

دراسة الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة للمستخلص الكحولي لأزهار نبات الزوفا *Hyssopus officinalis* بمساعدة الموجات فوق الصوتية وفق منهجية سطح الاستجابة

رائده صلاح*¹ وانعام الساطي¹



¹ كلية الصيدلة، جامعة طرطوس، سورية.

(*للمراسلة: رائده صلاح، البريد الإلكتروني: selenamah20614@gmail.com هاتف: 0932022672)

تاريخ القبول: 2026 / 07 / 1

تاريخ الاستلام: 2026 / 05 / 10

الملخص

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم فعالية الموجات فوق الصوتية في استخلاص المركبات ذات الفعالية الميكروبية من أزهار نبات الزوفا *Hyssopus officinalis* باستخدام المذيبات الكحولية المائية، واستخدمنا لهذا الغرض منهجية سطح الاستجابة التابعي وتصميم بوكس - بينكن لتحديد المعايير المثلى للاستخلاص من زمن الاستخلاص (10 و 20 و 30 دقيقة) وتركيز الكحول الإيثيلي (نسبة كحول/ماء: 50 و 65 و 80%) ودرجة حرارة الاستخلاص (25 و 40 و 55°C). بهدف الوصول إلى الفعالية القصوى المضادة لكل من بكتريا الـ *Escherichia coli* ATCC25922 وبكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* ATCC25923 التي تم قياسها بطريقة الانتشار بواسطة الأقراص المشبعة بمستخلص الزوفا وقياس قطر التثبيط (dmm). تمكنا من خلال تحليل تأثير شروط الاستخلاص على نتائج الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة ضد بكتريا *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 التعبير عن قطر التثبيط بنموذج رياضي من الدرجة الثانية مع قيمة R² مقدارها 96.95% ومن خلال هذا النموذج تبين أن الاستخلاص عند درجة حرارة 42.9°C لمدة 21.5 دقيقة وباستخدام مذيب (كحول/ماء) يعطي أعلى فعالية ضد نمو بكتريا الـ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 حيث كان قطر التثبيط عند هذه الشروط 19.92mm، كما أمكن أيضاً بتحليل نتائج تأثير شروط الاستخلاص على الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة ضد بكتريا الـ *Escherichia coli* ATCC25922 التعبير عن قطر التثبيط بنموذج رياضي من الدرجة الثانية مع قيمة R² قدرها 97.54% ومن خلال هذا النموذج تبين أن الشروط المثلى للاستخلاص هي عند درجة حرارة 42.6°C لمدة 22.7 دقيقة وللمذيب الكحولي بتركيز 70.33% (كحول/ماء) حيث أعطى أعلى فعالية تثبيط عند هذه الشروط وهو 14.65mm.

الكلمات المفتاحية: الزوفا، الاستخلاص، الأمواج فوق الصوتية، الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة، قطر التثبيط.

المقدمة:

تعد مقاومة الأحياء الدقيقة للمضادات الحيوية التقليدية من أكبر التحديات الصحية حالياً، حيث تشير التقديرات إلى تزايد مستمر في معدلات الوفيات الناجمة عن العدوى بسلالات مقاومة للأدوية المتعددة، مما يبرز أهمية العودة إلى الطبيعة لاستكشاف النباتات الطبية كمصادر لمركبات تمتلك خصائص علاجية وفعالية تثبيطية ضد مسببات المرضية.

يعتبر نبات الزوفا *Hyssopus officinalis* من أهم النباتات الطبية التي تمتلك تاريخ طويل في الطب الشعبي، نظراً لامتلاكه مركبات كيميائية فعالة هامة في هذا المجال (Moghaddam & Mehdizadeh, 2023; Radu et al., 2022)، والزوفا هو نبات عشبي معمر ينتمي إلى الفصيلة الشفوية (*Lamiaceae*)، وتعود القيمة الدوائية لهذا النبات إلى تنوع طيفه الكيميائي من الزيوت الطيارة، والمركبات الفينولية والفلافونويدات والأحماض الفينولية مثل حمض الروزمارينيك (*Rosmarinic acid*) وحمض الكلوروجينيك (*Chlorogenic acid*)، والتربينات مثل البينكامفون (*Pinocamphone*) وتعمل هذه المركبات كمضادات أكسدة قوية ومواد مضادة للأحياء الدقيقة من خلال قدرتها على تعطيل الإنزيمات الميكروبية والارتباط بالبروتينات الغشائية (Grigore et al., 2020).

