مطالعه اثر ضدمیکروبی عصاره‌های مختلف اسفند (*Peganum harmala*)، رزماری (*Rosmarinus officinalis*) و برگ بو (*Laurus nobilis*) استخراج شده با امواج فراصوت

محمد قربانپور[1*]، حجت جاهدی[2]

۱. استادیار دانشکده فنی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۲. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه صنایع غذایی، واحد سراب، دانشگاه آزاد اسلامی، سراب، ایران
*نویسنده مسئول مکاتبات: ghorbanpour@uma.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹٤/۱/۲۰ پذیرش نهایی: ۹٤/۱۱/۲۸)

چکیده

این مطالعه به‌منظور بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره‌های اسفند، رزماری و برگ بو علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کولای* انجام شد. برای این منظور، استخراج عصاره گیاهان ذکر شده با استفاده از دستگاه مافوق‌صوت و استفاده از حلال‌های آبی، هیدروالکلی، الکلی و کلروفرم انجام گردید. جهت بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌ها از روش میکرودایلوشن براث استفاده گردید و نتایج به دو صورت «حداقل غلظت مهارکنندگی» و «حداقل غلظت کشندگی» مورد ارزیابی قرار گرفتند. براساس نتایج مطالعه، تمامی عصاره‌های به‌دست آمده دارای فعالیت ضدمیکروبی در مقابل باکتری‌های مذکور بودند. در این میان عصاره الکلی دارای بیشترین اثر ضدمیکروبی بود. با مقایسه نتایج حاصل از اثرات ضدمیکروبی رزماری، اسفند و برگ‌بو، هر سه گیاه دارای اثر بازدارندگی یکسانی در رقت ٦/۲۵٪ علیه باکتری *اشریشیا کولای* بودند. در مورد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* عصاره الکلی و آبی اسفند بیشترین اثرکشندگی را در رقت ٦/۲۵٪ داشت. طبق یافته‌های مطالعه می‌توان به این نتیجه رسید که استفاده از امواج مافوق‌صوت، روشی سریع، موثر و اقتصادی برای عصاره‌گیری از اجزای گیاهی می‌باشد. به‌علاوه، از میان حلال‌های آبی، هیدروالکلی، الکلی و کلروفرم، حلال الکلی جهت استخراج عوامل ضدمیکروبی موجود در گیاهان مناسب‌تر است.

واژه‌های کلیدی: فعالیت ضدمیکروبی، اسفند، رزماری، برگ‌بو، امواج مافوق‌صوت

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

عصاره تعداد زیادی از گیاهان دارویی دارای مواد مؤثر بر علیه قارچ‌ها، باکتری‌ها، ویروس‌ها و حشرات بوده و در کنار آن دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (Fang *et al*., 2006; Tawale *et al*., 2011). عصاره تعدادی از گیاهان در کنترل سلول‌های سرطانی مؤثر بوده (Sondi *et al*., 2004) و یا در نگهداری مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند (He *et al*., 2007). ترکیبات ضدمیکروبی موجود در گیاهان پتانسیل درمانی بی‌شماری در درمان بیماری‌های عفونی دارد و در برخی موارد به‌طور هم‌زمان، اثرات جانبی ناشی از مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها را نیز کاهش می‌دهند (Yoon *et al*., 2007; Zhang *et al*., 2008).

فرآیندهای عصاره‌گیری سنتی معمولاً بر پایه روش سوکسله و شامل مراحل تقطیر، خیساندن و پرکولاسیون (Percolation) می‌باشند. این روش در عین ساده بودن، به‌دلیل استفاده از حرارت ترکیبات کم محلول‌تر نیز استخراج می‌شوند. اما در مقابل روند استخراج بسیار زمان‌بر بوده و مقدار حلال مورد نیاز نسبتاً بالاست. از سوی دیگر، استفاده از حرارت می‌تواند منجر به آسیب رسیدن به ترکیبات حساس به دما و در نتیجه تولید مواد نامطلوب شود. بدین جهت روش‌های جدیدتری همانند عصاره‌گیری توسط امواج فراصوت (Ultrasonic – assisted extraction)، عصاره‌گیری با امواج مایکروویو و عصاره‌گیری توسط سیال فوق بحرانی (Supercritical fluid extraction) توسعه یافته است (Vinatoru, 2011; Thongson *et al*., 2004; Flamini *et al*., 2007; Santoyo *et al*., 2006). در روش عصاره‌گیری توسط امواج فراصوت، امواج به‌داخل ماده نفوذ کرده، باعث انقباض و انبساط پی‌درپی بافت ماده شده و در نتیجه حفراتی در داخل ماده ایجاد می‌کند. اتصال نامتقارن این حفرات موجب خروج مواد از داخل سلول‌ها به بیرون می‌شود. هم‌چنین، امواج فراصوت می‌توانند دیواره سلولی را تخریب کرده، خروج مواد را تسهیل نماید. این روش تکنیکی ارزان، ساده، موثر و بسیار سریع می‌باشد. دمای مورد استفاده در این روش معمولاً دمای اتاق می‌باشد، بنابراین احتمال صدمه به ترکیبات حساس به دما کمتر است. عیب این روش در نیاز آن به فیلتراسیون و غیرانتخابی بودن آن است (Vinatoru, 2011).

