

## بررسی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس و اثر ضد باکتریایی برگ و میوه *Juniperus horizontalis* Moench

الهام احسانی<sup>۱</sup>، کامبیز اکبری نوقایی<sup>۲\*</sup>، مریم تیموری<sup>۳</sup>، مهدیس ابراهیم‌زاده<sup>۴</sup> و علیرضا خادم<sup>۵</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج

۲- نویسنده مسئول، استادیار، گروه ژنتیک مولکولی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری پست الکترونیک: akbi@nigeb-ac.ir

۳- مربی، بخش تحقیقات جنگل، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

۴- استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج

۵- دانشجوی دکتری، دانشگاه کاتولیک لوون- بلژیک

تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۰

تاریخ اصلاح نهایی: تیر ۱۳۹۰

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۰

### چکیده

استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها و در نتیجه افزایش روزافزون مقاومت باکتریها به آنها، باعث شده تا نیاز به ترکیب‌ها و داروهای جدید بیش از پیش احساس شود. برای تولید داروهای جدید منابع مختلف به‌ویژه گیاهان، مورد توجه محققان می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی ترکیب‌های شیمیایی اسانس و اثر ضدباکتریایی اسانس برگ و میوه *Juniperus horizontalis* Moench است. برای این کار، برگ و میوه *Juniperus horizontalis* در زمستان از باغ ملی گیاه‌شناسی ایران واقع در مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور جمع‌آوری و اسانس آن به روش تقطیر با آب تهیه شد. ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس با دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) شناسایی شد. اثر ضدباکتریایی اسانس‌های حاصل با استفاده از روش دیسک پلیت در مقابل ۱۳ گونه باکتریایی سنجیده شد. حداقل غلظت بازدارنده (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس‌ها با روش microdilution اندازه‌گیری شد. نتایج آنالیز اسانس نشان داد که سابینن (۷۰/۳۸-۳۰/۲) و لیمونن (۲۷/۸) - (۲۶/۳) دو ترکیب عمده تشکیل‌دهنده اسانس برگ و میوه هستند. سومین ترکیب عمده در اسانس برگ بورنیل استات (۱۰/۷) و در اسانس میوه میرسن (۲۲/۶) بود. نتایج بررسی ضد میکروبی نشان‌دهنده اثر ضدباکتریایی قابل توجه اسانس برگ در مقابل ۱۲ گونه باکتری از ۱۳ گونه باکتری مورد مطالعه بود و تنها سیتروباکتر فروندی در برابر این اسانس مقاوم بود. اما اسانس میوه اثر ضدباکتریایی ضعیفی از خود فقط در برابر ۴ باکتری از ۱۳ باکتری نشان داد.

واژه‌های کلیدی: *Juniperus horizontalis* Moench، اثر ضد میکروبی، اسانس، گاز کروماتوگرافی.

### مقدمه

درمانی ترکیب‌های موجود در گیاهان اشاره‌های متعددی شده‌است. در واقع در گذشته تمام داروهای ترکیب‌هایی بودند که از گیاهان استخراج شده بودند

استفاده از گیاهان به‌عنوان دارو برای درمان بیماریها پدیده‌ای جهانی است. در فرهنگ‌های مختلف به خواص

رماتیسم، آرتريت و نقرص مفید است (علی‌احمد کروری و خوشنویس، ۱۳۷۹).

از اسانس مخروط ماده ارس بخاطر داشتن تریپن-۴-أل، قرنهایست به‌عنوان یک مدر استفاده می‌شود. Mishra و Agrawal (۱۹۸۹) اثر دارویی اسانس *Juniperus excelsa* را بررسی نمودند و نشان دادند که میزان بالای اسانس ارس ایجاد افسردگی نموده و مقادیر مناسب آن فشار خون را بدون اینکه سرعت یا عمق تنفس را متأثر نماید پایین می‌آورد و متناسب با میزان بکار برده شده ترشح استیل کولین را تسریع می‌نماید. این گیاه همچنین در طب سنتی به‌عنوان ضدنفخ، باکتری‌زدا و درمان سوءهاضمه بکار می‌رود. علاوه بر مصارف دارویی روغن ارس در محصولات نوشابه‌سازی، بهداشتی و زیبایی استفاده می‌شود. ارس در حجاز برای معالجه بیماری سل ریوی و یرقان مصرف سنتی داشته است و عصاره برگ و دانه آن علیه باکتریهای گرم مثبت بیماری‌زا مانند باسیلوس سوبتیلیس استافیلوکوکوس اورئوس تأثیر قابل‌توجهی داشته است (Muhammad et al., 1992).

Adams و همکاران (۱۹۹۲) با بررسی اسانس ارس *Juniperus excelsa* ترکیب‌های شیمیایی مختلف آن را شناسایی نمودند. طبق گزارش آنها آلفا-پینن و لیمونن بیشترین ترکیب‌های موجود در ارس می‌باشد.

مطالعه اجزای تشکیل‌دهنده اسانس *Juniperus excelsa* در پایه‌های نر- ماده، نر و ماده در ۳ فصل مختلف توسط صالحی شانجانی و میرزا (۱۳۸۱) نشان داد که تولید و سنتز اسانس در پایه‌ها و فصول مختلف بسیار پیچیده است. میزان آلفا-پینن که با مقدار ۷۰-۶۰٪ ترکیب غالب و جزء منحصر به فرد اسانس سرشاخه‌های سبز در

(Serrentino et al., 1991). امروزه به علت کشف اثرهای جانبی متعدد داروهای سنتزی و نیز استفاده بی‌رویه و غیر اختصاصی از داروهای ضد میکروبی در درمان بیماریهای عفونی که باعث مقاومت میکروارگانیسم‌ها به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های موجود شده است تقاضا برای مواد ضد میکروبی جدید افزایش یافته است. این امر منجر به افزایش تجویز و کاربرد داروهای گیاهی در کشورهای مختلف جهان و به‌ویژه در کشورهای پیشرفته شده و تحقیقات دامنه‌داری را سبب گردیده است (صدری، ۱۳۷۱).

