

بررسی اثرات ضدباکتریایی اسانس گیاهان موشکورک (*Oliveria decumbens*) و پونه سای بینالودی (*Nepeta binaludensis*) روی اشیریشیاکلای و استافیلوکوکوس اورئوس در دوغ

مریم امین^۱، هوشنگ نیکوپور^{۲*}، محمدرضا فاضلی^۳

۱- کارشناس ارشد، گروه علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- دکتری صنایع غذایی، گروه علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳- دکتری تخصصی میکروبیولوژی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده داروسازی، تهران، ایران
* آدرس مکاتبه: تهران، انتهای بزرگراه شهید ستاری، میدان دانشگاه، بلوار شهدای حصارک، واحد علوم و

تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه علوم و صنایع غذایی، کدپستی: ۱۴۷۷۸۹۳۸۵۵

تلفن: ۶۰-۴۴۸۶۸۵۳۷ (۰۲۱)

پست الکترونیک: h_nikoopour@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۹۶/۱۲/۱۶

تاریخ دریافت: ۹۶/۹/۱۸

چکیده

مقدمه: استفاده از عصاره و اسانس‌های گیاهی در بازدارندگی رشد و تکثیر باکتری‌ها در دوغ‌های سنتی و صنعتی خصوصاً در دهه اخیر افزایش یافته است.

هدف: هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات مهارکنندگی اسانس گیاهان موشکورک و پونه سای بینالودی روی رشد باکتری‌های اشیریشیا کلای و استافیلوکوکوس اورئوس در دوغ بوده است.

روش بررسی: دو گیاه موشکورک و پونه سای بینالودی به ترتیب از لرستان و خراسان شمالی جمع‌آوری و پس از اخذ کد هرباریومی، اسانس آنها به روش تقطیر با آب و توسط دستگاه کلونجر تهیه شدند. غلظت‌های مختلف از اسانس‌ها (۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر) به دوغ اضافه شده و باکتری‌های اشیریشیا کلای و استافیلوکوکوس اورئوس به میزان 10^6 در نمونه‌های دوغ تلقیح شدند. در نهایت جمعیت باکتری‌ها در طی نگهداری به مدت ۵ روز شمارش شدند.

نتایج: اسانس گیاهان موشکورک و پونه سای بینالودی اضافه شده به دوغ توانسته‌اند در مدت زمان حداکثر ۵ روز با حداقل غلظت ۵۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر روی اشیریشیا کلای و در حداقل غلظت ۱۰۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر روی استافیلوکوکوس اورئوس اثرات بازدارندگی معنی‌داری ($P < 0/05$) در مقایسه با شاهد را داشته باشند و در این میان اسانس موشکورک اثرات بازدارندگی بیشتری داشته است.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این پژوهش نشان داده است که اسانس حاصل از دو گیاه موشکورک و پونه سای بینالودی دارای اثر مهارتی جالب توجهی بر باکتری‌های اشیریشیا کلای و استافیلوکوکوس اورئوس داشته‌اند و اثرات بازدارندگی بیشتر موشکورک به دلیل وجود ترکیبات فنلی بیشتر در مقایسه با پونه سای بینالودی در اسانس آن بوده است. بدین جهت این اسانس‌ها را می‌توان برای کنترل باکتری‌های بیماری‌زای فوق‌الذکر در تولید صنعتی و سنتی دوغ استفاده نمود.

کل واژگان: پونه سای بینالودی، اثرات ضدباکتریایی، اسانس، استافیلوکوکوس، اشیریشیاکلای، دوغ، موشکورک



مقدمه

در دهه‌های اخیر توجه زیادی به استفاده از مواد نگهدارنده و طعم‌دهنده طبیعی در مواد غذایی معطوف شده است به طوری که حتی در برخی از کشورها تمایل مصرف‌کنندگان به استفاده از غذاهای حاوی مواد نگهدارنده یا طعم‌دهنده مصنوعی و ساختگی کاهش یافته است. این امر به دلیل شناخت اثرات زیان بار ترکیبات طعم‌دهنده و نگهدارنده شیمیایی است که به طور گسترده‌ای در انواع غذاهای فرآوری شده و آماده مصرف استفاده می‌شود. در بین ترکیبات طعم‌دهنده که می‌توانند در مواد غذایی، به عنوان نگهدارنده استفاده شوند، به گیاهان و مشتقات آنها بیشتر از سایر ترکیبات طعمی توجه شده و مطالعات مختلفی در زمینه اثرات مفید آنها مانند خواص ضد میکروبی صورت گرفته است [۱].

