بررسی مقایسه ای اثرات ضد باکتریایی فراکسیون های قطبی، نیمه قطبی و غیرقطبی عصاره گیاه زنجبیل شامی (*Lnula helenium*) بر علیه برخی از باکتری های پاتوژن غذازاد

حسین سلیمانی[1]، بهبود جعفری[2*]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران.

۲. استادیار، گروه میکروبیولوژی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران.

***نویسنده مسئول:** *dr.b.jafari@gmail.com*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۳/۲۸

چکیده

امروزه داروهای شیمیایی به واسطه اثرات زیانباری که بر پیکره آدمی به جای می‌گذارند، جای خود را به داروهای گیاهی می‌سپارند. اگر چه نسبت داروهای گیاهی به داروهای شیمیایی در جهان ناچیز است، ولی روند جایگزینی با سرعت بیش‌تری دنبال می شود. هدف از این مطالعه بررسی اثر ضد باکتریایی فراکسیون های قطبی، نیمه قطبی و غیر قطبی عصاره گیاه زنجبیل شامی بر روی برخی از باکتری‌های غذا زاد بود. در این مطالعه گیاه زنجبیل شامی از عرصه های طبیعی شهر اراک جمع آوری و سپس عصاره های متانولی (قطبی)، کلروفرمی (نیمه قطبی) و هگزانی (غیر قطبی) زنجبیل شامی تهیه شد و تاثیر غلظت های مختلف این عصاره مورد بررسی قرار گرفت. تمامی آزمایش ها با روش انتشار چاهک و تعیین MIC و MBC بر روی سویه های استاندارد گرم منفی*سودوموناس آئروژینوزا، اشریشیاکلی* و گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا منوسیتوژنز، و استرپتوکوکوس موتانس* انجام گرفت. عصاره متانولی گیاه زنجبیل شامی در غلظت ۶/۲۵ میکروگرم در میلی لیتر از رشد باکتری گرم مثبت و گرم منفی جلوگیری می کند، عصاره کلروفرمی با حداقل غلظت های (۱۲/۵mg/ml، ۵۰ و ۱۰۰ درصد) به ترتیب روی باکتری‌های *استرپتوکوکوس موتانس، استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریامنوسیتوژنز* اثر کشندگی داشت و عصاره هگزانی فقط بر روی باکتری‌های گرم مثبت تأثیر داشت. عصاره گیاه مورد نظر می تواند بعد از تکمیل آزمایشات بالینی به عنوان داروی گیاهی مورد استفاده قرار گیرد.

کلید واژه ها: اثرات ضد میکروبی، عصاره ، گیاه زنجبیل شامی.

مقدمه

با گسترش مطالعات علمی و افزایش سطح آگاهی مردم از خطرات نگهدارنده های شیمیایی به کاررفته در مواد غذایی به منظور جلوگیری از فساد میکروبی و عدم اکسیداسیون چربی ها، صنعت تولید به سمت استفاده از نگهدارنده های طبیعی همچون اسانس های روغنی و عصاره گیاهان در مواد غذایی بعلت دارا بودن ویژگی های ضدباکتری، ضدقارچی و آنتی اکسیدانی بعنوان افزودنی های طبیعی روی آورده است (Rezvanifard *et al.*, 2019) و همچنین گیاهان هنوز بعنوان یک منبع غنی از ترکیبات دارویی به حساب می آیند (Jafari-Sales 2019; 2015; Mobaiyen *et al.*, 2016).

در سراسر دنیا گیاهان بطور سنتی برای درمان بسیاری از بیماری ها مثلا بیماری های عفونی از جمله، اسهال ، تب، سرماخوردگی و همچنین برای کنترل رشد جمعیت و بهداشت دهان و دندان استفاده می شود و همچنین بسیاری از ترکیبات روان گردان استفاده شده در طب سنتی ریشه گیاهی دارند (Deans and Svobod, 1990; Sales, 2014). بنابراین عصاره و اسانس های گیاهی بدست آمده از گیاهان معطر دارای خاصیت ضدباکتریایی، ضد قارچی و ضدسرطانی بوده و قادر هستند رشد پاتوژن ها و تولید سم توسط ریزسازواره ها را کنترل کنند (Sales, 2017).

