نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۱، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۴، ص. ۲۲۴-۲۱۸

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 11, No. 2, Summer 2015, p. 218-224

مقاله کوتاه پژوهشی

مقایسه اثر ضدمیکروبی عصاره آبی و هومولون رازک بر استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریامونوسیتوژنز، سالمونلا انتریکاو انتروباکتروآئروژنز

علی محمدی ثانی[۱*]، مریم اعظمی[۲] ، مسعود یاورمنش[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۷/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۳/۱۲

چکیده

ترکیبات مشتق شده از گیاهان، طی قرن ها به دلیل داشتن فعالیت ضد میکروبی، استفاده های دارویی داشته اند. در این پژوهش اثر ضد باکتریایی گیاه دارویی رازک *(Humulus lupulus)*، روی تعدادی از پاتوژن های غذایی مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور تاثیر بازدارندگی عصاره آبی رازک و هومولون رازک روی *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC1431)، *لیستریا مونوسیتوژنز* (PTCC1298)، *انتروباکتر آئروژنز* (PTCC1221) و *سالمونلا انتریکا* (PTCC1298) به روش دیسک دیفیوژن و براث میکرودیلوشن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که باکتری های گرم مثبت به هر دو نوع عصاره نسبت به باکتری های گرم منفی حساس تر بودند. حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) هومولون و عصاره آبی رازک روی *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب (۰/۰۳۹mg/ml) و (۰/۶۲۵ mg/ml) بود اما عوامل مذکور در غلظت های مورد بررسی خاصیت کشندگی (MBC) نداشتند. بیشترین اثر مهارکنندگی رشد در روش دیسک دیفیوژن روی *استافیلوکوکوس اورئوس* مشاهده گردید(قطر هاله مهاری ۱۷میلی متر). همچنین مشاهده شد که هومولون رازک در هر دو روش اثر ضد باکتریایی قوی تری نسبت به عصاره آبی رازک داشت. لذا عصاره های رازک به واسطه اثر ضد باکتریایی، می‌توانند در ترکیبات دارویی یا نگهدارنده های غذایی مورد استفاده قرار گیرند.

واژه های کلیدی: رازک، حداقل غلظت مهار کنندگی، عصاره آبی، هومولون

مقدمه

بهره گیری از اثر نگهدارندگی و ضد میکروبی گیاهان دارویی با توجه به مضرات داروهای شیمیایی و همچنین مقاوم شدن باکتری های بیماری زا به آنتی بیوتیک ها همچنان در حال گسترش است (Tofana, 2009). یکی از این گیاهان دارویی، رازک با نام علمی Humulus lupulus می باشد که دارای ترکیبات بیولوژیکی فعال، مانند هومولون یا آلفااسید، لوپولون یا بتااسید و زانتامول می باشد (Stevans *et al.,* 2004). ترکیبات پلی فنلی و فلاونوییدهای موجود در رازک مانند کولین و زانتامول باعث ایجاد خواص آنتی اکسیدانی و ضدسرطانی می شوند، در صنایع دارویی این ترکیبات خالص سازی شده و از اثرات ضدسرطانی، ضدمیکروبی و ضد ویروسی آن استفاده می گردد (Zanoli *et al.,* 2008). رازک در اروپا و آمریکا به صورت گسترده کشت می شود و در صنایع دارویی و نوشیدنی مانند آبجو و نوشیدنی مالت به عنوان طعم دهنده و تثبیت کننده کف استفاده می گردد. این گیاه در ایران نیز در مناطق شمالی قابلیت رویش دارد ولی به میزان مناسب مورد توجه قرار نگرفته است (کسری و همکاران، ۱۳۸۸). نتایج تحقیق در مورد خواص دارویی رازک بین سال های ۱۸۲۶ تا ۱۹۱۶ در فارماکوپه رسمی آمریکا بیانگر آن است که این گیاه به عنوان آرام بخش منظور شده است. در سال ۱۵۰۰ میلادی کارخانه های آبجوسازی دریافتند که رازک دارای خاصیت نگهدارندگی خوبی است (Haas *et al,* 2003).

