Archive of SID

Original Article

Identification of Chemical Compounds and Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Properties of Sage (Salvia officinalis L.) Essential Oil at Different Harvest Times

Zahra Izadi[1*], *Naser Mirazi*[2]

[1] *Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Nahavand University, Nahavand, Iran.*

[2] *Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.*

[*] ***Corresponding Author:*** **Zahra Izadi;** Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Nahavand University, Nahavand, Iran.

Email: armaghan.izadi@gmail.com, z.izadi@nahgu.ac.ir

Received: 20 Jul, 2020
Accepted: 14 Oct, 2020

Abstract

Background and Objectives: Today, the identification and introduction of plant species with medicinal and antimicrobial properties have become considerably important due to the increased use of chemical drugs, spread of microbial resistance to antibiotics, and side effects of drug consumption. Sage (*Salvia officinalis* L.) is one of the most important medicinal and aromatic plants possessing anticancer, antioxidant, and antimicrobial properties. The harvest time influences the effective combination of medicinal plants; therefore, the quantity and quality of plant essential oils vary in different times. This study was conducted to identify the essential oil compounds of sage shoots, as well as determining the best harvest time to obtain the highest amount of essential oil and phenolic compounds, as well as the antioxidant and antimicrobial properties of this essential oil against four gram-negative and gram-positive bacteria.

Methods: In this experimental study, plant samples were collected at four different times (mid- May, July, September, and November), followed by the extraction of their essential oils using the Clevenger type apparatus. The isolation and identification of the constituents of the essential oils were performed using gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry me connected to the mass spectrometer. The antioxidant activity of the samples' essential oils was evaluated by the radical-scavenging activity of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. The antimicrobial activity of the essential oils was determined by disc diffusion, minimum inhibitory concentration (MIC), and minimum bactericidal concentration methods. The collected data were analyzed in SPSS software (version 20) using ANOVA, as well as Duncan's multiple range test to compare the mean scores.

Results: The major constituents identified in the essential oil of sage in different harvest times were α-pinene, camphene, α-thujone, β-thujone, 1.8-cineole, and camphor. Based on the results, oxygenated monoterpenes formed the major components of essential oil compounds in July (79.94%), May (74.76%), September (73.47%), and November (70.89%). The highest amount of phenolic compounds (66.36±0.74 mg GAE/g) and the lowest value of the half maximal inhibitory concentration (34.87±0.15 µg/ml) were observed in the essential oil obtained from July. At all harvest times, the highest and lowest diameters of the inhibition zone at the concentration of 300 mg/ml were observed for *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, respectively. Moreover, the effect of sage essential oil on gram-positive bacteria was higher than on gram-negative bacteria. The MIC range of sage essential oil at different harvest times ranged from 16-256 mg/ml, depending on the type of bacteria (gram-positive or gram-negative).

Conclusion: The results of this study showed that sage can be used as a potential source for the production of pharmaceutical compounds and natural food preservatives. Overall, the best time to harvest sage is mid-July due to the highest antioxidant and antimicrobial activity of its essential oil during this period.

Keywords: Anti-infective agents; Chemical compounds; Essential oils; *Salvia officinalis*; Radical capacity.

DOI: 10.29252/qums.14.9.1

www.SID.ir

International License Creative Commons Attribution License 4.0

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره چهاردهم، شماره نهم، آذر ۹۹
صفحه ۱ الی ۱۵

Archive of SID

مقاله پژوهشی
(Original Article)

شناسایی ترکیبات شیمیایی و بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) در زمان‌های مختلف برداشت

زهرا ایزدی[1*]، ناصر میرازی[2]

[1] گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه نهاوند، نهاوند، ایران.

[2] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:
زهرا ایزدی؛ گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه نهاوند، نهاوند، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:
armaghan.izadi@gmail.com,
z.izadi@nahgu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۴/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۲۳

چکیده

زمینه و هدف: امروزه به دلیل افزایش استفاده از داروهای شیمیایی و گسترش مقاومت میکروبی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سنتتیک و همچنین عوارض جانبی مصرف داروها، شناسایی و معرفی گونه‌های گیاهی با خواص دارویی و ضد میکروبی اهمیت بسیاری دارد. مریم گلی یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی و معطر است که دارای اثرات ضد سرطانی، آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی می‌باشد. زمان برداشت بر میزان ترکیبات مؤثر گیاهان دارویی تأثیر دارد؛ زیرا کمیت و کیفیت اسانس اندام‌های گیاه در زمان‌های مختلف، متفاوت می‌باشد. در این راستا، پژوهش حاضر با هدف شناسایی ترکیبات اسانس اندام هوایی مریم گلی و نیز تعیین بهترین زمان برداشت به منظور دستیابی به بالاترین میزان اسانس، میزان ترکیبات فنلی و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی آن در ارتباط با چهار باکتری گرم منفی و گرم مثبت انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، نمونه‌های گیاهی در چهار زمان مختلف (اواسط اردیبهشت، اواسط تیر، اواسط شهریور و اواسط آبان) جمع‌آوری شد و سپس با استفاده از دستگاه کلونجر اسانس‌گیری گردید. جداسازی و شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس نمونه‌ها با استفاده از دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی و گاز کروماتوگراف متصل شده به طیف‌سنج جرمی صورت گرفت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس نمونه‌ها با استفاده از آزمون مهار رادیکال‌های آزاد دی‌فنیل پیکریل‌هیدرازیل بررسی گردید. فعالیت ضد میکروبی اسانس نمونه‌ها نیز به روش‌های دیسک دیفیوژن، حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی تعیین شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های مورد نظر با استفاده از نرم‌افزار SPSS 20 صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون آماری چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

یافته‌ها: مهم‌ترین ترکیبات موجود در اسانس مریم گلی در زمان‌های مختلف برداشت عبارت بودند از: آلفا-پینن، کامفن، آلفا-توجون، بتا-توجون، ۱و۸- سینئول و کامفور. بر مبنای نتایج، مونوترپن‌های اکسیژن‌دار بخش عمده ترکیبات اسانس را در تیر ماه (۷۹/۹۴ درصد)، اردیبهشت (۷۴/۷۶ درصد)، شهریور (۷۳/۴۷ درصد) و آبان (۷۰/۸۹ درصد) تشکیل دادند. بیشترین مقدار ترکیبات فنلی (۰/۷۴±۶۶/۳۶ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم اسانس) و کمترین میزان IC_{50} (۰/۱۵±۳۴/۸۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در اسانس حاصل از تیر ماه مشاهده شد. در تمامی زمان‌های برداشت، بیشترین و کمترین قطر هاله عدم رشد در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب برای *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* مشاهده شد. همچنین اسانس مریم گلی اثر بازدارندگی بیشتری بر باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی داشت. محدوده حداقل غلظت بازدارندگی در زمان‌های مختلف برداشت این گیاه با به نوع باکتری (گرم مثبت یا گرم منفی) بین ۲۵۶-۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر متفاوت بود.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان دادند که گیاه مریم گلی می‌تواند به عنوان یک منبع بالقوه جهت تولید ترکیبات دارویی و نگهدارنده طبیعی در محصولات غذایی مورد استفاده قرار گیرد. در مجموع با توجه به بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس مریم گلی، بهترین زمان برداشت آن اواسط تیر می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: اسانس؛ ترکیبات شیمیایی، ظرفیت رادیکالی؛ عوامل ضد عفونی؛ مریم گلی.

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Izadi Z, Mirazi N. Identification of Chemical Compounds and Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Properties of Sage (*Salvia officinalis* L.) Essential Oil at Different Harvest Times. Qom Univ Med Sci J 2020;14(9):1-15. [Full Text in Persian]

International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

مقدمه

به دلیل افزایش بیماری‌های عفونی و مقاومتی که میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا نسبت به داروهای شیمیایی به مرور زمان از خود نشان داده‌اند و از سوی دیگر با توجه به عوارض جانبی و هزینه‌های درمانی بالایی که داروهای شیمیایی و سنتزی بر جوامع بشری تحمیل می‌کنند، در دهه‌های اخیر استفاده از گیاهان دارویی با منشأ طبیعی رایج شده است (۱). اهمیت استفاده از گیاهان دارویی و طبیعی در پیشگیری از بیماری‌ها، درمان و ممانعت از رشد باکتری‌های بیماری‌زا به خوبی شناخته شده است. با وجود تنوع و گسترش بسیار زیادی که گیاهان دارویی در ایران و سایر کشورهای جهان دارند، مطالعات فراوانی در زمینه بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی این گیاهان همچنان ادامه دارد (۲).

ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی گیاهان دارویی یکی از منابع ارزشمند و حائز اهمیت در علم پزشکی و صنایع داروسازی و غذایی به شمار می‌آیند. این ترکیبات با مکانیسم‌های متفاوتی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها بر میکروارگانیسم‌ها اثرگذار هستند که این امر موجب افزایش دامنه فعالیت بیولوژیکی آن‌ها نیز می‌شود (۳). اکسیداسیون لیپیدها در حین نگهداری و فرآوری غذاها نه تنها باعث از دست رفتن کیفیت تغذیه‌ای و هضمی غذا می‌شود؛ بلکه محصولات اکسید شده‌ای مانند رادیکال‌های آزاد را تولید می‌کند. استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی سنتزی (بوتیل هیدروکسی‌آنیزول، بوتیل هیدروکسی‌تولوئن، تری- بوتیل‌هیدروکینون و پروپیل گالات) به دلیل کنترل رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از عمل اکسیداسیون (فساد شیمیایی) نقش مهمی در افزایش پایداری و عمر ماندگاری محصولات غذایی دارد؛ اما اثرات نامطلوب تغذیه‌ای و سمیت این آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در مطالعات مختلف به اثبات رسیده است (۴). ویژگی آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی گیاهان حاصل سنتز متابولیت‌های ثانویه مانند اسانس‌ها می‌باشد. اسانس‌ها ترکیبات معطر و فراری هستند که در گیاه نقش حفاظتی دارند (۵). مکانیسم اصلی تشکیل اسانس‌های گیاهی به طور کامل و دقیق مشخص نشده است؛ اما به طور کلی این ترکیبات بقایای ناشی از فرایندهای اصلی سوخت و ساز گیاهان به ویژه هنگامی که تحت تأثیر تنش هستند، می‌باشند (۶). این ترکیبات اغلب بر دیواره سلولی میکروارگانیسم‌ها اثر گذاشته و با داشتن ماهیت آب‌گریز و روغنی خود باعث نفوذ در ساختار غشا می‌شوند. در پی این امر خروج یون‌ها، تغییرات فشار اسمزی سلول و در نهایت مرگ میکروارگانیسم رخ می‌دهد (۷).

مریم گلی (Salvia officinalis L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان معطر و دارویی متعلق به خانواده نعناعیان (Lamiaceae) است (۸). این گیاه بوته‌ای کوچک، چند ساله و بومی منطقه مدیترانه می‌باشد؛ اما در حال حاضر در سراسر جهان کشت می‌شود (۹). زمان گل‌دهی گیاه در ماه‌های اردیبهشت و خرداد است. مریم گلی دارای طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های دارویی شامل: اثرات ضد سرطانی، ضد التهابی، ضد انعقادی، آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد درد، هیپوگلیسمی و هیپولیپیدی می‌باشد (۱۰). برگ‌های این گیاه غنی از اسانس بوده و کشت آن به طور عمده به منظور برداشت برگ‌های آن انجام می‌شود (۱۱). از مهم‌ترین اجزای اسانس گیاه مریم گلی می‌توان به مونوترپن‌ها اشاره کرد. در این میان، مونوترپن‌های اکسیژن‌دار مانند ۱و۸- سینئول، کامفور، آلفا-توجون و بتا-توجون اکثر اسانس برگ گیاه مریم گلی را تشکیل می‌دهند (۱۲). پیشنهاد شده است که برخی از ترکیبات ذکر شده می‌توانند نقش ضد باکتریایی داشته باشند. ماده ۱و۸- سینئول به دلیل داشتن اثرات دارویی به خوبی شناخته شده است (۱۳). از این ماده در درمان سرفه، روماتیسم، آسیب‌شناسی مرتبط با سپتیک و آسم برونشیت استفاده می‌شود (۱۴). مطالعات نشان داده‌اند که این ماده اثر ضد سرطانی علیه سرطان کولورکتال دارد و در بسیاری از گیاهان مانند ریحان، رزماری، هل، نارنج، زنجبیل و نعناع نیز یافت می‌شود (۱۵،۱۶).

مواد مؤثر موجود در گیاهان به طور اساسی با هدایت فرایندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند؛ اما عوامل محیطی مانند شرایط آب و هوایی، سن، مراحل رشد گیاه، زمان برداشت، روش خشک کردن و استخراج اسانس نیز باعث تغییرات کمی و کیفی این مواد می‌شوند. بدین‌صورت که یک گونه گیاهی در شرایط مختلف محیطی، توانایی تولید اسانس‌هایی با ترکیبات مؤثر و فعالیت دارویی مختلف را دارد؛ بنابراین می‌توان این گونه بیان نمود که گوناگونی در ساختار شیمیایی منجر به ایجاد تنوع در ویژگی‌های اسانس می‌گردد (۱۷). زمان برداشت گیاهان دارویی چه در طول روز و چه در مراحل فنولوژیکی مختلف نقش عمده‌ای در تغییر

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

تولید ماده مؤثر گیاهان دارد. این امر به دلیل نوسان فعالیت‌های متابولیکی گیاه، تحت تأثیر عوامل مختلف محیطی در طول رشد گیاه می‌باشد (۱۸).

تاکنون اثر ضد میکروبی عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی به روش‌های متفاوت مورد آزمون قرار گرفته است. Kozlowska و همکاران در سال ۲۰۱۵ اثر ضد میکروبی اسانس مریم گلی را تأیید نمودند (۱۹). El Euch و همکاران نیز در سال ۲۰۱۹، ارتباط مستقیمی را بین اثر ضد میکروبی و ترکیبات فنلی اسانس مریم گلی به اثبات رساندند (۲۰). از آنجایی که اسانس‌ها می‌توانند ویژگی‌های حسی مواد غذایی را تحت تأثیر قرار دهند، تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (Minimum Inhibitory Concentration) و حداقل غلظت کشندگی (Minimum Bactericidal Concentration) آن‌ها به منظور به حداقل رساندن آن‌ها در مواد غذایی (تأثیر کمتر بر ویژگی‌های حسی) و همچنین از بین بردن میکروارگانیسم‌های عامل عفونت و مسمومیت غذایی مورد توجه می‌باشد. از سوی دیگر با توجه به اهمیت مواد مؤثر گیاهان دارویی در صنایع دارویی، بهداشتی و غذایی و همچنین استفاده وسیع از اسانس‌ها در داروهای گیاهی لازم است بهترین و بیشترین زمان تولید و تجمع آن در گیاه مشخص گردد تا با بهره‌برداری به موقع، قدمی مؤثر به منظور غنی‌سازی صنایع دارویی، بهداشتی و غذایی برداشته شود.

تاکنون گزارشی مبنی بر مطالعه تأثیر زمان‌های مختلف برداشت مریم گلی بر کمیت و کیفیت اسانس و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی آن ارائه نشده است. در این راستا، مطالعه حاضر با هدف تعیین میزان اسانس، شناسایی نوع و میزان ترکیبات موجود در اسانس گیاه مریم گلی رشدیافته در همدان و بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی آن طی زمان‌های مختلف برداشت انجام شد تا از این طریق بتوان بهترین زمان برداشت برای به دست آوردن بالاترین میزان مواد مؤثر و فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی این گیاه را تعیین کرد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی حاضر بوته‌های گیاه مریم گلی در چهار تاریخ مختلف (اواسط اردیبهشت، اواسط تیر، اواسط شهریور و اواسط آبان سال ۱۳۹۸) از مزرعه آموزشی- پژوهشی دانشگاه بوعلی سینا واقع در عباس‌آباد همدان (با مختصات جغرافیایی ۴۸ درجه و ۳۲ دقیقه طول شرقی، ۳۴ درجه و ۵۲ دقیقه عرض شمالی و ارتفاع ۱۷۴۱/۵ متر از سطح دریا) برداشت شدند. میانگین بارندگی سالانه این منطقه ۲۸۰ میلی‌متر است که عمده پراکنش آن در فصول پاییز و زمستان می‌باشد. روند تغییرات میانگین ماهانه دما و بارندگی از زمان اولین برداشت مریم گلی تا آخرین زمان برداشت آن با اقتباس از داده‌های ثبت شده ایستگاه مرکز تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی همدان در جدول ۱ نشان داده شده است.