گیاه برگ بو با نام علمی Laurus nobilis متعلق به خانواده لوراسه می‌باشد. از برگ‌های این گیاه در طب سنتی برای تقویت معده و اشتها، کمک به هضم غذا و به‌عنوان مدّر استفاده می‌شود. از جوشانده و روغن آن در تورم‌های موضعی استفاده می‌شود. هم‌چنین این گیاه دارای خواص ضدمیکروبی است (Ozcan *et al*., 2010).

گیاه رزماری با نام علمی *Rosmarinus officinalis* و محلی اکلیل کوهی، بوته‌ای همیشه سبز و معطر از خانواده نعناعیان است و با خاصیت آنتی‌اکسیدانی، مدر، ضداسپاسم و ضدالتهابی بوده که از برگ‌ها و اسانس آن در صنایع داروسازی و آرایشی- بهداشتی استفاده می‌شود و امروزه در سراسر جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد. مطالعات بسیاری نشان می‌دهد که گیاه رزماری دارای خواص ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدان و ضدسرطانی می‌باشد.

گیاه اسپند با نام علمی *Peganum harmala* یک گیاه بومی مناطق خشک مدیترانه شرقی تا شمال هند می‌باشد. البته این گیاه از آسیای مرکزی منشأ

www.SID.ir

گرفته است ولی در حال حاضر در اکثر نقاط دنیا از جمله آفریقا، آمریکای شمالی، مکزیک و آمریکای جنوبی به‌صورت وحشی می‌روید. دانه‌های این گیاه غنی از کربوهیدرات، لیپید، پروتئین، املاح معدنی، آلکالوئیدها و اسیدهای آمینه می‌باشد. گیاه اسپند دربردارنده مواد ضدمیکروبی از نوع فلاونوئیدها و آلکالوئیدها می‌باشد. دانه اسفند دارای آلکولوئیدهایی نظیر هارمین، هارمالین، هارمالون است. هارمالین از نظر درمانی دارای اثر تقویت سیستم مرکزی اعصاب و ماده‌ای سمی است (دیبا و همکاران، ۱۳۸۸).

در تحقیقات آزمایشگاهی از عصاره اسفند (Prashanth and John, 1999; Arshad *et al*. 2008; Abdel Aziz *et al*., 2010)، رزماری (Moreno *et al*., 2006; Romano *et al*., 2009; Genena *et al*., 2008) و برگ‌بو (Da Silveira *et al*., 2014; Santoyo *et al*., 2006) جهت از بین بردن میکروب‌ها استفاده شده است. بر اساس تحقیق حاضر، تاکنون اثر حلال‌های مختلف بر روی استخراج عوامل ضدمیکروبی موجود در اجزای گیاهی با روش مافوق صوت مورد بررسی قرار نگرفته‌است. در این مطالعه، اثر ضدباکتری عصاره اسفند، رزماری و برگ‌بو علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کولای* با استفاده از امواج مافوق‌صوت توسط حلال‌های آبی، هیدروالکلی، الکلی و کلروفرم انجام شده‌است تا در نهایت ماده با خاصیت ضدمیکروبی بالاتر و حلال مناسب‌تر معرفی شود.

مواد و روش‌ها

مولر- هینتون‌براث، مولر- هینتون آگار، کلروفرم و اتانول از شرکت مرک تهیه شدند. باکتری *اشریشیا کولای* (PTCC 1270) و *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC 1112) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تأمین گردید.

