مجله زیست فناوری گیاهان دارویی
سال دوم، شماره چهارم، پاییز و زمستان ۱۳۹۵

ارزیابی اثرات ضدباکتریایی عصاره‌های آبی و اتانولی گیاهان بیلهر، آویشن شیرازی و چویل در مقابل برخی پاتوژن‌های بیماری‌زا

سید مهدی اجاق[۱*]، نرگس محمدی[۲]، آریا باباخانی لشکان[۳]، عصمت محمدی[۲]

چکیده

به دلیل اثرات جانبی ناشی از مصرف نگهدارنده‌های شیمیایی و همچنین افزایش روز افزون مقاومت باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، شناسایی ترکیبات ضدمیکروبی با منشاء طبیعی در سالهای اخیر مورد توجه فراوان قرار گرفته است. لذا مطالعه حاضر به منظور ارزیابی اثرات ضدباکتریایی عصاره‌های آبی و اتانولی بیلهر، آویشن شیرازی و چویل انجام شد. از آزمون انتشار از دیسک برای ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی استفاده گردید. همچنین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) با استفاده از روش رقت لوله‌ای تعیین شد. با توجه به نتایج، عصاره‌ی آویشن شیرازی دارای اثر ضدباکتریایی قوی می‌باشد. بطوریکه در رقت µg/ml ۱۰ رشد *Listeria monocytogenes* و *Staphylococcus aureus* را متوقف نمود و در غلظت µg/ml ۲۰ دارای اثر کشندگی بر *Staphylococcus aureus* بود. همچنین عصاره‌ی اتانولی بیلهر در غلظت‌های پایین بر *Listeria monocytogenes* و *Staphylococcus aureus* اثر ضدباکتریایی نشان داد و در غلظت µg/ml ۴۰ نیز بر *Escherichia coli* موثر بود. عصاره‌ی اتانولی چویل نیز در غلظت‌های مورد استفاده بر باکتری‌های مورد آزمایش موثر بود. بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به عصاره‌ی اتانولی بیلهر بر *L. monocytogenes* بود. طبق نتایج این مطالعه، عصاره‌های این گیاهان را می‌توان به عنوان یک منبع بالقوه از ترکیبات ضدمیکروبی در صنایع غذایی و پزشکی مورد استفاده قرار داد.

واژه‌های کلیدی: فعالیت ضدباکتریایی، عصاره‌های آبی و اتانولی، گیاهان بیلهر، آویشن شیرازی، چویل

۱*-دانشیار، دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،mahdi_ojagh@yahoo.com
۲-کارشناسی ارشد، دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۳-استادیار، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان

مقدمه

آلودگی میکروبی از جمله مشکلاتی است که صنایع غذایی، آشامیدنی، آرایشی و بهداشتی، و داروسازی با آن مواجه می‌باشند. افزایش بیماری منتقله از غذا توسط پاتوژن یا انتروتوکسین‌های آن‌ها به یکی از نگرانی‌های بزرگ تولیدکنندگان و پژوهشگران صنایع غذایی تبدیل شده است. گونه‌های مختلفی از باکتری‌ها از قبیل *Staphylococcus*، *Salmonella*، *Yersinia* و *Clostridium* منجر به اختلالات دستگاه گوارش مانند اسهال و استفراغ می‌شوند. علاوه بر این، برخی از این میکروارگانیسم‌ها از طریق فساد مواد غذایی منجر به زیان‌های اقتصادی می‌گردند (Mianabadi et al., 2015 ;Demirci et al., 2008). بنابراین با توجه به ماهیت فسادپذیری بسیاری از مواد غذایی، لازم است که از فساد آن‌ها در طی فرآوری، آماده‌سازی، نگهداری و توزیع پیشگیری نمود. از سویی تجارت مواد غذایی و انتقال این مواد به مناطق دور دست، اهمیت ایجاد شرایط مناسب برای پیشگیری از فساد آن‌ها را افزایش داده است (اختیارزاده و همکاران، ۱۳۹۰). همچنین بیماری‌های عفونی از مهمترین بیماری‌های شایع درجهان هستند که بار مالی فراوانی را به جوامع بشری تحمیل می‌نمایند.

آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی در دهه‌های گذشته هر چند توانسته‌اند نقش مهمی را در درمان بیماری‌های عفونی ایفا نمایند، اما مشکلاتی که در رابطه با بروز مقاومت‌های میکروبی آنتی‌بیوتیک‌ها به وجود آمده باعث گردیده است تا به مصرف هر چه بیشتر داروهای گیاهی گرایش پیدا شود (Ayfer and ;Cowan, 1999 ;Burt, 2004 Turgay, 2003). علاقه به استفاده از منابع جدید با پتانسیل ضدمیکروبی مانند ترکیبات طبیعی موجود در گیاهان در سال‌های اخیر به دلیل کاهش اثرات جانبی استفاده از آن‌ها، افزایش یافته است. بنابراین، در دهه گذشته تحقیقات زیادی برای شناسایی ترکیبات ضدمیکروبی به ویژه ترکیبات ضدمیکروبی با منشاء طبیعی انجام شده است. گونه‌های گیاهی موجود در ایران از تنوع بالایی برخوردار بوده، که کمتر مورد توجه قرار گرفته و برنامه‌ریزی اصولی و مدونی برای بهره‌برداری از این ذخایر طبیعی به عنوان جایگزین مناسب برای نگهدارنده‌های شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌ها در صنایع غذایی و دارویی، وجود ندارد. از این رو مطالعه حاضر به منظور بررسی خواص ضدباکتریایی عصاره‌های سه گونه گیاهی بومی کشور از قبیل آویشن شیرازی، بیلهر و چویل صورت گرفته است. گیاه آویشن شیرازی با نام علمی (*Zataria multiflora* Boiss) متعلق به خانواده Labiatae بوده که تنها در نقاط گرم ایران، افغانستان و پاکستان رشد می‌کند. از این گیاه دارویی معطر در برخی از رساله‌های قدیمی پزشکی با نام‌های Saatar یا Zaatar نیز یاد شده است (Fazeli et al., 2007; Saei-Dehkordi et al., 2010). گیاه بیلهر متعلق به خانواده Apiaceae می‌باشد که در استان‌های جنوبی ایران، در اوایل بهار رشد می‌کند (Mianabadi et al., 2015). چویل نیز متعلق به خانواده Apiaceae بوده که در مناطق کوهستانی غرب ایران رشد می‌کند (Hosseini et al., 2012)(شکل ۱).

شکل۱- a: چویل (Ferulago angulate) ،b: آویشن شیرازی (Zataria multiflora Boiss) ،c: بیلهر (Dorema aucheri)

مواد و روش ها

باکتری های مورد بررسی

در این مطالعه از سویه‌های باکتریایی گرم مثبت *Staphylococcus aureus* (ATCC 29737) و *Listeria monocytogenes* (ATCC 19117) و باکتری گرم منفی *Escherichia coli* (ATCC 10536) استفاده شد. سویه‌های میکروبی مذکور از مرکز منطقه‌ای کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران خریداری شدند.

تهیه عصاره

عصاره‌ی گیاه آویشن شیرازی با نام علمی (*Zataria multiflora* Boiss) از شرکت داروسازی گیاه اسانس گرگان خریداری شد. گیاه چویل (*Ferulago angulata*) از کوه‌های اطراف شهرکرد و گیاه بیلهر (*Dorema aucheri*) از کوه‌های اطراف شهرستان یاسوج جمع‌آوری شدند. سپس برگ تازه این گیاهان در سایه خشک و توسط آسیاب پودر و در شرایط بهینه و مناسب نگهداری شدند. جهت تهیه عصاره‌های مختلف به صورت زیر عمل شد.

الف) عصاره‌های آبی: مقدار ۱۰۰ گرم از پودر گیاه با ۱۰۰۰میلی لیترآب مخلوط گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد توسط انکوباتور شیکردار (Gerhardt, Germany) هم زده شد. پس از این مرحله، بخش جامد توسط کاغذ صافی جدا گردید. عصاره بدست آمده در نهایت توسط خشک کن انجمادی (Alpha 1-2 LD plus, Germany) در دمای ۵۰- درجه سانتی‌گراد، خشك و به پودر تبدیل شد.

ب) عصاره‌های اتانولی: میزان ۱۰۰۰ میلی لیتر حلال (اتانول۹۶%) با ۱۰۰ گرم پودر گیاه مخلوط گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دما ۲۵ درجه سانتی‌گراد توسط انکوباتور شیکردار (Gerhardt, Germany) هم زده شد. پس از این مرحله، بخش جامد توسط کاغذ صافی جدا گردید. عصاره به دست آمده به وسیله تبخیرکننده چرخشی (روتاری) تحت خلاء (Buchi, B-480 B-169, Switzerland) در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و فشار کم تغلیظ و در نهایت توسط خشک کن انجمادی (Alpha 1-2 LD plus, Germany) در دمای ۵۰- درجه سانتی‌گراد، خشك و به پودر تبدیل شد. همه‌ی عصاره‌ها تا زمان انجام آزمایشات در ظروف غیر قابل نفوذ به هوا و نور در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

