دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر
فصلنامه‌ی کاربرد شیمی در محیط زیست

سال سیزدهم شماره‌ی ۴۸
زمستان ۱۴۰۰، صفحات ۹-۱

بررسی اثر آنتی‌باکتریال فراکسیون‌های قطبی، نیمه‌قطبی و غیرقطبی عصاره گیاه سرخارگل (Echinacea purpura) بر روی برخی از باکتری های عامل عفونت در شرایط آزمایشگاهی

بهبود جعفری
گروه میکروبیولوژی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران
Email: be.jafari@iau.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۲۵ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۷/۲۷ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۰۹

چکیده

از جمله مشکلات شایع در دنیای پزشکی مسئله مقاومت باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها بوده است و با توجه به وجود ترکیبات بیولوژیکی فعال در گیاه سرخارگل این گیاه دارای قابلیت ضد باکتریایی قابل‌ملاحظه‌ای می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثر آنتی‌باکتریال فراکسیون‌های قطبی، نیمه قطبی و غیرقطبی عصاره گیاه سرخارگل بر روی برخی از میکروب‌های عامل عفونت در شرایط آزمایشگاهی می-باشد. در این مطالعه ابتدا عصاره‌های متانولی، کلروفرمی و هگزانی گیاه سرخارگل تهیه شد و تاثیر غلظت‌های مختلفی از عصاره‌ها مورد بررسی قرار گرفت. تمامی آزمایش‌ها با روش‌های انتشار چاهک و میکروتیتر پلیت بر روی سویه‌های استاندارد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا و استرپتوکوکوس موتانس انجام گرفت. یافته‌ها نشان داد که اثر بازدارندگی عصاره‌های مختلف گیاه سر خارگل بر روی باکتری‌های گرم مثبت بیش‌تر از باکتری‌های گرم منفی است. همچنین اثر مهاری عصاره‌ی متانولی نسبت به عصاره‌های کلروفرمی و هگزانی بیش‌تر می‌باشد که در بین باکتری‌های مورد آزمایش استرپتوکوکوس موتانس و سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین حساسیت را داشتند. نتایج حاصله بیانگر آن است که عصاره گیاه سرخارگل دارای اثر ضد باکتریایی است. لذا این عصاره می‌تواند گزینه مناسبی بر حسب مطالعات آینده تحت شرایط آزمایشگاهی جهت تهیه‌ی داروهای ضد باکتریایی باشد.

کلیدواژه: عصاره گیاه، آنتی باکتریال، سرخارگل، باکتری پاتوژن.

مقدمه

گیاهان هنوز به عنوان یک منبع بالقوه ترکیبات دارویی به حساب می‌آیند در سراسر دنیا گیاهان بطور سنتی برای درمان بسیاری از بیماری‌ها بویژه بیماری‌های عفونی از جمله اسهال، تب، سرماخوردگی همچنین به منظور کنترل زاد و ولد و بهداشت دهان و دندان استفاده می‌شود [۱]. مواد غذایی آلوده شده با میکروارگانیسم‌های پاتوژن اغلب به عنوان منبع اولیه بسیاری از بیماری‌ها در انسان توضیف شده اند. بقاو رشد میکروارگانیسم‌ها در محصولات غذایی موجب فساد و کاهش کیفیت آن‌ها می‌شود [۲].امروزه بروز مقاومت دارویی متنوع میکروارگانیسم‌های پاتوژن به عنوان یک چالش مهم در هر دو زمینه بهداشت و درمان انسانی و دامپزشکی تبدیل گردیده است. بنابراین یک نیاز مستمر در زمینه شناسایی ترکیبات ضد میکروبی جدید جهت به حداقل رسانیدن مقاومت دارویی میکروارگانیسم‌ها احساس می‌شود [۳-۴]. اسانس‌ها و عصاره های گیاهی با داشتن ترکیبات متنوع بیولوژیک و فیزیولوژیک از توان بسیار بالایی جهت به کارگیری شان به عنوان ترکیبات دارویی جدید در زمینه بهداشت و درمان بیماری‌های انسانی و حیوانی برخوردار بوده و با داشتن ترکیبات ضد میکروبی، ضد سرطانی، آنتی اکسیدانی و عوامل حذف کننده رادیکال آزاد به عنوان یکی از منابع ترکیبات دارویی طبیعی حائز اهمیت مطرح شده‌اند [۲-۵]. خصوصیات ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی پایه و اساس بسیاری از کاربردهای آن‌ها مانند محافظت غذاهای خام و فرآوری شده دارویی و طب سنتی را تشکیل می‌دهد [۶]. با افزایش تعداد سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی بیوتیک‌های گوناگون تلاش‌های بسیاری برای استفاده از توان بالقوه خاصیت ضد میکروبی گیاهان انجام پذیرفته است از طرف دیگر ظهور سویه‌های مقاوم در بین باسیل‌های گرم منفی و کوکسی‌های گرم مثبت مانند جنس‌های سودوموناس، کلبسیلا، انتروباکتر، استافیلوکوکوس و انتروکوکوس مشکلاتی را در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری‌ها به وجود آورده است [۳]. ترکیبات ضدمیکروبی بدست آمده از گیاهان با مکانیسم‌هایی متفاوت از آنتی بیوتیک‌ها باکتری‌ها را حذف می‌کنند که این مسئله در درمان عفونت‌های ناشی از سویه‌های مقاوم میکروبی از نظر بالینی حائز اهمیت است [۷]. با توجه به رویکرد دوباره برای مصرف داروها و فرآورده‌های گیاهی بررسی خواص دارویی گیاهان اندمیک هر منطقه از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد. مطالعات زیادی برروی عصاره‌های تهیه شده از گیاهان جمع آوری شده به شکل تصادفی و یا به یکی از روش‌های فوق انجام گرفته است این مطالعات بیش‌تر بر روی ارزیابی اثرات ضد میکروبی [۸-۹] ضد کرمی [۱۰]، ضد ویروسی [۱۱] اثرات سیتوتوکسیته و موتاژنیسیته [۱۲] و همچنین اثرات فارماکولوژیکی عمومی [۱۳]، تمرکز یافته است.