- عصاره‌گیری با روش امواج مافوق صوت

گیاهان خشک‌شده اسفند، رزماری و برگ‌بو از عطاری در بازار تبریز خریداری شدند. بر روی ۲ گرم از برگ آسیاب شده هر گیاه، ۱۰ میلی‌لیتر از هر یک از حلال‌های آب، هیدروالکل (۶۰٪ آب و ۴۰٪ اتانول)، الکل (اتانول) و کلروفرم افزوده شد. مخلوط حاصل در حمام مافوق صوت (KDG, China) به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط قرار داده شد. توان دستگاه مافوق صوت ۶۰ وات بود که در زمان ۱۰ دقیقه با دوره‌های ۱۰۰ ثانیه‌ای متوالی ناپیوسته محقق شد. در نهایت، مخلوط با کاغذ صافی فیلتر شد و عصاره حاصل بلافاصله مورد آزمایش ضدمیکروبی قرار گرفت. از غلظت اصلی عصاره (۱۰۰٪) و غلظت معادل یک‌دوم عصاره اصلی (۵۰٪)، یک‌چهارم عصاره اصلی (۲۵٪) و ... برای مطالعه استفاده شد.

- آزمون ضدمیکروبی عصاره

برای تهیه سوسپانسیون میکروبی، چند کلنی از کشت تازه و ۲۴ ساعته باکتری به محیط کشت مولر- هینتون براث منتقل و کدورتی معادل با نیم مک‌فارلند (کدورت معادل $۱/۵ \times ۱۰^{۸}$ باکتری در هر میلی‌لیتر) تهیه گردید.

- سنجش حداقل غلظت بازدارندگی (MIC: Minimum Inhibitory Concentration) به روش میکرودایلوشن

حساسیت باکتری‌ها نسبت به عصاره آماده شده با استفاده از روش رقیق‌سازی در میکروپلیت بررسی شد. برای این منظور از باکتری‌های یاد شده یک کشت ۲۴ ساعته در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و در محیط مولر-

Archive of SID
www.SID.ir

هینتون براث تهیه شد. سریال‌های رقت مختلف عصاره تهیه و ۷۰ میکرولیتر از آن‌ها به میکروپلیت‌های ۹۶ خانه که قبلاً حاوی ۷۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری با کدورت نیم مک‌فارلند بودند، اضافه گردید. سپس آزمایشات مشابه برای کنترل مثبت (محیط کشت حاوی باکتری و بدون عصاره) و کنترل منفی (محیط کشت بدون باکتری) نیز انجام شد. میکروپلیت‌ها سپس به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری گردیدند. کمترین رقت از عصاره که کدورتی در آن مشاهده نشد، به‌عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی گزارش شد (داودی و گلشنی، ۱۳۹۲).

- سنجش میزان حداقل غلظت کشندگی (MBC: Minimum bactericidal concentration):

با توجه به نتایج MIC، حداقل غلظت کشندگی نیز تعیین شد. از تمام خانه‌هایی که رشد باکتری در آن‌ها کاملاً متوقف شده بود، به پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر-هینتون آگار کشت داده شد و ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سیلیسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. غلظت‌هایی که فاقد رشد باکتری بودند، به عنوان MBC گزارش گردیدند (داودی و گلشنی، ۱۳۹۲).

یافته‌ها

عصاره‌های استخراج شده از اسفند، رزماری و برگ‌بو در آزمایش میکروبی علیه دو باکتری استاندارد مورد آزمایش قرار گرفتند که نتایج آن در جداول ۱ تا ۳ ارایه گردیده است. با بررسی اولیه جدول (۱) مشاهده می‌شود که عصاره گیاه اسفند استخراج شده توسط حلال‌های مختلف دارای خاصیت ضدمیکروبی بودند و بنابه نوع حلال، درجه‌های رقیق‌سازی ۶/۲۵ و ۱۲/۵٪ بیشترین تأثیر را داشتند. با مقایسه نتایج مشخص می‌شود که بیشترین اثر مهارکنندگی اسفند علیه *اشریشیا کولای* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در عصاره اتانول و در رقت معادل ۶/۲۵٪ مشاهده شد. عصاره آبی اسفند نیز در رقت ۶/۲۵٪ دارای اثر مهار رشد علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* بود. عصاره‌های هیدروالکلی و کلروفرم در رقت ۱۲/۵٪ دارای اثر ضدمیکروبی علیه دو باکتری مزبور بودند (جدول ۱).

