

The Germicidal Effect of Marjoram Alcoholic Extract on Staphylococcus aureus, E.coli, and Salmonella enterica

Reza Mehdizadeh Moghadam¹,
Mohammad Ahanjan²

¹ MSc in Food Microbiology, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran
² Assistant Professor, Department of Microbiology, Antimicrobial Resistant Nosocomial Infection Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received April 4, 2015 ; Accepted June 23, 2015)

Abstract

Background and purpose: Medicinal plants are of great value in disease prevention and sustaining healthy communities. Marjoram is a plant of the mint family with large antibacterial effect on some microorganisms.

Materials and methods: In this research the antimicrobial activity of marjoram alcoholic extracts (methanol and ethanol) were examined on *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *E.coli* (ATCC 25922) and *Salmonella enterica* (ATCC 13076) using disk diffusion method. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of the extracts were measured by germicidal tube dilution method.

Results: The MIC and MBC values for ethanol and methanol extracts were equal on *E.coli* (100 and 120 mg/ml, respectively). These concentrations also had equal volumes on *Salmonella enterica* (80 and 90 mg/ml, respectively).

Conclusion: The results showed the alcoholic extracts of marjoram with strong antibacterial properties, amongst which ethanol extract was found to be the most effective with maximum effect on *E.coli* and least impact on *Salmonella enterica*.

Keywords: Marjoram, disk diffusion, minimum inhibitory concentration, minimum bactericidal concentration

J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 25(127): 119-123 (Persian).

تعیین میزان میکروب کشی عصاره الکلی مرزنجوش بر روی *Salmonlla enterica* و *E.coli*

رضا مهدی زاده مقدم^۱

محمد آهنجان^۲

چکیده

سابقه و هدف: گیاهان دارویی از ارزش و اهمیت خاصی در تأمین سلامتی جوامع به لحاظ پیشگیری از بیماری‌ها برخوردار بوده و گیاه مرزنجوش که از خانواده نعنائیان به شمار می‌رود دارای خاصیت آنتی‌باکتریال زیادی بر روی میکروارگانیسم‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش خاصیت ضد میکروبی عصاره الکلی (اتانولی و متانولی) گیاه مرزنجوش بر روی باکتری‌های *E.coli* (atcc:25922) و *Salmonlla enterica* (atcc:13076) به روش دیسک دیفیوژن مورد بررسی قرار گرفت و حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت میکروب‌کشی به روش رقت در لوله اندازه‌گیری گردید
یافته‌ها: اندازه‌گیری حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت میکروب‌کشی عصاره اتانولی و متانولی بر روی *E.coli* با هم برابر بوده و به ترتیب ۱۰۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. این مقدار برای عصاره اتانولی و متانولی بر روی *Salmonlla enterica* با هم برابر بوده و به ترتیب ۸۰ و ۹۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد.
استنتاج: نتایج نشان داد که عصاره الکلی گیاه مرزنجوش خاصیت ضد باکتریایی خوبی داشته و در بین عصاره‌های الکلی، عصاره اتانولی موثرترین عصاره بوده و بیش‌ترین و کم‌ترین تاثیر را بر روی *Salmonlla enterica* و *E.coli* داشته است.

واژه‌های کلیدی: مرزنجوش، دیسک دیفیوژن، حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)، حداقل غلظت میکروب‌کشی (MBC)

مقدمه

افزایش عمومی جامعه به استفاده از داروها و درمان‌های گیاهی و به طور کلی فرآورده‌های طبیعی به ویژه در طی سال‌های اخیر رو به افزایش بوده و مهمترین علل آن اثبات اثرات مخرب و جانبی داروهای شیمیایی و ایجاد آلودگی‌های زیست محیطی بوده است. طبق آمار سازمان بهداشت جهانی بالغ بر ۸۰ درصد مردم جهان، به ویژه در کشورهای در حال توسعه و نواحی فقیر و دور افتاده، عمده‌ترین نیازهای درمانی خود را از گیاهان دارویی تأمین می‌کنند. اثرات جانبی داروهای شیمیایی برای بیمار نتیجه‌ای خطرناک تر از بیماری مورد درمان داشته است لذا لازم است تا در مصرف آن‌ها احتیاط زیادی صورت گیرد. این اثرات موجب شده است تا داروهای گیاهی کاربرد وسیعی پیدا کنند (۴). Janssen (۱) در سال ۱۹۸۷ و Deans و Dorman در سال ۲۰۰۰ در

