بررسی خواص ضدباکتریایی عصاره اتانولی کنگر (*Gundelia tournefertii*) کردستان بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کولای*

بشرا ایوبی[۱*]، شعله درویشی[۲]، فردین میراحمدی[۳]

۱. دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات کردستان، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران
۲. استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران
۳. مربی گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران
* نویسنده مسئول مکاتبات: boshra.aiobi@gmail.com
(دریافت مقاله: ۹۴/۱/۲۴ پذیرش نهایی: ۹۵/۴/۲۶)

چکیده

با توجه به افزایش روزافزون مقاومت دارویی میکروارگانیسم‌ها و تمایل به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی، هدف از این مطالعه تشخیص خاصیت ضدباکتریایی کنگر بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کولای* است. در این مطالعه عصاره اتانولی ساقه گیاه کنگر کردستان در روتواواپراتور عصاره‌گیری گردید و فعالیت ضدباکتریایی (حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت‌کشندگی) به روش تست رقت بر روی محیط مولر هینتون آگار ارزیابی شد. مطالعه در سه تکرار انجام گرفت و داده‌ها با روش تجزیه پروبیت با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.2 تجزیه و تحلیل شدند. کمترین حداقل غلظت مهارکننده رشد برای *استافیلوکوکوس اورئوس* µg/ml ۶۲/۵ و همچنین کمترین میزان کشندگی این ماده برابر غلظت کمترین میزان محدودکنندگی بود. کمترین غلظت‌کشندگی برای *اشریشیا کولای* µg/ml۳۱/۲۵ و کمترین غلظت مهارکنندگی µg/ml ۱۵/۶۲ برآورد شد. این مطالعه نشان داد عصاره اتانولی کنگر از توان ضدمیکروبی بسیار بالایی برخوردار است، بنابراین می‌توان از آن در ترکیب با سایر نگهدارنده‌ها جهت محافظت مواد غذایی در مقابل میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: عصاره اتانولی، کنگر، ضدباکتریایی، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا کولای*

مقدمه

افزایش مقاومت دارویی میکروارگانیسم‌ها و عدم کفایت داروهای شیمیایی معمول مورد استفاده در درمان بیماری‌های عفونی از یک‌سو و افزایش آگاهی و توجه هرچه بیشتر مصرف‌کنندگان و متولیان بهداشتی به اثرات مضر نگهدارنده‌های غذایی شیمیایی و سنتتیک از سوی دیگر، موجب انجام تحقیقات گسترده جهت دستیابی به ترکیب‌های طبیعی با دامنه وسیع فعالیت‌های بیولوژی مشتق از منابع گیاهی، حیوانی و میکروبی شده است تا علاوه‌بر افزایش ماندگاری غذا از اثرات مضر نگهدارنده‌های شیمیایی مصون باشند (Abad *et al*., 2007; Hausner and Wuertz, 1999).

عصاره‌های گیاهی دارای ترکیبات مهمی هستند که فعالیت‌های بیولوژیکی مختلفی نظیر خواص ضدباکتریایی، ضدقارچی و ضدویروسی در آن‌ها مشاهده شده است. امنیت مواد غذایی یک مسئله مهم در سطح جهانی است که همه انسان‌ها درگیر آن هستند. بسیاری از مواد غذایی فسادپذیرند و برای رسیدن به یک عمر انبارداری مناسب نیازمند مراقبت در مراحل تولید، انبار و پخش دربرابر میکروب‌های مولد فساد و بیماری‌زا هستند(Pinstrup-Andersen, 2009) امروزه تمایل به استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی و موادی که بر روی سلامت انسان و محیط زیست اثر منفی دارند، در صنعت مواد غذایی از طرف مصرف‌کنندگان و تولیدکنندگان مواد غذایی کاهش یافته است (Charnley and Doull, 1999). گیاهان دارویی به‌علت دارا بودن ویتامین‌ها، فلاوونوئیدها، ترپنوئیدها و مواد معدنی، اثرات مهمی در درمان بیماری‌های مختلف دارند. بعضی ازگیاهان دارویی بیماری را درمان می‌کنند، در حالی‌که برخی دیگر از اثرات جانبی بیماری می‌کاهند. مشخص شده است که خواص ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی با مقدار کل ترکیبات فنولی رابطه مستقیمی دارد و معمولاً گیاهانی که خواص ضدمیکروبی بالایی دارند خواص آنتی‌اکسیدانی مناسبی نیز دارند (Devasagayam *et al*., 2004). مسمومیت غذایی *استافیلوکوکی* از مهم‌ترین مسمومیت‌های غذایی به شمار می‌آید، به طوری که از مجموع حدود ۲٤ میلیون مورد کل مسمومیت‌های غذایی گزارش شده در کشور ایالات متحده امریکا ۸/۹ میلیون مورد آن مربوط به *استافیلوکوکوس اورئوس* بوده که بیش از یک سوم موارد کل مسمومیت‌های غذایی در این کشور است (Gill, 2006; Ultee *et al*., 2000). *اشریشیا کولای* انتروهموراژیک باکتری بیماری‌زای انسانی است که از طریق اغذیه آلوده منتقل می‌شود. بیماری ناشی از این باکتری به صورت انفرادی و اپیدمی در نقاط مختلف دنیا گزارش می‌شود (Momeni *et al*., 1991). چون باکتری عمدتاً از طریق مواد غذایی آلوده منتقل می‌شود، لذا روش‌های طبخ و نگهداری مواد غذایی در جلوگیری از شیوع بیماری نقش مهمی ایفا می‌کند (Fotadar *et al*., 2005).

