Archive of SID

زنجبیل؛ گیاه دارویی ضد استرپتوکوکوس موتانس– کدام حلال مناسب تر است؟

صدف شیخی‌نژاد [۱]، دکتر لاله بابایی خو [#۲]، دکتر گیتی برزین [۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی- میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اسلامشهر

۲-استادیار، گروه زیست شناسی- میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اسلامشهر

۳- استادیار، گروه زیست شناسی دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اسلامشهر

خلاصه:

سابقه و هدف: *Streptococcus mutans* یکی از اعضای میکروفلور دهان، از عوامل مهم پوسیدگی دندان می‌باشد. با توجه به عوارض جانبی گزارش شده برای ترکیبات شیمیایی کنترل کننده پوسیدگی مانند کلرهگزیدین و نرخ رو به رشد باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک ها جایگزینی ترکیبات گیاهی ارزان قیمت، موثر و غیر سمی با ترکیبات شیمیائی ضروری به نظر می رسد. هدف از این مطالعه بررسی قدرت ضد باکتریائی *Zingiber officinale* بر روی سویه استاندارد *S. mutans* و مقایسه اثر بخشی عصاره های تهیه شده از این گیاه با استفاده از حلال های مختلف است.

مواد و روش ها: مطالعه به روش آزمایشگاهی انجام شد. عصاره ریزوئید گیاه زنجبیل با استفاده از ۴ حلال آب، متانول، اتیل استات و هگزان تهیه شد و MIC و MBC عصاره های حاصل با روش میکرودایلوشن بر روی باکتری *S. mutans* ATCC 35668 تعیین شد. قطر هاله عدم رشد باکتری به روش چاهک و انتشار عصاره در محیط آگار، در سه غلظت مختلف از عصاره ها مورد ارزیابی قرار گرفت. یافته‌ها با آزمون ANOVA و LSD مورد قضاوت آماری قرار گرفتند.

یافته ها: غلظت های مختلف عصاره زنجبیل دارای اثرات ضد میکروبی مشخص بودند. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره های آبی و متانولی، ۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای عصاره های اتیل استات و هگزانی ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برآورد گردید. حداقل غلظت کشندگی (MBC) برای عصاره متانولی و آبی ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای عصاره اتیل استات و هگزانی ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ارزیابی شد. بالاترین قطر هاله عدم رشد توسط عصاره متانولی و پس از آن با اختلاف بدون معنی توسط عصاره آبی ایجاد شد. عصاره های اتیل استات و هگزان به ترتیب در رتبه های بعدی قرار گرفتند.

نتیجه گیری: وجود اختلاف در قطر هاله عدم رشد حاصل از اثر عصاره های مختلف نشانگر وجود اختلاف در درون ترکیبات هر یک از انواع عصاره است. به نظر می‌رسد عصاره آبی و متانولی زنجبیل ترکیب مناسبی جهت کنترل جمعیت باکتری *استرپتوکوک موتانس* است. ($P<0.05$)

کلمات کلیدی: زنجبیل، *استرپتوکوکوس موتانس*، اتیل استات، متانول

وصول مقاله: ۱۳۹۶/۲/۶ اصلاح نهایی: ۱۳۹۶/۶/۱۰ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۶/۱۳

مقدمه:

پوسیدگی دندان یکی از شایعترین عفونت‌های دهانی محسوب می‌شود و باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* (*S. mutans*) ، از گروه استرپتوکوک های ویریدانس، دارای نقش اصلی در این بیماری است. این باکتری تقریبا در شروع تمامی ضایعات پوسیدگی در مینای دندان نقش دارد و با تولید اسید از طریق متابولیزه کردن کربوهیدراتها و کاهش pH محیط باعث دمینرالیزاسیون سطوح دندانی و در نتیجه پوسیدگی می شود.

