Archive of SID

مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
جلد پانزدهم، شماره دوم، خرداد- تیر ۱۳۸۷
www.jasnr.info
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره روغن‌های اسانسی سه نوع پیاز مختلف بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی

*تورج مهدی‌زاده[۱] و سیدمهدی رضوی‌روحانی[۲]

[۱]دستیار دکتری تخصصی بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشگاه ارومیه، [۲]استاد بخش بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: ۸۵/۱۱/۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۶/۲/۱۱

چکیده

پیاز از جمله قدیمی‌ترین گیاهانی است که کشت شده و مصرف غذایی و دارویی دارد. در حقیقت، این گیاه یکی از گیاهان تغذیه‌ای مهم می‌باشد که در درمان و پیشگیری بسیاری از بیماری‌ها بکار می‌رود. از طرفی با توجه به مضراتی که همه روزه در رابطه با استفاده از مواد مصنوعی و شیمیایی در غذاها منتشر می‌گردد، اثرات و کاربردهای مواد طبیعی بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته است. در این مطالعه به بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره روغن‌های اسانسی سه نوع مختلف پیاز (قرمز- سبز- زرد) برروی باکتری‌های *Staphylococcus aureus* (RTCC,1885) و (ATCC,35922) *Escherichia coli* پرداخته شد. عصاره‌های پیاز با دستگاه تقطیر بخار عمودی استخراج گردید و غلظت‌های مشخص از عصاره‌ها با افزودن به آب مقطر استریل تهیه گردید و اثرات ضدباکتریایی عصاره‌ها با دو روش انتشار دیسک و روش مرسوم لوله‌ای ارزیابی گردید. نتایج نشان داد که عصاره‌های روغنی پیاز برروی باکتری *Staphylococcus aureus* مؤثرتر از باکتری *Escherichia coli* می‌باشد و بیشترین و کمترین اثر بازدارندگی را به‌ترتیب پیازهای قرمز و زرد دارا بوده و به‌ترتیب در رقت‌های ۱، ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸ تهیه شده از عصاره‌ها که معادل با غلظت‌های ۵۰ درصد، ۲۵ درصد، ۱۲/۵ درصد و ۶/۲۵ درصد می‌باشند، اثر ممانعت‌کنندگی از رشد باکتری را نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: اثرات ضدباکتریایی، پیاز، روغن‌های اسانسی، عصاره

مقدمه

با افزایش جمعیت و محدودیت منابع غذایی تهیه غذای کامل یکی از مسایل پیچیده ممالک دنیا بویژه کشورهای جهان سوم بشمار می‌رود. موضوع تأمین سلامت محصولات غذایی با افزایش کیفیت فرآورده‌ها علاوه‌بر کاهش افت مواد غذایی، امنیت با اطمینانی را از بابت سلامت مصرف‌کننده به‌دنبال خواهد داشت. در این میان باکتری‌ها علاوه‌بر اینکه به‌عنوان فاسدکننده مواد غذایی مطرح می‌باشند، از طرفی مسبب بسیاری از بیماری‌ها و مسمومیت‌های غذایی ناشی از غذا می‌باشند. از جمله راه‌های مبارزه با این میکروارگانیسم‌ها استفاده از مواد ممانعت‌کننده از رشد آنها می‌باشد. در این میان در استفاده از مواد افزودنی سنتتیک علاوه‌بر کارآیی آنها، مساله وجود عوارض جانبی، تولید متابولیت‌های ثانویه مضر و ایجاد مقاومت میکروارگانیسم‌ها نیز مطرح می‌باشد (اسمیت و همکاران، ۱۹۹۸؛ شمس و همکاران، ۲۰۰۳؛

