فعالیت بیوشیمیایی و ضد میکروبی روغن‌های اسانسی مریم گلی و نعناع فلفلی

زهرا ایزدی [*]
گودرز احمدوند [**]
محمود اثنی‌عشری [***]
خسرو پیری [****]
پوراندخت داودی [*****]

[*] کارشناس ارشد زراعت، دانشگاه بوعلی سینا همدان، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت
[**] دکترای زراعت، استادیار دانشگاه بوعلی سینا همدان، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت
[***] دکترای علوم باغبانی، دانشیار دانشگاه بوعلی سینا همدان، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی
[****] دکترای بیوتکنولوژی، دانشیار دانشگاه بوعلی سینا همدان، دانشکده کشاورزی، گروه بیوتکنولوژی
[*****] متخصص بیماری‌های دهان، استادیار دانشگاه علوم پزشکی همدان، دانشکده دندانپزشکی، گروه بیماری‌های دهان

تاریخ وصول: ۱۳۸۸/۱۱/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۱۲/۲۳

مولف مسئول: گودرز احمدوند
پست الکترونیک: g.ahmadvand@Basu.ac.ir

چکیده:

مقدمه و هدف: اگر چه از آنتی‌بیوتیک‌ها به عنوان درمان مرسوم در بیماری‌ها استفاده می‌شود، اما این درمان‌ها با مشکلات زیادی از جمله؛ عوارض جانبی ناخواسته و مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها همراه می‌باشد. گیاهان مریم گلی و نعناع فلفلی از جمله گیاهانی هستند که به سهولت در بسیاری از مناطق ایران یافت می‌شوند. با توجه به دارا بودن اثرات ضد میکروبی این گیاهان، در این مطالعه فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و رادیکال‌زدایی اسانس‌های این گیاهان مورد سنجش قرار گرفته و تأثیر ضد میکروبی آنها ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۸ در دانشگاه بوعلی سینا همدان انجام گرفت. اسانس گیاهان مریم گلی و نعناع فلفلی با روش تقطیر با بخار آب استخراج و ترکیب‌های آنها با دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی و گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی‌شناسایی شدند. میکروارگانیسم-های مورد پژوهش اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا انتریتیدیس و لیستریا مونوسیتوژنز بودند. فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و رادیکال‌زدایی اسانس‌ها مورد سنجش قرار گرفته و تأثیر ضد میکروبی آنها ارزیابی شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون‌های آماری تی و دانکن تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: در اسانس‌های مریم گلی و نعناع فلفلی به ترتیب ۲۸ و ۳۷ ترکیب شناسایی شدند. میکروارگانیسم‌های لیستریا مونوسیتوژنز، اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس ارئوس و سالمونلا انتریتیدیس به ترتیب نسبت به اسانس‌ها حساسیت نشان دادند. تأثیر ضد میکروبی برگ نعناع فلفلی قوی‌تر از مریم گلی بود. همچنین اندازه قطر هاله عدم رشد ارتباط چندانی با سینتیک میکرب‌کشی آن نداشت.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش بیانگر تأثیر مناسب اسانس‌های مریم گلی و نعناع فلفلی بر ۴ میکروارگانیسم می‌باشد و می‌توان به ساخت داروی مناسب برای از بین بردن این میکروارگانیسم‌ها با منشأ گیاهی و با عوارض بسیار کمتر دارویی امیدوار بود.

واژه‌های کلیدی: مریم گلی، نعناع فلفلی، روغن‌های اسانسی، آنتی‌اکسیدان

مقدمه

گیاهان قسمت اعظم طبیعت اطراف آدمی را تشکیل می‌دهند. بنابراین به عنوان اولین انتخاب برای حل مشکلات زندگی از آنها کمک گرفته شده است. تا چند دهه گذشته آن‌چه که به عنوان دارو مورد استفاده قرار می‌گرفت، از منابع طبیعی و به طور عمده از گیاهان به دست می‌آمد(۱). پیشرفت علم از یک سو و مسایل اقتصادی از سوی دیگر باعث کاهش مصرف گیاهان دارویی شده است و داروهای صناعی در بسیاری از موارد جایگزین داروهای گیاهی شده‌اند(۲). مصرف روز افزون داروهای شیمیایی روز به روز مشکلات حادتری از قبیل پدیده خود ایمنی بر اثر مصرف مداوم و بی‌رویه دارو و عوارض جانبی که برخی از خود بیماری خطرناک‌تر هستند را به وجود می‌آورند. به دلیل مشکل مقاومت میکروارگانیسم‌ها به داروهای شیمیایی و عوارض جانبی و ناخواسته آنها، استفاده از عصاره‌های گیاهی و گیاهانی که فعالیت ضد میکروبی از خود نشان می‌دهند در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است(۳).

