



مطالعه اثر ضد باکتریایی اسانس و عصاره متانولی کاکوتی کوهی بر برخی از باکتری های بیماری زا

شهلا سلطانی نژاد^۱، طیبه ستایی مختاری^۲، پرویز رهبریان^۲

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت، گروه زیست شناسی

۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت، دانشکده کشاورزی

نویسنده مسؤول: شهلا سلطانی نژاد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت، گروه زیست شناسی shahlasoltani56@gmail.com

دریافت: ۸۹/۱/۱۰ پذیرش: ۸۹/۳/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: استفاده از ترکیبات ضد باکتریایی طبیعی مثل عصاره ها و اسانس های گیاهی برای نگهداری مواد غذایی از رشد چشمگیری برخوردار شده است. کاکوتی کوهی که در طب سنتی ایران برای درمان سرماخوردگی، ناراحتی های گوارشی و التهاب به فراوانی استفاده می شود، از گیاهان خانواده نعناع می باشد. اثرات ضدباکتریایی، ضد قارچی، آنتی اکسیدانتی و ضد التهابی آن گزارش شده است. در این پژوهش فعالیت ضد باکتریایی اسانس و عصاره متانولی کاکوتی کوهی بر برخی باکتری های بیماری زا بررسی شد.

روش بررسی: گیاه کاکوتی کوهی در زمان گلدهی جمع آوری و در هرباریوم دانشکده کشاورزی شناسایی شد. جهت تهیه عصاره روش ماسراسیون و اسانس روش تقطیر با آب مورد استفاده قرار گرفت. در ادامه فعالیت ضد باکتریایی اسانس و عصاره متانولی کاکوتی کوهی بر علیه باکتری های *Salmonella enterica*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Bacillus cereus* و *Listeria monocytogenes*، *Staphylococcus aureus*، *Enterobacter aerogenes* استفاده از روش انتشار در آگار به کمک دیسک بررسی گردید و حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) و حداقل غلظت میکروب کشی (MBC) آنها با استفاده از روش رقت لوله ای تعیین گشت.

یافته ها: رشد همه باکتری های مورد بررسی به جز سودوموناس آئروژینوزا بوسیله اسانس و عصاره متانولی کاکوتی کوهی مهار شد. حداقل غلظت مهار کنندگی اسانس برای لیستریا منوسیتوژنز $0/125 \mu\text{g/ml}$ و برای سالمونلا انتریکا و انتروباکتر آئروژنز $0/25 \mu\text{g/ml}$ بود که با حداقل غلظت میکروب کشی اسانس برابر می باشد. در مورد عصاره متانولی حداقل غلظت مهار کنندگی و میکروب کشی برای لیستریا منوسیتوژنز $1 \mu\text{g/ml}$ ، سالمونلا انتریکا، استافیلوکوکوس اورئوس و انتروباکتر آئروژنز $2 \mu\text{g/ml}$ مشاهده شد.

نتیجه گیری: اسانس و عصاره متانولی کاکوتی کوهی اثر ضد باکتریایی قوی بر روی بسیاری از باکتری های بیماریزا بویژه لیستریا منوسیتوژنز دارد. در مقایسه با عصاره متانولی، اسانس تاثیر بیشتری بر روی باکتری های مورد بررسی دارد، زیرا در غلظت های کمتری قادر به جلوگیری از رشد باکتری ها می باشد.

واژه های کلیدی: کاکوتی کوهی، عصاره متانولی، اسانس، فعالیت ضد باکتریایی

کرمان جمع آوری گردیده و در هر بار یوم گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت تعیین گونه شد. پس از جمع آوری گیاه، برگ ها در شرایط مناسب و در سایه خشک گردیده و جهت تهیه عصاره و اسانس با آسیاب خرد شدند.

