Archive of SID

Original Article

Identification of Chemical Compounds, Antioxidant Potential, Phenolic Content and Evaluation of Inhibitory and Bactericidal/Fungicidal Effects of Ginger Essential Oil on Some Pathogenic Microorganisms in Vitro

Farideh Tabatabaei Yazdi[1*], *Fereshteh Falah*[1], *Behrooz Alizadeh Behbahani*[2], *Alireza Vasiee* [1], *Seyed Ali Mortazavi*[1]

[1]*Department of Food Science & Technology, School of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.*

[2]*Department of Food Science & Technology, School of Animal Science & Food Technology, Agricultural Sciences & Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.*

[*]***Corresponding Author:***
Farideh Tabatabaei Yazdi; Department of Food Science & Technology, School of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Email: tabatabai@um.ac.ir

Received: 20 Jan, 2019
Accepted: 18 Feb, 2019

Abstract

Background and Objectives: Ginger (*Zingiber officinale*) has been used as medicine and spice in Iran, China, and India since ancient times. Currently ginger is used in many foods, beverages and pharmaceutical agents. The purpose of this research was to evaluate the antibacterial and antifungal activities of ginger essential oil on some pathogenic strains and to determine the chemical compounds, total phenolic content, and antioxidant activity of the ginger essential oil using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

Methods: In this experimental study, identification of chemical compounds of the ginger essential oil and their quantitative measurement was performed using gas chromatography and gas chromatography- mass spectrometry devices. The antimicrobial properties were determined by various qualitative and quantitative methods [disc diffusion agar, minimum inhibitory concentration (MIC), and minimum bactericidal/fungicidal concentration (MBC/MFC)]. Measurement of total phenol and antioxidant potential were carried out by Seevers and Daly colorimetric and radical scavenging methods, respectively. The data were analyzed using one-way ANOVA and Tukey test.

Results: In this study, the highest and the lowest diameters of the inhibition zone at the concentration of 100mg/ml were observed for *Candida albicans* and *Salmonella typhi*, respectively. The MIC of the ginger essential oil was equal to 50, 50, 25, 6.25, 12.5, 12.5, 6.25, and 6.25mg/ml for *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria innocua*, *Bacillus cereus*, *Candida albicans*, and *Aspergillus niger*, respectively. The MBC/MFC of the essential oil, were higher than MIC. Zingiberene (29.48%) was the major compound in the ginger essential oil, and the antioxidant activity (IC_{50}) and total phenolic content of ginger essential oil were equal to 93.45µg/ml and 76.65 mg GAE/g, respectively.

Conclusion: The results of the current study showed that the effect of ginger essential oil on Gram-positive bacteria was higher as compared to Gram-negative bacteria. Therefore, clinical trials are suggested for future researches.

Keywords: Ginger; Minimum inhibitory concentration; Minimum bactericidal/fungicidal concentration; Gas chromatography; Radical scavenging.

DOI: 10.29252/qums.13.3.50

International License Creative Commons Attribution License 4.0

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره سیزدهم، شماره سوم، خرداد ۹۸
صفحه ۵۰ الی ۶۲
Archive of SID

مقاله پژوهشی
(Original Article)

شناسایی ترکیبات شیمیایی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، میزان فنل و ارزیابی اثر مهارکنندگی و کشندگی اسانس زنجبیل بر تعدادی از سویه‌های میکروبی بیماریزا در شرایط برون‌تنی

فریده طباطبایی یزدی[1*]، فرشته فلاح[1]، بهروز علیزاده بهبهانی[2]، علیرضا وسیعی[1]، سید علی مرتضوی[1]

چکیده

زمینه و هدف: زنجبیل (زنجفیل)، از زمان‌های قدیم در ایران، چین و هند به‌عنوان دارو و ادویه مورد استفاده بوده است. امروزه، زنجبیل در بسیاری از مواد غذایی، نوشیدنی‌ها و مواد دارویی مصرف می‌شود. این مطالعه با هدف ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی و ضدقارچی اسانس زنجبیل بر تعدادی از سویه‌های بیماریزا و تعیین ترکیبات شیمیایی، فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس زنجبیل با ۲ و ۲ دی فنیل - ۱- پیکریل هیدرازیل انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، شناسایی ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس زنجبیل و اندازه‌گیری کمّی آن به کمک دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنجی جرمی صورت گرفت. فعالیت ضدمیکروبی با روش‌های مختلف کیفی و کمّی (دیسک دیفیوژن آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی) ارزیابی شد. فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس زنجبیل به روش رنگ‌سنجی سیور - دالی و کاهش ظرفیت رادیکالی تعیین گردید. داده‌ها با استفاده از آزمون یک‌طرفه و توکی آنالیز شدند.

یافته‌ها: در این مطالعه، بیشترین و کمترین قطر هاله بازدارندگی در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر بر *کاندیدا آلبیکنس* و *سالمونلا تیفی* مشاهده شد. حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس زنجبیل برای سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا*، *سالمونلا تیفی*، *اشرشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا اینوکوا*، *باسیلوس سرئوس*، *کاندیدا آلبیکنس* و *آسپرژیلوس نایجر* به ترتیب برابر با ۵۰، ۵۰، ۲۵، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵ و ۶/۲۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر به دست آمد. حداقل غلظت کشندگی اسانس، بالاتر از حداقل غلظت مهارکنندگی بود. *Zingiberene* با ۲۹/۴۸٪، ترکیب اصلی اسانس زنجبیل بود و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (IC_{50}) و فنل کل اسانس زنجبیل به‌ترتیب: ۹۳/۴۵ میکروگرم برمیلی‌لیتر و ۷۶/۶۵ میلی‌گرم گالیک اسید برآورد شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد اسانس زنجبیل بر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی، مؤثرتر است؛ بنابراین آزمایش‌های بالینی برای تحقیقات آتی پیشنهاد می‌گردد.

