

Influence of different concentrations of ethanolic extract of seven medicinal plants on three bacteria strains

Narjes Mansoori¹, Mohammad Moghaddam^{1*}, Fatemeh Kazemi¹, Masoumeh Bahreini²,
Hussain Aroie¹

1. Department of Horticultural, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

2. Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

(Received: 2017/06/16 Accept: 2017/09/04)

Abstract

Background: Today, due to the increased use of antibiotics and spread of resistant strains, using natural compounds as an alternative to synthetic compounds, with fewer side effects, has been widely importance. The aim of this study was to investigate the antimicrobial activity of ethanolic extracts of seven medicinal herb include; green tea (*Camellia sinensis*), thyme Khorasani (*Thymus transcaspicus*), ziziphora (*Ziziphora clinopodioides*), pennyroyal (*Mentha pulegium*), cumin (*Cuminum cyminum*), purple basil (*Ocimum basilicum* var. *purpurascence*), and peppermint (*Mentha piperita*) on three gram negative bacteria (*Escherichia coli* Famp (ATCC 700891), *Salmonella enterica* TA100 (PTCC 1709) and *Pectobacterium caratovorum*).

Materials and Methods: An experimental study was conducted at in vitro condition. Ethanolic extracts of above plants prepared by maceration method. Antimicrobial activity of these extracts at concentrations of 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 and 1 mg/ml were evaluated by disk diffusion and well diffusion methods. Variables were included extract types, different concentrations of extracts and bacterial strains and statistically were analyzed.

Findings: Green tea extract had the highest inhibitory effect in both antimicrobial test methods. So that green tea extract in 1 and 0.8 mg/ml concentration had the highest inhibitory effect on *E. coli* and *P. caratovorum* showed the lowest and the most resistance, respectively.

Conclusion: It seems the types and concentrations of extracts and also bacterium type are influenced on growth inhibition zone. With increasing concentration, in both disk and well diffusion methods, the inhibition zone was increased. Inhibition zone in well diffusion method was higher than disk diffusion method.

Keywords: Antibacterial property, Extract, Disk diffusion, Well diffusion, Medicinal plant

*Corresponding author: Mohammad Moghaddam
Email: m.moghadam@um.ac.ir; moghaddam75@yahoo.com

بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی هفت گیاه دارویی بر سه سویه باکتری

نرجس منصوری^۱، محمد مقدم^{۱*}، فاطمه کاظمی^۱، معصومه بحرینی^۲، حسین آرویی^۱

۱. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

۲. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۰۳/۲۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۰۳/۰۶

چکیده:

سابقه و هدف: امروزه با افزایش استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و نیز گسترش سویه‌های مقاوم، استفاده از ترکیبات طبیعی به عنوان جایگزین مواد سنتتزی، با اثرات جانبی کمتر، اهمیت زیادی یافته است. از این رو هدف از مطالعه حاضر، بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های اتانولی ۷ گیاه دارویی چای سبز (*Camellia sinensis*) آویشن خراسانی (*Thymus transcaspicus*)، کاکوتی (*Ziziphora clinopodioides*)، پونه (*Mentha pulegium*)، زیره سبز (*Cuminum cyminum*)، ریحان بنفش (*Ocimum basilicum* var. *purpurascence*) و نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) بر روی سه سویه باکتری *Escherichia coli* Famp (ATCC 700891) و *Salmonella enterica* TA100 (PTCC 1709) و *Pectobacterium caratovorum* بود.

مواد و روش بررسی: تحقیق از نوع تجربی و به صورت *in vitro* انجام شد. عصاره‌های گیاهان مذکور به روش مسراسیون (خیساندن) تهیه و اثر ضد میکروبی با دو روش انتشار دیسکی و چاهک در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۸ و ۱ میلی گرم بر میلی لیتر بررسی شد. متغیرهای این پژوهش شامل نوع عصاره، غلظت‌های مختلف عصاره‌ها و سویه‌های مختلف باکتری بود و مورد قضاوت آماری قرار گرفت.

یافته‌ها: عصاره گیاهی چای سبز در هر دو روش مورد بررسی دارای بالاترین قطر هاله عدم رشد در هر سه سویه باکتری بود به طوریکه عصاره چای سبز با غلظت ۰/۸ و ۱ میلی گرم بر میلی لیتر، بیشترین فعالیت ضد میکروبی را نسبت به سایر عصاره‌های مذکور دارا بود. باکتری اشرشیاکلی کمترین و پکتوباکتریوم بیشترین مقاومت به عصاره‌ها را نشان دادند.

نتیجه گیری: به نظر می‌رسد که نوع و غلظت‌های مختلف عصاره‌ها و نوع باکتری بر میزان هاله عدم رشد تاثیر دارد و با افزایش غلظت عصاره‌ها در هر دو روش انتشار دیسکی و چاهک افزایش می‌یابد. میزان قطر هاله عدم رشد در روش انتشار چاهک، بالاتر از روش انتشار دیسکی می‌باشد.

