بسمه الله الرحمن الرحیم

موضوع : بررسی ترکیبات شیمیایی، اثرات آنتی اکسیدانی، آنتی باکتریایی، ضد قارچی گیاه خوشاریزه

استاد مربوطه : دکتر الماسی

تهیه و تنظیم : سیده زهرا معماری

درس : خواص شیمیایی و عملکرد مواد غذایی

بهار ۱۴۰۰

مقدمه :

استفاده از گیاهان دارویی به لحاظ پایین بودن عوارض جانبی آن نسبت به داروهای شیمیایی از گذشته های دور برای درمان انواع بیماری ها مورد توجه مردم بوده و در سال های اخیر روند رو به رشدی پیدا کرده است. از طرفی گیاهان دارویی علاوه بر مصارف درمانی، به عنوان طعم دهنده و معطر کننده و تقویت کننده نیز مصرف سنتی دارند. علیرغم سال ها استفاده از مواد نگهدارنده ساختگی مثل بنزوات سدیم، نیتریت سدیم، سولفیت ها، اسید الکتیک، اسید پروپیونیک و اسید سوربیک، هنوز هم میکروارگانیسم های بیماریزا و عوامل فساد مواد غذایی یک مشکل اصلی برای بهداشت عمومی و سازمان های نظارتی محسوب شده و ضررهای اقتصادی فراوانی را به صنایع غذایی در دنیا وارد می کنند. در یکصد سال گذشته گیاه درمانی به عنوان شاخ هایی از طب سنتی نقش تعیین کننده در درمان بیماری ها ایفا کرده است. در سال های اخیر با توجه به استقبال مردم دنیا به مصرف داروهای گیاهی به دلیل عوارض جانبی کمتر آن نسبت به داروهای شیمیایی، نظر می رسد تعامل مصرف به نفع داروهای گیاهی در حال رقم خوردن است. مطالعات انجام شده در دنیا حاکی از آن است که عصاره و اسانس بسیاری از گیاهان، توانایی مهار رشد میکروارگانیسم ها را دارند و به این لحاظ گیاهان دارویی به عنوان عوامل ضدمیکروبی کاربردهای زیادی پیدا نموده اند. از طرفی مقاومت دارویی تهدیدی جدی برای سلامتی انسان تلقی می شود، ضمن اینکه افراد واجد ضعف ایمنی از آسیب پذیری بیشتری برخوردارند. تحقیقات انجام شده در سالهای اخیر نشان میدهد که عصاره و اسانس تعداد زیادی از گیاهان دارویی سنتی اثرات بازدارندگی و گاهی کشندگی کامل بر میکروارگانیسم های مختلف دارند. در صنایع غذایی نیز به علت گرایش منفی مردم در مصرف غذاهایی که در آن ها از نگهدارنده های شیمیایی استفاده شده است باعث گردیده که از منابع گیاهی علاوه بر طعم دهندگی به عنوان ضدمیکروب نیز استفاده نمایند. استفاده از اسانس ها و عصاره های گیاهی به عنوان جایگزین مواد محافظ ساختگی جای خود را در صنایع غذایی بخوبی پیدا کرده است. لذا به منظور دستیابی به مواد طبیعی ضد میکروبی، غربالگری اسانس ها و عصاره های گیاهی مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است. افزودن ترکیبات گیاهی طبیعی بعنوان آنتی اکسیدان و مواد ضدمیکروبی، با محافظت مواد غذایی علیه اکسیداسیون و حملات میکروبی،

ماندگاری مواد غذایی را افزایش می دهد. افزودن آنتی اکسیدان های طبیعی در مواد غذایی باعث انتقال آن به بدن شده و قطعات اکسیژنی واکنشگر(ROS 1) تشکیل شده در سلول های بدن و ضایعات اکسیداتیو را مهار می کند. علیرغم پیشرفت هایی که در صنعت مواد غذایی صورت گرفته، بیماری های ناشی از آلودگی میکروبی مواد غذایی بصورت مشکلی اساسی بروز نموده به گونه ای که حتی در کشورهای پیشرفته ۳۱ درصد مردم یک بار در سال به بیماری های ناشی از مصرف غذای آلوده مبتلا می شوند. طبق گزارش سازمان جهانی بهداشت، سالانه ۹ میلیون نفر در جهان جان خود را بر اثر مسمومیت های ناشی از مصرف غذا و آب آلوده از دست می دهند. افزایش سطح آگاهی مردم و نگرانی در خصوص عوارض نگهدارنده های شیمیایی از قبیل سرطان زایی و سمیت، کاربرد مواد نگهدارنده و ضد میکروبی طبیعی و گیاهی مانند اسانس های گیاهی را افزایش داده است. استفاده از ترکیبات ضد باکتریایی گیاهی، به عنوان راهکاری مناسب در راستای کنترل باکتری های بیماری زا و افزایش ماندگاری مواد غذایی مطرح می باشد.

