DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijmapr.2012.2968

فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۸، شمارهٔ ۳، صفحهٔ ۵۲۲-۵۰۹ (۱۳۹۱)

بررسی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس و اثر ضد باکتریایی برگ و میوه *Juniperus horizontalis* Moench

الهام احسانی[۱]، کامبیز اکبری نوقابی[۲*]، مریم تیموری[۳]، مهدیس ابراهیم‌زاده[٤] و علیرضا خادم[٥]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج
۲*- نویسنده مسئول، استادیار، گروه ژنتیک مولکولی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری پست الکترونیک: akbi@nigeb-ac.ir
۳- مربی، بخش تحقیقات جنگل، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور
٤- استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج
٥- دانشجوی دکتری، دانشگاه کاتولیک لوون- بلژیک

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۰ تاریخ اصلاح نهایی: تیر ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۰

چکیده

استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها و در نتیجه افزایش روزافزون مقاومت باکتریها به آنها، باعث شده تا نیاز به ترکیب‌ها و داروهای جدید بیش از پیش احساس شود. برای تولید داروهای جدید منابع مختلف به‌ویژه گیاهان، مورد توجه محققان می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی ترکیب‌های شیمیایی اسانس و اثر ضدباکتریایی اسانس برگ و میوه *Juniperus horizontalis* Moench است. برای این کار، برگ و میوه *Juniperus horizontalis* در زمستان از باغ ملی گیاه‌شناسی ایران واقع در مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور جمع‌آری و اسانس آن به روش تقطیر با آب تهیه شد. ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس با دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) شناسایی شد. اثر ضدباکتریایی اسانس‌های حاصل با استفاده از روش دیسک پلیت در مقابل ۱۳ گونه باکتریایی سنجیده شد. حداقل غلظت بازدارنده (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس‌ها با روش microdilution اندازه‌گیری شد. نتایج آنالیز اسانس نشان داد که سابینن (۳۸٪-۳۰/۲٪) و لیمونن (۲۷/۸٪-۲٦/۳٪) دو ترکیب عمده تشکیل‌دهنده اسانس برگ و میوه هستد. سومین ترکیب عمده در اسانس برگ بورنیل استات (۱۰/۷٪) و در اسانس میوه میرسن (۲۲/٦٪) بود. نتایج بررسی ضدمیکروبی نشان‌دهنده اثر ضدباکتریایی قابل توجه اسانس برگ در مقابل ۱۲ گونه باکتری از ۱۳ گونه باکتری مورد مطالعه بود و تنها سیتروباکتر فروندی در برابر این اسانس مقاوم بود. اما اسانس میوه اثر ضدباکتریایی ضعیفی از خود فقط در برابر ٤ باکتری از ۱۳ باکتری نشان داد.

واژه‌های کلیدی: *Juniperus horizontali* Moench، اثر ضدمیکروبی، اسانس، گاز کروماتوگرافی.

مقدمه

استفاده از گیاهان به‌عنوان دارو برای درمان بیماریها پدیده‌ای جهانی است. در فرهنگ‌های مختلف به خواص درمانی ترکیب‌های موجود در گیاهان اشاره‌های متعددی شده‌است. در واقع در گذشته تمام داروها ترکیب‌هایی بودند که از گیاهان استخراج شده بودند

(Serrentino *et al.*, 1991). امروزه به علت کشف اثرهای جانبی متعدد داروهای سنتزی و نیز استفاده بی‌رویه و غیر اختصاصی از داروهای ضدمیکروبی در درمان بیماریهای عفونی که باعث مقاومت میکروارگانیسم‌ها به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های موجود شده است تقاضا برای مواد ضدمیکروبی جدید افزایش یافته است. این امر منجر به افزایش تجویز و کاربرد داروهای گیاهی در کشورهای مختلف جهان و به‌ویژه در کشورهای پیشرفته شده و تحقیقات دامنه‌داری را سبب گردیده است (صدری، ۱۳۷۱).

خانواده سرو به راسته کونیفرالس و خانواده Cupressaceae تعلق داشته و گونه‌های آن در تمام نقاط دنیا انتشار دارند. خانواده سرو شامل ۲۰ جنس و ۱۳۰ گونه است و جنسهای مهم آن عبارتند از: ارس (۶۰ گونه)، سرو (۱۵ تا ۲۰ گونه)، کالیتریس (۱۶ گونه)، کامسی پاریس (۷ گونه) و شوگا (۵ گونه) (بخشی خانیکی، ۱۳۸۶).

Juniperus horizontalis یا *Juniperus* درختچه‌ایست دوپایه، همیشه سبز، خزنده یا دنباله‌دار که می‌تواند در منطقه‌ای به طول ۱/۸ تا ۳/۱ متر پخش شود. این گونه بومی آمریکا بوده و در خاکهای شنی، متراکم و نمکی، اسیدی تا کمی قلیایی رشد می‌کند. بومی‌های آمریکا از دم‌کرده دانه آن برای درمان بیماریهای کلیوی، سرماخوردگی و جراحت نای و گلو استفاده می‌کنند. برگ آن را سوزانده و به‌عنوان خوشبو کننده در مراسم بکار می‌برند. گیاه‌شناسان امروزی از اسانس آن به همراه اسانس *Juniperus communis* برای درمان عفونتهای دستگاه ادراری استفاده کرده و به نظر می‌رسد که برای درمان رماتیسم، آرتریت و نقرص مفید است (علی‌احمد کروری و خوشنویس، ۱۳۷۹).

از اسانس مخروط ماده ارس بخاطر داشتن ترپینن-۴-اُل، قرنهاست به‌عنوان یک مدر استفاده می‌شد. Mishra و Agrawal (۱۹۸۹) اثر دارویی اسانس *Juniperus excelsa* را بررسی نمودند و نشان دادند که میزان بالای اسانس ارس ایجاد افسردگی نموده و مقادیر مناسب آن فشار خون را بدون اینکه سرعت یا عمق تنفس را متأثر نماید پایین می‌آورد و متناسب با میزان بکار برده شده ترشح استیل کولین را تسریع می‌نماید. این گیاه همچنین در طب سنتی به‌عنوان ضدنفخ، باکتری‌زدا و درمان سوءهاضمه بکار می‌رود. علاوه بر مصارف دارویی روغن ارس در محصولات نوشابه‌سازی، بهداشتی و زیبایی استفاده می‌شود. ارس در حجاز برای معالجه بیماری سل ریوی و یرقان مصرف سنتی داشته است و عصاره برگ و دانه آن علیه باکتریهای گرم مثبت بیماری‌زا مانند باسیلوس سوبتیلیس استافیلوکوکوس اورئوس تأثیر قابل‌توجهی داشته است (Muhammad *et al.*, 1992).