تعیین MIC[1] و MBC[2]

روش رقت لوله‌ای برای سنجش حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد میکروارگانیسم و حداقل غلظت کشندگی میکروارگانیسم به این صورت انجام شد که به یک سری لوله (۱۰عدد) که حاوی محیط کشت مولرهینتون براث استریل بود، به لوله اول یک میلی‌لیتر عصاره با غلظت ۳۲۰ میکروگرم اضافه گردید. پس از مخلوط کردن، ۱ میلی‌لیتر از لوله اول به لوله دوم و سپس ۱ میلی‌لیتر از لوله دوم به لوله سوم، به همین ترتیب تا لوله آخر انجام شد و سرانجام یک میلی‌لیتر از لوله آخر بیرون ریخته شد. به تمامی لوله‌ها ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری اضافه گردید (۰/۵ مک فارلند). یک لوله حاوی محیط کشت و باکتری جهت کنترل مثبت و یک لوله حاوی محیط کشت جهت کنترل منفی تهیه گردید. تمامی لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند، سپس آخرین لوله‌ای که در آن هیچ گونه کدورت ناشی از رشد مشاهده نگردید به عنوان حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد میکروارگانیسم در نظر گرفته شد در واقع کدر شدن محیط داخل لوله‌ها نشان دهنده رشد باکتری‌ها بوده و اولین لوله‌ای که در آن کدورت مشاهده نگردید و کاملا شفاف بود به عنوان MIC در نظر گرفته شد. پس از تعیین MIC، جهت تعیین میزان MBC در شرایط کاملا استریل از محتویات لوله‌های آزمایشی که به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شده و میزان MIC آن‌ها تعیین گردیده و فاقد کدورت

1. Minimal inhibitory concentration
2. Minimum Bactriocidal Concentration

بودند، مقداری از محلول را در پلیت‌های حاوی محیط کشت، کشت سطحی کرده و مدت ۲۴ ساعت در آون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس رشد و عدم رشد باکتری‌ها بررسی شد. اولین غلظتی که در آن عدم رشد مشاهده گردید به عنوان MBC در نظر گرفته شد (Kumar and Chauhan, 2006 ;Alkalin et al., 1999).

تعیین قطر هاله عدم رشد با استفاده از روش انتشار از دیسک

برای تعیین اثرات ضدمیکروبی، حجم‌های مشخصی از عصاره گیاه را به دیسک‌های بلانک اضافه کرده و پس از کشت باکتری‌های مورد نظر، دیسک‌ها را روی محیط کشت مولر هینتون آگار قرار داده و سپس این مجموعه را در انکوباتور با دمای مناسب (۳۷درجه سانتی گراد) گذاشته و بعد از گذشت مدت زمان لازم برای رشد میکروارگانیسم (۱۸-۲۴) آن‌ها را بیرون آورده و بررسی و میزان هاله عدم رشد توسط خط کش میلی‌متری اندازه‌گیری شد (جلالی و همکاران، ۱۳۸۶).

تجزیه تحلیل آماری

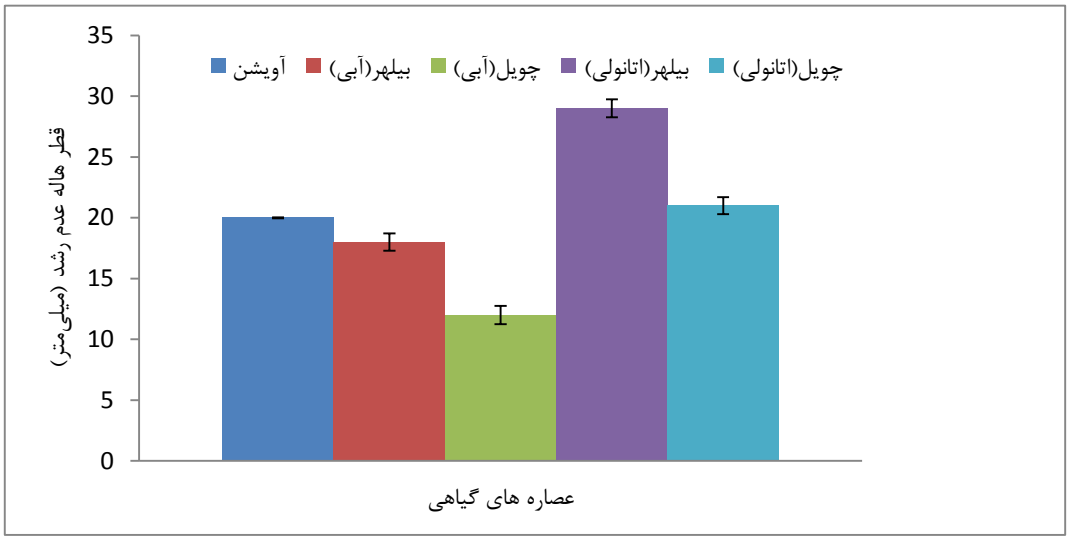
تمامی آزمایشات در سه تکرار انجام شد و مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOWA-One-Way) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال($P<۰/۰۵$) صورت گرفت. از نرم افزار (SPSS version 16) برای آنالیز آماری و Excel برای رسم نمودارها استفاده گردید.

