

بررسی ترکیبات شیمیایی و اثرات ضد میکروبی عصاره برگ گیاه برگ بو (*Laurus nobilis* L) بر روی سویه های مختلف میکروبی

احمد پدرام نیا^{۱*}، سید علی مرتضوی^۲، محمد مهدی نعمت شاهی^۳

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سبزوار، گروه علوم و صنایع غذایی، سبزوار، ایران.

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سبزوار، گروه علوم و صنایع غذایی، سبزوار، ایران.

۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سبزوار، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، سبزوار، ایران و پژوهشگر پسا دکتری علوم و صنایع غذایی

چکیده

مقاومت آنتی بیوتیکی زمینه را برای جایگزین نمودن روش های درمانی گیاهی دارای عوارض جانبی کمتر نسبت به داروهای رایج فراهم نموده است. این مطالعه نیز به منظور بررسی ترکیبات شیمیایی و اثرات ضد میکروبی عصاره متانولی برگ گیاه برگ بو در غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ppm بر روی تعدادی از سویه های مختلف میکروبی شامل باکتری های استافیلوکوکوس ارئوس، لیستریا مونوسیتوژنز، اشیریشیا کلی، باسیلوس سرئوس و کپک اسپرژیلوس نایجر به روش انتشار دیسک انجام شد. نتایج نشان داد عصاره متانولی برگ گیاه برگ بو از رشد باکتری های استافیلوکوکوس ارئوس، لیستریا مونوسیتوژنز و اشیریشیا کلی جلوگیری کرد، به طوری که اثر ضد باکتریایی عصاره برگ گیاه برگ بو با افزایش غلظت عصاره نیز افزایش یافت در حالی که اثری بر باکتری باسیلوس سرئوس و کپک اسپرژیلوس نایجر در غلظت های مورد استفاده نداشت. با مقایسه آنتی بیوتیک های کلرامفنیکل (در غلظت ۳۰ μg/disc)، آمپلی سیلین (در غلظت ۱۰ μg/disc)، جنتامایسین (در غلظت ۱۰ μg/disc) و کانامایسین (در غلظت ۳۰ μg/disc) به عنوان استاندارد مثبت با اثر عصاره برگ بو مشخص شد که اثر این آنتی بیوتیک ها بیشتر از غلظت های مورد استفاده از عصاره مذکور می باشد و در این بین بیشترین و کمترین تاثیر به ترتیب مربوط به کلرامفنیکل و آمپلی سیلین بود. در نهایت می توان چنین استنباط کرد با توجه به نتایج حاصل، عصاره گیاه برگ بو شامل مواد ضد میکروبی با اثرات ضد میکروبی بوده ولی اثر ضدقارچی کمتری دارد.

کلید واژگان: برگ گیاه برگ بو، ضد میکروبی، میکروارگانیزم ها، ترکیبات شیمیایی.

*مسئول مکاتبات: ahmadpedram@yahoo.com

۱- مقدمه

یکی از بیماری‌های مهم که همواره انسان با آن دست به گریبان بوده، بیماری‌های باکتریایی است. مقاومت روز افزون باکتریها به آنتی بیوتیک‌ها و عوارض جانبی عوامل ضد باکتریایی شیمیایی از مشکلات مهم در امر درمان بیماری‌های عفونی است [۱]. فرایند مقاومت باکتری ها نسبت به آنتی بیوتیک های شیمیایی توانایی پزشکان را در درمان بعضی از بیماری‌های عفونی که اغلب مرگبار هستند محدود نموده است. مرگ و میر ناشی از عفونت های بیمارستانی که سالانه تنها عامل چهل هزار مرگ در ایالات متحده است تقریباً ناشی از همین افزایش مقاومت باکتریایی نسبت به آنتی بیوتیک هاست [۲]. مطالعه گیاهان دارویی به منظور کشف روش های درمانی جدید که دارای عوارض جانبی کمتر و ارزش اقتصادی بالاتری می باشند در سطح جهان اهمیت خاصی پیدا کرده است. براساس گزارش های منتشر شده در حال حاضر بیش از ۳۰ درصد داروهای گیاهی در بیمارستان ها و کلینیک ها مورد استفاده قرار می گیرند [۳].

گیاهان از دیرباز به عنوان یکی از مهمترین منابع مواد دارویی ضد میکروبی مطرح بوده‌اند [۴]. اسانس‌های گیاهی و انواع متابولیت‌های ثانویه گیاهی به عنوان موادی با ویژگی های ضد میکروبی شناخته شده‌اند و دارای اثرات سمی کم و یا فاقد اثرات سمی هستند [۵]. بنابراین می توان از این فرآورده‌ها به عنوان جایگزینی طبیعی برای آنتی بیوتیک ها استفاده نمود. همچنین برای حفاظت مواد دارویی و غذایی در برابر فساد میکروبی از آن ها بهره جست. گیاهان دارویی دو نقش عمده در مواد غذایی ایفا می کنند: یکی ایجاد طعم و مزه و دیگری در نگه داری مواد غذایی با به تاخیر انداختن فساد با توجه به دارا بودن ویژگی های ضد میکروبی و ضد اکسیداسیونی [۶]. در همین راستا با توجه به تنوع آب و هوایی و در نتیجه فلور گیاهی بسیار متنوع در ایران امکان شناسایی مواد موثره گیاهی در گیاهان مختلف بومی کشور و استخراج آن ها به منظور تولید این مواد به مقدار زیاد و در مقیاس صنعتی وجود دارد. گیاه برگ بو با نام علمی *Laurus nobilis* L از خانواده Lauraceae جزء گیاهان دارویی با مواد موثره فراوان می باشد که اسانس و عصاره آن دارای خاصیت آنتی اکسیدانی و اثرات ضد میکروبی مناسبی می باشد و می‌تواند به عنوان آنتی

اکسیدان طبیعی و یا جایگزین آنتی بیوتیک ها در درمان برخی بیماریها مورد استفاده قرار گیرد [۷]. کاشت و پرورش گیاه برگ بو در ایران در دوره قاجاریه آغاز یافت و در گذشته به عنوان درخت زینتی در تهران و برخی نواحی شمال ایران کاشت می شد. برگ بو درخت یا درختچه ای همیشه سبز به ارتفاع ۲۰-۱۵ متر و دو پایه است. برگ گیاه سبز تیره، بیضی شکل و به طول ۱۱-۳ سانتی متر، نوک تیز، معطر و زیبا هستند و دارای دمبرگ کوتاه به رنگ سبز متمایل به قرمز است. میوه آن کوچک به رنگ ارغوانی تیره و به اندازه دانه انگور می باشد [۷]. این گیاه در بسیاری از مناطق معتدل و مرطوب جهان به خصوص در نواحی مدیترانه ای شامل یونان، اسپانیا، پرتغال، مراکش و ترکیه کشت می شود. در ایران نیز در نواحی شمالی و مرکزی پرورش می یابد [۸].

