ارزیابی اتنوفارماکولوژی، میزان فنل، فلاوونوئید و خاصیت ضدباکتریایی عصاره الکلی گیاه بومی *Allium cepa* L. var. *Ilkhichi*

یونس انزابی*[1]

[1]گروه پاتوبیولوژی، واحد تبریز، دانشگاه آزاداسلامی، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹٤/۱۰/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰٤/۰۱

چکیده

هدف از انجام این تحقیق، ارزیابی خواص فیتوشیمیایی، اتنوفارماکولوژی و ضدباکتریایی عصاره الکلی مستخرج از روش خیساندن پیاز قرمز با نام علمی *Allium cepa* L. var. *Ilkhichi* که از گیاهان بومی استان آذربایجان شرقی به شمار می‌رود، بر سویه‌های استاندارد ۸ گونه از باکتری‌های مهم از نظر بهداشت مواد غذائی براساس سنجش فنل کل (برمبنای استاندارد اسید گالیک)، فلاوونوئید کل (بر مبنای استاندارد کوئرستین) و ارزیابی عملکرد آنتی‌باکتریایی گیاه با استفاده از روش دیسک دیفیوژن (انتشاردر دیسک) تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (MIC)، حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) با استفاده از روش مایکرو دایلوشن انجام گرفت. نتایج حاصله مقادیر $mgGAEg^{-1}$ ۲/۱۲±۳۵۱/۵۲ و $mgQUEg^{-1}$ ۱۲/۵±۱۱۱/۵ را به‌ترتیب در مورد میزان فنل و فلاوونوئید کل عصاره مورد آزمایش نشان داد. همچنین مشخص شد که این عصاره بیشترین تاثیر ضدباکتریایی را علیه باکتری *انتروکوکوس فکالیس* با MIC معادل ٦۲/۵ µg/mL و نیز MBC معادل ۱۲۵µg/mL داشته است، اما مقایسه نتایج آزمایشات آنتی بیوگرام عصاره و آنتی‌بیوتیک ونکومایسین در مورد باکتری مذکور در سطح ($p<۰/۰۵$) اختلاف معنی‌داری نشان نداد. با توجه به نتایج ثبت شده به نظر می‌رسد علی‌رغم این که عصاره الکلی واریته ایلخچی پیازقرمز ظاهرا می‌تواند به‌عنوان یک ترکیب ضد باکتریایی بر علیه تعدادی از باکتری‌های بیماریزا مورد استفاده قرار گیرد، ولی جایگزینی عصاره مذکور به‌عنوان یک ترکیب طبیعی به جای آنتی‌بیوتیک‌های متداول مورد تردید می‌باشد. لذا لازم است در این خصوص بررسی‌های تکمیلی مخصوصا بر روی مدل‌های حیوانی و موارد بالینی نیز انجام پذیرد.

واژه‌های کلیدی: آنتی باکتریال، اتنوفارماکولوژی، پیاز قرمز، فنل، فلاوونویید، *Allium cepa* L.

*نویسنده مسئول: anzabi@iaut.ac.ir

مقدمه

امروزه یکی از روش‌های کنترل میکروارگانیسم‌های بیماری زا استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی ساخت بشر در غذا می‌باشد، اما غالبا استفاده از این نوع مواد شیمیایی در مواد غذایی باعث نگرانی مردم شده است، چرا که اعتقاد عمومی در میان مردم آن است که مواد شیمیایی ضدمیکروبی ممکن است سلامتی آنها را تهدید نمایند. به همین دلیل استفاده از مواد طبیعی به جای مواد شیمیایی از اهمیت خاصی برخوردار است، لذا به‌نظر می‌رسد که استفاده از عصاره و اسانس گیاهان جایگزین بسیار مناسبی بدین‌منظور می‌تواند باشد. عصاره‌های گیاهی دارای موادی هستند که می‌توانند بر علیه بسیاری از میکروارگانیسم‌ها بکار روند. این اثرات ضد میکروبی بر علیه باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌ها ثابت گردیده است. از طرف دیگر با توجه به اینکه آنتی بیوتیک‌ها نقش مهمی را در درمان بسیاری از بیماری‌ها ایفا می‌کنند، لذا توسعه داروهای ضدمیکروبی یکی از مهمترین پیشرفت ها در امر درمان می باشد. در این میان داروهای گیاهی به‌دلیل داشتن منشا طبیعی، در مقایسه با داروهای شیمیایی با ارگانیسم‌های بدن سازگاری بیشتری داشته و غالباً عوارض جانبی آنها نیز نادراست (Thuille et al., 2003; Burt, 2004). لذا جستجوی مواد موثره ضدباکتریایی در میان اسانس و عصاره گیاهان با هدف کشف ساختارهای شیمیایی جدید که بر معایب ذکر شده در بالا غلبه نماید، در حال پیشرفت می‌باشد (Bouamama et al., 2006). از طرف دیگر در این بین ترکیبات ضدمیکروبی با منشاء طبیعی به‌دلیل GRAS بودن (Generally Recognized As Safe) یعنی دارا بودن اثرات تغذیه ای مناسب همراه با رعایت سلامتی، امروزه بسیار مورد توجه می‌باشند (Appendini and Hotchkiss, 2002; Embuscado and Huber, 2009). بدین‌منظور در برخی از تحقیقات، اثرات ضد میکروبی اسانس‌ها و عصاره‌های مختلف گیاهی بر روی باکتری‌های بیماری زا با منشاء غذایی، در داخل محیط‌های کشت و یا در مدل‌های غذایی و نیز در مواردی حتی در غذاهای طبیعی بررسی شده است (Canillac and Mourey, 2001; Erfani et al., 2006; Fazlara et al., 2012).

بر همین اساس در حال حاضر از انواع گیاهان خوراکی مخصوصا گیاهان با مصرف پزشکی ومشتقات آنها به دلیل داشتن ترکیبات ضد میکروبی متنوع و قوی، به‌طور وسیعی برای جلوگیری از رشد عوامل میکروبی و قارچی بیماریزا استفاده می‌شود. پژوهش‌های مختلف هم در این خصوص مشخص کرده است که ترکیبات ضد میکروبی گیاهان در اسانس و عصاره‌های تهیه شده از بخش‌های مختلف گیاه از جمله برگ، گل یا غنچه، ریشه، دانه، ریزوم، میوه و سایر قسمت‌های آنها یافت می‌شود و تاکنون بیش از ۳٤۰ گونه گیاهی با خاصیت ضد میکروبی شناسائی و همچنین بیش از ۳۰ هزار ترکیب مختلف با خاصیت ضد میکروبی از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهان جدا شده است (Mashak et al., 2008; Tiwari et al., 2009 ; Tajkarimi et al., 2010).

