بررسی مواد متشکله موجود در اسانس و اثرات ضدمیکروبی اسانس و عصاره‌های مختلف گیاه *Allium jesdianum* Boiss. & Buhse

حمزه امیری

مربی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه لرستان
آدرس مکاتبه: لرستان، دانشگاه لرستان، گروه زیست‌شناسی، صندوق‌پستی: ٤٦٥
تلفن: ٢٢٠٥٠٥٨ (٠٦٦١)، نمابر: ٢٢٠٠١٨٥ (٠٦٦١)
پست الکترونیک: Amiri_h_lu@yahoo.com

تاریخ دریافت: ٨٤/٢/١٠ **تاریخ تصویب:** ٨٥/١١/٣٠

چکیده

مقدمه: گیاه ***Allium jesdianum*** گیاهی است متعلق به تیره لاله[1] که در مناطق غرب و جنوب غرب ایران به صورت وحشی می‌روید و در این مناطق دارای استفاده‌های متعدد غذایی و دارویی است.

هدف: شناسایی مواد تشکیل‌دهنده اسانس گیاه ***A. jesdianum*** و بررسی اثرات ضدمیکروبی اسانس و عصاره‌های مختلف این گیاه.

روش بررسی: گیاه مذکور از ارتفاعات شهرستان خرم‌آباد در فروردین ماه ٨١ در مرحله گل‌دهی جمع‌آوری گردید و با روش **Hydrodistillation** مورد اسانس‌گیری قرار گرفت. مواد متشکله اسانس با استفاده از دستگاه **GC** و **GC/MS** مورد آنالیز قرار گرفت. در شناسایی تشکیل‌دهنده‌های اسانس از اندیس بازداری ترکیبات استفاده شد. در اثرات ضدمیکروبی اسانس و عصاره‌های آبی، اتانولی، اتری و متانولی گیاه بررسی شده، از روش حفر چاهک و اندازه‌گیری قطر هاله بازدارندگی رشد و همچنین آنتی‌بیوتیک جنتامایسین برای مقایسه اثرات ضدمیکروبی استفاده شد.

نتایج: راندمان اسانس در این گیاه **w/w** ٠/١ درصد بود. عمده‌ترین ترکیبات موجود در این اسانس عبارتند از: هگزا دکانوییک اسید (١٩/٠٣ درصد)، دی سولفیدمتیل – ١ – اتیل (٩/٢٥ درصد)، تری‌سولفید دی‌متیل (٢٢/٣٤ درصد)، فیتول (١٢/٨٢ درصد)، پنتاکوسان (٨/٠٣ درصد) و کورزرن (٧/٦٢ درصد). نتایج بررسی اثرات ضدمیکروبی نشان داد که اثرات بازدارندگی رشد عصاره‌ها به ویژه عصاره‌های اتانولی بیش از اسانس‌ها است، همچنین عصاره‌های آبی این گیاه تقریباً فاقد اثرات آنتی‌باکتریال است.

نتیجه‌گیری: شناسایی مواد متشکله اسانس گونه مورد بررسی نشان داد که اسانس این گیاه همانند اغلب گونه‌های جنس ***Allium*** عمدتا از ترکیبات سولفیدی تشکیل یافته است و اثرات ضدمیکروبی اسانس و عصاره‌های مختلف این گیاه احتمالاً به دلیل حضور همین ترکیبات است.

گل‌واژگان: اسانس، اثرات ضدمیکروبی، ***Allium jesdianum***، عصاره، **Trisulfide dimethyl**

[1] Liliaceae

www.SID.ir

مقدمه

جنس *Allium* دارای گونه‌های با ارزشی برای انسان مانند پیاز خوراکی و سیر است. گونه *Allium jesdianum* Boiss. که در زبان محلی به نام بوسر، سرپا یا بن سرخ (به دلیل قرمز بودن قسمت‌های قاعده‌ای برگ‌ها) خوانده می‌شود گیاهی است پیازی و پایا، دارای ۲-۳ برگ که در ارتفاعات غرب و جنوب غرب ایران می‌روید. این گیاه در اوایل بهار به وسیله افراد محلی جمع‌آوری و در بازار به فروش می‌رسد. این گیاه دارای استفاده‌های غذایی گوناگون بوده و به طور سنتی در درمان و کاهش دردهای روماتیسمی و گوارشی و دفع سنگ کلیه به کار برده می‌شود. آش بوسر در درمان سرماخوردگی بسیار موثر است [۱].