در طب سنتی برای خواص ضد رماتیسمی، ضد تشنج کاربرد داشته است. پودر میوه آن به صورت دم کرده دارای ویژگی های ادراک آور و ضد نفخ میباشد. در گذشته روغن استحصالی از میوه آن به صورت وسیعی برای درمان جوشها، رگ به رگ شدگیها، کبودیها و ضرب دیدگیها استفاده می شد [۹]. از نظر ترکیبات شیمیایی طبق تحقیقات انجام گرفته مشخص شده است که آلفا توکوفرول ترکیب عمده در اندام‌های رویشی گیاه برگ بو می باشد و در برگ ها فلاونوئیدها، لاکتون سسکوئی ترپنوئید، آلکالوئیدهای ایزوکوئینولین و اسیدهای فنولی وجود دارد. همچنین مقدار آلفاتوکوفرول در برگ های گیاه برگ بو به شدت بالا بوده و ریشه های آن حاوی بالاترین مقدار فلاونوئیدها می باشد [۵].

مطالعات مختلفی در زمینه شناسایی ترکیبات و بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس و عصاره گیاهان دارویی در ایران و سراسر جهان صورت گرفته است، ولی تاکنون هیچ تحقیقی در مورد بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره برگ گیاه برگ بو در کشورمان صورت نگرفته است. در مطالعه ای که توسط امجد و همکاران سال ۱۳۹۰ فعالیت ضد باکتریایی عصاره متانولی گل و برگ گیاه بو مادران مورد مطالعه قرار گرفت. در این پژوهش عصاره متانولی گل و برگ گیاه بو مادران بر باکتری باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس آرنئوس بیشترین اثر دهی را داشتند که با افزایش غلظت، اثر ضد باکتریایی آنها نیز افزایش می یافت، همچنین این عصاره ها بر باکتری اشرشیا کلی تاثیر

۲-۱- تهیه عصاره برگ گیاه برگ بو

برای استخراج عصاره، برگ های خشک و پاک شده برگ گیاه برگ بو با آسیاب (کنوود مدل CG100) خرد شد و پس از الک کردن، استخراج عصاره به روش سیال فوق بحرانی (سوپر کریتیکال) صورت گرفت. فشار و دمای استخراج به ترتیب ۲۵۰ بار و دمای 60°C تنظیم گردید و از اتانول ۴٪ بعنوان تعدیل کننده مورد استفاده قرار گرفت. مدت زمان عصاره گیری ۷۵ دقیقه بود و سپس عصاره ها پس از استخراج توسط خشک کن انجمادی تغلیظ شده و خشک شدند و تا زمان استفاده در ظروف تیره، سربسته و غیر قابل نفوذ به هوا نگه داری شدند [۸].

۲-۲- استریل کردن عصاره

عصاره مورد استفاده در این تحقیق شامل عصاره برگ گیاه برگ بو بود که قبل از انجام هر کاری می‌بایست استریل شوند و این کار با فیلتر سرنگی با قطر منافذ 0.45 میکرون صورت گرفت. استفاده از اتوکلاو جهت استریل کردن عصاره و اسانس جایز نیست چون باعث تخریب کامل آن ها می شود.

۲-۳- تهیه محلول ذخیره از عصاره

جهت تهیه محلول ذخیره عصاره از حلال دی متیل سولفوکساید (DMSO) ۵٪ استفاده شد. بدین صورت که ابتدا ۵۰۰ میکرولیتر از DMSO خالص را برداشته و به آن $9/5$ میلی لیتر آب مقطر اضافه می کنیم تا محلول ۵٪ DMSO تهیه شود. این محلول نیز توسط فیلتر سرنگی استریل، در مراحل بعدی جهت تهیه غلظت های مختلف عصاره مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۴- تهیه سوسپانسیون ۰/۵ مک فارلند

از محیط کشت مایع (کشت ۲۴ ساعته) برداشته و بعد از انتقال به دستگاه اسپکتروفتومتر جذب آن در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت شد. چنانچه جذب قرائت شده در محدوده $0.08-0.13$ باشد بدین معنی است که کشت ۲۴ ساعته آماده استفاده در مراحل بعدی آزمایش است. چنانچه این عدد بالاتر باشد با رقت سازی مناسب این نتیجه حاصل می شود. طول موج ذکر شده مربوط به استاندارد ۰/۵ مک فارلند است و معادل $10^8 \text{ cfu/ml} \times 1/5$ می‌باشد.

ضعیف تری داشتند. در این بررسی هیچ گونه اثر باز دارندگی از رشد بر باکتری سودو موناس آئروژینوزا مشاهده نگردید [۱۰]. دنگ و همکاران نیز در سال ۲۰۱۴ تاثیر مراحل مختلف رسیده شدن میوه و حلال های عصاره گیری بر روی ترکیبات فنلی، فعالیت های ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی عصاره برگ های زغال اخته مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد همه عصاره ها علیه «اشریشیا کلی» و «قارچ ها» فعالیت ضد میکروبی داشتند اما فقط نمونه های «نیمه رسیده» و «رسیده بازار پسند» در مورد لیستریا مونوسیتوزنز و استافیلوکوکوس آرتوس خواص ضد میکروبی از خود نشان دادند [۱۱].

نتایج بدست آمده از تحقیقات مختلف جهت ارزیابی آثار ضدمیکروبی انواع اسانس ها، عصاره ها و ادویه ها حاکی از قدرت و توانایی این ترکیبات در ممانعت از رشد دامنه وسیعی از میکروارگانسیم های بیماری زا و عامل فساد در مواد غذایی می باشد. بنابراین با توجه به اشارات متعدد منابع مختلف گیاهان دارویی بر فعالیت ضدمیکروبی گیاهان بومی ایران از جمله برگ گیاه برگ بو و نیز مصرف سستی این گیاهان برای رفع ناراحتی های گوارشی بر آن شدیم تا اثرات مستقیم عصاره برگ گیاه برگ بو را بر برخی میکروارگانسیم های بیماری زا بررسی کنیم.

