

اثر ضد میکروبی عصاره‌های هیدروالکی جفت، سرشاخه آویشن دنايي و پوسته سبز پسته وحشی علیه لیستریا مونوسیتوژنز

مریم کریمی پور فرد^۱، علی میرزایی^{۲*}، محمد کارگر^۱، سید عبدالمجید خسروانی^۳، رضا محمدی^۴

^۱ دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، گروه میکروبی‌شناسی، ^۲ دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی،
^۳ گروه بیوشیمی، ^۴ دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، دانشکده پزشکی، گروه میکروبی‌شناسی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۳/۳۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۶/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: لیستریوز معمولاً در اثر مصرف مواد غذایی غیر پاستوریزه در افراد دارای سیستم ایمنی ضعیف ایجاد می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی اثر ضد میکروبی عصاره‌های هیدروالکی جفت، سرشاخه آویشن دنايي و پوسته سبز پسته وحشی علیه لیستریا مونوسیتوژنز بود.

روش‌بررسی: در این مطالعه تجربی نمونه های گیاهی جفت، سرشاخه آویشن دنايي و پوسته سبز پسته وحشی از کوه‌های استان کهگیلویه و بویراحمد جمع‌آوری شدند و پس از خشک شدن، عصاره هیدروالکی به عمل آمد. خاصیت آنتی باکتریال عصاره ها علیه لیستریا مونوسیتوژنز به روش چاهک و انتشار دیسک انجام شد و برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی از روش میکروپلیت استفاده شد. از دیسک ۱۰ میکروگرم آمپی‌سیلین به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. داده‌ها با آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: جفت و پوسته سبز پسته وحشی دارای بیشترین خاصیت آنتی باکتریال بودند. هاله عدم رشد برای جفت در غلظت ۲۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تقریباً برابر با دیسک آمپی‌سیلین بود. حداقل غلظت بازدارندگی برای عصاره جفت ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی نیز در غلظت ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد، عصاره هیدروالکی جفت قادر است از رشد باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در مواد غذایی جلوگیری نماید و شاید بتوان از این عصاره به عنوان یک نگهدارنده در صنایع غذایی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: لیستریا مونوسیتوژنز، آویشن دنايي، پسته وحشی، جفت

* نویسنده مسئول: دکتر علی میرزایی، یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، گروه بیوشیمی
Email: mirzaee3a2003@yahoo.com

مقدمه

دارویی اشاره نمود که دارای اثرات ضد میکروبی می‌باشند(۸).

کشور ایران به دلیل داشتن شرایط اقلیمی خاص یکی از غنی‌ترین منابع گیاهان دارویی به شمار می‌رود. آویشن یکی از جنس‌های مهم خانواده نعنائیان است که در بر گیرنده تقریباً ۲۱۵ گونه علفی پایا و درختچه ای کوچک در دنیا است و ۱۴ گونه مختلف از این جنس در بخش‌های مختلف کشور ایران رویش دارند (۹). این گیاه به عنوان یک گیاه دارویی برای تقویت اعصاب، درمان افسردگی و بی‌خوابی به کار می‌رود و دارای خاصیت ضد میکروبی، ضد انگلی و ضد قارچی است و از جوشانده آن به عنوان ضد نفخ، هضم کننده غذا، ضد اسپاسم، ضد سرفه و درمان سرماخوردگی استفاده می‌شود(۱۰). یکی از جنس‌های مهم آویشن، آویشن دناپی^(۱) است که در مناطق مختلف کشور به خصوص کوه‌های دنا رویش دارد(۱۱). بررسی‌ها نشان داد که این گونه نسبت به نمونه‌های مشابه در مناطق دیگر بیشترین مقدار ترکیبات را دارد(۱۲).

