

(مقاله پژوهشی)

مقایسه اثرات ضد باکتریایی دو نوع هیدروژل کیتوزانی و کربوکسی متیل سلولزی حاوی عصاره سیر بر باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس، اش‌ریشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا

مهدی شهریاری نور^۱، فتن دیوسر^{۲*}، فریماه خوشابری^۱، سیده مرضیه میراحمدی^۲، زهرا بابایی کسمایی^۱

۱- گروه میکروبیولوژی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران.

۲- گروه شیمی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۳۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۲۲

چکیده

سیر (Garlic) با نام علمی *Allium Sativum* گیاهی ست متعلق به خانواده لیلیاسه که بومی آسیای میانه است. این گیاه از قرن ها قبل به عنوان ادویه و چاشنی غذا و نیز به عنوان دارو در طب گیاهی در درمان انواع مختلف بیماری ها استفاده می گردید. خاصیت ضد میکروبی عصاره سیر از طریق تست آنتی بیوگرام بررسی گردید. حداقل غلظت کشندگی (MBC¹) و حداقل غلظت بازدارندگی (MIC²) به روش رقت سازی در لوله و چاهک گذاری مطالعه شد. پس از آن هیدروژل بر پایه کیتوزان و همچنین هیدروژل بر پایه کربوکسی متیل سلولز سنتز شدند. ساختار هیدروژل ها توسط دستگاه های طیف سنج تبدیل فوریه-مادون قرمز^۳، میکروسکوپ الکترونی روبشی^۴ و سنجش توزین حرارتی^۵ بررسی شد. میزان تورم هیدروژل و رهائش عصاره از هیدروژل اندازه گیری شد. سپس خاصیت ضد میکروبی هیدروژل حاوی عصاره سیر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تست حداقل غلظت بازدارندگی عصاره برای استافیلوکوکوس اورئوس و اش‌ریشیاکلی به ترتیب ۰/۰۲۴ و ۰/۰۴۹ گرم بر میلی لیتر بود. همچنین حداقل غلظت کشندگی عصاره برای استافیلوکوکوس اورئوس و اش‌ریشیاکلی به ترتیب برابر با ۰/۰۴۹ و ۰/۰۹۸ گرم بر میلی لیتر به دست آمد. بدین ترتیب مشخص گردید فعالیت ضد میکروبی گیاه سیر روی باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس بیشتر از باکتری گرم منفی اش‌ریشیاکلی بود. عصاره بارگذاری شده در هر دو هیدروژل رهاسازی تدریجی بود. همچنین هیدروژل های حاوی عصاره خاصیت مهار رشد و مرگ را در باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و اش‌ریشیاکلی نشان دادند اما روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا هیچ گونه اثری نداشتند.

واژه های کلیدی: اثر ضد میکروبی، عصاره سیر، هیدروژل بارگذاری شده، استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا.

* مسئول مکاتبات: divsar@gmail.com

1 Minimum bactericidal concentration
2 Minimum inhibitory concentration
3 Fourier transform infrared (FTIR)
4 Scanning. electron microscopy (SEM)
5 Thermo gravimetric analysis (TGA)

۱- مقدمه

استفاده بیش از حد از آنتی بیوتیک ها اغلب باعث مقاومت روزافزون باکتری ها به این داروها شده است. همچنین، مصرف بی رویه آنتی بیوتیک ها غالباً با عوارض جانبی در بدن انسان همراه است. به همین منظور استفاده از گیاهان دارویی با داشتن ترکیبات فعال دارویی و تغذیه ای در بهبود روش های درمانی و احتمالاً جایگزینی درمان های کلاسیک می تواند موثر باشد. براساس گزارش سازمان بهداشت جهانی استفاده از داروهای گیاهی در کشورهای توسعه یافته باعث شده تا ۸۰٪ از جمعیت این کشورها به طب سنتی روی آورند (۸). بی شک، استفاده از گیاهان دارویی بهترین دستاورد بشر برای درمان بیماری ها بوده است. در خلال توسعه تمامی تمدن های بشری همواره ارتباطی تنگاتنگ و نزدیک میان آدمی و گیاه وجود داشته است. با توجه به مقاومت دارویی و عوارض جانبی داروهای ضد میکروبی شیمیایی، توجه تحقیقات علمی به منابع طبیعی در چند دهه اخیر بسیار فراوان می باشد. از جمله در تحقیقات متعددی، اثرات ضد میکروبی گیاهان مختلف به اثبات رسیده است (۶). روغن های اسانس گیاهی غالباً در ساختارشان دارای گروه های فنولیک هستند که شامل ترکیبات فنلی، فلاوونول، فلاوونوئیدها، گلیکوزیدها، الکلئوئیدها و پلی استیلن ها می باشند. این ترکیبات اخیراً به علت خاصیت مهارکنندگی و کشندگی میکرواورگانیسم های پاتوژن مورد توجه قرار گرفته اند (۴). عصاره سیر دارای محتوی فنلی بالایی بوده و از خاصیت آنتی اکسیدانی مناسبی برخوردار است. سیر همچنین دارای ترکیبات آلی گوگرددار است که بسیار واکنش پذیرند و خاصیت ضد میکروبی وسیع بر روی باکتری ها حتی در غلظت های بسیار پایین دارند. آلیسین یادی آلیل دی سولفید اکسید مهم ترین ترکیب گوگردی سیر که قابلیت مهار توانایی رشد و تکثیر میکروب را داشته و خاصیت ضد ویروسی، قارچی، باکتریایی و آنتی اکسیدانی نشان می دهد (۱). به طور کلی، ترکیبات فعال زیستی از جمله آنتی اکسیدان ها، ریز مغذی هایی همچون سلنیوم و ترکیبات مهارکننده رشد سلولهای

سرطانی نظیر آلیسین و دی آلیل تری سولفید، که در گیاهان دارویی از جمله سیر یافت می شوند، نقش مهم ضد توموری و ضد میکروبی دارند و می توانند به عنوان منبع بالقوه ای جهت ساخت ترکیبات دارویی مورد استفاده قرار بگیرند و در درمان بسیاری بیماری ها موثر باشند (۷). هیدروژل ها شبکه های پلیمری آب دوست با ظرفیت جذب آب بال می باشند. اکثر هیدروژل ها به محرک های محیطی مانند pH، قدرت یونی، نسبت های جزئی سازنده، حلال، نور و میدان الکتریکی پاسخ می دهند (۲، ۳ و ۵). این ویژگی های منحصر به فرد، یک طیف وسیعی از کاربردها را برای استفاده از هیدروژل ها ایجاد کرده است. این کاربردها شامل مهندسی بافت، ماهیچه های مصنوعی، پوشش های زخم، آنزیم زیست حسگر، لنز تماسی، رهایش دارو، آماده سازی ذرات فلزی، جذب رنگ، کشاورزی (کودها یا آفت کش ها)، فیلترها، کاتالیست و مواد شفاف نوری می باشد (۲۰، ۹). خصلت آب دوستی هیدروژل ها ویژگی مهمی برای کاربردهای دارورسانی است (۱۴). هیدروژل ها همچنین با ساختمان شبکه ای با بیش از ۹۰٪ آب و توانایی متورم شدن، به صورت پانسمان تهیه شده اند و به عنوان مواد زیستی (Biomaterial) در درمان انواع زخم های ناشی از سوختگی، شکستگی، تاول های عفونی و عمل جراحی جراحی کاربرد روزافزونی پیدا کرده اند (۲۴). این زخم پوش ها معمولاً از ژلاتین یا پلی ساکارید ساخته می شوند که به وسیله عوامل شبکه ساز یا اتصال دهنده های عرضی (به اصطلاح کراس لینکر)، شبکه می شوند. زخم پوش های هیدروژلی قابلیت جذب ترشحات زخم و مرطوب نگه داشتن زخم را دارا هستند که این ویژگی خود می تواند به بهبود زخم کمک کند. از سوی دیگر، به دلیل این که آب بخش مهمی از سلول ها را تشکیل می دهد، قابلیت تورم پلیمرهای مذکور باعث می شود سطحی سرد را روی زخم ایجاد کنند که این موضوع به کاهش درد بیمار منجر می شود. همچنین، هیدروژل ها دارای سازگاری با بدن و فاقد سمیت می باشند (۱۲). از میان آن ها می توان به انواعی نظیر کلاژن، هیالورونات، آلژینات، فیبرین،

