مطالعه اثرات ضد میکروبی قطران دود پزشکی کلپوره (*Teucrium polium* L) بر میکروارگانیسم‌های غذازاد در شرایط آزمایشگاهی

پردیس نادری دهکردی [۱]، فرهنگ تیرگیر*[۱]، فاطمه ملک پور[۲]، علی کاظمی باباحیدری[۱]

۱. گروه شیمی، دانشکده فنی مهندسی و علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.
۲. گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

***نویسنده مسئول:** *Tirgir@iaushk.ac.ir*

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰ /۰۴/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۲۵

چکیده

استفاده از دودهای پزشکی در درمان بسیاری از بیماری‌ها ی ایجاد شده بوسیله باکتری‌ها در ایران رواج داشته است. هدف از این تحقیق، بررسی اثرات ضد میکروبی دود پزشکی کلپوره بر میکروارگانیسم‌های غذازاد در شرایط آزمایشگاهی بود. ترکیبات حاصل از حرارت غیرمستقیم کلپوره به صورت دو فاز مایع آلی ۱ و ۲ و عصاره گیاه نیز با استفاده از حلال اتانول استخراج شد. سپس اثرات ضد میکروبی دو فاز آلی ۱ و۲ بر علیه باکتری‌های *سودوموناس آئروژینوزا*، *کلبسیلا پنومونیه*، *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* با محاسبه حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) با استفاده از روش رقت لوله‌ای تعیین گردید. اختلاف آماری معنادار ($p<0/05$) بین اثرات ضد میکروبی فازهای آلی دود و عصاره کلپوره بر روی باکتری‌های تست شده دیده شد. فاز آلی ۱ دود در غلظت ppm ۲۰۰۰ بیشترین قطر هاله عدم رشد را بر باکتری‌های ارزیابی شده، داشت. فازهای آلی ارزیابی شده بیشترین اثرات ضد میکروبی را روی *استافیلوکوکوس اورئوس* داشتند. همچنین اثرات ضد میکروبی فازهای آلی کلپوره روی باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از گرم منفی بود. با توجه به ارزان، کم هزینه، پر بازده و ایمن بودن فرایند تولید دود از گیاه کلپوره و همچنین اثرات ضد میکروبی بالاتر آن نسبت به عصاره‌گیری، استفاده از فاز آلی ۱ حاصل از قطران دود گیاه کلپوره به منظور حذف باکتری های مضر و عامل فساد در محصولات غذایی و همچنین افزایش مدت زمان ماندگاری آن‌ها، پیشنهاد می‌شود.

واژگان کلیدی: دودهای پزشکی، کلپوره، ضد باکتری، عوامل فساد مواد غذایی.

مقدمه

در تمام دوران‌ها، بشر از دود گیاهان دارویی برای درمان بیماری‌ها استفاده کرده است. دود تولید شده از مواد طبیعی در بسیاری از فرهنگ‌ها مورد استفاده قرار گرفته است و پزشکان مشهور ایرانی از جمله ابوعلی سینا استفاده از آن‌ها را توصیه کرده‌اند Sharafkandi , (2005). بیشترین کاربرد دودهای پزشکی برای درمان بیماری‌های ریوی (۲۳/۵ درصد)، اختلالات عصبی (۲۱/۸ درصد) و در نهایت امراض پوستی (۸/۱ درصد) می‌باشد. کاربردهای دیگری از دودها وجود دارد که جنبه دارویی ندارند، اما برای سلامتی مفیدند و شامل دودهایی هستند که به عنوان نگه‌دارنده و یا دافع استفاده می‌شوند و یا دودهایی که جنبه تفریحی دارند (Mohagheghzadeh et al., 2006; Shekhar et al., 2007). استفاده از دودهای طبی با منشأ گیاهی برای درمان و سلامت، مزایای مهمی در مقایسه با دیگر روش‌های استفاده از اسانس و عصاره دارد. ازجمله این مزایا روش استخراج دود ارزان و ساده می‌باشد و دیگر اینکه روش مصرف آن برای اکثر مردم قابل قبول می‌باشد. بازده تولید دود نسبت به تولید اسانس، زیاد و از نظر اقتصادی مقرون به صرفه می-

باشد و هم‌چنین دود تولید شده دارای اندازه ذرات کوچکی در مقیاس میکروسکوپی بوده که این ویژگی باعث می‌شود که جذب ذرات فعال افزایش یافته و اثرگذاری آن روی میکروارگانیسم‌ها بیشتر گردد (Mohagheghzadeh et al., 2006; Shekhar et al., 2007; Bayne-Jones et al., 1964; Safarpoor et al., 2017). گزارشات اندکی در مورد ترکیب شیمیایی دودهای طبی در دسترس است. عمده ترکیبات شیمیایی مشخص شده در ذرات دود حاصل از مخروطیان، گونه‌هایی از خانواده‌ی گندم (Gramineae) و زیست توده‌هایی با منشأ حیوانی شامل مشتقات مونوساکاریدها، متوکسی فنول‌ها، دی ترپنوئیدها، تری ترپنوئیدها، فیتواسترول‌ها، استرول‌ها و مشتقات کیتین می‌باشند (کوچکی و همکاران، ۱۳۸۷). کلپوره یا مریم نخودی یا چز کوهی با نام علمی *Teucium polium* L گیاهی پایا از تیره نعناعیان (Lamiaceae) است. این گیاه دارای قسمت‌های چوبی شده در پایین و بسیار منشعب به ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر است. برگ‌های کشیده و باریک آن دارای کناره‌های چین خورده و دندانه‌دار است و تمام قسمت‌های آن پوشیده از کرک‌های بلند و سفید است. بنابراین این گیاه نقره‌ای رنگ به نظر می‌رسد (کوچکی و همکاران، ۱۳۸۷). این گیاه به وفور در نواحی مختلف ایران و به ویژه قسمت‌های نیمه خشک کوهستان‌ها و دشت‌ها یافت می‌شود. تاکنون تنها برخی از ترکیبات گیاه کلپوره که خاصیت ضد میکروبی دارند مشخص شده است. از جمله این ترکیبات می‌توان به تانن، ترپنوئید، ساپونین، فلاوونوئید، گلیکوزید-آلفا، استرول، لوکوآنتوسیانین، بتاکاریوفیلن، همولن، کاریوفیلن، همولن، کاریوفیلن اکساید، دی ترپنوئید، آسپاراژین، دیترین و مواد صمغی اشاره نمود (wassel and Ahmed, 1974; Autore et al.,1984; Shakhanbeh and Atrouse, 2001). استفاده سنتی مردم به طور تجربی از محصول گیاه کلپوره در درمان علامتی عفونت کاندیدای واژن التهاب‌ها، دیابت و روماتیسم دیده شده است (بنیادپور و همکاران، ۱۳۸۸). عصاره این گیاه دارای خواص کاهش فشار خون، ضد باکتری، ضد تب و ضد قارچی می‌باشد. در مطالعات مختلف از ترکیبات گیاه کلپوره در حالت‌های متفاوت (به غیر از دود) به صورت روغن، اسانس، عصاره آبی و اتانولی استفاده شده است (مقتدر و همکاران، ۱۳۹۲؛ مصدق و همکاران، ۱۳۸۱). یزدی و همکاران اقدام به مطالعه اثرات ضد میکروبی عصاره گیاه کلپوره روی ۶ میکروارگانیسم عفونی شامل *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استفیلوکوکوس اپیدرمیس*، *اشریشیا کلی*، *استرپتوکوکوس پایوژن* و *سودوموناس آئروژینوزا* نمودند. نتایج این مطالعه حاکی از تأثیر ضد باکتریایی عصاره اتانولی گیاه کلپوره روی گونه-های گرم مثبت و منفی بود (طباطبایی و همکاران، ۱۳۹۳).