Adams و همکاران (۱۹۹۲) با بررسی اسانس ارس *Juniperus excelsa* ترکیب‌های شیمیایی مختلف آن را شناسایی نمودند. طبق گزارش آنها آلفا-پینن و لیمونن بیشترین ترکیب‌های موجود در ارس می‌باشد.

مطالعه اجزای تشکیل‌دهنده اسانس *Juniperus excelsa* در پایه‌های نر- ماده، نر و ماده در ۳ فصل مختلف توسط صالحی شانجانی و میرزا (۱۳۸۱) نشان داد که تولید و سنتز اسانس در پایه‌ها و فصول مختلف بسیار پیچیده است. میزان آلفا-پینن که با مقدار ۷۰-۶۰٪ ترکیب غالب و جزء منحصر به فرد اسانس سرشاخه‌های سبز در

فصل بهار و پاییز است، در تابستان در حدود بیش از ۷۵٪ کاهش می‌یابد.

Angioni و همکاران (۲۰۰۳) ترکیب‌های اسانس برگ و میوه *Juniperus communis*، *Juniperus oxycedrus* و *Juniperus phoenicea* را در ایتالیا توسط روش تقطیر با آب جداسازی کرده و با تکنیک GC/MS آنالیز و اثر ضدمیکروبی آنها را نیز بررسی کردند. ترکیب‌های اصلی این اسانس‌ها آلفا-پینن و بتا-پینن، دلتا-۳-کارن، سابینن، میرسن، لیمونن و جرماکرن D جداسازی شد. آلفا-پینن ترکیب غالب در برگ *Juniperus oxycedrus* و دلتا-۳-کارن ترکیب بعدی بود. همچنین در میوه آن نیز آلفا-پینن غالب و میرسن ترکیب بعدی بود. در میوه و برگ *Juniperus phoenicea* اول آلفا-پینن و بعد دلتا-۳-کارن غالب بودند. در میوه *Juniperus communis* نیز آلفا-پینن ترکیب غالب بود ولی در برگ آن سابینن ترکیب غالب گزارش شد. اسانس‌ها فاقد اثر ضدمیکروبی قوی برعلیه سه باکتری (استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و پسودوموناس آئروژینوزا) و یک قارچ (کاندیدا آلبیکنس) بودند.

Adams (۱۹۹۹ و ۲۰۰۱) با بررسی‌های خود بر روی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس درختان ارس (*Juniperus polycarpos*) در رویشگاههای طبیعی در یونان نشان داد که آلفا-پینن (٪۲۲/۵)، لیمونن (٪۲۲/٦) و سدرول (٪۲۸/۱) عناصر عمده اسانس ارس است.

Pepeljnjak و همکاران (۲۰۰۵) روی اسانس میوه *Juniperus communis* کار کردند و آنالیز GC/MS نشان داد که ترکیب اصلی در اسانس آلفا-پینن است و بعد بتا-پینن، سابینن، لیمونن و میرسن است و بر روی ١٦ باکتری اثر ضدمیکروبی انجام شد. همه باکتریهای گرم مثبت به اسانس حساس بودند و از ۸ باکتری گرم منفی ۲ باکتری سیتروباکتر فروندی و اشرشیاکلی به اسانس مقاومت نشان دادند.

Filipowicz و همکاران (۲۰۰۳) اثر ضدمیکروبی و ضدقارچی اسانس ۳ نمونه دانه *Juniperus* و ترکیب‌های اصلی آنها را ارزیابی کردند. از بین این ۳ اسانس فقط اسانس A (که به صورت تجاری در دسترس بود) اثر ضدباکتریایی خوبی را نشان داد. ترکیب غالب در هر ۳ نمونه اسانس آلفا-پینن بود. در اسانس A به‌ترتیب پارا-سیمن و لیمونن و در اسانس B (که به صورت تجاری در دسترس بود) به‌ترتیب میرسن و ترپینن-٤- اُل و در اسانس C (که از دانه‌ها به روش تقطیر با آب تهیه شده بود) میرسن و لیمونن ترکیب‌های بعدی بودند. همچنین اثر ضدمیکروبی آلفا-پینن، لیمونن، سابینن و ترپینن-٤- اُل را روی باکتریهای مورد آزمایش از طریق اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد بررسی کردند. سابینن هیچ اثر ضدمیکروبی روی باکتریها نشان نداد. آلفا-پینن و ترپینن-٤- اُل اثر ضدمیکروبی خوبی را بر روی باکتریها نشان دادند و لیمونن نیز اثر ضدمیکروبی نشان داد. همچنین اثر ضدمیکروبی فرمهای انانتیومری مختلف از آلفا-پینن، بتا-پینن، لیمونن، سابینن، پی کیمن و ترپینن-٤- اُل را مشخص کردند. آلفا- پینن و بتا-پینن اثر ممانعت‌کنندگی در برابر رشد باکتریها نشان دادند. لیمونن و پاراسیمن اثر ضدقارچی خوبی را نشان دادند. سابینن فاقد اثر ضدمیکروبی گزارش شد و ترپینن-٤- اُل مانع رشد اشرشیاکلی و ۲ نوع جدایه کلبسیلا پنومونیه شد. این ترکیب‌ها با غلظت زیاد در اسانس A وجود داشت و مطالعه Filipowicz و همکاران (۲۰۰۳) پیشنهاد کرد که اثر ضدمیکروبی اسانس A نتیجه عملکرد سینرژیکی این اجزای اصلی با غلظت استثنائی است.

در این مطالعه ترکیب‌های تشکیل‌دهنده و اثر ضدباکتریایی اسانس برگ و میوه یک گونه ارس به نام *Juniperus horizontalis* بر روی ۱۳ گونه باکتریایی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

جمع‌آوری گیاه و استخراج اسانس

سرشاخه‌های سبز و میوه (بذر) *J. horizontalis* از باغ ملی گیاه‌شناسی ایران واقع در مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور جمع‌آوری شد و نمونه‌ها در سایه و دمای محیط خشک شدند. سپس آنها را مقداری خرد کرده و به روش تقطیر با آب (Hydro distillation) اسانس آنها استخراج شد.

