بررسی ترکیبات اسانس و اثر ضدباکتریایی عصاره‌های آبی و متانولی گل میمونی *اسکروفولاریا خراسانیکا* بر برخی از پاتوژن‌های مهم غذایی در شرایط آزمایشگاهی

آنا براتی[۱]، علی محمدی ثانی[۲*]، مسعود یاورمنش[۳]

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران
۲. باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران
۳. استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
*نویسنده مسئول مکاتبات: mohamadisani@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۹۳/٤/۱٦ پذیرش نهایی: ۹۵/٤/۸)

چکیده

گیاه *اسکروفولاریا خراسانیکا* (*Scrophularia khorassanica*) از تیره گل میمون و گونه بومی ایران و خراسان است که اطلاعات کافی در مورد آنالیز اسانس و اثر ضدباکتریایی آن موجود نیست. با توجه به استفاده‌های درمانی محلی این گیاه و سایر گونه‌های آن، در این مطالعه ترکیبات اسانس و اثر عصاره‌های آبی و متانولی گیاه مذکور بر باکتری‌های *اشریشیاکولای* و *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد بررسی قرار گرفت. عصاره‌ها به روش ماسراسیون و اسانس توسط تقطیر با آب تهیه گردیدند. ترکیب اسانس توسط GC/MS و حداقل غلظت مهاری (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) با روش میکرودایلوشن براث اندازه‌گیری شد. در آنالیز اسانس ۲۸ ترکیب شناسایی شد که در آن اجزای اصلی شامل ۳،۱- بیس(تری متیل سیلیل) بنزن (۳٤/۹۳٪)، پاراسیمن (۱۲/۵۵٪)، پالمتیک اسید (٦/۷۹٪)، تیمول (٦/۲۲٪)، لینالول (٤/۵۹٪)، سوربیتول (۱/۸۷٪)، کارواکرول (۱/۷٤٪)، گاماترپینن (۱/۹۱٪)، بتا-المن (۱/۰۳ ٪) و آلفاپینن (۰/۳ ٪) بود. نتایج نشان داد عصاره آبی گیاه دارای اثر ضدباکتری قوی‌تری نسبت به عصاره متانولی بود. همچنین هر دو عصاره آبی و متانولی *اسکروفولاریا خراسانیکا* دارای اثر بازدارندگی و کشندگی در غلظت‌های مورد بررسی بودند. حداقل غلظت بازدارندگی عصاره آبی علیه *اشریشیا کولای* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌ترتیب ٦/۲۵ و ۱۲/۵ mg/ml و برای عصاره متانولی به ترتیب ۲۵ و ۱۲/۵ mg/ml تعیین شد. لذا می‌توان از این عصاره به‌عنوان عوامل ضدمیکروبی طبیعی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: عصاره *اسکروفولاریا خراسانیکا*، حداقل غلظت بازدارندگی، حداقل غلظت کشندگی، اسانس

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

بیماری‌های ناشی از غذا در نتیجه مصرف غذاهای آلوده به باکتری‌های عامل فساد و بیماری‌زا به‌طور مستقیم در سلامت جامعه نقش داشته و با وجود استفاده از انواع مختلف روش‌های نگهداری هنوز مسمومیت غذایی یکی از نگرانی‌های اصلی برای مصرف‌کنندگان و تولیدکنندگان است (Oussalah *et al*., 2007). باکتری گرم منفی *اشریشیاکولای* یکی از عوامل اصلی ایجاد کننده عفونت‌های غذایی است که اسهال خونی، تهوع و دل پیچه‌های شدید و حتی مرگ را در بیماران باعث گردیده و به‌عنوان عامل اصلی تولید وروتوکسین شناخته شده است. این باکتری از طریق گوشت چرخ‌کرده، لبنیات مخصوصاً شیر، آبمیوه غیرپاستوریزه، سیب‌زمینی، سبزی‌های خام و سالاد، کالباس، سوسیس و همبرگر ممکن است وارد بدن شده و ایجاد بیماری نماید (Armestrong *et al*., 1996). همچنین باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* که یک باکتری گرم مثبت با قابلیت تولید انتروتوکسین است از طریق گوشت، مرغ، تخم‌مرغ، ماهی، شیر و فرآورده‌های آن، سس‌های خامه ای، محصولات شیرینی‌پزی مانند پودینگ‌ها و غیره در بدن انسان ایجاد مسمومیت می‌کند (Frazier and Westhoff, 1987).

نگهدارنده‌های شیمیایی مواد غذایی قرن‌هاست برای جلوگیری از فساد باکتریایی و قارچی در غذاها استفاده می‌شوند و دارای عوارضی برای سلامت بوده و اغلب پرهزینه هستند. امروزه مصرف‌کنندگان با توجه به اثرات مضر نگهدارنده‌های غذایی شیمیایی و سنتتیک خواهان استفاده از منابع گیاهی، حیوانی و میکروبی هستند تا علاوه بر افزایش زمان ماندگاری غذا و جلوگیری از مسمومیت‌های غذایی از اثرات مضر نگهدارنده‌های شیمیایی مصون باشند (Lluis *et al*., 2002). گیاهان دارویی به‌دلیل داشتن مقادیر زیادی از ترکیبات فرار آروماتیک، دارای خاصیت ضدمیکروبی و اکسایشی بوده و به‌صورت یک جز عملگر، یک نگهدارنده و نیز طعم‌دهنده در مواد غذایی عمل می‌کنند. خصوصیات ضدمیکروبی عصاره‌های گیاهی علیه طیف وسیعی از میکروب‌ها شامل باکتری‌ها، مخمرها و کپک‌ها به اثبات رسیده است (Smith *et al*., 2001).