گزارش‌های متعددی در مورد آنالیز اسانس و بررسی اثرات ضدمیکروبی گونه‌هایی از *Allium* که بیشتر شناخته شده‌اند مثل پیاز خوراکی (*A. sativum*) و (*A. cepa*) وجود دارد.

آواتو[1] و همکاران گزارش داده‌اند که مواد متشکله اسانس سیر شامل دی آلیل دی سولفید (۱۵ درصد) و دی آلیل تری سولفید (۳۸ درصد) است. همین بررسی نشان داد که اثرات ضدقارچی اسانس این گیاه بیش از اثرات ضدباکتریایی آن است و ماده موثره این گیاه دی آلیل دی سولفید (DDS) است؛ به طوری‌که اسانس‌هایی که دارای DDS بیشتری هستند اثرات ضدمیکروبی و ضدقارچی قوی‌تری را نشان می‌دهند [۲].

در تحقیق دیگری مهم‌ترین ترکیبات موجود در اسانس گیاه سیر ترکیبات آلیل سولفید گزارش شده است که دارای اثرات ضدمیکروبی مشخص هستند. در این میان بیشترین اثر این اسانس بر روی *E. coli* گزارش شده است [۳]. هم‌چنین در بررسی دیگری که بر روی اسانس *Allium fistulosum* صورت گرفته، اصلی‌ترین ترکیبات آن دی پروپیل دی سولفید (۳۰/٦ درصد)، متیل پروپیل تری سولفید (۱۲ درصد) و دی پروپیل تری سولفید (۱۲/۳ درصد) گزارش شده است [٤]. مواد متشکله موجود در اسانس *Allium macrochaetum* به وسیله بیسر[1] و همکاران مورد بررسی قرار گرفته و مهم‌ترین اجزای آن دی آلیل دی سولفید (۵۳/۸ درصد)، دی آلیل تری سولفید (۲٦/۱۹ درصد)، آلیل متیل تری سولفید (۵/۹ درصد) و آلیل متیل دی سولفید گزارش شده است [۵].

ما در این پژوهش مواد متشکله اسانس و اثرات ضدمیکروبی اسانس و عصاره‌های مختلف گیاه *Allium jesdianum* را بررسی کردیم.

مواد و روش‌ها

گیاه *Allium jesdianum* از فروردین ماه ۸۱ از ارتفاعات سفیدکوه واقع در ۱۰ کیلومتری غرب خرم‌آباد لرستان جمع‌آوری شد. جهت اسانس‌گیری از روش تقطیر با آب[2] و دستگاه کلونجر به مدت ۲ ساعت استفاده شد؛ اسانس‌های جمع‌آوری شده بعد از آبگیری به وسیله سولفات سدیم، در ویال‌های کوچک با جدار تیره و در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

آنالیز GC با دستگاه کروماتوگراف گازی مدل Shimadzu 15A صورت گرفت. N_2 به عنوان گاز حامل با سرعت (1 mL/min) و ستون DB 5 (۵۰ m × ۰/۲ mm و ۰/۳۲ µm) استفاده شد. دمای ستون در ٦۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۳ دقیقه نگهداری شد، سپس با سرعت ۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه تا ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت و برای ۵ دقیقه در ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد ثابت گردید. درصدهای نسبی با استفاده از کروماتوپک C-R4A بدون استفاده از فاکتور تصحیح از سطح زیر منحنی (Peak area) برآورد شد.

آنالیزهای GC/MS با استفاده از Hewlett-pakard 5973 با ستون HP-5MS (۳۰ m × ۰/۲۵ mm و ضخامت ۰/۲۵) انجام شد. دمای ستون برای ۳ دقیقه در ٦۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و تا ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه افزایش یافت و برای ۵ دقیقه در ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. گاز هلیم به عنوان گاز حامل با سرعت (۱ mL/min) در 70eV استفاده شد.