گیاه کنگر با نام علمی (*Gundelia tourneforttil*) از خانواده *Ateraceae* است. کنگر گیاهی چندساله، مقاوم و شیرابه‌دار پوشیده از کرک و با تیغ فراوان است (Kamalak *et al*., 2005). موسم گل‌دهی این گیاه اردیبهشت و خرداد ماه است و انتشار جغرافیایی وسیعی دارد که شامل مناطق غرب، شمال غرب، جنوب و جنوب شرق ایران می‌شود. مصرف این گیاه به احتمال قریب به یقین به دوران باستان یعنی بیش از

۲۰۰۰ سال پیش بر می‌گردد (Lev-Yadum and Abbos, 1999). نتایج حاصل از یک پژوهش در ایران نظریه طب سنتی در باره اثرات مفید کنگر در درمان بیماری‌های کبدی را تأیید می‌نماید (Jamshidzadeh *et al*., 2007). خاصیت ضدباکتریایی این گیاه در دو پژوهش مجزا، یکی در اردن نسبت به باکتری گونه سودوموناس که به پنی‌سیلین G و اریترومایسین (Aburajai *et al*., 2001) مقاوم بودند و دیگری در ایران نسبت به باکتری‌های گونه *هلیکوباکتر پیلوری* (Nariman *et al*., 2009) به اثبات رسیده است. ژو و همکاران ترکیبات فنلی موجود در عصاره کنگر را مورد بررسی قرار داده و فعالیت ضدمیکروبی آن‌ها را نشان دادند (Zhu *et al*., 2004). کردستان یکی از مناطق غنی از گیاهان دارویی می‌باشد که مکان مناسبی جهت رشد گیاهان مختلف می‌باشد و با عنایت به این ویژگی، اهمیت مطالعه جهت بررسی خواص ضد باکتریایی کنگر در منطقه کردستان طراحی گردید. بنابراین هدف از این مطالعه ارزیابی خواص ضدباکتریایی عصاره کنگر کردستان بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کولای* ضد باکتریایی بود.

مواد و روش‌ها

گیاه کنگر در اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۲ از منطقه کردستان جمع‌آوری شد. سپس عصاره گیاه کنگر با روش خیساندن تهیه شد. به این ترتیب که ۵۰ گرم از گیاه کنگر با حداقل ۲۰ درصد رطوبت را ابتدا خشک کرده و سپس توسط دستگاه خردکن ساییده شد و ۱۰۰ میلی‌لیتر الکل ۷۰ درجه به آن اضافه شد، و به‌مدت ۲٤ ساعت در دمای اتاق بر روی دستگاه شیکر با سرعت ٤۰۰ دور در دقیقه نگهداری تا عمل خیساندن و انحلال کامل شد و ترکیبات گیاه از آن استخراج گردید. سپس توسط کاغذ صافی آن را صاف کرده و با استفاده از دستگاه روتواواپراتور با دمای ٤۰ درجه سلسیوس و سرعت ۹۰ دور در دقیقه در فشار پایین عمل تقطیر انجام گرفت تا حلال از عصاره جدا شد و عصاره تغلیظ شده بدست آمد سپس عصاره تغلیظ شده توسط آون تحت خلاء در دمای ٤۰ درجه سلسیوس خشک و نهایتاً به پودر تبدیل شد. درجه و بازده استخراج پودر عصاره g/Kg ۱۵۰ تعیین شد. پودر تا زمان استفاده در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. سویه‌های باکتریایی *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC ۱۱۱۲) و *اشریشیا کولای* (PTCC ۱۳۹۹) از سازمان پژوهش‌های علمی- صنعتی ایران تهیه گردید. از لحاظ تعیین محیط کشت برای فعال‌سازی این باکتری، از محیط‌های کشت نوترینت براث و نوترینت آگار (مرک، آلمان) استفاده شد. بعد از فعال‌سازی و کشت باکتری بر روی محیط پایه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و به مدت ۲٤ ساعت در گرمخانه قرار گرفت (علم هولو و ناظری،۱۳۹۳؛ Treagan and Paliiam, 1987). در ابتدا پرگنه خالص از میکروارگانیسم تهیه گردید و اختصاصات پرگنه اعم از شکل، رنگ، قوام، حاشیه و اندازه ثبت گردید. در مرحله بعدی از نمونه باکتری مورد مطالعه لام میکروسکوپی تهیه و به روش گرم رنگ‌آمیزی شد. ویژگی‌های باکتری در زیر میکروسکوپ در صفاتی همچون شکل باکتری، وضعیت انتهای سلول‌ها، داشتن یا نداشتن اسپور، گرم مثبت و یا منفی بودن بررسی گردید (Treagan and Paliiam, 1987). بعد از انجام کشت، تعداد معادل نیم مک‌فارلند از باکتری مورد

آزمایش در لوله یا پلیت تهیه شد و گرمخانه‌گذاری گردید. اولین لوله یا پلیت که نشان‌دهنده مهار رشد ارگانیسم مزبور بود به‌عنوان کمترین غلظت مهارکننده رشد یا MIC انتخاب شدند. از محتویات لوله‌های محیط کشت مایع برای مطالعه بیشتر و تشخیص این‌که در این لوله‌ها رشد ارگانیسم مهار شده یا ارگانیسم‌ها از بین رفته‌اند، بر روی محیط‌های کشت مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) تلقیح داده شد. معمولاً مقادیر MIC (Minimum Inhibitory Concentration) و MBC (Minimum Bactericidal Concentration) با واحد میکروگرم در میلی‌لیتر نشان داده می‌شود (Treagan and Paliiam, 1987). رشد ٢٤ ساعته حاصل از محیط کشت مایع تریپتک‌سوی‌براث (مرک، آلمان) با کدورت لوله استاندارد نیم مک‌فارلند شماره ۰/۵ تهیه شد. محلول تهیه شده محتوی 10^{6}-10^{5} ارگانیسم در هر میلی‌لیتر بود و تا ۳۰ دقیقه پس از تهیه مورد استفاده قرار گرفت (Treagan and Paliiam, 1987).