بلوط^(۲) درختی بزرگ از خانواده فاگاسه است و میوه‌های کشیده و بیضی شکل به نام آکرون دارد که در یک پیاله به نام گلاند قرار گرفته است(۱۳). میوه بلوط به عنوان ضد عفونی کننده و درمان اسهال استفاده می‌شود که به دلیل حضور تانن‌ها در ترکیبات آن است. هم‌چنین از گال‌های آن

لیستریوز ناشی از مصرف غذا یک بیماری نادر و خطرناک است که به وسیله باکتری لیستریا مونوسیتوژنز ایجاد می‌شود. لیستریا مونوسیتوژنز باسیل کوتاه، گرم مثبت، بدون اسپور، هوازی اختیاری، اکسیداز منفی، کاتالاز مثبت و سرماگرا بوده که در دمای ۲۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد متحرک و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد بدون تحرک می‌باشد(۱). این بیماری معمولاً در نتیجه مصرف لبنیات غیر پاستوریزه و غذاهای آماده مصرف مانند؛ انواع سوسیس، کالباس و هات داگ در افراد مستعد مانند زنان باردار، نوزادان، سالمندان و افراد دارای سیستم ایمنی ضعیف ایجاد می‌شود که منجر به مننژیت، سپتی سمی و سقط جنین خواهد شد. سالیانه حدود ۲۵۰۰-۲۰۰۰ مورد بیماری لیستریوز در آمریکا گزارش می‌شود که ۵۰۰ مورد آن به مرگ ختم می‌شود(۴-۲). استفاده از نگهدارنده‌هایی که قادر باشند رشد باکتری لیستریا مونوسیتوژنز را در مواد غذایی کنترل نمایند، بسیار حایز اهمیت می‌باشد. با توجه به گزارش‌هایی که در مورد خطرات سرطان‌زایی نگهدارنده‌های شیمیایی مانند؛ نیترات سدیم و اسیدبنزویک وجود دارد(۷-۵)، گرایش به سمت استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی اهمیت روز افزونی پیدا کرده است. از جمله این نگهدارنده‌های طبیعی می‌توان به عصاره‌های گیاهان

1-Thymus Daenensis
2-Quercus Brantti

برای درمان سوختگی و زخم استفاده می‌شود. از دیگر ترکیبات موجود در میوه بلوط می‌توان به مواد روغنی، قندهای مختلف، کوئرسیت، پنتوزان و آمیدن اشاره کرد. پوسته داخلی میوه (جفت) تأثیر بسیار زیادی در درمان بیماری‌های باکتریایی و ویروسی مانند آفت مخاط دهان دارد (۱۵ و ۱۴).

پسته وحشی^(۱) یا بنه، یکی از گیاهان خودرو متعلق به خانواده پسته است که در اکثر مناطق کوهستانی ایران به خصوص کوه‌های دنا به وفور یافت می‌شود. به دلیل حضور میزان زیاد اسید چرب غیر اشباع در میوه آن، محققان مصرف آن را در کاهش بروز بیماری‌های قلبی از جمله بیماری‌های عروق کرونر قلب توصیه کرده‌اند، هم‌چنین دارای خواص ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی است (۱۶).

با توجه این که تاکنون فعالیت آنتی باکتریال گیاهان بومی استان کهگیلویه و بویراحمد بررسی نشده است، هدف این مطالعه بررسی فعالیت آنتی باکتریال عصاره‌های هیدروالکی جفت (پوسته داخلی میوه بلوط)، سرشاخه آویشن دنا و پوسته سبز بنه بر باکتری لیستریا مونوسیتوزنز و امکان استفاده از عصاره این گیاهان به عنوان نگهدارنده در صنایع غذایی بود.