تهیه عصاره و اسانس: برای تهیه عصاره از روش ماسراسیون استفاده گردید. ۵۰ گرم از هر نمونه به مدت ۴۸ ساعت در متانول ۸۰ درجه خیسانده شده و پس از گذشت این مدت زمان با کاغذ صافی صاف گشت. عصاره های بدست آمده با استفاده از دستگاه روتاری در دمای ۴۰ تا ۵۰ درجه سانتی گراد تغلیظ شد و در دمای ۵۰-۴۰ درجه به مدت ۲ روز خشک گردید (۵ و ۶). برای تهیه اسانس از روش تقطیر با آب به کمک دستگاه کلونجر استفاده شد (۷). باکتری ها در محیط LB کشت شده، ۲۴ ساعت در ۲۵ درجه سانتی گراد گرما گذاری شدند. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۴۰۰۰ rpm سانتریفوژ گردیدند. سلول ها یک بار با آب دیونیزه شسته شدند. رسوب حاصل در ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک گردیده و وزن خشک آن تعیین شد. برای تهیه جسم مرده نیز سلول ها پس از ۲۴ ساعت گرما گذاری در ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شده، سپس وزن خشک آنها تعیین گشت.

باکتری های مورد بررسی: باکتری های مورد استفاده *Pseudomonas aeruginosa* (PTCC 1430)، *Enterobacter Salmonella enterica* (PTCC 1709)، *aerogenes* (PTCC 1221) (PTCC 1431)، *Listeria monocytogenes*، *Staphylococcus aureus* (PTCC 1298) و *Bacillus cereus* (PTCC 1015) بودند. که از پژوهشکده بیوتکنولوژی، مرکز کلکسیون قارچ ها و باکتری های صنعتی و عفونی ایران به صورت لیوفیلیزه تهیه شدند.

تهیه سوسپانسیون میکروبی ۰/۵ مک فارلند: برای تهیه سوسپانسیون میکروبی نیاز به کشت ۲۴ ساعته از هر باکتری می باشد. بنابراین ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش، از کشت ذخیره به محیط کشت شیبدار آگار مغذی تلقیح گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد. سپس کلونی های سطح محیط کشت با محلول نرمال سالین شسته شده و سوسپانسیون میکروبی با محلول نرمال سالین رقیق گردید تا میزان جذب سوسپانسیون در طول موج ۵۳۰ نانومتر با میزان جذب محلول ۰/۵ مک فارلند برابر گردد. به عبارت دیگر سوسپانسیون تولیدی بایستی حاوی $10^8 \times 1/5$ CFU/ml باشد (۸ و ۹).

اسانس، عصاره های گیاهی و اجزای تشکیل دهنده آنها دارای اثرات شناخته شده ضد باکتریایی هستند. کاکوتی کوهی متعلق به جنس زیزیفورا و تیره نعناعیان است. از جنس های مهم این تیره؛ نعناع، آویشن کوهی، اسطوخودوس، مرزنجوش و کاکوتی را می توان نام برد (۱). کاکوتی گیاهی است علفی، یک ساله، دارای ساقه کوتاه به ارتفاع ۱۵-۵ Cm و برگ های نوک تیز و باریک که در اغلب نواحی ایران پراکندگی دارد (۱). این گیاه به حالت وحشی در مناطق وسیعی از ایران مانند نواحی مختلف البرز، غرب ایران، کرج، پل جاجرود، جنوب غربی تهران، دوشان تپه، نواحی شمال ایران مثل منجیل، آذربایجان و تبریز، اصفهان، خراسان، دامغان، سمنان، شیراز، ازنه، قم، همدان، بلوچستان، کرمان و می روید (۱ و ۲). چهار گونه آن به نام های *Ziziphora clinopodioides* (کاکوتی کوهی)، *Ziziphora persica* در ایران وجود دارد (۱). علاوه بر ایران در ترکمنستان، افغانستان، آناتولی و آسیای مرکزی نیز می روید. (۱ و ۲). از خواص درمانی این گیاه، خلط آور، بادشکن و مقوی معده است. در بعضی نواحی مخلوط گرد دانه آن با عسل، جهت درمان دیسانتری به کار می رود (۱). در مناطق مختلف از پودر خشک شده این گیاه به عنوان چاشنی بر روی ماست و لبنیات استفاده می شود (۳). همچنین در معالجه امراض معده و به عنوان ضد عفونی کننده برای رفع سرما خوردگی مورد استفاده دارد (۴). اجزای کاکوتی کوهی فعالیت ضد توموری داشته و رشد نوعی از تومورهای بدخیم را تا ۳۲/۶ درصد و غده سرطانی را تا ۴۷/۵ درصد کاهش می دهد. در ایران با وجود استفاده زیاد از گیاهان خانواده نعناع به عنوان طعم دهنده، تحقیقات گسترده ای پیرامون اثر ضد میکروبی عصاره کاکوتی کوهی بر روی باکتری های بیماری زا انجام نشده است. این پژوهش با هدف بررسی اثر ضد میکروبی اسانس و عصاره متانولی کاکوتی کوهی بر برخی از باکتری های بیماری زا در محیط کشت و تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی و میکروب کشی آن انجام گرفت.