نتایج و بحث

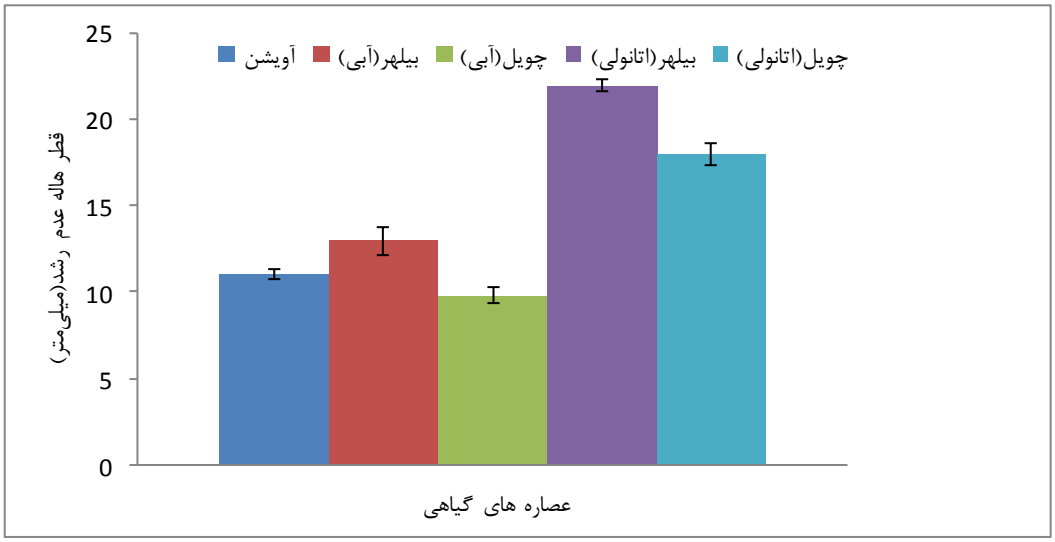
در بررسی اثر ضد باکتریایی، عصاره‌ی آبی آویشن در غلظت ۱۰ µg/ml بر *L. monocytogenes* و *S. aureus* و در غلظت۲۰ µg/ml بر *E. coli* اثر ضدباکتریایی از خود نشان داد. اثر کشندگی این عصاره در غلظت ۳۰ µg/ml بر *L. monocytogenes* ، در غلظت۲۵µg/ml بر *S. aureus* و در غلظت ۴۰ µg/ml بر *E. coli* مشاهده شد. همچنین عصاره‌ی اتانولی بیلهر در غلظت ۱۵ µg/ml بر *L. monocytogenes* و *S. aureus* و در غلظت ۴۰ µg/ml بر *E. coli* اثر ضدباکتریایی از خود نشان داد. اثر کشندگی این عصاره درغلظت ۴۰ µg/ml بر *L.monocytogenes*، در غلظت ۳۰ µg/ml بر *S.aureus* و در غلظت ۲۴۰ µg/ml بر *E. coli* مشاهده گردید.

عصاره‌ی اتانولی چویل درغلظت ۴۰ µg/ml بر *L. monocytogenes* , در غلظت ۱۵ µg/ml بر *S. aureus* و در غلظت ۶۰µg/ml بر *E. coli* اثر ضدباکتریایی نشان داد. اثر کشندگی این عصاره در غلظت ۱۶۰ µg/ml، در غلظت ۲۰µg/ml بر *S. aureus* و در غلظت ۲۴۰ µg/ml بر *E. coli* مشاهده شد. اما اثر ضدباکتریایی عصاره‌ی آبی بیلهر و چویل در غلظت‌های مورد آزمایش موثر نبود.