تیره گل میمون یا *اسکروفولاریاسه* شامل تقریباً ۵۱۰۰ گونه و ۲۷۵ جنس است که یکی از جنس‌های دارویی آن اسکروفولاریا است که به مقدار زیادی در چین، اطراف صحرای عرب و مجاور قلمرو ایرانیان و تورانیان شامل مصر، فلسطین، اردن، سوریه، عربستان، بحرین، کویت و ایران یافت می‌شود (Pasdaran *et al*., 2012). *اسکروفولاریا استریاتا*، نینگ‌پونزا، دزرتی، سامبوکیفولیا و فروتسن به عنوان گیاهان دارویی در سراسر دنیا با اثرات آرام‌بخشی، درمان زخم معده، نفخ، زخم‌ها، اگزما، سرطان و تومور مورد استفاده قرار می‌گیرند (Header and Henderson, 1994). یکی از گونه‌های این جنس *اسکروفولاریا خراسانیکا* است که گیاهی دوساله یا چندساله، تماماً پوشیده از ذرات سفید رنگ است که تا ۴۰ سانتی‌متر ارتفاع دارد. ساقه به‌طور نامحسوس با رگه‌های طولی، ساده یا منشعب است. این‌گونه انحصاری ایران و خراسان می‌باشد (Attar *et al*., 2006).

طبق بررسی‌های انجام شده اطلاعات کافی در مورد گیاه *اسکروفولاریا خراسانیکا* موجود نیست، ولی مطالعات کمی بر روی گونه‌های دیگر اسکروفولاریا در

www.SID.ir
Archive of SID

نقاط مختلف جهان انجام شده است که از آن جمله می‌توان به تحقیقات اردشیری لاجیمی و همکاران (۲۰۱۳) و عباسی و همکاران (۱۳۸۳) اشاره نمود که نشان دادند عصاره آبی گیاه *اسکروفولاریا استریاتا* تا ۸۰ درصد از رشد باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کولای* جلوگیری می‌کند. محبوبی و همکاران (۲۰۱۳) هم به رابطه مستقیم بین خاصیت ضدمیکروبی عصاره‌های *اسکروفولاریا استریاتا* و محتوای فنلی پی‌بردند. بهمنی و همکاران (۱۳۸۹) و قاسمی پیربلوطی و همکاران (۲۰۱۰) اثر ضد کاندیدایی عصاره‌های گیاه *اسکرفولاریا دسرتی* را گزارش نمودند. بنابراین هدف از انجام این پژوهش تعیین ترکیبات اسانس و اثر ضدباکتریایی عصاره‌های آبی و متانولی *اسکروفولاریا خراسانیکا* روی باکتری‌های *اشریشیاکولای* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بود.

مواد و روش‌ها

- جمع‌آوری گیاه و خشک کردن آن

اندام‌های هوایی گیاه *اسکروفولاریا خراسانیکا* در اردیبهشت و خرداد ماه سال ۱۳۹۳ در مرحله گل‌دهی از شهرستان سرخس، استان خراسان رضوی، جمع‌آوری شد. این گیاه با کد (شماره ٤٥٠١٥) توسط کارشناسان هرباریوم پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد شناسایی گردید. برگ و ساقه گیاه در سایه خشک و تا زمان انجام آزمون دور از نور و رطوبت نگهداری شد.

- اسانس‌گیری

اندام‌های هوایی گیاه با آسیاب برقی پودر گردید، سپس ۵۰۰ گرم از پودر حاصل را توزین و توسط دستگاه کلونجر (مدل دارونامه بریتانیا) به روش تقطیر با آب به مدت ۳ ساعت اسانس‌گیری شد. اسانس جمع‌آوری شده توسط فویل آلومینیوم پوشانده و در یخچال با دمای ٤ درجه سلسیوس تا زمان آنالیز با GC/MS نگهداری شد (Shareyat, 1997).

- آماده‌سازی عصاره آبی

برای تهیه عصاره آبی از روش خیساندن (Maceration) استفاده گردید، به این ترتیب که مقدار ۵۰ گرم از پودر خشک شده گیاه توزین و با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل داغ مخلوط و به مدت ٢٤ ساعت روی شیکر قرار گرفت. سپس با کاغذ صافی، محلول صاف و عصاره حاصل در دمای ۵۰ درجه سلسیوس توسط روتاری خشک گردید (Naeini *et al*, 2011).

