شناسایی ترکیبات شیمیایی و ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی اسانس زرد چوبه (*Curcuma longa*) بر برخی از باکتری های شاخص مسمومیت غذایی در شرایط آزمایشگاهی

افسانه سمیعی[۱]، فریده طباطبایی یزدی[۱*]، مصطفی مظاهری طهرانی[۱]

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(تاریخ دریافت: ۹۵/۰٤/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹٦/۰۸/۰٦)

چکیده

هدف از این مطالعه شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس زردچوبه و ارزیابی اثر ضد باکتریایی اسانس زردچوبه بر برخی از باکتری های شاخص مسمومیت غذایی در شرایط آزمایشگاهی بود. در این مطالعه تجربی، اسانس زردچوبه به روش تقطیر با آب استخراج شد. اجزای تشکیل دهنده اسانس توسط دستگاه GC/MS شناسایی شدند. اثر ضد میکروبی اسانس زردچوبه روی باکتری های شاخص بیماری زا *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استرپتوکوکوس پیوژنز*، *اشرشیا کلی* و *سودوموناس ائروژینوزا* به روش انتشار دیسک در آگار وروش چاهک در آگار تعیین و در نهایت حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس با استفاده از میکرودایلوشن براث انجام پذیرفت. نتایج نشان داد که ۲۷ ترکیب شناسایی شده در مجموع ۹۹/٦۹ درصد ترکیبات اسانس را تشکیل می دهند. ترکیب عمده اسانس β-Turmerone (۳٤/٤۲٪) بود و علاوه بر این ترکیبات اصلی دیگر شامل α-Tumerone (۱۱/٤٪)، Sesquiphellandrene (۱۰/٦۱٪)، Zingiberene (۹/۲۱٪)، Tumerone (۸/۵۱٪) و trans-Caryophyllene (۷/۸٦٪) ترکیب غالب بودند. نتایج نشان داد اسانس زردچوبه دارای اثر ضد باکتریایی بوده و بیشترین تاثیر را بر *استرپتوکوکوس پیوژنز* با قطر هاله بازدارندگی ۱٤ میلی متر داشت. حداقل غلظت بازدارندگی اسانس زدچوبه برای *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استرپتوکوکوس پیوژنز*، *اشرشیا کلی* و *سودوموناس ائروژینوزا* به ترتیب برابر ۱/۸، ۱/۱٦، ۱/٤و ۱ بود. نتایج نشان داد که باکتری های گرم مثبت نسبت به اسانس زردچوبه حساس تر از باکتری های گرم منفی می باشند، که علت آن تحمل ذاتی باکتری های گرم منفی به واسطه ساختار دیواره سلولی و نوع ترکیبات موثره اسانس می باشد.

کلید واژگان: زردچوبه، ترکیبات شیمایی اسانس، اثر ضد میکروبی، باکتری های شاخص پاتوژن.

* مسئول مکاتبات: Tabatabai@um.ac.ir

۱- مقدمه

زرد چوبه با نام علمی (*Curcuma longa*) گیاهی چند ساله است که در هند و کشورهای جنوب آسیا یافت می شود. زرد چوبه گیاهی است از خانواده زنجبیل به ارتفاع حدود یک متر و نیم که دارای ساقه متورمی می باشد. گل های زرد چوبه به صورت سنبله و به رنگ سبز مایل زرد است. زردچوبه عمده ترین ادویه مورد مصرف در غذاهای کشورهای آسیایی می باشد. در جنوب شرقی آسیا این گیاه به صورت خودرو در جنگل‌ها وجود دارد. زردچوبه به سبب ویژگی های منحصر به فرد سلامتی زایی اش در سراسر جهان به عنوان یک ماده غذایی عملگرا شناخته می‌شود. زردچوبه به دلیل خصوصیات آنتی آکسیدانی قوی خود یکی از مؤثرترین گیاه دارویی در جلوگیری از سرطانی شدن سلول‌های بدن می باشد. این گیاه همچنین موجب افزایش ترشح انسولین و کاهش قند خون در بیماران دیابتی می‌گردد. پژوهش های بالینی زیادی در ارتباط با فواید مصرف روزمره زردچوبه انجام شده است [۲و ۱].

محققان مختلفی اثر ضد میکروبی زردچوبه و ترکیبات استحصالی از آن مانند کورکومین و عصاره زردچوبه را بر تعدادی از میکروارگانیسم های بیماری زا و عامل مسمومیت در شرایط برون تنی مورد مطالعه قرار داده اند. فعالیت ضد میکروبی روغن زرد چوبه نیز بر تعدادی از میکروارگانیسم ها از جمله باکتری *اشرشیا کلی* مورد بررسی قرار گرفته است [۳].

