مقاله پژوهشی

مطالعه اثر ضدباکتریایی عصاره‌های الکلی و آبی آویشن (*Thymus persicus*) و پونه (*Mentha longifolia*) بر روی باکتری‌های جداشده از پنیرهای محلی شهر مراغه

راهله جوانمرد[۱]، سامان مهدوی[۲*]

۱- گروه مهندسی صنایع غذایی، واحد مراغه، دانشگاه آزاد اسلامی، مراغه، ایران
۲- گروه میکروبیولوژی، واحد مراغه، دانشگاه آزاد اسلامی، مراغه، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۱۰/۲۳ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۰۲/۱۱

چکیده

زمینه و هدف: مسمومیت‌های غذایی ناشی از باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس ارئوس* از طریق مصرف محصولات لبنی محلی مثل پنیر یکی از مشکلات بهداشتی در مواد غذایی محسوب می‌شود. امروزه استفاده از نگه‌دارنده‌های طبیعی به‌جای نگه‌دارنده‌های سنتتیک در مواد غذایی موردتوجه روزافزون قرارگرفته و گیاهان دارویی ازجمله این ترکیبات طبیعی هستند که یافتن اثر ضدمیکروبی آن‌ها از اولویت زیادی برخوردار است. هدف از انجام این تحقیق، مطالعه اثر ضدباکتریایی عصاره‌های الکلی و آبی گیاهان آویشن و پونه علیه باکتری‌های جداشده از پنیرهای محلی بود.

مواد و روش‌ها: پس از تهیه گیاهان آویشن و پونه، عصاره‌های الکلی و آبی این گیاهان جدا شد و اثر ضدمیکروبی آن‌ها بر روی جدایه‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس ارئوس* به‌دست‌آمده از پنیرهای محلی به روش میکرودایلوشن در غلظت‌های ۱۰۰-۰/۳۹ درصد موردبررسی قرار گرفت. از سوش‌های استاندارد *اشریشیا کلی* PTCC1270 و *استافیلوکوکوس ارئوس* PTCC1112 به‌عنوان شاهد استفاده شد.

نتایج: عصاره الکلی (اتانولی) گیاهان آویشن و پونه اثر ضدباکتریایی بیشتری بر *استافیلوکوکوس ارئوس* در مقایسه با *اشریشیا کلی* نشان دادند ($P<0/05$). عصاره اتانولی گیاه آویشن اثر ضدباکتریایی بیشتری نسبت به عصاره اتانولی گیاه پونه از خود نشان داد ($P<0/05$). عصاره آبی گیاهان آویشن و پونه در غلظت‌های مورد آزمایش اثر ضدباکتریایی علیه *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس ارئوس* نشان ندادند ($P>0/05$).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این تحقیق، عصاره الکلی (اتانولی) گیاهان آویشن و پونه توان ضدباکتریایی بالایی داشته و می‌توان از آن‌ها به‌عنوان جایگزین نگه‌دارنده‌های سنتتیک و جهت محافظت مواد غذایی در برابر باکتری‌های عامل عفونت و مسمومیت مواد غذایی، بهره جست.

کلمات کلیدی: عصاره، آویشن، پونه، ضدباکتریایی، میکرودایلوشن

مقدمه

شیوع بالای بیماری‌های عفونی مقاوم به درمان به علت افزایش مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها و مشکلات موجود در کاربرد داروهای سنتتیک، ازجمله هزینه بالای دستیابی به داروهای جدید و عوارض جانبی داروهای موجود، توجه بسیاری از محققین را به طب سنتی معطوف کرده است. گیاهان معطر از زمان‌های قدیم به‌عنوان نگه‌دارنده و طعم‌دهنده مواد غذایی همراه با کاربرد دارویی آن‌ها مورد مصرف قرار گرفته‌اند. اخیراً توجه چشمگیری به استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی برای گسترش افزودنی‌های مواد غذایی جهت جلوگیری از رشد پاتوژن‌های غذازاد یا تأخیر تهاجم عوامل فساد مواد غذایی شده است (۱). گونه‌های آویشن دارای مقادیر بالایی از ایزومرهای مونوترپن‌های فنلیک تیمول و یا کاواکرول هستند (۲). گزارش‌هایی در مورد خواص ضدمیکروبی اسانس‌های گونه‌های مختلف آویشن و کاربرد آن‌ها در بخش‌های مختلف تجاری به‌عنوان مواد ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدان شده است (۳). این خواص عمدتاً