اکیناسه آورپورا (Echinaceapurpura) یا سرخار گل گیاهی دارویی از تیره آستراسه آیا گل ستاره بوده و نام اکیناسه آ از واژه یونانی اکینوس به معنی خار گرفته شده است [۱۴]. سرخار گل از جمله گیاهان دارویی مهمی است که کاربرد وسیعی در صنایع دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی دارد. با وجود اینکه بومی ایران نیست اما در سال-های اخیر وارد گیاهان بومی ایران شده است. این گیاه علفی چند ساله و متعلق به تیره میناسانان است و دارای ریزوم کوتاه و ریشه مستقیم و کم و بیش منشعب به رنگ قهوه‌ای تیره تا سفید مات است. ساقه این گیاه قائم و استوانه‌ای شکل بوده و رنگ آن به علت وجود آنتوسیانین سبز روشن، آبی و یا حتی قرمز رنگ می باشد [۱۵]. برگ‌ها چهن، نیزه‌ای و یا بیضوی شکل است. گل‌ها مخروطی شکل و در انتهای ساقه‌های اصلی و فرعی پدیدار می‌شوند. طول گلچه های زبانه‌ای ۴ تا ۶ و پهنای آن ۰/۵ تا ۰/۶ سانتی‌متر می-باشد [۱۶]. تمام چیکر این گیاه اعم از ریشه و چیکر رویشی حاوی مواد موثره ارزشمندی از قبیل ترکیبات آلکیل آمیدی،۲- متیل بوتیل آمید، مواد فنلی بویژه شامل مشتقات کافئیک اسید و فلاونوییدهایی مانند کوئرستین و