امروزه با توجه به اینکه داروهای گیاهی دارای اثر ضدمیکروبی قوی‌تر و عوارض ناخواسته‌ی کمتری نسبت به داروهای شیمیایی در درمان بیماری ها می باشد، یک رویکرد جدید جهت استفاده از داروهای گیاهی به وجود آمده است [٤]. برخی از ریزاندامگان به صورت طبیعی به تعدادی از عوامل ضد میکروبی مقاوم هستند، اما برخی از میکروارگانیسم ها مقاومت به عوامل ضد میکروبی را با سازوکار جهش و انتقال ژن های مقاومت دریافت می کنند [۵]. امروزه باکتری‌ها در نتیجه تغییرات کروموزومی و یا تغییر در ماده‌ی ژنتیکی خود از طریق پلاسمیدها و ترانسپوزون‌ها، در حال مقاوم شدن به عوامل آنتی بیوتیکی هستند [۷]. بیماری‌های عفونی از جمله بیماری‌های گسترده و شایع در جهان هستند که هزینه‌های فراوانی را به جوامع بشری تحمیل می‌کنند. گیاهان دارویی نه تنها در درمان بیماری های عفونی، بلکه به طور همزمان تعداد زیادی از آثار جانبی همانند مقرون و به صرفه نبودن ساخت برخی داروهای شیمیایی، باعث سوق صنعت داروسازی به گیاهان دارویی شده است تا دوباره توجه جوامع پزشکی و محققین به پزشکی سنتی و مواد مؤثره موجود در گیاهان معطوف گردد [۷].

هدف از این پژوهش شناسایی ترکیبات و اجزا تشکیل دهنده اسانس زرد چوبه و بررسی فعالیت ضد باکتری اسانس آن بر تعدادی از باکتری های شاخص مسمومیت غذایی در شرایط برون تنی *in vitro* بود.

۲- مواد و روش ها

مواد شیمیایی و محیط کشت میکروبی

تمامی مواد شیمیایی، حلال های و محیط های کشت میکروبی شامل مولر هینتون براث و مولر هینتون آگار مورد استفاده از شرکت مرک (آلمان) خریداری شد.

جمع آوری زرد چوبه و استخراج اسانس

این پژوهش آزمایشگاهی در سال ۱۳۹٤ انجام پذیرفت. ریشه خشک شده زرد چوبه از استان سیستان بلوچستان خریداری شد. پس از آسیاب، جهت اسانس گیری و شناسایی ترکیبات شیمیایی به دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و سپس اسانس تهیه شده جهت بررسی فعالیت ضد میکروبی به آزمایشگاه میکروبیولوژی صنعتی، دانشگاه فردوسی مشهد انتقال یافت. مقدار ۵۰ گرم از زردچوبه همراه با ۷۵۰ میلی لیتر آب مقطر به دستگاه کلونجر شیشه ای ساخت شرکت آداک که اساس کار آن تقطیر آبی است منتقل و به مدت ۳ ساعت با سرعت یک میلی لیتر در دقیقه عمل اسانس گیری انجام گرفت. در اثر حرارت، فشار بخار آب افزایش می یابد و قسمت های (غده ها) حاوی اسانس شکسته شده و اسانس همراه با بخار آب وارد مبرد می شود. در مبرد عمل میعان صورت گرفته و قطرات اسانس درون آب به صورت دوفاز مشخص به طرف لوله مدرج حرکت می کند و آب اضافی از طریق لوله رابط به بالن باز می گردد. برای جمع آوری اسانس، شیر دستگاه را باز کرده تا آب خارج شده و سپس اسانس داخل بطرهای کوچک که از قبل با ترازوی با دقت ۰/۰۰۰۱ وزن شده جمع آوری و در دمای ٤ درجه سانتیگراد نگهداری شد [۸].

شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس زردچوبه

شناسایی ترکیبات اسانس استخراج شده با تزریق ۰/۲ میکرولیتر از اسانس زردچوبه به دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف نگار جرمی(GC/MS) مدل TRACE MS (شرکت سازنده:

uest-FinniganThermoQ) دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی حاوی ستونDB-5 طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر متصل به طیف سنج جرمی مدل Quadrupole انجام پذیرفت. دمای ستون از ٤۰ درجه سانتیگراد تا ۲۵۰ درجه سانتیگراد با سرعت ۲/۵ درجه سانتی گراد بر دقیقه افزایش یافت. از گاز هلیم با سرعت ۱/۱ میلی لیتر در دقیقه و از انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون استفاده گردید [۸].

