

## Determining the Efficacy of Ethanolic, Ethyl Acetate and Chloroform Extracts of *Thymus Vulgaris* and *Nepeta Binaloudensis* Medicinal Plants on the Inhibition and Removal of Standard Bacteria from Aquatic Environments

Mousavi S.M<sup>1</sup>, Kamani H<sup>1</sup>, Bagheri G<sup>2</sup>, Mohammadi L\*<sup>3</sup>, Dargahi A\*<sup>4</sup>

1. Health promotion Research Center, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran
2. Zabol Medicinal Plant Research Center, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, IR Iran
3. Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Research Institute of Cellular and Molecular Sciences in Infectious Diseases, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran
4. Department of Environmental Health Engineering, Khalkhal University of Medical Sciences, Khalkhal, Iran

\* **Corresponding authors:**

Leili Mohammadi: Tel: +985433372151, Fax: +985433372155, E-mail: lailimohamadi@gmail.com

Abdollah Dargahi: Tel: +989141597607, Fax: +984532432002, E-mail: a.dargahi29@yahoo.com

Received: Jun 18, 2023

Accepted: Sep 12, 2023

### ABSTRACT

**Background & objectives:** Investigating the antimicrobial effects of medicinal plant extracts is important in terms of efficiency in removing or reducing water and wastewater bacteria. Plant extract can be used as a natural and affordable disinfectant. This study aims to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum lethal concentration (MBC) based on the extracts of *Thymus vulgaris* and *Nepeta binaloudensis* medicinal plants.

**Methods:** The type of study in this research was experimental and of laboratory type. Water samples containing bacteria were used as the studied population. To carry out this research, three types of ethanolic, chloroform and ethyl acetate extracts related to the aerial parts of two medicinal plants, *Thymus vulgaris* and *Nepeta binaloudensis*, were prepared using rotary and seven standard bactericidal strains relating to water and wastewater were investigated. Five different concentrations of 3.1, 6.25, 12.5, 25 and 50 ppm were used on bacteria to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum lethal concentration (MBC) by microdilution method. SPSS16 software and a one-way variance test were used for data analysis.

**Results:** The results showed that for the *Thymus vulgaris* plant, the lowest inhibitory concentration and the lowest lethal concentration are related to all three types of extracts. Therefore, *Listeria monocytogenes* and *Shigella dysenteriae* bacteria were inhibited and eliminated at concentrations of 3.1 ppm and 6.25 ppm, respectively. The lowest inhibitory concentration and the lowest lethal concentration were related to the extract of chloroform and ethyl acetate, which inhibited and eliminated *Shigella dysenteriae* and *E. coli* bacteria at concentrations of 3.1 and 6.25 ppm, respectively. The ethanolic extract of *St. John's wort* did not affect *Shigella dysenteriae* bacteria.

**Conclusion:** This study showed that the *Thymus vulgaris* plant has better potential for antibacterial properties and disinfection for water and wastewater. Therefore, the compounds of this plant can be used for future studies to design an antimicrobial agent as an alternative to chemical disinfectants.

**Keywords:** Minimum Inhibitory Concentration (MIC); Minimum Lethal Concentration (MBC); *Thymus Vulgaris*; *Nepeta Binaloudensis*

## تعیین کارایی عصاره‌های اتانولی، اتیل استات و کلرفرمی گیاهان دارویی آویشن و استوخدوس بینالودی بر مهار و حذف باکتری‌های استاندارد از محیط‌های آبی

سید محمد موسوی<sup>۱</sup>، حسین کمانی<sup>۱</sup>، غلامرضا باقری<sup>۲</sup>، لیلی محمدی<sup>۳</sup>، عبدالله درگاهی<sup>۴</sup>\*

۱. مرکز تحقیقات ارتقاء سلامت، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

۲. مرکز تحقیقات گیاهان دارویی زابل، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، جمهوری اسلامی ایران

۳. مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و طب گرمسیری، پژوهشکده علوم سلولی و مولکولی در بیماری‌های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

۴. گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده علوم پزشکی خلخال، خلخال، ایران

\* نویسنده مسئول. - لیلی محمدی: تلفن: ۰۵۴۳۳۷۲۱۵۱، فکس: ۰۵۴۳۳۷۲۱۵۵، ایمیل: lailimohamadi@gmail.com

- عبدالله درگاهی: تلفن: ۰۹۱۴۱۵۹۷۶۰۷، فکس: ۰۴۵۳۲۴۳۲۰۰۲، ایمیل: a.dargahi29@yahoo.com

### چکیده

**زمینه و هدف:** بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره گیاهان دارویی از لحاظ کارایی در حذف یا کاهش باکتری‌های آب و فاضلاب دارای اهمیت می‌باشند. در واقع از عصاره گیاهی می‌توان بعنوان یک گندزدای طبیعی و مقرون به صرفه بهره برد. هدف از مطالعه حاضر بررسی تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) با تکیه بر عصاره های گیاهان دارویی آویشن (*Thymus vulgaris*) و استوخدوس بینالودی (*Nepeta binaloudensis*) بود.

