

## Identification of Chemical Compounds, Antioxidant Activity, and Antimicrobial Effect of *Elettaria cardamomum* Essential Oil on a Number of Pathogenic Microorganisms in Vitro

Mohammad Noshad<sup>\*1</sup>, Behrooz Alizadeh Behbahani<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Science & Technology, School of Animal Science & Food Technology, Agricultural Sciences & Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

**\*Corresponding Author:**

**Mohammad Noshad;**  
Department of Food Science & Technology, School of Animal Science & Food Technology, Agricultural Sciences & Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

Email:  
noshad@ramin.ac.ir

Received: 4 Nov, 2018  
Accepted: 21 Jan, 2019

### Abstract

**Background and Objectives:** Green cardamom with scientific name of *Elettaria cardamomum* belongs to Zingiberaceae family. The purpose of this study was to determine the chemical composition and antioxidant activity and antibacterial effects of *Elettaria cardamomum* essential oil on some pathogenic microorganisms *in vitro*.

**Methods:** In this experimental study, first, *Elettaria cardamomum* essential oil was extracted using hydrodistillation method by clevenger. Then, its chemical composition, were identified by gas chromatography and gas chromatography–mass spectrometry. Antioxidant activity of the essential oil, was evaluated based on the percentage of free radical inhibitory activity. The antimicrobial activity of *Elettaria cardamomum* essential oil was tested by disc diffusion, well diffusion, minimum inhibitory concentration (MIC), and minimum bactericidal concentration (MBC) methods. Data analysis was carried out using analysis of variance (ANOVA) test.

**Results:** In this research, 23 compounds, were identified in *Elettaria cardamomum* essential oil. The major compound of the essential oil was Eucalyptol (31.51%) and the Antioxidant activity of *Elettaria cardamomum* essential oil, was obtained to be 43%±0.67. The MIC of *Elettaria cardamomum* essential oil ranged from 4 to 32mg/ml, depending on the type of bacteria (Gram positive or Gram negative). The results of the disc diffusion and well diffusion tests showed that the maximum inhibition zone diameter (IZD) of *Elettaria cardamomum* essential oil was for the *Streptococcus pyogenes* and the minimum IZD was for *Enterobacter aerogenes*.

**Conclusion:** Based on the results of this research, the essential oil of *Elettaria cardamomum* has antioxidant activity and antimicrobial activity against several pathogenic strains. Therefore, further researches are required for clinical application of *Elettaria cardamomum* essential oil.

**Keywords:** *Elettaria cardamomum*; Essential oil; Chemical compounds; Antioxidants; Anti-infective agents.

DOI: 10.29252/qums.13.2.57

## شناسایی ترکیبات شیمیایی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و تأثیر ضد میکروبی اسانس هل سبز بر تعدادی از میکروارگانیسم‌های بیماریزا در شرایط آزمایشگاهی

محمد نوشاد\*<sup>id</sup>، بهروز علیزاده بهبهانی<sup>id</sup>

### چکیده

**زمینه و هدف:** هل سبز با نام علمی *Elettaria cardamomum* متعلق به تیره زنجبیلیان است. این مطالعه با هدف شناسایی ترکیبات شیمیایی، فعالیت و ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی اسانس هل سبز بر تعدادی از میکروارگانیسم‌های بیماریزا در شرایط آزمایشگاهی انجام شد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی، ابتدا اسانس هل سبز با روش تقطیر با آب، به وسیله کلونجر اسانس‌گیری شد. ترکیبات شیمیایی اسانس هل سبز با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنجی جرمی شناسایی شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس هل سبز بر اساس درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد تعیین گردید. فعالیت ضد میکروبی اسانس به روش‌های دیسک دیفیوژن، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی بر سویه‌های بیماری‌زا تعیین شد. داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** در این پژوهش، ۲۳ ترکیب در اسانس هل سبز شناسایی شد. Eucalyptol با ۳۱/۵۳٪ بیشترین ترکیب بود و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس هل سبز بر اساس درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد برابر با ۶۷/۰±۴۳ به دست آمد. محدوده حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس هل سبز بین ۳۲-۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بسته به نوع باکتری (گرم مثبت یا گرم منفی) متفاوت بود. بر اساس نتایج حاصل از آزمون دیسک دیفیوژن و چاهک آگار، بیشترین قطر هاله عدم رشد اسانس هل سبز مربوط به باکتری *استرپتوکوکوس پیورنز* و کمترین قطر هاله عدم رشد مربوط به باکتری *انتروباکترائروژنز* بود.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این پژوهش نشان داد اسانس هل سبز دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی در برابر سویه‌های بیماری‌زا می‌باشد؛ بنابراین به منظور کاربرد بالینی اسانس هل سبز، انجام مطالعات بیشتر ضروری است.

**کلیدواژه‌ها:** هل سبز؛ اسانس؛ ترکیبات شیمیایی؛ آنتی‌اکسیدان‌ها؛ عوامل ضد عفونی.

گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی،  
دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی،  
دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی  
خوزستان، ملاتانی، ایران.

\*نویسنده مسئول مکاتبات:

محمد نوشاد؛ گروه علوم و مهندسی  
صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و  
صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و  
منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:

noshad@ramin.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۷/۸/۱۳

تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۱/۱

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Noshad M, Alizadeh Behbahani B. Identification of chemical compounds, antioxidant activity, and antimicrobial effect of *elettaria cardamomum* essential oil on a number of pathogenic microorganisms in vitro. *Qom Univ Med Sci J* 2019;13(2):57-69. [Full Text in Persian]

اکثر عفونت‌ها و مسمومیت‌ها به‌وسیله باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا، انتروباکتر ائروژنز، اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا مونوسایتوژنز و استرپتوکوکوس پیوژنز ایجاد می‌شود. سودوموناس آئروژینوز، باکتری گرم منفی فرصت‌طلبی است که می‌تواند باعث عفونت‌های مجاری ادراری، سیستم تنفسی، التهاب و آماس پوست، عفونت بافت‌های نرم، عفونت‌های معده، روده و ... گردد. انتروباکتر ائروژنز، باکتری گرم منفی از خانواده انتروباکتریاسه بوده که می‌تواند باعث عفونت‌های رحمی و ادراری شود. اشرشیاکلی، باکتری گرم منفی از خانواده انتروباکتریاسه بوده که شایع‌ترین عامل عفونت دستگاه ادراری است. استافیلوکوکوس اورئوس، باکتری گرم مثبتی است که در ایجاد طیف وسیعی از بیماری‌ها؛ از جمله اندوکارتیت، استئومیلت، پنومونی، سندرم شوک توکسیک، کورک و ... نقش دارد. استرپتوکوکوس پیوژنز، کوکسی گرم مثبت است که می‌تواند باعث ایجاد بیماری‌هایی همانند فارنژیت، باد سرخ، سلولیت، زردزخم و قانقاریا شود (۹-۱۲).