۲- مواد و روش ها

برگ گیاه برگ بو از درختان شهرستان ساری از یک نوع وارسته تهیه و قسمت های زائد آن جدا شده و بلافاصله پس از شستشو خشک گردید. سویه های باکتری مورد استفاده در این پژوهش از مرکز منطقه ای کلکسیون قارچ ها و باکتری های صنعتی ایران شامل لیستریا مونوسیتوزنز به شماره PTCC 1297، استافیلوکوکوس آرتوس PTCC 1189، اشریشیا کلی PTCC 1399، باسیلوس سرئوس PTCC 1154 و اسپریلوس نایجر PTCC 5012 به صورت آمپول لیوفیلیزه به تعداد یک آمپول تهیه و آماده سازی شد. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده مانند DPPH، معرف فولین سیوکالتیو، کربنات سدیم، متانول، اتانول و محیط کشت ها از شرکت های مرک و سیگما آلدریج با درصد خلوص بالا تهیه گردید.

۲-۵- تهیه کشت میکروبی

از عصاره برگ گیاه برگ بو که در مرحله قبل به دست آمده غلظت های ۸۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰ و ۱۰۰ توسط حلال دی متیل سولفوکساید (DMSO) ۵٪ جهت استفاده در آزمایش انتشار دیسک تهیه شد. سویه های استاندارد شامل اشیشیاکلی، استافیلوکوکوس آرنوس، باسیلوس سرئوس، لیستریا مونو سیترنز و اسپرژیلوس نایجر بود که این سویه ها از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید. جهت بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره برگ گیاه برگ بو از روش انتشار دیسک استفاده گردید. جهت تهیه مایه میکروبی ۵-۴ کلنی مجزا از باکتری مورد نظر از محیط کشت ذخیره برداشت شده و به یک لوله حاوی محیط کشت مولر هیتون براث (MHB) منتقل گردید. سپس نمونه ها در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۴-۲ ساعت قرار گرفت تا کدورت آنها به میزان استاندارد ۰/۵ مک فارلند برسد. پس از رقیق سازی، ۵۰۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون بر روی محیط کشت مولر هیتون آگار انتقال یافت و به وسیله سوآپ استریل در ۳ جهت عمل کشت میکروبی انجام گرفت [۱۲].

۲-۶- آزمون ها

۲-۶-۱- آزمون های فیزیکی شیمیایی

پروفاایل اسید چرب نمونه به وسیله کروماتوگرافی گاز - مایع تعیین شد و بر اساس درصد نسبی سطوح گزارش گردید. [۱۳]. اندازه گیری ترکیبات فنلی بر اساس ترسیم منحنی کالیبراسیون محلول های استاندارد اسید گالیک طبق روش استویلوا و همکاران در سال ۲۰۰۷ انجام شد [۱۴]. تعیین اجزاء توکوفرولی نمونه به کمک دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) ساخت شرکت یانگ لین انجام شد. ارزیابی میزان استرول های نمونه با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) اندازه گیری گردید [۱۵].

۲-۶-۲- روش انتشار دیسک

این روش معمولی ترین شکل ارزیابی مواد ضد میکروبی است و به نام آزمون کربی-بایر معروف است. اساس این روش انتقال ماده آنتی باکتریال به درون دیسک می باشد و این امر به دو صورت انجام می گیرد: ۱) قرار دادن دیسک ها در غلظت های معینی از عصاره. ۲) انتخاب میزان دقیق عصاره و انتقال آن به درون دیسک. حتی اگر به روش دوم نیز دیسک ها را تهیه

شوند با مقادیر دیسک های آنتی بیوتیک استاندارد برابری نمی کنند. مهم این است که مشخص گردد اثر چه غلظتی از عصاره با آنتی بیوتیک برابری می کند یا حتی از آن بیشتر است. حتی اگر این غلظت بیشتر از غلظت آنتی بیوتیک هم باشد به دلیل مزایایی که دارد می تواند جانشین آنتی بیوتیک شود [۱۲]. در این روش ابتدا دیسک های استریل را در محلول عصاره انداخته و بعد از آغشته نمودن، از آن ها استفاده می شود. محیط کشت مولر هیتون آگاری که از قبل تهیه می شود به ضخامت ۵ میلی متر به پتری دیش های انتخابی استریل اضافه می گردد. توسط اپلیکاتور از محیط کشت پایه نمونه باکتری برداشته و به محیط کشت تلقیح گردید. تمامی این مراحل در شرایط اسپتیک صورت گرفت تا محیط کشت به باکتری دیگری که در محیط اطراف وجود دارد آلوده نشود. سپس با پنس استریل دیسک های آماده ی حاوی عصاره که حلال آن ها تبخیر شده است در فواصل معین بر روی محیط کشت قرار داده می شود. در هر پتری دیش ۴ دیسک قرار می گیرد، سه دیسک مربوط به غلظت ها و یک دیسک نیز دیسک شاهد (دیسک فاقد عصاره) می باشد که از قبل تهیه شده بود. لازم به ذکر است که فعالیت آنتی باکتریایی دیسک های آنتی بیوتیک استاندارد شامل کلرامفنیکل (در غلظت ۳۰ μg/disc)، آمپلی سیلین (در غلظت ۱۰ μg/disc) و کانامایسین (در غلظت ۳۰ μg/disc) نیز در پتری دیش های جدا گانه مورد ارزیابی قرار گرفت. در نهایت پتری دیش های تلقیح شده در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفته و بعد از ۲۴ ساعت قطر هاله های عدم رشد ایجاد شده در اطراف دیسک ها با کولیس اندازه گیری گردید [۱۲].