*نویسنده مسئول: **سامان مهدوی**، گروه میکروبیولوژی، واحد مراغه، دانشگاه آزاد اسلامی، مراغه، ایران
Email: S.mahdavi@iau-maragheh.ac.ir
https://orcid.org/0000-0002-5098-4058

بستگی به ترکیب شیمیایی و محتوای کاواکرول، اوژنول و تیمول آن‌ها دارد (۴). باکتری‌های *استافیلوکوکوس ارئوس* و *اشریشیا کلی* از طریق بیماری‌های عفونی و همچنین ایجاد مسمومیت‌های غذایی سلامت افراد را تهدید می‌کنند. از طرف دیگر این باکتری‌ها به‌سرعت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها از خود مقاومت نشان می‌دهند. لذا نیاز به ترکیبات طبیعی که اثر ضدباکتریایی مناسبی داشته و روند تولید سویه‌های مقاوم در آن کاهش یابد و اثرات جانبی کمتری را دارا باشد ضروری به نظر می‌رسد. ازآنجایی‌که باکتری‌های مذکور توزیع بسیار گسترده‌ای داشته و حذف کامل آن در بعضی غذاها غیرممکن است، کنترل رشد آن در غذا ضروری است؛ بنابراین تلاش برای یافتن نگه‌دارنده مناسب جهت جلوگیری از رشد این باکتری اجتناب‌ناپذیرخواهد بود (۵). به‌طورکلی گزارش‌ها حاکی از آن است که این میکروارگانیسم‌ها از مهم‌ترین باکتری‌های بیماری‌زا در ارتباط با صنایع فرآورده‌های لبنی می‌باشند، بنابراین تلاش برای یافتن نگه‌دارنده مناسب جهت مهار و از بین بردن این باکتری‌ها در مواد غذایی ضروری است (۶). در برخی از کشورها به‌منظور افزایش مدت‌زمان نگهداری مواد غذایی، از مواد ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدان که اکثراً سنتتیک هستند استفاده می‌شود (۷). این در حالی است که امروزه مصرف‌کنندگان آگاهی بیشتری در مورد عوارض استفاده از نگه‌دارنده‌های شیمیایی پیدا کرده‌اند و تقاضای غذاهای تازه‌تر، طبیعی‌تر و همراه با کنترل بیشتر را دارند. مکانیسم اثر ضدباکتریایی اسانس‌های گیاهی به خاصیت آب‌گریزی آن‌ها برمی‌گردد که موجب نفوذ این مواد به فسفولیپیدهای غشاء باکتری و سبب اختلال در ساختمان آن‌ها و افزایش نفوذپذیری می‌گردد. این امر موجب خروج و نشت یون‌ها و دیگر محتویات سلولی شده که درنهایت مرگ باکتری را در بر خواهد داشت (۸). پونه کوهی (*Origanum vulgare*) علاوه بر دارا بودن اثرات درمانی خاص به‌عنوان ادویه طعم‌دهنده کاربرد دارد. بالاترین ترکیبات موجود در آن پولگون و ۸-۱ سینئول است که اثرات ضدباکتریایی آن‌ها در مطالعه‌های مختلف گزارش شده است (۶). اثر ضدمیکروبی اسانس آویشن شیرازی بر روی *استافیلوکوکوس ارئوس* موردمطالعه قرار گرفته و مشخص‌شده که این اسانس بر روی این میکروب اثر قوی دارد (۹). ازآنجاکه سلامت غذا یک مسئله بنیادی چه از دیدگاه مصرف‌کننده مواد غذایی و چه از دیدگاه صاحبان صنایع غذایی بوده است و به علت دیدگاه منفی مصرف‌کنندگان در استفاده از مواد غذایی که در آن‌ها از نگه‌دارنده‌های شیمیایی استفاده شده است، توجه روزافزون تولیدکنندگان و مسئولین بهداشتی به استفاده از نگه‌دارنده‌های طبیعی و گیاهی معطوف شده است (۱۰). با توجه به اینکه محصولات لبنی سنتی ازجمله پنیر محلی بدون فرایند پاستوریزاسیون در روستاهای شهرستان مراغه تولید می‌شود، حضور باکتری‌های بیماری‌زا در این‌گونه محصولات امری غیرقابل‌اجتناب است و با توجه به تولید بالای این محصول در این شهرستان و عدم نظارت ارگان‌های مرتبط بر چگونگی تولید این محصول، نیاز به استفاده از ترکیباتی که بتواند بار میکروبی این محصولات را کاهش دهند، احساس می‌شود. ازاین‌رو هدف از انجام این تحقیق، مطالعه اثر ضدباکتریایی عصاره آبی و الکلی آویشن و پونه بر روی باکتری‌های جداشده از پنیرهای محلی بود.

