

بررسی مواد متشکله موجود در اسانس و اثرات ضدمیکروبی اسانس و عصاره‌های مختلف گیاه

Allium jesdianum Boiss. & Buhse

حمزه امیری

مربی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه لرستان

آدرس مکاتبه: لرستان، دانشگاه لرستان، گروه زیست‌شناسی، صندوق پستی: ۴۶۵

تلفن: ۰۶۶۱ ۲۲۰۵۰۵۸، نمبر: ۰۶۶۱ ۲۲۰۰۱۸۵

پست الکترونیک: Amiri_h_lu@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۸۵/۱۱/۳۰

تاریخ دریافت: ۸۴/۲/۱۰

چکیده

مقدمه: گیاه *Allium jesdianum* گیاهی است متعلق به تیره لاله^۱ که در مناطق غرب و جنوب غرب ایران به صورت وحشی می‌روید و در این مناطق دارای استفاده‌های متعدد غذایی و دارویی است.

هدف: شناسایی مواد تشکیل‌دهنده اسانس گیاه *A. jesdianum* و بررسی اثرات ضدمیکروبی اسانس و عصاره‌های مختلف این گیاه. روش بررسی: گیاه مذکور از ارتفاعات شهرستان خرم‌آباد در فروردین ماه ۸۱ در مرحله گل‌دهی جمع‌آوری گردید و با روش Hydrodistillation مورد اسانس‌گیری قرار گرفت. مواد متشکله اسانس با استفاده از دستگاه GC و GC/MS مورد آنالیز قرار گرفت. در شناسایی تشکیل‌دهنده‌های اسانس از اندیس بازداری ترکیبات استفاده شد. در اثرات ضدمیکروبی اسانس و عصاره‌های آبی، اتانولی، اتری و متابولی گیاه بررسی شده، از روش حفر چاهک و اندازه‌گیری قطر هاله بازدارندگی رشد و همچنین آنتی‌بیوتیک جستامايسین برای مقایسه اثرات ضدمیکروبی استفاده شد.

نتایج: راندمان اسانس در این گیاه $W/W = 1/10$ درصد بود. عمدت ترین ترکیبات موجود در این اسانس عبارتند از: هگزا دکانویک اسید (۱۹/۰۳ درصد)، دی سولفیدمتیل - ۱ - اتیل (۹/۲۵ درصد)، تری سولفید دی متیل (۲۲/۳۴ درصد)، فیتول (۱۲/۸۲ درصد)، پتاکوسان (۸/۰۳ درصد) و کورزرن (۷/۶۲ درصد). نتایج بررسی اثرات ضدمیکروبی نشان داد که اثرات بازدارندگی رشد عصاره‌ها به ویژه عصاره‌های اتانولی بیش از اسانس‌ها است، همچنین عصاره‌های آبی این گیاه تقریباً فاقد اثرات آنتی‌بacterیال است.

نتیجه‌گیری: شناسایی مواد متشکله اسانس گونه مورد بررسی نشان داد که اسانس این گیاه همانند اغلب گونه‌های جنس *Allium* عمده‌تا از ترکیبات سولفیدی تشکیل یافته است و اثرات ضدمیکروبی اسانس و عصاره‌های مختلف این گیاه احتمالاً به دلیل حضور همین ترکیبات است.

گل واژگان: اسانس، اثرات ضدمیکروبی، *Allium jesdianum*، عصاره، Trisulfide dimethyl

¹ Liliaceae



و سیله بیسر^۱ و همکاران مورد بررسی قرار گرفته و مهم‌ترین اجزای آن دی آلیل دی سولفید (۵۳/۸ درصد)، دی آلیل تری سولفید (۲۶/۱۹ درصد)، آلیل متیل تری سولفید (۵/۹ درصد) و آلیل متیل دی سولفید گزارش شده است [۵].

ما در این پژوهش مواد متشکله انسنس و اثرات ضدمیکروبی انسنس و عصاره‌های مختلف گیاه Allium jesdianum را بررسی کردیم.