پیاز نوعی غده زیرزمینی متعلق به تیره لاله بوده و نام علمی آن *Allium cepa* L. می‌باشد. عصاره پیاز قرمز غنی از ترکیبات فنلی است که این ترکیبات شیمیایی در واقع دارای فعالیت ضدسرطانی می‌باشند. پیاز غنی‌ترین منبع فلاونوئیدکوئرستین در رژیم غذایی انسان است. کورستین فلاونوئیدی است که در آن پنج گروه هیدروکسیل وجود دارد. در مطالعات دارویی، بالاترین مقدار کوئرستین از بین ۲۸ سبزی و ۹ میوه که مقدار کورستین در آنها بالاست، به پیاز تعلق گرفته است. علاوه بر این گزارش شده است در لایه‌های مختلف پیاز، فرولیک اسید و پروتوکاتکویک اسید وجود دارد. فرولیک اسید، آنتی‌اکسیدانی است که در

ساخت ترکیبات معطر مورد استفاده قرار می‌گیرد و از آن علاوه بر خواص آنتی‌اکسیدانی، خواص ضدباکتریایی نیز گزارش شده است. فرولیک اسید مانند بسیاری از فنول‌های طبیعی، یک آنتی‌اکسیدان است، به این معنا که نسبت به رادیکال‌های آزاد از جمله گونه‌های اکسیژن فعال واکنش‌پذیر است و می‌تواند آنها را مهار و از اثرات مخرب آنها جلوگیری کند. پروتوکاتکویک اسید نیز یک نوع اسید فنولیک است که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است.همچنین پیازسرشار از ترکیبات سولفوریک قوی است که باعث بوی تند و در عین حال باعث افزایش خواص کمک به آن سلامتی می‌شود. پیازسرشار از کروم، یک ماده معدنی که به سلول‌ها در واکنش به انسولین، به همراه ویتامین C، فلاونوئید و کوئرسیتین کمک می‌کند. انواع مختلفی از واریته‌های پیاز وجود دارد که حاوی غلظت‌های مختلف از ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها هستند و نشان داده شده که فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد رادیکال‌های آزاد آن وابسته به میزان محتوای ترکیبات فنلی این گیاه می‌باشد. پوست پیاز هم میزان قابل توجهی ترکیبات فلاوونوئیدی دارد که مقدار آن به مراتب بیشتر از فلاوونوئیدهای بخش خوراکی آن است. در واقع مقادیر بالای ترکیبات فنولی و بخصوص کوئرستین که به‌عنوان عوامل ضدمیکروبی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبقه‌بندی می‌شوند در عصاره استخراج شده از بخش‌های خوراکی پیاز قابل توجه می‌باشد؛ اما مقدار ترکیبات مذکور که از پوست پیاز جدا شده حدود سه تا پنج برابر بیشتر از بخش‌های خوراکی پیاز بوده است. همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی قسمت‌های خوراکی پیاز و به دام انداختن رادیکال‌های آزاد توسط عصاره استخراج شده از بخش‌های خوراکی بسیار قابل توجه بوده، اما باز هم مهار فعالیت رادیکال‌های آزاد توسط عصاره استخراج شده از پوست پیاز بسیار قدرتمندتر گزارش شده است. در واقع در این ارتباط پژوهش‌های مختلف نشان داده است که ترپنوییدها ،کمفرول، فلاونوئیدهای کوئرستین و آلکیل سیستئین سولفوکساید موجود در عصاره پیاز از مهمترین ترکیبات شیمیایی آنتی‌اکسیدان، ضدالتهاب و ضدعفونی کننده هستند که به‌عنوان آنتی‌پاتوژن‌های فعال و طبیعی، هم در محیط آزمایشگاه (In vitro) و هم در شرایط طبیعی (In vivo) برعلیه بسیاری از میکروارگانیسم‌ها اثرات ضد میکروبی نشان داده‌اند (Griffiths et al., 2002; Nelson and Reginald, 2007; Momeni and Zamanzad, 2010).

با توجه به این نکته مهم که کشور ایران از لحاظ آب و هوا و موقعیت جغرافیایی در زمینه رشد گیاهان یکی از بهترین مناطق دنیا محسوب می‌گردد و در گذشته هم منبع تولید و مصرف گیاهان دارویی بوده است، لذا در این تحقیق یکی از واریته‌های بومی پیازقرمز با نام علمی *Allium cepa L.* var. *Ilkhichi* که از گیاهان در دسترس و پر مصرف در کشور به شمار می‌رود، از منطقه ایلخچی واقع در منطقه جنوب غرب استان آذربایجان شرقی تهیه و ضمن توجه به فیتوشیمی (فنل و فلاوونوئید کل) و نیز اتنوفارماکولوژی آن در مناطق مختلف استان آذربایجان شرقی، اثرات ضد باکتریائی عصاره هیدروالکلی این گیاه بر روی سویه‌های استاندارد تعدادی از باکتری‌های استاندارد مهم از نظر بهداشت مواد غذایی (مطابق جدول ۱)، بررسی و تعیین گردید.

جدول ۱: مشخصات باکتری‌های مورد آزمایش در پژوهش حاضر

نام باکتری مورد آزمایش	شماره استاندارد سویه باکتری مورد آزمایش
استافیلوکوکوس آرئوس	PTCC 1112
انتروکوکوس فکالیس	NCTC 8213
باسیلوس سرئوس	ATCC 11778
باسیلوس سوبتیلیس	PTCC 1254
لیستریا مونوسیتوژنز	ATCC 19114
اشرشیا کلی	PTCC 1270
سالمونلا اینتریکا	CIP 104115
یرسینیا انتروکولیتیکا	PTCC 1151

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده سازی مواد گیاه : پس از خریداری گیاه مذکور در شهریور ماه سال ۱۳۹٤ از بازار میوه و تره بار شهرستان ایلخچی (با موقعیت ′٥٦ °۳۷ شمالی و ′٥۸ °٤٥ شرقی و با ارتفاع ۱۲۲۰ متر از سطح دریا) واقع در ۲۵ کیلومتری جنوب غرب تبریز، ابتدا پیازهای مذکور در مرکز تحقیقات کشاورزی استان آذربایجان شرقی واقع در ۵ کیلومتری شهرستان ایلخچی توسط کارشناسان این مرکز از نظر گیاه شناسی بررسی و واریته مورد نظر یعنی واریته ایلخچی که بومی منطقه می‌باشد مورد تائید قرار گرفت. سپس اندام مورد نظر (ریشه غده ای پیاز) به میزان لازم و پس از پوست کنی، در شرایط مناسب دمای اتاق در آزمایشگاه کنترل کیفی گروه بهداشت مواد غذائی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز و در شرایط مناسب در سایه خشک گردید. در ادامه کار پیازهای خشک شده با آسیاب آزمایشگاهی بطور کامل خرد شده و به‌صورت پودر در آمده ودر دمای ٤ درجه سانتی‌گراد جهت استفاده در مراحل بعدی کار ذخیره سازی شد (Burt, 2004).

آماده‌سازی عصاره الکلی: در این مرحله از تحقیق برای تهیه عصاره پیاز از اتانول ۸۰ درجه و روش ماسرا سیون استفاده شد. بدین‌ترتیب که عمل عصاره‌گیری از هر ۱ گرم از پودر تهیه شده در مرحله قبل با استفاده از مقدار ۱۰۰میلی‌لیتر از اتانول ۸۰ درجه بر مبنای عمل ماسراسیون انجام می‌شد. البته در ادامه کار عصاره حاصله با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ (chm F2042, Spain) صاف می‌گردید. در نهایت هم، عمل جداسازی حلال از عصاره توسط دستگاه روتاری با کمک پمپ خلاء در دمای ٤۰ درجه سانتی‌گراد انجام می‌شد (:rotary evaporator Stuart;RE300,England). برای عصاره گیری کامل از پیاز به شرح فوق مدت زمانی حدود ۲٤ ساعت وقت صرف می‌شد و عصاره خالص بدست آمده جهت استفاده در آزمایشات مربوط به مراحل بعدی پژوهش حاضر در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شد (Pourmorad et al., 2006).

