بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره درمنه کوهی(*Artemisia aucheri*)، درمنه دشتی(*Artemisia sieberi*) و زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) بر برخی از باکتریهای بیماریزا با منشاء غذایی

مریم نصیرپور[۱*]، مسعود یاورمنش[۲]، علی محمدی ثانی[۳]، مرتضی محمدزاده مقدم[۴]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قوچان، گروه علوم و صنایع غذایی، قوچان، ایران

۲- عضو هیات علمی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

۳- دانشگاه آزاداسلامی،واحد قوچان،گروه علوم و صنایع غذایی، قوچان، ایران

۴- کارشناس ارشد علوم و صنایع غذایی، مسئول آزمایشگاه مواد غذایی، معاونت غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی گناباد

چکیده

در این مطالعه اثر ضد باکتریایی عصاره آبی درمنه کوهی، درمنه دشتی و زوفا بر باکتری های *اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسیتوژنز* مورد بررسی قرار گرفت. عصاره گیاهان فوق با روش خیساندن تهیه و سپس حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) به روش میکرو براث دایلوشن و حداقل غلظت کشندگی(MBC) اندازه گیری گردید. حداقل غلظت بازدارنده عصاره آبی درمنه کوهی و دشتی علیه *اشرشیاکلی* $mgml^{-1}$ ۱۶۰ و علیه *استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریامونوسیتوژنز* $mgml^{-1}$ ۸۰ بود. همچنین حداقل غلظت بازدارندگی عصاره آبی زوفا علیه *اشرشیاکلی* $mgml^{-1}$ ۸۰ و علیه *استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسیتوژنز* $mgml^{-1}$ ۴۰ بود. بر اساس این نتایج، عصاره آبی هر سه گیاه مورد آزمون دارای اثر ضد باکتریایی قوی تری علیه باکتری های گرم مثبت نسبت به گرم منفی ها بوده است. حساس ترین باکتری در برابر عصاره های مورد آزمون لیستریامونوسیتوژنز و مقاوم ترین باکتری اشرشیاکلی بود. در بین عصاره ها، بیشترین فعالیت ضد باکتریایی مربوط به عصاره آبی زوفا بوده و اثر ضدباکتریایی عصاره آبی درمنه کوهی و دشتی تقریبا یکسان بود.

کلید واژگان: اثر ضد باکتریایی، درمنه، زوفا، عصاره آبی.

* مسئول مکاتبات: ma.nasirpour@yahoo.com

۱- مقدمه

حضور میکروارگانیسم ها و به ویژه باکتری ها در مواد غذایی اهمیت فراوانی از نظر بهداشت و سلامت عمومی جامعه و همچنین کنترل کیفیت مواد غذایی برخوردار است. میکروارگانیسم های بیماری زای موجود در مواد غذایی، هر ساله خسارات مالی و جانی بسیاری را در جهان به جا میگذارند.علاوه بر این فساد مواد غذایی بر اثر رشد میکروارگانیسم ها همچنان به عنوان یک معضل در صنعت مواد غذایی به شمار می رود *اشرشیا کلی* عامل گاستروانتریت، عفونت خونی، اسهال خونی، ورم روده ی بزرگ می باشد که از مواد غذایی مختلفی ممکن است وارد بدن شده و ایجاد بیماری نماید. باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* یک باکتری گرم منفی با قابلیت تولید انتروتوکسین است که از طریق غذاهای مختلفی مانند گوشت، مرغ، ماهی، شیر و فرآورده های آن، سس های خامه ای، پودینگ ها و غیره در بدن انسان ایجاد مسمومیت میکند.*لیستریا مونوسیتوژنز* باکتری عامل لیستریوزیس بوده که از آب، شیر، سیلاژ، فاضلاب و مدفوع امروزه با .]۱[بسیاری از انسان ها و حیوانات جدا شده است توجه به افزایش سطح آگاهی و نگرانی های عمومی در خصوص عوارض مواد نگهدارنده شیمیایی، تمایل به مصرف مواد فاقد نگهدارنده یا مواد با نگهدارنده های طبیعی افزایش پیدا کرده است. بنابراین در سال های اخیر با توجه به ویژگی های گیاهان دارویی، مطالعات زیادی در خصوص استفاده از اسانس ها و عصاره های گیاهی به عنوان مواد ضد میکروبی افزایش چشمگیری داشته است.

گیاه درمنه[1] از خانواده کاسنی ها[2] بوده و بین ۲۰۰ تا ۴۰۰ گونه ی آن در سراسر دنیا وجود دارد که برحسب شرایط اقلیمی در نقاط مختلف رشد می کنند، در ایران ۳۴ گونه از این گیاه وجود دارد. بسیاری از گونه های درمنه معطر و غنی از عصاره هستند که این عطر ویژه ناشی از وجود مونوترپن ها سزکویی ترپن ها بوده و دلیل کاربرد آنها در طب سنتی است. گونه های درمنه عملکرد ضد التهابی و تب بر داشته و خاصیت ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد مالاریایی، ضد قارچی و آنتی اکسیدانی دارند. ترکیبات آن به عنوان مواد مقوی، اشتها آور، محرک، ضد عفونی کننده، باز کننده مجاری و عروق و در تسکین دردهای روماتیسمی به کار می روند [۲]. دوگونه درمنه دشتی [3]و درمنه کوهی[4]پوشش غالب مناطق استپی و نیمه استپی را تشکیل می دهند. درمنه کوهی، گیاهی با بوته ای به ارتفاع ۲۵ تا ۵۰ سانتی متر می باشد که در شرایط بیش از ۳۰۰ میلی متر بارندگی سالیانه رشد می کند. بررسی های انجام شده بر این گیاه وجود فلاونویید ها، سانتونین ها، لیپیدها و ترکیبات تلخ را در قسمت های مختلف گیاه نشان داده است. میزان اسانس فرار در این گیاه ۰/۴ درصد است [۳]. درمنه دشتی نیز عنصر اصلی و غالب در استپ های خشک و نیمه خشک کشور محسوب می شود. ارتفاع این گیاه بین ۳۰ تا ۵۰ سانتیمتر بوده و دارای انشعابات متعدد است که شکل کپه ای به بوته می دهد. مونوترپن ها و سزکویی ترپن ها از اسانس درمنه دشتی جداسازی شده و میزان اسانس فرار این گونه ۳/۴۴٪ است [۴].در طب سنتی ایران گیاه درمنه کوهی با خواص قابض، ضد عفونی کننده، ضد میکروب، ضد انگل و ضد مسمومیت شناخته می شود. اسانس درمنه کوهی دارای قدرت دورکنندگی شدیدی از حشرات دارد و این خاصیت با افزایش غلظت اسانس مورد استفاده افزایش می یابد [۵].

