

ارزیابی ترکیبات شیمیایی و فعالیت ضدباکتریایی اسانس گیاهان خوشاریزه *Echinophora cinerea* Boiss و چای کوهی *Stachys lavandulifolia* Vahl در شرایط آزمایشگاهی

مریم زارعلی^۱، محمد حجتی^{۲*}، سعید تهموزی دیده بان^۳، حسین جوینده^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، اهواز، ایران

۲- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، ایران

۳- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، ایران

۴- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۳/۴/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۳/۸/۷)

چکیده

هدف از انجام این پژوهش آزمایشگاهی بررسی اثر اسانس گیاهان خوشاریزه و چای کوهی بر تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زا مواد غذایی بود. این گیاهان از کوه های اطراف خرم آباد جمع آوری و اسانس آنها توسط دستگاه کلونجر استخراج گردید. اجزای تشکیل دهنده اسانس ها توسط دستگاه GC-MS شناسایی و اثر ضد میکروبی آنها به دو روش انتشار دیسک و میکرو برات دیلوشن بر باکتری‌های شیگلا دیزانتری، اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس بررسی گردید. در این پژوهش به ترتیب مقدار ۳۹ و ۵۸ ماده فرار در اسانس خوشاریزه و چای کوهی شناسایی گردید. آلفا فلاندرن (۲۴/۰۸٪)، پی سیمن (۱۶/۳۲٪)، کارواکرول (۹/۱۲٪) و آلفا پینن (۸/۳۰٪) ترکیبات عمده اسانس خوشاریزه و تیمول (۱۴/۲۳٪)، ترانس کاریوفیلین (۹/۲۰٪)، بتافلاندرن (۸/۹۷٪)، اسپاتونول (۵/۸۴٪) و کاریوفیلین اکساید (۵/۷۲٪) ترکیبات اصلی اسانس چای کوهی بودند. نتایج نشان داد که اسانس گیاهان خوشاریزه و چای کوهی اثر ضد باکتریایی بوده و بیشترین تاثیر را بر استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب با قطر منطقه بازدارندگی ۲۲/۸ میلی متر و ۳۴/۵ میلی متر داشتند. آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس خوشاریزه نشان داد که باکتری اشرشیا کلی دارای کمترین غلظت بازدارندگی (۶/۶ میلی گرم در میلی لیتر) و کمترین غلظت باکتری کشی (۱۸/۷۵ میلی گرم در میلی لیتر) بود. بررسی نتایج MIC و MBC اسانس چای کوهی نشان داد که در هر ۴ باکتری مورد بررسی، کمترین غلظت بازدارندگی برابر با ۲/۳ میلی گرم در میلی لیتر بود. همچنین کمترین غلظت باکتری کشی این اسانس در غلظت ۲/۳ میلی گرم در میلی لیتر بر روی باکتری‌های اشرشیا کلی و شیگلا دیزانتری مشاهده شد.

کلید واژگان: گیاه معطر، ترین، بیماری‌زا، خوشاریزه، چای کوهی

* مسئول مکاتبات: hojjati@ramin.ac.ir

۱- مقدمه

اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهان دارویی به عنوان مواد طبیعی محافظت کننده مواد غذایی و داروهای افزاینده سلامتی مطرح هستند. مطالعات حاکی از آن است که گیاهان به عنوان منابع غنی از ترکیبات ضداکسایشی و ضدباکتریایی، حاوی مقادیر قابل توجهی متابولیت‌های ثانویه شامل ترکیبات فنلی، فلاونونول-ها و فلاونونوئیدها، گلیکوزیدها، آلکالوئیدها و پلی استیلن‌ها می‌باشند، که به صورت پیش‌سازهای غیرفعال ذخیره شده در بافت‌های گیاهی قرار دارند [۱]. به طور کلی هر چه مقادیر مواد فنولیک در اسانس بالاتر باشد، خواص ضدباکتریایی آن‌ها بر باکتری‌های بیماری‌زا بیشتر خواهد بود. احتمالاً سازوکار اثر این ترکیبات به علت اختلال در غشاء سیتوپلاسمی، بر هم زدن نیروی حرکت پروتونی و جریان الکتریکی، انعقاد محتویات سلولی ریززنده‌ها می‌باشد [۲]. امروزه با توجه به اینکه میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های بیماری‌زا رو به افزایش است، درمان بیماران مبتلا به این باکتری‌ها با مشکلاتی رو به رو شده است [۳]. در تحقیقات انجام شده اسانس گیاهان مختلف به دلیل دارا بودن ترکیبات فنلی توانایی نابودی این باکتری‌ها را دارند و می‌توانند در درمان این بیماران موثر باشند. خوشاریزه^۱ گیاهی است علفی، یکساله، معطر از تیره چتریان به ارتفاع حدود ۳۰ تا ۱۰۰ سانتی متر که در ارتفاعات ۱۵۰۰ متری لرستان به ویژه اشترانکوه، کوه کالا، گرین کوه و سفید کوه به وفور یافت می‌شود. قسمت‌های مورد استفاده این گیاه اندام هوایی آن است [۴]. جنس خوشاریزه در ایران ۴ گونه علفی معطر دارد که دو گونه آن انحصاراً مختص ایران هستند. دو گونه دیگر علاوه بر ایران در سواحل مدیترانه، سوریه و ارمنستان می‌روید [۵]. این گیاه بومی، در نواحی مرکزی و غرب ایران می‌روید. خوشاریزه گیاهی معطر، دارای طعمی دل‌پذیر و سبب تحریک بعضی از ریززنده‌های تخمیری می‌شود. در طب سنتی به منظور تقویت

معدده از آن استفاده می‌شود. این گیاه با نام محلی فیاله به عنوان چاشنی در غذا استفاده می‌شود [۴]. محققین گزارش کرده‌اند که مهمترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس خوشاریزه منطقه کهگیلوه و بویر احمد α - فلاندرن (۶/۴۰٪)، α - پینین (۵/۱۶٪)، β - فلاندرن (۸/۹٪)، ρ - سیمن (۵/۷٪)، لینالول (۴/۵٪)، سیت رونلول (۸/۴٪) می باشد [۶]. همچنین اثرات ضدباکتریایی عصاره اتانولی آن بر *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استرپتوکوکوس فکالیس* به اثبات رسیده است [۷].