سنجش میزان فنل کل: برای ارزیابی فنل کل در آزمایشگاه کنترل کیفی گروه بهداشت مواد غذائی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز از معرف فولین سیکالتو (Sigma–Aldrich, USA) استفاده گردید. به این منظور یک گرم از پودر خشک شده پیاز را در ۵۰ میلی‌لیتر متانول (۸۰ درصد) حل کرده و ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول حاصل شده را در یک لوله آزمایش ریخته و سپس به آن ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیکالتو و سپس ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد (,Merck

Germany) اضافه گردید. همچنین ۰/۱ میلی‌لیتر از غلظتهای مختلف اسید گالیک (Merck, Germany) را نیز در یک لوله آزمایش ریخته و به آن نیز ۲/۵ میلی‌لیتر فولین سیکالتو و ۲ میلی‌لیتر از کربنات سدیم ۷/۵ درصد اضافه می‌کردیم. پس از نیم ساعت جذب هریک از محلولهای ذکرشده به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر موجود (UV;T90+UV/Vis double Instruments Ltd; beam: PG) در طول موج ٧٦٠ نانومتر اندازه‌گیری می‌شد. سپس منحنی استاندارد بر حسب اسیدگالیک با غلظت‌های مختلف ترسیم و مقدار فنل کل بر حسب میلی‌گرم در هر گرم پودر خشک آن(معادل اسید گالیک) محاسبه و ثبت می‌شد.لازم به ذکر است که نمونه بلانک در این آزمایش شامل همه مواد ذکر شده بجز نمونه پیاز بود (Purmorad et al., 2006).

سنجش میزان فلاونوئید کل عصاره الکلی پیاز: اندازه گیری فلاونوئید کل نیز در آزمایشگاه کنترل کیفی گروه بهداشت مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز بر اساس رنگ سنجی کلرید آلومینیوم انجام شد. بدین‌منظور ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره هیدروالکی تهیه شده از پیاز را در یک لوله آزمایش ریخته، سپس به آن ۱/۵ میلی‌لیتر متانول ۷۰ درصد اضافه کرده، پس از آن به مخلوط مذکور به‌ترتیب ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم یک درصد (Merck, Germany)، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم (Merck, Germany) و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده و مجموعه را به خوبی هم می زدیم. پس از گذشت نیم ساعت جذب آنها را توسط همان دستگاه اسپکتروفتومتر که در آزمایش قبلی استفاده شد و البته در طول موج ٤١٥ نانومتر بررسی کرده و سپس منحنی استاندارد مربوطه بر اساس غلظتهای مختلف از محلول کوئرسیتین (Sigma–Aldrich, USA) رسم و میزان فلاونوئید کل پیاز مورد آزمایش برحسب میلی گرم در هر گرم پودر خشک آن (معادل کوئرسیتین) تعیین و ثبت می گردید (Purmorad et al., 2006).

تهیه سوسپانسیون میکروبی: بدین‌منظور ابتدا سویه استاندارد ۸ گونه از باکتری‌های مورد نظر به شرح جدول ۱، از مرکز پژوهش‌های علمی-صنعتی ایران (کرج-ایران) تهیه شده و به‌عنوان کشت ذخیره در فریزر آزمایشگاه میکروبشناسی گروه پاتوبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز نگهداری گردید. اما با توجه به اینکه برای تهیه سوسپانسیون میکروبی جهت استفاده در آزمایشات مورد نظر در پژوهش حاضر نیاز به کشت ٢٤ ساعته از هر باکتری بود، بنابراین ٢٤ ساعت قبل از انجام هر آزمایش، از کشت ذخیره باکتری‌های مذکور به سطح محیط کشت BHI agar تلقیح می‌گردید و به‌مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری می‌شد. سپس کلونی‌های خالص ایجاد شده در سطح محیط کشت مذکور با محلول نرمال سالین شسته می‌شد تا به‌صورت سوسپانسیون میکروبی در آیند. در ادامه کار سوسپانسیون باکتریائی مذکور با محلول نرمال سالین تا حدی رقیق می گردید که کدورت آن معادل کدورت موجود در لوله شماره ۰/۵ استاندارد مک فارلند تنظیم گردد، یعنی سوسپانسیون مورد استفاده حاوی حدود $۱/۵\times۱۰^{۸}$ CFU/ml از باکتری مورد نظر می‌شد (Babayi et al., 2004; Anzabi and Khaki, 2015).

بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره الکلی پیاز: به‌منظور بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره مورد آزمایش، در مرحله اول، حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (Minimum Inhibitory Concentration=MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (Minimum Bactericidal Concentration=MBC) بر مبنای تهیه رقت‌های سریال میکرودایلوشن با استفاده از حلال دی متیل سولفوکسید (Sigma–Aldrich, USA) و نیز

به کمک معرف رنگی تری فنیل تترازولیوم کلراید (Sigma–Aldrich, USA) تعیین می گردید. بدین منظور برای هر یک از باکتری‌های استاندارد مورد آزمایش از یک ردیف ۱۲ تایی چاهک‌های مربوط به میکروپلیت‌های استریل استفاده می‌شد. روش کار در مورد MIC به این صورت بود که از ۹ چاهک جهت انجام آزمایش بر روی رقت‌های مختلف عصاره، از یک چاهک جهت کنترل عصاره، از یک چاهک جهت کنترل سوسپانسیون میکروبی هریک از باکتری‌های ذکر شده و از یک چاهک هم به منظور کنترل معرف تترازولیوم استفاده می‌شد. در این آزمایش ابتدا به هر چاهک ۵۰ میکرولیتر از محیط کشت مایع BHI ریخته می‌شد. سپس به چاهک اول ۵۰ میکرولیتر از عصاره هیدروالکلی پیاز را ریخته و عمل رقت سازی سریال انجام می‌شد (به‌ترتیب در چاهک شماره ۱ رقت عصاره پیاز ۱۰۰۰µg/mL و در نهایت در چاهک شماره ۹ رقت آن معادل ۳/۹ µg/mL حاصل می‌شد). سپس به هر چاهک ۵۰ میکرولیتر از معرف رنگی تترازولیوم با غلظت ۵mg/mL اضافه شده و در ادامه هم به هر یک از چاهک‌ها به ترتیب از چاهک شماره ۹ تا چاهک شماره ۱ جداگانه مقدار ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون هر یک از باکتری مورد آزمایش که دارای کدورت معادل لوله نیم مک فارلند بودند اضافه می‌شد. لازم به ذکر است که آزمایش مذکور جداگانه برای هر یک از ۹ باکتری استاندارد مورد نظر انجام گرفت و در تمامی آزمایشات انجام گرفته چاهک شماره ۱۰ به‌عنوان شاهد عصاره، چاهک شماره ۱۱ به‌عنوان شاهد باکتری مورد آزمایش و نیز چاهک شماره ۱۲ هم به‌عنوان شاهد معرف رنگی در نظر گرفته می‌شد (لازم به ذکر است که برای حصول اطمینان بیشتر، آزمایش شمارش کلی در ساعت صفر یعنی شروع دوره انکوباسیون و ۲٤ ساعت بعد جداگانه برای هر باکتری انجام می گرفت). سپس همه لوله‌های آزمایش برای مدت ۲٤ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده می‌شد. پس از طی زمان انکوباسیون و در مرحله قرائت نتیجه آزمایش، آخرین رقتی از عصاره که رنگ قرمز تترازولیوم را به خود گرفته بود به‌عنوان MIC عصاره پیاز نسبت به هریک از باکتری‌های مورد آزمایش، در نظر گرفته می‌شد. سپس با توجه به رقت‌هائی از عصاره پیاز که در آزمایش MIC عدم رشد باکتری مورد آزمایش را در چاهک مربوطه نشان داده بودند، نسبت به تعیین MBC عصاره در مورد هر باکتری به روش پلیت کانت (Plate Count Method) اقدام می‌شد. بدین‌منظور بطور جداگانه ۰/۱ml از محتویات چاهک‌های مربوط به جواب آزمایشMIC هریک از باکتری‌های مورد آزمایش که عدم رشد باکتری مورد نظر را نشان داده بود را برداشته و در سطح محیط کشت BHI آگار استریل کشت داده و بلافاصله در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲٤ ساعت انکوبه می کردیم. سپس پلیت‌های کشت داده شده از نظر وجود رشد میکروبی کنترل می‌شد. بالاترین رقتی از عصاره پیاز که در سطح پلیت کشت داده شده مربوطه هیچ اثری از رشد و تولید کلنی از باکتری مورد نظر مشاهده نمی گردید، به عنوان MBC عصاره پیاز نسبت به سویه استاندارد هریک از باکتری‌های مورد آزمایش در نظر گرفته می‌شد (Karuppusamy and Rajasekaran 2009; Nasirpour et al., 2014). در مرحله بعدی به‌منظور مقایسه خواص ضدباکتریائی عصاره مورد آزمایش با برخی از آنتی‌بیوتیک‌های رایج، از روش انتشار دیسک در آگار بر مبنای اصول کربی- بویر استفاده گردید. بدین‌منظور ابتدا در مورد هر باکتری با توجه به نتیجه MIC بدست آمده در مرحله اول آزمایشات مربوط به بررسی خواص ضد باکتریایی عصاره پیاز در پژوهش حاضر، دیسک‌های کاغذی استریل بلانک تهیه شده از شرکت پادتن طب