**روش کار:** نوع مطالعه در این پژوهش تجربی و از نوع آزمایشگاهی بود، از نمونه های آب حاوی باکتری بعنوان جامعه مورد مطالعه استفاده گردید. برای انجام این پژوهش سه نوع عصاره اتانولی، کلروفرمی و اتیل استاتی مربوط به بخش های هوایی دو گیاه دارویی آویشن و استوخدوس بینالودی با استفاده از روتاری تهیه گردید و ۷ سویه باکتریایی استاندارد مرتبط با آب و فاضلاب، تحت بررسی قرار گرفت. برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) به روش میکرودايلوشن از پنج غلظت مختلف ۳، ۱، ۲/۵، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ پی پی ام بر روی باکتری‌ها استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS-16 و آزمون واریانس یک طرفه استفاده شد.

**یافته ها:** نتایج نشان داد که برای گیاه آویشن، کمترین غلظت مهارکنندگی و کمترین غلظت کشندگی مربوط به هر ۳ نوع عصاره می باشد، بطوریکه به ترتیب در غلظت های ۳/۱ ppm و ۶/۲۵ ppm باکتری های *Listeria monocytogenes* و *Shigella dysenteriae* مهار و حذف شدند. برای گیاه استوخدوس بینالودی کمترین غلظت مهارکنندگی و کمترین غلظت کشندگی مربوط به عصاره کلرفرمی و اتیل استات بود که به ترتیب در غلظت های ۳/۱ ppm و ۶/۲۵ ppm باکتری های *Shigella dysenteriae* و *E.coli* را مهار و حذف کردند. قابل ذکر است که عصاره اتانولی استوخدوس بینالودی هیچگونه تاثیری بر باکتری *Shigella dysenteriae* نداشت.

**نتیجه گیری:** این مطالعه نشان داد که گیاه آویشن پتانسیل بهتری برای خصوصیات آنتی باکتریایی و ضد عفونی کنندگی آب و فاضلاب دارد؛ بنابراین می‌توان برای مطالعات آتی از ترکیبات این گیاه برای طراحی یک عامل ضد میکروبی بعنوان جایگزین ضد عفونی کننده های شیمیایی استفاده کرد.

**واژه های کلیدی:** حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)، حداقل غلظت کشندگی (MBC)، آویشن، استوخدوس بینالودی

دریافت: ۱۴۰۲/۳/۲۸ پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۲۱

## مقدمه

امروزه پیدایش راهکاری برای گندزدایی و حذف باکتری‌های بیماری‌زای موجود در آب که دارای کمترین معایب و مضرات باشد به یکی از معضلات موجود در حوزه آب و فاضلاب تبدیل شده است. در حال حاضر برای تصفیه باکتریایی آب از روش‌های شیمیایی، ازن زنی، اشعه فرابنفش، فرایندهای غشایی و اکسیداسیون پیشرفته استفاده می‌شود (۱-۳)، که هر کدام به نحوی مضراتی برای بشر دارد. به عنوان نمونه کلرزنی روش قابل اطمینان، مرسوم و مقرون به صرفه‌ای است. اما مهمترین نگرانی کارشناسان و مصرف‌کنندگان از این ماده، تشکیل تری‌هالومتان‌ها و اثرات بهداشتی، مزه و بوی نامطبوع می‌باشد (۴). بدین ترتیب اکثر محققین به دنبال استفاده از روش تصفیه‌ای برای آب هستند که مخاطرات و فرآورده‌های جانبی مضر ایجاد نکند، در واقع یک گندزدای ایده‌آل بایستی ویژگی‌هایی از قبیل خاصیت ضد باکتریایی گسترده در دمای محیط و در زمان کوتاه، عدم تولید محصولات جانبی گندزدایی مضر برای سلامتی در طی استفاده و بعد از استفاده، قیمت ارزان، ذخیره‌سازی و استفاده آسان، خلالت بالا در آب و عدم خورندگی داشته باشد (۵). با عنایت به موارد فوق، استفاده از عصاره گیاهی جهت تصفیه آب گزینه بهتری به شمار می‌رود. عصاره‌ها می‌توانند اکثر فواید یک گندزدای قوی از جمله تصفیه بدون عوارض جانبی، مقرون به صرفه بودن و... را داشته باشند. در واقع مهمترین عواملی که عصاره گیاهی را بعنوان گندزدا معرفی می‌کند وجود متابولیت‌های ثانویه است که قادرند خواص ضد میکروبی را بوجود آورند که از جمله این متابولیت‌های ثانویه میتوان به آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، ایزوفلاونوئیدها، تانن‌ها، گلیکوزیدها، تریپن‌ها و ترکیبات فنلی اشاره کرد (۶). در همین راستا مطالعه آدیو<sup>۱</sup> و همکاران نشان داد که