يعتمد التباين في التركيب الكيميائي لمستخلصات الزوفا بشكل كبير على المنطقة الجغرافية وطريقة الاستخلاص، مما يؤثر مباشرة على القدرة التثبيطية للمستخلص (Sharifi-Rad et al., 2022)، كما تخضع المركبات الأيضية الثانوية في جنس الزوفا لتغيرات كبيرة بناءً على العوامل البيئية وطرق الاستخلاص (Sharifi-Rad et al., 2022)، وهو ما أكدته دراسة لـ (Khoshbakht et al., 2024) أظهرت أن اختلاف التركيب الكيميائي للنبات بتغير طريقة الاستخلاص، مما يؤثر بشكل مباشر على قدرة المستخلص على كبح الجذور الحرة وتثبيط الأحياء الدقيقة كما أشار (Vlase et al., 2014) إلى أن التركيب الكيميائي لنبات الزوفا يتأثر بالعوامل البيئية والظروف المناخية، ولا سيما الإجهادات المرتبطة بالبيئات شبه الجافة، إلى يؤثر في تركيز المركبات الفينولية والبوليفينولية في مستخلصات نبات الزوفا، وهو ما ينعكس إيجاباً على النشاط المضاد للأكسدة والفعالية التثبيطية ضد بعض الأحياء الدقيقة، وتمتلك المستخلصات المعتمدة على الأجزاء الهوائية المزهرة (الأزهار) تركيز أعلى من مضادات الأكسدة والمركبات الفينولية مقارنة بالجذور (Boroja et al., 2018).

برزت تقنية الاستخلاص بمساعدة الموجات فوق الصوتية (Ultrasound-Assisted Extraction - UAE) كبديل لطرق النقع والتقطير التقليدية (Picot-Allain et al., 2021) التي تستهلك كميات أكبر من المذيبات وتستغرق زمناً طويلاً قد يؤدي لتفكك بعض المركبات الحساسة، وهي تعد تقنية خضراء (Green Technology) تهدف إلى تحسين مردود استخلاص المركبات النشطة حيويًا (Ozkahraman et al., 2023)، وتعتمد هذه التقنية على طاقة الموجات الصوتية التي تؤدي لإحداث فجوات دقيقة (ظاهرة التكيف Cavitation) في الأنسجة النباتية مما يسهل خروج المركبات الفينولية إلى المذيب، سواء كان ماءً أو كحولاً (Chemat et al., 2017; Khan et al., 2023). تعتمد فعالية هذه المستخلصات بشكل أساسي على تقنية وكفاءة الاستخلاص المستخدمة في تحديد فعاليتها البيولوجية، قدرتها على تثبيط السلالات البكتيرية الممرضة، ومن أبرز هذه السلالات بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*، وهي بكتيريا ممرضة موجبة الغرام ترتبط بالعديد من الإصابات الجلدية والجهازية، وبكتيريا الإشريكية القولونية *Escherichia coli*، وهي بكتيريا ممرضة سالبة الغرام، تعد المسؤول الأول عن عدوى الجهاز البولي واضطرابات الجهاز الهضمي، كما تعتمد الفعالية البيولوجية للمستخلص على طبيعة المذيب المستخدم، فقد بين Zubair وآخرون (2022) أن قطبية المذيب تلعب دوراً هاماً في تحديد كمية الفينولات المستخلصة من الزوفا، حيث تتفوق المذيبات الكحولية غالباً في استخلاص

المركبات العطرية، كما ذكر (Al-Dhabi et al., 2021) أن دمج الموجات فوق الصوتية مع المذيبات القطبية يعزز من كفاءة استخلاص المركبات الكيميائية النباتية في عائلة *Lamiaceae* بشكل عام، وهو ما وجدته (Vlase et al., 2019) في دراسة للمقارنة بين مستخلصي نبات الزوفا والخزامى، مظهرًا تفوق الزوفا في محتواها من البوليفينولات عند استخدام ظروف الاستخلاص المحسنة.

أظهر المستخلص الميثانولي لنبات *H. officinalis* فعالية تثبيطية واسعة الطيف (Broad-spectrum) ضد 12 نوعاً من البكتيريا، وكانت بكتيريا *Staphylococcus aureus* هي الأكثر حساسية (Yesil-Celiktas et al., 2007)، ويعزى ذلك إلى أن الكحول يستخلص التربينات التي تعمل على زعزعة استقرار الغشاء البلازمي للبكتيريا. بينت دراسة لـ (Hossein-zadeh et al., 2020; Fraternal et al., 2021) أن المستخلصات المائية للزوفا قد تكون أقل كفاءة من الإيثانولية في تثبيط البكتيريا سالبة الغرام (مثل *Escherichia coli*)، ويُعزى ذلك إلى انخفاض قدرة الماء على استخلاص المركبات الفينولية والتربينية ذات النشاط الحيوي المرتفع، ولكنها تظهر فعالية ملحوظة ضد الفطريات الجلدية وبعض أنواع الخمائر مثل *Candida albicans* وكذلك قارن (Hossein-zadeh et al., 2020) بين فعالية المستخلصات المائية والكحولية، ووجد أن كلاهما يمتلك خصائص تثبيطية، لكن الكحولية كانت أكثر كفاءة في اختراق جدران الخلايا الميكروبية، وهو ما ذكره أيضاً (Wang et al., 2024) في دراسة قارنت بين فعالية المستخلصات المائية والإيثانولية ضد البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية، مشيرة إلى أن الإيثانول يستخلص مركبات أكثر تأثيراً على أغشية الخلايا البكتيرية، وأكدت بعض الدراسات أن الزيوت الطيارة في المستخلص الميثانولي للزوفا تمتلك قدرة تثبيطية قوية ضد مجال واسع من البكتيريا والفطور (Boroja et al., 2018; Fraternal et al., 2021).