واژگان کلیدی: فعالیت ضد میکروبی، عصاره، انتشار دیسکی، انتشار چاهک، گیاهان دارویی

* نویسنده مسئول: محمد مقدم

پست الکترونیک: moghaddam75@yahoo.com; m.moghaddam@um.ac.ir

مقدمه:

یکی از مهم‌ترین چالش‌ها در بحث درمان، مقابله با بیماری‌های عفونی است که شیوع و گسترش بالایی دارند. استفاده بی‌رویه از داروهای سنتتیک ضد میکروبی منجر به افزایش مقاومت‌های دارویی در اکثر باکتری‌ها شده است که همین موضوع باعث افزایش رو به رشد استفاده از گیاهان به عنوان مواد طبیعی کم خطر، در دسترس و ارزان قیمت، نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سنتتیک شده است (۱). عصاره و اسانس‌های گیاهی به‌دست آمده از گیاهان معطر دارای خاصیت ضدباکتریایی، ضدقارچی، ضداکسایشی و ضدسرطانی بوده و قادر هستند رشد پاتوژن‌ها و تولید سم توسط ریزسازواره‌ها را کنترل کنند (۲).

چای سبز از گیاهی با نام علمی *Camellia sinensis* به دست آمده که یکی از نوشیدنی‌های پر مصرف در جهان است. گیاهی همیشه سبز است که در درجه اول در مناطق گرمسیری و معتدل آسیا رشد می‌کند. عصاره این گیاه دارای ترکیبات فلاونوئیدی، آلکالوئیدی، آنزیم‌ها و کربوهیدرات‌ها و طیف گسترده‌ای از سایر مواد می‌باشد (۳). زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) گیاه یکساله از خانواده چتریان است. این گیاه به عنوان ادویه و طعم‌دهنده در غذاها استفاده می‌شود. این گیاه حاوی ترکیبات فنلی و مهار کننده رادیکال آزاد می‌باشد (۴). زیره سبز جز گیاهان دارویی مهم و اقتصادی ایران بوده و در درمان بیماری‌های مختلف به‌عنوان ضد تشنج، ضد سرع، تقویت کننده معده، ادرار آور، ضد نفخ و سوء هاضمه و محرک تعریق استفاده می‌شود (۵). پونه (*Mentha pulegium* L.) متعلق به خانواده نعنائیان با مصرف تازه خوری و دارویی است. این گیاه به صورت خودرو در مناطق مرطوب ایران رشد می‌کند و جایگزین مناسبی برای آنتی-اکسیدان‌های مصنوعی است، همچنین خواصی نظیر جلوگیری کننده از رشد و گسترش برخی باکتری‌های عامل فساد و بیماری‌زا دارد (۶). نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) گیاهی چند ساله متعلق به خانواده نعنائیان می‌باشد. این گیاه دارای فعالیت‌هایی از جمله خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد تومور، ضد آلرژی، ضد میکروبی و غیره می‌باشد (۷). از برگ‌ها، پیکرورویشی و اسانس این گیاه در بیشتر فارماکوپه‌های معتبر دنیا به عنوان دارو یاد شده است (۸). کاکوتی (*Ziziphora clinopodioides*) متعلق به خانواده نعنائیان از گیاهان دارویی و معطری می‌باشد که مصارف فراوانی در بخش‌های دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی دارد و دارای خواص دارویی فراوانی می‌باشد (۹). این گیاه در درمان بیماری‌های معده و روده با منشاء روانی و بیماری‌های اسهال توام با تحریکات عصبی، نقش موثر و آرام بخشی دارد و همچنین در تنظیم اعمال گوارشی و تقویت کبد به ویژه کمک به هضم غذا کاربرد دارد (۱۰). آویشن خراسانی (*Thymus transcaspicus* Klovov) از خانواده نعنائیان، یک گونه بومی در مناطق شمالی ایران است. آویشن گیاهی معطر و دارویی که گونه‌های متفاوت آن دارای فعالیت‌های ضدباکتری، ضدقارچ، ضد ویروس، ضد انگلی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (۱۱). آویشن خراسانی به دلیل داشتن ماده مؤثره تیمول (*Thymol*) و کارواکرول (*Carvacrol*) به عنوان ضد نفخ، مقوی معده، سرماخوردگی، خلط آور و ضد سرفه استفاده می‌شود (۱۲). ریحان

(*Ocimum basilicum* L.) گیاهی متعلق به تیره نعنائیان است. اسانس این گیاه حاوی ترکیبات فنلی است که در صنایع داروسازی و عطرسازی استفاده می‌شود (۱۳).

سالمونلا (*Salmonella enterica*) و اشرشیاکلی (*Escherichia coli*) از جمله پاتوژن‌هایی هستند که از روی سبزی‌ها و میوه‌ها جدا شده‌اند. این باکتری‌ها از عوامل مهم بیماری‌زای انسانی بشمار می‌روند (۱۴). پکتوباکتریوم (*Pectobacterium caratovorum*) یک باکتری گرم منفی و میله‌ای شکل است که در تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی باعث ایجاد بیماری و خسارات اقتصادی می‌شود. از ویژگی‌های مهم این باکتری تولید تعداد زیادی از آنزیم‌های خارج سلولی می‌باشد که قادر است دیواره سلول‌های گیاهی را تخریب و باعث پوسیدگی بافت‌های گیاهی مخصوصا در سبزیجات پس از برداشت شود (۱۶).