خانواده سرو به راسته کونیفرالس و خانواده Cupressaceae تعلق داشته و گونه‌های آن در تمام نقاط دنیا انتشار دارند. خانواده سرو شامل ۲۰ جنس و ۱۳۰ گونه است و جنس‌های مهم آن عبارتند از: ارس (۶۰ گونه)، سرو (۱۵ تا ۲۰ گونه)، کالیتریس (۱۶ گونه)، کامسی پاریس (۷ گونه) و شوگا (۵ گونه) (بخشی خانیکی، ۱۳۸۶).

*Juniperus horizontalis* یا *Juniperus* درختچه‌ایست دوپایه، همیشه سبز، خزنده یا دنباله‌دار که می‌تواند در منطقه‌ای به طول ۱/۸ تا ۳/۱ متر پخش شود. این گونه بومی آمریکا بوده و در خاکهای شنی، متراکم و نمکی، اسیدی تا کمی قلیایی رشد می‌کند. بومی‌های آمریکا از دم‌کرده دانه آن برای درمان بیماریهای کلیوی، سرماخوردگی و جراحت نای و گلو استفاده می‌کنند. برگ آن را سوزانده و به‌عنوان خوشبو کننده در مراسم بکار می‌برند. گیاه‌شناسان امروزی از اسانس آن به همراه اسانس *Juniperus communis* برای درمان عفونتهای دستگاه ادراری استفاده کرده و به نظر می‌رسد که برای درمان

حساس بودند و از ۸ باکتری گرم منفی ۲ باکتری سیتروباکتر فروندی و اشرشیاکلی به اسانس مقاومت نشان دادند.

Filipowicz و همکاران (۲۰۰۳) اثر ضد میکروبی و ضدقارچی اسانس ۳ نمونه دانه *Juniperus* و ترکیب‌های اصلی آنها را ارزیابی کردند. از بین این ۳ اسانس فقط اسانس A (که به صورت تجاری در دسترس بود) اثر ضدباکتریایی خوبی را نشان داد. ترکیب غالب در هر ۳ نمونه اسانس آلفا-پینن بود. در اسانس A به ترتیب پارا-سیمن و لیمونن و در اسانس B (که به صورت تجاری در دسترس بود) به ترتیب میرسن و ترپینن-۴-آل و در اسانس C (که از دانه‌ها به روش تقطیر با آب تهیه شده بود) میرسن و لیمونن ترکیب‌های بعدی بودند. همچنین اثر ضد میکروبی آلفا-پینن، لیمونن، ساینین و ترپینن-۴-آل را روی باکتریهای مورد آزمایش از طریق اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد بررسی کردند. ساینین هیچ اثر ضد میکروبی روی باکتریها نشان نداد. آلفا-پینن و ترپینن-۴-آل اثر ضد میکروبی خوبی را بر روی باکتریها نشان دادند و لیمونن نیز اثر ضد میکروبی نشان داد. همچنین اثر ضد میکروبی فرمهای انانتیومری مختلف از آلفا-پینن، بتا-پینن، لیمونن، ساینین، پی کیمین و ترپینن-۴-آل را مشخص کردند. آلفا-پینن و بتا-پینن اثر ممانعت‌کنندگی در برابر رشد باکتریها نشان دادند. لیمونن و پاراسیمین اثر ضدقارچی خوبی را نشان دادند. ساینین فاقد اثر ضد میکروبی گزارش شد و ترپینن-۴-آل مانع رشد اشرشیاکلی و ۲ نوع جدایه کلبسیلا پنومونیه شد. این ترکیب‌ها با غلظت زیاد در اسانس A وجود داشت و مطالعه Filipowicz و همکاران (۲۰۰۳) پیشنهاد کرد که اثر ضد میکروبی اسانس A نتیجه عملکرد سینرژیکی این اجزای اصلی با غلظت استثنائی است.

فصل بهار و پاییز است، در تابستان در حدود بیش از ۷۵٪ کاهش می‌یابد.

Angioni و همکاران (۲۰۰۳) ترکیب‌های اسانس برگ و میوه *Juniperus oxycedrus*، *Juniperus communis* و *Juniperus phoenicea* را در ایتالیا توسط روش تقطیر با آب جداسازی کرده و با تکنیک GC/MS آنالیز و اثر ضد میکروبی آنها را نیز بررسی کردند. ترکیب‌های اصلی این اسانس‌ها آلفا-پینن و بتا-پینن، دلتا-۳-کارن، ساینین، میرسن، لیمونن و جرماکرن D جداسازی شد. آلفا-پینن ترکیب غالب در برگ *Juniperus oxycedrus* و دلتا-۳-کارن ترکیب بعدی بود. همچنین در میوه آن نیز آلفا-پینن غالب و میرسن ترکیب بعدی بود. در میوه و برگ *Juniperus phoenicea* اول آلفا-پینن و بعد دلتا-۳-کارن غالب بودند. در میوه *Juniperus communis* نیز آلفا-پینن ترکیب غالب بود ولی در برگ آن ساینین ترکیب غالب گزارش شد. اسانس‌ها فاقد اثر ضد میکروبی قوی بر علیه سه باکتری (استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و پseudomonas آئروژینوزا) و یک قارچ (کاندیدا آلیکنس) بودند.

Adams (۱۹۹۹ و ۲۰۰۱) با بررسی‌های خود بر روی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس درختان ارس (*Juniperus polycarpos*) در رویشگاههای طبیعی در یونان نشان داد که آلفا-پینن (۲۲/۵٪)، لیمونن (۲۲/۶٪) و سدرول (۲۸/۱٪) عناصر عمده اسانس ارس است.

Pepeljnjak و همکاران (۲۰۰۵) روی اسانس میوه *Juniperus communis* کار کردند و آنالیز GC/MS نشان داد که ترکیب اصلی در اسانس آلفا-پینن است و بعد بتا-پینن، ساینین، لیمونن و میرسن است و بر روی ۱۶ باکتری اثر ضد میکروبی انجام شد. همه باکتریهای گرم مثبت به اسانس

فشار ورودی آن به ستون برابر ۳ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع تنظیم شده است.

#### دستگاه GC/MS: کروماتوگراف گازی Varian-3400

متصل شده با طیف‌سنج جرمی (saturn II)، ستون دستگاه DB-5 به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۲۵ میکرون و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون بود. دتکتور "Ion Trap" گاز حامل هلیوم سرعت جریان گاز حامل ۳۵ ml/min و انرژی یونیزاسیون در طیف‌سنج جرمی معادل ۷۰ الکترون ولت بود. برنامه حرارتی ستون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه تنظیم شد. دمای محفظه تزریق ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود.

