



اثر ضد میکروبی عصاره آبی تلخه بر باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *باسیلوس سرئوس* در شرایط برون‌تنی

حسن برزگر^{۱*}، بهروز عزیززاده بهبهانی^۱

۱- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

گیاه تلخه به عنوان یک داروی پایین آورنده قند خون شناخته می‌شود و خواص ضد میکروبی عصاره‌ها و اسانس‌های تولیدی از آن به اثبات رسیده است؛ بنابراین، این مطالعه با هدف استخراج عصاره آبی گیاه تلخه و بررسی فعالیت ضد میکروبی آن انجام شد. استخراج عصاره آبی تلخه با استفاده از روش خیساندن صورت گرفت. فعالیت ضد باکتریایی عصاره آبی تلخه در برابر باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *باسیلوس سرئوس* با استفاده از روش‌های دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی بررسی گردید. نتایج این پژوهش نشان داد که فعالیت ضد میکروبی عصاره وابسته به غلظت بوده و بالاترین قطر هاله عدم رشد در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره مشاهده گردید. بر اساس آزمون‌های دیسک دیفیوژن آگار و چاهک آگار، باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* بالاترین و *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی* و *باسیلوس سرئوس* کمترین قطر هاله عدم رشد را به خود اختصاص دادند. حداقل غلظت مهارکنندگی برای باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *باسیلوس سرئوس* به ترتیب برابر با ۶۴، ۶۴، ۱۶ و ۳۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به دست آمد و مقادیر حداقل غلظت کشندگی برای این باکتری‌ها به ترتیب ۵۱۲، ۵۱۲، ۲۵۶ و ۲۵۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. بطور کلی، باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با انواع گرم منفی در برابر عصاره حساس‌تر بودند. رشد باکتری‌های پاتوژن و بیماری‌های منتقله از این باکتری‌ها را می‌توان با استفاده از ترکیبات ضد میکروب طبیعی مانند عصاره آبی گیاه تلخه کنترل نمود.

تاریخ‌های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۵/۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۲۹

کلمات کلیدی:

گیاه تلخه؛

فعالیت ضد میکروبی؛

عصاره آبی؛

باکتری‌های پاتوژن؛

بیماری‌های ناشی از غذا.

DOI: 10.22034/FSCT.20.143. 150

DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.143.11.3

* مسئول مکاتبات:

hbarzegar@asnrukh.ac.ir

۱- مقدمه

در سال‌های اخیر، بیماری‌های ناشی از عفونت‌ها و مسمومیت‌های غذایی علاوه بر کشورهای فقیر و توسعه نیافته، در کشورهای پیشرفته نیز با وجود استانداردهای بهداشتی بالا افزایش یافته است [۱]. ارتباط بین مصرف غذا و بیماری‌های انسان خیلی زود تشخیص داده شد و بقراط (۴۶۰ قبل از میلاد) گزارش داد که بین غذای مصرف شده و بیماری انسان ارتباط قوی وجود دارد. پاتوژن‌های منتقله از غذا به عنوان مثال ویروس‌ها، انگل‌ها و باکتری‌هایی مانند لیستریا مونوسیژنوز، اشرشیا کلی، گونه‌های مختلف سالمونلا و غیره عوامل بیولوژیکی هستند که می‌توانند باعث بیماری منتقله از غذا شوند. شیوع بیماری‌های ناشی از غذا به صورت وقوع دو یا چند مورد بیماری مشابه در نتیجه مصرف یک غذای مشترک تعریف می‌شود [۲]. میکروارگانیسم‌هایی که در بروز مسمومیت‌ها و عفونت‌های غذایی نقش دارند با استفاده از مکانیسم‌های مختلفی به آنتی‌بیوتیک‌ها و داروهای ضد میکروبی مقاوم می‌شوند که این مقاومت می‌تواند در برابر دو یا تعداد بیشتری از آنتی-بیوتیک‌ها و داروهای ضد میکروبی مشاهده شود. این امر یک تهدید جدی برای سلامت بشر به شمار می‌آید، از این رو تلاش‌ها جهت کشف عوامل ضد میکروبی جدید افزایش یافت است [۳]. در سال‌های اخیر، به دلیل اثرات مضر ترکیبات شیمیایی و مسائل زیست‌محیطی تمایل به استفاده از ترکیبات ضد میکروبی طبیعی مانند اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی افزایش یافته است [۴].