مواد و روش‌ها

جهت انجام این مطالعه توصیفی- مقطعی در خردادماه سال ۱۳۹۵ اندام هوایی (برگ، گل و سرشاخه‌ها) گیاهان آویشن و پونه از مراکز فروش گیاهان دارویی در شهرستان مراغه خریداری شد و در هرباریوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مراغه مورد شناسایی قرار گرفت. شماره هرباریوم آویشن با کد ۱۱۴،۰۰۸،۰۰۱ و پونه با کد ۱۱۴،۰۱۹،۰۰۱ در این مطالعه بود. این گیاهان بعد از شستشو با آب مقطر، به‌دوراز نور خورشید و در دمای اتاق خشک شدند، سپس گیاهان خشک‌شده به‌وسیله آسیاب برقی خردشده و با هاون کاملاً به‌صورت پودر درآمدند، پودرهای به‌دست‌آمده از الک یک مش عبور داده شدند (۱۱). برای تهیه عصاره الکلی گیاهان آویشن و پونه از روش ماسراسیون (خیساندن) استفاده شد و حلال مورداستفاده اتانول ۹۶ درجه بود. بدین منظور ۱۵۰ گرم آویشن و پونه پودر شده، جداگانه به‌وسیله ترازوی دیجیتال به‌دقت وزن شدند، سپس جهت تهیه عصاره‌های الکلی، در مقدار ۷۰۰ cc الکل اتیلیک (اتانول) ۹۶ درجه حل شدند، پس از ۴۸ ساعت محلول‌ها با استفاده از قیف شیشه‌ای و کاغذ صافی فیلتر شدند و مجدداً ماده‌ای که بر روی کاغذهای صافی باقی‌مانده بودند در همان میزان الکل که بار اول مصرف شده بود حل‌شده و پس از ۴۸ ساعت مجدداً صاف شدند و برای بار سوم هم این عمل تکرار شد. برای تهیه عصاره‌های آبی آویشن و پونه، ۲۰ گرم از اندام‌های هوایی این گیاهان که به‌صورت پودر در آمده بودند در ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۲ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد، جوشیده شدند و سپس با استفاده از کاغذ صافی

(واتمن شماره یک) فیلتر شدند (۱۲). بدین ترتیب عصاره‌های اولیه به دست آمدند و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ g سانتریفیوژ شدند. جهت به دست آوردن عصاره‌های خالص و بدون حلال از دستگاه روتاری اواپراتور در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و تحت خلاء استفاده شد (۱۳). عصاره‌های حاصل در دستگاه فور در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک و درنهایت لیوفیلیزه شدند و در ظروف شیشه‌ای درب دار تیره در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف در یخچال نگهداری شدند.