آمونیم پرسولفات ($(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$)، اسید استیک ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$). محیط کشت مولر هینتون آگار، کربوکسی متیل سلولز (CMC) همگی از شرکت مرک تهیه شدند. برای تهیه بافر از دو نمک سدیم دی هیدروژن فسفات (NaH_2PO_4) و دی سدیم هیدروژن فسفات (Na_2HPO_4) استفاده شد. برای محلول سازی از آب دوبار تقطیر استفاده شد. عصاره سیر از شرکت مزرعه مروارید دکتر زرقانی خریداری شد. باکتریهای مورد استفاده در این تحقیق از گرم منفیها اشریشیاکلی و از گرم مثبتها استافیلوکوکوس اورئوس انتخاب شدند. شماره یا کد اختصاصی آن ها در کلکسیون باکتری های ایران عبارتند از: *Pseudomonas*، *Escherichia Coli* PTCC 1397، *Staphylococcus aeruginosa* PTCC 1570، *cereus* PTCC 1431

۲-۲- تهیه سوسپانسیون باکتریایی

برای فعال کردن باکتری های مورد آزمایش، ابتدا تحت شرایط استریل سر هر ویال شکسته و محتوی آن داخل محیط مغذی سوین کازین هضم شده، تخلیه شد. سپس سر لوله ها با پنبه پوشانده و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد در گرمخانه قرار داده شدند تا باکتریها رشد کردند. سپس روی محیط جامد مغذی نوترینت آگار کشت داده شدند. پلیت ها به صورت وارونه به مدت ۲۴ ساعت دیگر در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شدند تا کلنی های لازم ایجاد گردد. بعد از آن مقدار ۲ میلی لیتر سرم فیزیولوژی داخل لوله آزمایش ریخته و پس از آن با لوپ تک کلنی از باکتری مورد نظر برداشته و درب آن را با پنبه و پارافیلیم خوب بسته و شیک شد. میزان کدورت آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر سنجیده شد. تا هنگام برابر شدن کدورت محلول با کدورت محلول نیم مک فارلند، با سرم فیزیولوژی رقیق و سوسپانسیون باکتری با تعداد 1×10^8 cfu/ml تهیه گردید.

سلولز، آگارز، دکستران و کیتوزان اشاره نمود. امروزه هیدروژل های تولید شده به صورت طبیعی جایگزین انواع مصنوعی شده اند. این نوع از ساختارها معمولاً خاصیت ژلاتینی و مکانیکی بالاتر و توانایی نگهداری آب بیشتری دارند. کاربرد همزمان چند هیدروژل با یکدیگر نیز به عنوان زخم پوش گزارش شده است. ترکیب آلژینات، کیتوزان و پلی گوتامیک اسید در درمان زخم دیابتیک در مدل موش صحرائی به کار رفته است (۱۵). از آنجا که اسانس و عصاره های گیاهی نظیر سیر، زردچوبه، دارچین و مواد طبیعی دیگر برای ترمیم زخم ها استفاده می شوند، در سال های اخیر، ترکیب آن ها با هیدروژل بسیار مورد توجه قرار گرفته است. برای مثال، اثرات ضد باکتریایی هیدروژل آلژینات به تنهایی و همچنین هیدروژل حاوی عصاره خارشتر، مطالعه شده است (۲۱). نتایج حاکی از فعالیت بهتر هیدروژل آلژینات-عصاره خارشتر نسبت به هیدروژل تنها در مکان زخم بوده است. اثرات ضد درد هیدروژل حاوی اسانس گیاهان رزماری، نعناع فلفلی، کورکومین و پروپولیس نیز بررسی شده است (۱۹، ۱۱). نتایج نشان داد فرایند نانومولسیونه کردن درون هیدروژل، اثر ضد دردی اسانس های رزماری و نعناع فلفلی را تقویت می کند. هدف از انجام این تحقیق سنتز دو نوع هیدروژل برپایه کیتوزان و کربوکسی متیل سلولز و به کارگیری آن ها به عنوان حامل برای عصاره سیر بود. سپس ماهیت ضد باکتریایی هیدروژل های حاوی عصاره بر باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا مطالعه شد. همچنین سنتتیک بارگزاری و رهایش عصاره سیراز هیدروژل های حاوی عصاره نیز بررسی گردید.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد

کیتوزان ($\text{C}_6\text{H}_{11}\text{NO}_4$)، آکریل آمید ($\text{C}_3\text{H}_5\text{NO}$)، متیلن بیس آکریل آمید ($\text{C}_7\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$)، آکرلیک اسید ($\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_2$)،

۳-۲- تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) عصاره سیر با استفاده از روش انتشار در چاهک

جهت انجام محاسبه حداقل غلظت بازدارندگی عصاره سیر، دو باکتری اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس در نظر گرفته شد. ۶ لوله برای باکتری اشریشیاکلی و ۶ لوله برای استافیلوکوکوس اورئوس و همچنین دو لوله ی شاهد ۲وا برای هر باکتری استفاده شد برای هر باکتری، شاهد اول سوسپانسیون باکتری در محیط کشت براث و شاهد دوم عصاره سیر در محیط کشت براث بود. یک کلنی از باکتری اشریشیاکلی و یک کلنی از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در دو لوله آزمایش به صورت مجزا وارد و درون ۴ سی سی سرم فیزیولوژی حل شدند. سپس سر لوله های آزمایش با پنبه پوشانده شد. درون لوله های شماره گذاری شده در شرایط استریل میزان ۲ میلی لیتر از محیط کشت براث ریخته شد. مقدار ۲ میلی لیتر از عصاره سیر را در لوله شماره یک ریخته و سپس از همین لوله ی شماره یک مقدار ۲ میلی لیتر برداشته و به لوله ی شماره دو انتقال داده شد و از همان مجدداً ۲ میلی لیتر برداشته و در لوله شماره سه منتقل شد. این کار تا لوله شماره شش ادامه یافت. سپس داخل هر ۶ لوله مقدار ۲۰۰ میکرولیتر

باکتری مورد نظر را اضافه کرده و درب لوله ها ابتدا با پنبه و بعد با پارافین خوب بسته شد. سپس در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. بعد از ۲۴ ساعت، لوله ها را مشاهده کرده از لوله شماره ۱۱ الی ۶ به ترتیب باید به میزان کدروت آن ها اضافه شود.

۴-۲- تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره سیر برای محاسبه حداقل غلظت کشندگی، محتوی هر لوله به یک پلیت اختصاص داده شد. همچنین دو پلیت مختص به شاهد بود. محتویات هر لوله روی پلیت کشت خطی داده شد تا میزان رشد و عدم رشد باکتری مشاهده شود. پلیت ها به ترتیب از ۱ تا ۶ شماره گذاری شدند. پس از اتمام کشت همه پلیت ها، درب آن ها با پارافینم خوب بسته شد تا آلوده نشوند. سپس در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند و مراحل رشد آن ها بررسی شد. وزن حجمی عصاره سیر ۰/۷۹ میلی گرم بر میلی لیتر بود. عدد حاصل در رقت های ۱:۲، ۱:۴، ۱:۸، ۱:۱۶، ۱:۳۲، ۱:۶۴ ضرب شد. نتایج بدست آمده طبق جدول ۱ بیانگر غلظت عصاره سیر در آن رقت می باشد.