(تهران-ایران) با توجه به همان رقت مربوط به نتیجه MIC هر باکتری جداگانه به عصاره آغشته می‌شد. به این منظور ابتدا از عصاره پیاز با استفاده از حلال دی متیل سولفوکسید و متانل (با نسبت ٦٠ به ٤٠) به‌طور جداگانه در لوله‌های استریل رقت‌های مورد نظر تهیه شده و سپس دیسک‌های بلانک استریل را در لوله‌های مذکور قرار می‌دادیم و بعد از مدت ۳۰ تا ۵۰ دقیقه و پس از جذب کامل محتویات لوله‌ها توسط دیسک‌ها و اشباع شدن، دیسکهای تهیه شده را به‌مدت ۱-۲ ساعت در دمای ٤٥ درجهٔ سانتی‌گراد قرار می‌دادیم تا کاملاً خشک شده و جهت استفاده در آزمایش مذکور آماده شوند. در ادامه با استفاده از ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون خالص هر یک از باکتری‌های مورد آزمایش که کدورتش معادل کدورت لوله استاندارد ۰/۵ مک فارلند تنظیم گردیده بود، جداگانه بر سطح پلیت حاوی محیط مولرهینتون آگار (Merck, Germany)، کشت یکنواخت بصورت پخش کردن انجام می‌شد. در مرحله بعد با استفاده از پنس استریل، دیسک‌های آغشته شده به عصاره پیاز و همچنین دیسک‌های استاندارد مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های مورد نظر در پژوهش حاضر که آنها هم از شرکت پادتن طب (تهران – ایران) تهیه شده بود، با فاصله معین از یکدیگر و از لبه پلیت‌ها، در سطح محیط کشت مذکور قرار داده شده و با کمی فشار بر روی محیط ثابت می گردید. همچنین در تمامی آزمایشات مذکور از دیسک بلانک استریل آغشته به مقدار ۱۰ میکرولیتر از آب مقطر استریل به عنوان شاهد منفی نیز استفاده می‌گردید. در نهایت همه پلیت‌های ذکر شده به‌مدت ٢٤ ساعت در دمای۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد انکوبه شده و سپس، نتایج اثر ضدباکتریایی عصاره و آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش در مورد هر یک از باکتری‌های مورد آزمایش، جداگانه با اندازه‌گیری قطر منطقه عدم رشد اطراف دیسک‌های مربوطه با استفاده ازخط کش مدرج، بر حسب میلی‌متر مشخص می‌شد. برای حصول اطمینان بیشتر، آزمایش مذکور برای هر یک از باکتری‌های مورد آزمایش بطور جداگانه سه بار تکرار می‌شد و در نهایت میانگین قطر منطقه عدم رشد در سه بارتکرار به‌عنوان قطر نهایی منطقه عدم رشد هر باکتری که میزان قدرت ضد باکتریایی عصاره پیاز در رقت مورد نظر و آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش را با توجه به جدول استاندارد آزمایش آنتی بیوگرام شرکت پادتن طب نشان می داد، ثبت می‌شد (Clinical and Laboratory Standards institute, 2013).

آنالیز آماری: در پژوهش حاضر برای مشخص کردن وجود ارتباط بین حساسیت و مقاومت باکتری‌های مورد آزمایش نسبت به نوع ترکیبات آزمایش شده با خاصیت ضدباکتریائی (آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد و عصاره الکلی پیاز) از آزمون آماری Independent T-test استفاده گردیده و اختلافات مشاهده شده در سطح ($p<۰/۰۵$) معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج

نتایج آزمایشات انجام گرفته در پژوهش حاضر نشان داد که میزان فنل و فلاونوئید کل عصاره الکلی گیاه پیاز قرمز (*Allium cepa* L. var. *Ilkhichi*.) که واریته بومی پیاز در استان آذربایجان شرقی می‌باشد به‌ترتیب ۳۵۱/۵۲±۲/۱۲ $mgGAEg^{-1}$ و ۱۱۱/۵±۱۲/۵ $mgQUEg^{-1}$ می‌باشند که مقادیر نسبتاً قابل توجهی هستند (جدول۲). همچنین نتایج آزمایشات بررسی خواص ضد باکتریائی عصاره مذکور در پژوهش حاضر هم نشان داد که این عصاره بر روی همه باکتری‌های مورد آزمایش اثرات ضد باکتریائی داشته است که بیشترین تاثیر از این نظر برروی باکتری *انتروکوکوس فکالیس* با MIC معادل ٦٢/٥ µg/mL و MBC برابربا ۱۲۵ µg/mL ثبت گردید (جدول ۳).

همچنین نتایج آزمایشات آنتی‌بیوگرام (حساسیت آنتی‌بیوتیکی) بر اساس انتشار دیسک در آگار هم نشان داد که خاصیت ضد باکتریائی عصاره مذکور مقداری بیشتر از آنتی‌بیوتیک استاندارد ونکومایسین می‌باشد که این اختلاف از نظر آنالیز آماری در سطح اطمینان ($p<۰/۰۵$) معنی‌دار نبوده و حتی اثر مذکور در مقایسه با اثردیگر آنتی بیوتیک‌های استاندارد استفاده شده در پژوهش حاضر هم به مراتب کمتر و ضعیف تر بوده است (جدول ٤).

جدول ۲ : ارزیابی فیتوشیمیی (فنل و فلاوونوئید کل) عصاره هیدروالکلی گیاه مورد آزمایش

نام گیاه مورد آزمایش	فنل کل بر حسب ($mgGAEg^{-1}$)	فلاوونوئید کل بر حسب ($mgGAEg^{-1}$)
پیاز قرمز (واریته ایخچی)	۳۵۱/۵۲±۲/۱۲	۱۱۱/۵±۱۲/۵

تذکر: در تمام آزمایشات میانگین نتایج اعلام شده در جدول پس از ۳ بار تکرار محاسبه و ثبت گردیده است.