معرفی گیاه خوشاریزه :

گیاه دارویی خوشاریزه با نام علمی *Echinophora platyloba* از خانواده *Apiaceae* است. این گونه به طور وسیعی در نواحی غرب و مرکز ایران به عنوان یک طعم دهنده غذا مصرف می شود. خوشاریزه گیاه علفی دو ساله معطر و پایا است (به ارتفاع ۱۰۰- ۳۰ سانتی متر)، ساقه ها به رنگ سبز متمایل به زرد، محکم و خاردار، ساقه منفرد و از پایین منشعب، دارای شاخه های شیاردار ضخیم، محکم و سفت و بسیار منشعب است. دارای گل های کوچک سفید یکپارچه، دوره گلدهی از تیر تا مرداد است. جنس خوشاریزه (*Echinophora L.*) دارای ۱۱ گونه بوده که پراکندگی آن بیشتر در منطقه مدیترانه می باشد. گونه *Echinophora platyloba* به عنوان چاشنی غذایی و معطر مصرف می شود و به همراه گونه *Echinophoracinerea* انحصارا در ایران کشت می شود. این گیاه با نام های محلی خوشاروزه، تیغتوراغ و کشندر و در منطقه مراغه با نام محلی تولوق اوتو معروف است. این گیاه به صورت سنتی به عنوان چاشنی غذایی و معطر کردن ماست و پنیر مورد

استفاده قرار می گرفته است. همچنین در پزشکی سنتی به منظور بهبود زخم و درمان زخم معده به دلیل ویژگی ضدقارچی، ضد نفخ و به عنوان محرک معده استفاده می شود و نیز فعالیت ضد میکروبی و ضد سرطانی این گیاه ثابت شده است. همچنین اثرهای ضد باکتریایی عصاره اتانولی آن بر ضد باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس فکالیس به اثبات رسیده است. اخیراً از اسانس و عصاره این گیاهان به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در صنایع لبنی استفاده شده است که البته الهام بخش این کاربرد استفاده سنتی و طولانی مدت از این گیاه به عنوان طعم دهنده در ماست و پنیر بوده است. و در جنوب غربی ایران (استان چهارمحال‌وبختیاری)، استفاده از این ماده به عنوان یک ماده نگهدارنده ضد قارچی برای جلوگیری از رشد قارچ روی برخی از مواد غذایی سنتی مانند رب گوجه‌فرنگی و خیار شور استفاده می‌شود. هدف از انجام این تحقیق، بررسی ترکیبات شیمیایی، خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی، ضد قارچی اسانس و عصاره گیاه خوشاریزه است.

تاریخچه :

برای اولین بار، قدرت نگه دارندگی خوشاریزه در محصولات غذایی اساس برخی مطالعات در مورد فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های خوشاریزه توسط پروفسور آویجگان و همکارانش بوده‌است، حتی اگر برخی تحقیقات در مورد این گیاه قبل از پروفسور آویجگان و همکارانش وجود داشته باشد، که عمدتا بر ترکیب شیمیایی اسانس آن تمرکز داشته‌اند، اما اولین ایده از فعالیت ضد قارچی خوشاریزه متعلق به او بود.

بررسی ترکیبات شیمیایی خوشاریزه:

اولین مطالعه , که بر روی ترکیب فیتوشیمیایی خوشاریزه انجام شد , گزارش داد که این گیاه حاوی ساپونین , آلکالوئیدها و فلاوونوئید است اما تانن ندارد. پس از مدتی طولانی، مطالعه دیگری بر روی اسانس خوشاریزه وجود ترانس - اوسیمین (۶۷.۹ ٪)، ۲ - فورانون (۶.۲ ٪)، میرسن (۶.۰ ٪)، لینالول

(۳.۱ ٪) و بتا - اوسیمین (۲.۳ ٪)را به عنوان اجزای اصلی ۱۰ جز شناسایی‌شده از اسانس قسمت‌های هوایی خوشاریزه کوهستان آلوند، گلپایگان - خمین رود تایید کرد. این اسانس غنی از مونوترپن ها (۵ / ۸۳ ٪) با غلبه هیدروکربن‌ها (۴ / ۸۰ ٪)بود .

(E)- اسیمین (۴۹.۹ ٪)، آلفا - دکالاکتن (۸.۴ ٪)، آلفا - پینن (۶ ٪) و لینالول (۵.۶ ٪) اجزای اصلی ۲۹ ترکیب (۹۳.۵ ٪) اسانس بخش هوایی خوشاریزه از ارتفاعات دماوند، استان تهران، ایران بودند.