تعداد ۱۳ لوله آزمایش سترون با شماره مشخص شد. مقدار ۱ میلی‌لیتر از محیط کشت سترون تریپتیک سوی‌براث (مرک، آلمان) در هر کدام از لوله‌های شماره ۲ تا ۱۰ در شرایط سترون اضافه شد و رقت‌سازی صورت گرفت. سپس از محلول عصاره تهیه شده با غلظت استوکی ppm ۱۰۰۰ به میزان ۱ میلی‌لیتر به لوله‌های شماره ۱، ۲ و ۱۳ اضافه گردید. پس از اضافه کردن محلول عصاره به لوله‌های ۱، ۲ و ۱۳ از لوله شماره ۲ رقت‌سازی آغاز شد. بدین ترتیب که، ابتدا یک میلی‌لیتر برداشته و به لوله شماره ۳ اضافه شد. این کار تا لوله شماره ۱۰ ادامه پیدا کرد. سپس از لوله شماره ۱۰ همان مقدار ۱ میلی‌لیتر برداشت و دور ریخته شد تا حجم همه لوله‌ها برابر شود. مقدار ۱ میلی‌لیتر از مخلوط باکتریایی تهیه شده بر اساس کدورت لوله ۰/۵ مک‌فارلند به هر کدام از لوله‌های شماره ۱ تا ۱۱ اضافه شد و متعاقب هم زدن، به مدت ۱۸ تا٢٤ ساعت در حرارت ۳۵ تا ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. سپس اولین رقتی که فاقد رشد بود به‌عنوان کمترین غلظت مهارکننده رشد (MIC) انتخاب شد. بدیهی است که لوله شماره ۱۱ باید دارای رشد قابل رویت و لوله‌های ۱۲ و ۱۳ باید عاری از هر گونه رشد می‌بودند. برای محاسبه مقدار MBC مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از هر لوله آزمایش بر روی محیط کشت حاوی مولر هینتون آگار منتقل و سپس در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ٢٤ ساعت در دستگاه گرمخانه قرار گرفت. پس از شمارش پرگنه‌ها روی پلیت کانت آگار، MBC به‌عنوان کمترین غلظت از عصاره مورد آزمایش که منجر به کشته شدن ۹۹/۹٪ از باکتری‌ها می‌گردد، تعریف شد. لذا لوله‌هایی که دارای ۵ پرگنه یا کمتر از آن پرگنه باشد می‌تواند به‌عنوان MBC انتخاب شود (Treagan and Paliiam, 1987).

یافته‌ها

- اثر عصاره کنگر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*

جدول (۱) نشان‌دهنده میزان MIC و MBC عصاره این گیاه در ارتباط با *استافیلوکوکوس اورئوس* است. براین اساس کمترین مقدار محدودکننده رشد برای این باکتری، مقدار ٦٢/٥ µg/ml برآورد گردید. همچنین کمترین میزان‌کشندگی این ماده برابر غلظت کمترین میزان محدودکنندگی رشد آن بود. این نتایج نشان

می‌دهد که عصاره استخراج شده از این گیاه دارای خاصیت ضدمیکروبی روی *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشد. پایین بودن مقدار مصرفی برای کنترل رشد و نابودی این باکتری حاکی از تأثیر بالای این عصاره است. همچنین با توجه به برابری هر دو غلظت MIC و MBC، احتمالاً بتوان از این عصاره برای کاربردهای پزشکی و دارویی استفاده نمود. جدول (۲) نیز نشان‌دهنده استفاده از روش پروبیت (Probit Regression) جهت تعیین بهترین غلظت (فرشادفر، ۱۳۸٤) از عصاره می‌باشد. بر اساس نتایج این قسمت، بهترین مقدار مصرفی هم برای MIC و MBC مقدار ٤٦/۰۹٥ µg/ml برآورد گردید.

جدول (۱)- میزان MIC و MBC عصاره کنگر بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس*

لوله	غلظت عصاره (µg/ml)	MIC	MBC
۱	۱۰۰۰	-	-
۲	۵۰۰	-	-
۳	۲۵۰	-	-
٤	۱۲۵	-	-
۵	٦۲/۵	-	-
٦	۳۱/۲۵	+	+
۷	۱۵/٦۲	+	+
۸	۷/۸۱	+	+
۹	۳/۹	+	+
۱۰	۱/۹	+	+
شاهد کشت		+	+
شاهد محیط کشت		-	-
شاهد اتانول		-	-

انحراف معیار کلیه غلظت‌ها به غیر از غلظت ۳۱/۲۵ برای MIC (SD= ۰/۵۷) برابر صفر است (همه تکرارها با هم برابر بودند).