گیاه چای کوهی^۲ گیاهی است علفی، پایا با بوته‌های کوتاه به ارتفاع ۲۰-۶۰ سانتی متر که گل‌های معطر آن به صورت سنبله‌ای، از گل‌های ریز صورتی مایل به سرخ رنگ است. این گیاه علاوه بر اثرات ضد میکروبی دارای خاصیت ضد درد به ویژه دردهای مفصلی، رماتیسمی، سردرد، سرگیجه و دردهای عصبی است [۸]. نتایج بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس دو گونه چای کوهی موجود در مناطق آذربایجان و مازندران نشان داده که عمدتاً ترکیبات تشکیل دهنده آنها شامل میرسین، دی جرماکرین، بتاپینین، آلفاپینین، بتاسیمن و کارن بوده است [۹]. بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره های آبی و الکلی چای کوهی منطقه مرند بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیاکلی*، *سودوموناس آئروژینوزا* نشان داد که عصاره آبی این گیاه هیچ اثر ضدباکتریایی نداشت در حالی که عصاره اتانولی و متانولی آن دارای اثر ضدبازدارندگی رشد بر روی ریززنده‌ها بودند [۱۰]. با توجه به اهمیت کاربرد گیاهان معطر و دارویی بومی مناطق مختلف کشور به عنوان بازدارنده‌های رشد بیماری‌زاهای غذایی، هدف از انجام این تحقیق استخراج اسانس اندام‌های هوایی دو گیاه خوشاریزه و چای کوهی منطقه لرستان به روش تقطیر با آب و شناسایی ترکیبات فرار موجود در آن‌ها و بررسی اثرات ضد باکتریایی آن‌ها بر چهار باکتری گرم مثبت و گرم منفی بیماری‌زا غذایی در مقایسه با آنتی بیوتیک کلرامفنیکل می باشد.

2. *Stachys lavandulifolia* Vahl1. *Echinophora cinerea* Boiss

۲-مواد و روش‌ها

۲-۱-موادگیاهی و استخراج اسانس

اندام هوایی گیاهان خوشاریزه و چای کوهی در خرداد ماه سال ۱۳۹۳ از کوه‌های اطراف خرم‌آباد در استان لرستان جمع‌آوری و جهت انجام آزمایش به آزمایشگاه گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان منتقل و پس از یک شستشوی ساده و آبکشی جهت رفع گرد و غبار موجود، در دمای محیط خشک گردیدند. مقدار ۱۰۰ گرم از هر گیاه خشک شده به دستگاه کلونجر شیشه‌ای ساخت شرکت آداک تجهیز کشور ایران که اساس کار آن تقطیر آبی است منتقل و به مدت ۳ ساعت اسانس‌های موجود استخراج و پس از جمع‌آوری و آبگیری با سدیم سولفات در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند [۱۱].

۲-۲-شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس‌ها

شناسایی ترکیبات اسانس استخراج شده با تزریق ۱ میکرولیتر اسانس استخراجی رقیق شده با سیکلوهگزان به دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل Agilent 6890A حاوی ستون HP-5 (طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر) متصل به طیف سنج جرمی مدل Agilent 5975 انجام پذیرفت. برنامه دمایی ستون به این طریق تنظیم گردید: دمای ابتدایی آن ۵۰ درجه سانتی‌گراد بود و دما با سرعت ۵ درجه در دقیقه تا رسیدن به دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت و در این دما یک دقیقه باقی ماند و سپس با سرعت ۱۰ درجه در دقیقه تا رسیدن به دمای ۲۵۰ درجه افزایش یافت و پس از ۵ دقیقه توقف در این دما در نهایت با سرعت ۲۵ درجه در دقیقه به دمای ۳۰۰ درجه رسانده شد. گاز هلیوم با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه به عنوان گاز حامل به کار گرفته شد و دمای محفظه تزریق ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. طیف سنج جرمی با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت به کار گرفته شد. شناسایی نوع ترکیبات اسانس با کمک طیف نرمال آلکان‌ها (C₈-C₂₄) و بدست

آوردن شاخص بازداری آنها (شاخص کواتز) و مقایسه با شاخص کواتز (KI) گزارش شده ترکیبات در نرم افزار NIST05 و مقایسه طیف جرمی هر یک از اجزای ترکیبات اسانس با طیف جرمی موجود در کتابخانه wiley7n.1 موجود در دستگاه GC/MS صورت پذیرفت. همچنین درصد ترکیبات موجود در اسانس مورد بررسی با استفاده از دستگاه گازکروماتوگرافی مدل Agilent 6890A مجهز به آشکار ساز FID با شرایط فوق و با استفاده از سطح زیر منحنی پیک‌ها محاسبه گردید.

۲-۳-ریززننده‌ها

در این پژوهش از دو گونه باکتریایی گرم مثبت باسیلوس سرئوس (PTCC1154)، استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC1112) و دو گونه باکتریایی گرم منفی اشرشیا کلی (PTCC1329) و شیگلا دیزانتری (PTTC ۱۸۸) که به صورت لیوفیلیزه، از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شده بودند استفاده گردید. در کلیه آزمون‌های میکروبی که نیاز به محیط استریل بوده از هود با جریان خطی استفاده شد. آمپول‌های لیوفیلیزه باکتری ابتدا در شرایط آسپتیک باز و در محیط کشت بریل هارت اینفیوژن براث (مرک آلمان) به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه، گرم‌خانه گذاری شد و چند بار از کشت اولیه به کشت دیگر انتقال گردید و فعال سازی شد.

