

اثرات ضد میکروبی روغن‌های فرار چند گونه گیاه دارویی بر باکتری کلستریدیوم پرفرنجنس

مجتبی بنیادیان^{۱*}، عبدالله قاسمی^۲، فرشید فتاحی^۳

۱- دانشیار، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، پژوهشکده بیماری‌های مشترک، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

۲- استادیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد

۳- دانش‌آموخته دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد

*آدرس مکاتبه: شهرکرد، کیلومتر ۲ جاده سامان، دانشگاه شهرکرد، دانشکده دامپزشکی صندوق پستی: ۱۱۵

تلفن و نمابر: ۴۴۲۴۴۲۷ (۰۳۸۱)

پست الکترونیک: Boniadian@vet.sku.ac.ir

تاریخ تصویب: ۹۰/۵/۲۹

تاریخ دریافت: ۸۹/۱/۲۵

چکیده

مقدمه: کلستریدیوم پرفرنجنس از جمله عوامل باکتریایی بیماری‌زا در حیوانات می‌باشد از طرف دیگر این باکتری یکی از عوامل مهم مسمومیت‌های غذایی در انسان نیز است.

هدف: مطالعه حاضر برای بررسی اثر ضد میکروبی روغن‌های فرار گیاهان آویشن دناپی، گل راعی دیهیمی و انیسون بر باکتری کلستریدیوم پرفرنجنس در شرایط آزمایشگاهی صورت گرفت.

روش بررسی: پس از استخراج روغن‌های فرار از گیاهان به روش تقطیر با بخار آب، ابتدا به روش چاهک در محیط آگار مغذی و فرار دادن روغن‌های فرار گیاهان به طور خالص به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر در چاهک، قطر منطقه ممانعت از رشد باکتری با کولیس اندازه‌گیری شد. در مرحله دوم به روش رقیق‌سازی در لوله حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد باکتری (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MBC) روغن‌های فرار مورد ارزیابی قرار گرفتند.

نتایج: روغن‌های فرار گیاه انیسون تأثیری بر روی رشد و بقاء باکتری کلستریدیوم پرفرنجنس نداشت، ولی MIC در ارتباط با روغن‌های فرار گیاهان آویشن دناپی و گل راعی دیهیمی برای باکتری کلستریدیوم پرفرنجنس به ترتیب ۵ و ۱۵ درصد تعیین شد. در ارتباط با حداقل غلظت کشندگی، روغن‌های فرار آویشن دناپی و گل راعی دیهیمی به ترتیب در غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ درصد موجب غیرفعال شدن باکتری شدند.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج مطالعه حاضر می‌توان از روغن‌های فرار به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در مواد غذایی و یا به عنوان یک ترکیب ضد میکروبی برای عفونت‌های ناشی از این باکتری استفاده کرد.

کل واژگان: کلستریدیوم پرفرنجنس، آویشن دناپی، گل راعی دیهیمی، انیسون، خاصیت ضد میکروبی



مقدمه

استفاده از گیاهان و ترکیبات آنها از زمان‌های گذشته برای درمان بیماری‌های مورد استفاده قرار گرفته است و اساس طب سنتی اغلب کشورها بر پایه استفاده از گیاهان پی ریزی شده است. امروزه با وجود پیشرفت‌های زیادی که در علوم دارویی صورت گرفته است نه تنها گیاهان و خواص درمانی آنها فراموش نشده است بلکه شاهد توجه روز افزون دانشمندان به خواص درمانی و نگهدارندگی گیاهان یا ترکیبات به دست آمده از آنها هستیم. از جمله دلایل این اقبال روزافزون به گیاهان طبیعی بودن آنها و پایین بودن عوارض نامطلوب نسبت به داروهای شیمیایی می‌باشد. از جمله ترکیبات گیاهی که بسیار مورد توجه محققان است روغن‌های فرار می‌باشند.

روغن‌های فرار ترکیبات پیچیده‌ای هستند که مخلوطی از استرها، الکل‌ها، آلدئیدها، تریپن‌ها و استن می‌باشند. این ترکیبات وزن مولکولی کمی دارند و تا اندازه‌ای در آب حل می‌شوند. تقطیر با آب، تقطیر با بخار آب و جداسازی با بخار از روش‌های مرسوم استخراج روغن‌های فرار است [۱].