توسعه ی پوسیدگی دندانی با دخالت باکتری های گرم مثبت اسید دوست (*استرپتوکوکوس موتانس*، لاکتوباسیل ها و اکتینومیست ها) انجام می پذیرد. با این حال، اکثر مطالعات *S. mutans* را به عنوان پاتوژن اصلی پوسیدگی دندانی شناسایی کرده اند.[۱،۲]

نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر لاله بابایی خو تلفن: ۰۲۱۵۶۳۴۱۹۱۸ پست الکترونیک: babaeekhou@iau.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

امروزه استفاده از کلرهگزیدین جهت کنترل و کاهش پوسیدگی رایج است ولی تحقیقات نشان داده است که توقف جایگزینی باکتری *S. mutans* و کاهش تعداد باکتری در سطح دندان توسط این ترکیب موقتی بوده و تعداد باکتری پس از گذشت ۲ تا ۶ ماه به میزان اولیه و قبل از تیمار با ژل کلرهگزیدین می رسد.[۳-۵] این ترکیب باعث تغییر رنگ مینای دندان به رنگ زرد یا قهوه ای شده [۶] و گزارشاتی از بروز سوزش و زخم و خشکی در مخاط دهان در اثر استفاده از دهانشویه های حاوی کلرهگزیدین موجود می باشد. علاوه بر موارد ذکر شده به دلیل عدم وجود شواهد کافی از اثرات کلینیکی و عوارض جانبی این ترکیب در استفاده طولانی مدت از آن، استفاده از کلرهگزیدین به عنوان داروی کنترل کننده پوسیدگی دندان توصیه نمی شود.[۷] بنابراین شناخت ترکیبات گیاهی دارای اثر ضد *S. mutans* با عوارض جانبی محدودتر به عنوان جایگزین برای ترکیبات شیمیایی رایج بسیار ضروری به نظر می رسد.

زنجبیل یا *Zingiber officinale* از خانواده Zingiberaceae به وفور در رژیم غذایی مردم جهان دیده می شود و دارای خواص شناخته شده ای است از جمله؛ تنظیم سیستم ایمنی، ضد سرطان، ضد التهاب، مهار کننده افزایش قند و چربی در خون، ضد تهوع و خاصیت آنتی اکسیدان [۸] مطالعات نشان داده است که عصاره های آبی و اتانولی یا متانولی این گیاه دارای فعالیت ضد میکروبی بر روی باکتری های فلور دهان از قبیل *S. mutans* [۹-۱۲]، *استرپتوکوکوس سنگوئیس* [۹]، لاکتوباسیل [۱۲-۱۴] و سایر باکتری های گرم مثبت و گرم منفی بیماریزا است [۱۴-۱۷].

با توجه به نتایج حاصل از مطالعات ذکر شده و با توجه به اینکه هر حلال ترکیبات قطبی، نیمه قطبی یا قطبی را از گیاه جداسازی می کند فرضیه وجود قدرت ضد باکتریایی در عصاره های تهیه شده از سایر حلال ها نظیر هگزان و اتیل استات علاوه بر آب و متانول مطرح گردید.

فرضیه دیگر وجود اختلاف در قدرت ضد میکروبی در عصاره های حاصل به دلیل وجود اختلاف در ترکیبات عصاره بود. هدف از این مطالعه بررسی وجود اثر ضد میکروبی در عصاره های تهیه شده از گیاه *Z. officinale* با استفاده از حلال های آب، متانول، اتیل استات و هگزان بر روی *S. mutans* و مقایسه اثر بخشی عصاره های حاصل از حلال های مختلف با یکدیگر است.

مواد و روش ها

تهیه عصاره

عصاره گیری به روش ماسراسیون با استفاده از دستگاه روتاری انجام گرفت. [۱۸] ۲۰۰ گرم پودر ریشه زنجبیل با ۴ حلال آب، متانول، اتیل استات و هگزان خیسانده و پس از انتقال به چهار ارلن مجزا، ۱۵۰ میلی لیتر از هر حلال به پودر افزوده شد. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون محتوای ارلن از کاغذ صافی (Whatman no.1) عبور داده شد (مراحل ذکر شده چهار بار با پودر باقیمانده در بالای صافی تکرار شد). جهت جداسازی حلال از عصاره ها از دستگاه روتاری (Hidolph-Germany) استفاده شد. از عصاره های حاصل غلظت های ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر توسط DMSO ۵ درصد تهیه و جهت انجام آزمایشات میکروبی در ویال های استریل درون یخچال نگهداری شدند.