کامفرول [۱۷]. ترکیبات پلی ساکاریدی مانند اکیناسئین، اکیناکوزید، اکینولون و همچنین اسانس است [۱۸]. مهم-ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس را هومولن، کاریوفیلن، اکسیدکاریوفیلن، جرماکرن D، بورنئول و بورنیل استات تشکیل می‌دهد [۱۹]. مواد نام برده خاصیت ضدقارچ، باکتری و ویروسی داشته و از آن‌ها داروهای پیشگیری کننده و همچنین درمان کننده سرماخوردگی، برونشیت و عفونت‌های ریوی تهیه می‌شود. مواد موثره این گیاه سبب تقویت سیستم دفاعی بدن و افزایش تولید ایمونوگلوبین G نیز می‌شود [۲۰]. همچنین این گیاه فعالیت آنتی اکسیدانی یا ظرفیت خنثی سازی رادیکال های آزاد را دارا می‌باشدکه به اجزائ پلی فنلی آن نسبت داده می‌شود [۲۱]. در سال-های اخیر ویژگی‌های ضد میکروبی عصاره این گیاه شناخته شده و این خاصیت به وجود ترکیب‌های فنلی اکیناکوزید، کلرژنیک اسید، سینارین، کافئیک اسید و اسید شیکوریک (مهم‌ترین ترکیب فنلی) می‌باشد [۲۲]. تاکنون مطالعات چندی درباره خواص ضد میکروبی عصاره اندام هوایی این گیاه علیه برخی میکروارگانیسم‌ها انجام شده که در مورد استرپتوکوک پیوژنز، هموفیلوس آنفلوانزا، کلستریدیوم تتانی، لژیونلا پنوموفیلا لاکتوباسیلوس پلانتاروم نتایج مطلوبی به دست آمده است [۲۳]. سایر کاربردهای پزشکی گیاه سرخارگل شامل درمان عفونت‌های مخمری، اثرات جانبی اشعه تراپی، آرتریت روماتوئید، مسمومیت خونی و مسمومیت غذایی می‌باشد [۱۴]. با توجه به وجود مواد فیتوشیمیایی گوناگون با پتانسیل ضد باکتریایی قابل ملاحظه در گیاه سرخارگل لازم است تا مطالعات آزمایشگاهی در جهت تعیین کیفیت و گستره تاثیر مواد مذکور بر میکروارگانیسم‌های پاتوژن انجام پذیرد. منظور از این مطالعه بررسی اثر آنتی‌باکتریال فراکسیون‌های قطبی، نیمه قطبی و غیرقطبی عصاره گیاه سرخارگل بر روی برخی از میکروب‌های عامل عفونت در شرایط آزمایشگاهی می-باشد.

مواد و روش‌ها

گیاه مورد مطالعه از عطاری‌ها تهیه شد سپس در فضایی مناسب و در شرایط دور از نور آفتاب خشک شدند در مرحله بعدی گیاه خشک شده توسط آسیاب برقی به صورت پودر در آمد. برای عصاره گیری میزان ۵۰۰ گرم از گیاه سرخارگل به مدت ۴۸ ساعت در درون حلال مرکب ۳۰:۷۰ متانول- کلروفرم خیسانده شد. سپس مخلوط را صاف کرده و به وسیله دستگاه روتاری تحت خلاء حلال را تبخیر کرده، مخلوط باقی‌مانده را جهت چربی زدایی در کم‌ترین میزان متانول حل کرده و دوباره بدون استفاده از خلاء صاف شد. حلال مجدداً تحت خلاء تبخیر شده و باقیمانده را در میزان کمی از دی کلرومتان یا کلروفرم حل کرده و به وسیله سولفات سدیم آب زدایی شد. حلال مجدداً تحت خلاء تبخیر شده و عصاره خالص گیاه به دست آمد [۲۳-۲۴-۲۵]. در این تحقیق فراکسیون بندی براساس قطبیت حلال های مورد استفاده انجام شد. بدین منظور ابتدا مواد گیاهی با یک حلال غیرقطبی(هگزان) عصاره گیری شد. سپس عصاره به دست آمده حلال زدایی شد. در مرحله بعدی مواد باقیمانده از مرحله قبلی مجددا با استفاده از حلال کمی قطبی(کلروفرم) عصاره گیری شده و در نهایت با استفاده از حلال بسیار قطبی(متانول) باقیمانده مواد گیاهی عصاره گیری شد. از عصاره‌های حاصله توسط حلال ۵ درصد دی متیل سولفواکساید (DMSO)، غلظت‌های (۰/۳۹، ۰/۷۸، ۱/۵۶، ۳/۱۲، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰) درصد جهت استفاده در آزمون انتشار چاهک و تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی استفاده گردید.

میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش شامل استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC:25923)، اشریشیاکلی (ATCC:25922)، سودوموناس آئروژینوزا (ATCC:27853)، استرپتوکوکوس موتانس (PTCC:1683) به صورت لیوفلیزه از کلکسیون میکروبی دانشگاه تهران تهیه شد. نمونه‌های میکروبی مطابق با روش‌های استاندارد احیا شدند و از آنجا که تعداد باکتری

تلقیح شده یکی از مهم‌ترین متغیرهایی است که بر این تحقیق اثر می‌گذارد، تراکم سوسپانسیون میکروبی تلقیحی باید استاندارد باشد.