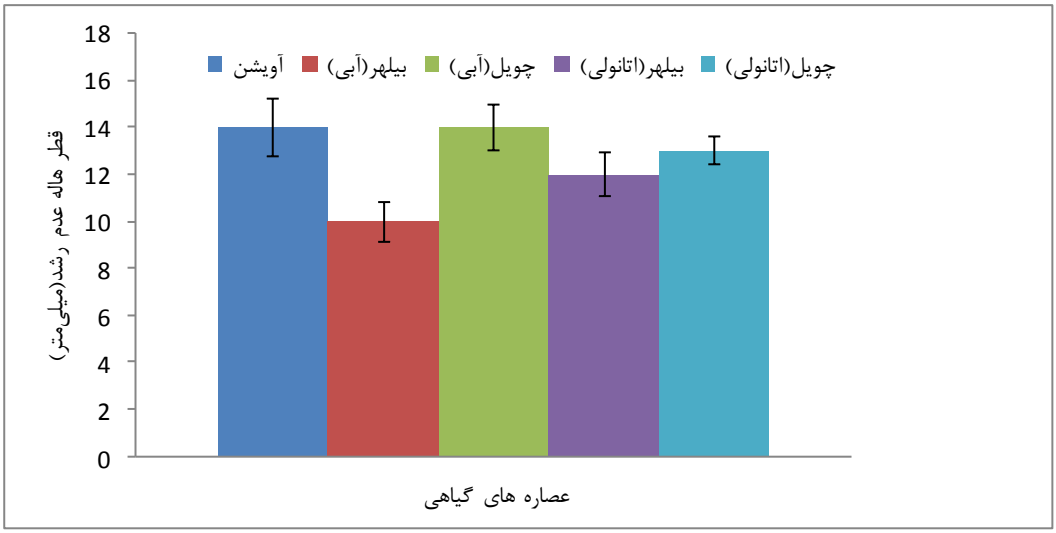
شکل۲ نشان دهنده‌ی مقایسه میانگین قطر هاله‌ی عدم رشد *L. monocytogenes* در محیط کشت حاوی عصاره‌های مورد نظر است. با توجه به نتایج در روش انتشار از دیسک قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک *L. monocytogenes* برای عصاره‌ی آویشن ۰/۰۴± ۲۰ mm ، عصاره‌ی اتانولی بیلهر ۰/۷۳ ± ۲۹ mm، عصاره‌ی آبی بیلهر ۰/۷۰± ۱۸ mm، عصاره‌ی اتانولی چویل ۰/۷۰ ± ۲۱ mm و عصاره‌ی آبی چویل ۰/۷۴ ± ۱۲ mm مشاهده گردید. همچنین قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک *S. aureus* برای عصاره‌ی آویشن ۰/۲۸ ± ۱۱ mm، عصاره ی اتانولی بیلهر ۰/۳۵± ۲۲ mm ، عصاره‌ی آبی بیلهر ۰/۸۱± ۱۳ mm، عصاره‌ی اتانولی چویل ۰/۶۳ ± ۱۸ mm و عصاره‌ی آبی چویل ۰/۴۹ ± ۹/۸ mm می‌باشد. با توجه به شکل ۳، قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک *E. coli* برای عصاره ی آویشن ۱/۲۴ ± ۱۴ mm، عصاره‌ی اتانولی بیلهر ۰/۹۴ ± ۱۲ mm، عصاره‌ی آبی بیلهر ۰/۸۴ ± ۱۰ mm، عصاره‌ی اتانولی چویل ۰/۵۹ ± ۱۳ mm و عصاره‌ی آبی چویل ۰/۹۴ ± ۱۴ مشاهده شد.



شکل۲- میانگین قطر هاله‌ی عدم رشد *L.monocytogenes* در محیط کشت حاوی عصاره‌های مورد نظر.



شکل۳- میانگین قطر هاله‌ی عدم رشد *S. aureus* در محیط کشت حاوی عصاره‌های مورد نظر



شکل ۴- میانگین قطر هاله‌ی عدم رشد *E. coli* در محیط کشت حاوی عصاره‌های مورد نظر

یافته‌های بسیاری در زمینه‌ی اثرات ضدباکتریایی فراورده‌های طبیعی نشان داده است که اکثر گیاهان دارویی که خاصیت ضدمیکروبی دارند بر باکتری‌های گرم مثبت تاثیر بیشتری دارند، در حالی که تعداد کمی از آن‌ها بر باکتری‌های گرم منفی اثر می‌گذارند (Herrera et al., 1996; Meng et al., 2000; Scrinivasan et al., 2001). علت حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به ترکیبات ضدباکتریایی، ممکن است ناشی از وجود تفاوت در دیواره‌ی سلولی آن‌ها با این دیواره در باکتری‌های گرم منفی باشد به این صورت که باکتری‌های گرم مثبت در دیواره‌ی خود تنها یک لایه دارند، در حالی که در باکتری‌های گرم منفی این دیواره از چند لایه تشکیل شده است (Enzo et al., 2002). این امر با نتایج حاصل از این مطالعه نیز تطبیق می‌کند.