نگرانی مصرف کنندگان در مورد مواد غذایی حاوی نگه دارنده‌های شیمیایی و تمایل آن‌ها به مصرف مواد غذایی با کیفیت بالا باعث شده است تا استفاده از گیاهان دارویی به لحاظ پایین بودن عوارض جانبی آن‌ها نسبت به داروهای شیمیایی در سال-های اخیر روند رو به رشدی پیدا کند (رییسی و همکاران، ۱۳۹۴؛ بخشی و میرزایی، ۱۳۹۴). عصاره‌های گیاهی منابع جدیدی از ترکیبات ضد باکتریایی در برابر باکتری‌های مقاوم به آنتی بیوتیک هستند و با مطالعات انجام شده به وجود برخی از ترکیبات ضد باکتریایی از جمله ترکیبات پلی فنولیک در عصاره-های گیاهی و ارتباط آن‌ها با خاصیت ضد میکروبی پی برده‌اند. باکتری‌های *اشریشیا کلی* تولید کننده شیگا توکسین، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *کلبسیلا پنومونیه* از جمله عوامل مهم ایجاد مسمومیت-های غذایی و همچنین بیماری‌های روده‌ای ناشی از مصرف غذا در انسان هستند (Dehkordi et al., 2014; Momtaz et al., 2013; Guo et al., 2016; Arslan et al., 2011; Sabota et al., 1998) و به مراتب از مواد غذایی مختلف جداسازی شده‌اند (Dehkordi et al., 2014; Momtaz et al., 2013; Guo et al., 2016; Arslan et al., 2011).

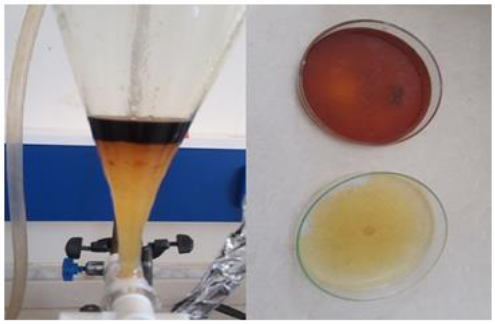
تحقیقات نشان داده است که این عوامل سالانه سبب به بار آمدن خسارات اقتصادی فراوان به بیماران مبتلا به مسمومیت‌های غذایی می‌شوند (Dehkordi et al., 2014; Momtaz et al., 2013; Guo et al., 2016; Arslan et al., 2011). تجویز بی رویه و غیر اصولی آنتی‌بیوتیک‌ها به منظور درمان بیماری‌های روده‌ای ایجاد شده توسط این عوامل باکتریایی غذازاد نیز سبب بروز مقاومت‌های شدید آنتی‌بیوتیکی شده است (Dehkordi et al., 2014; Momtaz et al., 2013; Guo et al., 2016; Arslan et al., 2011). بنابراین استفاده از عصاره‌های گیاهی به عنوان عوامل ضد میکروبی می‌تواند گامی موثر جهت کاهش بار آلودگی مواد غذایی به باکتری‌های غذازاد باشد. با توجه به فقدان مطالعات مشابه در این زمینه و اهمیت بالای استفاده از دودهای پزشکی، مطالعه حاضر به منظور ارزیابی اثرات ضد باکتریایی قطران پزشکی دود گیاه کلپوره جمع‌آوری شده با استفاده از دستگاه ابداعی نویسندگان پژوهش حاضر روی باکتری‌های *اشریشیا کلی* تولید کننده شیگا توکسین، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *کلبسیلا پنومونیه* انجام پذیرفت.

مواد و روش کار

جمع‌آوری گیاه، عصاره‌گیری و دودگیری

مطالعه حاضر در تابستان سال ۱۳۹۵ در مرکز تحقیقات میکروب شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انجام پذیرفت. ابتدا اندام هوایی گیاه کلپوره از منطقه حفاظت شده تنگ صیاد واقع در ۱۵ کیلومتری شهرکرد در استان چهارمحال و بختیاری (بین ۳۲۰۵ تا ۳۲۲۰ عرض شمالی و ۵۰۵۵ تا ۵۱۱۰ طول شرقی) جمع‌آوری شد. تشخیص گیاهان جمع‌آوری شده در گروه گیاهان دارویی و معطر دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد مورد تایید قرار گرفت.

عصاره گیاه کلپوره در حلال اتانول۹۶٪ (مرک، آلمان) به روش سوکسله (Quickfit, UK) استخراج و توسط دستگاه روتاری (RV8, IKA, Germany) تغلیظ گردید. ترکیبات حاصل از سوختن غیر مستقیم گیاه کلپوره تحت شرایط تقطیر در خلاء به قطران مایع تبدیل شده که ترکیبات حاصل از قطران دود کلپوره با توجه به قطبیت ترکیبات آلی استخراج شده در قیف جداکننده دستگاه به صورت دو فاز آلی ۱ و ۲ به دست آمد (شکل ۱). سپس ترکیبات هر فاز به صورت جداگانه جهت شناسایی توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی- طیف سنج جرمی مورد ارزیابی قرار گرفت.



شکل۱- فازهای آلی ۱ و ۲ استخراج شده از قطران دود کلپوره

خصوصیات دستگاه و روش کارGC/MS

اسانس گیاهان مورد نظر پس از آماده سازی، به دستگاه GC/MS تزریق گردیدند تا نوع ترکیبات تشکیل دهنده آن‌ها مشخص شود. دستگاه گاز کروماتوگرافی از نوع Agilent 7890با ستون به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. برنامه دمایی ستون به این نحو تنظیم گردید: دمای ابتدایی آون ۶۰ درجه سانتی گراد و توقف در این دما به مدت ۴ دقیقه، گرادیان حرارتی ۴ درجه سانتی گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲۲۰ درجه سانتی گراد با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲۸۰ درجه سانتی گراد و سه دقیقه توقف در این دما. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی گراد بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان (فلو) ۰/۸ میلی لیتر در دقیقه استفاده گردید.

آشکارساز مورد استفاده Mass بود. طیف نگار جرمی یا همان Mass مورد استفاده مدل5975 Agilent با ولتاژ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع

یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سلسیوس بود. شناسایی طیف ها به کمک شاخص بازداری آن‌ها و مقایسه آن با شاخص های موجود در کتب مرجع و مقالات و با استفاده از طیف های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری صورت گرفت.

مراحل و روش‌های آزمایشات میکروبی

تهیه سویه‌های میکروبی

تمام باکتری‌های مورد استفاده از سوش‌های استاندارد مواد غذایی انتخاب شدند. برای این تحقیق باکتری‌های *اشرشیا کلی* (ATCC 43895) (*Escherichia coli*)، *سودوموناس آئروژینوزا* (ATCC 101145) (*Pseudomonas aeruginosa*)، *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 25923) (*Staphylococcus aureus*)، *کلبسیلا پنومونیه* (PTCC 1290) (*Klebsilla ponomonie*) که با انجام کشت جداسازی، خالص‌سازی و از طریق PCR (Matercycler Gradient, Eppendorf, Germany) شناسایی شده بودند، مورد استفاده قرار گرفتند (سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی، ایران).