على الرغم من وجود العديد من الدراسات حول نبات الزوفا، إلا أن الدراسات حول استخلاص الزوفا باستخدام الأمواج فوق الصوتية وتأثير ذلك على الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة ما زالت محدودة، لذلك يهدف هذا البحث لتقييم الفعالية التثبيطية للمستخلصات الكحولية المائية لنبات *H. officinalis* بتقنية الأمواج فوق الصوتية UAE ضد السلالات القياسية (*S. aureus* (ATCC 25923) و (*E. coli* (ATCC 25922) وتحديد الشروط المثلى للاستخلاص للوصول للفعالية القصوى.

المواد والطرائق:

1. جمع النباتات:

تم جمع نباتات الزوفا من منطقة الشيخ بدر في محافظة طرطوس حيث جُمعت سوق وأزهار النبات حديثة القطاف خلال النصف الأول من شهر نيسان من عام 2026 وأزيلت عنها التربة والشوائب ثم فصلت الأزهار عن السوق وغسلت بالماء المقطر وجُففت في الظل لمدة ثلاثة أيام، بعدها طحنت باستخدام طاحونة منزلية (KENWOOD, 400W)، ووضع المسحوق الجاف في أكياس بولي إيثيلين محكمة الإغلاق عند درجة حرارة 4°C لحين الاستخلاص في اليوم التالي.

2. الاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية:

تم استخلاص الزوفا وفق ما ذكره (Al-Dhabi et al., 2021) مع بعض التعديل حيث تم خلط 10 غرام من مسحوق الزوفا المحضر سابقاً مع 200 مل من المذيب الكحولي لكل تجربة استخلاص ووُضعت الأوعية التي تحتوي على المذيب والعينات في حمام مائي يعمل بالموجات فوق الصوتية (Elmasonic, S60H) مزود بنظام تحكم في درجة الحرارة والزمن، ويعمل بتردد ثابت 37 كيلوهرتز حيث تم الاستخلاص عند ثلاثة مستويات زمنية مختلفة (10، 25، و 40 دقيقة) وثلاثة مستويات من درجة الحرارة (25°C و 40 و 55) ولثلاثة تراكيز من المذيب الكحولي (50 و 65 و 80 : كحول/ماء)، وبعد انتهاء الاستخلاص تم إجراء طرد

مركزي للمستخلصات بسرعة 4000 دورة في الدقيقة لمدة 30 دقيقة، ثم فصل السائل الطافي وتم ترشيحه لإزالة البقايا النباتية، وتم بعد ذلك تجفيف المستخلصات في فرن تجفيف تحت التفريغ مضبوط عند درجة الحرارة 40°C لمدة 48 ساعة ثم حفظت جميع العينات بعد حلها بتركيز 500mg في 2مل من الـ DMSO عند درجة حرارة -18°C حتى وقت اختبار الفعالية الميكروبية.

3. تحديد الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة:

تم أولاً تنمية المستعمرات الجرثومية في مرق اللحم المغذي عند درجة الحرارة 37°C وعند العمل لم يتجاوز عمر السلالة الجرثومية 24 ساعة.

استخدم وسط مولر هنتون كوسط مغذي تم سكبه في أطباق بتري بلاستيكية معقمة بعمق 3mm عند درجة الحرارة 45°C وبعد التصلب تم وضع أقراص التثبيط بعد إشباعها بـ 50 ميكرو لتر من المستخلص النباتي حيث ستكون المنطقة المحيطة بالقرص خالية من الجراثيم في حال كان المستخلص فعالاً عليها، وتم تكرار كل عينة ثلاث مرات مع أخذ قيم المتوسطات. تم تقييم النتائج بقياس أقطار التثبيط بالمسطرة المدرجة بوحدة الـ $50\mu\text{l}/\text{mm}$ وذلك عند نهاية فترة التحضين (24 ساعة عند درجة الحرارة 37°C).