روش بررسی

تهیه نمونه: گیاه کاکوتی کوهی در فروردین و اردیبهشت ماه در زمان گلدهی از نواحی اطراف شهرستان بافت در استان

کار گرفته شد. همچنین روش آماری به کار رفته در مقایسه بین MIC و MBC اسانس و عصاره آمار توصیفی می باشد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از بررسی اثرات ضد باکتریایی اسانس کاکوتی به روش انتشار در آگار به کمک دیسک در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱. میانگین قطر هاله های عدم رشد باکتری ها (mm)

باکتری	اسانس (10 micro l/disk)	آمی سیلین (10 micro g /disk)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-
<i>Salmonella enterica</i>	۱۹/۳ ± ۰/۳	۱۳ ± ۰/۳
<i>Bacillus cereus</i>	۲۰/۳ ± ۰/۲	۱۴ ± ۰/۴
<i>Enterobacter aerogenes</i>	۱۹ ± ۰/۵	۱۱ ± ۰/۳
<i>Staphylococcus aureus</i>	۱۴ ± ۰/۵	۱۳ ± ۰/۳
<i>Listeria monocytogenes</i>	۳۲/۱ ± ۰/۲	۲۱/۳ ± ۰/۵

(-) : عدم تشکیل هاله ممانعت از رشد

± : نشان دهنده حدود اطمینان میانگین ها می باشد

این نتایج نشان می دهد که این اسانس در غلظت مورد بررسی هیچ گونه اثری بر روی سودوموناس آئروژینوزا ندارد. در سطح اطمینان ۵٪ بین اثر ضد میکروبی اسانس بر روی سالمونلا انتریکا و انتروباکتر ائروژنز اختلاف معنی داری وجود ندارد، ولی بین باکتری های دیگر اختلاف معنی دار می باشد. بیشترین تاثیر ضد باکتریایی بر روی لیستریا منو سیتوژنز گزارش شد. در مقایسه با کنترل مثبت (آمپی سیلین) در بسیاری از موارد به استثنای سودوموناس آئروژینوزا اسانس فعالیت ضد باکتریایی بالاتری از خود نشان داد. نتایج نشان می دهد که حداقل غلظت مهار کنندگی اسانس کاکوتی کوهی برای باکتری های گرم منفی انتروباکتر ائروژنز و سالمونلا انتریکا $0.25 \mu\text{g/ml}$ بود. حداقل غلظت میکروب کشی این اسانس برای باکتری های فوق با حداقل غلظت مهار کنندگی آن برابر بود. اسانس کاکوتی کوهی تاثیری بر سودوموناس آئروژینوزا نداشت. حداقل غلظت مهار کنندگی برای باکتری های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا منوسیتوژنز $0.125 \mu\text{g/ml}$ و برای باسیلوس سرئوس $1 \mu\text{g/ml}$ به دست آمد. حداقل غلظت میکروب کشی اسانس برای لیستریا منوسیتوژنز با حداقل غلظت مهار کنندگی آن برابر بود، ولی برای استافیلوکوکوس اورئوس معادل $1 \mu\text{g/ml}$

بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی و اسانس کاکوتی کوهی: به منظور بررسی اثرات ضد باکتریایی اسانس از روش انتشار در آگار به کمک دیسک استفاده شد. در این روش مقدار $10 \mu\text{l}$ از اسانس به دیسک های بلانک اضافه شد. بعد از فرو بردن سواب استریل در سوسپانسیون میکروبی ، اضافه محلول با فشار دادن سواب به کناره لوله گرفته شده و سپس در تمام سطح ظرف پتری حاوی محیط مولر هینتون آگار کشیده گردید. در مرحله بعد با استفاده از پنس استریل دیسک های آغشته شده به اسانس کاکوتی کوهی در سطح محیط کشت قرار گرفته و با کمی فشار بر روی محیط کشت ثابت گردید. پتری ها را در حرارت 37°C درجه سانتی گراد به مدت ۱۸ - ۱۶ ساعت قرار داده، پس از آن با استفاده از خط کش دقیق قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی متر اندازه گیری شد. همچنین آنتی بیوتیک استاندارد آمپی سیلین ($10 \mu\text{g}$ بر دیسک) به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. تمام آزمایش ها با ۳ تکرار انجام گرفت. در ادامه برای تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی و میکروب کشی اسانس و عصاره متانولی کاکوتی کوهی از روش رقت لوله ای استفاده شد. محیط کشت مولر هینتون مایع با غلظت های ۰، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵۰، ۰/۵، ۱، ۲ و ۴ میکرو گرم بر میلی لیتر از عصاره متانولی و اسانس جداگانه در لوله های در پیچ دار در سه تکرار آماده شد (۱۰). برای رسیدن غلظت نهایی باکتری ها به 10^5CFU/ml ، به هر لوله از سوسپانسیون میکروبی ۰/۵ مک فارلند اضافه شد. لوله ها در دمای $37-35^\circ\text{C}$ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ - ۱۸ ساعت گرمخانه گذاری شد. پایین ترین غلظتی که هیچ گونه کدورتی در آن مشاهده نشد، به عنوان حداقل غلظت مهار کنندگی تعیین گردید. برای مشخص نمودن حداقل غلظت میکروب کشی (MBC) از رقت هایی که کدورتی در آنها مشاهده نشد، در محیط نوترینت آگار کشت سطحی داده شد. پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای 37°C درجه گرمخانه گذاری گردید. غلظتی که شمارش تعداد کلونی ها در آن صفر بود، به عنوان حداقل غلظت میکروب کشی برای هر باکتری تعیین گردید (۱۱ و ۱۲).

آنالیز آماری: برای محاسبات آماری از نرم افزار SPSS و برای مقایسه میانگین نمونه ها از آزمون Tukey استفاده گردید. به منظور تعیین نمونه هایی که دارای اختلاف میانگین معنی داری می باشند، آنالیز واریانس یک طرفه با تکرار مساوی به

مشاهدات نشان داد که حداقل غلظت میکروب کشی عصاره متانولی کاکوتی کوهی برای باکتری های گرم منفی انتروباکتر آروژنز و سالمونلا انتریکا $2 \mu\text{g/ml}$ است. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره برای هر دو گروه باکتری های گرم منفی و گرم مثبت در اغلب موارد برابر حداقل غلظت میکروب کشی آن بود. حداقل غلظت مهارکنندگی و میکروب کشی این عصاره برای استافیلوکوکوس اورئوس $2 \mu\text{g/ml}$ و برای لیستریا منوسیتوژنز $1 \mu\text{g/ml}$ بدست آمد. حداقل غلظت مهارکنندگی و میکروب کشی برای باسیلوس سرئوس به ترتیب $2 \mu\text{g/ml}$ و $4 \mu\text{g/ml}$ بود (جدول ۳).