آنالیز و شناسایی اجزای اسانس

تجزیه و شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس با دستگاههای GC و GC/MS انجام شد.

دستگاه GC: از گازکروماتوگراف شیمادزو (Shimadzu) مدل 9A مجهز به ستون DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر می‌باشد، استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ٦۰ درجه سانتی‌گراد شروع شده و پس از ۵ دقیقه توقف در همان دما، بتدریج با سرعت ۳ درجه در دقیقه افزایش یافته تا به ۲۱۰ درجه سانتی‌گراد رسیده است. دمای محفظه تزریق ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد بوده است. دتکتور مورد استفاده در دستگاه GC از نوع FID بوده و دمای آن در ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده است. از گاز هلیم به‌عنوان گاز حامل استفاده شده که فشار ورودی آن به ستون برابر ۳ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع تنظیم شده است.

دستگاه GC/MS: کروماتوگراف گازی Varian-3400 متصل شده با طیف‌سنج جرمی(saturn II) ، ستون دستگاه DB-5 به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۲۵ میکرون و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون بود. دتکتور"Ion Trap" گاز حامل هلیم سرعت جریان گاز حامل ۳۵ ml/min و انرژی یونیزاسیون در طیف‌سنج جرمی معادل ۷۰ الکترون ولت بود. برنامه حرارتی ستون از ٦۰ درجه سانتی‌گراد تا ۲٤۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه تنظیم شد. دمای محفظه تزریق ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود.

بررسی اثر ضدباکتریایی

برای اثر ضدباکتریایی از ۱۳ گونه باکتریایی شامل: استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، باسیلوس آنتراسیس، باسیلوس سرئوس، باسیلوس سوبتیلیس، لیستریا مونوسیتوژنز، اشرشیاکلی، پسودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا پنومونیه، شیگلا دیسانتری، سراشیا مارسسنس، سیتروباکتر فروندی و انتروباکتر آئروژنز استفاده شد. باکتریهای مورد آزمایش از آزمایشگاه باکتری‌شناسی در دانشگاه آزاد کرج تهیه شدند.

به کمک دو روش دیسک پلیت (Disk Diffusion method) و روش میکروپلیت (Microdilution method) اثر ضدباکتریایی اسانس‌ها بررسی شد.

در روش دیسک پلیت (Disk Diffusion method) از کشت ۲٤ ساعته باکتریها در محیط کشت مولرهینتون آگار

سوسپانسیونی با رقت معادل استاندارد ۱ مک‌فارلند در محیط کشت مولرهینتون براث تهیه شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون هر کدام از باکتریها به محیط کشت جامد منتقل و با سواپ سترون به شکل یکنواخت پخش شدند. دیسکهای سترون بلانک حاوی ۳۰ میکرولیتر از رقت‌های ۱/۵، ۱/۱۰ و ۱/۲۰ اسانس‌ها بر روی محیط کشت قرار گرفت. برای رقیق کردن اسانس‌ها از دی متیل سولفوکساید استفاده شد که فاقد فعالیت ضدباکتریایی است. پلیت‌ها در ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار داده شدند و پس از ۲٤ ساعت هاله عدم رشد اندازه‌گیری شد. آزمایش تعیین اثر ضدباکتریایی با ۳ تکرار انجام شد و متوسط فعالیت ضدمیکروبی گزارش شده است. برای مقایسه فعالیت ضدمیکروبی اسانس‌ها از دیسک جنتامایسین برای باکتریهای گرم منفی و از تتراسایکلین برای باکتریهای گرم مثبت استفاده شد.

در این تحقیق برای تعیین MIC و MBC از روش میکروپلیت (Microdilution method) استفاده شد.

روش میکروپلیت (Microbroth dilution method)

حداقل غلظت بازدارنده (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) برای میکروارگانیسم‌های مورد نظر با استفاده از روش Microdilution تعیین شد. مایه تلقیح با غلظتی معادل ۰/۵ مک‌فارلند از کشت ۲٤ ساعته میکروارگانیسم‌های مورد نظر در نرمال سالین (کلرید سدیم ۰/۹٪) تهیه شد. این مایه تلقیح در محیط مولرهینتون براث حاوی ۰/۵٪ توئین به میزان ۱/۱۰۰ رقیق شد.

اسانس‌های مورد مطالعه در محیط مولرهینتون براث حاوی ۰/۵٪ توئین رقیق، به نحوی که بالاترین غلظت مورد نظر ۲۵٦μg/ml بود. از این غلظت ٦ رقت متوالی تهیه شد، به نحوی که آخرین غلظت ۸μg/ml بود. به هر کدام از چاهک‌های حاوی ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف اسانس ۱۰۰ میکرولیتر از مایه تلقیح‌های تهیه شده اضافه شد. پلیت‌ها در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. برای هر باکتری یک چاهک کنترل منفی(حاوی محیط کشت) و یک چاهک کنترل مثبت (حاوی محیط کشت و باکتری مورد نظر) در نظر گرفته شد. بعد از ۲٤ ساعت ابتدا چاهک کنترل منفی بررسی می‌شود، این چاهک باید کاملاً شفاف باشد. غلظت اولین چاهک بدون کدورت حاصل از رشد باکتری، به‌عنوان MIC در نظر گرفته می‌شود. برای تعیین MBC، ۱۰۰ میکرولیتر از هر چاهک بدون کدورت در یک پلیت مولرهینتون آگار کشت چمنی داده می‌شود و پلیت‌ها به مدت زمان یکسان در تمام آزمایشها، گرمخانه‌گذاری می‌گردند. تعداد کلنی‌ها پس از ۲٤ ساعت گرمخانه‌گذاری ۳۷ درجه سانتی‌گراد شمرده شده، پلیتی که حاوی کمتر و یا دارای ۵ کلنی باشد به‌عنوان MBC در نظر گرفته شده و غلظت اسانس موجود در چاهک مربوطه به‌عنوان MBC گزارش می‌شود (Murray *et al.*, 2007).