حضور متنوع آلکالوئیدها، ساپونین‌ها، تانن‌ها، فلاونوئیدها، تریپنوئیدها و آنتراکوئینون‌ها می‌توانند در برابر آلاینده‌های میکروبی آب موثر باشند (۷). اوزکان<sup>۲</sup> و همکاران مشخص نمودند که عصاره‌های آزمایش‌شده Hypericum این قابلیت را دارند تا بتوان از آنها یک ماده ضد میکروبی طبیعی در برابر عفونت‌ها یا بیماری‌های ناشی از باکتری‌های *S. aureus* و *S. epidermidis* بدست آورد (۸). دوهری<sup>۳</sup> و همکاران در تحقیقی مشخص نمودند که عصاره اتانولی برگ گیاه *Origanum elongatum* در برابر باکتری *E. coli* موجود در چشمه‌های آب گرم، موثر می‌باشد (۹). همچنین در مطالعه کیروی<sup>۴</sup> و همکاران مشخص شد که عصاره گیاه *Albizia anthelmintica* به میزان ۹۹/۸۶ درصد در کاهش تعداد کلنی‌های باکتری آب تاثیر گذار هستند (۱۰). لذا در این تحقیق به بررسی خاصیت گندزدایی آب حاوی باکتری توسط عصاره گیاه دارویی آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) و استوخدوس بینالودی (*Nepeta binaloudensis*) پرداخته شد. به طور کلی آویشن یکی از با ارزش‌ترین گیاهان دارویی ایران و استان خراسان رضوی است، ترکیبات فنلی آن از جمله مهمترین فرآورده‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که در صنعت داروسازی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۱). گیاه استوخدوس بینالودی گیاه بومی کمیابی است که در رشته‌کوه‌های بینالود واقع در استان خراسان رضوی پراکنده شده‌اند. این گیاه در طب سنتی کشور بعنوان ضد اسپاسم، انرژی‌زا، تب‌بر و آرام‌بخش مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۲) در همین راستا به بررسی و ارزیابی کارایی عصاره‌های اتانولی، کلرفرمی و اتیل استات گیاه دارویی آویشن باغی و استوخدوس بینالودی و تاثیر آنها بر روی ۷ باکتری استاندارد شاخص آب نظیر اشرشیاکولی

<sup>2</sup> Ozkan<sup>3</sup> Douhri<sup>4</sup> Kirui<sup>1</sup> Adeeyo

### سویه‌های باکتریایی و شرایط کشت

سویه‌های باکتری شامل: اشرشیاکلا، استافیلوکوکوس اورئوس، شیکلا، ویبریوکلرا، سودوموناس آئروژینوزا، باسیلوس سرئوس و لیستریا مونوسیترنز روی محیط کشت نوترینت آگار تکثیر و تا زمان استفاده در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. به منظور تهیه سوسپانسیون باکتریایی از کشت تازه و جوان باکتری، چند کلنی به محیط کشت مولر هینتون براث منتقل گردید. جهت یکسان نمودن کدورت سوسپانسیون میکروبی تهیه شده مطابق با لوله شماره ۰/۵ استاندارد مک فارلند (کدورت معادل  $10^8 \times 1/5$  باکتری در هر میلی‌لیتر)، جذب نوری در طول موج ۶۳۰ نانومتر در محدوده ۰/۸ تا ۰/۱ تنظیم گردید. برای رسیدن به غلظت  $10^7 \times 1/5$  باکتری در هر میلی‌لیتر، سوسپانسیون باکتریایی با کدورت ۰/۵ مک فارلند به نسبت ۰/۱ رقیق شد.