www.SID.ir

Archive of SID

لانزوتی، ۲۰۰۶). با این تفاسیر لزوم توجه به روش‌های جدید و مواد نگهدارنده طبیعی بیش از پیش روشن می‌گردد. خواص دارویی و ضدمیکروبی گیاهان و در میان اینها اسانس‌های روغنی[1] قدمتی ۳۵۰۰ ساله دارند. پس از کشف میکروب‌ها و آنتی‌بیوتیک‌ها و نظر به مقاومت روزافزون باکتری‌های بیماری‌زا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها محققین به بررسی اثرات ضدمیکروبی ترکیبات متشکله گیاهان از جمله اسانس‌ها پرداختند تا با مطالعه بیشتر راه را برای استفاده هرچه بیشتر از آنها به‌عنوان نگهدارنده‌های طبیعی هموار نموده و از طرفی عوارض ناشی از مصرف مواد شیمیایی و سنتیتک را در غذاها کاهش دهند. روغن‌های فرار یا روغن‌های اتری اجزاء تولیدکننده بو در گیاهان هستند و غالباً در تمام اجزاء گیاه موجود بوده و عموماً در بخار آب فرار هستند و در مجاورت با هوا و حرارت عادی تبخیر می‌شوند، بسته به نوع تیره گیاهی در اندام‌های ترشحی مانند کرک‌های غده‌ای، سلول‌های پارانشیم تغییر شکل یافته، لوله‌های اسانس به نام ویتا[2] و در مجاری لیزوژن وجود دارند و در کل در زمره فرآورده‌های فرعی متابولیسم گیاه محسوب می‌شوند. روش‌های استخراج روغن‌های اسانسی معمولاً از تقطیر قسمت‌های مختلف گیاهی که حاوی اسانس‌ها هستند، به‌دست می‌آیند و روش استخراج به چگونگی، نوع و حالت گیاه بستگی دارد (حیدری، ۱۹۹۱). خانواده *Allium* با وجود اینکه بیش از ۵۰۰ عضو دارد و هر کدام از لحاظ رنگ، ظاهر و طعم با یکدیگر تفاوت دارند ولی از لحاظ فیتوشیمیایی شبیه همدیگر هستند. گیاه پیاز در این خانواده به‌عنوان یکی از گیاهان تغذیه‌ای[3] مهم مطرح می‌باشد که قسمت اعظم آن را (۹۰-۸۵ درصد) آب تشکیل می‌دهد. (آینه‌چی، ۱۹۹۱). به‌طورکلی ترکیبات موجود در پیاز را به دو گروه اصلی ترکیبات فرار و ترکیبات غیرفرار تقسیم می‌نمایند.

1- Essential oils
2- Vittae
3- Phytonutrients

ترکیبات فرار شامل تیوسولفینات‌ها[4] و سایر ترکیبات ارگانوسولفوره[5] می‌باشند. تیوسولفینات‌ها ترکیباتی هستند که از گونه‌های آلیوم جدا شده و به‌خوبی مطالعه گردیده‌اند. ترکیبات غیرفرار موجود در پیاز شامل ساپونین‌ها[6]، ساپوژنین‌ها[7]، فلاونوئیدها[8] و فنولیک‌ها[9] می‌باشند. ساپونین‌ها به‌عنوان داروهای طبیعی در درمان بسیاری از بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند و نقش بیولوژیکی آنها در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است (آگوستی، ۱۹۹۰؛ بلاک، ۱۹۹۲؛ بلاک ۱۹۹۴؛ بریکس و همکاران، ۲۰۰۰؛ بریکس و همکاران، ۲۰۰۱؛ لانزوتی، ۲۰۰۶). تاکنون کارهای زیادی برروی اثرات گوناگون پیاز و سایر گیاهان خانواده آلیوم به‌عمل آمده است، به‌عنوان مثال در تحقیقی که در سال ۲۰۰۳ انجام گردید اثرات ضدمیکروبی غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ میلی‌لیتر در لیتر روغن‌های اسانسی سه نوع پیاز و سیر برروی باکتری‌های *Staphylococcus aureus* و *Salmonella enteritidis* و سه نوع قارچ *Aspergillus niger*، *Penicillium cyclopium* و *usarium oxysporum* بررسی شد و نتایج به‌دست آمده حاکی از اثر ضدمیکروبی همه این عصاره‌ها بود که در بین آنها بیشترین اثر مربوط به سیر و کمترین اثر مربوط به پیاز سبز بود (بنکبلیا، ۲۰۰۴). در یک بررسی دیگر محققین به بررسی اثرات ضدباکتری ۱۲ گونه گیاه از خانواده آلیوم برروی باکتری *Escherichia coli* با استفاده از روش‌های ممانعت از رشد پرداختند و به نتایجی رسیدند که حاکی از وجود اثر ضدباکتریایی آنها بود (مایتمنت و همکاران، ۲۰۰۱). در بررسی دیگری که با استفاده از اسانس‌های روغنی ۲۱ نوع گیاه و ۲ نوع اسانس برروی پنج پاتوژن مهم در مواد غذایی شامل *Campylobacter jejuni*،

4- Thiosulfinates
5- Organosolfure
5- Saponins
6- Sapogenins
7- Flavonoids
8- Phenolics