روش بررسی

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۹ در دانشگاه علوم پزشکی یاسوج انجام شد. برای تهیه عصاره‌های هیدروالکی ابتدا میوه بلوط، بنه و سرشاخه هوایی

آویشن دنا (برگ، ساقه و گل)، در فصول مناسب از کوه‌های اطراف شهر یاسوج جمع‌آوری شدند و پس از شناسایی و تأیید به وسیله متخصص گیاه شناس، نمونه‌ها در شرایط استاندارد خشک و نمونه هر بار یوم آنها تحت عنوان MPRC₀₆₋₀₈^(۲) در آزمایشگاه بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج نگهداری شدند. سپس عصاره‌های خام نمونه‌ها به روش خیساندن به مدت ۴۸ ساعت تهیه شدند. برای حذف حلال از دستگاه تقطیر در خلاء و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد که در آخر پودر عصاره، از نمونه‌ها به دست آمد و تا زمان استفاده در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای آماده‌سازی عصاره‌ها جهت انجام آزمایش‌های آنتی باکتریال غلظت‌های مختلف ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶ و ۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در محلول ۱۰ درصد دی متیل سولفوکساید تهیه شدند.

برای بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ها، باکتری لیستریا مونوسیتوزنز PTCC 6311 از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی کشور خریداری شد. پس از تهیه محیط کشت مولر هینتون آگار و مولر هینتون برات، تست‌های آنتی باکتریال به روش‌های دیسک دیفیوژن^(۳) و چاهک^(۴) انجام شد. در روش دیسک دیفیوژن از کشت ۲۴ ساعته باکتری در محیط کشت مولر هینتون برات سوسپانسیون

1-Pistachia Atlantica
2-Medicinal Plant Research Center (MPRC₀₆₋₀₈)
3-Disk Diffusion
4-Well Method

میکروپلیت اضافه گردید. برای کنترل منفی از دی متیل سولفوکساید و کنترل مثبت از محیط مولر هینتون برات و سوسپانسیون باکتری استفاده شد. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد گرماگذاری شدند. جذب نوری، قبل و بعد از انکوباسیون با استفاده از دستگاه قرائت گر الیزا (بیوتک - آمریکا) در طول موج ۶۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. سپس کشت گسترده‌ای از چاهک‌هایی که تغییری در جذب نوری آنها مشاهده نشد، در محیط نوترینت آگار صورت گرفت و به مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری شدند. رشد در این محیط نشان دهنده حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی و عدم رشد نشان دهنده حداقل غلظت کشندگی بود که قادر می‌باشد باکتری را از بین ببرد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار

SPSS^(۴) و آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه^(۵)

تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

در آزمون سنجش حساسیت باکتری لیستریا مونوسیتوژنز نسبت به عصاره‌های هیدرو الکلی جفت، آویشن دنایی و پوسته سبز بنه با استفاده از روش دیسک دیفیوژن، حساسیت باکتری نسبت به عصاره هیدرو الکلی جفت در مقایسه با نمونه‌های دیگر بیشتر بود. با توجه به قطر منطقه ممانعتی در دیسک‌های کنترل مثبت و منفی، عصاره هیدرو الکلی جفت در

میکروبی معادل نیم مک فارلند تهیه گردید و با استفاده از لوپ بر سطح محیط مولر هینتون آگار، کشت یکنواختی از باکتری صورت گرفت. سپس دیسک بلانک آغشته به ۲۵ میکرولیتر از عصاره‌های مورد نظر را در مرکز آن قرار داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرما گذاری شد. پس از این مدت با اندازه‌گیری هاله عدم رشد میزان حساسیت یا مقاومت باکتری در غلظت‌های مختلف عصاره‌ها مشخص شد. در روش چاهک نیز پس از آماده کردن سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارلند، کشت یکنواختی از باکتری در محیط مولر هینتون آگار انجام گرفت. سپس چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر در سطح محیط ایجاد کرده و ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های متفاوت عصاره‌ها را در چاهک‌ها ریخته و به مدت ۲۴ ساعت گرما گذاری شدند. از دیسک آغشته به دی متیل سولفوکساید ۱۰ درصد برای کنترل منفی و از دیسک آمپی‌سیلین برای کنترل مثبت استفاده شد.