۲-۴-ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی به روش

انتشار دیسک

به منظور بررسی اثر ضدباکتریایی اسانس‌های خوشاریزه و چای کوهی، ابتدا باکتری‌های تحت مطالعه در محیط کشت نوترینت آگار (مرک آلمان) کشت داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرم‌خانه گذاری شدند. سپس سوسپانسیون میکروبی از هر ریززننده با غلظت ۱۰^۶ سلول در هر میلی‌لیتر، تهیه شد. کشت میکروبی بر محیط کشت مولر هیتون آگار (مرک آلمان) انجام شد و یک دیسک کاغذی

دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. کمترین غلظتی که در آن هیچ رشدی مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی (MBC) در نظر گرفته شد [۱۳].

۲-۷- تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش آزمون میکروبی در قالب فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. نتایج به دست آمده با استفاده از روش تجزیه واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن و سطح احتمال ($P < 0/05$) صورت گرفت. تجزیه آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ و رسم نمودارها با نرم افزار EXCEL انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ترکیبات تشکیل دهنده اسانس‌ها

بر اساس نتایج به دست آمده ۳۹ ماده فرار شیمیایی که در مجموع ۹۴/۸۵ درصد ترکیبات اسانس خوش‌بوی را تشکیل می‌دادند، شناسایی گردید (جدول ۱). ترکیبات عمده آن عبارت بودند از: آلفا فلاندرن (۲۴/۰۸٪)، پی سیمن (۱۶/۳۲٪)، کارواکرون (۹/۱۲٪)، آلفا پینن (۸/۳۰٪)، بتا فلاندرن (۶/۶۶٪) و پولگون (۵/۵۸٪). در اسانس چای کوهی هم ۵۸ ترکیب شیمیایی که در مجموع ۹۴/۳۶ درصد کل ترکیبات تشکیل دهنده این اسانس را تشکیل می‌دادند، شناسایی گردید (جدول ۲). بر اساس نتایج به دست آمده تیمول (۱۴/۲۳٪)، ترانس کاریوفیلن (۹/۲۰٪)، بتافلاندرون (۸/۹۷٪)، اسپاتولنول (۵/۸۴٪)، کاریوفیلن اکساید (۵/۷۲٪)، دی جرمادین (۵/۸۴٪) و پی سیمن (۴/۰۱٪) عمده ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس چای کوهی بودند.

به قطر ۵ میلی‌متر و ضخامت ۱ میلی‌متر در مرکز محیط کشت قرار داده شد و مقدار ۱۰ میکرولیتر از هر اسانس بر روی دیسک‌ها قرار گرفت. دیسک‌های آنتی بیوتیک ۳۰ میکرو گرمی کلرامفنیکل در پلیت‌های جداگانه بر روی کشت‌های میکروبی به عنوان کنترل مثبت قرار داده شد. سپس پلیت‌ها در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و بعد از ۲۴ ساعت قطر هاله های عدم رشد به وسیله خط کش میلی متری اندازه گیری شد [12].

۲-۵- تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی

(MIC¹)

حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس‌ها با استفاده از روش رقت سازی در چاهک تعیین گردید. برای این منظور، از میکرو پلیت‌های استریل ۹۶ خانه‌ای استفاده شد. محلول اصلی اسانس‌های خوش‌بوی و چای کوهی با رقت ۱۵۰ میلی گرم در ۱ میلی لیتر دی متیل سولفوکساید تهیه و غلظت‌های مختلف اسانس‌ها با رقیق سازی محلول‌های اصلی با محیط کشت مولر هیتتون برات (مرک آلمان) آماده شدند. باکتری‌ها به مدت ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد روی محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شد. جهت تهیه سوسپانسیون میکروبی ۱۰⁷cfu/ml از رقت ۰/۵ مک فارلند استفاده شد. پس از پر کردن چاهک‌ها، میکروپلیت‌ها به مدت یک شبانه روز در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از آن خانه‌هایی که فاقد کدورت بودند به عنوان MIC گزارش شدند [12].

۲-۶- آزمون تعیین حداقل غلظت باکتری کشی

(MBC²)

از خانه‌هایی که در آن کدورتی مشاهده نشد ۵ میکرولیتر به محیط کشت جامد (مولر هیتتون آگار) منتقل و یک شب در

1. Minimum inhibitory concentration
2. Minimum bactericidal concentration

جدول ۱ عمده ترکیبات شیمیایی اسانس استخراجی گیاه خوشاریزه توسط GC/MS*

شماره ترکیب	نام ترکیب	زمان بازدارندگی (دقیقه)	شاخص کوارتز	درصد ترکیب
۱				
۲	آلفا پینن	۶/۹۳۱	۹۴۳	۸/۳۰
۳	آلفا فلاندرن	۸/۷۰۸	۱۰۰۳	۲۴/۰۸
۴	پی سیمن	۹/۲۳۰	۱۰۲۳	۱۶/۳۲
۵	بتا فلاندرن	۹/۳۴۲	۱۰۲۳	۶/۶۶
۶	ترپینولن	۱۰/۸۵۲	۱۰۹۷	۱/۸۷
۷	لینالول	۱۱/۱۶۴	۱۱۰۸	۱/۷۰
۸	آلفا فلاندرن ۸ ال	۱۲/۸۷۴	۱۱۶۸	۱/۲۷
۹	پولگون	۱۴/۶۵۲	۱۲۴۰	۵/۵۸
۱۰	کارول	۱۴/۷۴۱	۱۲۴۲	۲/۷۷
۱۱	کارواکرول	۱۵/۷۶۳	۱۲۹۶	۹/۱۲
۱۲	پیریتون	۱۷/۰۱۸	۱۳۴۲	۱/۱۱
۱۳	سیس جاسمون	۱۸/۲۶۳	۱۳۸۸	۱/۶۴
۱۴	کاریوفیلن اکساید	۲۲/۰۷۳	۱۵۷۶	۱/۴۶
۱۵	ان هگزا دکانونیک اسید	۲۸/۵۶۱	۱۹۵۵	۱/۶۴
۱۶	جمع	-	-	۹۴/۸۵

*ترکیبات با مقادیر بیش از یک درصد در جدول ذکر شده‌اند.