ارزیابی حداقل غلظت متوقف کننده رشد (MIC) و کشنده باکتری (MBC)

سویه استاندارد *S. mutans* ATCC 35668 از مرکز پژوهش های علمی و صنعتی ایران خریداری و بررسی اثر ضد میکروبی عصاره ها به روش میکرودایلوشن انجام شد.[۱۱]

www.SID.ir

Archive of SID

برای این منظور پس از تهیه اولین غلظت مورد نظر از عصاره ها (۴۰۰میلی گرم بر میلی لیتر)، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره ها در چاهک‌های ستون اول پلیت الایزا و ۵۰ میکرولیتر محیط استریل برین هارت ایفیوژن براس (BHI Sigma) در چاهک های بعدی ریخته شد. پس از تهیه رقت سریالی، ۵۰ میکرولیتر مایه تلقیح (10^6 CFU/ml) به کلیه چاهک ها افزوده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. مایه تلقیح از کشت ۲۴ ساعته باکتری در محیط برین هارت ایفیوژن براس (BHI Sigma) تهیه شد و ردیف آخر هر پلیت برای DMSO ۵ درصد به عنوان کنترل در نظر گرفته شد. حداقل غلظت از هر عصاره که به وضوح مانع از رشد باکتری شده باشد به عنوان MIC در نظر گرفته شد [۱۹] و بالاترین رقت از عصاره که کشت ثانویه آن در محیط BHI رشدی از باکتری در محیط نشان ندهد به عنوان MBC گزارش داده شد. [۲۰]

بررسی قدرت ضد میکروبی به روش انتشار عصاره در محیط جامد

پس از کشت شبانه باکتری در محیط برین هارت ایفیوژن براس (BHI Sigma)، غلظت باکتری توسط محیط استریل 10^8 واحد تشکیل دهنده کلنی بر میلی لیتر تنظیم و ۵۰۰ ماکرولیتر از کشت باکتری در سطح محیط مولر هینتون آگار (MHA Sigma) گسترش داده شد. پس از ایجاد چاهک به قطر ۶ mm در محیط در شرایط استریل، ۱۰۰ میکرولیتر از هر عصاره با سه غلظت ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر، ۱۰۰میلی گرم بر میلی لیتر و ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر در چاهک ها ریخته شد. از حلال DMSO ۵ درصد به عنوان کنترل منفی استفاده شد.

آنالیز آماری نتایج

کلیه آزمایشات جهت اطمینان از صحت نتایج آزمایش با سه تکرار انجام شدند. داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه گردید.

تجزیه آزمایش، بصورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. به این صورت که دو عامل حلال در چهار نوع (هگزان، اتیل استات، متانول و آبی) و غلظت در سه سطح (۵۰ ، ۱۰۰ و۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) به عنوان متغیرهای مستقل و میزان عدم رشد هاله به عنوان متغیر وابسته در آزمایش در نظر گرفته و تجزیه و تحلیل انجام شد. تجزیه و تحلیل با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه 21 انجام شد. از آزمون آنالیز واریانس برای مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد در گروه های مختلف عصاره استفاده شد. در صورت معنی دار بودن عوامل در جدول آنالیز واریانس، مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون LSD انجام شد.

یافته ها

غلظت های کشنده و مهارکننده رشد از عصارها

حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره های آبی و متانولی، ۱۲/۵میلی گرم بر میلی لیتر و برای عصاره های اتیل استات و هگزانی ۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر برآورد گردید. حداقل غلظت کشندگی (MBC) برای عصاره متانولی و آبی ۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر و برای عصاره اتیل استات و هگزانی ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر ارزیابی شد.