آویشن دناپی با نام علمی *Thymus daenensis* گیاه آروماتیک از خانواده نعناعیان یا لابیاسه می‌باشد. ساقه در این گیاه حالت فیبری کوچک و در قسمت پایین به صورت چوبی است. تعداد ساقه گل دهنده در این گیاه ۲۵ تا ۶۰ عدد متغیر است. ارتفاع ساقه گل دهنده حداکثر تا ۳۰ سانتی‌متر می‌رسد. برگ‌ها معمولاً تخم‌مرغی کشیده و در نیمه پایین حالت پهن دارند. کاسه گل لوله‌ای تا استکانی است، جام گل به رنگ قرمز و ۵ تا ۶ میلی‌متر طول دارد. ترکیبات ضدباکتری عصاره گیاه را می‌توان به ۲ دسته فنولی و غیرفنولی تقسیم کرد. تیمول و کارواکرول از تشکیل‌دهنده‌های مواد فنولی و از تشکیل‌دهنده‌های غیرفنولی می‌توان به لینالول اشاره کرد. از آویشن دناپی در طب قدیم به عنوان ضدانگل، ضدنفخ، اشتهاآور و آرام‌بخش استفاده می‌شد [۲].

انیسون یا بادیان رومی با نام علمی *Pimpinella anisum* گیاهی از تیره چتریان است. گیاهی یکساله، دارای ارتفاع ۳۰ تا

۶۰ سانتی‌متر، برگ‌های مرکب شانه‌ای و بسیار باریک و گل‌های سفید رنگ کوچک می‌باشد. از ترکیبات ضدباکتریایی می‌توان به الکل موجود در دانه‌های گیاه و ترکیبات مونوترپن، پلی استیلن و فنیل پرونائوئید موجود در ریشه‌های کرک‌دار گیاه اشاره کرد. گیاه انیسون به عنوان ضداسپاسم، هضم‌کننده، افزایش شیر مادران و در درمان سرفه و سرماخوردگی کاربرد دارد [۳].

گل راعی دیهیمی با نام علمی *Hypericum scabrum* از خانواده گل راعی یکی از گیاهان دارویی مهم در قرن ۲۱ است به طوری که به این گیاه لقب بوته شفابخش نیز اطلاق می‌شود. گیاهی یک پایه، دارای برگ‌های متراکم، ساقه قرمز رنگ به ارتفاع ۳۰ تا ۵۰ سانتی‌متر و گل‌های زرد رنگ است. ترکیبات ضدباکتریایی گیاه شامل *Alphipinene Hyperforin* و *Acetaphonone Hypericin* می‌باشد. از این گیاه برای درمان افسردگی‌ها و سرطان و همچنین به عنوان یک ماده ضدعفونی‌کننده در سوختگی‌ها استفاده می‌شود [۴].

کلستریدیوم‌ها مهم‌ترین باسیل گرم مثبت بی‌هوازی، اسپورزا، متحرک و اجرام میله‌ای نسبتاً بزرگ و چند شکلی می‌باشند. هاگ باکتری کروی و بیضی شکل و محل قرار گرفتن آنها معمولاً انتهایی و تحت انتهایی است. هاگ باکتری نه تنها در مقابل حرارت و مواد ضدعفونی‌کننده مقاوم است بلکه به مدت طولانی در حضور اکسیژن زنده می‌ماند. این جنس واجد بیش از ۸۰ گونه می‌باشد [۵].

آنتروتوکسمی ناشی از کلستریدیوم پرفرنزوس (*Clostridium perfringence*) یک عامل شایع مسمومیت غذایی در انسان می‌باشد. همچنین این باکتری بی‌هوازی در ایجاد گانگرن گازدار در انسان دخالت دارد، ولی اغلب اوقات با انواع دیگری از باکتری‌های این گروه مخلوط است و توأمآ این عارضه را ایجاد می‌کند [۶].

این باکتری پس از مرگ انسان و حیوانات، جزء اولین گروه باکتری‌هایی است که به بافت‌های مختلف جسد هجوم می‌برد و موجب گندیدگی آن می‌شود. این باکتری به طور

سایه خشک و در نهایت به قطعات ۱ تا ۳ سانتی متری آسیاب شد.