لیستریا مونوسایتوژنز، باکتری گرم مثبت و عامل بیماری لیستریوز می‌باشد. این باکتری در موارد اپیدمیک عفونت در افراد مستعد تا ۷۵٪ عامل مرگ‌ومیر است. از آنجایی که باکتری لیستریا مونوسایتوژنز از نظر فیزیولوژیکی شبیه به لیستریا اینوکوا بوده و تنها تفاوت در مورد بیماری‌زا بودن آن‌ها می‌باشد؛ لذا در این پژوهش از باکتری لیستریا اینوکوا استفاده شد.

پژوهش حاضر با هدف شناسایی ترکیبات شیمیایی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس هل سبز بر سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا، انتروباکتر ائروژنز، اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا اینوکوا و استرپتوکوکوس پیوژنز با روش‌های متنوع کیفی و کمی ضد میکروبی و در نهایت، مقایسه قدرت ضد میکروبی اسانس هل سبز با تعدادی از آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی صورت گرفت.

## روش بررسی

این مطالعه تجربی (سال ۱۳۹۷) در آزمایشگاه میکروبی‌شناسی گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و

هل سبز با نام علمی *Elettaria cardamomum* متعلق به تیره زنجبیلیان است. هل می‌تواند به‌صورت طبیعی و پرورش‌یافته در مناطق سرد و کوهستانی در زیر سایه درختان رشد کند. از نظر گیاه‌شناسی، درخت هل دارای ارتفاع ۳۰-۵۰ سانتی‌متر است. انواع هل شامل: هل سبز، هل سیاه و هل سفید می‌باشد که نوع سبز آن عطر تندتری دارد. در ایران هل سبز به دلیل دارا بودن عطر تندتر، بیشتر از سایر هل‌ها مصرف می‌شود. هل یکی از پرکاربردترین چاشنی‌های معطر مورد استفاده در بعضی از غذاها، نان‌ها، شیرینی‌ها، به‌خصوص مرباها بوده و از نظر طب سنتی، گرم و خشک است. در طب سنتی ایران استفاده از دانه‌های هل پس از مصرف وعده‌های غذایی علاوه بر اینکه موجب هضم و گوارش بهتر غذا می‌شود می‌تواند بوی نامطبوع دهان را نیز برطرف کند. مصرف دم‌کرده هل؛ مفرح، تقویت‌کننده معده و بادشکن است. استفاده از دمنوش هل در تسکین کولیت، نفخ، سوءهاضمه، حالت تهوع، خستگی و ترشح زیاد اسید معده مؤثر است. از جمله مهم‌ترین ویژگی ارزشمند هل، جلوگیری از تشکیل خلط در گلو بوده که از نظر مقایسه با داروهای شیمیایی، مصرف دانه‌های آن اثری همانند داروی اکسپکتورانت دارد و در پاک کردن ترشحات اضافی و خلط از سینوس‌ها، بینی و سینه مؤثر است. از سایر خواص درمانی هل می‌توان به کاهش اضطراب و نگرانی، درمان افسردگی، درمان شب ادراری در کودکان و تقویت کلیه‌ها اشاره کرد (۱-۵). اثر ضد میکروبی هل در مطالعات مختلفی مورد بررسی قرار گرفته است. Kubo و همکاران در سال ۱۹۹۱، با بررسی اثر ضد میکروبی ۱۰ ترکیب هل بر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، اثر ضد میکروبی آن را تأیید کردند (۶). El Malti و همکاران نیز در سال ۲۰۰۷، در مطالعه‌ای نشان دادند اسانس هل سبز دارای فعالیت ضد میکروبی بر روی سویه‌های بیماری‌زا می‌باشد (۷). Kaushik و همکاران در سال ۲۰۱۰، اثر ضد میکروبی عصاره‌های مختلف هل سبز را بر تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی در شرایط آزمایشگاهی تأیید کردند (۸). همچنین Husain و همکاران (سال ۲۰۱۴) در مطالعه خود، اثر ضد میکروبی اسانس هل سبز را بر تعدادی از سویه‌های باکتریایی و قارچی نشان دادند (۱).

## Archive of SID

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس هل سبز مطابق با روش نوشاد و همکاران (سال ۱۳۹۷) انجام گرفت (۱۶). در این روش به‌طور خلاصه، میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر حاصل از واکنش رادیکال چربی دوست DPPH با آنتی‌اکسیدان‌های دهنده هیدروژن، تعیین گردید. سپس براساس معادله ۱، درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد محاسبه شد.

$$\text{DPPH-RS activity (\%)} = [1 - \text{AS}/\text{AC}] \times 100$$

در این معادله: As جذب نمونه و Ac جذب نمونه کنترل است. از محلول اتانول ۹۵٪ به‌عنوان شاهد جهت صفر کردن دستگاه اسپکتروفوتومتر استفاده شد.

جهت بررسی اثر ضد میکروبی اسانس هل سبز، از سه عدد سویه گرم منفی استاندارد سودوموناس آئروژینوزا، ائروباکتر ائروژنز و اشرشیاکلی، همچنین سه عدد سویه گرم مثبت استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا اینوکوا و استرپتوکوکوس پیورنز موجود در مجموعه آزمایشگاه میکروبی شناسی استفاده شد. جهت فعال‌سازی هریک از سویه‌ها، قبل از آزمون‌های ضد میکروبی، کشت ۲۴ ساعته تهیه گردید، سپس جهت تهیه استاندارد میکروبی، طبق استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند در طول موج ۶۲۰ نانومتر (با جذب بین ۰/۱۳-۰/۰۸) اقدام شد. در این حالت استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند، کدورتی معادل با یک سوسپانسیون باکتریایی حاوی  $1 \times 10^8 \text{ CFU/ml}$  ایجاد می‌کند (۱۷).

در این مطالعه از چهار روش متنوع ضد میکروبی جهت بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس هل سبز استفاده شد.

روش‌های به‌کاررفته جهت ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس هل سبز به‌طور خلاصه در زیر آورده شده است:

اولین روش مورد بررسی، روش دیسک دیفیوژن یا انتشار در آگار به کمک دیسک بود. در این روش مطابق با روش انجام‌شده توسط عزیزاده بهبهانی و همکاران در سال ۱۳۹۶ (۱۸)، ابتدا اسانس هل سبز از فیلتر سر سرنگی با قطر منفذ ۰/۲۲ میکروبی عبور داده شد و در ظرف استریل ریخته شد، سپس ۱۰ میکرولیتر از اسانس هل سبز به دیسک‌های بلانک استریل (با قطر ۶ میلی‌متر) اضافه گردید.

صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شد. هل سبز بعد از خریداری از بازار، با استفاده از آب سرد به‌صورت سطحی، شست‌وشو داده شد و بعد از خشک شدن در دمای اتاق، به‌وسیله آسیاب آزمایشگاهی پودر گردید.

از روش تقطیر با آب، جهت اسانس‌گیری هل سبز به‌وسیله دستگاه کلونجر استفاده شد. مطابق با این روش، هل سبز پودر شده با ترازوی دیجیتالی به میزان ۵۰ گرم به‌دقت توزین و ۷۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به دستگاه کلونجر شیشه‌ای (آداک) اضافه شد تا عمل استخراج اسانس انجام گیرد. مدت‌زمان استخراج اسانس از هل سبز، ۴ ساعت به‌طول انجامید، لازم به ذکر است بیشترین حجم اسانس استخراجی در همان یک‌ساعت اول بود. بعد از اتمام اسانس‌گیری از هل سبز، جداسازی اسانس از سطح آب انجام و به‌وسیله سولفات سدیم آگیری و تا انجام آزمون‌های شیمیایی و میکروبیولوژیکی، اسانس استخراج‌شده در ظروف تمیزی که اطراف آن پوشش فویل آلومینیومی (کاملاً تاریک) پیچیده شده بود در دمای یخچال (۴ درجه سانتیگراد) نگهداری شد (۱۳).

جهت شناسایی ترکیبات موجود در اسانس هل سبز، از دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنجی جرمی موجود در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه فردوسی مشهد استفاده گردید. میزان ۰/۱ میکرولیتر از اسانس هل سبز به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق شد و برنامه‌ریزی دمایی ستون (۸۰-۲۲۵ درجه سانتیگراد) برای جداسازی مطابق با روش Husain و همکاران در سال ۲۰۱۴ انجام گرفت (۱). در ادامه، درصد ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس هل سبز محاسبه گردید. آلکان‌های نرمال  $C_{28} - C_{38}$ ، تحت شرایط یکسان براساس برنامه دمایی اسانس هل سبز، برای محاسبه شاخص بازداری اجزای اسانس به دستگاه تزریق شد. اسانس هل سبز به دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنجی جرمی تزریق و طیف جرمی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس به‌دست آمد. از گاز هلیم با سرعت ۱/۱ میلی‌لیتر در دقیقه و از انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون استفاده شد. در نهایت، اجزای اسانس هل سبز در مقایسه با طیف‌های جرمی استاندارد موجود در کتابخانه الکترونیک ویلی موجود در نرم‌افزار و مقایسه با اعداد استاندارد موجود در مراجع شناسایی گردید (۱۴، ۱۵).

## Archive of SID

۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. پس از مدت زمان ۲۴ ساعت از گرمخانه‌گذاری، به هریک از خانه‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای، ۲۰ میکرولیتر معرف ۵٪ تری فنیل تترازولیوم کلراید اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه‌گذاری شدند. اولین خانه‌ای که در آن تغییر رنگ قرمز یا ارغوانی ایجاد نشد؛ به‌عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس هل سبز یادداشت گردید.

برای تعیین حداقل غلظت کشندگی اسانس هل سبز با توجه به نتایج حاصل از حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (میکروداپلوشن برات و معرف تری فنیل تترازولیوم کلراید)، از خانه‌هایی که فاقد رنگ قرمز یا ارغوانی بودند (حداقل غلظت مهارکنندگی به غلظت‌های بالاتر)، ۱۰۰ میکرولیتر بر پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هیتون آگار کشت داده شد، سپس محیط‌های کشت گرمخانه‌گذاری شدند. غلظت‌هایی که فاقد رشد میکروارگانیزم بودند به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی برای سویه‌های بیماریزا در نظر گرفته شدند (۱۸،۲۰). تمامی آزمایش‌ها در سه بار یا بیشتر تکرار شد و از میانگین‌های به‌دست آمده برای آنالیزهای آماری استفاده گردید. داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸، آزمون واریانس و دانکن (جهت مقایسه میانگین‌ها)، در سطح معنی‌داری ۵٪ تجزیه و تحلیل شدند.

## یافته‌ها

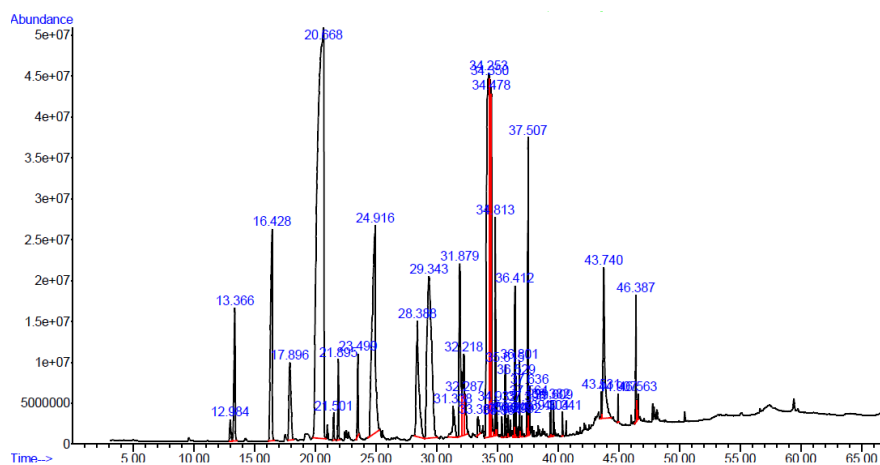
نتایج حاصل از شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس هل سبز با استفاده از کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنجی جرمی در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. اعداد مندرج در ستون عمودی کروماتوگرام، فراوانی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس هل سبز و ستون افقی، زمان جداسازی و شناسایی هریک از ترکیبات اسانس را در ستون نشان می‌دهد (نمودار). در این مطالعه، ۲۳ ترکیب از اسانس هل سبز شناسایی گردید که در مجموع، ۹۴/۸۶٪ ترکیبات اسانس را تشکیل می‌داد. ترکیب عمدۀ اسانس هل سبز، Eucalyptol (۳۱/۵۳٪) بود. علاوه بر این، ترکیبات اصلی دیگر شامل:  $\alpha$ -Terpinenylacetate (19%)،  $\alpha$ -Terpineol (8/93%)، Linalool (8/31%)، Sabinene (4/22%)، Octadecadienoic acid (3/2%) و Linalyl acetate (3/08%) ترکیبات غالب بودند.