کلیدواژه‌ها: زنجبیل؛ تست حساسیت میکروبی؛ کروماتوگرافی گازی؛ کاهش ظرفیت رادیکالی.

[1]گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

[2]گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:
فریده طباطبایی یزدی؛ گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:
tabatabai@um.ac.ir

تاریخ دریافت:۹۷/۱۰/۳۰
تاریخ پذیرش:۹۷/۱۱/۲۹

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Tabatabaei Yazdi F, Falah F, Alizadeh Behbahani B, Vasiee A, Mortazavi SA. Identification of chemical compounds, antioxidant potential, phenolic content and evaluation of inhibitory and bactericidal/fungicidal effects of ginger essential oil on some pathogenic microorganisms in vitro. Qom Univ Med Sci J 2019;13(3):50-62. [Full Text in Persian]

www.SID.ir

International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

مقدمه

استفاده از گیاهان دارویی با اثر ضدمیکروبی، قدمتی همپای تاریخ بشر دارد. در چند دهه اخیر، استفاده از مواد شیمیایی و سنتزی در تولید داروهای ضدمیکروبی همزمان با گسترش شاخه‌های مختلف علوم همانند فارماکولوژی و فیتوشیمی، روند رو به رشدی داشته است. استفاده بیش‌ازحد و نادرست انسان‌ها از ترکیبات ضدمیکروبی (شیمیایی و سنتزی)، باعث به‌وجود آمدن سویه‌های بیماری‌زا مقاوم شده است؛ لذا در سال‌های اخیر پژوهشگران و دانشمندان دوباره مجبور به استفاده از گیاهان دارویی جهت کنترل رشد میکروارگانیسم‌های بیماریزا شده‌اند (۱).

در اکثر کشورهای جهان، پژوهش‌های بسیاری در جهت شناخت و کشف ترکیبات جدید (منابع مختلف گیاهی، جانوری و میکروارگانیسم‌ها) با فعالیت ضدمیکروبی در حال انجام است. در حال حاضر، مقاومت دارویی (کاهش اثر یک دارو در درمان یک بیماری)، یکی از مهم‌ترین چالش‌ها در زمینه سلامت انسان‌ها محسوب می‌شود. میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا به‌وسیله سازوکارهای گوناگونی نسبت به داروها و آنتی‌بیوتیک‌های درمانی مقاوم می‌شوند. مطالعات نشان می‌دهند شمار میکروارگانیسم‌های بیماریزایی که هر روز نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی مقاوم می‌شوند، روند رو به افزایش دارد. ازآنجایی‌که سطح آگاهی مصرف‌کنندگان در کشورهای کمتر توسعه‌یافته و یا درحال‌توسعه نسبت به کشورهای توسعه‌یافته کمتر است، مقاومت دارویی در این کشورها نیز بیشتر از کشورهای توسعه‌یافته می‌باشد؛ زیرا در کشورهای درحال‌توسعه، استفاده گسترده و پیوسته از آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی، همچنین پدیده خوددرمانی (عدم مراجعه به پزشک) بیشتر است (۲،۳).

تخمین زده می‌شود ۵۰۰-۲۵۰ هزار گونه مختلف گیاهی بر کره زمین وجود دارد. باوجود تعداد زیاد گونه‌های مختلف گیاهی، درصد نسبتاً کوچکی از گیاهان به‌عنوان منبع غذایی انسانی مورداستفاده قرار می‌گیرند؛ درحالی‌که نتایج مطالعات متعدد نشان داده‌اند از گونه‌های مختلف گیاهان چه در صنایع داروسازی، پزشکی و چه در صنعت غذا (ماده نگهدارنده) می‌توان به‌عنوان یک داروی مؤثر در کنترل رشد سویه‌های بیماری‌زا، همچنین درمان بیماری‌های مختلف، ازجمله بیماری‌های عفونی استفاده کرد. اسانس‌های روغنی، ترکیبات فرّاری هستند که از قسمت‌های مختلف گیاهان به دست می‌آیند. اسانس‌های روغنی دارای ترکیبات شیمیایی متعددی بوده و هریک از ترکیبات سازنده این اسانس‌ها می‌تواند نقش‌های متعددی (فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی) را ایفا کند. وجود ترکیبات متعدد شیمیایی در اسانس‌های حاصل از گیاهان دارویی سبب شده تا بتوان از آن‌ها در صنایع مختلفی همچون پزشکی، داروسازی و غذایی استفاده کرد (۴). زنجبیل (زنجفیل) با نام علمی *Zingiber officinale*، گیاه علفی چندساله از تیره زنجبیلیان است. در ایران باستان این گیاه با نام ژنگویر شناخته شده است. مطالعات باستانی نشان می‌دهد این گیاه از ایران و کشورهای عربی به کشورهای اروپایی و غربی معرفی شده است. در طب سنتی کشورهای مختلف، از این گیاه برای درمان بیماری‌های متعددی استفاده می‌شود؛ به‌عنوان‌مثال در کشور چین جهت درمان اسهال، استفراغ، تنگی‌نفس و سرفه کاربرد دارد. به‌طورکلی این گیاه در درمان نفخ، شکم‌درد، اسهال و استفراغ، سوءهاضمه، سردرد، اختلالات عضلانی و روماتیسم، درمان سرماخوردگی و آنفلوانزا به کار می‌رود. عطر و طعم ویژه زنجبیل به دلیل ترکیباتی مانند زینجرون، زینجیبرن، جینجرول، اولئورزین، زایولن، شوقول، روغن ولاتین و سایر ترکیبات (نشاسته، موسیلاژ و پروتئین) می‌باشد (۵-۷). Sasidharan و همکاران در سال ۲۰۱۰، گزارش دادند اسانس زنجبیل اثر ضدمیکروبی قوی بر *کاندیدا آلبیکنس* دارد (۸). Singh و همکاران نیز در سال ۲۰۰۸، اثر ضدمیکروبی اسانس زنجبیل را تأیید کردند (۹). احمدی و همکاران در سال ۱۳۹۵، ارتباط مستقیمی بین اثر ضدمیکروبی و ترکیبات فنلی عصاره زنجبیل به اثبات رساندند. همچنین این پژوهشگران گزارش دادند حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره زنجبیل برای سویه‌های *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس*، ۵۰۰ میکروگرم برمیلی‌لیتر است (۱). Bayala و همکاران در سال ۲۰۱۴، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس زنجبیل را ۳۲/۱٪ گزارش کردند (۱۰). با توجه به مقاومت میکروارگانیسم‌های بیماریزا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی و از سویی، تمایل بیشتر مصرف‌کنندگان نسبت به مواد طبیعی (چه نگهدارنده غذایی و چه