پس از جمع‌آوری گیاه مریم گلی، نمونه‌های تهیه شده در هرباریوم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی همدان مورد تأیید قرار گرفت. نمونه‌های گیاهی در سایه و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۳۲ درصد طی ۷ روز خشک شدند. به منظور اسانس‌گیری، ابتدا ۱۰۰ گرم از ماده گیاهی خشک بخش هوایی (شاخه‌های جانبی به همراه برگ‌ها) هر نمونه با استفاده از آسیاب آزمایشگاهی (با قدرت ۲۸۰۰ وات و سرعت موتور ۲۵۰۰۰ دور در دقیقه) به مدت ۱ دقیقه آسیاب شد و سپس به مدت ۴ ساعت در دستگاه کلونجر قرار گرفت و به روش تقطیر با آب، اسانس آن استخراج شد و با استفاده از سولفات سدیم رطوبت‌زدایی گردید و تا زمان آنالیز در شیشه‌های تیره درب‌دار غیر قابل نفوذ در هوا با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۱۲). میزان اسانس به صورت درصد وزنی- وزنی محاسبه گردید:

جدول شماره ۱: میانگین دما و بارندگی ماهانه رویشگاه عباس‌آباد همدان طی زمان‌های مختلف برداشت گیاه مریم گلی (Salvia officinalis L.) در سال ۱۳۹۸

ماه	دما (درجه سانتی‌گراد)	بارندگی (میلی‌متر)
اردیبهشت	۱۶/۱	۳۸/۴
خرداد	۲۱	۶/۶
تیر	۲۶/۶	۳/۹
مرداد	۲۴/۲	۰/۹
شهریور	۲۰/۴	۲/۳
مهر	۱۸	۴/۶
آبان	۵	۷/۷

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

۱۰۰ × (مقدار وزن خشک گیاه اسانس‌گیری شده/وزن اسانس به دست آمده)= میزان اسانس (درصد)

به منظور جداسازی و شناسایی ترکیبات اسانس نمونه‌ها به ترتیب از دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی (Gas Chromatography) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (Gas chromatography–Mass Spectrometry) استفاده شد. اسانس استخراج شده (۰/۲ میکرولیتر) به دستگاه گاز کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی تزریق گردید. دستگاه گاز کروماتوگرافی گازی مدل TRACE MS حاوی ستون DB-5 با طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر بود. از دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی مدل Quadrupole استفاده شد. دمای ستون از ۴۰ درجه سانتی‌گراد تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۲/۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه افزایش یافت. سرعت جریان گاز حامل هلیم با سرعت ۱/۱ میلی‌لیتر در دقیقه و انرژی یونیزاسیون آن در طیف‌سنج جرمی ۷۰ الکترون بود (۱۴). برای محاسبه اندیس‌های بازداری ترکیبات، آلکان‌های نرمال C_9-C_{22} تزریق گردید. شناسایی ترکیبات با مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه با طیف جرمی ترکیبات استاندارد با استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه و کامپیوتر با کمک شاخص‌های بازداری محاسبه شد. شایان ذکر می‌باشد که مقایسه آن‌ها با استفاده از شاخص‌های بازداری استاندارد که در منابع مختلف منتشر گردیده است، انجام شد. محاسبات کمی (درصد هر ترکیب) به روش نرمال کردن سطح صورت گرفت (۱۴).

در این مطالعه مقدار فنل کل اسانس مریم گلی مطابق با روش فولین سیوکالتو اندازه‌گیری شد. در این آزمون ۲۰ میکرولیتر از اسانس هر نمونه با ۱۰۰ میکرولیتر از واکنشگر فولین سیوکالتو مخلوط گردید و به مدت پنج دقیقه هم زده شد. سپس ۳۰۰ میکرولیتر از محلول کربنات سدیم به آن اضافه گردید و محلول به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق تکان داده شد. در نهایت، جذب محلول در ۷۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر ماورای بنفش در مقابل بلانک (متانول) اندازه‌گیری گردید. مقدار فنل کل هر نمونه اسانس مریم گلی با استفاده از منحنی کالیبراسیون گالیک اسید اندازه‌گیری و گزارش شد (۱۸).

به منظور بررسی پتانسیل آنتی‌اکسیدانی از روش به دام اندازی رادیکال دی‌فنیل پیکریل‌هیدرازیل (DPPH: Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) بر مبنای توانایی هیدروژن‌دهی استفاده گردید. باید خاطرنشان ساخت که ارزیابی توانایی هیدروژن‌دهندگی عصاره‌ها و اسانس‌ها به واسطه بی‌رنگ نمودن محلول متانولی ارغوانی رنگ DPPH اندازه‌گیری می‌شود (۲۱). در این ارزیابی طیف‌سنجی از رادیکال پایدار دی‌فنیل پیکریل‌هیدرازیل به عنوان عامل واکنش‌دهنده استفاده گردید. روش کار بدین‌صورت بود که ۳ میلی‌لیتر از اسانس مریم گلی به ۱ میلی‌لیتر DPPH افزوده شد و پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر در مقایسه با شاهد قرائت گردید. بازداری رادیکال آزاد DPPH براساس درصد (I) از رابطه ۱ محاسبه شد:

رابطه ۱: $I=(A_{blank}-A_{sample})/A_{blank} \times ۱۰۰$ درصد

که A_{blank}= جذب محلول شاهد (حاوی تمام مواد واکنشگر به غیر از اسانس) و A_{sample}= جذب محلول حاوی غلظت‌های مختلف اسانس می‌باشد. آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیلات هیدروکسی تولوئن (Butylated Hydroxyl Toluene) نیز به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید و آزمایشات در سه تکرار انجام شد و میانگین آن‌ها به عنوان مقدار مورد نظر ارائه گردید. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس به صورت مقدار IC_{50} (Half Maximal Inhibitory Concentration) که نشان‌دهنده غلظتی از اسانس است که باعث ۵۰ درصد بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی می‌گردد، بیان شد (۲۱).

در این پژوهش از چهار سویه میکروبی که شامل: دو سویه گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC ۲۵۹۲۳ American Type Culture Collection)) و *لیستریا اینوکوا* (ATCC ۳۳۰۹۰) و همچنین دو سویه گرم منفی *اشریشیا کلی* (ATCC ۲۵۹۲۳) و *سودوموناس آئروژینوزا* (ATCC ۱۰۷۴) بود برای ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس مریم گلی در زمان‌های مختلف برداشت استفاده گردید. در تمامی زمان‌های برداشت از سه روش ضد میکروبی شامل: انتشار در آگار به کمک دیسک (دیسک دیفیوژن)، حداقل غلظت بازدارندگی (رقیق‌سازی در مایع) (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) به منظور ارزیابی

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

فعالیت ضد میکروبی اسانس مریم گلی در ارتباط با تعدادی از باکتری‌ها در شرایط آزمایشگاهی استفاده شد. در روش انتشار در آگار به کمک دیسک (دیسک دیفیوژن)، ابتدا محیط کشت مولر هینتون آگار تهیه شد، با استفاده از اتوکلاو استریل گردید و به پتری دیش‌ها منتقل شد. سپس با استفاده از فیلتر سر سرنگی (با قطر ۰/۲۲ میکرون)، ۳ گرم اسانس مریم گلی استریل گردید و غلظت‌های ۳۷/۵، ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به مدت ۲۰ دقیقه درون غلظت‌های مختلف اسانس مریم گلی خیسانده شد. در ادامه، از سوسپانسیون‌های میکروبی که استاندارد بودن آن‌ها با استفاده از محلول نیم مک‌فارلند تأیید شده بود، ۲۰ میکرولیتر برداشته شد و به صورت چمنی کشت گردید. درون هر پتری دیش، دو دیسک با غلظت متفاوت با فاصله از یکدیگر گذاشته شد و با استفاده از پنس استریل در محل مناسب (فاصله از دیواره پتری دیش) ثابت گردید. برای باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* از دیسک آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و برای باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا اینوکوا* از دیسک آنتی‌بیوتیک وانکومایسین که در مرکز پلیت قرار می‌گیرد، استفاده شد. ظرف‌های کشت شده در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری گردیدند و هاله عدم رشد میکروبی اطراف دیسک‌ها با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد (۱۸).

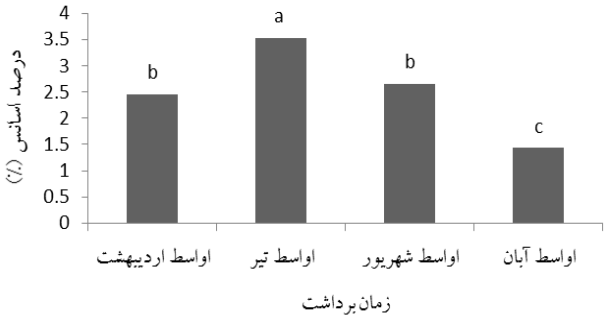
تعیین حداقل غلظت بازدارندگی نیز مطابق با روش علیزاده بهبهانی و ایمانی فولادی (۲۰۱۸) انجام شد. به طور خلاصه، ابتدا غلظت‌های مختلف (۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸ و ۲۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) اسانس مریم گلی از محلول مادر با غلظت ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه گردید. درون هریک از چاهک‌های میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای، ۱۰۰ میکرولیتر ماده ضد میکروبی (اسانس مریم گلی) و ۱۰ میکرولیتر از هریک از سویه‌های میکروبی بیماری‌زا (مطابق با استاندارد نیم مک‌فارلند) ریخته شد. پس از گرمخانه‌گذاری میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای (۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد)، به تمامی چاهک‌ها ۱۰ میکرولیتر از محلول ۵ درصد تری‌فنیل‌تترازولیوم کلراید اضافه گردید و مجدداً عمل گرمخانه‌گذاری به مدت ۱۵ دقیقه صورت گرفت. اولین چاهکی که در آن تغییر رنگ ارغوانی یا صورتی مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی اسانس مریم گلی ثبت گردید (۲۲). با استفاده از نتایج مشاهده شده در آزمون MIC، ۱۰۰ میکرولیتر از خانه‌هایی که در آن‌ها تغییر رنگ مشاهده نشد، توسط سمپلر برداشته شد و در محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد. عمل گرمخانه‌گذاری مطابق با آزمون‌های قبلی در دما و زمان مشخص انجام شد. اولین پلیتی که در آن هیچ‌گونه کلنی مشاهده نگردید به عنوان حداقل غلظت کشندگی اسانس مریم گلی گزارش شد (۲۲).