قطرهاله عدم رشد ناشی از اثر عصاره ها

نتایج آزمایش انتشار عصاره در محیط نشان داد، بزرگترین هاله عدم رشد ایجاد شده مربوط به عصاره متانولی و پس از آن به ترتیب مربوط به عصاره آبی، اتیل استات و هگزانی می‌باشد (جدول۱). میانگین قطر هاله عدم رشد ناشی از ۴ نوع عصاره آبی، متانولی، اتیل استات و هگزانی در غلظت های مختلف ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در جدول ۱ نشان داده شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

آنالیز آماری نتایج نشان داد با افزایش غلظت عصاره افزایش معنی دار در قطر هاله عدم رشد در همه انواع عصاره های ذکر شده وجود دارد. به عبارت دیگر بین قطر هاله عدم رشد وغلظت عصاره گیاهی رابطه مستقیم وجود دارد ($P < ۰/۰۵$) (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین اثر حلال نشان داد دو حلال متانول و آبی به ترتیب با میانگین هاله عدم رشد ۱۵/۸۹ و ۱۵/ ۵۶ میلی متر دارای بالاترین اثر بر روی رشد باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* می باشند. میانگین هاله عدم رشد توسط این دو حلال اختلاف آماری معنی دار نشان نداد و حلال اتیل استات با میانگین هاله عدم رشد ۱۴/۲۶ میلی متر پس از دو حلال مذکور در مرتبه بعدی اثر بخشی قرار گرفت (جدول ۱).

جدول۱- مقایسه میانگین (از سه غلظت مختلف) قطر هاله عدم رشد در حلال های مختلف

حلال	انحراف معیار ± میانگین قطر هاله* (میلی متر)	آزمون LSD
هگزان	۱۲/۶۹ c ±۰/۸۲	
اتیل استات	۱۴/۲۶ b ±۰/۴۳	
متانول	۱۵/۸۹ a ±۰/۶۵	$P=$ ۰/۰۵
آبی	۱۵/۵۶ a ±۰/۵۸	

*میانگین هایی که حداقل دارای یک حرف انگلیسی مشابه هستند از نظر آماری اختلاف معنی دار با یکدیگر ندارند.

نتایج مقایسه میانگین جهت بررسی اثر غلظت نشان داد که هر سه غلظت استفاده شده در آزمایش از نظر کنترل رشد هاله، با یکدیگر دارای اختلاف آماری معنی دار می‌باشند. به این ترتیب که غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر با میانگین هاله عدم رشد ۱۵/۱۹ میلی متر در همه حلال‌ها بهترین غلظت جهت کنترل رشد هاله بود. غلظت های ۵۰ و۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر نیز پس از غلظت مذکور به ترتیب با میانگین هاله عدم رشد ۱۴/۶۳ و ۱۴/۰۷ میلی متر در مرتبه‌های بعدی قرار گرفتند (جدول ۲).

جدول۲- مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد (از چهار حلال مختلف) در غلظت های مختلف

غلظت (میلی گرم بر میلی لیتر)	انحراف معیار ± قطر هاله* (میلی متر)	آزمون LSD
۵۰	۱۴/۰۷ c ±۱/۵۳	
۱۰۰	۱۴/۶۳ b ±۱/۳۲	$P=$ ۰/۰۵
۲۰۰	۱۵/۱۹ a ±۱/۳۱	

*میانگین هایی که حداقل دارای یک حرف انگلیسی مشابه هستند از نظر آماری اختلاف معنی دار با یکدیگر ندارند.

نتایج مقایسه میانگین برای اثر متقابل حلال × غلظت در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد کلیه حلال ها در غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر بیشترین قطر هاله عدم رشد را ایجاد نموده‌اند. همچنین مشاهده شد که در هر سه غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر دو حلال متانول و آب بالاترین میزان از قطر هاله عدم رشد را ایجاد نموده اند.