تهیه سویه های میکروبی

سویه‌هایی که در این پژوهش مورد استفاده در جدول زیر آورده شده است:

Table 1 The bacteria used in the study

No	Bacteria	ATTC number
1	*Escherichia coli*	ATTC 25922
2	*Pseudomonas aeruginosa*	ATTC 27853
3	*Staphylococcu aureus*	ATTC 25923
4	*Streptococcus pyogenes*	ATTC 19615

آزمون های ارزیابی فعالیت ضد میکروبی

در این پژوهش جهت ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس زردچوبه از روش های متنوع کیفی و کمی استفاده گردید. در زیر این روش ها به طور خلاصه آورده شده است.

روش دیسک دیفیوژن

در روش کیفی از انتشار در آگار به شیوه کربی- بائر استفاده شد که طی آن از سوسپانسیون میکروبی استاندارد به روش سطحی در محیط کشت مولرهینتون آگار کشت انجام شد و سپس برای بررسی خواصی ضد میکروبی، دیسک های کاغذی بلانک (ساخت پادتن طب) با فاصله معین از یکدیگر و از لبه پلیت روی آگار قرار داده شدند. ۲۰ میکرولیتر از رقت های ۱، ۱/۲،۱/٤، ۱/۸، ۱/۱٦، ۱/۳۲ و ۱/٦٤ اسانس زردچوبه در محلول DMSO، روی دیسک ها اضافه شدند. از دیسک های آنتی بیوتیک های جنتامایسین و وانکومایسین با غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. سپس محیط کشت حاوی باکتری به در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲٤ ساعت انکوبه شدند. با اندازه گیری قطر هاله های تشکیل شده در اطراف دیسک ها، نتایج مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصل از آنتی بیوتیک ها را با جداول CLSI مقایسه گردید [۹]. جهت حصول اطمینان از هر یک از غلظت های مختلف اسانس و آنتی بیوتیک ها این آزمایش ها برای هر سویه باکتری سه بار تکرار شد.

روش چاهک

در این روش هم از پلیت های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگارو سابروز دکستروز آگار که آغشته به میکروارگانیسم بودند استفاده شد. توسط یک پیپت پاستور استریل که مخصوص ایجاد چاهک است، یک گودی در محیط کشت ایجاد کرده و داخل هر چاهک با سمپلر۲۰ میکرولیتر از رقت های ۱، ۱/۲،۱/٤، ۱/۸، ۱/۱٦، ۱/۳۲ و ۱/٦٤ اسانس زردچوبه در محلول DMSO به طور جداگانه قرار داده شد، پس از آن میزان مناطق مهاری مورد ارزیابی قرار گرفت و بر اساس میلی متر محاسبه و سپس میانگین آن‌ها ثبت گردید [۱۰].

حداقل غلظت مهار کننده رشد (MIC)

آزمایش کمی برای تعیین MIC در پلیت ۹٦ خانه استریل و با روش براث میکرودایلوشن انجام شد. ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از محیط مولر هینتون براث و سابروز دکستروز براث (مرک آلمان) به داخل چاهک های مربوط به رقت های مورد نظر میکروپلیت اضافه شد. سپس به اولین چاهک ۱۰۰ µl اسانس اضافه گردید و از خانه دوم وسوم به همین ترتیب تا خانه هفتم رقیق شدند. درآخر به همه چاهک های ۱۰۰ µl سوسپانسیون (معادل نیم مک فارلند ۱/۵×۱۰^CFU/ml) اضافه سپس پلیت های ۹٦ خانه ای حاوی باکتری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲٤ ساعت انکوبه شدند [۱۱].

حداقل غلظت کشندگی (MBC)

برای تعیین (MBC) همه چاهک های فاقد کدورت را جداگانه بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد. سپس محیط کشت حاوی باکتری بعد از ۲٤ ساعت انکوبه گزاری غلظتی از اسانس که باکتری در آن رشد نکرد به عنوان (MBC) گزارش شد [۱۲].

آنالیز آماری

تمامی آزمایش ها در سه تکرار انجام پذیرفت، برای تجزیه و تحلیل آماری داده ها از نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ و آنالیز یک طرفه آنووا استفاده شد. سطح معنی دار بودن ۵ درصد در نظر گرفته شد.

