

ترکیبات شیمیایی و خواص ضد باکتریایی اسانس حاصل از بخش‌های هوایی گلپر ایرانی

احمد رضائیان^{۱*}، علی احسانی (PhD)^۱

۱- گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

دریافت: ۹۳/۹/۲۹، اصلاح: ۹۳/۱۱/۱۵، پذیرش: ۹۴/۲/۱۶

خلاصه

سابقه و هدف: ظهور ایزوله‌های مقاوم میکروبی در اثر مصرف داروها و نگهدارنده‌های شیمیایی، و در نتیجه افزایش عدم اطمینان در مورد مصرف مواد غذایی حاوی نگهدارنده‌های سنتزی، سبب افزایش محبوبیت استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی شده است. در این مطالعه، علاوه بر شناسایی ترکیبات شیمیایی شناسایی شده در اسانس گیاه گلپر ایرانی، اثر ضدباکتریایی اسانس آن بر روی لیستریا مونوسیتوژنز و اشرشیاکلی که از مهم‌ترین باکتری‌های مخاطره‌آمیز در بهداشت مواد غذایی می‌باشند، بررسی گردید.

مواد و روشها: در این مطالعه تجربی، پس از اسانس‌گیری گلپر ایرانی توسط کلونجر، آنالیز کمی و کیفی ترکیبات تشکیل دهنده آن توسط GC-MS انجام گرفت. برای تعیین MIC و MBC از روش میکرودايلوشن استفاده گردید. آخرین چاهک فاقد کدورت، به عنوان MIC در نظر گرفته شد. با کشت دادن از چاهک‌های فاقد کدورت بر روی BHI آگار، کمترین غلظت اسانس که سبب عدم رشد در آن گردید، به عنوان MBC در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: هگزیل بوتانوات (۲۵/۹۸٪)، اکتیل ۲-متیل بوتیرات (۱۴/۳۷٪)، پنتیل سیکلوپروپان (۱۲/۷۷٪) و اکتیل ایزوبوتیرات (۱۷/۸۲٪)، اجزای اصلی اسانس بودند که از گروه استرهای آلفاتیک می‌باشد. مقادیر MIC برای اشرشیاکلی و لیستریا مونوسیتوژنز به ترتیب ۵ و ۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر بود. مقادیر MBC برای هر دو باکتری معادل با MIC آن بود.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه نشان داد که استرهای آلفاتیک عمده‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس می‌باشند. همچنین اسانس گلپر ایرانی بر روی هر دو باکتری اثر ضدباکتریایی داشته و با این شرح که لیستریا مونوسیتوژنز در مقایسه با اشرشیاکلی حساسیت بیشتری به اسانس دارد.

واژه‌های کلیدی: گلپر ایرانی، حداقل غلظت مهارکنندگی، اثر ضدباکتریایی.

مقدمه

طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی، بیماری‌های ناشی از مصرف غذا و آب آلوده، سالانه جان ۲/۲ میلیون نفر را در جهان می‌گیرد که ۱/۹ میلیون نفر از این قربانیان را کودکان تشکیل می‌دهند (۱). علیرغم همه اصول و قواعد بهداشتی تهیه غذا، ارائه این گونه گزارشات، وجود فضای خالی برای تبیین روش‌های جدید، مؤثر و سالم برای تهیه و نگهداری غذای ایمن را نشان می‌دهد. از طرفی ظهور ایزوله‌های مقاوم میکروبی در اثر مصرف داروها و نگهدارنده‌های شیمیایی و در نتیجه افزایش عدم اطمینان در مورد مصرف مواد غذایی حاوی نگهدارنده‌های سنتزی، سبب افزایش محبوبیت مواد غذایی حاوی نگهدارنده‌های طبیعی شده است (۱) و در نتیجه، مردم به مصرف غذاهای با نگهدارنده طبیعی یا به اصطلاح سبز در مقایسه با غذاهای با نگهدارنده مصنوعی تمایل بیشتری پیدا کرده‌اند (۲و۳). آنتی‌میکروب‌های طبیعی مانند اسانس‌ها نمونه‌ای از این نگهدارنده‌های طبیعی می‌باشند که از برخی ادویه‌ها و گیاهان دارویی به دست آمده و اضافه بر اثرات طعمی، اثرات ضد میکروبی نیز دارند (۴). اصولاً کارکردهای پزشکی اسانس‌ها