جدول (۲)- نتایج حاصل از روش آماری پروبیت جهت تعیین بهترین غلظت با رگرسیون در *استافیلوکوکوس اروئوس* برای تعیین **MIC** و **MBC**

	Intercept	**B (Log_{10})**	**LC_{50} (log)**	**LC_{50}**
MIC	-۹٦/۰٦۲٤	٤٤/۰۲	۱/٤٤٤۳	٤٦/۰۹٥
MBC	-۹٦/۰٦۲٤	٤٤/۰۲	۱/٤٤٤۳	٤٦/۰۹٥

LC_{50} = میزان غلظتی که ۵۰ درصد باکتری‌های تیمار شده را از بین می‌برد.

B = شیب خط رگرسیون در مدل پروبیت یا Beta

- **اثر عصاره کنگر روی باکتری *اشریشیا کولای***

در این آزمایش کمترین غلظت محدود کننده رشد در مقدار ۳۱/۲۵ µg/ml و کمترین غلظت‌کشندگی آن در مقدار ۱۵/٦۲ µg/ml مشاهده گردید (جدول ۳). با توجه به این نتایج، اثر عصاره کنگر بر این باکتری معنی‌دار می‌باشد. همچنین عصاره کنگر با دوز کمتر از دوز مورد استفاده برای *استافیلوکوکوس* اورئوس موجب از بین رفتن *اشریشیا کولای* شد. نتایج رگرسیون به روش آماری پروبیت نشان‌دهنده برآورد غلظت کشندگی ٤٤/۱۹٤ µg/ml و غلظت مهارکنندگی µg/ml ۲۲/۰۹۵ بر اساس سه تکرار هر قسمت بود (جدول ٤).

جدول (۳)- تعیین میزان MIC و MBC *اشریشیاکلی* در حضور عصاره گیاه کنگر

لوله	غلظت عصاره (µg/ml)	MIC	MBC
۱	۱۰۰۰	–	–
۲	۵۰۰	–	–
۳	۲۵۰	–	–
٤	۱۲۵	–	–
۵	٦۲/۵	–	–
٦	۳۱/۲۵	–	–
۷	۱۵/٦۲	–	+
۸	۷/۸۱	+	+
۹	۳/۹	+	+
۱۰	۱/۹	+	+
شاهد کشت		+	+
شاهد محیط کشت		–	–
شاهد اتانول		–	–

انحراف معیار کلیه غلظت‌ها به غیر از غلظت ۷/۵ برای MIC و MBC (SD= ۰/۵۷) برابر صفر است (همه تکرارها با هم برابرند).

جدول (٤)- نتایج حاصل از روش آماری پروبیت جهت تعیین بهترین غلظت با رگرسیون در *اشریشیا کولای* برای تعیین MIC و MBC

	Intercept	B(Log_{10})	LC_{50} (log)	LC_{50}
MIC	-۸٦/۰٦۲٤	٦٤/۰۲	۱/۳٤٤۳	۲۲/۰۹۵
MBC	-۱۰۵/٤۷۳	٦٤/۱۰۳۲	۱/٦٤۵۳۷	٤٤/۱۹٤

LC_{50} = میزان غلظتی که ۵۰ درصد باکتری‌های تیمار شده را از بین می‌برد.

B = شیب خط رگرسیون در مدل پروبیت یا Beta

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به افزایش روز افزون مقاومت باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها و عوارض جانبی آن‌ها، استفاده از گیاهان دارویی و عصاره‌های گیاهی مورد توجه زیادی قرار گرفته است. اکثر گیاهان دارویی را می‌توان از مناطق بکر کشور جهت انجام تحقیقات مورد ارزیابی قرار داد. بر این اساس کنگرهای وحشی و غیر اهلی شده از کوه‌های مناطق اطراف شهرستان های (سنندج، سقز و کامیاران) جمع‌آوری و خاصیت ضدباکتریایی عصاره آن روی دو باکتری بیماری‌زای غذایی مورد بررسی قرار گرفت. یکی از مهم‌ترین میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در فرآورده‌های گوشتی به‌ویژه آن‌هایی که طی تولید مکرراً با دست تماس دارند، *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشد (Zheng and Sun, 2006). در حال حاضر سلامت عمومی را در سراسر جهان به خطر انداخته است. گسترش این قبیل بیماری‌های مربوط به غذا در کنار مشکلات اجتماعی و اقتصادی ناشی از آن، لزوم تولید مواد غذایی سالم‌تر و به تبع آن استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی جدید و تا حد امکان غیرسنتزی را مطرح نموده است. در این میان توجه تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان به استفاده از عصاره‌های گیاهی معطوف شده که خواص ضدمیکروبی ترکیبات فوق مورد مطالعه قرار گرفته و اثرشان علیه طیف وسیعی از باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌ها به اثبات رسیده است (Chemat *et al*., 2011). از جمله آن‌ها می‌توان به تحقیقات انجام گرفته روی عصاره‌های گیاهی به دست آمده از سیر، پیاز، دارچین، جوز، کاری (زردچوبه هندی)، خردل، فلفل سیاه، آویشن، پونه کوهی، رزماری (اکلیل کوهی)، بادیان، فلفل قرمز، زردچوبه، برگ بو، هل، کرفس، شبدر، گشنیز، زنجبیل، مرزنگوش، سماق، نعناع، ریحان و غیره نیز اشاره نمود (Zaika *et al*., 1983). در تحقیقات مختلفی که بر روی گیاه کنگر صورت گرفته است ترکیباتی نظیر ترکیبات فنلیکی مانند gallic acid و فلاونول Quercetin (Apak *et al*., 2007)، کومارین‌های Scopoletin، Isoscopoletin و Esculin مخلوطی از استروئیدهای β–sitosterol و Stigmasterol، روغن‌های فرار Zingiberene، alpha_terpinyl acetate، Methyl eugenol و لیمونن از این گیاه استخراج شده است که در این میان وجود مقادیر قابل توجه از ترکیبات استرولی در گیاه مورد نظر، در تحقیقات انجام شده در خارج از ایران به اثبات رسیده است (Halabi *et al*., 2005). همچنین طی پژوهش انجام شده تحت عنوان مقایسه ترکیبات شیمیایی عصاره و اسانس ریشه گیاه کنگر ترکیبات این گیاه شامل اینولین، سیناروپکتین، سینارین، کافئیک اسید و اوژنول که حاکی بر ضدباکتریایی بودن این گیاه می‌باشد اثبات شده است. عصاره اتانولی کنگر بر روی باکتری *استافیلوکوکوس ارئوس* در غلظت ۶۲/۵ µg/ml دارای حداقل غلظت مهارکنندگی وکشندگی است. پایین بودن مقدار مصرفی برای کنترل رشد و نابودی این باکتری حاکی از عملکرد بالای این عصاره است. همچنین با توجه به برابری هر دو غلظت MIC و MBC، می‌توان از این عصاره برای مصارف پزشکی و دارویی استفاده نمود. نتایج نشان داد که عصاره متانولی گلپر ایرانی بر رشد *استافیلوکوکوس ارئوس* در غلظت MIC= ۲۰۰µg/ml و MBC=۵۰۰ مؤثر است (Nazemi *et al*., 2005).

