

Anti-bacterial effects of essential oil of *Cardaria draba* against bacterial food borne pathogens

Mohammadzadeh Moghaddam M.* MSc, Elhamirad A.H.¹ PhD, Shariatifar N.² PhD, Saidee Asl MR.³ PhD, Armin M.⁴ PhD

*Department of Food Industries, Laboratory Food Stuff, Food and Drug Deputy, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran

¹Department of Food Science Engineering, Islamic Azad University, Sabezevar Branch, Sabezevar, Iran

²Department of Environment Health, Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³Department of Food Science Engineering, Islamic Azad University, Sabezevar Branch, Sabezevar, Iran

⁴Department of Agriculture, Islamic Azad University, Sabezevar Branch, Sabezevar, Iran

Abstract

Aims: *Cardaria draba* plant is a perennial plant from Brassicaceae order. Tincture and essence of *Cardaria draba* was used in traditional medicine to treat various diseases. While its antioxidant effect of *Cardaria draba* is indicated, its anti-bacterial effects haven't been checked. In this study, we investigate the antibacterial effect of *Cardaria draba* essence against some bacterial food borne pathogens in vitro.

Methods: This experimental study Having collected the leaves of this plant in spring, we extracted the essence. Also, there are different concentration rates for the essence (like 40, 20, 10, 5, 2.5, 1.25) which have been produced by microdilution Broth method in BHI medium and culturation in Mueller Hinton Agar medium. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) have been determined with two methods of visual monitoring and optical density (OD) for the bacteria *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, and *Bacillus cereus* with the use of Elisa Reader. The results were statistically analyzed by ANOVA and post hoc Duncan tests.

Results: The results showed that the essence of *Cardaria draba* with minimum inhibitory concentration of 2.5mg/ml was found effective on *Staphylococcus aureus* and the minimum bactericidal concentration of 40 mg/ml was effective on this bacterium. With different essence concentrations of this plant, no effects of inhibitory or bactericidal on *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, and *Bacillus cereus* were found.

Conclusion: Through the results of the study, we found that the essence of *Cardaria draba* has relatively weak inhibitory effect on *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, and *Bacillus cereus*. We suggest that there is more room for investigation on the effective particles of the extracts of this plant.

Keywords: Antibacterial Effect, *Cardaria Draba*, Essential Oils

اثر ضد باکتریایی اسانس بلغست (*Cardaria draba*) بر باکتری های بیماریزای منتقله از غذا

مرتضی محمدزاده مقدم* MSc

بخش صنایع غذایی، آزمایشگاه مواد غذایی، معاونت غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران

امیر حسین الهامی راد PhD

گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار، سبزوار، ایران

نبی شریعتی فر PhD

گروه بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

محمد رضا سعیدی اصل PhD

گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار، سبزوار، ایران

محمد آر مین PhD

گروه کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار، سبزوار، ایران

چکیده

اهداف: گیاه بلغست گیاهی چند ساله از تیره شب بو است. عصاره بلغست و تنتور آن در طب سنتی جهت درمان بیماریهای مختلف به کار می رفته است. اثر آنتی اکسیدانی بلغست مشخص شده است، ولی اثر ضد باکتریایی آن بررسی نشده است. این مطالعه به منظور بررسی اثر ضد باکتریایی اسانس این گیاه بر برخی باکتری های بیماریزای منتقله از غذا در محیط آزمایشگاهی انجام شده است.

روش ها: در یک مطالعه تجربی، برگ گیاه در فصل بهار جمع آوری و اسانس آن استخراج شده غلظت های مختلف آن به صورت سریالی (۴۰، ۲۰، ۱۰، ۵، ۲/۵ و ۱/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر) تهیه و به روش میکرودیالوشن برات در محیط BHI و کشت روی محیط مولر هینتون آگار حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) آن به دو روش چشمی و کدورت سنجی (OD) برای باکتری های اشرشیا کلی، سالمونلا تیفی موریوم، استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا مونوسایتوزن و باسیلوس سرئوس با استفاده از الایزیدر تعیین شد. نتایج با استفاده از آزمون واریانس یکطرفه و آزمون پشتیبانی دانکن ارزیابی شدند.

یافته ها: نتایج به دست آمده نشان داد که اسانس گیاه بلغست دارای حداقل غلظت بازدارندگی ۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر و حداقل غلظت کشندگی ۴۰ میلی گرم بر میلی لیتر برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بود. همچنین در غلظت های تهیه شده از اسانس این گیاه، هیچگونه اثر بازدارندگی و کشندگی بر روی باکتری های اشرشیا کلی، سالمونلا تیفی موریوم، لیستریا مونوسایتوزن و باسیلوس سرئوس مشاهده نشد.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج به دست آمده، اسانس بلغست اثر مهار کنندگی ضعیفی بر باکتری های اشرشیا کلی، سالمونلا تیفی موریوم، استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا مونوسایتوزن و باسیلوس سرئوس داشت. توصیه می شود با استخراج مواد مؤثر این گیاه، تحقیقات بیشتری روی انواع عصاره آن صورت گیرد.