نتایج

شناسایی ترکیب‌های اسانس‌ها

بازده متوسط تولید اسانس توسط سرشاخه و میوه گیاه *Juniperus horizntalis* برحسب وزن اسانس در ۱۰۰ گرم سرشاخه و میوه خشک به‌ترتیب ۱/۰۸۳٪ و ۲/۷۰٪ بودند. در مجموع در اسانس برگ و میوه به‌ترتیب ۲۲ و ۱۵ ترکیب شناسایی شد که در جدولهای ۱ و ۲ آورده شده است.

عمده‌ترین ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس برگ *Juniperus horizontalis* عبارت بودند از ٤ ترکیب سابینن (۳۰/۲٪)، لیمونن(۲٦/۳٪)، بورنیل استات (۱۰/۷٪) و میرسن (۸/۸٪) که در مجموع ۷٦٪ از ترکیب‌های اسانس را تشکیل می‌دهند. سه ترکیب سابینن (۳۸٪)، لیمونن (۲۷/۹٪) و میرسن (۲۲/٦٪) در مجموع ۸۸/٤٪ از ترکیب‌های اسانس میوه *Juniperus horizontalis* را تشکیل می‌دهند.

جدول ۱- ترکیب‌های شناسایی شده در برگ *Juniperus horizontalis*

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری (RI)	درصد
۱	tricyclene	۹۲٦	۰/٤
۲	α-thujene	۹۳۱	۰/۹
۳	α-pinene	۹٤۰	۲
٤	camphene	۹۵٤	۰/٤
۵	sabinene	۹۷٦	۳۰/۲
٦	myrcene	۹۹۲	۸/۸
۷	p-cymene	۱۰۲٦	۱/۷
۸	limonene	۱۰۳۲	۲٦/۳
۹	linalool	۱۰۹۸	۱
۱۰	camphor	۱۱٤۳	۱/٤
۱۱	terpinene-4-ol	۱۱۷۸	۱/۹
۱۲	methyl citronellate	۱۲٦۱	۱
۱۳	bornyl acetate	۱۲۸٦	۱۰/۷
۱٤	E-carryophyllene	۱٤۱۸	۱/۵
۱۵	germacerene D	۱٤۸۱	۰/٦
۱٦	α-muurolene	۱۵۰۰	۱/۱
۱۷	γ-cadinene	۱۵۱٤	۱/٦
۱۸	δ-cadinene	۱۵۲۵	۳/۸
۱۹	germacerene B	۱۵۵۷	۱/۲
۲۰	epi-bicyclosesquiphllandrene	۱۵۷٦	۰/۷
۲۱	δ-cadinol	۱٦٤۵	۰/۳
۲۲	α-eudesmol	۱٦۵٤	۰/۷

جدول ۲- ترکیب‌های شناسایی شده در میوه *Juniperus horizontalis*

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری (RI)	درصد
۱	α-thujene	۹۳۱	۱
۲	α-pinene	۹٤۰	۱/۹
۳	sabinene	۹۷٦	۳۸
٤	myrcene	۹۹۲	۲۲/٦
۵	p-cymene	۱۰۲٦	۰/۹
٦	limonene	۱۰۳۲	۲۷/۸
۷	γ-terpinene	۱۰٦۳	۰/٤
۸	p-mentha-2,4(8)-dinene	۱۰۸۷	۰/۹
۹	linalool	۱۰۹۸	۰/٦
۱۰	terpinene-4-ol	۱۱٤۳	۱/۳
۱۱	e-carryophyllene	۱٤۱۸	۱/۷
۱۲	germacerene D	۱٤۸۱	۰/٦
۱۳	δ-cadinene	۱۵۲۵	۰/۷
۱٤	germacerene B	۱۵۵۷	۰/۷
۱۵	epi-bicyclosesquiphllandrene	۱۵۷٦	۰/۹

اثر ضدمیکروبی

قطر هاله عدم رشد در روش انتشار در دیسک (Disk Diffusion Method) برحسب میلی‌متر در جدولهای ۳ و ٤ آورده شده است.

کمترین هاله عدم رشد در اسانس برگ *Juniperus horizontalis* برای رقت‌های ۱/۵، ۱/۱۰ و ۱/۲۰ به‌ترتیب مربوط به باکتریهای کلبسیلا پنومونی، پسودوموناس آئروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه و بیشترین هاله عدم رشد برای این رقت‌ها را باکتری باسیلوس سوبتیلیس از خود نشان داد.

کمترین هاله عدم رشد اسانس میوه *Juniperus horizontalis* برای رقت ۱/۵ در کلبسیلا پنومونیه و پسودوموناس آئروژینوزا، برای رقت۱/۱۰ پسودوموناس آئروژینوزا و برای رقت ۱/۲۰ در کلبسیلا پنومونیه و سراشیا مارسسنس دیده شد. بیشترین هاله عدم رشد اسانس میوه برای رقت ۱/۵ در باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس آنتراسیس، برای رقت ۱/۱۰ در باسیلوس آنتراسیس و برای رقت ۱/۲۰ در باسیلوس سوبتیلیس مشاهده شد.

حداقل غلظت‌های بازدارنده (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) برای اسانس‌ها در مقابل سویه‌های باکتری در جدول ۵ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که کمترین MIC و MBC اسانس برگ مربوط به اشریشیاکلی (۳۲μg/ml) و کمترین MIC اسانس میوه در باکتریهای گرم مثبت بعلاوه سراشیا مارسسنس و پسودوموناس آئروژینوزا (۱۲۸ μg/ml) و در بقیه باکتریها بیشترین MIC (۲۵٦ μg/ml) گزارش شده است. در باکتریهای باسیلوس آنتراسیس، باسیلوس سوبتیلیس، انتروباکتر ائروژنز و اشرشیاکلی کمترین MBC اسانس

میـوه (μg/ml ۲۵٦) و در بقیـه باکتریهـا بیشـترین MBC (μg/ml ۲۵٦) مشاهده شد. بیشترین MIC برگ مربوط به ٤ باکتری پسودوموناس آئروژینـوزا، سراشـیا مارسسـنس، سیتروباکتر فروندی و انتروبـاکتر ائروژنـز (μg/ml ۲۵٦) و بیشـترین MBC بـرگ (بـالای μg/ml ۲۵٦) در بـاکتری سیتروباکتر جواب داده است.