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

داروهای گیاهی) به دلیل عوارض جانبی کمتر، انجام پژوهش‌های متعدد در زمینه استفاده از گیاهان دارویی برای جایگزینی با داروهای ضدمیکروبی و نگهدارنده‌های سنتزی، ضروری است.

تاکنون مطالعات اندکی در مورد شناسایی ترکیبات شیمیایی و اثر ضدمیکروبی اسانس زنجبیل در جهان انجام شده است. اکثر تحقیقات صورت‌گرفته، اثر ضدمیکروبی عصاره زنجبیل و سایر قسمت‌های مختلف گیاه همانند برگ و ...، را موردبررسی قرار داده‌اند. پژوهش حاضر با هدف شناسایی ترکیبات شیمیایی، فنل کل، پتانسیل آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدمیکروبی اسانس زنجبیل بر سویه‌های بیماریزای *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *لیستریا اینوکوا*، *اشرشیاکلی*، *سالمونلا تیفی*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *آسپرژیلوس نایجر* و *کاندیدا آلبیکنس* در شرایط برون‌تنی صورت گرفت.

روش بررسی

این مطالعه تجربی در آزمایشگاه بیوپالایش زیست‌محیطی (دانشکده علوم) و میکروب‌شناسی صنعتی (دانشکده کشاورزی)، دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۷ انجام شد. مواد شیمیایی و محیط‌های کشت میکروبی شامل: سولفات سدیم، معرف تری‌فنیل تترازولیوم کلراید، الکل ۹۶٪، معرف فولین سیوکالتو، ۲ و ۲ دی‌فنیل - ۱- پیکریل هیدرازیل، دی متیل سولفوکساید، اسیدسولفوریک، کلریدباریم، گالیک اسید، نوترینت براث، نوترینت آگار، مولر هینتون براث، مولر هینتون آگار، سابروز دکستروز براث و سابروز دکستروز آگار با برندهای مرک آلمان و سیگما آلدریچ آمریکا خریداری شدند.

گیاه زنجبیل (ریزوم یا زمین ساقه) از منطقه جاغرق مشهد خریداری شد. نام علمی زنجبیل (*Zingiber officinale*) خریداری‌شده با استفاده از کتب مرجع علمی و توسط پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد مورد شناسایی و تأیید قرار گرفت (۱۱).

بعد از تأیید نام علمی زنجبیل (*Zingiber officinale*)، ابتدا گیاه خریداری‌شده به آزمایشگاه میکروب‌شناسی صنعتی، گروه علوم و صنایع غذایی مشهد منتقل گردید، سپس به‌وسیله آسیاب آزمایشگاهی، خرد و آسیاب شد. گیاه پودرشده با ترازوی دیجیتال (دقت ۰/۰۰۱) توزین گردید. براساس روش Sasidharan و همکاران (سال ۲۰۱۰)، میزان ۵۰ گرم از گیاه آسیاب‌شده که از الک آزمایشگاهی عبور داده شده بود با ۷۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۵ ساعت به روش تقطیر با آب، در دستگاه کلونجر اسانس‌گیری شد، سپس اسانس به‌دست‌آمده با سولفات سدیم بی‌آب، رطوبت‌زدایی شد. اسانس زنجبیل در یک ظرف شیشه‌ای تیره‌رنگ و درب بسته که اطراف آن با پارافیلم مسدود شده بود تا زمان انجام آنالیزهای شیمیایی و ارزیابی‌های میکروبیولوژیکی، در یخچال با دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد. بازده اسانس زنجبیل براساس وزن خشک گیاه محاسبه گردید (۸).

از ۸ سویه میکروبی استاندارد که در آزمایشگاه میکروب‌شناسی صنعتی به‌صورت لیوفیلیزه موجود بود، جهت آزمون‌های ضدمیکروبی اسانس زنجبیل استفاده شد. در جدول شماره ۱، اسامی سویه‌های میکروبی بیماریزا نشان داده شده است.