#### بررسی اثر ضدباکتریایی

برای اثر ضدباکتریایی از ۱۳ گونه باکتریایی شامل: استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، باسیلوس آنتراسیس، باسیلوس سرئوس، باسیلوس سوبتیلیس، لیستریا مونوسیتوژنز، اشرشیاکلی، پسودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا پنومونیه، شیگلا دیسانتری، سراشیا مارسسنس، سیتروباکتر فروندی و انتروباکتر آئروژنز استفاده شد. باکتریهای مورد آزمایش از آزمایشگاه باکتری‌شناسی در دانشگاه آزاد کرج تهیه شدند.

به کمک دو روش دیسک پلیت (Disk Diffusion method) و روش میکروپلیت (Microdilution method) اثر ضدباکتریایی اسانس‌ها بررسی شد.

در روش دیسک پلیت (Disk Diffusion method) از کشت ۲۴ ساعته باکتریها در محیط کشت مولر هیتون آگار

در این مطالعه ترکیب‌های تشکیل‌دهنده و اثر ضدباکتریایی اسانس برگ و میوه یک گونه ارس به نام *Juniperus horizontalis* بر روی ۱۳ گونه باکتریایی مورد بررسی قرار گرفت.

#### مواد و روشها

##### جمع‌آوری گیاه و استخراج اسانس

سرشاخه‌های سبز و میوه (بذر) *J. horizontalis* از باغ ملی گیاه‌شناسی ایران واقع در مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور جمع‌آوری شد و نمونه‌ها در سایه و دمای محیط خشک شدند. سپس آنها را مقداری خرد کرده و به روش تقطیر با آب (Hydro distillation) اسانس آنها استخراج شد.

##### آنالیز و شناسایی اجزای اسانس

تجزیه و شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس با دستگاه‌های GC و GC/MS انجام شد.

##### دستگاه GC: از گاز کروماتوگراف شیمادزو

(Shimadzu) مدل 9A مجهز به ستون DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر می‌باشد، استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد شروع شده و پس از ۵ دقیقه توقف در همان دما، بتدریج با سرعت ۳ درجه در دقیقه افزایش یافته تا به ۲۱۰ درجه سانتی‌گراد رسیده است. دمای محفظه تزریق ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد بوده است. دتکتور مورد استفاده در دستگاه GC از نوع FID بوده و دمای آن در ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده است. از گاز هلیوم به‌عنوان گاز حامل استفاده شده که

به نحوی که آخرین غلظت  $8\mu\text{g/ml}$  بود. به هر کدام از چاهک‌های حاوی  $100$  میکرولیتر از غلظت‌های مختلف اسانس  $100$  میکرولیتر از مایه تلقیح‌های تهیه شده اضافه شد. پلیت‌ها در  $37$  درجه سانتی‌گراد به مدت  $24$  ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. برای هر باکتری یک چاهک کنترل منفی (حاوی محیط کشت) و یک چاهک کنترل مثبت (حاوی محیط کشت و باکتری مورد نظر) در نظر گرفته شد. بعد از  $24$  ساعت ابتدا چاهک کنترل منفی بررسی می‌شود، این چاهک باید کاملاً شفاف باشد. غلظت اولین چاهک بدون کدورت حاصل از رشد باکتری، به‌عنوان MIC در نظر گرفته می‌شود. برای تعیین MBC،  $100$  میکرولیتر از هر چاهک بدون کدورت در یک پلیت مولر هیتون آگار کشت چمنی داده می‌شود و پلیت‌ها به مدت زمان یکسان در تمام آزمایشها، گرمخانه‌گذاری می‌گردند. تعداد کلنی‌ها پس از  $24$  ساعت گرمخانه‌گذاری  $37$  درجه سانتی‌گراد شمرده شده، پلیتی که حاوی کمتر و یا دارای  $5$  کلنی باشد به‌عنوان MBC در نظر گرفته شده و غلظت اسانس موجود در چاهک مربوطه به‌عنوان MBC گزارش می‌شود (Murray et al., 2007).

## نتایج

### شناسایی ترکیب‌های اسانس‌ها

بازده متوسط تولید اسانس توسط سرشاخه و میوه گیاه *Juniperus horizontalis* برحسب وزن اسانس در  $100$  گرم سرشاخه و میوه خشک به‌ترتیب  $1/083\%$  و  $2/70\%$  بودند. در مجموع در اسانس برگ و میوه به‌ترتیب  $22$  و  $15$  ترکیب شناسایی شد که در جدولهای ۱ و ۲ آورده شده است.

سوسپانسیونی با رقت معادل استاندارد  $1$  مک‌فارلند در محیط کشت مولر هیتون برات تهیه شد. سپس  $0/5$  میلی‌لیتر از سوسپانسیون هر کدام از باکتری‌ها به محیط کشت جامد منتقل و با سواب سترون به شکل یکنواخت پخش شدند. دیسک‌های سترون بلانک حاوی  $30$  میکرولیتر از رقت‌های  $1/5$ ،  $1/10$  و  $1/20$  اسانس‌ها بر روی محیط کشت قرار گرفت. برای رقیق کردن اسانس‌ها از دی متیل سولفوکساید استفاده شد که فاقد فعالیت ضدباکتریایی است. پلیت‌ها در  $37$  درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار داده شدند و پس از  $24$  ساعت هاله عدم رشد اندازه‌گیری شد. آزمایش تعیین اثر ضدباکتریایی با  $3$  تکرار انجام شد و متوسط فعالیت ضد میکروبی گزارش شده است. برای مقایسه فعالیت ضد میکروبی اسانس‌ها از دیسک جنتامایسین برای باکتری‌های گرم منفی و از تتراسایکلین برای باکتری‌های گرم مثبت استفاده شد. در این تحقیق برای تعیین MIC و MBC از روش میکروپلیت (Microdilution method) استفاده شد.