عصاره‌های گیاهی حاوی ترکیبات فنولی مانند فنولیک اسیدها، تانن‌ها، فلاونوئیدها و غیره می‌باشند که می‌توانند علیه تعداد زیادی از میکروارگانیسم‌ها به کار روند. اثرات ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی علیه طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها در مطالعات مختلف اثبات شده است [۵].

[۶]. به عنوان مثال، فعالیت ضد میکروبی عصاره مچه بر

تعدادی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و عامل فساد مانند سالمونلا تیفی، اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، لیستریا اینوکوا و کاندیدا آلبیکنس گزارش شده است [۷]. همچنین فعالیت ضد میکروبی عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز [۸]، عصاره گیاه شیشه‌شور [۹]، عصاره ازگیل [۱۰]، عصاره زوفا [۱۱]، عصاره پونه کوهی، آویشن شیرازی و رزماری [۱۲] نیز به اثبات رسیده است.

گیاه تلخه یک گیاه دارویی پایین آورنده قند خون است که به صورت علف هرز در باغ‌ها و مزارع استان خوزستان به ویژه در شهرهای رامهرمز و دزفول رشد می‌کند. تلخه با نام علمی *Russian knapweed* یا *Acroptilon repens* گیاهی علفی و بدون کرک با ارتفاع ۵۰-۱۰ سانتی‌متر بوده و از تیره نخود به شمار می‌آید [۱۳]. تلخه گیاهی چند ساله است و از طریق بذر و ریزوم در مزارع گندم و ذرت رشد می‌کند و باعث تلخ شدن آرد این محصولات می‌شود [۱۴]. دانه‌های گیاه تلخه حاوی گلوزید، آلکالوئید و ساپونین‌ها بوده و سرشار از فلاونوئیدها می‌باشد. عصاره این گیاه در درمان صرع، کرونوتروپیک و فشارخون نقش دارد [۱۳]. همچنین گزارش شده است که دانه‌های گیاه تلخه در مهار آسیب مخاط معده مؤثر است و دارای اثر محافظت کننده معده و ضد ترشحاتی بر روی موکوس معده می‌باشد [۱۵].

اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی گیاه تلخه بر روی پاتوژن-هایی مانند استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سوبتلیس، سودوموناس آئروژینوزا و پاستورالا مولتوسیدا مورد بررسی قرار گرفته است [۱۶].

به دلیل خواص دارویی و ضد میکروبی گیاه تلخه، هدف از این پژوهش بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره آبی این گیاه بر روی تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زا مانند اشرشیا کلی، سالمونلا تیفی، لیستریا مونوسیژنوز و باسیلوس سرئوس بود.

۲- مواد و روش‌ها**۲-۱- عصاره‌گیری گیاه تلخه**

گیاه تلخه پس از شستشو در دمای اتاق کاملاً خشک شد. سپس قسمت‌های خشک شده با استفاده از آسیاب پودر شدند. عصاره‌گیری از گیاه پودر شده با استفاده از روش خیساندن سرد انجام شد. بدین ترتیب که، ۲۰۰ گرم از گیاه پودر شده در ۵۰۰ میلی‌لیتر آب خیسانده شد به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق طی شرایط همزنی نگهداری شد. پس از حرارت‌دهی نمونه به مدت ۲۰ دقیقه، محلول به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و با کاغذ صافی فیلتر شد. در پایان عصاره تهیه شده در یک ظرف در بسته در یخچال نگهداری شد [۱۷].