جدول ۳: ارزیابیMIC و MBC عصاره هیدروالکلی پیاز بر باکتری‌های مورد نظر براساس آزمایشات رقت لوله‌ای

غلظت عصاره در چاهک MBC (µg/mL)	غلظت عصاره در چاهک MIC (µg/mL)	شمارش کلی MIC در چاهک (٢٤ ساعت بعد) (CFU/mL)	شمارش کلی در چاهک شاهد باکتری (٢٤ ساعت بعد) (CFU/mL)	شمارش کلی در چاهک شاهد باکتری(ساعت صفر) (CFU/mL)	مشخصات باکتری استاندارد مورد آزمایش
۵۰۰	۱۲۵	$۳/٤\times۱۰^{۱۱}$	$۲/۲\times۱۰^{۱۲}$	$۳/۸\times۱۰^{۹}$	استافیلوکوکوس آرئوس (PTCC 1112)
۲۵۰	٦۲/۵	$۱/۸\times۱۰^{۱۱}$	$۱/٦\times۱۰^{۱۲}$	۱×۱۰^{۱۰}	انتروکوکوس فکالیس (NCTC 8213)
۵۰۰	۱۲۵	٦×۱۰^{۸}	٦×۱۰^{۱۱}	$۳/۸\times۱۰^{۹}$	باسیلوس سرئوس (ATCC 11778)
۱۰۰۰	۲۵۰	٤×۱۰^{٦}	$۸/٤\times۱۰^{۱۲}$	۵×۱۰^{۸}	باسیلوس سوبتیلیس (PTCC 1254)
۵۰۰	۱۲۵	$۲/٤\times۱۰^{۹}$	٦×۱۰^{۱۲}	۳×۱۰^{۹}	لیستریا مونوسیتوژنز (ATCC 19114)
۱۰۰۰	۲۵۰	$۲/٦\times۱۰^{۱۱}$	$۵/۱\times۱۰^{۱۲}$	$۱/۲\times۱۰^{۱۱}$	اشرشیا کلی (PTCC 1270)
۱۰۰۰	۲۵۰	غیر قابل شمارش	۳×۱۰^{۱۵}	۹×۱۰^{۹}	سالمونلا اینتریکا (CIP 104115)
۵۰۰	۱۲۵	$۱/۳\times۱۰^{۱۱}$	$۸/٦\times۱۰^{۱۱}$	۳×۱۰^{۹}	یرسینیا انتروکولیتیکا (PTCC 1151)

جدول ٤ : تاثیر عصاره هیدروالکلی پیاز بر باکتری های مورد نظر بر اساس آزمایش آنتی بیوگرام به روش انتشار دیسک در آگار

قطر منطقه عدم رشد در آزمایش انتشار دیسک حاوی آنتی بیوتیک در آگار (mm ±SD)	نام و غلظت آنتی بیوتیک در آزمایش انتشار دیسک در آگار	قطر منطقه عدم رشد در آزمایش انتشار دیسک حاوی عصاره در آگار (mm ±SD)	غلظت عصاره در آزمایش انتشار دیسک در آگار(µg/mL)	مشخصات باکتری استاندارد مورد آزمایش
۲۰ ± ۰/۲	کانامایسین ۳۰µg/disk	۱۵± ۰/۲	۱۲۵	استافیلوکوکوس آرئوس (PTCC 1112)
۱۷ ± ۰/۲	ونکومایسین ۳۰ µg/disk	۲۵± ۰/۳	٦۲/۵	انتروکوکوس فکالیس (NCTC 82137)
۲۰ ± ۰/۲	استرپتومایسین ۱۰ µg/disk	۱۲± ۰/۲	۱۲۵	باسیلوس سرئوس (ATCC 11778)
۲٤ ± ۰/۳	پنی سیلینG ۱۰ units/disk	۹± ۰/۱	۲۵۰	باسیلوس سوبتیلیس (PTCC 1254)
۱۹ ± ۰/۲	تتراسیکلین ۳۰ µg/disk	۱۱ ± ۰/۲	۱۲۵	لیستریا مونوسیتوژنز (ATCC 19114)
۲۳ ± ۰/۲	نالیدیسک اسید ۳۰ µg/disk	۸ ± ۰/۱	۲۵۰	اشرشیا کلی (PTCC 1270)
۳۰ ± ۰/۳	تری متوپریم ۵ µg/disk	۹ ± ۰/۱	۲۵۰	سالمونلا اینتریکا (CIP 104115)
۲۳ ± ۰/۲	تری متوپریم ۵ µg/disk	۱٤ ± ۰/۲	۱۲۵	یرسینیا انتروکولیتیکا (PTCC 1151)

تذکر: در تمام آزمایشات ذکر شده در جدول بالا ، میانگین نتایج، پس از ۳ بار تکرار محاسبه و ثبت گردیده است.

بحث

از طرف دیگرنتایج آزمایشات انجام گرفته در پژوهش حاضر نشان داد که میزان فنل فلاونوئید کل عصاره الکلی پیاز قابل توجه بوده و به‌ترتیب $mgGAEg^{-1}$ ۳۵۱/۵۲±۲/۱۲ و $mgQUEg^{-1}$ ۱۱۱/۵±۱۲/۵ می‌باشد (جدول۲). همچنین نتایج آزمایشات بررسی خواص ضد باکتریائی عصاره مذکور هم نشان داد که عصاره مذکور در پژوهش حاضر بر روی همه باکتری‌های مورد آزمایش اثرات ضد باکتریائی داشته که بیشترین تاثیر ضدباکتریائی برروی باکتری *انتروکوکوس فکالیس* با MIC معادل ۶۲/۵µg/mL وMBC برابر با ۱۲۵ µg/mL ثبت گردید (جدول ۳). همچنین نتایج آزمایش انتشار دیسک در آگار هم نشان داد که خاصیت ضدباکتریائی عصاره مذکور مقداری بیشتر از آنتی بیوتیک ونکومایسین می‌باشد که این اختلاف از نظر آنالیز آماری در سطح اطمینان ($p<۰/۰۵$) معنی‌دار نبوده و همچنین حتی اثر مذکور در مقایسه با اثردیگر آنتی‌بیوتیک‌ها هم به مراتب کمتر و ضعیف‌تر بود (جدول ٤)، یعنی در آزمایش آنتی بیوگرام با اینکه عصاره مذکور در مقابل اکثر باکتری‌های مورد آزمایش خاصیت ضدباکتریائی نشان داده ولی ازنظر این خاصیت در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد مورد آزمایش فقط کمی بیشتر از آنتی بیوتیک ونکومایسین خاصیت ضد باکتریائی نشان داده و از این جهت به نظر می‌رسد که یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج

پـژوهش‌هـای مشـابه علـی رغـم مشـاهده اثـرات ضدباکتریائی نسبتا خوب، از این نظر همخوانی کامـل ندارد و از طرف دیگر هم به نظر می‌رسـد کـه بحـث جایگزینی ترکیبات آن بـه جـای آنتـی بیوتیـک‌هـای شیمیائی صناعی با تکیه بر نتایج پژوهش حاضر قابـل توجیه نیست، چرا که در بیشتر پژوهش‌های فـوق بـه اثر ضد باکتریائی بالاتر عصاره‌های گیاهی نسـبت بـه آنتی بیوتیک‌های شیمیائی مورد آزمـایش تاکیـد شـده اسـت (Mohan Nair et al., 2005; Anzabi and Khaki, 2015). اما در عین حال همان‌طور کـه اشـاره شد مطابق جدول ٤ در پژوهش حاضر عصاره اتانولی پیاز قرمز در روش انتشـار دیسـک در آگـار بـر روی اغلب باکتری‌های مورد آزمایش به غیـر از باسـیلوس سـرئوس، اشرشـیا کلـی و سـالمونلا اینتریکـا تـاثیر ضدباکتریائی مناسب نشان داده اسـت. در عـین حـال برخی مطالعات در گذشته هـم نشـان داده اسـت کـه عصاره پیاز اثرات ضد میکروبی بر روی بـاکتری‌هـای اشرشیا کلی، باسیلوس سوبتیلیس، سـالمونلا تیفـی و نیز استافیلوکوکوس آرئوس، سودوموناس آئروژینـوزا و کاندیـدا آلبیکـنس داشـته اسـت (Nelson and Reginald, 2007; Momeni and Zamanzad, 2010) لذا در این خصوص همخوانی کامل با یافته‌هـای ایـن تحقیقات مشاهده نمی‌شود.