عصاره گلپر ایرانی نسبت به عصاره کنگر نیاز به غلظت بالاتری برای مهار رشد *استافیلوکوکوس* دارد. در مطالعه‌ای که بر روی اسانس *Thymus Spinulosus* نیز اثر آنتی‌باکتریال علیه باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس ارئوس* مشاهده شده است که با نتایج ما مطابقت دارد. مطالعه اثرات ضدباکتریایی آلکالوئیدهای استخراج شده از برگ و پوست ساقه زیتون نشان داده است که این مواد بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر مؤثرند تا بر گرم منفی‌ها (Defeo *et al.*, 2003). حداقل غلظت باکتریواستاتیک آن‌ها بر *استافیلوکوکوس ارئوس* برابر با ۹۵ µg/ml و اثر باکتریوسیدال آن‌ها ۱۸۰µg/ml گزارش شده است (Chakraborty and Brantner, 1999) که نسبت به عصاره کنگر در غلظت بالاتر اثر مهاری بر *استافیلوکوکوس ارئوس* داشت. در بررسی اثر آنتی‌باکتریال، اسانس آویشن الیگودرز در غلظت ۱۲۰µg/ml بر *استافیلوکوکوس ارئوس* و اثر باکتریوسیدال نیز در غلظت ۱۲۰ µg/ml مشاهده شد (Taleie *et al.*, 2006). اسانس برگ کنگر در غلظت ۳۰µg/ml بر *استافیلوکوکوس اپیدرمیس* اثر باکتریواستاتیک نشان داد (Taleie *et al.*, 2006). اسانس برگ کنگر نسبت به عصاره ریشه کنگر در غلظت کمتری اثر مهارکنندگی بر خانواده کوکسی‌ها گرم مثبت نشان داد. کشاورز در سال ۱۳۸۹ در تحقیقی تحت عنوان اثرات آنتی‌باکتریال شش گیاه دارویی کنگر، بابونه بازار، کدو ،گل محمدی وچوب مسواک که انجام داد به این نتیجه رسید که عصاره‌های گیاهی دارای ترکیبات مهمی هستند که فعالیت‌های بیولوژیکی مختلفی نظیر خواص ضدباکتریایی، ضدقارچی و ضدویروسی در آن‌ها مشاهده شده است. در این تحقیق اثر ضدباکتریال عصاره گیاهان بابونه بازار، پونه، گل محمدی، کدو، چوب مسواک و کنگر خوراکی بر روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *کلبسیلا پنومونیه*، *سراشیا مارسسنس*، *میکروکوکوس لوتئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیس*، *سودوموناس آئروژنیوزا* و *باسیلوس سابتیلیس* به روش رقت آگار مورد بررسی قرار داد. طبق نتایج بدست آمده از این تحقیق گیاه گل محمدی بر روی تمام انواع میکروب مؤثربوده است.گیاه پونه بر روی تمام انواع باکتری به جز کلبسیلا مؤثر بوده است وگیاهان چوب مسواک وبابونه بازار بر روی *استافیلوکوکوس اوریوس* و*باسیلوس سابتلیس* مؤثر بوده‌اند. عصاره کدو وکنگر اثرضد میکروبی نداشت. طبق بررسی‌های انجام شده در این تحقیق عصاره کنگر بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در غلظت ٦٢/٥µg/ml دارای کمترین مقدار محدود کننده بود. همچنین عصاره کنگر بر روی باکتری *اشریشیا کولای* نیز خاصیت ضدمیکروبی داشت. کمترین مقدار محدود کننده رشد بر روی این باکتری ۱۵/٦٢ µg/ml تعیین شد.