(Z)- اسیمین (۳۸.۹ ٪) و گاما - فلاندرن (۲۴.۲ ٪) ترکیب اصلی اسانس اندام هوایی خوشاریزه از شمال غرب ایران بودند، پس از آن پارا - سیمن (۷.۴ ٪)، بتا - فلاندرن (۶.۳ ٪)، آلفا - پینن (۳.۴ ٪)، میرسن (۱.۶ ٪)، گاما - دکالتون (۱.۷ ٪) و لینالول (۱.۲ ٪) قرار داشتند. هیدروکربن‌های مونوترپنی ۸۴.۸ ٪ از کل ترکیبات روغنی بودند.

روغن اندام هوایی خوشاریزه از استان اصفهان با بازده ۰.۷ درصد وزنی - وزنی ۲۹ ترکیب را نشان داد که ۹۷.۴ درصد از کل ترکیبات روغن را (Z)-اسیمین (۲۶ / ۷ ٪)، دلتا ۳ - کارن (۱۶ / ۲ ٪)، لیمونن (۶ / ۶ ٪)اجزای اصلی روغن بودند. سایر ترکیبات عبارت بودند از سیس - ۳ - هگزیل بنزوات (۴.۵ ٪)، اسپاتونونئول (۴.۶ ٪)، میریستیسین (۴.۵ ٪)، میرسن (۴.۳ ٪)، ۴ - دکانولید (۴.۲ ٪) و آلفا - پینن (۴.۱ ٪). این روغن حاوی هیدروکربن‌های مونوترپنی است. (۶۲. ۱ ٪)، مونوترپن های اکسیژن‌دار (۷.۵ ٪)، سزکویی ترپن ها (۶.۳ ٪) و سزکویی ترپن های اکسیژن‌دار (۵.۵ ٪).

روغن اندام هوایی گیاه خوشاریزه چهار محال و بختیاری با بازده ۰.۶۷ ٪ شامل تیمول (۲۷.۲ ٪)، ترانس - اوسیمن (۲۰.۹ ٪)، کارواکرول (۷.۲ ٪)، اسکویی - آواندول (۵.۶ ٪)، لیمونن (۴.۵ ٪) و ژرانیول (۳ ٪) به عنوان فراوان‌ترین ترکیبات ۳۳ جزیی بودند که ۹۵.۷ ٪ از کل ترکیبات روغن را تشکیل می‌دهند. مونوترپن ها (۴۷.۵ ٪)، سزکویی ترپن های اکسیژن‌دار (۸.۱ ٪)کل مقدار روغن را تشکیل می‌دادند .

اسانس‌های حاصل از مطالعات فوق به روش تقطیر با آب از بخش‌های هوایی گیاه خوشاریزه استخراج شدند. ترکیب شیمیایی روغن و همچنین اجزای اصلی آن تحت‌تاثیر ارتفاع و محیط است.

تکنیک‌های بسیار دیگری غیر از روش تقطیر با آب وجود دارد که برای استخراج روغن‌های خوشاریزه به کار می‌رود .

عسگری و همکاران (۲۰۱۲) با استفاده از روش تقطیر با آب به کمک مایکروویو , اسانس را از قسمت‌های هوایی خوشاریزه (کوه بیبلند , شهر نیشاپور) استخراج کردند. بازده اسانس در حدود ۴۰ درصد بیشتر از روش تقطیر با آب بود و زمان استخراج آن کم‌تر از روش تقطیر با آب (۳۵ دقیقه) بود. گاما - دکالاکتن (۴۳.۹ ٪) , ترانس - اوسیمن (۲۱.۶ ٪) و سیس - اوسیمن (۴.۲ ٪) ترکیب‌های اصلی اسانس خوشاریزه بودند که ۹۶.۴ ٪ از کل ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس به روش تقطیر با آب به کمک مایکروویو را تشکیل می‌دادند , در حالی که اوسیمین (۸.۹ ٪) و گاما دلتا لاکتون (۲۰.۷ ٪) ترکیب‌های اصلی اسانس به روش تقطیر با آب بودند .

هیدروکربن‌های مونوترپنی اجزای اصلی اسانس خوشاریزه هستند. اسانس خوشاریزه که به روش تقطیر با آب استخراج می‌شود، به دلیل بازده کم و زمان بر بودن، یک روش اقتصادی نیست.

علاوه بر ارتفاع و شرایط رشد، توسعه و مراحل مختلف رشد می‌تواند کیفیت و کمیت ترکیب اسانس خوشاریزه را تغییر دهد.