www.SID.ir

Archive of SID

Escherichia coli، *salmonella enteritidis*، *Staphylococcus aureus* و *Listeria monocytogens* انجام شد مشخص گردید که باکتری‌های گرم مثبت حساسیت بیشتری داشته و *Campylobacter jejuni* بیشترین مقاومت را دارد (اسمیت و همکاران، ۱۹۹۸). در بررسی‌های متفاوت دیگر اثرات عصاره پیاز برروی باکتری‌های *Streptococcus.mutants* و *Streptococcus subrius* (عامل اصلی پوسیدگی‌های دندانی[1] و *Poephyromonas gingivitis* و *Prevotella intermedia* (عامل اصلی پریدونتیت[2] در بالغین) مورد تحقیق قرار گرفت و اثرات ضدباکتریایی عصاره پیاز مورد اثبات گردید (کیم، ۱۹۹۷)، اما در هیچ‌کدام از این تحقیقات از دو روش ارزیابی اثر ضدمیکروبی در کنار هم استفاده نگردید و از طرفی پیازهای کشت شده در ایران از این نظر مورد بررسی قرار نگرفته‌اند، از این رو، در این تحقیق این موارد مورد نظر بوده‌اند. بنابراین عصاره روغن‌ای اسانسی سه نوع پیاز مختلف برروی *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* به کمک دو روش انتشار دیسک [3] و روش مرسوم لوله‌ای بررسی شده و تفاوت حساسیت دو باکتری مذکور و نیز تفاوت پیازهای مختلف از لحاظ اثر ضدباکتریایی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره: برای تهیه عصاره، سه نوع پیاز مختلف (زرد، قرمز، سبز) تهیه و از هر نوع به‌مقدار لازم (حدود یک کیلوگرم) به‌طور تصادفی انتخاب، شسته و سپس با دستگاه مخلوط کن به‌مدت یک دقیقه با سرعت متوسط هموژنیزه گردیدند (مخلوط‌کن مدل ناسیونال Mx-x61-W). سپس به‌مقدار ۵۰۰ سی‌سی آب مقطر استریل اضافه گردید و به‌مدت یک ساعت به همین صورت قرار داده شد، سپس مواد در دستگاه تقطیر بخار عمودی قرار داده شدند. دستگاه موردنظر به‌خاطر مانع بودن ماده از نوع تقطیر آب[4] می‌باشد. یک ظرف آزمایشگاهی محلول هموژن را در طول گرم شدن به‌مدت ۳ ساعت جمع‌آوری نموده و بخار متراکم بوسیله یک جدا کننده اتوماتیک روغن و آب از هم جدا گردیدند و بعد از تهیه عصاره‌های مورد نظر تا زمان آزمایش در دمای یخچال نگهداری گردیدند (بنکبلیا، ۲۰۰۴).

باکتری‌های مورد استفاده در این تحقیق، *Staphylococcus aureus* (RTCC,1885) و *Escherichia coli* (ATCC,35922) بودند که از آزمایشگاه میکروبیولوژی بخش بهداشت و کنترل موادغذایی دانشگاه ارومیه تهیه گردیده بودند و پس از اطمینان از خلوص آنها مورد استفاده قرار گرفتند.

روش انتشار دیسک: در این روش از محیط کشت مولر هینتون[5] استریل (مرک آلمان) استفاده گردید. در مرحله بعدی رقت‌های مورد نظر عصاره‌ها با غلظت‌های ۵۰ درصد، ۲۵ درصد، ۱۲/۵ درصد، ۶/۲۵ درصد، ۳/۱۲ درصد، ۱/۵۶ درصد، ۰/۷۸ درصد و ۰/۳۹ درصد به‌صورت حجمی- حجمی با آب مقطر استریل تهیه گردیدند. سپس دیسک‌های کاغذی استریل آماده در رقت‌های مذکور و مقدار معینی از هر نوع عصاره (حدود ۳۰ میکرولیتر) خیسانده شدند و بعد از خشک شدن در سطح پلیتی که از قبل با باکتری مورد نظر کشت داده شده بودند، قرار گرفتند. در هر پلیت یک دیسک نیز به‌عنوان شاهد با آب مقطر استریل آغشته گردید. عصاره موجود به داخل نفوذ کرده و با افزایش فاصله از دیسک غلظت ماده ضدمیکروبی به‌طور لگاریتمی کاهش یافت، به‌طوری‌که بسته به غلظت ماده مؤثره قطر منطقه‌ای که مانع رشد باکتری گشته متفاوت می‌باشد. در مرحله آخر پلیت‌ها در داخل انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند و نتایج بعد از این مدت به‌صورت هاله

1- Dental caries
2- Peridontitis
3- Disc diffusion test

4- Hydrodistillation
5- Moller Hinton

www.SID.ir

Archive of SID

ممانعت از رشد[1] براساس میلی‌متر گزارش گردیدند. این آزمایش سه بار تکرار و میانگین نتایج به‌عنوان نتیجه نهایی گزارش گردید (مورای و همکاران، ۱۹۹۵).