اسانس و عصاره‌های گیاهی دارای فعالیت ضد میکروبی طبیعی روی تعداد زیادی از باکتری‌های مولد فساد و بیماریزا هستند، بیشتر این ترکیبات به دلیل دارا بودن گروه‌های فعال فنولیک، در ساختارشان مشترک می‌باشند. در حقیقت آنها به علت داشتن مقادیر زیادی از ترکیبات فرار آروماتیک مورد توجه هستند [۲]. این ترکیبات فرار دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی ذاتی بوده و نقش مهمی در سیستم دفاعی گیاهان در مقابل بیماری‌های ایجاد شده در اثر میکروارگانسیم‌ها، ایفا می‌کنند. بنابراین، این ترکیبات می‌توانند به صورت یک جزء عملگرا، یک طعم‌دهنده و نیز به عنوان نگهدارنده در ماده غذایی عمل نمایند [۳].

گیاه موشکورک (*Oliveria decumbens* Vent) از خانواده‌ی چتریان، گیاهی علفی یکساله معطر به ارتفاع ۲۰ تا ۵۰ سانتی‌متر، سفیدرنگ و کم و بیش بدون کرک، پر شاخه و بومی مناطق غربی و جنوبی ایران است [۴]. به طور محلی به آن "دن" یا "دنگ" یا "موشکورک" می‌گویند. در طب سنتی ایران از این گیاه جهت درمان سوء هاضمه، اسهال و دردهای شکمی و رفع تب استفاده می‌شود [۵]. اندام هوایی این گیاه دارای مقدار قابل توجهی اسانس است که حاوی مونوترپن‌های اکسیژن‌دار است. از مهم‌ترین ترکیبات آن می‌توان به تیمول و کاراکرول اشاره کرد. همچنین گزارش شده است که روغن

اسانسی این گیاه دارای خواص ضد میکروبی خوبی در برابر باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و قارچ‌ها می‌باشد [۴].

گیاه پونه سای بینالودی (*Nepeta Jamzad binaludensis*)، گیاهی است نادر از تیره‌ی نعنائیان، چندساله، علفی به ارتفاع حدود ۷۰ سانتی‌متر و بومی انحصاری مناطق شمال شرقی ایران مخصوصاً استان خراسان شمالی است و در منطقه محدودی از کوه‌های بینالود پراکنده است. این گیاه دارای ساقه‌های منشعب و پوشیده از کرک‌های سفیدرنگ با گل‌های بنفش رنگ کرک‌دار می‌باشد. اندام هوایی این گیاه نیز دارای مقدار قابل توجهی اسانس است که حاوی مونوترپن‌های اکسیژن‌دار می‌باشد. ترکیب او ۸- سینئول، به عنوان اصلی‌ترین ترکیب موجود در اسانس بخش‌های هوایی این گیاه گزارش شده‌اند. علاوه بر این اثرات ضد میکروبی نیز برای اسانس گیاه پونه سای بینالودی گزارش شده است [۶].

محصولات لبنی شامل شیر و فرآورده‌های شیری به دلیل دارا بودن انواع مواد مغذی برای رشد انواع میکروارگانسیم‌های عامل فساد و بیماریزا مناسب می‌باشند. دوغ یک نوشیدنی لبنی تخمیری سنتی ایرانی است که به صورت معمول از مخلوط کردن آب، نمک، ماست و همچنین عصاره‌های آبی گیاهان محلی تولید می‌شود. دوغ یکی از نوشیدنی‌های پرطرفدار در آسیا و علی‌الخصوص ایران می‌باشد که دارای خواص سلامت بخش بیشماری نیز می‌باشد، برای مثال دوغ تأمین‌کننده یک چهارم نیاز روزانه به کلسیم بوده و حاوی ویتامین‌های گروه B است و بنابراین بر عکس نوشابه‌ها، تقویت‌کننده استخوان است. دوغ علاوه بر مزایای تغذیه‌ای حاوی باکتری‌های مفیدی نیز می‌باشد که اثرات زیادی بر سلامت دستگاه گوارش دارند [۷].

دوغ یکی از مناسب‌ترین محیط‌ها برای رشد باکتری‌هایی مانند استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلائی می‌باشد. استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان مهم‌ترین علت یک سوم از بیماری‌های مرتبط با غذا در جهان مطرح می‌شود. در طول دهه دهه‌های گذشته، استافیلوکوکوس اورئوس عامل ۲۵ درصد از بیماری‌های مرتبط با غذا در آمریکا بوده است. گزارش شده است که این باکتری می‌تواند در غذاهایی مانند شیر، محصولات لبنی دیگر، سبزیجات و گوشت‌های تخمیری و



شدند. اسانس‌های حاصل از سه نوبت پس از یادداشت میزان اسانس‌دهی با یکدیگر مخلوط شده و پس از آگیری توسط سولفات سدیم انیدر، در ویال‌های شیشه‌ای رنگی با درب‌های محکم شده که کلاً با فویل آلومینیومی نیز پوشیده شده بودند تا زمان انجام آزمایشات در یخچال نگهداری شدند.