مریم گلی[۱] و نعناع فلفلی[۲] دو گیاه اسانس‌دار از خانواده نعناعیان می‌باشند که در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرند(۴). خواص ضد میکروبی عصاره‌های گیاهان مختلف نیز مطالعه و گزارش شده است (۶ و۵). قارچ‌ها نیز از تأثیر ضد میکروبی روغن‌های اسانسی مصون نمانده‌اند (۸ و۷).

رادیکال‌های آزاد، مولکول‌های فعال شده‌ای هستند که ممکن است منشأ داخلی یا خارجی داشته باشند. یکی از مهم‌ترین اثرات تخریبی رادیکال‌های آزاد شروع پراکسیداسیون لیپید می‌باشد که به تخریب غشاء سلول منجر می‌شود. پراکسیداسیون لیپید باعث اختلال در سازمان‌بندی غشاء و تغییر فعالیت آنزیم‌های وابسته به آن و پروتئین‌های دیگر می‌شود که همراه با آزاد کردن رادیکال‌های هیدروپراکسیل و آلکوپراکسیل به صورت بالقوه برای سلول مضر می‌باشد. آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند بوتیلیتد هیدروکسی تولوئن[۳] که به طور وسیع مورد مصرف قرار می‌گیرند، دارای نقش بسیار مؤثری هستند، ولی مصرف آنها در محصولات غذایی به دلیل عدم پایداری و نقش احتمالی سرطان‌زایی آنها با شکست منجر می‌شود(۹) و بدین دلیل تمایل زیادی به استفاده از عوامل و افزودنی‌های طبیعی به عنوان مواد آنتی‌اکسیدان بالقوه مؤثر وجود دارد. اخیراً استراتژی تجربی مطلوب‌سازی تغذیه انسانی با آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی گزارش شده است و خواص آنتی‌اکسیدانی برخی از گیاهان نشان داده شده است(۱۰).

در کشور ایران به رغم فراوانی منابع طبیعی، به جوانب علمی‌گیاهان دارویی کمتر پرداخته شده است. بنابراین لزوم توجه علمی‌به این موضوع حایز اهمیت بوده و تحقیق حاضر به بخشی از آن می‌پردازد. در این مطالعه اسانس دو گونه گیاه دارویی ایران، با روش‌های علمی‌استخراج و ترکیب‌های آنها

1-Salvia Officinalis L.
2-Mentha Piperita L.
3-Butylated Hydroxy Toluene

شناسایی شد. سپس فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و رادیکال‌زدایی اسانس‌ها مورد سنجش قرار گرفته و تأثیر ضد میکروبی آنها ارزیابی گردید.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۸ در آزمایشگاه گروه بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا همدان انجام گرفت.

سویه‌های میکروبی مورد استفاده شامل؛ اشرشیاکلی[۱]، استافیلوکوکوس اورئوس[۲]، سالمونلا انتریتیدیس[۳] و لیستریا مونوسیتوژنز[۴] بودند.

گیاهان مورد استفاده، مریم گلی و نعناع فلفلی بودند که از ارتفاع پنج سانتی‌متری سطح زمین و در مرحله گلدهی کامل از مزرعه آموزشی ـ پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا همدان جمع‌آوری شدند.

نمونه‌های گیاهی جمع‌آوری شده پس از انتقال به آزمایشگاه، ابتدا از خار و خاشاک جدا شده سپس برای مدتی در محیط آزمایشگاه (دور از نور مستقیم خورشید) قرار داده شدند تا خشک شوند. قبل از اسانس‌گیری، گیاهان کاملاً خرد شده و به روش تقطیر با بخار آب[۵] اسانس‌گیری شدند. اسانس‌های حاصل به دقت وزن شده و در یخچال با درجه حرات ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

برای شناسایی ترکیب‌های اسانس‌ها از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی[۶] و گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی[۷] استفاده شد(۱۱).

شناسایی ترکیب‌ها با استفاده از شاخص‌های بازداری آنها که با تزریق هیدروکربن‌های نرمال(C۲۵_C۷) تحت شرایط یکسان با تزریق اسانس‌ها و به وسیله برنامه رایانه‌ای محاسبه شدند و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه ترپنوییدها در رایانه دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی‌انجام شد. محاسبه‌های تعیین درصد هر ترکیب به کمک داده پرداز Euro chrom 2000 به روش نرمال کردن سطح و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ مربوط به طیف‌ها انجام شد(۱۲).

