



بررسی ترکیبات اسانس میوه دستنبو و اثر ضد باکتریایی اسانس و عصاره آن

منیژه چکنه^۱، اکرم شریفی*^۲، آرمینه روشن پژوه^۲، علیرضا متولی زاده کاخکی^۳

^۱گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده فنی دختران نیشابور، دانشگاه فنی و حرفه ای، ایران

^۲گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، واحد قزوین، دانشگاه آزاد اسلامی، قزوین، ایران

^۳گروه شیمی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۰۲

چکیده

دستنبو میوه‌ای با ارزش غذایی بالا است. در این مطالعه، اسانس میوه دستنبو (*Cucumis melo var. dudaim*) به روش تقطیر با بخار آب استخراج شد. همچنین، عصاره‌های متانولی، n-هگزان، کلروفرمی، اتیل استاتی میوه دستنبو به روش خیساندن درحلال تولید شد. ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس این میوه توسط دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی طیف سنج جرمی شناسایی شد و درصد ترکیبات آن اندازه‌گیری شد. برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس و عصاره‌های به دست آمده بر روی باکتری‌های *اشرشیاکلی*، *استرپتوکوک پنومونیا*، *استافیلوکوک اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* از روش رقت‌سازی در مایع استفاده شد. بر طبق نتایج به دست آمده، دی هیدروآروماندرین، Z-کالامین و Z-نرولیدول به ترتیب بخش عمده ترکیبات موجود در اسانس این میوه را تشکیل می‌دهند. همچنین، بر اساس داده‌های بیشتر باکتری‌های مورد مطالعه در این پژوهش از نظر قطر هاله عدم رشد تفاوت معنی داری داشتند ($p < 0.05$). کمترین قطر هاله عدم رشد مربوط به باکتری *اشرشیاکلی* و بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* بود. کمترین غلظت بازدارندگی از رشد برای باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* بود. در مجموع اسانس میوه نسبت به عصاره‌های آن فعالیت ضد میکروبی بیشتری علیه باکتری‌های مورد بررسی نشان داد. می‌توان از این ترکیبات گیاهی به عنوان جایگزین نگهدارنده‌های شیمیایی در غذاها استفاده کرد.

واژگان کلیدی: میوه دستنبو، اسانس، عصاره، حداقل غلظت مهارکنندگی.

* asharifi@qiau.ac.ir

مقدمه

میوه دستنبو با نام علمی *Cucumis melo* var. *dudaim* از خانواده خربزه و طالبی است. میوه‌های این گیاه کروی و به عرض ۳-۶ cm می‌باشد. میوه رسیده و آماده خوردن به رنگ نارنجی مایل به قهوه‌ای است. با توجه به ارزش تغذیه‌ای دستنبو در هر ۱۰۰ g بخش خوراکی میوه دستنبو، ۹۶/۵ g آب، ۰/۴ g پروتئین، ۰/۱ g چربی، ۲/۲ g کربو هیدرات، ۰/۵ g فیبر، ۹ mg فسفر، ۲۳۳ μ بتاکاروتن، ۰/۰۴ mg تیامین، ۰/۱ mg ریوفلاوین، ۴/۴ mg نیاسین، ۱۸ mg ویتامین C وجود دارد. خواستگاه این میوه مشخص نیست و گونه‌های اهلی این خانواده به‌طور مستقل در جنوب شرقی آسیا، هند و شرق آسیا رشد کرده‌اند. این گیاه یکساله، علفی و خزنده، دارای ساقه‌های خزنده پیچ خورده و کرکدار، برگ‌های ساده کرکدار و متناوب، ریشه‌های گسترده کم عمق، گل‌های زرد تک جنسی یا دو جنسی، میوه سته یا شبه سته و دانه‌های تخم‌مرغی کتابی است. این میوه به دلیل مدر بودن برای افراد مبتلا به احتباس ادرار و یا سنگ مجاری ادراری موثر است (۱).

ترکیبات استخراج شده از گیاهان دارای فعالیت ضد میکروبی طبیعی بر روی تعداد زیادی از باکتری‌های مولد فساد و بیماری‌زا هستند. بیشتر این ترکیبات به علت داشتن گروه‌های فعال فنولی در ساختار خود، با یکدیگر مشترک هستند. در حقیقت گیاهان دارویی به علت داشتن مقادیر زیادی از ترکیبات فرار آروماتیک مورد توجه می‌باشند که برخی از آنها از عوامل مهم ایجادکننده طعم در غذا نیز به شمار می‌روند. این ترکیبات فرار دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی ذاتی بوده و نقش مهمی در سیستم دفاعی گیاهان در مقابل بیماری‌های ناشی از میکروارگانیسم‌ها بر عهده دارند. بنابراین، این ترکیبات می‌توانند به‌صورت یک جزء عملگر، طعم دهنده و همچنین نگهدارنده در مواد غذایی به کار برده شوند (۲،۳). متابولیت‌های ثانویه در واقع به‌صورت پیش سازهای غیرفعال ذخیره شده در بافت‌های گیاهی تولید می‌شوند و سپس در پاسخ به استرس‌های محیطی آزاد می‌شوند. مواد پیش‌ساز در بافت

های گیاهی شامل ترکیبات فنلی، فلاونول‌ها و فلاونوئیدها، گلیکوزیدها، آلکالوئیدها و پلی‌استیلن می‌باشند (۴). این ترکیبات اخیراً به علت اثر ممانعت‌کنندگی و کشندگی میکروارگانیسم‌های پاتوژن مورد توجه قرار گرفته‌اند. از سویی در سال‌های اخیر تولیدکنندگان مواد غذایی به جایگزینی نگهدارنده‌های شیمیایی با نگهدارنده‌های طبیعی در محصولات خود توجه زیادی کرده‌اند و در این زمینه تحقیقات زیادی در مورد اثرات ضدباکتریایی و نگهدارندگی اسانس‌های گیاهی انجام شده است (۵).