استفاده از رازک برای باز کردن انسداد مجاری کبد و تصفیه خون و کاهش تری گلیسیرید خون توصیه شده است. تحقیقات انجام شده روی خواص ضد میکروبی عصاره رازک نشان داد که بتااسید موجود در عصاره با مقدار(ppm ۵۰-۶) از رشد لیستریامونوسایتوژنز

۱و۲- به ترتیب دانشیار و دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران.
۳- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول : Email: Mohamadisani@yahoo.com)

جلوگیری می کند (Milli, 1992). همچنین بتا اسید موجود در رازک با غلظت(1 ppm) مانع از رشد کلستریدیوم *بوتولینوم* و *هلیکو باکترپیلوری* می شود(Johnson & Haas, 2001). همچنین عصاره رازک با غلظت(۵۰-۲ ppm) از رشد استرپتوکوک های دهانی جلوگیری می کند (Haas *et al,* 2003).

رازک با غلظت ۵۰ ppm رشد آلیسایکلوباسیلوس را مهار می نماید (Michelle & Carol, 2008). ایزو آلفا اسید رازک با غلظت ۲۵ ppm از رشد باسلیوس سابتیلیس جلوگیری می کند Tofana, (2009). لیکن عصاره الکی رازک بر اشرشیاکلی اثر ندارد (کسری و همکاران، ۱۳۸۸).

عصاره رازک با توجه به نوع مصرف آن به روش های مختلفی استخراج می شود. در صنایع نوشیدنی استفاده از عصاره آبی و هومولون خالص شده از رازک بیشتر مورد توجه است. عصاره آبی رازک از جوشیدن گل های خشک شده رازک در آب در حال جوش تهیه می شود، استخراج آسان و ارزان از مزایای آن است ولی در این روش راندمان استخراج پایین است. هومولون یا آلفا اسید خالص شده رازک با روش استخراج با حلال فوق بحرانی کربن دی اکسید تهیه می شود و خالص است. در این روش سایر ترکیبات موجود در رازک به حداقل رسیده و یا کاملاً حذف می شود و فقط هومولون آن خالص سازی می شود (Tofana, 2009). این روش استخراج به تجهیزات پیشرفته نیاز دارد و روش گران قیمتی است.

هدف از انجام این پژوهش بررسی و مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره های آبی و هومولون رازک روی سویه های باکتریایی استافیلوکوکوس اورئوس[1](PTCC1431)، لیستریامونوسیتوژنز[2] (PTCC1298)، سالمونلا انتریکا[3](PTCC1709) و انتروباکتر آئروژنز[4](PTCC1221) به عنوان عوامل پاتوژن شاخص از دو گروه باکتری های گرم مثبت و منفی و به عنوان اصلی ترین عوامل ایجاد مسمومیت و عفونت های با منشاء غذایی بود (REF) که به روش دیسک دیفیوژن و میکرو براث میکرودیلوشن صورت گرفت.