بدین منظور برای تهیه سوسپانسیون میکروبی از کشت تازه و جوان باکتری ۵-۴ کلنی به محیط کشت مولرهینتون براث منتقل شد تا کدورت سوسپانسیون میکروبی تهیه شده مطابق با لوله شماره ۰/۵ استاندارد مک فارلند (کدورت معادل ^{8} ۱۰ × ۱/۵ باکتری در هر میلی لیتر) تنظیم شود.برای رسیدن به غلظت ^{6}۱۰ × ۰/۵ ۱ باکتری در هر میلی لیتر، سوسپانسیون میکروبی با کدورت معادل لوله نیم مک فارلند به نسبت ۰/۰۱ رقیق شد.

- تعیین قدرت ضد باکتریایی عصاره به روش انتشار چاهک

در روش انتشار چاهک ۵۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی با غلظت ^{8}cfu/ml ۱۰ × ۱/۵ در سطح محیط کشت مولر هینتون آگار به صورت یکنواخت گسترش داده شد. سپس در سطح پلیت چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر به فاصله ۲/۵ سانتی‌متر از هم ایجاد شد. سپس به چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک غلظت‌های تهیه شده عصاره گیاه سرخارگل انتقال داده شد. DMSO به عنوان شاهد منفی و آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل به عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شد. بعد از اتمام کار تمامی محیط‌های کشت تلقیح شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای میانگین ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار داده شد. پس از مدت معین کشت‌های میکروبی از تشکیل یا عدم تشکیل هاله عدم رشد در اطراف چاهک‌ها مورد بررسی قرار گرفت و قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد. قطر هاله ها عکس العملی از غلظت عصاره مورد آزمایش می باشد. این پدیده یک ارتباط خطی بین هاله و لگاریتم غلظت عصاره مورد آزمایش می‌باشد که با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد و مقایسه آن با استاندارد مشخص، قدرت ضد میکروبی عصاره مورد آزمایش تعیین شد.

- ارزیابی حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره‌ها به روش میکروتیتر پلیت با استفاده از معرف رزازورین:

در این روش از میکرو پلیت ۹۶ خانه‌ای ته گرد استریل استفاده شد. خانه شماره ۱ تا ۹ مربوط به رقت‌های مختلف از عصاره می‌باشد. خانه ۱۰ شاهد باکتری، خانه ۱۱ شاهد محیط، خانه ۱۲ شاهد عصاره بود. برای انجام این روش در میکرو پلیت حاوی محیط کشت مولر هینتون براث ابتدا رقت‌های سریالی لگاریتمی از عصاره تهیه و سپس از سوسپانسیون باکتری با غلظت نیم مک فارلند غلظت ۰/۰۱ تهیه و به گوده‌ها اضافه گردیده در مرحله آخر از معرف رزازورین به هر گوده ۱۰ میکرولیتر اضافه شده و میکروپلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه گردیدند. پس از طی زمان انکوباسیون، خانه‌ها از نظر تغییر رنگ معرف رزازورین از رنگ آبی متمایل به بنفش به صورتی ناشی از رشد باکتری تلقیح شده بررسی گردید. کم‌ترین رقت از عصاره که در آن تغییر رنگ مشاهده نشد (عدم رشد) به عنوان MIC در نظرگرفته شد. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره‌ها از تمامی لوله‌هایی که در آن‌ها عدم رشد مشاهده می‌شود در سطح محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد و محیط کشت تلقیح شده به صورت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پلیت مربوط به لوله‌ای که حاوی کم‌ترین غلظت عصاره بود و در آن رشد باکتری مشاهده نشد، به عنوان MBC آن غلظت از عصاره در نظر گرفته شد. هر کدام از آزمایش‌ها در مورد هر باکتری و عصاره سه بار تکرار شده و نتایج توسط نسخه ۲۱ نرم افزار SPSS با استفاده از آزمون Student t-test در سطح معنی داری $p\leq0/05$ تفسیر گردید.

نتایج و بحث

در این پژوهش با استفاده از آزمون انتشار چاهک و با تاثیر دادن غلظت‌های مختلف عصاره‌های متانولی، کلروفرمی و هگزانی گیاه سرخارگل بر روی باکتری های مورد آزمایش

معین گردید که عصاره‌های فوق الذکر اثر بازدارندگی فراوانی بر روی باکتری‌های مورد مطالعه داشت و با افزایش میزان غلظت عصاره‌های مختلف گیاه سرخارگل اثر ممانعت کنندگی نیز به صورت افزایش هاله‌های عدم رشد بیش‌تر می‌شد. این مطالعه نشان داد که عصاره متانولی در مقایسه با عصاره‌های کلروفرمی و هگزانی اثر ممانعت کنندگی بیش‌تری بر روی چهار سویه باکتری‌های مورد آزمایش داشت. نتایج حاصل از تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌های الکلی با روش انتشار چاهک در جدول (۱) آمده است.