التحليل الإحصائي:

تم تحديد شروط الاستخلاص باستخدام منهجية تحليل سطح الاستجابة وتصميم بوكس بنكن حيث يستخدم لاختبار العلاقة بين تأثير شروط الاستخلاص المختلفة (الزمن ودرجة الحرارة وتركيز المذيب الكحولي) والنشاط المضاد للأحياء الدقيقة، باستخدام برنامج MINITAB 17 عند مستوى موثوقية 95% و $\alpha=0.05$.

النتائج:

يبين الجدول (1) نتائج أقطار التثبيط الناتجة عن الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة ضد كل من بكتريا *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* ATCC25922 عند شروط الاستخلاص المحددة بمصفوفة التجارب التي تم الحصول عليها وفق منهجية سطح الاستجابة وهي 15 تجربة.

الجدول (1): تأثير شروط الاستخلاص المختلفة على أقطار التثبيط

رقم التجربة	الزمن (min)	درجة الحرارة ($^{\circ}\text{C}$)	تركيز المذيب كحول / ماء مقطر (%)	قطر التثبيط <i>S. aureus</i> قطر d (mm)	قطر التثبيط <i>E. coli</i> d (mm)
1	20	25	80	16.55	10.15
2	10	55	65	13.33	11.25
3	30	25	65	14.33	11.35
4	20	25	50	13.00	7.30
5	10	40	80	16.27	10.45
6	20	40	65	19.75	14.75
7	30	40	50	13.63	9.25
8	30	40	80	17.55	12.75
9	20	55	50	13.05	9.00
10	20	55	80	18.55	12.10
11	10	40	50	11.73	8.45
12	20	40	65	18.95	14.35
13	20	40	65	18.45	13.95
14	10	25	65	12.45	9.05

11.95	15.20	65	55	30	15
14.05	23.65	قطر تثبيط باستخدام Linezolid (dmm)			
10.00	14.05	قطر تثبيط باستخدام Cefepime (dmm)			

وبين الجدول (2) التأثير المعنوي الهام لشروط الاستخلاص من خلال قيم P الإحصائية مع استبعاد التأثيرات غير الهامة معنوياً:

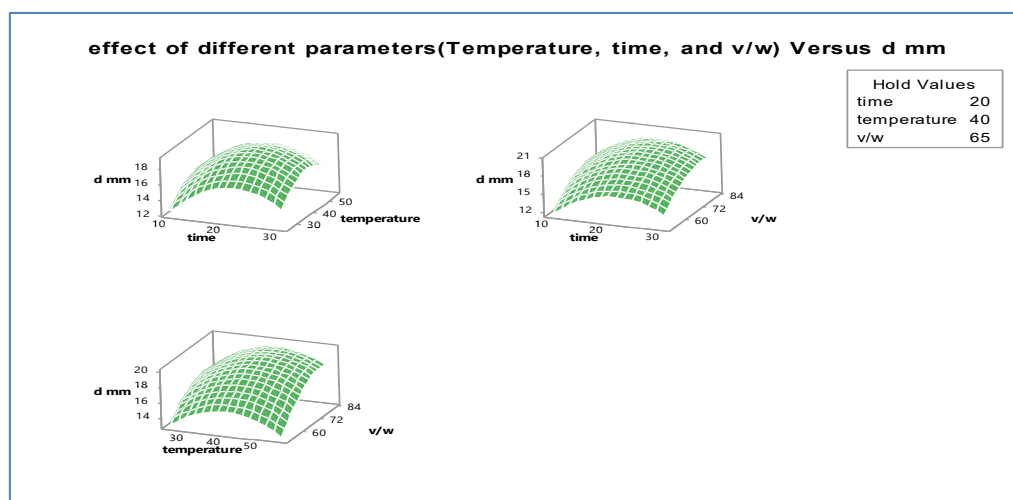
الجدول (2): نتائج التحليل الإحصائي لشروط الاستخلاص المختلفة على أقطار التثبيط

<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	الرمز	شروط الاستخلاص
P-value	P-value		
0.00	0.01	X ₁	درجة الحرارة °C
0.00	0.00	X ₂	زمن الاستخلاص دقيقة
0.00	0.00	X ₃	تركيز المذيب كحول/ماء
0.021	0.00	X ₁ ²	(درجة الحرارة °C) ²
0.00	0.02	X ₂ ²	(زمن الاستخلاص دقيقة) ²
0.00	0.00	X ₃ ²	(تركيز المذيب كحول/ماء) ²
>0.05	0.04	X ₃ *X ₁	(درجة الحرارة °C)*(تركيز المذيب كحول/ماء)
0.031	>0.05	X ₂ *X ₁	(درجة الحرارة °C)*(زمن الاستخلاص دقيقة)
0.03	>0.05	X ₃ *X ₂	(زمن الاستخلاص)*(تركيز المذيب كحول/ماء)
0.933	0.986	عدم ملائمة المتغيرات مع النموذج	
97.54	%96.95	R ²	