جدول۳- مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد در حلال ها و غلظت های مختلف

حلال	انحراف معیار ± میانگین قطر هاله* (میلی متر)			آزمون LSD
	۵۰	۱۰۰	۲۰۰	
هگزان	۱۱/۸۳ g ±۰/۷۶	۱۲/۸۳ f ±۰/۲۹	۱۳/۴ ef ±۰/۳۶	
اتیل استات	۱۳/۹۳ de ±۰/۴	۱۴/۱۷ cd ±۰/۲۹	۱۴/۶۷ cd ±۰/۲۹	$P=$ ۰/۰۵
متانول	۱۵/۳۳ bc ±۰/۵۸	۱۵/۸۳ a ±۰/۲۹	۱۶/۵ a ±۰ /۵	
آبی	۱۵/۱۷ bc ±۰/۲۹	۱۵/۶۷ ab ±۰/۵۸	۱۵/۸۳ ab ±۰/۷۶	

*میانگین هایی که حداقل دارای یک حرف انگلیسی مشابه هستند از نظر آماری اختلاف معنی دار با یکدیگر ندارند.

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

تحقیق حاضر به منظور مقایسه اثر بخشی عصاره های بدست آمده از گیاه *Z. officinale* یا *زنجبیل* توسط چهار حلال مختلف آب، اتانول، اتیل استات و هگزان انجام شد و نتایج نشان داد دو عصاره متانولی و آبی از جهت میزان تشکیل هاله عدم رشد اختلاف معنی داری با یکدیگر نشان نمی‌دهند و دارای اثر ضد *استرپتوکوکوس موتانس* بیشتری نسبت به عصاره های حاصل از دو حلال اتیل استات و هگزان هستند.

بررسی اثر انواع عصاره های گیاه *زنجبیل* بر روی *S. mutans* به دو روش تعیین MIC یا MBC و تعیین قطر هاله عدم رشد توسط تیمهای تحقیقاتی مختلف انجام گرفته است [۹و۱۰و۱۱و۱۴و۱۶]

Hasan و همکاران با تهیه عصاره تام و اتانولی از گیاه *زنجبیل* MIC و MBC از عصاره ای حاصل را ۰/۲۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش نمودند.[۱۱] Azizi و همکاران نیز در سال ۲۰۱۵ به ترتیب غلظتهای ۰/۰۲ و ۰/۰۴ میلی گرم بر میلی لیتر از عصاره اتانولی گیاه زنجبیل را به عنوان MIC و MBC تعیین نمودند.[۹]

این در حالی است که El-Sherbiny و همکاران غلظت لیتر ۱/۲ میلی گرم بر میلی از عصاره آبی و ۱ میلی گرم بر میلی لیتر از عصاره اتانولی را غلظت های مهار کننده رشد باکتری *S. mutans* گزارش نمودند. [۱۲]MIC و MBC در مطالعه حاضر برای عصاره های متانولی و آبی به ترتیب ۱۲/۵ و ۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر و برای عصاره های اتیل استات و هگزان ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر برآورد گردید. دلیل وجود اختلاف در غلظت های MIC و MBC در این مطالعه با مطالعات مذکور را می توان به روش به کار گرفته شده در تهیه عصاره نسبت داد.

در این مطالعه از روس ماسراسیون جهت تهیه عصاره استفاده شد که روشی معمول جهت تهیه عصاره از گیاهان دارویی است و برای تهیه دارو با منشاء زیستی از این روش استفاده می شود. در این روش ترکیبات با قابلیت تحرک و دارای خواص درمانی مطلوب توسط حلال انتخابی جداسازی می شوند. [۱۸]

در مطالعه ای که توسط Al-Duboni و همکاران انجام گرفت عصاره آبی از گیاه زنجبیل در غلظت های ۵۰، ۱۰۰ و میلی گرم بر میلی لیتر۱۵۰ به ترتیب ایجاد کننده هاله عدم رشد به قطر تقریبی ۸، ۱۳ و ۱۵ میلیمتر بر روی کشت باکتری *S. mutans* بود.[۱۴]

در مطالعه انجام شده توسط Jain و همکاران در سال ۲۰۱۵ عصاره آبی از گیاه زنجبیل (با غلظت ۲ میلی لیتر از عصاره در یک لیتر حلال DMSO) هاله عدم رشد به قطر تقریبی ۱۴ میلی متر گزارش داده شد.[۱۰] در تحقیق حاضر عصاره آبی در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر هاله‌ای به قطر تقریبی ۱۵ میلی متر ایجاد نمود که با نتایج تحقیقات مذکور مطابقت نسبی نشان می‌دهد.