در ادامه، دیسک‌های آغشته به اسانس هل سبز با دقت بر روی پتری‌دیش‌های حاوی محیط کشت مولر هیتون آگار (مرک آلمان) و باکتری‌های بیماریزا (مطابق با استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند) قرار گرفتند. فاصله دیسک‌ها از دیواره پتری‌دیش، حداقل ۲۰ میلی‌متر و از یکدیگر حداقل ۲۵ میلی‌متر تعیین گردید. در نهایت، هریک از پتری‌دیش‌ها در دمای بهینه رشد باکتری (۳۷ درجه سانتیگراد) به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند، سپس قطر هاله عدم رشد توسط خط‌کش به‌طور دقیق اندازه‌گیری و ثبت گردید. همچنین از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک ونکوماکسین و جنتامایسین به‌منظور مقایسه اثر ضد میکروبی اسانس هل سبز با آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی استفاده شد. اصول کلی روش چاهک آگار، مطابق با روش دیسک دیفیوژن بود، با این تفاوت که در این روش اسانس هل سبز درون چاهک‌هایی که به‌وسیله پیست پاستور بر سطح محیط کشت ایجاد شده بودند (با عمق ۶ میلی‌متر) ریخته شد. در نهایت، پتری‌دیش‌های حاوی اسانس هل سبز و باکتری‌های بیماریزا در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد، به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری و پس از آن، میزان هاله عدم رشد به‌وسیله خط‌کش اندازه‌گیری و ثبت گردید (۱۹).

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد اسانس هل سبز مطابق با روش انجام‌شده توسط کلاهی‌موند در سال ۱۳۹۵ (۲۰) و علیزاده بهبهانی و همکاران در سال ۱۳۹۶ (۱۸) صورت گرفت. در این روش از چاهک ۹۶ خانه‌ای استریل و معرف تری فنیل تترازولیوم ۵٪ جهت بررسی رشد میکروارگانیزم‌ها استفاده شد. به‌طور خلاصه، در این مرحله ابتدا یک محلول مادر با غلظت ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از اسانس هل سبز تهیه گردید، سپس از این محلول، غلظت‌های متوالی با نصف هریک از غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸ و ۲۵۶ به دست آمد. در ادامه، به هریک از چاهک‌های ۹۶ خانه‌ای، ۲۰۰ میکرولیتر از رقت‌های تهیه‌شده از اسانس هل سبز و ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی (معادل ۰/۵ مک‌فارلند) اضافه شد. یک خانه به‌عنوان کنترل مثبت (حاوی محیط کشت و سوسپانسیون میکروبی فاقد اسانس) و یک خانه به‌عنوان کنترل منفی (حاوی اسانس و محیط کشت) در نظر گرفته شد. در نهایت، چاهک‌های ۹۶ خانه‌ای درب‌گذاری شده و در دمای بهینه، رشد باکتری به مدت

جدول شماره ۱: ترکیبات شناسایی شده اسانس هل سبز

ردیف	ترکیب شناسایی شده	درصد
۱	$\alpha$ -Pinene	۱/۹۱
۲	Sabinene	۴/۲۲
۳	$\beta$ -Myrcene	۱/۸۲
۴	Eucalyptol	۳۱/۵۳
۵	Ocimene	۰/۲۲
۶	$\gamma$ -Terpinene	۰/۷
۷	$\alpha$ -Terpinolene	۰/۷۲
۸	Linalool	۸/۳۱
۹	$\alpha$ -Terpineol	۸/۹۳
۱۰	Linalyl acetate	۳/۰۸
۱۱	Geraniol	۱/۵۹
۱۲	Citral	۰/۷۴
۱۳	$\alpha$ -Terpinenylacetate	۱۹
۱۴	Camphene	۲/۴۲
۱۵	Geranyl acetate	۱/۱۵
۱۶	Caryophyllene	۱/۰۷
۱۷	Germacrene-D	۰/۳
۱۸	Eudesma	۰/۶۹
۱۹	$\alpha$ -Selinene	۰/۲۶
۲۰	$\gamma$ -Cadinene	۰/۳
۲۱	Nerolidol	۱/۸۳
۲۲	Octadecadienoic acid	۳/۲
۲۳	Octadecenal	۰/۸۷



نمودار: کروماتوگرام اسانس هل سبز



Archive of SID

نتایج فعالیت ضد میکروبی به روش دیسک دیفیوژن اسانس هل سبز بر باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا، انتروباکتر ائروژنز، اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا اینوکوآ و استرپتوکوکوس پیوژنز در جدول شماره ۲ ارائه شده است.

جدول شماره ۲: میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) اسانس هل سبز بر سودوموناس آئروژینوزا، انتروباکتر ائروژنز، اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا اینوکوآ و استرپتوکوکوس پیوژنز (دیسک دیفیوژن)

ماده ضد میکروبی/باکتری	سودوموناس آئروژینوزا	انتروباکتر ائروژنز	اشرشیاکلی	استافیلوکوکوس اورئوس	لیستریا اینوکوآ	استرپتوکوکوس پیوژنز
اسانس هل سبز	۸/۹۰±۰/۴۵ <sup>a</sup>	۸/۰۰±۰/۶۵ <sup>a</sup>	۹/۳۰±۰/۵۰ <sup>a</sup>	۱۳/۳۰±۰/۵۲ <sup>a</sup>	۱۴/۰۰±۰/۷۴ <sup>a</sup>	۱۶/۷۰±۰/۵۰ <sup>a</sup>
ونکومايسين	-	-	-	۱۲/۵۰±۰/۵۰ <sup>a</sup>	۱۲/۸۰±۰/۵۵ <sup>a</sup>	۱۸/۹۰±۰/۵۰ <sup>b</sup>
جتنامايسين	۱۵/۲۰±۰/۵۷ <sup>b</sup>	۱۲/۰۰±۰/۵۰ <sup>b</sup>	۱۴/۶۰±۰/۵۰ <sup>b</sup>	-	-	-

- حروف غیر مشابه، نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ می‌باشد.
- حروف مشابه، نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ می‌باشد.
- (-) آزمون انجام نشد.

باکتری گرم منفی انتروباکتر ائروژنز، بالاترین مقاومت را در برابر اسانس هل سبز از خود نشان داد. همچنین حساس‌ترین سویه در برابر اسانس هل سبز، باکتری گرم مثبت استرپتوکوکوس پیوژنز بود. نتایج فعالیت ضد میکروبی به روش چاهک آگار در جدول شماره ۳ آمده است.