وحیدی و همکاران (۲۰۱۹) خصوصیات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس پوست بالنک را مورد مطالعه قرار دادند. طبق مطالعه آنها، MIC و MBC برای *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی* به ترتیب μ g/ml ۵۰۰، ۲۵۰، ۵، ۶۲/۱۲۵ بود. اسانس قدرت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی داشت (۶). رضایی و همکاران (۱۳۹۹) اسانس برگ گیاه بادرنجبویه را آنالیز کردند و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اتانولی و n-هگزان آن را بررسی کردند. نتایج نشان داد عصاره‌ها دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و توانایی احیاکنندگی هستند و می‌توانند در صنعت دارویی به کار روند (۷). یار محمدی و همکاران (۱۴۰۰) اثرات ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی دارچین، زنیان، آویشن باغی و فرمالدهید بر باکتری *سالمونلا* / *اتریتیدیس* را بررسی کردند. نتایج نشان داد که اسانس‌های زنیان با غلظت کمتر و آویشن باغی و دارچین با غلظت‌های بیشتر می‌توانند به‌عنوان جایگزین بخشی از فرمالین و یا تکمیل‌کننده اثر آن در ضد عفونی خوراک استفاده شوند (۸). فیلبان زاده و شریفی (۱۴۰۰) فعالیت ضد میکروبی عصاره الکلی لایه داخلی پوست بالنک (*Citrus medica*) (ادر نوشابه گازدار لیمویی را ارزیابی کردند. نتایج نشان داد با افزودن عصاره پوست بالنک به میزان ۲ mg/ml می‌توان نوشابه گازدار لیمویی با کیفیت مطلوب و از نظر خصوصیات حسی قابل رقابت با نوشابه لیمویی گازدار حاوی بنزوات سدیم تولید کرد (۲).

آون با توقف دمایی ۵ min روی 40°C تنظیم شد. افزایش دما تا 240°C با شیب دمایی 3°C/min و افزایش دما تا 280°C با شیب دمایی 3°C/min در نظر گرفته و تنظیم شد. دمای محل تزریق و آشکارساز نیز 290°C بود. از گاز هلیوم با سرعت جریان 0.8 ml/min به عنوان گاز حامل و از شیوه‌ی شکافته با نسبت ۱:۱۰ استفاده شد. دستگاه کروماتوگرافی گازی با مشخصات بالا با ستونی به ابعاد (30 m در 0.25 mm و ضخامت لایه $0.25\text{ }\mu\text{m}$) و از نوع HP-5 به دستگاه طیف سنج جرمی مدل C ۹۵۷۵ متصل شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون مانند کروماتوگرافی گازی بود. ولتاژ یونیزاسیون در طیف سنج جرمی و 7 eV بود. درصد ترکیبات با استفاده از مساحت پیک حاصل از یونیزاسیون شعله‌ای (FID) محاسبه شد. شناسایی پیک‌ها به کمک شاخص بازداري و مقایسه آنها با مقادیری که در منابع مختلف منتشر شده است و نیز با استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه رایانه‌ای GC/MS انجام شد (۱۰).

استخراج عصاره

برای تهیه عصاره‌های متانولی، pH -هگزانی، کلروفرمی و اتیل استاتی از روش خیساندن در حلال استفاده شد. ابتدا نمونه میوه در حلال مورد نظر قرار گرفت و به مدت ۴۸ h توسط دستگاه هم زن، مخلوط شد. سپس، این محلول توسط قیف بوختر صاف شد و با دستگاه اوپراتور چرخان^۱ (Stuart، ساخت کشور انگلستان) حلال‌ها حذف و تا زمان استفاده در دمای 4°C نگهداری شدند (۱۱).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره دستنبو

برای بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی از روش مهارکنندگی رادیکال آزاد ۲،۲ دی فنیل ۱ پیکریل هیدرازیل (DPPH) به روش اسپکتروفتومتری استفاده شد. مقدار ۲ ml از DPPH، $100\text{ }\mu\text{M}$ محلول در متانول با ۲ ml از نمونه مخلوط شد و به مدت ۳۰ min در دمای اتاق قرار گرفت. سپس، جذب محلول در 520 nm توسط اسپکتروفتومتر (UV- 9200; Beijing Rayleigh Analytical Instrument Co, Beijing, China) خوانده

با توجه به مطالب ذکر شده و نیز کاربردهای فراوان اسانس گیاهان دارویی برای کنترل رشد باکتری‌های بیماری‌زا با منشا غذایی یا باکتری‌های عامل فساد، می‌توان از آنها به عنوان نگهدارنده‌های مواد غذایی استفاده کرد.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی نمونه

میوه گیاه دستنبو (*Cucumis melo var. dudaim*) در اواسط مرداد ماه در محدوده زمانی میوه دهی از زمین‌های زراعی مناطق شهر فیروزه واقع در استان خراسان رضوی جمع‌آوری شدند. تمامی مواد و محیط‌کشت‌های مورد استفاده در این پژوهش دارای خلوص بالایی بوده و از شرکت‌های معتبر (سیگما و مرک) خریداری شدند.

سویه‌های خالص باکتریایی *Escherichia coli* (PTCC1329)، *Streptococcus pneumonia* (PTCC11240)، *Staphylococcus aureus* (PTCC1181)، *Pseudomonas aeruginosa* (PTCC1181) مورد استفاده در این پژوهش از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران به صورت لیوفیلیزه تهیه شدند.