عصاره میوه سماق و برگ گیاهان درمنه، و همیشه سبز در غلظت ۱۲۵ µg/ml بر *اشریشیا کولای* اثر باکتریواستاتیک داشت (Taleie *et al.*, 2003). که نسبت به اثر عصاره کنگر در مهار رشد این باکتری در غلظت های بالاتر مؤثر است. عصاره گیاه الف در غلظت ٦٠٠ µg/ml بر *اشریشیا کولای* اثر باکتریوسیدال نشان داد (Taleie *et al.*, 2003). حداقل غلظت‌کشندگی *اشریشیا کولای* در اثر عصاره کنگر ۳۱/۲۵µg/ml بود که نسبت به عصاره الف در غلظت خیلی پایین‌تری مؤثر است. در بررسی اثر آنتی‌باکتریال، اسانس آویشن

الیگودرز در غلظت ۳۰µg/ml بر *اشریشیا کولای* اثر باکتریواستاتیک نشان داد. اثر باکتریوسیدال این اسانس در غلظت ۹۰ µg/ml بر *اشریشیا کولای* مشاهده شد (Taleie *et al*., 2006). حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس آویشن الیگودرز تقریباً دو برابر عصاره کنگر است، که نشان می‌دهد که باکتری *اشریشیا کولای* نیاز به غلظت‌های بالاتری از اسانس آویشن نسبت به عصاره کنگر برای مهار رشد دارد. نتایج تحقیق طالعی و همکاران (۱۳۸۱) نشان داد که عصاره سماق لری (وحشی لرستان) اثر قوی آنتی‌باکتریال دارد؛ به‌طوری‌که در رقت بسیار پایین اثر باکتریوسیدال ۷۸ µg/ml بر *باسیلوس سرئوس* نشان داد و رشد را متوقف نمود و در غلظت ۵ µg/ml اثر باکتریواستاتیک داشت. عصاره سماق بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از گرم منفی بود (Taleie *et al*., 2003)، در حالی‌که اثر باکتریوسیدال و باکتریواستاتیک این عصاره بر روی دو باکتری سودوموناس و *اشریشیا کولای* در غلظت ۳۰ µg/ml و بر روی *انتروکوکوس فکالیس* برابر ۶۰۰ µg/ml یا بیشتر بود. همچنین عصاره گیاه علف در غلظت‌های پائین بر *باسیلوس سرئوس* اثر آنتی‌باکتریال داشت و در غلظت ۶۰۰ µg/ml بر *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *اشریشیا کولای* اثر باکتریوسیدال نشان داد. اثر آنتی‌باکتریال عصاره همیشه سبز بر باکتری‌های مورد آزمایش بسیار کم و یا در غلظت مورد آزمایش بی‌اثر بود. عصاره گیاه جوشن نیز به همین ترتیب بر بعضی از باکتری‌های مورد آزمایش مؤثر بود. اثر باکتریواستاتیک و باکتریوسیدال عصاره سماق لری در غلظت‌هایی نزدیک به غلظت‌های عصاره کنگر بر روی *اشریشیا کولای* مؤثر است، عصاره الف نسبت به کنگر در غلظت‌های خیلی بالاتر بر *اشریشیا* کولای مؤثر تشخیص داده شد. احتمالاً به‌دلیل ضعیف بودن ترکیبات آن باید در غلظت‌های بالا استفاده شود.

نتایج به دست آمده در بخش تعیین حداقل غلظت ممانعت از رشد و حداقل غلظت کشندگی نشان دهنده توان بالای ضدمیکروبی عصاره کنگر علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کولای* بود. بنابراین با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر استفاده از عصاره این گیاه می‌تواند در جهت محافظت از غذا و کنترل میکروارگانیسم‌های عامل فساد و پاتوژن، و نیز کنترل بیماری‌های میکروبی انسان و گیاهان در ترکیب با سایر نگهدارنده‌های طبیعی مورد توجه و بررسی بیشتری قرار گیرد. پیشنهاد می‌شود که با توجه به اثر ضدباکتریایی موجود در عصاره این گیاه بررسی دقیق‌تر و اختصاصی‌تر بر روی اجزاء تشکیل‌دهنده این گیاه انجام گیرد. با توجه به این‌که این عصاره بیشترین اثر را بر باسیل گرم منفی نسبت به کوکوسی گرم مثبت را نشان داده است پس می‌توان گفت که احتمالا بعد از بررسی‌های دقیق و اختصاصی‌تر بر روی اثرات ضدباکتریایی عصاره گیاه کنگر بر سایر گونه‌های باکتریایی صنعتی می‌تواند جایگزین مناسبی برای نگهدارنده‌های شیمیایی و مصنوعی باشد.