تهیه سوسپانسیون میکروبی

۲۴ ساعت قبل از انجام هر مرحله از آزمایش و با استفاده از محیط های کشت مبادرت به تهیه کشت ۲۴ ساعت شد. برای این منظور قبل از شروع تلقیح با استفاده از سواپ استریل، مقدار یک لوپ کلونی‌های سطح محیط کشت BHI به لوله حاوی نوترینت براث انتقال داده شد. سپس کدورت سوسپانسیون میکروبی تهیه شده با استفاده از محلول استاندارد ۱ مک فارلند بررسی شد. تعداد باکتری در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروبی 10^7 عدد باکتری بود (Vanden and velietinck, 1991).

تهیه محلول استاندارد ۱ مک فارلند

برای تهیه این محلول ابتدا ۰/۱ میلی‌لیتر محلول کلرید باریم ۱ درصد به ۹/۹ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۱ درصد اضافه و مخلوط شد. محلول به دست آمده دارای کدورت معینی بود. برای تعیین میزان کدورت محلول OD آن با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (شیمادزو، ژاپن) در طول موج ۶۰۰ قرائت شد Vanden and velietinck, (1991).

مطالعه اثرات ضد میکروبی

جهت بررسی اثرات ضد میکروبی قطران دود در فازهای آلی ۱ و ۲ و عصاره گیاه کلپوره از دو روش انتشار[1] و رقت[2] استفاده شد (Zampini et al., 2005). از میان روش‌های انتشار، روش دیسک پلیت[3] و از میان روش‌های رقت، از روش رقت لوله‌ای[4] استفاده گردید (Zampini et al., 2005).

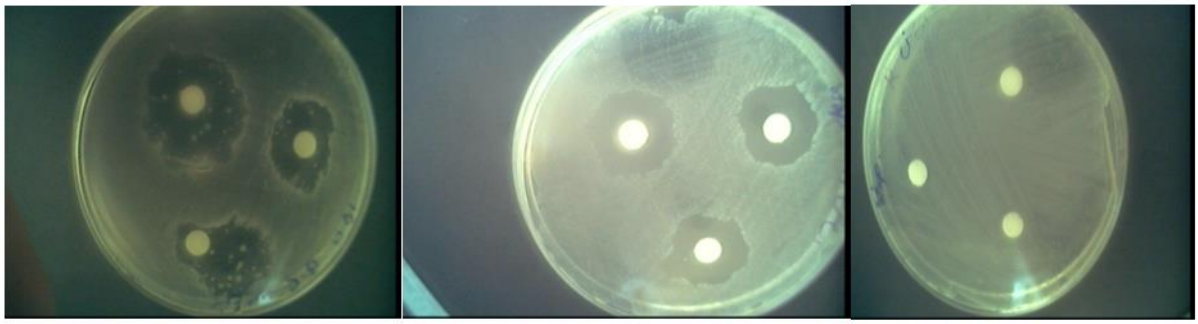
روش انتشار دیسک

برای این مرحله از آزمایش، پلیت‌های حاوی محیط کشت نوترینت آگار (مرک، آلمان) استفاده شد (Natarajan et al., 2005). برای کشت باکتری در محیط نوترینت آگار با استفاده از سمپلر (Eppendorf, Germany) از سوسپانسیون میکروبی به میزان ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و روی محیط جامدی که از قبل تهیه گردیده بود، ریخته شد. سپس با استفاده از پیپت پاستور استریل L شکل (مرک، آلمان)، مایع روی محیط پخش شد تا کل سطح محیط را بپوشاند. این کار برای همه پلیت‌ها به صورت یکسان انجام گرفت.

پس از آن با استفاده از پنس استریل داخل هر پلیت سه دیسک آنتی بیوگرام خالی به صورت مثلثی گذاشته شد که یکی از آن‌ها دیسک آزمون و دوتای دیگر مربوط به دیسک‌های تکرار بودند. سپس پلیت‌ها علامت گذاری شد و هر پلیت به عصاره یا فاز آلی گیاه اختصاص داده شد. سپس از غلظت‌های مختلف عصاره و فازهای آلی ۱ و ۲ گیاه مقدار ۲۰ میکرولیتر به دیسک‌های اختصاص یافته، اضافه شد. سپس پلیت‌ها با نوار پارا فیلم بسته و به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرم خانه‌گذاری شد و بعد از مدت مقرر قطر هاله‌های تشکیل شده اطراف هر دیسک در هر پلیت با کولیس مورد

[1] Diffusion test
[2] Dilution test
[3] Disc Diffusions method
[4] Serial dilution

سنجش قرار گرفت (شکل ۲) و نتایج به دست آمده با توجه به دستورالعمل انستیتو استاندارد آزمایشکاهی و بالینی (CLSI) تفسیر شد (CLSI, 2015).



شکل ۲- قطر هاله‌های تشکیل شده اطراف هر دیسک در هر پلیت

روش رقت لوله‌ای

روش رقت‌سازی لوله‌ای به منظور تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی ماده ضد میکروبی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی ماده ضد میکروبی (MBC) استفاده شد (Zampini et al., 2005). MBC حداقل غلظتی است که توانایی کشتن ۹۹/۹ درصد از میکروارگانیسم‌ها را دارد. به همین منظور برای ترکیبات قطران دود در فازهای آلی ۱ و ۲ و عصاره گیاه کلپوره یک سری ۷ تایی از لوله‌های آزمایش استفاده شد که هر لوله حاوی ۵ میلی لیتر محیط کشت نوترینت براث بود. ۵ عدد از این لوله‌ها برای رقت-های مختلف ترکیبات قطران دود در فازهای آلی ۱ و ۲، یک لوله به عنوان شاهد مثبت و یک لوله به عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شد. سپس در زیر هود میکروبی (شیماز، ایران) و در کنار شعله به هر سری ۷ تایی از لوله-ها مقدار ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی که قبلاً تهیه گردیده و حاوی 10^7 باکتری در هر میلی‌لیتر بود، اضافه گردید. سپس فازهای آلی ۱ و ۲ دود گیاه کلپوره نیز با غلظت ۲۰۰۰µg/ml به لوله شماره یک، غلظت ۱۰۰۰ µg/ml به لوله شماره دو، غلظت ۵۰۰ µg/ml به لوله شماره سه و به همین ترتیب تا لوله شماره پنج به وسیله سمپلر اضافه گردید. لوله شماره شش به عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شد و حاوی هیچ میزانی از فاز-های آلی ۱ و ۲ نبود. در این مطالعه از آنتی‌بیوتیک ونکومایسین (Oxoid, UK) به عنوان شاهد استفاده شد. لوله شماره هفت به عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شد و فاقد ترکیبات حاصل از دود گیاه و آنتی‌بیوتیک بود. لازم به ذکر است که از هر غلظت عصاره و دود (فازهای آلی ۱ و ۲) به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به لوله‌ها اضافه شد. پس از انجام مراحل فوق، لوله‌ها برای مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس گرم خانه گذاری شدند. سپس کدورت ناشی از رشد باکتری‌های تلقیح شده در هر کدام از لوله‌های مورد آزمایش، بررسی شد. برای این منظور، از روش تعیین OD_{600} با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. تمامی آزمایشات با ۳ بار تکرار انجام شد. در نهایت درصد ممانعت از رشد باکتری‌ها برای هر عصاره و فاز آلی دود با استفاده از معادله زیر تعیین شد (Zampini et al., 2005). زمانی که حاصل معادله بیشتر یا مساوی ۵۰ باشد، لوله مورد آزمایش به عنوان MIC و زمانی که حاصل معادله بیشتر یا مساوی ۹۹ باشد، لوله مورد آزمایش به عنوان MBC در نظر گرفته شد.

$$Inhibition 100\% = \frac{(OD_c - OD_t)}{OD_c} \times 100$$

OD_C: OD گروه کنترل است.