عصاره ها ترکیبات شیمیایی هستند که در اندام گیاهان دارویی یافت می شوند. بسیاری از فرآورده های

گیاهان دارویی به علت داشتن روغن فرار به طور مستقیم در پزشکی مصرف می شوند، ولی در بیشتر موارد از مواد خام جدا شده و به عنوان دارو بکار میرود. عصاره های گیاهی از نظر اقتصادی نیز نقش بزرگی در داروسازی، صنایع غذایی و بهداشتی دارند (Sales, 2015).

خواص ضد میکروبی عصاره های گیاهان دارویی از زمان های قدیم شناخته شده است. امروزه استفاده بی رویه از مواد نگهدارنده و آنتی بیوتیک ها در صنایع غذایی و درمان بیماران سبب شده است تا مقاومت دارویی باکتریها به شدت گسترش یابد. از این رو در حال حاضر منابع طبیعی بویژه گیاهان دارویی و خوراکی که به عنوان مخازن اکولوژیکی مورد توجه قرار گرفته اند (Cowan, 1999). از بین تمام مواد شناسایی شده موجود در ترکیبات موثر اندام گیاهان، ترکیبات فنولی یا ترکیبات ثانویه بدون نیتروژن، بیش-ترین و مهم‌ترین موادی هستند که دارای آثار گوناگون بیولوژیک از جمله فعالیت ضدباکتریایی موثر هستند (Deans and Svobod, 1990). زنجبیل شامی با نام علمی *Lnula helenium* ، یک گونه از تیره کاسنیان است علفی، پایا، زیبا و به ارتفاع ۱/۷۰ تا ۲ متر غالباً در چمنزارها و نواحی مرطوب و غالبا خودرو می روید.ریشه آن دراز، ضخیم و گوشتدار و ساقه اش راست و منشعب به شاخه‌های متعدد می باشد (Zamanzad, 2010). از خواص درمانی گیاه زنجبیل شامی می توان به نیرو بخش بودن، ضد التهاب، ضد استفراغ، ضد یبوست، اشتهاآور، ضد باکتری، ضد عفونی، رفع ناراحتی های گوارشی، اثر دفع اوره ها و کلرها، کاهش استرس، کاهش کلسترول، رفع بیماری های پوستی و سرفه های خشک اشاره کرد (Zargari, 2007). بیماری های ناشی از غذا یا مسمومیت غذایی با خوردن غذایی که آلوده به باکتری، سم، ویروس یا انگل است ایجاد می شود. این آلودگی معمولاً به دلیل حمل و نقل، تهیه و یا نگهداری نامناسب ماده غذایی بروز می کند (Habibian Dehkordi *et al*., 2014).

استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) بعنوان دومین علت مهم بیماری های منتقله از راه غذا محسوب می شود، این باکتری بعلت سهولت رشد در شرایط مختلف، از غذاهای متنوعی اعم از شیر و فرآورده های لبنی، فرآورده های گوشتی، سبزیجات، سالاد، غذاهای پخته و نمکی و بخصوص غذاهایی که نیاز به دستکاری های طولانی می باشند قابل جداشدن است. بقایای این میکروارگانیسم در انواع مختلف پنیر و مسمومیت های ناشی از مصرف آنها به خوبی به ثبت رسیده است (Saatch *et al*., 2008). از جمله باکتری های بیماری زای منتقله از غذا، *اشریشیا کلی* (*Escherichia coli*) می باشد. باکتری *اشریشیا کلی* باعث انواع بیماری های روده ای و خارج روده ای مانند گاستروانتریت، عفونت دستگاه ادراری، مننژیت، پریتونیت و سپتی سمی می‌شوند (Cowan, 1999). باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* (*Pseudomonas aeruginosa*) باکتری شایع در ماکیان بوده و در اردک، بوقلمون و قرقاول بروز می نماید این پاتوژن می تواند تخم مرغ های بارور را نیز مورد تهاجم قرار داده ،و باعث مرگ جنین شوند (Karim Rahimi, 2010). *لیستریا مونوسیتوژنز* (*Listeria monocytogenes*) باکتری گرم مثبت، بدون اسپور، هوازی- بی هوازی اختیاری است که به صورت خارج سلولی و داخل سلولی قادر به رشد می باشد.که این باکتری ها بیشتر در خاک، آب، مدفوع انسان و دام، سبزیجات، گوشت خام سفید و قرمز، ماهی و فرآورده های گوشتی و شیر یافت می شود (Cowan, 1999). منظور از این مطالعه بررسی مقایسه ای اثرات ضد باکتریایی فراکسیون های قطبی، نیمه قطبی و غیر قطبی عصاره گیاه زنجبیل شامی برعلیه برخی باکتری های پاتوژن غذازاد می باشد.