نتایج این مطالعه نشان داد که از میان باکتری های گرم مثبت مورد آزمایش لیستریا منوسیتوژنز بیشترین و باسیلوس سرئوس کمترین حساسیت را نسبت به عصاره کاکوتی دارد. به طور کلی با مقایسه تاثیر مهار کنندگی و میکروب کشی اسانس و عصاره کاکوتی کوهی می توان نتیجه گرفت که اسانس این گیاه در غلظت های کمتری نسبت به عصاره قادر به جلوگیری از رشد باکتری های مورد بررسی می باشد.

بحث

گرچه هزاران سال است که اثر بازدارندگی ادویه جات، عصاره ها و اسانس های گیاهی شناخته شده است اما در سالهای اخیر توجه زیادی به تاثیر عصاره های معطر، اسانس های گیاهی و یا مواد موثره این اسانس ها بر روی پاتوژن ها و میکروارگانیسم های عامل فساد مواد غذایی شده است (۱۳ و ۱۴). بررسی اثر این مواد بر روی ایزوله های مهم منتقله از راه مواد غذایی نظیر سالمونلا انتریتیدیس (۱۵، ۱۶ و ۱۷)، *E. coli* (۲۱)، باسیلوس سرئوس (۱۴ و ۱۸)، استافیلوکوکوس اورئوس (۱۲، ۱۶ و ۱۹) و لیستریا منوسیتوژنز (۲۰ و ۲۱) نشان دهنده تلاش محققان برای جایگزین کردن نگهدارنده های طبیعی مشتق از منابع گیاهی، حیوانی و میکروبی به جای نگهدارنده های شیمیایی است. خاصیت ضد میکروبی اسانس گیاهان به ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده آن بستگی دارد. تجزیه اسانس های گیاهان مختلف وجود ترکیبات متفاوتی را در آنها نشان داده است. ترکیب اصلی اسانس های گیاهان خانواده نعناع تیمول و کارواکرول می باشد که اثر قوی ضد میکروبی کارواکرول توسط محققین بیان شده است (۲۲ و ۲۳). بررسی Ozturk و Ercisli (۲۰۰۶) نشان داد که اسانس کاکوتی

۵/۰ بود و روی باسیلوس سرئوس در دامنه غلظت مورد بررسی فقط اثر مهارکنندگی داشت (جدول ۲).

جدول ۲. نتایج حداقل غلظت میکروب کشی (MBC) غلظت های مختلف اسانس کاکوتی کوهی

گونه باکتری	غلظت اسانس (micro g/ml)					
	۰	۰/۱۲۵	۰/۲۵	۰/۵	۱	۲
انتروباکتر آروژنز	+	+	*-	-	-	-
سودوموناس آروژینوزا	+	+	+	+	+	+
سالمونلا انتریکا	+	+	*-	-	-	-
باسیلوس سرئوس	+	+	+	+	+	+
لیستریا منوسیتوژنز	+	*-	-	-	-	-
استافیلوکوکوس اورئوس	+	+	+	-	-	-

* حداقل غلظت مهارکنندگی با حداقل غلظت میکروب کشی برابر است. علامت + نشان دهنده رشد باکتری می باشد.

لیستریا منوسیتوژنز حساس ترین باکتری گرم مثبت در مقابل اسانس کاکوتی کوهی بود. نتایج حاصل از تعیین MIC عصاره متانولی کاکوتی کوهی نشان داد که این عصاره بر همه باکتری های مورد آزمایش بجز سودوموناس آروژینوزا دارای اثر مهار کنندگی و میکروب کشی بود.