جدول ۳- میانگین هاله عدم رشد ایجاد شده توسط اسانس برگ *Juniperus horizantalis* و آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و جنتامایسین بر حسب میلی‌متر

باکتری/ غلظت	۱/۵	۱/۱۰	۱/۲۰	جنتامایسین	تتراسایکلین
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۷ ± ۱	۱۳/٦±۱/۵۳	۱۳/٦± ۲/۵۱	-	۲۷/۳± ٤/۱٦
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	۲۵/۳ ± ٤/۷	۲۱/۳± ٤/۰٤	۱٤ ± ۱	-	۲۸ ± ۲
باسیلوس آنتراسیس	۲۵ ± ۱	۲۰/٦ ± ۲/۵۱	۱٦/۳±۱/۵۲	-	۲۹± ۱
باسیلوس سرئوس	۱۹ ± ۱	۱۳/٦ ± ۱/۱۵	۱۲	-	۱۹/٦± ۰/۵۸
باسیلوس سوبتلیس	۱۷/۳ ± ۰/۵۸	۱٤/٦ ± ۱/۵۳	۱۳± ۱/۷۳	-	۲۷/۳±۲/۵
لیستریامونوسیتوژنز	۱۳//٦ ± ۰/۵۸	۱۲/٦±۰/۵۸	۱۱/۳± ۱/۱۵	-	۲۲/٦± ۱/۵۲
اشرشیا کلی	٦	٦	٦	۱۰/٦± ۰/۵۸	-
پسودوموناس آئروژینوزا	۱۰/٦±۰/۵۸	۱۰ ± ۱	۱۰/۳± ۰/۵۸	۱ ± ۱	-
کلبسیلا پنومونیه	۹ ± ۱	۱۰/٦±۱/۱۵	۸/٦± ۱/۵۲	۱۰ ± ۱	-
شیگلا دیسانتریه	۱۲	۱۱	۱۰	۱۰/۳±۱/۱۵	-
سراشیا مارسسنس	۱۰	۱۰/۳± ۰/۵۸	۱۰ ± ۱	۱٤/۳± ۰/۵۸	-
سیتروباکتر فروندی	۱۲	۱۰ ± ۳/٤٦	۸/٦± ۲/۵۱	۹/۳± ۰/۵۸	-
انتروباکتر آئروژنز	۷/٦±۲/٦	۷ ± ۱/۷۳	٦	۱۳	-

بحث

طبق بررسی‌های انجام شده توسط دستگاه GC/MS از اسـانس بـرگ *Juniperus horizantalis*، ۲۲ ترکیـب جداسازی شد که سابینن (۳۰/۲٪) بیشترین ماده جداسازی شده از این اسانس بود. دومین ترکیبی که بـالاترین مقـدار را داشت لیمونن (۲٦/۳٪) و سومین ترکیب بورنیل استات (۱۰/۷٪) بـود. بعـد از آن میرسـن (۸/۷۷٪) و بعـد دلتا-کادینن (۳/۸٪) یافت شد.

طبق بررسی‌های انجام شده توسط دستگاه GC/MS از اسـانس بـذر *Juniperus horizantalis*، ۱۵ ترکیـب جداسـازی شـد کـه سـابینن (۳۸٪) بیشـترین ترکیـب جداسازی شده از این اسانس بود. ترکیب‌های اصلی دیگر را لیمونن (۲۷/۹٪) و میرسن (۲۲/٦٪) تشکیل می‌دادند.

جدول ٤- میانگین هاله عدم رشد ایجاد شده توسط میوه *Juniperus horizantalis* و آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و جنتامایسین بر حسب میلی‌متر

باکتری/ غلظت	۱/۵	۱/۱۰	۱/۲۰	جنتامایسین	تتراسایکلین
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۱ ± ۱	۱۰/۳±۰/۵۸	۱۰/۳±۰/۵۸	-	۲۷/۳±٤/٦
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	۱۱/۳±۱/۵۲	۱۱/۳±۱/۵۲	۱۰/۳±۰/۵۸	-	۲۸ ± ۲
باسیلوس آنتراسیس	۱۷ ± ۳/٤٦	۱۳/٦±۳/۲۱	۱۲/۳±۲/۳۱	-	۲۹± ۱
باسیلوس سرئوس	۱۳/٦±۳/۲۱	۱۱ ± ۱/۷۳	۱۰ ± ۱	-	۱۹/٦±۰/۵۸
باسیلوس سوبتلیس	۱۷ ± ۱	۱۲/٦±۱/۵۲	۱۲/٦±۲/۵۱	-	۲۷/۳± ۲/۵
لیستریامونوسیتوژنز	۱۳/۳±۳/۲۱	۱۱/۳±۰/۵۸	۱۱/٦±۰/۵۸	-	۲۲/٦±/۵۲
اشرشیا کلی	۱۱/۳±۱/۱۵	۱۱ ± ۱	۱۰/۳±۱/۱۵	۱۰/٦±۰/۵۸	-
پسودوموناس آئروژینوزا	۱۰± ۱/۱۵	۹/۳± ۳/۵۱	۱۰ ± ۲/۵۱	۱۰ ± ۱	-
کلبسیلا پنومونیه	۱۰	۱۰	۸/٦±۲/۳۱	۱۰ ± ۱	-
شیگلا دیسانتریه	۱۱/۳± ۰/۵۸	۱۰/۳±۱/۱۵	۱۰/۳±۰/۵۸	۱۰/۳± ۱/۱۵	-
سراشیا مارسسنس	۱۱	۱۰/٦±۰/۵۸	۸/٦±۲/۳۱	۱٤/۳±۰/۵۸	-
سیتروباکتر فروندی	۱۰/۳±۱/۵۳	۱۰/٦±۰/۵۸	۹/٦± ۰/۵۸	۹/۳±۰/۵۸	-
انتروباکتر آئروژنز	۱۰/٦±۱/۱۵	۹/٦±۱/۱۵	۱۰/۳±۱/۱۵	۱۳	-

جدول ۵- تعیین مقدار MIC و MBC اسانس برگ و میوه *Juniperus horizontalis* بر حسب µg/ml