مواد و روش ها

در این پژوهش آزمایشگاهی برای تهیه عصاره آبی رازک، ۳۰ گرم از پودر گل های خشک شده رازک (شرکت NATECO2 آلمان)، داخل بشر ریخته شد و ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر استریل به آن اضافه گردید و طی مدت ۴۵ دقیقه به آرامی حرارت داده شد و پس از سرد شدن از کاغذ صافی (۰/۴۵ میکرون) عبور داده و صاف گردید. عصاره صاف شده در پلیت های شیشه ای با ضخامت بسیار کم پهن و در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی گراد تا رسیدن به وزن ثابت خشک گردید. پودر حاصل از عصاره خشک شده درون شیشه تیره رنگ در بسته، دور از رطوبت و نور نگهداری و برای انجام آزمون مورد استفاده قرار گرفت (Mashadiyan, 2005). لازم به ذکر است چون در صنایع غذایی جهت عمل پاستوریزاسیون حرارت اعمال می شود، در روش عصاره گیری سعی شد مدت زمان عصاره گیری و دمای خشک کردن تا حد امکان مشابه با خط تولید نوشیدنی مالت انتخاب شود تا اثر مخرب حرارت بر خاصیت ضد میکروبی عصاره و حذف عوامل موثره آن اعمال شود. همچنین عصاره هومولون رازک به صورت آلفا اسید ۳۰٪ از شرکت NATECO2 آلمان خریداری گردید. این بررسی روی سویه های باکتریایی استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریامونوسیتوژنز، سالمونلا انتریکا و انتروباکتر آئروژنز انجام شد که از معاونت پژوهشی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی تهیه گردید. آنتی بیوتیک جنتامایسین، محیط کشت مولر هینتون آگار و حلال دی متیل سولفوکسید (شرکت مرک آلمان) و دیسک های کاغذی (شرکت پادتن طب) به عنوان سایر مواد مورد استفاده قرار گرفتند. برای سنجش اثر ضد باکتریایی عصاره آبی و هومولون از روش دیسک دیفیوژن (انتشار دیسک در آگار) به روش کربی بائر (Bauer –Kirby) استفاده شد.

به این منظور ۱۰۰ میلی گرم از عصاره ی آبی و هومولون رازک در ۱ میلی لیتر دی متیل سولفوکسید حل گردیده و سپس ۱۰ میکرولیتر از محلول های حاصل به دیسک های کاغذی استریل با قطر ۶ میلی متر اضافه شد. ۱۰ میکرولیتر از غلظت ۰/۵ میلی گرم در میلی لیتر از آنتی بیوتیک جنتامایسین و ۱۰ میکرولیتر از حلال دی متیل سولفوکسید نیز به دو دیسک استریل دیگر اضافه گردید. روز قبل از انجام آزمون، کشت تازه‌ی میکروارگانیسم تهیه شد. از کشت یک شبه ی حاصل، با سواپ استریل چند کلنی به سدیم کلراید استریل منتقل شد. کدورت سوسپانسیون تهیه شده برابر کدورت محلول نیم مک فارلند (معادل $۱/۵\times۱۰^{۸}$) بود. به وسیله ی سواپ استریل از این سوسپانسیون روی پلیت حاوی مولر هینتون آگار کشت خطی در سه جهت داده شد. دیسک های حاوی عصاره ی آبی و هومولون، آنتی بیوتیک و حلال در پلیت های تلقیح شده با میکروارگانیسم ها قرار گرفته و به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد. پس از خروج قطر هاله عدم رشد به وسیله خط کش اندازه گیری شد. در این مطالعه از آنتی بیوتیک جنتامایسین ۰/۵ میلی گرم در میلی لیتر به عنوان کنترل مثبت و حلال دی متیل سولفوکسید به عنوان کنترل منفی استفاده شد (Baydar *et al*., 2004).

1- Staphylococcus aureus
2- Listeria monocytogenes
3- Salmonella enterica
4- Enterobacter aerogenes