در تحقیق انجام شده توسط عظیمی لیسار و همکاران خواص آنتی باکتریایی روغن سیاه دانه در باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* به روش دیسک دیفیوژن سنجیده شد و نتایج با خاصیت دیسک استاندارد آموکسی سیلین (۲۵ میکروگرم) مقایسه گردید. روغن گیاه مذکور در غلظت ۱۶۵ میلی گرم بر میلی لیتر قطر هاله عدم رشد به میزان ۱۲/۵ میلیمتر ایجاد نمود که به طور تقریبی معادل هاله ایجاد شده توسط عصاره متانولی در تحقیق حاضر است.[۲۲]

تاثیر ضد میکروبی نانوذرات نقره نیز بر روی باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* به اثبات رسیده است [۲۳] ولیکن از آنجائیکه هدف نهایی معرفی عصاره ای موثر جهت استفاده در دهانشویه و خمیردندان است استفاده از ترکیبات فلزی مورد نظر تحقیق حاضر نبوده است.

www.SID.ir

Archive of SID

گزارشات متعددی از اثر ضد میکروبی عصاره های مختلف از گیاه *زنجبیل* بر روی انواع باکتری های گرم مثبت و گرم منفی و پاتوژن موجود است [۱۴و۱۶و۱۷] بعلاوه، نتایج مطالعات تعدای از محققین نشان داده است تاثیر ضد میکروبی این گیاه بر روی باکتریهای گرم مثبت بیشتر از باکتریهای گرم منفی است [۲۱-۲۴] مطالعات مذکور می توانند تاییدی بر نتایج حاصل از مطالعه حاضر باشند.

اثر ضد میکروبی زنجبیل به ترکیباتی از قبیل zingiberol، zingiberene، bisabolene و β-sesquiphellandrene از سسکوئی ترپن ها، α-curcumene از منوترپن ها و gingerol و shogaol (آنالوگ دهیدراته جینجرول) از ترکیبات فنولیک نسبت داده می شود.[۲۵] جینجرول مخلوطی از جینجرونهای کریستالی بوده و عامل اصلی اسیدیته زنجبیل است.

این ترکیب در مهار رشد باکتری هائی از قبیل *Staphylococcus aureus* و *Trichomonas vasmalis* نقش داشته و در درمان واژینوزیس باکتریائی و بیماری های پوستی کاربرد دارد. [۲۶و۲۷] اثر ضد باکتریائی عصاره های گیاه زنجبیل را می توان به وجود سایر ترکیبات از قبیل فلاوونوئیدها و روغن های فرار که در حلال های آلی حل می شوند نیز نسبت داد [۲۸] علاوه بر این، عصاره های این گیاه دارای ترکیبات شیمیائی از قبیل ساپونین، آلکالوئید، و فلاوونوئید هستند که اثر ضد باکتریائی و ضد قارچی آنها اثبات شده است. [۲۹]

در مطالعه حاضر از ۴ حلال مختلف هگزان، اتیل استات، متانول و آب با درجات قطبیت مختلف جهت تهیه عصاره ها استفاده شد تا با در اختیار داشتن طیف کامل از قطبیت ترکیبات موجود در عصاره ها بتوان اثر ضد میکروبی عصاره زنجبیل را مورد بررسی قرار داد و بهترین حلال جهت تهیه عصاره زنجبیل را معرفی نمود. با توجه به نتایج می توان گفت دو حلال متانول و آبی بهترین حلالها جهت استفاده در تهیه عصاره می باشند.

سایر مطالعات نیز نشان داده اند نوع حلال مورد استفاده بر میزان اثر ضدباکتریائی تاثیر گذار است و در میان حلال ها متانول عامل بروز بیشترین اثر ضد باکتریائی بوده است. حلال های آلی حلال های بهتری برای ترکیبات آلی می باشند و رها شدن ترکیبات آلی در عصاره لازمه بروز اثر ضد باکتریائی در عصاره است.[۳۰] این امر می تواند توجیه کننده اثر ضد موتانس بالاتر عصاره متانولی نسبت به سایر عصاره ها در این بررسی باشد.