جدول ۲ عمده ترکیبات شیمیایی اسانس استخراجی گیاه چای کوهی توسط GC/MS*

شماره ترکیب	نام ترکیب	زمان بازدارندگی (دقیقه)	شاخص کوارتز	درصد ترکیب
۱	آلفا پینن	۶/۷۰۹	۹۴۰	۳/۴۸
۲	ساینین	۷/۷۲	۹۷۰	۱/۴۱
۳	بتا پینن	۷/۷۹۷	۹۷۵	۱/۰۹
۴	پی سیمن	۹/۱۴۲	۱۰۲۵	۴/۰۱
۵	بتا فلاندرن	۹/۲۹۷	۱۰۲۹	۸/۹۷
۶	گاما ترپینن	۱۰/۰۷۵	۱۰۷۰	۲/۸۲
۷	لینالول	۱۱/۲۹۷	۱۱۱۰	۲/۴۹
۸	کامفر	۱۲/۵۹۷	۱۱۲۷	۱/۳۴
۹	بورنئول	۱۳/۱۷۴	۱۱۵۹	۱/۱۳
۱۰	۴- ترپینئول	۱۳/۵۱۹	۱۱۷۶	۲/۴۳
۱۱	تیمول	۱۶/۷۳	۱۲۹۵	۱۴/۲۳
۱۲	کارواکرول	۱۶/۹۰۷	۱۳۰۰	۱/۰۹
۱۳	ترانس کاریوفیلن	۲۰/۰۸۵	۱۴۲۱	۹/۲۰
۱۴	دی جرماکرن	۲۰/۲۲	۱۴۴۴	۳/۳۹
۱۵	بتا سسکویی فلاندرن	۲۱/۴۰۷	۱۵۱۷	۱/۵۸
۱۶	بی سیکلو جرماکرن	۲۱/۹۴	۱۵۳۰	۳/۴۵
۱۷	بتا بیسابولن	۲۲/۳۸۹	۱۵۴۳	۱/۰۷
۱۸	اسپاتولنول	۲۴/۰۰۶	۱۵۷۷	۵/۸۴
۱۹	کاریوفیلن اکساید	۲۴/۱۱۸	۱۵۷۹	۵/۷۲
۲۰	دی بوتیل فتالات	۳۱/۹۰۵	۱۹۲۰	۱/۰۱
	جمع	-	-	۹۴/۳۶

*ترکیبات با مقادیر بیش از یک درصد در جدول ذکر شده‌اند.

کوهی بودند. صفایی (۲۰۰۴) از ترکیبات مهم اسانس چای کوهی را میرسن، آلفا پینن، گامامورولن و ائوگونول گزارش نمود [۱۶].

بررسی اجزای تشکیل دهنده اسانس گیاه چای کوهی منطقه قم، استخراج شده توسط روش‌های تقطیر با میکروویو و تقطیر آبی نشان داد که، بیشترین ترکیبات موجود در اسانس استخراجی از هردو روش تقطیر آبی و تقطیر با میکروویو، کارواکول و تیمول به ترتیب می‌باشد [۱۷].

در گزارشی که در رابطه با شناسایی اجزای اسانس گیاه چای کوهی دو منطقه آذربایجان و مازندران انجام شد، میرسین دی جرماکرن، بتا پینن، آلفا پینن، بتا اسیمین و کارن عمده ترین ترکیبات تشکیل دهنده بودند [۹].

همچنین در مطالعه صورت گرفته بر روی روغن گیاه چای کوهی دو منطقه اصفهان و چهارمحال بختیاری آلفا توجون (۳۲/۳-۰/۳٪)، آلفا پینن (۳۷/۳-۰٪)، میرسن (۱۵/۹-۰/۳٪)، بتا فلاندرن (۳۷/۹-۱/۱٪) و دی جرماکرن (۱۱/۳-۰/۴٪) به عنوان جز غالب اسانس شناخته شده است که از این نظر تا حدودی با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. اگر چه از نظر سایر ترکیبات مورد بررسی اختلافات قابل مشاهده ای، مشاهده می‌شود که این امر به منطقه جغرافیایی که گیاه در آن رشد کرده و شرایط محیطی، مربوط می‌شود [۱۸]. مقایسه ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس خوشاریزه و چای کوهی نشان داد که بتا فلاندرن، آلفا پینن و پی سیمن ترکیب‌های عمده مشترک در هردو اسانس بودند.