جدول ۱- نتایج حاصل از تاثیر عصاره‌های مختلف گیاه سرخارگل بر باکتری های مورد آزمایش به روش انتشار چاهک (قطر هاله –میلی‌متر)

سویه باکتری	عصاره متانول(۱۰۰درصد)	عصاره کلروفرمی (۱۰۰درصد)	عصاره هگزان (۱۰۰درصد)
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۲	۱۰	۹
استرپتوکوکوس موتانس	۱۶	۱۲	۱۳
اشریشیاکولی	۱۲	۰	۰
سودوموناس آئروژینوزا	۹	۰	۰

آنالیز آزمون حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره های متانولی، کلروفرمی و هگزانی گیاه سرخارگل بر علیه باکتری‌های مورد آزمایش نشان داد که باکتری استرپتوکوکوس موتانس بیش‌ترین حساسیت و باکتری سودوموناس آئروژینوزا کم‌ترین حساسیت را دارد. نتایج آزمون MIC وMBC عصاره‌های فوق الذکر بر علیه باکتری‌های مورد مطالعه در جداول (۴،۲،۳) آمده است.

جدول ۲- حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره متانولی برحسب درصد غلظت‌های مختلف سرخارگل بر باکتری‌های مورد آزمایش

سویه باکتری	آزمایش	۰/۳۹	۰/۷۸	۱/۵۶	۳/۱۲	۶/۲۵	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰	کنترل		
											عصاره	محیط	باکتری
استافیلوکوکوس اورئوس	MIC	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	+
	MBC	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	+
استرپتوکوکوس موتانس	MIC	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–	+
	MBC	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–	+
اشریشیاکلی	MIC	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	+
	MBC	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–	+
سودوموناس آئروژینوزا	MIC	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	+
	MBC	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	+

جدول ۳- حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره کلروفرمی برحسب درصد غلظت‌های مختلف سرخارگل بر باکتری‌های مورد آزمایش

سویه باکتری	آزمایش	۰/۳۹	۰/۷۸	۱/۵۶	۳/۱۲	۶/۲۵	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰	کنترل		
											عصاره	محیط	باکتری
استافیلوکوکوس اورئوس	MIC	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	+
	MBC	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	+
استرپتوکوکوس موتانس	MIC	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	+
	MBC	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	+
اشریشیاکلی	MIC	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	+
	MBC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	+
سودوموناس آئروژینوزا	MIC	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	+
	MBC	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	+

جدول ۴- حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره هگزانی برحسب درصد غلظت‌های مختلف سرخارگل بر باکتری‌های مورد آزمایش

سویه باکتری	آزمایش	۰/۳۹	۰/۷۸	۱/۵۶	۳/۱۲	۶/۲۵	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰	کنترل		
											عصاره	محیط	باکتری
استافیلوکوکوس اورئوس	MIC	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	+
	MBC	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	+
استرپتوکوکوس موتانس	MIC	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	+
	MBC	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	+
اشریشیاکلی	MIC	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	+
	MBC	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	+
سودوموناس آئروژینوزا	MIC	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+
	MBC	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	+