ODT: OD لوله مورد بررسی است.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه بار تکرار انجام پذیرفت. داده‌های

حاصل از این پژوهش با استفاده از نرم افزار آماری SPSS.Ver 20 و Minitab.Ver 17 تجزیه و تحلیل شد و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد انجام شد.

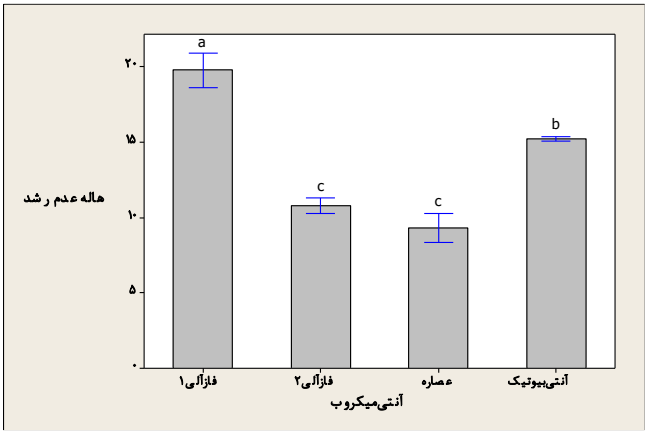
نتایج

در این تحقیق در ابتدا جهت شناسایی ترکیبات موجود در دود کلپوره با دستگاه ابداعی تحت شرایط تقطیر در خلأ، دود حاصل از سوخت غیر مستقیم (حرارت دادن ظرف حاوی گیاه کلپوره) به صورت دو فاز آلی ۱ و ۲ با قطبیت متفاوت جداسازی شد و ترکیبات هر دو فاز توسط تکنیک گاز کروماتوگرافی- طیف سنج جرمی و با استفاده از شاخص بازداری کواتز و زمان بازدارای مورد شناسایی قرار گرفت و سپس با کتابخانه شناسایی ترکیبات دستگاه گاز کروماتوگرافی- طیف سنج جرمی مورد تأیید قرار گرفت. در فاز آلی ۱ ترکیبات مزیتلین، گوایکول، منتا ۱و۱و۸ دی ان، الفا پینن، ترپینولن و اسیمون مورد شناسایی قرار گرفت. در فاز آلی ۲ ترکیبات اتیل پروپن، بنزآلدئید، ایزوفورون، ایزوبورنئول مورد شناسایی قرار گرفت. مقایسه ترکیبات فازهای آلی ۱ و ۲ نشان از حضور ترکیبات گوایکول از خانواده متوکسی فنل با خاصیت ضد باکتریایی بالا در فاز آلی ۱ بود. تمام خصوصیات ضد باکتریایی ترکیات فاز های آلی ۱ و ۲ مورد ارزیابی قرار گرفت. در این راستا از آنتی‌بیوتیک‌ها به عنوان شاهد جهت مقایسه خاصیت ضد باکتریایی ترکیبات حاصل از دود استفاده شد.

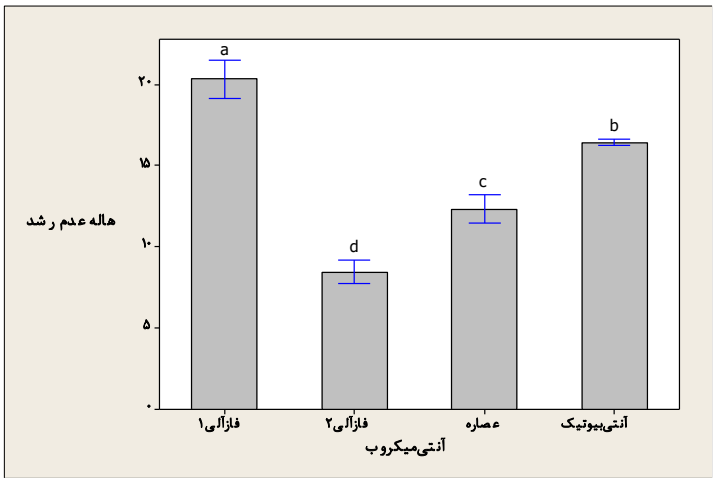
اثر تیمارهای مختلف بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*

شکل ۳ اثر تیمارهای مختلف گیاه گلپوره روی قطر هاله عدم رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* را نمایش می دهد. نتایج نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنادار بین اثرات ضد میکروبی تیمارهای مختلف گیاه کلپوره بود. بیشترین قطر هاله عدم رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* متعلق به فاز آلی ۱ بود و بین عصاره و فاز آلی ۲ اختلاف معناداری دیده نشد. اثر تیمارهای ضد میکروبی بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *کلبسیلا پنومونیه*

شکل ۴ اثر تیمارهای مختلف گیاه گلپوره روی قطر هاله عدم رشد باکتری *کلبسیلا پنومونیه* را نمایش می دهد. نتایج نشان داد که بین اثرات ضد میکروبی تیمارهای مختلف گیاه کلپوره اختلاف آماری معناداری وجود دارد. بیشترین قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *کلبسیلا پنومونیه* متعلق به فاز آلی ۱ و کمترین قطر هاله عدم رشد مربوط به فاز آلی ۲ بود.



شکل ۳-اثر تیمارهای ضد میکروبی بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*. حروف غیر مشابه بالای هر ستون نشان دهنده اختلاف معنادار آماری در حد $p<$ ۰/۰۵ می‌باشند.



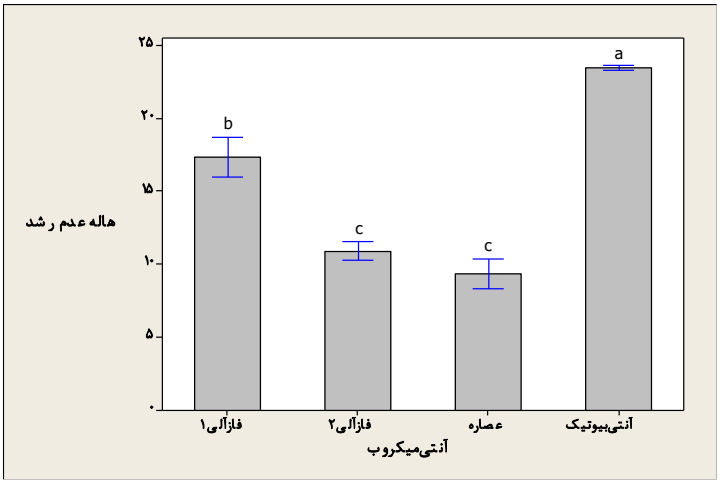
شکل ۴- اثر تیمارهای ضد میکروبی بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *کلبسیلا پنومونیه*. حروف غیر مشابه بالای هر ستون نشان دهنده اختلاف معنادار آماری در حد $p<$ ۰/۰۵ می باشند.