آزمایشات بیشتری مورد نیاز است تا بتوان ترکیب اصلی موثر بر روی باکتری را شناسائی و استخراج نمود. بعلاوه ، لازم است تاثیرات جانبی ناشی از استفاده از عصاره گیاه *Zingiber officinale* بر روی مخاط دهان طی آزمایشات بعدی مـــــورد ارزیابی قرار گیرد.

طبق نتایج حاصل از مطالعه حاضر می توان نتیجه گیری نمود گیاه *Zingiber officinale* دارای اثر ضد باکتریائی قابل توجه بر روی روی عامل اصلی پوسیدگی دندان یا باکتری *S. mutans* بوده و این گیاه می تواند به عنوان محصول طبیعی زیستی و فعال در توسعه ترکیبات جدید جهت کنترل پوسیدگی دندان مورد استفاده قرار گیرد. بعلاوه، حلال های آب و متانول به عنوان حلال هایی با بالاترین قابلیت جداسازی ترکیبات موثر گیاه، حلال های پیشنهادی جهت بررسی اثر ضد میکروبی گیاه زنجبیل و سایر گیاهان معرفی می شوند.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر با حمایت مالی و با استفاده از امکانات آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر انجام شد.

www.SID.ir

Archive of SID

References:

1-Acevedo AM, Montero M, Machado C, S´aez I, Rojas S,´anchez F et al. Dental caries experience in school children and the impact of non-cavitated lesions on the caries index. Acta Odontol´ogica Latinoamericana 2013; 1: 8–14.

2- Islam B, Khan Sh N, Khan AU. Dental caries: From infection to prevention. Med Sci Monit 2007; 13: 196-203.

3- Lindquist B, Edward S, Torell P, Krasse B. Effect of different carriers preventive measures in children highly infected with mutans streptococci. Scand J Dent Res. 1989; 97:330-337.

4- Ostela I, Tenovuo J, Soderling E, Lammi E, Lammi M. Effect of chlorhexidine-sodium fluoride gel applied by tray or by toothbrush on salivary mutans streptococci. Proc Finn Dent Soc 1990; 86: 9-14.

5- Maltz M, Zickert I, Krasse B. Effect of intensive treatment with chlorhexidine on number of *Streptococcus mutans* in saliva. Scand J Dent Res 1981; 89:445-449.

6- Al-Tannir MA, Goodman HS. A review of chlorhexidine and its use in special populations. Spec Care Dentist 1994; 14:116-122.

7- Gold JA. The Role of Chlorhexidine in Caries Prevention. Oper Dent 2008; 33:710-716.

8- Ali BH, Blunden G, Tanira MO, Nemmar A. Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): A review of recent research. Food Chem Toxicol 2008; 46: 409–420.

9- Azizi A, Aghayan SH, Zaker S, Shakeri M, Entezari N and Lawaf SH. In Vitro Effect of Zingiber officinale Extract on Growth of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis*. Int J Dent 2015; 2015: 489842, 5 pages.

10- Jain I, Jain P, Bisht D, Sharma A, Srivastava B, Gupta N. Use of Traditional Indian Plants in the Inhibition of Caries-Causing Bacteria - *Streptococcus mutans*. Braz. Dent. J 2015; 26: 110-115.

11- Hasan S, Singh K, Danisuddin M, Verma PK, Khan AU. Inhibitory effect of *zingiber officinale* towards *Streptococcus mutans* virulence and caries development: in vitro and in vivo studies. BMC Microbiol 2015; 15:1-14

12- EL-Sherbiny GM. Antimicrobial Susceptibility of Bacteria Detected from the Root Canal Infection (Before and After) Root-Filled Teeth: An in Vitro Study. IJ DR 2015; 3: 4-9.

13- Olaniran, AF, Abiose, SH, Adeniran, AH, Biopreservative Effect of Ginger (*Zingiber officinale*) and Garlic Powder (*Allium sativum*) on Tomato Paste. J Food Saf 2015; 35: 440–452.

