.aureus* درمواجهه با اسانس‌ها دارد که می‌تواند در ارتباط با ترکیبات‌شیمیایی روغن‌های فرار باشد. تجزیه و شناسایی ترکیبات‌شیمیایی اسانس‌ها (جدول ۳) نشان می‌دهد که هر دو اسانس دردوازده ترکیب Caryophyllene b-Humulene, a-pinene,b-- pinene, Linalol, a-Thujene, aCamphor, 1,8-Cineole,-ocimene, Camphene, bTerpinene-4-ol, p-Cymene, cis-مشترک هستند که از این میان p-Cymene و Terpinene-4-ol جزوترکیبات آروماتیک، -Caryophylleneb جزو سزکوئی‌ترپن‌ها ومابقی از مونوترپن‌ها هستند. بدین ترتیب بیش از ۷۰ درصدترکیبات اسانس گل اسطوخدوس با ترکیبات اسانس گل مریم‌گلی از نظر نوع ترکیب مشابه هستند. Linalol که یک ترکیب‌مونوترپنی اکسیژنه می‌باشد، با ۳۶/۹ درصد نه تنها بیشترین مقداردر بین دوازده ترکیب مشترک فوق بلکه در بین کل ترکیبات‌اسانس گل اسطوخدوس را دارد. -pineneb با ۱۶ درصد نه تنهابالاترین مقدار از ترکیبات مشترک اسانس گل مریم گلی بلکه‌بالاترین مقدار نسبت به ترکیبات مونوترپنی دیگر و نیز بیشترین‌مقدار از مجموع ۳۲ ترکیب اسانس گل مریم گلی را داراست.ترکیبات عمده اسانس گل مریم گلی عبارت بودند از (۱۶٪)- pineneb، (۹/۴٪) Berneol، (۹/۳٪) Glubulol، (۸/۴٪)- Humulenea، (۶/۴٪) -Thujenea، (۵/۵٪) -a pinene و Camphene(۵٪). ترکیبات عمده اسانس گل اسطوخدوس عبارت‌بودند از (۳۶/۹٪) Linalol، (۱۶٪) ۱،۸-Cineole، (۱۱/۵٪)-Orneolb، (۴/۲٪) Camphor و (۴/۱۹٪) Terpinene-4-ol. به‌نظر می‌رسد که تأثیر میکروب‌کشی اسانس‌ها در ارتباط باترکیبات مونوترپنی باشد. تحقیقات Lis-Balchin و همکارانش(۱۹۹۸) نشان می‌دهد که ۱،۸-Cineole قدرت میکروب‌کشی‌نداشته و از طرف دیگر خاصیت ضد میکروبی گیاهان حاوی-pinenea را تأیید می‌کند (۸). در این مطالعه نیز اسانس‌اسطوخدوس حاوی ۱۶٪ ۱،۸-Cineole بوده و اسانس مریم گلی۵/۵ درصد -pinenea و ۱۶٪ - pinene b دارد، در مقابل اسانس‌اسطوخدوس دارای ۳۶/۹٪Linalol می‌باشد و با توجه به‌خاصیت تقریباً یکسان ضد میکروبی هر دو اسانس می‌توان‌استنباط نمود که نسبت‌های متفاوت ترکیبات شیمیایی‌اسانس‌ها، خاصیت ضد میکروبی یکدیگر را به تعادل مساوی‌رسانده است.

با توجه به محدودیت‌های روزافزون استفاده از مواد شیمیایی‌ضدمیکروبی مانند عوارض جانبی و ایجاد مقاومت‌های دارویی‌و نظر به قابلیت کاربردی مؤثر استفاده از مواد طبیعی با منابع غنی‌موجود در داخل کشور، به نظر می‌رسد روغن‌های فرار، زمینه‌بسیار مناسبی برای مطالعه به عنوان جایگزین بهتر مواد فوق درحفظ مواد خوراکی، کنترل بیماری‌های انسانی و حیوانی باشند.

*bacterium.**E.coli,**wasreadily affected by the essential oil of**Lavandula angustifolia**and **S.aureus**was redily affected by the essential oil of**Salvia officinalis.**Chemical composition of the essential oils were analyzed by GasChromatography and Mass Spectrometry (GC and GC/MS). Twelve common chemical compounds ofa**-Humulene,a-pinene,b-pinene,a-Thujene, 1,8-Camphene, Camphor, Cis-b-ocimene, Linalool,p-Cymene**and**Terpinene-4-ol**were found at various concentrations in both the oils, most of which were monoterpenes. Major components of essential oil of**Salvia officinalis**wereb**-pinene**(16%),* **Berneol***(9.4%),***Glubulol** *(9.3%),* ***a-Humulene***(8.4%),* ***a-Thujene***(6.4%),* ***a-pinene***(5.5%),***Camphene** *(5%), and those of**Lavandula angustifolia**were* **Linalol** *(36.9%),***1,8-Cineole***(16%),* ***b-Orneol***(11.5%),***Camphor***(4.2%) and**Terpinene-4-ol***(4.19%). It seems that monoterpenes give antibacterialproperty to the essential oils.*

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2000; 7(4): 173-181

Key Words: Lavandula angustifolia, Salvia officinalis,*Antimicrobial, Essential oils*

References

1.Bagci E and Digrak M. Antimicrobial activity of essential oils of some Abies (Fir) species from Turkey.*Flav and Fragr J*1996; 11: 251-256.