### آزمون ضد میکروبی باکتری‌های بیماری‌زا نسبت به عصاره گیاهان

حساسیت باکتری‌های استاندارد نسبت به عصاره‌های گیاهان با استفاده از روش رقت سازی در چاهک انجام شد. به هر چاهک مقدار ۱۰۰ میکرولیتر آب اضافه شد. به چاهک اول ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول رقیق شده عصاره اضافه گردید و پس از مخلوط کردن، ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک اول برداشته به چاهک دوم اضافه شد و بدین ترتیب تا آخرین چاهک این کار انجام شد. از چاهک آخر ۱۰۰ میکرولیتر خارج کرده و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی حاوی  $10^7$  واحد در میلی‌لیتر معادل ۰/۵ مک فارلند اضافه گردید و در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. اولین لوله‌ای که از رشد باکتری پس از قرار دادن در انکوباتور جلوگیری کرد به عنوان MIC (حداقل غلظتی که باعث مهار رشد باکتری) در نظر گرفته شد و برای اطمینان از چاهک‌های شفاف ۱۰ میکرولیتر برداشته به محیط

(*Escherichia coli*)، استافیلوکوکوس ارئوس (*Staphylococcus aureus*)، ویبریوکلرا (*Vibrio cholera*)، شیکلا (*Shigella*)، سودوموناس آئروژینوزا (*Pseudomonas aeruginosa*)، باسیلوس سرئوس (*Bacillus cereus*) و لیستریا مونوسیترنز (*Listeria monocytogenes*) پرداخته شد تا تاثیر رقت‌های مختلف عصاره این گیاهان در تصفیه و گندزدایی آب حاوی باکتری و مهار و حذف باکتری‌ها توسط غلظت‌های مختلف عصاره گونه‌های گیاهی مورد مطالعه که در تصفیه فاضلاب مفید هستند مشخص گردد.

### روش کار

#### تهیه نمونه

گیاه آویشن و استوخدوس بینالودی مورد استفاده در این تحقیق از کوه‌های بینالود واقع در استان خراسان رضوی جمع‌آوری شد. پس از شناسایی و جمع‌آوری، قسمت‌های هوایی گیاهان در شرایط مناسب و در سایه خشک گردیده و جهت تهیه عصاره با آسیاب خرد شدند.

#### تهیه عصاره

پودر گیاه آویشن و استوخدوس بینالودی توسط ترازوی دیجیتال به میزان پنجاه گرم توزین گردید و پودر آن درون ارلن قرار گرفت و به آنها حلال‌های اتانول هفتاد درصد، کلرفرم و اتیل استات به صورت جداگانه افزوده شد. سپس ارلن بر روی دستگاه شیکر با نود دور در دقیقه قرار گرفت. بعد از اینکه حلال و گیاه همگن شدند محلول حاصله توسط کاغذ صافی صاف گردید. سپس محلول صاف شده در دستگاه روتاری قرار گرفت تا حلال از عصاره جدا شود. عصاره خالص به دست آمده در ویال‌های استریل جهت انجام آزمایشات میکروبی در یخچال نگه داری شد.

مولر هینتون آگار منتقل کرده و پس از ۲۴ ساعت اولین رفتی که توانسته ۹۹/۹ درصد باکتری را از بین ببرد به عنوان حداقل غلظت کشنده (MBC) تعیین شد (۱۳).

**نوع مطالعه، جامعه آماری و تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها**

نوع مطالعه در این پژوهش تجربی یا مداخله‌ای و از نوع آزمایشگاهی بود. از نمونه‌های آب حاوی باکتری بعنوان جامعه مورد مطالعه استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS-16 و آزمون

واریانس یک طرفه استفاده شد. مقایسه ی میانگین نیز با آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ انجام گرفت. تمامی آزمایشات در ۳ تکرار انجام شد.

**یافته ها**

نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از هر یک از حلال‌های اتانول، کلروفرم و اتیل استات جهت استخراج عصاره گیاهان آویشن و استوخدوس بینالودی می‌تواند نتایج MIC (حداقل غلظت بازدارندگی) و MBC (حداقل غلظت کشندگی) متفاوتی ایجاد کند.