### روش میکروپلیت (Microbroth dilution method)

حداقل غلظت بازدارنده (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) برای میکروارگانیسم‌های مورد نظر با استفاده از روش Microdilution تعیین شد. مایه تلقیح با غلظتی معادل  $0/5$  مک‌فارلند از کشت  $24$  ساعته میکروارگانیسم‌های مورد نظر در نرمال سالین (کلرید سدیم  $0/9\%$ ) تهیه شد. این مایه تلقیح در محیط مولر هیتون برات حاوی  $0/5\%$  توئین به میزان  $1/100$  رقیق شد. اسانس‌های مورد مطالعه در محیط مولر هیتون برات حاوی  $0/5\%$  توئین رقیق، به نحوی که بالاترین غلظت مورد نظر  $256\mu\text{g/ml}$  بود. از این غلظت  $6$  رقت متوالی تهیه شد،

سایینن (۳۸٪)، لیمونن (۲۷/۹٪) و میرسن (۲۲/۶٪) در مجموع ۸۸/۴٪ از ترکیب‌های اسانس میوه *Juniperus horizontalis* را تشکیل می‌دهند.

عمده‌ترین ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس برگ *Juniperus horizontalis* عبارت بودند از ۴ ترکیب سایینن (۳۰/۲٪)، لیمونن (۲۶/۳٪)، بورنیل استات (۱۰/۷٪) و میرسن (۸/۸٪) که در مجموع ۷۶٪ از ترکیب‌های اسانس را تشکیل می‌دهند. سه ترکیب

جدول ۱- ترکیب‌های شناسایی شده در برگ *Juniperus horizontalis*

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری (RI)	درصد
۱	tricyclene	۹۲۶	۰/۴
۲	$\alpha$ -thujene	۹۳۱	۰/۹
۳	$\alpha$ -pinene	۹۴۰	۲
۴	camphene	۹۵۴	۰/۴
۵	sabinene	۹۷۶	۳۰/۲
۶	myrcene	۹۹۲	۸/۸
۷	p-cymene	۱۰۲۶	۱/۷
۸	limonene	۱۰۳۲	۲۶/۳
۹	linalool	۱۰۹۸	۱
۱۰	camphor	۱۱۴۳	۱/۴
۱۱	terpinene-4-ol	۱۱۷۸	۱/۹
۱۲	methyl citronellate	۱۲۶۱	۱
۱۳	bornyl acetate	۱۲۸۶	۱۰/۷
۱۴	E-caryophyllene	۱۴۱۸	۱/۵
۱۵	germacerene D	۱۴۸۱	۰/۶
۱۶	$\alpha$ -muurolene	۱۵۰۰	۱/۱
۱۷	$\gamma$ -cadinene	۱۵۱۴	۱/۶
۱۸	$\delta$ -cadinene	۱۵۲۵	۳/۸
۱۹	germacerene B	۱۵۵۷	۱/۲
۲۰	epi-bicyclosquiphllandrene	۱۵۷۶	۰/۷
۲۱	$\delta$ -cadinol	۱۶۴۵	۰/۳
۲۲	$\alpha$ -eudesmol	۱۶۵۴	۰/۷

جدول ۲- ترکیب‌های شناسایی شده در میوه *Juniperus horizontalis*

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری (RI)	درصد
۱	$\alpha$ -thujene	۹۳۱	۱
۲	$\alpha$ -pinene	۹۴۰	۱/۹
۳	sabinene	۹۷۶	۳۸
۴	myrcene	۹۹۲	۲۲/۶
۵	p-cymene	۱۰۲۶	۰/۹
۶	limonene	۱۰۳۲	۲۷/۸
۷	$\gamma$ -terpinene	۱۰۶۳	۰/۴
۸	p-mentha-2,4(8)-dinen	۱۰۸۷	۰/۹
۹	linalool	۱۰۹۸	۰/۶
۱۰	terpinene-4-ol	۱۱۴۳	۱/۳
۱۱	e-caryophyllene	۱۴۱۸	۱/۷
۱۲	germacerene D	۱۴۸۱	۰/۶
۱۳	$\delta$ -cadinene	۱۵۲۵	۰/۷
۱۴	germacerene B	۱۵۵۷	۰/۷
۱۵	epi-bicyclosesquiphllandrene	۱۵۷۶	۰/۹

## اثر ضد میکروبی

اسانس میوه برای رقت ۱/۵ در باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس آنتراسیس، برای رقت ۱/۱۰ در باسیلوس آنتراسیس و برای رقت ۱/۲۰ در باسیلوس سوبتیلیس مشاهده شد.

حداقل غلظت‌های بازدارنده (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) برای اسانس‌ها در مقابل سویه‌های باکتری در جدول ۵ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که کمترین MIC و MBC اسانس برگ مربوط به اشرشیاکلی (۳۲  $\mu\text{g/ml}$ ) و کمترین MIC اسانس میوه در باکتریهای گرم مثبت بعلاوه سراشیا مارسنس و پسودوموناس آئروژینوزا (۱۲۸  $\mu\text{g/ml}$ ) و در بقیه باکتریها بیشترین MIC (۲۵۶  $\mu\text{g/ml}$ ) گزارش شده است. در باکتریهای باسیلوس آنتراسیس، باسیلوس سوبتیلیس، انتروباکتر ائروژنز و اشرشیاکلی کمترین MBC اسانس

قطر هاله عدم رشد در روش انتشار در دیسک (Disk Diffusion Method) بر حسب میلی‌متر در جدولهای ۳ و ۴ آورده شده است.

کمترین هاله عدم رشد در اسانس برگ *Juniperus horizontalis* برای رقت‌های ۱/۵، ۱/۱۰ و ۱/۲۰ به ترتیب مربوط به باکتریهای کلبسیلا پنومونی، پسودوموناس آئروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه و بیشترین هاله عدم رشد برای این رقت‌ها را باکتری باسیلوس سوبتیلیس از خود نشان داد.

کمترین هاله عدم رشد اسانس میوه *Juniperus horizontalis* برای رقت ۱/۵ در کلبسیلا پنومونیه و پسودوموناس آئروژینوزا، برای رقت ۱/۱۰ پسودوموناس آئروژینوزا و برای رقت ۱/۲۰ در کلبسیلا پنومونیه و سراشیا مارسنس دیده شد. بیشترین هاله عدم رشد

میوه ( $256 \mu\text{g/ml}$ ) و در بقیه باکتریها بیشترین MBC ( $256 \mu\text{g/ml}$ ) مشاهده شد. بیشترین MIC برگ مربوط به ۴ باکتری پسودوموناس آئروژینوزا، سراشیا مارسسنس، سیتروباکتر فروندی و انتروباکتر آئروژنز ( $256 \mu\text{g/ml}$ ) و بیشترین MBC برگ (بالای  $256 \mu\text{g/ml}$ ) در باکتری سیتروباکتر جواب داده است.