گرایش عمومی جامعه به استفاده از داروها و درمان‌های گیاهی و به طور کلی فرآورده‌های طبیعی به ویژه در طی سال‌های اخیر رو به افزایش بوده و مهمترین علل آن اثبات اثرات مخرب و جانبی داروهای شیمیایی و ایجاد آلودگی‌های زیست محیطی بوده است. طبق آمار سازمان بهداشت جهانی بالغ بر ۸۰ درصد مردم جهان، به ویژه در کشورهای در حال توسعه و نواحی فقیر و دور

E-mail: alizafarzadeh@yahoo.com

مؤلف مسئول: رضا مهدی زاده مقدم - فریدونکنار: خیابان نامجو، شهرک حمزه کیبیری، گلستان ۱۰

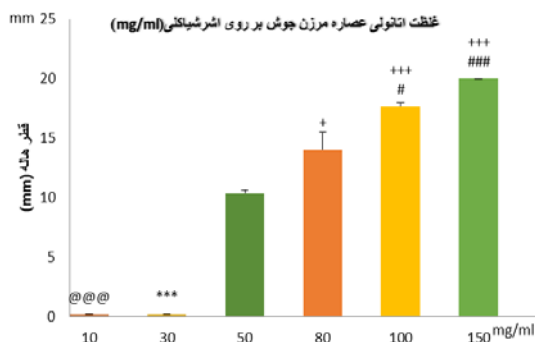
۱. کارشناس ارشد میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی دامغان، سمنان، ایران

۲. استادیار، گروه میکروب شناسی، مرکز تحقیقات عفونت‌های بیمارستانی مقاوم به درمان، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱/۱۵ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۴/۱/۱۷ تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۴/۲۰

یافته ها و بحث

در بین عصاره‌های الکلی، عصاره اتانولی موثرترین عصاره بود. همچنین در مقایسه تاثیر عصاره گیاه بر روی میکروارگانیسم‌ها، بیش‌ترین تاثیر بر روی *Salmonella enterica* مشاهده شد و *E. coli* بیش‌ترین مقاومت را از خود نشان داد. حداقل غلظت مهار کنندگی و حداقل غلظت میکروب کشی عصاره اتانولی و متانولی بر روی *E. coli* به ترتیب ۱۰۰ و ۱۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر بود و این مقدار برای عصاره اتانولی و متانولی بر روی *Salmonella enterica* با هم برابر و به ترتیب ۸۰ و ۹۰ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد. هم‌چنین طبق یافته‌های این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که عصاره الکلی مرزنجوش از تاثیر به سزایی بر روی سالمونلا برخوردار بوده و کم‌ترین تاثیر را بر روی اشرشیاکلی داشته است. آنالیز آماری نشان داد که اثر غلظت‌های اتانولی و متانولی عصاره مرزنجوش بر روی اشرشیاکلی $p < 0/001$ با سایر گروه‌ها به جز دوز ۳۰، $p < 0/001$ با سایر گروه‌ها به جز دوز ۱۰، $p < 0/05$ ، $p < 0/001$ با دوز ۵۰، $p < 0/05$ ، $p < 0/001$ با دوز ۸۰ ارتباط داشته (نمودار شماره ۱). هم‌چنین نمودار بررسی اثر غلظت‌های اتانولی و متانولی عصاره مرزنجوش بر روی سالمونلا نشان می‌دهد که $p < 0/001$ با سایر گروه‌ها به جز دوز ۳۰، $p < 0/001$ با سایر گروه‌ها به جز دوز ۱۰، $p < 0/001$ با سایر گروه‌های مشابه متانولی، $p < 0/001$ با دوز ۸۰، $p < 0/001$ با گروه‌های ۱۵۰ و ۱۰۰، دارای رابطه می‌باشد (نمودار شماره ۲).