۲-۲- آماده سازی سوسپانسیون میکروبی

پس از تهیه سوبیه‌های باکتریایی از دانشکده علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، کشت باکتریایی لیوفیلیزه شده در شرایط استریل در مولر هیتون برات به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد مجدداً کشت داده شدند. جهت تهیه سوسپانسیون میکروبی تازه، کشت استوک در آگار مغذی کشت اسلنت داده شد و پس از شستشو با محلول رینگر استریل، سوسپانسیون میکروبی غلیظ تهیه گردید. از این سوسپانسیون جهت تنظیم کدورت سوسپانسیون آزمایشی استفاده شد. کدورت در ۶۳۰ نانومتر هر نمونه با استفاده از اسپکتروفتومتر تنظیم شد. کدورت سوسپانسیون میکروبی بر اساس $0/5$ مک فارلند یا $10^8 \times 1/5$ CFU/ml تهیه گردید [۱۸].

۲-۳- دیسک دیفیوژن آگار

جهت انجام آزمون دیسک دیفیوژن آگار، ابتدا غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره تهیه شد. سپس دیسک‌های بلانک به مدت ۱۵ دقیقه در هر یک از غلظت‌های تهیه شده عصاره غوطه‌ور شدند. پس از کشت

سطحی هر یک از پاتوژن‌ها روی محیط کشت مولر هیتون آگار، دیسک‌های آغشته به عصاره روی سطح محیط کشت ثابت شدند. در پایان، پتری دیش‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند و اثر ضد میکروبی بر حسب قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها تعیین شد [۱۹].

۲-۴- چاهک آگار

در روش چاهک آگار، پس از ایجاد چاهک‌هایی بر روی سطح محیط کشت مولر هیتون آگار و کشک سوسپانسیون باکتریایی روی محیط کشت، ۲۰ میکرولیتر از هر یک از غلظت‌های تهیه شده (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به داخل چاهک‌ها ریخته شد و پس از گرمخانه‌گذاری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد [۲۰].

۲-۵- حداقل غلظت مهارکنندگی

حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره آبی گیاه تلخه با استفاده از روش میکرودایلوشن ارزیابی شد. از هر یک از غلظت‌های ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶ و ۵۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره به همراه سوسپانسیون میکروبی در پلیت ۹۶ خانه‌ای ریخته شد. سپس پلیت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری گردید. پس از گرمخانه‌گذاری، ۲۰ میکرولیتر ۲،۳،۵-تری‌فنیل‌تترازولیم کلرید ۵ درصد به هر یک از چاهک‌های پلیت اضافه شد. اولین غلظت که در آن رنگ قرمز مشاهده نشد، به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره در نظر گرفته شد [۲۱].

۲-۶- حداقل غلظت کشندگی

جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره، ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت چاهک‌های بدون تغییر رنگ قرمز در آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی، بر روی محیط کشت مولر هیتون آگار کشت داده شد. اولین غلظتی که در آن هیچگونه رشد باکتری مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی عصاره گزارش شد [۲۲].

۷-۲- آنالیز آماری

تمام آزمایش‌های این پژوهش در سه تکرار انجام شد. از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۶) جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. ارزیابی داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه انجام شد و از آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای تعیین تفاوت‌های معنی‌دار ($p < 0.05$) استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

در جدول ۱ نتایج حاصل از اثر ضد باکتریایی عصاره آبی گیاه تلخه در برابر هر یک از باکتری‌های پاتوژن مورد استفاده به روش دیسک دیفیوژن آگار نشان داده شده است. مشاهده می‌شود که افزایش غلظت عصاره سبب افزایش معنی‌دار قطر هاله عدم رشد می‌شود. با این حال، باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی* و *باسیلوس سرئوس* کمترین قطر هاله عدم رشد و باکتری *لیستریا مونوسی‌توزنز*

بیشترین هاله عدم رشد را به خود اختصاص دادند. غلظت ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره اثر ضد میکروبی بر روی باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی* و *باسیلوس سرئوس* نشان داد. همچنین در باکتری *اشرشیا کلی* اختلاف معنی‌داری بین قطر هاله‌های عدم رشد در غلظت‌های ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره مشاهده نشد. در باکتری *لیستریا مونوسی‌توزنز* بین تمامی غلظت‌ها تفاوت معنی‌داری بین قطر هاله عدم رشد یافت شد. در باکتری *سالمونلا تیفی* و *باسیلوس سرئوس* نتایج مشابهی یافت شد. به طور کلی قطر هاله عدم رشد در باکتری‌های گرم مثبت *لیستریا مونوسی‌توزنز* و *باسیلوس سرئوس* بزرگ‌تر از باکتری‌های گرم منفی *سالمونلا تیفی* و *اشرشیا کلی* بود که این امر نشان‌دهنده حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت در برابر عصاره گیاه تلخه می‌باشد.