دلیل ثانویه کاربرد آن‌ها به منظور تولید طعم و رایحه می‌باشد (۵). اسانس‌ها مایعات روغنی آروماتیک حاصل از قسمت‌های مختلف گیاهان می‌باشند که به آن‌ها روغن‌های اسانسی، روغن‌های اتری و روغن‌های فرار نیز می‌گویند (۶). نحوه استحصال آن‌ها عموماً از طریق تبخیر با بخار و تقطیر آبی می‌باشد (۱). گلپر ایرانی (Heracleum Persicum or Persian Hogweed or Golpar) یکی از این گیاهان است که در ایران در تهیه غذا و دارو مورد استفاده قرار می‌گرفت. به‌طوری که میوه‌های آن به عنوان ادویه و میوه‌ها و ساقه‌های آن به عنوان یک عامل طعم‌دهنده برای تهیه خیارشور مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین این گیاه در طب سنتی ایران به عنوان ضد عفونی کننده، ضد درد، ضد سوء هاضمه و ضد نفخ به کار می‌رود (۷). قابل ذکر است که ۱۲۵ گونه هراکلوم در جهان وجود دارد (۷). گلپر ایرانی، مهم‌ترین گونه گلپر دارویی ایران است (۸). در پوشش گیاهی ایران به خصوص در نواحی کوهستانی دارای ارتفاع بیش از ۱۵۰۰ متر در مناطق شمالی کشور تقریباً ۱۰ گونه از این گیاه وجود دارد (۹و۱۰).

□ این مقاله حاصل پایان نامه احمد رضائیان دانشجوی دکتری بهداشت مواد غذایی دانشگاه ارومیه می‌باشد.

* مسئول مقاله: دکتر احمد رضائیان

آدرس: ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت مواد غذایی. تلفن: ۰۴۴-۳۲۷۵۲۷۴۰

E-mail: ahmad_rezayan@yahoo.com

و ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد بود. باکتری‌های مورد استفاده *Listeria monocytogenes* PTCC1165 و *Escherchia coli* PTTC1395 بودند. باکتری‌های مورد مطالعه به شکل لیوفیلیزه از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهیه گردید. ابتدا کشت‌های لیوفیلیزه به محیط BHI برات منتقل شد و دو مرتبه متوالی به مدت ۱۸ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. سپس، از کشت ۱۸ ساعته دوم مقادیر مختلفی به لوله‌های کووت حاوی ۵ میلی‌لیتر BHI برات استریل اضافه شد و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، جذب نوری آن‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر تعیین گردید. همزمان با عمل فوق، با نمونه‌برداری از محتویات لوله‌های کووت شمارش باکتریایی انجام شد و در نهایت لوله کووت که حاوی 1×10^8 باکتری در هر میلی‌لیتر بود مشخص گردید (۲۴ و ۲۵). تعیین MIC و MBC با روش میکرودیالوژن و با استفاده از میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای صورت گرفت. بعد از تنظیم باکتری در سطح 1×10^8 ، دو بار در محیط کشت BHI برات (۱ میلی‌لیتر از باکتری در ۹ میلی‌لیتر از BHI برات) رقیق شد تا مقدار باکتری به 10^6 CFU/ml رسید. سپس با استفاده از حلال دی متیل سولفوکساید اسانس در محدوده غلظتی ۰/۳-۸ mg/ml تهیه گردید. در ادامه ۱۶۰ میکرولیتر BHI برات، ۲۰ میکرولیتر باکتری و ۲۰ میکرولیتر اسانس (جمعاً ۲۰۰ میکرولیتر) به داخل میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای ریخته شد. کنترل اسانس (بدون افزودن باکتری) و کنترل باکتری‌ها (بدون افزودن اسانس) نیز، در چاهک آخر هر ردیف تلقیح شد. در پایان، میکروپلیت‌ها به مدت ۳۰ ثانیه با دور ۲۵۰۰ مخلوط شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از این مدت، MIC آن‌ها به روش چشمی و مشاهده کدورت تعیین گردید. برای تعیین MBC، ۵ میکرولیتر از چاهک‌های فاقد کدورت بر روی محیط BHI آگار کشت داده شد و کمترین غلظت از اسانس که اثر باکتری‌کشی داشت (عدم رشد در پلیت حاوی محیط BHI آگار)، به عنوان MBC در نظر گرفته شد. تمامی آزمایشات حداقل ۳ بار انجام پذیرفت (۲۶ و ۲۷).