عصاره‌های به‌دست‌آمده از گیاهان دارویی دارای خواص ضد میکروبی بوده و به عنوان منبع مواد ضد میکروبی در مقابل پاتوژن‌های بیماری‌زا عمل می‌کنند. این گیاهان اثرات بازدارندگی در مقابل باکتری‌های بیماری‌زا نشان می‌دهند. با در نظر گرفتن اثرات ضد میکروبی مواد موثر ترکیبات گیاهی، این ترکیبات به‌عنوان جایگزین مواد شیمیایی ضد میکروبی قابل استفاده می‌باشند (۲). لذا مطالعه حاضر با هدف تعیین کارایی بالقوه عصاره الکلی هفت گیاه دارویی مورد مصرف در استان خراسان برای مهار سه باکتری *Pectobacterium caratovorum*، *Escherichia coli* و *Salmonella enterica* انجام شد.

مواد و روشها:

تحقیق از نوع مطالعات تجربی بوده و به صورت *in vitro* انجام شد. در این آزمایش ابتدا ۷ گونه گیاهی که تعدادی از آن‌ها بومی منطقه خراسان بودند، از عرصه‌های طبیعی جمع‌آوری شدند. این گیاهان شامل؛ پیکرورویشی آویشن خراسانی (*Thymus transcaspicus*)، کاکوتی (*Ziziphora clinopodioides*) و پونه (*Mentha pulegium*) از رویشگاه‌های طبیعی استان خراسان رضوی (شهرستان قوچان) و میوه‌های رسیده زیره سبز (*Cuminum cyminum*) و پیکرورویشی ریحان بنفش (*Ocimum basilicum* var. *purpurascence*) از کشاورزان این منطقه تهیه شد. همچنین پیکرورویشی نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) از مزرعه دانشگاه فردوسی جمع‌آوری و چای سبز (*Camellia sinensis*) از مزارع شمال کشور خریداری شد. پس از تهیه و شناسایی گیاهان در پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد، نمونه‌ها در معرض هوای آزاد و در سایه خشک شدند.

عصاره نمونه‌های خشک گیاهی به روش مسراسیون (خیساندن با حلال اتانول ۷۰ درصد) تهیه شد. بدین منظور پودر خشک اندام‌های ذکر شده گیاهان به مدت ۲۴ ساعت در اتانول ۷۰ درصد خیسانده و شیک شدند. سپس عصاره اتانولی با استفاده از کاغذ صافی و قیف بوختر صاف گردید. برای زدودن آلودگی‌های احتمالی در بررسی فعالیت ضد باکتریایی، این عصاره‌ها از فیلترهای سرسرنگی عبور داده شدند. عصاره حاصل توسط

نتایج:

نتایج تجزیه واریانس اثر عصاره‌های مختلف با غلظت‌های متفاوت و ۳ نوع باکتری شامل ۲ گونه باکتری بیماری‌زای انسانی شامل اشرشیاکلی و سالمونلا انتریکا سرووار انتریکا و ۱ گونه باکتری عامل پوسیدگی سبزی پکتوباکتریوم (در هر دو روش انتشار دیسکی و چاهک) نشان داد بین عصاره‌ها، غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهی، نوع باکتری و اثرات سه گانه آن‌ها، در سطح اطمینان ۹۹ درصد اختلاف معناداری وجود دارد (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین در هر دو روش و برای هر سه نوع باکتری نشان داد که چای سبز بیشترین قدرت بازدارندگی رشد را در همه باکتری‌ها داشت. بعد از آن عصاره آویشن خراسانی و سپس نعنای فلفلی قرار داشتند. با افزایش غلظت عصاره، قطر هاله عدم رشد نیز افزایش یافت. عصاره زیره سبز نیز در مجموع کمترین قطر هاله عدم رشد باکتری را ایجاد کرد. در واقع چای سبز با غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر و ۰/۸ میلی گرم بر میلی لیتر در روش انتشار چاهک و غلظت ۰/۸ میلی گرم بر میلی لیتر در روش انتشار دیسکی دارای بیشترین قدرت بازدارندگی رشد در هر سه نوع باکتری مورد مطالعه بود و با کاهش غلظت در همه عصاره‌ها مقدار بازدارندگی رشد باکتری‌ها کاهش یافت (شکل ۲).

به طور کلی قطر هاله عدم رشد در روش چاهک از اندازه بزرگتری نسبت به روش انتشار دیسکی برخوردار بود و روش چاهک از نتایج بهتری برخوردار بود. بیشترین اثر بازدارندگی رشد در نتیجه کاربرد عصاره‌ها در هر دو روش مورد بررسی در باکتری اشرشیاکلی مشاهده شد (شکل ۳).