اثر تیمارهای ضدمیکروبی بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *اشریشیا کلی*

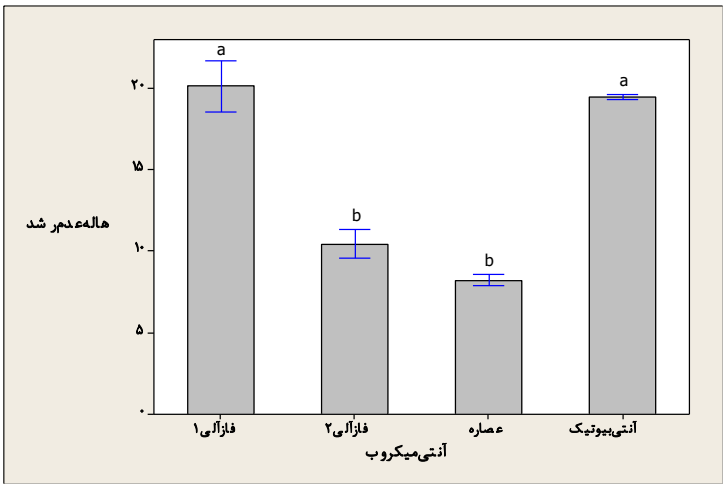
شکل ۵ اثر تیمارهای مختلف گیاه گلپوره روی قطر هاله عدم رشد باکتری *اشریشیا کلی* را نمایش می‌دهد. نتایج نشان داد که بین اثرات ضد میکروبی تیمارهای مختلف گیاه کلپوره اختلاف آماری معناداری وجود دارد. بیشترین قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *اشریشیا کلی* در حضور دیسک آنتی‌بیوتیک بود. همچنین نتایج حاکی از تأثیر معنی‌دار ترکیبات فاز آلی ۱ روی هاله عدم رشد باکتری *اشریشیا کلی* در مقایسه با عصاره و فاز آلی ۲ بود.

اثر تیمارهای ضد میکروبی بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *سودوموناس آئروژینوزا*

شکل ۶ اثر تیمارهای مختلف گیاه گلپوره روی قطر هاله عدم رشد باکتری *سودوموناس ائروژینوزا* را نمایش می‌دهد. نتایج نشان داد که بین اثرات ضد میکروبی تیمارهای مختلف گیاه کلپوره اختلاف آماری معناداری وجود دارد. بیشترین قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* مربوط به فاز آلی ۱ بود و بین تیمار عصاره و فاز آلی ۲ اختلاف معناداری وجود نداشت.



شکل ۵-اثر تیمارهای ضد میکروبی بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *اشریشیا کلی*. حروف غیر مشابه بالای هر ستون نشان دهنده اختلاف معنادار آماری در حد $p<$ ۰/۰۵ می‌باشند.



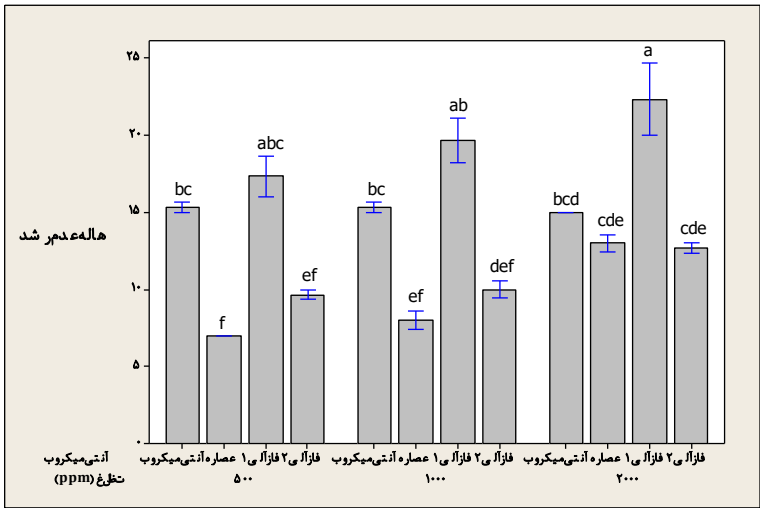
شکل ۶- اثر تیمارهای ضد میکروبی بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *سودوموناس آئروژینوزا*. حروف غیر مشابه بالای هر ستون نشان دهنده اختلاف معنادار آماری در حد $p< ۰/۰۵$ می‌باشند.

اثر تیمارهای ضد میکروبی با غلظت‌های مختلف بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*

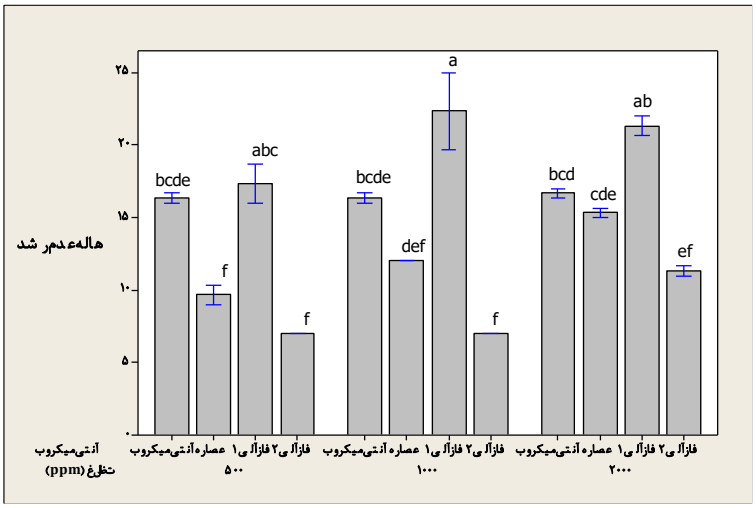
شکل ۷ اثر تیمارهای ضد میکروبی با غلظت‌های مختلف بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* را نمایش می‌دهد. نتایج نشان داد که بین اثرات ضد میکروبی غلظت‌های مختلف تیمارهای گیاه کلپوره روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* اختلاف آماری معناداری وجود دارد. فاز آلی ۱ در غلظت ppm ۲۰۰۰ بیشترین میزان قطر هاله ممانعت از رشد و تیمار عصاره در غلظت ppm ۵۰۰ کمترین میزان قطر هاله ممانعت از رشد را داشتند.

اثر تیمارهای ضد میکروبی با غلظت‌های مختلف بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *کلبسیلا پنومونیه*

شکل ۸ اثر تیمارهای ضد میکروبی با غلظت‌های مختلف بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *کلبسیلا پنومونیه* را نمایش می‌دهد. نتایج نشان داد که بین اثرات ضد میکروبی غلظت‌های مختلف تیمارهای گیاه کلپوره روی باکتری *کلبسیلا پنومونیه* اختلاف آماری معناداری وجود دارد. فاز آلی ۱ در غلظت ppm ۱۰۰۰ بیشترین میزان هاله عدم رشد و فاز آلی ۲ در غلظت ppm ۵۰۰ و ۱۰۰۰ کمترین میزان قطر هاله ممانعت از رشد را داشتند.