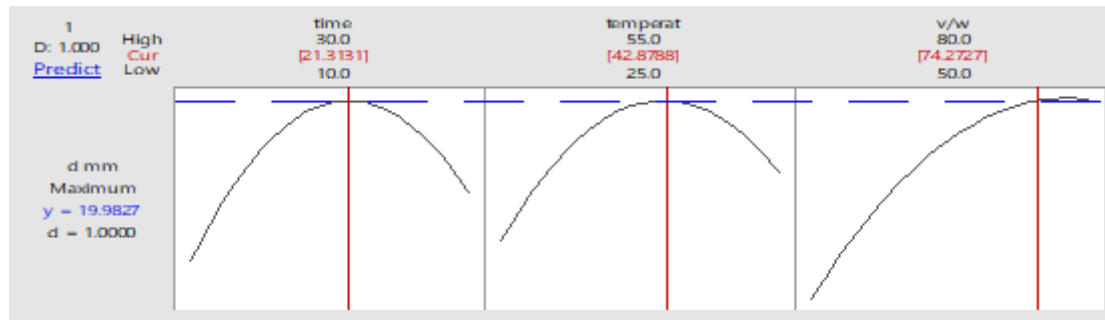
تم الحصول على معادلة من الدرجة الثانية لتأثير شروط الاستخلاص على الفعالية المضادة لبكتريا *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 بعد استبعاد الحدود غير المؤثرة معنوياً كما يلي:

$$\text{قطر التثبيط (d mm)} = -42.29 + 0.7317 X_1 + 1.2296 X_2 + 0.867 X_3 - 0.010511 X_1^2 - 0.02857 X_2^2 - 0.006211 X_3^2 + 0.002167 X_1 * X_3$$

ويبين الشكل (1) التمثيل البياني ثلاثي الأبعاد لتأثير شروط الاستخلاص المختلفة على الفعالية المضادة لبكتريا *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 كما يبين الشكل (2) أن الشروط المثلى التي تحقق أكبر قطر تثبيط لهذه البكتيريا هي درجة الحرارة 42.9°C لمدة 21.3 دقيقة باستخدام مذيب كحولي تركيزه 74.2% كحول/ماء، وعند تطبيق هذه الشروط عملياً حصلنا على قطر تثبيط 19.50mm وهذه القيمة متقاربة مع قيمة قطر التثبيط النظرية التي تم الحصول عليها حسب المعادلة وهي 19.98mm



الشكل (1): التمثيل البياني ثلاثي الأبعاد لتأثير شروط الاستخلاص المختلفة على الفعالية المضادة لبكتريا *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



الشكل (2): الشروط المثلى التي تحقق أكبر قطر تثبيط لبكتيريا *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

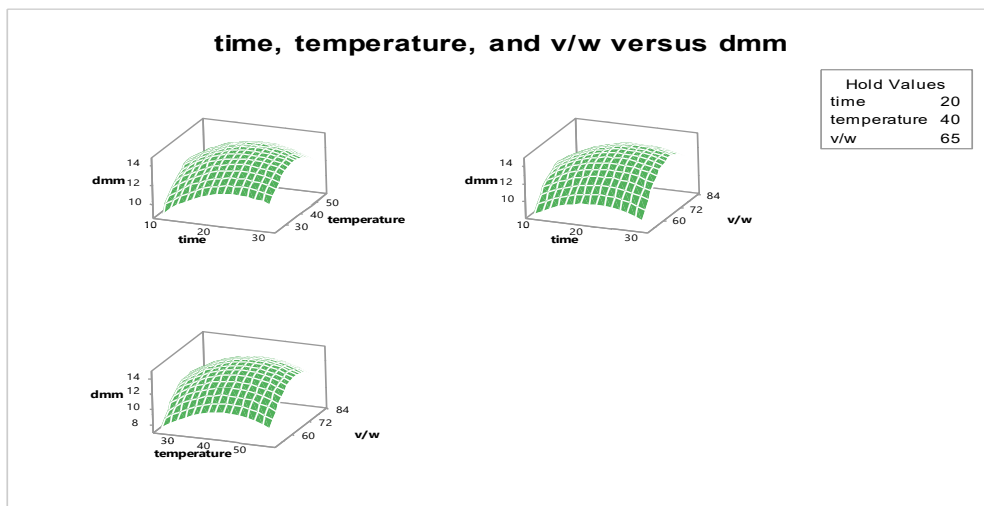
أما معادلة قطر تثبيط بكتيريا *E. coli* بدلالة شروط الاستخلاص المختلفة وبعد حذف التأثيرات غير الهامة معنوياً كانت كما يلي:

$$\text{dmm} = -64.74 + 0.8252 X_1 + 0.5915 X_2 + 1.5922 X_3 - 0.009011 X_1^2 - 0.01447 X_2^2 - 0.011900 X_3^2 - 0.002500 X_1 * X_2 + 0.002500 X_2 * X_3$$