جدول (۱)- حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره استخراجی از اسفند

باکتری	حلال	آزمون	رقت (درصد)					
			۱۰۰	۵۰	۲۵	۱۲/۵	۶/۲۵	۳/۱۲
اشریشیا کولای	آب	MIC	-	-	-	-	+	+
		MBC	-	-	-	-	+	+
	هیدروالکلی	MIC	-	-	-	-	+	+
		MBC	-	-	-	+	+	+
	کلروفرم	MIC	-	-	-	-	-	+
		MBC	-	-	-	-	+	+
	اتانول	MIC	-	-	-	-	-	+

www.SID.ir

ادامه جدول (۱)

استافیلوکوکوس اورئوس	آب	MIC	–	–	–	–	–	+
		MBC	–	–	–	–	–	+
	هیدروالکلی	MIC	–	–	–	–	+	+
		MBC	–	–	–	–	+	+
	کلروفرم	MIC	–	–	–	–	+	+
		MBC	–	–	–	–	+	+
	اتانول	MIC	–	–	–	–	–	+
		MBC	–	–	–	–	–	+

جدول (۲) حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره اصلی استخراج شده از برگ گیاه رزماری و عصاره‌های رقیق شده را نمایش می‌دهد. بر این اساس، بیشترین اثر کشندگی مربوط به عصاره استخراج شده با حلال اتانول بود. این عصاره در حداقل غلظت مهارکنندگی ۶/۲۵٪ بر *اشریشیا کولای* اثر کشندگی داشت. اثرکشندگی این مواد بر روی باکتری *استافیلوکوکوس‌اورئوس* در غلظت ۱۲/۵٪ مشاهده گردید. عصاره رزماری استخراج شده توسط حلال‌های دیگر دارای اثر ضدمیکروبی علیه *استافیلوکوکوس‌اورئوس* در رقت ۲۵٪ بودند.

جدول (۲)- حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره استخراجی از رزماری

باکتری	حلال	آزمون	رقت (درصد)					
			۱۰۰	۵۰	۲۵	۱۲/۵	۶/۲۵	۳/۱۲
اشریشیا کولای	آب	MIC	–	–	+	+	+	+
		MBC	–	–	+	+	+	+
	هیدروالکلی	MIC	–	–	–	–	+	+
		MBC	–	–	–	–	+	+
	کلروفرم	MIC	–	–	–	–	–	+
		MBC	–	–	–	+	+	+
	اتانول	MIC	–	–	–	–	–	+
		MBC	–	–	–	–	–	+
استافیلوکوکوس‌اورئوس	آب	MIC	–	–	–	+	+	+
		MBC	–	–	+	+	+	+
	هیدروالکلی	MIC	–	–	–	+	+	+
		MBC	–	–	–	+	+	+
	کلروفرم	MIC	–	–	–	+	+	+
		MBC	–	–	–	+	+	+
	اتانول	MIC	–	–	–	–	+	+
		MBC	–	–	–	–	+	+

Archive of SID

www.SID.ir

عصاره استخراج شده از برگ‌بو توسط حلال اتانول در حداقل درجه مهارکنندگی ٦/٢٥٪ رشد *اشریشیا کولای* را متوقف نمود (جدول ٣)؛ عصاره‌های استخراج شده توسط حلال‌های دیگر فقط در غلظت ١٢/٥٪ دارای اثر بازدارندگی بر روی *اشریشیا کولای* بودند. اما در مورد عصاره استخراج شده از برگ‌بو توسط حلال‌های هیدروالکلی، کلروفرم و اتانول اثر ضدباکتریایی بر *استافیلوکوکوس اورئوس* در غلظت ١٢/٥٪ مشاهده گردید.

جدول (٣)- حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره استخراجی از برگ‌بو

باکتری	حلال	آزمون	رقت (درصد)					
			١٠٠	٥٠	٢٥	١٢/٥	٦/٢٥	٣/١٢
اشریشیا کولای	آب	MIC	-	-	-	-	+	+
		MBC	-	+	+	+	+	+
	هیدروالکلی	MIC	-	-	-	-	+	+
		MBC	-	-	-	-	+	+
	کلروفرم	MIC	-	-	-	-	+	+
		MBC	-	-	-	+	+	+
	اتانول	MIC	-	-	-	-	-	+
		MBC	-	-	-	-	-	+
استافیلوکوکوس اورئوس	آب	MIC	-	-	+	+	+	+
		MBC	-	-	+	+	+	+
	هیدروالکلی	MIC	-	-	-	-	+	+
		MBC	-	-	-	-	+	+
	کلروفرم	MIC	-	-	-	-	+	+
		MBC	-	-	-	-	+	+
	اتانول	MIC	-	-	-	-	+	+
		MBC	-	-	-	-	+	+