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی^(۱) و حداقل غلظت کشندگی^(۲) عصاره‌ها به روش رقت میکروچاهک^(۳) با استفاده از چاهک‌های ۹۶ تایی انجام گرفت. ابتدا سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارلند در محیط کشت مولر هینتون برات تهیه شد و ۱۰۰ میکرولیتر از آن را در چاهک‌ها ریخته سپس از هر کدام از عصاره‌ها ۱۰ سری رقت به صورت سری دوتایی تهیه شده و ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های تهیه شده از هر عصاره، به سوسپانسیون میکروبی در

1-Minimal Inhibition Concentration (MIC)
2-Minimal Bactericidal Concentration (MBC)
3-Micro Well Dilution
4-Statistical Package for Social Sciences
5-One Way ANOVA

عصاره‌های سرشاخه آویشن دنايي و پوسته سبز بنه به ترتيب ۸ و ۴ ميلي گرم در ميلي ليتر به دست آمد. حداقل غلظت كشنديگي نيز به ترتيب ۰/۲۵، ۱۶ و ۸ ميلي گرم در ميلي ليتر به دست آمد.

بحث

بیماری لیستریوز در نتیجه مصرف فرآورده‌های آلوده به باکتری لیستریا مونوسیتوزنز در افراد مستعد ایجاد می‌شود. استفاده از نگهدارنده‌ها در صنایع غذایی از بروز این بیماری جلوگیری می‌کند، اما به دلیل خطرات سرطان‌زایی نگهدارنده‌های شیمیایی گرایش به سمیت استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی افزایش یافته است. عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی به عنوان یکی از منابع بالقوه ترکیبات ضد باکتریایی مؤثر و مفید بسیار قابل توجه هستند (۸ و ۵، ۳، ۱). هدف این مطالعه، بررسی امکان معرفی عصاره‌های هیدروالکی جفت (پوسته داخلی میوه بلوط)، سرشاخه آویشن دنايي و پوسته سبز بنه به عنوان نگهدارنده در صنایع غذایی علیه باکتری لیستریا منوسیتوزنز بود.

غلظت ۳۲ ميلي گرم در ميلي ليتر دارای کمترین اختلاف، نسبت به هاله عدم رشد در کنترل مثبت بود. طبق نتایج به ترتیب؛ عصاره هیدروالکی جفت بیشترین تأثیر و عصاره هیدروالکی آویشن دنايي کمترین تأثیر را در غلظت‌های مشابه بر باکتری لیستریا مونوسیتوزنز داشتند. نتایج نشان داد که اثر ضد میکروبی عصاره‌ها به غلظت بستگی داشته و همراه با افزایش غلظت عصاره‌ها، قطر هاله عدم رشد نیز افزایش یافت. در روش چاهک نیز نتایج به دست آمده با نتایج حاصل از روش دیسک دیفیوژن مطابقت داشت. طبق این نتایج، میانگین هاله عدم رشد برای عصاره هیدروالکی جفت در غلظت ۳۲ ميلي گرم در ميلي ليتر برابر با ۲۳ ميلي متر بود که در مقایسه با پوسته سبز بنه و سرشاخه آویشن دنايي بسیار بالا تر بود. کمترین هاله عدم رشد مشاهده شده مربوط به عصاره آویشن دنايي بوده که در غلظت ۳۲ ميلي گرم در ميلي ليتر در این روش قطر هاله ممانعتی ۱۲/۶۶ ميلي متر و برای پوسته سبز بنه نیز در همین غلظت، هاله عدم رشد ۱۹ ميلي متر به دست آمد (جدول ۱).