کلیدواژه ها: اثر ضد باکتری، بلغست، اسانس

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۷/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۲۰

*نویسنده مسئول: Mor158@yahoo.com

مقدمه

امروزه ایمنی غذا یک مبحث مهم سلامت عمومی جامعه است. تخمین زده می شود که حدود ۳۰٪ مردم کشورهای صنعتی از بیماری های ناشی از غذا رنج می برند. بنابراین هنوز به روش های جدید جهت کاهش یا حذف پاتوژن های غذایی در حد امکان در ترکیب با روش های موجود نیاز می باشد [۱]. یکی از روش های تولید غذای سالم استفاده از مواد با ساختار طبیعی است. استفاده از اسانس های گیاهی به عنوان افزودنی های ضد باکتری و ضد قارچی یکی از این روش ها می باشد. حدود ۳۰۰۰ نوع اسانس شناخته شده است که در حدود ۳۰۰ نوع از نظر تجاری، مخصوصاً با هدف تجارت عطر و چاشنی مهم اند به طوری که تعدادی از این اسانسها خواص ضد میکروبی دارند [۱]. در کنار خواص ضد میکروبی اسانس ها یا ترکیبات شان، اثرات ضد ویروسی و ضد قارچی، ضد مسمومیتی، ضد انگلی و ضد حشره نیز مشخص شده است [۱]. بیماری های حاصل از مصرف غذاهای آلوده به باکتری های پاتوژن از اهمیت فراوانی در بهداشت عمومی برخوردار بوده و سالانه خسارت های مالی و جانی فراوانی را به جوامع تحمیل می نماید. به عنوان مثال در کشور کانادا هزینه درمان بیماری های ناشی از مصرف گوشت آلوده به پاتوژن های غذایی، بالغ بر ۵۰۰ میلیون دلار در سال می باشد [۲]. در سال ۱۹۹۹ مرکز کنترل و پیش گیری بیماری ها اعلام کرد که سالانه ۷۶ میلیون نفر در ایالات متحده بر اثر پاتوژن های مواد غذایی بیمار می شوند. چنین بیماری هایی سالانه منجر به ۲۲۵۰۰۰ مورد بستری در بیمارستان و ۵۰۰۰ مورد مرگ می گردند. مطابق ارزیابی دپارتمان کشاورزی ایالات متحده هزینه های پزشکی و زیان های اقتصادی ناشی از دورریزی مواد غذایی ایجادکننده بیماری غذایی در محدوده ۶/۵ تا ۳۴/۹ بیلیون دلار در هر سال است [۳]. کاهش تعداد میکروارگانیسم ها در مواد غذایی از نظر صنایع غذایی و کنترل کیفیت و نیز از نظر بهداشت و سلامت عمومی حائز اهمیت فراوان است. یکی از راه های کنترل رشد باکتری های پاتوژن مواد غذایی استفاده از نگهدارنده ها و ترکیبات ضد میکروبی می باشد. افزودن مواد شیمیایی به منظور نگهداری مواد غذایی معمولاً بر مبنای جلوگیری از رشد میکروبی و یا کشتن و از بین بردن گروه هایی از میکروارگانیسم های مضر می باشد. با توجه به نگرانی های عمومی در خصوص عوارض نگهدارنده های شیمیایی تمایل به مصرف محصولات طبیعی است که فاقد نگهدارنده بوده و یا در استفاده از آن ها از نگهدارنده طبیعی استفاده شده است.

عصاره ها و اسانس های گیاهی و اجزای تشکیل دهنده آنها دارای اثرات شناخته شده ضد باکتریایی می باشند [۴]. گیاه بلغست، گیاهی چند ساله از تیره شب بو است

یک با گلیسرول استریل مخلوط و در حجم های ۵ میلی لیتر داخل لوله های آزمایش در پیچ دار استریل در ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد تا در طول مطالعه مورد استفاده قرار گیرد [۸].

تهیه میزان تلقیح باکتری:

به منظور دستیابی به کشت تازه و فعال از میکروارگانسیم های مورد مطالعه، از محیط کشت ذخیره میکروارگانسیم مورد نظر دو بار به طور متوالی با استفاده از سمپلر (اپندورف؛ آلمان) به لوله های در پیچ دار استریل حاوی محیط کشت برین هارت اینفیوژن برات (BHI، شرکت هایمیدا؛ هند) منتقل و در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد و به مدت ۱۸ ساعت گرمخانه گذاری شد. سپس از کشت های ۱۸ ساعته دوم، مقادیر مختلف به محیط کشت BHI منتقل شده و جذب نوری با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل UV1601 شرکت شیمادزو؛ ژاپن) در طول موج ۶۲۵ نانومتر تعیین گردید تا سوسپانسیون باکتری، معادل نیم مک فارلند تهیه شده و غلظت میکروبی، معادل 1×10^8 cfu/ml به دست آید [۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲].

از سوسپانسیون تهیه شده هر باکتری، مقدار ۵ میکرولیتر به هر چاهک میکروپلیت منتقل شد که با محاسبات انجام شده غلظت نهایی باکتری در چاهک های میکروپلیت، معادل 7×10^4 cfu/ml تعیین شد. جهت تأیید تعداد باکتریها، کشت پور پلیت روی محیط کشت پلیت کانت آگار (شرکت مرک؛ آلمان) انجام گرفت [۱۱، ۱۲].

تهیه رقت های سریالی از اسانس و تعیین حداقل بازدارندگی یا MIC (Minimum Inhibitory Concentration) به روش برات میکروداپلوشن:

ابتدا جهت تهیه غلظت مادر برای اسانس، غلظتی برابر با 80 mg/ml تهیه و با استفاده از فیلتر میکروبی $0.45 \mu\text{m}$ میکرون، استریل شدند. سپس غلظت های سریالی برای اسانس تهیه شدند. در چاهک های میکروپلیت های ۹۶ خانه، مقادیر ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک از غلظت های اسانس تهیه شده، ۹۵ میکرولیتر محیط کشت BHI برات و ۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری معادل نیم مک فارلند در هر چاهک میکروپلیت ریخته شد. یعنی حجم نهایی در هر پلیت ۲۰۰ میکرولیتر بود. غلظت های نهایی برای اسانس بلغست مقادیر $1/25$ ، $1/5$ ، $1/10$ ، $1/20$ و $1/40$ میلی گرم بر میلی لیتر تعیین شد. در هر بار آزمایش از تمام رقت های اسانس همراه با محیط کشت بدون تلقیح باکتری بعنوان شاهد در یک ردیف جهت مقایسه کدورت در نظر گرفته شد. همچنین در ردیفی دیگر از تمام باکتری ها همراه با محیط کشت و $0.5 \mu\text{m}$ میکرولیتر از دی متیل سولفو کساید (شرکت مرک؛ آلمان) بدون تلقیح اسانس به عنوان شاهد جهت تأیید رشد باکتری ها در نظر گرفته شد. پس از کشت، میکرو پلیتها در روی شیکر (شرکت IKA؛ آلمان) به مدت سه

که توسط بذر و ریزوم تکثیر می یابد و به عنوان سبزی صحرائی جمع آوری و در تغذیه انسان به کار می رود. در ایران در استان کهگیلویه و بویراحمد و استان های خراسان و اصفهان می روید. از دانه و برگ این گیاه در طب گیاهی استفاده می شود. جوشانده دانه و برگ گیاه طعم تندی دارد و بر طرف کننده التهابات تنفسی می باشد. عصاره بلغست و تنتور آن در طب سنتی به عنوان تسهیل کننده هضم غذا، اشتها آور، معرق، خلط آور و برای درمان اختلالات کبد و کیسه صفرا، التهاب مخاط بینی و گلو، سرفه و ضماد آن در درمان برص و زخم های چرکی پستان به کار رفته است [۵]. عصاره آبی و الکلی برگ بلغست دارای اثر آنتی اکسیدانی است [۶]. بررسی انجام شده نشان داد که تاکنون گزارشی در رابطه با فعالیت ضد باکتریایی بلغست ارائه نشده است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس بلغست بر برخی از باکتری های بیماریزای منتقل شونده از غذا می باشد.

روش ها

جمع آوری گیاه و تهیه اسانس:

در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی ابتدا گیاه بلغست (*Cardaria draba*) در اواخر اسفندماه ۱۳۹۰ و فروردین ماه ۱۳۹۱، قبل از گلدهی گیاه، از مزارع زعفران در شهرستان گناباد جمع آوری شد. در این مزارع هیچ نوع سم علف کش و آفت کش استفاده نشده بود. گیاه مورد نظر با کد ۳۷۳۴۷ در هر بار بوم پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد تأیید شد. برگ های گیاه مورد نظر پس از جداسازی با آب سرد شسته و در سایه خشک گردید. جهت تهیه اسانس گیاه، مقداری از برگ های خشک شده گیاه با آسیاب برقی پودر شده و ۱۰۰ گرم از پودر شده آن پس از توزین، توسط دستگاه کلونجر (مدل آپاراتوس) به روش تقطیر با آب به مدت ۳ ساعت اسانس گیری شد [۷]. اسانس به دست آمده در لوله های آزمایش استریل که با فویل آلومینیوم پوشانده شده بود، جمع آوری شده و در یخچال در دمای ۴ درجه سانتیگراد تا زمان استفاده نگهداری شد.

سویه های باکتری:

باکتری های سالمونلا تایفی موریوم (ATCC 14028)، باکتری باسیلوس سرئوس (ATCC 11778)، باکتری اشرشیا کلی (ATCC 25922)، باکتری لیستریا مونوسایتوژنز (ATCC 7644) و باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 25923) از بخش باکتری شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه گردید. کشت لیوفیلیزه هر باکتری در محیط آبگوشت قلب و مغز (شرکت مرک؛ آلمان) در ۳۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۸ ساعت دو مرتبه به طور متوالی تجدید کشت شد. در مرحله بعد کشت ۱۸ ساعته دوم به نسبت پنج به

ثابته قرار داده شدند تا کاملاً مخلوط یکنواخت گردد. سپس میکرو پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور (memert؛ آلمان) ۳۷ درجه سانتی‌گراد گذاشته شد و نتایج پس از این مدت ثبت گردید. آزمایش برای هر کدام از غلظت‌های مختلف اسانس ۳ بار تکرار شد. نتایج هم به صورت چشمی (کیفی) مورد بررسی قرار گرفت و هم OD (Optical density) با دستگاه الیزا ریدر (آنتوس ۲۰۲۰؛ اتریش) در طول موج ۶۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد [۱۴،۱۳،۱].

تعیین حداقل غلظت کشندگی یا MBC: (Minimum Bactericidal Concentration) مقدار ۱۰ میکروپلیت از هر یک از میکروپلیت‌های فاقد کدورت بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار (شرکت مرک؛ آلمان) تلقیح و کشت داده شد و پس از ۲۴ ساعت انکوباتورگذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، پلیت‌ها از نظر رشد باکتری بررسی شد و غلظتی از اسانس که ۹۹/۹٪ باکتری در آن رشد نکرده بود، به عنوان حداقل غلظت کشندگی یا MBC در نظر گرفته شد [۱۵،۱۳،۱]. نتایج به دست آمده به وسیله نرم افزار SPSS19 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. از آزمون واریانس یک طرفه و آزمون دانکن برای تجزیه و تحلیل نتایج کمی که با دستگاه الیزا ریدر به دست آمده بود، استفاده شد.