روش تست لوله‌ای: این روش نیز به‌عنوان دومین روش جهت تعیین میزان اثر ضدباکتریایی عصاره‌های پیاز مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا از باکتری‌های مورد آزمایش کشت ۲۴ ساعته در آبگوشت پپتون تهیه شد، سپس در سری لوله‌های آزمایش ۱ سی‌سی از محیط نوترینت براث[2] استریل وارد کرده، در لوله اول ۱ سی‌سی عصاره اضافه گردید (رقت ۵۰ درصد) بعد از اختلاط ۱ سی‌سی از لوله اول به لوله دوم منتقل کرده (رقت ۲۵ درصد) و این روند ادامه داده شد تا رقت‌های ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۳/۱۲، ۱/۵۶، ۰/۷۸ و ۰/۳۹ درصد به‌دست آمد. سپس کشت ۲۴ ساعته باکتری را با لوله کدورت سنجی شماره ۰/۵ مک فارلند[3] تنظیم نموده که معادل $1/5\times10^{8}$ cfu/ml است (کنییر و جورج، ۱۹۹۵). از رقت فوق رقت $1/10$[1] تهیه و از این رقت در هر لوله از سری لوله حاوی عصاره پیاز $1/10$[1] سی‌سی وارد نموده بعد از این لوله‌ها در داخل انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. در هر لوله که باکتری رشد کرد مثبت و اولین لوله که در آن رشد باکتری مشاهده نمی‌شود (کدورت ناشی از رشد باکتری) به‌عنوان حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی از رشد باکتری تلقی گردید. به‌عنوان مرحله تکمیلی از هر لوله رقت‌های $1/10$[1]، $1/100$[1] و $1/1000$[1] تهیه گردید و $1/10$[1] سی‌سی از هر رقت در سطح پلیت حاوی مولر هینتون آگار کشت سطحی داده و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد و بعد از این مدت شمارش کلنی به‌عمل آمد. پلیت حاوی کمترین غلظت عصاره که در آن رشد باکتری محدود شده بود، (تعداد کلنی‌ها ۹۰ درصد کاهش پیدا کرده بود) به‌عنوان حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد باکتری[4] و پلیتی که حاوی کمترین غلظت عصاره بود که در آن باکتری اصلاً رشد نکرده بود، به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی میکروب[5] تلقی گردیدند. تمام مراحل آزمایش سه بار تکرار گردید و میانگین سه بار آزمایش به‌عنوان نتیجه نهایی گزارش گردید (مورای و همکاران، ۱۹۹۵).

روش آماری: برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها از نرم‌افزارهای، SPSS (۱۹۹۹) و MSTAT-C (نایسن، ۱۹۸۳) استفاده شد.

نتایج

روش انتشار دیسک: نتایج حاصل از این روش برای سه نوع مختلف پیاز و برروی دو باکتری *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* در جدول‌های ۱ و ۲ مشاهده می‌گردد.

نتایج روش تست لوله‌ای: نتایج حاصل از این روش نیز برروی باکتری‌های *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* در جدول‌های ۳ و ۴ منعکس گردیده است. میزان MIC و MBC برای هر نوع عصاره پیاز مشخص گردیده است.

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به خطر مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها، یافتن منابع جدیدی از ترکیبات طبیعی که خاصیت ضدباکتریایی دارند ضروری به‌نظر می‌رسد (لی و همکاران، ۲۰۰۲). در این میان فواید اقتصادی و بی‌ضرر بودن برخی از گیاهان ثابت گردیده است (رینولد، ۱۹۹۶؛ لیس بالچین و دینس، ۱۹۹۷). اسانس‌های روغنی منابع بالقوه‌ای از ترکیبات ضدمیکروبی هستند (میتسچر و همکاران، ۱۹۸۷). با بررسی نتایج این تحقیق مشخص گردید که عصاره روغن‌های اسانسی پیاز در روش‌های انتشار دیسک و تست لوله‌ای برروی باکتری *Staphylococcus aureus* در تمام رقت‌ها و در هر سه نوع پیاز به‌طور محسوسی نسبت به باکتری *Escherichia coli* مؤثرتر می‌باشند، به‌طوری‌که بین آنها اختلاف معنی‌داری

1- Inhibition Zone
2- Nutrient broth
3- Mc farland
4- MIC (Minimum inhibitory concentration)
5- MBC(Minimum bactericidal concentration)

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- نتایج حاصل از روش انتشار دیسک برروی باکتری *E.coli*. (ممانعت برحسب میلی‌متر).

غلظت عصاره / نوع پیاز	۰/۳۹ (درصد)	۰/۷۸ (درصد)	۱/۵۶ (درصد)	۳/۱۲ (درصد)	۶/۲۵ (درصد)	۱۲/۵ (درصد)	۲۵ (درصد)	۵۰ (درصد)
زرد	N	N	N	N	۰/۹±۰/۳	۱/۸±۰/۲	۳/۲±۰/۲	۶/۸±۰/۵
قرمز	N	N	N	۰/۲±۰/۱	۰/۸±۰/۲	۲/۱±۰/۳	۵/۳±۰/۳	۸/۱±۰/۳
سبز	N	N	N	N	۰/۴±۰/۱	۱/۴±۰/۲	۲/۲±۰/۲	۳±۰/۲

N: عدم تشکیل هاله ممانعت از رشد

جدول ۲- نتایج حاصل از روش انتشار دیسک برروی باکتری *S.aureus* (ممانعت برحسب میلی‌متر).