میزان مشخصی از ماده خشک گیاهان به مدت ۲ ساعت در آب مقطر خیسانده شد و روغن‌های فرار آن به روش تقطیر با بخار آب (Distillation Steam) در شرایط خلا استخراج شد [۷]. در داخل بالن جهت جلوگیری از افزایش دما به بیش از ۷۰ درجه سانتی‌گراد، دماسنج جیوه‌ای تعبیه شد. قابل ذکر است که با استفاده از تنظیم دمای هیتر با قرائت دماسنج و همچنین استفاده از پمپ خلا از افزایش دما به بیش از ۷۰ درجه سانتی‌گراد و تخریب ساختمان روغن‌های فرار جلوگیری به عمل آمد. روغن‌های به دست آمده توسط فیلتر غشایی ۰/۴۵ میکرون سترون و تا قبل از اعمال تیمارهای آزمایشی در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد و در ظروف شیشه‌ای تیره نگهداری شدند (جدول شماره ۱).

آزمایش‌ها برای تعیین اثر ضد میکروبی روغن‌های فرار گیاهان بر روی باکتری کلوستریدیوم پرفرنژنس

روش چاهک: پس از انجام کشت باکتری بر روی پلیت حاوی آگار مغذی (Neutrient Agar) (مرک آلمان)، توسط پیپت پاستور استریل چاله‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر ایجاد کرده و ۰/۱ میلی‌لیتر از روغن‌های فرار گیاه مورد نظر به طور خالص به چاهک اضافه شد. پس از قرار دادن پلیت‌ها داخل جار بی‌هوایی به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند. سپس قطر هاله عدم رشد باکتری با کولیس اندازه‌گیری شد. آزمون‌ها در این روش در سه تکرار انجام شد.

گسترده در خاک وجود دارد و جزئی از فلور طبیعی دستگه گوارش انسان و تقریباً تمام حیوانات خونگرم می‌باشد.

چهار گروه اصلی توکسین این باکتری شامل آلفا، بتا، اپسیلون و یوتا می‌باشد که اساس طبقه‌بندی کلوستریدیوم پرفرنژنس، پنج تیپ مختلف از A تا E را تشکیل می‌دهند [۵]. مسمومیت ناشی از این باکتری در انسان و حیوانات درمان دارویی خاصی نداشته و بیشترین اقدامات به منظور پیشگیری از بروز این نوع مسمومیت صورت می‌گیرد. لذا استفاده از گیاهان یا ترکیبات آنها به عنوان مواد ممانعت‌کننده از رشد این باکتری در مواد غذایی می‌تواند به میزان زیادی از بروز این نوع مسمومیت‌ها پیشگیری کند.

بر این اساس مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات ضد میکروبی روغن‌های فرار ۳ گونه گیاه دارویی و بومی استان چهارمحال و بختیاری شامل آویشن دنايي، انیسون و گل راعی دیهیمی بر روی باکتری کلوستریدیوم پرفرنژنس در شرایط آزمایشگاهی طراحی و به اجرا گذارده شد.

مواد و روش‌ها

روغن‌های فرار

سه گونه گیاهی شامل میوه انیسون به صورت محصول زراعی کشت شده از اطراف اصفهان در اوایل تابستان، اندام هوایی آویشن دنايي از منطقه قرق شده تنگه صیاد در استان چهارمحال و بختیاری و اندام هوایی گل راعی دیهیمی از مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی و منابع طبیع استان اصفهان در اوایل خرداد جمع‌آوری شدند. سپس به مدت یک هفته در شرایط

جدول شماره ۱ - میزان و مشخصات روغن‌های فرار به دست آمده از ۳ گونه گیاه آویشن دنايي، انیسون و گل راعی دیهیمی

عصاره	میزان	مشخصات
آویشن دنايي	۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر + ۱۰۰ گرم اندام هوایی	محلول زردرنگ با بوی نافذ مطلوب
انیسون	۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر + ۱۵۰ گرم اندام هوایی	محلول سفید و شیرینی رنگ با بوی ملایم
گل راعی دیهیمی	۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر + ۱۵۰ گرم اندام هوایی	محلول قهوه ای رنگ با بوی تند و زننده



نتایج

نتایج آزمون‌ها در روش چاهک نشان داد که پس از ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری پلیت‌ها در شرایط بی‌هوایی، باکتری در سراسر محیط کشت آگار مغذی حاوی روغن‌های فرار گیاه انیسون رشد کرده و اطراف چاهک را کاملاً پوشانده بود، به طوری که هاله عدم رشد باکتری مشاهده نشد. ولی روغن‌های فرار گیاهان آویشن دنایی و گل راعی دیهیمی خاصیت ضد میکروبی علیه باکتری کلستریدیوم پرفرنزنس از خود نشان دادند و میانگین هاله عدم رشد باکتری برای روغن‌های فرار گیاهان آویشن دنایی و گل راعی به ترتیب به قطر $0/2 \pm 8/1$ و $0/15 \pm 6/03$ میلی‌متر بود (جدول شماره ۲).