جدول شماره ۳: میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) اسانس هل سبز بر سودوموناس آئروژینوزا، انتروباکتر ائروژنز، اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا اینوکوآ و استرپتوکوکوس پیوژنز (چاهک آگار)

ماده ضد میکروبی/باکتری	سودوموناس آئروژینوزا	انتروباکتر ائروژنز	اشرشیاکلی	استافیلوکوکوس اورئوس	لیستریا اینوکوآ	استرپتوکوکوس پیوژنز
اسانس هل سبز	۱۰/۰۰±۰/۵۰ <sup>a</sup>	۹/۱۰±۰/۵۰ <sup>a</sup>	۱۰/۴۰±۰/۳۵ <sup>a</sup>	۱۵/۱۰±۰/۴۵ <sup>a</sup>	۱۴/۷۰±۰/۵۵ <sup>a</sup>	۱۸/۲۰±۰/۵۰ <sup>a</sup>
واتکومايسين	-	-	-	۱۲/۵۰±۰/۵۰ <sup>b</sup>	۱۲/۸۰±۰/۵۵ <sup>b</sup>	۱۸/۹۰±۰/۵۰ <sup>a</sup>
جتنامايسين	۱۵/۲۰±۰/۵۷ <sup>b</sup>	۱۲/۰۰±۰/۵۰ <sup>b</sup>	۱۴/۶۰±۰/۵۰ <sup>b</sup>	-	-	-

- حروف غیر مشابه، نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ می‌باشد.
- حروف مشابه، نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ می‌باشد.
- (-) آزمون انجام نشد.

نتایج فعالیت ضد میکروبی به روش حداقل غلظت مهارکنندگی رشد و حداقل غلظت کشندگی در جدول شماره ۴ آورده شده است. حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس سبز برای سودوموناس آئروژینوزا، انتروباکتر ائروژنز، اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا اینوکوآ و استرپتوکوکوس پیوژنز به ترتیب برابر با ۱۶، ۳۲، ۱۶، ۸، ۸ و ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد.

نتایج حداقل غلظت کشندگی اسانس هل سبز بر باکتری‌های مذکور نشان داد به‌طور کلی حداقل غلظت کشندگی برابر و یا بزرگتر از حداقل غلظت مهارکنندگی می‌باشد. همچنین حداقل غلظت کشندگی برای سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا، انتروباکتر ائروژنز، اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا اینوکوآ و استرپتوکوکوس پیوژنز به ترتیب ۳۲، ۳۲، ۳۲، ۱۶، ۸ و ۴ بود.

جدول شماره ۴: نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس هل سبز بر سودوموناس آئروژینوزا، انتروباکتر ائروژنز، اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا اینوکوآ و استریپتوکوکوس پیوژنز

سویه‌های باکتریایی	حداقل غلظت مهارکنندگی	حداقل غلظت کشندگی
سودوموناس آئروژینوزا	۱۶	۳۲
انتروباکتر ائروژنز	۳۲	۳۲
اشرشیاکلی	۱۶	۳۲
استافیلوکوکوس اورئوس	۸	۱۶
لیستریا اینوکوآ	۸	۸
استریپتوکوکوس پیوژنز	۴	۴

با میزان ۴۲/۳ و ۲۱/۴٪ می‌باشد (۲۱).

## بحث

با توجه به استفاده از هل سبز در طب سنتی ایران جهت درمان، همچنان مصرف خوراکی این گیاه به‌عنوان دمنوش و چاشنی غذایی از روزگاران قدیم در بین مردم و پتانسیل دارویی این گیاه، مطالعات بسیار اندکی در زمینه شناسایی ترکیبات اسانس هل سبز، اثر ضد میکروبی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن انجام شده است (۵). لذا با توجه به پتانسیل بالای هل سبز جهت درمان بیماری‌ها، در این پژوهش آزمایشگاهی علاوه بر شناسایی ترکیبات شیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی هل سبز، فعالیت ضد میکروبی آن بر شش سویه بیماریزا در شرایط آزمایشگاهی با استفاده از روش‌های متنوع کیفی و کمی صورت گرفت، تا بتوان از نتایج این بررسی تجربی جهت جایگزینی داروهای با منشأ طبیعی برای کنترل و درمان عفونت‌های باکتریایی که متعاقباً باعث کاهش مصرف داروهای شیمیایی و عوارض ناشی از آن می‌گردد در صنعت داروسازی و غذایی استفاده کرد.

در مطالعه حاضر نتایج شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس هل سبز با نتایج سایر پژوهش‌ها تا حدود زیادی همخوانی داشت؛ هرچند میزان ترکیبات شناسایی شده در پژوهش حاضر با سایر مطالعات مشابه دارای تفاوت‌هایی نیز بود. در مطالعه حاضر ترکیب عمده اسانس هل سبز شامل Eucalyptol (۳۱/۵۳٪) و  $\alpha$ -Terpinenylacetate (۱۹٪) بود. در مطالعه‌ای که توسط Husain و همکاران (سال ۲۰۱۴)، انجام گرفت مشخص گردید از ۲۳ ترکیب شناسایی شده در اسانس هل سبز، Eucalyptol با ۸۵/۲٪، عمده‌ترین ترکیب شناسایی شده در اسانس هل سبز می‌باشد (۱). Marongiu و همکاران در سال ۲۰۰۴، گزارش دادند ترکیبات اصلی تشکیل دهنده هل سبز Eucalyptol و R-terpinyl acetate به ترتیب

نتایج مطالعه Abbasipour و همکاران نیز در سال ۲۰۱۱ نشان داد Eucalyptol و  $\alpha$ -terpineol، دو ترکیب تشکیل دهنده اسانس هل سبز هستند (۲۲). Olivero-Verbel و همکاران در سال ۲۰۱۰ (۲۳) و Korikanthimath و همکاران در سال ۱۹۹۹ نیز در مطالعاتی مشابه گزارش دادند Eucalyptol، ترکیب عمده اسانس هل سبز است (۲۴). Kumar و همکاران در سال ۲۰۰۵، ترکیبات شیمیایی دانه هل سبز را شناسایی کردند. این پژوهشگران عنوان کردند Eucalyptol با ۵۶/۸۷ و  $\alpha$ -terpinyl acetate با ۱۵/۱۳٪، ترکیبات اصلی اسانس دانه هل سبز را تشکیل می‌دهند (۲۵). در تمامی این مطالعات، Eucalyptol ماده اصلی تشکیل دهنده اسانس هل سبز بوده است. ترکیبات موجود در اسانس هل سبز نیز مانند سایر اسانس‌های گیاهی ناشی از تفاوت‌های اکولوژیکی همانند طول و عرض جغرافیایی، دما، رطوبت، ارتفاع، اقلیم و خاک، مسیرهای متابولیسمی و بیوسنتز مواد مؤثره در این گیاهان بوده که در نتیجه متابولیت‌های ثانویه متنوعی تحت شرایط محیطی متفاوت، بیوسنتز می‌شود؛ لذا تفاوت در نوع و درصد ترکیبات تشکیل دهنده در نقاط مختلف دنیا قابل توجه خواهد بود (۱۵).

در نتایج، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس هل سبز بر اساس درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد برابر با  $43 \pm 0.67$  به دست آمد. آریان‌فر و همکاران در سال ۱۳۹۶، فعالیت آنتی‌اکسیدانی هل سبز و جای سبز را به روش‌های مهار رادیکال آزاد اندازه‌گیری کردند و با بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس توانایی احیاکنندگی آهن، آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن و توانایی جلوگیری از اکسیداسیون روغن سویا نشان دادند فعالیت آنتی‌اکسیدانی چای سبز، بیشتر از هل سبز بوده و در حالت ترکیبی چای سبز و هل سبز فعالیت آنتی‌اکسیدانی در آزمون مهارکنندگی رادیکال آزاد، اثر هم‌افزایی دارد (۲۶).