جدول شماره ۱: سویه‌های میکروبی بیماریزا موردبررسی

ردیف	سویه میکروبی	شناسه میکروبی (ATCC)	آزمون گرم
۱	*استافیلوکوکوس اورئوس*	۲۵۹۲۳	+
۲	*باسیلوس سرئوس*	۱۰۸۷۶	+
۳	*لیستریا اینوکوا*	۳۳۰۹۰	+
٤	*اشرشیاکلی*	۲۵۹۲۲	-
۵	*سالمونلا تیفی*	۱۹۴۳۰	-
٦	*سودوموناس آئروژینوزا*	۲۷۸۵۳	-
۷	*آسپرژیلوس نایجر*	۱۱۴۱۴	انجام نشد
۸	*کاندیدا آلبیکنس*	۱۰۲۶۱	انجام نشد

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

در این پژوهش از ۳ سویه گرم مثبت، ۳ سویه گرم منفی و ۲ سویه قارچی استفاده شد. جهت فعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها، سویه‌های باکتریایی به محیط کشت نوترینت براث و سویه‌های قارچی به محیط کشت سابروز دکستروز براث منتقل شدند. پس از عمل گرمخانه‌گذاری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد برای سویه‌های باکتریایی و ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد برای سویه‌های قارچی و ایجاد کدورت در محیط کشت مایع، عمل انتقال از محیط کشت مایع به محیط‌های کشت مولر هینتون آگار (سویه‌های باکتریایی) و سابروز دکستروز آگار (سویه‌های قارچی) انجام شد. پس از انکوبه‌گذاری مجدد، از پرگنه‌های خالص و تک ایجادشده بر سطح محیط کشت، برای ایجاد سوسپانسیون میکروبی استاندارد اقدام گردید. مطابق با روش استاندارد مک‌فارلند، محلول استاندارد تهیه شد، سپس کلنی خالص از سویه‌های میکروبی با سرم فیزیولوژی رقیق گردید (۱۲). به‌منظور شناسایی هریک از ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس زنجبیل، از دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنجی جرمی استفاده شد. ۰/۱ میکرولیتر اسانس زنجبیل به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق و با استفاده از زمان بازداری ترکیبات، اندیس بازداری کواتس، طیف جرمی، همچنین مقایسه مؤلف‌های ذکرشده با ترکیب‌های استاندارد و (National Institute of Standards and Technology) NIST هریک از اجزای تشکیل‌دهنده اسانس زنجبیل شناسایی شدند. مقدار کمّی هریک از ترکیبات اسانس زنجبیل با محاسبه سطوح زیر منحنی در کروماتوگرام به دست آمد. از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنجی جرمی (مدل Finnigant Trace Ms- Thermo-USA) موجود در آزمایشگاه بیوپالایش زیست‌محیطی، دانشگاه فردوسی مشهد جهت شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس زنجبیل استفاده گردید. برنامه‌ریزی دمایی مطابق با روش امیری و همکاران (سال ۱۳۹۵) انجام گرفت. دمای آون در ابتدا از ۶۰ درجه سانتیگراد با سرعت ۵ درجه سانتیگراد بر دقیقه تا ۲۵۰ درجه سانتیگراد افزایش یافت. از گاز هلیوم با سرعت ۱/۱ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون‌ولت بود (۱۳).

برای تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی از روش Wei و همکاران (سال ۲۰۰۷)، از طریق اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی ۲ و ۲ دی فنیل - ۱- پیکریل هیدرازیل استفاده شد (۱۴). برای تعیین فنل کل اسانس زنجبیل، روش رنگ‌سنجی سیور - دالی با معرف فولین سیوکالتو به کار برده شد. در این روش از گالیک اسید به‌عنوان استاندارد استفاده گردید (۱،۱۵).

در این مطالعه با استفاده از روش انتشار در آگار و به کمک دیسک، قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری شد، همچنین از روش رقیق‌سازی سریالی برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و درنهایت، حداقل غلظت کشندگی اسانس زنجبیل برای سویه‌های بیماریزا استفاده شد.

ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی به روش انتشار در آگار به کمک دیسک مطابق با روش محمدی ثانی و همکاران (سال ۱۳۹۶) انجام گرفت (۱۶). در این روش، اسانس زنجبیل به کمک فیلتر سرسرنگی با قطر منفذ ۰/۲۲ میکرونی استریل شد، سپس جهت تأیید استریل‌شدن اسانس زنجبیل، از اسانس استریل‌شده بر سطح محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شد (هیچ کلنی بر سطح محیط کشت مشاهده نشد). در ادامه، غلظت‌های مختلفی از اسانس زنجبیل (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر) تهیه گردید. دیسک‌های بلانک خریداری‌شده از شرکت پادتن طب (با قطر ۶ میلی‌متر) در ظروف حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زنجبیل خیسانده شدند. همچنین جهت کشت سویه‌های بیماریزا از محیط‌های کشت مولر هینتون آگار و سابروز دکستروز آگار به‌ترتیب از سویه‌های باکتریایی و قارچی استفاده شد. دیسک‌های حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زنجبیل با دقت و تحت شرایط استریل به کمک پنس استریل برای هریک از سویه‌های میکروبی قرار گرفتند. پلیت‌های حاوی دیسک برای مرحله پیش‌انتشار، به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد در یخچال نگهداری شدند. درنهایت، سویه‌های باکتریایی در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت و سویه‌های قارچی در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت انکوبه‌گذاری شدند. قطر هاله عدم رشد میکروبی با خط‌کش به‌طور دقیق اندازه‌گیری و میانگین آن‌ها ثبت گردید (۳،۱۶).