استخراج اسانس

نمونه‌های دستنبو جمع‌آوری شده، پس از انتقال به آزمایشگاه توسط چاقوی استریل به قطعات کوچک تبدیل شدند. برای تهیه اسانس از روش تقطیر با بخار آب در دستگاه کلونجر (مدل شیشه‌ای، ساخت ایران) استفاده شد. در این روش پس از گذشت ۳ h، اسانس گیاه جمع‌آوری و توسط سولفات سدیم بدون آب، آبگیری شد. اسانس به دست آمده جهت تزریق به دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی طیف سنج جرمی (GC-MS) و بررسی ترکیبات موجود، در دمای 4°C نگهداری شد (۹).

تجزیه اسانس توسط GC/MS

در این پژوهش دستگاه کروماتوگرافی گازی (مدل ۷۸۹۰ N، ساخت Agilent، آمریکا) مجهز به ستونی با طول 30 m قطر داخلی 0.25 mm و ضخامت لایه $0.25\text{ }\mu\text{m}$ از نوع HP-5Ms استفاده شد. برای برنامه‌ی دمایی،

^۱ Rotary evaporator

شد. میزان فعالیت آنتی اکسیدانی با رابطه ۱ محاسبه شد (۱۱). در این رابطه AS درصد جذب شاهد و AD درصد جذب نمونه در ۵۲۰ nm می باشد.

رابطه (۱)

$$\% \text{ DPPH} = (\text{AD}-\text{AS}/\text{AS}) \times 100$$

روش تهیه محیط کشت

محیط کشت های مولر هیتون آگار، نوترینت آگار و نوترینت براث مورد استفاده در آزمون های میکروبی با استفاده از روش های مراجع معتبر تهیه شد (۱۲، ۱۳).

تهیه سوسپانسیون میکروبی ۰/۵ مک فارلند از

میکروارگانیزم ها

هر یک از سویه های باکتریایی مورد مطالعه با استفاده از محیط های افتراقی، انتخابی و اختصاصی و نیز روش های بیوشیمیایی تایید هویت شدند. یک روز قبل از انجام تست حداقل غلظت بازدارندگی^۱ (MIC) و حداقل غلظت کشندگی^۲ (MBC) جهت تهیه سوسپانسیون میکروبی، کشت سطحی داده شدند. برای تهیه سوسپانسیون میکروبی از کشت ذخیره به محیط کشت شیدار آگار مغذی تلقیح شد و به مدت ۲۴ h در دمای ۳۷ °C گرمخانه گذاری شد. سپس، کلونی های سطح محیط کشت با محلول نرمال سالین شسته شد و سوسپانسیون میکروبی با محلول نرمال سالین رقیق شد تا میزان جذب سوسپانسیون در طول موج ۵۳۰ nm با میزان جذب محلول ۰/۵ مک فارلند (۱/۵×۱۰^۸ CFU/ml) برابر شود (۱۴).

بررسی فعالیت ضد میکروبی

بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی و اسانس میوه دستنبو به روش انتشار در آگار (دیسک دیفیوژن)

برای بررسی اثرات ضد باکتریایی اسانس از روش انتشار در آگار به کمک دیسک یا دیسک دیفیوژن^۳ استفاده شد. در این روش ابتدا یک سوسپانسیون استاندارد

میکروبی بر محیط کشت مولر هیتون آگار به روش سطحی کشت داده شد. سپس، از دیسک های ۶/۴ mm حاوی ۲۰ μl عصاره یا اسانس دستنبو استفاده شد. با استفاده از پنس استریل دیسک های آغشته به اسانس یا عصاره میوه دستنبو در سطح محیط کشت قرار گرفته و با کمی فشار بر روی محیط کشت ثابت شد. پتری ها در حرارت ۳۷ °C به مدت ۱۸-۱۶ قرار داده شدند، پس از آن با استفاده از خط کش دقیق قطر هاله عدم رشد بر حسب mm اندازه گیری شد. از دیسک جنتامایسین و آمپی سیلین (۲۰ μl بر دیسک) به عنوان کنترل مثبت و از سرم فیزیولوژی به عنوان کنترل منفی استفاده شد. سپس، پلیت ها به مدت ۲۴ h در دمای ۳۷ °C گرمخانه گذاری شدند و قطر هاله عدم رشد بر حسب mm اندازه گیری شد. آزمون به صورت سه بار تکرار انجام شد (۱۲). سپس، میانگین قطر هاله عدم رشد در سه بار تکرار به عنوان قطر نهایی منطقه عدم رشد ثبت شد. (۱۴، ۱۵)

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (MIC)

برای اندازه گیری حداقل غلظت بازدارندگی از رشد از روش رقت لوله ای یا همان روش میکرو براث دایلوژن^۴ استفاده شد. محیط کشت مولر هیتون مایع با غلظت های ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ۴ از عصاره ها و اسانس جداگانه در لوله های در پیچ دار در سه تکرار آماده شد (۱۴) از رقت های تهیه شده اسانس و عصاره های میوه دستنبو، ۱۰۰ μl به هر چاهک از میکروپلیت ۹۶ تایی افزوده شد. برای رسیدن غلظت نهایی باکتری ها به ۱/۵×۱۰^۸ CFU/ml به هر لوله مقدار ۱۰ μl از سوسپانسیون میکروبی اضافه شد. کنترل مثبت و کنترل منفی نیز برای هر باکتری در نظر گرفته شد. کنترل مثبت شامل ۱۰۰ μl از غلظت ها و کنترل منفی شامل ۱۰۰ μl از محیط کشت و ۱۰ از سوسپانسیون میکروبی بود. میکروپلیت ۹۶ خانه در دمای ۳۷ °C و ۲۴ h گرمخانه گذاری شد. در نهایت پس از گذشت ۲۴ h از گرمخانه گذاری، میکروپلیت ها از انکوباتور بیرون آورده شدند و ۲۰ μl معرف رنگی تترازولیوم کلراید ۵٪ به هر خانه اضافه شد و به مدت ۱۵ min

^۱ Minimum Inhibitory Concentration

^۲ Minimum Bactericidal Concentration

^۳ Disk Diffusion Method

^۴ Micro-Dilution Broth

۳۰ گرمخانه گذاری شدند. خانه های قرمز رنگ نشانه رشد باکتری در آنها بود. اولین خانه ای که در آن تغییر رنگ مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) گزارش شد (۱۴،۱۶).

تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC)

برای تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس و عصاره دستنبو، مقدار ۱۰۰ µl از رقت هایی که کدورتی در آنها مشاهده نشد، به محیط کشت نوترینت آگار منتقل شد و کشت سطحی انجام شد. پلیت ها به مدت ۲۴ h در دمای ۳۷ °C گرمخانه گذاری شدند. کمترین غلظت اسانس و عصاره های فاقد کلنی باکتری به عنوان حداقل غلظت کشندگی گزارش شد (۱۷).

تجزیه و تحلیل آماری

محاسبه آماری براساس طرح کاملاً تصادفی به کمک آنالیز واریانس ANOVA انجام شد. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۱۹) انجام شد و نمودارها با کمک نرم افزار Excel ترسیم شد. مقایسه آماری نتایج نیز در سطح اطمینان ۹۵٪ انجام شد. همچنین، روش آماری به کار رفته در مقایسه بین MIC و MBC اسانس و عصاره آمار توصیفی می باشد.

نتایج

بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس دستنبو

اسانس دستنبو به دست آمده از دستگاه کلونجر ۰/۱۲٪ بود. در اسانس میوه دستنبو Z-کالامین^۱ با ۱۷/۹٪، دی هیدرو آروماندرین^۲ با ۱۶/۵٪ و Z-نرولیدول^۳ با ۱۳/۱٪، بیشترین ترکیبات را تشکیل می دهند. ۲۲ ترکیب موجود در این اسانس که در مجموع ۹۹/۷٪ از کل اسانس را تشکیل می دهد، در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد عمده اجزا اسانس میوه دستنبو، ترکیبات سسکویی ترپن هیدروکربن ها^۴ (۴۰٪)، سسکویی ترپن های اکسیژن دار^۵

(۱۹/۷٪)، مونوترپن اکسیژن دار^۶ (۱۵/۲٪)، مونوترپن هیدروکربن ها^۷ (۴/۳٪) و ۲۰/۵٪ سایر ترکیبات بود. در حالی که، دی ترپن هیدروکربن ها^۸ و دی ترپن های اکسیژن دار^۹ یافت نشدند.

اثر اسانس و عصاره میوه دستنبو روی قطر هاله های عدم رشد باکتری های مورد مطالعه

نتایج ارائه شده در جدول ۱ نشان می دهد در بین باکتری های مورد مطالعه بیشترین قطر هاله عدم رشد در مورد آنتی بیوتیک جنتامایسین (کنترل مثبت) با اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ مربوط به باکتری سودوموناس آئروژینوزا (۲۱ ± ۰/۳ ml) بود. در مقایسه با کنترل مثبت، اسانس و عصاره ها فعالیت ضدباکتریایی کمتری از خود نشان دادند. در مورد اسانس بیشترین قطر هاله عدم رشد و تاثیر ضدباکتریایی با اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ مربوط به باکتری سودوموناس آئروژینوزا بود ($p < 0.05$). کمترین قطر هاله عدم رشد مربوط به باکتری استرپتوکوک پنومونیا بود. در سطح اطمینان ۵٪ بین اثر ضد میکروبی اسانس بر روی سودوموناس آئروژینوزا و اشرشیاکلی اختلاف معنی داری وجود نداشت، ولی بین استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس اختلاف معنی دار می باشد. تاثیر غلظت اسانس در متوقف کردن رشد باکتری های گرم منفی در مقایسه با باکتری های گرم مثبت بیشتر بود. مقایسه میانگین ها نشان داد که در بین عصاره ها، عصاره اتیل استاتی بیشترین اثر را بر قطر هاله عدم رشد باکتری سودوموناس آئروژینوزا و سپس بر روی اشرشیاکلی داشت، اما بین اثر عصاره متانولی و عصاره کلروفرمی میوه دستنبو بر قطر هاله عدم رشد تفاوت معنی داری مشاهده نشد. در سایر موارد عدم تاثیر عصاره هگزانی و تشکیل نشدن هاله عدم رشد قابل مشاهده است (جدول ۱).

⁶ Oxygenated monoterpenes

⁷ Monoterpene hydrocarbons

⁸ Diterpene hydrocarbons

⁹ Oxygenated diterpenes

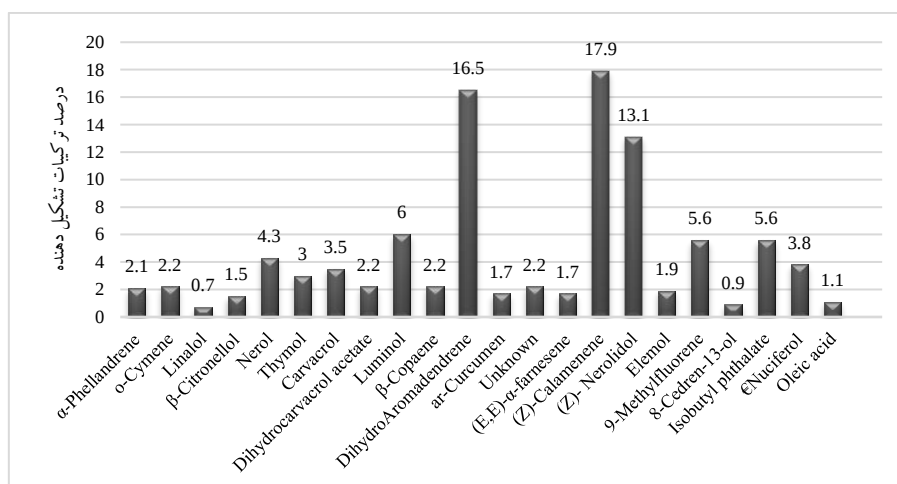
¹ (Z)-Calamenene

² DehydroAromadendrene

³ (Z)-Nerolidol

⁴ Sesquiterpene hydrocarbons

⁵ Oxygenated sesquiterpenes



شکل ۱. درصد ترکیبات موجود در اسانس میوه دستنبو

جدول ۱. میانگین قطر هاله عدم رشد (mm) به روش انتشار در آگار بر باکتری‌های مورد بررسی