آزمون تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی(MIC[1])به روش رقت مایع (میکرو براث دایلوشن)[2] صورت گرفت. در مواردی که در روش دیسک دیفیوژن اثر خوبی نشان داده و قطر هاله ی مهار رشد بیش از ۱۱ میلی متر به دست آمد، تعیین MIC به صورت زیر انجام شد (Duffy & Power, 2001). از سوسپانسیون نیم مک فارلند تهیه شده از کشت یک شبه ی میکروارگانیسم، رقت های یک دهم و سپس یک صدم تهیه گردید تا تعداد تقریبی 10^6 میکروارگانیسم در هر میلی لیتر از سوسپانسیون ایجاد شود. از رقت های متوالی ۱۰ تا ۰/۰۱۹۵ میلی گرم در میلی لیتر هر یک از عصاره ها که قبلاً تهیه شده بود، ۲۰۰µL به چاهک های شماره ۱ تا ۱۰ یک میکرو پلیت ۹۶ خانه ای استریل منتقل شد. در هر پلیت ۹۶ خانه ای در ۳ چاهک محیط کشت مولر هینتون براث و ۱۰µL از آنتی بیوتیک ها ریخته شد و به ۳ چاهک دیگر فقط محیط کشت اضافه شد که به عنوان کنترل مثبت و کنترل منفی بود. به همه ی چاهک های پلیت، ۲۰µL از سوسپانسیون میکروبی اضافه شد و در نهایت همه ی پلیت ها به انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد منتقل و پس از ۲۴ ساعت برای تعیین MIC بررسی گردیدند. آزمون به صورت سه بار تکرار انجام شد. برای تعیین MIC عصاره ها، از محلول ۵ mg/mL تری فنیل تترازولیوم کلراید (یک معرف رنگی رشد بوده که در حالت اکسید بی رنگ، اما هنگامی که توسط میکروارگانیسم ها احیا شود به علت تشکیل فورمازان قرمز رنگ می شود) مقدار۵۰µL در تمام چاهک های پلیت ریخته و مجدداً به مدت ۳ ساعت در گرمخانه انکوبه شد. پس از طی زمان لازم میکروپلیت ها از گرمخانه خارج و نتایج آنها بررسی گردید. یک غلظت بالاتر از آخرین غلظتی که رنگ قرمز را به خود گرفته بود بعنوان MIC عصاره در نظر گرفته شد (Eloff, 1998).

برای تعیین MBC[3] عصاره (حداقل غلظت کشندگی) از هر کدام از پلیت هایی که رنگ قرمز نگرفته بودند، ۱۰ میکرولیتر بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار انتقال داده شد. سپس در پلیت ها بسته و به صورت وارونه در گرمخانه ی ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. پس از گذشت زمان لازم پلیت ها از گرمخانه خارج و نتایج آن بررسی گردید. غلظتی که در آن رشدی دیده نشود بعنوانMBC در نظر گرفته شد(Duffy & Power, 2001).

جهت آنالیز آماری، داده های حاصل توسط نرم افزار اکسل مرتب شد و سپس تجزیه و تحلیل داده ها توسط نرم افزار آماری ساس نسخه ۹[4] و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد انجام شد. همچنین اشکال مربوط به روابط بین متغیرهای مورد بررسی با استفاده از نرم افزار اکسل[5] تهیه شد.

نتایج و بحث

براساس آزمون انتشار دیسک در آگار، قطر هاله مهار رشد توسط هومولون و عصاره آبی رازک روی *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب ۱۷ و ۸ میلی متر بود. هومولون رازک روی *لیستریا مونوسیتوژنز* قطر هاله مهار رشدی به میزان ۱۳ میلی متر ایجاد نمود. نتایج در جدول ۱ نشان داده شده است.

در شکل ۱ اثر نوع عصاره در ایجاد هاله مهار رشد نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می شود، هومولون رازک قطر هاله مهار رشد بیشتری ایجاد کرده، پس می توان نتیجه گرفت این عصاره اثر آنتی باکتریال قوی تری نسبت به عصاره آبی رازک دارد.

در جدول ۲ نتایج آزمون تعیین حداقل غلظت مهار کننده عصاره آبی رازک و هومولون روی ۴ سویه باکتریایی مورد نظر نشان داده شده است. بر این اساس حداقل غلظت مهار کننده رشد در هومولون و عصاره آبی رازک روی *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب ۰/۰۳۹ و ۰/۶۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر بود.

در جدول ۳ نتایج آزمون تعیین حداقل غلظت کشنده عصاره آبی رازک و هومولون رازک روی ۴ سویه باکتریایی مورد نظر نشان داده شده است.هر دو عصاره روی باکتری های گرم منفی مورد آزمون اثر مهار کنندگی و کشندگی نداشتند. نتایج نشان می دهد هومولون رازک خاصیت آنتی باکتریال قوی تری نسبت به عصاره آبی رازک دارد.