جدول ۱- حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره‌های متنوع گیاه آویشن (PPM)

عصاره (MIC-MBC)	اتانولی	کلروفرمی	اتیل استات
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	۶/۲۵-۱۲/۵	۱۲/۵-۲۵	۶/۲۵-۱۲/۵
<i>Shigella dysenteriae</i> ATCC1188	۶/۲۵-۱۲/۵	۳/۱-۶/۲۵	۳/۱-۶/۲۵
<i>E.coli</i> ATCC 25922	۶/۲۵-۱۲/۵	۶/۲۵-۱۲/۵	۶/۲۵-۱۲/۵
<i>Bacillus cereus</i> ATCC1015	۶/۲۵-۱۲/۵	۶/۲۵-۱۲/۵	۶/۲۵-۱۲/۵
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC1189	۵۰-۱۲/۵	۶/۲۵-۱۲/۵	۶/۲۵-۱۲/۵
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC1298	۳/۱-۶/۲۵	۳/۱-۶/۲۵	۳/۱-۶/۲۵
<i>Vibrio cholera</i> ATCC1611	۶/۲۵-۱۲/۵	۶/۲۵-۱۲/۵	۶/۲۵-۱۲/۵

جدول ۲. حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره‌های متنوع گیاه استوخدوس بینالودی (PPM)

عصاره (MIC-MBC)	اتانولی	کلروفرمی	اتیل استات
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	۱۲/۵-۲۵	۶/۲۵-۱۲/۵	۶/۲۵-۱۲/۵
<i>Shigella dysenteriae</i> ATCC1188	عدم رشد	۳/۱-۶/۲۵	۳/۱-۶/۲۵
<i>E.coli</i> ATCC 25922	۱۲/۵-۲۵	۱۲/۵-۲۵	۳/۱-۶/۲۵
<i>Bacillus cereus</i> ATCC1015	۱۲/۵-۲۵	۱۲/۵-۲۵	۶/۲۵-۱۲/۵
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC1189	۲۵-۵۰	۱۲/۵-۲۵	۶/۲۵-۱۲/۵
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC1298	۲۵-۵۰	۲۵-۵۰	۱۲/۵-۲۵
<i>Vibrio cholera</i> ATCC1611	۱۲/۵-۲۵	۱۲/۵-۲۵	۱۲/۵-۲۵

**بحث**

در این مطالعه مهار و یا حذف ۷ نوع باکتری استاندارد مرتبط با آب و فاضلاب مورد بررسی دقیق قرار گرفت. بطوری که از ۳ نوع حلال اتانول، کلروفرم و اتیل استات برای استخراج عصاره گیاهان دارویی آویشن و استوخدوس بینالودی استفاده گردید و نتایج

هر کدام از عصاره‌ها در میزان حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی مورد ارزیابی قرار گرفت. در این تحقیق حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) برای گیاه آویشن مربوط به هر ۳ نوع عصاره مورد تحقیق در این مطالعه بود. بطوری که در غلظت ۳/۱ppm، باکتری‌های *Listeria monocytogenes* و

حساس بودند (۱۶). بختیاری و همکاران مشخص نمودند که حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) برای اسانس و عصاره هیدروالکلی *Thymbra spicata* به ترتیب بین ۶۰-۷۰  $\mu\text{g/ml}$  و ۱۹-۵  $\text{mg/ml}$  در برابر باکتری‌های مورد آزمایش قرار گرفت و مشخص نمودند که از این گیاه می‌توان برای اهداف آنتی‌باکتریایی استفاده نمود (۱۷). همچنین در مطالعه ما بالاترین غلظت کشندگی برای عصاره اتانولی آویشن و عصاره‌های اتانولی و کلرفرمی استوخدوس بینالودی به میزان ۵۰ ppm بود که در این غلظت باکتری‌های *Staphylococcus aureus* و *Listeria monocytogenes* حذف شدند. همچنین کمترین غلظت کشندگی به میزان ۶/۲۵ ppm توسط هر سه نوع عصاره آویشن باکتری *Listeria monocytogenes* حذف گردید (جدول ۱). در همین غلظت باکتری *Shigella dysenteriae* توسط عصاره‌های کلرفرمی و اتیل استاتی از بین رفت. این عصاره‌ها در حالی است که در کمترین غلظت کشندگی برای عصاره‌های کلرفرمی و اتیل استاتی استوخدوس بینالودی، باکتری‌های *Shigella dysenteriae* و *E. coli* حذف گردیدند. اما عصاره اتانولی استوخدوس بینالودی علی‌رغم خواص مہاری و کشندگی علیه سایر باکتری‌های مورد پژوهش، هیچگونه تأثیری بر باکتری *Shigella dysenteriae* نداشت (جدول ۲). در همین راستا موسوی و همکاران مشخص نمودند که بالاترین غلظت کشندگی برای برگ *P. oleracea* ۴۰۰ ppm بود که *S. saprophyticus* در این سطح از دست رفت (۱۳). نوظهور و همکاران نتایج کارایی عصاره گیاهی *Malva sylvestris* L. را در برابر باکتری *E. coli*، میزان حداقل غلظت مہارکننده (MIC) را ۱۱/۵۶  $\text{mg/ml}$  حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) را ۲۱/۲۵  $\text{mg/ml}$  گزارش نمودند (۱۸) سربکاچا<sup>۳</sup> و همکاران نشان دادند که در بین تمام عصاره‌ها، عصاره اتانولی *Piper betle* Linn بیشترین