برای آزمایش‌های میکروبیولوژی روش‌های استاندارد مورد استفاده قرار گرفتند و نتیجه ثبت شده، میانگین سه بار آزمایش می‌باشد. برای بررسی اثرات ضد میکروبی از دو روش انتشار[۸] و رقت[۹] استفاده شد که از میان روش‌های انتشار از روش دیسک پلیت[۱۰] و از میان روش‌های رقت از روش رقت لوله‌ای استفاده شد. در روش دیسک از دیسک‌های بلانک به قطر۶ میلی‌متر استفاده شد. از محیط کشت مولرهینتون آگار جهت این روش استفاده گردید که با روش استاندارد و به مقدار مناسب در پلیت‌ها تهیه شده بود. غلظت سوسپانسیون میکروبی به وسیله

1-E.coli (ATCC 25922)
2-S. Aureus (ATCC 25923)
3-S. Enteritidis (Clinical isolate)
4-L. Monocytogenes (PTCC 1298)
5-Steam Distillation
6-GC
7-GC/MS
8-Diffusion Test
9-Dilution Test
10-Disc-Plate Method

دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین و بر همان اساس رقت‌های مختلف تهیه شدند(۱۳).

بعد از کشت میکروب مورد نظر به صورت چمنی در سطح پلیت حاوی محیط کشت مولرهینتون آگار، دیسک‌های استریل تهیه شده را با پنس استریل روی سطح پلیت آلوده به میکروب قرار داده و بعد از تماس کامل با محیط کشت، با فاصله مناسب از یکدیگر و از لبه پلیت با میکروپیپت استریل مقدار مشخص اسانس (۵ میکرولیتر) روی دیسک‌ها ریخته شد. بعد از انجام مراحل فوق، پلیت‌ها را در داخل انکوباتور و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده و بعد از ۱۸ تا ۲۴ ساعت، قطر هاله عدم رشد به وسیله کولیس اندازه‌گیری شد(۱۳).

به کمک روش رقت لوله‌ای حداقل غلظت مهارکنندگی[۱] و حداقل غلظت کشندگی[۲]، ماده ضد میکروبی تعیین گردید. مقادیر ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میکرولیتر اسانس در ۵ میلی‌لیتر سوسپانسیون میکروبی ریخته و پس از هم زدن در انکوباتور به مدت ۲۴ـ۱۸ ساعت قرار داده شد و سپس به وسیله اسپکتروفتومتر جمعیت میکروبی تعیین شده و در نتیجه حداقل غلظت مهار کنندگی مشخص گردید. سپس از هر کدام از لوله‌ها که رشد جمعیت نشان نداده بودند، ۰/۱ میلی‌لیتر روی پلیت حاوی نوترینت آگار کشت داده شد تا حداقل غلظت کشندگی مشخص گردد(۱۳).

پس از تعیین حداقل غلظت کشندگی سوسپانسیون‌های میکروبی محتوی 10^7 باکتری تهیه و مقدار ۵۰ میکرومول اسانس برای حداقل غلظت کشندگی در ۵ میلی‌لیتر سوسپانسیون ریخته و در فواصل زمانی معین، مقدار ۱۰ میکرولیتر از هر لوله برداشته و پس از رقیق سازی به نسبت‌های ۱به ۱۰، ۱ به ۱۰۰ و ۱ به ۱۰۰۰ روی سطح محیط نوترینت آگار قرار داده و با میله شیشه‌ای استریل به طور یکنواخت گسترده شدند. پلیت‌ها را به مدت ۲۴ ساعت داخل انکوباتور گذاشته و سپس تعداد کلنی‌ها با کلنی کانتر شمارش شده با ضرب عکس رقت در تعداد کلنی‌ها، تعداد باکتری‌های زنده در هر میلی‌لیتر سوسپانسیون تعیین گردید.

حلال‌های مختلف که در اسانس‌گیری یا رقیق‌سازی اسانس‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند قبلاً در رقت‌های مختلف تهیه و تأثیر آنها روی میکروب‌های مورد مطالعه با روش‌های انتشار و رقت آزمایش شدند.

کلیه اسانس‌ها در صورت لزوم با حلال دی‌متیل‌سولفوکساید[۳] رقیق شدند. در کلیه مراحل آزمایش‌ها از دی‌متیل‌سولفوکساید به عنوان شاهد مواد ضد میکروبی استفاده شد.

ارزیابی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و رادیکال‌زدایی با استفاده از روش کاسپر[۴] انجام گرفت(۱۴).

داده های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS [۵] و آزمون‌های آماری تی[۶] و دانکن[۷] تجزیه و تحلیل گردیدند.