با توجه به اینکه بیشتر تحقیقات انجام شده روی اثر ضد میکروبی رازک با استفاده از خالص سازی ترکیبات موثر آن صورت گرفته است و همچنین نوع روش استخراج بر روی خواص عصاره تأثیر زیادی دارد لذا اینگونه تصور می شود که حتی اعمال حرارت باعث تغییر در ساختمان و نوع اثر رازک شود(Simpson *et al,* 1992)، امری که طی فرآیندهای تولید در صنایع غذایی رخ می دهد. مورد اخیر تا حدودی با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد به طوریکه مشخص شد هومولون رازک خاصیت ضد میکروبی قوی تری نسبت به عصاره آبی رازک که تحت تاثیر حرارت تولید شده بود، داشت.

همچنین مشخص شد که حساسیت باکتری های گرم مثبت به هومولون و عصاره آبی رازک بیش از باکتری های گرم منفی بود و البته هیچ یک روی باکتری های گرم منفی مود آزمون اثر مهار کنندگی و کشندگی نداشتند. در همین زمینه تحقیقات مختلفی صورت گرفته است.

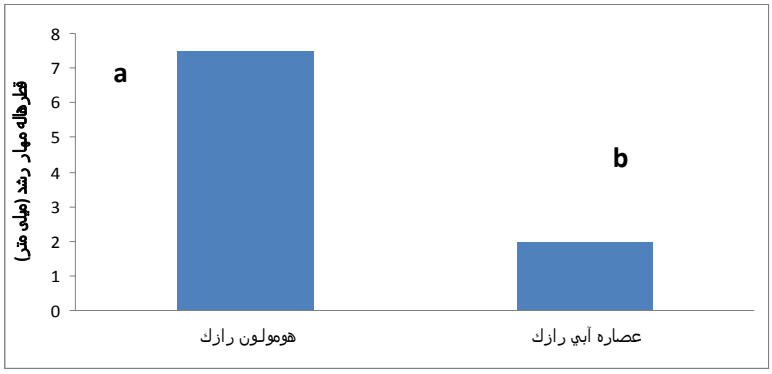
1- Minimum Inhibitory Concentration
2- Microbroth Dilution
3- Minimum Bacteriocidal Concentration
4- SAS version9
5- Microsoft Excel

جدول۱- میانگین قطر هاله ی مهار رشد(میلی متر) در سویه های باکتریایی با عصاره آبی و هومولون رازک با غلظت ($100\frac{mg}{ml}$)

عصاره	سویه های باکتریایی					
	استافیلوکوکوس اورئوس	*لیستریا مونوسیتوژنز*	*سالمونلا انتریکا*	*انتروباکتر آئروژنز*	کنترل مثبت[۱]	کنترل منفی[۲]
عصاره آبی رازک	۸ ±۲/۲[a]	–	–	–	۲۲±۲/۱	–
هومولون رازک	۱۷ ±۱/۸[a]	۱۳ ±۲/۱[b]	–	–	۲۲±۲/۱	–

۱- فقط روی *استافیلوکوکوس اورئوس* (آنتی بیوتیک جنتامایسین)

۲- روی تمام میکروارگانیسم ها (دی متیل سولفوکسید)