یافته‌ها

نتایج آنالیز ترکیبات شیمیایی اسانس گلپر ایرانی به وسیله GC/MS: آنالیز گلپر ایرانی توسط دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی انجام پذیرفت. پس از آنالیز ترکیبات گلپر ایرانی، ۹۹/۸۴ درصد ترکیبات موجود در آن شناسایی گردید که از این میان، ترکیبات با مقادیر بیشتر از ۰/۲ درصد نشان داده شد (جدول ۱). اصلی‌ترین ترکیبات موجود در اسانس گیاه مورد استفاده در این مطالعه، N-Butanoic acid, hexyl ester (Hexyl butanoate) (۲۵/۹۸٪)، 2-methyl butyrate octyl (۱۴/۳۷٪)، Pentyl cyclopropane (۱۲/۷۷٪) و Octyl isobutyrate (۱۷/۸۲٪) بود. توجه به اجزای اصلی تشکیل دهنده اسانس این گیاه نشان می‌دهد که عمده‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده آن، از گروه استرها آلیفاتیک می‌باشد.

نتایج ارزیابی خواص ضد باکتریایی اسانس در شرایط آزمایشگاهی به روش میکرودیالوژن: مقادیر MIC و MBC برای اشرشیاکلی به ترتیب ۵ و ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای لیستریا مونوسیتوژنز به ترتیب ۲/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. همان‌طور که اعداد فوق نشان می‌دهد، هرچند لیستریا مونوسیتوژنز حساسیت بیشتری به اسانس نشان داده است، اما حداقل غلظت مهارکنندگی رشد با حداقل غلظت کشندگی رشد برای هر دو باکتری، برابر بود.

از آنجایی که گیاهان متعلق به جنس هراکولوم خواص آروماتیک داشته و منبع غنی از اسانس‌ها می‌باشد و همچنین در طب سنتی و تهیه غذاهای محلی ملل مختلف به نحوی مورد توجه بوده‌اند، ترکیب شیمیایی و خواص پزشکی مختلف آن‌ها توسط برخی محققین در سراسر جهان مورد بررسی قرار گرفته است (۱۶-۱۱). مطابق مطالعات انجام شده در مورد اسانس و عصاره گونه‌های مختلف هراکولوم، خواص بیولوژیکی متنوعی مانند اثرات سیتوتوکسیک، آنتی میکروبیال، محرک سیستم ایمنی و ضد تشنجی گزارش شده است (۱۷).

در مطالعات پیشین، استرهای آلیفاتیک، الکل‌های آلیفاتیک، استرهای مونوترین مانند هگزیل بوتیرات، اکتیل استات و هگزیل ایزو بوتیرات، عمده ترکیبات شناسایی شده در مورد دانه‌های رسیده و نرسیده گلپر ایرانی بود (۱۸ و ۱۰). اساساً اثرات ضد میکروبی و سایر خواص بیولوژیکی یک اسانس در ارتباط با ترکیبات عمده موجود در آن می‌باشد، اما گاهی اوقات، اثر سینرژیستی و آنتاگونیستی یکی از اجزایی که به مقدار بسیار کم در ترکیب اسانس وجود دارد، نقش کلیدی در ارتباط با خواص اسانس ایفا می‌کند. بنابراین، اسانس‌ها بر مبنای اجزای مختلف و منحصر به فرد خود، اثرات بیولوژیکی مختلفی از خود نشان می‌دهند (۱). از طرفی، ترکیبات موجود در اسانس‌های حاصل از قسمت‌های مختلف گیاه متفاوت بوده و در مراحل مختلف رسیدن گیاه نیز، تغییرات گسترده‌ای می‌یابد. شرایط اقلیمی، زمان برداشت، مدت زمان نگهداری، نحوه اسانس‌گیری و تفاوت‌های ژنتیکی گیاه، بر روی نوع و میزان ترکیبات موجود در اسانس گیاهان تأثیرگذار می‌باشد (۱۹). در مجموع، گزارشات پراکنده، محدود و بعضاً متناقضی در مورد خواص شیمیایی و به خصوص خواص آنتی باکتریال برخی از اجزای گیاه هراکولوم پرسیکوم وجود دارد (۲۳-۲۰). در نتیجه، هدف از این مطالعه آنالیز ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس و تعیین خواص ضد میکروبی بخش هوایی گلپر ایرانی جمع‌آوری شده از منطقه‌ای کوهستانی در شمال ایران (روستای شیخ موسی، بندپی، بابل) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