در این مطالعه از ۳۱ جدایه باکتری *اشریشیا کلی* و ۲۲ جدایه باکتری *استافیلوکوکوس ارئوس* به‌دست‌آمده از پنیرهای محلی شهرستان مراغه که قبلاً تعیین هویت شده بودند و دو سوش استاندارد *E. coli* PTCC1270 و *S. aureus* PTCC1112 استفاده شد. از روش میکرودایلوشن (Microdilution) یعنی حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری (MIC) و حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) جهت مطالعه اثر ضدباکتریایی عصاره اتانولی و آبی آویشن و پونه استفاده شد (در سه تکرار). به‌این‌ترتیب که در یک ردیف از چاهک‌های میکروپلیت (به‌جز چاهک اول) مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محیط آبگوشت مغز و قلب (BHI) ریخته و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره را در چاهک اول و دوم ریخته و از چاهک دوم مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محتویات داخل چاهک را به چاهک سوم ریخته و این کار را تا چاهک نهم ادامه داده و درنهایت ۱۰۰ میکرولیتر از محتویات چاهک نهم به بیرون ریخته شد؛ بنابراین غلظت ۱۰۰ الی ۰/۳۹ درصد از عصاره در چاهک اول تا چاهک نهم ایجاد شد. از کشت تازه باکتری موردنظر غلظتی معادل غلظت شماره نیم آزمایش مک‌فارلند تهیه‌کرده و رقت ۱/۱۰۰ از آن را به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به تمام چاهک‌ها به‌جز چاهک ۱۱ و ۱۲ اضافه شد. در مرحله بعد از معرف رزازرین (به رنگ آبی یا بنفش) به مقدار ۳۰ میکرولیتر به تمام چاهک‌ها افزوده شد. چاهک شماره ۱۰ برای شاهد باکتری، چاهک شماره ۱۱ برای شاهد محیط کشت و چاهک شماره ۱۲ به‌عنوان شاهد عصاره در نظر گرفته شد. سپس چاهکی که تغییر رنگ بینابینی داد (به‌عنوان MIC در نظر می‌گیرند) را به همراه دو چاهک قبل و دو چاهک بعد با آنس استریل در محیط کشت BHI آگار کشت داده و پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد بررسی شدند. هرکدام از پلیت‌های مربوط به گودهها که رشد باکتری در آن صورت نگرفته بود، MBC عصاره در نظر گرفته می‌شد (۱۴). نتایج با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ با نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۱/۰) مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت.

نتایج

عصاره الکلی (اتانولی) گیاه آویشن در غلظت‌های پایین‌تر از ۳/۱۲ درصد، اثر ضدباکتریایی بر باکتری *اشریشیا کلی* نشان نداد، درحالی‌که اثر ضدباکتریایی همین عصاره الکلی در غلظت ۰/۷۸ درصد نیز، بر باکتری *استافیلوکوکوس ارئوس* مشاهده شد. عصاره الکلی (اتانولی) گیاه آویشن اثر ضدباکتریایی بیشتری بر *استافیلوکوکوس ارئوس* در مقایسه با *اشریشیا کلی* نشان داد (P=۰/۰۰۱) (جدول ۱).

عصاره الکلی (اتانولی) گیاه پونه در غلظت‌های پایین‌تر از ۶/۲۵ درصد، اثر ضدباکتریایی بر باکتری *اشریشیا کلی* نشان نداد، درحالی‌که اثر ضدباکتریایی همین عصاره الکلی در غلظت ۳/۱۲ درصد نیز، بر باکتری *استافیلوکوکوس ارئوس* مشاهده شد. عصاره الکلی (اتانولی) گیاه پونه اثر ضدباکتریایی بیشتری بر *استافیلوکوکوس ارئوس* در مقایسه با *اشریشیا کلی* نشان داد

جدول ۱- اثر ضدباکتریایی عصاره الکلی (اتانولی) گیاه آویشن بر باکتری‌های موردبررسی در پنیر محلی

عصاره الکلی (درصد) / باکتری	≥۵۰	۲۵	۱۲/۵	۶/۲۵	۳/۱۲	۱/۵۶	۰/۷۸	۰/۳۹
اشریشیا کلی	۳۱(-)	۳۱(-)	۲۳(-)	۱(-)	۱(-)	۳۱(+)	۳۱(+)	۳۱(+)
اشریشیا کلی PTCC1279	-	-	-	+	+	+	+	+
استافیلوکوکوس ارئوس	۲۲(-)	۲۲(-)	۲۲(-)	۱۶(-)	۷(-)	۴(-)	۱(-)	۲۲(+)
استافیلوکوکوس ارئوس PTCC1112	-	-	-	-	-	-	+	+

(-) عدم رشد باکتری؛ (+) رشد باکتری

(P=۰/۰۰۱) (جدول ۲). عصاره الکلی (اتانولی) گیاه آویشن اثر ضدباکتریایی بیشتری نسبت به عصاره اتانولی گیاه پونه از خود نشان داد (P=۰/۰۳).

عصاره آبی گیاهان آویشن و پونه در غلظت‌های مورد آزمایش اثر ضدباکتریایی بر باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس ارئوس* نشان ندادند (P=۰/۶۵) (جدول ۳).