ترکیب اسانس گیاه خوشاریزه از بخش‌های هوایی در طول مراحل مختلف رشد و نمو موضوع مطالعه دیگری بود. بازده استخراج (w / w) به ترتیب ۰.۷ ٪، ۰.۵ ٪ و ۰.۲ ٪ در مراحل روزت ، گل‌دهی و گلدهی کامل اسانس گیاه خوشاریزه بود. (Z)- اوسیمین جز اصلی مرحله روزت بود که در مرحله غنچه دهی گل به شدت کاهش یافت و پس از آن افزایش کمی در مرحله گلدهی کامل مشاهده شد. اوسیمین جز اصلی دم زدن گل بود در حالی که محتوای آن در مرحله گلدهی کامل کاهش یافت و در مرحله روزت تشخیص داده نشد. هیدروکربن‌های مونوترپنی به عنوان ترکیب اصلی گروه به ترتیب در مراحل گل، گل دهی و گلدهی کامل به میزان ۷۱.۶ ٪، ۶۴.۸ ٪ و ۶۹.۸ ٪ بودند .

باگامبولا وهمکاران (۲۰۰۴) معتقد است اختلافات موجود در اجزای تشکیل دهنده اسانس یک گونه گیاهی میتواند به علت تفاوت در منطقه جغرافیایی که اسانس از آن گرفته شده، تغییرات خاک، تغییرات آب وهوا، سن گیاه، فصل برداشت، قسمتهای مورد استفاده برای تهیه اسانس، روش اسانس

گیری ونوع حلال بکار رفته باشد. به طور کلی هرچه مقادیر مواد فنلیک در اسانس بالاتر باشد، خواص ضدباکتریایی آن ها بر باکتری های بیماریزا بیشتر خواهد بود.

Table 2 GC-MS analysis of chemical compositions of the *Echinophora platyloba DC.* essential oil.

No	RT (min)	Chemical components	Frequency (%)
1	3.79	2,3-dimethyl-cyclohexa-1,3-diene	0.06
2	5.06	α-thujene	0.15
3	5.226	α-pinene	3.14
4	6.119	sabinen	0.48
5	6.216	β-pinene	0.33
6	6.513	Myrcene	6.08
7	6.92	α-phellandrene	16.8
8	7.429	p-cymene	3.36
9	7.555	β-phellandrene	5.91
10	7.755	Cis-β-ocimene	1.49
11	8.156	*Trans*-β-ocimene	44.15
12	8.407	γ-terpinene	8.52
13	9.266	terpinolene	1.72
14	14.496	2-methyle-2-bornene	0.08
15	11.034	Verbanol	0.19
16	11.503	2,3-dihydro-2,2,6-trimethylbenzalhyde	0.25
17	18.870	Camphenone	0.45
18	13.042	1,3,8-p-menthatriene	0.15
19	12.499	α-terpineol	0.29
20	13.797	Cis-3-Hexenyl benzoate	0.15
21	13.923	Isovaleric acid,3-hexenyl ester	0.17
22	14.221	Carvone	0.32
23	14.107	Dimethoxy-(E)-citral	0.56
24	10.542	1,3,8-p-menthatriene	0.41
25	14.53	Geraniol	0.15
26	15.068	Citral	0.70
27	15.777	Thymol	0.11
28	16.086	Carvacrol	0.11
29	19.348	Methyleugenol	0.20
30	44.170	γ -dodecalactone	1.04
31	22.18	Bicyclogermacrene	0.20
32	26.037	Farnesyl acetone	1.45
Total			99.17

بررسی خواص آنتی اکسیدانی خوشاریزه :

رادیکال‌های آزاد به طور مداوم در بدن به عنوان عملکرد طبیعی سلولی تولید می‌شوند اما افزایش رادیکال‌های آزاد نقش مهمی در برخی از بیماری‌های عروق کرونر، آترواسکلروز، سرطان و بسیاری از بیماری‌های دیگر دارد. آنتی‌اکسیدان‌ها، به ویژه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موادی هستند که با تمیز کردن و یا خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، از بیماری‌ها جلوگیری می‌کنند.

گزارش شده‌است که اسانس خوشاریزه به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی عمل می‌کند. در مورد خواص آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره گیاه خوشاریزه، نتایج نشان داد که در غلظت های یکسان، اثر آنتی اکسیدانی اسانس گیاه خوشاریزه بیشتر از عصاره این گیاه می باشد ولی هر اثر آنتی اکسیدانی کمتری را نسبت به BHT از خود نشان دادند. با افزایش غلظت نمونه ها، فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش یافت.