زوفا [5] گیاهی چند ساله از خانواده ***Lamiaceae*** است. شامل ۱۰ تا ۱۲ گونه بوده و بومی قفقاز، شمال غربی ایران، ترکیه، منطقه دریای سیاه، شمال شرقی و جنوب آناتولی می باشد.در حال حاضر این گیاه به طور گسترده در شمال و مرکز اروپا و همچنین در فرانسه، روسیه، اسپانیا، ایران و ایتالیا وجود دارد [۶]. به عنوان یک گیاه دارویی زوفا در عفونت های ویروسی مانند سرما خوردگی، سرفه، گلودرد، برونشیت و آسم استفاده می شود. طول گیاه زوفا ۲۰ تا ۲۵ سانتی متر می رسد و دارای برگهایی براق و به رنگ سبز تیره با لبه ها و نوک تیز می باشد که طول برگها به ۲ تا ۴ سانتی متر و عرض آنها به ۰/۵ تا ۱ سانتی متر می رسد [۷]. عصاره و اسانس روغنی زوفا علاوه بر کاربرد دارویی در مواد غذایی مختلف مانند سس، لیکور و ادویه تند قابل استفاده است. به عنوان یک گیاه دارویی زوفا در عفونت های ویروسی مانند سرماخوردگی، سرفه، گلو درد، برونشیت و آسم استفاده می شود. زوفا حاوی مواد ضد التهابی و ضد اسپاسم بوده و در درمان فشار خون و دیابت موثر است [۸]. همچنین تحقیقات نشان می دهد که اسانس زوفا دارای

1. *Artemisia*
2. *Asteraceae compositae*
3. *Artemisia sieberi*
4. *Artemisia aucheri*
5. *Hyssopusofficinalis L.*

اثر ضد باکتریایی و ضد قارچی نیز میباشد[۹]. محبوبی و قاضیان در سال ۱۳۸۸ ضمن شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس درمنه کوهی به بررسی خاصیت ضد میکروبی آن پرداختند [۱۰]. هاشمی و همکاران (۲۰۰۷) ترکیبات شیمیایی و فعالیت ضد باکتریایی اسانس حاصل از درمنه دشتی را ارزیابی نمودند[۱۱]. فرزانه و همکاران(۲۰۰۶) ترکیبات آلفا-توژان، بتا-توژان و کامفر را در اسانس این گیاه شناسایی کرده و عنوان نمودند این گیاه دارای اثر ضد قارچی قوی می باشد[۱۲]. نوشین دهقان زاده و همکاران در سال ۲۰۱۲ خاصیت ضد باکتریایی اسانس گیاه زوفای برداشت شده از کوه های سپیدان در جنوب غربی ایران را بررسی نمودند [۹]. کیزیلی و همکاران (۲۰۱۰) به بررسی ترکیبات شیمیایی، فعالیت آنتی اکسیدان و اثر ضد باکتریایی گیاه زوفا برداشت شده از جنوب شرقی آناتولی پرداختند[۱۳]. مارینو و همکاران (۲۰۱۰) اثر سه ترکیب اصلی اسانس زوفا را بر ۶ گونه باکتری گرم مثبت و ۹ گونه باکتری گرم منفی بررسی کردند[۱۴].

با توجه به اینکه گیاهان انتخاب شده از اصلی ترین گیاهان یافت شده در استان خراسان رضوی (گناباد) بوده و دارای مصارف گوناگونی در انواع غذاهای سنتی مردم این منطقه می باشند، سعی بر این شد تا در این بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره آبی گیاهان فوق مورد آزمون قرار گیرد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- جمع آوری نمونه های گیاهی

گیاه درمنه دشتی و کوهی در فروردین و اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۲ ازکوه ها و دشت های جنوب غربی شهرستان گناباد و همچنین گیاه زوفا از دشت های اطراف جاده گناباد به قائن جمع آوری گردید. برگ و ساقه گیاهان مورد نظر پس از جداسازی با آب سرد شسته و در سایه خشک شدند. عمل خشک کردن ۵ روز به طول انجامید.

۲-۲- آماده سازی عصاره آبی

برای تهیه عصاره آبی، از روش خیساندن [۱] استفاده گردید، به این ترتیب که مقدار ۵۰ گرم از پودر خشک شده گیاهان در ارلن های استریل دربدار توزین و با ۲۵۰ سی سی آب مقطر استریل داغ مخلوط شد. مخلوط ها به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر اربیتال IKA با دور ۲۴۰/ min قرار گرفتند تا به این ترتیب عصاره ها تهیه شوند. سپس با کاغذ صافی محلول را صاف کرده و صاف شده عصاره ها در داخل فور با دمای ۴۰ درجه خشک شدند. پودر بدست آمده از عصاره گیاهان در لوله آزمایش استریل جمع آوری و توزین گردید و تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شدند[۱۵].

۲-۳- آماده سازی کشت های باکتری

باکتری *اشرشیا کلی* [2] ATCC25922، باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز*[3] ATCC7644 و باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*[4] ATCC25923 از بخش باکتری شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه گردید. به منظور دستیابی به کشت تازه و فعال از میکروارگانیسم های مورد مطالعه، از محیط کشت ذخیره، میکروارگانیسم مورد نظر دو بار به طور متوالی به محیط کشت برین هارت اینفیوژن [5] منتقل شده و در دمای ۳۵ درجه و به مدت ۱۸ ساعت گرمخانه گذاری گردید. سپس از کشتهای ۱۸ ساعت دوم، مقادیر مختلف به محیط کشت *BHI* منتقل شده و جذب نوری با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر تعیین گردید و بعد از آن سوسپانسیون باکتری معادل نیم مک فارلند تهیه شد[۱۶].

۲-۴- تعیین حداقل بازدارندگی[6] (*MIC*) به روش میکرودایلوشن براث

ابتدا جهت تهیه غلظت مادر برای عصاره آبی غلظتی برابر با ۳۲۰mg/ml تهیه و با استفاده از فیلتر میکروبی ۰/۴۵ میکرون استریل گردیده و سپس غلظتهای سریالی برای عصاره آبی تهیه شدند. در میکروپلیت های ۹۶ خانه مقادیر ۱۰۰ میکرولیتر از هریک از غلظتهای عصاره تهیه شده و ۹۵ میکرولیتر محیط کشت *BHI* براث و ۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری معادل نیم مک فارلند در هر میکروپلیت ریخته شد[۱۷]. غلظت های نهایی برای عصاره درمنه دشتی، درمنه کوهی و زوفا مقادیر ۳۲۰، ۱۶۰،۸۰، ۴۰، ۲۰، ۱۰، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵ و ۰/۶۲۵ میلی گرم در میلی لیتر بود.