جدول ۱- میزان غلظت عصاره سیر براساس غلظت با استفاده از روش MBC

شماره لوله	۱	۲	۳	۴	۵	۶
رقت	۱:۲	۱:۴	۱:۸	۱:۱۶	۱:۳۲	۱:۶۴
غلظت g/ml	۰/۳۹۵	۰/۱۹۷	۰/۰۹۸	۰/۰۴۹	۰/۰۲۴	۰/۰۱۲

۵-۲- روش آماده سازی هیدروژل بر پایه کیتوزان

سنتز هیدروژل بر پایه کیتوزان براساس روش ذکر شده توسط حسین زاده و همکاران انجام شد (۱۳). ابتدا استیک اسید ۱٪ وزنی آماده گردید. سپس یک گرم کیتوزان به آرامی به ۲۵ میلی لیتر استیک اسید ۱٪ اضافه شد و تا دمای ۶۰ درجه سانتیگراد بر روی هم زن مغناطیسی حرارت داده شد تا محلول کاملاً شفاف به دست آمد. در ادامه ۰/۱ گرم متیلن بیس آکریل امید (شبکه ساز) و همچنین ۰/۱ گرم آکریل امید و ۰/۱ گرم

آکرلیک اسید (تکپارها) به بشر اضافه شد. پس از ده دقیقه هم خوردن، مقدار ۰/۱ گرم آمونیوم پرسولفات (آغاز گر) اضافه گردید و به مدت ۴۰ دقیقه بر روی هم زن مغناطیسی هم زده شد. دما در طول انجام واکنش به میزان ۶۰ درجه سانتیگراد ثابت نگهداشته شد و مدام با دماسنج کنترل گردید. پس از گذشت ۴۰ دقیقه هیتز خاموش شد و هیدروژل به درون یک پلیت ریخته شد و به مدت ۲ ساعت درون اون با دمای ۶۰ درجه قرار گرفت. پس از تشکیل شبکه بسیاری با اتصالات

گردید. از اعداد به دست آمده جهت رسم نمودار تورم هیدروژل در محیط ابی عصاره استفاده شد.

۲-۸- مطالعه رهایش عصاره سیر از هیدروژل

رهایش در محلول بافر فسفات $\text{pH} = 7/4$ بررسی شد. بدین ترتیب که مقدار $0/03$ گرم هیدروژل بر پایه کیتوزان و $0/07$ گرم هیدروژل بر پایه کربوکسی متیل سلولز که عصاره در آن بارگذاری شده بود به صورت مجزا در کیسه دیالیز قرار گرفت. دو سر کیسه با گیره مسدود شد و سپس در داخل یک بشر 50 میلی لیتری حاوی 40 میلی لیتر محلول بافر فسفات با $\text{pH} = 7/4$ قرار گرفت. یک مگنت در بشر انداخته شد. بر روی هم زن با دمای 37 درجه سانتیگراد قرار گرفت و در فاصله های زمانی مختلف بر حسب دقیقه نمونه های 3 میلی لیتری از سیستم گرفته شد و جذب نوری آن با دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis در طول موج 240 نانومتر، اندازه گیری شد. سپس نمونه به ظرف اولیه برگردانده شد. نمونه گیری های بعدی از سیستم در بازه های زمانی 5 ، 10 ، 15 و 20 دقیقه انجام شد و جذب نوری آن ها با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد.

۲-۹- بررسی خاصیت ضد میکروبی هیدروژل بر پایه

کیتوزان و کربوکسی متیل سلولز حاوی عصاره سیر

در شش میکروتیوپ $1/5$ میلی لیتری به طور جداگانه در هر کدام مقدار 1 میلی لیتر عصاره سیر ریخته شد و $0/03$ گرم هیدروژل بر پایه کیتوزان و $0/07$ گرم هیدروژل بر پایه کربوکسی متیل سلولز به طور جداگانه در هر کدام از میکروتیوپ ها انداخته شد و به مدت 24 ساعت در دمای اتاق قرار گرفت. جهت بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره سیر بارگذاری شده در هیدروژل، ابتدا محیط کشت مولر هینتون آگار آماده گردید. سپس بر روی سه محیط کشت، میکروب های استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس اثرورینوزا و اشیریشیاکلی به طور جداگانه کشت پر داده شد و بعد بر روی هر محیط کشت یک قطعه هیدروژل که به مدت 24 ساعت در عصاره بوده، قرار داده شد و در محیط های کشت به

عرضی، هیدروژل توسط محلول سود نرمال شستشو داده شد تا بخش هایی که واکنش نداده اند خارج شود.

۲-۶- روش آماده سازی هیدروژل بر پایه کربوکسی متیل

سلولز

سنتز هیدروژل بر پایه سلولز بر اساس روش ذکر شده توسط گرامی پور و همکاران انجام شد (۶). یک گرم کربوکسی متیل سلولز به 5 میلی لیتر آب مقطر اضافه شد و بر روی هیترا تا دمای $60-80$ درجه سانتیگراد حرارت داده شد تا مخلوطی شفاف و یکنواخت به دست آمد. سپس $0/05$ گرم آمونیم پر سولفات به عنوان آغازگر رادیکالی در 1 میلی لیتر آب مقطر حل شده و به مخلوط اضافه گردید. بعد از 5 دقیقه $0/05$ گرم آکریل آمید و $0/1$ گرم آکرلیک به بشر اضافه شد و به مدت 30 دقیقه تا انجام کامل واکنش هم زده شد.

۲-۷- اندازه گیری میزان بارگذاری عصاره سیر و تورم در

هیدروژل

بر اساس نتایج آنالیز تبدیل فوریه-مادون قرمز (FT-IR) بهترین هیدروژل جهت اندازه گیری تورم انتخاب شد. برای مطالعه میزان بارگذاری، مقدار $0/03$ گرم از هیدروژل بر پایه کیتوزان و $0/07$ گرم هیدروژل بر پایه کربوکسی متیل سلولز به وسیله ترازو وزن گردید و در 10 میلی لیتر محلول عصاره سیر ریخته شد و به مدت 3 ساعت در دمای اتاق قرار گرفت. سپس هیدروژل متورم شده فیلتر شد و به وسیله ترازو وزن گردید. میزان تورم تعادلی (ES) آن به وسیله فرمول شماره ۱ محاسبه شد:

$$ES (g/g) = (W2 - W1) / W1 \quad (1)$$

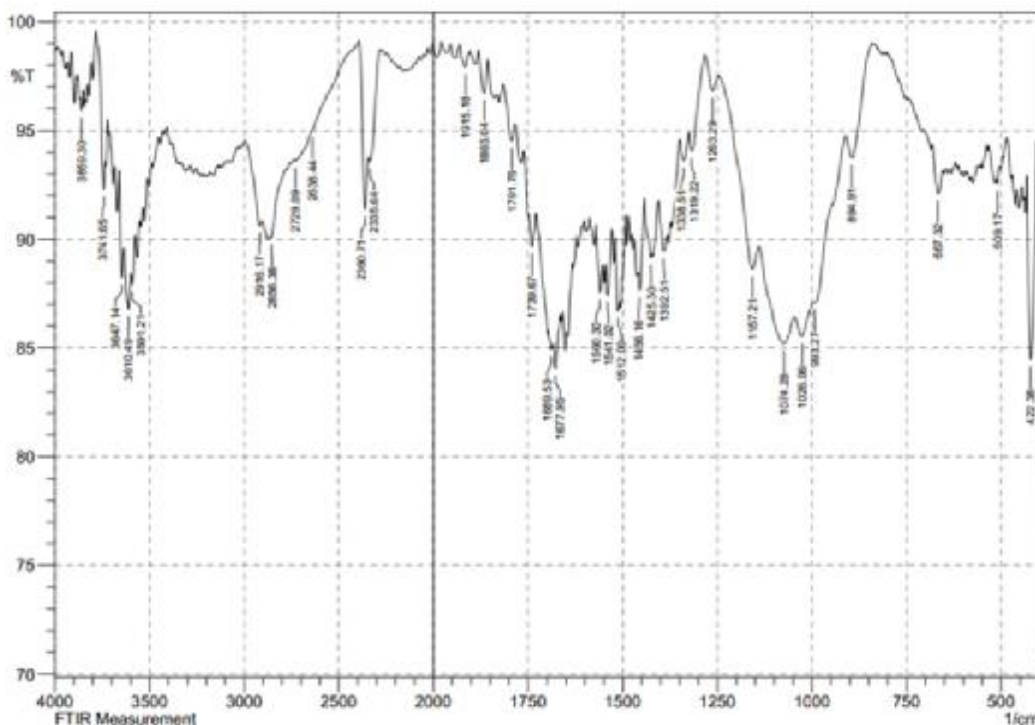
در اینجا، $W1$ وزن هیدروژل خشک و $W2$ وزن هیدروژل متورم شده است. جهت بررسی سرعت تورم، مقدار $0/03$ گرم از هیدروژل بر پایه کیتوزان و $0/07$ گرم هیدروژل بر پایه کربوکسی متیل سلولز به صورت جداگانه به وسیله ترازو وزن گردید و در 10 میلی لیتر محلول عصاره سیر ریخته شد و در دمای اتاق قرار گرفت در بازه های زمانی 10 ، 20 ، 30 ، 40 ، 60 و 70 دقیقه هیدروژل از صافی رد شد و به وسیله ترازو وزن