شکل ۷- اثر تیمارهای ضد میکروبی با غلظت‌های مختلف بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*. حروف غیر مشابه بالای هر ستون نشان دهنده اختلاف معنادار آماری در حد $p< ۰/۰۵$ می‌باشند.



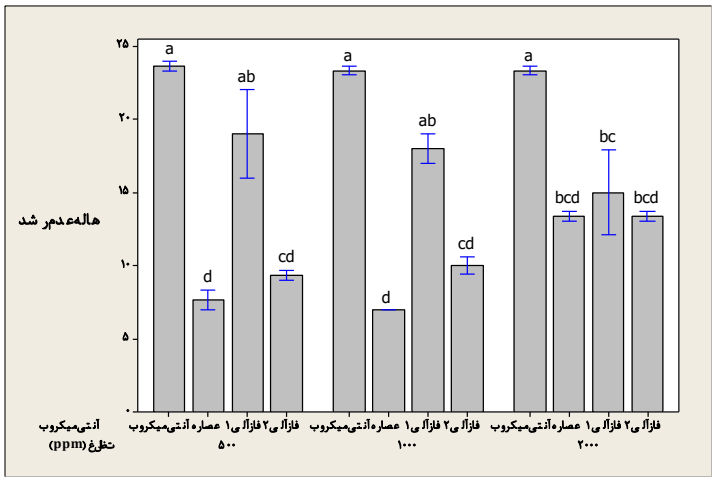
شکل ۸- اثر تیمارهای ضد میکروبی با غلظت‌های مختلف بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *کلبسیلا پنومونیه*. حروف غیر مشابه بالای هر ستون نشان دهنده اختلاف معنادار آماری در حد $p< ۰/۰۵$ می‌باشند.

اثر تیمارهای ضد میکروبی با غلظت‌های مختلف بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *اشریشیا کلی*

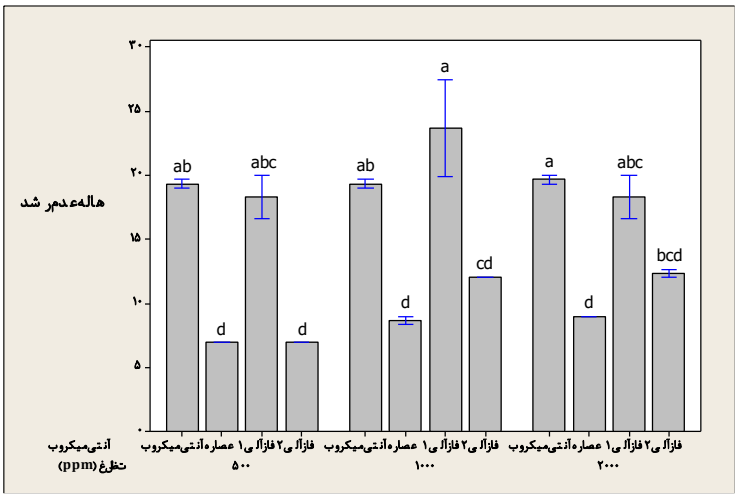
شکل ۹ اثر تیمارهای ضد میکروبی با غلظت‌های مختلف بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *اشریشیا کلی* را نمایش می‌دهد. نتایج نشان داد که بین اثرات ضد میکروبی غلظت‌های مختلف تیمارهای گیاه کلپوره روی باکتری *اشریشیا کلی* اختلاف آماری معناداری وجود دارد. آنتی‌بیوتیک در غلظت های ppm ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ بیشترین قطر هاله ممانعت از رشد و عصاره در غلظت ppm ۱۰۰۰ کمترین قطر هاله ممانعت از رشد را داشتند.

اثر تیمارهای ضد میکروبی با غلظت‌های مختلف بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *سودوموناس آئرونژینوزا*

شکل ۱۰ اثر تیمارهای ضد میکروبی با غلظت های مختلف بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *سودوموناس ائروژینوزا* را نمایش می‌دهد. نتایج نشان داد که بین اثرات ضد میکروبی غلظت‌های مختلف تیمارهای گیاه کلپوره روی باکتری *سودوموناس ائروژینوزا* اختلاف آماری معناداری وجود دارد. فاز آلی ۱ در غلظت ppm ۱۰۰۰ بیشترین میزان قطر هاله ممانعت از رشد و عصاره و فاز آلی ۲ در غلظت ppm ۵۰۰ کمترین میزان هاله عدم رشد را داشتند.



شکل ۹- ثر تیمارهای ضد میکروبی با غلظت‌های مختلف بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *اشریشیا کلی*. حروف غیر مشابه بالای هر ستون نشان دهنده اختلاف معنادار آماری در حد $p< ۰/۰۵$ می‌باشند.



شکل ۱۰- اثر تیمارهای ضد میکروبی با غلظت های مختلف بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *سودوموناس آئرونژینوزا*. حروف غیر مشابه بالای هر ستون نشان دهنده اختلاف معنادار آماری در حد $p<$ ۰/۰۵ می‌باشند.

تعیین MBC و MIC

جدول ۱ نتایج مربوط به MIC و MBC باکتری‌های مختلف را در برابر فاز آلی ۱ دود گیاه کلپوره نمایش می‌دهد. فاز آلی ۱ در غلظت ppm ۲۰۰۰ باعث مهار رشد بیش از ۹۹ درصد از باکتری‌های *سودوموناس آئروژینوزا* ، *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* و همچنین مهار رشد بیش از ۵۰ درصد از باکتری *کلبسیلا پنومونیه* شد.

جدول ۲ نتایج مربوط به MIC و MBC باکتری‌های مختلف را در برابر فاز آلی ۲ دود گیاه کلپوره نمایش می‌دهد. فاز آلی ۲ در غلظت ppm ۲۰۰۰ تنها باعث مهار رشد بیش از ۹۹ درصد از باکتری‌های *اشریشیا کلی* و همچنین مهار رشد ۵۰ درصد از باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *کلبسیلا پنومونیه* و *سودوموناس آئروژینوزا* شد.

جدول۱- میزان MIC و MBC باکتری‌های مختلف برای فازآلی۱ دود گیاه کلپوره.

باکتری‌ها	غلظت‌های فاز آلی ۱ دود گیاه کلپوره (ppm)				
	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۲۰۰۰
سودوموناس آئروژینوزا	رشد	رشد	رشد	MIC	MBC
اشریشیا کلی	رشد	رشد	رشد	MIC	MBC
کلبسیلا پنومونیه	MIC	MIC	MIC	MIC	MIC
استافیلوکوکوس اورئوس	رشد	رشد	رشد	MIC	MBC

جدول۲- میزان MIC و MBC باکتری‌های مختلف برای فازآلی۲ دود گیاه کلپوره.