1-Minimal Inhibitory Concentration(MIC)
2-Minimal Bactericidal Concentration(MBC)
3-Dimethyl Sulfoxide
4-Kasper
5- Statistical Package for Social Sciences
6- T-Test
7- Duncan s' test

یافته‌ها

ترکیب‌های اسانس‌ها با دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی آنالیز شد که در نتیجه آن در اسانس مریم گلی ۲۸ ترکیب شناسایی شد که ۹۱/۵ درصد از کل اسانس را شامل می‌شد. جرماکرن D ۲۷/۵درصد، بتاکاریوفیلن ۱۵/۵ درصد، لینالول ۱۲/۵درصد، بی سیکلوجرماکرن ۹/۲ درصد، کاریوفیلن اکسید۶/۳ درصد و اسپاتولنول ۵/۷ درصد ترکیب‌های اصلی روغن اسانسی این گونه را تشکیل می‌داد. هم‌چنین بخش اعظم ۷۷/۷ درصد اسانس این گیاه را ترکیب‌های سزکوئی‌ترپنی تشکیل می‌داد. پس از سزکوئی‌ترپن‌ها، مونوترپن‌ها مهمترین ترکیب‌های این اسانس را تشکیل می‌دهند. در اسانس نعناع فلفلی ۳۷ ترکیب شناسایی شد که مهمترین آنها عبارت بودند از؛ پیپریتون اکسید ۲۱/۲ درصد، آلفا ترپینن ۲۰/۱درصد، منتول ۱۸/۶درصد، کاروئول ۱۵/۲درصد، ایزومنتون ۱۰/۱درصد و بتا کریوفیلن ۶/۹ درصد و بخش اعظم اسانس این گیاه را ترکیب‌های مونوترپنی ۸۹/۴ درصد تشکیل می‌دهند.

همان‌گونه که در جدول ۱ و ۲ نشان داده می‌شود اسانس گیاه نعناع فلفلی بیشترین تأثیر ضد باکتریایی را بر باکتری استافیلوکوکوس ارئوس و کمترین تأثیر را بر باکتری سالمونلا انتریتیدیس داشته است، هم‌چنین اسانس گیاه مریم گلی بیشترین تأثیر را بر روی باکتری لیستریا مونوسیتوژنز و کمترین تأثیر را بر روی باکتری سالمونلا انتریتیدیس داشت.

بررسی سینتیک مرگ باکتریایی در مواجهه با کمترین غلظت باکتری کشی اسانس نعناع فلفلی و مریم گلی نشان داد که اسانس‌ها قادر به کشتن تمام باکتری‌ها در فاصله زمانی ۱۵ــ ۴۵ دقیقه می‌باشند. تأثیر ضد میکروبی نعناع فلفلی قویتر از مریم گلی بود، ولی مقدار اسانس لازم برای ایجاد هاله یا تاثیر مهارکنندگی و یا اثر کشندگی بر میکروارگانیسم‌ها در یک اسانس نسبت به نوع میکروارگانیسم‌ها متفاوت بود (نمودار ۱ و ۲).

بررسی رابطه خاصیت ضد باکتریایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی و رادیکال آزادزدایی اسانس نعناع فلفلی و مریم گلی به ترتیب نشان داد که قطر هاله‌های ممانعت رشد باکتری ارتباط مستقیمی به مقدار اسانس و مدت زمان لازم برای کشتن باکتری‌ها نداشته و عوامل دیگری نیز دخالت دارند. هم‌چنین در مورد رابطه نسبت دی‌فنیل‌پیکریل هیدرازیل به هاله عدم رشد، بتا کاروتین به هاله عدم رشد و زمان مرگ باکتری، هاله عدم رشد مشخص گردید که باکتری سالمونلا انتریتیدیس بیشترین فعالیت را در اسانس‌های نعناع فلفلی و مریم گلی داشت.

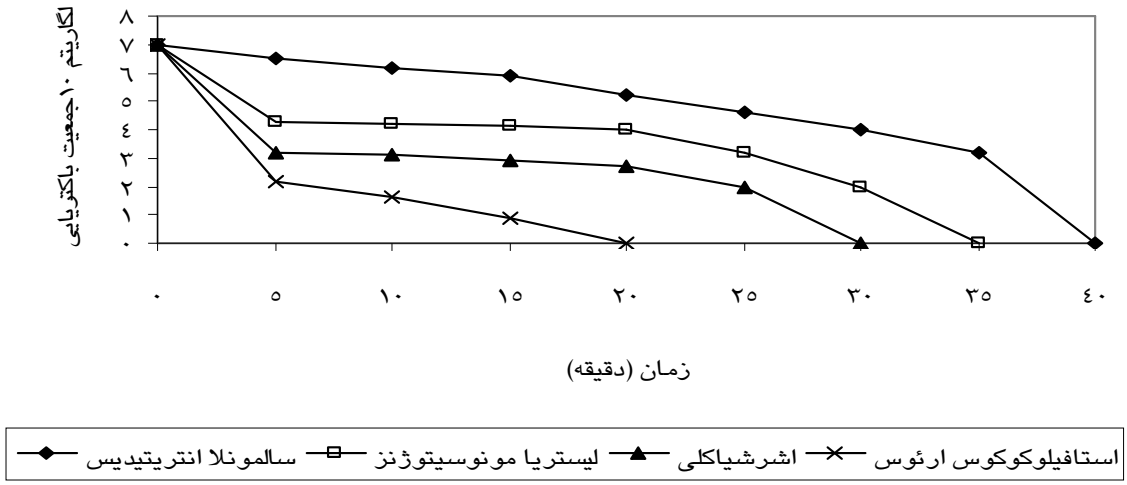
جدول ۱: تأثیر اسانس نعناع فلفلی و مریم گلی بر سویه‌های مورد آزمایش