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی ترکیبات شیمیایی عصاره برگ

گیاه برگ بو

۳-۱-۱- ساختار اسید های چرب

ساختار اسیدهای چرب عصاره متانولی برگ گیاه برگ بو در جدول ۱ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می شود اسید لینولنیک (C_{18:3})، اسید پالمیتییک (C_{16:0}) و اسید پالمیتوئیک، اسیدهای چرب عمده تشکیل دهنده ساختار

عصاره برگ گیاه برگ بو بودند. به دلیل سطوح بالای اسید لینولنیک و اسید لینولئیک عصاره برگ گیاه برگ بو دارای بیشترین میزان اسیدهای چرب چند غیراشباعی (PUFA) با مقدار ۴۰/۲۱ درصد بود. اسیدهای چرب اشباع (SFA) و اسیدهای چرب تک غیراشباع (MUFA) به ترتیب با مقادیر

شده توکوفرولی عصاره با مقادیر ترتیب برابر ۱۳/۸۲ و ۷/۳۱ درصد بود. بر اساس نتایج مقدار کل آلفاتوکوفرول ۲۷۷۴/۶۳ میلی گرم بر کیلوگرم، بتا و گاما توکوفرول ۱۱۵۱۸/۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم و دلتا توکوفرول ۱۴۶۶/۹۱ میلی گرم بر کیلوگرم محاسبه گردید.

Table 1 The structure of fatty acids of *Laurus nobilis* leaf extract

| The type of fatty acid | Amount (percent) |
|--------------------------------------|------------------|
| Myristic acid(C _{14:0}) | 0.67 |
| Palmitic acid(C _{16:0}) | 21.25 |
| Palmitoleic acid(C _{16:1}) | 16.49 |
| Margaric acid (C _{17:0}) | 0.57 |
| Stearic acid (C _{18:0}) | 3.17 |
| Oleic acid (C _{18:1}) | 13.37 |
| Linoleic acid(C _{18:2}) | 14.26 |
| Linolenic acid(C _{18:3}) | 25.95 |
| Arachidic acid(C _{20:0}) | 1.08 |
| Behenic acid(C _{22:0}) | 1.25 |
| Lignoceric acid(C _{24:0}) | 1.89 |
| Saturated Fatty Acids(SFA) | 29.88 |
| Mono Unsaturated Fatty Acids(MUFA) | 29.86 |
| Poly Unsaturated Fatty acids (PUFA) | 40.21 |

۱-۲-۳- ترکیبات توکوفرولی

شناسایی اجزاء توکوفرولی عصاره متانولی برگ گیاه برگ بو در جدول ۲ آورده شده است. در بین توکوفرول ها، گاما و بتا توکوفرول با ۵۷/۳۹ درصد دارای بیشترین مقادیر بودند و آلفا توکوفرول ۱۳/۸۲٪ و دلتا توکوفرول ۷/۳۱٪ سایر اجزاء شناسایی

گیاه برگ بو بودند که از نظر مقداری به ترتیب برابر ۱۳/۸۲، ۹/۱۲، ۱۹/۴۷، ۲/۳۱ و ۰/۵۴ درصد می باشند (جدول ۳). بر اساس نتایج حاصل از شناسایی ترکیبات عصاره مشخص شد که مقدار کل ترکیبات استرولی در عصاره برگ گیاه برگ بو ۳۴۶۲ میلی گرم بر کیلوگرم محاسبه گردید.

Table2. Tocopherol compounds of *Laurus nobilis* leaf extract

| The type of chemical composite | The amounts (percent) |
|--------------------------------|-----------------------|
| Delta Tocopherol | 7.31 |
| Beta and gamaTocopherol | 57.93 |
| Alpha Tocopherol | 13.82 |
| Other Tocopherols | 21.48 |

۱-۳-۳- ترکیبات استرولی

شناسایی و اندازه گیری مقدار استرول های عصاره متانولی برگ گیاه برگ بو در جدول ۳ مشخص شده است. در بین استرول ها، بالاترین میزان به بتا سیتواسترول با ۷۵/۱۷ درصد تعلق داشت و پس از آن بتولین، کامپسترول، سیگما استرول و کلسترول سایر ترکیبات استرولی شناسایی شده در عصاره برگ

گیاه برگ بو بودند که از نظر مقداری به ترتیب برابر ۱۳/۸۲، ۹/۱۲، ۱۹/۴۷، ۲/۳۱ و ۰/۵۴ درصد می باشند (جدول ۳). بر اساس نتایج حاصل از شناسایی ترکیبات عصاره مشخص شد که مقدار کل ترکیبات استرولی در عصاره برگ گیاه برگ بو ۳۴۶۲ میلی گرم بر کیلوگرم محاسبه گردید.

Table 3 The sterol compounds of *Laurus nobilis* leaf extract

| The type of chemical composite | Amounts (percent) |
|--------------------------------|-------------------|
| Cholesterol | 0.54 |
| Campsterol | 9.19 |
| Sigmasterol | 2.31 |
| Betasitosterol | 75.17 |

۳-۴-۱- ترکیبات فنلی عصاره برگ گیاه بو

ترکیبات فنلی به دلیل خواص آنتی اکسیدانی از جمله ترکیبات مهم گیاهان محسوب می شوند که نقش مهمی در حذف رادیکال های آزاد و جلوگیری از تبدیل هیدروپراکسیدها به رادیکال های آزاد را دارند [۱۶]. یکی از روش های ارزیابی اثرات آنتی اکسیدانی گیاهان استفاده از قدرت مهار کنندگی رادیکال های آزاد DPPH است و با حذف این رادیکال می توان به روشی آسان، سریع و دقیق توانایی آنتی اکسیدانی را ارزیابی نمود [۱۷ و ۱۸]. از آنجا که در تحقیقات صورت گرفته بین اثر آنتی اکسیدانی و مقدار ترکیبات فنلی رابطه مستقیم ذکر شده است [۱۹]، لازم است مقدار کل ترکیبات فنلی در عصاره برگ گیاه بو نیز تعیین شود. در واقع با توجه به اثرات درمانی و خواص دارویی گیاه بو و سایر گیاهان دارویی، شناسایی و بررسی میزان ترکیبات موثره این گیاه امری ضروری محسوب می شود. نظر به اینکه میزان ترکیبات موجود در شرایط مختلف آب و هوایی و در بخش های مختلف گیاه متفاوت است، لازم است طی آزمایش های متعدد میزان این ترکیبات در مناطق مختلف بررسی شود. در این پژوهش عصاره برگ گیاه بو را به روش ماسراسیون استخراج و میزان ترکیبات فنلی آن مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج آنالیز واریانس تاثیر غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه بو بر مقدار ترکیبات فنلی موجود در عصاره که با استفاده از تست فولین و معادله منحنی استاندارد اسیدگالیک اندازه گیری شد، در شکل ۱ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می شود با افزایش غلظت عصاره برگ گیاه بو میزان ترکیبات فنلی موجود در عصاره افزایش یافت که این امر منجر به افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره می شود. طبق نتایج با افزایش غلظت های مختلف عصاره، میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی از ۳۴/۷۱ میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره در غلظت ۲۰۰ ppm تا ۷۶/۱۲ میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره در غلظت ۱۶۰۰ ppm عصاره برگ گیاه بو افزایش یافت و این افزایش در تمام غلظت های عصاره نسبت به نمونه شاهد با مقدار ۱۶/۳۳ ترکیبات پلی فنلی، در سطح احتمال ۹۵ درصد معنی دار بود ($P < 0.05$). در مرحله بعد با مقایسه میزان ترکیبات فنلی عصاره با آنتی اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۲۰۰ ppm مشخص شد که در غلظت ثابت،