برای ارزیابی هیدروژل‌های سنتز شده، از روش‌های آنالیز مختلف استفاده شد. شکل ۱ و ۲ به ترتیب نتایج بررسی طیف FT-IR مربوط به هیدروژل بر پایه کیتوزان و هیدروژل بر پایه کربوکسی متیل سلولز را نشان می دهند.

وسیله پرافیلیم بسته شد و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگه داری شدند.

۳- نتایج و بحث

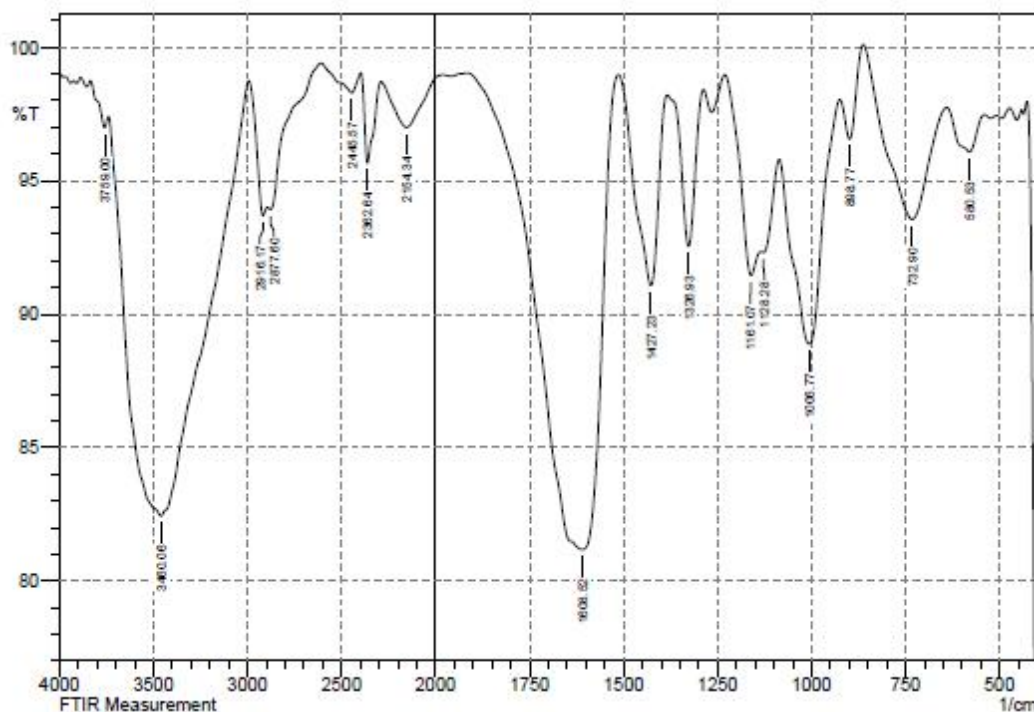
۳-۱- آنالیز هیدروژل بر پایه کیتوزان و هیدروژل بر پایه متیل سلولز



شکل ۱- طیف FT-IR هیدروژل بر پایه کیتوزان

گروه C-H است. پیک های موجود در ناحیه 1419 cm^{-1} و 1629 cm^{-1} به دلیل ارتعاشات کششی گروه های کربوکسیلات (مقارن و نامتقارن) ظاهر می شوند و مربوط به وجود متیل و کربوکسیل در ساختار ترکیب هستند. به دلیل وجود پیوندهای هیدروژنی بین مولکولی و درون مولکولی و ارتعاشات کششی گروه های OH یک پیک قابل مشاهده در ناحیه 3400 cm^{-1} دیده می شود. پیک های جذبی بین 1000 cm^{-1} و 1300 cm^{-1} به ارتعاشات کششی پیوند C-O روی پیکره پیوندی نسبت داده می شود.

در شکل ۱ پیک $3610/49\text{ cm}^{-1}$ مربوط به پیوند N-H کششی امین نوع اول و پیک $1677/95\text{ cm}^{-1}$ مربوط به پیوند N-H خمشی در امین نوع اول و پیک مشاهده شده در ناحیه ی $1074/28\text{ cm}^{-1}$ مربوط به پیوند C-N می باشد (۲۲). پیک در ناحیه $1689/53\text{ cm}^{-1}$ مربوط به ارتعاش کششی گروه C=O های کربوکسیلیک می باشد. پیک های در ناحیه 1500 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی C = O (آمید I) است. شکل ۲ طیف FT-IR هیدروژل بر پایه کربوکسی متیل سلولز را نشان می دهد. پیک 2916 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی نامتقارن

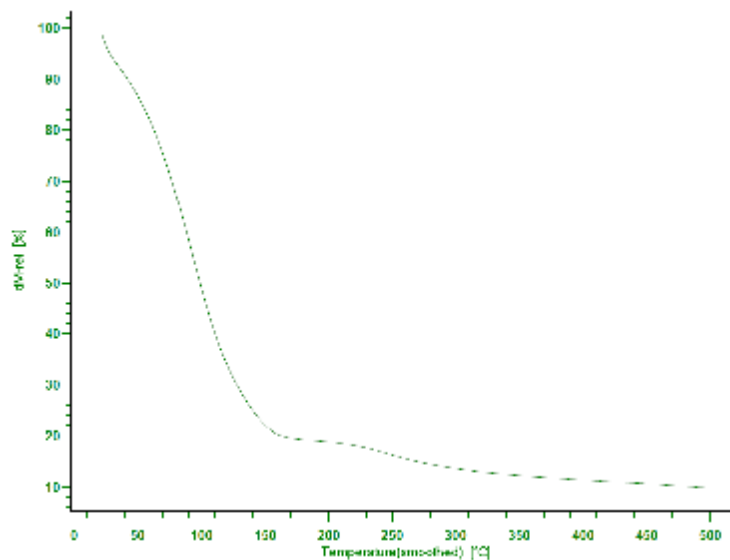


شکل ۲- طیف FT-IR هیدروژل برپایه کربوکسی متیل سلولز

۳-۲- نتایج آنالیز ترموگراویمتری (TGA) analysis

نشان می دهد. با توجه به نمودار از دمای ۶۵ درجه سانتی گراد کاهش وزن هیدروژل شروع شده و اولین تخریب هیدروژلی آغاز می گردد.