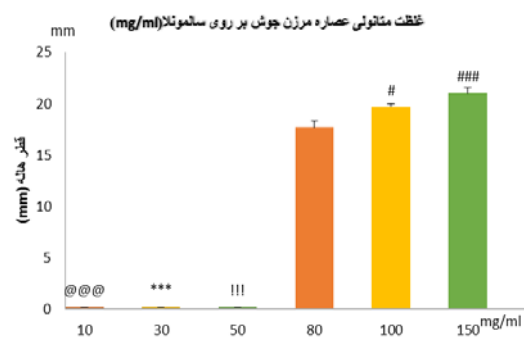
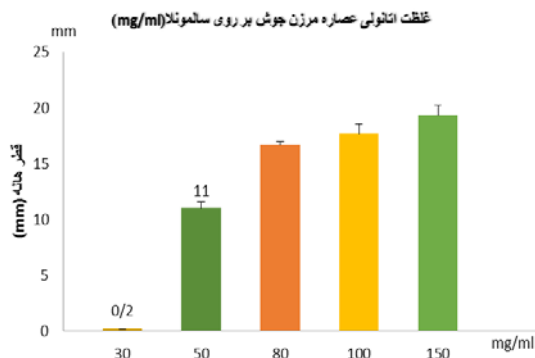


طی مطالعات خود دریافتند که اسانس‌های روغنی مرزنجوش، آویشن، نعناع و پونه در رابطه با زنجیره‌های اشرشیاکلی بسیار فعال هستند (۲) Moreira و همکارانش در سال ۲۰۰۵ اثر ضد میکروبی اسانس چند گیاه از جمله کالیپتوس، رزماری، نعناع فلفلی، میخک، لیمو، اریگانو (پونه کوهی)، ریحان و غیره را بر روی گونه‌های مختلف اشرشیاکلی O157H7 بررسی کردند که اثر ضد میکروبی اسانس میخک و به دنبال آن اسانس اوکالیپتوس و اسانس نعناع در بین تمامی اسانس‌های مورد استفاده اثرات ضد میکروبی قابل توجهی از خود نشان دادند (۳).

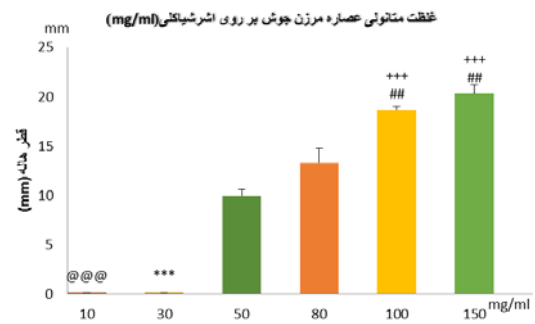
مواد و روش‌ها

ابتدا گیاه را با تمامی اندام گیاهی خشک نموده و آن را آسیاب نمودیم و سپس برای تهیه عصاره متانولی مقدار ۱۰۰ گرم از گیاه خشک شده را در ۷۰۰ سی سی متانول ۸۰ درصد خیسانده و به مدت ۴۸ ساعت آن را روی شیکر قرار دادیم تا تمام عصاره گیاه خارج گردد. سپس محلول را از کاغذ صافی عبور دادیم و عصاره‌های به دست آمده با استفاده از دستگاه روتاری در دمای ۴۰ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت دو روز تغلیظ شده و عصاره به دست آمده را فریزدرای نمودیم تا عصاره خالص و بدون حلال و آب حاصل شود و همین عمل را نیز برای تهیه عصاره اتانولی ۸۰ درصد انجام دادیم. سپس از عصاره‌های مختلف غلظت‌های متفاوتی تهیه گردید. میکروارگانیسم‌هایی که از انستیتو پاستور ایران به صورت لیوفریزه تهیه شده بود را با نیم سی سی محلول BHI احیا کرده و کشت دادیم. متعاقباً کلونی‌های سطح محیط کشت را برداشته و با محلول نرمال سالین استریل رقیق نموده و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار دادیم تا سوسپانسیون باکتریایی CFU/mL حاوی 10^3 تهیه شود. میزان جذب سوسپانسیون در طول موج برابر ۵۳۰ نانومتر با میزان جذب محلول ۰/۵ مک فارلند مقایسه گردید. برای مطالعه اثرات ضد میکروبی از دو روش دیسک دیفیوژن و روش رقت در لوله استفاده شد.