- تهیه عصاره متانولی

مقدار ۵۰ گرم پودر گیاه توسط ۵۰۰ میلی‌لیتر متانول ۱۰۰ درصد به مدت یک شبانه‌روز به روش خیساندن عصاره‌گیری شد (نسبت حلال به گیاه ۱۰ به ۱). مخلوط به مدت ٢٤ ساعت روی شیکر قرار گرفته تا به این ترتیب عصاره متانولی تهیه شود، عصاره حاصل در دمای ۳۵ درجه سلسیوس تغلیظ گردید (کمیته تدوین فارماکوپه گیاهی ایران، ۱۳۸۱). عصاره متانولی تقریباً حلال اکثر مواد موثره در گیاهان بوده و به این دلیل از حلال مذکور استفاده گردید (Etebari et al., 2013).

- تعیین ترکیبات اسانس

دستگاه کروماتوگرافی گازی مذکور Agilent Technologies مدل 7890A و شناساگر جرمی استفاده شده Agilent Technologies مدل 5975C و ساخت آمریکا بود. از ستون HP-5 MS به طول ۳۰ متر، قطر

Archive of SID
www.SID.ir

داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. تنظیمات تجزیه‌ای به‌صورت زیر انجام گرفت: دمای اولیه ستون ۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۲ دقیقه، سپس با افزایش ۵ درجه سلسیوس در هر دقیقه به دمای نهایی ۲۵۰ درجه سلسیوس رسید. ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و گاز حامل استفاده شده هلیم با سرعت جریان ۱/۱ میلی‌لیتر بر دقیقه بود. شناسایی مواد متشکله اسانس به وسیله مقایسه طیف جرمی و اندیس بازداری‌شان طبق منابع موجود، انجام گردید (Adams, 2001).

- آماده‌سازی کشت‌های باکتری

باکتری *اشریشیا کولای* O157:H7 (EDL 933) و *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 25923) از دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شد. به‌منظور دستیابی به کشت تازه و فعال، باکتری‌های منجمد را در دمای آزمایشگاه از انجماد خارج کرده و پس از کشت سطحی آن‌ها بر روی محیط کشت نوترنیت آگار (مرک، آلمان)، به مدت ۱۸ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید. سپس از کشت‌های ۱۸ ساعته، مقادیر مختلف به محیط کشت مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) منتقل و جذب نوری با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ٦٢٥ نانومتر تعیین گردید، سپس سوسپانسیون باکتری معادل نیم مک‌فارلند تهیه شد (Akhondzade *et al*., 2003).

- تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (Minimum Inhibitory Concentration)

تعیین MIC در میکروپلیت ٩٦ خانه استریل و با روش میکرودایلوشن براث انجام شد. به این نظور ابتدا ۱۰۰ µl از محیط کشت مولر هینتون براث (مرک، آلمان) به داخل چاهک‌های میکروپلیت اضافه شد، سپس µl ۱۰۰ عصاره به اولین چاهک اضافه گردید. پس از یکنواخت شدن محتویات چاهک اول، µl ۱۰۰ از آن به چاهک بعدی منتقل و به همین ترتیب تا خانه ۱۰ رقیق شدند و نهایتاً µl ۱۰۰ اضافی از خانه دهم بیرون ریخته شد. در آخر به همه چاهک‌ها µl ۲۰ سوسپانسیون رقیق شده با کدورت معادل محلول نیم مک‌فارلند اضافه شد. غلظت‌های عصاره آبی و متانولی معادل ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ٦/۲۵، ۳/۱۲، ۱/۵٦، ۰/۷۸، ۰/۳۹، ۰/۱۹۵ و ۰/۰۹۷۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. یکی از خانه‌های میکروپلیت را به‌عنوان کنترل مثبت (حاوی میکروارگانیسم، محیط کشت، بدون عصاره) و خانه دیگر را کنترل منفی (حاوی عصاره و محیط کشت، بدون میکروارگانیسم) در نظر گرفته شد. سپس به مدت ٢٤ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری گردیدند. در مرحله بعد، µl ۲۰ از نمک تترازولیوم حل شده در آب (با غلظت mg/ml ۵) به هر چاهک افزوده شده و به مدت ۲ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید. این آزمایش در ۳ تکرار انجام شد.

- تعیین حداقل غلظت‌کشندگی (Minimum Bactericidal Concentration)

مقدار µl ۱۰ از هر یک از میکروپلیت‌هایی که در آن رشد باکتری مشاهده نشد و تغییر رنگ صورت نگرفته بود، به محیط مولر هینتون آگار منتقل شد و پس از ٢٤ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، پلیت‌ها از نظر رشد باکتری مورد بررسی قرار گرفتند. غلظتی از عصاره که حداقل ۹۹/۹٪ از سلول‌های میکروبی را کاهش دهد، به عنوان MBC در نظر گرفته شد (Moreire *et al*., 2005).

www.SID.ir
Archive of SID

یافته‌ها

نتیجه آنالیز اسانس گیاه *اسکروفولاریا خراسانیکا* با تکنیک GC/MS در جدول (۱) نشان داده شده است. از بین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس، ۲۸ ترکیب شناسایی شد که ۹۲/۹۶ درصد از کل ترکیبات را به خود اختصاص می‌دادند. همچنین نتایج آزمون میکروبی در جدول شماره (۲) نشان داده شده است. حداقل غلظت بازدارندگی عصاره آبی علیه *اشریشیا کولای* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌ترتیب ۶/۲۵ و ۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. حداقل غلظت بازدارندگی عصاره متانولی این گیاه علیه *اشریشیا کولای* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌ترتیب ۲۵ و ۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید. این داده‌ها نشان می‌دهد هر دو عصاره خاصیت بازدارندگی روی پاتوژن‌های مورد بررسی داشته و البته تاثیر عصاره آبی بیشتر از متانولی بود.