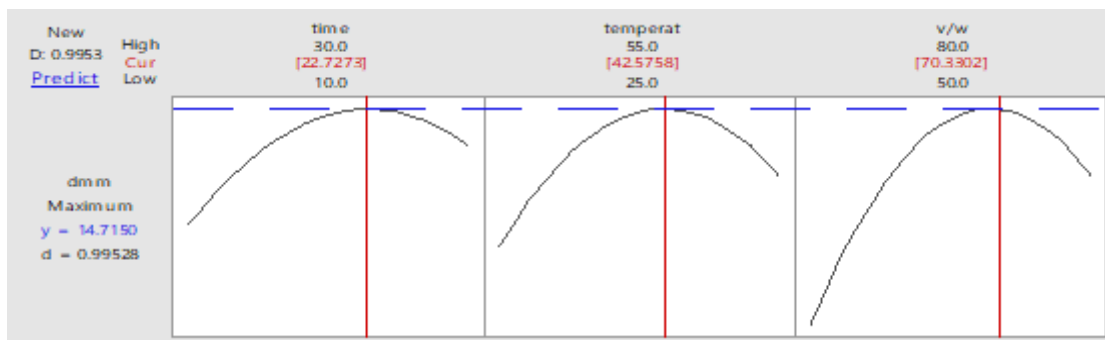
ويبين الشكل (3) التمثيل البياني ثلاثي الأبعاد لتأثير شروط الاستخلاص المختلفة على الفعالية المضادة لبكتيريا *Escherichia coli* ATCC25922

كما يبين الشكل (4) أن الشروط المثلى التي تحقق أكبر قطر تثبيط لهذه البكتيريا هي درجة الحرارة 42.6°C لمدة 22.73 دقيقة باستخدام مذيب كحولي تركيزه 70.33% كحول/ماء، وعند تطبيق هذه الشروط عملياً كان قطر التثبيط 14.5mm

وهذه القيمة متقاربة مع قيمة قطر التثبيط النظرية التي تم الحصول عليها حسب المعادلة وهي 14.18mm.



الشكل (3): التمثيل البياني ثلاثي الأبعاد لتأثير شروط الاستخلاص المختلفة على الفعالية المضادة لبكتيريا *Escherichia coli* ATCC25922



الشكل (4): الشروط المثلى التي تحقق أكبر قطر تثبيط لبكتيريا *Escherichia coli* ATCC25922

تبين نتائج التحليل الإحصائي لأقطار تثبيط كل من بكتيريا *Staphylococcus aureus* ATCC25923 و *Escherichia coli* ATCC25922 فعالية الاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية في تحرر المركبات الفعالة ضد نمو هاتين السلالتين وهو ما

يتوافق أيضاً مع ما ذكره (Picot-Allain *et al.*, 2021) بأن الأمواج فوق الصوتية تزيد من تحرر المركبات الفينولية والتربينات من خلال تفكيك الجدار الخلوي للنبات وبالتالي تسهيل انتقالها إلى المذيب، كما توضح القيم الخطية في النموذجين اللذين تم الحصول عليهما أن زيادة درجة الحرارة تزيد من قطر التثبيط حيث أن ارتفاع درجة الحرارة يزيد من انحلال المركبات الفعالة في المذيب أثناء استخلاصها كما يخفض من لزوجة مزيج المذيب مع المركبات المستخلصة مما ينعكس على زيادة مردود الاستخلاص وبالتالي الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة المتمثلة بقطر التثبيط وكذلك الأمر بالنسبة لزيادة تركيز المذيب الكحولي التي تزيد من فعالية انتقال المركبات الفعالة إلى طبقة المذيب وأيضاً بالنسبة لمدة الاستخلاص التي يزداد بازديادها مدة التماس بين المركبات الفعالة المستخلصة والمذيب وبالتالي زيادة مردود استخلاصها الذي ينعكس على زيادة قطر التثبيط، ومن جهة أخرى ومن خلال تتبع تأثير الشروط المختلفة للاستخلاص بالقيم التربيعية السالبة في كلا النموذجين يتضح بأن تأثير هذه المتغيرات على قطر التثبيط ليس خطياً بشكل تام حيث يزداد قطر التثبيط بازدياد المتغيرات المدروسة إلى الحدود التي تمثل الظروف المثلى للاستخلاص وهي لبكتريا الـ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 عند درجة حرارة 42.9°C لمدة 21.5 دقيقة وباستخدام مذيب 74.3% (كحول / ماء) حيث كان قطر التثبيط عند هذه الشروط 19.92mm، ولبكتريا الـ *Escherichia coli* ATCC25922 عند درجة حرارة 42.6°C لمدة 22.7 دقيقة وللمذيب الكحولي بتركيز 70.33% (كحول/ماء) حيث أعطى أعلى فعالية تثبيط عند هذه الشروط وهو 14.65mm وعند تغير هذه الشروط تنخفض الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة حيث ينقص قطر التثبيط حتى لو ازدادت قيم المتغيرات وهو ما يتوافق مع ما ذكره (Al-Dhabi *et al.*, 2021) ويعود ذلك إلى أن التأثير المفرط لدرجة الحرارة وكذلك لمدة الاستخلاص وارتفاع تركيز المذيب يؤدي إلى تخرب في بنية المركبات الفعالة نتيجة تأثيرات الأكسدة والتفكك بالمقارنة مع حالة التوازن في قيم المتغيرات التي تم التوصل إليها من خلال التجارب العملية والنموذجين الرياضيين اللذين تم الحصول عليهما، كما يلاحظ أيضاً من خلال النتائج أن قطر التثبيط لبكتريا *Escherichia coli* ATCC25922 أقل من ذلك المحقق لبكتريا الـ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 عند نفس شروط الاستخلاص حيث يفسر ذلك بأن التعقيد في بنية الجدار الخلوي للبكتريا سالبة الغرام الذي يقلل من قدرة المركبات الفعالة على اختراق الغشاء الخلوي للبكتريا وبالتالي التأثير فيها وتثبيط نموها (Hosseinzadeh *et al.*, 2020).