تهیه نمونه‌های دوغ و کنترل میکروبی آنها

نمونه‌های دوغ از کارخانه پاژن تهیه شد. نمونه‌های دوغ برای اطمینان از آلوده نبودن، از لحاظ میکروبی مورد بررسی قرار گرفتند. در این زمینه از محیط کشت تریپتیکاز سوی آگار استفاده شد.

تهیه نمونه‌های دوغ حاوی اسانس و تلقیح گونه‌های باکتریایی

غلظت‌های مختلف از اسانس‌های گیاهان پونه سای بینالودی و موشکورک به صورت ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر در دوغ بروش اضافه شدن در صد مورد نظر از اسانس به استوک دوغ و یکنواخت شدن با دستگاه هموژنایزر، تهیه شدند. سپس به مقدار 10^6 cfu/ml از سوسپانسیون باکتری‌های گرم منفی و مثبت آماده شده شامل *اشریشیا کلای* (ATCC 25922) و *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 29213) به آن اضافه شد. سپس لوله‌ها درون انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس در محیط مرطوب نگهداری شدند. یکی از لوله‌های بدون اسانس و به عنوان کنترل منفی برای هر یک از گونه‌های باکتری در نظر گرفته شد. از بنزوات سدیم ۰/۱ درصد نیز به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. برای تهیه سوسپانسیون‌های باکتریایی، ابتدا باکتری‌های موردنظر روی محیط کشت تریپتیکاز سوی آگار به صورت خطی کشت داده شدند و در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت رشد کردند. سپس سوسپانسیون از کلنی‌های باکتری‌ها در سرم فیزیولوژی تهیه شد. سوسپانسیون باکتری‌ها توسط لوله نیم مک فارلند به صورت چشمی استاندارد شدند. در صورت غلیظ بودن، سرم فیزیولوژی و در صورت رقیق بودن کلنی‌های بیشتر به سوسپانسیون‌ها اضافه شد به طوری که هر

خام یافت شود. انترتوکسین این میکروارگانیسم مقاوم به حرارت بوده و در صورت وجود در ماده غذایی در اثر حرارت نیز از بین نمی‌رود [۸].

یکی دیگر از پاتوژن‌های مهم غذایی، باکتری *اشریشیا کلای* می‌باشد. این باکتری به عنوان یک عامل بیماری‌زای مرتبط با غذا مطرح است و می‌تواند از طریق شیر و سایر مواد لبنی، آب آلوده و نیز گوشت به انسان منتقل شود و باعث ایجاد بیماری‌هایی مانند کولیت هموراژیک در انسان‌ها شود. در آمریکا سالانه حدود ۶۳۰۰۰ نفر با این باکتری آلوده شده و مرگ و میر ناشی از آن نیز ۶۱ نفر بوده است [۹].

با توجه به مطالب بیان شده، هدف از مطالعه حاضر استفاده از اسانس‌های گیاهی طبیعی با خواص ضد میکروبی در دوغ می‌باشد. بنابراین در ابتدا اسانس‌های طبیعی از گیاهان موشکورک و پونه سای بینالودی استخراج و در غلظت‌های مختلف به دوغ افزوده شده و اثرات ضد میکروبی آنها روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلای* مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و تعیین نام علمی گیاهان موشکورک و پونه سای بینالودی

گیاه پونه سای بینالودی از منطقه کوه بینالود خراسان شمالی و گیاه موشکورک از منطقه پل دختر استان لرستان جمع‌آوری و در شرایط آزمایشگاهی خشک شدند. نمونه هرباریومی از هر دو گیاه در هرباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران مورد شناسایی و تعیین نام علمی آنها قرار گرفته و کد مخصوص هرباریومی دریافت کردند (جدول شماره ۱).

تهیه اسانس از گیاهان

گیاهان خشک شده با استفاده از آسیاب برقی پودر شده و میزان ۳۰۰ گرم از هر کدام در سه نوبت (هر نوبت ۱۰۰ گرم) به روش تقطیر با آب و توسط دستگاه کلونجر، اسانس‌گیری



نتایج

نتایج جمع‌آوری و تعیین نام علمی گیاهان به شرح جدول شماره ۱ می‌باشد.