نتایج آزمون‌ها برای تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد و حداقل غلظت کشنده روغن‌های فرار نشانگر این بود که روغن‌های فرار گیاه انیسون حتی تا غلظت ۵۰ درصد نیز از رشد باکتری ممانعت نکرد ولی روغن‌های فرار گیاه آویشن دنایی در غلظت ۵ درصد از رشد باکتری ممانعت نمود و در غلظت ۲۰ درصد اثر کشندگی بر روی هاگ باکتری از خود نشان داد در صورتی که این نتایج برای روغن‌های فرار گل راعی دیهیمی به ترتیب برابر ۱۵ و ۴۰ درصد مشاهده شد (جدول‌های شماره ۳ و ۴).

بحث

گیاهان اولین ترکیباتی بودند که توسط انسان به عنوان دارو مورد استفاده قرار گرفتند و در طی زمان اثرات دارویی خود را به خوبی نشان دادند. در زمان حاضر نیز اگر چه ترکیبات دارویی متفاوت برای درمان بیماری‌ها کشف شده است ولی رویکرد جدیدی به اثرات دارویی گیاهان شده است. به خصوص اثرات ضد میکروبی گیاهان مورد اقبال بیشتری قرار گرفته به طوری که متخصصان میکروشناسی چه بالینی و چه مواد غذایی مطالعات متفاوتی را بر روی گیاهان مناطق مختلف انجام داده و به اثرات ضد میکروبی آنها اشاره نموده‌اند.

روش تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد

(Minimum Inhibitory Concentration) (MIC):

برای به دست آوردن حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد باکتری هریک از روغن‌های فرار، از روش رقت‌سازی در لوله‌های آزمایش استفاده شد. تعداد ۳۰ عدد لوله آزمایش استریل در ۳ تکرار ۱۰ تایی در نظر گرفته شد و محیط کشت مایع تیوگلیکولات (Tioglycolate) (مرک آلمان) به میزان ۱ میلی‌لیتر به هر لوله آزمایش اضافه شد. سپس ۱ میلی‌لیتر شیرابه حاوی باکتری به محیط کشت مایع تلقیح شد به نحوی که در هر میلی‌لیتر محیط 10^6 باکتری وجود داشته باشد. اولین لوله آزمایش در هر تکرار فاقد روغن‌های فرار گیاه بوده و به عنوان لوله شاهد برای رشد باکتری و میزان کدورت مورد بررسی قرار می‌گرفت.

از لوله دوم به بعد غلظت‌های مختلف روغن‌های فرار گیاهان بر حسب درصد حجم به حجم از ۱ در صد اضافه شد و در جار بی‌هوایی برای مدت ۲۴ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت سری لوله‌ها از سمت لوله شاهد مورد بررسی قرار گرفتند. غلظت اولین لوله فاقد کدورت که باکتری در آن رشد نکرده بود به عنوان حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد باکتری (MIC) در نظر گرفته شد [۸].

روش تعیین حداقل غلظت کشنده (MBC)

(Minimum Bacteriocidal Concentration): برای

محاسبه حداقل غلظت کشنده روغن‌های فرار گیاهان، از اولین لوله فاقد رشد باکتری به بعد، $0/1$ میلی‌لیتر برداشت کرده و بر روی محیط جامد آگار مغذی کشت داده شد و با قرار دادن پلیت‌ها در جار بی‌هوایی و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری انجام گرفت.

پس از آن اولین پلیت فاقد پرگنه باکتری به عنوان حداقل غلظت کشنده (MBC) که قادر است هاگ باکتری را غیرفعال کند، در نظر گرفته شد.

اطلاعات به دست آمده از آزمون‌ها توسط نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و نتایج در غالب جدول‌ها به طور توصیفی آورده شده است.