باکتری	برگ		میوه	
	MIC	MBC	MIC	MBC
استافیلوکوکوس اورئوس	٦٤	٦٤	۱۲۸	>۲۵٦
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	٦٤	٦٤	۱۲۸	>۲۵٦
باسیلوس آنتراسیس	٦٤	٦٤	۱۲۸	۲۵٦
باسیلوس سرئوس	۱۲۸	۲۵٦	۱۲۸	>۲۵٦
باسیلوس سوبتیلیس	٦٤	٦٤	۱۲۸	۲۵٦
لیستریا مونوسیتوژنز	٦٤	۲۵٦	۱۲۸	>۲۵٦
اشرشیاکلی	۳۲	۳۲	۲۵٦	۲۵٦
پسودوموناس آئروژینوزا	۲۵٦	۲۵٦	۱۲۸	>۲۵٦
کلبسیلا پنومونیه	۱۲۸	۲۵٦	۲۵٦	>۲۵٦
شیگلا دیسانتریه	۱۲۸	۱۲۸	۲۵٦	>۲۵٦
سراشیا مارسسنس	۲۵٦	۲۵٦	۱۲۸	>۲۵٦
سیتروباکتر فروندی	۲۵٦	>۲۵٦	۲۵٦	>۲۵٦
انتروباکتر آئروژنز	۲۵٦	۲۵٦	۲۵٦	۲۵٦

Narasimhachari و Vonrudloff (۱۹۶۱) گزارش کردند که *Juniperus horizantalis* دارای آلفا-سدرن، توجوپسن، کوپورن، سدرول و ویدرول است که با نتایج ما متفاوت است و این تفاوت به احتمال زیاد ناشی از شرایط محیطی و اقلیم حاکم بر رویشگاههای مورد مطالعه است.

Adams و همکاران (۱۹۹۵) روغنهای اسانسی حاصل از برگهای نوعی ارس *Juniperus rigidia* را در ژاپن، کره و چین مقایسه نمودند. آنها مشخص نمودند که نمونه‌های ژاپنی غنی از بورنیل استات (٪۵/۴۰-۰/۵۹) و آلفا-پینن (٪۵/۱۳-۴/۱۵) بوده ولی نمونه‌های شمال چین و کره دارای مقادیر متفاوتی آلفا-پینن (به‌ترتیب ٪۳۹/۷ و ٪۵۳/۵) و بورنیل استات (به‌ترتیب ٪۲/۸-٪۱/۳) هستند که این نتایج حکایت از وجود تغییرات بین جمعیت‌های ارس دارد. در تحقیق انجام شده بورنیل استات در اسانس برگ *Juniperus horizontalis* جزو سومین ترکیبی است که مقدارش زیاد است.

در مطالعه‌ای دیگر (Pepeljnjak, *et al*., 2005) آنالیز GC/MS روغن فرار بدست آمده از میوه *Juniperus communis* نشان داد که این روغن دارای آلفا-پینن، بتا-پینن، سابنین، لیمونن و میرسن است. در تحقیق ما نیز سابینن، لیمونن و میرسن جزو ترکیب‌های عمده در اسانس میوه *Juniperus horizontalis* بود.

Ates و Erdogrul (۲۰۰۳) روی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های بدست آمده با استون، اتیل استات و الکل بر روی ۵ جنس گیاه مختلف مطالعه کردند. یکی از جنس‌ها *Juniperus oxycedrus* بود که روی دانه‌ی آن کار شد و روی ۱۳ باکتری با روش انتشار در آگار آزمایش شد. هاله عدم رشد این ارس با نتایج آزمایشهای ما برای اسانس میوه *Juniperus horizontalis* مطابقت می‌کند.

از طرف دیگر بررسی نتایج نشان می‌دهد که باکتریهای گرم مثبت در مقایسه با انواع گرم منفی حساسیت بیشتری به هر دو نوع اسانس نشان می‌دهند که این موضوع با یافته‌های دیگران مبنی بر حساسیت بیشتر باکتریهای گرم مثبت ازجمله Ouattara و همکاران (۱۹۹۷)، Shelef و همکاران (۱۹۸۰) و نیز Agaogolu و همکاران (۲۰۰۷) مطابقت دارد. این اختلاف مشاهده شده در حساسیت بین باکتریهای گرم مثبت و منفی و نیز در بین انواع گرم مثبت و منفی را با تفاوت در ترکیب‌های دیواره سلولی و نیز ژنهای احتمالی موجود بر روی پلاسمید که عامل مقاومت به عوامل ضدمیکروبی هستند توضیح داد. باکتریهای گرم منفی به‌علت داشتن دیواره لیپوپلی ساکاریدی خارجی به‌عنوان یک سد در برابر ذرات سمّی عمل می‌کند (Gaunt, *et al*., 2005).

Kalemba و Kunicka (۲۰۰۳) گزارش کردند که به‌ترتیب فنولها، آلدئیدها، کتونها، الکلها، استرها و هیدروکربنها دارای فعالیت ضدمیکروبی قویتر و بیشتری می‌باشند و همچنین عنوان کردند که حالت لیپوفیلیک اسکلت هیدروکربنی و حالت هیدروفیلیک گروههای عملکردی آنها اهمیت اصلی را در فعالیت ضدمیکروبی ذرات اسانس دارا می‌باشند.

تحقیقات روی هیدروکربنهای منوترپن مثل سابینن؛ توسط Sokovic و همکاران (۲۰۰۴) و (Staniszewska و همکاران (۲۰۰۵) و لیمونن؛ توسط Skocibusic و Bezic (۲۰۰۴)، Delaquis و همکاران (۲۰۰۲)، Al-Burtamani و همکاران (۲۰۰۵) و Jirovetz و همکاران (۲۰۰۳) انجام

شده و همه این تحقیقات فعالیت ضدمیکروبی متوسط تا قوی را در برابر باکتریهای گرم مثبت و قارچهای بیماری‌زا نشان دادند. Haznedaroglu و همکاران (۲۰۰۱) و Tepe و همکاران (۲۰۰۵) اثر این هیدروکربنهای مونوترپن را در برابر باکتریهای گرم منفی سنجیدند و مشاهده کردند که فعالیت ضدمیکروبی ضعیفی را در برابر باکتریهای گرم منفی از خود نشان دادند.