متغیر	میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی متر)		میزان اسانس نعناع فلفلی (میکرولیتر) در ۵ میلی‌لیتر سوسپانسیون میکروبی			میزان اسانس مریم گلی (میکرولیتر) در ۵ میلی لیتر سوسپانسیون میکروبی			
سویه	نعناع فلفلی	مریم گلی	۵	۱۰	۲۰	۳۰	۵	۱۰	۲۰	۳۰
اشرشیاکلی	۱۳/۶۷±۱/۵۳	۱۱/۶۷ ± ۰/۵۸	++	+	−	−	++	+	−	−
استافیلوکوکوس ارئوس	۱۱/۶۷ ± ۱/۱۵	۱۴/۳۳ ± ۱/۵۳	++	+	−	−	++	+	−	−
سالمونلا انتریتیدیس	۹± ۰	۹/۳۳ ± ۰/۵۸	+++	++	+	−	+++	++	+	−
لیستریا مونوسیتوژنز	۱۱/۶۷ ± ۱/۵۳	۲۸/۶۷ ± ۲/۳۱	+++	++	+	−	+	+	−	−

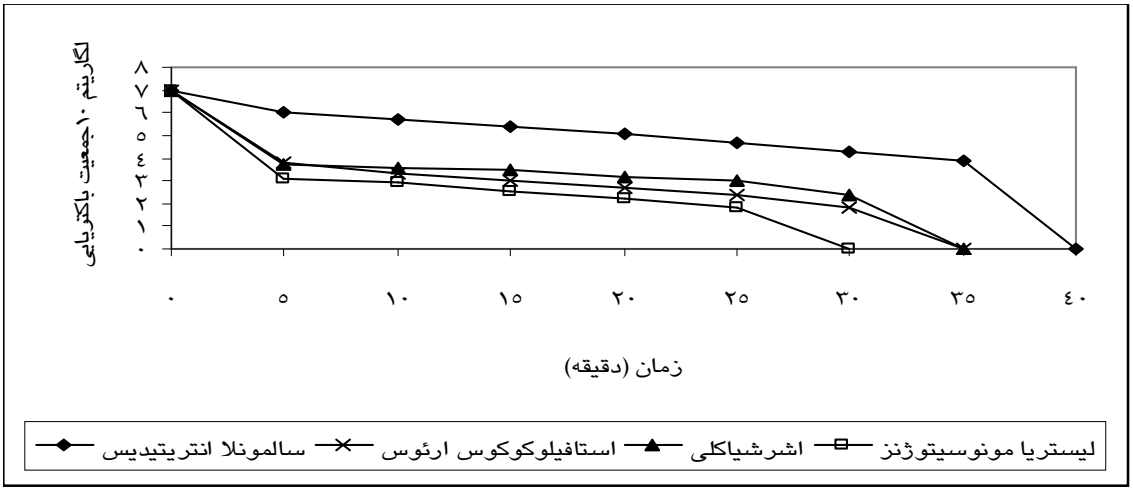
رشد بسیار خوب = ++++ رشد خوب= +++ رشد متوسط = ++ حداقل غلظت مهار کنندگی = + حداقل غلظت کشندگی = −

جدول ۲: مقایسه حداقل غلظت مهار کنندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس گیاهان نعناع فلفلی و مریم گلی بر سویه‌های مورد آزمایش

متغیر	نعناع فلفلی		مریم گلی	
سویه	حداقل غلظت مهار کنندگی	حداقل غلظت کشندگی	حداقل غلظت مهار کنندگی	حداقل غلظت کشندگی
اشرشیاکلی	۱۳	۲۴	۱۵	۲۹
استافیلوکوکوس ارئوس	۲۱	۴۱/۵	۱۵	۳۰
سالمونلا انتریتیدیس	۴۴	۷۶	۳۸	۶۵
لیستریا مونوسیتوژنز	۲۱	۴۰	۵/۵	۵/۵



نمودار ۱: سینتیک مرگ باکتریایی در مواجهه با کمترین غلظت باکتری کشی اسانس نعناع فلفلی