غلظت عصاره / نوع پیاز	۰/۳۹ (درصد)	۰/۷۸ (درصد)	۱/۵۶ (درصد)	۳/۱۲ (درصد)	۶/۲۵ (درصد)	۱۲/۵ (درصد)	۲۵ (درصد)	۵۰ (درصد)
زرد	۰/۵± ۰/۱	۰/۷ ± ۰/۲	۱/۹± ۰/۱	۳/۲ ±۰/۵	۵/۲±۰/۲	۶/۸ ±۰/۳	۷/۶ ± ۰/۱	۱۳/۱±۰/۳
قرمز	۲ ± ۰/۱	۲/۷±۰/۲	۴/۵±۰/۷	۶/۶± ۰/۲	۸/۱±۰/۳	۹/۹±۰/۱	۱۲/۲±۰/۶	۱۵/۳ ± ۰/۷
سبز	N	۰/۵±۰	۱/۲±۰/۱	۲/۴±۰/۴	۴/۵± ۰/۲	۵/۷±۰/۴	۷/۳±۰/۳	۱۱/۲±۰/۶

N: عدم تشکیل هاله ممانعت از رشد

جدول ۳- نتایج حاصل از روش تست لوله‌ایی برروی باکتری *S.aureus*.

نوع پیاز	MBC	MIC
زرد	۲۵(درصد)	۱۲/۵(درصد)
زرد	۲۵(درصد)	۱۲/۵(درصد)
زرد	۲۵(درصد)	۶/۲۵(درصد)
قرمز	۲۵(درصد)	۶/۲۵(درصد)
قرمز	۲۵(درصد)	۶/۲۵(درصد)
قرمز	۲۵(درصد)	۱۲/۵(درصد)
سبز	۲۵(درصد)	۱۲/۵(درصد)
سبز	۲۵(درصد)	۱۲/۵(درصد)
سبز	۲۵(درصد)	۱۲/۵(درصد)

تذکر: اعداد جدول نتایج سه بار آزمایش می‌باشند.

جدول ۴- نتایج حاصل از روش تست لوله‌ای برروی باکتری *E.coli*.

نوع پیاز	MBC	MIC
زرد	٪ ۵۰ <	۲۵ (درصد)
زرد	٪ ۵۰ <	۲۵ (درصد)
زرد	٪ ۵۰ <	۲۵ (درصد)
قرمز	٪ ۵۰ <	۱۲/۵ (درصد)
قرمز	٪ ۵۰ <	۱۲/۵ (درصد)
قرمز	٪ ۵۰ <	۲۵ (درصد)
سبز	٪ ۵۰ <	۵۰ (درصد)
سبز	٪ ۵۰ <	۵۰ (درصد)
سبز	٪ ۵۰ <	۵۰ (درصد)

تذکر: اعداد جدول نتایج سه بار آزمایش می‌باشند.

www.SID.ir

Archive of SID

مشاهده می‌گردد (P<۰/۰۱) (جدول‌های ۵ و ۶). این مسأله تاییدکننده کارهای تحقیقاتی سایر محققین است که حاکی از حساس‌تر بودن باکتری‌های گرم مثبت در برابر عصاره‌های پیاز می‌باشد (شلف، ۱۹۸۳؛ فاربود و همکاران، ۱۹۸۹؛ زهری و همکاران، ۱۹۹۵). در حالت کلی نیز ثابت گردیده است که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی به روغن‌های اسانسی بیشتر حساس هستند (فاراق و همکاران، ۱۹۸۹؛ اسمیت و همکاران، ۱۹۹۸).در توجیه این مطلب گفته شده است که روغن‌های اسانسی و ترکیبات آنها به‌علت وجود خاصیت آب‌گریزی، لیپید موجود در غشای سلولی باکتری‌ها را به اجزا کوچک‌تر تقسیم نموده و در نتیجه عملکرد سلول دچار اختلال می‌گردد و روغن‌های اسانسی بیشتری وارد سلول می‌گردد. (نابلوچ و همکاران، ۱۹۸۶؛ سایکاما و همکاران، ۱۹۹۴)، ولی در غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی به‌علت وجود زنجیره‌های پلی‌ساکاریدی آبدوست[1] یک سد دفاعی در برابر روغن‌های اسانسی که خاصیت آب گریزی[2] دارند، ایجاد می‌شود (نیکایدو و وارا، ۱۹۸۵؛ تاسو و نیکاس، ۱۹۹۵؛ مان و همکاران، ۲۰۰۰)، در بررسی سایر نتایج تحقیق حاضر نیز از لحاظ قدرت ضدباکتریایی بین عصاره‌های مورد آزمایش اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید (P<0.01). (جدول‌های ۵ و ۶)، به‌طوری‌که از لحاظ خاصیت ضدباکتریایی به‌ترتیب پیازهای قرمز، زرد و سبز قرار داشتند. ضمن اینکه این مسأله در هر دو روش ارزیابی اثر ضدباکتریایی مشهود بود. این نتایج در بررسی هوکس و لاوسون (۱۹۹۱) که برروی گونه‌های مختلف پیاز انجام گردیده نیز صادق بوده است. منشاء این اختلاف را ضمن در نظر گرفتن سایر ترکیبات تشکیل‌دهنده، در میزان آلیسن[3] (مهمترین ماده ضدمیکروبی پیاز) باید جستجو نمود که با ترکیب با گروه تیول[4] آنزیم‌های مختلف موجود در میکروارگانیسم‌ها اثر خود را نشان می‌دهد (رابینکوف و همکاران، ۱۹۹۸)، ولی با این وجود به‌نظر می‌رسد که نیاز به بررسی بیشتر در این مورد وجود دارد.