بر طبق آزمایشهای انجام شده توسط Lis Balchin و همکاران (۱۹۹٦) لیمونن فعالیت قوی در برابر باکتریها و قارچها نشان داد.

Cakir و همکاران (۲۰۰۵) و Cheng و همکاران (۲۰۰۵)گزارش کردند که دلتا-کادینن دارای فعالیت ضدمیکروبی و ضدقارچی است.

Dorman و Deans (۲۰۰۰) گزارش کردند که حضور بخشی از استات در ترکیب‌های اسانس فعالیت ذرات اصلی را افزایش می‌دهد. ژرانیل استات و ژرانیول افزایش فعالیت ضدمیکروبی را در برابر میکروارگانیسم‌ها نشان داده‌اند. طبق آزمایشهای آنها بورنیل استات و بورنئول قدرت یکسانی دارند، ولی بورنئول از بورنیل استات فعالیت کمتری نشان داد و فقط بورنیل استات است که روی میکروکوکوس لوتئوس اثر می‌گذارد.

معمولاً ترکیب‌های اصلی مسئول اثر ضدمیکروبی در بیشتر اسانس‌ها هستند، هرچند تحقیقاتی انجام شده که نشان‌دهنده فعالیت سینرژیکی ترکیب‌های مختلف اسانس‌ها با غلظت کم و زیاد بر روی باکتریها می‌باشد (Burt, 2004؛ Mastelic *et al.*, 2005؛ Filipowicz *et al.*, 2003).

تحقیقات Onawunmi و همکاران (۱۹۸٤) مشخص کرد که میرسن با فعالیت سینرژیکی که با ترکیب‌های دیگر اسانس دارد در مقابل باکتریهای استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سوبتیلیس، سودوموناس آئروژینوزا و گونه‌های خاصی از اشرشیاکلی در اثر ضدمیکروبی اسانس همکاری می‌کند.

پس بنابر تحقیقات انجام شده می‌توان اثر ضدباکتریایی این دو اسانس را به علت وجود ترکیب‌هایی مثل سابینن، لیمونن و میرسن عنوان کرد و اثر ضدمیکروبی بیشتر اسانس برگ در مقابل میوه را نیز می‌توان علاوه بر وجود این ترکیب‌ها وجود بورنیل استات و دلتا-کادنین و همچنین نتیجه فعالیت سینرژیکی اجزای اصلی اسانس برگ (سابینن، لیمونن، میرسن، بورنیل استات و دلتا-کادینن) عنوان کرد.

این نتایج پیشنهاد می‌کند که اسانس برگ *Juniperus horizontalis* با خاصیت ضدباکتریایی قوی که دارد می‌تواند به‌عنوان عامل ضدباکتریایی در داروهای جدید برای درمان بیماریهای عفونی استفاده شود.

سپاسگزاری

بر خود لازم می‌دانیم تا از مسئولان محترم مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور که امکان انجام این تحقیق را فراهم نمودند و همچنین از جناب آقای دکتر مهدی میرزا برای تهیه طیف‌ها و آنالیز GC/MS صمیمانه سپاسگزاری نماییم.

منابع مورد استفاده

- بخشی خانیکی، غ.، ۱۳۸٦. درختان و درختچه‌های ایران. انتشارات پیام نور، ۱۸٤ صفحه.
- صالحی شانجانی، پ. و میرزا، م.، ۱۳۸۱. مطالعه اسانس ارس *Juniperus excelsa*. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۱۷: ۱۹۶-۱۱۹.
- صدری، ح.، ۱۳۷۱، اسانس‌ها. پژوهشها و سازندگی، ۱٦: ۱۵-۱۰.
- علی‌احمد کروری، س. و خوشنویس، م.، ۱۳۷۹. مطالعات اکولوژی و زیست محیطی رویشگاههای ارس ایران. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران، ۲۰۸ صفحه.
- Adams, .R.P., 2001. Geographic variation in leaf essential oils and RAPDs of *Juniperus polycarpos* K. Koch in central Asia. Biochemical Systematic and Ecology, 29: 609-619.
- Adams, R.P, Getin, Ch. and Zhao-Zhen, Z., 1995. Comparisons of the volatile leaf oils of *Juniperus rigidia* Mig. From Northeastern China, Korea and Japan. Journal of Essential Oil Research, 7: 49-52.
- Adams, R.P., 1999. Systematica of multi-seeded eastern hemisphere *Juniperus* based on leaf essential oils and RAPD DNA fingerprinting. Biochemical Systematic and Ecology, 27: 709-725.
- Adams, R.P., Thappa, R.K., Agarwal, S.G., Kapahi, B.K. and Sarin, Y.K., 1992. The wolatile leaf oils of *Juniperus semiglobos* a-Regel from India compared with *J. excelsa* M. Bieb. from Greece. Journal of Essential Oil Research, 4: 214-219.
- Agaogolu, S., Dostbil, N. and Almedar, S., 2007. Antimicrobial activity of some spices used in meat industry. Bulletin of Veterinary Institute in Pulawy, 51: 53-57.
- Al-Burtamani, S.K.S., Fatope, M.O., Marwah, R.G., Onifade, A.K. and Al-Saidi, S.H., 2005. Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of the essential oil of *Haplophyllum tuberculatum* from Oman. Journal of Ethnopharmacology, 96: 107-112.
- Angioni, A., Barra, A., Russo, M.T., Coroneo, V., Dessi, S. and Cabras, P., 2003. Chemical composition of the essential oils of *Juniperus* from ripe and unripe berries and leaves and their Antimicrobial activity. Journal Agriculture and Food Chemistry, 51: 3073-3078.
- Ates, D.A. and Erdogrul, O.T., 2003. Antimicrobial activities of various medicinal and commercial plant extracts. Turkish Journal of Biology, 27: 157-162.
- Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. International Journal of Food Microbiology, 94: 223-253.
- Cakir, A., Kordali, S., Kilic, H. and Kaya, E., 2005. Antifungal properties of essential oil and crude extracts of *Hypericum linarioides* Boiss. Biochemical Systematic and Ecology, 33: 245-256.
- Cheng, S.S., Lin, H.Y. and Chang, S.T., 2005. Chemical composition andantifungal activity of essential oils from different tissues of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*). Journal Agriculture and Food Chemistry, 53: 614-619.
- Delaquis, P.J., Stanich, K., Girard, B. and Mazza, G., 2002. Antimicrobial activity of individual mixed fractions of dill, Cilantrol, coriander and eucalyptus essential oils. International Journal of Food Microbiology, 74: 101-109.
- Dorman, H.J.D. and Deans, S.G., 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal Applied Microbiology, 88: 308-316.
- Filipowicz, N., Kaminski, M., Kurlenda, J., Asztemborska, M. and Ochocka, R., 2003. Antibacterial and antifungal activity of Juniper Berry oil and its selected components. Phytotherapy Research, 17: 227-231.
- Gaunt, L.F., Higgins, S.C. and Hughes, J.F., 2005. Interaction of air ions and bactericidal vapours to controlmicro-organisms. Journal of applied microbiology, 99: 1324-1329.
- Haznedaroglu, M.Z., Karabay, U. and Zeybek, U., 2001. Antibacterial activity of *Salvia tomentosa* essential oil. Fitoterapia, 72: 829-831.
- Jirovetz, L., Buchbauer, G., Stoyanova, A.S., Georgiev, E.V. and Damianova, S.T., 2003. Composition, quality control and antimicrobial activity of the essential oil of long-time stored dill (*Anethum graveolens* L.) seeds from Bulgaria. Journal Agriculture and Food Chemistry, 51: 3854-3857.
- Kalemba, D. and Kunicka, A., 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Medicinal Chemistry, 10: 813-829.
- Lis-Balchin, M., Ochocka, J.R. and Deans, S., 1996. Differences in Bioactivity between the Enantiomers of α-pinene. Journal of Essential Oil Research, 11: 393-397.
- Mastelic, J., Politeo, O., Jerkovic, I. and Radosevic, N., 2005. Composition and antimicrobial activity of *Helichrysum italicum* essential oil and its terpene and terpenoid fractions. Chemistry of Natural Compounds. 41: 35-40.
- Mishra, P and Agrawal, R.K., 1989. Some observation on the pharmacological activities of the essential oil of *Juniperus macropoda* (*J. excelsa*). Fitoterapia, 60(4): 339-345.