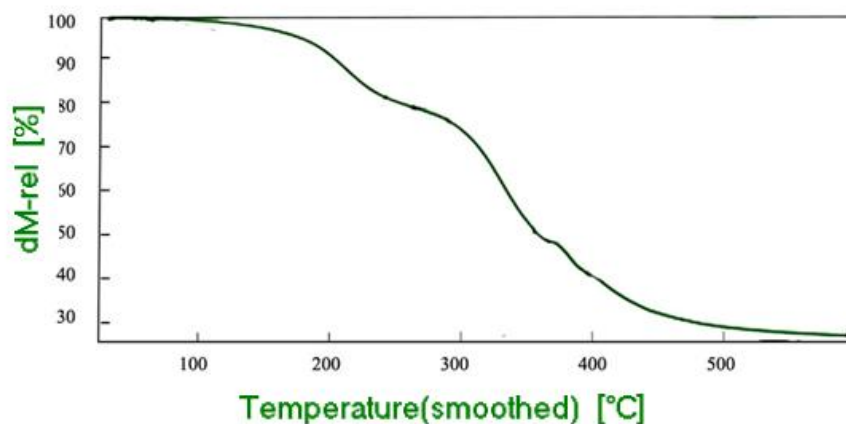
شکل ۳ نمودار ترموگرام TGA هیدروژل برپایه کیتوزان را



شکل ۳- نمودار ترموگرام هیدروژل برپایه کیتوزان

هیدروژل کاملاً از بین رفته و به کربن سیاه تبدیل می گردد.

کاهش وزن هیدروژل تا دمای ۱۵۰ ادامه پیدا می کند. در دمای ۱۵۰ درجه سانتی گراد تخریب کامل صورت می گیرد و

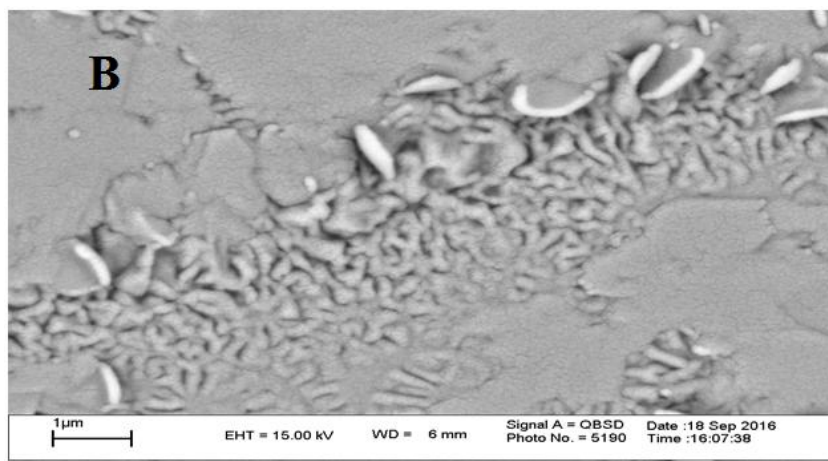


شکل ۴- نمودار ترموگرام هیدروژل کربوکسی متیل سلولز

۳-۳- نتایج تصویر میکروسکوپی (SEM) microscope. شکل ۵ موفولوژی هیدروژل را نشان می دهد که به ترتیب (A) تصویر میکروسکوپی هیدروژل سنتز شده بر پایه کیتوزان، و (B) تصویر میکروسکوپی هیدروژل سنتز شده بر پایه کربوکسی متیل سلولز می باشد. هر دو هیدروژل حفراتی در ساختارشان دارند که محل های مناسبی برای جذب آب و محلول های فیزیولوژیکی هستند.

شکل ۴ نمودار ترموگرام هیدروژل سلولز را نشان می دهد. باتوجه به نمودار یک افت وزنی ملایم تا دمای ۳۰۰ درجه سانتی گراد وجود دارد که می تواند به حذف آب یا خروج حلال نسبت داده شود. در این محدوده حدود ۱۵ درصد وزن اولیه پلیمر از بین می رود. افت وزنی شدید در حوالی ۳۰۰ درجه سانتی گراد (حدود ۴۰ درصد) و دماهای بالاتر را نیز می توان به تخریب ساختار پلیمر نسبت داد.



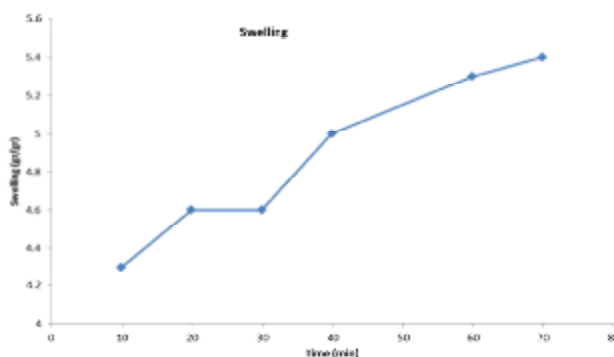


شکل ۵- مورفولوژی سطح هیدروژل (A) بر پایه کیتوزان، (B) بر پایه کربوکسی متیل سلولز

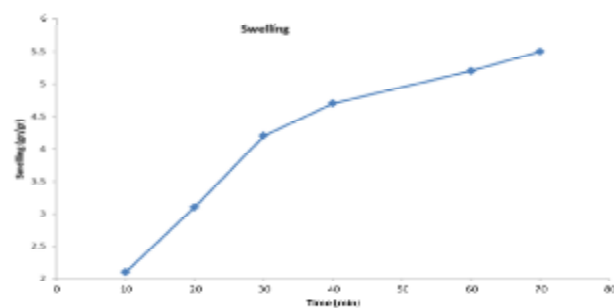
۳-۴- نتایج اندازه گیری میزان تورم هیدروژل

شکل ۶ و ۷ به ترتیب میزان تورم هیدروژل بر پایه کیتوزان و هیدروژل بر پایه کربوکسی متیل سلولز را نشان می دهند. محاسبه میزان تورم تعادلی (ES) با توجه به وزن هیدروژل خشک و

هیدروژل متورم شده در طی زمان از طریق فرمول شماره ۱ محاسبه شد. محاسبه ES هیدروژل بر پایه کیتوزان برابر ۵/۴ و برای هیدروژل بر پایه کربوکسی متیل سلولز برابر ۵/۷ بدست آمد.



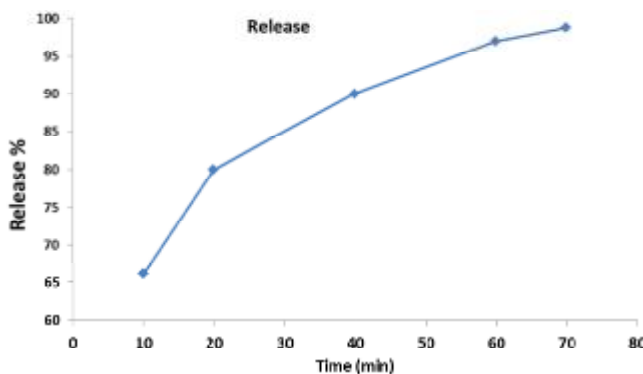
شکل ۶- نمودار تورم هیدروژل بر پایه کیتوزان بر حسب زمان (min) وزن خشک ۰/۰۳



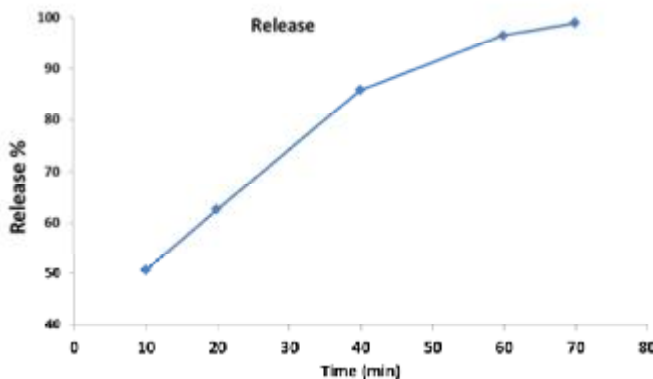
شکل ۷- نمودار تورم هیدروژل بر پایه کربوکسی متیل سلولز بر حسب زمان (min) وزن خشک ۰/۰۷ گرم

به حالت بی حرکت در هیدروژل گیر افتاده اند، به حالت لاستیکی که در آن مولکول ها به سرعت نفوذ می کنند، تغییر فاز یابند. به عبارت دیگر، انتقال فاز از حالت شیشه ای به حالت کشسان موجب رهایش منظم داروی بارگذاری شده می شود. در چنین شرایطی، سرعت رهایش مولکول به سرعت تورم هیدروژل بستگی دارد. در سازوکار رهایش کنترل شده با روش شیمیایی، دارو از راه واکنش شیمیایی که درون هیدروژل اتفاق می افتد، آزاد می شود. معمول ترین واکنشی که انجام می شود، گسستن پیوند دارو و هیدروژل با هیدرولیز است که باعث رهایش دارو می شود (۲۳، ۱۷). نتایج حاصل از رهایش عصاره سیر بارگذاری شده در هیدروژل بر پایه کیتوزان (شکل ۸) و هیدروژل بر پایه کربوکسی متیل سلولز (شکل ۹)، نشان می دهند که سازوکار رهایش می تواند به صورت کنترل شده با تورم باشد.