در مقایسه نتایج تحقیق حاضر با نتایج سایر محققین که از روش تا حدودی یکسان استفاده نموده‌اند، اختلافات محسوسی مشاهده می‌گردد (مایتمنت و همکاران، ۲۰۰۱؛ اسمیت و همکاران، ۲۰۰۱؛ بنکبلیا، ۲۰۰۴) که علت این امر را تفاوت در سویه باکتری، نوع محیط و اقلیم کشت پیاز، تفاوت در خلوص عصاره‌ها و نیز سایر موارد باید جستجو نمود. ثابت شده است که میزان ترکیبات موجود در پیاز در طی دوره رشد متفاوت بوده و سن گیاه نیز در این مسأله دخیل است (بریکس و همکاران، ۲۰۰۲).

جدول ۵- تجزیه واریانس اثر ممانعت‌کنندگی اسانس روغنی سه نوع پیاز برروی *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* در روش انتشار دیسک.

منابع تغییر	میانگین مربعات	مقدار p
نوع باکتری	۵۸۵/۲۳۷	۰/۰۰۰۰
نوع پیاز	۷۰/۹۱۳	۰/۰۰۰۰
غلظت عصاره روغنی	۱۸۳/۴۳۸	۰/۰۰۰۰
اثر متقابل باکتری و پیاز	۲۱/۴۳۵	۰/۰۰۰۰
اثر متقابل باکتری وغلظت عصاره	۲۳/۴۱۵	۰/۰۰۰۰
اثر متقابل نوع پیاز وغلظت عصاره	۳/۱۲۲	۰/۰۰۰۰
اثر متقابل باکتری, نوع پیاز وغلظت عصاره	۱/۰۱۱	۰/۰۰۰۰

1- Hydrophilic
2- Hydrophobic
3- Alicin
4- Thiol

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۶- تجزیه واریانس MIC و MBC عصاره روغنی سه نوع پیاز برروی *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* در روش تست لوله‌ایی.

منابع تغییر	میانگین مربعات	مقدار P
نوع باکتری	۲۰۳۶۵/۶۶۸	۰/۰۰۰۰
نوع پیاز	۲۸۱/۰۳۳	۰/۰۰۰۰
غلظت عصاره روغنی	۱۵۸۸۶/۵۰۲	۰/۰۰۰۰
اثر متقابل باکتری و پیاز	۱۷۶/۸۶۶	۰/۰۰۰۰
اثر متقابل باکتری وغلظت عصاره	۶۷۷۱/۹۱۸	۰/۰۰۰۰
اثر متقابل نوع پیاز وغلظت عصاره	۲۸۱/ ۰۳۳	۰/۰۰۰۰
اثر متقابل باکتری, نوع پیاز وغلظت عصاره	۱۷۶/۸۶۶	۰/۰۰۰۰