جدول ۳. نتایج حداقل غلظت میکروب کشی (MBC) غلظت های مختلف عصاره متانولی کاکوتی کوهی

گونه باکتری	غلظت عصاره (micro g/ml)					
	۰	۰/۱۲۵	۰/۲۵	۰/۵	۱	۲
انتروباکتر آروژنز	+	+	+	+	+	*-
سودوموناس آروژینوزا	+	+	+	+	+	+
سالمونلا انتریکا	+	+	+	+	+	*-
باسیلوس سرئوس	+	+	+	+	+	+
لیستریا منوسیتوژنز	+	+	+	+	-	-
استافیلوکوکوس اورئوس	+	+	+	+	+	-

* حداقل غلظت مهارکنندگی با حداقل غلظت میکروب کشی برابر است. علامت + نشان دهنده رشد باکتری می باشد.

باکتری های گرم منفی اشیریشیا کولی و کلبسیلا نومونیا جلوگیری کند، همچنین عدم فعالیت ضد باکتریایی اسانس کاکوتی کوهی در مقابل سودوموناس آئروژینوزا در بررسی آنها مشاهده شد (۷). نتایج این پژوهش نشان داد که اسانس کاکوتی کوهی بر باکتری های گرم مثبت مورد آزمایش شامل باسیلوس سرئوس، لیستریا منوسیتوژنز و استافیلوکوکوس اورئوس اثر ضد باکتریایی دارد. در بررسی کیوانس و آکگول (۱۹۸۶) نیز اثر ضد باکتریایی اسانس کاکوتی بومی ترکیه بر باکتری های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس مشاهده شد (۲). نتایج حاصل از تحقیقات صالحی و همکاران نیز نشان می دهد که اسانس کاکوتی کوهی می تواند از رشد باکتری های گرم مثبت باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس جلوگیری کند (۷). اکثر مطالعات بیان می دارد که حساسیت باکتری های گرم منفی در مقابل ترکیبات ضد میکروبی در مقایسه با باکتری های گرم مثبت کمتر است که ممکن است به خاطر وجود غشای خارجی در ساختمان دیواره سلولی آنها باشد. باکتری های گرم مثبت در دیواره سلولی خود دارای ترکیب موکوپتید بوده، در حالی که باکتری های گرم منفی فقط لایه نازکی از موکوپتید دارند و قسمت اعظم ساختمان دیواره در آنها لیپوپروتئین و لیپوپلی ساکراید است. به همین علت در مقابل مواد ضد باکتریایی مقاوم ترند. این مطلب با نتایج بدست آمده در این پژوهش همخوانی دارد.

نتیجه گیری

در این پژوهش اسانس و عصاره متانولی کاکوتی کوهی بر باکتری های مورد بررسی به جز سودوموناس آئروژینوزا دارای اثر ضد باکتریایی بود. لیستریا منوسیتوژنز حساس ترین باکتری در مقابل اسانس و عصاره متانولی این گیاه می باشد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با پشتیبانی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت انجام شده است. بدین وسیله از مسوولین محترم حوزه معاونت پژوهشی به خاطر حمایت های مالی تشکر و قدردانی می شود.