۳- نتایج و بحث

با توجه به اینکه هر چه قدر مواد موثره یک گیاه دارویی بیشتر باشد، استحصال آن در صنایع داروسازی مقرون به صرفه می-باشد، بنابراین شناسایی ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس گیاهان و اثر آن ها از اهمیت فروانی برخوردار است. راندمان اسانس زردچوبه برابر با v/w ۲/۱ و رنگ آن متمایل به زرد بود. اعداد مندرج در ستون عمودی کروماتوگرام (شکل ۱) مقدار فروانی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس زردچوبه را نشان می دهد و ستون افقی زمان جداسازی و شناسایی هر یک از ترکیبات اسانس در ستون را بیان می کند. با توجه به الگوی خروج آلکان های نرمال و مقایسه طیف های جرمی بد ست آمده از دستگاه GC-MS با طیف های جرمی استاندارد مشخص شد که هر یک از طیف های جرمی دقیقا مربوط به چه ترکیبی هستند. برای تایید شناسایی های انجام شده توسط طیف های جرمی، از شاخص بازداری کواتس استفاده شد که نتایج آن در جدول ۱، بیان گردیده است. نتایج آنالیز اسانس توسط دستگاه GC-MS در جدول ۲، آورده شده است. بیست و هفت ترکیب شناسایی شده در مجموع ۹۹/۶۹ درصد ترکیبات اسانس را تشکیل می دهد. ترکیب عمده اسانس را β-Turmerone (٪۳٤/٤۲) تشکیل می دهد. علاوه بر این ترکیبات اصلی دیگر شامل α-Tumerone (٪۱۱/٤) ، Sesquiphellandrene (٪۱۰/٦۱)، Zingiberene (٪۹/۲۱)، Tumerone (٪۸/٥۱) و trans-Caryophyllene (٪۷/۸٦) ترکیب غالب بود.

نتیجه تحقیق حاضر با نتایج سایر پژوهشگران تا حدود زیادی همخوانی داشت نکته حائز اهمیت آن است که ساختار شیمیایی اسانس هر گیاه تحت تاثیر عواملی از قبیل منطقه آب و هوایی، فصل و شرایط، ژنوتیپ گیاهی، نحوه فراوری و نوع گونه مورد مطالعه متفاوت می باشد [۱۳].

Table 2 Chemical composition of the Turmeric essential oil

No	Compound turmeric	%	RI
1	α-Pinene	0.01	935
2	α-Phellandrene	0.02	1007
3	Carene<delta-3->	0.01	1013
4	α-Terpinene	0.02	1018
5	p-Cymene	0.03	1026
6	Cineole<1,8->	0.04	1032
7	α-Terpinolene	0.72	1090
8	p-Cymen-8-ol	0.24	1192
9	Sesquithujene<7-epi->	0.16	1402
10	trans-Caryophyllene	7.86	1420
11	α-Humulene	3.59	1453
12	ar-Curcumene	5.21	1481
13	Zingiberene<alpha->	9.21	1494
14	Bisabolene<beta->	1.42	1505
15	esquiphellandrene<beta->	10.61	1523
16	Z-Nerolidol	0.21	1529
17	E-Nerolidol	1.05	1560
18	α-Tumerone	0.28	1574
19	Caryophyllene oxide	0.87	1582
20	Data ms	1.18	1602
21	Biotol <beta->	0.4	1634
22	β-Turmerone	34.42	1672
23	<ar->Tumerone	8.51	1674
24	α-Tumerone	11.4	1704
25	Atlantone<(Z)-alpha->	0.18	1715
26	Bisabolone <6S,7R->	0.59	1748
27	Atlantone<(E)-alpha->	1.47	1779