در رابطه با استفاده از خاصیت ضدمیکروبی روغن‌های اسانسی به‌عنوان یک ماده نگهدارنده مواد غذایی و جانشین سایر ترکیبات شیمیایی باید ذکر نمود که میزان روغن اسانسی مورد نیاز جهت مهار رشد میکروبی در غذاها به‌طور قابل ملاحظه‌ای در مقایسه با محیط کشت زیاد است و در صورت استفاده امکان تغییر در طعم غذاها وجود دارد (فاربود و همکاران، ۱۹۸۹)، ولی با این وجود اثرات ضدمیکروبی برخی از اسانس‌ها در غلظت پایین نیز باعث ممانعت از رشد میکروبی در برخی مواد غذایی گردیده و باعث کاهش بار میکروبی می‌گردد. این موضوع بیانگر زمینه‌های تحقیقاتی بیشتر جهت بررسی تفاوت اثر عصاره‌های گوناگون در مواد غذایی مختلف می‌باشد (اسمیت و همکاران، ۱۹۹۸). همچنین، جهت استفاده در مواد غذایی برخی محققین پیشنهاد کرده‌اند که میزان اثر ضدمیکروبی اسانس‌ها را می‌توان با استفاده از ترکیب با سایر ممانعت‌کننده‌های میکروبی افزایش داد. به‌عبارت دیگر، استفاده از روغن‌های فرار و ترکیبات آنها با خاصیت ضدمیکروبی می‌تواند سبب ایجاد یک اثر حسی منفی در غذا بشود و یک راه‌حل مناسب برای این مشکل استفاده ترکیبی از سیستم‌های محافظتی در غذا می‌باشد که ضمن کاهش غلظت اسانس اثر ضدمیکروبی لازم هم بوجود می‌آورد، ولی در هر صورت جهت کاربردی نمودن اثر ضدمیکروبی روغن‌های اسانسی در مواد غذایی بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره‌های روغنی پیاز برروی سایر عوامل آلوده‌کننده باکتریایی و قارچی مواد غذایی که در ارتباط با کیفیت مواد غذایی می‌باشند و جداسازی دقیق ترکیبات ضدمیکروبی مؤثر در پیازهای مختلف با تکنیک‌های جدید آنالیز ترکیبات شیمیایی احساس می‌شود. در پایان به‌نظر می‌رسد کارآیی اثرات ضدمیکروبی عصاره‌های پیاز به‌عنوان نگهدارنده در داخل خود مواد غذایی به‌عنوان ضرورت تحقیق، مستلزم بررسی بیشتر است.

منابع

1.Aienech, Y. 1991.Medical plants of Iran. Tehran univ.press.second Edition.Pp:272-286

2.Augusti, K.T. 1990. Therapeutic and medicinal values of onions and garlic. In *Alliums* and Allied Crops .eds H. Rabinowitch & Brewster CRC Press, Boca Raton, FL, USA. 3: 93–108.

3.Benkeblia, N. 2004. Antimicrobial activity of Essential oil extracts of various onions *(Allium cepa*) and garlic *(Allium sativam).* Lebens Mu-technol. 37: 263-268.

4.Block, E. 1992. The organosulfur chemistry of the genus *Allium* – implications for the organic chemistry of sulfur. Agnewandte Chemic-International Edition in English .31: 1135–1178.

5.Block, E. 1994. Flavorants from garlic, onion, and other *Alliums* and their cancer-preventive properties. American Chemical Society Symposium Service. Food Phytochemicals for Cancer Prevention .556: 84–96.

6.Briggs, W.H., Xiao, H., Parkin, K.L., Shen, C., and Goldman, I.L. 2000. Differential inhibition of human platelet aggregation by selected *Allium* thiosulfinates. Journal of Agricultural and Food Chemistry .11: 5731–5735.