ماده ضدباکتری / باکتری (۲۰ μg/Disk)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus pneumonia</i>
آمپی سیلین	۱۶±۰/۲	۱۷±۰/۵	۱۳±۰/۳	۱۲±۰/۲
جنتامایسین	۱۹±۰/۴	۲۱±۰/۳	۱۰±۰/۲	۸/۲±۰/۲
اسانس	۱۰/۲±۰/۲	۱۰/۲۶±۰/۳	۸/۵±۰/۵	۷/۷±۰/۲
عصاره متانولی	۸/۲±۰/۲	۹/۲۵±۰/۲	۸±۰/۴	۷/۴±۰/۲
عصاره هگزانی	–	۷/۷۵±۰/۳	–	–
عصاره کلروفرمی	۸/۵±۰/۵	۹/۲۵±۰/۲	۸±۰/۴	۷/۱±۰/۲
عصاره اتیل استاتی	۹/۹۵±۰/۳	۱۰/۶۵±۰/۳	۷/۵±۰/۲	۷/۸±۰/۴

علامت – به معنای عدم تاثیر ماده مورد آزمایش و تشکیل نشدن هاله عدم رشد می باشد.

بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس و عصاره‌های میوه دستنبو

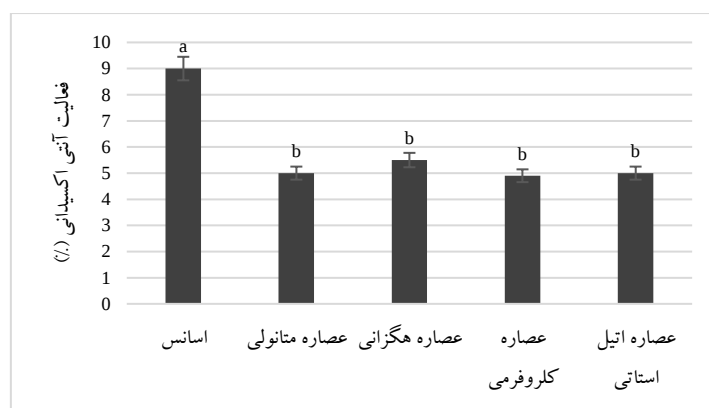
جدول ۲ نتایج حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس و عصاره های میوه دستنبو بر روی باکتری‌های مورد بررسی را در مقایسه با جنتامایسین و آمپی سیلین نشان می‌دهد. طبق نتایج جدول ۲ مشابه با نتایج آزمون‌های انتشار دیسک، باکتری سودوموناس آئروژینوزا حساسیت بیشتری نشان داد و کمترین غلظت بازدارندگی از رشد برای این باکتری به دست آمد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که حساسیت باکتری‌های گرم مثبت و باکتری‌های گرم منفی در برابر اسانس دستنبو در غلظت‌های ۲ و ۴ یکسان بود. حداقل

غلظت مهارکنندگی اسانس و عصاره‌ها برای هر دو گروه باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت در اغلب موارد برابر حداقل غلظت کشندگی آن بود. حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی عصاره کلروفرمی و متانولی برای باکتری‌ها به ترتیب ۲ و ۲ به دست آمد در حالی که در مورد اسانس و عصاره استاتی در غلظت ۰/۵ μg/ml به دست آمد.

جدول ۲. نتایج حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس و عصاره‌های میوه دستنبو بر روی باکتری‌های مورد بررسی به روش میکروبراث دایلوژن (بر حسب mg)

ماده ضد میکروبی	غلظت (µg/ml) میکروارگانیزم	۰/۱۲۵	۰/۲۵	۰/۵۰	۱	۲	۴	کنترل منفی *		کنترل مثبت **	
		MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC
اسانس	<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Streptococcus pneumonia</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
عصاره متانولی	<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Streptococcus pneumonia</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
عصاره هگزانی	<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Streptococcus pneumonia</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
عصاره کلروفرمی	<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
+	+	-	-	-	-	-	-	+		+	+	+	+	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>	
+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Streptococcus pneumonia</i>	
+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Escherichia coli</i>	عصاره اتیل استاتی
+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>	
+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	<i>Streptococcus pneumonia</i>	
+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	<i>Escherichia coli</i>	آمی سیلین
+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>	
+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	<i>Streptococcus pneumonia</i>	
+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>	جنتامایسین
+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Staphylococcus aureus</i>	
+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Streptococcus pneumonia</i>	



شکل ۲. فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره میوه دستنبو

فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره های میوه دستنبو

نتایج بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره میوه دستنبو نشان داد نوع عصاره و حلال تاثیر معنی داری در میزان فعالیت آنتی اکسیدانی نداشت ($p \geq 0.05$). بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی در اسانس مشاهده شد (شکل ۲).