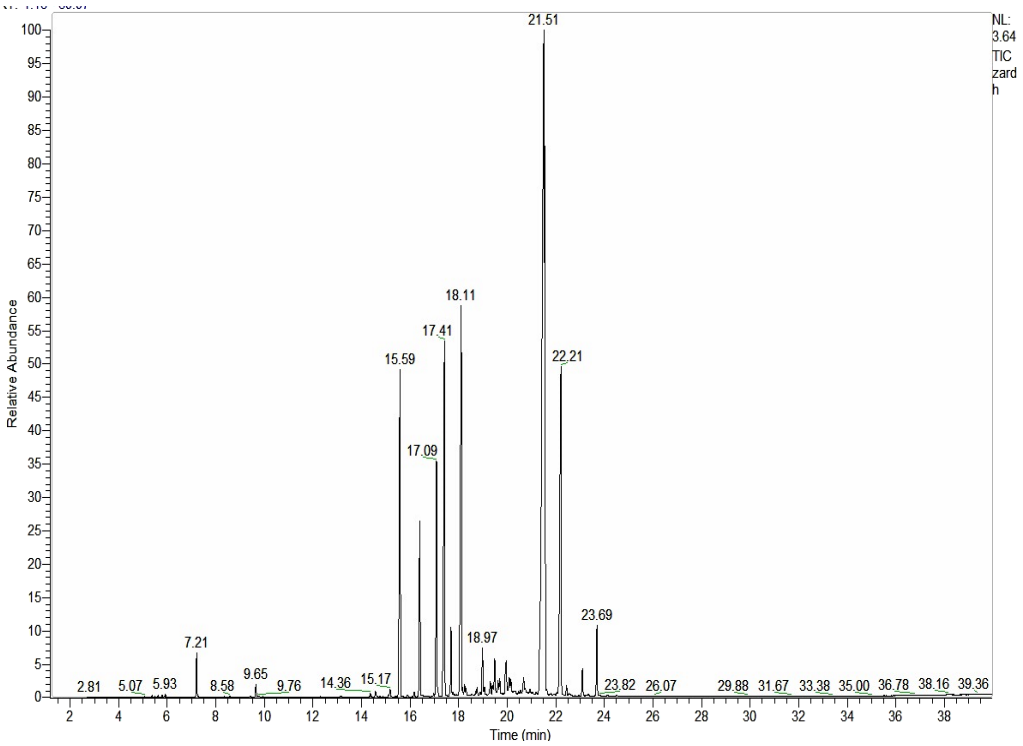

Fig 1 Chromatography of the Turmeric essential oil.

امروزه با اینکه بخش عظیمی از داروهای مصرفی شیمیایی هستند، اما تخمین زده شده است که دست کم یک سوم فراورده های دارویی منشا گیاهی دارند یا پس از استخراج از گیاه تغییر شکل یافته اند. استفاده از گیاهان دارویی برای درمان بیماری ها سابقه بسیار طولانی دارد. داروهای گیاهی به دلیل دارا بودن منشا طبیعی و سازگاری با فیزیولوژی بدن انسان در مقایسه با داروهای شیمیایی، دارای عوارض جانبی کمتری هستند. این ویژگی یکی از دلایل اصلی رویکرد و تمایل دوباره مردم به گیاهان دارویی و استفاده از آن در قیاس با داروهای شیمیایی شده است [١٤].

اثر اسانس زردچوبه بر میکروارگانیسم های مورد مطالعه در جداول ۳ و ٤، آورده شده است. به طور کلی نتایج نشان داد که اسانس زردچوبه بر باکترهای گرم مثبت و گرم منفی موثر است اما میزان اثر بخشی آن بسته به نوع میکروارگانیسم متفاوت است (جدول ۵). متوسط قطر هاله عدم رشد در روش دیسک دیفوژن بر باکترهای گرم مثبت ۱۲/۵۰ میلی متر و وانکومایسین ۱۱/۸ میلی متر، باکتری های گرم منفی ۹ و جنتامایسین ۱۵ میلی متر بود. براساس روش دیسک دیفوژن باکتری های گرم مثبت نسبت به باکتری های گرم منفی حساس تر بودند (قطر هاله عدم رشد جدول ۳). نتایج مربوط به روش چاهک در آگار در جدول ٤، آورده شده است. این نتایج نشان داد که به طور کلی متوسط قطر هاله عدم رشد در باکتری های گرم مثبت بیشتر است. متوسط قطر هاله عدم رشد در روش چاهک در آگار بر باکترهای گرم مثبت ١٤ میلی متر ، باکتری های گرم منفی۱۰ میلی متر بود. به طور کلی مقایسه نتایج بین دو روش دیسک دیفوژن و چاهک آگار نشان داد که با توجه به اینکه در روش چاهک در آگار اسانس به طور مستقیم با میکروارگانیسم های در تماس می باشد دارای اثر ضد میکروبی بیشتری می باشد، زیرا در روش دیسک دیفوژن اسانس از سطح دیسک ها به محیط کشت نفوذ می کند. وجود یا عدم وجود تفاوت معنی‌دار میانگین قطر عدم رشد غلظت‌های مختلف را می‌توان به مقدار ماده مؤثر موجود در اسانس نسبت داد. ولی به طوری کلی می‌توان نتیجه گرفت که با کاهش غلظت اسانس زردچوبه میزان قطر هاله عدم رشد کاهش پیدا می‌کند (جدول ۳). نتایج مربوط به حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس زردچوبه در جدول ۵، آورده شده است. این نتایج نشان داد به طور کلی حداقل غلظتی از اسانس زردچوبه که باعث ممانعت از رشد و

کشندگی می شود برای باکتری گرم مثبت نسبت به گرم منفی ها کم تر است. مطالعاتی فروانی این فرضیه را تایید می کنند که میتوان به مطالعه کلاهی مرند و همکاران (۲۰۱٦) و پیرنیا و همکاران و همکاران (۲۰۱۵) اشاره نمود [۱۵و ۱۱].