حداقل غلظت بازدارندگی برای عصاره جفت در غلظت ۰/۱۲۵ ميلي گرم در ميلي ليتر و برای

جدول ۱: مقایسه میانگین و انحراف معیار هاله عدم رشد عصاره هیدروالکی جفت، سرشاخه آویشن دنايي و پوسته سبز بنه علیه لیستریا مونوسیتوزنز با استفاده از روش‌های دیسک و چاهک

غلظت (میلی گرم بر میلی لیتر)	۱	۲	۴	۸	۱۶	۳۲	کنترل مثبت	کنترل منفی
انتشار دیسک؛								
جفت	۸/۶±۰/۵۷	۱۱±۱	۱۰/۳±۰/۵۷	۱۲±۰/۵۷	۱۵	۱۸±۱/۱	۱۹/±۰/۵۷	۶/۴
سرشاخه آویشن دنايي	۶/۴	۶/۴	۶/۴	۶/۴	۶/۶±۰/۵۷	۹/۶±۰/۵۷	۱۹/۶±۰/۵۷	۶/۴
پوسته سبز بنه	۶/۴	۶/۴	۶/۴	۷/۶±۰/۵۷	۱۱/۶±۱/۵۲	۱۵±۲/۶	۱۹/۶±۰/۵۷	۶/۴
چاهک؛								
جفت	۱۱±۱/۷	۱۴±۱/۷	۱۶/۳±۰/۵۷	۱۹	۲۰/۶±۰/۵۷	۲۳	*	-
سرشاخه آویشن دنايي	۶	۶	۶	۶/۹±۰/۵۷	۹±۱	۱۲±۰/۵۷	-	-
پوسته سبز بنه	۶	۹/۳±۰/۵۷	۱۳/۶±۰/۵۷	۱۶/۶±۰/۵۷	۱۷±۲	۱۹	-	-

* در این روش کنترل مثبت و منفی وجود نداشت.

ترانس کریپتاز معکوس^(۱) در ویروس‌های انسانی مانع از تکثیر آنها شوند (۱۸ و ۱۷).

فعالیت ضد باکتریایی اجزای متفاوت از جنس‌های مختلف بلوط به وسیله محققان مورد بررسی قرار گرفته و همه این مطالعه‌ها خواص ضد میکروبی آنها را به اثبات رسانده‌اند و این خاصیت را به حضور تانن و ترکیبات فنلی در گیاه نسبت داده‌اند (۱۹). همچنین خاصیت ضد باکتری عصاره هیدروالکلی برگ و میوه بلوط به وسیله محققین مختلف گزارش شده است و با نتیجه این تحقیق همخوانی دارد. ابراهیمی و همکاران (۲۰۱۰) اثرات ضد باکتریایی عصاره میوه بلوط را علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیس و اشرشیا کولی مورد بررسی قرار داده و پس از مشاهده اثرات ضد باکتریایی عصاره بر روی باکتری‌ها، این خاصیت را به حضور ترکیبات فنلی به ویژه تانن‌ها در عصاره این گیاهان نسبت دادند (۲۰).

در این مطالعه پوسته سبز بنه دارای خواص آنتی باکتریال متوسطی نسبت به عصاره جفت علیه باکتری لیستریا مونوسیتوژنز بود، به طوری که در غلظت ۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر قادر است از رشد باکتری جلوگیری نماید و در غلظت ۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نیز باکتری را از بین ببرد. بنابراین پوسته سبز بنه به عنوان یک نگهدارنده مناسب بعد از جفت معرفی گردید. میوه بنه دارای درصد بسیار بالایی از