بحث:

امروزه از بین مواد مختلف جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها، فرآورده‌هایی با منشأ گیاهی جایگاه ویژه‌ای پیدا کرده‌اند. با توجه به تنوع شرایط آب و هوایی، ایران دارای طیف وسیعی از گیاهان دارویی می‌باشد که از دیرباز پایه‌ای برای طب سنتی بوده است (۱۷).

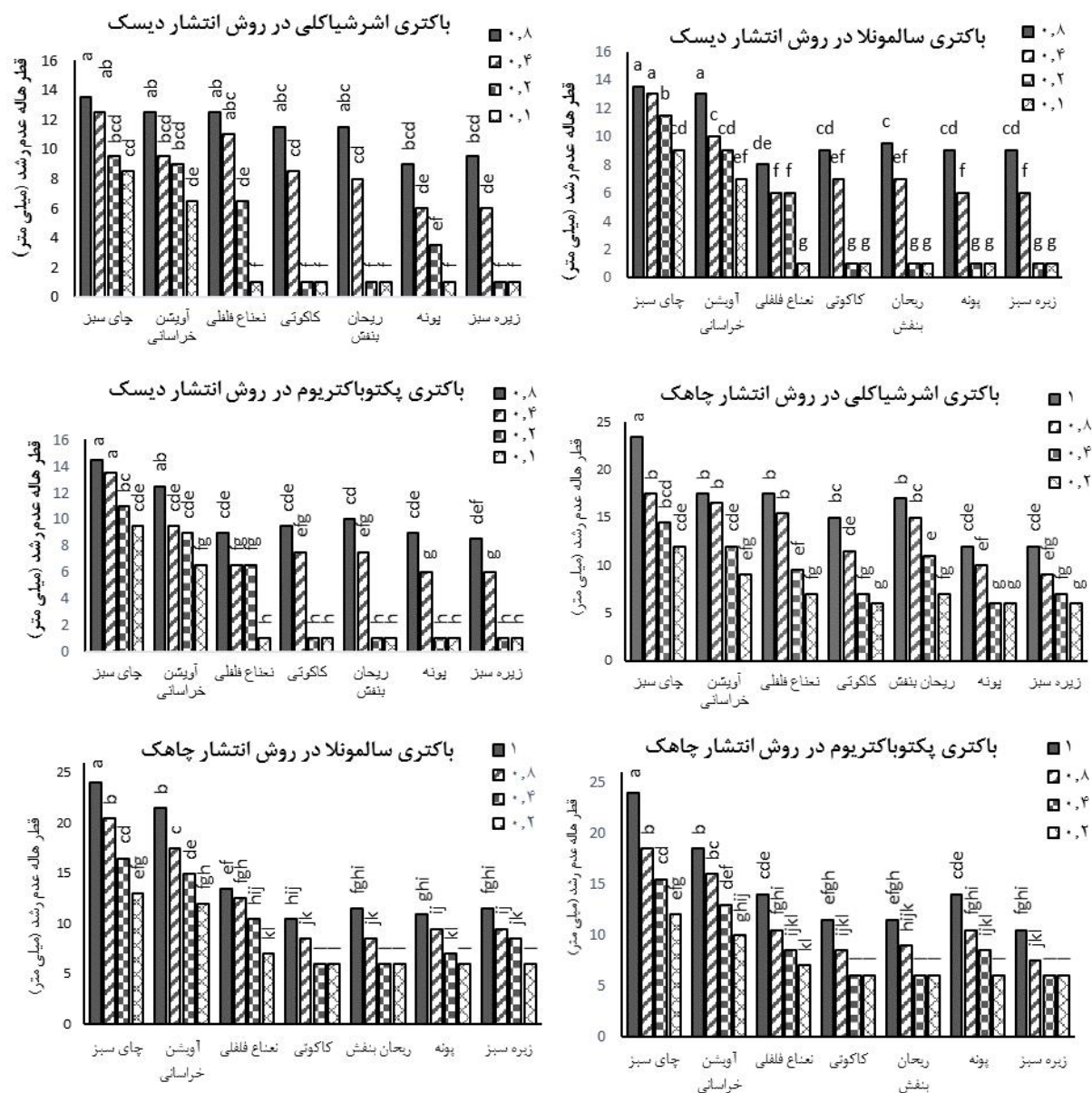
روتاری تغلیظ و خشک شد و در ظروف استریل و تاریکی و در یخچال تا زمان انجام آزمایش نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری خواص ضد میکروبی، عصاره‌های خشک گیاهی در غلظت‌های مختلف شامل ۱، ۰/۸، ۰/۴، ۰/۲ و ۰/۱ میلی گرم بر میلی لیتر تهیه شدند.