نتایج:

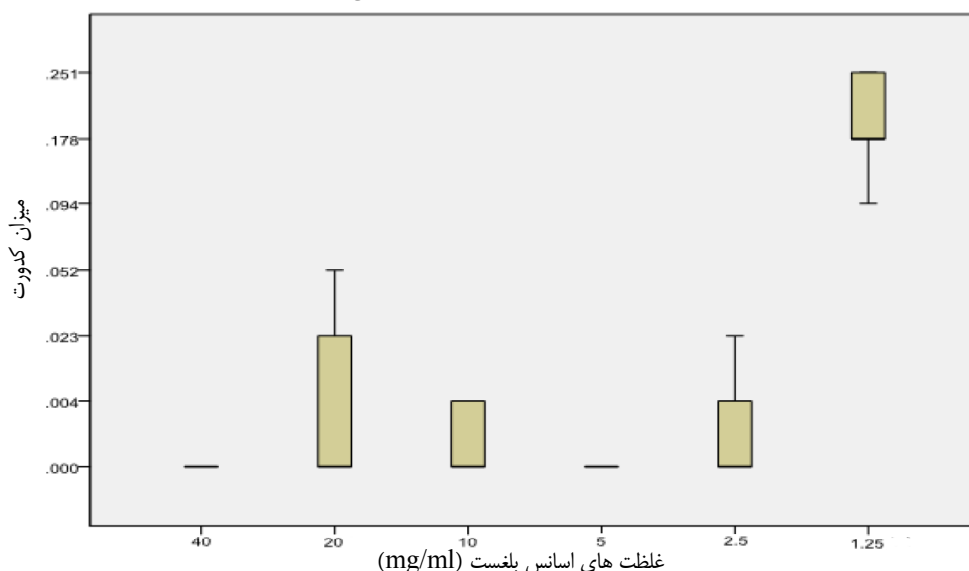
بر اساس نتایج به دست آمده به روش کیفی در مورد اسانس بلغست، هیچکدام از غلظت‌های مورد نظر باعث توقف رشد باکتری‌های اشرشیا کلی، سالمونلا تیفی موریوم، لیستریا مونوسایتوزنز و باسیلوس سرئوس نشد. ولی حداقل غلظت بازدارنده رشد برای باکتری

استافیلوکوکوس اورئوس مقدار ۲/۵mg/ml تعیین شد. ولی کمترین غلظت کشندگی برای این باکتری مقدار ۴۰mg/ml تعیین شد ($p < 0/05$). البته شمارش باکتری‌های رشد کرده در سایر غلظت‌ها کم بود. که حاکی از ممانعت رشد توسط اسانس بلغست بود. بر اساس نتایج بدست آمده اسانس بلغست به روش چشمی، در غلظت‌های تهیه شده هیچ گونه اثر بازدارندگی روی رشد باکتری اشرشیا کلی و سالمونلا تیفی موریوم نداشت. همچنین اثر بازدارندگی این غلظت‌ها بر باکتری‌های لیستریا مونوسایتوزنز و باسیلوس سرئوس ناچیز بود. اندازه‌گیری کدورت حاصل از رشد باکتری به وسیله دستگاه الیزا ریدر مشخص کرد که در غلظت‌های تهیه شده از اسانس بلغست هیچ گونه اثر بازدارندگی در رشد باکتری‌های سالمونلا تیفی موریوم، اشرشیا کلی، لیستریا مونوسایتوزنز و باسیلوس سرئوس حاصل نشد ($p < 0/05$). نتایج مشاهده شده چشمی نشان داد که باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر رشد نداشت و کدورتی در محیط کشت حاصل نشد. البته این نتایج با اندازه‌گیری کدورت (OD) توسط الیزا ریدر تایید شد (جدول ۱).

حداقل غلظت بازدارنده برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مقدار ۲/۵mg/ml به دست آمد (نمودار ۱) و اثر بازدارندگی از رشد این باکتری در غلظت‌های ذکر شده معنی‌دار بود ($p < 0/05$). همچنین هیچکدام از غلظت‌های تهیه شده اثر کشندگی روی باکتری‌های اشرشیا کلی، سالمونلا تیفی موریوم، باسیلوس سرئوس و لیستریا مونوسایتوزنز نداشت. اما حداقل غلظت کشندگی برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مقدار ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بدست آمد و در

جدول ۱) میانگین OD (کدورت) خوانده شده با دستگاه الیزا در غلظت‌های مختلف اسانس بلغست

غلظت‌های مختلف اسانس بلغست	Escherichia coli	Salmonella typhymurium	Staphylococcus aureus	Lysteria monocytogenese	Bacillus cereus
۴۰ mg/ml میانگین تکرار	۰/۴۸۵۶۷ ۳	۰/۲۲۰۰۰ ۳	۰/۰۰۰۰۰ ۳	۰/۰۷۹۰۰ ۳	۰/۰۷۱۶۷ ۳
۲۰ mg/ml میانگین تکرار	۰/۴۸۲۶۷ ۳	۰/۲۶۳۶۷ ۳	۰/۰۱۷۳۳ ۳	۰/۰۶۵۶۷ ۳	۰/۱۰۳۶۷ ۳
۱۰ mg/ml میانگین تکرار	۰/۵۲۳۳۳ ۳	۰/۲۴۲۳۳ ۳	۰/۰۰۱۳۳ ۳	۰/۰۸۹۰۰ ۳	۰/۱۰۳۶۷ ۳
۵ mg/ml میانگین تکرار	۰/۴۸۴۳۳ ۳	۰/۲۳۸۶۷ ۳	۰/۰۰۰۰۰ ۳	۰/۰۷۶۰۰ ۳	۰/۱۱۰۶۷ ۳
۲/۵ mg/ml میانگین تکرار	۰/۵۴۷۰۰ ۳	۰/۲۴۹۳۳ ۳	۰/۰۰۷۶۷ ۳	۰/۰۹۳۰۰ ۳	۰/۱۳۷۰۰ ۳
۱/۲۵ mg/ml میانگین تکرار	۰/۴۶۹۳۳ ۳	۰/۲۵۷۶۷ ۳	۰/۱۷۴۳۳ ۳	۰/۰۸۳۰۰ ۳	۰/۱۳۹۶۷ ۳
Total میانگین تکرار	۰/۴۹۸۷۲ ۱۸	۰/۲۴۵۲۸ ۱۸	۰/۰۳۳۴۴ ۱۸	۰/۰۸۰۹۴ ۱۸	۰/۱۱۱۰۶ ۱۸