1. *Maceration*

2. *Escherichia coli*
3. *Listeria monocytogenes*
4. *Staphylococcus aureus*
5. Brain-heart infusion*(BHI)*
6. Minimum inhibitory concentration

در هر بار آزمایش از تمام رقتهای عصاره آبی همراه با محیط کشت بدون تلقیح باکتری به عنوان شاهد در ردیف یازدهم جهت مقایسه کدورت در نظر گرفته شد. همچنین در ردیف دوازدهم از تمام باکتریها همراه با محیط کشت و بدون تلقیح عصاره آبی به عنوان شاهد جهت تایید رشد باکتریها درنظر گرفته شد. پس از کشت، میکروپلیت ها در روی شیکر به مدت سه ثانیه قرارداده شد تا کاملا مخلوط یکنواخت گردد. سپس میکروپلیتها به مدت ۲۴ ساعت در اینکوباتور ۳۷ درجه قرار گرفته و نتایج پس از این مدت مورد مطالعه قرار گرفت. برای هر یک از عصاره ها ۳ بار تکرار انجام شد[۱۷].

۲-۵- تعیین حداقل غلظت کشندگی[1] (*MBC*)

مقدار ۱۰ میکرو لیتر از هر یک از میکروپلیت هایی که کدورت آنها از کدورت ستون آخر کمتر بود و یا به عبارتی باکتری در آن رشد نکرده بود را بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار [2] تلقیح و کشت داده و پس از ۲۴ ساعت انکوباتور گذاری در دمای ۳۷ درجه، پلیت ها از نظر رشد باکتری بررسی گردید و غلظت اسانس که حداقل ۹۹٫۹٪ از سلول های میکروبی را کاهش می دهد، به عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته شد [۱۷].

این مطالعه نیاز به آنالیز آماری مشخص ندارد، بلکه از طریق مقایسه کدورت کشت های انجام شده محدوده اثر ضدباکتریایی هر عصاره بر باکتری ها تعیین می شود.

۳- نتایج

کدورت کشت های انجام شده در میکروپلیت ها بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری توسط دستگاه خواننده الایزا تعیین شد و با مقایسه آنها با نمونه ی شاهد MIC تعیین گردید. در جدول ۱ نتایج حداقل غلظت بازدارندگی عصاره گیاهان درمنه و زوفا بر باکتری های مورد آزمون ذکر شده است.

بعد از پایان گرمخانه گذاری، میزان کدورت نمونه ها توسط دستگاه الایزاریدر اندازه گیری گردید. بعد از سه بار تکرار هر آزمون، از نتایج میانگین و انحراف معیار گرفته وسپس گراف های تعیین محدوده یMIC توسط نرم افزار اسلاید رایت[3] رسم گردید. این گراف ها بر اساس محل تلاقی نمودار کدورت مربوط به تیمار (میکروارگانیسم، عصاره آبی و محیط کشت) با نمودار کدورت مربوط به شاهد (عصاره و محیط کشت) محدوده اثر ضد باکتریایی عصاره های مورد نظر را مشخص می کنند. بر اساس شکل ۱ محدوده اثر ضد باکتریایی عصاره آبی درمنه کوهی برای باکتری *اشرشیاکلی* بین ۳۲۰ تا ۱۶۰ میلی گرم بر میلی لیتر است. شکل۲ محدوده ی اثر عصاره درمنه کوهی را بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان می دهد که بر این اساس بین ۱۶۰ تا ۶۰ میلی گرم بر میلی لیتر می باشد. همچنین بر اساس شکل ۳ محدوده اثر عصاره درمنه کوهی بر *لیستریامونوسیتوژنز* بین ۱۶۰ تا ۴۰ میلی گرم بر میلی لیتر است.

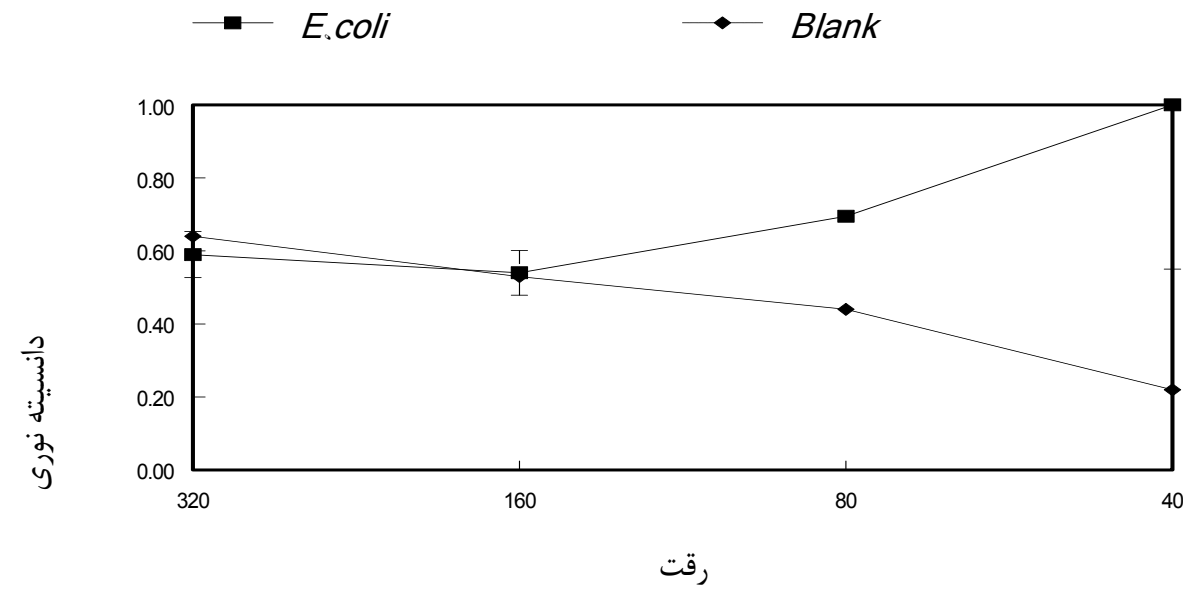
شکل های ۴، ۵ و ۶ محدوده اثر ضدباکتریایی عصاره آبی درمنه دشتی را به ترتیب بر باکتری *های اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس، اورئوس و لیستریا مونوسیتوژنز* نشان می دهد، که بر این اساس بیشترین تاثیر عصاره درمنه دشتی مربوط به باکتری *لیستریامونوسیتوژنز* (۸۰-۳۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر) و کمترین محدوده ی اثر مربوط به باکتری *اشرشیاکلی* (۱۶۰-۳۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر) است.

عصاره آبی زوفا نسبت به درمنه کوهی و دشتی دارای اثربخشی بیشتری بر باکتری های مورد آزمون داشت به طوری که بر باکتری اشرشیاکلی در محدوده ی ۱۶۰ تا ۷۰ میلی گرم بر میلی لیتر شکل(۷) موثر بوده و برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسیتوژنز به ترتیب ۱۶۰ تا ۴۰ و ۱۶۰ تا ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر(شکل۸ و ۹) تاثیر می گذارد.