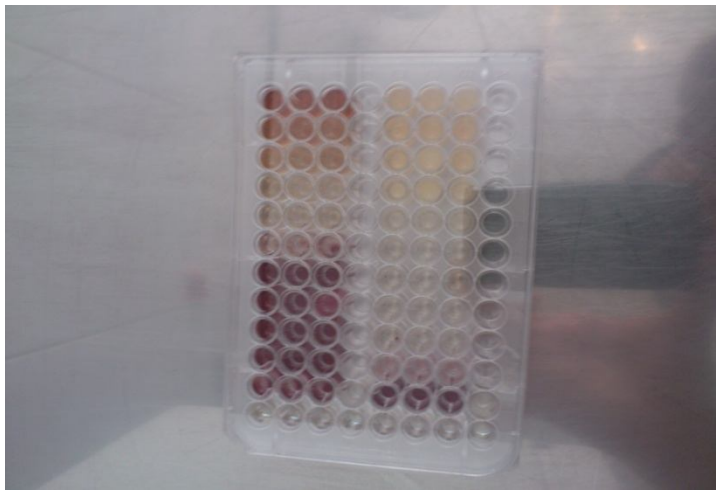


شکل ۱. اثر نوع عصاره در ایجاد هاله مهار رشد.

جدول ۲- حداقل غلظت مهارکننده ($\frac{mg}{ml}$) عصاره آبی و هومولون رازک به روش رقت مایع

عصاره	سویه های باکتریایی			
	استافیلوکوکوس اورئوس	*لیستریامونوسیتوژنز*	*سالمونلا انتریکا*	*انتروباکتر آئروژنز*
عصاره آبی رازک	۰/۶۲۵[a]	>۱۰[b]	>۱۰[b]	>۱۰[b]
هومولون رازک	۰/۰۳۹[a]	>۱۰[b]	>۱۰[b]	>۱۰[b]

* نتایج میانگین سه تکرار است.



شکل ۲- میزان MIC دو عصاره هومولون و عصاره آبی رازک در *استافیلوکوکوس اورئوس* (۳ ردیف سمت راست مربوط به هومولون و ۳ ردیف سمت چپ مربوط به عصاره آبی رازک می باشد).

جدول ۳- حداقل غلظت کشنده ($\frac{mg}{ml}$) عصاره آبی و هومولون رازک به روش رقت مایع

عصاره	سویه های باکتریایی			
	استافیلوکوکوس اورئوس	*لیستریامونوسیتوژنز*	*سالمونلا انتریکا*	*انتروباکتر آئروژنز*
عصاره آبی رازک	>۱۰[b]	>۱۰[b]	>۱۰[b]	>۱۰[b]
هومولون رازک	>۱۰[b]	>۱۰[b]	>۱۰[b]	>۱۰[b]

*نتایج میانگین سه تکرار است.

جدول ٤- تجزیه و تحلیل آماری داده ها

مقادیر درجه آزادی و سطح احتمال معنی‌دار بودن صفت مورد مطالعه

میانگین مربعات

منابع تغییرات	درجه آزادی	قطر هاله مهار رشد
تکرار	۲	۰/۲۲
فاکتور A (نوع عصاره)	۱	۱۸۱/۵**
فاکتور B (نژاد باکتری)	۳	۲۱۶/۵**
A×B	۳	۶۴/۵**
خطا	۱۴	۰/۶۱

ns ، * و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی دار و اختلاف معنی دار در سطوح ۵٪ و ۱٪