جدول (۱)- ترکیبات اسانس *اسکروفولاریا خراسانیکا*

ترکیب	RT	درصد
p-Xylene	٤/٠١	١/٢٨
Alpha-Thujene	٤/٥٨	٠/٢٢
Alpha.-Phellandrene	٥/٢٤	٠/١٦
Alpha.-Pinene	٥/٤٢	٠/٣٠
Beta.-Myrcene	٦/٩٢	٠/٣٥
P- Cymene	٧/٩٢	١٢/٥٥
Limonene	٨/٠٤	٠/٧٤
Terpinene-Gamma	٨/٩٩	١/٩١
Linalool	١٠/٢٩	٤/٥٩
Terpineol-Alpha	١٠/٦٩	١/٠٦
alcohol Beta-Fenchyl	١٣/٣٤	١/٠١
Camphene	١٣/٣٦	٠/ ٢٣
Beta-Damascenone	١٩/٧٧	٠/٤٦
Nerolidol	٢٥/٣٥	٠/٤٨
Beta-Elemene	٢٥/٧٦	١/٠٣
Phytol	٣١/٥٩	٠/٥٢
6,10,14-Trimethyl-2-pentadecanone	٣٢/٨٠	٧/٧
Isopulegol	٣٣/٩١	٠/٢٢
2- undecanone	٣٤/٢٣	٤/٣٥
Palmitic acid	٣٤/٦٣	٦/٧٩
Farnesol	٣٥/٧٢	٠/٥٣
Dodecanol	٣٦/٣٠	٠/٣٥
Linolelaidic acid, methyl ester	٣٩/٥٦	٠/٢٤
Sorbitol	٤٧/٠٧	١/٨٧

Archive of SID

www.SID.ir

ادامه جدول (۱)

ترکیب	RT	درصد
Tetradecanedioic (Myristicacid)	٤٧/٢٦	١/١٣
Carvacrol	٥٢/٦٩	١/٧٤
Thymol	٥٤/٣٣	٦/٢٢
1,3-Bis (trimethylsilyl) benzene	٥٥/٢٦	٣٤/٩٣
Monoterpens		٢٥/١٨
Sesquiterpene		٢/٠٤
Saturated fatty		٧/٩٢
Others		٥٧/٨٢
Total identified		**٩٢/٩٦**

جدول(۲)- حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) عصاره‌های *اسکروفولاریا خراسانیکا* روی پاتوژن‌های مورد آزمون

میکروارگانیسم	عصاره آبی		عصاره متانولی	
	MBC	MIC	MBC	MIC
اشریشیا کولای	٦/٢٥	٦/٢٥	٥٠	٢٥
استافیلوکوکوس اورئوس	١٢/٥	٢٥	٢٥	١٢/٥

بحث و نتیجه‌گیری

آنالیز اسانس گیاه اسکروفولاریا خراسانیکا نشان می‌دهد که پاراسیمن (۱۲/۵۵٪) یکی از ترکیبات عمده اسانس است. این جزء، به عنوان یکی از عوامل معطر بطور رایج در زیره و آویشن مشاهده می‌شود (Bennet *et al*., 1982). از دیگر ترکیبات مهم دیگر در اسانس می‌توان به تیمول و کارواکرول اشاره نمود که از نظر ساختمانی بسیار به یکدیگر شبیه هستند (Dorman and Deans, 2000). در میان ترکیبات موجود در اسانس گیاه *اسکروفولاریا خراسانیکا*، بتا - المن (۱/۰۳٪)، جزء شناخته شده‌ای است که طبق آزمایشات در شرایط آزمایشگاهی، اثرات ضدتکثیری نسبت به برخی از انواع سلول‌های سرطانی را از خود نشان داده و امکان استفاده از آن در شیمی درمانی وجود دارد (Zhu *et al*., 2011).

در زمینه شناسایی ترکیب اسانس در دیگر گونه‌های اسکروفولاریا، مطالعاتی انجام شده است. میازاوا و همکاران در مطالعه روی *اسکروفولاریا نینگ‌پونزا*، نشان دادند که ترکیبات اصلی گیاه شامل پالمتیک اسید (۲۵/٤۰ ٪)، لینولئیک اسید (۱۰/۰٤٪)، آلفا لینولنیک اسید (٦/۰٦٪)، گاما لینولنیک اسید (٤/۸۲٪)، پالمیتوئیک اسید (۳/۹٤٪)، ترانس اولئیک اسید (۳/۵۲٪)، سیس اولئیک اسید (۲/٦۷٪)، آلفا ترپینئول (۰/۱۷٪) و لیمونن (۰/۱۲٪) می‌باشد (Miyazawa *et al*, 1998). همان‌طور که مشاهده می‌شود بیشترین درصد ترکیبات این گیاه را اسیدهای چرب تشکیل داده‌اند. مطالعه حاضر نشان داد که در اسانس *اسکروفولاریا خراسانیکا* پالمتیک اسید به میزان ٦/۷۹٪ وجود داشت. در همین رابطه امیری و همکاران (۱۳۹۰) به شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده

www.SID.ir
Archive of SID

اسانس گیاه *اسکروفولاریا استریاتا* پرداختند که آنالیز اسانس منجر به شناسایی ۳٤ ترکیب شد که مهم‌ترین ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس را لینالول (۱۸/۳ ٪)، بتا داماسکون (۵/۹ ٪)، نرولیدول (۳/۱ ٪) و فیتول (۱/۵٪) تشکیل می‌دادند. پاسداران و همکاران (۲۰۱۲) اجزای اصلی اسانس گیاه *اسکروفولاریا آمپلکسیکولیس*(*Scrophularia amplexicaulis*) را اوژنول (۵۳/۸ ٪)، استات اوژنول (۲٤/۵ ٪)، اکسید کاریوفیلن (٦/٤ ٪) و بتا کاریوفیلن (۵/۷ ٪) گزارش نمودند. پاسداران و همکاران (۲۰۱۳) به شناسایی ترکیبات *اسکروفولاریا اکسی‌سپالا* پرداختند که ترکیبات مهم شامل فیتول (۲۵/۳٪)، متیل بنزیل الکل(۹/۳٪)، دهیدرواوژنول (٦/۷٪)، پنتادکان (٦/۳٪)، متیل بنزآلدهید (۵/۳٪) و اوژنول (۱/۳٪) بود. با بررسی نتایج مشاهده می‌شود ترکیبات گیاه *اسکروفولاریا خراسانیکا* شباهت بیشتری به گونه *اسکروفولاریا استریاتا* دارد. از سوی دیگر، با بررسی تحقیقاتی که بر روی گیاه آویشن انجام شده مانند دمارتینو و همکاران و نیکولیک و همکاران ترکیبات اصلی اسانس آویشن شامل تیمول، کارواکرول، آلفا پینن، گاما ترپینن، پارا سیمن، لینالول، میرسن، آلفا توجن، بتا المن، کامفن، لیمونن بوده که بی‌شباهت به ترکیب *اسکروفولاریا خراسانیکا* نیست (De Martino *et al*., 2009; Nikolic *et al*., 2014).

در زمینه خواص ضدمیکروبی این جنس گیاهی، پژوهش‌هایی انجام گرفته است. زمانیان عضدی و همکاران (۲۰۱۳) اثر آنتی‌بیوتیکی عصاره آبی گیاه *اسکروفولاریا استریاتا* را بر *اشریشیا کولای* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در مقایسه با تتراسایکلین بررسی کردند. نتایج نشان داد عصاره آبی فیلترشده و فیلترنشده برگ اسکروفولاریا بر رشد هر دو باکتری اثر مهاری شدید داشت. بهرامی و ولدی اثر عصاره اتانولی برگ‌های *اسکروفولاریا استریاتا* را بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* بررسی نمودند و به این نتیجه رسیدند که MIC و MBC بین ٥٠/٦ تا ٦٠/٣ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بالاتر از آنتی‌بیوتیک‌ها بود (Bahrami and Valadi, 2010). صفوی و همکاران (۲۰۱۲) خواص ضدمیکروبی ریشه و اندام هوایی گیاه اسکروفولاریا استریاتا را علیه باکتری‌های *اشریشیا کولای*، *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بررسی که نتایج نشان داد عصاره متانولی ریشه و اندام هوایی این گیاه دارای اثر ضدمیکروبی به ویژه بر روی *باسیلوس سرئوس* بود. شرافتی چالشتری و همکاران به بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره اتانولی و آبی *اسکروفولاریا استریاتا* پرداختند. طبق نتایج عصاره آبی گیاه فاقد فعالیت ضدمیکروبی بود و همچنین مقدار MIC وMBC برای عصاره اتانولی به‌ترتیب ۹۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد (Sharafati-Chaleshtori, *et al*., 2008). در مطالعه‌ای که فرناندز و گارسیا (۱۹۹٦) روی *اسکلروفولاریا فروتسنس* (*S. frutescens*) و *اسکلروفولاریا سمبوسیفولیا* (*S. sambucifolia*) انجام دادند. بیشترین اثر مهار را روی باکتری گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* مشاهده نمودند (MIC=۰/۲۵mg/ml). همچنین گونه *اسکلروفولاریا فروتسنس* به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولیک غنی‌تر، فعالیت ضدمیکروبی بالاتری نسبت به گونه *اسکلروفولاریا سمبوسیفولیا* در برابر هر سه باکتری *اشریشیا کولای*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* داشت (Fernandez and Garcia, 1996). تیمول و کارواکرول به عنوان عوامل اصلی در