قدرت آنتی اکسیدان سنتزی (۴۳/۷۲ میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره) بیشتر می باشد ولی نسبت به غلظت های بالاتر عصاره، میزان ترکیبات فنلی و در نتیجه قدرت آنتی اکسیدانی کمتری داشت که حاکی از میزان بالای ترکیبات فنلی مختلف در عصاره برگ گیاه بو می باشد.

امروزه یکی از بهترین منابع آنتی اکسیدان های طبیعی، ترکیبات فنلی گیاهان می باشند [۲۰]. آنتی اکسیدان های پلی فنلی یک گروه ویژه از متابولیت های ثانویه را تشکیل می دهند که نقش مهمی در حفاظت بافت ها در مقابل اثرات اکسیدکنندگی رادیکال های آزاد اکسیژن و سایر گونه های فعال ایفا می کنند، به طوری که از بروز بیماری های متعددی از جمله بیماری های التهابی، سرطان، دیابت، سکتة قلبی، آلزایمر و پارکینسون جلوگیری می نمایند [۲۱]. خاصیت آنتی اکسیدانی گیاهان به میزان هر یک از ترکیبات پلی فنلی بستگی دارد [۲۲].

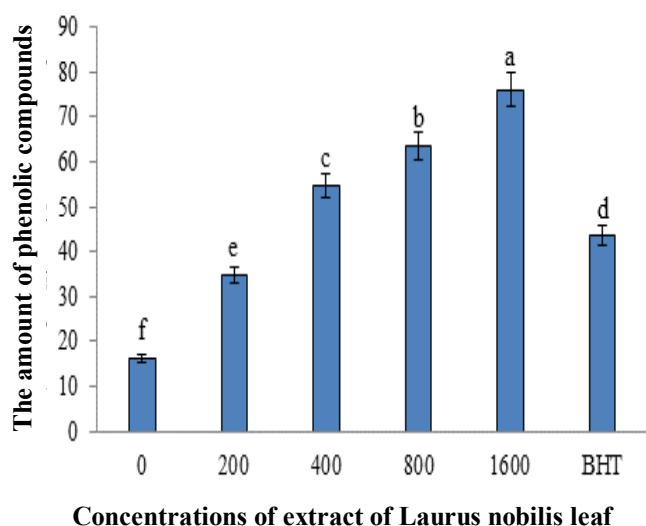


Fig 1 Changes in the amount of phenolic compounds in the concentrations of extracts of *Laurus nobilis* leaf

۳-۲- اثر ضد میکروبی و ضد قارچی عصاره برگ گیاه بو

گیاهان انواع مختلفی از مواد زیست فعال تولید می کنند که آنها را به عنوان یک منبع غنی از مواد دارویی معرفی می کند [۲۳]. مطالعات انجام شده در دنیا بیانگر آن است که عصاره بسیاری از گیاهان توانایی مهار رشد میکروارگانیسم ها را دارد و به این لحاظ گیاهان به عنوان عوامل ضد میکروبی کاربردهای زیادی پیدا نموده اند. در پژوهش حاضر برای اولین بار در ایران اثر

غلظت $(\mu\text{g}/\text{disc}^{30})$ ، آمپلی سیلین (در غلظت $10 \mu\text{g}/\text{disc}$)، جنتامایسین (در غلظت $10 \mu\text{g}/\text{disc}$) و کانامایسین (در غلظت $30 \mu\text{g}/\text{disc}$) به عنوان استاندارد مثبت بر باکتری های استافیلوکوکوس ارئوس، لیستریا مونوسیٹوژنز، اشیشیا کلی، باسیلوس سرئوس و کپک اسپرژیلوس نایجر به صورت کمی و با اندازه گیری قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی متر) در جدول ۴ آورده شده است.

ضد میکروبی عصاره برگ گیاه برگ بو بررسی شد. برای این منظور چند سویه باکتری گرم مثبت و منفی و همچنین کپک اسپرژیلوس نایجر انتخاب و اثر غلظت های مختلف عصاره مذکور در جلوگیری از رشد این میکروارگانیسم ها بررسی شد و در نهایت با اثر چند آنتی بیوتیک استاندارد به عنوان نمونه شاهد مقایسه گردید. نتایج اثر غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه برگ بو و همچنین آنتی بیوتیک های کلرامفنیکل (در

Table 4 The results of inhibitory effect of growth of extracts of *Laurus nobilis* leaf on the microorganisms studied.

| Concentrations (ppm) | The diameter of the zones of lack of growth (mm) | | | | |
|----------------------|--|-----------------------------------|-------------------------|----------------------------------|----------------|
| | <i>S.aureus</i> (G^+) | <i>L. monocytogenes</i> (G^+) | <i>E.coli</i> (G^-) | <i>Bacillus cereus</i> (G^+) | <i>A.niger</i> |
| 100 | 8.25±0.25 | 8.80±0.2 | 7.30±0.1 | - | - |
| 200 | 9.16±0.25 | 8.85±0.1 | 8.94±0.4 | - | - |
| 400 | 9.67±0.5 | 9.80±0.5 | 9.22±0.2 | - | - |
| 800 | 10.1±0.3 | 11.50±0.4 | 9.57±0.3 | - | - |
| Chloramphenicol | 24.12±0.4 | 22.24±0.15 | 24.75±0.7 | 26.58±0.4 | 29.38±0.9 |
| Ampicillin | - | 18.15±0.3 | - | - | 24.62±0.65 |
| Gentamycin | 17.63±0.6 | 16.35±0.25 | 22.10±0.3 | 19.88±0.5 | 27.94±0.5 |
| Kanamycin | 16.18±0.2 | 18.45±0.5 | 23.10±0.5 | 20.13±0.35 | 25.06±0.3 |

اثر *(A.niger)* و اسپرژیلوس نایجر *(C.albicans)* بازراندگی نداشتند. در نهایت این محققین بیان داشتند با توجه به نتایج حاصل، گیاهان مذکور تاحدی دارای اثرات ضد میکروبی بوده ولی فاقد اثر ضدقارچی می باشند [۲۴].