جدول ۳- میانگین هاله عدم رشد ایجاد شده توسط اسانس برگ *Juniperus horizontalis* و آنتی‌بیوتیک‌های

تتراسایکلین و جتتامایسین بر حسب میلی‌متر

تتراسایکلین	جتتامایسین	۱/۲۰	۱/۱۰	۱/۵	باکتری / غلظت
$27/3 \pm 4/16$	-	$13/6 \pm 2/51$	$13/6 \pm 1/53$	$17 \pm 1$	استافیلوکوکوس اورئوس
$28 \pm 2$	-	$14 \pm 1$	$21/3 \pm 4/04$	$25/3 \pm 4/7$	استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس
$29 \pm 1$	-	$16/3 \pm 1/52$	$20/6 \pm 2/51$	$25 \pm 1$	باسیلوس آنتراسیس
$19/6 \pm 0/58$	-	۱۲	$13/6 \pm 1/15$	$19 \pm 1$	باسیلوس سرئوس
$27/3 \pm 2/5$	-	$13 \pm 1/73$	$14/6 \pm 1/53$	$17/3 \pm 0/58$	باسیلوس سوپتلیس
$22/6 \pm 1/52$	-	$11/3 \pm 1/15$	$12/6 \pm 0/58$	$13/6 \pm 0/58$	لیستریامونوسیتوزنز
-	$10/6 \pm 0/58$	۶	۶	۶	اشرشیا کلی
-	$1 \pm 1$	$10/3 \pm 0/58$	$10 \pm 1$	$10/6 \pm 0/58$	پسودوموناس آئروژینوزا
-	$10 \pm 1$	$8/6 \pm 1/52$	$10/6 \pm 1/15$	$9 \pm 1$	کلبسیلا پنومونیه
-	$10/3 \pm 1/15$	۱۰	۱۱	۱۲	شیگلا دیسانتریه
-	$14/3 \pm 0/58$	$10 \pm 1$	$10/3 \pm 0/58$	۱۰	سراشیا مارسسنس
-	$9/3 \pm 0/58$	$8/6 \pm 2/51$	$10 \pm 3/46$	۱۲	سیتروباکتر فروندی
-	۱۳	۶	$7 \pm 1/73$	$7/6 \pm 2/6$	انتروباکتر آئروژنز

### بحث

طبق بررسی‌های انجام شده توسط دستگاه GC/MS از اسانس بذر *Juniperus horizontalis* ۱۵ ترکیب جداسازی شد که ساینین (۳۸٪) بیشترین ترکیب جداسازی شده از این اسانس بود. ترکیب‌های اصلی دیگر را لیمونن (۲۷/۹٪) و میرسن (۲۲/۶٪) تشکیل می‌دادند.

طبق بررسی‌های انجام شده توسط دستگاه GC/MS از اسانس برگ *Juniperus horizontalis* ۲۲ ترکیب جداسازی شد که ساینین (۳۰/۲٪) بیشترین ماده جداسازی شده از این اسانس بود. دومین ترکیبی که بالاترین مقدار را داشت لیمونن (۲۶/۳٪) و سومین ترکیب بورنیل استات (۱۰/۷٪) بود. بعد از آن میرسن (۸/۷۷٪) و بعد دلتا-کادینن (۳/۸٪) یافت شد.



جدول ۴- میانگین هاله عدم رشد ایجاد شده توسط میوه *Juniperus horizontalis* و آنتی بیوتیک‌های تتراسایکلین

و جتتامایسین بر حسب میلی‌متر

تتراسایکلین	جتتامایسین	۱/۲۰	۱/۱۰	۱/۵	باکتری / غلظت
۲۷/۳±۴/۶	-	۱۰/۳±۰/۵۸	۱۰/۳±۰/۵۸	۱۱ ± ۱	استافیلوکوکوس اورئوس
۲۸ ± ۲	-	۱۰/۳±۰/۵۸	۱۱/۳±۱/۵۲	۱۱/۳±۱/۵۲	استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس
۲۹± ۱	-	۱۲/۳±۲/۳۱	۱۳/۶±۳/۲۱	۱۷ ± ۳/۴۶	باسیلوس آنتراسیس
۱۹/۶±۰/۵۸	-	۱۰ ± ۱	۱۱ ± ۱/۷۳	۱۳/۶±۳/۲۱	باسیلوس سرئوس
۲۷/۳± ۲/۵	-	۱۲/۶±۲/۵۱	۱۲/۶±۱/۵۲	۱۷ ± ۱	باسیلوس سوبتیلیس
۲۲/۶±۰/۵۲	-	۱۱/۶±۰/۵۸	۱۱/۳±۰/۵۸	۱۳/۳±۳/۲۱	لیستریا مونوسیتوژنز
-	۱۰/۶±۰/۵۸	۱۰/۳±۱/۱۵	۱۱ ± ۱	۱۱/۳±۱/۱۵	اشرشیا کلی
-	۱۰ ± ۱	۱۰ ± ۲/۵۱	۹/۳± ۳/۵۱	۱۰ ± ۱/۱۵	پسودوموناس آئروژینوزا
-	۱۰ ± ۱	۸/۶±۲/۳۱	۱۰	۱۰	کلبسیلا پنومونیه
-	۱۰/۳± ۱/۱۵	۱۰/۳±۰/۵۸	۱۰/۳±۱/۱۵	۱۱/۳± ۰/۵۸	شیگلا دیسانتریه
-	۱۴/۳±۰/۵۸	۸/۶±۲/۳۱	۱۰/۶±۰/۵۸	۱۱	سراشیا مارسسنس
-	۹/۳±۰/۵۸	۹/۶± ۰/۵۸	۱۰/۶±۰/۵۸	۱۰/۳±۱/۵۳	سیتروباکتر فروندی
-	۱۳	۱۰/۳±۱/۱۵	۹/۶±۱/۱۵	۱۰/۶±۱/۱۵	انتروباکتر آئروژنز

جدول ۵- تعیین مقدار MIC و MBC اسانس برگ و میوه *Juniperus horizontalis* بر حسب  $\mu\text{g/ml}$