باکتری‌های اشرشیاکلی (ATCC 700891) و سالمونلا انتریکا سرووار انتریکا (PTCC 1709) از گروه میکروبیولوژی دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد و پکتوباکتریوم از دانشکده کشاورزی گروه گیاهپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شدند و در محیط کشت نوترینت‌آگار کشت شدند. پتری‌ها برای مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در انکوباتور قرار گرفتند و برای اطمینان از خلوص باکتری از رنگ‌آمیزی گرم استفاده شد. پس از اطمینان از خلوص، باکتری‌ها را در محیط کشت مولر هینتون براث کشت نموده و برای مدت ۱۲ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانی‌گراد قرار داده تا به نیم مک فارلند (جذب بین ۰/۰۸ تا ۰/۱۳ در طول موج ۶۲۵ نانومتر اسپکتروفوتومتر) برسد.

به منظور بررسی فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌های مورد مطالعه از دو روش انتشار دیسکی و چاهک استفاده شد (شکل ۱). باکتری‌ها توسط سوآپ به صورت یکنواخت بر سطح محیط مولر هینتون‌آگار (M.H.A) کشت داده شدند. در روش انتشار دیسکی، دیسک بلانک آغشته به عصاره خشک با غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۸ میلی گرم بر میلی لیتر بر روی محیط کشت قرار داده شد و در روش انتشار چاهک، چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی متر در محیط کشت ایجاد نموده و مقدار ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های ۰/۲، ۰/۴، ۰/۸ و ۱ میلی گرم بر میلی لیتر از هر عصاره درون چاهک‌ها افزوده شد. سپس پتری‌های هر دو روش، برای مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در انکوباتور قرار گرفتند. بعد از ۲۴ ساعت عصاره درون محیط نفوذ کرده و متناسب با قدرت هر عصاره در جلوگیری از رشد باکتری، هاله عدم رشد باکتری در اطراف دیسک و چاهک، مشاهده و توسط کولیس اندازه‌گیری شد.



شکل ۱ تصویری از قطر هاله عدم رشد باکتری در دو روش انتشار دیسکی (تصویر راست) و چاهک (تصویر چپ).



شکل ۲ نمودار نقطه ای (سری - زمانی) داروهای نیتروگلیسیرین (۵)، ایزوسورباید دی نیترات (۶)، لیدوکائین (۷) و پروپافنون (۸).

غلظت‌های متفاوت عصاره‌ها در میزان فعالیت ضد میکروبی مؤثر است و در مطالعه‌های متعددی با تغییر میزان غلظت عصاره، آثار ضد میکروبی گیاه تغییر کرده است (۱۸، ۱۹، ۲۰). در واقع با کاهش غلظت عصاره، اغلب از قطر هاله عدم رشد باکتری نیز کاسته می‌شود که در پژوهش ابوالحسنی و همکاران (۱۸) دریافتند که با افزایش غلظت اسانس آویشن، میزان بازداری رشد باکتری‌هایی از جمله اشرشیاکلی و باسیلوس سرئوس افزایش می‌یابد. در واقع میزان بازداری رشد با غلظت عصاره‌ها رابطه مستقیم دارد که می‌تواند مربوط به ناکافی یا کم بودن مقدار مواد ضد میکروبی در مقادیر پایین عصاره‌ها باشد (۱۹).

مقایسه دو روش انتشار دیسکی و چاهک در بررسی فعالیت ضد باکتری عصاره‌های مختلف نشان داد که روش انتشار چاهک در مقایسه با روش انتشار دیسکی، اثر مهارکنندگی بیشتری بر رشد میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه دارد. این تفاوت ممکن است به این دلیل باشد که در روش انتشار چاهک، عصاره گیاهی مستقیماً در چاهک ریخته می‌شود و بهتر جذب محیط می‌گردد و در نتیجه بهتر بر روی باکتری‌ها تاثیر می‌گذارد؛ در حالی که در روش انتشار دیسکی ابتدا دیسک‌ها به عصاره آغشته شده و سپس در سطح آگار قرار می‌گیرد. به طوری که خسروی‌نیا و همکاران (۱) در پژوهش خود به این مورد اشاره کرده‌اند.

شده از مزارع اطراف تهران)، استخراج شده توسط آن-هگزآن با داشتن قطر هاله عدم رشد باکتری‌های گرم مثبت و منفی، بین ۱۱ تا ۲۹ میلی‌متر دارای اثر مهارکنندگی قابل توجهی بودند. هاله عدم رشد برای باکتری اشرشیاکلی ۱۶ میلی‌متر بود که از میانگین قطر هاله در پژوهش حاضر (۴/۵ میلی‌متر) در غلظت‌های مختلف برای باکتری اشرشیاکلی بالاتر است که این می‌تواند ناشی از تفاوت در شرایط آب و هوایی محل رویش گیاه و همچنین قدرت نوع حلال در استخراج مواد موثره گیاهی باشد (۲۷).