۳-۲- اثر ضد میکروبی اسانس‌ها

نتایج فعالیت ضدباکتریایی اسانس‌های خوشاریزه و چای کوهی بر چهار باکتری گرم مثبت و منفی به روش انتشار دیسک در جدول ۳ و نتایج MIC و MBC در جدول ۴ نشان داده شده است. بررسی و نتایج این تحقیق نشان داد که اسانس گیاه خوشاریزه دارای اثر ضد باکتریایی است. فعالیت ضدباکتریایی این اسانس بسته به نوع باکتری متفاوت بود. مشخص شد که اسانس خوشاریزه در بین باکتری‌های گرم مثبت بیشترین تاثیر را بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* با قطر منطقه بازدارندگی ۲۲/۸ میلی متر و کمترین تاثیر مربوط به

مقایسه اجزای تشکیل دهنده اسانس‌های خوشاریزه و چای کوهی نشان داد که میزان مونوترپن‌های هیدروکربنه در اسانس خوشاریزه (۶۰/۶۸٪) نسبت به اسانس چای کوهی (۲۸/۰۲٪) بیشتر می‌باشد. در حالی که اسانس چای کوهی دارای مقدار قابل توجهی سسکوئی ترپن هیدروکربنه (۲۶/۷۶٪) بود. همچنین نتایج حاصل از تحقیق نشان داد اسانس چای کوهی، مونوترپن‌های اکسیژنه (۲۷/۵۱٪)، و سسکوئی ترپن‌های اکسیژنه (۳/۵۳٪) بیشتری نسبت به اسانس خوشاریزه داشت. مونوترپن‌های اکسیژنه (۲۲/۸۹٪)، سسکوئی ترپن‌های هیدروکربنه (۱/۳۲٪) و سسکوئی ترپن‌های اکسیژنه (۲/۳۰٪) از دیگر اجزای تشکیل دهنده اسانس خوشاریزه بودند. نتایج این تحقیق نشان داد که آلفا فلاندرن، پی سیمن، کارواکول، آلفا پینن، بتا فلاندرن و پولگون عمده ترین ترکیبات موجود در اسانس خوشاریزه بودند. تحقیق دیگری آلفا فلاندرن (۳۲/۰۹٪)، لیمونن (۱۶/۲۸٪)، پارا سیمن (۱۰/۷۵٪) و آلفا پینن (۹/۷۹٪) را به عنوان ترکیبات عمده اسانس خوشاریزه منطقه خرم آباد گزارش نمودند [۱۴] که تا حدودی با گزارش حاضر منطبق است و زمان برداشت متفاوت گیاه و نوع دستگاه گازکروماتوگرافی و روش انجام کار می‌تواند دلیل اختلاف موجود باشد.

بررسی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس خوشاریزه منطقه کهگیلوه و بویر احمد مشخص کرد که آلفا فلاندرن، آلفا پینن، بتا فلاندرن، پی سیمن و لینالول به عنوان عمده ترین ترکیبات تشکیل دهنده آن می‌باشند [۶].

نتیجه تحقیق حاضر با نتایج دیگر محققین تا حدودی هم خوانی داشت. همانطور که اشاره شد در مناطق مختلف گزارش‌های متفاوتی در رابطه با اجزای اسانس گیاه خوشاریزه وجود دارد که بررسی آنها نیز بیانگر اختلاف‌ها قابل مشاهده ای در ترکیبات تشکیل دهنده اسانس می‌باشد. این اختلاف‌ها می‌تواند نتیجه عواملی چون نوع گونه ی مورد مطالعه، شرایط محیطی، زمان برداشت، ژنوتیپ گیاه، نحوه فراوری و غیره باشد [۱۵].

همچنین نتایج این تحقیق نشان داد تیمول، ترانس کاروفیلن، بتافلاندرن، اسپاتولنول، کاروفیلن اکساید، پی سیمن، آلفاپینن و دی جرماکرن عمده ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس چای

غلظت بازدارندگی (۴/۶) و باکتری‌های شیگلا دیزانتری، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس دارای بیشترین غلظت بازدارندگی (۹/۳) بودند. همچنین اسانس خوشاریزه در غلظت ۱۸/۷۵ میلی گرم در میلی لیتر بر روی باکتری اشرشیا کلی اثر کشندگی داشت.

باسیلوس سرئوس با قطر منطقه بازدارندگی ۱۵/۸ میلی متر داشت. همچنین مقایسه نتایج تاثیر اسانس بر باکتری‌های گرم منفی نشان داد اشرشیا کلی با قطر منطقه بازدارندگی ۲۱/۵ میلی متر حساس ترین و شیگلا دیزانتری با قطر منطقه بازدارندگی ۱۵ میلی متر مقاوم ترین باکتری‌ها در مقابل این اسانس بودند. آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس خوشاریزه نشان داد که باکتری اشرشیا کلی دارای کمترین

جدول ۳ میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری‌های مورد مطالعه حاوی اسانس‌های خوشاریزه و چای کوهی در مقایسه با آنتی بیوتیک کلرامفنیکل (بر حسب میلی‌متر)

نوع باکتری نوع ماده	اشرشیا کلی	شیگلا دیزانتری	باسیلوس سرئوس	استافیلوکوکوس اورئوس
	خوشاریزه	۲۱/۵ ^b ±۰/۵	۱۵/۰ ^c ±۰/۰	۱۵/۸ ^c ±۰/۷
چای کوهی	۱۵/۲ ^c ±۰/۲	۲۹/۶ ^b ±۰/۳	۳۰/۸ ^b ±۰/۷	۳۴/۵ ^a ±۰/۵
کلرامفنیکل	۳۶/۶ ^a ±۰/۶	۳۶/۶ ^a ±۰/۶	۳۵/۰ ^a ±۰/۰	۳۳ ^b ±۰/۰

میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند ($P < 0/05$)

قطر دیسک نمونه و آنتی بیوتیک ۵ میلی متر بود

جدول ۴ نتایج آزمون غلظت مهارکنندگی و بازدارندگی اسانس‌های خوشاریزه و چای کوهی

اسانس	اسانس خوشاریزه MIC (mg/ml)	اسانس خوشاریزه MBC (mg/ml)	اسانس چای کوهی MIC (mg/ml)	اسانس چای کوهی MB (mg/ml)
اشرشیا کلی	۴/۶	۱۸/۷	۲/۳	۲/۳
شیگلا دیزانتری	۹/۳	۱۵۰	۲/۳	۲/۳
استافیلوکوکوس اورئوس	۹/۳	۰	۲/۳	۴/۶
باسیلوس سرئوس	۹/۳	۰	۲/۳	۴/۶