- Muhammad, I., Mossa, J.S. and El-Feraly, F.S., 1992. Antibacterial diterpenes from the leaves and seeds of *Juniperus excelsa* M. Bieb, Phytotherapy Research, 6(5): 261–264.
- Murray, P.R., Jo Baron, E., Jorgensen, J., Pfaller, M.A. and Landry, M.L., 2007. Manual of Clinical Microbiology. ASM press, 2256p.
- Narasimhachari, N. and Vonrudloff, E., 1961. The chemical composition of the wood and bark extractives of *Juniperus horizontalis* Monech. Canadian. Journal of Chemistry, 39: 2572-2581.
- Onawunmi, G.O., Yisak, W.A. and Ogunlana, E.O., 1984. Antibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. Journal of Ethnopharmacology, 12(3): 279-286.
- Ouattara, B., Simard, R.E., Holley, R.A., Piette, G.J.P. and Begin, A., 1997. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. International Journal of Food Microbiology, 37: 155-162.
- Pepeljnjak, S., Kosalec, I., Kalodera, Z. and Blazevic, N., 2005. Antimicrobial activity of Juniper berry essential oil (*Juniperus communis* L., Cupressaceae). Acta Pharmatica, 55: 417-422.
- Serrentino, J., 1991. How Natural Remedies Work. Point Robert, W.A.: Harley and Marks Publishers : 20-22.
- Shelef, L.A., Naglik, O.A. and Bogen, D.W., 1980. Sensitivity of some common food-borne bacteria to the spices sage, rosemary and all spice. Journal of Food Science, 45: 1042-1044.
- Skocibusic, M. and Bezic, N., 2004. Phytochemical analysis and in vitro antimicrobial activity of two *Satureja* species essential oils. Phytotherapy Research, 18: 967-970.
- Sokovic, M.D., Ristic, M. and Grubisic, D., 2004. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil from *Juniperus excelsa* berries. Pharmaceutical Biology, 42: 328-331.
- Staniszewska, M., Kula, J., Wieczorkiewicz, M. and Kusewicz, D., 2005. Essential Oils of Wild and Cultivated Carrots- the Chemical Composition and Antimicrobial Activity. Journal of Essential Oil Research, 17: 579-583.
- Tepe, B., Sokmen, M., Sokmen, A., Daferera, D. and Polissiou, M., 2005. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Cyclotrichium origanifolium* (Labill.) Manden. and Scheng. Journal of Food Engineering, 69: 335-342.

The study of Chemical composition and antimicrobial activity of *Juniperus horizontalis* Moench

E. Ehsani[1], K. Akbari Noghabi[2*], M. Teimouri[3], M. Ebrahimzade[4] and A. Khadem[5]

1- MSc. Student, Islamic Azad University of Karaj, Iran
2*- Corresponding author, Department of Molecular Genetics, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran E-mail: akbi@nigeb-ac.ir
3- Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran
4- Islamic Azad University of Karaj, Faculty of Science, Department of Microbiology, Karaj, Iran
5- Department of Bioscience Engineering, katholic university Leuven, Belgium

Received: March 2011 Revised: July 2011 Accepted: July 2011

Abstract

Indiscriminate use of antibiotics and consequently increase resistance of bacteria has led to a demand for new agents and components. To produce new drugs, different sources especially plant species are considered by researchers. The objective of this study was to investigate the chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Juniperus horizontalis* Moench. Leaves and fruits of *Juniperus horizontalis* were collected in winter and the essential oil was prepared by hydro-distillation and analyzed by GC/MS. The antimicrobial activity was determined by disk diffusion method against 13 bacterial species. The minimal inhibition concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) values of essential oils were determined based on microdilution method. The results indicated that two main components in leaves and fruits were sabinene (30.2% - 38%, respectively) and limonene (26.3% - 27.8%, respectively) followed by bornyl acetate (10.7%) in leaves and myrcene (22.6%) in fruit oil. Essential oil of the leaves showed significant antimicrobial effect against 12 species from 13 tested bacteria species. Only *Citrobacter frondii* was resistant to the oil. The fruit essential oil had a weak activity against four of thirteen tested bacterial species.

Key words: *Juniperus horizontalis* Moench, antimicrobial activity, essential oil, GC/MS.