برای انجام این مطالعه تجربی، ابتدا قسمت‌های هوایی گیاه گلپر ایرانی، در مرحله میوه‌دهی کامل در تیرماه ۱۳۹۳ از منطقه کوهستانی شیخ موسی، بندپی، بابل، ایران جمع‌آوری گردید. سپس در سایه و به دور از آفتاب و در دمای اتاق تا خشک شدن کامل قبل از اقدام به اسانس‌گیری نگهداری شد. عملیات اسانس‌گیری به وسیله دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آب انجام گرفت. نمونه به دست آمده در ظرف شیشه‌ای تیره ذخیره گردید و تا زمان تعیین ترکیبات شیمیایی و خواص ضد میکروبی در یخچال (۷-۲ درجه سانتی‌گراد) نگهداری گردید. آنالیز کمی و کیفی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس گلپر ایرانی توسط دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف نگار جرمی انجام گرفت. دستگاه گاز کروماتوگرافی مدل Agilent Technologies-7890A متصل به طیف‌سنج جرمی مدل Agilent Technologies-5975C با ستون موئینه HP-5MS به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر مورد استفاده قرار گرفت. برنامه دمایی اعمال شده ۶۰ تا ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش تدریجی ۴ درجه سانتی‌گراد بود. دمای اتاقک تزریق ۲۵۰ درجه فارنهایت و گاز حامل هلیوم با سرعت ۲ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده گردید. پارامترهای انرژی یونیزاسیون و دمای منبع یونیزاسیون به ترتیب ۷۰ الکترون ولت

جدول ۱. ترکیبات گلپر ایرانی شیمیایی و مقادیر آن‌ها در اسانس

ترکیب	زمان بازداری (دقیقه)	درصد
Butanoic acid, butyl ester	۵/۶۱۸	۰/۷
Octanal	۵/۸۰۶	۰/۹۷
Isobutyl isovalerate	۵/۸۹۴	۰/۲۷
Hexyl acetate (Acetic acid, hexyl ester)	۶/۱۵۹	۲/۸۸
Isopropylbenzene	۶/۳۸۱	۱/۴۷
Butyl 2- methylbutyrate	۶/۸۸۹	۱/۴۲
Butanoic acid, 3-methylbutyl ester	۷/۰۲۲	۱/۲۳
Gamma- terpinene	۷/۳۴۲	۱/۳۱
L-Linalool	۸/۶۳۶	۰/۳
β -Linalool	۸/۷۴۶	۰/۳۴
Hexyl Propionate	۸/۸۱۳	۰/۳۵
Hexyl butanoate	۱۱/۹۴۱	۲۵/۹۸
Spiro[2.5] octane	۱۲/۰۳۰	۲/۴۹
Capraldehyde	۱۲/۱۴۰	۰/۲۸
Pentylcyclopropane	۱۲/۵۰۵	۱۲/۷۷
Octyl 2- methylbutyrate	۱۳/۲۴۶	۱۴/۳۷
Decylisobutyrate	۱۶/۵۹۶	۲/۷۶
Vinyl cyclohexane	۱۷/۵۳۵	۳/۰۰
Octylisobutyrate	۱۸/۱۱۰	۱۷/۸۲
2-(aminomethyl) butanoic acid	۲۳/۶۸۲	۱/۶۶
Angelicin	۲۸/۵۵۷	۰/۳۵
Octylcaprylate	۲۸/۹۱۱	۰/۲۴

بحث و نتیجه گیری

بر اساس نتایج، اسانس گلپر ایرانی دارای اثر ضد باکتریایی بر روی باکتریهای مورد مطالعه بود، به طوری که اثر آن بر روی باکتری گرم مثبت لیستریا مونوسیژنز، بیشتر بود. تعیین فعالیت ضد میکروبی اسانس‌ها به روش تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده (MIC) یکی از پرکاربردترین روش‌ها است و توسط اکثر محققین به عنوان معیاری برای تعیین فعالیت ضد میکروبی اسانس‌ها ذکر شده است (۱). اما با این حال، روش تعیین آن در مقالات منتشر شده متفاوت است، که این مسأله، از موانع قابل توجه در مقایسه مطالعات مختلف می‌باشد. افزایش بیماری‌ها و مسمومیت‌های غذایی به همراه مشکلات اقتصادی و اجتماعی حاصل از آن، سبب گسترش مطالعات در زمینه تولید غذای سالم و به کارگیری ترکیبات ضد میکروبی جدید شده است. اسانس‌های حاصل از گیاهان، واجد فعالیت ضد میکروبی شناخته شده‌ای هستند که می‌توانند در جهت کنترل و جلوگیری از رشد باکتری‌های پاتوژن و عامل فساد منتقله از مواد غذایی، به جای نگهدارنده‌های شیمیایی و سنتتیک مورد استفاده قرار گیرند (۱). تاکنون فعالیت