Archive of SID
www.SID.ir

عصاره‌های گیاهان مذکور، با بر هم زدن گرادیان pH و پتانسیل غشایی باعث اختلال در عمل غشاء و اثر ضدمیکروبی بر روی باکتری‌ها می‌شوند (Xu *et al.*, 2008). هلاندر و همکاران (۱۹۹۸) نشان دادند که تیمول روغن آویشن (*Thymus vulgaris*) و کارواکرول روغن مرزنگوش (*Origanum vulgaris*) هر دو غشای سلولی را تخریب نموده و در نتیجه موجب کاهش ATP ذخیره‌ای داخل سلولی و افزایش ATP ذخیره‌ای خارج سلولی می‌شود (Helander *et al.*, 1998). از میان ترکیبات اسانس، تیمول و کارواکرول به‌عنوان عوامل اصلی که بر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی اثر دارند نام برده شده است (Singh and Singh 2002). جاویدنیا و همکاران (۱۹۹۹) ترکیبات و فعالیت ضدمیکروبی اسانس آویشن شیرازی را بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سوبتلیس*، *کلبسیلا پونومونیا*، *اشریشیا کولای*، *کاندیدا آلبیکانس* و *آسپرژیلوس نیجر* بررسی نموده و دریافتند که اصلی‌ترین ترکیبات آن کارواکرول و تیمول بوده و اسانس‌هایی که دارای مقادیر بالایی از تیمول و کارواکرول بودند دارای فعالیت ضدمیکروبی بیشتری هستند. در مطالعه اولتی و همکاران مشخص شد که کارواکرول قادر است از تولید توکسین مولد اسهال توسط باسیلوس سرئوس ممانعت نماید (Ultee *et al.*, 2000). دو نظریه در این خصوص مطرح است: یکی این‌که به علت تداخل کارواکرول با تولید ATP ممکن است ATP کافی برای خارج کردن توکسین از سلول که یک روند فعال و وابسته به انرژی است، مهیا نباشد و دیگر این که با پایین آمدن میزان رشد اختصاصی احتمالاً سلول تمام انرژی خود را صرف زنده ماندن خود می‌کند. همچنین شواهد نشان می‌دهد که ترکیبات ترپنی موجود در اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی به دلیل جذب زنجیره اسیدهای چرب با لیپیدهای دیواره، خواص فیزیکی غشا را تغییر می دهند. این اختلال ایجاد شده در پیوندهای واندروالسی، بسته‌های لیپیدی را مختل و نظم آن‌ها را کاهش می‌دهند. این تجمع ترپن‌ها در پشت لایه‌های چربی منجر به افزایش حجم چربی شده که این امر باعث تورم غشا و افزایش ضخامت آن می‌شود. گسترش غشا باعث کاهش یکپارچگی آن شده و در نهایت موجب از دست رفتن ترکیبات داخل سلولی می‌شود (Sikkema *et al.*, 1994).

مطالعه حاضر نشان داد عصاره و اسانس گیاه *اسکروفولاریا خراسانیکا*، دارای خاصیت مهاری و کشندگی می‌باشد. نظر به اینکه اخیراً تحقیقات گسترده‌ای در خصوص کاربرد گیاهان بومی در زمینه پزشکی و همچنین کاربرد خوراکی در صنعت غذا، چه به عنوان افزودنی جهت ایجاد عطر و طعم و یا جهت خاصیت نگهدارندگی در حال انجام است، لذا پیشنهاد می‌شود، مطالعات در مدل‌های غذایی، جهت بررسی بیشتر تأثیر بازدارندگی و همچنین آثار احتمالی بر خواص حسی محصولات غذایی انجام شود.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان به جهت حمایت مالی انجام این پژوهش قدردانی می‌گردد.