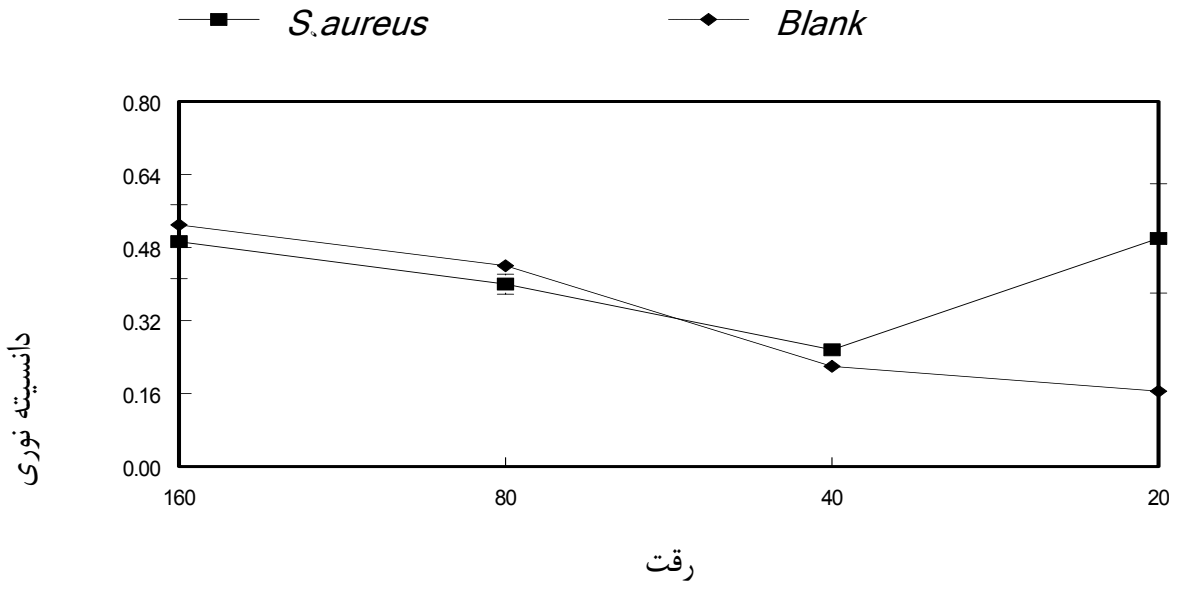
1. Minimum bactericidal concentration
2. Mueller Hinton Agar.
3. Slide Write Plus

جدول۱ حداقل غلظت بازدارنده عصاره آبی درمنه کوهی، درمنه دشتی و زوفا علیه باکتری های مورد مطالعه به روش میکروبراث دایلوشن

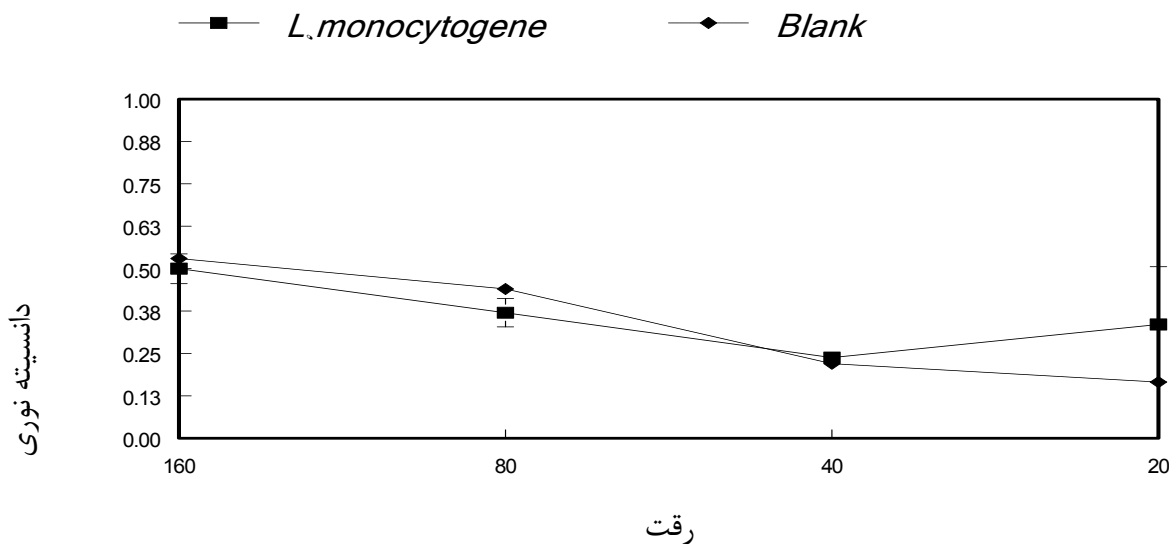
	سویه های مورد آزمون		
	E.coli	*S.aureus*	*L.monocytogenes*
عصاره آبی درمنه کوهی	۱۶۰±۰,۰۶ mg/ml	۸۰±۰,۰۲ mg/ml	۸۰±۰,۰۳ mg/mgl
عصاره آبی درمنه دشتی	۱۶۰±۰,۰۲mg/ml	۸۰±۰,۰۶ mg/ml	۸۰±۰,۰۱ mg/mgl
عصاره آبی زوفا	۸۰±۰,۰۶ mg/ml	۴۰±۰,۰۹ mg/ml	۴۰±۰,۰۶ mg/ml



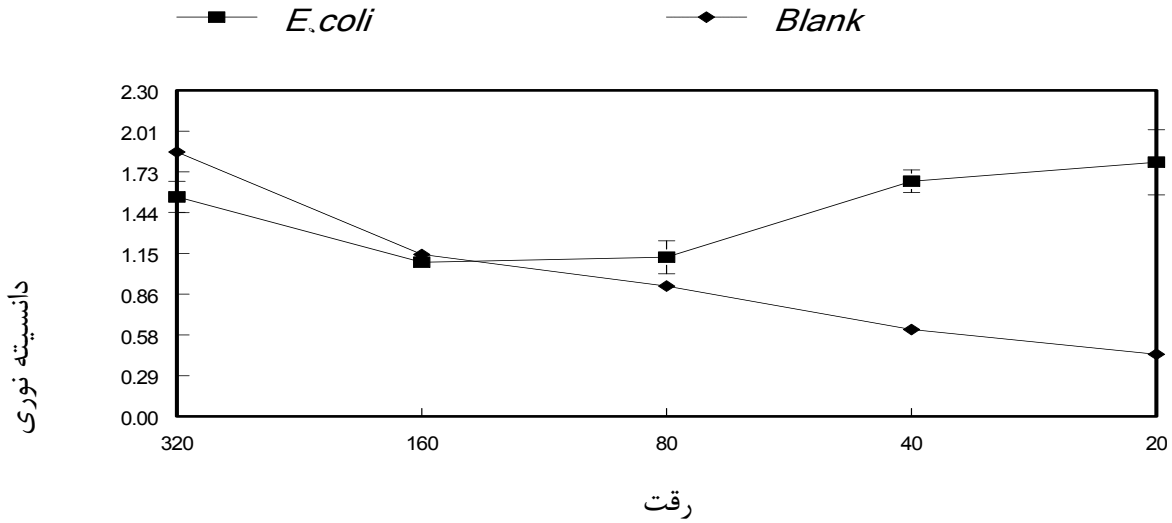
شکل ۱ محدوده اثر ضد باکتریایی عصاره آبی درمنه کوهی بر باکتری *اشرشیاکلی*