به منظور حصول اطمینان از نتایج به دست آمده جهت ارزیابی اسانس‌ها، تمامی آزمایشات ذکر شده سه بار تکرار گردیدند. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS 20 تجزیه و تحلیل آماری گردیدند. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون‌های آماری دانکن انجام شد.

یافته‌ها

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس نشان دادند که بین زمان‌های مختلف برداشت از نظر میزان اسانس مریم گلی، اختلاف معناداری وجود دارد ($P<0/05$). بیشترین میزان اسانس (۳/۵۳ درصد) در برداشت اواسط تیر ثبت گردید (شکل ۱)، کمترین میزان اسانس (۱/۴۳ درصد) در برداشت آخر (اواسط آبان) مشاهده شد که با برداشت‌های اواسط اردیبهشت و شهریور اختلاف معناداری داشت ($P<0/05$).

روند تغییرات اجزای اسانس مریم گلی طی زمان‌های مختلف برداشت در جدول ۲ نشان داده شده است. آلفا-پینن، کامفن، آلفا-توجون، بتا-توجون، ۱و۸- سینئول و کامفور اجزای اصلی اسانس مریم گلی در زمان‌های مختلف برداشت بودند. میزان



شکل شماره ۱: اثر زمان برداشت بر میزان اسانس مریم گلی (Salvia officinalis L.)

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

آلفا-پینن از اواسط اردیبهشت تا اواسط آبان روند صعودی داشت؛ به طوری که مقدار آن از ۴/۱۴ به ۸/۵۲ درصد افزایش یافت. در این مطالعه بیشترین مقدار کامفن (۸/۱۷ درصد) و کمترین مقدار آن (۳/۳۱ درصد) به ترتیب در اواسط ماه‌های شهریور و آبان به دست آمد. نتایج حاکی از آن بودند که بخش عمده اسانس در زمان‌های مختلف برداشت را مونوترپن‌های اکسیژن‌دار تشکیل دادند؛ به طوری که این مواد به ترتیب تشکیل‌دهنده ۷۴/۷۶، ۷۹/۹۴، ۷۳/۴۷ و ۷۰/۸۹ درصد از اسانس ماه‌های اردیبهشت، تیر، شهریور و آبان بودند.

بیشترین مقدار آلفا-توجون (۱۶/۷۴ درصد) در اواسط اردیبهشت مشاهده شد و پس از آن طی ماه‌های تیر و شهریور کاهش قابل ملاحظه‌ای یافت. مقدار این ترکیب در اواسط آبان افزایش یافت. از سوی دیگر، مقادیر بتا-توجون و ۱و۸- سینئول به ترتیب با ۲۵/۳۸ و ۱۵/۶۹ درصد در اواسط اردیبهشت به ۳۱/۶۶ و ۱۸/۹۸

جدول شماره ۲: ترکیبات شیمیایی و مقادیر آن‌ها در اسانس گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis L.*) در زمان‌های مختلف برداشت

ترکیبات	شاخص بازداری	زمان برداشت			
		اواسط اردیبهشت	اواسط تیر	اواسط شهریور	اواسط آبان
Monoterpenes		۱۱/۹۱	۱۳/۵۲	۱۹/۰۷	۱۴/۸۸
α-Pinene	۸۷۹	۴/۱۴	۵/۴۵	۷/۳۱	۸/۵۲
β-Pinene	۸۹۱	۱/۶۴	۰/۶۶	۱/۳۸	۰/۹۵
Myrcene	۹۰۵	۰/۶۶	۰/۴۴	۰/۴۰	۰/۲۳
Camphene	۹۳۴	۴/۴۸	۵/۵۲	۸/۱۷	۳/۳۱
p-Cymene	۹۴۹	۰/۱۳	۰/۲۱	۰/۱۸	۰/۲۶
γ -Terpinene	۱۰۲۱	۰/۵۲	۰/۷۸	۱/۰۲	۰/۶۴
Limonene	۱۰۷۹	۰/۳۴	۰/۴۶	۰/۶۱	۰/۹۷
Oxygenated monoterpenes		۷۴/۷۶	۷۹/۹۴	۷۳/۴۷	۷۰/۸۹
Linalool	۱۱۰۵	۲/۶۵	۲/۲۷	۰	۱/۷۵
α-Thujone	۱۱۱۸	۱۶/۷۴	۱۰/۳۷	۱۰/۸۶	۱۵/۲۳
β-Thujone	۱۱۴۹	۲۵/۳۸	۳۱/۶۶	۲۸/۹۸	۲۳/۲۷
1.8-Cineole	۱۲۲۱	۱۵/۶۹	۱۸/۹۸	۱۷/۵۰	۱۳/۳۳
Camphor	۱۲۸۹	۱۰/۳۸	۱۴/۴۱	۱۳/۶۴	۱۲/۴۶
Myrtenol	۱۳۴۵	۱/۲۳	۰/۶۸	۰/۶۶	۰/۶۵
Borneol	۱۳۶۳	۰/۹۴	۰/۷۸	۰/۷۰	۰/۹۲
Trans-pinocarveol	۱۴۱۵	۰/۲۱	۰	۰/۳۲	۰/۳۵
Terpinen-4-ol	۱۴۵۵	۰/۷۹	۰	۰	۰/۷۲
Bornyl acetate	۱۵۳۷	۰/۷۵	۰/۷۹	۰/۸۱	۲/۲۱
Sesquiterpenes		۷/۷۳	۲/۹۱	۳/۳۸	۳/۳۷
α -Humulene	۱۵۷۸	۳/۷۴	۱/۲۷	۱/۰۳	۰/۹۴
Trans-caryophyllene	۱۶۴۰	۳/۹۹	۱/۶۴	۲/۳۵	۲/۴۳
Oxygenated sesquiterpenes		۰	۱/۷۸	۱/۸۶	۰
Caryophyllene oxide	۱۶۵۱	۰	۰/۵۵	۰/۹۲	۰
Humulene epoxide	۱۶۹۷	۰	۱/۲۳	۰/۹۴	۰
Diterpenes		۰	۰	۰	۶/۸۲
Manool	۱۷۲۰	۰	۰	۰	۳/۵۷
Trans-ferruginol	۱۷۲۵	۰	۰	۰	۳/۲۵
کل		۹۴/۴۰	۹۸/۱۵	۹۷/۷۸	۹۵/۹۶

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

درصد (بیشترین مقدار) در اواسط تیر رسید و پس از کاهش اندک در شهریور، در اواسط آبان به کمترین مقادیر آن‌ها (۲۳/۲۷ و ۱۳/۳۳ درصد) کاهش یافت. بیشترین و کمترین میزان کامفور نیز با مقادیر ۱۴/۴۱ و ۱۰/۳۸ درصد به ترتیب در اواسط ماه‌های تیر و اردیبهشت ثبت گردید. شایان ذکر است که ترکیبات سسکوئی ترپنی اکسیژن‌دار (کاریوفیلن اکسید و هومولن اپوکسید) تنها در اسانس ماه‌های تیر و شهریور وجود داشتند؛ در حالی که ترکیبات دی‌ترپنی (مانول و ترانس- فروگینول) فقط در اسانس ماه آبان مشاهده شدند.

محتوای فنل اندازه‌گیری شده اسانس مریم گلی با استفاده از روش فولین سیوکالتو و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن در زمان‌های مختلف برداشت در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج آنالیز واریانس حاکی از آن هستند که اثر زمان برداشت بر میزان ترکیبات فنلی اسانس مریم گلی در سطح احتمال ۵ درصد معنادار می‌باشد. در این مطالعه اسانس به دست آمده در اواسط تیر، محتوای فنلی کل بیشتری (۶۶/۳۶±۰/۷۴ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم اسانس) نسبت به سایر زمان‌های برداشت داشت. در این مطالعه ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس مریم گلی به روش DPPH انجام شد و کمترین IC_{50} برای اسانس مورد نظر برابر با ۳۴/۸۷±۰/۱۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر در اواسط تیر محاسبه گردید که در مقایسه با BHT (Butylated Hydroxytoluene) (۳۱/۴۵±۰/۱۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر) ضعیف‌تر بود.