جدول شماره ۲- نتایج تعیین حساسیت باکتری کلستریدیوم پرفرنژنس توسط روغن‌های فرار گیاهان مورد مطالعه به روش چاهک

تکرار	گروه	قطر منطقه ممانعت از رشد باکتری (میلی‌متر)		
		شاهد	انیسون	گل راعی
۱		۰	۰	۵/۹
۲		۰	۰	۶/۲
۳		۰	۰	۶
	میانگین ± انحراف معیار	۰	۰	۶/۰۳ ± ۰/۱۵
				آویشن دنایی
				۸/۱
				۷/۹
				۸/۳
				۸/۱ ± ۰/۲

جدول شماره ۳- حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) رقت‌های مختلف روغن‌های فرار گیاهان انیسون، آویشن دنایی و گل راعی دیهیمی بر روی

باکتری کلستریدیوم پرفرنژنس

روغن‌های گیاهان	رشد باکتری در رقت‌های مختلف روغن‌های فرار (درصد)										
	۰	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵	۳۰	۳۵	۴۰	۴۵	۵۰
انیسون	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
آویشن دنایی	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
گل راعی دیهیمی	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

+ = رشد باکتری - = عدم رشد باکتری

جدول شماره ۴- حداقل غلظت کشندگی (MBC) رقت‌های مختلف روغن‌های فرار گیاهان انیسون، آویشن دنایی و گل راعی دیهیمی بر روی باکتری

کلستریدیوم پرفرنژنس

روغن‌های گیاهان	رشد باکتری در رقت‌های مختلف روغن‌های فرار (درصد)										
	۰	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵	۳۰	۳۵	۴۰	۴۵	۵۰
انیسون	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
آویشن دنایی	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
گل راعی دیهیمی	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-

+ = رشد باکتری - = عدم رشد باکتری

در یک بررسی توسط صادق‌زاده و همکاران اثر ضد میکروبی عصاره آویشن با غلظت‌های ۱، ۲/۵ و ۵ درصد به روش دیسک منتشر بر روی رشد دو نوع باکتری سالمونلاپاراتیفی (A و B) با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد نشان داده شد [۱۰].

بنیادبان در مطالعات خود اثر ضد میکروبی عصاره روغنی گیاه آویشن (*Thymus vulgaris*) را بر روی باکتری‌های *S. aureus* و *E. coli* در محیط آزمایشگاهی و همچنین در پنی‌ر به اثبات رسانید [۱۱، ۱۲].

طبق پژوهشی در ترکیه، اوزلم تورگی اثر ضد میکروبی عصاره ریشه‌های کرک دار گیاه انیسون را بر روی دو باکتری میکروکوکوس لوتئوس و مایکوباکتریوم اسمگماتوس مثبت ارزیابی کرد و آن را مربوط به ترکیب الکل تشکیل‌دهنده عصاره انیسون دانست [۹].

امروزه عصاره گیاهان انیسون به عنوان ضد اسپاسم در دنیا مورد استفاده قرار می‌گیرد، ولی عصاره میوه این گیاه با توجه به نتایج مطالعه حاضر هیچ‌گونه اثر ضد میکروبی علیه باکتری کلستریدیوم پرفرنژنس ندارد.



مایکوباکتریوم اسمگماتوس، لیستریا مونوسیتوزنز، کلبسیلا پنومونیا، استافیلوکوکوس آرنوس و پزودموناس آئروژناز با هاله عدم رشد مشخص شد. شایان ذکر است ترکیب نیدروکسید سدیم موجود در عصاره بیشترین تأثیر ضد میکروبی علیه باکتری های مذکور را نشان می دهد [۴].

با توجه به نتایج مطالعه حاضر بر روی روغن های فرار گیاه گل راعی دیهیمی و آویشن دناپی، هر سه روش چاهک، حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC)، اثر ضد میکروبی روغن های فرار گیاهان آویشن دناپی و گل راعی را بر روی باکتری کلستریدیوم پرفرنزنس تأیید می کند به طوری که اثر ضد میکروبی آویشن دناپی بیشتر از گل راعی بود ولی روغن های فرار گیاه انیسون خاصیت ضد میکروبی قابل توجهی علیه باکتری مذکور نشان نداد. بر این اساس شاید بتوان از روغن های فرار گیاهان آویشن دناپی و گل راعی دیهیمی به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در مواد غذایی برای پیشگیری از مسمومیت و یا به عنوان یک ترکیب ضد عفونی کننده در عفونت های ناشی از باکتری کلستریدیوم پرفرنجنس استفاده کرد. لذا پیشنهاد می شود مطالعات دیگری در محیط غذا و بافت های عفونی به منظور حصول اطمینان از اثرات ضد میکروبی روغن های فرار این گیاهان بر روی باکتری کلستریدیوم پرفرنجنس طراحی و به اجرا گذارده شود.