مواد و روش‌ها

گیاه Allium jesdianum از فروردین ماه ۸۱ از ارتفاعات سفیدکوه واقع در ۱۰ کیلومتری غرب خرم‌آباد لرستان جمع‌آوری شد. جهت اسننس‌گیری از روش تقطیر با آب^۲ و دستگاه کلونجر به مدت ۲ ساعت استفاده شد؛ اسننس‌های جمع‌آوری شده بعد از آبگیری به وسیله سولفات سدیم، در ویال‌های کوچک با جدار تیره و در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

آنالیز GC با دستگاه کروماتوگراف گازی مدل Shimadzu 15A صورت گرفت. N₂ به عنوان گاز حامل با سرعت ۵۰ m × ۰/۲ mm (DB ۱) و ستون ۵ mL/min (۰/۳۲ μm) استفاده شد. دمای ستون در ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۳ دقیقه نگهداری شد، سپس با سرعت ۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه تا ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت و برای ۵ دقیقه در ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد ثابت گردید. درصدهای ننسی با استفاده از کروماتوپیک C-R4A بدون استفاده از فاکتور تصحیح از سطح زیر منحنی (Peak area) برآورد شد.

آنالیزهای GC/MS با استفاده از ۵۹۷۳ Hewlett-pakard آنالیزهای با ستون ۳۰ m × ۰/۲۵ mm و ضخامت ۰/۰۲۵ انجام شد. دمای ستون برای ۳ دقیقه در ۶۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و تا ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه افزایش یافت و برای ۵ دقیقه در ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. گاز هلیم به عنوان گاز حامل با سرعت ۱ (mL/min) در 70eV استفاده شد.

مقدمه

جنس Allium دارای گونه‌های با ارزشی برای انسان مانند Allium jesdianum Boiss. پیاز خواراکی و سیر است. گونه که در زبان محلی به نام بوسر، سرپا یا بن سرخ (به دلیل قرمز بودن قسمت‌های قاعده‌ای برگ‌ها) خوانده می‌شود گیاهی است پیازی و پایا، دارای ۳-۲ برگ که در ارتفاعات غرب و جنوب غرب ایران می‌روید. این گیاه در اوایل بهار به وسیله افراد محلی جمع‌آوری و در بازار به فروش می‌رسد. این گیاه دارای استفاده‌های غذایی گوناگون بوده و به طور سنتی در درمان و کاهش دردهای روماتیسمی و گوارشی و دفع سنگ کلیه به کار برده می‌شود. آش بوسر در درمان سرماخوردگی بسیار موثر است [۱].

گزارش‌های متعددی در مورد آنالیز انسنس و بررسی اثرات ضدمیکروبی گونه‌هایی از Allium که بیشتر شناخته شده‌اند مثل پیاز خواراکی (A. cepa) و (A. sativum) وجود دارد.

آواتو^۳ و همکاران گزارش داده‌اند که مواد متشکله اسننس سیر شامل دی آلیل دی سولفید (۱۵ درصد) و دی آلیل تری سولفید (۳۸ درصد) است. همین بررسی نشان داد که اثرات ضدقارچی اسننس این گیاه بیش از اثرات ضدباکتریایی آن است و ماده موثره این گیاه دی آلیل دی سولفید (DDS) است؛ به طوری که اسننس‌هایی که دارای DDS بیشتری هستند اثرات ضدمیکروبی و ضدقارچی قوی‌تری را نشان می‌دهند [۲].

در تحقیق دیگری مهم‌ترین ترکیبات موجود در اسننس گیاه سیر ترکیبات آلیل سولفید گزارش شده است که دارای اثرات ضدمیکروبی مشخص هستند. در این میان بیشترین اثر این اسننس بر روی E. coli گزارش شده است [۳]. همچنین در بررسی دیگری که بر روی اسننس Allium fistulosum صورت گرفته، اصلی‌ترین ترکیبات آن دی پروپیل دی سولفید (۳۰/۶ درصد)، متیل پروپیل تری سولفید (۱۲ درصد) و دی پروپیل تری سولفید (۱۲/۳ درصد) گزارش شده است [۴]. مواد متشکله موجود در اسننس Allium macrochaetum به

¹ Avato

² Hydrodistillation

³ Baser



و باکتری‌های گرم منفی ۱۳۱۰ سودوموناس آئروژینوزا^۱، سالمونلاتیفی^۲ PTCC1185، اشريشياکولی^۳ PTCC1330 و شیگلافلکسنری^۴ PTCC1234 انجام شد.