2.Bastide P, Malhuret R, Chalchat JC,Garry Ph and Michet A.Correlation composition ebimique/activite antimicrobienne. II. Activite de trios builes essentielles de resineux visa-a-vis de deux soucbes bacteriennes.*Plant Med Phytother*1987; 21: 209-217.

3.Black JG: Microbiology, Principles and Applications. 3rded., Prentice Hall International Editions, 1996; pp366-369.

4.Chalchat JC, Garry R. Ph, Michet A, Bastide P and Malhuret R. Plantes Medicinales et Phytotherapie. 1987; 21:218.

5.Chalchat JC, Garry RP, Menut C, Lamaty G, Malhuret R and Chopineau J.Correlation between chemical composition and antimicrobial activity VI. Activity of some African essential oils.*J Essent Oil Res*1997; 9: 67-75.

6.Chao SC, Young DG and Oberg CJ.Effect of a diffused essential oil blend on bacterial bioaerosols.*J Essent Oil Res* 1998; 10: 517-523.

7.King AD, Bayne HG, Jurd L and Case C. Antimicrobial properties of natural phenols and related compounds: Obtusastyrene and dihydroobtusastyrene. *Antimicrobial agents and Chemotherapy* 1972; 1: 263-267.

8.Lis Balchin M, Deans SG and Eaglesham E. Relationship between bioactivity and chemical composition of commercial essential oils.*Flav and Fragr J*1998; 13: 98-104.

9.McKane L and Kandel J: Microbiology, essentials and Applications. 2nded., McGraw Hill, 1996; pp397-403.

10.Milhau G, Valentin A, Benoit F,*et al. In* oils. *J Essent Oil Res*1997; 9: 329-333.

11.Piccaglia R, Marotti M and Galletti GC. Characterization of essential oil from a Satureja montana L. Chemotype grown in northern Italy.*J Essent Oil Res*1991; 3: 147-152.

سپاسگزاری

بدین وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت و شورای پژوهشی‌دانشگاه شاهد که با تأمین بودجه امکان عملی شدن این طرح را میسر ساختند، اعلام‌می‌داریم. همچنین از زحمات کارشناسان آزمایشگاه بیولوژی آقایان محمد حبیبی وحسین اسماعیل‌زاده و ماشین‌نویس محترم سرکار خانم مریم رمضانی تشکرمی‌نمایم.

Summary

A Study on Antimicrobial Activity and Chemical Compositions of Essential Oils from Flowers of*Lavandula angutifolia and Salvia Officinalis*

I. Rasooli, PhD1., and MB. Rezaei, PhD.2

1. Assistant Professor of Microbiology, Biology Dept. Shahed University, 2. Assistant Professor of Chemistry, Institute forResearch in Forrests and Rangelands, Tehran, Iran

*Chemical composition and antimicrobial effects on**E.coli**and**S.aureus**of essential oils from* ***Lavandula angustifolia****and****Salvia officinalis****were studied. Disk diffusion method was conducted toevaluate the zone of microbial growth inhibition at 1, 1:2, 1:8 and 1:16 dilutions of the essential oils atfour stages of zero (fresh oil), 1,2 and 3 months post-exreaction. The antimicrobial effect was also studiedagainst 10^7/ml, 10^6/ml and 10^5/ml concentrations of microbial cells to find out Minimal InhibitoryConcentration (MIC) and Minimal Bactericidal Concentration (MBC). The essential oils werebactericidal against both the micro organisms. Comparatively, Gram negative*

12.Remmal A, Tantaoui Elaraki A, Bouchikhi T, Rhayour K and Ettayebi M.New developments in methodology to study essential oils antimicrobial activity in agar medium.*J Essent Oli Res*1993; 5:179-184.
13.Rhyu HY. Gas chromatographic characterization of sages of various geographic origins.*J Food Sci*1979; 44: 758-762.
14.Roussis V. Identification and bacteriostatic activity of the essential oil of Lamium garganicum L. ssp Laevigatum Arcangeli.*J Essent Oil Res*1996; 8: 291-293.
15.Sharma K and Aanand P. Photochemical and biochemical changes in wheat seedlings exposed to supplementary U.V.radiation.*Plant Science*1998; 132: 21-30.
16.Singh HB and Handique AK. Antifungal activity of the essential oil of Hyptis suaveolens and its efficacy in biocontrol measures in combination with Trichoderma harzianum.*J Essent Oil Res*1997; 9: 683-687.
17.Tiziana Baratta M, Damien Dorman HJ, Deans SG, Cristina Figueiredo A,Barroso JG and Giuseppe Ruberto. Antimicrobial and antioxidant properties of some commerical essential*Oils. Flav and Fragr J*1998; 13: 235-244.
18.Wistriech GA: Microbiology Laboratory. Prentice Hall, 1997; pp319-325.