<sup>۳</sup> Srikacha

از طرفی بالاترین غلظت بازدارندگی مربوط به عصاره اتانولی و کلرفرمی بود که در غلظت ۱۲/۵ ppm سبب مہار باکتری *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* گردید (جدول ۱). در همین راستا مطالعه زارعی و همکاران مشخص نمود که عصاره‌های اتانولی و متانولی زرین گیاه و گال مازوج، خاصیت ضدباکتریایی علیه باکتری‌ها از خود نشان دادند بطوری‌که نتایج حاصل از حداقل غلظت مہارکنندگی (MIC) عصاره اتانولی و متانولی زرین گیاه و گال مازوج علیه باکتری‌های مختلف، به ترتیب ۱۲/۵ و ۱۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود (۱۴). اما برای عصاره‌های گیاه استوخدوس بینالودی مشخص شد که حداقل غلظت بازدارنده مربوط به عصاره‌های کلرفرمی و اتیل استات می‌باشد که در غلظت ۳/۱ ppm به ترتیب باکتری‌های *Shigella dysenteriae* و *E. coli* را مہار کرد. از طرفی بالاترین غلظت بازدارندگی مربوط به عصاره اتانولی و کلرفرمی بود که در غلظت ۲۵ ppm سبب مہار باکتری *Staphylococcus aureus* و *Listeria monocytogenes* گردید (جدول ۲). در بین نتایج مطالعه حاضر مشخص شد که عصاره اتیل استات آویشن مہارکننده موثرتری نسبت به سایر عصاره‌ها می‌باشد (جدول ۱). آناندا<sup>۱</sup> و همکاران نشان دادند که عصاره برگ Sambiloto در حداقل غلظت بازدارندگی ۱/۵۶ درصد و حداقل غلظت ضد باکتری ۲/۰۹ درصد دارای اثر ضد باکتریایی است (۱۵). کوزلوسکا<sup>۲</sup> و همکاران نشان دادند که اشرشیاکلی حساس‌ترین سویه به عصاره Lemon balm (MIC)، ۰/۱۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود، در حالی که سویه‌های *Acinetobacter baumannii* و *Bordetella bronchiseptica* به عصاره *G. urbanum* (MIC) ۰/۱۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر

<sup>۱</sup> Ananda<sup>۲</sup> Kozłowska

### نتیجه گیری

نتایج نهایی این پژوهش نشان داد که عصاره گیاهان آویشن و استخدوس بینالودی که با حلال‌های مختلفی استخراج گردید، خاصیت‌های ضد میکروبی بر روی انواع باکتری‌های بیماری‌زای آب و فاضلاب دارد. بطوری‌که عصاره گیاه آویشن برگرفته از هر ۳ نوع حلال اتانول، کلرفرم و اتیل استات توانست در غلظت ۳/۱ ppm باکتری‌های *Listeria monocytogenes* و *Shigella dysenteriae* را مهار کند. هر چند استفاده از عصاره‌های گیاهی بعنوان مهار و یا حذف کامل باکتریها از آب و فاضلاب مرسوم نیست، اما از یک طرف وجود معایب بسیار زیاد آنتی‌باکتریال‌ها و ضد عفونی‌کننده‌های شیمیایی و از طرف دیگر استفاده از این گیاهان بعنوان ترکیبات فاقد معایب و مضرات، سبب می‌شود که استفاده از ترکیبات طبیعی بعنوان ضد عفونی‌کننده‌های در دسترس، در اولویت قرار گیرد.