لازم به ذکر است که یافته‌های اکثر پـژوهش‌هـای مرتبط و مشابه، اثرات ضد میکروبی مذکور را عمـدتا بـه ترکیبـات شـیمیائی عمـده موجـود در پیـاز نظیـر ترپنوییدها، فنل و فلاوونوئیدها و نیز برخی ترکیبـات گـوگرددار فـرار بـا بـوی تنـد نسـبت داده اسـت (Ekwenye and Elegalam, 2005; Chen et al., 2007). نتایج بررسی میزان فنل و فلاوونوئید کل پیـاز مورد آزمایش بر اساس جدول ۲ در پـژوهش حاضـر هم وجود میزان بالائی از مواد مذکور را نشان می دهد که این موضوع ضمن نشان دادن وجود همخوانی بین نتایج پژوهش‌های ذکر شده در بالا و پژوهش حاضر، در عین حال می‌تواند تا حدود زیـادی توجیـه کننـده خواص بیولوژیکی وسیع پیاز مورد آزمایش در تحقیق حاضر باشد که بر روی همه ۸ گونه باکتری استاندارد و مهـم از نظـر بهداشـت مـواد غـذائی اثـرات ضـد باکتریـائی مناسـبی را نشـان داد. امـا از طـرف دیگـر درعین حال نتایج برخی تحقیقات مشابه هم نشان داده است که عصاره خام پیاز بر سـودوموناس آئروژینـوزا موثر و بر کاندیدا آلبیکـانس دارای اثـر ضـعیف و بـر روی استافیلوکوکوس آرئوس و اشرشیا کلی بی تـاثیر بوده است و البته نتایج پژوهش مومنی و همکاران نیز نشان داده که عصاره آب گرم پیاز اثر ضـد میکروبـی بر روی هیچ میکروارگانیسمی نداشته است (Nelson and Reginald, 2007; Momeni and Zamanzad, 2010).

در این خصوص و بـا توجـه بـه عـدم همخـوانی کامل بین نتایج پژوهش‌های مذکور بـا نتـایج تحقیـق حاضر به نظر می‌رسد که علاوه بر موارد ذکر شده در بالا فاکتورهای مختلف دیگری نیز نظیر نوع حـلال و روش عصاره گیری علاوه بر اینکه در کمیت و کیفیت مواد موثره دارویـی گیاهـان مـوثر اسـت، میتوانـد در عملکرد دارویی آنها از جمله اثرات ضد میکروبی آنها نیز دخیل باشد (Singh et al., Nostro et al., 2000 ; 2003 ; Moreno et al., 2006; Jalali et al., 2006 Mashak et al., 2008 ; Mazandarani et al., 2013).

در پژوهش حاضر هم عصاره الکلی گیاه خوراکی پیاز مطابق جداول ۳ و ٤ اثرات ضد باکتریائی مختلفی نشـان داده بطوریکـه ایـن اثـر در مـورد برخـی از باکتری‌های مورد آزمایش مثل باسـیلوس سـوبتیلیس، اشرشیا کلی و سالمونلا اینتریکا بسیار ضعیف و ناچیز ولی در مـورد بـاکتری انتروکوکـوس فکـالیس بسـیار مشخص و مناسب و اما در مورد دیگـر بـاکتری‌هـای مورد آزمایش متوسط و نسبی بود. این در حالیست که در مورد عصاره آبی گیاه مذکور گزارشات غالبا دلالت

بر اثرات ضد باکتریائی ضعیف تر دارد که این موضوع با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر مخصوصا با نتیجه گیری حاصله از پژوهش احمد و عقیل (Ahmad and Aqil, 2007) مطابقت دارد. همچنین در تائید این موضوع در پژوهشی که توسط پارخ و چاندا (Parekh and Chanda, 2008) در کشور هند با استفاده از ٣٤ گونه از گیاهان دارویی بر روی چند سویه مختلف استافیلوکوکوس انجام گرفته، مشخص شده که خاصیت ضدباکتریایی عصاره الکلی همه گیاهان مورد آزمایش توسط آنها به مراتب بیشتر از عصاره آبی آنها بوده است. از طرف دیگر دابی و همکاران (Dubey et al., 2010)، مقادیر ترکیبات موثره موجود در عصاره آبی و متانولی گیاه خوراکی اسفناج را بررسی کرده و به این نتیجه رسیدند که مقدار گلیکولیپید، گلیسرولیپید و همچنین تانن خام در عصاره متانولی اسفناج به مراتب بیشتر از عصاره آبی آن می‌باشد. مطابق جدول ٢ یافته‌های این پژوهش هم وجود میزان بالائی از ترکیبات مهم ضد باکتریائی یعنی فنل و فلاوونوئید در عصاره الکلی واریته ایلخچی پیاز قرمز هم می‌تواند توجیه کننده خاصیت ضد باکتریائی وسیع این گیاه خوراکی باشد که این یافته هم اهمیت تاثیر نوع عصاره گیری و حلال مورد استفاده را بر میزان قدرت ضد باکتریائی گیاهان خوراکی بیشتر مشخص می‌کند. همچنین در تائید این یافته طبق پژوهشی که اواجیلین و ناتاراگان (Evajelene and Nataragan, 2011) انجام دادند، مشخص شد که عصاره الکلی اسفناج مواد موثره بیشتری از گیاه را در خود حل می‌کند و بنابراین خاصیت ضد میکروبی بیشتری نسبت به عصاره آبی همان گیاه را از خود نشان می‌دهد.

از طرف دیگر نتایج پژوهش رضوی روحانی و همکاران (Razavi Rohani et al., 2011) نشان داده که عصاره الکلی پیاز خاصیت ضدلیستریائی مناسبی داشته است. در پژوهش حاضر هم MIC و MBC عصاره الکلی پیاز مورد آزمایش بر روی یکی از سویه‌های استاندارد باکتری لیستریا مونوسایتوژنز مطابق جدول شماره ٣ به ترتیب ١٢٥ µg/mL و ٢٥٠ µg/mL ثبت شده که نشان دهنده خاصیت ضد لیستریائی نسبتاً مناسب در مورد پیاز مورد آزمایش ما بوده و مطابقت و همخوانی را با نتایج پژوهش رضوی و روحانی (Razavi Rohani et al., 2011) را نشان می‌دهد. اما از طرفی هم در قسمت دیگری از بررسی خاصیت ضد لیستریائی عصاره الکلی پیاز درپژوهش ما که با استفاده از روش انتشار دیسک در آگار انجام گردید مطابق جدول ٢ مشخص شدکه قطر منطقه عدم رشد باکتری لیستریا مونوسایتوژنز مورد آزمایش در حضور دیسک آغشته به عصاره مورد آزمایش فقط ١١ میلی‌متر می‌باشد در حالی که نتیجه آزمایش همزمان آنتی بیوگرام با همان روش انتشار دیسک در آگار در مورد باکتری مذکور با استفاده از دیسک استاندارد آنتی بیوتیک تتراسایکلین، قطر منطقه عدم رشد را معادل ١٩ میلی‌متر نشان می‌دهد که حاکی از قدرت ضد لیستریائی به مراتب بیشتری در آنتی بیوتیک تتراسیکلین درمقایسه با عصاره الکلی پیاز می‌باشد یعنی علی رغم اینکه به ظاهر آزمایش مربوط به تعیین MIC در مورد خواص ضد لیستریائی عصاره الکلی پیاز مورد آزمایش ما نشان دهنده قدرت نسبی پیشگیری از رشد است ولی با توجه به قدرت به مراتب بیشتر آنتی بیوتیک مورد آزمایش یعنی تتراسیکلین که جزو آنتی بیوتیک‌های در دسترس و پر مصرف محسوب می‌شود بنظر می‌رسد که عصاره پیاز را با غلظت‌های استفاده شده در پژوهش حاضر نمی توان به راحتی جایگزین آنتی بیوتیک مذکور کرد. البته همان‌طور که تحقیقات مختلف هم که در بالا اشاره شده نشان داده، بنظر می‌رسد که از جمله دلایل احتمالی عدم مشاهده اثرات ضد لیستریائی مناسب از