14- Al-Duboni G, Osman M, and Al-Naggar R. Antimicrobial Activity of Aqueous Extracts of Cinnamon and Ginger on Two Oral Pathogens Causing Dental Caries. Res. J. Pharm., Biol. Chem. Sci 2013; 4: 957-965.

15- Pius O, Oluwadunsin O, Benjamin O. Antibacterial Activity of Ginger (*Zingiber officinale*) Against Isolated Bacteria from the Respiratory Tract Infections. J Biol Agric Healthc 2015; 5:19.

16- Bezalwar PM, Manapure AS. Assessment of Potential Duo out of *Syzigium aromaticum L.*, *Zingiber officinale* and *Ocimum basilicum L.* Leaves Extract for Extermination of Clinical Pathogens. J Plant Pathol Microb 2015; 6: 265-267.

17- Aghazadeh M, Bialvaei A, Aghazadeh M, Kabiri F, Saliani N, Yousefi M et al. Survey of the Antibiofilm and Antimicrobial Effects of *Zingiber officinale* (in Vitro Study). Jundishapur J Microbiol 2016; 9:2.

18- Handa SS, Singh Khanuja SP, Longo G, Rakesh DD, editors. Extraction technologies for medicinal and aromatic plants. ICS; 2008. P. 70-71.

19- Natta, L, Orapin K, Krittika N, Pantip B. Essential oil from five Zingiberaceae for anti-food-borne bacteria. IFRJ 2008; 15: 337-346.

20- Khan R, Islam B, Akram M, Shakil S, Ahmad, A, Ali, SM, et al. Antimicrobial activity of five herbal extracts against multi drug resistant (MDR) strains of bacteria and fungus of clinical origin. Molecules 2009; 14:586–597.

21- Chandarana H, BAluja S, Chanda SV. Comparison of Antibacterial Activities of Selected Species of Zingiberaceae Family and Some Synthetic Compounds. Turk J Biol 2005; 29:83–97.

22- Azimi Laysar H, Niakan M, Mohammad Taghi G, Jafarian Z, Mostafavizade M, Niakan S. Comparison of the antibacterial activity of various concentrations of Nigella Sativa and Nanosilver on the growth of S.sanguis and S. mutans. J Res Dent Sci. 2013; 9 (4):179-186.

23- Niakan M, Abbasi F, Hamedi R, Aliasghar E, Najafi F, Fatemi M. Evaluation of the antimicrobial effects of dental disinfectant solutions with Nano silver on oral current bacteria. J Res Dent Sci. 2011; 8 (2):75-81.

24- Onyeagba RA, Ugbogu OC, Okeke CU, Iroakasi O: Studies on the antimicrobial effects of garlic (*Allium sativum* Linn), ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and lime (*Citrus aurantifolia* Linn). Afr J Biotechnol 2004, 3:552–554.

25- Ali Hasan H, Mohammed Rasheed Raauf A, Monjd Abd Razik B, Abdul Rasool Hassan B. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Crude Extracts Isolated from *Zingiber Officinale* by Different Solvents. Pharmaceutica Analytica Acta 2012; 3: 184-188.

26- Michael derrida (1999). Common spices protect bacteria during irradiation 1999. Am. Chem. Soc. 2:270-275.

27- Melvin MJ, Jayachitra J, Vijayapriya M. 2009. Antimicrobial activity of some common spices against

www.SID.ir

Archive of SID

certain human pathogens. J. Med. Plants Res 3(11): 1134-1136.
28- Malu SP, Obochi GO, Tawo EN, Nyong BE. Antibacterial activity and medicinal properties of ginger (*Zingiber officinale*) Global J Pure Appl 2008; 15: 365–368.
29- Barasch A, Safford MM, Dapkute-Marcus I, Fine DH. Efficacy of chlorhexidine gluconate rinse for treatment and prevention of oral candidiasis in HIV-infected children: a pilot study. Oral Surg Oral Me Oral Pathol Oral Radiol Endod 2004; 97: 204 207.
30- Ekwenye U. N, Elegalam N. N. Antibacterial activity of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and garlic (*Allium sativum* L.) extracts on *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*. Int J Mol Med Adv Sci 2005; 4: 411–416.

www.SID.ir