نتایج استخراج اسانس از گیاهان موردنظر نشان داد که بازده اسانس گیاه موشکورک ۱/۵ درصد و بازده اسانس پونه سای بینالودی ۰/۱ درصد بوده است. نتایج کنترل میکروبی نیز نشان داد که دوغ تهیه شده برای آزمایش از شرکت پازن دارای آلودگی میکروبی نبوده و در هیچ‌کدام از پلیت‌ها کلنی باکتری مشاهده نشد. نتایج آنالیزهای میکروبی برای نمونه‌های کنترل منفی و کنترل مثبت نیز نشان داد که در لوله‌های کنترل منفی هر دو گونه باکتری در فاصله زمانی تحقیق به رشد ادامه دادند در حالی که در لوله‌های کنترل مثبت حاوی ۰/۱ درصد بنزوات سدیم رشد باکتری‌ها مشاهده نشد.

اثر اسانس گیاهان پونه سای بینالودی و موشکورک بر جمعیت باکتری *اشریشیا کلای* در دوغ به ترتیب در نمودارهای شماره ۱ و ۲ نشان داده شده است. در غلظت‌های ۱۲/۵ و ۲۵ میکرولیتر در میلی‌لیتر از اسانس گیاه پونه سای بینالودی، در تمام روزها، رشد باکتری مشاهده شده است ($P > 0/05$). غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرولیتر از این اسانس نیز باعث کاهش جمعیت باکتریایی تا حد 10^3 تا 10^4 cfu/ml شده است در حالی که جمعیت باکتری *اشریشیا کلای* در دوغ‌های حاوی اسانس پونه سای بینالودی با غلظت ۲۰۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر کاهش چشمگیری داشته و به 10^2 cfu/ml رسیده است ($P < 0/05$). در ارتباط با اسانس گیاه موشکورک نیز، در غلظت ۱۲/۵ میکرولیتر در میلی‌لیتر، باکتری *اشریشیا کلای* در همه زمان‌ها دارای رشد بوده است ($P > 0/05$) ولی در غلظت‌های دیگر خصوصاً غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر، جمعیت باکتری کاهش چشمگیری داشته و به 10^1 cfu/ml رسیده است ($P < 0/05$).

سوسپانسیون تقریباً حاوی 10^8 cfu/ml از باکتری‌های مورد نظر باشد. این سوسپانسیون‌ها قبل از هر آزمایش به صورت تازه تهیه شد. در کل تیمارهای مورد بررسی در پژوهش حاضر به شرح زیر بوده‌اند:

- ۱- تیمار $200:200$ $\mu\text{l/ml}$ میکرولیتر اسانس + ۷۹۵ میکرولیتر دوغ + ۵ میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی
- ۲- تیمار $100:100$ $\mu\text{l/ml}$ میکرولیتر اسانس + ۸۹۵ میکرولیتر دوغ + ۵ میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی
- ۳- تیمار $50:50$ $\mu\text{l/ml}$ میکرولیتر اسانس + ۹۴۵ میکرولیتر دوغ + ۵ میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی
- ۴- تیمار $25:25$ $\mu\text{l/ml}$ میکرولیتر اسانس + ۹۷۰ میکرولیتر دوغ + ۵ میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی
- ۵- تیمار $12/5:12/5$ $\mu\text{l/ml}$ میکرولیتر اسانس + ۹۸۲/۵ میکرولیتر دوغ + ۵ میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی

شمارش باکتری‌ها

در فاصله‌های زمانی ۱، ۳، ۴ و ۵ روز بعد از تلقیح دوغ حاوی غلظت‌های مختلف اسانس‌ها، از دوغ‌ها نمونه‌برداری شد و روی محیط کشت تریپتیکاز سوی آگار کشت داده شد. ۱۰ میکرولیتر از دوغ‌ها روی محیط کشت ریخته شد و در همه سطح محیط کشت با استفاده از لوپ میکروبیولوژی به صورت همگن کشت داده شد. از هر غلظت به صورت دوپلیکیت کشت داده شد و محیط‌های کشت درون انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شدند و بعد از ۲۴ ساعت شمارش کلنی‌ها انجام گرفت.

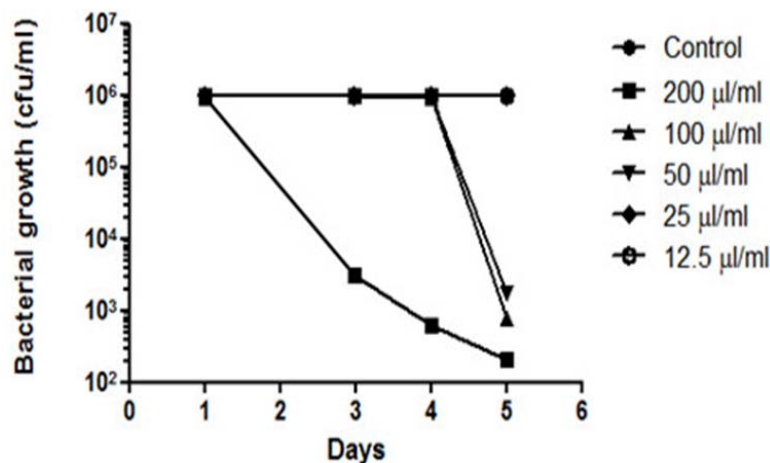
آنالیز آماری

آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه ۵ انجام گرفت و گروه‌های تست با کنترل منفی مقایسه شدند. سطح معنی‌داری (P value) نیز ۰/۰۵ لحاظ شد.