در پژوهش خلجی و نیستانی (۱۹) عصاره چای سبز در مقایسه با چای سیاه دارای اثرات مهاری قوی‌تر بود که می‌تواند مربوط به تخمیر برگ چای باشد که متابولیت‌های حاصل از فرایندهای اکسیداسیون در ضمن تخمیر، اثرات مهاری و آنتی‌اکسیدانی برگ را کاهش می‌دهد. در واقع قدرت بالای چای سبز در مهار باکتری‌ها می‌تواند مربوط به مواد فنولی و خواص آنتی‌اکسیدانی بالای این گیاه باشد (۱۹). طارق و همکاران (۲۸) نیز فعالیت ضد باکتریایی قوی عصاره متانولی چای سبز در برابر باکتری گرم مثبت مانند استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس و باکتری‌های گرم منفی مانند اشرشیاکلی و زانتوموناس (*Xanthomonas* sp.) را گزارش نمودند که در پژوهش ما نیز چای سبز دارای بیشترین قدرت بازدارندگی رشد باکتری‌ها نسبت به سایر عصاره‌ها بود.

به طور کلی، منشاء گیاهی بسیاری از مواد دارویی و درمانی به دلیل وجود متابولیس‌های ثانویه در گیاهان است که این متابولیس‌ها در گیاهان مختلف متفاوت هستند و اثرات مختلف را نشان می‌دهند (۲۹).

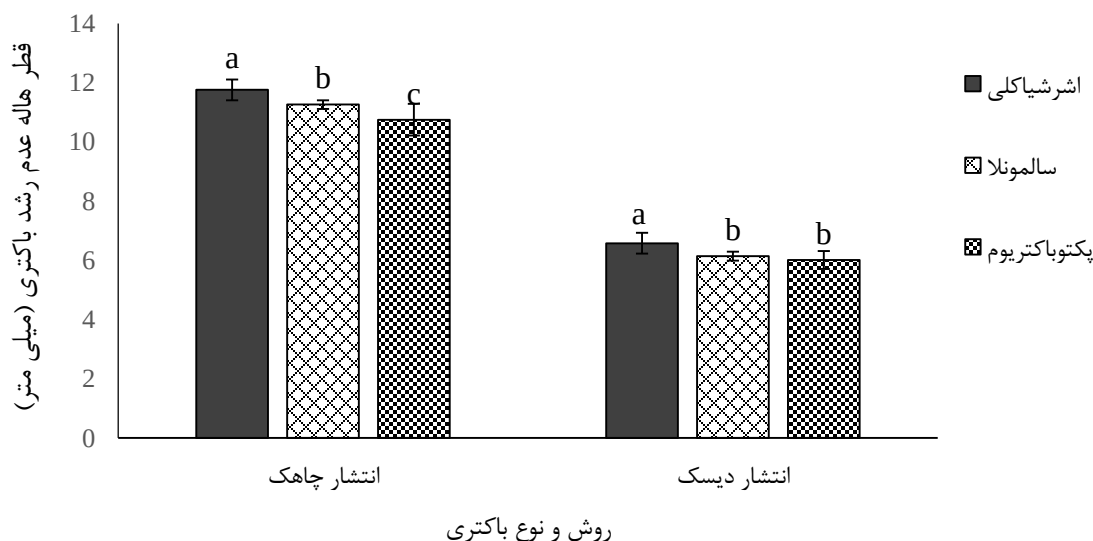
نتیجه‌گیری:

در مجموع با توجه به نتایج حاصل از بررسی فعالیت ضد باکتری عصاره‌های مختلف در این پژوهش، عصاره چای سبز و بعد از آن به ترتیب آویشن خراسانی و نعنای فلفلی از بیشترین میزان فعالیت ضد باکتریایی برخوردار

در پژوهشی برای ارزیابی اثر اسانس آویشن شیرازی بر استافیلوکوکوس ایزوله شده از مواد غذایی گزارش شد که اسانس آویشن شیرازی اثرات میکروب‌کشی بسیار خوبی بر استافیلوکوکوس‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند تتراسایکلین، اریترومايسين و غیره داشته است (۲۱). همچنین در پژوهشی (۲۲) عصاره متانولی حاصل از آویشن شیرازی به عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها جهت کنترل سوبه‌های پسودوموناس آئروژینوز معرفی شد. در پژوهش ما نیز بعد از عصاره چای سبز، عصاره آویشن خراسانی از قدرت مهار رشدی باکتریایی بالایی برخوردار بود.

در پژوهشی عصاره آبی خالواش (*M. pulegium*) نسبت به نعنای سبز (*M. spicata*) قدرت بازدارندگی بالاتری بر اشرشیاکلی نشان داد در حالیکه قدرت بازدارندگی بر سوبه استافیلوکوکوس اورئوس توسط عصاره آبی نعنای سبز بیشتر بوده است (۲۳). در بررسی تاثیر اسانس کاکوتی بر پاتوژن‌های شایع لوله گوارش از جمله اشرشیاکلی، باسیلوس سرئوس، لیستریا (*Listeria monocytogenes*)، سالمونلا و غیره، اسانس کاکوتی بر سطوح بالایی از فعالیت ضدباکتریایی را دارا بود. سالمونلا و اشرشیاکلی نسبت به سایر باکتری‌ها بیشترین مقاومت به اسانس را نشان داده بودند (۲۴). همچنین تفاوت زیادی در حداقل غلظت بازدارندگی اسانس نعنای فلفلی، بر اشرشیاکلی و سالمونلا در پژوهش کاظم الوندی همکاران (۲۵) مشاهده نشد که می‌تواند مربوط به گرم منفی بودن هر دو باکتری اشرشیاکلی و سالمونلا باشد که شاید به دلیل دارا بودن غشاء خارجی (Outer membrane) در باکتری‌های گرم منفی، انتشار اجزاء هیدروفوبیک ترکیبات گیاهی به لایه لیپیدی ساکاریدی محدود می‌شود که در پژوهش اخباری و همکاران (۲۶) ترکیبات روغنی گیاه پونه (جمع‌آوری مشابه نتایج حاصل از پژوهش حاضر می‌باشد).