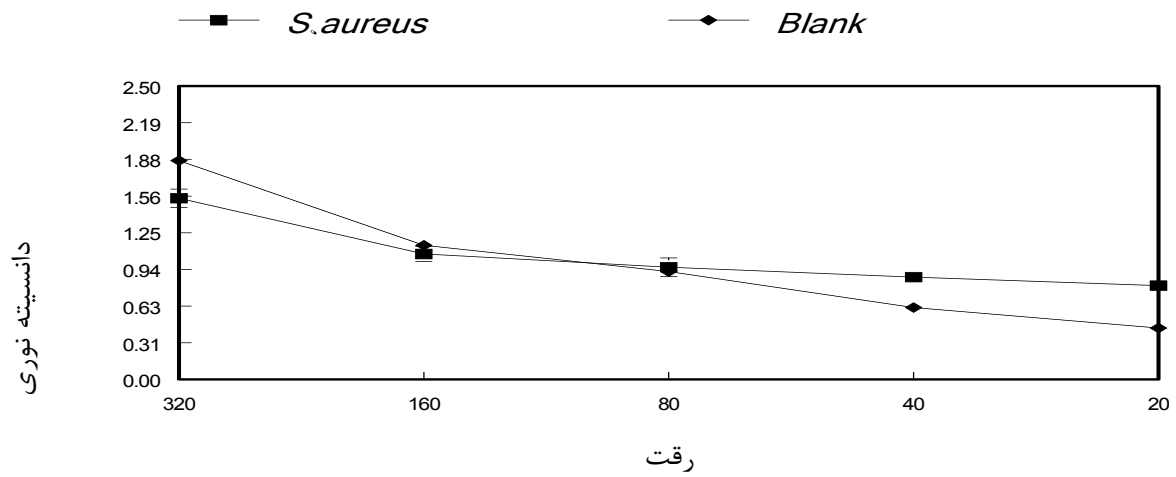
شکل ۲ محدوده اثر ضد باکتریایی عصاره آبی درمنه کوهی بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*



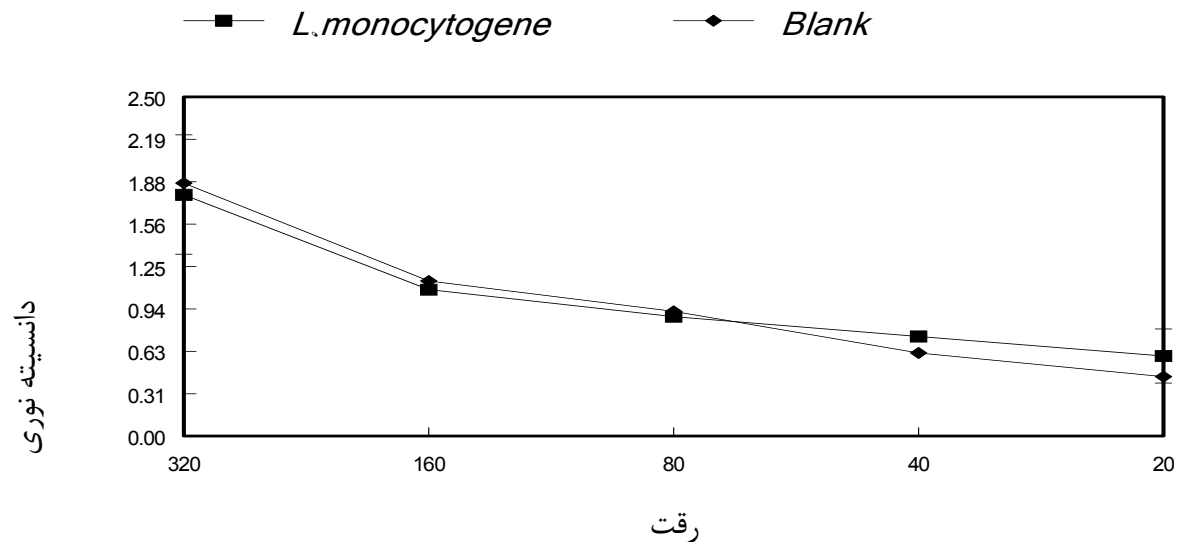
شکل۳ محدوده اثر ضد باکتریایی عصاره آبی درمنه کوهی بر باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز*



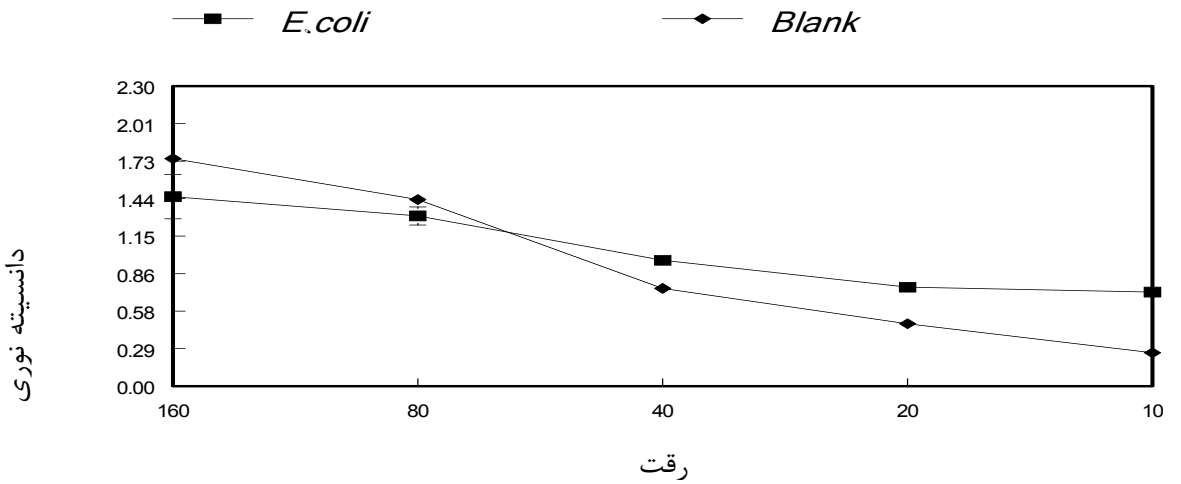
شکل ۴ محدوده اثر ضد باکتریایی عصاره آبی درمنه دشتی بر باکتری *اشرشیاکلی*