میکروارگانیسم‌ها روی محیط کشت مولرهیتون^۵ آگار کشت شدند. به این صورت که سواپ آغشته به سوسپانسیون باکتری را به صورت رفت و برگشت در سطح محیط مولر-هیتون حرکت دادیم و سپس محیط مولر-هیتون را با زاویه ۶۰ درجه چرخاندیم و در دو نوبت دیگر عمل کشت را تکرار کردیم [۷]. بعد از حفر چاهک‌ها روی محیط کشت $L\mu$ از ۸۰ میلی‌لیتر اتابولی^۶ میلی‌لیتر اتابولی^۷ درصد خیساندیم و به مدت ۷۲ ساعت در یخچال نگهداری نمودیم و پس از این مدت عصاره حاصل را صاف کردیم.

آگار را به صورت پودر درآورده و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب به آن اضافه نموده و به مدت ۷۲ ساعت در یخچال نگهداری شد و پس از این مدت عصاره حاصل را صاف کردیم.

شناسایی مواد مشکله انسس به وسیله مقایسه طیف جرمی و اندیس بازداری‌شان با آنچه که در منابع وجود دارد صورت گرفت [۶].

جهت تهیه عصاره‌های مختلف نیز به صورت زیر عمل شد.

الف) عصاره‌های آبی: مقدار ۵۰ گرم ماده خشک گیاهی را به صورت پودر درآورده و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب به آن اضافه نموده و به مدت ۷۲ ساعت در یخچال نگهداری شد و پس از این مدت عصاره حاصل را صاف کردیم.

ب) عصاره‌های اتابولی: مقدار ۵۰ گرم ماده خشک گیاهی را در ۳۰۰ میلی‌لیتر اتابولی^۸ درصد خیساندیم و به مدت ۷۲ ساعت در یخچال نگهداری نمودیم و پس از این مدت عصاره حاصل را صاف کردیم.

ج) عصاره‌های اتری: مقدار ۵۰ گرم ماده خشک گیاهی را به صورت پودر درآورده و ۳۰۰ میلی‌لیتر دی اتیل اتر به آن اضافه نموده و به مدت ۷۲ ساعت در یخچال نگهداری نمودیم و پس از این مدت عصاره حاصل را صاف کردیم.

د) عصاره‌های متانولی: حلالی که در این مورد به کار رفت مخلوطی از سه ماده پترولیوم اتر، دی اتیل اتر و متانول است که به نسبت مساوی استفاده شدند. مقدار ۵۰ گرم ماده خشک گیاهی را در ظروف درب‌دار ریختیم و ۱۰۰ میلی‌لیتر از هر یک از حلال‌های ذکر شده را به آن افزودیم. پس از ۲۴ ساعت عصاره را صاف کرده و به کمک دستگاه-Rotary-Evaporator تغییظ کردیم. سپس به عصاره تغییظ شده ۲۰-۱۵ میلی‌لیتر متانول افزودیم و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا مواد اضافی آن مثل چربی‌ها و پروتئین رسوپ نماید. پس از صاف کردن مجدد عصاره مذکور جهت آزمون‌های میکروبی به کار رفت. عصاره‌های به دست آمده را ابتدا خشک نموده و سپس عصاره‌های مذکور را در اتابولی^۹ درصد حل کرده و از حلال مذکور به عنوان شاهد منفی استفاده کردیم.