www.SID.ir

International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

از روش رقیق‌سازی سریالی جهت تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد اسانس زنجبیل استفاده شد. این روش مطابق با روش Yeganegi و همکاران (سال ۲۰۱۸)، با اندکی تغییر انجام گرفت (۱۷). ابتدا از اسانس زنجبیل یک محلول مادر با غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر تهیه شد، سپس ۴ گرم اسانس با ۹/۵ میلی‌لیتر محیط کشت‌های مولر هینتون براث (برای باکتری‌ها) و سابورو دکستروز براث (برای قارچ‌ها) و ۰/۵ میلی‌لیتر دی متیل سولفوکساید مخلوط و با استفاده از فیلتر میکروبی با قطر منافذ ۰/۴۵ میکرون استریل گردید. در مرحله بعد، ۵ میلی‌لیتر از محلول صاف‌شده را برداشته و با ۵ میلی‌لیتر محیط کشت، درون یک شیشه استریل مخلوط گردید و بدین ترتیب ادامه داده تا غلظت‌ها نصف شدند و غلظت‌های متوالی ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۳/۱۲۵، ۱/۵۶۲ و ۰/۷۸۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر به دست آمد. تمام نمونه‌ها قبل از رقت‌سازی با ورتکس همگن شدند. برای بررسی حداقل غلظت مهارکنندگی با استفاده از رقیق‌سازی سریالی، از پلیت ۹۶ خانه‌ای استریل استفاده شد. به هر خانه ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های تهیه‌شده و درنهایت، ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی (معادل ۰/۵ مک‌فارلند) اضافه گردید. از خانه‌های حاوی محیط کشت و سوسپانسیون میکروبی فاقد اسانس نیز به‌عنوان کنترل مثبت و خانه‌های حاوی اسانس و محیط کشت به‌عنوان کنترل منفی استفاده شد. پس از عمل انکوبه‌گذاری از محلول ۵٪ وزنی/وزنی تری فنیل تترازولیوم کلراید به‌عنوان معرف (درصورت رشد سویه‌های میکروبی تغییر رنگ ارغوانی یا قرمز تیره ایجاد می‌گردد) استفاده شد. اولین خانه‌ای که در آن تغییر رنگ مشاهده نشد به‌عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس زنجبیل گزارش گردید (۱۷).

برای تعیین حداقل غلظت کشندگی اسانس زنجبیل، از خانه‌هایی که تغییر رنگی در آن‌ها مشاهده نشد بر سطح محیط کشت مولر هینتون آگار و سابروز دکستروز آگار به ترتیب برای سویه‌های باکتریایی و قارچی، کشت انجام شد. پس از طی مدت‌زمان انکوبه‌گذاری مطابق با روش دیسک دیفیوژن آگار، اولین پلیتی که در آن هیچ کلنی باکتری یا قارچ مشاهده نشد به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی گزارش گردید (۱۷).

تمامی آزمون‌های شیمیایی و ضدمیکروبی اسانس زنجبیل، سه مرتبه تکرار شدند. از میانگین‌های به‌دست‌آمده برای آنالیزهای آماری استفاده گردید. داده‌ها به کمک نسخه ۱۸، آزمون واریانس و توکی در سطح معنی‌داری، ۵٪ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

راندمان استخراج‌شده برای اسانس زنجبیل (براساس وزن خشک) پس از ۵ ساعت عمل اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب و دستگاه کلونجر، ۱/۲۵٪ به دست آمد. ترکیبات شناسایی‌شده در اسانس زنجبیل به همراه زمان بازداری (دقیقه) و درصد ترکیبات در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. براساس جدول شماره ۲، در اسانس روغنی گیاه زنجبیل درمجموع ۱۷ ترکیب شناسایی شد که ۱۰۰٪ کل اسانس استخراجی را تشکیل می‌داد. ترکیبات اصلی اسانس زنجبیل به ترتیب شامل: Zingiberene (۲۹٪/۴۸)، α-curcumene (۱۶٪/۳۳)، β-sesquiphellandrene (۱۵٪/۹۴)، β-bisabolene (۹٪/۴۷)، Muurolene (۸٪/۵) و Camphene (۷٪/۲۴) بود. در میان ترکیبات شناسایی‌شده در اسانس زنجبیل، مشخص گردید Zingiberene با ۲۹/۴۸٪ ترکیب اصلی بوده است.

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

جدول شماره ۲: ترکیبات شناسایی‌شده اسانس زنجبیل

ردیف	ترکیب شناسایی‌شده	درصد	زمان بازداری (دقیقه)
۱	1R-α-pinene	۲/۴۳	۹/۶۸
۲	Camphene	۷/۲۴	۱۰/۳۴
۳	Sulcatone	۰/۹۱	۱۱/۳۵
٤	β- pinene	۰/۷۳	۱۱/۵۷
۵	α-phellandrene	۰/۲۵	۱۲/۳۸
٦	D-limonene	۰/۹۱	۱۳/۳۵
۷	β-phellandrene	۱/۸۸	۱۳/۴۷
۸	p-cineole	۱/۳۳	۱۳/۵۳
۹	Camphol	۱/۵۱	۱۹/۷۷
۱۰	α-terpineol	۰/۷۹	۲۰/۷۴
۱۱	β-elemene	۱/۲۸	۲۹/۳۹
۱۲	α-curcumene	۱۶/۳۳	۳۳/۳۰
۱۳	Zingiberene	۲۹/۴۸	۳۳/۹۷
١٤	Muurolene	۸/۵	۳۴/۱۷
۱۵	β-bisabolene	۹/۴۷	۳۴/۴۰
١٦	β-sesquiphellandrene	۱۵/۹۴	۳۵/۰۹
۱۷	Cedrenol	۱/۰۲	۴۱/۵۶
مجموع		**۱۰۰**	

نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس زنجبیل به روش کاهش ظرفیت رادیکالی ۲ و ۲ دی فنیل - ۱- پیکریل هیدرازیل و برحسب IC_{50} (بیانگر غلظت مؤثری از اسانس بوده که ظرفیت مهار۵۰٪ ترکیب ۲ و ۲ دی فنیل - ۱- پیکریل هیدرازیل را دارد) برابر با ۰/۹۳± ۹۳/۴۵ میکروگرم برمیلی‌لیتر بود. فنل کل اسانس زنجبیل برحسب میلی‌گرم گالیک اسید برابر با ۰/۷۲±۷۶/۶۵ به‌دست آمد.

نتایج بررسی فعالیت ضدمیکروبی اسانس زنجبیل به روش انتشار در آگار به کمک دیسک بر سویه‌های بیماریزا در جدول شماره سه نشان داده شده است. با افزایش غلظت اسانس زنجبیل، قطر هاله بازدارندگی مشاهده‌شده در اطراف هریک از سویه‌های میکروبی افزایش یافت که بیشترین و کمترین قطر هاله عدم رشد در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر به ترتیب مربوط به سویه‌های *کاندیدا آلبیکنس* و *سالمونلا تیفی* بود.

جدول شماره ۳: میانگین قطر هاله بازدارندگی (میلی‌متر) اسانس زنجبیل بر سویه‌های بیماریزا (انتشار در آگار به کمک دیسک)

سویه‌های میکروبی/ غلظت اسانس زنجبیل	۲۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر	۵۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر	۷۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر	۱۰۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر
سودوموناس آئروژینوزا	-	۷/۸۰±۰/۸۲^{a}	۸/۳۰±۰/۶۶^{a}	۹/۹۰±۰/۵۱^{b}
سالمونلا تیفی	-	۷/۰۰±۰/۵۰^{a}	۸/۰۰±۰/۷۶^{a}	۹/۶۰±۰/۳۳^{b}
اشرشیاکلی	۷/۲۰±۰/۴۸^{a}	۸/۳۰±۰/۳۹^{a}	۹/۰۰±۰/۴۵^{a}	۱۰/۸۰±۰/۵۰^{b}
استافیلوکوکوس اورئوس	۸/۰۰±۰/۳۳^{a}	۹/۸۰±۰/۶۵^{b}	۱۱/۶۰±۰/۶۰^{c}	۱۳/۷۰±۰/۴۸^{d}
باسیلوس سرئوس	۷/۳۰±۰/۵۲^{a}	۹/۴۰±۰/۳۹^{b}	۱۰/۷۰±۰/۵۰^{b}	۱۲/۲۰±۰/۶۹^{c}
لیستریا اینوکوا	۷/۶۰±۰/۴۶^{a}	۸/۸۰±۰/۳۷^{a}	۱۰/۰۰±۰/۵۰^{a}	۱۲/۱۰±۰/۴۵^{b}
کاندیدا آلبیکنس	۸/۱۰±۰/۴۴^{a}	۹/۷۰±۰/۳۵^{b}	۱۲/۰۰±۰/۵۰^{c}	۱۴/۲۰±۰/۵۰^{d}
آسپرژیلوس نایجر	۷/۹۰±۰/۵۰^{a}	۹/۵۰±۰/۵۲^{b}	۱۱/۳۰±۰/۶۷^{c}	۱۳/۰۰±۰/۵۰^{d}

• نتایج حاصل از میانگین سه تکرار (آزمون آماری توکی) در سطح معنی‌داری، $p\leq$۰/۰۵ است و داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار آورده شده‌اند.
(-) هاله عدم رشد مشاهده نمی‌شود.

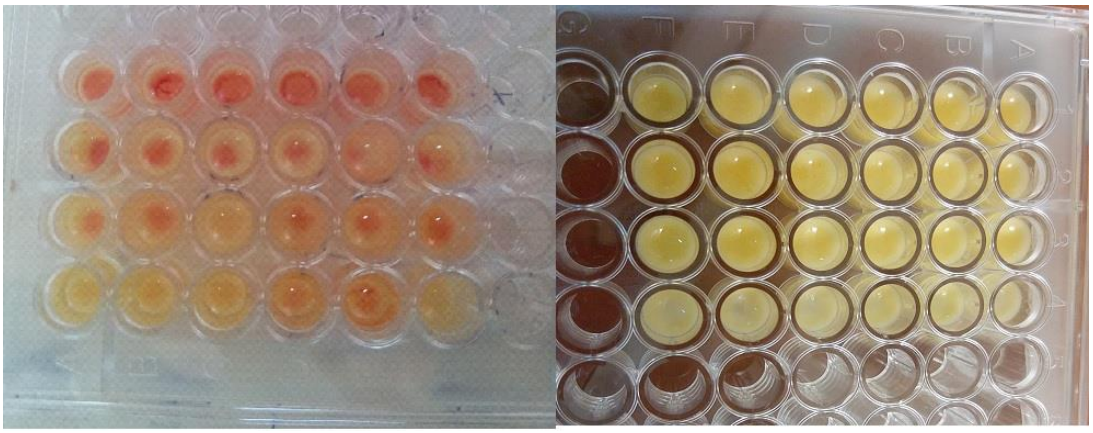
www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس زنجبیل بر سویه‌های بیماریزا در جدول شماره ۴ آمده است. در شکل نیز نمایی از روش تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی به روش میکرودایلوشن براث قبل و بعد از افزودن معرف تری فنیل تترازویلیوم کلراید نشان داده شده است که بیشترین مقاومت در برابر اسانس زنجبیل مربوط به باکتری‌های گرم منفی *سودوموناس آئروژینوزا* و *سالمونلا تیفی* می‌باشد.