گرچه اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی خوشاریزه به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی عمل می‌کنند اما قدرت آنتی‌اکسیدانی ضعیف‌تر از آنتی‌اکسیدان سنتزی است. علاوه بر این، افزایش ترکیبات فنولی عصاره ممکن است فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن را افزایش دهد. بنابراین، حلال استخراج ممکن است غلظت ترکیبات فنولی و قدرت آنتی‌اکسیدانی آن را بهبود بخشد.

مقایسه خواص آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره خوشاریزه با BHT

غلظت (ppm) / نمونه	۵۰۰	۱۰۰۰	۱۵۰۰	۲۰۰۰	۳۰۰۰	۴۰۰۰
اسانس(درصد)	۵۰/۷۷	۵۳/۸۸	۵۴/۶۶	۵۶/۵۵	۵۷/۴۴	۵۹/۷۰
عصاره(درصد)	۴۹/۳۴	۵۱/۵۵	۵۲/۷۷	۵۴/۳۳	۵۵/۸۸	۵۶/۸۸
BHT (درصد)	۵۶/۷۷	۵۹/۶۰	۷۰/۲۲	۷۴/۱۱	۸۰/۱۴	۹۱/۱۱

اثر ضد باکتریایی خوشاریزه :

مرور مطالعات پیشین نشان می دهد که معمول ترین روش برای سنجش خاصیت ضدباکتریایی اسانس وعصاره گیاهان مختلف، روش میکرودایلوشن است. بر اساس نتایج این تحقیق، اثر ضد میکروبی عصاره متانولی گیاه خوشاریزه بیشتر از اسانس آن بر روی باکتری های استافیلوکوکوس ارئوس و اشریشیاکلی مشاهده شد. باکتریهای استافیلوکوکوس ارئوس و اشریشیاکلی مقاومت تقریبا یکسانی را در برابر اسانس و عصاره گیاه خوشاریزه نشان دادند. هاشمی (۱۳۹۲) درمطالعه خود با مطالعه بر روی باکتری های گرم مثبت وگرم منفی به این نتیجه رسید که باکتری های گرم مثبت حساسیت بیشتری نسبت به باکتری های گرم منفی به اسانس گیاه خوشاریزه دارند. عدم همخوانی نتایج دو مطالعه مستقل می تواند شاهدی برای تفاوت در ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس و عصاره یک گیاه خاص در شرایط منطقه ای، آب وهوایی، جغرافیایی وسنی مختلف باشد.

به طور کلی هرچه مقادیر مواد فنلیک در اسانس بالاتر باشد، خواص ضدباکتریایی آن ها بر باکتری های بیماریزا بیشتر خواهد بود. زارعلی و همکاران(۱۳۹۲) گزارش کردند که حداقل غلظت مهارکنندگی رشد اسانس گیاه خوشاریزه برای باکتری های استافیلوکوکوس ارئوس و اشرشیاکلی به ترتیب ۹/۳ و ۴/۶ میلی گرم بر میلی لیتر بود. پاس و همکاران(۱۳۹۱) حداقل غلظت مهارکننده رشد اسانس گیاه خوشاریزه بر باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی را بترتیب۰/۱۶ و ۵/۵ میلی گرم بر میلی لیتر گزارش کردند. Arldogan و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که اسانس خوشاریزع نیز فعالیت ضد باکتریایی دارد. در تحقیقی که توسط Avizhgan و همکاران (۲۰۱۰) انجام شد، نشان دادند که عصاره ۵٪ و ۱۱٪ و اسانس ۳٪ گیاه خوشاریزه اثر مهار رشد بسیار ضعیفی بر باکتری استافیلوکوکو ارئوس دارد که با نتایج سایر دانشمندان همخوانی دارد. Entezari و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که عصاره متانولی گیاه خوشاریزه اثر ضد باکتریایی بر استافیلوکوکوس ارئوس و پسودوموناس آئروژینوزا داشت. Sharafati-Chaleshtori و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که عصاره آبی و الکلی گیاه خوشاریزه بر باکتری های گرم منفی و گرم مثبت اثر ضد میکروبی داشت. در تحقیقات مختلف مشاهده شد که اثر آنتی اکسیدانی اسانس گیاه

خوشاریزه بیشتر از عصاره آن است ولی در مقایسه با BHT این اثر ضعیف بود. همچنین اثر آنتی اکسیدانی عصاره آبی و الکلی گیاه خوشاریزه را گزارش کردند ولی این اثر نسبت به BHT کمتر بود.

مرتضائی و همکاران(۱۳۹۲) گزارش کردند که عصاره گیاه خوشاریزه دارای فعالیت آنتی اکسیدانی نسبتابالایی (۶۹٪) است. با توجه به اثرات ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره گیاه خوشاریزه در منطقه مراغه، استفاده از نسبت های بهینه این ترکیبات هم بعنوان مواد ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی و هم بعنوان طعم دهنده مناسب در فرآورده های لبنی سنتی برای تحقیقات آینده پیشنهاد می شود.