### محدودیت‌های پژوهش

هیچ‌گونه محدودیتی برای انجام و ارائه این پژوهش وجود نداشت.

### تشکر و قدردانی

این پژوهش با پشتیبانی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان (شماره گرنت: IR.ZAUMS.REC.1401,217) انجام شده است، بدین وسیله نویسندگان این مقاله از حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان در خصوص انجام این پژوهش تشکر می‌کنند.

فعالیت ضدباکتریایی را در برابر باکتری‌های گرم‌مثبت و منفی دارا می‌باشد. MIC و MBC عصاره اتانولی *Piper betle* Linn در برابر سالمونلا تیفی موریوم یکسان بود (۱۵۶۲/۵۰ میلی گرم در لیتر). در حالی که بالاترین MIC و MBC را در برابر سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب ۶۲۵۰ میلی گرم در لیتر و ۱۲۵۰۰ میلی گرم در لیتر نشان داد (۱۹). علیزاده و همکاران نشان دادند که عصاره اتانولی برگ *Avicenna marina* اثر ضد میکروبی قابل توجهی بر روی انتروباکتر آئروژنز و سالمونلا تیفی (باکتری‌های گرم منفی) و لیستریا مونوسیتوژنز، باسیلوس سرئوس و انتروکوکوس فکالیس (باکتری‌های گرم مثبت) دارد (۲۰) در تحقیق زارعی و همکاران بیشترین و کمترین فعالیت ضد میکروبی عصاره میوه بلوط در استافیلوکوکوس اورئوس (MIC = ۰/۱۵) میلی گرم در میلی‌لیتر و *MBC* = ۰/۳۱۳ میلی گرم در میلی‌لیتر) و (*E. coli* = MIC ۲/۵ میلی گرم در میلی‌لیتر و *MBC* = ۵ میلی گرم در میلی‌لیتر) مشاهده شد (۲۱). محمودی و همکاران نشان دادند که میزان MIC و MBC عصاره متانولی بر روی *Bacillus cereus*، *Staphylococcus aureus*، *E. coli* و *P. aeruginosa* به ترتیب ۱۵/۵-۶/۵، ۲۵-۱۵/۵، ۱۰۰-۵۰ و ۲۰۰-۱۰۰ میلی گرم در میلی‌لیتر می‌باشد (۲۲) در واقع آتوا<sup>۱</sup> و همکاران هم به این نتیجه رسیدند که عصاره‌های گیاهی و ادویه‌ها می‌توانند با موفقیت به عنوان ضد میکروب‌های طبیعی برای از بین بردن میکروب‌های منتقله از غذا و رشد پانوژن استفاده شوند (۲۳).

<sup>1</sup> Atwaa

### References

- 1- Rahmani A, Samarghandi M. Investigation of Coliform Removal from Drinking Water by Electrolysis. *Avicenna J Clin Med* 2008; 15(2):60-65.
- 2-Ada K, Ergene A, Tan S, Yalçın E. Adsorption of Remazol Brilliant Blue R using ZnO fine powder: Equilibrium, kinetic and thermodynamic modeling studies. *Journal of hazardous materials*. 2009;165(1-3):637-44.