روش کار

گیاه مورد مطالعه از مناطق شمالی، غرب و مرکزی اراک تهیه و توسط موسسه تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه تهران مورد تایید قرار گرفت. در جمع آوری نمونه ها دقت کافی به عمل آمد که نمونه ها از یک محدوده ی جغرافیایی تهیه شوند. پس از اتمام کار جمع آوری، در فضایی بزرگ و مناسب و در شرایط دور از نور آفتاب خشک شدند پس از خشک شدن کامل نمونه ها و جدا کردن اندام های هوایی ساقه و برگ از ریشه ها، آن ها (ساقه و برگ) برای آسیاب شدن آماده شد. جهت عصاره گیری میزان ۵۰۰ گرم از گیاه زنجبیل شامی 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 می شود. 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 می شود. حلال مجدداً تحت خلاء تبخیر شده و عصاره خالص گیاه تهیه خواهد شد (Jensen, 2007). در این تحقیق فراکسیون بندی براساس قطبیت حلالهای مورد استفاده انجام شد. بدین منظور ابتدا مواد گیاهی با یک حلال غیرقطبی نظیر 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 نظیر کلروفرم عصاره گیری شده و در نهایت با استفاده از حلال بسیار قطبی نظیر متانول باقیمانده مواد گیاهی عصاره گیری می شود. باکتری های پاتوژن گرم مثبت و گرم منفی حائزاهمیت در ایجاد عفونت و مسمومیت های غذایی از قبیل *سودوموناس آئروژینوزا* PTCC.1707، *استافیلوکوکوس اورئوس* PTCC.1431، *لیستریامونوسیتوژنز* PTCC.1297، *اشریشیاکلی* PTCC.1397، *استرپتوکوکوس موتانس* PTCC.1683 (تهیه شده از کلکسیون میکروبی آزمایشگاه کنترل کیفی و بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی تبریز) از دراین مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند.

روش انتشار چاهک

در روش انتشار چاهک ۵۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی با غلظت نیم مک فارلند با غلظت cfu/ml $۱/۵\times۱۰^{۸}$ در سطح محیط کشت مولرهینتون آگار به صورت یکنواخت گسترش داده شد. سپس در سطح پلیت چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی متر به فاصله ۲/۵ سانتی متر از هم ایجاد شد. سپس به چاهک ها ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک غلظت های تهیه شده عصاره متانولی گیاه زنجبیل شامی انتقال داده شد. DMSO به عنوان شاهد منفی و آنتی بیوتیک کلرامفنیکل به عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته می شود. بعد از اتمام کار تمامی محیط های کشت تلقیح شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای میانگین ۳۷ درجه سانتی گراد در انکوباتور قرار داده شد. پس از مدت معین کشت های میکروبی از تشکیل یا عدم تشکیل هاله عدم رشد در اطراف چاهک ها مورد بررسی قرار گرفت و قطر هاله عدم رشد برحسب میلی متر اندازه گیری 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 می باشد که با اندازه گیری قطر هاله عدم رشد و مقایسه آن با استاندارد مشخص، قدرت ضد میکروبی عصاره مورد آزمایش تعیین شد.