Table 1- Antimicrobial activity of *Russian knapweed* extract based on agar disk diffusion method (mm)

Concentration	25 mg/ml	50 mg/ml	75 mg/ml	100 mg/ml
Microorganism				
<i>Escherichia coli</i>	-	7.40 ± 0.29 ^b	9.70 ± 0.36 ^a	10.10 ± 0.52 ^a
<i>Salmonella typhi</i>	-	7.20 ± 0.32 ^c	9.30 ± 0.24 ^b	11.50 ± 0.42 ^a
<i>Listeria monocytogenes</i>	7.00 ± 0.13 ^d	8.90 ± 0.17 ^c	11.00 ± 0.24 ^b	13.90 ± 0.46 ^a
<i>Bacillus cereus</i>	-	7.60 ± 0.14 ^c	9.90 ± 0.11 ^b	12.30 ± 0.27 ^a

Values are expressed as mean ± standard deviations, $n = 3$; different letters (a, b, c and d) in each row show significant difference at $p \leq 0.05$.

میکروبی بر باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی* نشان داد. اما در این باکتری‌ها، قطر هاله عدم رشد در غلظت‌های ۵۰، ۷۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند. در باکتری *لیستریا مونوسی‌توزنز* اما قطر هاله عدم رشد در تمام غلظت‌ها اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. در باکتری *باسیلوس سرئوس* در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره اختلاف معنی‌داری در قطر هاله عدم رشد مشاهده نشد، در حالی که در سایر غلظت‌ها

نتایج اثر ضد میکروبی عصاره آبی تلخه بر اساس روش چاهک آگار در جدول ۲ گزارش شده است. در این روش همانند روش دیسک دیفیوژن آگار با افزایش غلظت عصاره قطر هاله‌های عدم رشد به صورت معنی‌داری افزایش یافت. کمترین قطر هاله در باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی* و بیشترین قطر هاله در باکتری *لیستریا مونوسی‌توزنز* مشاهده شد. غلظت ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره اثر ضد

مونوسیتوزنز و باسیلوس سرئوس (گرم مثبت) بزرگ‌تر از باکتری‌های سالمونلا تیفی و اشرشیا کلی (گرم منفی) بود.

اختلاف معنی‌داری وجود داشت. همانطور که مشاهده می‌شود، در غلظت ثابت عصاره قطر هاله عدم رشد در روش چاهک آگار بزرگ‌تر از روش دیسک دیفیوژن آگار بود. در این روش نیز قطر هاله عدم رشد در باکتری‌های لیستریا

Table 2- Antimicrobial activity of *Russian knapweed* extract based on agar well diffusion method (mm)

Concentration	25 mg/ml	50 mg/ml	75 mg/ml	100 mg/ml
Microorganism				
<i>Escherichia coli</i>	-	7.80 ±0.14 ^c	10.30 ±0.40 ^b	12.20 ±0.26 ^a
<i>Salmonella typhi</i>	-	7.60 ±0.16 ^c	10.00 ±0.28 ^b	12.10 ±0.13 ^a
<i>Listeria monocytogenes</i>	7.30 ±0.18 ^d	9.60 ±0.12 ^c	11.50 ±0.17 ^b	14.80 ±0.38 ^a
<i>Bacillus cereus</i>	7.10 ±0.35 ^c	7.70 ±0.48 ^c	10.60 ±0.43 ^b	14.00 ±0.47 ^a

Values are expressed as mean ±standard deviations, $n = 3$; different letters (a, b, c and d) in each row show significant difference at $p \leq 0.05$.