الاستنتاجات:

بينت الدراسة الفعالية الحيوية العالية للمستخلص الكحولي لأزهار نبات الزوفا (*Hyssopus officinalis*)، المستخلص بمساعدة الأمواج فوق الصوتية في تثبيط نمو كل من بكتريا *Escherichia coli* ATCC25922 وبكتريا الـ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 وأظهر تحليل نتائج الدراسة الإحصائية وفق منهجية سطح الاستجابة كفاءة ودقة تحديد الظروف المثلى للاستخلاص من درجة حرارة وزمن استخلاص وتركيز المذيب (الكحول/الماء) في تحسين العائد من المركبات الفعالة حيوياً الذي انعكس على زيادة قطر التثبيط الميكروبي ضد نوعي البكتريا المستهدفة.

يوصى باستخدام الاستخلاص الكحولي لأزهار نبات الزوفا (*Hyssopus officinalis*) وفق الشروط المثلى التي تم الوصول إليها من خلال هذه الدراسة للحصول على مستخلص طبيعي يستخدم كبديل آمن للمواد الحافظة الكيميائية في التطبيقات الغذائية والدوائية، كما يوصى بإجراء بحوث أكثر تعمقاً لعزل وتوصيف المركبات الفعالة حيوياً الداخلة في تركيب المستخلص وآلية عملها الدقيقة داخل الخلايا الميكروبية.

المراجع:

- Al-Dhabi, N. A., Arasu, M. V., & Park, C. H. (2021). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phytochemicals from medicinal plants of the Lamiaceae family. *Journal of King Saud University – Science*, **33**(3), 101410.
- Boroja, T., Mihailović, V., Katanić, J., Pan, S. P., Nikles, S., Imbimbo, P., Monti, D. M., Stanković, N., Mihailović, M., Bauer, R., & Stanković, M. (2018). The biological activities of roots and aerial parts of *Hyssopus officinalis* L. *Industrial Crops and Products*, **111**, 568–581.
- Chemat, F., Tomao, V., & Viot, M. (2017). Ultrasound-assisted extraction in food analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **97**, 170–182.
- Fraternal, D., Flamini, G., Ascrizzi, R., & Rossi, D. (2021). Antimicrobial and antioxidant activity of *Hyssopus officinalis* essential oil and extracts. *Plants*, **10**(4), 678.
- Grigore, A., Colceru-Mihul, S., Litescu, S., Panteli, M., & Rasit, I. (2020). Chemical composition and biological activities of *Hyssopus officinalis* L.: A review. *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*, **24**(1), 120–126.
- Hosseinzadeh, S., Jafarikukhdan, A., Hosseini, A., & Armand, R. (2020). Evaluation of antibacterial and antifungal effects of aqueous and alcoholic extracts of *Hyssopus officinalis*. *Journal of HerbMed Pharmacology*, **9**(3), 250–257.
- Khan, M. A., Ali, S., Abideen, Z., & Rizvi, T. S. (2023). Advances in green extraction technologies for medicinal plants. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, **24**(9), 1123–1141.
- Khoshbakht, T., Karami, A., Tahmasebi, A., & Maggi, F. (2024). Effect of different extraction methods on the chemical composition, antioxidant, and antimicrobial activities of plant extracts. *Journal of Medicinal and Aromatic Plants*.
- Moghaddam, M., & Mehdizadeh, L. (2023). Chemistry of *Hyssopus officinalis* L. and its pharmacological activities. In A. M. Grumezescu & A. M. Holban (Eds.), *Herbal Medicine in the Treatment of Infectious Diseases* (pp. 245–268). *Academic Press*.
- Ozkahraman, B., Yilmaz, M. A., & Kaska, A. (2023). Green extraction of bioactive compounds from *Hyssopus officinalis* using ultrasound-assisted extraction. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, **35**, 101210.
- Picot-Allain, C., Mahomoodally, M. F., Ak, G., & Zengin, G. (2021). Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from medicinal plants: A review. *Food Reviews International*, **37**(7), 749–776.
- Radu, F., Oprea, E., & Badea, M. L. (2022). Antimicrobial potential of Lamiaceae species with emphasis on *Hyssopus officinalis*. *Antibiotics*, **11**(9), 1187.
- Sharifi-Rad, J., Quispe, C., Kumar, M., Akram, M., Amin, M., Iqbal, M., Koirala, N., Sytar, O., Kregiel, D., Nicola, S., Ertani, A., Victoriano, M., Khosravi-Dehaghi, N., Martorell, M., Alshehri, M. M., Butnariu, M., Pentea, M., Rotariu, L. S., Calina, D., Cruz-Martins, N., & Cho, W. C. (2022). *Hyssopus* essential oil: An update of its phytochemistry, biological activities, and safety profile. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2022**, Article 8442734, 1–10.
- Vlase, L., Benedec, D., Hanganu, D., Damian, G., Csillag, I., Sevastre, B., Mot, A. C., Silaghi-Dumitrescu, R., & Tilea, I. (2014). Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities and phenolic profile for *Hyssopus officinalis*, *Ocimum basilicum* and *Teucrium chamaedrys*. *Molecules*, **19**(5), 5490–5507.
- Vlase, L., Benedec, D., Hanganu, D., Damian, G., Csillag, I., Sevastre, B., Mot, A., Silaghi-Dumitrescu, R., & Tilea, I. (2019). Comparative study of polyphenolic content and