منابع

- آبرومندآذر، پرویز؛ متقیان‌پور، زهرا؛ شریفان، انوشه و لاریجانی، کامبیز (۱۳۸۹). بررسی اثر روش استخراج بر ترکیب شیمیایی و ضدمیکروبی اسانس گیاه زنیان (*carum copticum*). مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی تهران، سال ۷، شماره ۲، صفحات: ۸۴-۷۵.
- طالعی، غلامرضا؛ مشکوه‌السادات، محمدهادی و دلفان، بهرام (۱۳۸۳). اثر آنتی‌باکتریال آلکالوئید استروئیدهای نیشکر، شوکران و عروسک پشت پرده بر روی تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی. فصلنامه دانشگاه علوم پزشکی لرستان، سال ٦، شماره ۲۱، صفحه ۸-۳.
- طالعی، غلامرضا؛ مشکوه‌السادات، محمدهادی و موسوی، زهرا (۱۳۸۵). بررسی ترکیبات شیمیایی و اثر ضدباکتریایی اسانس چهارگونه از گیاهان دارویی استان لرستان. فصلنامه گیاهان دارویی، سال ٦، ویژه‌نامه ۱، صفحات: ۵۲-٤٥.
- طالعی، غلامرضا؛ مشکوه‌السادات، محمدهادی و دلفان، بهرام (۱۳۸۲). بررسی اثر آنتی‌باکتریال عصاره‌های الف، جوشن، همیشه سبز و سماق لری بر روی تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت وگرم منفی. فصلنامه دانشگاه علوم پزشکی لرستان، سال ۵، شماره ۱۸، صفحات: ۲۳-۱۹.
- علم هولو، مصطفی؛ و ناظری، سنبل(۱۳۹۳). بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی عصاره‌های الکلی گل و ریشه گیاه سیاه گینه روی برخی باکتری‌های بیماری‌زای انسانی. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان، سال ۲۱، شماره ٤، صفحات: ۲۸۵-۲۷۷.
- کشاورز، محمدعلی (۱۳۸۹). مطالعه اثر آنتی‌باکتریال شش گیاه دارویی کنگر، بابونه بازار، کدو، پونه، گل محمدی و چوب مسواک. پایان نامه کارشناسی‌ارشد، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، شماره پایان‌نامه ۵۸۳.
- مؤمنی، تاج‌خانم و شاهرخی، نوبهار (۱۳۷۰). اسانس‌های گیاهی و اثرات درمانی آن‌ها. چاپ اول، انتشارات دانشگاه تهران، صفحات: ۸-۱.
- ناظمی، علی؛ هاشمی، مهرداد؛ خاتمی‌نژاد، محمدرضا و پورشمسیان، کامران (۱۳۸٤). اولین بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های آبی Heracleum Persicum و متانولی گیاه. مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، سال ۱۵، شماره ۲، صفحات: ۹٤-۹۱.
- نهایی، محمدرضا و جلالی، علی (۱۳٦٦). روش‌های نوین آزمایشگاهی میکروب‌شناسی پزشکی. (ترجمه). تألیف: تریگان، لوسی، و پالیام، لین، چاپ اول، مؤسسه انتشاراتی نیکنام، صفحات: ۳۱٦-۲۹۹.
- Aberoomand Azar, P., Mottaghianpuor, Z., Sharifan, A. and Larijani, K. (2010). Studies on the Effect of Extraction Method on Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Carum copticum* Essential Oil, Food Technology & Nutrition, 7(2): 84-75. [in Persian]
- Abad, M.J., Ansuategui, M. and Bermejo, P. (2007). Active antifungal substances from natural sources. Archivoc, 7: 116-145.

- Aborajai, A., Darwish, R.M., Al-khalils, S., Mahafzah, A. and Al-Abbadi, A. (2001). Screening of antibiotic resistant inhibitors from local plant materials against two different strains of *Pseudomonas areoginosa*. Journal of Ethnopharmacology, 76(1): 39-44.
- Alamhulu, M. and Nazeri, S. (2015). Investigation of Antibacterial and Antioxidant Activities of Alcoholic Extracts of Flower and Root of *Dendrostellera lesserti* on Some Human Pathogenic Bacteria. Scientific Journal of Hamadan University of Medical Sciences, 21(4): 277-285. [in Persian]
- Apak, R., Guklu, K., Demirata, B., Ozyurek, M., Esin Celic, S., Bektassoglu, B., et al. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC Assay. Molecules, 12: 1496-547.
- Chakraborty, A. and Brantner, A.H. (1999). Antibacterial steroid alkaloids from the stem bark of Holarrbena pubescens. Journal of Ethnopharmacology, 68: 339-344.
- Charnley, G. and Doull, J. (1999). Human exposure to dioxins from food. Food and Chemical Toxicology, 43: 671-679.
- Chemat, F., Huma, Z.E. and Kamran Khan, M. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. Ultrasonic Sonochemistry, 18(4): 813-835.
- Defeo, V., Brunn, M. and Tahiri, B. (2003). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil from *Thymus spinulosus* ten. (*lamiaceae*). Journal of Agriculture, Food and Chemistry, 51: 2849-2853.
- Devasagayam, T., Tilak, J., Boloor, K., Sane, K., Ghaskadbi, S.S. and Lele, R. (2004). Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. Journal of Pharmacology Review, 52: 794-804.
- Fotadar, U., Zaveloff, P. and Terracio, L. (2005). Growth of *Escherichia coli* at elevated temperatures. Journal of Basic Microbiology, 45(5): 403–4.
- Gill, A.O. and Holley, R.A. (2006). Disruption *E. coli*, *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus sakei* cellular membranes by plant oil aromatics. International Journal of Food Microbial, 108: 1-9.
- Halabi, S., Battah, A.A., Aburjai, T., Hudai, B.M. (2005). Phytochemical and antiplatelet investigation of *Gundelia tournefortii* L. Journal of Pharmaceutical Biology, 4(6): 496-500.
- Hausner, M. and Wuertz, S. (1999). High rates of conjugation in bacterial biofilms as determined by Quantitative in situ analysis. Applied Environmental Microbiology, 65: 3710-13.
- Jamshidzadeh, A., Fereidoni, F., Salehi, Z., Niknahad, H. (2007). Hepato protective activity of *Gundelia tournefortii* L. extract and inhibition on glutathione- S- transferas activity. Zahedan Journal of Research Medical Sciences, 100: 1249-53.
- Kamalak, A., Canbolat, O., Gurbuz, Y., Erol, A. and Ozay, O. (2005). Effect of maturity stage on chemical composition in vitro and in situ dry matter degradation of tumbleweed hay (*Gundelia tournefortii L.).* Small Ruminant Research, 58: 149-156.
- Keshavarz,. M.A. (2010) Antibacterial Effects of six medicinal plant artichokes, daisies market, zucchini, oregano, rose and brushed wood. MS thesis, Kerman University of Medical Sciences, protocol number 583. [in Persian]
- Lev_Yadum, S., Abbo, S. (1999).Traditional use of Akub (*Gundelia tournefortii*, asteraceae) in Israel and the polistinian authorithy area. Journal of the Society for Economic Botany, 53 (2): 217-19.
- Mitscher, L. A., Drake, S., Gollapudi, S. R. and Okwute, S. K. (1987). A modern look at folkloric use of anti-infective agents. Journal of Natural Products, 50: 1025-1040.
- Momeni, T. and shahrokhi, N. (1991). Essential oils and their treatment effects. First Edition, Publication of Tehran University: 8-1. [in Persian]
- Nahayi, M.R. and Jalali, A. (1987). Modern methods of medical microbiology laboratory. (Translation). Author: trigan, Lucy, and Palyiam, Lin, 1st Edition, publishers Niknami: 316-299. [in Persian]