ارزیابی MIC و MBC عصاره ها

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MBC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) به روش میکروتیتر پلیت براساس معرف Resazurin انجام شد. در این روش در میکروپلیت ۹۶ گوده ای ته گرد استریل شماره ۱ الی ۹ مربوط به رقت های ۱۰۰ تا ۰/۳۹ میکروگرم در میلی

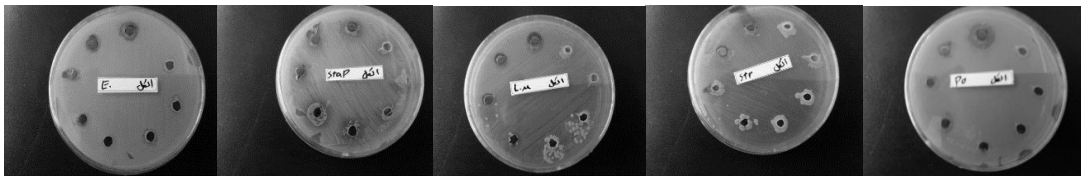
لیتر از عصاره می باشد. گوده ۱۰ شاهد باکتری، گوده ۱۱ شاهد محیط، گوده ۱۲ شاهد عصاره بود. در مرحله اول در هر گوده به میزان ۱۰۰ میکرو لیتر محیط کشت مولرهینتون براث به غیر از گوده اول ریخته شد. در مرحله دوم در گوده اول و دوم به میزان ۱۰۰ میکرو لیتر از عصاره تهیه شده ریخته (به علت اینکه غلظت عصاره در گوده اول ۱۰۰ درصد باشد) سپس از گوده دوم ۱۰۰ میکرولیتر برداشته به گوده سوم و از سوم به چهارم الی گوده ۹ از گوده ۹ به مقدار ۱۰۰ میکرو لیتر خارج می گردد. در مرحله سوم از کشت ۲۴ ساعته باکتری مورد نظر کدورت نیم مک فارلند cfu/ml $۱/۵\times۱۰^{۸}$رقت ۱ به ۱۰۰ تهیه کرده و در تمامی گوده ها ۱۰۰ میکرولیتر ریخته شد به غیر از گوده ۱۱ و ۱۲ . در مرحله چهارم از معرف Resazurin به مقدار ۳۰ میکرو لیتر به تمامی گوده ها ریخته شد. پس از طی زمان انکوباسیون، گوده ها از نظر تغییر رنگ معرف روزازورین از رنگ آبی متمایل به بنفش به صورت ناشی از رشد باکتری تلقیح شده بررسی گردید. کم ترین رقت از عصاره که در آن تغییر رنگ مشاهده نشد (عدم کدورت) به عنوان MIC در نظر گرفته شد. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره (MBC) از تمامی گوده هایی که در آنها عدم رشد مشاهده می شود، در سطح محیط کشت مولرهینتون آگار کشت داده شد و محیط های کشت تلقیح شده به صورت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شد. پلیت مربوط به لوله ای که حاوی کمترین غلظت عصاره بود و در آن رشد باکتری مشاهده نشد، به عنوان MBC آن غلظت از عصاره در نظر گرفته شد (Mahmoudi et al., 2016; Gulluce et al., 2007).

نتایج

در روش انتشار چاهک در غلظت ۱۰۰ درصد، هاله عدم رشد عصاره متانولی (الکلی) گیاه زنجبیل شامی علیه *استرپتوکوکوس موتانس* بیشتر از سایر سویه ها مشاهده گردید. در غلظت ۱۰۰ درصد عصاره کلروفرمی و همچنین عصاره هگزان گیاه زنجبیل شامی، باکتری های *استرپتوکوکوس موتانس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به عصاره گیاه حساسیت نشان داده و هاله عدم رشد مشاهده گردید (جدول ۱ و شکل ۱). این نتایج نشان داد که پنج سویه باکتری های *استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریامنوسیتوژنز، اشریشیاکلی، استرپتوکوکوس موتانس* و *سودوموناس آئروژینوزا* دارای بیشترین حساسیت میکروبی در برابر عصاره متانولی می باشند و این اثر بازدارندگی با افزایش غلظت عصاره متانولی بر روی این باکتری ها افزایش یافته که بصورت افزایش هاله عدم رشد دیده شد.