در این مطالعه، بیشترین خاصیت ضد باکتریایی علیه باکتری لیستریا مونوسیتوژنز مربوط به عصاره هیدروالکلی جفت بود، به طوری که قادر است در غلظت ۱۲۵ میکروگرم در لیتر از رشد باکتری جلوگیری نموده و در غلظت ۲۵۰ میکروگرم در لیتر باکتری را از بین ببرد که می‌توان این خاصیت را به حضور ترکیبات فنلی و تانن‌ها در این گیاهان نسبت داد. تانن‌ها یکی از شاخص‌ترین موادی هستند که در بعضی گیاهان به وجود می‌آیند و گیاهانی که دارای تانن هستند آستریجنت نامیده می‌شوند. تانن‌ها از ترکیبات مهم درختان بلوط هستند و اهمیت این درختان نیز به خاطر وجود تانن می‌باشد که در اجزای مختلف آنها یافت می‌شود. از جمله ترکیبات اصلی اجزای مختلف درختان بلوط می‌توان به همی سلولزها مانند؛ گزیلون، گلوکز و آرابینوز، لیگنین‌ها مانند؛ وانیلین، کونيفرآلدئید و سیناپالدهید، تانن‌ها مثل؛ وسکالاجین، کاستالاجین و اسید گالیک، فنل‌ها لیپیدها و دیگر ترکیبات اشاره نمود (۱۷). تانن‌ها می‌توانند برای باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌های رشته‌ای و حتی ویروس‌ها سمی باشند و این کار را با مکانیسم‌های متفاوتی انجام می‌دهند به طوری که با رسوب پروتئین‌های میکروبی مانع از رشد آنها می‌شود و در نتیجه پروتئین‌های غذایی در دسترس میکروب‌ها قرار نمی‌گیرند و یا از طریق مکانیزم به دام انداختن آهن، باند شدن هیدروژن و پراکنش‌های اختصاصی با پروتئین‌های حیاتی مانند؛ آنزیم‌ها، ایفای نقش می‌کنند. تانن‌ها حتی قادرند با مهار فعالیت آنزیم

1-Rverse Transcriptase

منفی بررسی شده است که بالاترین اثر آنتی‌باکتریال بر روی استاف اورئوس و حتی سوش مقاوم به متی‌سیلین گزارش شد (۲۸).

نتیجه‌گیری

به دلیل حضور ترکیبات ضد باکتریایی در عصاره‌های هیدروالکلی جفت، سرشاخه هوایی آویشن دنايي و پوسته سبز بنه، این عصاره‌ها می‌توانند گزینه‌های مناسبی به عنوان نگهدارنده‌های طبیعی در صنایع غذایی باشند. به دلیل تفاوت در روش‌های مختلف بررسی خواص آنتی‌باکتریال، سویه‌های باکتریایی به کار برده شده و نیز تفاوت در ترکیبات موجود در عصاره‌ها که برحسب منطقه جغرافیایی رویش گیاه، واریته گیاه، سن گیاه در زمان برداشت و روش‌های خشک کردن و عصاره‌گیری وجود داشت مقایسه نتایج بین تحقیقات مختلف، بسیار مشکل می‌باشد.

تقدیر و تشکر

از معاونت پژوهشی، ریاست دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج به خاطر همکاری در اجرای این تحقیق تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

اسیدهای چرب غیر اشباع است که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بالایی است، به طوری که از آن برای نگهداری روغن زیتون و افزایش ماندگاری آن استفاده می‌شود و همچنین به خاطر داشتن اسیدهای چرب ضروری از لحاظ تغذیه‌ای اهمیت آن بیشتر از روغن زیتون می‌باشد (۲۱). از جمله مهم‌ترین ترکیبات موجود در عصاره بنه می‌توان به بتا پینن اشاره نمود که می‌توان خواص آنتی‌باکتریال موجود در پوسته سبز بنه را به حضور این ترکیب در عصاره نسبت داد که خواص آنتی‌باکتریال آنها نیز به اثبات رسیده است (۲۳ و ۲۲). خاصیت ضد باکتری و ضد قارچی روغن صمغ و برگ بنه به وسیله پژوهشگران گزارش شد که با نتیجه این تحقیق موافق می‌باشد هرچند که در این مطالعه روغن بنه حاصل از دانه گیاه بوده است (۲۴). استفاده بنه در طب سنتی به خاطر خواص ضد باکتری، ضد ویروسی، ضد اسهال و عفونت‌های دهانی می‌باشد (۲۵).