نتایج تحقیقات مختلفی نشان دهنده تاثیر بیشتر عصاره رازک روی باکتری های گرم مثبت نسبت به باکتری های گرم منفی است (Haas *et al,* 1994). در تحقیقی مشابه کرمانشاهی و همکاران (۱۳۸۷) نشان دادند که عصاره الکلی رازک به طور معنی داری روی باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس تاثیر بیشتری نسبت به اشریشیاکلی و سودوموناس داشتند و البته حداقل غلظت کشندگی نیز به دست آمد. در تحقیقاتی دیگر با استفاده از بتا اسیدهای موجود در عصاره رازک با غلظت ۱ پی پی ام، رشد کلستریدیوم دیفیسل و کلستریدیوم بوتولینوم (Johnson *et al.,* 2001) و هلیکوباکتر پیلوری (Ohusugi *et al.,* 1996) را متوقف کردند. همچنین در پژوهشی دیگر، بتا اسیدها در غلظت ppm ۵۰-۶ توانستند از رشد لیستریا مونوسیتوژنز جلوگیری کنند (Millis *et al.,* 1992). لازم به ذکر است که بتا اسیدها، مهم ترین گروه ترکیبات موجود در عصاره رازک هستند که خاصیت ضد باکتریایی داشته و نسبت به سایر اجزاء قوی تر هستند (Simpson *et al.,* 1992). نتایج پژوهشی دیگر که بر روی استرپتوکوکوس موتانس و سایر استرپتوکوک های دهانی انجام گردید بیانگر قدرت مهارکنندگی عصاره رازک روی این باکتری های گرم مثبت است (Haas *et al.,* 2003). البته آلفا اسیدهای موجود در رازک که شامل هومولون، کوهومولون و آدهومولون می باشد فعالیت ضدباکتریایی مطلوبی روی باکتری های گرم مثبت لاکتوباسیلوس پلنتاروم و لاکتوباسیلوس پاستوریانوس داشته اند (Hog *et al.,* 1957). بنابراین عصاره رازک می تواند به عنوان ترکیبی با خاصیت بازدارندگی در مکمل های دارویی مورد استفاده قرار گیرد. همچنین نظر به قابلیت کشت و رویش این گیاه در مناطق وسیعی از ایران، می‌توان در این جهت گام های موثر تری برداشت.

قدردانی

از شرکت بهنوش ایران برای حمایت از این پروژه تشکر و قدردانی می شود.

منابع

Andrew, M., 2001, Determination of minimum inhibitory concentrations. J. Antimicrob. Chemother. 48, 5-16.

Baydar, H., Sagdiç, O., Özkan, G., and Karadogan T., 2004. Antibacterial activity and composition of essential oils from Origanum, Thymbra and Satureja species with commercial importance in Turkey. Food Control. 15(3), 169-172

Battacharya, S., Virani, S., Zavro, M., and Haas, J. 2003, Inhibition of *Streptococcus mutans* and other oral Streptococci by hop constituents. Econ. Bot. 57, 118-125.

oncanchand, D.1969. Elimination by Ethidium Bromide of Antibiotic Resistance in Entrobacteriacae and Staphylocci. J. Gen Microbiol. 417-425.

Bhattacharya, S., Virani, S. 2005. In vitro Antimicrobial Activity of Hops Extract. J. American Botanical Council. April. 123–130.

Duffy, CF., Power, R.F. 2001. Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts. Inter. J. Antimicrob. Age. 17, 527-529

Eloff, J. 1998, Which extract should be used for the screening and isolation of antimicrobial component from Plants. J. Ethno pharmacol. 60(1), 1–8.

Flythe, M. 2009. The antimicrobial effects of hops (Humuls lupulusl), An ruminal hyper ammonia-producing vactena. Applied microbiology. 48, 712-717.

Gill, A., Holley, RA. 2006. Disruption of Echerichia coli, Listeria monocytogenes and Lactobacillus sakei cellular membrane by plant oil aromatics. Food Microbial. 108(1), 1-9

Haas et al., 1994. Antimicrobial Activity of Hop Resins, Journal of Food Protection, 57(1), 59-61.

Haas, G., Bhattacharya, S., Virani, S., and Zavro, M. 2003. Inhibition of Streptococcus mutans and other oral streptococci by Hope (Humulus lupulus) constituents, J. Economic botany. 57, 118-125.

Hough, J., 1996, The Biotechnology of Malting and Brewing. Cambridge University Press, New York

Jalali, M., Abedi, D., 2008, Prevalence of Listeria species in food products in Isfahan, Iran. International Journal of Food Microbiology. 122(3), 336–340

Johnson, A., Haas, G., 2001, Activity of hopes extract against Clostridium botulinum, Clostridium difficle and Helicobacter pylori. J. Applied Bacteriol. 265–271

Kermanshahi, K., Nasr Isfehani, B., Poor Babaei, A., Asghari, Gh., Esmi Sarkani, Zh., 2009. Effect of alcoholic extrat of Humulu slupulus on some gram negative and positive bacteria. J Pharm Herbs. 9(30), 92-97.