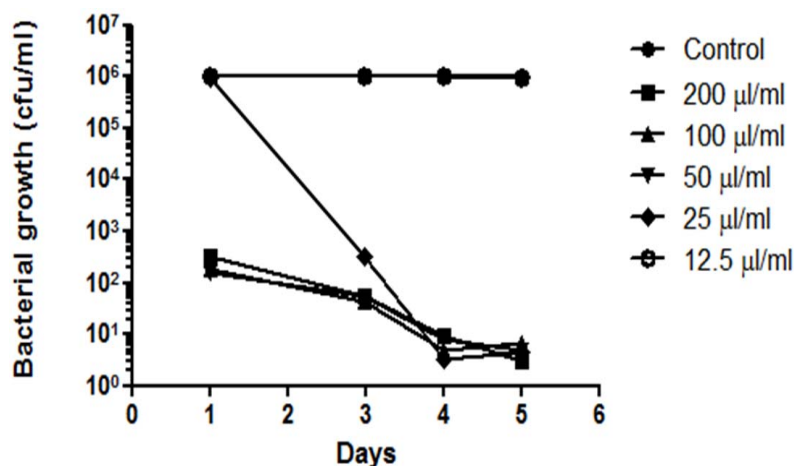
جدول شماره ۱ - نتایج محل جمع‌آوری و تعیین نام علمی گیاهان

ردیف	نام علمی	محل جمع‌آوری	کد هر بایومی
۱	<i>Oliveria decumbens</i> Vent	پل دختر، لرستان	6579-TEH
۲	<i>Nepeta binaludensis</i> Jamzad	بینالود، خراسان شمالی	6755-TEH





نمودار شماره ۱- اثر غلظت‌های مختلف اسانس گیاه پونه سای بینالودی روی رشد *شریشیا کلا*ی در دوغ



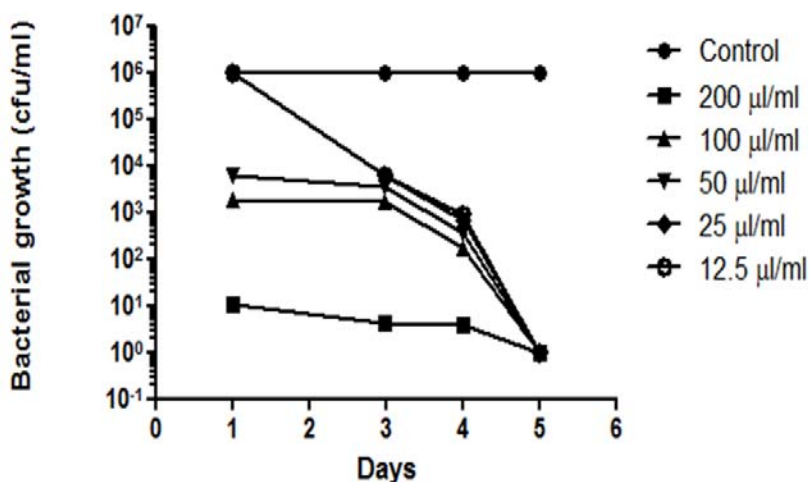
نمودار شماره ۲- اثر غلظت‌های مختلف اسانس گیاه موشکورک روی رشد *شریشیا کلا*ی در دوغ

آمارى نشان داد که اثر همه غلظت‌های اسانس پونه سای بینالودی نسبت به کنترل منفى معنی‌دار بودند ($P < 0.05$). اسانس گیاه موشکورک نیز در همه غلظت‌ها باعث کاهش میزان جمعیت باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در دوغ در یک شیوه وابسته به غلظت شده است. در این مورد نیز نتایج آنالیز آماری نشان داد که اثر همه غلظت‌های اسانس موشکورک نسبت به کنترل منفى معنی‌دار بودند ($P < 0.05$).