در این تحقیق، فعالیت آنتی‌باکتریال سرشاخه آویشن دنايي علیه لیستریا مونوسیتورنز کمترین مقدار را نسبت به دو عصاره دیگر از خود نشان داد. از جمله ترکیبات اصلی عصاره آویشن دنايي می‌توان به تیمول و کارواکرول اشاره نمود که حضور این ترکیبات در عصاره باعث بروز خواص باکتری‌کشی عصاره می‌شوند. حضور این ترکیبات و همچنین خواص ضد باکتریایی این ترکیبات در آویشن دنايي به اثبات رسیده است (۲۶ و ۲۷). خواص ضد باکتریایی عصاره متانولی آویشن علیه باکتری‌های گرم مثبت و

REFERENCES

1. Vazquez-Boland JA, Kuhn M, Berche P, Chakraborty T, Dominguez-Bernal G, Goebel W, et al. *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14: 584–640.
2. Gandhi M, Chikindas M L. *Listeria*: a foodborne pathogen that knows how to survive. *Int J Food Microbiol* 2007; 113: 1–15.
3. Hamon M, Bierne H, Cossart P. *Listeria monocytogenes*: a multifaceted model. *Nat Rev Microbiol* 2006; 4: 423–34.
4. Tabatabayi AH, Firouzi R. *Diseases of Animals due to Bacteria*. Tehran: university of Tehran Press; 2005; 73-86.
5. Taheri S, Sohrabi D. Teratogenic effects of sodium benzoate on the rat fetus. *Journal of Zanjan University of Medical Sciences* 2002; 39: 1-4.
6. Fujitani T. Short-term effect of sodium benzoate in F344 rats and B6C3F1 mice. *Toxicol Lett* 1993; 69: 171-9.
7. Westphal GA, Bunger J, Lichey N, Taeger D, Monnich A, Hallier E. The benzene metabolite *para*-benzoquinone is genotoxic in human, phorbol-12-acetate-13-myristate induced, peripheral blood mononuclear cells at low concentrations. *Arch Toxicol* 2009; 83:721-729
8. Nguetack J, Lekagne Dongmo JB, Dakole CD, Leth V, Vismar HF, et al. Food preservative potential of essential oils and fractions from *Cymbopogon 75itrates*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against mycotoxigenic fungi. *International Journal of Food Microbiology* 2009; 131: 151–6.
9. Jam Zad M. *Carvacrol Zataria Multiflora Boiss Shirazi Avishan Southern Regions Of Iran*. Avishan Research Institute of Forests and Rangelands. Tehran 1994; 1-7.
10. Akbarinia A, Mirza M. Identification of essential oil components of *Thymus daenesis Celak*. in field condition in Qazvin. *JQUMS* 2008; 12: 58-62.
11. Rechinger KH. *Flora Iranica*. 1st ed. Akademische Druck- und Verlagsanstalt: Austria 1982; 139(2): 5-11.
12. Barazandeh M, Bagherzadeh K. Chemical composition of volatile oil *Thymus daenensis Celak* collected from four different regions of Isfahan Province. *Journal of Medicinal Plants* 2007; 6: 15-9.
13. Motevaselian M, Farahi F. Measurement of extractive materials of *quercus infectoria* for foodstuff and medicinal value of it. Doctoral thesis. Medical faculty. Tehran University; 1979.
14. Khosravi AD, Behzadi A. Evaluation of the antibacterial activity of the seed hull of *quercus brantii* on some gram negative bacteria. *Pak J Med Sci* 2006; 22: 429 –32.
15. Haji sharify A. *Secretes of Medicinal Plants*. 2nd ed. Hafeze novin Press: Iran; 2004; 200-4.
16. Benhammou N, Bekkara FA, Panovska TK. Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2008; 2(2): 22-8.
17. Motar MLR, Thomas G, Barbosa Fillo JM. Effects of *Anacardium occidentale* stem bark extract on in vivo inflammatory models. *Ethnopharmacol* 1985; 95:139-42.
18. Scalbert A. Antimicrobial properties of tannin. *Phytochem* 1991; 30: 3875-83.
19. Min BR, Pinchak WE, Merkel R, Walker S, Tomita G, Anderson RC. Comparative antimicrobial activity of tannin extracts from perennial plants on mastitis pathogens. *Scientific Research and Essay* 2008; 3: 066-73
20. Ebrahimi A, Khayami M, Nejati V. Evaluation of the antibacterial activity of *quercus persica* jaub& spach fruit's hidroalcoholic extract in disc diffusion method. *J Medicinal Plants* 2010; 9: 26-34.
21. Tavakoli J, Najafi V, Hdadprst MH. Increase the oxidative stability of olive oil with mastic (*pistacia atlantica var mutica*). *First Community Olive Oil* 2009; 2: 37-46.
22. Leite AM, Lima EO, Souza EL, Trajano VN, Medeiros IA. Inhibitory effect of β -pinene, α -pinene and eugenol on the growth of potential infectious endocarditis causing Gram-positive bacteria. *RBCF* 2007; 43: 121-6.
23. Gourine N, Yousfi M, Bombarda I, Nadjemi B, Stocker P, Gaydou EM. Antioxidant activities and chemical composition of essential oil of *pistacia atlantica* from algeria. *Industrial Crops and Products* 2010; 31: 203–8.
24. Magiatis P, Melliou E, Skaltsounid AL, Chinou IB, Mitaku S. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *pistacia lentiscus* var. *Chia Plant Med* 1999; 65: 749-52.
25. Benhammou N, Bekkara FA, Panovska TK. Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African J Pharmacol* 2008; 2: 22-8.