نمودار ۲: سینتیک مرگ باکتریایی در مواجهه با کمترین غلظت باکتری کشی اسانس مریم گلی

بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی، ۸۰ درصد از مردمی که در کشورهای توسعه یافته زندگی می‌کنند کم و بیش برای درمان از گیاهان دارویی استفاده می‌نمایند. این مسئله سبب می‌گردد تا بررسی دقیق‌تری در مورد اثرات درمانی و بی‌خطر بودن مصرف گیاهان دارویی انجام شود. در این میان مقاومت میکروبی روز افزون نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های موجود سبب می‌گردد در جهت یافتن ترکیبات ضد میکروبی جدید، گیاهان نیز مورد بررسی قرار گیرند. گیاهان خانواده نعناع به سبب وجود ترکیبات ترپنوئیدی گوناگون، اسانس و ترکیبات فنلی به خصوص فلاونوئیدها از لحاظ اثرات ضد میکروبی بسیار مورد توجه می‌باشند (۱۶و۱۵)، لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی فعالیت بیوشیمیایی و ضد میکروبی روغن‌های اسانسی مریم گلی و نعناع فلفلی بود.

نتایج نشان داد که میکروارگانیسم‌های لیستریا مونوسیتوژنز، اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا انتریتیدیس به ترتیب نسبت به اسانس‌ها حساسیت نشان دادند. اسانس‌های هر دو گیاه خاصیت کشندگی و مهارکنندگی میکروبی خوبی نشان دادند. تأثیر ضد میکروبی نعناع فلفلی قوی‌تر از مریم گلی بود، ولی مقدار اسانس لازم برای ایجاد هاله یا تأثیر مهارکنندگی و یا اثر کشندگی بر میکروارگانیسم‌ها در یک اسانس نسبت به نوع میکروارگانیسم‌ها متفاوت بود که این تفاوت نشان دهنده اثربخشی متفاوت ترکیب‌های مختلف شیمیایی اسانس‌ها بر میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. تأثیر بازدارندگی رقت‌های مختلف روغن‌های اسانسی بر رشد میکروارگانیسم‌ها نشان داد که باکتری‌ها حساس‌تر از سایر میکروارگانیسم‌ها هستند که این نتیجه منطبق با نتایج مطالعه سینگ[1](۲۰۰۰) می‌باشد(۱۷).

سینتیک باکتریسیدال اسانس‌ها نشان داد که اسانس‌ها قادر به کشتن تمام باکتری‌ها در فاصله زمانی۴۵ـ ۱۵دقیقه می‌باشند. در مقایسه با تأثیرپذیری کمتر باکتری‌های اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس تحت تأثیر روغن اسانسی پونه(۱۸)، در این مطالعه باکتری‌های فوق به شدت تحت تأثیر اسانس‌های مورد مطالعه قرار گرفتند.

نتایج این مطالعه نشان داد که قطر هاله‌های ممانعت رشد باکتری ارتباط مستقیمی با مقدار اسانس و مدت زمان لازم برای کشتن باکتری‌ها نداشته و عوامل دیگری نیز دخالت دارند. بنابراین می‌توان استنباط نمود که اندازه قطر هاله‌های عدم رشد دقیقاً نمی‌تواند بیانگر حداقل غلظت مهار کنندگی یا حداقل غلظت کشندگی باشد و برای تعیین میزان حساسیت هر میکروارگانیسم به هر ماده ضد میکروبی، تعیین قطر هاله و حداقل غلظت مهار کنندگی و حداقل غلظت

1-Sing

کشندگی لازم است. این اختلاف تأثیر روغن‌های فرار بر عوامل بیماری‌زا، نشان دهنده اثربخشی مختلف ترکیب‌های شیمیایی متفاوت در اسانس هر گیاه است و این اختلاف در گیاهان مختلف و گونه‌های متفاوت بیشتر می‌شود که نشان دهنده وابستگی اثر دارویی به ترکیب‌های شیمیایی اسانس‌ها و شرایط اقلیمی گیاهان و حتی احتمال موارد استفاده دارویی گوناگون یک گونه گیاهی می‌باشد(۱۹).

به نظر می‌رسد بیشترین خاصیت ضد میکروبی در کلیه اسانس‌های مورد مطالعه از ترکیب‌های مونوترپنی ناشی می‌شود(۲۰). براساس یک مطالعه، برخی هیدروکربن‌های مونوترپنی مثل پینن و بورنئول کمترین تأثیر ضد میکروبی را دارند (۲۱). بررسی هاله عدم رشد میکروبی و حداقل زمان لازم برای کشتن میکروارگانیسم‌ها نشان می‌دهد که اندازه قطر هاله عدم رشد ارتباط چندانی با سینتیک میکروب‌کشی آن ندارد. همان‌طوری که در این مطالعه نشان داده شد، هرچند قدرت ضد میکروبی اسانس‌ها بیشتر بود، ولی در تست انتشار، گاه هاله‌هایی با قطر کمتر، ولی قدرت میکروب‌کشی بیشتر دیده می‌شد که این موضوع با نظر پاندی و همکاران[1] (۱۹۹۶) مطابقت دارد (۷).

بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها نشان داد که اسانس‌های تحت مطالعه دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی مساوی یا برتر در مقایسه با آنتی‌اکسیدان شیمیایی بوتیلیتد هیدروکسی تولوئن هستند و در مطالعه خواص رادیکال‌زدایی اسانس‌های مورد مطالعه نتیجه‌ای عکس آزمایش بتا کاروتین حاصل شد. این تفاوت‌ها به دلیل به کارگیری روش‌های مختلف آزمایش دور از انتظار نیست. پراکسیداسیون لیپید فرآیند پیچیده‌ای در سلول‌های هوازی است و بیانگر برهم کنش بین اکسیژن مولکولی و اسیدهای چرب اشباع نشده است(۲۰). نتایج مطالعه اخیر نشان داد که نسبت خواص آنتی‌اکسیدانی به خاصیت ضد میکروبی با هر دو روش به کار گرفته شده در خصوص اسانس مریم گلی به طور موازی است و بنابراین ضمن تأیید خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس مریم گلی ارتباط مستقیم بین این خاصیت با قدرت ضد میکروبی آن به دست می‌آید.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان از قدرت مهار کنندگی، ضد باکتریایی و ضد اکسیدانی بالای اسانس گیاهان نعناع فلفلی و مریم گلی کشت شده در شرایط اکولوژیکی همدان بر میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش دارد. اثر اسانس این گیاهان را می‌توان به ترکیب‌های مونوترپنی موجود در ترکیبات شیمیایی این گیاهان نسبت داد که اثر ضد میکروبی این ترکیب‌ها به اثبات رسیده است(۲۰). بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق و محدودیت‌های روز افزون استفاده از مواد شیمیایی ضد میکروبی نظیر عوارض جانبی و ایجاد مقاومت دارویی و

1- Pandey et al

هم‌چنین موارد حساسیت نسبت به نگهدارنده‌های سنتتیک نیاز به جایگزینی این مواد با مواد طبیعی و اسانس‌های گیاهی احساس می‌شود که این مسئله می‌تواند زمینه‌ساز مطالعه‌های آتی برای جایگزینی مواد فوق در جهت حفظ مواد خوراکی و کنترل بیماری‌ها باشد.

تقدیر و تشکر

از مرکز جهاد دانشگاهی کرج که آنالیز اسانس‌های این مطالعه را بر عهده داشتند و همچنین از دکتر بهمن شریفی که در انجام این مطالعه همکاری کردند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

Biochemical and Antimicrobial Activities of Salvia Officinalis L. and Mentha Piperita L. Essential oils

Izadi Z[*], **Ahmadvand G** [**], **Esna-Ashari M** [***], **Piri KH** [****], **Davoodi P** [*****].

*MSc in Agronomy, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.
**Assistant Professor of Agronomy, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.
***Associate Professor of Horticultural Sciences, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.
****Associate Professor of Biotechnology, Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.
*****Assistant Professor of Oval Medicine, Department of Oval Medicine, Dental Faculty, Medical University, Hamedan, Iran.

Received: 31/01/2010
Accepted: 14/03/2010

Corresponding Author: Ahmadvand G
Email: g.ahmadvand@basu.ac.ir

ABSTRACT:

Introduction & Objective: Although antibiotics are used in conventional treatment of infectious diseases, a lot of unexpected side effects along with resistance to antibiotics appear. Salvia officinalis and Mentha piperita are plants found abundantly in most parts of Iran. In the present study, we extracted and identified the chemical compounds of the essential oils of Salvia officinalis and Mentha piperita. Moreover, the anti-oxidative property, free radical scavenging capacity, and antimicrobial activities of the essential oils of these plants were studied.

Materials & Methods: This study was conducted in the Biotechnology Department laboratories, Agricultural Faculty of Avicina University, Hamadan, Iran, in 2009. The aerial parts of Salvia officinalis and Mentha piperita were harvested in summer, when the plants were in their full blooming stage and dried in the shade. The essential oil of the aerial parts was extracted by hydro-distillation and was analyzed by capillary GC and GC/MS method. The micro-organisms employed in this study were: E. coli, S. aureus, S. enteritidis, L. monocytogenes. By employing disc diffusion and tube dilution methods, antimicrobial effects of the oils were studied. Antioxidative property, free radical scavenging capacity, and antimicrobial activities of the oils were also studied.