www.SID.ir

Archive of SID

7.Briggs, W.H., Folts, J.D., Osman, H.E., Xiao, H., Parkin K.L., and Goldman, I.L. 2001 Administration of raw onion inhibits platelet mediated thrombosis in dogs. Journal of Nutrition. 131:2619– 2622.
8.Briggs, W.H., Folts, J.D., Osman, H.E., Xiao ,H., Parkin K.L., and Goldman, I.L. 2002. Variation in economically and ecologically important traits in onion plant organs during reproductive development. Journal of Nutrition. 131:2619– 2622.
9.Cannier, R., Manon., and George, T. 1995. Diagnostic microbiology. wib Saunders Company. Pp: 263-265.
10.Farag, R.S., Daw, Z.Y., Hewedi, F.M., and El-Baroty, G.S.A. 1989. Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. Journal of Food Protection .52: 665–667.
11.Farbod, R., Daw, Z., Hevedi, F.M., and Baroty, G. 1989. Antimicrobial activity of some Egypian spice essential oils. Journal of food protection. 52: 665- 667.
12.Heidari, H. 1991. The essences. Iran jahad keshavarzi journal .Resour.16:10-15.
13.Hughes, B.G., and Lowson, L.P. 1991. Antimicrobial effects of *A. sativum*, *A. amploprasum.*, *A. sepa*, garlic and commercial garlic supplements products. phytotherapy research. 5: 154-158.
14.Kim, J.H. 1997. Anti- bacterial action of onion *(Allium cepa* L.) extracts against oral pathogenic bacteria. J. wihon univ sch Dent. 39: 136-44.
15.Knobloch, K., Weigand, H., Weis, N., Schwarm, H.M., and Vigenschow, H. 1986. Action of terpenoids on energy metabolism. pp. 429–445. In: Brunke EJ., editor. Progress in Essential Oil Research: 16th International Symposium on Essential Oils. De Gruyter, Berlin.
16.Lanzotti, V. 2006. The analysis of onion and garlic. Journal of chromatogrphy A. 1112: 3-22.
17.Lee, Y.L., Cesario, T., Yang, W., Edward, S., Hanbrom, M., and Lauri, T. 2002. Antibacterial activity of vegetables and juices Plant. Jornal of, Cell and Environment.25:1031-1037.
18.Lis-Balchin, M., and Deans, S.G. 1997. Bioactivity of selected plant essential oils against *Listeria monocytogenes*. J. Appl. Bacteriol. 82:759–762.
19.Maitment, D.C.J., Dembny, Z., and Watts, D.F. 2001. The antibacterial activity of 12 Alliums against *E.coli*. Nutriant & food science. 31: 235- 244.
20.Mann, C.M., Cox, S.D., and Markham, J.L. 2000. The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC6749 contributes to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). Letters in Applied Microbiology. 30:294–297.
21.Mitscher, LA., Drake, S., Gollapudi, S.R., and Okwute, S.K. 1987. A modern look at folkloric use of anti-infective agents. J Nat Prod. 50:1025–1040.
22.Murray, P.R., Baron, E.J., Ptaller, M.A., Tenover, F.C., and Yolken, R.H. 1995. Manual of clinical microbiology.ASM Press,Washington,D.C,Pp:1331-1337.
23.Nikaido, H., and Vara. M. 1985. Molecular Basis of bacterial outer membrane permeability. Microbiology reviews .49: 1-32.
24.Nissen, O. 1983. A microcomputer program for the design of agronomic research experiments.Version 2.10 .MSTAT-C development team. Michigan University.
25.Rabinkov, A., Miron, T., Konstantinovski, L., Wilcheck, M., Mirelman, D. and Weiner, L. 1998. The mode of action of allicin: trapping of radicals and interaction with thiol containing proteins. Biochem Biophys Acta .1379: 233.
26.Reynolds, J. 1996. Martindale – the Extra Pharmacopoeia. London. Royal Pharmaceutical Society of Great Britain. 31:120-129.
27.Shams, M., Rozafsha, Allameh, A., and Razzaghi, M. 2003. Inhibitory Effects of Aqueous onion and Garlic extract on Growth and keratinase activity in *Trichophyton mentogrophys*. IBJ.26:118-122.
28.Shelef, La. 1983. Antimicrobial effect of spice. Journal of food safety. 6:24-29.
29.Sikkema, J., DeBont, J., and Poolman, B. 1994. Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. J Biol Chem.269:8022-8028.
30.Smith, A., Palmer, J., Stewart, J., and Fyfe, L.1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food borne pathogens. Letters in Applied microbiology. 26: 118- 122.
31.SPSS Inc.1999.SPSS Base 10.0 version 11.5 for windows user's guide.SPSS Inc, Chicago IL.
32.Tassou, C.C., and Nychas, G.J.E. 1995. Antimicrobial activity of the essential oil of Mastic gum (*Pistacia lentiscus* var. *chia*) on gram-positive and gram-negative bacteria in broth and model food systems. International Biodeterioration and Biodegradation. 36: 411–20.
33.Zohri, A.N., AbdelGawad, K., Saber, S. 1995. Antibacterial, antidevmatophtic and antioxygenic activities of onion *(Allium cepa.L*) oil. Microbial Res. 150: 167-72.

www.SID.ir

Archive of SID

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 15(2), Jun-July 2008
www.jasnr.info
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

Antibacterial activity of essential oil extracts of various onions *(Allium* cepa L.) on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

T. Mehdizadeh[1] and S.M. Razavi-Rohani[2]
Department of food hygiene & Quality Control, faculty of veterinary medicine Urmia- Iran, [2]……..

Abstract

Onion (*Allium cepa* L.) is one of oldest cultivated plants and is used both for food and medicinal applications. In fact, this common plant is a rich source of several phytonutrients also used in the treatment and prevention of numerous diseases. In this study antibacterial activity of essential oil (EO) extracts of three types of onions (green, yellow, red) against two bacteria, *E.coli* and *S.aureous* was investigated. Essential oils were extracted by steam distillation unit, and appropriate volumes of EO-extracts were added to sterile water to obtain desired concentrations. Antimicrobial activity of onions determined with disc diffusion test and convensional tube test. The results indicated that essential oil extracts of three types of onions were effective against *s.aureous* and *E.coli* .The former one was more sensitive. Red onion had the highest inhibition and green onion the lowest. The1, 1/2, 1/4 and 1/8 dilutions that were equal with, 50%, 25%, 12/5% and 6/25% concentrations of essential oils, have bacterial inhibitory growth effect. Taking into consideration results, appear that will be able to utilize natural extracts and separated elements from those, for protecting foods.

***Keywords*:** *Allium cepa* L.*;* Antibacterial activity*;* Essential oils-Extract-Onion

www.SID.ir