نوع گیاه پونه بر باکتری‌های گرم مثبت ازجمله *استافیلوکوکوس ارئوس* مؤثر بودند (۱۵). همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره اتانولی پونه بر باکتری‌های *اشریشیا کلی* مؤثر بوده و این یافته‌ها با نتایج مطالعه Amrita و همکاران (۲۰۰۹) و Riahi و همکاران (۲۰۱۳) کاملاً هم‌خوانی دارد (۱۶، ۱۷). بررسی اثرات باکتری کشی اسانس گیاه پونه علیه باکتری‌های *اشریشا کلی* و

جدول ۲- اثر ضدباکتریایی عصاره الکلی (اتانولی) پونه بر باکتری‌های موردبررسی در پنیر محلی

عصاره الکلی (درصد) باکتری	≥۵۰	۲۵	۱۲/۵	۶/۲۵	۳/۱۲	۱/۵۶	۰/۷۸	۰/۳۹
اشریشیا کلی	۳۱(-)	۱۹(-)	۱(-)	۱(-)	۳۱(+)	۳۱(+)	۳۱(+)	۳۱(+)
اشریشیا کلی PTCC1279	-	-	+	+	+	+	+	+
استافیلوکوکوس ارئوس	۲۲(-)	۱۷(-)	۱۱(-)	۴(-)	۲(-)	۲۲(+)	۲۲(+)	۲۲(+)
استافیلوکوکوس ارئوس PTCC1112	-	-	-	-	-	+	+	+

(-) عدم رشد باکتری؛ (+) رشد باکتری

جدول ۳- اثر ضدباکتریایی عصاره آبی گیاهان آویشن و پونه بر باکتری‌های موردبررسی در پنیر محلی

عصاره آبی (درصد) باکتری	≥۵۰	۲۵	۱۲/۵	۶/۲۵	۳/۱۲	۱/۵۶	۰/۷۸	۰/۳۹
اشریشیا کلی	۳۱(+)	۳۱(+)	۳۱(+)	۳۱(+)	۳۱(+)	۳۱(+)	۳۱(+)	۳۱(+)
*اشریشیا کلی*PTCC1279	+	+	+	+	+	+	+	+
استافیلوکوکوس ارئوس	۲۲(+)	۲۲(+)	۲۲(+)	۲۲(+)	۲۲(+)	۲۲(+)	۲۲(+)	۲۲(+)
استافیلوکوکوس ارئوس PTCC1112	+	+	+	+	+	+	+	+

(-) عدم رشد باکتری؛ (+) رشد باکتری

بحث و نتیجه‌گیری

در این تحقیق، عصاره الکلی (اتانولی) گیاه آویشن اثر ضدباکتریایی بیشتری بر *استافیلوکوکوس ارئوس* در مقایسه با *اشریشیا کلی* نشان داد. عصاره الکلی (اتانولی) گیاه پونه اثر ضدباکتریایی بیشتری بر *استافیلوکوکوس ارئوس* در مقایسه با *اشریشیا کلی* نشان داد. عصاره اتانولی گیاه آویشن اثر ضدمیکروبی بیشتری نسبت به عصاره اتانولی گیاه پونه از خود نشان داد. در مطالعه Mahmoodi و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که اسانس گیاه پونه علیه *استافیلوکوکوس ارئوس* مؤثر است (۶). در مطالعه Cetin و همکاران (۲۰۱۱) نیز اسانس دو

استافیلوکوکوس ارئوس نشان داده است که نقش ترکیبات پولگون و ۸- ۱ سینئول در این زمینه بسیار مهم و حائز اهمیت است (۶). در مطالعه اخیر اثر ضدباکتری عصاره اتانولی گیاهان آویشن و پونه بر روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس ارئوس* (گرم مثبت) نسبت به باکتری‌های *اشریشیا کلی* (گرم منفی) مورد آزمایش بیشتر بود که با نتایج تحقیقات Moshafi و همکاران (۲۰۰۶) و Riahi و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت دارد (۱۶، ۱۸). علت این امر را می‌توان به حضور لایه لیپوپلی‌ساکاریدی باکتری‌های گرم منفی نسبت داد که از عبور مولکول‌های بزرگ