عصاره الکلی پیاز در پژوهش حاضر، در درجه اول می‌توان به نوع مواد موثر در عصاره و همچنین روش عصاره گیری و نوع حلال اشاره نمود (Nostro et al., 2000; Chitsaz , 2006; Jalali et al., 2006). حتی در توجیه موضوع ذکر شده در بالا برخی از پژوهشگران اعلام نموده اند که مقایسه نتایج مشاهده شده در مورد خواص ضدباکتریائی عصاره‌های گیاهان مختلف بسیار مشکل می‌باشد که از دلایل این مسئله به تفاوت در روش‌های مختلف آزمایشگاهی استفاده شده در بررسی خواص ضدباکتریائی اسانس‌ها و عصاره‌ها، سویه و نوع گیاه و منابع تهیه آنها، مرحله رشد گیاه و نیز سویه‌های باکتری‌های بکار برده شده، اشاره شده است (Mashak et al., 2008). اما از طرف دیگر وجود تفاوت‌هائی بین نتایج بررسی ما با نتایج سایر مطالعات مشابه را می‌توان ناشی از وجود اختلاف در گیاهان هر منطقه دانست، چرا که یک نوع گیاه در مناطق مختلف می‌تواند ترکیبات و خواص متفاوتی را از خود به نمایش بگذارد (Singh et al., 2003) به‌طوری‌که در مورد پیاز قرمز استفاده شده در پژوهش حاضر هم که از نوع بومی منطقه آذربایجان یعنی واریته ایلخچی بوده این مسئله مطابق یافته‌های پژوهش ذکر شده در بالا می‌تواند دلالت بر تفاوت در خواص بیولوژیکی این گیاه خوراکی داشته باشد.

همچنین در پژوهش حاضر مشاهده شد که اثرات ضد باکتریائی عصاره پیاز فقط در مقایسه با اثر ضد باکتریائی آنتی بیوتیک ونکو مایسین قوی تر بوده است که یافته اخیر با نتایج پژوهش‌های موهان نیر و همکاران (Mohan Nair *et al.*, 2005) اثرات ضدمیکروبی گیاه سیاه دانه را در محیط کشت بررسی کردند تقریبا مشابه می‌باشد چرا که در تحقیق مذکور هم مشخص شده است که اثرات ضدلیستریائی سیاه دانه بسیار قوی و حتی به مراتب بیشتر از آنتی‌بیوتیک جنتامایسین بوده است. البته اثرضد باکتریائی عصاره مورد آزمایش در مقایسه با اثر اکثر آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش به مراتب کمتر بوده است و این مسئله با نتایج ذکر شده همخوانی ندارد. در این خصوص هم با توجه به اینکه در برخی پژوهش‌های انجام گرفته در گذشته اعلام شده است که در مورد برخی از گیاهان عصاره الکلی و عصاره آبی و نیز درمورد برخی دیگر از آنها عصاره اتری تاثیر بیشتری بر باکتری‌ها داشته است، لذا بنظر می‌رسد که نوع عصاره در میزان اثر ضدباکتریایی عصاره پیاز بسیار موثر می‌باشد. بنابر این با توجه به مطالب ذکر شده بنظر می‌رسد که از جمله دلایل احتمالی عدم مشاهده اثر ضدباکتریائی قابل ملاحظه از عصاره پیاز در مقایسه با اثر اکثر آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش در پژوهش حاضر، باز هم می توان به نوع مواد موثره در عصاره و همچنین روش عصاره گیری و نوع حلال اشاره نمود (Nostro et al., 2000; Jalali et al., 2003; Singh et al., 2006; Moreno et al., 2006; Chitsaz, 2006).

از طرف دیگر با استفاده از آزمون آماری Independent T- test مشخص گردید که بین آنتی بیوتیک‌های مختلف و عصاره الکلی پیازقرمز استفاده شده در پژوهش حاضر از یک طرف و مقاومت یا حساسیت باکتری‌های مورد آزمایش از طرف دیگر ارتباط معنی داری وجود ندارد ($p<۰/۰۵$). همچنین با استفاده از آزمون آماری مذکور اختلاف بین آنتی بیوتیک‌های مختلف مورد استفاده در پژوهش حاضر بعنوان یک گروه و عصاره الکلی پیاز قرمز مورد آزمایش بعنوان گروه دیگر، از نظر ۳ خصوصیت مهم، یعنی مقاومت باکتری‌ها، نیمه مقاوم بودن باکتری‌ها و بالاخره حساسیت باکتری‌های مورد آزمایش نسبت به مواد یا ترکیبات با خاصیت ضد باکتریائی، نشان داد که اختلاف مشخص و معنی داری در سطح ($p<۰/۰۵$) بین گروه آنتی بیوتیک‌ها و عصاره گیاهی از نظر تعداد باکتری‌های مقاوم، نیمه مقاوم و حساس

وجود دارد. لذا به نظر می‌رسد که می‌شود نتیجه گرفت که براحتی نمی توان از عصاره پیاز به عنوان جایگزینی مناسب بجای اکثریت آنتی بیوتیک‌های سنتتیک استفاده شده در این تحقیق برای مقابله با باکتری‌های آزمایش شده، که تعداد زیادی از باکتری‌های مهم از نظر بهداشت مواد غذائی را شامل می شوند، استفاده نمود. البته یافته‌های آزمایشگاهی پژوهش حاضر تا حدودی تاییدکننده یافته‌های اتنوفارماکولوژی این تحقیق می‌باشد که مشخص کرد در مناطق مختلف استان آذربایجان شرقی از پیاز به اشکال مختلف، هم به عنوان ضد عفونی کننده قوی و هم مقوی سیتم ایمنی و ضد پاتوژن، مخصوصا در پیشگیری و درمان سرماخوردگی، برونشیت و حتی از دوده آن به همراه گیاه اسپند به عنوان ضد عفونی کننده هوای منازل و دفع کننده میکروارگانیسم‌ها استفاده میشود. بنظر می‌رسد که شاید با مطالعهٔ بیشتری در مورد اثرات ارگانولپتیک عصاره مذکور در غذاها یا مدل‌های غذائی بتوان از آن به عنوان یک ماده محافظت کننده مناسب استفاده نمود. البته در این خصوص مطالعات بیشتری نیاز است تا بتوان اثرات ضد میکروبی گیاه مورد مطالعه در پژوهش حاضر را دقیق‌تر بررسی کرد، به‌طوری‌که به‌نظر می‌رسد استفاده از روش‌های دیگر عصاره گیری و یا استفاده از غلظت‌های دیگری به غیر از غلظت بکار برده شده در این تحقیق در مورد عصاره مذکور می‌تواند اثرات ضد باکتریائی واریته پیاز قرمز مورد مطالعه را بیش از این روشن تر نماید. ولی به هر صورت با توجه به نتایج ثبت شده در پژوهش حاضر، می‌توان ادعا نمود علی رغم این که عصاره الکلی پیاز ظاهرا میتواند به عنوان یک ترکیب ضد باکتریائی درمورد تعدادی از باکتری‌های مهم از نظر بهداشت مواد غذائی نظیر انتروکوکوس فکالیس مورد استفاده قرار گیرد، ولی بحث جایگزینی عصاره مذکور به‌عنوان یک ترکیب طبیعی بجای آنتی بیوتیک‌های صناعی متداول مورد تردید می‌باشد. لذا بنظر می‌رسد که بایستی بررسیهای دقیق تر و تکمیلی فیتوشیمیایی به همراه آزمایش‌های هم زمان ضد میکروبی و آسیب‌شناسی در مدل‌های حیوانی و بالینی در مورد عصاره‌های مختلف این واریته بومی پیاز قرمز انجام پذیرد.