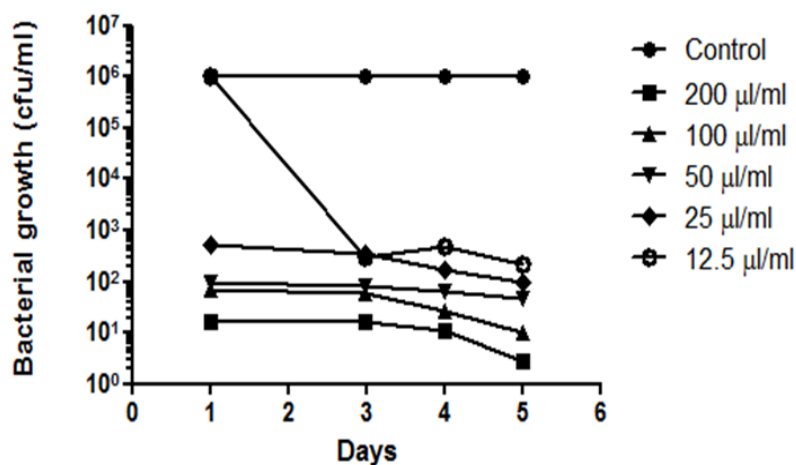
با توجه به نتایج حاصله، اثرات ضدباکتریایی اسانس دو گیاه موشکورک و پونه سای بینالودی در دوغ را می‌توان به صورت جدول شماره ۲ خلاصه نمود.

اثر غلظت‌های مختلف از اسانس‌های گیاه پونه سای بینالودی و موشکورک بر جمعیت باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه‌های دوغ نیز به ترتیب در نمودارهای شماره ۳ و ۴ نشان داده شده‌اند. در ارتباط با اسانس گیاه پونه سای بینالودی، جمعیت باکتری در همه روزهای بررسی ثابت بوده و برابر با 10^6 cfu/ml بوده است. اسانس پونه سای بینالودی نیز در همه غلظت‌ها باعث کاهش جمعیت باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در دوغ شده و در روز پنجم نگهداری میزان باکتری در حضور غلظت‌های مختلف این اسانس کاهش چشمگیری داشته است که سرعت کاهش جمعیت میکروبی وابسته به غلظت بوده است. نتایج آنالیز





نمودار شماره ۳- اثر غلظت‌های مختلف اسانس گیاه پونه سای بینالودی روی رشد استافیلوکوکوس اورئوس در دوغ



نمودار شماره ۴- اثر غلظت‌های مختلف اسانس گیاه موشکورک روی رشد استافیلوکوکوس اورئوس در دوغ

جدول شماره ۲- مقایسه نتایج ضد باکتریایی اسانس دو گیاه موشکورک و پونه سای بینالودی

گونه‌های گیاهی	<i>Staphylococcus aureus</i>					<i>Escherichia coli</i>				
	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰	۲۰۰	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰	۲۰۰
موشکورک	+	+	+	++	++	-	+	+	++	++
پونه سای بینالودی	+	+	+	+	++	-	-	+	+	++

+: positive, ++: Strong positive, -: negative



بحث

در غلظت‌های مختلف، اسانس دو گیاه موشکورک و پونه سای بینالودی دارای اثرات مهارکنندگی جالب توجهی روی هر دو باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلای* هستند ولی در غلظت ۱۲/۵ میکرولیتر بر میلی‌لیتر، اسانس هر دو گیاه روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* اثرات قوی‌تری بوده‌اند. همچنین، نتایج بیانگر این موضوع است که اسانس گیاه موشکورک نسبت به اسانس گیاه پونه سای بینالودی توانایی بیشتری را برای مهار هر دو سویه مورد مطالعه از خود نشان داده است.

نتایج این مطالعه نشان داد که اسانس گیاهان موشکورک و پونه سای بینالودی دارای اثرات مهارتی روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلای* در دوغ بوده‌اند. لذا می‌توان گفت که این اسانس‌ها دارای قابلیت خوبی برای استفاده به عنوان یک ماده ضد میکروبی طبیعی بدون عوارض متداول می‌باشند. نتایج تحقیق حاضر هم راستا با نتایج پژوهش محققین دیگر می‌باشد.

در یک مطالعه مشابه، اسانس گیاه موشکورک جمع‌آوری شده از جنوب شیراز در ایران استخراج شده و اثرات ضد میکروبی آن روی باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیس* و *باسیلوس سرئوس*)، و باکتری‌های گرم منفی (*اشریشیا کلای*، *سودوموناس آیروجینوزا* و *سراتیا مارسسانس*) و مخمرها (*کاندیدا آلبیکانز* و *آسپرژیلوس نایچر*) بررسی شد [۴] و نتایج نشان داد که اسانس موشکورک دارای فعالیت ضد میکروبی وسیعی در مقابل همه ارگانسیم‌های مطالعه شده نشان می‌دهد و این اثر با اثر آنتی‌بیوتیک‌های تجاری قابل مقایسه می‌باشد. حساسیت باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت نیز نسبت به اسانس گیاه موشکورک یکسان بوده است.