در مورد اثر عصاره برگ گیاه برگ بو بر باکتری های *L. monocytogenes* و *E.coli* نیز روند مشابهی به دست آمد بدین معنی که با افزایش غلظت برگ گیاه برگ بو قطر هاله عدم رشد افزایش یافت. بدین ترتیب در مورد *E.coli* قطر هاله از مقدار $7/30$ میلی متر در غلظت 100 ppm عصاره تا مقدار $9/57$ میلی متر در غلظت 800 ppm افزایش یافت، در حالی که در مورد باکتری *L.monocytogenes* قطر هاله به ترتیب $8/80$ میلی متر برای غلظت 100 ppm و $11/50$ میلی متر برای غلظت 800 ppm بدست آمد که نشان دهنده تاثیر بیشتر عصاره برگ گیاه برگ بو بر *L.monocytogenes* می باشد. با بررسی اثر آنتی بیوتیک های استاندارد به عنوان نمونه های شاهد مشخص شد که در مورد این دو باکتری نیز اثر این آنتی بیوتیک ها در افزایش قطر هاله عدم رشد بیشتر از عصاره برگ گیاه برگ بو می باشد. همان طور که در جدول ۴ مشاهده می شود آمپلی سیلین بر باکتری گرم منفی *E.coli* نیز مانند استافیلوکوکوس ارئوس تاثیر نداشته است ولی در جلوگیری

نتایج اثر غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه برگ بو بر جلوگیری از رشد باکتری استافیلوکوکوس ارئوس نشان داد که بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به غلظت 800 ppm بود که برابر $10/1$ میلی متر می باشد. با افزایش غلظت عصاره نیز خاصیت ضد میکروبی آن افزایش یافت بطوری که با افزایش غلظت عصاره از 100 تا 800 ppm قطر هاله عدم رشد حدود 2 میلی متر بیشتر شد. با مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره برگ گیاه برگ بو با آنتی بیوتیک های استاندارد به عنوان نمونه های شاهد نیز مشخص شد که آنتی بیوتیک آمپی سیلین تاثیری بر این میکروارگانیسم نداشت ولی سایر آنتی بیوتیک ها اثر ضد میکروبی بیشتری نسبت به عصاره برگ گیاه برگ بو داشتند. در بین آنتی بیوتیک های استاندارد هم بیشترین تاثیر مربوط به کلرامفنیکل با قطر هاله عدم رشدی برابر $24/12$ میلی متر بود. سممانی و همکاران (۱۳۸۶) با بررسی و مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره های متانولی چند گونه گیاه از جنس های *Stachys* و *Phlomis* بر باکتری های *E.coli*، *S.aureus* و چند باکتری دیگر به این نتیجه رسیدند که تاثیر غلظت های مختلف $(10-1000 \mu\text{g}/\text{ml})$ عصاره های این دو وارپته گیاهی بر باکتریهای گرم مثبت بیشتر از انواع گرم منفی بود در حالی که در هیچ غلظتی بر قارچ های کاندیدا آلبیکنز

نهایت مرگ باکتری می‌گردد. نتایج حاصل از آزمایشات کارسون و همکاران در سال ۲۰۰۲ نیز بیانگر این بود که بین ترکیبات پلی فنلی با اثر ضد میکروبی گیاهان ارتباط وجود دارد [۲۵]. در تحقیقاتی مشابه سحر خیز و همکاران در سال ۲۰۰۷ اثر ضد باکتریایی اسانس گیاه بابونه گاوی گل سفید را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این تحقیق نشان داد که خواص ضد میکروبی مربوط به ترکیبات اصلی اسانس گیاه علی‌الخصوص کامفور و همچنین نقش سینرژستی که با این ترکیبات دارند، است [۲۴]. ناظمی و همکاران (۱۳۸۴) نیز در مطالعه خود گزارش دادند که عصاره آبی گلپر ایرانی فاقد اثر ضد میکروبی علیه میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه بود، در حالی که عصاره متانولی بر روی رشد ۵ گونه باکتریایی از جنس‌های باسیلوس، استرپتوکوکوس، انتروکوکوس و نوکاردیا اثر مهارکنندگی داشت. این محققین بیان داشتند عصاره متانولی گلپر ایرانی شامل مواد ضد میکروبی با اثرات ضد باکتریایی است، بنابراین می‌توان تحقیقاتی در مورد استفاده از آن در درمان بیماران عفونی انجام داد [۲۶]. ساعتچی و همکاران (۲۰۰۸) نیز تاثیر ضد قارچی و آنتی اکسیدانی عصاره‌های اتانولی بادرنجبویه و سنبل الطیب را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره‌های مورد آزمایش دارای اثر ضد قارچی بالایی هستند و این اثر ناشی از غلظت بالای کریوفیلین و کریوفیلین اکسید دانستند و همچنین بیان کردند که ترکیبات شیمیایی عصاره‌ها از قبیل هیدروکربن‌های مونوترپن اثر حفاظتی قابل مشاهده دارند [۲۷].

۴- نتیجه گیری

گسترش روز افزون مقاومت دارویی در بین باکتری‌ها سبب شده است تا توجه بیشتری به یافتن روش‌های پیشگیری از بروز مقاومت و نیز یافتن داروهای مناسب با اثرات سمی و عوارض جانبی کمتر معطوف گردد و برای این منظور گیاهان دارویی مورد توجه خاص قرار دارند، به خصوص گیاهانی که در طب سنتی و متون علمی به اثرات درمانی آن‌ها اشاره شده است و مورد مصرف خوراکی نیز دارند. یکی از این گیاهان دارویی برگ گیاه برگ بو می‌باشد که در نواحی شمالی و مرکزی ایران پرورش می‌یابد. در این پژوهش برای اولین بار در ایران خاصیت ضد میکروبی عصاره برگ گیاه برگ بو در

از رشد لستریامونوسیتوزن بسیار موثر واقع شده است و قطر هاله ای برابر ۱۸/۱۵ میلی متر ایجاد کرده است که نسبت به عصاره و همچنین جنتامایسین موثرتر می‌باشد.