## Archive of SID

استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا با آنتی‌بیوتیک ونکومايسين در سطح ۵٪، اختلاف معنی داری وجود ندارد، اما بین باکتری استرپتوکوکوس پیورنز و آنتی‌بیوتیک ونکومايسين در سطح ۵٪، اختلاف معنی داری مشاهده گردید که در نتیجه باکتری گرم منفی انتروباکتر ائروژنز بیشترین مقاومت را در برابر اسانس هل سبز از خود نشان داد و قطر هاله بازدارندگی برای این باکتری در روش دیسک دیفیوژن، ۸ میلی‌متر بود؛ در حالی که میزان هاله عدم رشد برای باکتری استرپتوکوکوس پیورنز (حساس‌ترین سویه در برابر اسانس هل سبز) ۱۶/۷۰ میلی‌متر بود.

نتایج اثر ضد میکروبی به روش چاهک آگار نشان داد قطر هاله عدم رشد مشاهده شده برای سویه‌های مورد بررسی در این پژوهش نسبت به روش دیسک دیفیوژن افزایش یافته است. به‌طور کلی، کمترین قطر هاله عدم رشد در روش چاهک آگار مربوط به باکتری گرم منفی انتروباکتر ائروژنز با قطر ۹/۱۰ میلی‌متر بوده است. بیشترین هاله عدم رشد برای باکتری گرم مثبت استرپتوکوکوس پیورنز با قطر ۱۸/۲۰ میلی‌متر به دست آمد. مقایسه آماری نتایج ضد میکروبی اسانس هل سبز به روش چاهک آگار برای باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با آنتی‌بیوتیک جنتامایسین نشان داد اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ وجود دارد. همچنین براساس آنالیزهای آماری، میان قطر هاله عدم رشد مشاهده شده در روش چاهک آگار در مقایسه با آنتی‌بیوتیک ونکومايسين برای باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا، اختلاف معنی داری وجود داشت؛ در حالی که اختلاف معنی داری برای سویه استرپتوکوکوس پیورنز مشاهده نشد. به‌طور کلی باکتری‌های گرم مثبت نسبت به اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی حساس‌تر از باکتری‌های گرم منفی بوده و در غلظت یکسان از اسانس یا عصاره گیاهی، دارای هاله بازدارندگی بیشتری هستند. محققین فروانی دلیل این امر را به تفاوت در ساختار دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت دانسته‌اند. شاید بتوان مقاومت بیشتر باکتری‌های گرم منفی را به حضور غشای فسفولیپیدی خارجی که تقریباً نسبت به ترکیبات چربی دوست غیر قابل نفوذ است نسبت داد. یافته‌های به‌دست آمده از پژوهش حاضر با نتایج مطالعات نوشاد و همکاران (سال ۱۳۹۷) (۱۶)، علیزاده بهبهانی و ایمانی فولادی (سال ۱۳۹۷) (۳۱)،

Hinneburg و همکاران در سال ۲۰۰۵، فعالیت آنتی‌اکسیدانی هل را به همراه تعدادی از گیاهان پختنی و چاشنی غذایی مورد بررسی قرار دادند که نتایج نشان داد ترکیبات فنلی موجود در هل می‌تواند نقش به‌سزایی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی هل داشته باشد (۲۷). Nair و همکاران (سال ۱۹۹۸)، در هندوستان با تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی هل، گزارش کردند سطوح متوسطی از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در هل وجود دارد. نتایج این مطالعه با یافته‌های پژوهش حاضر همخوانی داشت (۲۸). Khalaf و همکاران در سال ۲۰۰۸، با بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی هل سبز و تعدادی از گیاهان دارویی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی هل سبز را براساس IC<sub>50</sub> (مقداری از آنتی‌اکسیدان که لازم است تا غلظت DPPH به ۵۰٪ مقدار اولیه برسد) گزارش کردند. براساس این پارامتر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی هل سبز برابر با ۶۸۱/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد که در مقایسه با اسیداسکوربیک (نمونه کنترل) دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتری بود (۲۹). Souri و همکاران در سال ۲۰۰۳، فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۲۵ دانه گیاهی مورد استفاده در طب سنتی ایران از جمله هل را براساس درصد مهار اکسیداسیون لینولئیک مورد بررسی قرار دادند. این پژوهشگران گزارش دادند کوئرستین موجود در هل می‌تواند در فعالیت آنتی‌اکسیدانی مؤثر باشد. کوئرستین به دلیل داشتن دو گروه هیدروکسیل مجاور باعث افزایش قدرت احیاکنندگی و در نتیجه، افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی هل می‌شود (۳۰).

نتایج بررسی اثر ضد میکروبی اسانس هل سبز نشان داد به‌طور کلی اسانس هل سبز دارای اثر ضد میکروبی بیشتری بر باکتری‌های گرم مثبت بوده و در غلظت یکسان، هاله بازدارندگی بزرگتری نسبت به باکتری‌های گرم منفی از خود نشان می‌دهد. در مقایسه دو به دو نتایج اثر ضد میکروبی اسانس هل سبز به روش دیسک دیفیوژن با آنتی‌بیوتیک‌های ونکومايسين و جنتامایسین، مشخص گردید میان باکتری‌های گرم منفی (سودوموناس آئروژینوزا، انتروباکتر ائروژنز و اشرشیاکلی) با آنتی‌بیوتیک جنتامایسین اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ وجود دارد. همچنین مقایسه دوتایی اسانس هل سبز بر باکتری‌های گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا اینوکوا و استرپتوکوکوس پیورنز) با آنتی‌بیوتیک ونکومايسين نشان داد میان باکتری‌های