جدول ۱- نتایج حاصل از تاثیر عصاره های متانولی، کلروفرمی، هگزان گیاه زنجبیل شامی بر باکتری های مورد آزمایش به روش انتشار چاهک (قطر هاله- میلی متر)

باکتری	عصاره متانولی ۱۰۰درصد	عصاره کلروفرمی ۱۰۰درصد	عصاره هگزان ۱۰۰درصد
اشریشیاکلی	۱۰	۰	۰
سودوموناس آئروژینوزا	۱۴	۰	۰
لیستریا منوسیتوژنز	۹	۰	۰
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۱	۱۰	۱۱
استرپتوکوکوس موتانس	۱۶	۱۲	۱۴



شکل ۱- نتایج تست چاهک عصاره متانولی(الکلی) گیاه زنجبیل شامی برای باکتری های مورد آزمایش

نتایج MIC و MBC عصاره های متانولی، هگزانی و کلروفرمی گیاه زنجبیل شامی علیه باکتری های مورد آزمایش در جدول ۲ بیانگر آن است که در بین باکتری های مورد آزمایش از نظر حساسیت عصاره متانولی نسبت به سایر حلال های کلروفرمی و هگزانی اثر بازدارندگی بیشتری بر روی باکتری های مربوطه داشته است.

جدول۲- نتایج MBC, MIC (µg/ml) عصاره متانولی، هگزانی و کلروفرمی گیاه زنجبیل شامی علیه باکتری های مورد آزمایش

	باکتری مورد آزمایش	حداقل غلظت بازدارندگی MIC (µg/ml)	حداقل غلظت کشندگی MBC (µg/ml)
عصاره متانولی	*اشریشیاکلی*	۲۵	۵۰
	سودوموناس آئروژینوزا	۲۵	۵۰
	لیستریا منوسیتوژنز	۲۵	۵۰
	استافیلوکوکوس اورئوس	۵۰	۱۰۰
	استرپتوکوکوس موتانس	۶/۲۵	۱۲/۵
عصاره کلروفرمی	*اشریشیاکلی*	۵۰	۱۰۰
	سودوموناس آئروژینوزا	۵۰	۱۰۰
	لیستریا منوسیتوژنز	۵۰	۱۰۰
	استافیلوکوکوس اورئوس	۲۵	۵۰
	استرپتوکوکوس موتانس	۶/۲۵	۵۰
عصاره هگزانی	*اشریشیاکلی*	۱۰۰	۱۰۰
	سودوموناس آئروژینوزا	۱۰۰	۱۰۰
	لیستریا منوسیتوژنز	۱۰۰	۱۰۰
	استافیلوکوکوس اورئوس	۱۰۰	۱۰۰
	استرپتوکوکوس موتانس	۲۵	۵۰

بحث

امروزه گیاهان دارویی بخش عظیمی از طب سنتی بسیاری از کشورها را تشکیل می دهند و در رویکردهای جدید درمانی ارزش و جایگاه ویژه‌ای دارند. موقعیت خاص جغرافیایی ایران و امکان رشد گونه های مختلف گیاهان در این سرزمین پهناور باعث شده است که از دیرباز استفاده از گیاهان دارویی و سنتی در درمان انواع مختلف بیماری ها معمول شود. در سراسر دنیا گیاهان به طور سنتی برای درمان بسیاری از بیماری ها به ویژه بیماری های مختلف از جمله بیماری های عفونی مثل اسهال، تب، سرماخوردگی و غیره استفاده می‌شود. افزایش سوش های میکروبی که به آنتی بیوتیک های موجود مقاومت نشان می دهند و استفاده از نگه‌دارنده‌های شیمیایی که به مواد غذایی افزوده می شود تا از فساد آنها جلوگیری کنند، تحقیق در مواد آنتی‌باکتریال گیاهی را ضروری می سازد (Saatch et al., 2008). با بررسی مطالعات انجام گرفته به نظر می رسد در مورد خواص ضد میکروبی