نتایج همچنین نشان داد که عصاره برگ گیاه برگ بو در هیچ کدام از غلظت‌های مورد آزمون تاثیری بر جلوگیری از رشد باکتری گرم مثبت *Bacillus cereus* و کپک *A.niger* نداشته است و عملاً هیچ هاله عدم رشدی در محیط کشت‌های حاوی این میکروارگانیسم‌ها مشاهده نگردید (جدول ۴). این در حالی بود که با مقایسه آنتی بیوتیک‌های استاندارد مشخص شد که این ترکیبات اثرات ضد میکروبی و ضد قارچی قابل توجهی بر جلوگیری از رشد این دو میکروارگانیسم داشتند به استثنا اینکه آمپلی سیلین تاثیری بر *Bacillus cereus* نداشت.

با توجه به نتایج حاصل می‌توان استنباط کرد که در بین آنتی بیوتیک‌های استاندارد بیشترین تاثیر مربوط به کلرامفنیکل بود که قطر هاله عدم رشد ناشی از اثر این ترکیب برای میکروارگانیسم‌های استافیلوکوکوس ارئوس، لیستریا مونوسیتوزن، اشیریشیا کلی، باسیلوس سرئوس و کپک آسپرژیلوس نایجر به ترتیب برابر ۲۴/۱۲، ۲۴/۲۴، ۲۴/۷۵، ۲۶/۵۸ و ۲۹/۳۸ میلی متر بدست آمد و کمترین تاثیر نیز به آنتی بیوتیک آمپلی سیلین تعلق داشت چرا که در بین ۵ میکروارگانیسم مورد آزمون فقط بر دو میکرو ارگانیسم موثر بود که البته خاصیت ضد میکروبی مناسبی بر لیستریا مونوسیتوزن از خود نشان داد و قطر هاله عدم رشد آن برابر ۱۸/۱۵ میلی متر بدست آمد. با بررسی نتایج حاصل از تاثیر عصاره بر میکروارگانیسم‌های مورد آزمون نیز مشخص شد که بیشترین تاثیر عصاره بر باکتری گرم مثبت لیستریا مونوسیتوزن می‌باشد به طوری که در غلظت ۸۰۰ ppm هاله عدم رشد با قطر ۱۱/۵ میلی متر ایجاد شد در حالی که تاثیر همین غلظت از عصاره بر استافیلوکوکوس ارئوس و اشیریشیا کلی کمتر بود و به ترتیب هاله‌هایی با قطر ۱۰/۱ و ۹/۵۷ ایجاد نمودند.

یکی از ویژگی‌های مهم عصاره‌های گیاهی مرتبط با خاصیت آب‌گریزی آن‌ها است که عصاره‌های گیاهی را قادر می‌سازد تا با پیوند روی لایه لیپیدی غشاء سلولی باکتری‌ها و میتوکندری آن‌ها باعث پاره شدن غشاء سلولی و خروج مولکول‌ها و یون‌های مهم باکتری به خارج از سلول و در

- [5] Beg, A.Z. and Ahmad, I. (2000). Effect of *Plumbago zeylanica* extract and certain curing agents on multidrug resistant bacteria of clinical origin. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 16(8-9): 841-844.
- [6] Sagdic, O. (2003). Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. *LWT-Food Science and Technology*, 36(5): 467-473.
- [7] Samsam Shariat, H. (1996). Cultivation and propagation of pharmaceutical herbs, Mani Publications.
- [8] Ouchikh, O., et al. (2011). The effects of extraction method on the measured tocopherol level and antioxidant activity of *L. nobilis* vegetative organs. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 103-110.
- [9] Zargari, A. (1991). *Pharmaceutic herbs, fourth volume, fourth edition*, Tehran University Publications.
- [10] Amjad, L; Mohammadi Kamalabadi, M; Mohammadi Sichani, M.(2012). The antibacterial activity of methanol extract of Yarrow leaf and flower, *journal of Medical Sciences University of Qom*, fifth volume, No.3, autumn, pages.50-56.
- [11] Deng, Y, et al. (2014). Influences of ripening stages and extracting solvents on the polyphenolic compounds, antimicrobial and antioxidant activities of blueberry leaf extracts, *Journal of Food control*, 38:184-191.
- [12] Shahin, F., Gulluce, M., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., Polissiou, M., Agar, G. and Ozer, H. (2004). Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare ssp vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control*, 15, pp 549-557.
- [13] Sharif, A; Farhoosh, R; Haddad Khodaparast, M.H; Razavi, M.A. (2010). The antioxidant activity of the corm bark oil in comparison with the sesame and rice bran oils during the frying processes of sunflower oil, the specialized PhD thesis, the food sciences and industries field, Ferdousi University of Mashhad.
- [14] Stoilova, I, Krastanov, A, Stoyanova, A, Denev, P, Gargova, S. (2007). Antioxidant activity of ginger extract (*Zingiber officinale*). *Food Chem* 2007; 102: 764-70.
- [15] Farhoosh, R., Tavakkoli, J, and Hadad Khodaparast, M.H. (2008). Chemical composition and oxidative stability of kernel

غلظت های ۱۰۰- ۸۰۰ ppm بر روی باکتری های استافیلوکوکوس ارئوس، لیستریا مونوسیوتوزنز، اشیریشیا کلی، باسیلوس سرئوس و کپک آسپرژیلوس نایجر به روش انتشار دیسک و با اندازه گیری قطر هاله عدم رشد مورد بررسی قرار گرفت. طبق نتایج مشخص شد که عصاره برگ گیاه برگ بو خاصیت ضد میکروبی بر باکتری های استافیلوکوکوس ارئوس، لیستریا مونوسیوتوزنز و اشیریشیا کلی داشت و با افزایش غلظت عصاره بر میزان قطر هاله عدم رشد افزوده گردید. در حالی که بر قارچ آسپرژیلوس نایجر تاثیری نداشت و هاله ای تشکیل نشد. همچنین مشخص شد که اثر عصاره برگ گیاه برگ بو بر باکتری های گرم مثبت تاثیر بیشتری نسبت به گرم منفی ها داشت. با مقایسه اثر عصاره مذکور با آنتی بیوتیک های استاندارد نیز مشخص شد که اثر آنتی بیوتیک ها قوی تر از عصاره برگ گیاه برگ بو البته در غلظت های به کار رفته (۱۰۰- ۸۰۰ ppm) بود. در مجموع نتایج نشان داد که عصاره گیاه برگ بو شامل مواد ضد میکروبی با اثرات ضد باکتریایی به ویژه بر انواع گرم مثبت بوده ولی فاقد اثر ضد قارچی می باشند. به منظور کاربرد بالینی این عصاره انجام تحقیقات بالینی ضروری است.