Mashhadian, NV., Rakhshandeh, H., 2005, Antibacterial and antifungal effects of Nigella sativa exteracts against *S. aureus*, *P. aeroginosa* and *C. albicans*.Pakistan Journal of Medical Sciences. 21(1), 47-52

Millis, JR., Kohler, WI., 1992, Inhibition of food pathogens by hope acids, ***US*** patent. 12(3), 23–25

Natarajan, P., Katta, S., Andrei, I., Babu Rao Ambati, V., Leonida, M., Haas, G.J., 2008, Positive antibacterial coaction between hop (Humulus lupulus) constituents and selected antibiotics, Phytomedicine. 15, 194-201.

Ohsugi *et al*., 1996, Antibacterial activity of *Humulus Lupulus* against *Helicobacter pylori*. J. Traditional Medicins. 13(4), 344–350.

Simpson *et al*., 1992. Factors affecting antibacterial activity of hope compounds. J. Applied Bacteriol. 327–334.

Simpson, W., Smith, R., 1992. Factors affecting antibacterial activity of hop compounds and their derivatives, J Appl Bacteriol. 72(4), 327-334 .

Stevens, F., Page, E., 2004. Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer to your good health, Phytochemistry. 65(10), 1317-1330.

Tofana, M., Sonia, A., Carmen, S., Cristina, S., Delia, T., 2009. Optimization of HS/GC-MS Method for the Determination of Volatile Compounds from some Indigenous Hop Varieties, Bulletin UASVM Agriculture. 66(2), 500-505.

Walker, M., Phillips, CA., 2008, The effect of preservative on *Alicyclobacillus acidoterrestris* and *Propionibacterium* in fruit juices. Food Control. **19**(10), 974-981.

Zanoli, P., Zavatt, M. 2008. Pharmacognostic and pharmacological profile of *Humulus lupulus L*. J. Ethnopharmacol. 116: 383-396.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 11, No. 2, Summer 2015, p. 218-224

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۱، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۴، ص. ۲۲۴-۲۱۸

Brief report

Evaluation of antimicrobial effect of Hop water extract with Humulune from Hop against Staphylococcus aureus, *Enterobacter aerogenes*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica*

A. Mohamadi Sani [1*]- M. Azami[2]- M. Yavarmanesh

Received: 01-11-2013
Accepted: 02-06-2014

Abstract

Plants derived products have been used for medicinal purposes for centuries because of antimicrobial activity. In this research, antibacterial effect of Hop (*Humulus lupulus)*, was evaluated on some of food borne pathogens. For this purpose, the effect of hop aqueous extract compared to *Humulune* from hop was analyzed against *Staphylococcus aureus (PTTC1431)***,** *Enterobacter aerogene*s (PTCC1221), *Listeria monocytogenes (PTCC1298) and Salmonella enteric*a (PTCC1709) by agar disk diffusion and broth micro-dilution methods. Results showed that gram-positive bacteria were more sensitive to the extracts compared to gram-negative bacteria. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of *Humulune* and water extract of hop against *Staphylococcus aureus* were 0.039 and 0.625 mg/ml respectively but no MBC was observed for the mentioned strains. Findings indicated that Humulune had more antibacterial activity than aqueous extract in both methods. The most inhibitory effect was found against *Staphylococcus aure**us*** in disk diffusion method (inhibition zone of 17mm). The effect of Humulune was more than aqueous extract of hop. Results indicated that hop extract had antibacterial effect which may be exploited in combinational therapy or as a food preservative.

Keywords: *Humulus lupulus*, Minimum inhibitory concentration, Aqueous extract, Humulune.

1,2- Associate professor and Former MSc Student, Department of Food Science and Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran.
(*-Corresponding Author Email: Mohamadisani@yahoo.com)
3- Assistand Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.