گیاه زنجبیل شامی هیچ پژوهشی صورت نگرفته است. ولی در مورد ترکیبات شیمیایی آنها مطالعات بیشتری صورت گرفته است. این تحقیق با هدف بررسی اثر آنتی باکتریال فراکسیون های قطبی، نیمه قطبی و غیرقطبی عصاره گیاه زنجبیل شامی بر روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریامنوسیتوژنز*، *اشریشیاکلی*، *استرپتوکوکوس موتانس*، *سودوموناس آئروژنیوزا* صورت گرفته است. محمدی و همکارانش با مطالعه روی فعالیت ضد قارچی اسانس زنجبیل علیه ایزوله های بالینی واژینال *کاندیدا آلبیکنس* مقاوم به فلوکونازول نشان دادند که اسانس زنجبیل بر روی همه ایزوله ها اثر مهاری داشته و اسانس موثر بر روی قارچ *کاندیدا آلبیکنس* در شرایط آزمایشگاهی اثرات ضد قارچی دارند (Mohammadi and fragrant, 2006). دهقان و همکارانش با مطالعه اثرات ضد باکتریایی عصاره های زردچوبه، زنجبیل، میخک بر روی *هلیکوباکتر پیلوری* به این نتیجه رسیدند که عصاره های آبی، الکلی و اثری زردچوبه، دارای فعالیت ضد باکتریایی بالایی می باشد (Dehghan *et al*., 2007). خان احمدی و همکارانش با مطالعه مروری بر خواص دارویی گیاهان رنگ زا نتیجه گیری کردند که رنگ‌های استخراج شده از گیاهان دارای فعالیت ضد میکروبی و اثر ضد التهابی دارند (Khan Ahmadi *et al*., 2014). دارانی و همکارانش مطالعه اثرات ضد کاندیدایی و ضد باکتریایی مخلوط عسل و عصاره های گیاهی نتیجه‌گیری کردند افزودن عصاره های گیاهی سبب بهبود خواص ضد باکتریایی و قارچی عسل گردیده که یک روش جایگزین برای مقاومت در برابر آنتی بیوتیک ها می باشند (Darani Khosravi *et al*., 2008). شعاعی و همکارانش مطالعه اثرات ضد قارچی عصاره های مریم نخودی و زنجبیل بر روی سویه های بالینی کاندیدا نتیجه گیری کردند که عصاره گیاه زنجبیل در مقایسه با مریم نخودی دارای اثر ضد قارچی بیشتری *کاندیدا آلبیکنس* است (Shoaie *et al*., 2012). مومنی و همکارانش مطالعه اثرات ضد میکروبی عصاره پیاز و زنجبیل بر روی باکتری ها و قارچ *کاندیدا آلبیکنس* جدا شده از نمونه های ادرار افراد مبتلا به عفونت ادراری- تناسلی نتیجه گیری کردند که زنجبیل به خاطر اثرات ضد باکتریایی و خاصیت بازدارندگی بیشتر نسبت به پیاز می تواند در طب سنتی علیه میکروارگانیسم ها مورد استفاده قرار گیرد (Momeni *et al*., 2010). در این تحقیق مشخص گردید که عصاره متانولی و کلروفرمی گیاه زنجبیل شامی اثرات مهاری قابل توجهی بر روی باکتری‌های مورد آزمایش دارند و نتایج آزمون های آنتی باکتریال عصاره متانولی و کلروفرمی گیاه زنجبیل شامی نشان دهنده میزان تأثیر عصاره ها روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی می‌باشد به طوری که اثر مهارکنندگی عصاره متانولی روی باکتری‌های مربوطه یعنی هم روی گرم مثبت و گرم منفی تأثیر بیشتری داشته است. در نهایت بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره های متانولی، کلروفرمی و هگزان گیاه زنجبیل شامی نشان دهنده آن است که عصاره های متانولی و کلروفرمی و هگزان تأثیرات متفاوتی بر روی باکتری‌های مربوطه داشتند. پس علت تأثیرات متفاوت عصاره های متانولی و کلروفرمی و هگزان بر رشد باکتری ها ممکن است به دلایل مختلفی از جمله تفاوت در ساختار موجود بین دیواره سلولی این باکتری ها و یا مقاومت ذاتی آن ها به علت موتاسیون یا جهش های مختلف و نوترکیبی می باشد.