۵- منابع

- [1] Buhner, S.H. (1999). *Herbal Antibiotics Natural Alternatives for treating Drug-Resistant Bacteria*. 1st ed., North Adams: Storey Publishing, LLC, pp: 8-20.
- [2] Wright, G.D. (2000). Resisting resistance; new chemical strategies for battling superbugs. *chemistry biology* . 7: 127-132.
- [3] Bekaieyan, M; Farazmand, R; Keyghobadi, S and Saeedi, S. (2016). Studying the antimicrobial effect of ethanol extract of *Allium Sativum* on strains of *Staphylococcus aureus* resistant against different antibiotics. *The journal of herbal researches (Iran's biological journal)*, volume28, No.1, pages.34-41.
- [4] Abbasi, N, Azizi Jaliliane, F, Abdi, M. and Saifmanesh, M. (2007). A comparative study of the antimicrobial effect of *Scrophularia striata* Boiss. Extract and selective antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Medicinal Plants*, 1(6): 10-18.

- [23] Sukanya, S.L., Sudisha, J., Hariprasad, P., Niranjana, S.R., Prakash, H.S. and Fathima, S.K. (2009). Antimicrobial activity of leaf extracts of Indian medicinal plants against clinical and phytopathogenic bacteria. *African Journal of Biotechnology*, 8(23): 6677-6682.
- [24] Semnani, M; Saeedi, M; Mahdavi, M.R; Rahimi, F. (2008). Studying and comparing the antimicrobial effect of methanol extracts of a few herbal species from the genus of *Phomis* and *Stachys*. *The journal of Medical Sciences University in Mazandaran*. Seventeenth volume, No.57; pages.57-66.
- [25] Carson, C.F., Mee, B.J. and Riley, T.V. (2002). Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(6): 1914-1920.
- [26] Nazemi, A; Hashemi, M; Khataminezhad, M.R; Purshamsian, K. (2006). The first study of antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Heracleum persicum* herb. *The medical sciences journal of Islamic Azad University*, volume15, No.2, pages.91-94.
- [27] Saatchi, A., Kadivar, M and Slymanyanzhad, P. (2008). Antifungal and antioxidant effects of ethanol extract of lemon balm and lavender. *National Congress of Food Science and Industries, Mashhad*, 24 to 25 October.
- oils from two current subspecies of *Pistacia atlantica* in Iran. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 85: 723-729.
- [16] Jimoh F.O, Adedapo A.A, Aliero, A.A and Afolayan, J. (2008). Polyphenolic Contents and Biological Activities of *Rumex ecklonianus*. *Pharm. Biol.* 46: 333 - 40.
- [17] Yu, L, Haley, S, Perret, J, Harris, M, Wilson, J and Qian, M. (2002). Free radical scavenging properties of wheat extracts. *J. Agric. Food Chem.* 50; 1619 - 24.
- [18] Naik, G.H, Priyadarsini, K.I, Satav, J.G, Banavalikar, M.M, Sohoni, D.P, Biyani, M,K and Mohan, H. (2003). Comparative antioxidant activity of individual herbal components used in Ayurvedic medicine. *Phytochem.* 63: 97 - 104.
- [19] Kaur, C, and Kapoor, H.C. (2002). Antioxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *Int. J. Food Sci. Tech.* 37: 153 -61.
- [20] Shahidi, F. (2000). Antioxidants in food and food antioxidants, *Mol. Nutr. Food Res*; 44: 158-63.
- [21] Ames B.N, Shigenaga, M and Hagen, T.M. (1993). Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90, 7915 - 22.
- [22] Wiseman, H and Halliwell, B. (1996). Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: Role of inflammatory disease and progression to cancer. *Biochem. J*; 313: 17 - 29.

Study of Chemical Compounds and The Antimicrobial Effects of Leaf Extract of *Laurus nobilis* L on Various Microbial Strains

Pedram Nia, A. ^{1*}, Mortazavi, A. ², Nemat Shahi, M. M. ³

1. Department of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.

2. Department of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.

3. Young Researchers and Elite Club, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.

Postdoctoral Researcher in Food Science and Technology

The antibiotic resistance has provided the ground for substituting the herbal therapeutic methods with less side effects than the customary drugs. This research was also done in order to study the chemical compounds and antimicrobial effects of methanol extract of *Laurus nobilis* leaf in the densities of 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm and 800ppm on a number of different microbial strains including *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* and *Aspergillus niger* mold by disc dissemination method. The results showed that the methanol extract of *Laurus nobilis* leaf prevented from the growth of *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* bacteria, in a manner that the antibacterial effect of extract with increase of the extract density was also increased. while, it had no effect on *Bacillus cereus* and *Aspergillus niger* mold in the used densities. By comparing the antibiotics such as Chloramphenicol (in the density of 30 μ g/disc), Ampicillin (in the density of 10 μ g/disc), Gentamicin (in the density of 10 μ g/disc) and Kanamycin (in the density of 30 μ g/disc) as the positive standard with *laurus nobilis* leaf extract, it was specified that the effect of these antibiotics is more than the densities used of mentioned extract and in the meantime, the most and least effects were related to the Chloramphenicol and Ampicillin respectively. finally, it can be inferred that with regard to the gained results, *Laurus nobilis* leaf extract including antimicrobial materials has had antibacterial effects; but, it has less antifungoid effect.

Keywords: *Laurus nobilis* leaf, Antimicrobial, Microorganisms, Chemical compounds.

*Corresponding Author E-Mail Address: ahmadpedram@yahoo.com