MIC و MBC اسانس چای کوهی نشان داد که در هر ۴ باکتری مورد بررسی، کمترین غلظت بازدارندگی برابر با ۲/۳ میلی گرم در میلی لیتر بود. همچنین کمترین غلظت باکتری کشی اسانس چای کوهی در غلظت ۲/۳ میلی گرم در میلی لیتر بر روی باکتری‌های اشرشیا کلی و شیگلا دیزانتری

نتایج مربوط به باکتری‌های مورد بررسی قرار گرفته در آزمون انتشار دیسک اسانس چای کوهی در غلظت ۱۰ میکرولیتر نشان داد که باکتری استافیلوکوکوس اورئوس حساس ترین باکتری با قطر بازدارندگی ۳۴/۵ میلی متر و اشرشیا کلی مقاوم ترین باکتری با قطر بازدارندگی ۱۵/۲ میلی متر بود. بررسی نتایج

خارجی در باکتری های گرم منفی باشد که سبب محدود شدن انتشار اجزاء آبگریز اسانس به لایه لیپوپلی ساکارید می شود. با این حال همه مطالعه های انجام شده بر روی فعالیت ضد میکروبی اسانس های روغنی نشانگر حساسیت بیشتر در گرم مثبت ها نمی باشد. برای مثال *آئرو موناس هیدروفیلا* که یک باکتری گرم منفی است یکی از حساس ترین گونه های باکتریایی نسبت به اثرات اسانس ها می باشد. در بین گرم منفی ها، *سودوموناس* ها به ویژه *سودوموناس آئروجنس* کمترین حساسیت را نسبت به اثر اسانس ها دارا می باشند [۲].

نتایج در مورد مقدار MIC اسانس خوشاریزه نشان می دهد که این نتیجه با نتایج تحقیقات انجام شده توسط پاس و همکاران قابل مقایسه می باشد. پاس و همکاران مقدار MIC این اسانس را برای باکتری *اشرشیا کلی* ۵/۵ میلی گرم در میلی لیتر گزارش کردند [13]. در حالی که این فاکتور در تحقیق ما برای باکتری *اشرشیا کلی* ۴/۶ میلی گرم در میلی لیتر اندازه گیری شد، که تا حدودی با نتیجه ما همخوانی دارد. مقدار MIC برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در تحقیق ما، ۹/۳ میلی گرم در میلی لیتر گزارش شد. در صورتی که در نتایج پاس و همکاران MIC *استافیلوکوکوس اورئوس* برابر با ۰/۱۶ میلی گرم در میلی لیتر گزارش شد. این تفاوت ممکن است به دلیل تفاوت ترکیبات اسانس خوشاریزه باشد. به هر حال نتایج تحقیقات ما نشان می دهد که مقدار MIC اسانس خوشاریزه بسیار قابل توجه می باشد. اثرات ضدباکتریایی عصاره اتانولی گیاه خوشاریزه بر *استافیلوکوکوس* و *استرپتوکوکوس* گزارش شده است [۷].

همچنین اثرات ضد قارچی عصاره این گیاه روی قارچ هایی از جمله *تریکوفایتون روبروم*، *میکروسپوریوم ژیسئوم*، *تریکوفایتون متاگروفساتیس*، *اپیدرموفیتون فلوکسوزوم*، *میکروسپوریوم کنیس* و *کاندیدا آلبیکنز* به اثبات رسیده است [۷].

همانطور که در جدول ۴ مشاهده می شود در مورد اسانس چای کوهی کمترین غلظت بازدارندگی بر باکتری های مورد بررسی، ۲/۳ میلی گرم در میلی لیتر بود. نتایج اثر ضد میکروبی اسانس چای کوهی منطقه چهار محال بختیاری نشان داد که این

مشاهده شد. اسانس های گیاهی از مدت ها قبل به عنوان ترکیبات طعم دهنده در مواد غذایی و نوشیدنی مورد استفاده قرار می گیرند و امروزه به علت دارا بودن ترکیبات ضد میکروبی مختلف به عنوان نگهدارنده های طبیعی مورد توجه قرار گرفته اند [۳]. اسانس ها با دارا بودن ترکیبات شیمیایی متعدد، مکانیسم های متفاوتی را در جهت نابودی ریزنده ها به کار می گیرند. در این میان مهم ترین اثر این گروه آبگریز بودن آنها می باشد به طوری که این مواد با نفوذ به غشای سلول باکتری و میتوکندری سبب اختلال در عملکرد سلول ها و به دنبال آن افزایش نفوذپذیری و در نتیجه خروج یون ها و دیگر محتویات سلولی می شود خروج مولکول ها و سلول ها باعث مرگ ریزنده می شود [۱۹].

علاوه بر دلیل ذکر شده، باید به ساختار چربی و بار الکتریکی شبکه غشای میکروارگانیسم ها نیز توجه نمود، زیرا ممکن است ترکیبات ضدباکتریایی توانایی عبور از غشاء را به واسطه همخوانی ساختارشان با ساختار غشایی میکرو بها داشته باشند [۲۰].