آزمون‌های میکروبی با استفاده از باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اپیدیس PTCC1349، استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس^{۱۰} PTCC1379، استافیلوکوکوس ارئوس^{۱۱} PTCC1113

نتایج و بحث

نتایج مربوط به مواد تشکیل‌دهنده انسس در جدول شماره ۱ آورده شده است. این نتایج نشان داد که ترکیبات سولفیدی بخش مهمی را از مواد مشکله انسس را تشکیل می‌دهن. همچنین سزکوبی‌ترین‌هایی مثل Curzerene، Curzerenone و میزان قابل توجهی در این انسس وجود دارند. از ترکیبات مهم این انسس می‌توان به تری‌سولفیدی‌متیل^۱ (۲۲۴۲ درصد)، دی‌سولفیدی‌متیل -۱- اتیل^۷ (۹/۲۵)، هگزادکا نویک اسید^۸ (۱۹/۰۳)، فیتول^۹ (۱۲/۰۳)، پتاکوسان^{۱۰} (۸۰۳) اشاره کرد. بررسی‌های صورت گرفته در مورد شناسایی مواد مشکله انسس گیاه داده شدند، آنگاه برای تعیین میزان بازدارندگی انسس‌ها و عصاره‌های مختلف قطره‌های بازدارندگی رشد اندازه‌گیری شد.

¹ *Pseudomonas aeruginosa* ² *Salmonella typhi*
³ *Escherichia coli* ⁴ *Shigella flexneri*
⁵ Muller-Hinton ⁶ Trisulfide dimethyl
⁷ Disulfide methyl 1-(methylthio) ethyl
⁸ Hexadecanoic acid ⁹ Phytol
¹⁰ Pentacosane ¹¹ Diallyl disulfide

¹ *Staphylococcus epidermidis*
² *Staphylococcus saprophyticus*
³ *Staphylococcus aureus*



جدول شماره ۱ - نوع و درصد مواد متشکله موجود در اسانس گیاه *Allium jesdianum*

درصد (%)	RI	Compounds
۲۲/۳۴	۹۸۷	Trisulfide dimethyl
۹/۲۵	۱۰۲۰	Disulfide methyl-1-(methylthio)ethyl
۲/۸۷	۱۱۰۱	Nonanal
۵/۳۲	۱۲۰۲	Decanal
۲/۰۱	۱۴۶۱	Cyclamen aldehyde
۳/۰۷	۱۴۸۹	Beta-Ionone
۷/۶۲	۱۴۹۹	Curzerene
۰/۰۸	۱۵۶۱	Germacrene-B
۳/۹۹	۱۵۷۵	Alpha-cederene epoxide
۲/۶۲	۱۶۰۶	Curzerenone
۰/۶۰	۱۹۲۲	Methylhexadecanoate
۱۹/۰۳	۱۹۲۳	Hexadecanoic acid
۱۲/۸۲	۱۹۴۳	Phytol
۱/۰۲	۱۹۷۵	Sclarene
۸/۰۳	۲۵۰۰	Pentacosane
۳/۶۵	۲۶۲۷	Heneicosane
۴/۱۵	۲۷۰۰	Heptacosane

همکاران در مورد شناسایی ترکیبات موجود در اسانس *A. fistulosum* نشان داد که ترکیبات اصلی این اسانس دی پروپیل دی سولفید^۱ (۳۰/۶ درصد)، متیل پروپیل تری سولفید^۲ (۱۲/۳ درصد) است. آنالیز اسانس گیاه سیر نیز نشان داد که دی آلیل دی سولفید و دی آلیل تری سولفید اجزای اصلی اسانس این گیاه محسوب می شوند [۴,۸].

مطالعات Leops و همکاران در مورد اسانس حاصل از برگ های تازه گیاه *A. tuberosum* که به وسیله GC/MS آنالیز شده است نشان داده که ۸۴ درصد حجم اسانس را ترکیبات سولفیدی تشکیل می دهد. تعدادی از ترکیبات

^۱ Dipropyl disulfide

^۲ Methyl propyl trisulfide

متیل آلیل تری سولفید^۱ (۱۲/۸۲)، متیل آلیل دی سولفید^۲ (۸/۱۶)، دی آلیل تری سولفید^۳ (۱۱/۹۶) هستند [۳].