میوه		برگ		باکتری
MBC	MIC	MBC	MIC	
>۲۵۶	۱۲۸	۶۴	۶۴	استافیلوکوکوس اورئوس
>۲۵۶	۱۲۸	۶۴	۶۴	استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس
۲۵۶	۱۲۸	۶۴	۶۴	باسیلوس آنتراسیس
>۲۵۶	۱۲۸	۲۵۶	۱۲۸	باسیلوس سرئوس
۲۵۶	۱۲۸	۶۴	۶۴	باسیلوس سوبتیلیس
>۲۵۶	۱۲۸	۲۵۶	۶۴	لیستریا مونوسیتوژنز
۲۵۶	۲۵۶	۳۲	۳۲	اشرشیا کلی
>۲۵۶	۱۲۸	۲۵۶	۲۵۶	پسودوموناس آئروژینوزا
>۲۵۶	۲۵۶	۲۵۶	۱۲۸	کلبسیلا پنومونیه
>۲۵۶	۲۵۶	۱۲۸	۱۲۸	شیگلا دیسانتریه
>۲۵۶	۱۲۸	۲۵۶	۲۵۶	سراشیا مارسسنس
>۲۵۶	۲۵۶	>۲۵۶	۲۵۶	سیتروباکتر فروندی
۲۵۶	۲۵۶	۲۵۶	۲۵۶	انتروباکتر آئروژنز

عدم رشد این ارس با نتایج آزمایش‌های ما برای اسانس میوه *Juniperus horizontalis* مطابقت می‌کند.

از طرف دیگر بررسی نتایج نشان می‌دهد که باکتریهای گرم مثبت در مقایسه با انواع گرم منفی حساسیت بیشتری به هر دو نوع اسانس نشان می‌دهند که این موضوع با یافته‌های دیگران مبنی بر حساسیت بیشتر باکتریهای گرم مثبت از جمله Ouattara و همکاران (۱۹۹۷)، Shelef و همکاران (۱۹۸۰) و نیز Agaogolu و همکاران (۲۰۰۷) مطابقت دارد. این اختلاف مشاهده شده در حساسیت بین باکتریهای گرم مثبت و منفی و نیز در بین انواع گرم مثبت و منفی را با تفاوت در ترکیب‌های دیواره سلولی و نیز ژنهای احتمالی موجود بر روی پلاسمید که عامل مقاومت به عوامل ضد میکروبی هستند توضیح داد. باکتریهای گرم منفی به علت داشتن دیواره لیپوپلی ساکاریدی خارجی به عنوان یک سد در برابر ذرات سمی عمل می‌کند (Gaunt, et al., 2005).

Kunicka و Kalembe (۲۰۰۳) گزارش کردند که به ترتیب فنولها، آلدئیدها، کتونها، الکله‌ها، استرها و هیدروکربنها دارای فعالیت ضد میکروبی قویتر و بیشتری می‌باشند و همچنین عنوان کردند که حالت لیپوفیلیک اسکلت هیدروکربنی و حالت هیدروفیلیک گروه‌های عملکردی آنها اهمیت اصلی را در فعالیت ضد میکروبی ذرات اسانس دارا می‌باشند.

تحقیقات روی هیدروکربنهای منوترین مثل سابینن؛ توسط Sokovic و همکاران (۲۰۰۴) و (Staniszewska و همکاران (۲۰۰۵) و لیمونن؛ توسط Skocibusic و Bezic (۲۰۰۴)، Delaquis و همکاران (۲۰۰۲)، Al-Burtamani و همکاران (۲۰۰۵) و Jirovetz و همکاران (۲۰۰۳) انجام

Narasimhachari و Vonrudloff (۱۹۶۱) گزارش کردند که *Juniperus horizontalis* دارای آلفا-سدرن، توجوپسن، کوپورن، سدرول و ویدرول است که با نتایج ما متفاوت است و این تفاوت به احتمال زیاد ناشی از شرایط محیطی و اقلیم حاکم بر رویشگاههای مورد مطالعه است.

Adams و همکاران (۱۹۹۵) روغنهای اسانسی حاصل از برگهای نوعی ارس *Juniperus rigidia* را در ژاپن، کره و چین مقایسه نمودند. آنها مشخص نمودند که نمونه‌های ژاپنی غنی از بورنیل استات (۵۹/۰-۴۰/۵٪) و آلفا-پینن (۱۳/۵-۱۵/۴) بوده ولی نمونه‌های شمال چین و کره دارای مقادیر متفاوتی آلفا-پینن (به ترتیب ۳۹/۷٪ و ۵۳/۵٪) و بورنیل استات (به ترتیب ۲/۸-۱/۳٪) هستند که این نتایج حکایت از وجود تغییرات بین جمعیت‌های ارس دارد. در تحقیق انجام شده بورنیل استات در اسانس برگ *Juniperus horizontalis* جزو سومین ترکیبی است که مقدارش زیاد است.

در مطالعه‌ای دیگر (Pepeljnjak, et al., 2005) آنالیز GC/MS روغن فرار بدست آمده از میوه *Juniperus communis* نشان داد که این روغن دارای آلفا-پینن، بتا-پینن، سابینن، لیمونن و میرسن است. در تحقیق ما نیز سابینن، لیمونن و میرسن جزو ترکیب‌های عمده در اسانس میوه *Juniperus horizontalis* بود.

Ates و Erdogru (۲۰۰۳) روی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های بدست آمده با استون، اتیل استات و الکل بر روی ۵ جنس گیاه مختلف مطالعه کردند. یکی از جنس‌ها *Juniperus oxycedrus* بود که روی دانه‌ی آن کار شد و روی ۱۳ باکتری با روش انتشار در آگار آزمایش شد. هاله

دیگر اسانس دارد در مقابل باکتریهای استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سوبتیلیس، سودوموناس آئروژینوزا و گونه‌های خاصی از اشرشیاکلی در اثر ضد میکروبی اسانس همکاری می‌کند.

پس بنابر تحقیقات انجام شده می‌توان اثر ضدباکتریایی این دو اسانس را به علت وجود ترکیب‌هایی مثل سابینن، لیمونن و میرسن عنوان کرد و اثر ضد میکروبی بیشتر اسانس برگ در مقابل میوه را نیز می‌توان علاوه بر وجود این ترکیب‌ها وجود بورنیل استات و دلتا-کادینن و همچنین نتیجه فعالیت سینرژیکی اجزای اصلی اسانس برگ (سابینن، لیمونن، میرسن، بورنیل استات و دلتا-کادینن) عنوان کرد.