در پژوهش اخباری و همکاران (۲۶) ترکیبات روغنی گیاه پونه (جمع‌آوری



شکل ۳ میزان رشد باکتری‌ها بر حسب روش‌ها

جدول ۱. اثر فعالیت ضدباکتریایی ۷ عصاره گیاهی مورد استفاده به روش انتشار دیسکی و چاهک.

منابع تغییرات	درجات آزادی	روش انتشار دیسک	روش انتشار چاهک
عصاره	۶	۲۲۹/۵۹۷**	۳۱۳/۸۱۵**
غلظت	۳	۶۳۲/۳۲۵**	۴۷۱/۲۰۶**
باکتری	۲	۵/۰۵۴**	۱۴/۵۰۶**
عصاره*غلظت	۱۸	۱۶/۵۷۱**	۵/۳۱۳**
عصاره*باکتری	۱۲	۲/۸۱۷**	۱۵/۱۷۳**
غلظت*باکتری	۶	۱/۷۱۲**	۵/۰۴۶**
عصاره*غلظت*باکتری	۳۶	۱/۰۱۳**	۱/۴۷۲**
خطا	۸۴	۰/۳۸۱	۰/۳۸۱

عدم رشد موثر بود که باکتری اشیشاکلی کمترین مقاومت به عصاره‌های گیاهی را نسبت به دو باکتری دیگر نشان داد. به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت عصاره چای سبز می‌تواند جایگزین مناسبی برای مواد سنتزی باشد.

منابع:

1. Khosravinia S, Ziaratnia SM, Bagheri A, Marashi SH. Investigation of antibacterial effects of cell suspension culture and comparison by essential oils and seed extract in *Bunium persicum*. J. RIFST 2013; 2:79-92. (Full Text in Persian).
2. Shahnian M, Khaksar R. Antimicrobial effects and determination of minimum inhibitory concentration (MIC) methods of essential oils against pathogenic bacteria. Iranian J. Nutr. Sci. & Food Technol. 20013; 7(5): 949-955.
3. Senanayake SN. Green tea extract: Chemistry, antioxidant properties and food applications—A review. J. Funct. Foods 2013; 5(4): 1529-1541.
4. Al Juhaimi F, Ghafoor K. Extraction optimization and in vitro antioxidant properties of phenolic compounds from Cumin (*Cuminum cyminum* L.) seed. Int. Food Res. J. 2013; 20(4): 1669-1675.
5. Mahmoudi R, Ehsani A, Zare P. Phytochemical, antibacterial and antioxidant properties of *Cuminum cyminum* L. essential oil. Food Res. 2012; 22(3): 311-321. (Full Text in Persian).
6. Gaeini Z, Sohrabvandi S, Sobhani R, Soleimani M. Characteristics of pennyroyal essential oils. Food Technol. 2013; 7(5): 661-668. (Full Text in Persian).
7. Cosentino M, Bombelli R, Conti A, Colombo ML, Azzetti A, Bergamaschi A, Lecchini S. Antioxidant properties and in vitro immunomodulatory effects of peppermint (*Mentha x piperita* L.) essential oils in

بودند. همچنین با افزایش غلظت عصاره‌ها، قطر هاله عدم رشد باکتری، افزایش یافت و عصاره چای سبز با غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر بیشترین خاصیت بازدارندگی رشد را دارا بود. از طرفی نوع باکتری نیز در میزان هاله

- human leukocytes. J. Pharm. Sci. Res. 2009; 1(3): 33-43.
8. Kodori RM, Sharifi Ashourabadi E, Rahmani GhH. Study on *Mentha piperita* L. yield, under different plant nutrition systems (conventional, organic and integrand). Med. Arom. Plants 2015; 31(5): 903-918. (Full Text in Persian).
9. Amiri H. Composition and antioxidant activity of the essential oil and methanolic extract of *Ziziphora clinopodioides* Lam in preflowering stage. J. Kerman University Med. Sci. 2008; 16(1): 79-86. (Full Text in Persian).
10. Sadeghi HM, Mansourabadi AM, Emami S, Nahvinejad MR, Moogooei M. The Effect of *Ziziphora clinopodioides* Lam hydroalcoholic extract on active pancreatic beta cells count in diabetic type 1 induced STZ MICE. Diabetes Metab 2015; 14(6): 373-378. (Full Text in Persian).
11. Zamani N, Mianabadi M, Abdolzadeh A. Changes in anti-oxidant activity of *Thymus transcaspicus* (Klovov) during. J. Cell Mol. Res. 2012; 3(1): 12-18.
12. Asaadi AM, Heshmati GhA. The effect of different treatments on breaking seeds dormancy and inducing germination of *Thymus transcaucasicus* Ronn. and *Zataria multiflora* Boiss. Plant Res. 2015; 28(1): 12-22. (Full Text in Persian).
13. Archangi1 A, Khodambashi M. Effects of salinity stress on morphological characteristics, essential oil content and ion accumulation in basil (*Ocimum*