نتایج مطالعه ما(شکل۳،۲ و ۴) نشان داد که باکتری‌های گرم مثبت *L. monocytogenes* و *S. aureus* دارای حساسیت بیشتری نسبت به باکتری گرم منفی *E. coli* هستند. در واقع عصاره‌های گیاهی مورد استفاده در این بررسی درجات متفاوتی از اثر ضدمیکروبی بر روی باکتری‌های مورد آزمایش نشان دادند. در این میان عصاره‌ی آویشن بیشترین تاثیر را بر روی *L. amonocytogenes* و *S. aureus* نشان داد به گونه‌ای که در غلظت ۱۰ µg/ml از رشد آن‌ها جلوگیری و در غلظت ۲۵ µg/ml موجب مرگ *S. aureus* شد. همچنین برخی محققین اثر اسانس آویشن شیرازی را بر کاهش تعداد *S. aureus* در فیله ماهی کپور نقره‌ای بررسی کردند با توجه به نتایج این اثرات ضدمیکروبی را می‌توان به محتوای ترکیبات فنولی موجود در اسانس نسبت داد (Choobkar et al., 2012).

مطالعات دیگر نشان داد اسانس آویشن از نظر مهارکنندگی رشد و کشندگی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بسیار قوی بوده که به دلیل وجود تیمول و کارواکرول موجود در این اسانس است و در میان باکتری‌های مورد بررسی، بیشتر از همه روی *S. aureus* موثر بوده که از طریق اثر گذاشتن بر دیواره‌ی سلولی باکتری‌ها اثر می‌کنند (شهنازی و همکاران، ۱۳۸۶). در تحقیق حاضر از عصاره‌ی آبی بیلهر و چویل در روش MIC و MBC هیچ گونه اثرات ضدمیکروبی مشاهد نگردید. بنابراین به نظر می‌رسد یکی از دلایلی که می‌تواند اثرات ضدباکتریایی عصاره یا اسانس یک گیاه را تحت تاثیر قرار دهد، محیط کشت مورد استفاده جهت آزمایشات ضدباکتریایی می‌باشد. تفاوت در اثرات ضدمیکروبی یک ماده در محیط کشت‌های گوناگون به اثبات رسیده است (Tassou et al., 1995). عامل دیگری که ممکن است اثرات ضدباکتریایی عصاره‌ی یک گیاه را تحت تاثیر قرار دهد، روش عصاره‌گیری و نوع حلال مورد استفاده

می‌باشد. عصاره‌هایی که با روش‌ها و حلال‌های متفاوت از یک گونه گرفته شده می توانند اثرات ضدباکتریایی متفاوتی بر روی یک باکتری خاص از خود نشان دهند (Nostro et al., 2000).

در مطالعه حاضر از نظر شاخص قطر هاله، اثرات عصاره‌ی اتانولی به مراتب بهتر از عصاره آبی بود به گونه‌ای که عصاره‌ی الکلی بیلهر و چویل بر روی باکتری‌های مورد بررسی قطر هاله عدم رشد قابل قبولی ایجاد کردند و بیشترین هاله عدم رشد *L.monocytogenes* ۰/۷۳ mm ± ۲۹ مربوط به عصاره اتانولی بیلهر بود. علت این امر را شاید بتوان به خروج ترکیبات موثره‌ی بیشتر، هنگام استفاده از ترکیبات الکلی هنگام استخراج نسبت داد به طوری که با توجه به نتایج طباطبایی و همکاران (۲۰۰۴)، عصاره اتانولی گیاه چویل در مقایسه با عصاره آبی گیاه چویل اثر بازدارندگی بیشتری روی سوش‌های مورد مطالعه داشت. این محققین علت این امر را به درصد استحصال بیشتر عصاره اتانولی نسبت به عصاره آبی و در نتیجه استخراج بیشتر مواد موثر در گیاه چویل توسط حلال اتانول نسبت دادند. همچنین مطالعات (Amiri, 2005) نشان داد که عصاره‌های اتانولی گیاه (*Allium Jesdianum*) از اسانس سایر عصاره‌ها اثرات ضدمیکروبی قوی‌تری دارد به گونه‌ای که در مورد اغلب میکروارگانیسم‌ها اثرات ضدمیکروبی عصاره‌های اتانولی بیشتر از جنتامایسین بود. براساس مطالعات دیگر، عصاره‌ی اتانولی پوسته ساقه گیاه اوریا گراندی فلورا دارای اثر قوی ضدباکتریایی علیه *Bacillus cereus* و *Staphylococcus aureus* بود و این مطلب بیانگر آن است که احتمالا فلاونوئیدها نقش کلیدی را در این بین دارا می‌باشند (Bibak et al., 2012). در مورد چویل و بیلهر به ترتیب وجود ترکیبات موثره‌ی فلاونوئید، تانن، ساپونین و فلاونوئیدها گزارش شده است و ثابت شده است که این ترکیبات از طریق اثر گذاشتن بر غشای سلولی و تخریب آن عمل می‌کنند.