در یک مطالعه دیگر نیز محققین اثر ضدباکتریایی جالب توجهی را برای اسانس گیاه موشکورک در برابر باکتری *اشریشیا کلای* گزارش نمودند [۱۰]. در واقع اثرات ضد میکروبی اسانس گیاه موشکورک را می‌توان ناشی از وجود ترکیبات مونوترپنی اکسیژنه مانند تیمول و کارواکرول دانست

که به عنوان مواد ضد میکروبی با پتانسیل بالا شناخته می‌شوند [۱۰، ۴]. تیمول و کارواکرول هر دو به غشای باکتری‌ها آسیب می‌زنند و قابلیت نفوذپذیری غشای سلولی را افزایش می‌دهند و منجر به تراوش ATP می‌شوند. کارواکرول به طور خاص دارای اثر ممانعت روی آنزیم ATPase می‌باشد و برای مثال در باکتری *اشریشیا کلای* از سنتز فلاژلین ممانعت می‌کند [۱]. اثر هم‌افزایی بین تیمول و کارواکرول در مورد بعضی از باکتری‌ها نیز گزارش شده است. در کل ترکیبات فنولی موجود در اسانس، موجب تغییر در نفوذپذیری کانال‌های انتقال مواد در غشای باکتری شده و با تغییر در شیب یونی، منجر به توقف و اختلال عملکردهای اساسی سلولی و مرگ آن می‌شوند [۱۱].

اثرات ضد میکروبی اسانس گیاه پونه سای بینالودی نیز توسط محققین دیگر مورد بررسی قرار گرفته است. گزارش شده است که ترکیبات اصلی تشکیل‌دهنده اسانس گیاه پونه سای بینالودی او ۸- آلفا سینثول (۶۸/۳۱ درصد)، آلفا-ترپینثول (۵/۲۴ درصد)، بتا-پینن (۴/۷۴ درصد)، دلتا-ترپینثول (۲/۵۷ درصد) و آلفا-پینن (۱/۵۴ درصد) بوده است. هم راستا با نتایج مطالعه حاضر، این محققین نیز عنوان نمودند که اسانس گیاه پونه سای بینالودی دارای اثرات ضد میکروبی خوبی علیه باکتری‌های *اشریشیا کلای* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بوده‌اند [۶]. بنابراین می‌توان اثرات ضد میکروبی اسانس گیاه پونه سای بینالودی را به وجود مقدار زیادی از ماده او ۸- آلفا سینثول در آن مرتبط دانست که اثرات ضدباکتریایی آن در تحقیقات گذشته به اثبات رسیده است [۱۲]. گزارش شده است که او ۸- آلفا سینثول به غشای سیتوپلاسمیک باکتری‌ها آسیب رسانده و باعث کاهش پایداری ساختاری سلول شده و در نهایت نفوذپذیری غشا را تغییر می‌دهد که می‌تواند منجر به مرگ سلولی شود [۱۳].

نتیجه گیری

مقایسه نتایج حاصل از اثرات مهارتی دو اسانس موشکورک و پونه سای بینالودی نشان می‌دهد که اسانس موشکورک توانایی بیشتری را برای مهار هر دو سویه مورد مطالعه از خود



بارزی بر اثرات بیشتر اسانس گیاه مشکورک نسبت به اسانس گیاه پونه سای بینالودی است.

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داده است که اسانس حاصل از دو گیاه موشکورک و پونه سای بینالودی در مقایسه با سایر تحقیقات مشابه، قابل توجه ارزیابی می‌شود و لذا استفاده از اسانس این گیاهان دارویی در تولید سنتی و صنعتی دوغ را می‌توان با اطمینان پیشنهاد نمود.

توجه داده می‌شود که استانداردهای و آنالیز هر یک از اسانس‌ها قبل از مصرف صنعتی، مدنظر قرار گیرد.

نشان داده است، به طوری که با حداقل غلظت ۵۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر روی *اشریشیاکلا* و در حداقل غلظت ۱۰۰ میکرولیتر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* اثر مهاری داشته است. دلیل اثر بیشتر اسانس موشکورک را مسلماً می‌توان در ترکیبات شیمیایی تشکیل‌دهنده اسانس این گیاه جستجو نمود و لذا به همین دلیل نگاهی به آنالیز اسانس موشکورک و پونه سای بینالودی نشان داده است که وجود ترکیبات فنلی با میزان ۷۰/۳۷ درصد (تیمول به اضافه کارواکرول) در اسانس گیاه موشکورک و عدم وجود این مقدار از مواد مذکور در اسانس پونه سای بینالودی، با اثرات ثابت شده ضد میکروبی دلیل