برابر با ۶۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، استافیلوکوکوس اورئوس بود که نشان‌دهنده حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با سویه‌های گرم منفی به عصاره می‌باشد. حداقل غلظت کشندگی برای این باکتری‌های اشرشیا کلی، سالمونلا تیفی، لیستریا مونوسیتوزنز و باسیلوس سرئوس به ترتیب ۵۱۲، ۵۱۲، ۲۵۶ و ۲۵۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود.

نتایج آزمون‌های حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی تلخه در برابر باکتری‌های بیماری‌زا در جدول ۳ ارائه شده است. حداقل غلظت مهارکنندگی برای باکتری لیستریا مونوسیتوزنز ۱۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، برای باکتری باسیلوس سرئوس ۳۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و برای باکتری‌های اشرشیا کلی و سالمونلا تیفی

Table 3- Antimicrobial activity of *Russian knapweed* extract based on minimum inhibitory/bactericidal concentration method (mg/mL)

Microorganism	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)
<i>Escherichia coli</i>	64	512
<i>Salmonella typhi</i>	64	512
<i>Listeria monocytogenes</i>	16	256
<i>Bacillus cereus</i>	32	256

است. این امر به دلیل وجود یک لایه موکوپیتید منفرد در غشاء سلولی باکتری‌های گرم مثبت بوده که آنها را نسبت به عوامل ضد میکروبی حساس‌تر می‌کند. در حالی که در غشاء سلولی باکتری‌های گرم منفی یک لایه لیپوپلی‌ساکارید و فسفولیپید پیچیده‌تر با سرعت انتشار پایین‌تر وجود دارد که نسبت به ترکیبات ضد میکروبی آبرگیز می‌باشد [۲۷-۲۹]. همچنین مشخص گردید قطر هاله‌های عدم رشد در

گیاهان حاوی متابولیت‌های ثانویه هستند که به صورت پیش‌سازهای غیر فعال مانند فنول، فلاونوئید و فلاون در بخش‌های مختلف گیاه ذخیره شده‌اند و می‌توانند فعالیت ضد میکروبی را در شرایط برون‌تنی و درون‌تنی نشان می‌دهند [۲۳-۲۶]. نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره آبی گیاه تلخه دارای اثر ضد میکروبی بیشتری در برابر باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی

آئروژینوزا بررسی و گزارش گردید که عصاره‌های تهیه شده به صورت معنی‌داری مانع از رشد این باکتری می‌شوند [۳۲]. بر اساس نتایج به دست آمده در این مطالعه، عصاره آبی گیاه تلخه می‌تواند به عنوان یک ترکیب ضد میکروبی جهت جلوگیری از عوامل بیماری‌زای غذایی استفاده شود.

۴- نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که با افزایش غلظت عصاره آبی تلخه فعالیت ضد باکتریایی آن افزایش یافته و نوع باکتری بر میزان بروز خاصیت ضد میکروبی مؤثر می‌باشد. بنابراین، با توجه به ماهیت طبیعی عصاره گیاه تلخه می‌توان از آن به عنوان یک ترکیب ضد باکتریایی طبیعی علیه طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌های عامل عفونت و مسمومیت غذایی استفاده کرد. با این حال، انجام آزمون‌های تکمیلی جهت کشف مکانیسم فعالیت ضد میکروبی عصاره و افزایش کاربرد آن در بسیاری از محصولات غذایی و دارویی مورد نیاز است.

۵- تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

۶- منابع

- [1] Alizadeh behbahani B, Noshad M, Falah F. Investigation of antimicrobial activity of Fennel essential oil on some pathogenic microorganisms causing infection and food poisoning and its interaction with kanamycin antibiotic. *mdrsjrn*. 2019;16(91):233-41.
- [2] Yazdi FT, Behbahani BA, Vasiee A, Mortazavi SA, Yazdi FT. An investigation on the effect of alcoholic and aqueous extracts of *Dorema aucheri* (Bilhar) on some pathogenic bacteria in vitro. *Archives of Advances in Biosciences*. 2015; 16;6(1).
- [3] Behbahani BA, Yazdi FT, Mortazavi A, Gholian MM, Zendeboodi F, Vasiee A. Antimicrobial effect of Carboxy Methyl Cellulose