ضدمیکروبی چشمگیری توسط اسانس‌های گیاهی علیه باکتری‌های بیماری‌زا با منشأ غذایی و میکروارگانیسم‌های عامل فساد نشان داده شده است (۲۹ و ۲۸). نتایج حاصل از این مطالعه تا حدودی در توافق با تحقیقات قبلی بود. Ghasemi و همکاران در مطالعه خود گزارش نمودند که اسانس میوه گلپر برفی علیه کمپیلو باکترکولای و ژژونی اثر ضد باکتریایی دارد (۲۲). همچنین Dadfar و همکاران خاصیت ضدباکتریایی اسانس گلپر برفی را علیه سودوموناس آئروژینوزا، ضعیف ارزیابی کردند (۲۳). در مطالعه دیگری عملکرد آنتی میکروبیال متوسط تا قوی علیه قارچ، باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی توسط اسانس *H. thomsonii* گزارش گردید که در این مطالعه ترکیب اصلی موجود در اسانس، نریل استات (۵۱/۶۲٪) و نریل (۹/۸۷٪) بود (۲۱). همچنین Dragoljub و همکاران عملکرد آنتی‌باکتریال ضعیفی از اسانس *H. sibiricum* را گزارش نمودند، به طوری که مقدار MIC و MBC علیه لیستریا مونوسیژنز، معادل ۲۴۳۱/۲ (میکروگرم بر میکرولیتر) و ۲۴۳۱/۲ (میکروگرم بر میکرولیتر) بود (۲۰). اثر ضد باکتریایی قوی‌تری که در مورد *H. thomsonii* گزارش شد، شاید به خاطر وجود مقادیر قابل توجهی از ترکیبات متفاوتی مانند نریل (۹/۸۷٪) و نریل استات (۵۱/۶۲٪) باشد.

همان‌طوری که در نتیجه این تحقیق مشخص است میزان مقاومت باکتری گرم منفی در مقابل اسانس بیشتر است که این نکته در مورد بسیاری از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهان مختلف گزارش شده است. علت این مقاومت بیشتر، احتمالاً به خاطر وجود غشای خارجی در باکتری‌های گرم منفی است که در نتیجه میزان نفوذ اجزای هیدروفوبیک اسانس به لایه لیپوبیلی ساکراید را محدود می‌کند (۱). اثرات ضد میکروبی اسانس‌ها از یک مکانیسم واحد پیروی نمی‌کند. یکی از ویژگی‌های مهم و مشترک اجزای تشکیل‌دهنده اسانس‌ها خاصیت آب‌گریزی آن‌ها است که سبب تسهیل نفوذ آن‌ها به داخل غشای سلول باکتری و در نتیجه اختلال عملکرد و افزایش نفوذپذیری آن می‌شود (۱). به‌طور کلی هرچه مواد فنولیک مانند اووژنول و تیمول در اسانس به مقدار بیشتری وجود داشته باشد، خواص ضد باکتریایی آن‌ها قوی‌تر خواهد بود (۳۰ و ۱). در صورتی که اسانس مورد مطالعه ما، فاقد این دسته مواد بود.

گیاه گلپر، بومی ایران می‌باشد و برای معطر کردن برخی غذاهای سنتی به کار می‌رود. به عنوان مثال مردم قوم بختیاری از میوه گلپر برای معطر کردن و نگهداری گوشت استفاده می‌کنند (۳۱) و یا در شمال ایران نیز میوه این گیاه، به عنوان ادویه در تهیه انواع مواد غذایی و همچنین در تولید برخی فرآورده‌های لبنی مانند دوغ و پنیر مورد استفاده قرار می‌گیرد. از دیرباز تاکنون، اسانس‌های حاصل از گیاهان دارویی به خاطر فعالیت‌های بیولوژیکی خاص خود در طب سنتی کاربرد دارند. بدیهی است که این فعالیت‌ها در ارتباط با اجزای تشکیل‌دهنده اسانس‌ها می‌باشد. بنابراین پیش‌زمینه درک یک عملکرد خاص از یک اسانس، شناسایی و آنالیز اجزای تشکیل‌دهنده آن می‌باشد. تاکنون متابولیت‌های مختلفی از گونه‌های متعدد جنس *هراکلوم* مانند *کومارین*‌ها و *فلاوونوئید*‌ها جدا شده است (۳۳ و ۳۲). اکتیل بوتانوات (۳۶/۸۲٪)، هگزیل بوتانوات (۱۶/۰۸٪)، ال-اکتانول (۱۳/۶۲٪) و اکتیل هگزانوات (۸/۱۰٪) به عنوان بیشترین اجزای تشکیل‌دهنده اسانس حاصل از بخش‌های هوایی *H. sibiricum* گزارش شده است (۱۸). در مطالعه *Kuljanabhagavad* و همکاران، پس از آنالیز اسانس *H. samicum* ترکیبات اکتیل استات (۶۵/۳٪)، پاراسمین (۱۰/۳۵٪)، لیمونن (۷/۵۲٪)، دلتا-۲-