باکتری‌ها	غلظت‌های فاز آلی ۲ دود گیاه کلپوره (ppm)				
	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۲۰۰۰
سودوموناس آئروژینوزا	رشد	رشد	رشد	رشد	MIC

اشریشیا کلی	رشد	رشد	رشد	MIC	MBC
کلبسیلا پنومونیه	MIC	MIC	رشد	MIC	MIC
استافیلوکوکوس اورئوس	رشد	رشد	رشد	رشد	MIC

بحث

دود حاصل از حرارت دادن کلپوره بر اساس قطبیت ترکیبات در قیف جدا کننده دستگاه ابداعی به دو فاز آلی ۱ و ۲ جداسازی شد. بیشترین ترکیبات موجود در فاز آلی ۱ دود از خانواده متوکسی فنل‌ها شامل ترکیب گوایکول بودند که این ترکیبات دارای خاصیت ضد میکروبی فراوانی می‌باشند. نتایج حاصل از بررسی اثرات ضد باکتریایی دود کلپوره در این پژوهش نشان داد که ترکیبات فاز آلی ۱ دود کلپوره به صورت قابل توجهی روی باکتری گرم مثبت و خصوصاً *استافیلوکوکوس اورئوس* اثر مهاری دارند که احتمالاً حساسیت میکروارگانیسم‌های گوناگون به مواد ضد میکروبی به علت ساختار فنلی که دارای گروه عاملی هیدروکسی است، می‌باشد که به راحتی می‌توانند با غشایی میکروارگانیسم‌ها بر همکنش کرده و باعث سوراخ شدن جدار لیپیدی غشای باکتری و در نهایت خارج شدن محتویات سلولی و در نهایت مرگ میکروارگانیسم‌ها شود. در این پژوهش باکتری‌های گرم مثبت حساسیت بیشتری نسبت به باکتری‌های گرم منفی داشتند که به دلیل تفاوت در ساختار دیواره سلولی آنهاست. بالاتر بودن میزان پپتیدوگلیکان در دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت سبب حساسیت بیشتر آن‌ها نسبت به انواع داروها و عصاره‌های گیاهی می‌شود.

در مطالعه حاضر به بررسی اثرات ضد میکروبی گیاه *Teucrium polium* روی چهار سویه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا کلی*، *کلبسیلا پنومونیه* و *سودوموناس آئروژینوزا* پرداخته شد. دلیل انتخاب این سویه‌ها، ماهیت غذازاد بودن آن‌ها بود. علاوه بر این برخی از آن‌ها همچون *کلبسیلا پنومونیه* و *سودوموناس آئروژینوزا* به تازگی از مواد غذایی نیز جداسازی شده‌اند که می‌تواند دال بر نقش غذا در انتقال آن‌ها به جوامع بشری باشد (Guo et al., 2016; Arslan et al., 2011). تیموری (۱۳۹۰) نیز به بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره الکلی گیاه کلپوره *Teucrium polium* L. بر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی پرداخت که تایید کننده نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر بود. نتایج ضد میکروبی عصاره گیاه کلپوره که توسط تیموری (۱۳۹۰) گزارش گردید در مقایسه با نتایج ضد میکروبی به دست آمده از فازهای آلی ۱ و ۲ حاصل از سوختن گیاه کلپوره در مطالعه حاضر، بسیار کم تر بود. در این ارتباط اثرات ضد میکروبی فاز آلی ۱ بسیار قابل توجه بود.

همچنین در یک مطالعه طباطبایی یزدی و همکاران (۱۳۹۳) اقدام به بررسی اثرات ضد میکروبی گیاه کلپوره روی میکروارگانیسم‌های عامل عفونت در شرایط آزمایشگاهی نمودند. در این مطالعه تجربی، اثر ضد میکروبی عصاره به دو روش پخش عصاره در سطح محیط کشت و انتشار در آگار مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد که در روش انتشار در آگار همه غلظت-های عصاره اتانولی اثر بازدارندگی داشتند. MIC عصاره آبی و اتانولی کلپوره در این تحقیق به ترتیب ۶۴ و۳۲ میلی گرم به ازای میلی‌لیتر و MBC عصاره آبی و اتانولی به ترتیب ۱۲۸ و ۲۵۶ میلی گرم به ازای میلی‌لیتر بود. مقتدر و همکاران (۱۳۹۲) اقدام به بررسی اثر ضد باکتریایی اسانس گیاه کلپوره روی باکتری‌های بیماری‌زای انسانی نمودند. نتایج این مطالعه نشان داد که اسانس گیاه کلپوره مورد مطالعه دارای اثر ضد باکتریایی قابل توجهی روی باکتری‌های گرم مثبت بود که با نتایج مطالعه حاضر

همخوانی داشت. مصدق و همکاران (۱۳۸۱) به بررسی فیتوشیمیایی گیاه کلپوره و سنجش اثرات ضد میکروبی و ضد قارچی آن‌ها پرداختند. نتایج این پژوهش نشان داد که اسانس گیاه کلپوره تا حدودی روی *اشریشیا کلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* موثر بود. پروین و همکاران (۱۳۸۹) اقدام به بررسی تأثیر دود های طبی اسپند و سرگین بر برخی عوامل عفونت‌زای بیمارستانی پرداختند. این مطالعه با هدف مقایسه خواص ضد میکروبی دود حاصل از دانه‌های اسپند و سرگین روی *سودوموناس آئروژینوزا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* انجام شد. نتایج این مطالعه نشان‌دهنده اثرات ضد میکروبی بالای دود حاصل از سوختن سرگین روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا*، بود که بیانگر اثرات طبی دودهای پزشکی در زمینه باکتری‌های عفونی می‌باشد. در کل نتایج مطالعه حاضر نشان دهنده اثرات ضد میکروبی قابل قبول فاز آلی ۱ دود حاصل از سوختن غیر مستقیم گیاه کلپوره روی اکثر باکتری‌های تست شده، بود.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج بررسی خاصیت ضد باکتریایی ترکیبات حاصل از قطران دود گیاه کلپوره (فازهای آلی ۱ و ۲) روی سوش‌های عامل فساد مواد غذایی می‌توان نتیجه گرفت که فاز آلی ۱ دود کلپوره در غلظت ppm ۲۰۰۰ اثرات ضد باکتریایی قابل قبولی روی تمام باکتری‌های مورد آزمایش و خصوصاً *استافیلوکوکوس اورئوس* داشت. از آنجایی که عصاره کلپوره حاوی بعضی از ترکیبات تلخ شامل تانن‌ها و ساپونین‌ها می باشد، بنابراین اضافه کردن عصاره به مواد غذایی باعث تغییر طعم و مزه آن ها می‌شود که ممکن است برای مصرف کنندگان خوشایند نباشد. لذا با توجه به ارزان، کم هزینه، پر بازده و ایمن بودن فرایند تولید دود از گیاه کلپوره و همچنین اثرات ضد میکروبی بالا تر آن نسبت به عصاره، استفاده از فاز آلی ۱ حاصل از قطران دود گیاه کلپوره به منظور حذف باکتری‌های مضر و عامل فساد در مواد غذایی و همچنین افزایش مدت زمان ماندگاری مواد غذایی، پیشنهاد می‌شود.