نمودار ۱) میزان کدورت برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در غلظتهای مختلف اسانس بلغست

آمد. همچنین یافته های این محقق نشان داد که ترکیب کردن اسانس زیره پارسی و زیره سبز موثرتر از حالتی است که هر یک به تنهایی بکار رود [۱۶]. در مطالعه محمدی و همکاران مشخص شد که اسانس گل بوی مادران در غلظت ۱۰۰۰ μg/ml اثر مهار کنندگی روی باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس و اشرشیا کلی دارد و روی سودوموناس آئروژنزا تأثیری نداشت [۱۷]. سلطان دلال و همکاران مقدار MIC به دست آمده از اسانس رزماری بر روی سویه های مختلف استافیلوکوکوس اورئوس از ۱/۴ تا ۲۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر گزارش دادند [۱۸]. موریرا و همکاران فعالیت ضد میکروبی اسانس های اکالیپتوس، درخت چای، رزماری، نعناع، یک نوع رز، میخک، لیموترش، پونه کوهی، کاج صنوبری و ریحان را روی باکتری های بیماریزای منتقله از غذا بررسی کردند. کمترین MIC و MBC (به ترتیب: ۰/۲۵ و ۰/۳۰) برای اسانس میخک تعیین شد [۱۹]. دیمرکی و همکاران فعالیت ضد میکروبی اسانس یک میوه بومی کشور ترکیه (*Chaerophyllum libanoticum* Boiss. et Kotschy) را بررسی کردند. حداقل غلظت بازدارنده (MIC) در محدوده ۰/۲۵ mg/ml تا ۰/۵ mg/ml به دست آمد که حاکی از یک رنج فعالیت ضد میکروبی متوسط بود [۲۰]. آیت اویازو و همکاران فعالیت ضد میکروبی اسانس سه نوع گیاه از کشور مغرب را بر روی هفت گونه باکتری، بررسی کردند. با توجه به تفاوت ترکیبات شیمیایی سه نوع اسانس با همدیگر، اثر ضد میکروبی آن ها متفاوت بود. اثر باکتری کشی و بازدارندگی اسانس گیاه منتا پولجیوم (*Mentha pulegium*) از اسانس دو گیاه جونپروس فونسیا (*Juniperus phoenicea*) و سیپروس لونگوس (*Cyperus longus*) بیشتر بود [۲۱]. باچپایی و همکاران اثر ضد میکروبی اسانس

سایر غلظت های تهیه شده از اسانس در محیط کشت جامد (مولر هینتون آگار) رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده شد.

بحث

اسانس های گیاهی یکی از منابع بالقوه واجد ترکیبات ضد باکتریایی می باشند. مقایسه نتایج گزارش شده در مورد خواص ضد باکتریایی اسانس های مختلف بسیار مشکل می باشد. با توجه به تفاوت در روش های مختلف بررسی خواص ضد باکتریایی اسانس ها، منابع تهیه آن ها و سویه های باکتری های به کار برده شده، مدل های مختلفی در مطالعات مختلف به منظور بررسی اثرات ضد باکتریایی و نگهدارندگی اسانس های گیاهی استفاده شده است. در برخی از این روش ها از مدل های آزمایشگاهی مثل محیط کشت و در برخی دیگر از مدل های غذایی برای بررسی اثرات ضد باکتریایی اسانس ها استفاده شده است. بنابراین با توجه به مطالب گفته شده برخی از نتایج بدست آمده در مطالعات مختلف متفاوت می باشد [۱۲، ۱۱]. با توجه به نتایج به دست آمده اسانس بلغست بر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس مؤثر بود که این مسأله تأیید کننده کارهای تحقیقاتی سایر محققین است که حاکی از حساس تر بودن باکتری های گرم مثبت در برابر اسانس ها است [۱]. عروجعلیان و همکاران مقدار MIC و MBC اسانس سه نوع گیاه زیره پارسی، زیره سبز و زنیان را بر علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 25923) گزارش دادند. که مقدار MIC اسانس زیره پارسی ۰/۷۵mg/ml و MBC نیز ۰/۷۵mg/ml بود. مقدار MIC برای اسانس زیره سبز ۰/۷۵mg/ml و MBC مقدار ۱/۵ mg/ml به دست آمد و مقدار MIC و MBC اسانس زنیان ۰/۰۶ mg/ml به دست