بحث و نتیجه‌گیری

از زمان‌های گذشته، مواد طبیعی موجود در گیاهان نقش مهمی در کشف عوامل درمانی داشته‌اند. عصاره گیاهان با خاصیت ضدمیکروبی اهمیت زیادی در درمان برخی بیماری‌ها دارند. تاکنون مطالعات زیادی در این مورد انجام شده است (Aziz *et al*., 2010; Moreno *et al*., 2006; Romano *et al*., 2009; Genena *et al*., 2008; Da Silveira *et al*., 2014; Santoyo *et al*., 2006). این مطالعه به‌منظور بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره اسفند، رزماری و برگ‌بوی استخراج شده با استفاده از روش مافوق‌صوت با کمک حلال‌های آبی، هیدروالکلی، الکلی و کلروفرم علیه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کولای* انجام شد.

زمان کل مورد نیاز جهت عصاره‌گیری در این تحقیق حدود ١٥ دقیقه بود (١٠ دقیقه زمان مورد نیاز جهت تیمار مافوق‌صوت به‌علاوه حدود ٥ دقیقه زمان صاف نمودن عصاره). این زمان در مقایسه با روش

www.SID.ir

عصاره‌گیری توسط روش‌های متداول همانند استفاده از دستگاه سوکسله و در ادامه تغلیظ توسط تبخیر کننده که معمولاً بیش از ۵ ساعت طول می‌کشد، بسیار کوتاه‌تر می‌باشد (Thongson *et al*., 2004). نکته قوت دیگر این روش، مقدار حلال مورد نیاز برای استخراج می‌باشد؛ به این معنی که استفاده از حلال کمتر موجب غلیظ‌تر شدن عصاره حاصل و در نتیجه عدم نیاز به فرآیند تغلیظ می‌گردد. در این روش تنها از ۱۰ میلی‌لیتر حلال برای عصاره‌گیری استفاده شد، که این مقدار در مقایسه با روش‌های متداول بسیار کمتراست (Weerakkody *et al*., 2011; Prashanth and John, 1999; Arshad *et al*., 2008).

براساس آن‌چه تاکنون گفته شد، کمتر بودن حجم حلال مورد نیاز و کوتاه‌تر بودن زمان منجر به قیمت پایین‌تر محصول نهایی می‌شود. در حال حاضر، با پیشرفت‌های انجام شده، قیمت دستگاه‌های اولتراسوند کاهش قابل‌ملاحظه‌ای داشته است و توانایی رقابت با دستگاه‌های متداول عصاره‌گیری را داراست. از سوی دیگر، مصرف انرژی در فرآیند عصاره‌گیری با امواج مافوق صوت بسیار مقتصدانه‌تر از روش سوکسله می‌باشد.

گستره متنوعی از ترکیبات زیست‌فعال همانند ترکیبات تانینی، ساپونینی، آلکالوئیدی، فلاونوئیدی و فنولی در گیاهان حضور دارند. استخراج این ترکیبات وابستگی بسیار زیادی به نوع و قطبیت حلال دارد. دلیل این امر در حلالیت راحت‌تر ترکیبات قطبی‌تر در حلال‌های قطبی و بالعکس می‌باشد. بنابراین انتخاب حلال جهت استخراج هر نوع ترکیب و کیفیت محصول نهایی بسیار مهم است. به‌طور کلی، مخلوط آبی اتانول، متانول و استون برای استخراج ترکیبات فنلی به کار می‌روند، در حالی‌که کلروفرم، اتیل‌استات و هگزان برای استخراج ترکیبات غیرقطبی کاربرد دارند (Teruel *et al*., 2015; Tatiya *et al*. 2011; Koffi *et al*. 2010).