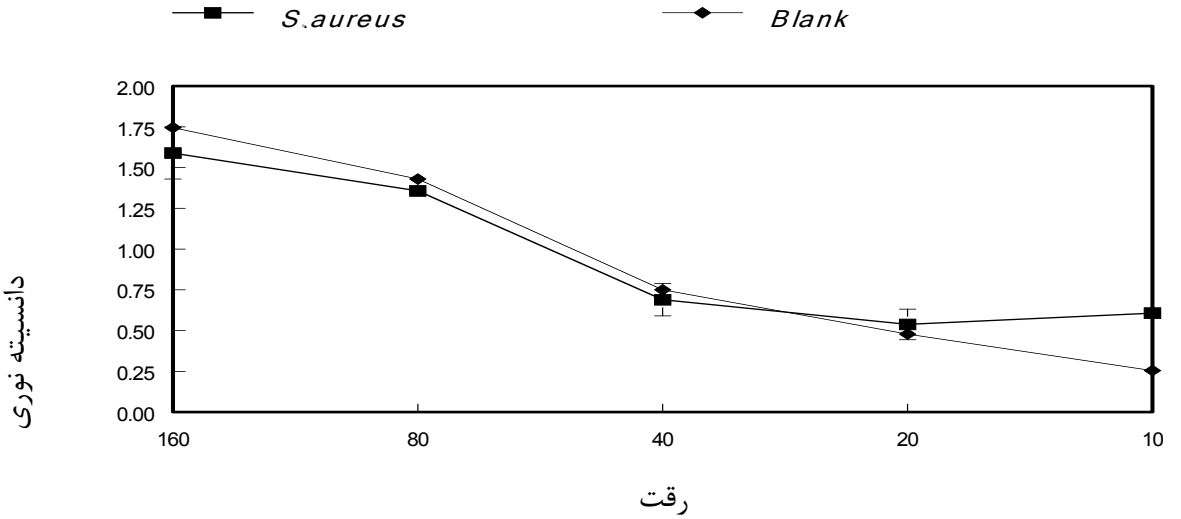
شکل ۵ محدوده اثر ضد باکتریایی عصاره آبی درمنه دشتی بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*



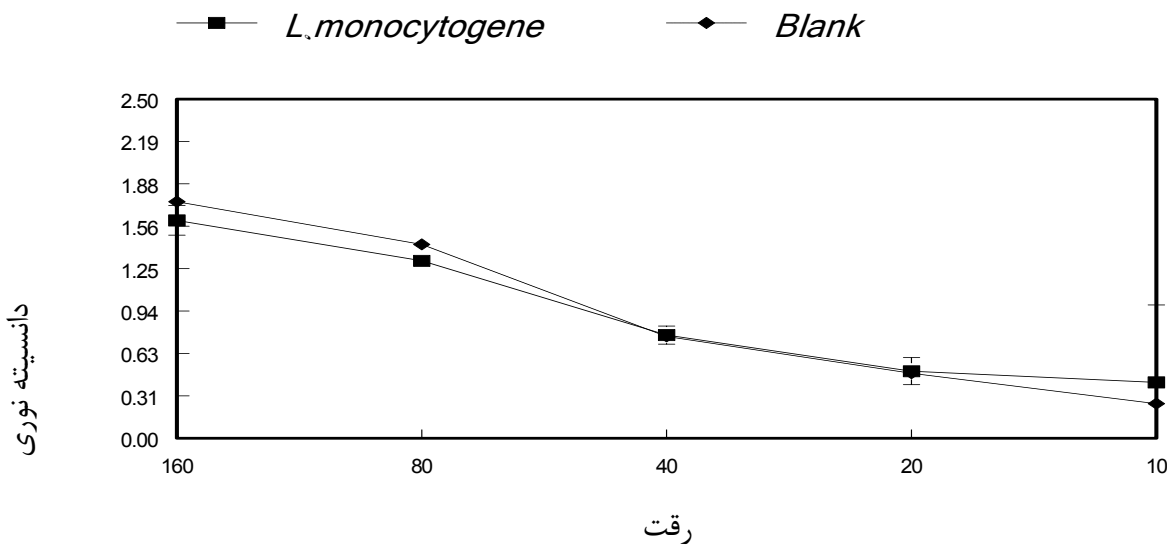
شکل ۶ محدوده اثر ضد باکتریایی عصاره آبی درمنه دشتی بر باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز*



شکل ۷ محدوده اثر ضد باکتریایی عصاره آبی زوفا بر باکتری *اشرشیاکلی*



شکل ۸ محدوده اثر ضد باکتریایی عصاره آبی زوفا بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*



شکل ۹ محدوده اثر ضد باکتریایی عصاره آبی زوفا بر باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز*

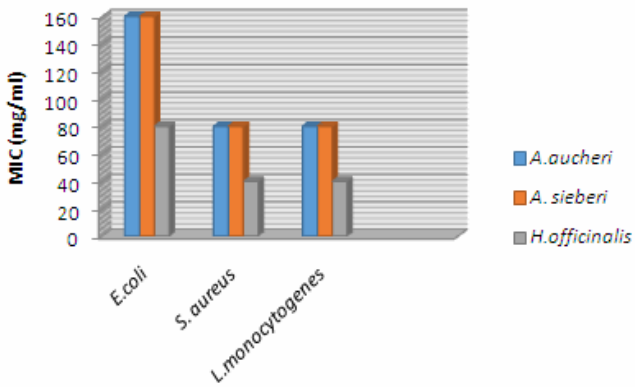
برای اندازه گیری حداقل غلظت کشندگی اسانس ها و عصاره های مورد آزمون، کشت های انجام شده بر روی محیط کشت مولر هینتون بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری مورد بررسی قرار گرفت، اولین پلیتی که هیچ رشد میکروارگانیسمی در آن مشاهده نشود به عنوان غلظت برابر با حداقل غلظت کشندگی انتخاب می شود. نتایج در جدول ۲ عنوان شده است.