بحث و نتیجه گیری

اسانس ها تاریخچه ای طولانی به عنوان طعم دهنده مواد غذایی دارند ولی استفاده از آنها به عنوان نگهدارنده طبیعی در طول دهه های اخیر به طور قابل توجهی افزایش داشته است. نتایج این پژوهش نشان داد عمده اجزا اسانس میوه دستنبو، ترکیبات سسکویی ترپن هیدرو کربن ها، سسکویی ترپن های اکسیژن دار، مونوترپن اکسیژن دار و مونوترپن هیدروکربن ها بود. هر چه میزان ترکیبات فنولی اسانس بیشتر باشد، فعالیت آنتی اکسیدانی و خاصیت ضد میکروبی آنها افزایش خواهد یافت. حضور برخی از اجزای ضد میکروبی از قبیل لینالول و مشتقات اکسیژن دار کارواکرول در ترکیب با سایر اجزای اسانس ممکن است در بهتر کردن عملکرد ضد میکروبی اسانس نقش داشته باشد (۱۸). در مطالعه امیدی میرزایی و همکاران (۲۰۲۰) مونوترپنوئیدها فراوانترین اجزا و لینالول با ۷۰/۹۳٪ بیشترین ترکیب شناسایی شده در اسانس دانه گشنیز بود (۱۶). قادری و همکاران (۲۰۱۲) ترکیبات شیمیایی و اثر

ضد باکتریایی اسانس سه گیاه گشنیز، بومادران و شوید در شرایط آزمایشگاهی را بررسی کردند. بیشترین ترکیب تشکیل دهنده اسانس برای گشنیز، D-کارون با ۳۴/۵۰٪ بود. بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش هر سه اسانس اثر ضد میکروبی قابل توجهی بر باکتری های مورد مطالعه داشتند (۱۹).

اسانس و عصاره های میوه دستنبو فعالیت ضد باکتریایی از خود نشان دادند. نتایج به دست آمده از بررسی اثر اسانس و عصاره میوه دستنبو روی قطر هاله های عدم رشد باکتری های مورد مطالعه بیانگر ارزش بالای میوه دستنبو در ممانعت از رشد طیف وسیعی از باکتری های پاتوژن و مولد فساد مواد غذایی است. تاثیر غلظت اسانس در متوقف کردن رشد باکتری های گرم منفی در مقایسه با باکتری های گرم مثبت بیشتر بود. مقایسه میانگین ها نشان داد که در بین عصاره ها، عصاره اتیل استاتی بیشترین اثر را بر قطر هاله عدم رشد باکتری سودوموناس آئروژینوزا و سپس بر روی اشرشیاکلی داشت. در پژوهشی که توسط Adiguzel (۲۰۰۹) انجام شد، اثر ضد میکروبی اسانس عصاره متانولی گیاه نعنای گربه ای (*N. cataria*) بر روی ۱۱ سویه باکتری بررسی شد. کمترین قطر هاله عدم رشد مربوط به باکتری اشرشیاکلی بود. اثر ضد میکروبی اسانس به طور معنی دار از عصاره متانولی بیشتر بود (۲۰). Wang و همکاران (۲۰۲۰) در بررسی اثر ضد میکروبی اسانس

زنجبیل روی دو باکتری *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوک* اورئوس به نتایج مشابهی درباره قطر هاله عدم رشد باکتری *اشرشیاکلی* دست یافتند (۲۱). در مطالعه‌ای که توسط Kaur و Arora (۲۰۰۹) انجام شد، فعالیت ضدباکتریایی عصاره آبی شوید بر علیه سوش‌های خالص *استافیلوکوک* اورئوس، *اشرشیاکلی*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *سالمونلا* تیفی موریوم، *شیگلا فلکسنیری* و *سالمونلا تیفی* بررسی شد. نتایج نشان داد عصاره این گیاه دارای فعالیت ضد میکروبی معنی‌داری بر روی تمام سوش‌های باکتریایی مورد بررسی بود (۲۲).

بر طبق نتایج حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس و عصاره های میوه دستنبو، کمترین غلظت بازدارندگی از رشد به باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* مربوط بود. حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس و عصاره‌ها برای هر دو گروه باکتری های گرم منفی و گرم مثبت در اغلب موارد برابر حداقل غلظت میکروب‌کشی آن بود. نتایج وحیدی و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد اسانس پوست *بالنگ* قدرت آنتی اکسیدانی قابل توجهی داشت. MIC و MBC برای *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی* به ترتیب $\mu\text{g/ml}$ ۶۲/۵، ۲۵۰، ۱۲۵ و ۵۰۰ بود (۶). نتایج یار محمدی و همکاران (۱۴۰۰) اثرات ضد میکروبی قابل توجه اسانس‌های گیاهی دارچین، زنیان، آویشن باغی و فرمالدهید بر باکتری *سالمونلا انترتیدیس* (۸) و نتایج فیلبانزاده و شریفی (۱۴۰۰) نیز فعالیت ضد میکروبی عصاره الکلی لایه داخلی پوست *بالنگ* را نشان داد (۲). در مطالعه امیدی میرزایی و همکاران (۲۰۲۰) حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس دانه گشنیز برای باکتریهای *باسیلوس سرئوس*، *اشرشیاکلی*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *سالمونلا تیفی* به ترتیب برابر با $4, 4, 4$ و $2, 4$ mg/ml بود (۲۲). همچنین، نتایج این پژوهش با مطالعه ماتاسیو و همکاران (۲۰۰۹) روی اسانس دانه گشنیز و فیلبانزاده و شریفی (۱۴۰۰) روی فعالیت ضد میکروبی عصاره الکلی لایه داخلی پوست *بالنگ* مطابقت داشت (۲، ۲۳).