کوهی از ۳۱/۸۶ درصد پولگون، ۱۲/۲۱٪ سینئول، ۱۰/۴۸٪ لیمون، ۹/۱۳٪ منتول، ۶/۸۸٪ β پینن، ۶/۷۳٪ منتون، ۵/۳۰٪ پمپریبتون و ۴/۱۸٪ پیپریتون تشکیل شده است (۲۴). با توجه به این که در این پژوهش اسانس نسبت به عصاره متانولی تاثیر ضد باکتریایی بیشتری از خود نشان داد، احتمالاً این فعالیت ضد میکروبی بیشتر در ارتباط با پولگون می باشد که به عنوان ترکیب اصلی تشکیل دهنده اسانس کاکوتی کوهی گزارش شده است. مهربیان و همکاران (۱۳۷۵) در مطالعه ای که روی فعالیت ضد میکروبی عصاره کاکوتی انجام دادند نشان دادند که عصاره کاکوتی می تواند از رشد باکتری های گرم منفی انتروباکتر آئروژنز، اشیریشیا کولی، کلبسیلا اکسی توکا، سالمونلا تیفی، سالمونلا پاراتیفی و شیگلا دیسانتری جلوگیری نماید. نتایج فوق با نتایج حاصل از مطالعات صالحی و همکاران (۲۰۰۵) روی اثر ضد میکروبی عصاره کاکوتی همخوانی دارد. مطالعات آنها نشان داد که عصاره کاکوتی کوهی می تواند از رشد باکتری های گرم منفی کلبسیلا نومونیه و اشیریشیا کولی ممانعت نماید. همچنین عدم فعالیت ضد باکتریایی عصاره کاکوتی کوهی در مقابل سودوموناس آئروژینوزا در مطالعات آنها مشاهده شد که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد (۷). نتایج حاصل از تحقیقات صالحی و همکاران نیز بیان می دارد که این عصاره می تواند رشد استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و باسیلوس سوبتیلیس را مهار نماید (۷). مطالعات Ercili و Ozturk (۲۰۰۶ و ۲۰۰۷) نیز نشان داد که عصاره های کاکوتی کوهی و کاکوتی پرسیکا قادرند از رشد طیف وسیعی از باکتری های گرم مثبت و گرم منفی بیماری زا جلوگیری نماید (۲۴ و ۲۵). عنصر اصلی اسانس در تعدادی از گیاهان خانواده نعنائیان از جمله کاکوتی، پولگون است. پولگون دارای خاصیت ضد باکتری و ضد قارچی بوده و بویژه روی ایزوله های مختلف سالمونلا موثر است (۳ و ۲۶). در این پژوهش اسانس کاکوتی کوهی بر باکتری های گرم منفی انتروباکتر آئروژنز و سالمونلا انتریکا اثر مهار کننده و میکروب کشی دارد ولی بر سودوموناس آئروژینوزا اثری ندارد که با نتایج بررسی کیوانس و آکگول (۱۹۸۶) بر روی اسانس کاکوتی بومی ترکیه هم خوانی دارد. نتایج بررسی آنها نشان داد که اسانس کاکوتی می تواند از رشد باکتری گرم منفی اشیریشیا کولی و انتروباکتر آئروژنز جلوگیری نماید و اثری بر سودوموناس آئروژینوزا ندارد (۲). نتایج فوق با نتایج حاصل از تحقیقات صالحی و همکاران (۲۰۰۵) روی اثر ضد باکتریایی اسانس کاکوتی کوهی مشابه می باشد. بررسی های آنها نشان داد اسانس کاکوتی کوهی می تواند از رشد