منابع

1. Bakhshi F., Mirzaei H., Asefi N. 2014. Inhibitory effect of Basil (Ocimum basilicum L.) essence on Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Rhodotorula rubra. J F M. 5: 55-56.
2. Bonyadpour B., Akbarzdeh M., Pakshir .K, Mohagheghzadeh A. 2009. In vitro Susceptibility of Fluconazole, Clotrimazole and Toucrium Polium Smoke Product on Candida Isolates of Vaginal Candidiasis. Armaghanj. 14: 87-96.
3. Parvin N, Validi M., Banitalebi, M., Mobini, G., Ashrafi, K., Farrokhi E, et al. 2010. Effect of medicinal smokes on some nosocomial infection factors. J Shahrekord Univ Med Sci. 12 (2) :76-83.
4. Raissy M., Daghagheleh A., Alishahi M., Rahimi M. 2016. Evaluation of antibacterial effects of some plant extracts and essential oils against Vibrio parahaemolyticus. J F M. 2: 55-65.
5. Tabatabaei Yazdi, F., Alizadeh Behbahani, B., Heidari Sureshjani, M., Mortazavi, S.A. 2014. The in vitro Study of Antimicrobial Effect of Teucrium polium Extract on Infectious Microorganisms. Scientific Journal of Hamadan University of Medical Sciences. 21 (1): 16-71.
6. Koocheki A., Nassiri Mahallati M., Azizi G., Khazaeim H.R. 2008. Feasibility study for domestication of Teucrium polium L based on ecological agriculture. Iran J Field Crop Sci. 2: 395-404.
7. Mosaddegh M. Dehmoobed Sharifabadi A. Nasiri P. , Pharm.D. , Esmaeili S. , Pharm. Naghibi., F. 2002. The Study of Phytochemical, Antifungal and Antibacterial Effects of Teucrium Polium and Cichourium Intybus. Sci. J. Kurdistan Univ. Medical Sci. 6: 1-25.
8. Moghtader M., Salari H., Farahmand A. 2013. Anti-bacterial Effects of the Essential Oil of Teucrium polium L. on Human Pathogenic Bacteria. Iran J Med Microbiol. 7 (2): 1-7.

9. Houshmand G, Goudarzi M, Forouzandeh H, Nazari A, Norolahi V. 2015. Evaluation of the Analgesic Effects of Teucrium Extract on Rats using the Formalin Test. JBUMS, 17 (6) :33-39.
10. Arslan S., Eyi A., and Özdemir F. 2011. Spoilage potentials and antimicrobial resistance of Pseudomonas spp. isolated from cheeses. J Dairy Sci. 94: 5851-6.
11. Autore G, Capasso F, Defusco R, Fasulo M.P. Lembo M, and Mascolo N. 1984. Antipyretic & Antibacterial actions of Teucrium Polium. J Pharmacol Res Commun.16: 21-9.
12. Bayne-Jones S, Burdette, W.J, Cochran W.G, Farber E, Fieser L.F., Furth, J, Hickam J.B, LeMaistre C, Schuman L.M, and Seevers M.H. 1964. Smoking and Health. Public Health Service Publication, Washington, DC.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2015. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement. CLSI document M100-S25. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute.
14. Dehkordi F.S., Yazdani F, Mozafari J, and Valizadeh Y. 2014. Virulence factors, serogroups and antimicrobial resistance properties of Escherichia coli strains in fermented dairy products. BMC Res Notes. 7: 200- 217.
15. Guo Y, Zhou H, Qin L, Pang Z, Qin T, Ren H, Pan Z, and Zhou J. 2016. Frequency, Antimicrobial Resistance and Genetic Diversity of Klebsiella pneumoniae in Food Samples. Plos One. 11:e0153561. Mohagheghzadeh A.A, Faridi P, Shams-Ardakani M.R, and Ghasemi Y. 2006. Medicinal smokes. J Ethnopharmacol. 108:161–184.
16. Momtaz H, Safarpoor Dehkordi F, Rahimi E, Asgarifar A, and Momeni. Virulence genes and antimicrobial resistance profiles of *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat in Isfahan province, Iran. J Appl Poult Res. 22: 913-921.
17. Natarajan D, Britto J.S, Srinivasan K, Nagamuruganc N, Mohanasundari C. and Perumal G. 2005. Anti-bacterial activity of Euphorbia fusiformis-A rare medicinal herb. Journal of Ethnopharmacology. 102: 123–126.
18. Sabota J.M., Hoppes W. L, Ziegler J.R, DuPont H, Mathewson J.G, Rutecki W. 1998. A new variant of food poisoning: enteroinvasive Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli sepsis from a contaminated hamburger. Am J Gastroenterol. 93(1):118-9.
19. Safarpoor Dehkordi F, Tirgir F, Valizadeh Y. 2017. Effects of Guajol® ointment synthesized from medicinal smoke condensate of jennet feces on burn wound healing on WistarRat. Vet Res Forum. 8: 215 – 221.
20. Shakhanbeh J, and Atrouse O. 2001. Teucrium pokium inhibits nerve conduction & corrageenan induced inflammation the rat skin. Turk J Med Science. 31: 15-21.
21. Sharafkandi A. 2005. The Canon of medicine (Avicenna). Soroush Press, Tehran. vols. 2 and 7, pp.1024.
22. Shekhar Nautiyal C.H, Singh Chauhan P, and Laxman Neneb Y. 2007. Medicinal smoke reduces airborne bacteria. J Ethnopharmacol. 114: 446–451.
23. Vanden D.A, Velietinck A.J. In: Dey PM, Harborne JB. (Eds.), Method in plant biochemistry: screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. London: Academic press:1991. 47-69.
24. Wassel G.M, and Ahmed S.S. 1974. On the essential oil of Teucrium polium L. Pharmazie. 29: 351-2.
25. Zampini I.C, Vattuone M.A, and Isla M.I. 2005. Antibacterial activity of Zuccagnia punctata Cav. ethanolic extracts. J Ethnopharmacol. 102: 450-456.

Study the antimicrobial effects of the medicinal smoke condensate of Teucrium polium on food-borne microorganisms in-vitro condition

Naderi P[1], Tirgir F*[1], Malakpoor F[2], kazemi A[1]

1. Department of Chemistry, Faculty of Science, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
2. Department of Medicinal Plant, Faculty of Agriclture, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

***Corresponding author:** *Tirgir@iau.ac.ir*

Received: 01 November 2021 Accepted: 02 February 2021

Abstract

Using medicinal smokes has been customary in the treatment of many diseases by bacteria in Iran. The aim of the present investigation was to study the antimicrobial effects of medicinal smoke of the *Teucrium polium* on food-borne bacteria in the in vitro conditions. Components from indirect heating of *Teucrium polium* were extracted in two organic phases of 1 and 2. The plant extract was also extracted using ethanol solvent. Then, the antimicrobial effects of two organic phases were analyzed against *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bacteria concentration (MBC) were determined using the tube dilution method. A statistically significant difference (P <0.05) was seen between the antimicrobial effects of the organic phases of smoke and extract of the *Teucrium polium* on tested bacteria. Organic phase 1 of smoke at a concentration of 2000 ppm had the highest diameter of the growth inhibition zone on tested bacteria. Tested organic phases had the highest antimicrobial effects on the *Staphylococcus aureus*. The antimicrobial effects of the organic phases on Gram-positive bacteria, were higher than Gram-negative. According to the cheap, low cost, high efficiency and safety of the procedure of the smoke production from the *Teucrium polium* plant and also its higher antimicrobial effects than extraction, using from organic phase 1 from the smoke condensate of the *Teucrium polium* plant is recommended to the elimination of harmful bacteria and the cause of corruption in food products as well as increasing their shelf-life.

Keyword: Medcal smoke**,** Kalpoure (*Tucrium polium* L.), Antibacterial effects.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.
Copyright © 2022 Shahrekord Branch, Islamic Azad University.