در تحقیق حاضر تمامی عصاره‌ها فعالیت ضدمیکروبی در مقابل باکتری‌های مورد بررسی نشان دادند. علاوه بر این نتایج مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف هر عصاره نشان داد در کل با افزایش غلظت عصاره خاصیت ضدباکتریایی افزایش می‌یابد. بر اساس نتایج به‌دست آمده از آزمایش‌ها، بررسی فعالیت ضدمیکروبی در مورد هر گیاه، عصاره حاصل از استخراج توسط حلال اتانولی دارای بیشترین اثر ضدمیکروبی بود. نتایج حاصل از مطالعات قبلی نیز دلالت بر خاصیت ضدمیکربی بالاتر عصاره حلال الکلی نسبت به حلال‌های دیگر است. مازندرانی و همکاران (۱۳۸۸) به بررسی عصاره حاصل از اسفند توسط حلال اتانول و آب پرداختند و نتیجه گرفتند بسیاری از ترکیبات موجود در اسفند همانند هارمین و هارمالین در حلال‌های آبی حتی پس از جوشاندن حل نمی‌شوند. از سوی دیگر، نتایج این تحقیق نشان داد که اثر بازدارندگی عصاره الکلی هر سه گیاه علیه باکتری *اشریشیا کولای* یکسان بود؛ درحالی‌که، در مورد *استافیلوکوکوس اورئوس*، عصاره الکلی و آبی اسفند بیشترین اثرکشندگی را داشت. علت بالاتر بودن فعالیت ضدمیکروبی عصاره الکلی رزماری در مقایسه با عصاره‌های دیگر را می‌توان در حضور غلظت‌های بالاتر کارنوسول، کارنوسیک و اسید

Archive of SID
www.SID.ir

رزمارینیک در عصاره الکلی رزماری دانست (Moreno *et al*., 2006).

نورسیکریا و همکاران عصاره گیاه بلوط حلبی را با کمک حلال‌های مختلف متانول، اتانول، استون و آب استخراج نمودند. بر اساس مشاهدات آنها نوع حلال تأثیری بر خاصیت ضدمیکروبی عصاره گیاه بلوط حلبی نداشت (Nur Syukriah *et al*., 2014). ماهالینگام و همکاران فعالیت ضد باکتریایی عصاره آبی، اتیل‌استاتی و متانولی گیاه سنا الکساندرینا را ارزیابی کردند. بر اساس نتایج حاصل از تحقیقات آنها عصاره متانولی بیشترین خاصیت ضدمیکروبی را داشت (Mahalingam *et al*., 2011). ادزیری و همکاران فعالیت ضدباکتریایی عصاره کلروفرم، بوتانول و اتیل‌استات و متانول گیاه اسفند را ارزیابی کرده و عصاره متانولی را بعنوان عصاره با بیشترین خاصیت ضدمیکروبی معرفی نمودند (Edziri *et al*., 2010).

در این تحقیق برای استخراج عصاره گیاهان از دستگاه مافوق صوت با توان پایین ٦٠ وات استفاده شد. توان پایین منجر به استخراج کم‌تر مواد موجود در بافت گیاهی شد. بنابه نتایج حاصله از این تحقیق تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای بین عصاره گیاهان مختلف دیده نشد. در حال حاضر دستگاه‌هایی با توان‌های بالاتر مثلاً ٣٥٠ وات نیز وجود دارد. بالا رفتن توان دستگاه می‌تواند منجر به عصاره‌گیری بهتر یعنی خروج مواد با غلظت و تنوع بیشتر از گیاه شود. در این حالت، به‌نظر می‌رسد تفاوت‌های موجود در عصاره‌های گرفته شده بیشتر باشد.

این مطالعه نشان داد که روش استخراج با امواج مافوق‌صوت روش سریع، اقتصادی و موثر برای عصاره‌گیری مواد ضدباکتریایی موجود در گیاهان می‌باشد. بر اساس نتایج به‌دست آمده از بررسی فعالیت ضدمیکروبی هر گیاه، عصاره حاصل از استخراج توسط حلال الکلی (اتانول) دارای بیشترین اثر ضدمیکروبی بود. با مقایسه نتایج حاصل از اثرات ضدمیکروبی رزماری، اسفند و برگ‌بو، هر سه گیاه دارای اثر بازدارندگی یکسان در رقت ٦/٢٥٪ علیه باکتری *اشریشیا کولای* بودند. در مورد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* عصاره الکلی اسفند بیشترین اثر کشندگی را داشت.

سپاسگزاری

از آقای ابراهیم شرقی کارشناس محترم آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز قدردانی می‌گردد.

منابع

- مازندرانی، معصومه؛ قائمی، عزت اله و غفاری، فاطمه (١٣٨٨). بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره‌های مختلف اندام‌های گیاه دارویی اسفند (*Peganum harmala* L) در شمال شرق استان گلستان (اینجه برون). فصلنامه علمی پژوهشی پژوهش‌های علوم گیاهی، سال ٤، جلد ٣، شماره ١٥، صفحات: ٣٨-٢٧.