از آن جا که هیدروژل ها آب دوست اند و قابلیت جذب حجم بالایی از آب را دارند، انتظار می رود که سازوکار رهایش عصاره از درون این هیدروژل ها کاملاً با رهایش عصاره از درون حامل های آبگریز متفاوت باشد. به طور کلی ثابت شده است که نمودار رهایش از سه سازوکار کنترل شده با نفوذ، کنترل شده با تورم و کنترل شده با روش شیمیایی پیروی می کند. سازوکار نفوذ برای توضیح رهایش دارو از هیدروژل هایی که دارای حفره هستند، به کار می رود. هنگامی که اندازه حفره از اندازه دارو بزرگتر باشد، ضریب نفوذ تابعی از مقدار تخلخل و خمیدگی ها و انحناهای هیدروژل است. حال آن که، اگر هیدروژل بدون حفره یا حاوی حفره هایی باشد که اندازه آن ها با اندازه دارو رقابت کند، ضریب نفوذ دارو به دلیل ممانعت های فضایی کاهش می یابد. در رهایش کنترل شده با تورم، هیدروژل ها می توانند از حالت شیشه ای، که در آن مولکول های دارو



شکل ۸- نمودار رهایش کنترل شده عصاره سیر بارگذاری شده در هیدروژل بر پایه کیتوزان در $pH = 7.4$



شکل ۹- نمودار رهایش عصاره سیر بارگذاری شده در هیدروژل بر پایه کربوکسی متیل سلولز در $pH = 7.4$

۳-۵- خاصیت ضد میکروبی کیتوزان

تاثیر متقابل مولکول های پلی کاتیونی کیتوزان با اجزای انیونی دیواره سلولی میکرو اورگانسیم ها مانند فسفولیپیدها و گروه های فسفات در باکتری های گرم منفی و تیکوئیک اسید با ساختار پلی آل فسفات در باکتری های گرم مثبت، باعث تغییراتی در نفوذ پذیری دیواره سلولی می شود (۲۵). نتیجه این فرایند، تراوش بخشی از مواد داخل سلول به بیرون و جلوگیری از ورود مواد غذایی به داخل سلول است. کیتوزان بعد از ورود به داخل سلول و پیوند با DNA از ساخته شدن RNA و تولید پروتئین های مختلف جلوگیری می کند خاصیت ضد میکروبی کیتوزان گستره وسیعی از میکرو اورگانسیم ها که

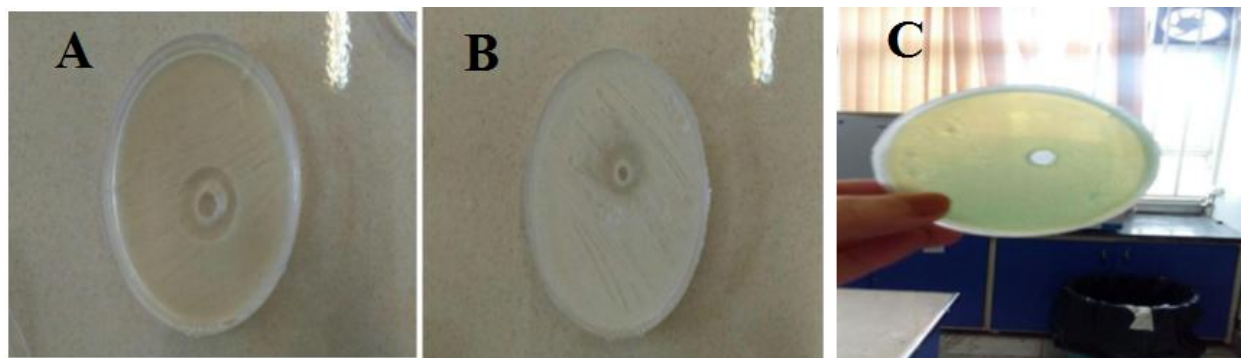
شامل قارچ ها و باکتری ها و ویروس ها می شود را در بر می گیرد (۱۶)

۳-۶- خاصیت ضد میکروبی عصاره سیر

جهت بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره سیر از تست چاهک استفاده شد. تست هاله عدم رشد عصاره سیر به ترتیب بیشترین خاصیت ضد میکروبی علیه باکتری های اشیشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس را نشان داد. در این مطالعه عصاره سیر هیچگونه اثری مبنی بر مهار و بازدارندگی رشد نسبت به سودوموناس اتروژینوزا نشان نداد. در جدول ۲ و شکل ۱۰ قطر هاله عدم رشد سه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، اشیشیاکلی و سودوموناس اتروژینوزا را نشان می دهند.

جدول ۲- فعالیت ضد میکروبی عصاره سیر به روش چاهک (قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی متر)

میکرو اورگانسیم	هاله عدم رشد (mm)
استافیلوکوکوس اورئوس	۲۰
اشیشیاکلی	۱۸
سودوموناس اتروژینوزا	--



شکل ۱۰- اثر ضد میکروبی عصاره سیر بر (A) استافیلوکوکوس اورئوس، (B) اشیشیاکلی، و (C) سودوموناس اتروژینوزا

است. بنابراین این لوله ها حاوی رشد میکروب بودند. لوله شماره ۵ با غلظت معین عصاره سیر بر حسب گرم بر میلی لیتر تاییدی بر حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد باکتری می باشد. جدول ۳ همچنین میزان حداقل غلظت باکتری کشی عصاره سیر نسبت به هر دو باکتری را نشان می دهد.

۳-۲- نتایج حاصل از تعیین حداقل غلظت مهاری MBC**و MIC عصاره هیدروآلکلی سیر**

میزان MBC و MIC نسبت به دو باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و اشیشیاکلی بررسی شد. شش رقت مختلف از عصاره در حضور باکتری تهیه شد. نتایج نشان داد که دو رقت آخر در جدول شماره ۱ به ترتیب کدورتشان افزایش یافته

جدول ۳- میزان MBC و MIC عصاره سیر نسبت به دو باکتری بر حسب گرم در میلی لیتر

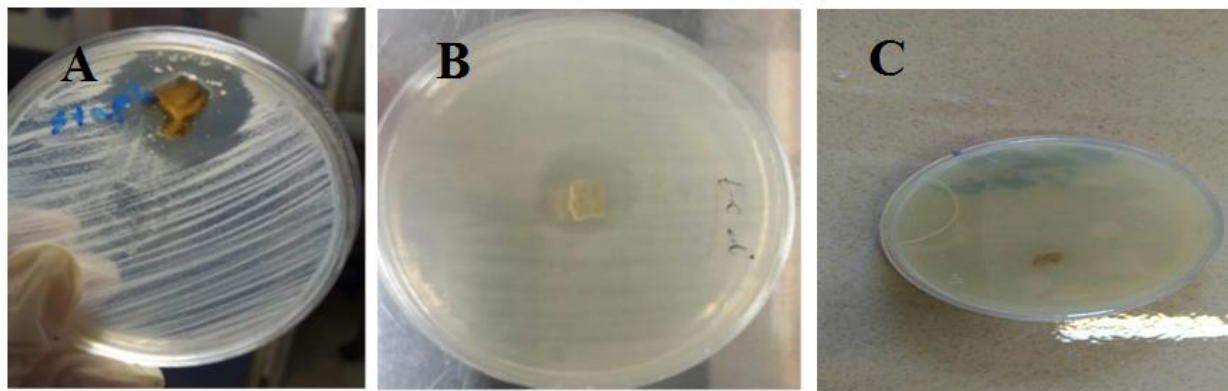
عصاره سیر (g/ml)		میکروارگانسیم ها
MIC	MBC	
۰/۰۲۴	۰/۰۴۹	استافیلوکوکوس اورئوس
۰/۰۴۹	۰/۰۹۸	اشریشیاکلی

بارگذاری شده در هیدروژل هیچ گونه خاصیت ضد میکروبی علیه سودوموناس ائروژینوزا از خود نشان نداد و هاله عدم رشد تشکیل نشد. جدول ۴ و شکل ۱۱، فعالیت ضد میکروبی عصاره سیر بارگذاری شده در هیدروژل بر پایه کیتوزان را نشان می دهند.