نتایج ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس مریم گلی در زمان‌های مختلف برداشت به روش انتشار در آگار به کمک دیسک (کربی بوئر) بر باکتری‌های مورد بررسی در جدول ۴ نشان داده شده است. نتایج این آزمون نشان دادند که در تمامی زمان‌های برداشت، قطر هاله عدم رشد مشاهده شده در اطراف دیسک برای باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا اینوکوا*) بزرگتر از باکتری‌های گرم منفی (*اشریشیا کلی* و *سودوموناس آئروژینوزا*) بوده است. همچنین مشخص گردید که با افزایش غلظت اسانس مریم گلی در تمامی باکتری‌ها، قطر هاله عدم رشد افزایش یافته است. نتایج آزمون آماری و مقایسه دوتایی میان غلظت‌های مختلف اسانس مریم گلی بر باکتری‌های گرم منفی در اردیبهشت و آبان حاکی از آن هستند که بین غلظت‌های ۳۷/۵، ۷۵ و ۱۵۰ میلیگرم بر میلی‌لیتر و در شهریور بین غلظت‌های ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اختلاف معناداری وجود نداشته است ($P>0/05$). این در حالی می‌باشد که تمامی غلظت‌های اسانس مورد بررسی در تمامی زمان‌های برداشت در سویه‌های گرم مثبت اختلاف معناداری با یکدیگر داشتند ($P<0/05$). در تمامی زمان‌های برداشت، بیشترین و کمترین قطر هاله عدم رشد در غلظت‌های مساوی به ترتیب برای *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* مشاهده گردید. بیشترین هاله عدم رشد با قطر ۲۶/۹۰±۰/۴۷ میلی‌متر متعلق به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در برداشت تیر بود. نتایج مربوط به اثر آنتی‌بیوتیک‌های وانکومایسین و جنتامایسین بر چهار باکتری مورد بررسی در جدول ۵ ارائه شده است. نتایج نشان می‌دهند که در باکتری‌های گرم مثبت نسبت به آنتی‌بیوتیک وانکومایسین و در باکتری‌های گرم منفی نسبت به جنتامایسین، بالاترین غلظت اسانس مریم گلی در اواسط تیر در باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا اینوکوا* و *اشریشیا کلی*، قطر هاله عدم رشد بیشتری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی داشت.

جدول شماره ۳: تأثیر زمان‌های مختلف برداشت بر میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس مریم گلی (*Salvia officinalis L.*)

زمان برداشت	ترکیبات فنلی (میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم اسانس)	IC_{50} (میکروگرم بر میلی‌لیتر)
اواسط اردیبهشت	۵۰/۱۸±۰/۳۶^{c}	۴۳/۰۸±۰/۲۲^{b}
اواسط تیر	۶۶/۳۶±۰/۷۴^{a}	۳۴/۸۷±۰/۱۵^{c}
اواسط شهریور	۵۸/۷۵±۰/۲۴^{b}	۳۹/۵۴±۰/۲۹^{bc}
اواسط آبان	۴۱/۷۲±۰/۰۰^{d}	۵۳/۷۲±۰/۱۲^{a}

میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک در یک ستون هستند، بر مبنای آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معناداری ندارند.

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

جدول شماره ٤: میانگین قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر، حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسانس مریم گلی (*Salvia officinalis L.*) بر باکتری‌های مورد مطالعه در زمان‌های مختلف برداشت

زمان برداشت	میکروارگانیسم	غلظت اسانس (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)				حداقل غلظت رشد	
		۳۷/۵	۷۵	۱۵۰	۳۰۰	MIC	MBC
اواسط اردیبهشت	*استافیلوکوکوس اورئوس*	۱۱/۸۰±۰/۶۴^{a}	۱۴/۵۰±۰/۵۰^{b}	۱۷/۷۰±۰/۳۳^{c}	۱۹/۹۰±۰/۸۰^{d}	۳۲	۳۲
	لیستریا اینوکوا	۱۰/۵۰±۰/۳۲^{a}	۱۳/۱۰±۰/۷۷^{b}	۱۵/۳۰±۰/۳۵^{c}	۱۸/۷۰±۰/۷۴^{d}	۶۴	۶۴
	اشریشیا کلی	۱۰/۴۰±۰/۴۵^{a}	۱۱/۰۰±۰/۳۵^{a}	۱۱/۲۰±۰/۵۵^{a}	۱۳/۸۰±۰/۴۰^{b}	۱۲۸	۱۲۸
	سودوموناس آئروژینوزا	۹/۲۰±۰/۵۲^{a}	۹/۵۰±۰/۳۳^{a}	۱۰/۳۰±۰/۲۵^{a}	۱۳/۴۰±۰/۲۵^{b}	۲۵۶	۵۱۲
اواسط تیر	*استافیلوکوکوس اورئوس*	۱۵/۵۰±۰/۳۵^{a}	۲۰/۶۰±۰/۶۴^{b}	۲۲/۳۰±۰/۴۰^{c}	۲۶/۹۰±۰/۴۷^{d}	۱۶	۱۶
	لیستریا اینوکوا	۱۳/۴۰±۰/۴۰^{a}	۱۹/۳۰±۰/۹۴^{b}	۲۲/۱۰±۰/۶۷^{c}	۲۵/۳۰±۰/۵۰^{d}	۳۲	۳۲
	اشریشیا کلی	۱۰/۹۰±۰/۳۵^{a}	۱۲/۲۰±۰/۲۵^{b}	۱۴/۱۰±۰/۵۰^{c}	۱۵/۷۰±۰/۳۵^{d}	۶۴	۶۴
	سودوموناس آئروژینوزا	۱۰/۵۰±۰/۴۵^{a}	۱۲/۱۰±۰/۳۳^{b}	۱۳/۹۰±۰/۵۵^{c}	۱۵/۵۰±۰/۷۸^{d}	۱۲۸	۲۵۶
اواسط شهریور	*استافیلوکوکوس اورئوس*	۱۴/۲۰±۰/۶۶^{a}	۱۷/۶۰±۰/۱۵^{b}	۱۹/۹۰±۰/۹۴^{c}	۲۱/۸۰±۰/۴۶^{d}	۱۶	۳۲
	لیستریا اینوکوا	۱۲/۶۰±۰/۵۵^{a}	۱۵/۳۰±۰/۳۵^{b}	۱۹/۷۰±۰/۳۵^{c}	۲۱/۶۰±۰/۵۳^{d}	۳۲	۶۴
	اشریشیا کلی	۱۰/۸۰±۰/۳۵^{a}	۱۱/۸۰±۰/۴۰^{b}	۱۲/۲۰±۰/۸۳^{b}	۱۴/۸۰±۰/۵۰^{c}	۱۲۸	۱۲۸
	سودوموناس آئروژینوزا	۱۰/۱۰±۰/۵۰^{a}	۱۱/۴۰±۰/۹۵^{b}	۱۱/۹۰±۰/۴۷^{b}	۱۳/۶۰±۰/۶۶^{c}	۲۵۶	۲۵۶
اواسط آبان	*استافیلوکوکوس اورئوس*	۱۳/۰۰±۰/۵۰^{a}	۱۴/۷۰±۰/۳۵^{b}	۱۷/۴۰±۰/۳۷^{c}	۱۹/۶۰±۰/۹۵^{d}	۶۴	۶۴
	لیستریا اینوکوا	۱۰/۰۰±۰/۲۵^{a}	۱۲/۴۰±۰/۴۳^{b}	۱۴/۹۰±۰/۵۵^{c}	۱۶/۱۰±۰/۹۳^{d}	۶۴	۱۲۸
	اشریشیا کلی	۹/۵۰±۰/۳۵^{a}	۱۰/۲۰±۰/۵۰^{a}	۱۰/۴۰±۰/۲۵^{a}	۱۲/۷۵±۰/۵۰^{b}	۲۵۶	۵۱۲
	سودوموناس آئروژینوزا	۸/۳۰±۰/۳۵^{a}	۸/۶۰±۰/۴۵^{a}	۹/۰۰±۰/۵۷^{a}	۱۲/۳۰±۰/۳۵^{b}	۲۵۶	۵۱۲

* در هر ردیف میانگین‌های قطر هاله عدم رشد که دارای حروف مشابه هستند، بر مبنای آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معناداری ندارند.

جدول شماره ٥: میانگین قطر هاله عدم رشد آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی بر باکتری‌های مورد مطالعه

میکروارگانیسم	وانکومایسین	جنتامایسین
استافیلوکوکوس اورئوس	۲۵	–
لیستریا اینوکوا	۲۳	–
اشریشیا کلی	–	۱۵
سودوموناس آئروژینوزا	–	۱۶

بحث

در سال‌های اخیر به دلیل استفاده نادرست از مواد شیمیایی و سنتزی، تعداد سویه‌های بیماری‌زای مقاوم افزایش یافته است. وجود خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد عفونی‌کنندگی علاوه بر اثرهای درمانی از عوامل توجه طب سنتی به گیاهان دارویی بوده است (۲۳). علاوه‌براین، وجود ترکیبات ثانویه در گیاهان دارویی سبب شده است که در بررسی‌های اخیر توجه ویژه‌ای به آن‌ها معطوف شود؛ به ویژه وجود ترکیبات ضد میکروبی موجود در گیاهان دارویی، اهمیت این گیاهان را برای تولید پادزیست‌های طبیعی و جدید در علوم پزشکی دو چندان ساخته است؛ از این رو دانشمندان مطالعه در زمینه قسمت‌های مختلف گیاهان دارویی برای کشف داروهای جدید با منشأ گیاهی را در اولویت قرار داده‌اند.