این نتایج پیشنهاد می‌کند که اسانس برگ *Juniperus horizontalis* با خاصیت ضدباکتریایی قوی که دارد می‌تواند به‌عنوان عامل ضدباکتریایی در داروهای جدید برای درمان بیماریهای عفونی استفاده شود.

### سپاسگزاری

بر خود لازم می‌دانیم تا از مسئولان محترم مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور که امکان انجام این تحقیق را فراهم نمودند و همچنین از جناب آقای دکتر مهدی میرزا برای تهیه طیف‌ها و آنالیز GC/MS صمیمانه سپاسگزاری نماییم.

شده و همه این تحقیقات فعالیت ضد میکروبی متوسط تا قوی را در برابر باکتریهای گرم مثبت و قارچهای بیماری‌زا نشان دادند. Haznedaroglu و همکاران (۲۰۰۱) و Tepe و همکاران (۲۰۰۵) اثر این هیدروکربنهای مونوترپن را در برابر باکتریهای گرم منفی سنجیدند و مشاهده کردند که فعالیت ضد میکروبی ضعیفی را در برابر باکتریهای گرم منفی از خود نشان دادند.

بر طبق آزمایشهای انجام شده توسط Lis Balchin و همکاران (۱۹۹۶) لیمونن فعالیت قوی در برابر باکتریها و قارچها نشان داد.

Cakir و همکاران (۲۰۰۵) و Cheng و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که دلتا-کادینن دارای فعالیت ضد میکروبی و ضدقارچی است.

Dorman و Deans (۲۰۰۰) گزارش کردند که حضور بخشی از استات در ترکیب‌های اسانس فعالیت ذرات اصلی را افزایش می‌دهد. ژرانیل استات و ژرانیل افزایش فعالیت ضد میکروبی را در برابر میکروارگانیسم‌ها نشان داده‌اند. طبق آزمایشهای آنها بورنیل استات و بورنیل قدرت یکسانی دارند، ولی بورنیل از بورنیل استات فعالیت کمتری نشان داد و فقط بورنیل استات است که روی میکروکوکوس لوتئوس اثر می‌گذارد.

معمولاً ترکیب‌های اصلی مسئول اثر ضد میکروبی در بیشتر اسانس‌ها هستند، هرچند تحقیقاتی انجام شده که نشان‌دهنده فعالیت سینرژیکی ترکیب‌های مختلف اسانس‌ها با غلظت کم و زیاد بر روی باکتریها می‌باشد (Filipowicz et al., 2005; Mastelic et al., 2004; Burt, 2004; al., 2003).

تحقیقات Onawunmi و همکاران (۱۹۸۴) مشخص کرد که میرسن با فعالیت سینرژیکی که با ترکیب‌های

## منابع مورد استفاده

- review. International Journal of Food Microbiology, 94: 223-253.
- Cakir, A., Kordali, S., Kilic, H. and Kaya, E., 2005. Antifungal properties of essential oil and crude extracts of *Hypericum linarioides* Boiss. Biochemical Systematic and Ecology, 33: 245-256.
  - Cheng, S.S., Lin, H.Y. and Chang, S.T., 2005. Chemical composition and antifungal activity of essential oils from different tissues of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*). Journal Agriculture and Food Chemistry, 53: 614-619.
  - Delaquis, P.J., Stanich, K., Girard, B. and Mazza, G., 2002. Antimicrobial activity of individual mixed fractions of dill, Cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. International Journal of Food Microbiology, 74: 101-109.
  - Dorman, H.J.D. and Deans, S.G., 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal Applied Microbiology, 88: 308-316.
  - Filipowicz, N., Kaminski, M., Kurlenda, J., Asztemborska, M. and Ochocka, R., 2003. Antibacterial and antifungal activity of Juniper Berry oil and its selected components. Phytotherapy Research, 17: 227-231.
  - Gaunt, L.F., Higgins, S.C. and Hughes, J.F., 2005. Interaction of air ions and bactericidal vapours to control micro-organisms. Journal of applied microbiology, 99: 1324-1329.
  - Haznedaroglu, M.Z., Karabay, U. and Zeybek, U., 2001. Antibacterial activity of *Salvia tomentosa* essential oil. Fitoterapia, 72: 829-831.
  - Jirovetz, L., Buchbauer, G., Stoyanova, A.S., Georgiev, E.V. and Damianova, S.T., 2003. Composition, quality control and antimicrobial activity of the essential oil of long-time stored dill (*Anethum graveolens* L.) seeds from Bulgaria. Journal Agriculture and Food Chemistry, 51: 3854-3857.
  - Kalembe, D. and Kunicka, A., 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Medicinal Chemistry, 10: 813-829.
  - Lis-Balchin, M., Ochocka, J.R. and Deans, S., 1996. Differences in Bioactivity between the Enantiomers of  $\alpha$ -pinene. Journal of Essential Oil Research, 11: 393-397.
  - Mastelic, J., Politeo, O., Jerkovic, I. and Radosevic, N., 2005. Composition and antimicrobial activity of *Helichrysum italicum* essential oil and its terpene and terpenoid fractions. Chemistry of Natural Compounds. 41: 35-40.
  - Mishra, P and Agrawal, R.K., 1989. Some observation on the pharmacological activities of the essential oil of *Juniperus macropoda* (*J. excelsa*). Fitoterapia, 60(4): 339-345.
  - بخشی خانیکی، غ.، ۱۳۸۶. درختان و درختچه‌های ایران. انتشارات پیام نور، ۱۸۴ صفحه.
  - صالحی شانجانی، پ. و میرزا، م.، ۱۳۸۱. مطالعه اسانس ارس *Juniperus excelsa* تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۱۷: ۱۱۹-۱۹۶.
  - صدری، ح.، ۱۳۷۱، اسانس‌ها. پژوهشها و سازندگی، ۱۶: ۱۵-۱۰.
  - علی‌احمد کروری، س. و خوشنویس، م.، ۱۳۷۹. مطالعات اکولوژی و زیست محیطی رویشگاههای ارس ایران. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران، ۲۰۸ صفحه.
  - Adams, R.P., 2001. Geographic variation in leaf essential oils and RAPDs of *Juniperus polycarpus* K. Koch in central Asia. Biochemical Systematic and Ecology, 29: 609-619.
  - Adams, R.P., Getin, Ch. and Zhao-Zhen, Z., 1995. Comparisons of the volatile leaf oils of *Juniperus rigidia* Mig. From Northeastern China, Korea and Japan. Journal of Essential Oil Research, 7: 49-52.
  - Adams, R.P., 1999. Systematica of multi-seeded eastern hemisphere *Juniperus* based on leaf essential oils and RAPD DNA fingerprinting. Biochemical Systematic and Ecology, 27: 709-725.
  - Adams, R.P., Thappa, R.K., Agarwal, S.G., Kapahi, B.K. and Sarin, Y.K., 1992. The wolatile leaf oils of *Juniperus semiglobos* a-Regel from India compared with *J. excelsa* M. Bieb. from Greece. Journal of Essential Oil Research, 4: 214-219.
  - Agaogolu, S., Dostbil, N. and Almedar, S., 2007. Antimicrobial activity of some spices used in meat industry. Bulletin of Veterinary Institute in Pulawy, 51: 53-57.
  - Al-Burtamani, S.K.S., Fatope, M.O., Marwah, R.G., Onifade, A.K. and Al-Saidi, S.H., 2005. Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of the essential oil of *Haplophyllum tuberculatum* from Oman. Journal of Ethnopharmacology, 96: 107-112.
  - Angioni, A., Barra, A., Russo, M.T., Coroneo, V., Dessi, S. and Cabras, P., 2003. Chemical composition of the essential oils of *Juniperus* from ripe and unripe berries and leaves and their Antimicrobial activity. Journal Agriculture and Food Chemistry, 51: 3073-3078.
  - Ates, D.A. and Erdogru, O.T., 2003. Antimicrobial activities of various medicinal and commercial plant extracts. Turkish Journal of Biology, 27: 157-162.
  - Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- a