اثر ضد میکروبی عصاره متانولی خوشاریزه بر باکتری‌های مورد بررسی

عصاره (درصد) / باکتری	≥۵۰	۲۵	۱۲/۵	≤۶/۲۵
استافیلوکوکوس ارئوس	۱۰(−)	۱۰(−)	۱(−)	۱۰(+)
استافیلوکوکوس ارئوس PTCC۱۱۱۲	−	−	−	+
اشریشیاکلی	۱۰(−)	۱۰(−)	۲(−)	۱۰(+)
اشریشیاکلی PTCC۱۲۷۰	−	−	−	+

(+) رشد، (−) عدم رشد

عصاره متانولی گیاه خوشاریزه در غلظت ۱۲/۵درصد و کمتر از آن، اثر ضدباکتریایی بر باکتری ها یا استافیلوکوکوس ارئوس(بجز یک مورد) واشریشیاکلی(بجز دو مورد) نشان نداد. در غلظت های ۲۵ درصد و بالاتر از آن، اثرضدباکتریایی کاملی از عصاره متانولی گیاه خوشاریزه بر ۱۰ جدایه های استافیلوکوکوس ارئوس و اشریشیاکلی مشاهده شد.

اثر ضد میکروبی اسانس خوشاریزه بر باکتری‌های مورد بررسی

اسانس(درصد) / باکتری	≥۵۰	۲۵	۱۲/۵	≤۶/۲۵
استافیلوکوکوس ارئوس	۱۰(-)	۱(-)	۱۰(+)	۱۰(+)
استافیلوکوکوس ارئوس PTCC۱۱۱۲	-	-	+	+
اشریشیاکلی	۱۰(-)	۱۰(+)	۱۰(+)	۱۰(+)
اشریشیاکلی PTCC۱۲۷۰	-	-	+	+

(+) رشد باکتری، (-) عدم رشد باکتری

نتایج حاکی از آن است که اسانس گیاه خوشاریزه در غلظت های پائین تر از۵۰ درصد اثر ضد باکتریایی بر باکتری های استافیلوکوکوس ارئوس(بجز یک مورد) واشریشیاکلی نداشت .در غلظت های ۵۰ درصد و بالاتر از آن، اثرضدباکتریایی کاملی از اسانس گیاه خوشاریزه بر ۱۰ جدایه های استافیلوکوکوس ارئوس و اشریشیاکلی مشاهده شد.

بررسی اثر ضد قارچی خوشاریزه :

در مطالعه ای که بر عصاره گیاه خوشاریزه انجام شد مشخص گردید که این گیاه دارای مواد تشکیل دهنده ساپونین، آلکالویید و فلاونویید بوده است. یکی یا مجموعی از این ترکیبات است که آثار ضد قارچی گیاه را به عهده دارد .

ساپونین ها موادی با آثار سمی و همولیتیک هستند. ساپونین ها گلیکوزیدهای دارای پایه ترپنویید و یا استرادیول با خصوصیات surface active properties هستند. یکی از مواد ساپونین موجود در گیاه خوشاریزه که I-CAY نام دارد، دارای کشندگی برای کونیدیای در حال زایای آسپرژیلوس فلاوس است. این اثر در سطحی پایین تر از دوز سمی برای سلول های انسانی است I-CAY یک ساپونین است که به نظر میرسد با اثر تخریبی بر membrane integrity of fungal cells

کشندگی سبب میگردد. احتمال قریب به یقین ساپونین موجود در گیاه مورد مطالعه نیز با این مکانیسم آثار ضدقارچی دارد.

از دیگر ترکیبات عصاره گیاه خوشاریزه، آلکالوییدها است .آلکالوییدها مواد تشکیل دهنده برخی گیاهان هستند که آثار سمی برای اورگانیسم های حیوانی دارند. در برخی گیاهان مثل Corydalis longipes آلکالوییدهای موجود دارای آثار ضد spore germination در قارچ ها می باشند. این گیاه با داشتن آلکالوییدها نیز احتمالاً، با این مکانیسم آثار ضدقارچی خود را اعمال می کند.

یک گلیکوزید فلاونی با طبیعت فنولیک در گیاه Larrea divaricata بوده است که در مقایسه با کتوکونازول که دارای آثار سوء سلامتی است دارای خاصیت شدید ضددرماتوفیت ها است که مشابه نتیجه ای است مطالعه آویژگانی و همکاران است. فلاونوییدی در Cassia alata وجود دارد که تحت اثر آفتاب از بین میرود ولی همین فلاونویید در اثر گرما از بین نمیرود [۲۳ .]پدیدهای که شاید تاثیر یا عدم تاثیر برخی گیاهان را در شرایط خاصی توجیه کند.