با مواد غذایی بررسی کردند و حداقل غلظت بازدارنده از $31/25 \mu\text{g/ml}$ تا $500 \mu\text{g/ml}$ محاسبه شد که کمترین غلظت اسانس دانه این گیاه ($31/25 \mu\text{g/ml}$) مانع رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و بیشترین غلظت ($500 \mu\text{g/ml}$) مانع رشد اشرشیا کلی و سودوموناس آئروژنز گردید [۲۶]. پائول و همکاران اثر اسانس و عصاره‌های متفاوت میوه تراچیسپرموم آمی (*Trachyspermum ammi*) روی باکتری‌های مختلف بیماری‌زای منتقله از غذا بررسی کردند. حداقل غلظت بازدارنده اسانس برای باکتری‌های مختلف بین $12/5 \mu\text{g/ml}$ تا $462/5 \mu\text{g/ml}$ و MIC عصاره‌های استخراج شده با حلال‌های مختلف بین $87/5 \mu\text{g/ml}$ تا $550 \mu\text{g/ml}$ گزارش شد. همچنین در این مطالعه به دست آمد که حساسیت باکتری‌های گرم مثبت به اسانس و عصاره گیاه، بیشتر از باکتری‌های گرم منفی بود [۲۷]. باجایی و همکاران مقدار MIC بین ۱۲۵ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر برای اسانس گیاه متاسکویا گلیپتوستروبویدز (*Metasequoia glyptostroboides*) گزارش دادند که بیشتر روی گرم مثبت‌ها مؤثر بود [۲۸]. رحمان و همکاران اثر ضد باکتری اسانس و عصاره اتانولی گیاه لونیسرا ژاپونیکا (*Lonicera japonica Thunb*) را روی باکتری‌های بیماری‌زا و عامل فساد در مواد غذایی بررسی کردند. مقدار MIC بدست آمده از اسانس این گیاه برای باکتری‌های لیستریا مونوسایتوتنز و باسیلوس سوبتیلیس، باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا انتریدیدیس، سالمونلا تیفی موریوم، انتروباکتر آئروژنز و اشرشیا کلی (ATCC 8736) از $62/5 \mu\text{g/ml}$ تا $500 \mu\text{g/ml}$ گزارش شد. همچنین اسانس و عصاره متانولی گیاه مزبور هیچ مانعت رشدی روی باکتری اشرشیا کلی O157:H7 و سودوموناس آئروژنز نداشتند. در ضمن باکتری‌های گرم مثبت حساسیت بیشتری به اسانس و عصاره متانولی گیاه داشتند و باکتری‌های گرم منفی مقاوم تر بودند [۲۹]. آخوندزاده و همکاران اثر سه غلظت متفاوت (صفر، $0/03$ و $0/06$ ٪) از اسانس آویشن شیرازی را روی رشد استافیلوکوک طلایی در طی مدت ۲۲ روز و در سه دمای متفاوت بررسی کردند. بر طبق نتایج به دست آمده، لگاریتم درصد احتمال رشد استافیلوکوک طلایی با افزایش غلظت اسانس کاهش پیدا کرد [۱۳]. عباسی فر و همکاران گزارش دادند که اسانس آویشن شیرازی در غلظت‌های 150 ppm و 300 ppm بالاترین اثر بر جلوگیری از رشد استافیلوکوکوس اورئوس در پنیر فتا داشت [۳۰]. نائینی و همکاران در تحقیق خود گزارش دادند که بر اساس نتایج MIC به دست آمده از اثرات ضد میکروبی گیاهان، می توان آنها را به سه دسته تقسیم بندی کرد. به طوری که گیاهانی با MIC تا $500 \mu\text{g/ml}$ دارای ممانعت از رشد قوی، گیاهان با MIC بین $1500 \mu\text{g/ml}$ - $600 \mu\text{g/ml}$ دارای ممانعت از رشد متوسط و گیاهان دارای MIC $1600 \mu\text{g/ml}$ به بالا دارای ممانعت از رشد ضعیف طبقه بندی می شوند. اسانس گیاهان دارویی مثل

برگ گیاه متاسکویا گلیپتوستروبویدز (*Metasequoia glyptostroboides*) را بررسی کردند. حداقل غلظت بازدارنده (MIC) برای باکتری‌های مختلف از $125 \mu\text{g/ml}$ تا $2000 \mu\text{g/ml}$ تعیین شد [۲۲]. سونا و همکاران اثر ضد باکتری اسانس سراتونیا سیلیکوا (*Ceratonia siliqua pods*) را روی ۱۳ گونه باکتری بررسی کردند. مقدار MIC برای باکتری‌های گرم مثبت، محدوده $0/625 \text{ mg/ml}$ تا $2/5 \text{ mg/ml}$ و برای باکتری‌های گرم منفی $1/25 \text{ mg/ml}$ تا $2/5 \text{ mg/ml}$ گزارش شد. حداقل غلظت بازدارندگی این اسانس برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس $2/5 \text{ mg/ml}$ تعیین شد [۲۳].