و آب‌گریز جلوگیری می‌کند و چون اکثر ترکیبات مؤثر در اسانس و عصاره ماهیت آب‌گریزی دارند، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً این مواد امکان ورود و دسترسی به نقاط فعال درون باکتری‌های گرم منفی را ندارند، به همین دلیل معمولاً باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با انواع گرم مثبت مقاومت بیشتری نسبت به این ترکیبات نشان می‌دهند (۱۹). برخلاف نتیجه مطالعه اخیر، در مطالعه Mohammadpour و همکاران (۲۰۱۱) اثر ضدمیکروبی سه جنس آویشن بر باکتری *استافیلوکوکوس ارئوس* و باکتری *اشریشیا کلی* بررسی شد که بیشترین اثر روی *اشریشیا کلی* گزارش شد (۲۰). همچنین Celikel و Kavas (۲۰۰۸) اثر عصاره اتانولی گیاهان مختلف بر باکتری *استافیلوکوکوس ارئوس* و باکتری *اشریشیا کلی* را بررسی کردند که نتیجه این مطالعه حساسیت یکسان هر دو باکتری بود (۲۱). علت تفاوت در این نتایج را می‌توان ناشی از وجود اختلاف در گیاهان هر منطقه دانست، زیرا یک گیاه در مناطق مختلف می‌تواند ترکیبات و خواص متفاوت را از خود نشان دهد، همچنین نوع و نحوه تهیه عصاره و یا اسانس نقش مهمی در بروز اثرات حاصله دارند (۲۲). زمان برداشت گیاهان هم در توان ضدمیکروبی آن‌ها تأثیر دارد، بهترین زمان برداشت برای دستیابی به بیشترین بازدهی اسانس و ترکیبات مؤثر آویشن، مرحله ۵۰ درصد گلدهی است (۲۳). یکی دیگر از علل این تفاوت‌ها می‌تواند احتمالاً مربوط به تفاوت‌های بین جدایه‌های باکتریایی مورد آزمایش ازنظر منشأ جغرافیایی و یا اکولوژیکی باشد. نتایج حاصل از مطالعه حاضر حاکی از این بود که عصاره‌های الکلی آویشن در مقایسه با عصاره‌های الکلی گیاه پونه اثر ضدمیکروبی قوی‌تری علیه باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس ارئوس* نشان دادند (در غلظت ۲۵ درصد و بالاتر از آن در عصاره اتانولی آویشن هیچ باکتری رشد نکرد، درحالی‌که در غلظت ۲۵ درصد پونه تعدادی از هر دو باکتری مورد آزمایش رشد کردند) و این نتیجه بامطالعه Celikel و Kavas (۲۰۰۸) و نیز Cetin و همکاران (۲۰۱۱) که نشان دادند اثر ضدمیکروبی گونه‌های مختلف گیاه آویشن در مقایسه با اثر ضدمیکروبی گیاه پونه علیه باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس ارئوس* قوی‌تر است، همخوانی دارد. در مطالعه‌ای Ghasemi و همکاران (۲۰۱۰) اثر ضدمیکروبی هشت گیاه دارویی بومی ایران را بر باکتری *اشریشیا کلی* بررسی کردند که در بین آن‌ها آویشن دنایی بیشترین اثر را داشت (۲۴). بر اساس نتایج مطالعه اخیر عصاره آبی گیاهان آویشن و پونه در هیچ‌یک از غلظت‌های مورد آزمایش بر باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس ارئوس* مؤثر نبودند. در اکثر مطالعات انجام‌شده نیز علیرغم اثرات ضدمیکروبی عصاره الکلی، عصاره آبی و جوشانده گیاهان هیچ فعالیت ضدمیکروبی علیه باکتری‌ها نشان نداده‌اند (۲۲). علت اینکه عصاره‌های الکلی مؤثرترند، این است که الکل باعث افزایش حلالیت ترکیبات مؤثر گیاهان و درنتیجه استخراج درصد بالاتری از این ترکیبات می‌شود و آب قدرت استخراج ماده مؤثره کمتری نسبت به الکل را دارا است؛ بنابراین اثر ضدمیکروبی عصاره الکلی نسبت به عصاره آبی بهتر و قوی‌تر است. در دو مطالعه جداگانه Gandomi Nasrabadi و همکاران (۲۰۱۲) و Meshkibaf و همکاران (۲۰۱۰) اثر ضدمیکروبی عصاره‌های الکلی و آبی برخی از گیاهان دارویی را مقایسه کردند و نشان دادند که اثر ضدمیکروبی عصاره الکلی بیشتر از عصاره آبی گیاهان است (۲۲، ۲۵). با توجه به اثر ضدمیکروبی عصاره اتانولی گیاهان آویشن و پونه علیه باکتری‌های عامل مسمومیت مواد غذایی ازجمله *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس ارئوس*، استفاده از این عصاره به‌عنوان نگه‌دارنده طبیعی مناسب در مواد غذایی مختلف ازجمله فرآورده‌های لبنی سنتی مانند پنیرهای محلی توصیه می‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از زحمات کلیه عزیزانی که در انجام این کار پژوهشی ما را یاری نمودند کمال تشکر و قدردانی را داریم. مقاله حاضر مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد راهله جوانمرد با کد ۱۴۷۵۰۴۰۲۹۲۱۰۰۸ است.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