طبق نتایج حاصل عصاره گیاه خوشاریزه برروی گونه های تریکوفیتون شوئن لاینی و تریکوفیتون وروکوزوم بیشترین تاثیر را داشته و برروی تریکوفیتون روبروم و میکروسپوروم ژیپسئوم کمترین تاثیر راداشته است. مقاومت این دو قارچ حتی دربرابر داروهای شیمیایی نیز مشاهده شده است. احتمالاً با افزایش غلظت عصارۀ گیاه، اثر ضدقارچی آن در گونه های مقاوم یاد شده در این مطالعه نیز ظاهر میگردد. شاهد این ادعا، عصاره خام Mitracarpus villosus (Rubiaceae) است که درغلظت پایین دارای آثار توقف رشد قارچی و درغلظت بالاتر دارای آثارکشندگی قارچی است.

بنابراین از این گیاه میتوان در غلظت های یاد شده علیه درماتوفیت های تریکوفیتون شوئن لاینی و وروکوزوم به نحو مطلوب و با اطمینان استفاده کرد. در تریکوفیتون منتاگروفایتیس و میکروسپوروم کنیس و اپیدرموفیتون فلوکوزوم نیز قابل استفاده میباشد. ممکن است در غلظت های بالاتر عصاره خاصیت ضدقارچی بر علیه تریکوفیتون روبروم و میکروسپوروم ژیپسئوم دیده شود.

بنیادیان و همکاران (۱۳۹۷) اثر ضد لیستریایی عصاره اتانولی و آبی گیاه خوشاریزه را در محیط کشت و شیر بررسی کردند. حداقل غلظت بازدارندگی عصارههای آبی و اتانولی به ترتیب ۵۰ و ۷۰ میلی گرم بر مول و حداقل غلظت باکتری کشی برای این عصاره ها به ترتیب ۷۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر مول بدست آمد. براساس نتایج بدست آمده، هر دو عصاره آبی و اتانولی اثر ضد لیستریایی قابل قبولی در شیر از خود نشان دادند، به نحوی که جمعیت باکتریایی در گروه کنترل نسبت به تیمارهای حاوی این عصاره ها، در دمای ۴ درجه سانتیگراد پس از گذشت ۷۲ ساعت، اختلاف معنی داری نشان دادند. همین نتایج در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نیز بدست آمد که پس از گذشت ۲۴ ساعت، بین گروه کنترل و تیمارهای حاوی عصاره (اتانولی و آبی) اختلاف معنی داری مشاهده شد. نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره آبی گیاه خوشاریزه، اثر ضد لیستریایی قوی تری نسبت به عصاره اتانولی داشت. همچنین مشخص گردید که تاثیر ضد لیستریایی عصاره آبی این گیاه در دمای ۴ درجه نسبت به دمای ۲۵ درجه بیشتر بود.

تعیین حداقل غلظت موثر عصارهٔ گیاه خوشاریزه بر روی قارچ‌های مورد استفاده

غلظت (mg/ml) / نام قارچ	۳۵	۵۰	۱۵۰	۲۵۰	MIC (نتیجه)
تریکوفیتون شوئن لاینی	S	S	S	S	۳۵
تریکوفیتون منتاگرو فایتیس	R	R	R	S	۲۵۰
تریکوفیتون روبروم	R	R	R	R	–
میکروسپوروم کنیس	R	R	R	S	۲۵۰
میکروسپوروم ژیپسئوم	R	R	R	R	–
تریکوفیتون ویولاسئوم	R	R	S	S	۱۵۰
تریکوفیتون وروکوزوم	S	S	S	S	۳۵
اپیدرموفیتون فلوکوزوم	R	R	R	S	۲۵۰

نتیجه گیری :

با توجه به اثرات ضدمیکروبی، ضد قارچی و آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره گیاه خوشاریزه استفاده از نسبت های بهینه این ترکیبات هم بعنوان مواد ضدمیکروبی، ضد قارچی و آنتی اکسیدانی و هم بعنوان طعم دهنده مناسب در فرآورده های لبنی سنتی برای تحقیقات آینده پیشنهاد می شود.

اسانس این گیاه بر علیه باکتری مهم پاتوژن انسانی و از عوامل مهم عفونت بیمارستانی موثراست و می توان در میکرب کش های گیاهی در آینده از آن استفاده نمود. همچنین می توان امیدوار بود که در صنایع داروسازی، غذایی، آرایشی و بهداشتی نیز مورد استفاده قرار گیرد.