نتایج و بحث

بشر از قدیم الایام از گیاهان به عنوان افزودنی‌ها و مکمل-های غذایی همچنین در درمان بیماری‌ها استفاده کرده‌اند. امروزه در سراسر دنیا سالانه گیاهان زیادی از جنبه‌ی داشتن ویژگی‌های درمانی مورد بررسی قرار می‌گیرند. قسمتی از این مطالعات بر روی تعیین خواص ضد میکروبی گیاهان دارویی متمرکز است که این امر با توجه به ایجاد مشکلاتی منجمله مقاومت‌های میکروبی و عوارض آنتی بیوتیک‌ها مورد تایید قرار گرفته است. کم بودن دوز عفونت زایی بسیاری از پاتوژن‌های غذازاد نیازمند پژوهش‌های گسترده در زمینه ترکیب‌های دارویی جدید با توان باکتری کشی بالاست که برای رسیدن به این هدف استفاده از ترکیبات روغنی حاصل از گیاهان برای تامین سلامت و بهداشت غذا بسیار حائز اهمیت می‌باشد [۲۶]. با توجه به تاثیر آنتی بیوتیک‌ها در مقادیر بسیار کم حتی در حد میکروگرم بر روی میکروب‌های بیماریزا در مورد گیاهان نیز سعی می-شود تا با غربالگری آن‌ها گیاهانی که اثر آنتی باکتریال قوی تری دارند معین گردند تا با کاربرد غلظت‌های پایین‌تر آن‌ها از خصوصیات ضد میکروبی مطلوب‌تری بهره جست. گیاه سرخارگل به عنوان یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی به طور گسترده‌ای در طب سنتی ایران مورد استفاده قرار می‌گیرد. این گیاه از خانواده کاسنیان است که در درمان تعداد زیادی از بیماری‌ها استفاده شده است قسمت مورد استفاده این گیاه گل‌های آن می‌باشد و مهم‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس را هومولن، کاریوفیلن، اکسیدکاریوفیلن، جرماکرن D، بورنئول و بورنیل استات تشکیل می‌دهد [۱۹]. مواد نامبرده خاصیت ضدقارچ، ضدباکتری و ضد ویروسی داشته و از آن ها داروهای پیشگیری کننده و همچنین درمان کننده سرماخوردگی، برونشیت و عفونت‌های ریوی تهیه می‌شود. در این مطالعه مشخص گردید که عصاره متانولی گیاه سرخارگل در غلظت‌های مختلف از رشد باکتری‌های گرم مثبت مورد آزمایش ممانعت می‌کند در حالی که جهت تاثیر بر باکتری‌های گرم منفی به غلظت‌های بالاتری است هم چنین عصاره ی متانولی اثر بازدارندگی بیش‌تری نسبت به عصاره های کلروفرمی و هگزانی بر روی هر چهار سویه باکتری های مورد مطالعه نشان داد. نتایج حاصل از این تحقیق بیانگر خاصیت ضد باکتریایی عصاره گیاه سرخارگل بر ضد باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی است البته اثر بازدارندگی این عصاره بر علیه باکترهای گرم منفی بسیار ضعیف تر از انواع گرم مثبت می‌باشد که علت احتمالی آن حضور لیپوپلی ساکاریدهای دیواره سلولی احتمالاً مانع از رسیدن ترکیبات فعال اسانس و عصاره به غشای سیتوپلاسمی باکتری های گرم منفی می شوند. بطور کلی فرآورده های گیاهی منجر به گرانوله شدن سیتوپلاسم ، گسیختگی غشای سیتوپلاسمی غیر فعال شدن یا ممانعت از فعالیت آنزیم‌های درون سلولی و برون سلولی و متلاشی شدن دیواره سلولی می‌شوند [۲۷].

به طوری که اکثر عصاره‌های گیاهی بر باکتری‌های گرم مثبت اثر بازدارندگی و بر باکتری‌های گرم منفی تأثیر کم-تری داشته که از این میان باکتری سودوموناس آئروژینوزا مقاوم‌ترین باکتری نسبت به اکثر عصاره های گیاهی است. Stanisavljevic و همکاران در سال ۲۰۰۹ در مطالعه‌ای با عنوان بررسی آنتی اکسیدانی و فعالیت ضد میکروبی گیاه سرخارگل به این نتیجه رسیدند که عصاره گیاه سرخارگل دارای اثر ضد قارچی خوبی بر علیه کاندیدا آلبیکنس، ساکارومایسس سرویزیه و آسپرژیلوس نایجر بوده همچنین فعالیت ضد میکروبی خوبی بر ضد سایر میکروارگانیسم‌ها نشان داد [۲۸]. Barzegar و همکاران در سال ۲۰۱۲ در مقاله‌ای تحت عنوان مطالعه خاصیت آنتی اکسیدانی و آنتی باکتریال عصاره گیاه سرخار گل نشان دادند که عصاره گیاه سرخارگل دارای فعالیت ضد میکروبی خوبی بر علیه برخی میکروارگانیسم ها دارد [۲۹].