از میان باکتری‌های مورد آزمایش *سودوموناس آئروژینوزا* بیشترین و *استرپتوکوکوس پنومونیا* کمترین حساسیت را نسبت به عصاره میوه دستنبو داشت. به‌طور کلی با مقایسه تاثیر مهار کنندگی و میکروب‌کشی اسانس و عصاره میوه دستنبو می‌توان نتیجه گرفت که اسانس این گیاه در غلظت‌های کمتری نسبت به عصاره قادر به جلوگیری از رشد باکتری‌های مورد بررسی می‌باشد. تفاوت نوع و مقدار ترکیبات موجود در عصاره و اسانس دلیل تاثیر متفاوت آنها روی رشد باکتری‌ها است. روش‌های مختلف استخراج اسانس و عصاره، روش بررسی خواص ضدباکتریایی، گونه گیاه و منابع تهیه آنها، مرحله رشد گیاه و نیز سویه‌های باکتری به کار برده شده از دیگر عوامل موثر می‌باشند. از سویی دیگر طی شماری از پژوهش‌های انجام گرفته گزارش شده است که در برخی از گیاهان عصاره و در برخی دیگر اسانس‌ها تاثیر مشخصی بر باکتری‌ها داشته‌اند. بنابراین نوع عصاره و اسانس هم در میزان اثر ضدباکتریایی گیاهان بسیار موثر است و از جمله دلایل عدم مشاهده اثرات ضدباکتریایی قابل ملاحظه از گیاهان می‌توان به نوع مواد موثر در عصاره و یا اسانس و همچنین روش عصاره‌گیری و نوع حلال مرتبط دانست (۲۴، ۲۵، ۲۶، ۲۷).

بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در اسانس مشاهده شد. در سالیان اخیر پژوهش‌های زیادی در مورد تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها و گیاهان دارویی انجام شده است و نتیجه تمامی این پژوهش‌ها وجود ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در همه منابع گیاهی اثبات می‌کند. میزان ترکیبات فنولی تاثیر به‌سزایی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد که این امر به دلیل قابلیت احیا کنندگی بالای این ترکیبات و نیز توانایی دادن هیدروژن به رادیکال‌های فعالی نظیر DPPH می‌باشد (۲). سیدی و افشارپور (۱۳۹۸) فعالیت آنتی اکسیدانی ارقام مختلف نارنگی را تعیین کردند (۲۷). رمرودی و همکاران (۱۳۹۹) فعالیت آنتی‌اکسیدانی دانه، گوشت و پوست کدو حلوائی را تعیین و مقایسه کردند (۲۸). در پژوهشی که مصحفی و همکاران (۲۰۰۷) بر روی

9. Gulluce M, Sahin F, Sokmen M, Ozer H, Daferera D, Sokmen A, Polissiou M, Adiguzel A, Ozkan H. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *Longifolia*. 2007. Food Chemistry, 103(4), 1449-1456.

10. Arian Far A, Mehraban Sang atash M, Saleh abadi S. Identification of chemical constituents of essential oil from aerial parts of *florida Rubia*. 2017. Journal of North Khorasan University of Medical sciences, 9(1), 15-26.

11. Madanipour MM, Sharifi A. Assessment of chemical compositions and antioxidant activities of Caydonia Oblonga leaf Extract, Journal of Innovation in Food Science and Technology, 2018. Vol. 10, No. 1.

12. Alizadeh Behbahani B, Fooladi A A I. Antibacterial activities, phytochemical analysis and chemical composition Makhlaheh extracts against the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection. Microbial Pathogenesis, 2018.114, 204-208.

13. Thransberry C and McDougal LK. Successful use of broth microdilution in susceptibility tests for methicillin-resistant (heteroresistant) staphylococci. Journal of Clinical Microbiology. 1983. (18), 1084-91.

14. Inouye Sh, Takizawa T, Yamaguchi H. Antibacterial activity of essential oils and their major constituent against respiratory tract pathogens by gaseous contact. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2001; 47:565-573.

15. Rezai M, Rasooli I. Chemical components and biological activity of essential oils of Thymus x-prolock and Mentha longifolia. Daneshvar. 2000; 8(31): 1-8.

16. Omidi Mirzaei M, Hojjati M, Alizadeh Behbahani B, Noshad M. Determination of chemical composition, antioxidant properties and antimicrobial activity of coriander seed essential oil on a number of pathogenic microorganisms. Iranian Food Science and Technology Research Journal, 2020; 16(2): 221-233.

17. Yeganegi M, Yazdi FT, Mortazavi S A, Asili J, Alizadeh Behbahani B, Beigbabaei A. Equisetum telmateia extracts: Chemical compositions, antioxidant activity and antimicrobial effect on the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection. Microbial Pathogenesis, 2018. 116, 62-67.

18. Narenji Sani R, Jebelli javan A, Roozbahan B, Staji H, Mohammadi H. Antimicrobial activity of Zataria multiflora boiss. essential oil on

خاصیت آنتی اکسیدانی آویشن شیرازی انجام دادند مشخص شد که اسانس و عصاره متانولی گیاه دارای خاصیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی است که می تواند به عنوان نگهدارنده در مواد غذایی استفاده شود (۲۹).

نتایج این پژوهش نشان داد اسانس و عصاره میوه دستنبو خواص ضد میکروبی قابل توجه دارد و با پژوهش های بیشتر در این زمینه می توان از این ترکیبات طبیعی به عنوان جایگزین نگهدارنده های شیمیایی استفاده کرد.

منابع

1. Dhillon NP, Ranjana R, Singh K, Eduardo I, Monforte AJ, Pitrat M, Dhillon NK, Singh PP. Diversity among landraces of Indian snapmelon (*Cucumis melo* var. *momordica*). Genetic Resources and Crop Evolution. 2007 Sep;54(6):1267-83.

2. Filban zadeh M, Sharifi A. Evaluation of antimicrobial activity and phenolic compounds of alcoholic citron (*Citrus medica* l.) peel inner layer extract in the lemon carbonated drinks. Journal of Food Researches/vol.31 No.1 2021/pp 1-15

3. Holley R A and Patel D. Improvement in shelf life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. 2005. Food Microbiology. 22(4): 273-92.