Candida albicans صورت گرفت، مشخص شد که عصاره اتانولی مرزنجوش و اسانس این گیاه تاثیر بیش تری بر روی استافیلوکوکوس داشته و بیش ترین مقاومت بر روی اشرشیاکلی بوده است (۶) که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد.



نمودار شماره ۲: نمودار آنالیز آماری عصاره اتانولی و متانولی مرزنجوش بر روی سالمونلا
*، #، @ و !!!!!: نمایانگر مقایسه و نوع نمودار می باشد
P: میزان عدد فرضی است.
+ و پشت حرف P نمایانگر مقایسه دو نمودار در دو نوع عصاره مختلف می باشد
عدد ۰/۰۰۱ میزان خطا را نشان می دهد.



نمودار شماره ۱: نمودار آنالیز آماری عصاره اتانولی و متانولی مرزنجوش بر روی اشرشیاکلی
*، #، @ و !!!!!: نمایانگر مقایسه و نوع نمودار می باشد
P: میزان عدد فرضی است.
+ و پشت حرف P نمایانگر مقایسه دو نمودار در دو نوع عصاره مختلف می باشد
عدد ۰/۰۰۱ میزان خطا را نشان می دهد.

محبوبی و همکاران (۲۰۰۹) اثرات ضد میکروبی اسانس های آویشن، مرزنجوش، مرزه و اکالیپتوس را بر باکتری های اشرشیاکلی، سالمونلا تیفی موریوم و قارچ های آسپرژیلوس نایجر و آسپرژیلوس فلاووس مورد مطالعه قرار داده و دریافتند که اثر اسانس اتانولی آویشن و مرزنجوش تاثیر بیش تری بر روی باکتری ها نسبت به قارچ ها دارد (۵). که این یافته با نتیجه تحقیق یکسان است. هم چنین در مطالعه دیگری که توسط جودی (۱۳۸۲) با عنوان بررسی خواص ضد میکروبی و ترکیبات شیمیایی مهم عصاره و اسانس گیاهان مرزنجوش، پونه و نعناع فلفلی از خانواده نعناع بر روی باکتری های *Staphylococcus aureus*، *E. coli* و مخمر

References

- Janssen A, Scheffer J, Baerheim A. Antimicrobial Activity of Essential Oils: a 1976-1986 Literature Review Aspects of the Test Methods. *Planta Medica* 1987; 53(5): 395-398
- Dorman HJ, Deans SG. Antimicrobial Agents From Plants. Antibacterial activities of plant volatile oils. *J Appl Microbiol* 2000; 88(22): 308-316.
- Moreira M, Ponce A, Dell Valle C, Roura S. Inhibitory parameters of Essential oils To reduce A foodborne pathogen. *LWT Food Science and Technology* 2005; 38(5): 565-570.
- Amiri Ardakani M. The Use of Medicinal Plants In The Health of Ivestock And Poultry. Razavi Publications; 2006 (Persian)
- Mahbobi M, Feyzabadi M. Antimicrobial Effects of Essential Oils of Thyme, Marjoram,

Savory and Eucalyptus on the Bacteria Escherichia Coli, Salmonella Typhimurium and Endophyte Aspergillus Niger, Aspergillus Flavus. Journal of Medicinal Plants 2009; 8(2(30)): 137-144 (Persian).

6. Jodi L. Anti-Microbial Properties and Chemical Composition of Plant Extracts and Essential Oils of Marjoram, Oregano and Peppermint Mint Family. [Dissertation] Urmia University, Faculty of Sciences, 2003 (Persian)