نتیجه گیری کلی

عصاره متانولی گیاه زنجبیل شامی دارای خاصیت ضد باکتریایی می باشد. در بین باکتری‌های مورد آزمایش، *استرپتوکوکوس موتانس* بیشترین حساسیت و باکتری *اشریشیاکلی* کمترین حساسیت را در برابر عصاره متانولی دارند و همچنین عصاره کلروفرمی و هگزانی گیاه زنجبیل شامی نیز دارای خاصیت ضد باکتریایی

است، اما ضعیف تر از عصاره متانولی آن می باشد، به صورتی که فقط بر روی باکتری‌های گرم مثبت خاصیت ضد باکتریایی دارد و روی گرم منفی ها ها تأثیری نداشت. میزان تأثیر عصاره متانولی روی باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* بسیار چشم‌گیر بود به طوری که غلظت ۱۲/۵ درصد آن هم کشنده بود و عصاره کلروفرمی روی باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* به مقدار غلظت ۵۰ درصد حداقل غلظت کشندگی بود. در حالت کلی برای هر یک از باکتری‌های مورد آزمایش تأثیر عصاره متانولی بیش‌تر از عصاره های کلروفرمی و هگزان بود.

تقدیر و تشکر

این پژوهش حاصل پایان نامه دانشجویی با کد (۲۲۰۳۰۵۷۹۴۲۰۰۵) می باشد بدین وسیله از حوزه‌ی پژوهش و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر صمیمانه تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

1. Cowan, M.M., 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev. 12(4):564-582.

2. Darani Khosravi, K., Khaksar, R., Esmaili, S., Seyed Reyhani, F., Zoogi, A., 2008. Anti-Candida and Antibacterial Effects of Mixture of Honey and Herbal Extracts. Zahedan. J. Res. Med. Sci. 23-28.

3. Deans, S.G. and Svoboda, K.P., 1990. Biotechnology and bioactivity of culinary and medicinal plants. AgBiotech News and Information. 2 (2):211-216.

4. Dehghan, M H., Nourizadeh D., Latifi Navid M., 2007. Evaluation of antibacterial effects of turmeric extract, ginger, cloves and cardamom on Helicobacter pylori. Iran J Med Plan. 1(4):19-27.

5. Gulluce M., Sahin F., Sokman M., Ozer H., Daferera D. and Sokman, A., 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from Mentha longifolia L. longifolia. Food Chem. 103: 1449-56 .

6. Habibian Dehkordi, S., Gholipour, S., Pharmacology, D.S. and Moshtaghi Broojeni, H., 2014. Evaluating antibacterial eects o alcoholic extract o Satureja bactiarica on some oodborne pathogenic bacteria o meat. Vet J. 28-37 .

7. Jafari-Sales, A. and Hossein-Nezhad, P., 2019. Antimicrobial effects of Rosmarinus officinalis methanolic extract on Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa in laboratory conditions. J. Med. Chem. Sci. 103-108.

8. Jafari-Sales, A., Jafari, B., Sayyahi, J. and Zohoori-Bonab, T. 2015. Evaluation of antibacterial activity of ethanolic extract of malva neglecta and althaea officinalis l. On antibiotic-resistant strains of staphylococcus aureus. J Biol Today World. 4(2):58-62.

9. Jafari-Sales, A., Jafari, B., Sayyahi, J. and Zohoori-Bonab, T., 2015. Evaluation of antibacterial activity of ethanolic extract of malva neglecta and althaea officinalis l. On antibiotic-resistant strains of staphylococcus aureus. J Biol Today World. 4(2):58-62.

10. Jensen, W.B., 2007. The origin of the Soxhlet extractor. J Chem Edu, 84(12):1913.

11. Karim Rahimi, M., 2010. Zinesar Microbiology, Volume I, Fourth Edition, AYJ Publishing .

12. Khan Ahmadi, M., Haji Aghaei, R., Qasemi, S., Akhundzadeh, Sh., Azmadreh, A., Assyria, B.,et all., 2014. Evaluation of medicinal properties of colored plants. J Iran Herbs. 4(52):1-26.

13. Mahmoudi, R., Amini, K., Fakhri, O. and Alem, M., 2014. Aroma profile and antimicrobial properties of alcoholic and aqueous extracts from root, leaf and stalk of nettle (Urtica dioica L.). J Microbiol Biotechnol Food Sci. 4(3):220.

14. Mobaiyen, H., Jafari Sales, A. and Sayyahi, J., 2016. Evaluating antimicrobial effects of centaurea plant's essential oil on pathogenic bacteria: staphylococcus aureus, staphylococcus epidermidis, and escherichia coli isolated from clinical specimens. J Fasa Univ Med Sci. 5(4): 479-487.