Archive of SID
www.SID.ir

- داودی، ویدا و گلشنی، زینب (۱۳۹۲). مطالعه اثرات ضدمیکروبی عصاره متانولی برگ رزماری روی سویه‌های بیماریزا در شرایط آزمایشگاهی. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک، سال ۱۶، شماره ۸، صفحات: ۸۹-۸۲.
- دیبا، کامبیز؛ گرامی شعار، محسن؛ شربت خوری، میترا و حسین‌پور، لیلی (۱۳۸۸). بررسی میزان مهارکنندگی عصاره الکلی دانه گیاه اسپند *Peganum harmala* بر روی گونه‌های کاندیدا و آسپرژیلوس در شرایط آزمایشگاهی. مجله پزشکی ارومیه. شماره ۲۰، صفحات: ۲۷۱-۲۷۷.
- Abdel Aziz, N.G., Abdel Kader, S.M., El-Sayed, M.M., EL-Malt, E.A. and Shaker, E.S. (2010). Novel carboline alkaloid from *Peganum harmala* as antibacterial agant. Proceedings of the Tenth Radiation Physics and Protection Conference, 359: 27-30.
- Arshad, N., Zitterl-Eglseer, K., Hasnain, S. and Hess, M. (2008). Effect of *Peganum harmala* or its beta-carboline alkaloids on certain antibiotic resistant strains of bacteria and protozoa from poultry. Phytotherpy Research, 22: 1533–1538.
- Da Silveira, S.M., Luciano, F.B. Fronza, N., Cunha, A. , Scheuermann, G.N. and Werneck Vieira, C.R. (2014). Chemical composition and antibacterial activity of Laurusnobilis essential oil towards foodborne pathogens and its application in fresh Tuscan sausage stored at 7 °C, Food Science and Technology, 59(1): 86-93.
- Edziri, H., Mastouri, M., Mahjoub, M.A., Patrich, G., Matieu, M., Ammar, S., Ali, S.M., Laurent, G., Zine, M. and Aouni, M. (2010). Antibacterial, antiviral and antioxidant activities of aerial part extracts of *Peganum harmala* L. grown in Tunisia. Toxicological & Environmental Chemistry, 92 (7): 1283–1292.
- Fang, M., Chen, J.H., Xu, X.L., Yang, P.H. and Hildebr and, H.F. (2006). Antibacterial activities of inorganic agents on six bacteria associated with oral infections by two susceptibility tests. International Journal of Antimicrobial Agents, 27(6): 513-517.
- Flamini, G., Tebano, M., Cioni, P. L., Ceccarini, L., Ricci, A. S. and Longo, I. (2007). Comparison between the conventional method of extraction of essential oil of *Laurusnobilis* L. and a novel method which uses microwaves applied in situ,without resorting to an oven. Journal of Chromatography A, 1143: 36-40.
- Genena, A.K., Hense, H., Smania, A. and de Souza, S.M. (2008). Rosemary (Rosmarinusofficinalis): a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide. CienciaTecnol Aliment, 28:463–469.
- He, L., Liu, Y., Mustapha, A. and Lin, M. (2010). Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against Botrytis cinerea and Penicilliumexpansum. Microbiological Research, 166 (3):207-215.
- Koffi , E., Sea, T., Dodehe ,Y. and Soro, S. (2010). Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty three Ivorian plants, Journal of Animal & Plant Sciences, 5(3): 550-558.
- Mahalingam, R., Bharathidasan, R., Ambikapathy, V. and Panneerselvam, A. (2011). Studies on antibacterial activity of some medicinal plant against Human pathogenic Micro Organism. Asian Journal of Plant Science and Research, 1 (3): 86-90
- Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C.S. and Vojnov, A.A. (2006). Antioxidant and antibacterial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. Free Radical Research, 40:223–231.
- Ozcan, B., Esen, M., Sangun, M. K., Coleri, A. and Caliskan, M. (2010). Effective antibacterial and antioxidant properties of methanolic extract of *Laurus nobilis* seed oil. Journal of Environmental Biology, 31(5): 637-41.