جدول شماره ٤: نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس زنجبیل بر سویه‌های بیماریزا برحسب میلی‌گرم برمیلی‌لیتر

سویه‌های میکروبی	حداقل غلظت مهارکنندگی	حداقل غلظت کشندگی
سودوموناس آئروژینوزا	۵۰	بزرگتر از ۴۰۰
سالمونلا تیفی	۵۰	بزرگتر از ۴۰۰
اشرشیاکلی	۲۵	۲۰۰
استافیلوکوکوس اورئوس	۶/۲۵	۲۵
باسیلوس سرئوس	۱۲/۵	۵۰
لیستریا اینوکوا	۱۲/۵	۵۰
کاندیدا آلبیکنس	۶/۲۵	۲۵
آسپرژیلوس نایجر	۶/۲۵	۲۵



(ب) **(الف)**

شکل: نمایی از حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس زنجبیل بر سویه‌های بیماریزا، قبل از افزودن معرف (الف) و بعد از افزودن معرف (ب).

بحث

در سال‌های اخیر به دلیل استفاده نادرست از مواد شیمیایی و سنتزی، تعداد سویه‌های بیماریزای مقاوم افزایش یافته است. از سویی دیگر، با توجه به عوارض ناشی از مواد شیمیایی و سنتزی در انسان‌ها، پژوهشگران و دانشمندان به استفاده از گیاهان دارویی جهت کنترل رشد میکروارگانیسم‌های بیماریزا علاقه‌مند شده‌اند (۱). با توجه به مصرف سنتی گیاه زنجبیل در ایران (به‌عنوان چاشنی در مواد غذایی) و استفاده در طب سنتی برای درمان بیماری‌ها مختلف مانند سرماخوردگی، آنفلوانزا و ...، به‌نظر می‌رسد بتوان از پتانسیل آن بهره برد.

در پژوهش حاضر مقایسه نتایج ترکیبات شیمیایی اسانس زنجبیل با مطالعات پیشین در نقاط مختلف دنیا نشان داد هرچند اجزای اصلی اسانس زنجبیل تا حدودی مشابه با سایر مطالعات است، اما بااین‌وجود دارای یک‌سری تفاوت‌هایی (به‌ویژه درصد ترکیبات) نیز می‌باشد. امیری و همکاران (سال ۱۳۹۵)، ترکیبات شیمیایی دو گونه زنجبیل چینی و هندی را موردمطالعه قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد ترکیب Zingiberene با ۲۸/۲۵ و ۳۵/۶۷٪ به ترتیب در گونه چینی و هندی زنجبیل، ترکیب اصلی است (۱۳).