منابع :

۱- اشراقی، س. س.، امین. غ. ر. و اطاری، ا. ۱۳۸۸.بررسی اثرات ضد باکتریایی و مروری بر ۱۰ گونه گیاهی علیه سوش های بیماریز ای نوکاردیا. فصلنامه گیاهان دارویی، دوره ۸ ، شماره ۳۲، ۶۰-۷۸

۲- پاس، م.، رشیدی پور، م.، طالعی، غ. ر. و دوستی، ب.۱۳۹۱ . ترکیبات شیمیایی، خاصیت ضد باکتریایی و فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس گیاه خوشاریزه . مجله داروهای گیاهی، دوره ۳ ،شماره ۲ ،۶۷-۷۴.

۳- زارعلی، م.، حجتی، م.، تهموزی دیدهبان، س. و جوینده، ح. ۱۳۹۵ .ارزیابی ترکیبات شیمیایی و فعالیت ضدباکتریایی اسانس گیاهان خوشاریزه و چای کوهی در شرایط آزمایشگاهی. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، دوره ۱۳ ، شماره ۵۲، ۱-۱۲ .

٤- مرتضائی، س. ا...، رفیعیان، م.، انصاری سامانی، ر. و شاهین فرد، ن. ۱۳۹۲ . مقایسه غلظت ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی هشت گیاه دارویی. مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، دوره ۱۲، شماره ۷، ۵۱۹-۵۳۰.

٥- هاشمی،م.۱۳۹۲ .بررسی ترکیبات شیمیایی، خواص آنتی اکسیدانی، ضد باکتریایی و ضدقارچی اسانس گیاه خوشاریزه(اکینوفورا پلتیلوبا) و کاربرد آن در خامه پاستوریزه بعنوان

آنتیاکسیدان به تنهایی و همراه با لیکوپن. پایان نامه دکتری رشته دامپزشکی، دانشگاه ارومیه،دانشکده دامپزشکی.

6- Aqababa, H., Golkary, H., Zarei, A. and Changizi Ashtiyani, S., 2016. Effect of aerial parts extract of Echinophora platyloba on liver and kidney function tests in obese hypercholesterolaemia rats. Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, 23(10): 943-956.

7- Avizhgan , M ., Mahboubi , M ., Darabi , M ., Saadat , M ., Sarikhani , S. and Kassaiyan N.2010. Overview on Echinophora platyloba, a synergistic antifungal agent candidate. Journal of Yeast and Fungal Research, 1(5):88 -94.

8- Avijgan, M., & Mahboubi, M. (2015). Echinophora platyloba DC. as a new natural antifungal agent. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, *5*(3), 169–174. https://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60647-2

9- Bagamboula , C . F ., Uyttendaele , M. and Debevere J.2004. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p -cymene towards Shigella sonnei and Shigella flexneri. Food Microbiology,21: 3 3 -42.

10- Burt, S.2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods. International Journal of Food Microbiology, 94:223 -253.

11- Entezari , M ., Hashemi , H ., Ashki , M ., Ebrahimian , S ., Bayat , M., Azizi Saraji, A.R. and Rohani S .R.2009. Studying the effect Echinophora platyloba extract on bacteria (Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeroginosa) and fungi (Candidia albicans, Aspergilus flavus and Aspergilus niger) in vitro. World Journal of Medical Sciences, 4(2):89 -92.

12- Fathi-Moghadam, E., Shakerian, A., Chaleshtori, R. S., & Rahimi, E. (2020). Chemical Composition and Antioxidant Properties and Antimicrobial Effects of Satureja bachtiarica Bunge and Echinophora platyloba DC . Essential Oils Against Listeria monocytogenes. *Journal of Medicinal Plants and By-Products*, *1*, 47–58.

13- Ghasemi Pirbalouti, A., Malek poor, F., Enteshari, S.H., Yousefi, M., Momtaz, H. and Hamedi, B.2010.Antibacterial activity of some folklore medicinal plants used by Bakhtiari Tribal in south west Iran. International Journal of Biology, 2:55 -63.

14- Irobi ON, Daramola SO. Antifungal activities of crude extracts of Mitracarpus villosus (Rubiaceae). J. Ethnopharmacol. 1993; 40: 137-140.
15- Sharafati -Chaleshtori, R., Rafieian -Kopaei, M., Mortezaei, S., Sharafati -Chaleshtori, A. and Amini, E.2012. Antioxidant and antibacterial activity of the extracts of Echinophora platyloba DC. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 6(37):2692 -95.
16- Pilevar, Z., Hosseini, H., Hajimehdipoor, H., Shahraz, F., Alizadeh, L. and Mousavi Khaneghah, A., 2017. The anti-Staphylococcus aureus effect of combined Echinophora platyloba essential oil and liquid smoke in beef. Food Technology and Biotechnology, 55: 117-124.