(۱۲/۷۷٪) به‌عنوان اصلی‌ترین اجزای تشکیل‌دهنده اسانس شناسایی شدند. با توجه به اطلاعات ارائه شده در مورد ترکیب شیمیایی و اثرات ضد میکروبی اسانس گلپر ایرانی در این مطالعه و نیز پیشینه کاربرد آن در طب سنتی و تولید غذا، پیشنهاد می‌شود با فراهم‌آوری هزینه و شرایط اجرایی لازم اطلاعات جامع‌تری در مورد عملکرد این اسانس در مدل‌های غذایی ارائه گردد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از زحمات آقایان دکتر سیامک سپهری، مهندس میثم حسینی و مهندس سلمان شریفی مهر، که در انجام این تحقیق ما را یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

کارن (۶/۸۷٪) شناسایی شدند (۳۴). در مطالعه Sedaghat Brogeni و همکاران، ترکیبات اصلی اسانس میوه گلپر برفی (*H. lasiopetalum* Boiss.)، اکتانول استات (۳۴/۴۸٪)، ان-اکتانول (۶/۵٪)، هگزانول (۵/۱۲٪) و آلفا-پینن (۴/۸۲٪) گزارش گردید (۳۵). همچنین در مطالعه دیگری، هگزیل بوتیرات (۴/۵۶/۵۰٪)، اکتیل استات (۱۶/۵۰٪)، هگزیل-۲ متیل بوتانوات (۲/۲۰٪) و هگزیل ایزوبوتیرات (۳/۴۰٪) به‌عنوان عمده‌ترین اجزای تشکیل‌دهنده اسانس میوه *H. persicum* معرفی شدند (۳۶). همان‌طور که مشخص است علیرغم وجود برخی تفاوت‌ها، استرهای آلفاتیک عمده‌ترین اجزای تشکیل‌دهنده اسانس گلپر می‌باشند. در مطالعه حاضر که کل بخش‌های هوایی گیاه گلپر ایرانی مورد آنالیز قرار گرفت، چهار ترکیب هگزیل بوتانوات (۲۵/۹۸٪)، اکتیل ایزوبوتیرات (۱۷/۸۳٪)، ان-اکتیل ۲-متیل بوتیرات (۱۴/۳۷٪) و پنتیل سیکلوپروپان

Evaluation of the Chemical Compounds and Antibacterial Properties of the Aerial Parts of Persian Heracleum Persicum Essence

A. Rezayan (DVM)^{*1}, A. Ehsani (PhD)¹

1.Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Urmia, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 17(6); Jun 2015; PP: 26-32

Received: Dec 20th 2014, Revised: Feb 4th 2015, Accepted: May 6th 2015.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Emergence of resistant microbial strains due to the consumption of chemical preservatives and medications, as well as uncertainty about the consumption of foods containing synthetic preservatives, have resulted in the growing popularity of natural preservatives. This study aimed to identify the chemical compounds found in the essence of Persian hogweed (*Heracleum persicum*) and investigate the antibacterial effects of the essence of this herb on *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*, the most harmful bacteria in food hygiene.

METHODS: In this experimental study, after the extraction of the essential oil of *Heracleum persicum* by Clevenger, qualitative and quantitative analyses of the constituent compounds were performed via gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) method. In addition, microdilution method was used to determine minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC), and the last plate without turbidity was considered as MIC. By culturing the plates without turbidity on brain-heart infusion (BHI) agar, the lowest concentration of the essence to inhibit the growth was determined as MBC.