جدول ۲ حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی درمنه کوهی، درمنه دشتی و زوفا علیه باکتری های مورد آزمون

	سویه های مورد آزمون		
	E.coli	*S.aureus*	*L.monocytogenes*
عصاره آبی درمنه کوهی	۱۶۰ mg/ml	۱۶۰ mg/ml	۸۰ mg/mgl
عصاره آبی درمنه دشتی	۳۲۰ mg/ml	ND	۸۰ mg/mgl
عصاره آبی زوفا	۱۶۰ mg/ml	۳۲۰ mg/ml	۱۶۰ mg/ml

ND: NO Detriment

بررسی فعالیت ضد باکتریایی عصاره آبی درمنه کوهی، درمنه دشتی و زوفا نشان داد که عصاره آبی گیاهان فوق روی هر سه سویه باکتری مورد آزمون اثر بازدارندگی دارد. عصاره آبی درمنه کوهی و درمنه دشتی دارای قدرت بازدارندگی یکسانی علیه باکتری ها بودند، به طوریکه بر باکتری *اشرشیاکلی* با حداقل قدرت بازدارندگی ۱۶۰ میلی گرم بر میلی لیتر و بر باکتری های *استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسیتوژنز* با حداقل غلظت بازدارندگی ۸۰ میلی گرم بر میلی لیتر اثر مهار کننده داشتند. عصاره آبی زوفا دارای اثر ضد باکتریایی قوی تری علیه باکتری های مورد آزمون داشت. حداقل قدرت بازدارنده برای باکتری *اشرشیا کلی* ۸۰ میلی گرم بر میلی لیتر و برای باکتری های گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسیتوژنز* ۴۰ میلی گرم بر میلی لیتر بود. در شکل ۱۰ اثر ضد باکتری سه گونه گیاهی روی سه گونه باکتری مقایسه شده است.



شکل ۱۰ مقایسه اثر ضد باکتریایی سه گونه گیاهی مورد آزمون بر باکتری های *اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسیتوژنز*.

۴- بحث و نتیجه گیری

هر چند خصوصیات ضد باکتریایی ترکیبات موثره گیاهی شامل اسانس و عصاره در گذشته مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است، ولی مکانیسم عمل آنها در کاهش و یا حذف بار میکروبی نیاز به مطالعات بیشتری دارد.با وجود اینکه تعداد زیادی از ترکیبات شیمیایی گیاهان بسیار شبیه به هم هستند، اما یک مکانیسم ویژه برای اثر بر میکروارگانیسم ها ندارند بلکه هر یک از ترکیبات هدف خاصی را در سلول عهده دار می باشند. عامل اصلی اثر ضد باکتریایی عصاره ها و اسانس های گیاهی ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده ی آنها است. یکی از عواملی که باعث قدرت ضد باکتریایی عصاره آبی زوفا نسبت به عصاره آبی درمنه کوهی و دشتی شده است، تفاوت در ترکیبات آنهاست. از جمله مواد موثره گیاهی که تاثیر زیادی بر میکروارگانیسم ها دارد ترکیبات فنولی و مهم ترین آنها کارواکرول و تیمول می باشد[۱۸]. بر اساس تحقیق دهقان زاده و همکاران (۲۰۱۲) [۹] اسانس گیاه زوفا دارای میزان قابل توجهی کارواکرول (۷/۷۳ ٪) و تیمول (۱۸/۹۵ ٪) می باشد در حالیکه ارزیابی ترکیبات موثره گیاهان درمنه دشتی و درمنه کوهی نشان می دهد که گیاهان فوق فاقد این ترکیبات هستند[۱۹،۱۱-۲۲]. کاراکرول منجر به فروپاشی شار پروتون و تخلیه ATP می شود به طوریکه اندازه گیری میزان ATP درون سلولی و خارج سلولی نشان می دهد که بعد از حضور کارواکرول در محیط میزان ATP درون سلولی کاهش و در خارج سلول به طور توقف ناپذیری در حال افزایش است [۱۸].

بر اساس نتایج این تحقیق باکتری های گرم مثبت دارای حساسیت بیشتری در برابر عصاره های گیاهی می باشند که این نتیجه با نتایج تحقیقات پیشین در مورد باکتری های گرم مثبت و گرم منفی یکسان است [۲۳،۱۸]. علت حساس تر بودن باکتری های گرم مثبت نسبت به مواد شیمیایی و اسانس ها و عصاره های گیاهی، اختلاف ساختمان دیواری می باشد. باکتری های گرم مثبت در دیواره سلولی خود دارای موکوپپتید بوده، در حالیکه باکتری های گرم منفی فقط لایه ی نازکی از موکوپپتید دارند و قسمت اعظم ساختمان دیواره در آنها لیپوپروتئین و لیپوپلی ساکارید است. در حقیقت باکتری های گرم منفی یک غشاء خارجی در اطراف دیواره سلولی خود دارند که به همین دلیل آنها را در برابر مواد ضد باکتریایی مقاوم ترمی سازد [۲۴]. تخریب دیواره سلولی منجر به نشت محتویات سلولی به بیرون و در نتیجه مرگ سلول می شود.میزان اثر این ترکیبات به دوز و زمان اثر آنها بستگی دارد.غلظت بالاتر منجر به افزایش سرعت نابودی میکروارگانیسم ها می شود در نتیجه برای ایجاد اثر ضد باکتریایی مشابه در دوز های پایین باید از زمان بیشتری استفاده کرد[۱۸].

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان میدهد که عصاره آبی نمونه های آزمایش شده دارای اثر ضد باکتریایی می باشند و امکان استفاده از آنها در صنایع غذایی به عنوان بازدارنده امکان پذیر است. از طرفی چون گیاهان مورد آزمون دارای عطر و طعم مطلوبی هستند می توان در کنار یک عامل بازدارنده و ضد باکتریال طبیعی از آنها به عنوان طعم دهنده در مواد غذایی با ویژگی های خاص استفاده نمود. تحقیقات بیشتری در زمینه اثر ترکیبات این گیاهان بر سایر میکروارگانیسم ها لازمه ی اجرا دارد. همچنین می توان خصوصیات ارگانولپتیک ماده غذایی بعد از افزودن ترکیبات موثره گیاهی را مورد بررسی قرار داد. به علاوه باید کاربرد اسانس ها و عصاره های گیاهی در مواد غذایی از نظر اقتصادی مورد بررسی قرار گیرد و مشخص گردد که آیا این امر قابلیت اجرایی دارد یا خیر.

۵- تقدیر و تشکر

بدین وسیله از مسئولین محترم دانشگاه علوم پزشکی گناباد- معاونت غذا و دارو که امکانات آزمایشگاهی جهت انجام این طرح را فراهم نمودند کمال تشکر را داریم.

۶- منابع

[1] Frazier, W., Westhoff, D. 1987. Food Microbiology. Translated by: Mortazavi, S.A., Kashani Neja, M., Ziaolhagh, H. 2006. 4th Edition, Mashhad University Publication. pp: 531-560.

[2] Massry, K., Ghorab, A., Farouk, A. 2002. Antioxidant activity and volatile components of egyptian, *Artemisia judaica*. Food Chemistry. 79: 331-336.

[3] Dinani, NJ., Asgary, A., Madani, H., Naderi, G., Mahzoni, P. 2010. Hypocholesterolemic and antiatherosclerotic effect of *Artemisia aucheri* in

hypercholesterolemic rabbits. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences. 23(3): 321-325.

[4] AliAbadi, H., Nasri, M. and Mirshekari, B. 2010. Effect of Nitrogen Fertilizer and method for its consumption of qualitative and quantitative performance of *Artemisia*. Journal of Crop Ecophysiology. 2(3): 68-175.