Archive of SID
www.SID.ir

- Prashanth, D. and John, S. (1999). Antibacterial activity of Peganumharmala. Fitoterapia, 70: 438–439.
- Nur Syukriah, A.R., Liza, M.S., Harisun, Y. and Fadzillah, A.A.M. (2014). Effect of solvent extraction on antioxidant and antibacterial activities from Quercusinfectoria (Manjakani). International Food Research Journal, 21(3): 1067-1073.
- Romano, C.S., Abadi, K., Repetto, M.V., Vichera, G., Vojnov, A.A. and Moreno, S. (2009). Synergistic antioxidant and antibacterial activity of rosemary plus butylated derivatives. Food Chemistry, 115:456–461.
- Santoyo, S., Lloría, R., Jaime, L., Ibañez, E., Seoráns, F.J., and Reglero, G. (2006). Supercritical fluid extraction of antioxidant and antimicrobial compounds from Laurusnobilis L. chemical and functional characterization. European Food Research and Technology, 222: 565–571.
- Sondi, I. and Salopek-Sondi, B. (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria. Journal of Colloid and Interface Science, 275(1): 177-82.
- Tatiya, A.U., Tapadiya, G.G., Kotecha, S. and Surana, S. J. (2011). Effect of solvents on total phenolics, antioxidant and antimicrobial properties of *Bridelia retusa* Spreng. stem bark. Indian Journal of Natural Products and Resources, 2(4): 442-447
- Tawale, J.S., Dey, K.K., Pasricha, R., Sood, K.N. and Srivastava, A.K.(2011). Synthesis and characterization of ZnOtetrapods for optical and antibacterial applications. Thin Solid Films, 519 (3): 1244-1247.
- Teruel, M.R., Dolores Garrido, M., Espinosa, M.C. and Belén Linares, M. (2015). Effect of different format-solvent rosemary extracts (Rosmarinus officinalis) on frozen chicken nuggets quality. Food Chemistry, 172: 40–46
- Thongson, C., Davidson, P.M., Mahakarnchanakul, W. and Weiss, J. (2004). Antimicrobial activity of ultrasound-assisted solvent-extracted spices. Letters in Applied Microbiology, 39: 401–406
- Vinatoru, M. (2001) An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. Ultrasonound Sonochemistry, 8(3): 303-313.
- Weerakkody, N.S., Caffin, N., Lambert,L.K., Turner, M.S. and A Dykes, G. (2011). Synergistic antimicrobial activity of galangal (Alpiniagalanga), rosemary (Rosmarinusofficinalis) and lemon iron bark (Eucalyptus staigerana) extracts. Journal of the Science of Food and Agriculture, 91: 461–468.
- Yoon, K.Y., Byeon, J.H., Park, J.H. and Hwang, J. (2007). Susceptibility constants of *Escherichia coli* and Bacillus subtilis to silver and copper nanoparticles. International Biodeterioration and Biodegradation, 47: 23-26.
- Zhang, L., Ding, Y., Povey, M. and York, D. (2008). ZnO nanofluids - a potential antibacterial agent. Progress in Natural Science, 18(8): 939-944.

Archive of SID

www.SID.ir

Antibacterial activities of the ultrasound assisted extracts of *Laurus nobilis, Peganum harmala* and *rosemary*

Ghorbanpour, M.[1*], Jahedi, H.[2]

1. Chemical Engineering Department, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
2. Department of food science, Islamic Azad University-Sarab Branch, Sarab, Iran

[*]Corresponding author email: Ghorbanpour@uma.ac.ir
(Received: 2015/4/9 Accepted: 2016/2/17)

Abstract

The present study was aimed to investigate the antibacterial activities of the *Laurus nobilis*, *Peganum harmala* and rosemary extracts against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Thus, the ultrasonic extracts were performed using the aqueous, ethanol, hydro-alcoholic or chloroform phases. The microdilution technique was used to evaluate the antibacterial activities which was finally reported as the MIC and MBC values. All the extracts showed the antibacterial activities against the bacteria at the concentration of 6.25%. However, the metalonic extract exert a maximum antibacterial activity. The extract of three plants revealed the same antibacterial activity against *E. coli*, but the ethanoloic extract from *P. harmala* showed a maximum antibacterial activity against *S. aureus* at the concentration of 6.25%. Results of the current study showed the similar antibacterial activities of the extracts against *E. coli*; meanwhile, the maximum antibacterial effect on *S. aureus* was observed by applying alcohol or water as a solvent. In general, this paper proposed that ultrasound assisted extraction was quick and cost effective approach to extract the plants. In addition, ethanolic solvent was found as the best selection among the aqueous, hydro-alcoholic or chloroform solvents.

Keywords: *Antibacterial activity, Laurusnobilis, Peganum harmala extract, Rosemary, ultrasound*

Archive of SID

www.SID.ir