[1] Avato
[2] Hydrodistillation
[1] Baser

Archive of SID
www.SID.ir

شناسایی مواد متشکله اسانس به وسیله مقایسه طیف جرمی و اندیس بازداری‌شان با آنچه که در منابع وجود دارد صورت گرفت [٦].

جهت تهیه عصاره‌های مختلف نیز به صورت زیر عمل شد.

الف) عصاره‌های آبی: مقدار ٥٠ گرم ماده خشک گیاهی را به صورت پودر درآورده و ٣٠٠ میلی‌لیتر آب به آن اضافه نموده و به مدت ٧٢ ساعت در یخچال نگهداری شد و پس از این مدت عصاره حاصل را صاف کردیم.

ب) عصاره‌های اتانولی: مقدار ٥٠گرم ماده خشک گیاهی را در ٣٠٠ میلی‌لیتر اتانول ٨٠ درصد خیساندیم و به مدت ٧٢ ساعت در یخچال نگهداری نمودیم و پس از این مدت عصاره حاصل را صاف کردیم.

ج) عصاره‌های اتری: مقدار ٥٠ گرم ماده خشک گیاهی را به صورت پودر درآورده و ٣٠٠ میلی‌لیتر دی اتیل اتر به آن اضافه نموده و به مدت ٧٢ ساعت در یخچال نگهداری نمودیم و پس از این مدت عصاره حاصل را صاف کردیم.

د) عصاره‌های متانولی: حلالی که در این مورد به کار رفت مخلوطی از سه ماده پترولیوم اتر، دی اتیل اتر و متانول است که به نسبت مساوی استفاده شدند. مقدار ٥٠ گرم ماده خشک گیاهی را در ظروف درب‌دار ریختیم و ١٠٠ میلی‌لیتر از هر یک از حلال‌های ذکر شده را به آن افزودیم. پس از ٢٤ ساعت عصاره را صاف کرده و به کمک دستگاه Rotary-Evaporator تغلیظ کردیم. سپس به عصاره تغلیظ شده ١٥-٢٠ میلی‌لیتر متانول افزودیم و به مدت ٢٤ ساعت در دمای ١٥ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا مواد اضافی آن مثل چربی‌ها و پروتئین رسوب نماید. پس از صاف کردن مجدد عصاره مذکور جهت آزمون‌های میکروبی به کار رفت. عصاره‌های به دست آمده را ابتدا خشک نموده و سپس عصاره‌های مذکور را در اتانول ٨٠ درصد حل کرده و از حلال مذکور به عنوان شاهد منفی استفاده کردیم.

آزمون‌های میکروبی با استفاده از باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اپی‌درمیدیس PTCC1349[1]، استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس PTCC1379[2]، استافیلوکوکوس ارئوس PTCC1113[3] و باکتری‌های گرم منفی 1310 سودوموناس آئروژینوزا[1]، سالمونلاتیفی PTCC1185[2]، اشریشیاکولی[3] PTCC1330 و شیگلافلکسنری[4] PTCC1234 انجام شد.

میکروارگانیسم‌ها روی محیط کشت مولرهینتون[5] آگار کشت شدند. به این صورت که سواپ آغشته به سوسپانسیون باکتری را به صورت رفت و برگشت در سطح محیط مولر – هینتون حرکت دادیم و سپس محیط مولر – هینتون را با زاویه ٦٠ درجه چرخاندیم و در دو نوبت دیگر عمل کشت را تکرار کردیم [٧]. بعد از حفر چاهک‌ها روی محیط کشت ٨٠ µL از اسانس‌هایی که با سولفات سدیم آب‌گیری شده و در n- هگزان حل شده است به همراه عصاره‌های مختلف جهت بررسی‌های ضدمیکروبی در چاهک‌ها ریخته شد. سپس نمونه‌ها به مدت ٢٤ ساعت در دمای ٣٧ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند، آنگاه برای تعیین میزان بازدارندگی اسانس‌ها و عصاره‌های مختلف قطر هاله بازدارندگی رشد اندازه‌گیری شد.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به مواد تشکیل‌دهنده اسانس در جدول شماره ١ آورده شده است. این نتایج نشان داد که ترکیبات سولفیدی بخش مهمی را از مواد متشکله اسانس را تشکیل می‌دهند. همچنین سزکوبی‌ترپن‌هایی مثل Curzerene، Curzerenone به میزان قابل توجهی در این اسانس وجود دارند. از ترکیبات مهم این اسانس می‌توان به تری‌سولفیددی‌متیل[6] (٢٢/٣٤ درصد)، دی‌سولفیدمتیل – ١ – اتیل[7] (٩/٢٥)، هگزادکا نوییک اسید[8] (١٩/٠٣)، فیتول[9] (١٢/٠٣)، پنتاکوسان[10] (٨/٠٣) اشاره کرد. بررسی‌های صورت گرفته در مورد شناسایی مواد متشکله اسانس گیاه *Allium sativum* که از طریق Hydrodistillation به دست آمده نشان داده است که ترکیبات اصلی این اسانس دی آلیل دی‌سولفید[11] (٤٨/٥٦)،