4. Kim J, Marshal M, Wei C. Antibacterial activity of some essential oil components against five food borne pathogens. 1995. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 43: 2839-45.

5. Lanciotti R, Gianatti A, patrignani F, belletti N, Guerzoni M. E, Gardini F. Use of natural aroma compounds to improve shelf life and safety of minimally processed fruits. 2004. Journal of food Science Technology, 15(4): 201-8.

6. Vahidi R, Pourahmad R, Mahmoudi R, Hosseini SS. Chemical compounds and antibacterial and antioxidant properties of citron (*Citrus medica* L.) peel essential oil. 2019. Journal of Food and Bioprocess Engineering. 3(1): 83-88.

7. Rezaei Jamnani S, Mirabi A. Analyzing of chemical composition of the essential oil and study of antioxidant activity of extract of Melissa officinalis from Behshahr -Iran. *Applied Biology*, 2021; 33(4): 26-41.

8. Yarmohammadi A, Farkhoy M, Misaghi A, Kiaie S, Nafarieh N, Barin A. Antimicrobial Activity of Trachyspermum Copticum, Thymus Vulgaris, and Cinnamomum Zeylanicum against Salmonella Enteritidis. Journal of Veterinary Research, 2021; 76(2): 179-191.

28. Ramroudi M, Kazemitabar S, Esmaeilzadeh Kenari R, Najafi Zarini H. 'Evaluation of Antioxidant Activity of Hydroalcoholic Extracts from Pumpkin (*Cucurbita moschata* D.) Seed, Flesh and Skin'. *Iranian Journal of Biosystems Engineering*, 2020.51(3), pp. 663-672.
29. Moshafi MH, Mansouri SH, Sharififar F, Khoshnoodi M. Antibacterial and antioxidant effects of the essential oil and extract of *Zataria Multiflora* Boiss. *Journal of Kerman University of Medical Sciences*, 2007.14(1): 33-43
- Staphylococcus aureus isolated from raw milk. *Food Hygiene*, 2018; 8(1 (29)): 63-72.
19. Ghaderi S, Falahati hosein abad A, Sarailoo M H, Ghanbari V. Investigation of the components and antibacterial effects of three plants' essential oil *Coriandrum sativum*, *Achillea millefolium*, *Anethum graveolens* in vitro. *J Shahrekord Univ Med Sci*. 2012; 14 (5) :74-82
20. Adiguzel A, Ozer H, Sokmen M, Gulluce M, Sokmen A, Kilic H, Sahin F, Baris O. Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Nepeta cataria*. *Polish Journal of Microbiology*. 2009;58(1):69-76. PMID: 19469289.
21. Wang X, Shen Y, Thakur K, Han J, Zhang J G, Hu F, Wei Z J. Antibacterial activity and mechanism of ginger essential oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 2020. 25(17), 3955.
- 22- Arora DS, Kaur Gj. Antibacterial activity of some Indian medicinal plants. *Journal of Natural Medicines*. 2007. 61. 313-317.
23. Matasyoh J C, Maiyo Z C, Ngure R M, Chepkorir R. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Coriandrum sativum*. *Food Chemistry*, 2009. 113(2), 526-529.
24. Jalali M, Abedi D, Ghasemi dehkordi N and Chaharmahali A. Evaluation of antibacterial activity of ethanol extracts of some medicinal plants against *Listeria monocytogenes*. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*. 2006. 3 (8). 25-33.
25. Mashak Z, Moradi B, Akhonzdade A, Abasifar A and Gandomi H. Study the behavior of *Listeria monocytogenes* during the production process of Iranian white cheese under the influence of *Zataria multiflora* Boiss essential oils. *Journal of Medicinal Plants*; 2008. 29: 114-122 (Persian).
26. Moreno S, Scheyer T, Romano CS, Vojnov AA. Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radical Research*; 2006.40(2): 223-231.
27. Seyedi A, Afsharipour S. Evaluation of some morphological, biochemical and antioxidant properties of some mandarin cultivars. *Research in Pomology*, 2019; 4(2): 29-42.

Evaluation of essential oil composition of dudiam melon and antimicrobial activity of essential oil and extract of that

Manijeh Chakaneh¹, **Akram Sharifi**^{2*}, Armineh Roshanpazhoh², Alireza Motavalizadeh Kakhky²

¹Department of Food Science and Technology, Technical and Vocational University of Neyshabur, Iran

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

³Department of Chemistry, Neyshabur Branch, Islamic Azad University, Neyshabur, Iran

Abstract

Dudiam melon has a high nutritional value. The bioactive compounds found in the essential oil and extract of this fruit can be used to control the growth of pathogenic bacteria of food origin or spoilage bacteria. In this study, the essential oil of *Cucumis melo var. dudaim* fruit was extracted by steam distillation method. Methanolic, n-hexane, chloroform, ethyl acetate extracts were also produced by maceration method. The essential oil compounds of this fruit were identified by gas chromatograph (GC) and gas chromatograph connected to mass spectrometer (GC-MS) devices, and the percentage of its compounds was measured. In order to determine the minimum inhibitory concentration of the obtained essential oil and extracts on *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumonia*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, the Disk Diffusion method was used. The results showed in fruit essential oil, Dehydro Aromadendrene, (Z)-Calamenene and (Z)-Nerolidol are the major compounds, respectively, and the results obtained from the microbial tests showed that the studied bacteria have a significant difference in level of 5% in terms of diameter of non-growth halo. The lowest non-growth diameter halo was related to *Escherichia coli* bacteria and the highest non-growth diameter halo was related to *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. The minimum inhibitory concentration was for *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. Overall, the fruit essential oil showed more antimicrobial activity against the bacteria than its extracts. These herbal compounds can be used as substitutes for chemical preservatives in foods.

Keywords: Dudiam Melon, Essential Oil, Extract, Minimum Inhibitory Concentration.

* asharifi@qiau.ac.ir