در مطالعه ی دیگری تحت عنوان اثر ضد باکتریایی اسانس گل و عصاره‌ی اندام‌های گیاهی سرخارگل بر باکتری .Pectobacterium caratovorum subsp در شرایط آزمایشگاهی نشان دادند که حساسیت باکتری به اسانس

گل بیش از عصاره‌های سایر اندام‌ها بود و عصاره حاصل از ریشه نسبت به عصاره‌های به دست آمده از سایر قسمت‌های گیاه بازدارندگی بیش‌تری داشت همچنین عصاره‌های برگی نیز بیش‌تر از اینکه کشنده باشند دارای خاصیت بازدارندگی از رشد بودند. در تحقیق دیگری با عنوان تاثیر روش استخراج عصاره اندام هوایی گیاه دارویی سرخارگل برخاصیت ضدمیکروبی آن در تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زا در سال ۱۳۹۳ سروش‌زاده و همکاران در بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره اندام هوایی سرخارگل نشان دادند که کم‌ترین غلظت بازدارندگی و کم‌ترین غلظت کشندگی در برابر باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس سرئوس و لیستریا مونوسیتوژنز بوده و سودوموناس آئروژینوزا مقاوم‌ترین باکتری نسبت به عصاره بود [۳۱].

نتیجه‌گیری

عصاره‌های متانولی، کلروفرمی و هگزان گیاه سرخارگل دارای خاصیت آنتی باکتریال می‌باشند طوری که عصاره متانولی در مقایسه با عصاره‌های کلروفرمی و هگزان بیش-ترین تاثیر را بر باکتری‌های منتخب بویژه باکتری‌های گرم مثبت داشت. در بین باکتری‌های مورد آزمایش استرپتوکوکوس موتانس بیش‌ترین حساسیت و سودوموناس آئروژینوزا کم‌ترین حساسیت را در برابر عصاره‌ها نشان داد. همچنین تاثیر ضد باکتریایی عصاره‌های فوق الذکر بر باکتری‌های گرم مثبت بیش‌تر از باکتری‌های گرم منفی شد بنابراین به جهت اثر آنتی باکتریایی قابل ملاحظه عصاره گیاه سرخارگل بر روی باکتری‌های پاتوژن بویژه گرم مثبت که در ایجاد انواع عفونت‌های مخرب و بیمارستانی نقش دارند این عصاره می‌تواند به عنوان یک فرآورده گیاهی طبیعی مد نظر قرار گیرد.

منابع

[1] Mitscher, L.A., Drake, S., Goliapudi, S.R., Okwute, S.K., 1981, A modern look at folkloric use of anti- infective agents, Journal of natural products; 50: 1025-1040.

[2] Celiktas, O.Y., Kocabas, E.E.H., Bedir, E., Sukan, F.V., Ozek, T., Baser, K.K.C., 2007, Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of Rosmarinus officinalis. Depending on location and seasonal variations,Food Chemistry; 100:553-559.

[3] Oussalah, M., Caillet. S., Saucier, L., Lacroix, M., 2007, Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: Ecoli salmonella typhimurium, staphylococcus aureus and listeria monocytogenes, Food control; 18(5):414-20.

[4] Gragg, G.M., Newman, D.J., Sander, K.M., 1997, Natural products in drug discovery and development, Journal Natural Product;60(1):52-60.

[5] Hussain, A.I., Anwar, F., Sherazi, S.T.H., 2008, Przybylski R. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (Ocimum basilicum) essential oils depends on seasonal varitions,Food Chemistry;108:986-995.

[6] Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Simin, N., Anakov, G., 2006, Characterization of the volatile composition of essential oils of some lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry;54:1822-1828.

[7] Eloff, J.N., 1999, It is possible to use herbarium sepecimens to screen for anti bacterial components in some plants, J ethnopharmacol;67(3): 355-60.

[8] Khafagi, I.K., Deweder, A., 2000, The efficitncy of random rersus ethno- directed research in the evalution of Sinai medicinal plants for bioactive compounds, Journal of Ethno-pharmacology; 71: 365-376.

[9] Rao, K.S.,1996, Antibaterial activity of some medicinal plants of papua New guinea, Internation of Journal of pharmacognosy;34: 223-225.

[10] Naqvi, S.A.H., Khan, M.S.Y., Vohora, S.B., 1991, Antibacterial antifungal and anthelminitic investigations on Indian medicinal plants, Fitoterapia; 62: 221-228.

[11] Vlietinck, A.J., Van- Hoof,L., Totte, J., Lasure,A. Berghe, D.V., Rwangabo, P.C., Mvukiyumwami, J., 1995, Screening of hundred Rwandese medicinal plants for Antimicrobial and Antiviral properties Journal of Ethnopharmacology;46:31-42.