References

1. Oke F, Aslim B, Ozturk S, Altundag S. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of Satureja cuneifolia Ten. Food Chem. 2009;112(4):874-9.
2. Özguven M, Tansi S. Drug yield and essential oil of Thymus vulgaris L. as in influenced by ecological and ontogenetical variation. Turk J Agric For. 1998;22(6):537-42.
3. Baydar H, Sağdiç O, Özkan G, Karadoğan T. Antibacterial activity and composition of essential oils from Origanum, Thymbra and Satureja species with commercial importance in Turkey. Food control. 2004;15(3):169-72.
4. Sökmen M, Serkedjieva J, Daferera D, Gulluce M, Polissiou M, Tepe B, et al. In vitro antioxidant, antimicrobial, and antiviral activities of the essential oil and various extracts from herbal parts and callus cultures of Origanum acutidens. J Agric Food Chem. 2004;52(11):3309-12.
5. Lambert R, Skandamis PN, Coote PJ, Nychas GJ. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. J Appl Microbiol. 2001;91(3):453-62.
6. Mahmodi R, Tajik H, Farshid A, Ehsani A, Zaree P, Moradi M. Phytochemical properties of Mentha longifolia L. essential oil and its antimicrobial effects on Staphylococcus Aureus. Armaghane danesh. 2011;16(5):400-12.
7. Akgül A, Kivanc M. Inhibitory effects of selected Turkish spices and oregano components on some foodborne fungi. Int J Food Microbiol. 1988;6(3):263-8.
8. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. Int J Food Microbiol. 2004;94(3):223-53.
9. Rasooli I, Rezaei MB. Bioactivity and chemical properties of essential oils from Zataria multiflora Boiss and Mentha longifolia (L.) Huds. J Essential Oil Res. 2002;14(2):141-6.
10. Abbasifar A, Akhondzadeh Basti A, Karim G, Misaghi A, Bokaee S, Gandomi H, et al. Evaluation of Zataria mutiflora Boiss. Effect on Staphylococcus aureus in feta cheese. J Med Plant Res. 2008;1(25):105-15.
11. Sajjadi S, Moradi G, Assemi H, Naghizadeh F, Rostami F, Akbarzadeh M, et al. Antifungal activity of nine plant extracts on tobacco Sore Shin disease (Rhizoctonia solani). Crop Prot. 2014;6(1):71-84.
12. Tambekar D, Dahikar S. Antibacterial activity of some Indian Ayurvedic preparations against enteric bacterial pathogens. J Adv Pharm Technol Res. 2011;2(1):24-31.
13. Vesaltalab Z, Gholami M. The effect of clove buds and rosemary extracts and essences on control of botrytis cinerea growth. Plant Prod Tech. 2012;11(2):1-11.
14. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. Int J Food Microbiol. 2004;94(3):223-53.
15. Çetin B, Çakmakci S, Cakmakci R. The investigation of antimicrobial activity of thyme and oregano essential oils. Turk J Agric For. 2011;35(2):145-54.
16. Riahi L, Elferchichi M, Ghazghazi H, Jebali J, Ziadi S, Aouadhi C, et al. Phytochemistry, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of Mentha rotundifolia L. in Tunisia. Ind Crops Prod. 2013;49:883-9.
17. Amrita V, Sonal D, Shalini R. Antibacterial effect of herbs and spices extract on Escherichia coli. Electron J Bio. 2009;5(2):40-4.
18. Demir H, Kalaycı S. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils of Ocimum basilicum var. album (L.) Benth, Lavandula angustifolia subsp. Angustifolia, Melissa officinalis Belonging to Lamiaceae Family. Ind Crops Prod. 2013;49:883-9.
19. Noori N, Rokni N, Akhoundzadeh B, Misaghi A, Tooryan F. The Antimicrobial Effect of Zataria Multiflora Boiss. Essential Oil Against E. coli O157:H7 in Minced Beef Meat During Refrigerated Storage. J Food Hygiene.2011;1(1):1-6.
20. Mohammadpour G, Majd A, Najhadsatari T, Mehrabian S, Hossinzadehkalagar A. Antibacterial and antifungal effects of three genus of thyme plants and two ecotype of ziziphora and satureja bachtiarica essential oils. J Sci Islamic Azad Uni. 2011;20(1):111-20.
21. Celikel N, Kavas G. Antimicrobial properties of some essential oils against some pathogenic microorganisms. Czech J Food Sci UZPI. 2008;28(3):174-81.
22. Meshkibaf MH, Abdollahi A, Fasihi Ramandi M, Adnani Sadati SJ, Moravvej A, Hatami S. Antibacterial effects of hydro-alcoholic extracts of Ziziphora tenuior, Teucrium polium, Barberis corcorde and Stachys inflate. Koomesh. 2010;11(4):240-4.
23. Hadipanah A, Golparvar AR, Ghasemi Pirbalouti A, Zaynali H. Determine optimum of harvest time on the quantity/quality of essential oil and thymol of thyme (Thymus vulgaris L.) in Isfahan. J Herb Drugs. 2011;2(1):23-32.
24. Ghasemi PA, Jahanbazi P, Enteshari S, Malekpoor F, Hamedi B. Antimicrobial activity of some Iranian medicinal plants. Arch Biol Sci. 2010;62(3):633-41.
25. Gandomi Nasrabadi H, Abbaszadeh S, Tayyar Hashtjin N, Yamrali I. Study of chemical composition of essential oil of afsantine (Artemisia absinthium) and inhibitory effects of the essential oil and its aqueous and alcoholic extracts on some food borne bacterial pathogens. J Med Plant. 2012;2(42):120-7.