- Nariman, F., Eftekhari, F., Habibi, Z., Massarrat, S., Malekzadeh, R. (2009). Antibacterial of Helicobacter pylori. Iranian Journal Basic Medicen Science, 12(2): 105-11.
- Nazemi, A., Khataminezhad, M.R., Pourshamsian, K. and Hashemi, M. (2005). Antimicrobial Activity of Aqueous and Methanol Extracts of *Heracoleum Persicum*, Medical Sciences Journal of Islamic Azad University, 15(2): 94-91. [in Persian]
- Pinstrup-Andersen, P. (2009). Food security: definition and measurement. Food Security; 1(1): 5-7.
- Treagan. L., and Paliiam, L. (1987). Microbia laboratory, In: Nahai, M. R., Jalali, A. Medical Microbiology Laboratory Procedures, First edition, Tabriz, 299-316.
- Talei, G., Meshkatosadat, M.H. and Delfan, B. (2004). Effect of antibacterial steroid alkaloids from three Lorestan medicinal plants on gram-negative/positive bacteria. Yafte, 6(2): 3-9. [in Persian]
- Talei, G., Meshkatalsadat, M. and Mosavi, Z. (2007). Antibacterial Activity and Chemical Composition of Essential Oils from Four Medicinal Plants of Lorestan, Iran. Journal of Medicinal Plants, 1(S3): 45-52. [in Persian]
- Talei, G., Meshkatosadat, M.H. and Delfan, B. (2004). Antibacterial activity of fruit, leaves extracts of *Artemisia persica boiss* ,*Rhus coriaria*, *Ephedra intermedia* and *Daphne mucronata royle* of Lorestan. 5(3): 19-24. [in Persian]
- Ultee, A., Kets, E.P.W. and Alberda, M. (2000). Adaptation of the food-borne pathogen *Bacillus cereus* to carvacrol. Arch Microbiology, 174(4): 233-238
- Zaika, L.L., Kissinger, J.C. and Wasserman, A.E. (1983). Inhibition of lactic acid bacteria by *Heracleum persicum* herbs. Journal of Food Science, 48: 1455-1459.
- Zheng, L. and Sun, D.W. (2006). Innovative applications of power ultrasound during food freezing processes. A review. Trends in Food Science & Technology, (17)1: 16-23.
- Zhu, X., Zhang, H. and Lo, R. (2004). Phynolic componds from the leaf extract of artichoke and their antimicrobial. Journal of Agriculture and Food Chemistery, 52: 7272-7278.

Antibacterial properties of Kurdistan *Gundelia tournefortii* ethanolic extract against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

Ayoubi, B.[1*], Darvishi, S.[2], Mirahmadi, F.[3]

1. M.Sc. in Food Science and Technology, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran
2. Assistant professor of Food Science and Technology Department, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran
3. M.Sc. in Food Science and Technology, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

[*]Corresponding author email: boshra.aiobi@gmail.com
(Received: 2015/4/13 Accepted: 2016/7/16)

Abstract

Due to the ever-increasing of antibiotic-resistance microorganisms and the tendency towards the application of natural preservatives, in the present study the ethanolic extract of stalk portion of Kurdistan *Gundelia tournefertti L.* was extracted in rotary evaporator. The antibacterial effect (MIC and MBC) of the extract was investigated against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli.* using agar dilution assay on Muller-Hinton agar. The experiment was conducted with 3 replicates and probity analysis of the data was analyzed using SAS 9.2 software. Result showed that both MIC and MBC for *S. aureus* was 62.5 µg/ml. Moreover, the MBC and MIC values for *E. coli* were estimated at 31.25 µg/ml and 15.62 µg/ml, respectively. Since ethanolic extract of *G. tournefertti* was highly effective on indicator bacteria, it can be used in combination with the other preservatives to protect foods from foodborne organisms.

Keywords: *Gundelia tournefertti*, Antibacterial, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*