بر اساس نتایج جدول ۳، اسانس خوشاریزه فعالیت ضد میکروبی قابل توجهی بر باکتری های گرم مثبت و گرم منفی داشت که علت آن وجود مونوترپن های هیدروکربنه فراوان در این اسانس بود. این اثر بسته به نوع باکتری متفاوت بود. ولی در اسانس چای کوهی باکتری های گرم مثبت در مقایسه با باکتری های گرم منفی حساس تر بوده و دارای قطر منطقه بازدارندگی بزرگتری بودند. به نظر می رسد که سسکو ترپن های هیدرو کربنه و مونوترپن های هیدروکربنه فراوان در اسانس چای کوهی، از جمله ترکیبات موثر در اثر ضدباکتریایی این اسانس می باشند. همچنین مشاهده شد در هر دو اسانس، باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بزرگترین قطر منطقه بازدارندگی را دارا می باشد. اغلب مطالعه های انجام شده در خصوص اثر اسانس های روغنی بر روی ریزنده های عامل فساد و بیماری زای مواد غذایی نشان می دهند که اثر اسانس های گیاهی بر روی باکتری های گرم مثبت قدری بیشتر از تاثیر آنها بر روی باکتری های گرم منفی است. به عبارت دیگر گرم مثبت ها نسبت به اثر ضدباکتریایی اسانس ها حساس ترند. علت حساسیت کمتر گرم منفی ها شاید به علت وجود غشاء

باسیلوس سرئوس سبب اتصال به لایه مضاعف لیپیدی شده و عبور کارواکرول از عرض غشاء را تسهیل می کند [۲].

۴- نتیجه گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد که اسانس چای کوهی در تمام باکتری‌های مورد بررسی به جز *اشرشیا کلی*، نسبت به اسانس خوشاریزه دارای اثر بازدارندگی بیشتری بود، به طوریکه این اثر بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* حتی بیشتر از تاثیر آنتی بیوتیک کلرامفنیکل مشاهده شد. با توجه به اثراتی که اسانس گیاهان خوشاریزه و چای کوهی بر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی داشته اند می‌توان نتیجه گیری کرد که با مطالعه اثرات ارگانولپتیک اسانس خوشاریزه و چای کوهی در غذا، از آن‌ها می‌توان به عنوان جایگزین آنتی بیوتیک‌های مصنوعی استفاده نمود.

۵- تقدیر و تشکر

از معاونت پژوهشی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان بابت حمایت‌های مالی انجام این پایان نامه کارشناسی ارشد که مقاله حاضر بخشی از نتایج آن بود تشکر و قدردانی می‌گردد.

۶- منابع

- [1] Ahmadi, F., Kadivar, M., & Shahedi, M. (2007). Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Mozaff in model and food systems. *Food Chemistry*. 105: 57-64.
- [2] Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods – A. *International Journal of Food Microbiology*. 94: 223-253.
- [3] Akhondzadeh Basti, A. (2000). *Iranian Medicinal Plants Encyclopedia*. First Ed. Arjmand Publication. Tehran. 64: 561-6.
- [4] Shafie-Zadeh, F. (2002). *Lorestan medicinal plants*. Lorestan University of

اسانس بر *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کلی* موثر بوده و این نتیجه با نتایج مطالعه ما مطابقت دارد [۲۱].

طاهری و همکاران (۲۰۱۳) اثر ضدباکتریایی عصاره آبی و عصاره استخراج شده با اتانول و متانول ۸۰ درصد چای کوهی را بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیا کلی*، *سودوموناس آئروژینوزا* به روش انتشار دیسک، تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و تعیین حداقل غلظت باکتری‌کشی بررسی و مشاهده کردند که عصاره آبی این گیاه هیچ اثر ضدباکتریایی نداشت در حالی که عصاره اتانولی و متانولی ۸۰ درصد، دارای اثر ضدبازدارندگی رشد بر روی ریزنده‌ها بودند [۱۰].

به طور کلی اسانس چای کوهی تاثیر بیشتری در ممانعت از رشد باکتری‌ها داشت. این امر می‌تواند مربوط به حضور مقادیر بیشتری از سسکوئیترین‌های هیدروکربنه در اسانس چای کوهی نسبت به اسانس خوشاریزه باشد به طوریکه پیش از این نیز اسانس چای کوهی به عنوان منبعی غنی از مونوترپنوئیدها و سسکوئیترین‌ها گزارش شده بود [۱۸]. با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش می‌توان گفت که اثر ضدباکتریایی خوشاریزه مربوط به ترکیبات ضدباکتریایی قوی موجود در آن از جمله کارواکرول، پی‌سیمن، لینالول است. همچنین تیمول، پی‌سیمن، لینالول موجود در اسانس چای کوهی نیز دارای اثر ضدباکتریایی قوی هستند. تیمول و کارواکرول از اجزای اصلی اسانس‌های خانواده نعناعیان هستند. این دو ترکیب از نظر شیمیایی بسیار به هم شبیه اند و فقط جایگاه گروه هیدروکسیل در آنها متفاوت است. تیمول و کارواکرول از اجزای ضد میکروبی بسیار مؤثر در اسانس‌ها هستند [۲۲]. اثر ضد میکروبی آنها به دلیل نفوذپذیر نمودن غشای سلول توسط آنهاست که می‌تواند با کاتیون‌های سطح غشای کیت شده و فعالیت‌های حیاتی را مختل کند [۱۹]. پی‌سیمن نیز پیش‌ساز بیولوژیکی کارواکرول است. این ماده آبرگیز بوده و بیشتر و وسیع‌تر از کارواکرول سبب اتساع غشاء سیتوپلاسمی می‌شود. هنگامی که به تنهایی به کار می‌رود تاثیر ضدباکتریایی خوبی ندارد اما وقتی با کارواکرول ترکیب شود می‌تواند به صورت هم‌افزا عمل نماید که این مسئله در برنج بر علیه باسیلوس سرئوس ثابت شده است. این ماده در