منابع

1. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int. J. Food Microbiol.* 2004; 94 (3): 223-253.
2. Swamy MK, Akhtar MS and Sinniah UR. Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: an updated review. *Evid-Based. Compl. Alt.* 2016; 1-20.
3. Marino M, Bersani C and Comi G. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. *Int. J. Food Microbiol.* 2001; 67 (3): 187-195.
4. Amin G, Sourmaghi MS, Zahedi M, Khanavi M and Samadi N. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Oliveria decumbens*. *Fitoterapia* 2005; 76 (7): 704-707.
5. Sajjadi SE and Hoseini SA. Essential Oil Constituents of *Oliveria decumbens* Vent. *J. Essent. Oil Res.* 2002; 14 (3): 220-221.
6. Mohammadpour N, Emami SA and Asili J. Identification of Volatile Oil Components of *Nepeta binaludensis* Jamzad by GC-MS and ¹³C-NMR Methods and Evaluation of its Antimicrobial Activity. *J. Essent. Oil Bear. Pl.* 2013; 16 (1): 102-107.
7. Azarikia F and Abbasi S. On the stabilization mechanism of Doogh (Iranian yoghurt drink) by gum tragacanth. *Food Hydrocolloids* 2010; 24 (4): 358-363.
8. Tamarapu S, McKillip JL and Drake M. Development of a multiplex polymerase chain reaction assay for detection and differentiation of *Staphylococcus aureus* in dairy products. *J. Food Protect.* 2001; 64 (5): 664-668.
9. Kasımoğlu A and Akgün S. Survival of *Escherichia coli* O157: H7 in the processing and post-processing stages of acidophilus yogurt. *Int. J. Food Sci. Tech.* 2004; 39 (5): 563-568.
10. Hajimehdipoor H, Samadi N, Mozaffarian V, Rahimifard N, Shoeibi S and Piralı Hamedani M. Chemical composition and antimicrobial activity of *Oliveria decumbens* volatile oil from West of Iran. *J. Med. Pl.* 2010; 1 (33): 39-44.
11. Sahari MA and Asgari S. Effects of plants bioactive compounds on foods microbial spoilage and lipid oxidation. *Food Sci. Tech.* 2013; 1 (3): 52-61.
12. Van Vuuren SF and Viljoen AM. Antimicrobial activity of limonene enantiomers and 1, 8-cineole alone and in combination. *Flavour Frag. J.* 2007; 22 (6): 540-544.



13. Hendry ER, Worthington T, Conway BR and Lambert PA. Antimicrobial efficacy of eucalyptus oil and 1, 8-cineole alone and in combination with

chlorhexidine digluconate against microorganisms grown in planktonic and biofilm cultures. *J. Antimicrob. Chemoth.* 2009; 64 (6): 1219-1225.



A Survey of Antibacterial Effects of *Oliveria decumbens* and *Nepeta binaludensis* Essential Oils on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in Doogh

Amin M (M.Sc.)¹, Nikoopour H (Ph.D.)^{1*}, Fazeli MR (Ph.D.)²

1- Department of Food Science and Engineering, Science & Research Branch, Islamic Azad University, Hesarak Tehran, Iran

2- Department of Drug and Food Control, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Abne Sina Ave. Tehran, Iran

*Corresponding author: Department of Food Science and Engineering, Science & research Branch, Islamic Azad University, Hesarak Tehran, Iran. Postal Code: 1477893855

Tel: +98-21-44868537-60

E-mail: h_nikoopour@yahoo.com

Abstract

Background: Plant extracts and essential oils are commonly used in traditional and industrial doogh products to inhibit bacterial activities.

Objective: In this study, the antibacterial effects of the essential oils of *Oliveria decumbens* and *Nepeta binaludensis* against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in doogh were investigated.

Methods: Essential oils of *Oliveria decumbens* and *Nepeta binaludensis* were collected from Binalud and Pol-Dokhtar respectively and the essential oil of these species were extracted by the hydro-distillation method. Then, different concentrations of essential oils (12.5, 50, 100 and 200 μL^{-1}) were added to doogh containing 10^4 *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. Finally, the bacteria were counted during 5 days of storage.

Results: The results showed that, at the maximum duration of 5 days storage, the difference between the inhibitory activity of *Oliveria decumbens* and *Nepeta binaludensis* essential oils at concentrations of 50 and 100 μL^{-1} respectively against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in comparison with control sample was significant ($P < 0.05$). Moreover, it was observed that the antibacterial effect of *Oliveria decumbens* was higher than *Nepeta binaludensis* due to its more phenolic compounds.

Conclusion: The results of the present study have shown that essential oils of *Oliveria decumbens* and *Nepeta binaludensis* have good inhibitory effects against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in doogh. So they can be used as preservatives in traditional and industrial doogh products.

Keywords: *Nepeta binaludensis*, *Oliveria decumbens*, Antibacterial, Doogh, Essential oil, *E. coli*, *S. aureus*