با توجه به اینکه عوامل محیطی سبب تغییراتی در رشد گیاهان دارویی و کیفیت مواد مؤثر موجود در آن‌ها می‌شوند، برداشت یک گیاه دارویی زمانی مقرون به صرفه است که مواد مؤثر آن به حد مطلوب رسیده باشد. برداشت گیاهان دارویی در زمان نامناسب نه تنها میزان محصول به دست آمده را کاهش می‌دهد؛ بلکه محصول برداشت شده نیز از کیفیت خوبی برخوردار نخواهد بود؛ زیرا عملکرد اندام مورد نظر و همچنین میزان متابولیت‌های ثانویه یک گیاه دارویی در مراحل مختلف رشد و نمو گیاه متفاوت می‌باشد (۱۸). نتایج پژوهش حاضر نشان دادند که درصد اسانس تحت تأثیر زمان برداشت قرار می‌گیرد. در این مطالعه حداکثر اسانس مریم گلی در اواسط تیر که مصادف با

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

افزایش دمای هوا و همچنین طول روز بود، ثبت گردید. کمترین میزان اسانس نیز در اواسط آبان که مصادف با رکود رویشی است، مشاهده شد. به نظر می‌رسد که دمای بالا در طول تیر ماه بر میزان اسانس این گیاه اثر گذاشته است. نتایج مطالعات پیشین در ارتباط با گیاه نعناع نیز فرضیه مطرح شده را تأیید می‌نمایند (۲۴). در این راستا، در پژوهشی به رابطه نزدیک بین طول روز بلند، بلوغ گیاه و افزایش اسانس اشاره شده است (۲۵). در پژوهش دیگری اکسیشن‌های مختلف گیاه پچولی در چهار زمان مختلف (می، آگوست، نوامبر و فوریه) برداشت شد و مشخص گردید که میزان اسانس اکسیشن‌ها در برداشت‌های مختلف، متفاوت بوده است (۲۶). Pinto و همکاران در سال ۲۰۱۹، میزان اسانس گیاه ریحان را بررسی نموده و نتیجه گرفتند که میزان اسانس این گیاه به طور معناداری تحت تأثیر زمان برداشت قرار می‌گیرد (۲۷).

بدون تردید تغییر در ترکیبات شیمیایی اسانس‌ها، فعالیت بیولوژیکی آن‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد؛ از این رو تعیین مشخصات شیمیایی آن‌ها قبل از توصیه کردن فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی آن‌ها ضروری می‌باشد. در این راستا، Risaliti و همکاران (۲۰۱۹) اکالیپتول و Russo و همکاران (۲۰۱۳) سابینن را به عنوان اصلی‌ترین ترکیب اسانس مریم گلی به ترتیب با مقادیر ۴۶/۶۸ و ۳۶/۲۵ درصد گزارش کردند. همچنین در هر دو پژوهش کامفور، بتا-پینن و کامفن به عنوان ترکیبات عمده بعدی شناخته شدند (۱۶،۲۸). El Euch و همکاران نیز در سال ۲۰۱۹ با بررسی ترکیبات شیمیایی گیاه مریم گلی، کامفور (۳۳/۶۱ درصد)، ۱و۸- سینئول (۲۲/۲۲ درصد) و آلفا-توجون (۲۱/۴۳ درصد) را به عنوان ترکیبات اصلی این گیاه شناسایی کردند (۲۰). همچنین در مطالعه انجام شده توسط Taarit و همکاران (۲۰۰۹) مهم‌ترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس این گیاه، ۱و۸- سینئول، آلفا-توجون، ویریدیفلرول و بتا-توجون معرفی گردید. این در حالی است که در پژوهش حاضر ترکیب ویریدیفلرول شناسایی نشد (۲۹). در مطالعات انجام شده توسط عزیزی و خسروی (۱۳۹۷) و رحمانی ثمانی و همکاران (۲۰۱۹)، تا حدودی شباهت‌هایی از نظر نوع ترکیبات اصلی تشکیل‌دهنده این گیاه و نیز درصد این ترکیبات نشان داده شده است (۱۴،۳۰). تفاوت در میزان ترکیبات اصلی مریم گلی را می‌توان به دلایلی همچون تفاوت‌های اکولوژیکی نسبت داد. ترکیبات موجود در اسانس گیاهان ناشی از تفاوت‌های اکولوژیکی مانند طول و عرض جغرافیایی، ارتفاع، دما، رطوبت، اقلیم و خاک، مسیرهای متابولیکی و بیوسنتز مواد مؤثر در این گیاهان است که در نتیجه متابولیک‌های ثانویه متنوعی تحت شرایط محیطی متفاوت بیوسنتز می‌شود. مطالعات مختلفی این مطلب را تأیید کرده‌اند (۳۰،۳۱). میزان سسکوئی ترپن‌های اکسیژن‌دار و دی‌ترپن‌ها در تمامی زمان‌های برداشت در مقابل گروه‌های قبلی ناچیز بود و تنها در برخی از زمان‌های برداشت، ترکیبات این دو گروه از مواد مشاهده شد که این مهم نشان‌دهنده تنوع ترکیبات در زمان‌های مختلف برداشت می‌باشد. Russo و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که مونوترپن‌های اکسیژن‌دار (۳۲/۶۰ تا ۶۱/۸۰ درصد) بخش اصلی اسانس این گیاه را در مناطق مختلف ایتالیا تشکیل داده‌اند (۲۸). میزان مونوترپن‌های اکسیژن‌دار نیز در بین زمان‌های مختلف برداشت متغیر بود؛ بیشترین میزان آن مربوط به زمان گل‌دهی (اواسط تیر) با ۷۹/۹۴ درصد و کمترین میزان آن با ۷۰/۸۹ درصد مربوط به دوره پس از گل‌دهی (اواسط آبان) بود. نتایج مطالعات مولائی و همکاران (۲۰۲۰) در ارتباط با گیاه پونه و فرهادی و همکاران (۲۰۲۰) در مورد گیاه بومادران با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد (۳۲،۳۳). این تغییرات می‌توانند ناشی از بیان ژن‌های متفاوت در مراحل رشد مختلف گیاه و یا فاکتورهای محیطی متأثر از تغییرات فصلی باشند (۱۸).

در مطالعه حاضر بیشترین میزان فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس مریم گلی بر حسب IC_{50} در اواسط تیر به دست آمد. در پژوهشی که توسط عزیزی و خسروی (۱۳۹۷) انجام شد، مشخص گردید که میزان ترکیبات فنلی و IC_{50} مریم گلی به ترتیب برابر با ۱۱/۶۱±۲/۲۰ میلی‌گرم بر گالیک اسید در گرم و ۱۴/۲۳±۷۳/۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده است (۳۰). در این راستا، Russo و همکاران (۲۰۱۳) فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس مریم گلی را بر حسب IC_{50} در مناطق مختلف ایتالیا بین ۱۱/۶ تا ۴۸/۶۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش نمودند (۲۸). Cutillas و همکاران (۲۰۱۷) نیز پتانسیل آنتی‌اکسیدانی اسانس مریم گلی را

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

در مقایسه با BHT مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که اسانس مریم گلی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی مناسبی برخوردار بوده است (۳۴). در مطالعات متعددی دلیل تفاوت در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی گیاهان، عواملی همچون شرایط اقلیمی، خاک، زمان جمع‌آوری گیاه، روش خشک کردن، استحصال و نیز تفاوت در روش‌های اندازه‌گیری ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ذکر شده است (۳۵). از سوی دیگر، نتایج نشان‌دهنده وجود رابطه مستقیم بین فعالیت مهار رادیکال آزاد با میزان ترکیبات فنلی در اسانس بودند؛ به نحوی که با افزایش میزان ترکیبات فنلی، افزایش گروه‌های هیدروکسیل، احتمال اهدای هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن افزایش قدرت مهارکنندگی در اسانس ایجاد می‌شود (۲۸). علاوه‌براین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی در این مطالعه را می‌توان به حضور ترکیبات اصلی مسئول مهارکنندگی رادیکال‌های DPPH از جمله مونوترپن‌های آزاد اکسیژن‌دار نظیر آلفا-توجون، بتا-توجون، ۱و۸- سینئول، کامفور و مونوترپن‌ها نسبت داد که با افزایش غلظت آن‌ها، فعالیت مهارکنندگی در اسانس نیز افزایش می‌یابد. این ترکیبات در حضور سایر ترکیبات موجود در اسانس می‌توانند دارای فعالیت سینرژیستی آنتی‌اکسیدانی باشند (۱۶).