۳-۸- ایتج بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره سیر بارگذاری شده در هیدروژل بر پایه کیتوزان
عصاره سیر بارگذاری شده در هیدروژل سنتز شده بر پایه کیتوزان خاصیت ضد میکروبی یکسانی را بر استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی از خود نشان داد و بیشترین هاله عدم رشد مربوط به این دو باکتری بود. به هر حال، عصاره سیر

جدول ۴- فعالیت ضد میکروبی عصاره سیر بارگذاری شده در هیدروژل بر پایه کیتوزان (قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی متر)

هاله عدم رشد (mm)	میکروارگانسیم
۲۵	استافیلوکوکوس اورئوس
۲۰	اشریشیاکلی
-	سودوموناس ائروژینوزا



شکل ۱۱ - خاصیت ضد میکروبی هیدروژل بر پایه کیتوزان حاوی عصاره سیر بر (A) استافیلوکوکوس اورئوس، (B) اشریشیاکلی، و (C) سودوموناس ائروژینوزا

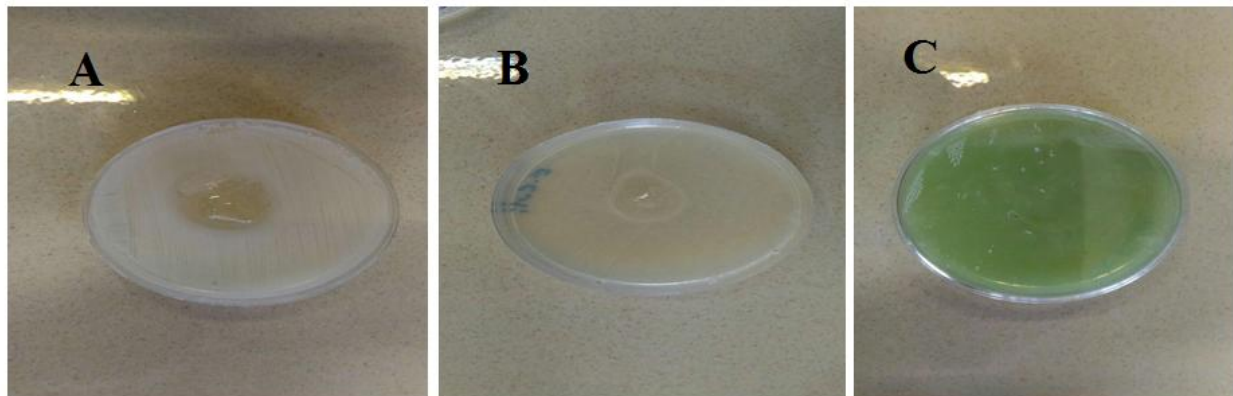
۳-۹- نتایج بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره سیر بارگذاری شده در هیدروژل بر پایه کربوکسی متیل سلولز

افزودن عصاره سیر به کربوکسی متیل سلولز باعث خاصیت ضد میکروبی هیدروژل در برابر اشرشیاکلی و سودوموناس ائروژینوزا گردید و در اطراف هیدروژل رشد میکروبی صورت نگرفت ($p < 0/05$). نوع عصاره بر میزان ممانعت

کنندگی هیدروژل در برابر اشرشیاکلی تاثیر معنادار داشت و عملکرد عصاره سیر در کنترل اشرشیاکلی بهتر بود. با این حال نوع عصاره تاثیر معناداری بر خاصیت ضد میکروبی کربوکسی متیل سلولز در برابر سودوموناس ائروژینوزا نداشت ($p > 0/05$). در جدول ۵ و شکل ۱۲ خاصیت ضد میکروبی عصاره سیر بارگذاری شده در هیدروژل بر پایه کربوکسی متیل سلولز را نشان می دهند.

جدول ۵- نتایج بررسی خاصیت ضد میکروبی هیدروژل بر پایه کربوکسی متیل سلولز حاوی عصاره سیر

میکرواورگانیسم	هاله عدم رشد (mm)
استافیلوکوکوس اورئوس	۲۲
اشرشیاکلی	۱۸
سودوموناس ائروژینوزا	--



شکل ۱۲ - خاصیت ضد میکروبی هیدروژل بر پایه کربوکسی متیل سلولز حاوی عصاره سیر بر (A) استافیلوکوکوس اورئوس، (B) اشرشیاکلی، و (C) سودوموناس ائروژینوزا

۴- نتیجه گیری

در حال حاضر، هیدروژل ها به دلیل ساختار پلیمری خاص شان و نقش موثری که در جذب و رهایش دارو دارند، بسیار مورد توجه قرار گرفته اند. در این مطالعه نشان داده شد که عصاره سیر به دلیل دارا بودن ترکیبات آلی گوگرددار و همچنین خواص آنتی بیوتیکی وسیع آن بر روی باکتری ها، می تواند جایگزین مناسبی برای درمان بیماری های میکروبی باشد که حتی در غلظت های بسیار پایین می تواند اثرات مهاری خود را اعمال کند. با توجه به تحقیقات این پروژه که

مقایسه اثرات ضد باکتریایی دو نوع هیدروژل کیتوزانی و متیل سلولزی حاوی عصاره سیر بود، پس از تست های میکروبی نظیر MIC و MBC، تست آنتی بیوگرام و روش تست چاهک مشخص شد که دو نوع هیدروژل نام برده شده و بارگذاری شده با عصاره سیر اثرات مهاری رشد و حتی مرگ در باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی داشته، اما بر روی سودوموناس ائروژینوزا بی تاثیر بودند. از آنجا که در حال حاضر مقاومت آنتی بیوتیکی به عنوان یکی از معضلات درمان مطرح است و علاوه بر آن داروهای تهیه شده از عصاره

ویروسی بیست گونه از تیره‌های مختلف گیاهان دارویی ایران. مجله میکروبی شناسی پزشکی ایران، جلد ۱، شماره ۶، ۵۹-۴۹.

۷. موسوی، ط.، زکوی، ع.، حسینی ولیکی، ف.، یوسف پور، م.، فخار، م.، رفیعی، ع.، علیزاده نوایی، ر.، رضانی، آ. ۱۳۹۵. خواص تغذیه‌ای درمانی سیر از دیدگاه طب اسلامی- ایرانی و طب مدرن، یک مطالعه مروری. مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دوره ۲۶، شماره ۱۳۹، ۲۴۵-۲۲۷.

۸. ناصری، م. ۱۳۸۳. طب سنتی ایران و توسعه آن با استفاده از رهنمودهای سازمان جهانی بهداشت. دانشورپزشکی، دوره ۱۱، شماره ۵۲، ۵۳-۶۶.

9. Ahmed, E. M. 2015. Hydrogel preparation, characterization and application. *Journal of Advanced Research*, 6(2):105-121.

10. Demitri, C., Scalera, F., Madaghiele, M., Sannino, A. and Maffezzoli, A. 2013. Potential of cellulose-based superabsorbent, hydrogels as water reservoir in agriculture. *International Journal of Polymer Science*, 2013(12):1-6.