www.SID.ir
Archive of SID

منابع

- عباسی، ناصر؛ عزیزی جلیلیان، فرید؛ عبدی، مظفر و سیف‌منش، مریم (۱۳۸۵). بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره گیاه *Scrophularia striata* Boiss بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* و *پسودوموناس ائروژینواز* و مقایسه آن با آنتی‌بیوتیک‌های موثر انتخابی. ویژه‌نامه گیاهان با اثر ضدمیکروبی، سال ٦، شماره ۲۱، صفحات: ۱۸-۱۰.
- امیری، حمزه؛ لاری یزدی، حسین؛ اسماعیلی، اکبر؛ صمصام‌نیا، فرانک؛ اقبالی، داریوش؛ ویسکرمی، غلام‌حسن؛ دوستی، بهروز و نورمحمدی، احسان (۱۳۹۰). شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس و بررسی ساختارهای ترشحی گیاه *Scrophularia striata* Boiss. مجله تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، سال ۲۷، شماره ۲، صفحات: ۲۷۸-۲۷۱.
- بهمنی، محمود؛ بهمنی، احسان؛ ممتاز، حسن و رفیعیان، محمود (۱۳۸۹). مقایسه اثر گیاه گل میمونی بیابانی (*Scrophularia deserti*) با آمفوتریسین B بر روی *کاندیدا آلبیکنس* در شرایط آزمایشگاهی. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک، سال ۱۳، شماره ٤، صفحات: ۲۱-۱۵.
- شرافتی چالشتری، فرهاد؛ شرافتی چالشتری، رضا و مومنی مریم (۱۳۸۷). اثر ضد میکروبی عصاره آبی و اتانولی گیاه گل میمونی (*Scrophularia striata*) بر *اشرشیا کلی* در شرایط آزمایشگاهی. مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، ویژه‌نامه طب تکمیلی، سال ۱۰، شماره ٤، ۳۷-۳۲.
- Adams, R.P. (2001). Identification of Essential Oil Component by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Allure Publishing crop, Illinois, P. 804.
- Akhondzade, A., Razavi, V., Misaghi, A., Abbasifar, R., Radmehr, B. and Khalighi, F. (2003). Effect of thyme essential oils on *Salmonella typhimurium* in brain and heart broth. Journal of Medicinal Plants. 8: 84-91.
- Armestrong, G.L., Hollingworth, J., Morris, J.G. (1996). Emerging food borne pathogens. *Escherichia coli* O157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of developed world. Epidemiology Reviews, 18: 29-51.
- Attar, F., Joharchi, M. R., Nowrouzi, M. and Hatami, A. (2006). New species of Scrophularia L. (Scrophulariaceae) from Iran. Iranian Journal of Botany, 12 (2): 193-202. Tehran.
- Bahrami, A. and Valadi, A. (2010). Effects of Scrophularia striata Ethanolic Leaves Extracts on staphylococcus aureus. International Journal of Pharmacology 6(4): 431-434.
- Bennett, M., Huang, N., Matheson, T. W., Smith, A. K., Ittel, S., Nickerson, W. (1982). "(Hexamethylbenzene) Ruthenium Complexes".Inorganic Syntheses, 21: 74–78.
- De Martino, L., Bruno, M., Formisano, C., De Feo, V., Napolitano, F., Rosselli, S.and Senatore, F. (2009). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from Two Species of Thymus Growing Wild in Southern Italy. Molecules 2009, 14: 4614-4624.
- Dorman, H. J. D., Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology, 88: 308–316.
- Etebari, M., Sajjadi, S. E., Jafarian-Dehkordi, A., Panahi, M. (2013). Antigenotoxic Effects of Methanolic and Aqueous Extracts of *Kelussia odoratissima* Mozaffarian against damage induced by methyl methane sulfonate. Journal of Isfahan Medical School, 30: 215.
- Fernandez, M.A., Garcia, M.D., (1996). Antibacterial activity of the phenolic acids fractions of Scrophularia frutescens and Scrophularia sambucifolia. Journal of Ethnopharmacology, 53: 11-14.

Archive of SID
www.SID.ir

- Frazier, W., Westhoff, D. (1987). Food Microbiology. Translated by: Mortazavi, S.A.,Kashani Neja, M., Ziaolhagh, H.(2006). 4th edition, Mashhad University Publication, pp: 531-560.
- Ghasemi Pirbalouti, A., Bahmani, M., Avijgan, M. (2009). Anti-Candida activity of some of the Iranian Medicinal Plants. Electronic Journal of Biology, 5(4): 85-88.
- Header, M., Henderson, M.R.H. (1994). The physicians of myddfai: the Welsh herbal tradition. Botanical Journal of Scotland, 46: 623–627.
- Helander, I.M., Alakomi, H.L., Latva Kala, K., Pol, L., von Wright, A. (1998). Characterization of the action of selected essential oil components on Gram negative bacteria. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 46, 3590–3595.
- Javidnia, K.,Tabatabai, M. and Shafiee, A. (1999). Volatile constituents and antimicrobial activity of *Zataria multiflora*, population Iran. Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering, 18(1): 1-5.
- Lajimi, A.A., Barzegar, M., Tavirani, MR., Ahmadi, S., Entezari, M., Mahdavi, M. (2013). Study of antimicribial the Scrophularia striata extract. Medical Science Journal of Islamic Azad University, 23(3): 190.
- Lluis, P., Usall, J., Smilanick, J.L., Aguilar, M.J. and Vinas, I. (2002). Evaluation of food additives and low-toxicity compounds as alternative chemicals for the control of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*on citrus fruit. Pest Management Science, pp. 459-466.
- Mahboubi, M., Kazempour, N., Boland Nazar, A.R. (2013). Total phenolic, total flavonoids, antioxidant and antimicrobial activities of *Scrophularia striata* Boiss Extracts. Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products. Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products, 8(1).
- Miyazawa, M., Okuno, y., Nakamura, S., Kameoka, H. (1998). Inducing activity of chemical mutagens by cinnamic acid derivatives from *Scrophulia ningpoensis* in the *Salmonella typhimuriun* TA 19535/ PSK 1002 umu test, Journal of Agricultural and Food Chemistry. 46: 904-10.
- Moreire, M.R., Ponce, A.G. and Roura, S.I. (2005). Inhibitory parameters of essential oils to reduce a food born pathogen. LWT. 38: 565- 570.
- Naeini, A., Nasseri, M., Kamali-Nejad, M., Khoshzaban, F., Rajabiyan, T., Isma'ilzadih Nami, E.x. et al. (2011). Effects of 50 essential oils and extracts medicinal plants of Iran on standard strains of *Candida albicans* in vitro. Journal of Medicinal Plants. 38:163-172.
- Nikolic, M., Glamoclija, J., Sokovic, M. (2014). Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumoractivity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut and *Thymus vulgaris* L. essential oils. Industrial Crops and Products 52,183-190.
- Oussalah, M., Caillet, S., Salmieri, S., Saucier, L., Lacroix, M. (2007). Antimicrobial effects of alginate-based films containing essential oils on *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* present in bologna and ham. Journal of Food Protection, 70(4):901-8.34.
- Pasdaran, A., Delazar, A., Nazemiyeh, H., Nahar, L.(2012). Chemical composition, and antibacterial (Against *Staphylococcus aureus*) and free-radical-scavenging activities of the essential oil of *Scrophularia amplexicaulis* Benth. Records of Natural Products Journal. 6:4,350 -355.
- Pasdaran, A., Nahar, L., Asnaashari, S., Sarker, S., Delazar, A. (2013). GC-MS analysis, free-radical-scavenging and insecticidal activities of essential oil of *Scrophularia oxysepala* Boiss. Pharmaceutical Sciences, 19(1), 1-5.
- Safavi, F., Meighani, H., Ebrahimi, P., Hafez Ghoran, S. (2012). Antioxidant and antibacterial activity of *Scrophularia striata*. Research in Pharmaceutical Sciences, 7(5): 852-57.
- Shareyat, S.H. (1997). Qualative and Quantitive Evaluation of the active Constituents and Control Methods for Medicinal Plants. (1997). 1st edition, Mani Publications. Esfahan, pp: 10-27.
- Sikkema, J., de Bont, J.A., Poolman, B. (1994). Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. Journal of Biological Chemistry, 269(11): 8022-8028.