- for bacteria that grow aerobically (5th ed.). Approved standard, M7-A5. Pennsylvania: Wayne.
- [13] Oroojalian, F., Kasra-Kermanshahi, Azizi, M., & Bassami, M.R. (2010). Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens. *Food Chemistry*. 120: 756-770.
- [14] Pass, M., Rashidipour, M., Talei, Gh., & Dousti, B. (2012). Phytochemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of *Echinophora cinerea*. *Journal of Herbal Drugs*. 2: 67-74.
- [15] Rahimi-Nasrabadi, M., Gholivand, M.B., Niasari, M., & Vatanara, A. (2010). Chemical Composition of the Essential oil from Aerial Parts of *Echinophora platyloba* DC from Iran. *Journal of Medicinal Plants*. 9(6):53-56.
- [16] Safaei, A. (2004). Identification and quantitative determination of luteolin and apigenin in the aerial parts and an extract of *Stachys lavandulifolia* by HPLC. International Congress on Traditional Medicine and Material Medical Tehran, Iran. *Iranian Journal of Pharmacology Research*. 2: 90-96.
- [17] Sadr momtaz, A., Meshkatalasadat, M., & Taherparvar, P. (2001). Comparison of volatile components of *Stachys Lavandulifolia* Vahl obtained by MWHD and HD techniques. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*. 6(3): 1343-1348.
- [18] Ghasemi Pirbalouti, A., & Mohammadi, M. (2013). Phytochemical composition of the essential oil of different populations of *Stachys lavandulifolia* Vahl. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 3(2): 123-128.
- [19] Massiha, A., Khoshkholgh-pahlaviani, M.R.M., Issazadeh, Kh., Bidarigh, S., & Zarrabi, S. (2013). Antibacterial Activity Medical Sciences. Hayan. p:142 .(In persian).
- [5] Mozaffarian, V. (1996). A Dictionary of Iranian Plant Names. Farhang Moaser. Tehran. 194-195. (In persian).
- [6] Sajjadi, S.E., & Ghannadi, A. (2002). Composition of the essential oil of *Echinophora cinerea* (Boiss) Hedge et Lamond. *Journal of Essential Oil Research*. 14: 114-115.
- [7] Avijgan, M., Mahboubi, M., Darabi, M., Saadat, M., Sarikhani, S., Kassaiyan, N. (2010). Overview on *Echinophora platyloba*, a synergistic antifungal. *Journal of Yeast and Fungal Research*. 1(5): 88-94.
- [8] Semnani, M., Akbarzadeh, K., & Changizi, S. (2006). Essential oils composition of *Stachys byzantine*, *S. inflata* *S. lavandulifolia* Vahl and *S. laxa* from Iran. *Journal of Flavor and Fragrance*. 21: 300-303.
- [9] Hosseini Mazinani, M., Tajali, A., Gandomkar, A., & Roshandelpour, A. (2013). Variability in chemical constituent of the essential oil of two species of *Stachys* genus from Iran. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*. 5(22). 2773-2776.
- [10] Taheri, M., Majd, A., Nejadstarrari, T., Hekmatshoar, H., & Mehrabian, S. (2013). Ethanolic extract of aerial organs of *Stachys lavandulifolia* Vahl in generative phase has more efficient antimicrobial effects. *Advances in Environmental Biology*. 7(13): 4016-4021.
- [11] 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.
- [12] National committee for clinical laboratory standards. (2000). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests

- [21] Ghasemi Pirbalouti, A., Malekpoor, F., Enteshari, SH., Yousefi, M., Momtaz, H., & Hamed, B. (2010). Antibacterial Activity of Some Folklore Medicinal Plants Used by Bakhtiari Tribal in Southwest Iran, *International Journal of Biology*. 2: 55-63.
- [22] Buchanan, R. L., & Shepherd, A.J. (1981). Inhibition of *Aspergillus parasiticus* by thymol. *Journal of Food Science*. 46: 976- 977.
- of Essential Oils and Plant Extracts of *Artemisia (Artemisia annua L.)* in Vitro. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*. 15 (6): 14-18.
- [20] Domenico, T., Francesco, C., Maria Grazia, S., Vincenza, V., Mariateresa, C. & Claudia, D. (2005). Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. *Antimicrob Agents Chemother*. 49(6):2474-8.

Evaluation of chemical composition and antibacterial activities of *Echinophora cinerea* Boiss and *Stachys lavandulifolia* Vahl essential oils in vitro

Zarali, M. ¹, Hojjati, M. ^{2*}, Tahmouzi Didehban, S. ³, Jooynadeh, H. ⁴

1. M.S student, Department of Food Science and Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran.
2. Assistant professor, Department of Food Science and Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran.
3. Assistant professor, Department of Food Science and Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran.
4. Associate professor, Department of Food Science and Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan Iran.

(Received: 93/4/23 Accepted: 93/8/7)

The aim of this study was to investigate the antibacterial activities of *Echinophora cinerea* and *Stachys lavandulifolia* Vahl essential oils cultivated in Lorestan province against some food pathogens. The aerial parts of these plants were collected from the mountains around Khorramabad. Their essential oils were extracted by Clevenger and their chemical composition analyzed by GC/MS. The antimicrobial activities were determined by disk diffusion and micro-dilution methods against *Shigella dysenteriae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*. Thirty- nine and fifty-eight components were identified in *Echinophora* and *Stachys* essential oils, respectively. α -phellandrene, p-cymene, carvacrol and α -pinene were the main compounds in *Echinophora* essential oil and thymol, trans caryophyllene, β -phellandrene, spathulenol and caryophyllene oxide were the major components of *Stachys* essential oil. Findings showed antibacterial properties of *Echinophora* and *Stachys*. They acted against *S. aureus* with diameters of the inhibition zones of 34.5 and 22.8 mm, respectively. The minimum inhibitory concentrations (MIC) and MBC of *Echinophora* for *E.coli* were 4.6, and 18.75 mg/mL. Results demonstrated that MIC of *Stachys* for all bacteria was 2.3 mg/mL. In addition, MBC of *Stachys* on *E. coli* and *S. dysanteria* was observed when it was adjusted on 2.3 mg/mL.

Keywords: Aromatic plant, terpene, food pathogen, *Echinophora cinerea* Boiss, *Stachys lavandulifolia* Vahl

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