References

- 1- Zargari A. *Iranian medicinal plants*. Tehran university press. Tehran. Iran. 1995; (4): 103- 104.
- 2- Baser K, Sezik E, Tumen G. *Composition of the essential oil of Ziziphora clinopodioides Lam.* J. Essential Oil. Res. 1991; 3(4): 237-239.
- 3- Sajadi SE, Ghasemi Dehkordi N, Baloochi M. *Volatile Constituents of Ziziphora clinopodioides Lam.* Journal of Pajoohesh va Sazandeghi. 2003; 8: 1-9.
- 4- Babakhanloo P, Mirza M, Sefidkan F, Barazandeh M. *Chemical components of essential oil of Ziziphora clinopodioides.* Med. Plant. Res. J. 1998; 2: 103- 114.
- 5- Manna A, Abalaka ME. *Preliminary screening of the various extracts of Physalis angulata (L.) for antimicrobial activities.* Spectrum J. 2000; 7(2): 119-125.
- 6- Shariff ZU. *Modern herbal therapy for common ailments.* Nature pharmacy series. Spectrum Books limited. United Kingdom. 2001; pp: 9- 84.
- 7- Salehi P, Sonboli A, Eftekhari F, Nejad- Ebrahimi S, Yousefzadi M. *Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of Ziziphora clinopodioides subsp. rigida (BOISS.) RECH. F. from Iran.* Biol. Pharm. Bull. 2005; 28: 1892-1896.
- 8- Babayi L, Kolo JI, Ijah UJ. *The antimicrobial activities of methanolic extracts of Eucalyptus camaldulensis and Terminalia catappa against some pathogenic microorganisms.* Biochemistry. 2004; 16 (2): 106- 110.
- 9- Naderinasab M, Rashed T, Nazem M. *Laboratory bacteriology.* Emam Reza Press. Mashhad. Iran. 1997; pp: 24- 29.
- 10- Inouye Sh, Takizawa T, Yamaguchi H. *Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact.* J. Antimicrob. Chemother. 2001; 47:565-573.
- 11- Vander DA, vlietinc Aj. In: Dey PM, Harborne JB. (Eds), *Methods in plant biochemistry: screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants.* London: Academic press; 1991; pp: 47-69.
- 12- Rezaei M, Rasooli I. *Chemical components and biological activity of essential oils of Thymus x-prolock and Mentha longifolia.* Daneshvar. 2000; 8 (31): 1-8.
- 13- Ali MS, Saleem M, Akhtar F, Jahangir M, Parvez M, Ahmad VU. *Three p-cymene derivatives from Zararia multiflora.* Phytochemistry. 1999; 52 (4): 685-688.
- 14- Valero M, Giner MJ. *Effects of antimicrobial components of essential oils on growth of Bacillus cereus INRA L2104 in and the sensory qualities of carrot broth.* Int. J. Food Microbiol. 2006; 106 (1): 90-94.
- 15- Nazer A, Kobilinsky A, Tholozan J, Dubais-Brissonet F. *Combination of foods antimicrobials at low levels to inhibit the growth of Salmonella sv. typhimurium: a synergistic effect?* Food. Microbiol. 2005; 22: 391-398.
- 16- Sokmen A, Gulluce M, Akpulat HA. *The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic Thymus spathulifolius.* Food Control. 2004; 15: 627-634.
- 17- Tassou C, Koutsomanis K, Nychas GJE. *Inhibition of Salmonella enteritidis and Staphylococcus aureus in nutrient broth by mint essential oil.* Food Res. Int. 2000; 33: 273-280.
- 18- Delgado B, Fernandez PS, Palop A, Periago PM. *Effect of thymol and cymene on Bacillus cereus vegetative cells evaluated through the use of frequency distributions.* Food. Microbiol. 2004; 21: 327-334.
- 19- Tape B, Donmez E, Vnlü M, Candan F, Daferera D, Sokmen A. *Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of Salvia cryptantha and Salvia multicaulis.* Food Chemistry. 2004; 84: 519- 525.
- 20- Smith P, Stewart J, Fyfe L. *The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese.* Food. Microbiol. 2001; 18: 463 - 470.
- 21- Delaquis PJ, Stanich K, Girard B, Mazza G. *Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils.* Int. J. Food. Microbiol. 2002; 74: 101-109.
- 22- Chami N, Chami F, Bennis S, Trouillas J, Remmal A. *Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats.* Braz. J. Infec. Dis. 2004; 8 (3): 217-226.
- 23- Aghajani Z, Assadian F, Masoudi Sh, Chalabian F, Esmaili A, Tabatabaei M, Rustaiyan A. *Chemical composition and in vitro antibacterial activities of the oil of Ziziphora clinopodioides and Z. capitata from Iran.* Chemistry of Natural Compounds. 2008; 44(3): 387-389.
- 24- Ozturk S, Ercisli S. *The chemical composition of Essential oil and in vitro antibacterial activities of essential oils and methanol extract of Ziziphora persica bunge.* J. Ehtanopharmacol. 2006; 106(3): 327- 376.
- 25- Ozturk, S. and Ercisli, S. *Antibacterial activity and chemical constitutions of Ziziphora clinopodioides.* Food Control. 2007; 18(5): 535- 540.
- 26- Amiri H. *Composition and antioxidant activity of the essential oil and methanolic extract of Ziziphora clinopodioides Lam in preflowering stage.* Journal of Kerman University of Medical Sciences. 2009; 16(1): 79-86.