نمای حساسیتی میکروارگانیسم ها در برابر اسانس زردچوبه براساس مقاوم ترین به حساسترین به ترتیب شامل:
P. aeruginosa > *E. coli* > *S. aureus* >*S. pyogenes* بود. اسانس زردچوبه دارای اثر مهارکنندگی و کشندگی میکروبی خوبی در برابر سویه های مورد مطالعه به جز *P. aeruginosa* از خود نشان داد (جداول ۳ و ٤).

Table 3 Average diameter (mm) of microbial free zone area of the Turmeric essential oil on *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes* (Disk Agar Diffusion Method).

Bacteria	*Curcuma longa*						
	1	1.2	1.4	1.8	1.16	1.32	1.64
P. aeruginosa	8.00±0.52[a]	7.00±0.50[a]	6.00±0.50[a]	00.00±0.50[a]	00.00±0.52[a]	00.00±0.50[a]	00.00±0.52[a]
E. coli	10.00±0.52[a]	9.20±0.50[a]	8.00±0.50[a]	7.00±0.52[a]	6.00±0.28[a]	00.00±0.54[a]	00.00±0.50[a]
S. aureus	11.00±0.52[a]	9.80±0.28[a]	9.00±0.28[a]	8.10±0.52[a]	7.00±±0.28[a]	6.10±0.52[a]	00.00±0.50[a]
S. pyogenes	14.00±0.50[a]	12.20±0.54[b]	10.00±0.52[b]	9.20±0.50[b]	8.00±0.50[b]	7.30±0.52[b]	6.10±0.50[b]

Values are means ± standard deviations

Table 4 Average diameter (mm) of microbial free zone area of the Turmeric essential oil on *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes* (Well Diffusion Agar Method).

	Curcuma longa						
Bacteria	**1**	**1.2**	**1.4**	**1.8**	**1.16**	**1.32**	**1.64**
P. aeruginosa	9.00±0.28[a]	8.10±0.50[a]	7.00±0.50[a]	6.20±0.50[a]	00.00±0.52[a]	00.00±0.50[a]	00.00±0.52[a]
E. coli	11.00±0.54[a]	9.40±0.52[a]	8.10±0.50[a]	7.20±0.52[a]	6.80±0.28[a]	6.00±0.52[a]	00.00±0.52[a]
S. aureus	12.00±0.34[a]	10.00±0.28[a]	9.10±0.28[a]	7.80±0.52[a]	7.00±0.54[a]	6.30±0.50[a]	00.00±0.50[a]
S. pyogenes	16.00±0.28[a]	14.20±0.52[b]	12.00±0.52[b]	10.00±0.50[b]	8.00±0.50[b]	7.10±0.54[b]	6.50±0.28[b]

Values are means ± standard deviations

Table 5 MIC and MBC of the Turmeric essential oil on *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli Staphylococcus aureus*, and *Streptococcus pyogenes*

Bacteria	MIC	MBC
P. aeruginosa	73.6	147.2
E. coli	36.8	36.8
S. aureus	18.4	36.8
S. pyogenes	9.2	9.2

رقیق کردن اسانس زردچوبه باعث ضعیف تر شدن اثر ضد میکروبی آن شد،به نحوی که در غلظت های ۱/۸، ۱/۱٦، ۱/۳۲ و ۱/٦٤ برای باکتری گرم منفی *سودوموناس ائروژینوزا* و در غلظت های ۱/۳۲ و ۱/٦٤ برای باکتری اشرشیا کلی هاله عدم رشدی مشاهده نشد. همچنین در غلظت ۱/٦٤ برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نیز هاله عدم رشد مشاهده نگردید. در مورد باکتری گرم مثبت استرپتوکوکوس پیوژنز در تمامی غلظت های اسانس هاله عدم رشد مشاهده شد (جدول ۳).

از ویژگی های مهم اسانس ها و اجزاء تشکیل دهنده آن ها خاصیت آبگریزی می باشد که موجب نفوذ این مواد به لیپیدهای غشاء سلول باکتری و میتوکندری ها می شود و سبب اختلال در ساختمان های آن ها و ایجاد نفوذپذیری بیشتر می گردد. به طور کلی هر چه مقادیر مواد فنولی در اسانس بالاتر باشد، خواص آنتی باکتریال آنها علیه پاتوژن ها بیشتر خواهد بود. اغلب