روش چاهک آگار در مقایسه با روش دیسک دیفیوژن آگار بزرگتر می‌باشد. علت این امر تماس مستقیم گونه‌های باکتریایی در روش چاهک آگار با عصاره می‌باشد، در حالی که، سرعت انتشار عصاره پس از عبور از سطوح دیسک در روش دیسک دیفیوژن آگار، اثر بازدارندگی را در این روش تعیین می‌کند [۳۰]. در بررسی اثر ضد میکروبی عصاره تلخه بر تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی به روش دیسک دیفیوژن آگار مشخص گردید که عصاره تهیه شده با قطر هاله در حدود ۱۳ میلی‌متر بر روی باکتری‌های گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* بیشترین اثر ضد میکروبی را دارا می‌باشد [۱۶]. خاصیت ضد میکروبی اسانس گیاه تلخه بر روی ۳ باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* و ۳ باکتری گرم منفی *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی* و *شیگلا فلکسنری* به روش چاهک آگار با اندازه‌گیری ناحیه بازدارندگی رشد سنجیده شد. گزارش شده است که *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* نواحی بازدارندگی قوی نشان دادند در حالی که *استافیلوکوکوس اورئوس* مهار پایینی نشان داد و باکتری‌های گرم منفی نسبت به اسانس مقاومت نشان دادند [۳۱]. خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های تهیه شده با اتانول، کلروفرم، اتیل استات و آب از گیاه تلخه به ۴ روش دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی بر روی باکتری *سودوموناس* (CMC) containing aqueous and ethanolic *Eucalyptus camaldulensis* L. leaves extract against *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis*. *Archives of Advances in Biosciences*. 2014; 12;5(2).

- [4] Moradi B, Mashak Z, Akhondzadeh Basti A, Moradi B, Barin A. The Survey of the Effect of *Cuminum cyminum* L. Essential Oil on the Growth of *Bacillus cereus* in a Food Model System. *jmpir*. 2012;11(41):93-102.
- [5] Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Heidari Sureshjani M, Mortazavi A, Tabatabaei Yazdi F. Antimicrobial Effect of the Aqueous and Ethanolic *Satureja bachtiarica* Extracts "in vitro".

- Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2014;19(64):13-9.
- [6] Hojjati M, Alizadeh Behbahani B. Evaluation of the effect of aqueous and methanolic extraction methods on the antioxidant and antimicrobial characteristics of *Allium jesdianum* extract: in vitro study. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 2021;17(1):83-91.
- [7] Shahidi F, Tabatabaei Yazdi F, Roshanak S, Alizadeh Behbahani B, Norouzi N, Vasiee A. Antimicrobial Activity of *Lepidium draba* Extract on some Pathogenic Microorganisms "in vitro". *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine*. 2019;24(85):1-9.
- [8] Namazi P, Barzegar H, Alizadeh behbahani B, Mehrnia MA. Evaluation of functional groups of bioactive compounds, antioxidant potential, total phenolic and total flavonoid content of red bell pepper extracts. *Journal of food science and technology(Iran)*. 2021;18(113):301-11.
- [9] Sosani Gharibvand Z, Alizadeh Behbahani B, Noshad M, Jooyandeh H. Investigation of the Functional Groups of Bioactive Compounds, Radical Scavenging Potential, Antimicrobial Activity and Cytotoxic Effect of *Callistemon Citrinus* Aqueous Extract on Cell Line HT29: A Laboratory Study. *RUMS_JOURNAL*. 2020;19(5):463-84.
- [10] Tabatabai Yazdi F, Ali Zadeh Behbahani B, Alghoneh A, Zanganeh H. Optimization of extraction of *Mespilus germanica* by mixture design and investigation of its effect on Infectious Microorganisms "in vitro". *mdrsjrns*. 2016;13(52):131-45.
- [11] Alizadeh behbahani B, Noshad M. Evaluation of the minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of *Hyssopus officinalis* extract on a number of Gram-positive and Gram-negative bacteria: A study "in vitro". *mdrsjrns*. 2021;18(110):1-9.
- [12] Fazeli-Nasab B, Rahnama M, Mazarei A. Correlation between antioxidant activity and antibacterial activity of nine medicinal plant extracts. *J Mazandaran Univ Med Sci*. 2017;27(149):63-78.
- [13] Ghitasi I, Nikbakht M, Sadeghi H, Sabzali V, Sabzali S, Shahrani M. The hypoglycemic effects of a hydro-alcoholic extract from *Securigera securidaca* seeds on induced diabetic in male rats. *Shahrekord-University-of-Medical-Sciences*. 2007;8(4):68-73.
- [14] Nohtani F, Pouraboli I. Antidiabetic and Anti-lipid Peroxidative Effects of Hydroalcoholic Extract of *Acroptilon repens* in Male Rats. *RUMS_JOURNAL*. 2016;14(10):841-52.
- [15] Hoodgar F, Nasri S, Amin G. Investigation of Antinociceptive and Anti-inflammatory Effects of Hydro-alcoholic Extract of *Securigera Securidaca* L. Ofogh-e-Danesh; *Journal of Gonabad University of Medical Sciences*. 2011;17(1):12-9.
- [16] Babri R, Joudi L. Evalaution of Antimicrobial effect of *Acroptilon repens* L. extract. *First National Conference on Medicinal Plants, Traditional Medicine and Organic Agriculture; Hamadan2014*.
- [17] Alizadeh Behbahani, B., Shahidi, F., Yazdi, F. T., & Mohebbi, M. (2013). Antifungal effect of aqueous and ethanolic mangrove plant extract on pathogenic fungus" in vitro". *International Journal of Agronomy and Plant Production*, 4(7), 1652-1658.
- [18] Sureshjani, M. H., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., Behbahani, B. A., & Shahidi, F. (2014). Antimicrobial effects of *Kelussia odoratissima* extracts against food borne and food spoilage bacteria" in vitro. *Journal of Paramedical Sciences*, 5(2), 115-120.
- [19] Falah, F., Shirani, K., Vasiee, A., Tabatabae Yazdi, F., & Alizadeh Behbahani, B. (2021). In vitro screening of phytochemicals, antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activity of *Echinops setifer* extract. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 35, 102102.
- [20] Alizadeh Behbahani, B., Falah, F., Vasiee, A., & Tabatabae Yazdi, F. (2021). Control of microbial growth and lipid oxidation in beef using a *Lepidium perfoliatum* seed mucilage edible coating incorporated with chicory essential oil. *Food Science & Nutrition*, 9(5), 2458-2467. doi:<https://doi.org/10.1002/fsn3.2186>
- [21] Tabatabaei Yazdi F, Alizade Behbahani B, Vasiee A, Mortazavi A, Shahidi F. Evaluation antioxidant activity, phytochemical constituents and antimicrobial of *Mentha Piperita* essential oil on some infectious and poisonous microorganisms. *Journal of food science and technology(Iran)*. 2018;15(76):76-67.
- [22] Samiei A, tabatabaei yazdi f, Alizadeh behbahani B, Mazaheri Tehrani M. Extraction, identification of chemical compounds and antimicrobial activity of purple basil essential oil on food-born pathogenic bacteria and its comparison with vancomycin and gentamicin antibiotics. *Journal of food science and technology(Iran)*. 2019;16(91):347-56.
- [23] Saffari Samani E, Jooyandeh H, Alizadeh Behbahani B. Evaluation of reciprocal pharmaceutical effect and antimicrobial activity of Shirazi thyme essential oil against some Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Journal of food science and technology(Iran)*. 2020;17(104):1-11.
- [24] Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Mortazavi A, Zendeboodi F, Gholian M. Effect of aqueous and ethanolic extract of *Eucalyptus camaldulensis* L on food infection and intoxication

microorganisms "in vitro. Archives of Advances in Biosciences. 2013;4(3).

[25] Behbahani BA, Shahidi F, Yazdi FT, Mohebbi M. Antifungal effect of aqueous and ethanolic mangrove plant extract on pathogenic fungus" in vitro". International Journal of Agronomy and Plant Production. 2013;4(7):1652-8.