11. Eskandarinia, A., Rafienia, M., Gharakhloo, M., Navid, S. and Kefayat, A. 2018. Evaluation of wound healing and antimicrobial properties of hydrogel dressings of starch containing ethanolic extract of propolis in the rat. *Journal of Isfahan Medical School*, 35(458):1744-1748.

12. Gao, L., Zhou, Y., Peng, J., Xu, C., Xu, Q., Xing, M. and Chang, J. 2019. A novel dual-adhesive and bioactive hydrogel activated by bioglass for wound healing. *NPG Asia Materials*, 11(1):66.

13. Hosseinzade. H. 2012. Synthesis of a controlled drug delivery system chitosan hydrogel g-poly (sodium acrylate-co-acrylamide). *Journal of Applied Chemistry*, 6(21):21-32.

14. Khoe, S. and Kardani, M. 2013. Hydrogels as controlled drug delivery carriers. *Polymerization*, 2(4):16-27.

15. Lee, Y. H., Chang, J. J., Yang, M. C., Chien, C.T. and Lai, W. F. 2012. Acceleration of wound healing in diabetic rats by layered hydrogel dressing. *Carbohydrate Polymers*, 88(3):809-819.

گیاهان در مقابل داروهای سنتزی شیمیایی تأثیرات مخرب کمتری دارند می‌توان از عصاره بارگذاری شده سیر بر روی هیدروژل به عنوان ترکیبات دارویی جدید برای از بین بردن باکتری‌های نام برده شده استفاده کرد. تا بدین طریق مبحث مقاومت آنتی بیوتیکی که یکی از معضلات درمان در دنیای پزشکی است بهبود یابد.

۵- منابع

۱. بکائیان، م.، فرازمنند، ر.، کی قبادی، س. و سعیدی، س. ۱۳۹۴. اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی سیر بر روی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی بیوتیک‌های مختلف. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران، دوره ۲۸، شماره ۱، ۴۱-۳۴).

۲. جاذبی، ز.، حجتی، م. و کسرائیان، ع. ۱۳۹۷. ساخت و بررسی نانوکامپوزیت سوپرجاذب اکریل آمید/اکریلیک اسید/بنتونیت برای خاک‌های کشاورزی با شوری مختلف. پژوهش نفت، دوره ۲۸، شماره ۹۸، ۱۲۷-۱۱۰.

۳. جمشیدی، ه. ۲۰۱۷. مروری بر هیدروژل‌ها: انواع، رو شهای تهیه و کاربردها. پژوهش و توسعه فناوری پلیمر، دوره ۲، شماره ۶، ۵۴-۳۷.

۴. رنجبر، م.، شریفان، ا.، شعبانی، ش. و امین افشان، م. ۱۳۹۳. بررسی اثر ضد میکروبی عصاره سیر بر باکتری‌های *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* در مدل غذایی گوشت مرغ آماده طبخ. علوم غذایی و تغذیه. دوره ۱۱، شماره ۴، ۶۶-۵۷.

۵. گرامی‌پور، م.، کردتبار، م. و رضائزاد برجندی، ق. ۱۳۹۵. سنتز و شناسایی هیدروژل نانوکامپوزیتی آهن مغناطیسی بر پایه سدیم کربوکسی متیل سلولز اصلاح شده با آکریل امید و آکرلیک اسید و بررسی خواص داروسازی آن. مجله علوم تکنولوژی پلیمر، دوره ۲۹، شماره ۳، ۲۷۵-۲۶۵.

۶. منوری، س. ح.، همکار، ر.، نوروزبایبی، ز. ادیبی، ل.، نوروزی، م. و ضیایی، س. ع. ۱۳۸۵. بررسی اثرات ضد

- parameters and absorbency. *Journal of Applied Polymer Science*, 131(11):1-11.
21. Pourali, P., Khojasteh, L., Fahimi, B., Moghimian, F. and Yahyaei, B. 1397. Assessment the wound healing efficiency of the microbial produced alginate and the extract of persian mannaplant in the rat wounds: the complex of the modern and traditional dressings. *Journal of Medicinal Plants*, 1(69):91-104.
22. Povea, M. B., Monal, W. A., Rodríguez, J.V.C., Pat, A. M., Rivero, N.B. and Covas, C. P. 2011. Interpenetrated chitosan-poly(acrylic acid-co-acrylamide) Hydrogels. Synthesis, characterization and sustained protein release studies. *Materials Sciences and Applications*, 2(6):509-520.
23. Qiu, Y. and Park, K. 2012. Environment-sensitive hydrogels for drug delivery, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 53(3):321-339.
24. Tavakoli, S. and Klar, A. S. 2020. Advanced hydrogels as wound dressings. *Biomolecules*, 10(8):1169.
25. Yeaman, M. R. and Yount, N.Y. 2003. Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance. *Pharmacological Reviews*, 55(1):27-55.
16. Li, X., Kong, X., Zhang, Z., Nan, K., Li, L., Wang, X. and Chen, H. 2012. Cytotoxicity and biocompatibility evaluation of N, O-carboxymethyl chitosan/oxidized alginate hydrogel for drug delivery application. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50(5):1299-1305.
17. Lin, C. C. and Metters, A. T. 2006. Hydrogel in controlled release formulations: Network design and mathematical modeling. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58(12-13):1379-1408.
18. Mirzababaeiy, S. A., Mahmoodi, M. and Mohebat, R. 2018. Synthesis and characterization of hydrogel loaded curcumin encapsulated chitosan nanoparticles as novel wound dressing. *Journal of Advanced Materials and Technologies*, 7(1):53-63.
19. Mohammadifar, M., Talaei, S. A., Vakili, Z., Bahmani, F., Memarzadeh, M. R. and Aarabi, M. H. 1397. Evaluation of antinociceptive effect of nano-emulsion gel containing rosemary and peppermint essential oils in a rat model of osteoarthritis. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*, 23(4):100-109.
20. Parvathy, P. C. and Jyothi, A. 2014. Rheological and thermal properties of saponified cassava starch-g-Poly (acrylamide) superabsorbent polymers varying in grafting

(Original Research Paper)

Comparison of Antibacterial Effects of Chitosan and Carboxy Methyl Cellulose Hydrogels Containing Garlic Extract on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*

Mahdi Shahriarinour¹, Faten Divsar^{2*}, Farimah Khoshabari¹, Seyyedeh Marzieh Mirahmadi², Zahra Babaei Kasmaei¹

1-Department of Microbiology, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran.

2-Department of Chemistry, Payame Noor Universtiy (PNU), Tehran, Iran.

Received:10/02/2021

Accepted:21/07/2021

Abstract

Garlic (scientifically known as *Allium Sativum*) is a plant belongs to the Liliaceae family, which is native to Central Asia. This plant has been used for centuries as a spice and food seasoning and as a medicine in herbal medicine in the treatment of various diseases. The antimicrobial property of garlic extract was evaluated by antibiogram test. Minimum Bactericidal Concentration (MBC) and Minimum Inhibitory Concentration (MIC) were studied by disk diffusion and tube dilution method. Afterward, chitosan-based hydrogel and carboxy methyl cellulose-based hydrogel were synthesized. The structure of hydrogels was investigated by Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), scanning electron microscopy (SEM) and thermogravimetric analysis (TGA) devices. The swelling rate of the hydrogel and the release of the extract from the hydrogel were measured. Then, the antimicrobial property of hydrogels containing garlic extract was investigated. The MIC of garlic extract against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were 0.024 and 0.049 g / ml, respectively. The MBC of the extract for *S. aureus*, *E. coli* was 0.049 and 0.098 g / ml, respectively. Thus, it was found that the antimicrobial activity of garlic on gram-positive bacteria *S. aureus* was higher than gram-negative bacteria *E. coli*. The extract loaded on both hydrogels was controlled release. Hydrogels containing the extract also showed growth inhibition and death in *S. aureus* and *E. coli*, but had no effect on *Pseudomonas aeruginosa*.

Keywords:Antimicrobial Effect, Garlic Extract, Loaded hydrogel, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

*Corresponding Author: divsar@gmail.com