26. Panitee Tippayatum P, Chonhenchob V. Antibacterial Activities of thymol, eugenol and nisin against some food spoilage bacteria. Kasetstart J 2007; 41: 319-23.
27. Kunle O, Okogun J, Egamana E, Emojevwe E, Shok M. Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippia multiflora* leaf extract. Phytomedicine 2003; 10: 59-61.
28. Mojab F, poursaeed M, mehrgan H, pakdaman SH. Antibacterial activity of thymus daenensis methanolic extract. Pak J Pharm Sci 2008; 21: 210-13.

Antibacterial Activities of *Thymus Denaensis*, Jaft and Hydro-Alcoholic Extract of Green hull *Pistacia Atlantica* on *Listeria* *Monocytogenes*

Karimi Poor fard M¹, Mirzaei A^{2*}, Kargar M¹, Khosravani SAM³, Mohamadi R³

¹Department of Microbiology, Islamic Azad University, Jahrom branch, Fars, Iran, ²Department of Biochemistry, Herbal Medicine Research Center, Faculty of Medicine, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, ³Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

Received: 18 Jun 2011 Accepted: 11 Sep 2011

Abstract

Background & Aim: Listeriosis is mainly caused by consuming unpasteurized dairy products, especially soft cheese which is contaminated with *Listeria monocytogenes* in people with a damaged immune system. The purpose of this study was to evaluate the possibility of using natural preservatives to control the growth of *Listeria monocytogenes* in dairy products.

Methods: In the present experimental study, plants (*Thymus denaensis*, Jaft and green hull *Pistacia atlantica*) were collected from the mountains of Kohgiluyeh & Boyerahmad province and their hydroalcoholic extract were prepared. Antibacterial activities, MIC and MBC, were determined by disc diffusion and microwell dilution methods. The Ampicillin disk (10µg) was used as positive control in disc diffusion. The data were analyzed by the SPSS software using One-way ANOVA.

Results: The most anti-bacterial activities were found with hydroalcoholic extracts of Jaft and green hull *Pistacia atlantica*. Inhibition zone for the Jaft concentration was 32 mg/ml which was equal to the ampicillin disk. The minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of Jaft extract were 125 and 250 µg/ml respectively.

Conclusion: Based on the results of current study, hydroalcoholic extract of Jaft might be a suitable candidate to be used as a preservative in the food industry which is able to prevent the growth of *Listeria monocytogenes*.

Key Words: *Listeria Monocytogenes*, *Thymus daenensis*, Jaft, *Pistacia atlantica*

*Corresponding Author: Mirzaei A: Department of Biochemistry, Herbal Medicine Research Center, Faculty of Medicine, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran
Email: mirzaee3a2003@yahoo.com