[1] *Staphylococcus epidermidis*
[2] *Staphylococcus saprophyticus*
[3] *Staphylococcus aureus*

[1] *Pseudomonas aeroginosa*
[2] *Salmonella typhi*
[3] *Escherchia coli*
[4] *Shigella flexneri*
[5] Muller-Hinton
[6] Trisulfide dimethyl
[7] Disulfide methyl 1-(methylthio) ethyl
[8] Hexadecanoic acid
[9] Phytol
[10] Pentacosane
[11] Diallyl disulfide

Archive of SID
www.SID.ir

جدول شماره ۱- نوع و درصد مواد متشکله موجود در اسانس گیاه *Allium jesdianum*

Compounds	RI	درصد (٪)
Trisulfide dimethyl	۹۸۷	۲۲/۳٤
Disulfide methyl-1-(methylthio)ethyl	۱۰۲۰	۹/۲۵
Nonanal	۱۱۰۱	۲/۸۷
Decanal	۱۲۰۲	۵/۳۲
Cyclamen aldehyde	۱٤٦۱	۲/۰۱
Beta-Ionone	۱٤۸۹	۳/۵۷
Curzerene	۱٤۹۹	۷/٦۲
Germacrene-B	۱۵٦۱	۰/۵۸
Alpha-cederene epoxide	۱۵۷۵	۳/۹۹
Curzerenone	۱٦۰٦	۲/٦۲
Methylhexadecanoate	۱۹۲۲	۰/٦۵
Hexadecanoic acid	۱۹۲۳	۱۹/۰۳
Phytol	۱۹٤۳	۱۲/۸۲
Sclarene	۱۹۷۵	۱/۵۲
Pentacosane	۲۵۰۰	۸/۰۳
Heneicosane	۲٦۲۷	۳/٦۵
Heptacosane	۲۷۰۰	٤/۱۵

متیل آلیل تری‌سولفید[1] (۱۲/۸۲)، متیل آلیل دی‌سولفید[2] (۸/۱٦)، دی‌آلیل تری‌سولفید[3] (۱۱/۹٦) هستند [۳].

تحقیقات بیسر و همکاران در مورد شناسایی مواد متشکله اسانس *Allium macrochaetum* منجر به شناسایی ۱۲ ترکیب در این اسانس شده است که عمده‌ترین آنها دی‌آلیل دی‌سولفید[4] (۵۳/۸ درصد)، دی آلیل تری سولفید[5] (۲٦/۱۹ درصد)، آلیل متیل تری سولفید[6] (۵/۹ درصد) و آلیل متیل دی سولفید[7] (۵/۲۱ درصد) است [۵]. همچنین مطالعات Pino و همکاران در مورد شناسایی ترکیبات موجود در اسانس *A. fistulosum* نشان داد که ترکیبات اصلی این اسانس دی پروپیل دی سولفید[1] (۳۰/٦ درصد)، متیل پروپیل تری سولفید[2] (۱۲/۳ درصد) است. آنالیز اسانس گیاه سیر نیز نشان داد که دی آلیل دی سولفید و دی آلیل تری سولفید اجزای اصلی اسانس این گیاه محسوب می‌شوند [٤۸].