گائو و همکاران در مطالعه‌ای اثر اسانس دانه‌های گیاه اسفالروکارپوس گراسیلیس (*Sphallerocarpus gracilis*) را روی ۸ گونه باکتری گرم مثبت و ۴ گونه باکتری گرم منفی و یک گونه قارچ با تعیین قطر هاله عدم رشد، حداقل غلظت بازدارنده و حداقل غلظت کشندگی بررسی کردند که نتایج بررسی نشان داد که باکتری‌های گرم منفی مورد مطالعه نسبت به باکتری‌های گرم مثبت حساسیت بیشتری به اسانس مورد نظر دارند و اثر اسانس روی رشد باکتری لیستریا مونوسایتوتنز و قارچ اسپرژیلوس نیجر هیچ گونه اثر بازدارنده نداشت. همچنین رنج مقادیر قطر هاله عدم رشد و MIC و MBC برای باکتری‌های گرم منفی مورد مطالعه به ترتیب $11/65$ - $26/40 \text{ mm}$ ، 80 - $320 \mu\text{g/ml}$ و 160 - $640 \mu\text{g/ml}$ محاسبه شد و رنج مقادیر قطر هاله عدم رشد و MIC و MBC برای باکتری‌های گرم مثبت مورد مطالعه به ترتیب $8/3$ - $22/40 \text{ mm}$ ، 160 - $640 \mu\text{g/ml}$ و 320 - $1280 \mu\text{g/ml}$ گزارش شد که نتایج حاکی از این است که مقادیر MBC از MIC بیشتر است [۲۴]. دیمرکی و همکاران اثر ضد باکتری اسانس دو گونه از گیاه فلومیس (*Phlomis*) را روی باکتری‌های بیماری‌زای مواد غذایی بررسی کردند که حداقل غلظت بازدارنده از $125 \mu\text{g/ml}$ تا $1000 \mu\text{g/ml}$ برای باکتری‌های مختلف محاسبه شد. که مقدار MIC اسانس گونه فلومیس روسلیانا (*Phlomis russeliana*) به ترتیب برای باکتری اشرشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا تیفی موریوم مقدار $1000 \mu\text{g/ml}$ و برای باکتری لیستریا مونوسایتوتنز $500 \mu\text{g/ml}$ و برای باکتری باسیلوس سرئوس $250 \mu\text{g/ml}$ گزارش شد و مقادیر MIC اسانس گونه فلومیس گراندی فلورا (*Phlomis grandiflora*) برای باکتری اشرشیا کلی و باسیلوس سرئوس مشابه اسانس گونه قبلی بود ولی برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس $500 \mu\text{g/ml}$ و برای باکتری‌های سالمونلا تیفی موریوم و لیستریا مونوسایتوتنز $250 \mu\text{g/ml}$ به دست آمد [۲۵]. الرضا و همکاران اثر ضد باکتری اسانس دانه زیزفوس جوجوبا (*Zizyphus jujube*) را روی باکتری‌های پاتوژن مرتبط

- monocytogenes. Food Control. 2005; 18: 414-20.
- 3- Vahidi H, Kamalinejad M, Sedaghati N, Antimicrobial Properties of Croccus sativus L. Iranian J Pharmaceutic Res. 2002;1:33-5.
- 4- Canillac N, Mourey A. Antibacterial activity for the essential oil of picea excelsa on Listeria, Staphylococcus aureus and colifom bacteria. Food Microbiol.2001;18:261-68.
- 5- Aghilialavi H. Makhzan Al Advieh. Tehran: Tehran University of Medical Sciences Press;2009.
- 6- Kamkar A, Shariatifar N, Jamshidi AM. Study of Antioxidant Functional of the Water, Methanol, and Ethanol Extracts of Endemic Cuminum cyminum L. and Cardaria draba L. In the In-vitro Systems. Ofogh-e-Danesh J. 2010;16(2):37-45.
- 7- Rahman A, Kang SC. In vitro control of food-borne and food spoilage bacteria by essential oil and ethanol extracts of Lonicera japonica Thunb. J Food Chem. 2009;116:670-75.
- 8- Moosavy M, Akhondzadeh A, Misaghi A, Jabari H, Karim G, Zahraii T. Survey The of Effect of Zataria multiflora Boiss. Essential Oil on the Growth of Salmonella typhimurium in a Commercial Barley Soup. J Med Plant.2010;9(34):109-16.
- 9- Yousefi M, Hosseini Z, Haddad Khodaparast MH, Azarnivand H, Pezeshki P. Antimicrobial effect of Salvia leriifolia leaf extract powder against the growth of Staphylococcus aureus in hamburger. J Food Sci Tech (JFST).2011;8(29):126-36.
- 10- Djenane D, Yangüela J, Montañés L, Djerbal M, Roncalés P. Antimicrobial activity of Pistacia lentiscus and Satureja montana essential oils against Listeria monocytogenes CECT 935 using laboratory media: Efficacy and synergistic potential in minced beef, J Food Control. 2011; 22:1046-53.
- 11- Basti A, Razavilar V, Misaghi A, Abbasifar R, Radmehr B, Khalighi F. Effect of Zataria multiflora Boiss. essential oil on probability of growth initiation of Salmonella typhimurium in a brain heart infusion broth. J med plant.2004;3(9):85-92.
- 12- Akhondzadeh sh, Basti A, Razavilar V, Misaghi A, Abbasifar R, Radmehr B, et al. Effect of Zataria multiflora Boiss. essential oil on probability of growth initiation of Staphylococcus aureus in a brain heart infusion broth, J Med plant.2005;3(10):53-60.

آویشن شیرازی و آویشن باغی دارای ممانعت از رشد قوی می باشند [۳۶]. در یافته های به دست آمده از این مطالعه مشخص شد که حداقل غلظت بازدارندگی اسانس بلغست برای جلوگیری از رشد استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 25923) مقدار ۲/۵ mg/ml به دست آمد. که اسانس بلغست در مقایسه با اسانس های گیاهانی مثل آویشن شیرازی از ممانعت از رشد ضعیفی برخوردار است. ولی با توجه به مطالعات انجام شده بر روی سایر اسانس های گیاهی که در قسمت های قبل ذکر شد، اثر ممانعت از رشد این اسانس با سایر اسانس های تعدادی از گیاهان دارویی در یک محدوده بوده و برابری می کند.

نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که گیاه بلغست (*Cardaria draba*) دارای اثر ضد باکتری در شرایط آزمایشگاهی می باشد. هر چند که اثرات ضد باکتریایی آن از بعضی از گیاهان دارویی ضعیف تر می باشد ولی با سایر گیاهان دارویی قابل مقایسه است. همچنین تأثیر اسانس این گیاه بر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس، تأیید کننده کار سایر محققین است که بر طبق تحقیقات اثر باکتری کشی اسانس گیاهان دارویی بر باکتری های گرم مثبت بیشتر از باکتری های گرم منفی است. با شناسایی نوع ترکیبات اسانس و عصاره های مختلف گیاه می توان تحقیقات کامل تری در خصوص خواص ضد میکروبی آن انجام داد. همچنین در تحقیقات آینده می توان اثرات سینرژیستی آن را با سایر نگهدارنده ها یا اسانس های دیگر گیاهان بررسی کرد.