- basilicum) plant under hydroponic conditions. J. Sci. Technol. 2014; 5(17): 125-138. (Full Text in Persian).
14. Yarahmadi M, Yunesian M, Mubedi I, Purmand MR, Shahsavani A, Nomanpour B, Nadafi K. Evaluating the efficiency of the common method of lettuce disinfection in Iran. J. Isfahan University Med. Sci. 2011; 7(6): 1138-1147. (Full Text in Persian).
 15. Falahi M. Postharvest physiology of vegetables. Publishers; Relationship Industry and University 1993. (Full Text in Persian).
 16. Khosravipoor S, Rezaiean R, Mohsenzade M. Phytochemical and antibacterial properties of essential oils *Carum copticum* on bacteria *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* by agar diffusion method. Third Conferences Agriculture and Sustainable Development opportunities and Future Challenges; 2015 March 4-5; Iran, Shiraz. 2015. (Full Text in Persian).
 17. Immanuel G, Vincybai VC, Sivaram V. Effect of butanolic extracts from terrestrial herbs and seaweeds on the survival, growth and pathogen (*Vibrio parahaemolyticus*) load on shrimp *Penaeus indicus* juveniles. Aquaculture 2004; 236(1-4): 53-65.
 18. Abolhasani M, Kiaee Sh, Babakhani B. The antibacterial properties of essential oil of *Thymus kotschyianus* Boiss. First Regional Congress on Medical Plants of North of Iran; 2013 April 28; Iran, Gorgan. 2014. (Full Text in Persian).
 19. Khalaji N, Niastani T. Study the inhibitory effect of black tea and green tea (*Camellia sinensis*) on the growth of pathogenic *Escherichia coli* in vitro. Iranian J. Nutr. Sci. & Food Technol. 2007; 1(3): 33-38. (Full Text in Persian).
 20. Baydar H, Sagdic O, Ozkan G, Karadogan T. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. Food Control 2004; 15(3):169-172.
 21. Soltan Dallal M, Yazdi M, Aghaamiri S, Haghighat Khajavi S, Abedi Mohtasab T, Amin Harati F, et al. Antimicrobial effect of *Zataria multiflora* and *Rosemarinus officinalis* on antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from food. J. Med. Plants 2014; 4(52): 41-47. (Full Text in Persian).
 22. Hashemi A, Shams S, Barati M, Samedani A. Antibacterial effects of methanolic extracts of *Zataria multiflora*, *Myrtus communis* and *Peganum harmala* on *Pseudomonas aeruginosa* producing ESBL. Arak Med. University J. 2011; 14(57): 104-112. (Full Text in Persian).
 23. Jebelli Javan A, Ahmadi Hamedani M, Bayan M, Keykhosravi K, Abdollahi, Z, Kanani M. Antioxidant and antimicrobial effects of different mints, the most widely used in Caspian Sea areas, Iran. J. Vet. Lab. Res. 2014; 6(2): 93-102.
 24. Shahbazi Y. *Ziziphora clinopodioides* essential oil and nisin as potential antimicrobial agents against *Escherichia coli* O157: H7 in doogh (Iranian Yoghurt Drink). J. Pathog. 2015; 2015: 1-7.
 25. Kazem Alvandi R, Sharifan A, Aghazadeh Meshghi M. Study of chemical composition and antimicrobial activity of peppermint essential oil. J. Comp. Pathobiol. 2010; 7(4): 355-364.
 26. Akhbari M, Aghajani Z, Karimi E, Mazochi A. The essential oils composition and antioxidant activity and antimicrobial compounds plant oils *Mentha longifolia*. New Cellular Mol. Biotechnol. J. 2015; 6(21): 59-66. (Full Text in Persian).
 27. Adigüzel A, Güllüce M, Şengül M, Öğütçü H, Şahin F, Karaman I. Antimicrobial effects of *Ocimum basilicum* (Labiatae) extract. Turkish J. Biol. 2005; 29(3): 155-160.
 28. Tariq A, Reyaz A. *Camellia sinensis* leaves a new treatment against urinary tract infection caused by *Pseudomonas fluorescens* and *Serratia* sp. Int. J. Pharm. Sci. Res. 2013; 4(4): 1546.
 29. Salmanian S, Sadeghi Mahoonak AR, Alami M, Ghorbani M. Antioxidant activity of hawthorn (*Crataegus elbursensis*) extract on stability of soybean oil. Food Res. 2013; 23(2): 199-209. (Full Text in Persian).