سپاسگزاری

بدینوسیله مراتب تقدیر و تشکر خود را از کلیه مسئولین و کارکنان محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز علی الخصوص کارشناسان گروه بهداشت مواد غذائی که در به نتیجه رسیدن پژوهش حاضر، اینجانب را یاری فرمودند اعلام می‌دارم.

References

1. Ahmad, I. and Aqil, F. 2007. In vitro efficacy of bioactive extracts of 15 medicinal plants against ESbetaL-producing multidrug-resistant enteric bacteria. Microbiological research, 162(3): 264-275.
2. Anzabi, Y., and Khaki, A. 2015. Antibacterial effects of the essential oils and ethanol extracts of the native plants; *Ziziphora Clinopodioides* on 3 species of urinary tract isolated bacteria in rats' experimental model. Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services, 37(3): 18-25.
3. Appendini, P. and Hotchkiss, J.H. 2002. Review of antimicrobial food packaging. Innovative .Food Science and Emerging Technologies, 3: 113-126.
4. Babayi, H., Kolo, I., Okogun, J.I., and Ijah, U.J.J. 2004. The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms. Biokemistri, 16 (2): 106- 111.
5. Bouamama, H., Noel, T., Villard, J., Benharref, A., and Jana, M. 2006. Antimicrobial activities of the leaf extracts of two *Moroccan cistus* L.

104(1-2): 104-107.
6. Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in food - a review. International Journal of Food Microbiology, 94(3): 223-53.
7. Canillac, N., and Mourey, A. 2001. Antimicrobial activity of the essential oil of picea excels on Listeria, *Staphylococcus* and coliform bacteria. Food Microbiology, 18: 261-268.
8. Chen, J.C., Huang, L.J., Wu, S.L., Kuo, S.C., Ho, T.Y., and Hsiang, C.Y. 2007. Ginger and its bioactive component inhibit enterotoxigenic *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin-induced diarrhea in mice. Journal of agricultural and food chemistry, 55(21): 8390-7.
9. Jalali, M., Abedi, D., Ghasemi dehkordi, N., and Chaharmahali, A. 2006. Evaluation of antibacterial activity of ethanol extracts of some medicinal plants against *Listeria monocytogenes*. Journal of Shahrekord University of Medical Sciences, 8(3): 25-33.
10. Chitsaz, M. 2006. In vitro Evaluation of Antibacterial Effect of Stachys schtschegleevii. Daneshvar Medical Journal, 67:12-19.(In Persian)
11. Clinical and Laboratory Standards institute. 2013. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing Twenty-Third Informational Supplement, M100-S23. CLSI. Pennsylvania.
12. Dubey, A., Mishra, N. and Singh, N. 2010. Antimicrobial activity of some selected vegetables. International Journal of applied biology and pharmaceutical technology, 3(1)994-999.
13. Ekwenye, U.N., and Elegalam, N.N. 2005. Antibacterial activity of ginger (*Zingiber officinale* roscoe) and garlic (*Allium sativum* L.) extracts on *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*. International Journal of Molecular Medicine and Advance Sciences, 1(4): 411- 416.
14. Embuscado, M., and Huber, K.C. 2009. Edible Films and Coatings for Food Applications. NY: Springer, New York, 416p.
15. Erfani, F., Hasandokht, M.R., Barzegar, M., and Jabari, A. 2006. Determination species. Journal of Ethnopharmacology, and comparison of some nutrients in seven Iranian spinach cultivars. Iranian Journal of Food Science, 3(2): 27-33. (In Persian)
16. Evajelene, V., and Nataragan, D. 2011. Evaluation of free radical scavenging activity and biological properties of *Spinacia oleracea* L. International Journal of engineering science and technology, 3(1): 25-30.
17. Fazlara, A., Sadeghi, E., and Rostami Soleimani, P. 2012. Study on the antibacterial effects of *Cuminum cyminum* essential oil on Listeria monocytogenes in Iranian white cheese. Iranian Journal of Food Science and Technology, 9(35): 35-44.
18. Griffiths, G., Trueman, L., Crowther, T., Thomas, B. and Smith, B. 2002. Onions – A global benefit to health. Phytotherapy Research, 16: 603-615.
19. Karuppusamy, S., and Rajasekaran, K.M. 2009. High throughput antibacterial screening of plant extracts by Resazurin Redox with Special reference to medicinal plants of western ghats. Global Journal of Pharmacology, 3 (2): 63-68.
20. Mashak, Z., Moradi, B., Akhonzdade, A., Abasifar, A., and Gandomi, H. 2008. Study the behavior of *Listeria monocytogenes* during the production process of Iranian white cheese under the influence of Zataria multiflora Boiss essential oil. Journal of Medicinal Plants, 29:114-122.
21. Mazandarani, M., Momeji, A., and Zarghami Moghaddam, P. 2013. Evaluation of phytochemical and antioxidant activities from different parts of *Nasturtium officinale* R. Br. In Mazandaran. Iranian Journal of Plant Physiology, 3(2):659-664.
22. Mohan Nair, M.K., Vasudevan, P., and Venkitanarayanan, K. 2005. Antibacterial effect of black seed oil on *Listeria monocytogenes*. Journal of Food Control, 16(5):395-398.
23. Momeni, L., and Zamanzad, B. 2010. The antibacterial properties of *Allium cepa* (onion) and *Zingiber officinale* (ginger) extracts on *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeru*ginosa,

*Escherichia co*li and *Candida albicans* isolated from vaginal specimens. Journal of Shahrekord University of Medical Sciences, 11(4):81-87.

24. Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C.S., and Vojnov, A.A. 2006. Antioxidant and antimicrobial activities of Rosemary extracts linked to their polyphenol composition. Free Radical Research, 40(2): 223-231.
25. Nasirpour, M., Yavarmanesh, M. and Mohamadisani, A. 2014. Antibacterial effect of aqueous extract of *Artemisia aucheri*, *Artemisia sieberi* and *Hyssopus officinalis* L. on the food borne pathogenic bacteria. Journal of food sciences, 46(12):73-84. (In Persian)
26. Nelson, C.A. and Reginald, A.O. 2007. Antimicrobial properties of extracts of *Allium cepa* (Onions) and *Zingiber officinale* (Ginger) on *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* and *Bacillus subtilis*. Internet Journal of Tropical Medicine, 3(2):1-7.
27. Nostro, A., Germano, M.P., Angelo, V.A., Marino, A., and Connatelli, M.A. 2000. Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. Letters in Applied Microbiology, 30(5): 389-394.
28. Parekh, J., and Chanda, S.V. 2008. Antibacterial activity of aqueous and alcoholic extracts of 34 Indian medicinal plants against some *staphylococcus species*. Turkish Journal of Biology, 32: 63-71.
29. Pourmorad, F., Hosseini Mehr, S.J. and Shahabimajd, N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. African Journal of Biotechnology, 5(11): 1142-1145.
30. Razavi Rohani, S.M., Moradi, M., and Mehdizadeh, T. 2011. Antibacterial combined effects of nisin and onion essential oil under different concentration of NaCl and pH against Listeria monocytogenes in vitro. Food hygiene Journal, 1(3):25-34. (In Persian)
31. Singh, A., Singh, R.K., Bhunia, A.K. and Singh, N. 2003. Efficacy of plant essential oils as antimicrobial agents against *Listeria monocytogenes* in hotdogs. Journal of Food Science and Technology, 36(8): 787-794.
32. Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S.A. and Cliver, D.O. 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. Journal of Food Control, 21:1199-1218.
33. Thuille, N., Fille, M., and Nagl, M. 2003. Bactericidal activity of herbal extracts. International Journal of Hygiene and Environmental Health, 206(3): 217-21.
34. Tiwari, B.K., Valdramidis, V.P., Donnell, C.P., Muthukumarappan, K., Bourke, P. and Cullen, P.J. 2009. Application of natural antimicrobial for food preservation. Journal of Agricultural Food Chemistry, 57: 5987-6000.