Archive of SID

www.SID.ir

- Singh, N., Harvati, K., Klingenberg, P. (2012). Morphological evolution through integration: A quantitative study of cranial integration in Homo, Pan, Gorilla and Pongo. Journal of Human Evolution, 62,155-164.
- Singh, N., Singh, R.K. (2002). Efficant of inoculation and washing methods on the efficacy of different sanitizers against *E.coli* O157: H7 on lettuce. Food Microbiology.19: 183-193.
- Smith, S., Bannister, P., Beckmann, C., Brady, M., Clare, S., Flitney, D., Hansen, P., Jenkinson, M., Leibovici, D. and Zhang, Y. (2001). New tools for functional and structural brain image analysis. In Seventh International Conference on Functional Mapping of the Human Brain.
- Ultee, A., Kets, E.P., Alberda, M., Hoekstra, F.A., Smid, E.J. (2000). Adaptation of the food-borne pathogen *Bacillus cereus* to carvacrol. Archive of Microbiology, 174(4): 233-238.
- Xu, J., Zhou, F., Ji, B.P., Pei, R.S., Xu, N. (2008). The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against Escherichia coli. Letters in Applied Microbiology, 47(3):174-179.
- Zamanian-Azodi, M., Ardeshirylajimi, A., Ahmadi, N., Rezaee, M.B., Azizi-Jalilian, F., Khodarahmi, R. (2013). Antibacterial effects of *Scrophularia striata* seed aqueous extract on *Staphylococcus aureus*. Journal of Paramedical Sciences, 4(1): 58-63.
- Zhu, T., Xu, Y., Dong, B., Zhang, J., Wei, Z., Xu, Y., Yao, Y.(2011). B-elemene inhibits proliferation of human glioblastoma cells through the activation of glia maturation factor β and induces sensitization to cisplatin. Oncology Reports, 26 (2): 405–13.

Archive of SID

www.SID.ir

In vitro study on the composition and antibacterial effects of aqueous and methanol extracts of *Scrophularia khorassanica* on some of food-borne pathogens

Barati, A.[1], Mohamadi Sani, A.[2*], Yavarmanesh, M.[3]

1. Department of Food Science & Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran
2. Young Researchers and Elite Club, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran
3. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

[*]Corresponding author email: mohamadisani@yahoo.com
(Received: 2014/7/7 Accepted: 2016/6/28)

Abstract

Scrophularia khorassanica belongs to the *Scrophulariaceae* family that geographically grows wild only in Iran-Khorasan. There is insufficient information about its composition and antibacterial activity. Due to the application of *S. khorassanica* and related species in traditional medicine, the aim of this study was to determine antimicrobial effect of *S. khorassanica* aqueous and methanolic extracts on the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* and also to determine the composition of the essential oil in-vitro. Extracts and the essential oil were prepared respectively by maceration and hydro-distillation methods. The composition of the essential oil examined by GC/MS and the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) determined by broth micro-dilution assay. Composition analysis identified a total of 28 various components in which the main components were 1,3-Bis (trimethylsilyl), benzene (34.93%), p-Cymene (12.55%), Palmitic acid (6.79), Thymol (6.22%), Linalool (4.59%), 2-undecanone(4.35%), Sorbitol(1.87%), Carvacrol (1.74%), γ-Terpinene (1.06%), β -Elemene (1.03%) and α-Pinene (0.3%). The MIC for methanolic extract against *E. coli* and *S. aureus* was 12.5 and 25 mg/ml, respectively. In the case of aqueous extract, it was estimated at 6.25 and 12.5 mg/ml, respectively. Based on these results, the aqueous extract had the strongest antibacterial effect. It was concluded that Scrophularia khorassanica extract can be used as an natural preservative.

Keyword: *Scrophularia khorassanica* extract, MIC, MBC, Essential oil

Archive of SID

www.SID.ir