Results: Chemical analysis of the extracts resulted in the identification of 28 and 37 compounds in the essential oils of Salvia officinalis and Mentha piperita respectively. The sensitivity of the bacteria to the oils in order of decreasing the sensitivity was L. monocytogenes, E. coli, S. aureus, and S. enteritidis. The antibacterial properties of the essential oil from Mentha piperita leaves were higher than the oil of Salvia officinalis leaves. Also inhibitions zones of microbial growth were not correlated with the microbicidal kinetics of the oils.

Conclusion: This study showed that the herbal essences of Salvia officinalis and Mentha piperita are very active against E. coli, S. aureus, S. enteritidis and L. monocytogenes.

Key words: Salvia officinalis L, Mentha piperita L, Essential oils, Antioxidan

REFERENCES:

1.Arrieta J, Reyes B, Calzada F, Cedillo-Rivera R, Navarrete A. Amoebicidal and giardicidal compounds from the leaves of Zanthoxylum liebmannianum. Fitoterapia 2001; 72(3): 295-7.
2.Ciani M, Menghini L, Mariani, F, Pagiotti R, Menghin A, Fatichenti F. Antimicrobial properties of essential oil of Satureja Montana L. On pathogenic and spoilage yeasts. Biotechnology Letters 2000; 22(12): 1007-10.
3.Ngo BE, Schmutz M, Meyer C, Rakoronirina A, Bopelet M, Portet C, Jeker A, Rakotoniria SV, Olpe HR, Herrling P. Anticonvulsant properties of the methanolic extract of Cyperus articulatus (Cyperaceae). Journal of Ethnophamacology 2001; 76(2): 145-50
4.Vikrant V, Grover JK, Tandon N, Rathi SS, Gupta N. Treatment with extracts of Momoridca charantia and Eugenia jambolana prevents hyperglycemia and hyperinsulinemia in fructose fed rats. Journal of Ethnopharmacology 2006; 76(2): 139-43.
5.Khan MR, Kihara M, Omoloso AD. Antimicrobial activity of Harpulliua ramiflora. Fitoterapia 2003a; 72(3): 298-300.
6.Khan MR, Kihara M, Omoloso AD. Antimicrobial activity of picrasma javanica. Fitoterapia 2003b; 72(4): 406-8.
7.Pandey MC, Sharma JR, Dikshit A. Antifungal evaluation of the essential oil of cymbopogon pendulus (Nees ex st. eud) wats. Flavour and Fragrance Journal 1996; 11: 257-60.
8.Bishop CD, Thronton IB. Evaluation of the antifungal activity of the essential oils of Monarda citriodora var. Citriodora and Melaleuca alternifolia on post harvest pathogens. Journal of Essential Oil Research 1997; 9: 77-82.
9.Narmiki M. Antioxidants/ antimutagens in food. Critical Review in Food Science Nutrition 1996; 32: 273-300.
10.Aruoma OI. Nurtition and health aspects of free radicals and antioxidants. Food Chemistry and Toxicology 2009 142: 671-83.
11.Davis NW. Gas Chromatographic Retention index of Monoterpenes and Sesquiterpenes on Methyl silicone and Carbowax 20 M phases. Journal of Chromatography 1999; 513: 1-24.
12.Adams R. Identification of essential oil components by gas chromatography mass spectroscopy. 1th ed. Paris: Illinois Allured Publication; 2001; 400-51.
13.Williams SA. Baterial susceptibility and chemical composion of essential oils from Thymus kotschyanus and Thymus persicus. J Agre Food Chem 2003; 51: 2200-5.
14.Kasper L. Identification and bacteriostatic activity of the essential oil of Lamium graganium. Phytovhemistry 2007; 67(12): 1249-55.
15. Zargari A. Medicinal Plants. 6th ed. Tehran: Tehran University; 1999; 256-9.
16.Clark IV, Cameron GC. An aroma chemical profile. Menthol Perfumer and Flavorist 2002; 23(4): 33-46.
17.Sing M. Antibacterial activities of essential oils from Turkish spices and citrus. Flavour and Fragrance Journal 2000; 31: 175-9.
18.Haznedaroglu MZ, Karabay U. Zaybek U. Antibacterial activity of mentha spicata L. Essential oil. Fitoterapia 2001; 72: 829-31.
19.Chi KS, Lawrence, MB. Reasons for the variation in composition of some commercial essential oils. 1th ed. USA: Facts and Comparosons; 1999; 138-59.
20.Lis-Balchin M, Deans SG, Eaglesha E. Relationship between bioactivity and chemical composition of commercial essential oils. Flavour and Fragrance Journal 2006; 113: 98-104.
21.Dorman HJD, Deans, SG. Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology 2002; 88: 308-16.