- Shelef, L.A., Naglik, O.A. and Bogen, D.W., 1980. Sensitivity of some common food-borne bacteria to the spices sage, rosemary and all spice. *Journal of Food Science*, 45: 1042-1044.
- Skocibusic, M. and Bezic, N., 2004. Phytochemical analysis and in vitro antimicrobial activity of two *Satureja* species essential oils. *Phytotherapy Research*, 18: 967-970.
- Sokovic, M.D., Ristic, M. and Grubisic, D., 2004. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil from *Juniperus excelsa* berries. *Pharmaceutical Biology*, 42: 328-331.
- Staniszewska, M., Kula, J., Wieczorkiewicz, M. and Kusewicz, D., 2005. Essential Oils of Wild and Cultivated Carrots- the Chemical Composition and Antimicrobial Activity. *Journal of Essential Oil Research*, 17: 579-583.
- Tepe, B., Sokmen, M., Sokmen, A., Daferera, D. and Polissiou, M., 2005. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Cyclotrichium organifolium* (Labill.) Manden. and Scheng. *Journal of Food Engineering*, 69: 335-342.
- Muhammad, I., Mossa, J.S. and El-Ferally, F.S., 1992. Antibacterial diterpenes from the leaves and seeds of *Juniperus excelsa* M. Bieb, *Phytotherapy Research*, 6(5): 261-264.
- Murray, P.R., Jo Baron, E., Jorgensen, J., Pfaller, M.A. and Landry, M.L., 2007. *Manual of Clinical Microbiology*. ASM press, 2256p.
- Narasimhachari, N. and Vonrudloff, E., 1961. The chemical composition of the wood and bark extractives of *Juniperus horizontalis* Monech. *Canadian Journal of Chemistry*, 39: 2572-2581.
- Onawunmi, G.O., Yisak, W.A. and Ogunlana, E.O., 1984. Antibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. *Journal of Ethnopharmacology*, 12(3): 279-286.
- Ouattara, B., Simard, R.E., Holley, R.A., Piette, G.J.P. and Begin, A., 1997. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology*, 37: 155-162.
- Pepeljnjak, S., Kosalec, I., Kalodera, Z. and Blazevic, N., 2005. Antimicrobial activity of Juniper berry essential oil (*Juniperus communis* L., Cupressaceae). *Acta Pharmaceutica*, 55: 417-422.
- Serrentino, J., 1991. *How Natural Remedies Work*. Point Robert, W.A.: Harley and Marks Publishers : 20-22.

Archive

## The study of Chemical composition and antimicrobial activity of *Juniperus horizontalis* Moench

E. Ehsani<sup>1</sup>, K. Akbari Noghabi<sup>2\*</sup>, M. Teimouri<sup>3</sup>, M. Ebrahimzade<sup>4</sup> and A. Khadem<sup>5</sup>

1- MSc. Student, Islamic Azad University of Karaj, Iran

2\*- Corresponding author, Department of Molecular Genetics, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran E-mail: akbi@nigeb-ac.ir

3- Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran

4- Islamic Azad University of Karaj, Faculty of Science, Department of Microbiology, Karaj, Iran

5- Department of Bioscience Engineering, catholic university Leuven, Belgium

Received: March 2011

Revised: July 2011

Accepted: July 2011

### Abstract

Indiscriminate use of antibiotics and consequently increase resistance of bacteria has led to a demand for new agents and components. To produce new drugs, different sources especially plant species are considered by researchers. The objective of this study was to investigate the chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Juniperus horizontalis* Moench. Leaves and fruits of *Juniperus horizontalis* were collected in winter and the essential oil was prepared by hydro-distillation and analyzed by GC/MS. The antimicrobial activity was determined by disk diffusion method against 13 bacterial species. The minimal inhibition concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) values of essential oils were determined based on microdilution method. The results indicated that two main components in leaves and fruits were sabinene (30.2% - 38%, respectively) and limonene (26.3% - 27.8%, respectively) followed by bornyl acetate (10.7%) in leaves and myrcene (22.6%) in fruit oil. Essential oil of the leaves showed significant antimicrobial effect against 12 species from 13 tested bacteria species. Only *Citrobacter frondii* was resistant to the oil. The fruit essential oil had a weak activity against four of thirteen tested bacterial species.

**Key words:** *Juniperus horizontalis* Moench, antimicrobial activity, essential oil, GC/MS.