تحقیقات بیسر و همکاران در مورد شناسایی مواد متشکله اسانس *Allium macrochaetum* منجر به شناسایی ۱۲ ترکیب در این اسانس شده است که عمدترين آنها دی آلیل دی سولفید^۴ (۵۳/۸ درصد)، دی آلیل تری سولفید^۵ (۲۶/۱۹ درصد)، آلیل متیل تری سولفید^۶ (۵/۹ درصد) و آلیل متیل دی سولفید^۷ (۵/۲۱ درصد) است [۵]. همچنان مطالعات Pino و

^۱ Methyl allyl trisulfide

^۲ Methyl allyl disulfide

^۳ Diallyl trisulfide

^۴ Diallyl disulfide

^۵ Diallyltrisulfide

^۶ Allylmethyltrisulfide

^۷ Allylmethyldisulfide



به نظر می‌رسد که استافیلوکوکوس ارئوس نسبت به اسانس و عصاره‌های مختلف گیاه *A. jesdianum* و همچنین آنتی‌بیوتیک جنتامايسین مقاوم تر از بقیه میکروارگانیسم‌ها است در حالی‌که از این نظر شیگلافلکسنری حساس‌ترین باکتری محسوب می‌شود. عصاره‌های متانولی *A. jesdianum* به جزء در مورد سالمونلاتیفی و استافیلوکوکوس ارئوس که قادر اثرات ضدمیکروبی است در سایر موارد دارای اثرات ضدمیکروبی مشخصی است. عصاره‌های اتری این گیاه نیز در مورد اکثر میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه از خود اثرات ضدمیکروبی نشان می‌دهد. اسانس این گیاه فقط بر علیه استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس و شیگلافلکسنری از خود اثرات ضدمیکروبی نشان می‌دهد.

سولفیدی شناسایی شده در این گیاه قبلاً در گونه‌های دیگر *Allium* گزارش نشده است از جمله این ترکیبات می‌توان به 1-(methylthio) alk (en) yl disulfide و Allyl-1-(methylthio)ethyl disulfid اشاره کرد [۹].

نتایج بررسی اثرات ضدمیکروبی اسانس و عصاره‌های آبی، متانولی، اتری *Allium jesdianum* در جدول شماره ۲ آورده شده است. نتایج این بررسی‌ها نشان می‌دهد که عصاره‌های آبی این گیاه قادر اثرات ضدمیکروبی مشخصی است در حالیکه عصاره‌های اتانولی بیش از سایر عصاره‌ها دارای اثرات ضدمیکروبی است به طوری‌که در مورد اغلب میکروارگانیسم‌ها اثرات ضدمیکروبی عصاره‌های اتانولی بیش از جنتامايسین است. در بین میکروارگانیسم‌های مورد بررسی

جدول شماره ۲ - اثرات ضدمیکروبی اسانس و عصاره‌های مختلف گیاه *Allium jesdianum* بر روی میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه
 قطر هاله بازدارندگی رشد بر حسب میلی‌متر است

microorganism	Gram+/-	Aqueous extract	Ethanolic extract	Methanolic extract	Etheric extract	Essential oil	n-hexan	Gentamicine
<i>Staphylococcus aureus</i> PTCC1113	+	.	9	.	5	.	.	12
<i>Staphylococcus epidermidis</i> PTCC1349	+	.	16	12	11	.	.	20
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> PTCC 1379	+	.	21	10	8	3	.	15
<i>Shigella flexneri</i> PTCC 1234	-	.	20	9	5	6	.	12
<i>Salemonella thyphi</i> PTCC 1185	-	.	10	.	3	.	.	14
<i>Escherchia coli</i> PTCC 1330	-	.	20	7	.	.	.	15
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PTCC1310	-	.	15	6	.	.	.	15



با توجه به هاله عدم رشد مشاهده شده اذعان داشت که آیا دارای اثر ضدمیکروبی بوده یا خیر و اینکه اثرات ضدمیکروبی آنها نسبت به جنتامايسین بیشتر است یا کمتر است.