biological activity of *Hyssopus officinalis* L. and *Lavandula angustifolia* Mill. *Farmacia*, **67**(4), 645–652.

- Wang, J., Liu, Y., Zhang, H., & Chen, X. (2024). Comparative efficacy of aqueous and ethanolic extracts of *Hyssopus officinalis* against multidrug-resistant bacteria. *Frontiers in Microbiology*, **15**, 1354478.
- Yesil-Celiktas, O., Kocabas, E. E. H., Bedir, E., Vardar-Sukan, F., Ozek, T., & Baser, K. H. C. (2007). Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*, **100**(2), 553–559.
- Zubair, M., Nybom, H., Lindholm, C., & Rumpunen, K. (2022). Effect of solvent polarity on phenolic composition and antioxidant activity of *Hyssopus officinalis* extracts. *Molecules*, **27**(15), 4721.

Study of the Antimicrobial Activity of the Alcoholic Extract of *Hyssopus officinalis* Flowers Using Ultrasound-Assisted Response Surface Methodology

Raeda Salah*¹ and Enaam AlSaty¹

¹ Faculty of Pharmacy, Tartous University, Tartous, Syria.



(Corresponding author: Raeda Salah, Email: selenamah20614@gmail.com Tel: 0932022672)

Received: 10/05 /2026

Accepted: 1/07 /2026

Abstract

This study aimed to evaluate the effectiveness of ultrasound in extracting compounds with microbial activity from the flowers of *Hyssopus officinalis* using aqueous alcoholic solvents. For this purpose, we used the response surface methodology and the Box-Bennkin design to determine the optimal extraction parameters: extraction time (10, 20, and 30 minutes), ethyl alcohol concentration (alcohol/water ratio: 50, 65, and 80%), and extraction temperature (25, 40, and 55) °C to achieve maximum antibacterial activity against both *Escherichia coli* ATCC25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC25923, which was measured by the diffusion method using discs impregnated with hyssop extract and by measuring the diameter of inhibition (dmm). By analyzing the effect of extraction conditions on the antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, we were able to express the inhibition diameter using a second-order mathematical model with an R² value of 96.95%. This model showed that extraction at 42.9°C for 21.5 minutes using a 74.3% solvent (alcohol/water) yielded the highest activity against the growth of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, with an inhibition diameter of 19.92 mm. Similarly, by analyzing the effect of extraction conditions on the antimicrobial activity against *Escherichia coli* ATCC 25922, we were able to express the inhibition diameter using a second-order mathematical model with an R² value of 97.54%. This model showed that the optimal extraction conditions were 42.6°C for 22.7 minutes with a 70.33% alcohol solvent. (Alcohol/Water) where it gave the highest inhibition efficacy under these conditions, which is 14.65mm.

Keywords: Hyssopus, extraction, ultrasound, antimicrobial activity, inhibition diameter.