تشکر و قدردانی

از جناب آقای دکتر علیرضا حق پرست و سرکار خانم دکتر مهراناز راد استادیاران دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد و آقای دکتر یاورمنش استادیار گروه صنایع غذایی دانشگاه فردوسی مشهد که کمک های علمی و ابزاری کرده و همچنین آقای دکتر نوید عطار، معاون غذا و داروی دانشگاه علوم پزشکی گناباد که اینجانب را مورد حمایت قرار دادند، کمال تشکر را دارم.

منبع

- 1- Burt s. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. Int J Food Microbiol. 2004;94:223-53.
- 2- Oussalah M, Caillet S, Saucier L, Lacroix M. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E.coli O157:H7, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria

- Kang SC. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of leaf essential oil and extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex H. Food Chem Toxicol. 2009;47:1876-83.
- 23- Hsouna A, Trigui M, Mansour R, Mezghani Jarraya R, Damak M, Jaoua S. Chemical composition, cytotoxicity effect and antimicrobial activity of *Ceratonia siliqua* essential oil with preservative effects against *Listeria* inoculated in minced beef meat. Int J Food Microbiol, 2011;148:66-72
- 24- Gao Ch, Tian Ch, Lu Y, Xu J, Luo J, Guo X. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Sphallerocarpus gracilis* seeds against selected food-related bacteria, J Food Control. 2011;22:517-22.
- 25- Demirci F, Guven K, Demirci B, Dadandi MY, Baser KH. Antibacterial activity of two *Phlomis* essential oils against food pathogens. J Food Control. 2008;19:1159-64.
- 26- Al-Reza Sh, Rahman A, Lee J, Kang SC. Potential roles of essential oil and organic extracts of *Zizyphus jujube* in inhibiting food-borne pathogens. J Food Chem. 2010;119:981-86.
- 27- Paul S, Dubey RC, Maheswari DK, Kang SC. *Trachyspermum ammi* (L.) fruit essential oil influencing on membrane permeability and surface characteristics in inhibiting food-borne pathogens. J Food Control. 2011;22:725-31.
- 28- Bajpai VK, Rahman A, Choi UK, Youn SJ, Kang SC. Inhibitory parameters of the essential oil and various extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu to reduce food spoilage and food-borne pathogens. J Food Chem. 2007;105:1061-66.
- 29- Rahman A, Kang SC. In vitro control of food-borne and food spoilage bacteria by essential oil and ethanol extracts of *Lonicera japonica* Thunb. J Food Chem. 2009;116:670-75.
- 30- Abbasifar A, Akhondzadeh Basti A, Karim G, Bokae S, Misaghi A, Gandomi H, Jebeli JA, Hamedi H, Sari AA. Evaluation of *Zataria multiflora* Boiss. Effect on *Staphylococcus aureus* in Feta Cheese. J Med Plant. 2008;7(25):105-15.
- 31- Naeini AR, Khosravi AR, Tajbakhsh H, Ghazanfari T, Yaraee R. Anticandida and immunomodulatory effects of *foeniculum vulgare* mill in vitro. Daneshvar J. 2009;16(82):7-20.
- 13- Gaderi M, Sadeghi Mahoonak A, Aalami M, Khomeiri M Mamashloo S. Evaluation of Antimicrobial Activity of the Ethanol Extracts from *Q. branti* and *Q. Castaneifolia* Fruit Against Some Food-borne Pathogens by Microdilution Method. Food Technol Nutr. 2012;9(1):82-94.
- 14- Behdani M, Ghazvini K, Mohammadzadeh AR, Sadeghian A. Antibacterial activity of Henna extracts against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. Ofogh-e-Danesh J. 2009;15(3):46-52.
- 15- Daneshmandi S, Soleimani N, Sattari M, Pourfathollah AA. Evaluation of the drug synergistic and antibacterial effects of *cuminum cyminum* essential oil. Arak Univ Med Sci J. 2010;13(2):75-82.
- 16- Oroojalian F, Kasra-Kermanshahi R, Azizi M, Bassami MR. Synergistic antibacterial activity of the essential oils from three medicinal plants against some important food-borne pathogens by microdilution method. Iranian J Med Arom Plant. 2010;26(2):133-134.
- 17- Mohammadi-Sichani M, Amjad L, Mohammadi-Kamalabadi M. Antibacterial activity of methanol extract and essential oil of *Achillea wilhelmsii* against pathogenic bacteria. Zahedan J Res Med Sci. 2011;13 (3):14-9.
- 18- Soltan Dallal M, Ghorbanzade Mashkani M, Yazdi M, Agha Amiri S, Mobasseri G, et al. Antibacterial effects of *Rosmarinus officinalis* on Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from patients and foods. SJKU. 2011; 16 (1):73-80.
- 19- Moreira MR, Ponce AG, del Valle CE, Roura SI. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. LWT- Food Sci Technol. 2005; 38(5):565-70.
- 20- AM, Demirci F, Dinc M, Baser KH. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of *Chaerophyllum libanoticum* Boiss et Kotschy. J Food Chem. 2007;105:1512-17.
- 21- AitOuazzou A, Lorán S, Arakrak A, Laglaoui A, Rota C, Herrera A, Pagán R, Conchello P. Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, and *Cyperus longus* essential oils from Morocco. J Food Res Int. 2012;45(1):313-19.
- 22- Bajpai VK, Al-Reza Sh, Choi UK, Lee J,