Oiginal Article

Investigating Antibacterial Effect of Thyme (*Thymus persicus*) and Pennyroyal (*Mentha longifolia*) Alcoholic and Aqueous Extracts against Isolated Bacteria from Domestic Cheeses

Javanmard R[1], Mahdavi S[2*]

1. Department of Food Engineering, Maragheh Branch, Islamic Azad University, Maragheh, Iran
2. Department of Microbiology, Maragheh Branch, Islamic Azad University, Maragheh, Iran

Received: 13 Jan 2018 Accepted: 01 May 2018

Abstract

Background & Objective: Food poisonings caused by consumption of domestic dairy products such as cheese due to *Escherichia coli* (*E.coli*) and *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) are one of the hygienic problems in foodstuffs. Nowadays, using natural preservatives instead of synthetic preservatives in foods has been regarded increasingly and among these natural compounds, medicinal plants comprise these materials that finding their antimicrobial effects have high priority. The aim of this study was to investigate antibacterial effect of Thyme (*Thymus persicus*) and Pennyroyal (*Mentha longifolia*) alcoholic (ethanolic) and aqueous extracts against isolated bacteria from domestic cheeses.

Material & Methods: After preparing Thyme and Pennyroyal, alcoholic (ethanolic) and aqueous, the extract of these plants were gained and their antimicrobial effects were investigated in concentrative levels of 0.39- 100 percent against *E. coli* and *S. aureus* isolated from domestic cheese by microdilution method. *E. coli* PTCC 1270 and *S. aureus* PTCC 1112 were used as control.

Results: Alcoholic (ethanolic) extract of Thyme and Pennyroyal showed more antibacterial effect against *Staphylococcus aureus* in comparison with *Escherichia coli* ($P<0.05$). Thyme ethanolic extract showed more antibacterial effect than Pennyroyal ethanolic extract ($P<0.05$). Aqueous extract of Thyme and Pennyroyal did not show any significant antibacterial effect in tested concentration ($P>0.05$).

Conclusion: According to current study results, alcoholic (ethanolic) extract of Thyme and Pennyroyal have high antibacterial potency and they can be used as alternative instead of synthetic preservatives for protection against food borne bacterial poisoning and infection.

Keywords: Extract, *Thymus persicus*, *Mentha longifolia*, Antibacterial, Microdilution

***Corresponding Author: Saman Mahdavi,** Department of Microbiology, Maragheh Branch, Islamic Azad University, Maragheh, Iran
Email: S.mahdavi@iau-maragheh.ac.ir
https://orcid.org/0000-0002-5098-4058