[12] Alkofahi, A., Batshoun,R., Owais, W., Najib, N., 1997, Biological activity of some Jordanian medicinal plant extracts, Part II, Fitoterapia; 68:163-168.

[13] Khalid, K.A., El-Ghorab, A.H., 2006, The effect of presowing low temperature on
essential oil and chemical composition of Calendula officinalis L. J. Essent Oil, Bearing Plants; 9 (1): 32–41.

[14] Zarghari, A., 1995, Medicinal plants of Iran, first volume. Sixth edition. Tehran University Publications; 210-222. [In Persian]

[15] Ceeh, R., 2002, Phytochemical variation within populations of Echinacea angustifolia (Asteraceae), Biochem Syst Ecol; 30: 837-54.

[16] Chicca, A., Adinolfi, B., Martinotti, E., 2007, Cytotoxic effects of Echinacea root hexanic extracts on human cancer cell lines, J Ethnopharmacol; 110: 148-53.

[17] Wu, L., Bea, J., Kraus, G., 2004, Diacetylenic isobutylamides of Echinacea: synthesis and natural distribution, Phytochemistry; 65: 2477-84.

[18] Zollinger, N., Kjelgren, R., Cerny-Koenig, T., 2006, Drought responses of six ornamental herbaceous perennials, Sci Hortic; 109: 267-74.

[19] Dalby-Brown, L., Barsett, H., lando, A.K., 2005, Synergistic antioxidative effects of alkamides caffeic acid derivatives and polysaccharide fractions from Echinacea purpurea on in vitro oxidation of human low-density lipoproteins, J Agric Food Chem; 53: 9413-23.

[20] Baue, R.,Khan, I.A., Wanger, H.,1988, TLC and HPLC analysis of Echinacea pallida and Echinacea angustifolia roots, Planta Medica; 54: 426-30.

[21] Hu, C., Kitts, D.D., 2000, Studies on the antioxidant activity of Echinacea root extract, J Agric Food Chem; 48: 1466-72.

[22] Luzzatto, T., Golan ,A., Yishay, M., Bilkis ,I.,Ben-Arim, J., Yedidia, I., 2007, Priming of antimicrobial phenolics during induced resistance response towards Pectobacterium carotovorum in the ornamental monocot calla lily,J Agri Food Chem; 55: 10315-22.

[23] Sharma ,M., Vohra ,S., Arnason ,T., Hudson,B.,2008, Echinacea extracts contain significant and selective activities against human pathogenic bacteria, Pharm Biol; 46: 111-6.
[24] Soleimani,H., Jafari,B.,2019, Comparative study of antibacterial effects of polar, semi-polar and non Polar fractions of Lnula helenium plant extract against some food-borne bacteria,JFM;7(1);41-49.[In Persian]
[25] Jafari, B., Monadi,A.,2018, Comparative study on the effects of silver nanoparticles and methanolic extracts of Calendula officinalis on pathogenic bacteria Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa under laboratory conditions,27(2):163-171.[In Persian]
[26] Gill, A.O.,Holley, R.A.,2006, Disruption of E. coli, Listeria monocytogenes and Lactobacillus sakei cellular membranes by plant oil aromatics,Inernational Journal Food Microbiology;108:1-9.
[27] Kraft, K., Hobbs, C.,2004, Poket Guide to Herbal Medicine,New York:Thieme Stuttgart,61-62.
[28] Stanisavljevic,I., Syojicevic,S., Velickovic,D., Veljkovic,V., Lazic,M.,2009,Antioxidant and Antimicrobial Activities of Echinacea purpurea Extracts obtained by classical and Ultrasound Extraction.Biotechnology and Bioengineering.Chinese journal of chemical Engineering;17(3):478-483.
[29] Barzegar, M., Sabouri, Z., Sahari, M.A., Naghdi, B., 2012, Antioxidant and Antimicrobial Potential of Echinacea purpura Extract and Its Effect on Extension of Cake Shelf Life, Journal of Medicinal Plants;43(11):29-40.
[30] Sorooshzadeh,A., Izadi,Z., Modarres Sanavi, S.A.M, Esna-Ashari,M., AghaAlikhani,M., Davoodi,P.2014, Effect of Extraction Method on Antimicrobial Properties of Shoot Extract of Purple Coneflower (Echinacea Purpurea l.) Against Some Pathogenic Bacteria,Journal of Medicinal Rafsanjan;7(2):48-54.