نتیجه گیری

بر اساس نتایج این تحقیق عصاره‌های آویشن و عصاره‌های اتانولی بیلهر و چویل دارای اثرات ضدمیکروبی قابل توجهی بویژه بر روی باکتری‌های گرم مثبت هستند. همچنین با توجه به نتایج بدست آمده در این بررسی و سایر تحقیقات، عصاره‌ی گیاهان دارای اثرات ضدمیکروبی زیادی در محیط‌های آزمایشگاهی هستند بر این اساس امکان آن وجود دارد که بتوان از این ترکیبات به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در مواد غذایی استفاده کرد و به میزان زیادی از عوارض ناشی از بکارگیری ترکیبات شیمیایی نگهدارنده در مواد غذایی کاست. همچنین این ترکیبات را می‌توان منبع بالقوه‌ای از ترکیبات ضدباکتریایی به شمار آورد و در صنایع پزشکی برای اهداف دارویی مورد استفاده قرار داد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری صمیمانه خانم مهندس رویا خسروی و آقای دکتر اسماعیل عبدالله زاده تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

اختیارزاده، ح.، آخوندزاده بستی، الف.، میثاقی، ع.، ابراهیم زاده موسوی، ح.ع.، بکایی، س.، طاهرخانی، پ.، عباس زاده، س.، خنجری، ع.، نعمتی، غ. و جلالی، م.، عابدی، د.، اصغری، غ.ر. و رضایی، ز، (۱۳۸۶)، بررسی اثر ضد میکروبی چند نوع عصاره مختلف میوه گیاه *Pycnocycla spinosa*. مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ۱۷(۵۹): ۷۶-۸۶.

شهنازی، س.، خلیقی سیگارودی، ف.، اجنی، ی.، یزدانی، د.، اهوازی، م. و تقی زادفرید، ر. (۱۳۸۶). بررسی ترکیب های شیمیایی و خواص ضدمیکروبی اسانس حاصل از گیاه آویشن تالشی (*Thymus trautvetteri* Klokov & Desj. – Shost) فصلنامه گیاهان دارویی، ۶(۲۳): ۸۰-۸۸.

طباطبایی یزدی، ف.، علیزاده بهبهانی، ب. و حیدری سورشجانی، م. (۱۳۹۳). مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره گیاه چویل(*Ferulago angulata*) با انواع آنتی بیوتیک‌های رایج درمانی در شرایط آزمایشگاهی. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک، ۱۷(۳): ۳۵-۴۶.

Alkalin, E. (1999). Pharmaceutical botanical investigation of *ferulago* species growing in Western Turkey. Istanbul University, (PhD thesis).

Amiri, H. (2005). Evaluation substances found in essential oil and antimicrobial effects of essential oil and Different plant extracts *(Allium Jesdianum* Bioss Bushe). Journal of Medicinal plants, 6 (1): 39-44.

Ates, D.A. and Turgay, Ö. (2003). Antimicrobil activities of various medicinal and commercial plant extracts. Turkish Journal Biology, 27(3): 157-162.

Bibak, B., Khakshor, A., Kamali, H., Ahmadzadeh, G.R. and Amini-Moghadam-Farouj, N. (2012). Evaluation of Antibacterial Properties, Phytochemical Contents and Antioxidant Capacities of leaf and stem barks of *Uvaria grandiflora* Roxb. Journal of North Khorasan University of Medical Sciences, 4(1): 113-118.

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

Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, 12 (4): 564-582.

Choobkar, N., Soltani, M., Ebrahimzadeh-Mousavi, H.A., Akhonzadeh-Basti, A. and Matinfar, A. (2012). Effect of *Zataria multiflora* Boiss essential oil on the growth of *Staphylococcus aureus* in the light salted fillets of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). Iranian Journal of Fisheries Sciences, 9 (3): 352-359.

Demirci, F., Guven, K., Demirci, B., Dadandi, M.Y. and Baser, K.H.C. (2008). Antibacterial activity of two Phlomis essential oils against food pathogens. Food Control, 19(12): 1159-1164.