## Archive of SID

درحالی‌که میزان حداقل غلظت بازدارندگی برای سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا کمتر بود. دلیل این امر را می‌توان به عواملی همچون شرایط رشد گیاه، طول و عرض جغرافیایی، نحوه استحصال و اسانس‌گیری و ... نسبت داد (۱۵). Kaushik و همکاران در سال ۲۰۱۰، در بررسی تأثیر ضد میکروبی عصاره‌های مختلف هل سبز بر تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی در شرایط آزمایشگاهی مشخص کردند عصاره‌های هل سبز اثر ضد میکروبی بر سویه‌های مورد بررسی دارند و اثر ضد میکروبی عصاره‌های هل سبز در مقایسه با آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین کمتر بوده است (۸). Kubo و همکاران در سال ۱۹۹۱، اثر ضد میکروبی ۱۰ ترکیب هل را بر ۱۴ میکروارگانسیم بیماریزا مورد بررسی قرار دادند که نتایج نشان داد تمامی این ترکیبات حداقل بر یک میکروارگانسیم اثر بازدارندگی داشته‌اند (۶). براساس نتایج آنالیز شیمیایی اسانس هل سبز مشخص گردید ترکیبات  $\alpha$ -Terpineol،  $\alpha$ -Terpinenylacetate، Eucalyptol، Sabinene و Linalool، ترکیبات اصلی تشکیل‌دهنده اسانس هستند و این ترکیبات به همراه دیگر ترکیبات با ماهیت فنولیک یا گروه هیدروکسیل آزاد همگی به‌عنوان عوامل ضد میکروبی شناخته شده‌اند. ترکیبات فنلی اسانس در لایه فسفولپید غشای سلول گیاه ساخته شده و هر چقدر میزان مواد این ترکیبات فنلی در اسانس بیشتر باشد اثر ضد میکروبی اسانس نیز بیشتر خواهد بود (۳۴، ۳۵).

## نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد اسانس هل سبز اثر ضد میکروبی بیشتری بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا اینوکوا و استرپتوکوکوس پیورنز دارد و هاله عدم رشد ایجاد شده توسط اسانس هل سبز برای باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا، بیشتر از آنتی‌بیوتیک ونکومايسين می‌باشد؛ درحالی‌که برای باکتری استرپتوکوکوس پیورنز کمتر است. مقایسه نتایج هاله عدم رشد اسانس هل سبز برای باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با آنتی‌بیوتیک جنتامایسین نشان داد میزان هاله عدم رشد در همه باکتری‌ها کمتر از آنتی‌بیوتیک است؛ لذا پیشنهاد می‌گردد تحقیقات بیشتری بر سایر میکروارگانسیم‌های بیماریزا در شرایط آزمایشگاهی، همچنین حیوانات آزمایشگاهی

یگانگی و همکاران (سال ۱۳۹۷) (۳۲) و عزیزاده بهبهانی و همکاران (سال ۱۳۹۶) (۱۵) همخوانی داشت.

نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس هل سبز برای باکتری‌های گرم منفی، بیشتر از باکتری‌های گرم مثبت به دست آمد؛ به‌طوری‌که کمترین غلظت مهارکنندگی و کشندگی برای باکتری استرپتوکوکوس پیورنز با غلظت ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود، درحالی‌که برای باکتری گرم منفی انتروباکتر ائروژنز (به‌عنوان مقاوم‌ترین سویه نسبت به اسانس هل سبز) حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی، ۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. تاکنون مطالعات محدودی در زمینه بررسی اثر ضد میکروبی اسانس هل سبز انجام شده و در پژوهش‌های صورت گرفته نیز از یک یا دو روش ضد میکروبی برای بررسی اثر ضد میکروبی اسانس هل سبز استفاده شده است؛ درحالی‌که در مطالعه حاضر چهار روش اُدیسک دیفیوژن، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی (میکرودايلوشن برات) و حداقل غلظت کشندگی { به کار برده شد. در مطالعه‌ای Islam و همکاران (سال ۲۰۱۰)، با بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره متانولی هل نشان دادند عصاره هل اثر ضد میکروبی بر سویه‌های بیماریزای انسانی دارد (۳۳). Husain و همکاران نیز در سال ۲۰۱۴، در بررسی اثر ضد میکروبی اسانس هل سبز بر تعدادی از سویه‌های باکتریایی و قارچی، نشان دادند اسانس هل سبز اثر ضد میکروبی بالایی بر تمامی میکروارگانسیم‌های مورد بررسی داشته است (۱). El Malti و همکاران در سال ۲۰۰۷، با بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس هل سبز بر باکتری‌های باسیلوس سرئوس، لیستریا مونوسایتوزنز، استافیلوکوکوس اورئوس، لاکتوباسیلوس دلبروکی، اشرشیاکلی، شیگلا سونی، سودوموناس ائروژینوزا، سالمونلا انتریتیدیس، کلپسیلا پنومونیه، انتروباکتر کلوآکه، یرسینیا انتروکولیتیکا و گونه‌های پروتئوس به روش حداقل غلظت مهارکنندگی، نشان دادند رنج حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس هل سبز برای سویه‌های بیماریزا بین ۲/۳۴- ۱۸/۷۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد (۷). مقایسه نتایج این پژوهش با مطالعه حاضر نشان داد حداقل غلظت مهارکنندگی در پژوهش حاضر نسبت به مطالعه El Malti و همکاران (۷)، برای سویه‌های سودوموناس ائروژینوزا، اشرشیاکلی، انتروباکتر بیشتر بوده است؛

## کد ارکید نویسندگان:

Orcid Code: Mohammad Noshad; 0000-0002-4060-9254.

Orcid Code: Behrooz Alizadeh Behbahani; 0000-0002-1447-5088.

انجام گیرد تا دوز مؤثر اسانس جهت کاربرد بالینی و استفاده در صنعت داروسازی مشخص شود تا بتوان از اسانس هل سبز جهت کنترل و درمان بیماری‌های عفونی استفاده کرد.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند که از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان تشکر و قدردانی نمایند.

## References:

- Husain SS, Ali M. Analysis of volatile oil of the fruits of *Elettaria cardamomum* (L.) Maton and its antimicrobial activity. *World J Pharm Pharm Sci* 2014;3(2):1798-808. Link
- Naghavi M, Sayyed-Alangi Z. Effect of cardamom and dried red pomegranate (*punica granatum*) peel powder on organoleptic and rheological characteristics of cupcake. *Iranian J Nutr Sci Food Technol* 2018;12(4):83-94. [Full Text in Persian] Link
- Ağaoğlu S, Dostbil N, Alemdar S. Antimicrobial effect of seed extract of cardamom (*Elettaria cardamomum* Maton). *YÜ Vet Fak Derg* 2006;16(2):99-101. Link
- Rezaei E, Vazini H, Pirestani M. Protective effects of *Elettaria cardamomum* L. hydroalcoholic extract on serum levels of gonadotropins and testosterone in adult male wistar rats induced with Lead acetate. *Jorjani Biomed J* 2017;4(2):21-33. [Full Text in Persian]. Link
- Ghane Z, Vazini H, Pirestani M. Protective effect of hydroalcoholic extract of *Elettaria cardamomum* L. Fruits on serum levels of liver enzymes and morphological changes in lead induced male rats. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2016;26(142):1-13. [Full Text in Persian] Link
- Kubo I, Himejima M, Muroi H. Antimicrobial activity of flavor components of cardamom *Elettaria cardamomum* (Zingiberaceae) seed. *J Agr Food Chem* 1991;39(11):1984-6. Link
- El Malti J, Mountassif D, Amarouch H. Antimicrobial activity of *Elettaria cardamomum*: Toxicity, biochemical and histological studies. *Food Chem* 2007;104(4):1560-8. Link
- Kaushik P, Goyal P, Chauhan A, Chauhan G. In vitro evaluation of antibacterial potential of dry fruit extracts of *Elettaria cardamomum* Maton (Chhoti Elaichi). *Iran J Pharm Res* 2010;9(3):287-92. PubMed
- Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Shahidi F, Mohebbi M. Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic *Avicennia marina* extracts on *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes* and *Pseudomonas aeruginosa* "in vitro". *Iran South Med J* 2014;17(5):879-888. [Full Text in Persian] Link
- Doyle MP, Beuchat LR, Montville T, editors. *Food microbiology: Fundamentals and frontiers*. Washington: ASM Press; 2001. Link
- Aguado V, Vitas A, Garcia-Jalón I. Characterization of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* from a vegetable processing plant by RAPD and REA. *Int J Food Microbiol* 2004;90(3):341-7. PubMed
- Banada PP, Guo S, Bayraktar B, Bae E, Rajwa B, Robinson JP, et al. Optical forward-scattering for detection of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species. *Biosens Bioelectron* 2007;22(8):1664-71. PubMed
- Alizadeh Behbahani B, Imani Fooladi AA. Development of a novel edible coating made by Balangu seed mucilage and Feverfew essential oil and investigation of its effect on the shelf life of beef slices during refrigerated storage through intelligent modeling. *J Food Safe* 2018;38(3):1-16. Link