FINDINGS: In this study, the main components of the essential oil of *Heracleum persicum* were Hexyl butanoate (25.98%), Octyl 2-methylbutyrate (14.37%), Pentyl-cyclopropane (12.77%) and Octyl isobutyrate (17.82%). Moreover, MIC values for *E. coli* and *Listeria monocytogenes* were 5 and 5.2 mg/ml, respectively, and MBC values for each of the bacteria were equal to MIC.

CONCLUSION: According to the results of this study, aliphatic esters are among the main constituents of the essence of *Heracleum persicum*. Furthermore, the essential oil of this herb exerts antibacterial effects on both these bacteria, and *Listeria monocytogenes* was observed to be more sensitive to the essential oil compared to *E. coli*.

KEY WORDS: *Heracleum persicum*, Minimum inhibitory concentration (MIC), Antibacterial effect.

Please cite this article as follows:

Rezayan A, Ehsani A. Evaluation of the Chemical Compounds and Antibacterial Properties of the Aerial Parts of Persian *Heracleum Persicum* Essence. J Babol Univ Med Sci. 2015;17(6):26-32.

* Corresponding Author; A. Rezayan (DVM)

Address: Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Urmia, I.R.Iran

Tel: +98 44 32752740

E-mail: ahmad_rezayan@yahoo.com

References

1. Burt S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods—A review. *Int J Food Microbiol* 2004;94(3):223-53.
2. Tuley de Silva K. A Manual on the essential oil industry. Vienna:United Nations Indust Develop Org. 1995.p:1-10.
3. Smid EJ, Gorris LGM. Natural antimicrobials for food preservation. In: Rahman, MS(Ed.), *Handbook of Food Preservation*. New York: Marcel Dekker. Inc; 1999. P.285-308.
4. Brandi G, Amagliani G, Schiavano GF, De Santi M, Sisti M. Activity of Brassica oleracea leaf juice on food borne pathogenic bacteria. *J Food Prot.* 2006;69(9):2274-9.
5. Tajkarimi MM, Ibrahim SA, Cliver DO. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *J Food Control.* 2010;21(9):1199-218.
6. Van de Braak SAAJ, Leijten GCJJ. Essential Oils and Oleoresins: A Survey in the Netherlands and other Major Markets in the European Union. Rotterdam:CBI(centre for the promotion of imports from developing countries);1999. p:116.
7. Pimenov MG, Leonov MV. The asian umbelliferae biodiversity database (ASIUM) with particular reference to south-west asian taxa. *Turk J Bot.* 2004;28(1-2):139-45.
8. Rechinger KH. *Flora Iranica* (No:162). Graz: Akademische Druck- und Verlagsanstalt; 1982.p. 492-502.
9. Nielsen C, Nentwig W, Ravn HP, Wade M. The Giant Hogweed Best Practice Manual: Guidelines for the Management and Control of an Invasive Weed in Europe. Denmark: Forest and Landscape; 2005. p.43.
10. Jahodova S, Trybush S, Pysek P, Wade M, Karp A. Invasive species of *Heracleum* in Europe: An insight into genetic relationships and invasion history. *Diversity Distrib.* 2007;13(1):99-114.
11. Sefidkon F, Dabiri M, Mohammad N. Analysis of the oil of *Heracleum persicum* L(leaves and flowers). *J Essent Oil Res.* 2002; 14(4):295-97.
12. Scheffer JJ, Hiltunen R, Aynehchi Y, Von Schantz M, Svendsen AB. Composition of essential oil of *Heracleum persicum* fruits. *Planta Med.* 1984;50(1):56-60.
13. Papageorgiou VP, Ochir G, Motl O, Argiriadou N, Dunkel H. Composition of the essential oil from *Heracleum dissectum*. *J Nat Prod.* 1985; 48(5):851-53.
14. Iscan G, Demirci F, Kurkcuoglu M, Kivanc M, Baser KH. The bioactive essential oil of *Heracleum sphondylium* L.subsp. *ternatum*(velen.) Brummitt. *Z Naturforsch C.* 2003;58(3-4):195-200.
15. Iscan G, Ozek T, Ozek G, Duran A, Baser KHC. Essential oil of tree species *Heracleum anticandidal* activity. *Chem Nat Comp.* 2004; 40(60):544-7.
16. Tosun F, AkyuzKizilay C, Erol K, Kilic FS, Kurkcuoglu M, Husnu Can Baserc K. Anticonvulsant activity of furanocoumarins and the essential oil obtained from the fruits of *Heracleum crenatifolium*. *Food Chem* 2008; 107(3): 990-3.
17. Firuzi O, Asadollahi M, Gholami M, Javidnia K. Composition and biological activities oils from four *Heracleum* species. *Food Chem.* 2010;122(1):117-22.
18. Sefidkon F, Dabiri M, Mohammad N. Analysis of the Oil of *Heracleum persicum* L(Seeds and Stems). *J Essent Oil Res.* 2004;16(4):296-8.
- 19.Reichert S, Wust M, Beck T, Masandl A. Stereoisomeric flavor compounds LXXXI: dill ether and its cis-Stereoisomers: synthesis and enantioselective analysis. *J High Resol Chromatogr.*1998;21(3):185-9.
20. Miladinović DL, Ilić BS, Mihajilov-Krstev TM, Nikolić DM, Cvetković OG, Marković MS, et al. Antimicrobial activity of the essential oil of *Heracleum sibiricum*. *Nat Prod Commun.* 2013;8(9):1309-11.