مطالعات Leops و همکاران در مورد اسانس حاصل از برگ‌های تازه گیاه *A. tuberosum* که به وسیله GC/MS آنالیز شده است نشان داده که ۸٤ درصد حجم اسانس را ترکیبات سولفیدی تشکیل می‌دهد. تعدادی از ترکیبات

[1] Methyl allyl trisulfide
[2] Methyl allyl disulfide
[3] Diallyl trisulfide
[4] Diallyl disulfide
[5] Diallyltrisulfide
[6] Allylmethyltrisulfide
[7] Allylmethyldisulfide

[1] Dipropyl disulfide
[2] Methyl propyl trisulfide

Archive of SID

www.SID.ir

سولفیدی شناسایی شده در این گیاه قبلاً در گونه‌های دیگر *Allium* گزارش نشده است از جمله این ترکیبات می‌توان به 1-(methylthio) alk (en) yl disulfide و Allyl-1-(methylthio)ethyl disulfid اشاره کرد [۹].

نتایج بررسی اثرات ضدمیکروبی اسانس و عصاره‌های آبی، اتانولی، متانولی و اتری *Allium jesdianum* در جدول شماره ۲ آورده شده است. نتایج این بررسی‌ها نشان می‌دهد که عصاره‌های آبی این گیاه فاقد اثرات ضدمیکروبی مشخصی است در حالیکه عصاره‌های اتانولی بیش از سایر عصاره‌ها دارای اثرات ضدمیکروبی است به طوری‌که در مورد اغلب میکروارگانیسم‌ها اثرات ضدمیکروبی عصاره‌های اتانولی بیش از جنتامایسین است. در بین میکروارگانیسم‌های مورد بررسی به نظر می‌رسد که استافیلوکوکوس ارئوس نسبت به اسانس و عصاره‌های مختلف گیاه *A. jesdianum* و همچنین آنتی‌بیوتیک جنتامایسین مقاوم تر از بقیه میکروارگانیسم‌ها است در حالی‌که از این نظر شیگلافلکسنری حساس‌ترین باکتری محسوب می‌شود. عصاره‌های متانولی *A. jesdianum* به جزء در مورد سالمونلاتیفی و استافیلوکوکوس ارئوس که فاقد اثرات ضدمیکروبی است در سایر موارد دارای اثرات ضدمیکروبی مشخصی است. عصاره‌های اتری این گیاه نیز در مورد اکثر میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه از خود اثرات ضدمیکروبی نشان می‌دهد. اسانس این گیاه فقط بر علیه استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس و شیگلافلکسنری از خود اثرات ضدمیکروبی نشان می‌دهد.

جدول شماره ۲ – اثرات ضدمیکروبی اسانس و عصاره‌های مختلف گیاه *Allium jesdianum* بر روی میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه

قطر هاله بازدارندگی رشد برحسب میلی‌متر است

microorganism	Gram+/-	Aqueous extract	Ethanolic extract	Methanolic extract	Etheric extract	Essential oil	n-hexan	Gentamicine
Staphylococcous aureus PTCC1113	+	۰	۹	۰	۵	۰	۰	۱۲
Staphylococcus epidermidis PTCC1349	+	۰	۱۶	۱۲	۱۱	۰	۰	۲۰
Staphylococcus saprophyticus PTCC 1379	+	۰	۲۱	۱۰	۸	۳	۰	۱۵
Shigella flexneri PTCC 1234	-	۰	۲۰	۹	۵	۶	۰	۱۲
Salemonella thyphi PTCC 1185	-	۰	۱۰	۰	۳	۰	۰	۱۴
Escherchia coli PTCC 1330	-	۰	۲۰	۷	۰	۰	۰	۱۵
Pseudomonas aeruginosa PTCC1310	-	۰	۱۵	۶	۰	۰	۰	۱۵