14. Alizadeh Behbahani B, Imani Fooladi AA. Evaluation of phytochemical analysis and antimicrobial activities Allium essential oil against the growth of some microbial pathogens. *Microb Pathog* 2018;114:299-303. PubMed
15. Alizadeh Behbahani B, Shahidi F, Yazdi FT, Mortazavi SA, Mohebbi M. Use of Plantago major seed mucilage as a novel edible coating incorporated with Anethum graveolens essential oil on shelf life extension of beef in refrigerated storage. *Int J Biological Macromol* 2017;94(Pt A):515-26. PubMed
16. Noshad M, Hojjati M, Alizadeh Behbahani B. Black Zira essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some pathogenic strain causing infection. *Microb Pathog* 2018;116:53-7. PubMed
17. Alizadeh Behbahani B, Yazdi FT, Vasiee A, Mortazavi SA. Oliveria decumbens essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some clinical and standard strains causing infection. *Microbial Pathog* 2018;114:449-52. PubMed
18. Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Fakhri S, Mortazavi SA, Mohebbi M. Investigation of chemical compounds and antibacterial activity of tarragon (*Artemisia dracunculus*) essential oil on some pathogenic bacteria in vitro. *Qom Univ Med Sci J* 2017;11(9):42-51. [Full Text in Persian] Link
19. Alizadeh Behbahani B, Yazdi FT, Shahidi F, Mortazavi SA, Mohebbi M. Principle component analysis (PCA) for investigation of relationship between population dynamics of microbial pathogenesis, chemical and sensory characteristics in beef slices containing Tarragon essential oil. *Microb Pathog* 2017;105:37-50. PubMed
20. Kolahi Marand S, Tabatabaei Yazdi F, Mortazavi SA, Beig Babaei A. Inhibitory and bactericidal effects of artichoke (*Cynara scolymus*) on pathogenic strains and their comparison with antibiotics in vitro. *Qom Univ Med Sci J* 2016;10(2):32-42. [Full Text in Persian] Link
21. Marongiu B, Piras A, Porcedda S. Comparative analysis of the oil and supercritical CO<sub>2</sub> extract of *Elettaria cardamomum* (L.) Maton. *J Agric Food Chem* 2004;52(20):6278-82. PubMed
22. Abbasipour H, Mahmoudvand M, Rastegar F, Hosseinpour MH. Fumigant toxicity and oviposition deterrency of the essential oil from cardamom, *Elettaria cardamomum*, against three stored-product insects. *J Insect Sci* 2011;11:165. PubMed
23. Olivero-Verbel J, González-Cervera T, Güette-Fernandez J, Jaramillo-Colorado B, Stashenko E. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils isolated from Colombian plants. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 2010;20(4):568-74. Link
24. Korikanthimath V, Mulge R, Zachariah J. Variation in essential oil constituents in high yielding selections of cardamom. *J Plant Crops* 1999;27(3):230-2. Link
25. Kumar A, Tandon S, Ahmad J, Yadav A, Kahol A. Essential oil composition of seed and fruit coat of *Elettaria cardamomum* from South India. *J Essential Oil-Bearing Plants* 2005;8(2):204-7. Link
26. Arianfar A, Sardarodiyani M. Investigation of the synergistic and antagonistic properties of green tea and *Elettaria cardamomum* extracts. *J Food Sci Technol* 2018;17(82):25-36. [Full Text in Persian] Link
27. Hinneburg I, Dorman HD, Hiltunen R. Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chem* 2006;97(1):122-9. Link
28. Nair S, Nagar R, Gupta R. Antioxidant phenolics and flavonoids in common Indian foods. *The J Assoc Physicians India* 1998;46(8):708-10. PubMed
29. Khalaf NA, Shakyia AK, Al-Othman A, El-Agbar Z, Farah H. Antioxidant activity of some common plants. *Turkish J Biol* 2008;32(1):51-5. Link
30. Soury E, Farsam H, Hasani M, Azimi Kheirabadi Z. Evaluation of antioxidant activity of 25 plant seeds used in Iranian folk medicine. *J Med Plants* 2003;4(8):27-34. [Full Text in Persian] Link

31. Alizadeh Behbahani B, Fooladi AAI. Antibacterial activities, phytochemical analysis and chemical composition Makhleseh extracts against the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection. *Microb Pathog* 2018; 114:204-8. PubMed
32. Yeganegi M, Yazdi FT, Mortazavi SA, Asili J, Alizadeh Behbahani B, Beigbabaei A. Equisetum telmateia extracts: Chemical compositions, antioxidant activity and antimicrobial effect on the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection. *Microb Pathog* 2018;116:62-7. PubMed
33. Islam S, Rahman A, Sheikh MI, Rahman M, Jamal AHM, Alam F. In vitro antibacterial activity of methanol seed extract of elettaria cardamomum (L.) maton. *Agr Conspectus Sci* 2010;75(3):113-7. Link
34. Singh N, Singh R, Bhunia A, Stroshine R. Efficacy of chlorine dioxide, ozone, and thyme essential oil or a sequential washing in killing Escherichia coli O157: H7 on lettuce and baby carrots. *LWT-Food Sci Technol* 2002;35(8):720-9. Link
35. Moreira M, Ponce A, Del Valle C, Roura S. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT-Food Sci Technol* 2005;38(5):565-70. Link