- 3- Mosqueda-Jimenez D, Huck P. Fouling analysis of ultrafiltration and nanofiltration membranes. *Water Practice and Technology*. 2006;1(4): 1-12.
- 4- Gholami M, Nazari Sh, Yari A, Mohseni S, Matboo S. Removal of *E. coli* and *S. aureus* from polluted water using electrolysis method with Al-Fe electrodes. *Tehran University Medical Journal*, May 2017; Vol. 75( 2): 85-95.
- 5- Hu J, Chen G, Lo IM. Removal and recovery of Cr(VI) from wastewater by maghemite nanoparticles *Water Res*. 2005;39(18):4528-36.
- 6- Rouhi S, Ramazanzadeh R, Mohammadi SH, Abodollahi A, Shakib P, Mohammadi B, Ahmadi A. Antibacterial effects of *Artemisa aucheri* leaf and *Spirulina BlueGreen* algae aqueous and alcoholic extracts on the multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolated from the patients with pneumonia. *SJKU*. 2020;25(4):124-139.
- 7- Adeeyo AO, Odelade KA, Msagati TA, Odiyo JO. Antimicrobial potencies of selected native African herbs against water microbes. *Journal of King Saud University-Science*. 2020 Jun 1;32(4):2349-57.
- 8- Özkan E, Celik B, Mat A. Antimicrobial activities of five endemic *Hypericum* species from Anatolia compared with *Hypericum perforatum*. *J Res Pharm*. 2019; 23(1): 114-119.
- 9- Douhri H, Raissouni I, Amajoud N, Belmehdi O, Benchakhtir M, Tazi S, Abrini J and Douhri B. Antibacterial effect of ethanolic extracts of Moroccan plant against *Escherichia coli*. *J. Mater. Environ. Sci.*, 2017; 8 (12): 4408-4414.
- 10- Kirui JK, Kotut K, Okemo PO. Efficacy of aqueous plant extract in disinfecting water of different physicochemical properties. *Journal of Water and Health*. 2015 Sep 1;13(3):848-52.
- 11-Foroughi A. A review on medicinal plants; An emphasis on antimicrobial effects. *Veterinary Research & Biological Products*. 2022 Mar 21;35(1):2-17.
- 12- Sagharyan, M., Ganjeali, A. and Cheniany, M. Investigating the effect of antioxidant compounds and various concentrations of BAP and NAA on the improvement of *in vitro* stem and root formation of *Nepeta binaloudensis* Jamzad. – *Nova Biol. Reperta* 2019; 6: 198-205.
- 13- Mousavi SM, Bagheri GH and Saeidi S. Antibacterial Activities of the Hydroalcoholic Extract of *Portulaca oleracea* Leaves and Seeds in Sistan Region, Southeastern Iran. *Int J Infect*. 2015 April; 2(2): e23214.
- 14- Zarei-Yazdeli M, Seyed Ebrahimi SA, Alipanah H, Noori M. Evaluation of antibacterial activity of ethanolic and methanolic extracts of *Dracocephalum kotschy* and Mazouj galls. *Feyz* 2020; 24(3): 293-301
- 15- Ananda N, Soebagio<sup>2</sup>, Yogiartono R, Rachmadi P. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) And Minimum Bactericidal Concentration (MBC) Of Sambiloto Leaf Extract Against *Enterococcus Faecalis*. *Sys Rev Pharm* 2020;11(3):899-902.
- 16- Kozłowska M, Scibisz I, Przybył JL, Laudy AE, Majewska E, Tarnowska K, Małajowicz J, Ziarno M. Antioxidant and Antibacterial Activity of Extracts from Selected Plant Material. *Appl. Sci*. 2022, 12, 9871.
- 17- Bakhtiyari S, Sabzali S, Rostamzad A, Basati GH. Investigating antimicrobial activity of hydroalcoholic extract and essential oil of *Tymbra spicata* against some pathogenic bacteria. *J Bas Res Med Sci* 2014; 1(1):1-7.
- 18- Nozohour Y, Jalilzadeh GH. Antibacterial Activities of Ethanolic Extract of *Malva sylvestris* L. Against *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* Isolated from Diarrheic Lambs. *Iran J Med Microbiol*. 2021; 15(1): 121-129.
- 19- Srikacha N, Ratananikom K. Antibacterial activity of plant extracts in different solvents against pathogenic bacteria: An *in vitro* experiment. *J Acute Dis* 2020; 9(5): 223-226.
- 20- Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Shahidi F, Mohebbi M, Zanganeh H. Investigation of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of the Aqueous and Ethanolic *Avicennia Marina* Extracts on Gram Positive and Gram Negative Bacteria “*in Vitro*”. *Sadra Med Sci J* 2014; 2(2): 123-134.
- 21- Zarei M, Fadaei V, Mirzaei M. In Vitro Antimicrobial Activity of the Alcoholic Extract of *Quercus brantii* subsp. *persica*. *J Hum Environ Health Promot*. 2022; 8(1): 22-6.

- 22- Mahmoudi S, Nasiri R, Jafari Sales A. In-vitro antibacterial effects of methanolic extract of peppermint (*Mentha Piperita Lamiaceae*) on standard *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* strain. *Jorjani Biomedicine Journal*. 2019; 7(4): 4-10.
- 23- Atwaa ESH, Shahein MR, Radwan HA, Mohammed NS, Aloraini MA, Albezrah NKA, Alharbi MA, Sayed HH, Daoud MA, Elmahallawy EK. Antimicrobial Activity of Some Plant Extracts and Their Applications in Homemade Tomato Paste and Pasteurized Cow Milk as Natural Preservatives. *Fermentation* 2022, 8, 428.