Archive of SID
www.SID.ir

نتایج این بررسی نشان داد که عصاره‌های اتانولی گیاه از اسانس و سایر عصاره‌ها اثرات ضدمیکروبی قوی‌تری دارد به طوری‌که در مورد اشریشیاکولی، استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس و شیگلافلکسنری موثرتر از جنتامایسین است. در مورد آنتی‌بیوتیک جنتامایسین اگر قطر هاله عدم رشد ۱۲ میلی‌متر یا کمتر از آن باشد باکتری‌ها نسبت به آن مقاوم، اگر قطر هاله عدم رشد بین ۱۳ تا ١٤ میلی‌متر باشد دارای اثر ضدمیکروبی متوسط است. بالاخره اگر قطر هاله عدم رشد بیشتر از ۱۵ میلی‌متر باشد میکروارگانیسم‌ها نسبت به آن حساس محسوب می‌شوند. برخلاف آنتی‌بیوتیک جنتامایسین که معیار دقیقی در مورد حساس بودن، نیمه حساس بودن یا مقاوم بودن باکتری‌ها در برابر آن وجود دارد [۷،۱۰]، در مورد اسانس یا عصاره‌های مختلف گیاه مورد بررسی فقط می‌توان با توجه به هاله عدم رشد مشاهده شده اذعان داشت که آیا دارای اثر ضدمیکروبی بوده یا خیر و اینکه اثرات ضدمیکروبی آنها نسبت به جنتامایسین بیشتر است یا کمتر است.

مطالعات Qiao و همکاران در مورد اثرات ضدمیکروبی اسانس گیاه سیر نشان داد که اسانس این گیاه برعلیه باکتری *E. coli* موثرتر از بقیه میکروارگانیسم‌های مورد بررسی است [۱۱]. همچنین بررسی‌های آواتو و همکاران در این خصوص نشان داد که ترکیبات موجود در اسانس گیاه سیر دارای اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی است و در این میان ماده دی آلیل دی سولفید دارای بیشترین اثر آنتی‌بیوتیکی است [۲]. اثرات ضدمیکروبی گیاه مورد بررسی نیز احتمالاً به دلیل حضور ترکیبات سولفیدی و ترپنوئیدی موجود در این گیاه است [۱۲].

منابع

۱.شفیع‌زاده فتح‌الله. *گیاهان دارویی استان لرستان*. انتشارات حیان. ۱۳۸۱، صفحه ٤۹.

2.Avato P, Tursi F, Miccolis V, Candido V. Allylsulfide Constituents of garlic volatile oil as antibacterial agents. *Phytomedicine* 2000; 7 (3): 239-243.

3.Kim SM, Wu CM, Kubota K, Kobayashi A. Effect of soybean oil on garlic volatile compounds isolated by distillation. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 1995; 43: 449 - 452**.**

4.Pino JA, Rosado A, Fuentes V. Volatile flavor compound from *Allium fistulosum* L. *Journal of Essential Oil Research* 2000; 12 (5): 553-555.

5.Baser KHC, Kosar M, Koyuncu M. Composition of essential oil of *Allium macrochaetum* Boiss et Haasskn. *Journal of Essential Oil Research* 1997; 9 (1): 125-126.

6. Adams RP. Identification of essential oil components by Gas chromatography/mass spectroscopy. Illinois: Allured Publ. crop. 1995. p. 69-351.

۷.. نادری‌نسب محبوبه، راشد طاهره و ناظم محمد. *باکتری‌شناسی آزمایشگاهی*. انتشارات آستان قدس رضوی. ۱۳۷۰. صفحه ۲۵۱.

8.Riaz M, Iqbal MJ, Chaudhry FM. Volatile flavour component of *Allium sativum* essential oil from pakistan. *Pakistan Journal of scientific and Industrial Research* 1998; 41 (5): 240-241.

9.Leops D, Godog R, Goncalves S, Koketsu M, Olivera A. Sulfur constituent of essential oil of nira (*Allium tuberosum Rott)* cultivated in Brazil. *Flavour and Fragrance Journal* 1997; 12 (4): 237-239.

10. Wistreich GA. Microbiology Laboratory, Fundamental and Application. 6th ed. USA: Printice-Hall; 1997: 324.

11. Qiao XG, Chen W, Han Y. Studies on the antibacterial effect of garlic essential oil. *Journal of Shandony Agricultural University* 2001; 12: 231-233.

12. Cowan MM Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 1999; 9: 489-490.

Archive of SID

www.SID.ir