از سوی دیگر، در پژوهش حاضر فعالیت ضد میکروبی اسانس مریم گلی در زمان‌های مختلف برداشت بر تعدادی از باکتری‌ها بررسی گردید. در تمامی زمان‌های برداشت با افزایش غلظت اسانس این گیاه، قطر هاله عدم رشد در تمام باکتری‌ها افزایش یافت؛ اما در اردیبهشت و آبان بین غلظت‌های ۳۷/۵، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* و در شهریور ماه بین غلظت‌های ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای هر دو باکتری گرم منفی اختلاف معناداری مشاهده نشد. دیگر زمان‌های برداشت در سایر غلظت‌ها دارای اختلاف معناداری بودند. با توجه به اینکه بخش اعظم اسانس گیاه مریم گلی را ترکیبات آلفا-پینن، کامفن، آلفا-توجون، بتا-توجون، ۱و۸- سینئول و کامفور تشکیل می‌دهند، به نظر می‌رسد که اثر ضد میکروبی اسانس گیاه مورد مطالعه بر باکتری‌های مورد آزمایش بیشتر مربوط به این ترکیبات بوده است. در عین حال نباید از اثر سینرژیستی سایر ترکیبات اسانس بر بروز خواص ضد میکروبی آن غافل بود (۳۶). نتایج نشان دادند که اسانس مریم گلی دارای اثر ضد میکروبی قوی بر باکتری‌ها به ویژه سویه‌های گرم مثبت بوده است. علت حساس بودن باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی نسبت به اسانس مریم گلی، اختلاف ساختمان دیواره آن‌ها می‌باشد. باکتری‌های گرم مثبت در دیواره سلولی خود دارای موکوپپتید هستند؛ در حالی که باکتری‌های گرم منفی تنها لایه نازکی از موکوپپتید دارند و قسمت اعظم ساختمان دیواره آن‌ها لیپوپروتئین و لیپوپلی‌ساکارید می‌باشد. تخریب دیواره سلولی منجر به نشت محتویات سلولی به بیرون و در نتیجه مرگ سلول می‌شود. ترکیبات ترپنی قادر هستند به غشای سلولی صدمه زده و در ساختار لیپیدی دیواره سلولی باکتری‌ها نفوذ کنند. این امر منجر به دناتوراسیون پروتئین‌ها، از هم پاشیده شدن ساختار سلولی، تراوش سیتوپلاسم و در نهایت مرگ سلول می‌شود (۳۷).

از سوی دیگر، نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس این گیاه تحت تأثیر زمان‌های مختلف برداشت نشان دادند که برداشت مریم گلی در اواسط تیر در غلظت‌های کمتر نسبت به سایر زمان‌ها دارای اثر مهاری و کشندگی می‌باشد که احتمالاً دلیل این امر را می‌توان به استحصال بیشتر ترکیبات مؤثر ضد میکروبی در اسانس مریم گلی در این زمان نسبت داد. بر مبنای نتایج، بیشترین حساسیت در برابر غلظت‌های مختلف اسانس مریم گلی مربوط به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بود و بیشترین مقاومت را باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* از خود نشان داد. در مطالعات صورت‌گرفته، خواص ضد میکروبی اسانس گیاهان دارویی خانواده نعناعیان بر میکروارگانیسم‌های متفاوت در مناطق مختلف گزارش شده است (۳۸،۳۹). Šojić و همکاران در سال ۲۰۱۸ با بررسی اثر ضد میکروبی اسانس مریم گلی بر تعدادی از باکتری‌ها بیان نمودند که اسانس مریم گلی دارای اثر ضد میکروبی می‌باشد (۴۰). بنا بر گزارش مقیمی و همکاران در سال ۲۰۱۶، *کلبسیلا پنومونیه* و *استافیلوکوکوس اورئوس* حساس‌ترین میکروارگانیسم‌ها در برابر اثر ضد میکروبی اسانس مریم گلی

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

بوده‌اند (۴۱). در جدیدترین گزارش Yazgan (۲۰۲۰) نیز اثر ضد میکروبی اسانس مریم گلی بر *اشریشیا کلی*، *سالمونلا تیفی موریوم*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس* تأیید گشته و بیشترین اثر مهارکنندگی بر *استافیلوکوکوس اورئوس* مشاهده شده است (۴۲). علاوه‌براین، در گزارشی مشخص گردید که حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس مریم گلی برای باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و اشریشیا کلی به ترتیب ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است (۴۱). Khedher و همکاران نیز در سال ۲۰۱۷، اثر ضد میکروبی مریم گلی بر برخی از باکتری‌های بیماری‌زا را به روش انتشار در آگار، حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی بررسی کردند و بیان نمودند که اسانس این گیاه بر تمامی باکتری‌ها اثر بازدارندگی و کشندگی داشته است (۴۳). نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های این پژوهشگران مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان دادند که بیشترین و کمترین مقدار اسانس مریم گلی به ترتیب در ماه‌های تیر (مرحله گل‌دهی) و آبان (رشد رویشی ضعیف آخر فصل پاییز) مشاهده شده است. بررسی نتایج آنالیز کروماتوگرافی گازی نیز حاکی از آن بودند که از میان ترکیبات مختلف شناسایی شده طی ماه‌های مورد بررسی، بتا-توجون عمده‌ترین ترکیب ماه‌های تیر، شهریور، اردیبهشت و آبان بوده است. سایر ترکیبات آلفا-پینن، کامفن، آلفا-توجون، ۱و۸- سینئول و کامفور در تیر ماه نسبت به دیگر ماه‌ها مقادیر قابل توجهی داشتند. بیشترین میزان فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز در اسانس تیر ماه مشاهده گردید. همچنین مشخص شد که اسانس مریم گلی فعالیت ضد میکروبی در تمامی باکتری‌ها داشته است؛ هرچند فعالیت ضد میکروبی اسانس آن در باکتری‌های گرم مثبت به مراتب بیشتر از باکتری‌های گرم منفی بود. با توجه به فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس مریم گلی، بهترین زمان برداشت این گیاه تیر ماه بوده و اسانس این گیاه می‌تواند به عنوان یک منبع بالقوه برای تولید ترکیبات دارویی و نگهدارنده‌های غذایی مورد استفاده قرار گیرد؛ هرچند مطالعات بالینی تکمیلی مورد نیاز می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه نهاوند به دلیل همکاری و مساعدت در مسیر انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌گردد.

References:

1. Raissy M, Khamesipour F, Rahimi E, Khodadoostan A. Occurrence of *Vibrio* spp., *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli* and *Campylobacter* spp. in crayfish (*Astacus leptodactylus*) from Iran. Iran J Fish Sci 2014;13(4):944-54. Link
2. Shahidi F, Tabatabaei Yazdi F, Roshanak S, Alizadeh Behbahani B, Vasiee A, Norouz N. Antimicrobial activity of Taraxacum pseudocalocephalum leaves extract on pathogenic microorganisms and comparison with common therapeutic antibiotics in vitro. Iran J Infect Dis Trop Med 2019;23(83):37-46. Link
3. Hyldgaard M, Mygind T, Meyer RL. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. Front Microbiol 2012;3(12):1-24. PMID: 22291693
4. Moradi M, Hassani A, Sefidkon F, Maroofi H. Chemical composition of leaves and flowers essential oil of *Origanum vulgare* ssp. *gracile* growing wild in Iran. J Essent Oil Bear Plants 2015;18(1):242-7. Link
5. Hosni K, Zahed N, Chrif R, Abid I, Medfei W, Kallel M, et al. Composition of peel essential oils from four selected *Tunisian Citrus* species: evidence for the genotypic influence. Food Chem 2010;123(4):1098-104. Link
6. Azizi Tabrizzad N, Seyedin Ardebili SM, Hojjati M. Investigation of chemical compounds and antibacterial activity of pennyroyal, mint and thyme essential oils. Food Sci Technol 2019;15(12):447-57. Link

www.SID.ir

International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

7. Mahmodi R, Tajik H, Farshid AA, Ehsani A, Zaree P, Moradi M. Phytochemical properties of *Mentha longifolia* L. essential oil and its antimicrobial effects on *Staphylococcus aureus*. Armaghane Danesh 2011;16(5):400-12. Link

8. Boszormenyi A, Hethelyi E, Farkas A, Horvath G, Papp N, Lemberkovics E, et al. Chemical and genetic relationships among sage (*Salvia officinalis* L.) cultivars and judean sage (*Salvia judaica* Boiss.). J Agric Food Chem 2009;57(11):4663-7. PMID: 19449812

9. Grdisa M, Jug-dujakovic M, Loncaric M, Carovic-Stanko K, Nincevic T, Liber Z, et al. Dalmatian Sage (*Salvia officinalis* L.): a review of biochemical contents, medical properties and genetic diversity. Agric Conspec Sci 2015;80(2):69-78. Link

10. Ghorbani A, Esmaeilzadeh M. Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. J Tradit Complement Med 2017;7(4):433-40. PMID: 29034191