تحقیقات نشان می دهد که تیمول، کارواکرول و پارا - سیمن موجود در عصاره آویشن خاصیت ضد میکروبی قابل توجهی علیه باکتری های استافیلوکوکوس آرنوس و میکروکوکوس دارند، همچنین ترکیب غیر فنولی لینالول موجود در عصاره گیاه خلال دندان (*Ammii visnaga*) بر روی باکتری های استرپتوکوکوس ویریدانس و لاکتوباسیلوس مؤثر است. (در گیاه آویشن در مرحله قبل از گلدهی ترکیبی به نام لینالول وجود دارد که دارای خاصیت ضد میکروبی است [۱۳]).
رسولی اثر ضد میکروبی عصاره آویشن را به سه روش دیسک انتشاری، MIC و MBC بر روی باکتری های اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس آرنوس، باسیلوس سوبتیلیس، کلبسیلا پنومونیا، پزودموناس آئروژنوزا نشان داد. همچنین وی عنوان کرد که روغن های فنولی عصاره آویشن خاصیت ضد باکتریایی قابل توجهی دارند [۱۴].

اوزلم اردوقرول برای یافتن خواص ضد میکروبی عصاره گیاه گل راعی دیهیمی که در مناطق خاصی از ترکیه می روید با استفاده از گاز کروماتوگرافی ترکیبات اتیل استات، متانول، اتانول، اکوا، سدیم نیدروکساید، پیریدین، هایپریسین و هایپرفورین را از گیاه جداسازی کرد و در شرایط آزمایشگاهی با استفاده از روش دیسک انتشاری خواص ضد باکتریایی عصاره گیاه بر روی ۱۷ گونه باکتری مورد بررسی قرار داد. در مجموع اثر ضد میکروبی بر روی باکتری های باسیلوس سرئوس، کورینه باکتریوم، میکروکوکوس لوتئوس،

منابع

1. Soltanipoor MA. Comparison the components of essential oils of *Majadae Zhumeria* obtain from Hormozgan province and study on aleopatic potential and antimicrobial effects of extracted essential oils. MS thesis, School of Science, Shiraz University. 2002, pp: 23 - 9.
2. Ghasemipirbalooti A. Study on the characteristics of *Thymus daenensis* gadering from Chaharmahal va bakhtiari province. MS thesis, Science and Research branch of Azad University- Tehran. 2006, pp: 12 - 5.
3. Fazecas M. Studies on the effects of antibacterial & showing data on the yield & essential content *Pimpinella anisum* in the year 1978-1980. *Lucari Agronomic*. 1980; 18: 84 - 91.
4. Erdogrul O, Azirak S, Tosyali C. Antimicrobial activities of *Hypericum scabrum* extracts, *KSU. J. Sci. Eng*. 2004; 7 (2): 2 - 6.



5. Tabatabaie AM, Firoozi R. Animal infectious Diseases. Tehran University Press, 2001, pp: 134 - 41.
6. Varnam AH. Food Borne Pathogens. Wolf Publishing Ltd. 1996, pp: 321 - 30.
7. Jaymandi K, Rezaii MB. Comparison of two steam distillation apparatuses and their effects on essential oils quantity and components. *Pazhoo. Saz. J.* 2003; 60 (3): 2 - 8.
8. Baron EJ. Diagnostic Microbiology. 8th edition, Mosby Com. 1990, pp: 71 - 2.
9. Erdogrul O. Antimicrobial activities of various Medicinal & Commercial plant extracts. *J. F. Sci. Tech.* 2003; 27: 157 - 62.
10. Sadeghzade L, Sefidkan F, Olia P. Study on the antimicrobial effects of *Thymus* Essential oils. 2th conference of Medicinal Plants, 2004, p: 233.
11. Bonyadian M, Karim G. Study on antimicrobial effects of some plant essential oils on *E.coli* in Iranian Feta cheese. *J. Sci. Thec.* 2004; 1 (1): 21 - 8.
12. Bonyadian M, Karim G. Study on some plant essential oils on *E. coli* and *S. aureus* in broth medium. *J. Vet. Res.* 2003; 57 (4): 81 - 3.
13. Farag RS, Daw ZY. Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *J. F. Pro.* 1982; 52 (9): 665 - 7.
14. Rasooli I. Antimicrobial & chemical properties of *Thymus persicus* essential oils at pre & flowering stage. *Phytomed.* 2003; 4: 22.