15. Mohammadi, R., Fragrant, F., 2006. Evaluation of Antifungal Activity of Ginger Essence against Fluconazole Resistant Candida Albicans. Iran J Medic Plants.4 (24):22-27.

16. Momeni, L., Zamanzad, B., 2010. The antibacterial properties of Allium cepa (onion) and Zingiber officinale (ginger) extracts on Staphylococcus aureus Pseudomonas aeruginosa Escherichia coli and Candida albicans isolated from vaginal specimens. J Shahrekord Univ Med Sci. 11 (4) :81-87

17. Rezvanifard, Z., Eshaghi, M., Hasanzadeh, M. 2019. The use of peel extract of pomegranate in apple juice as a preservative against Saccharomyces cerevisiae, Lactobacillus plantarum and Alicyclobacillus acidoterrstris. J Food Microbiol. 6(2):22-33.

18. Saatch, A., Kadivar, M., soleymnianzad, S., 2008. Antioxidant and antifungal effects of ethanol extract of Melissa officinalis and Valeriana officinalis. In 18 th National congress on Food Tech.

19. Sales, A.J., 2014. Evaluation of antibacterial activity of ethanol extract of Lavandula Stoechas L. plant on antibiotic-resistant strains of Staphylococcus Aureus. J Curr Res Sci. 2(6):641.

20. Sales, A.J., Bagherizadeh, Y. and Malekzadeh, P., 2017. Evaluation of the Antimicrobial Effects of Essential Oil of Reseda Lutea L. on Pathogenic Bacteria: Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, and Escherichia coli. Arch Clin Microbiol. 8(3):1-5.

21. Sales, A.J., Shadbad, N.N. and Kaleybar, V.P., 2015. The Investigation of the Antibacterial effects of Ethanol extract of Cichorium intybus L. on Antibiotic-resistant Staphylococcus aureus strains. Bull Env Pharmacol Life Sci. 4:161-4.

22. Shoaie, N., Mohammadi, P., Roudbar Mohammadi, S., 2012. Antifungal Effect of Teucrium polium and Zingiber officinale Extracts on Clinical isolates of Candida Species. Armaghane danesh. 17 (5): 416-422.

23. Zamanzad, B., 2010. The antibacterial properties of Allium cepa (onion) and Zingiber officinale (ginger) extracts on Staphylococcus aureus Pseudomonas aeruginosa Escherichia coli and Candida albicans isolated from vaginal specimens. J Shahrekord Univ Med Sci. 11.

24. Zargari, A., 2007. Familiarity with Medicinal Plants. Tehran: Tehran University Press, Sixth Edition .

Comparative study of antibacterial effects of polar, semi-polar and non-polar fractions of *Lnula helenium* plant extract against some food-borne bacteria

Soleimani H[1], Jafari B[2*]

1. M.Sc. student, Department of Microbiology, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran.

2. Department of Microbiology, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran.

***Corresponding author:** *dr.b.jafari@gmail.com*

Received: 19 March 2019 Accepted: 18 June 2019

Abstract

Today, chemical drugs are replaced by herbal medicines because of the harmful effects they place on the human body. Although the proportion of herbal medicines to chemical drugs in the world is negligible, the replacement process is followed more quickly. The aim of this study was to investigate the antibacterial effect of polar, semi-polar, and non-polar fractions of *Lnula helenium* (*L. helenium*) extract on some food-borne bacteria .In this study, *L. helenium* plant was collected from Arak natural areas and then extracts of methanolic, chloroform, and hexane of *L. helenium* were obtained. The effect of different concentrations of this extract was investigated. All experiments were carried out using Agar well diffusion and determination of MIC and MBC on standard strains of *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*), *Escherichia coli* and *Streptococcus mutans.* A methanol extract of *L. helenium* (6.25 µg/ml) inhibits the growth of Gram-positive and Gram-negative bacteria. Chloroform extract with minimum concentrations (12.5 mg/ml, 50 and 100%) had a lethal effect on *S. mutans, S. aureus and L. monocytogenes*, respectively and hexane extract only affected gram-positive bacteria. The herbal extract can be used as an herbal medicine after completing clinical trials.

Keywords: Antimicrobial Effects, Extract, *Lnula helenium*.