مطالعات انجام شده در خصوص اثر اسانس های روغنی بر ارگانیسم های عامل عفونت و مسمومیت نشان می دهند که اثر اسانس های گیاهی بر روی باکتری های گرم مثبت قدری بیشتر از تاثیر آن ها بر روی باکتری های گرم منفی است. به عبارت دیگر گرم مثبت ها نسبت به اثر آنتی باکتریال اسانس ها حساس ترند. علت حساسیت کمتر گرم منفی ها شاید به علت وجود غشاء خارجی در باکتری های گرم منفی باشد که سبب محدود شدن انتشار اجزاء هیدروفوبیک اسانس به لایه لیپوپلی ساکارید می شود (۱٦ و ۱۷). Stojanovic و همکاران (۲۰۰۵) فعالیت ضد میکروبی اسانس های دو گونه *A. clavennae* و *A. lingulata* مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند قطر هاله عدم رشد در مورد استافیلوکوکوس اورئوس ۲۷ میلی متر بود و نسبت به باکتری گرم منفی اشرشیا کلی بیشتر بود. نتایج این مطالعه با یافته های این پژوهش همخوانی داشت [۱۸].

استفاده بی رویه از آنتی بیوتیک ها، همچنین مقاومت های رو به گسترش میکروارگانیسم ها نسبت به آنتی بیوتیک های رایج، عوارض نامطلوب و جانبی استفاده از آنها و از طرفی، اثبات سمی بودن کمتر داروهای گیاهی در درمان نسبت به داروهای سنتتیک و انحصاری بودن درمان برخی بیماری ها با گیاهان، مقرون و به صرفه نبودن ساخت برخی داروهای شیمیایی، ارزش اقتصادی بالا و جایگاه دیرینه ای که گیاهان دارویی و معطر در بحث بهداشت و سلامت جامعه دارند، سبب گشته است تا بار دیگر توجه جوامع پزشکی و محققین به طب سنتی،گیاه درمانی و مواد مؤثره موجود در گیاهان دارویی معطوف گردد [۷و ۵].

طبق تجزیه شیمیایی انجام شده ترکیب های ضدمیکروبی اسانس ها به طورعمده شامل ترپن ها و دیگر ترکیب ها باماهیت فنولیک یاگروه هیدروکسیل آزاد بود که همگی به عنوان فعال ترین ترکیب های ضدمیکروبی شناخته شده اند این ترکیبات درگیاه مورد مطالعه این تحقیق نیزبه فراوانی وجود داشت. ترکیبات فنولی اسانس در لایه فسفولیپید غشاء سلول گیاه ساخته شده و هر چقدر میزان مواد این ترکیبات، فنولیکی در اسانس بیشتر باشد خواص ضد میکروبی آن اسانس نیز بیشتر می گردد [۱۹].

٤- نتیجه گیری نهایی

با توجه به اینکه اسانس زردچوبه دارای فعالیت ضد میکروبی خوبی بر گونه های باکتری داشت، این گونه می تواند وسیله ارزشمند به عنوان عامل ضد میکروبی در دمان بیماری های عفونی بکار برد. اما جهت مشخص کردن مکانیسم دقیق آن تحقیقات بیشتری بر سایر میکروارگانیسم ها بیماری زاد و شرایط in vivo مورد نیاز می باشد.

۵- منابع

[1] Aggarwal, BB, Shishodia S. 2006. Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. Biochemical Pharmacology, 71 (10): 1397–1421.

[2] Anand, P. Thomas, S. G. Kunnumakkara, A. B. Sundaram, C. Harikumar, K. B. Sung, B. Tharakan, S. T. Misra, K. Priyadarsini, I.K. Rajasekharan, K. NAggarwal, B.B. 2008. Biological activities of curcumin and its analogues (Congeners) made by man and Mother Nature. biochemical pharmacology, 76: 1590 – 1611.

[3] Aplsarlyakul, A. Vanittanakom b.N. Buddhasukh D. 1995. Antifungal activity of turmeric oil extracted from Curcuma longa (Zingiberaceae). Journal of Ethnopharmacology, 49: 163-169.

[4] Aghaabbasi K, Dehghan E, Baghizadeh A, Dashti H. 2014. Comparing the effect of ethanol extracts of Descurainia sophia (L.) seed and Althaea officinalis root on Streptococcus pyogenes. Zahedan J Res Med Sci, 16: 27-32.

[5] Mahesh B and Satish S. 2008. Antimicrobial activity of some important medicinal plant against plant and human pathogens. World Journal of Agricultural Sciences, 4(5):839-843.

[6] Severino P, Magalhaes VD. 2002. The role of integrons in the dissemination of antibiotic resistance among clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa from an intensive care unit in Brazil. Research in Microbiology, 153(4):221-227.

[7] Raphael TJ. Kuttan G. 2003. Immunomodulatory activity of naturally

occurring monoterpenes carvone, limonene, and perillic acid. Immunopharmacol Immunotoxicol, 25(2):285-94.