Enzo, A., Palombo, E.A. and Susan, J. (2002). Antibacterial activity of traditional Australian medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology, 77: 151-157.

Fazeli, M.R., Amin, G., Attari, M.M.A., Ashtiani, H., Jamalifar, H. and Samadi, N. (2007). Antimicrobial activities of Iranian sumac and avishan-e shirazi (*Zataria multiflora*) against some food-borne bacteria. Food control, 18(6): 646-649.

Herrera, R.M., Perez, M., Martin-Herrera, D.A. Lopez-Garcia, R., Rabanal, R.M. and Arias, A. (1996). Antimicrobial activity of extracts from plants endemics to the Canary Islands. Phytotheraphy Research, 10 (4): 364– 366.

Hosseini, N., Akbari, M., Ghafarzadegan, R., Changizi Ashtiyani, S. and Shahmohammadi, R. (2012). Total Phenol, antioxidant and antibacterial activity of the essential oil and extracts of *ferulago angulata* ssp. angulata. Journal of Medicinal Plants, 3(43): 80-89.

Kumar, V.P., Chauhan, N.S. Padh, H. and Rajani, M. (2006). Search for antibacterial and antifungal agents from selected Indian medicinal plants. Journal of Ethopharmacology, 107 (2): 182-188.

Mianabadi, M., Hoshani, M. and Salmanian, S. (2015). Antimicrobial and anti-oxidative effects of methanolic extract of *Dorema aucheri* Boiss. Journal of Agricultural Science and Technology, 17(3): 623-634.

Meng, J.C., Zhu, Q.X. and Tan, R.X. (2000). New antimicrobial mono- and sesquiterpenes from *Soroseris hookeriana* subsp. erysimoides. Planta Medica, 66 (06): 541–544.

Nostro, A., Germano, M.P., D'angelo, V., Marino, A. and Connatelli, M.A. (2000). Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. Letters in Applied Microbiology, 30 (5): 379-384.

Saei-Dehkordi, S.S., Tajik, H., Moradi, M. and Khalighi-Sigaroodi, F. (2010). Chemical composition of essential oils in *Zataria multiflora* Boiss. from different parts of Iran and their radical scavenging and antimicrobial activity. Food and Chemical Toxicology, 48(6): 1562-1567.

Srinivasan, D., Nathan, S., Suresh, T. and Perumalsamy, P.L. (2001). Antimicrobial activity of certain Indian medicinal plants used in folkloric medicine. Journal of Ethnopharmacology, 74 (3): 217–220.

Tassou, C.C., Drosinos, E.H. and Nychas, G.J.E. (1995). Effects of essential oil from mint *(Mentha piperita*) on *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes* in model food systems at 4 and 10 ˚C. Journal of Applied Bacteriology, 78(6): 593-600.

Journal of Medicinal Plants Biotechnology

Vol 2, No 4, Autumn & Winter 2016

Evaluation of antibacterial activity of aqueous and ethanolic extracts of *Dorema aucheri, Zataria multiflora* Boiss and *Ferulago angulata* against certain pathogenic microbes

Seyed Mehdi Ojagh[1*], Narges Mohammadi[2], Aria Babakhani Lashkan[3], Esmat Mohammadi[2]

Abstract

Due to the side effects of resulting from the consumption of chemical preservatives and also over increasing of bacterial resistance to the antibiotic, identification of natural origin antimicrobial compounds are very important. Therefore, the present study was performed to evaluate the antibacterial activity of aqueous and ethanolic extracts of *Dorema aucheri*, *Zataria multiflora* Boiss and *Ferulago angulate*. The antimicrobial activity of extracts evaluated by Disc diffusion. The Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) were determined by using the dilution method. The *Z. multiflora* Boiss extract had a strong antibacterial activity and stopped the growth of both *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in MIC of 10 & 20 µg/ml in respectively. Also *Dorema aucheri* ethanolic extract had antimicrobial activity against *Listeria monocytogenes* at less concentration and also it was effective on *Escherichia coli* in concentration of 40µg/ml. Moreover, *Ferulago angulata* ethanolic extract was effective on bacteria tested in concentration used. The highest diameter of inhibition zone was related to *Dorema aucheri* ethanolic extract on *Listeria monocytogenes*. According to the results, these extracts can be used as a potential sources of antibacterial compounds for food and pharmaceutical industries.

Keywords: Medicinal plants, Antibacterial activity, Aqueous and ethanol extracts.

1*- Associate Professor, Faculty of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, mahdi_ojagh@yahoo.com.

2- Masters student, Faculty of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.

3- Assistant Professor, Faculty of Natural Resources, Guilan University.