مطالعات Qiao و همکاران در مورد اثرات ضدمیکروبی انسانس گیاه سیر نشان داد که انسانس این گیاه برعلیه باکتری *E. coli* موثرتر از بقیه میکروارگانیسم‌های مورد بررسی است [۱۱]. همچنین بررسی‌های آواتو و همکاران در این خصوص نشان داد که ترکیبات موجود در انسانس گیاه سیر دارای اثرات ضدبакتریایی و ضدقارچی است و در این میان ماده دی‌آلیل دی‌سولفید دارای بیشترین اثر آنتی‌بیوتیکی است [۲]. اثرات ضدمیکروبی گیاه مورد بررسی نیز احتمالاً به دلیل حضور ترکیبات سولفیدی و ترپنئیدی موجود در این گیاه است [۱۲].

نتایج این بررسی نشان داد که عصاره‌های اتانولی گیاه از انسانس و سایر عصاره‌ها اثرات ضدمیکروبی قوی‌تری دارد به طوری که در مورد اشريشياکولي، استافيلوكوكوس ساپروفيتیکوس و شيگلافلسنری موثرتر از جنتامايسین است. در مورد آنتی‌بیوتیک جنتامايسین اگر قطر هاله عدم رشد ۱۲ میلی‌متر یا کمتر از آن باشد باکتری‌ها نسبت به آن مقاوم، اگر قطر هاله عدم رشد بین ۱۳ تا ۱۴ میلی‌متر باشد دارای اثر ضدمیکروبی متوسط است. بالاخره اگر قطر هاله عدم رشد بیشتر از ۱۵ میلی‌متر باشد میکروارگانیسم‌ها نسبت به آن حساس محسوب می‌شوند. برخلاف آنتی‌بیوتیک جنتامايسین که معیار دقیقی در مورد حساس بودن، نیمه حساس بودن یا مقاوم بودن باکتری‌ها در برابر آن وجود دارد [۷، ۱۰]، در مورد انسانس یا عصاره‌های مختلف گیاه مورد بررسی فقط می‌توان

منابع

۷. نادری‌نسب محبوبه، راشد طاهره و نظام محمد. باکتری‌شناسی آزمایشگاهی. انتشارات آستان قدس رضوی. ۱۳۷۰. صفحه ۲۵۱.

8.Riaz M, Iqbal MJ, Chaudhry FM. Volatile flavour component of *Allium sativum* essential oil from pakistan. *Pakistan Journal of scientific and Industrial Research* 1998; 41 (5): 240-241.

9.Leops D, Godog R, Goncalves S, Koketsu M, Olivera A. Sulfur constituent of essential oil of nira (*Allium tuberosum Rott*) cultivated in Brazil. *Flavour and Fragrance Journal* 1997; 12 (4): 237-239.

10.Wistreich GA. Microbiology Laboratory, Fundamental and Application. 6th ed. USA: Printice-Hall; 1997: 324.

11.Qiao XG, Chen W, Han Y. Studies on the antibacterial effect of garlic essential oil. *Journal of Shandong Agricultural University* 2001; 12: 231-233.

12.Cowan MM Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 1999; 9: 489-490.

1.شفیع‌زاده فتح‌الله. گیاهان دارویی استان لرستان. انتشارات حیان. ۱۳۸۱، صفحه ۴۹.

2.Avato P, Tursi F, Miccolis V, Candido V. Allylsulfide Constituents of garlic volatile oil as antibacterial agents. *Phytomedicine* 2000; 7 (3): 239-243.

3.Kim SM, Wu CM, Kubota K, Kobayashi A. Effect of soybean oil on garlic volatile compounds isolated by distillation. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 1995; 43: 449 - 452.

4.Pino JA, Rosado A, Fuentes V. Volatile flavor compound from *Allium fistulosum* L. *Journal of Essential Oil Research* 2000; 12 (5): 553-555.

5.Baser KHC, Kosar M, Koyuncu M. Composition of essential oil of *Allium macrochaetum* Boiss et Haasskn. *Journal of Essential Oil Research* 1997; 9 (1): 125-126.

6. Adams RP. Identification of essential oil components by Gas chromatography/mass spectroscopy. Illinois: Allured Publ. crop. 1995. p. 69-351.