11. Nowak M, Kleinwächter M, Manderscheid R, Weigel HJ, Selmar D. Drought stress increases the accumulation of monoterpenes in sage (*Salvia officinalis*), an effect that is compensated by elevated carbon dioxide concentration. J Appl Botany Food Qual 2010;83(2):133-6. Link

12. Kulak M, Gul F, Sekeroglu N. Changes in growth parameter and essential oil composition of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves in response to various salt stresses. Ind Crops Prod 2020;145:1-15. Link

13. Cegiełka A, Hać-Szymańczuk E, Piwowarek K, Dasiewicz K, Słowiński M, Wrońska K. The use of bioactive properties of sage preparations to improve the storage stability of low-pressure mechanically separated meat from chickens. Poult Sci 2019;98(10):5045-53. PMID: 31065702

14. Samania MR, Pirbalouti AG, Moattard F, Golparvare AR. L-Phenylalanine and bio-fertilizers interaction effects on growth, yield and chemical compositions and content of essential oil from the sage (*Salvia officinalis* L.) leaves. Ind Crops Prod 2019;137:1-8. Link

15. Shaw JJ, Berbasova T, Sasaki T, Jefferson-George K, Spakowicz DJ, Dunican BF, et al. Identification of a fungal 1,8-cineole synthase from *hypoxylon* sp. with specificity determinants in common with the plant synthases. J Biol Chem 2015;290(13):511-26. PMID: 25648891

16. Risaliti L, Kehagia A, Daoultzi E, Lazari D, Bergonzi MC, Vergkizi-Nikolakaki S, et al. Liposomes loaded with Salvia triloba and Rosmarinus officinalis essential oils: In vitro assessment of antioxidant, anti-inflammatory and antibacterial activities. J Drug Deliv Sci Technol 2019;51:493-8. Link

17. Canzoneri M, Bruno M, Rosselli S, Russo A, Cardile V, Formisano C, et al. Chemical composition and biological activity of *Salvia verbenaca* essential oil. Nat Prod Commun 2011;6(7):102-6. PMID: 21834249

18. Behbahani BA, Shahidi F, Yazdi FT, Mortazavi SA, Mohebbi M. Antioxidant activity and antimicrobial effect of tarragon (*Artemisia dracunculus*) extract and chemical composition of its essential oil. J Food Measurem Charact 2017;11(2):847-63. Link

19. Kozlowska M, Laudy AE, Przybyl J, Ziarno M, Majewska E. Chemical composition and antibacterial activity of some medicinal plants from Lamiaceae family. Acta Pol Pharm 2015;72(4):757-67. PMID: 26647633

20. El Euch SK, Hassine DB, Cazaux S, Bouzouita N, Bouajila J. *Salvia officinalis* essential oil: chemical analysis and evaluation of anti-enzymatic and antioxidant bioactivities. South Afr J Botany 2019;120:253-60. Link

21. Shen S, Chen D, Li X, Li T, Yuan M, Zhou Y, et al. Optimization of extraction process and antioxidant activity of poly saccharides from of Paris polyphylla. Carbohydr Polym 2014;104:80-6. Link

22. Alizadeh Behbahani B, Imani Fooladi AA. Evaluation of phytochemical analysis and antimicrobial activities Allium essential oil against the growth of some microbial pathogens. Microb Pathog 2018;114:299-303. PMID: 29196170

23. Reyes-Jurado F, Cervantes-Rincón T, Bach H, López-Malo A, Palou E. Antimicrobial activity of Mexican oregano (*Lippia berlandieri*), thyme (*Thymus vulgaris*), and mustard (*Brassica nigra*) essential oils in gaseous phase. Ind Crops Prod 2019;131:90-5. Link

24. Mahmoodi SM, Akbarzade M. The effect of harvest time on essential oil content, yield and composition of spearmint

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

(*Mentha spicata* L.) in the Hamidiyeh region. Plant Prod 2015;38(1):115-29. Link

25. Zheljazkov VD, Cantrell CL, Tekwani B, Khan SI. Content, composition, and bioactivity of the essential oils of three basil genotypes as a function of harvesting. J Agric Food Chem 2008;56(2):380-5. PMID: 18095647

26. Blank AF, Santana TC, Santos PS, Arrigoni-Blank MF, Prata AP, Jesus HC, et al. Chemical characterization of the essential oil from patchouli accessions harvested over four seasons. Ind Crops Prod 2011;34(1):831-7. Link

27. Oliveira Pinto JA, Fitzgerald Blank A, Lima Nogueira PC, Arrigoni-Blank MD, Matos Andrade T, Santos Sampaio T, et al. Chemical characterization of the essential oil from leaves of basil genotypes cultivated in different seasons. Bol Latinoam Caribe Plantas Med 2019;18(1):58-70. Link

28. Russo A, Formisano C, Rigano D, Senatore F, Delfine S, Cardile V, et al. Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean sage (*Salvia officinalis* L.) grown in different environmental conditions. Food Chem Toxicol 2013;55:42-7. PMID: 23291326

29. Taarit MB, Msaada K, Hosni K, Hammami M, Kchouk ME, Marzouk B. Plant growth, essential oil yield and composition of sage (*Salvia officinalis* L.) fruits cultivated under salt stress conditions. Ind Crops Prod 2009;30(3):333-7. Link

30. Azizi, A, Khosravi K. Phytochemical study and antioxidant activity of essential oil of salvia multiculis vahl native to Iran, and its application in oxidative stability of sunflower oil. J Neyshabur Univ Med Sci 2019;6(4):46-61. Link

31. Oliveira GC, Vieira WL, Bertolli SC, Pacheco AC. Photosynthetic behavior, growth and essential oil production of *Melissa officinalis* L. cultivated under colored shade nets. Chil J Agric Res 2016;76(1):123-8. Link

32. Mollaei S, Ebadi M, Hazrati S, Habibi B, Gholami F, Sourestani MM. Essential oil variation and antioxidant capacity of Mentha pulegium populations and their relation to ecological factors. Biochem Syst Ecol 2020;91:104048. Link

33. Farhadi N, Babaei K, Farsaraei S, Moghaddam M, Ghasemi Pirbalouti A. Changes in essential oil compositions, total phenol, flavonoids andantioxidant capacity of *Achillea millefoliumat* different growth stages. Ind Crops Prod 2020;152:112570. Link

34. Cutillas AB, Carrasco A, Martinez-Gutierrez R, Tomas V, Tudela J. *Salvia officinalis* L. essential oil from Spain: determination of composition, antioxidant capacity, antienzymatic and antimicrobial bioactivities. Chem Biodivers 2017;14:1-8. PMID: 28477412

35. Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Vasiee A, Mortazavi SA. Oliveria decumbens essential oil: chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some clinical and standard strains causing infection. Microb Pathog 2018;114:449-52. PMID: 29241765

36. Abou Baker DH, Al-Moghazy M, ElSayeda AA. The in vitro cytotoxicity, antioxidant and antibacterial potential of *Satureja hortensis* L. essential oil cultivated in Egypt. Bioorg Chem 2020;95:103559. PMID: 31911310

37. Ahmadi E, Abdollahi A, Najafipour S, Meshkibaf MH, Fasihi Ramandi M, Namdar N, et al. Surveying the effect of the phenol compounds on antibacterial activity of herbal extracts: In vitro assessment of herbal extracts in Fasa-Fars province. J Fasa Univ Med Sci 2016;6(2):210-20. Link

38. Nikolic´ M, Jovanovic´ KK. Markovic´ T, Markovic´ D, Gligorijevic´ N, Radulovic´ S, et al. Chemical composition, antimicrobial, and cytotoxic properties of five Lamiaceae essential oils. Ind Crops Prod 2014;61:225-32. Link

39. Nezhadali A, Nabavi M, Rajabian M, Akbarpour M, Pourali P, Amini F. Chemical variation of leaf essential oil at different stages of plant growth and in vitro antibacterial activity of *Thymus vulgaris* Lamiaceae, from Iran. Beni-Seuf Univ J Appl Sci 2014;3(2):87-92. Link

40. Šojić B, Pavlić B, Zeković Z, Tomović V, Ikonić P, Kocić-Tanackov S, et al. The effect of essential oil and extract from sage (*Salvia officinalis L.*) herbal dust (food industry by-product) on the oxidative and microbiological stability of fresh pork sausages. LWT 2018;89:749-55. Link

41. Moghimi R, Aliahmadi A, McClements DJ, Rafati H. Investigations of the effectiveness of nanoemulsions from sage oil as antibacterial agents on some food borne pathogens. LWT Food Sci Technol 2016;71:69-76. Link

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID
42. Yazgan H. Investigation of antimicrobial properties of sage essential oil and its nanoemulsion as antimicrobial agent. LWT 2020;130:1-7. Link

43. Khedher MR, Khedher SB, Chaieb I, Tounsi S, Hammami M. Chemical composition and biological activities of *Salvia officinalis* essential oil from Tunisia. Excli J 2017;16:160-73. PMID: 28507464

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0