[8] Zandi-Sohani, N., Hojjati, M., & Carbonell-Barrachina, A.A. 2013. Insecticidal and Repellent Activities of the Essential Oil of *Callistemon citrinus* (Myrtaceae) against *Callosobruchus maculatus* (F.) *(Coleoptera: Bruchidae*). Neotropical Entomology, 42: 89-94.

[9] National committee for clinical laboratory standards. (2000). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically (5th ed.). Approved standard, M7-A5. Pennsylvania: Wayne.

[10] Boyanova L, Gergova G, Nikolov R, Derejian S, Lazarova E, Katsarov N. 2005. Activity of Bulgarian propolis against 94 Helicobacter pylori strains in vitro by agar-well diffusion, agar dilution and disc diffusion methods. J Med Microbiol, 54(5):481-3.

[11] Kolahi Marand *S*, Tabatabaei Yazdi F, Mortazavi SA, Beig Babaei A. 2016. Inhibitory and bactericidal effects of artichoke (*Cynara scolymus*) on pathogenic strains and their comparison with antibiotics in vitro. Qom Univ Med Sci J,10(2):32-42.

[12] Kim, J.M; Marshall, M.R. and Wei, C.I. 1995. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 43:2839-2845.

[13] Daferera DJ, Ziogas BN. 2000. Polissiou MG. GC-MS analysis of essential oils from Greek aromatic plants and their fungitoxicity on Penicillium digitatum. J Agric Food Chem, 48(6): 2576– 81.

[14] Alizadeh Behbahani B and Tabatabei Yazdi F.2015. In vitro study of antibacterial activity of Mangle negro extracts against selected pathogens from Enterobacteriaceae and Bacillaceae familia. Zahedan J Res Med Sci;17(12):1-4.

[15] Pirnia M, Edalatian Dovom MR, Tabatabaee Yazdi F, Shahidi F. The antibacterial effects of the aqueous and ethanolic extracts of Cordia myxa L. Fruit on Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Escherichia coli, and Salmonella typhi. Qom Univ Med Sci J 2015;9(4):39-48.

[16] Tabatabaei Yazdi F, Alizadeh Behbahani B, Vasiee A, Alghooneh A. Exploration of antibacterial activity extracts of *Ribes rubrum* against *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria innocua* and *Enterobacter aeruginosa* “in vitro”. Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2015; 20(68).

[17] Mohebbat Mohebbi M, Alizadeh Behbahani B, Ansarifar E, Noshad M. Antimicrobial effect of *Aloe vera* and Chitosan on some pathogenic bacteria and comparing it with common therapeutic antibiotics “*in vitro*”. Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2015; 19(67).

[18] Stojanovic G, Radulovic N, Hashimoto T, Palic R. In vitro antimicrobial activity of extracts of four Achillea species: The composition of Achillea clavennae L. (Asteraceae) extract. Journal of ethnopharmacology. 2005; 101(1-3): 185-190.

[19] Moreira MR, Ponce AG, Delvalle CE, Rourd SI. 2005 .Inhibtory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *Lebensm Wiss Technol*, 38: 565-570.

Identification of *Curcuma longa* essential oil compounds and evaluation of its antibacterial effect on some food-poisoning bacteria "*in vitro*"

Samiei, A. [1], Tabatabaei-Yazdi, F. [1*], Mazaheri Tehrani, M. [1]

1. Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad (FUM)

(Received: 2016/07/18 Accepted:2017/11/27)

The aim of this study was to investigate the chemical composition and antibacterial effects *Curcuma longa* essential oil "*in vitro*". The *Curcuma longa* essential oil was extracted through the hydrodistillation method. Its components were identified through Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS). Antibacterial effects of *Curcuma longa* on pathogenic bacteria such as *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* using Disk Diffusion and Well Diffusion Agar methods. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) using broth Microdilution method. 27 components were identified in *Curcuma longa* essential oil. The principle compounds of the essential oil included β-Turmerone (34/42%), α-Tumerone (11/4%), Sesquiphellandrene (10/61%), Zingiberene (9/21%), Tumerone (8/51%) and trans-Caryophyllene (7/86%). Findings showed antibacterial properties of *Curcuma longa* essential oil. *Curcuma longa* acted against S. *pyogenes* with diameters of the inhibition zones of 14 mm. MIC of *Curcuma longa* essential oil for *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* were 1/8, 1/16, 1/4 and 1, respectively. The results showed that gram-positive bacteria are more sensitive compared with gram-negatives bacteria. This phenomenon is due to the structure and the nature and active compounds of *Curcuma longa* essential oil.

Keywords: *Curcuma longa*, Chemical composition, Antibacterial effects, Pathogenic bacteria.

* Corresponding Author E-Mail Address: Tabatabai@um.ac.ir