21. Guleria S, Saini R, Jaitak V, Kaul VK, Lal B, Rahi P, et al. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Heracleum thomsonii* (Clarke) from the cold desert of the western Himalayas. *Nat Prod Res*. 2011;25(13):1250-60.
22. Ghasemi Pirbalouti A. Medicinal plants used in Chaharmahal and Bakhtyari districts of Iran. *Herba Pol*. 2009;55(2):69-77.
23. Dadfar Sh, Ghasemi Pirbalouti A, Mirlohi M, Hojjatoleslami M, Hamed B. Antibacterial activity of the essential oils of endemic plants. *J Herbal Drugs*. 2012;3(1):35-40. [In Persian]
24. Razavilar V, Genigeorgis C. Prediction of *Listeria* spp. growth as affected by various levels of chemicals, pH, Temperature and storage time in model broth. *Int J Food Microbiol*. 1998;40(3):149-57.
25. Bouchra C, Achouri M, Hassani L, Hmamouchi M. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiate against *Botrytis cinerea* pers: Fr. *J Ethnopharmacol*. 2003;89(1):165-9.
26. Gulluce M, Sahin F, Sokmen M, Ozer H, DafereraFD, Sokmen A, et al. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *Longifolia*. *Food Chem*. 2007;103(4):1449-56.
27. Weerakkody NS, Caffin N, Turner MS, Gary A. Dykesb. In vitro anti-microbial activity of less-utilized spice and herb extracts against selected food-borne bacteria. *Food Control*. 2010;21(10):1408-14.
28. Akhondzadeh Basti A, Misaghi A, Khaschabi D. Growth response and modelling of the effects of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil, pH and temperature on *Salmonella Typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. *LWT- Food Sci Technol*. 2007;40(6):973-81.
29. Bagamboula CF, Uyttendaele M, Debevere J. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S-flexneri*. *Food Microbiol*. 2004;21(1):32-42.
30. Tajkarimi MM, Ibrahim SA, Cliver DO. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*. 2010;21(9):1199-218.
31. Khezri Sh. Herbal Dictionary. Tehran:Rostamkhani Publication;2004.p. 471-72. [In Persian]
32. Taniguchi M, Yokota O, Shibano M, Wang NH, Baba K. Four coumarins from *Heracleum yunnanense*. *Chem pharm Bull* 2005;53:701-4.
33. Sharififar F, Pournourmohammadi S, Arabnejad M, Rastegarianzadeh R, Ranjbaran O, Purhemmaty A. Immunomodulatory activity of aqueous extract of *Heracleum persicum* Desf. in mice. *Iran J Pharm Res*. 2009;8(4):287-92.
34. Kuljanabhagavad T, Sriubolmas N, Ruangrungsi N. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from *Heracleum siamicum*. *J Health Res*. 2010;24(2):55-60.
35. Sedaghat Brogeni L, Hojjatoleslami M, Keramat G, Ghasemi Pirbalouti A. Antioxidant activity of *Heracleum lasiopetalum* Boiss. essential oil on chemical characteristics of potato chips. *J Herbal Drugs*. 2013;3(4):249-56. [In Persian]
36. Asgarpanah J, Mehrabani GD, Amadi M, Ranjbar R, Safiaddin-Ardebily M. Chemistry, pharmacology and medicinal properties of *Heracleum persicum* Desf. Ex Fischer: A review. *J med Plants Res*. 2012;6(10):1813-20.