[26] Noshad M, Alizadeh behbahani B. Evaluation of the effect of aqueous and ethanolic extraction methods on the antioxidant and antimicrobial characteristics of Lippia citriodora extract. Journal of food science and technology(Iran). 2021;18(118):273-83.

[27] Ebrahimi Hemmati Kaykha M, Jooyandeh H, Alizadeh behbahani B, Noshad M. Antimicrobial potential of Cordia myxa fruit on pathogenic bacteria: A study "in vitro" laboratory conditions. Journal of food science and technology(Iran). 2020;17(101):71-80.

[28] Tabatabaei Yazdi F, Behbahani BA. Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic Teucrium polium L. extracts on gram positive and gram negative bacteria "in vitro". Archives of Advances in Biosciences. 2013;4(4):56-62.

[29] Heydari, S., Jooyandeh, H., Alizadeh Behbahani, B., & Noshad, M. (2020). The impact of Qodume Shirazi seed mucilage-based edible coating containing lavender essential oil on the quality enhancement and shelf life improvement of fresh ostrich meat: An experimental and modeling study. *Food Science & Nutrition*, 8(12), 6497-6512.

[30] Noshad M, Alizadeh behbahani B, Dehghani S. Improving oxidative and microbial stability of beef by using a bioactive edible coating obtained from Plantago lanceolata seed mucilage and loaded with Thymus vulgaris. Journal of food science and technology(Iran). 2020;17(101):1-13.

[31] Norouzi-Arasi H, Yavari I, Chalabian F, Kiarostami V, Ghaffarzadeh F, Nasirian A. Chemical constituents and antimicrobial activities of the essential oil of Acroptilon repens (L.) DC. Flavour and fragrance journal. 2006;21(2):247-9.

[32] Akhgari Z, Nazari R, Zargar M, Tanomand A. Antibacterial and antibiofilm properties of Acroptilon repens (L.) Dc extract and its effect on exotoxin A gene expression of Pseudomonas aeruginosa. Gene Reports. 2021;25:101357.



Antimicrobial effect of *Russian knapweed* aqueous extract on *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Listeria monocytogenes*, and *Bacillus cereus* in vitro

Hassan Barzegar^{*1}, Behrooz Alizadeh Behbahani¹

1- Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

ABSTRACT

The plant *Russian knapweed* is known as a blood sugar lowering drug, and the antimicrobial properties of its extracts and essential oils have been proven; Therefore, this study was conducted with the aim of extracting the aqueous extract of *R. knapweed* and investigating its antimicrobial activity. The aqueous extract of *R. knapweed* was extracted by the maceration method. The antibacterial activity of the extract against *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Listeria monocytogenes*, and *Bacillus cereus* was investigated using disk diffusion agar, well diffusion agar, minimum inhibitory concentration, and minimum bactericidal concentration methods. The results of this research showed that the antimicrobial activity of the extract was dependent on the concentration and the highest diameter of the inhibition zone was observed at the concentration of 100 mg/ml of the extract. Based on disk diffusion agar and well diffusion agar tests, *Listeria monocytogenes* bacteria had the highest and *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, and *Bacillus cereus* had the lowest inhibition zones, respectively. The minimum inhibitory concentration for *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Listeria monocytogenes*, and *Bacillus cereus* bacteria was obtained as 64, 64, 16, and 32 mg/ml, respectively, and the minimum bactericidal concentration values for these bacteria were 512, 512, 256, and 256 mg/ml, respectively. In generally, the Gram-positive bacteria were more sensitive to the extract compared to the Gram-negative types. The growth of pathogenic bacteria and the diseases transmitted by these bacteria can be controlled by using natural antimicrobial compounds such as *R. knapweed* aqueous extract.

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 2023/7/24
Accepted: 2023/9/20

Keywords:

Russian knapweed;
Antimicrobial activity;
Aqueous extract;
Pathogenic bacteria;
Foodborne diseases.

DOI: 10.22034/FSCT.20.143.150

DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.143.11.3

*Corresponding Author E-Mail:
hbarzegar@asnruk.ac.ir