[5] AzadBakht, M., Ziaaei, Abdollahi, F. and Shaabankhani, B. 2003. Effect of plant essential oils of *Artemisia aucheri, Thymus vulgaris* and *Myrtus communis* on *Trichomonas vaginalis*. Journal of Medicinal Plant. 8: 34-40.

[6] Kazazi, H., Rezaei, K., Ghotb-Sharif, SJ.,Emam-Jomeh, Z. and Yamini, Y., 2007. Extraction of flavors and fragrances from *Hyssopus officinalis* L. cultivated in Iran. Food Chemistry. 105(2): 805-811.

[7] Fathiazad, F. and Hamedeyazdan, S. 2011. A review on *Hyssopus officinalis* L.: Composition and biological activities. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. 5(17): 1959-1966.

[8] Najafpour navayi, M. and Mirza, M. 2003. Comporision of chemical components of *Hyssopus officinalis* L. essential oil in vitro and in natural habitat. Iranian journal of medical and aromatic plants. 18: 41- 53.

[9] Dehghanzadeh, N., Ketabchi, S. and Alizadeh, A. 2012. Essential oil composition and antibacterial activity of *Hyssopus officinalis* L. grown in Iran. Asian Journal *of Experimental Biological* Science.3(4): 767-771.

[10] Mahbubi, M. and GhaziyanBidgoli, F.1388. Evaluation of chemical composition and antimicrobial properties of essential oil of Artemisia aucheri Boiss. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 25(3): 429-440.

[11] Hashemi, P., Abolghasemi, M., Fakhari, A., Ebrahimi, S. and Ahmadi, S. 2007. Hydrodistillation-solvent microextraction and GC-MS identification of volatile components of *Artemisia aucheri*. Chromatographia. 66: 283-286.

[12] Farzaneh, M., Ahmadzadeh, M., Hadian, J. and Tehrani, A.S. 2006. Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of three species of *Artemisia* on some soil-borne phytopathogens. Communications in agricultural and applied biological sciences. 71: 1327–1333.

[13] Kizil, S., Hasimi, N., Tolam, V., Kilinc, E. and Karatas, H. 2010. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of Hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) essential oil. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj. 38: 99-103.

[14] Marino, M., Bersani, C., Comi, G. 2001. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from *Lamiaceae* and *Compositae*. International Journal of Food Microbiology. 67:187–195.

[15] Naeini, A., Nasseri, M., Kamali-Nejad, M., Khoshzaban, F., Rajabiyan, T., Isma'ilzadih Nami, Ex., Mansouri, P., Zaviyeh, D. 1390. Effects of 50 essential oils and extracts medicinal Plants of Iran on standard strains of Candida albicans invitro. Journal of Medicinal Plants. 38:163-172.

[16] Akhondzade, A., Razavi, V., Misaghi, A., AbbasiFar, R., Radmehr, B. and Khalighi, F. 2003. Effect of thyme essential oils on Salmonella typhimurium in brain and heart broth. Journal of Medicinal Plants. 8: 84-91.

[17] Moreire, M.R., Ponce, A.G. and Roura, S.I. 2005. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a food born pathogen. LWT. 38: 565- 570.

[18] Burt, S. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods: A review. International Journal of Food Microbiology . 94(3): 223-253.

[19] Farzaneh, M., Ahmadzadeh, M., Hadian, J. and Tehrani, A.S. 2006. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of three species of *Artemisia* on some soil borne phytopathogens. Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences. 71(3): 1327- 1333.

[20] Mohammadpour, S.K., Yari, M., Rustaiyan, A. and Masoudi, S. 2002. Chemical constituents of the essential oil of *Artemisia aucheri* Boiss. a species endemic to Iran. Journal of Essential Research. 14(2): 122- 123.

[21] Behmanesh, B., Heshmati, G.A., Mazandarani, M., Rezaei, M.B., Ahmadi, A.R., Ghaemi, E.O. and Bakhshandeh, S. 2007. Chemical composition and antibacterial activity from essential oil of *Artemisia sieberi* Besser sub sp. *Sieberi* in north of Iran. Asian Journal of Plant Sciences. 6: 562- 564.

[22] Ghorbani-Ghouzhdi, H., Sahraroo, A., Asghari, H. and Abbasdokht, H. 2008. Composition of essential oils of *Artemisia sieberi* and *Artemisia Khorasanica* from Iran. World Applied sciences Journal. 5(3): 363-366.

[23] Skandamis, P., Koutsoumanis, K., Fasseas, K.and Nychas, G.-J.E. 2001. Inhibition of oregano essential oil and EDTA on *Escherichia coli O157:H7*. Italian Journal of Food Science. 13(1): 65–75.

[24] Soltani Nezhad, Sh., Mokhtari Sataeei, T. and Soltani Nezhad, M. 2010. Evaluation of antibacterial activity of eucalyptus leaf extract against *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* and *Streptococcus pyogenes* in vitro, Journal of Islamic Azad University of Microbial Biotechnology. 4: 21-28.

Antibacterial effect of aqueous extract of *Artemisia aucheri*, *Artemisia sieberi* and *Hyssopus officinalis* L. on the food borne pathogenic bacteria

Nasirpour, M. [1*], Yavarmanesh, M. [2], Mohhamadi Sani, A. [3], Mohamdzade Moghadam. M, [4].

1. Department of Food Science & Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan,Iran.
2. Department of food science and technology, Faculty of agriculture, Ferdowsi university of Mashhad.
3. Department of Food Science & Technology,QuchanBranch, Islamic Azad University, Quchan,Iran.
4. MSc of food science Engeineering, Expert of laboratory food and drug deputy, Gonabad university of Medical science ,Gonabad, Iran.

In this study, the antibacterial aqueous extract of mountain sagebrush, *Artemisia sieberi*, *Artemisia aucheri* and *Hyssopus officinalis* against the bacteria such as *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* were investigated. The extracts were prepared by maceration and then the minimum inhibitory concentration (MIC) using the broth micro-dilution and minimal bactericidal concentration (MBC) was measured. The minimum inhibitory concentration of aqueous *Artemisia aucheri* and *Artemisia sieberi* against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* was 160, 80 and 80 $mgml^{-1}$ respectively. Also, the minimum inhibitory concentration of aqueous extract of hyssop against *Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* was 80, 40 and 40 $mgml^{-1}$ respectively. Based on these results, the aqueous extracts of the three plants have the strong antibacterial effect against gram-positive bacteria. The most sensitive organism regarding extracts experiment was *Listeria monocytogenes* wheras the most resistant bacteria was *Escherichia coli*. Among the extracts, the *hyssop* had the highest antibacterial activity While the antibacterial activity of aqueous extract of *Artemisia aucheri* and *Artemisia sieberi* were identical.

Keyword: Antibacterial, Aqueous extract, *Artemisia, Hyssopus officinalis*.

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