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

Wang و همکاران در سال ۲۰۱۲ در بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس زنجبیل با کروماتوگرافی گازی، ۷ ترکیب را در اسانس زنجبیل شناسایی کردند که Zingiberene با ۵۲/۳۵٪، بیشترین ترکیب بود (۱۸). Sasidharan و همکاران نیز در سال ۲۰۱۰، با بررسی ترکیبات شیمیایی گیاه خشک‌شده و تازه زنجبیل نشان دادند Zingiberene با ۲۸/۶٪ در گیاه تازه زنجبیل و ۳۰/۳٪ در گیاه خشک‌شده، ترکیب اصلی می‌باشد. نتایج این مطالعات تا حدود زیادی با نتایج پژوهش حاضر همخوانی داشت؛ به‌نحوی‌که در پژوهش حاضر نیز Zingiberene با ۲۹/۴۸٪ ترکیب اصلی زنجبیل بود (۸). Zhan و همکاران (سال ۲۰۰۸)، Zingiberene را با ۲۲/۲۹٪ به‌عنوان ترکیب اصلی زنجبیل گزارش کردند (۱۹). Singh و همکاران (سال ۲۰۰۸) نیز Geranial را با ۲۵/۹٪ به‌عنوان ترکیب اصلی اسانس زنجبیل معرفی کردند (۹). مقایسه نتایج به‌دست‌آمده از مطالعات مختلف (بجز مطالعه Singh و همکاران در سال ۲۰۰۸) (۹)، با پژوهش حاضر نشان داد در تمامی این مطالعات، Zingiberene ترکیب اصلی اسانس زنجبیل بوده است. تفاوت در میزان ترکیب اصلی زنجبیل را می‌توان به دلایلی همچون تفاوت‌های اکولوژیکی نسبت داد. ترکیبات موجود در اسانس گیاهان ناشی از تفاوت‌های اکولوژیکی (مانند طول و عرض جغرافیایی، ارتفاع، دما، رطوبت، اقلیم و خاک، مسیرهای متابولیکی و بیوسنتز مواد مؤثره در این گیاهان) است که درنتیجه متابولیک‌های ثانویه متنوعی تحت شرایط محیطی متفاوت، بیوسنتز می‌شود. پژوهش‌های مختلفی این مطلب را تأیید کرده‌اند (۲۰،۲۱). در مطالعه حاضر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس زنجبیل برحسب IC_{50} برابر با ۹۳/۴۵±۰/۹۳ میکروگرم برمیلی‌لیتر به دست آمد. امیری و همکاران (سال ۱۳۹۵)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس زنجبیل را برحسب IC_{50} برابر با ۸۰/۷ میکروگرم برمیلی‌لیتر گزارش دادند. همچنین این پژوهشگران بیان کردند میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس زنجبیل در برابر بوتیل هیدروکسی تولوئن قابل‌توجه است (۱۳). نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی پژوهش حاضر با نتایج مطالعه امیری و همکاران (سال ۱۳۹۵) همسو بود. Bayala و همکاران در سال ۲۰۱۴، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس زنجبیل را با استفاده از روش کاهش ظرفیت رادیکالی ۲ و ۲ دی فنیل – ۱– پیکریل هیدرازیل و براساس درصد بازدارندگی اندازه‌گیری کردند. این پژوهشگران فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس زنجبیل در برابر رادیکال‌های آزاد را ۳۲/۱٪ به دست آوردند (۱۰).Prakash و همکاران (سال ۲۰۱۰) با بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف زنجبیل به روش کاهش ظرفیت رادیکالی ۲ و ۲ دی فنیل – ۱– پیکریل هیدرازیل، نشان دادند عصاره متانولی ۸۰٪ و عصاره استونی زنجبیل به ترتیب دارای بیشترین و کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند (۲۲). Singh و همکاران (سال ۲۰۰۸) ، پتانسیل آنتی‌اکسیدانی اسانس زنجبیل را با روش‌های مختلف اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مقایسه با بوتیل هیدروکسی آنیزول موردبررسی قرار دادند که در نتیجه مشاهده کردند اسانس زنجبیل از فعالیت آنتی‌اکسیدانی مناسبی برخوردار است (۹). Stoilova و همکاران در سال ۲۰۰۷، فعالیت آنتی‌اکسیدانی زنجبیل را براساس روش‌های ۲ و ۲ دی فنیل – ۱– پیکریل هیدرازیل و TBARS، به ترتیب ۹۰/۱ و ۷۳/۲٪ گزارش کردند (۲۳). Jagetia و همکاران (سال ۲۰۰۳) (۲۴)، Haksar و همکاران (سال ۲۰۰۶) (۲۵) و Kim و همکاران (سال ۲۰۰۷) (۲۶)، نشان دادند زنجبیل در شرایط in vitro و in vivo دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قویی است.

در پژوهش حاضر، فنل کل اسانس زنجبیل برابر با ۷۶/۶۵±۰/۷۲ میلی‌گرم گالیک اسید بود. اگرچه تمامی موجودات دارای دستگاه‌هایی جهت حفاظت از آسیب‌های اکسیداتیو هستند، اما جهت جلوگیری از همه آسیب‌های احتمالی، این سیستم‌های محافظت‌کننده، کافی به‌نظر نمی‌رسند؛ به همین دلیل پژوهشگران استفاده از ترکیبات فلاونوئیدی و پلی‌فنل‌ها را (به دلیل اثر آنتی‌اکسیدانی) در رژیم غذایی پیشنهاد داده‌اند. ازآنجایی‌که زنجبیل جزء ضروری در بسیاری از ترکیبات غذایی همانند پودر کاری، سس، نان، شکلات و نوشیدنی‌های گازدار است و با توجه به نتایج این پژوهش (فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فنل کل) به‌نظر می‌رسد بتوان از این گیاه در صنایع غذایی، صنایع داروسازی و پزشکی بهره‌مند شد (۲۳،۲۷). احمدی و همکاران (سال ۱۳۹۵) با بررسی تأثیر ترکیبات فنلی تعدادی از گیاهان دارویی، ازجمله زنجبیل، میزان فنل کل این گیاه را ۸۰/۱ میلی‌گرم گالیک بر گرم وزن نمونه گزارش کردند (۱). همچنین Stoilova و همکاران (سال ۲۰۰۷) در مطالعه خود، میزان فنل عصاره زنجبیل را

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

۸۷۰/۱ میلی‌گرم برگرم وزن خشک به دست آوردند (۲۳). در مطالعات متعددی دلیل تفاوت در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی گیاهان، عواملی همچون شرایط اقلیمی، خاک، زمان جمع‌آوری گیاه، روش خشک کردن، استحصال و نیز تفاوت در روش‌های اندازه‌گیری ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ذکر شده است (۲۱،۲۰).

در مطالعه حاضر، نتایج اثر ضدمیکروبی اسانس زنجبیل به روش دیسک دیفیوژن نشان داد با افزایش غلظت اسانس زنجبیل (از ۲۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر به ۱۰۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر)، قطر هاله عدم رشد را برای سویه‌های بیماریزا (باکتریایی و قارچی) افزایش می‌دهد. براساس نتایج آزمون آماری نیز در تعدادی از سویه‌ها، افزایش غلظت با توجه به افزایش قطر هاله بازدارندگی در سطح ۵٪ معنی‌دار نبود (جدول شماره ۳). مقایسه دوتایی میان غلظت‌های مختلف اسانس زنجبیل برای سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* و *باسیلوس سرئوس* در غلظت‌های ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر و برای سویه‌های *سالمونلا تیفی*، *اشرشیاکلی* و *لیستریا اینوکوا* در غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (در سایر غلظت‌ها اختلاف معنی‌دار بود.) بیشترین هاله عدم رشد مربوط به سویه *کاندیدا آلبیکنس* در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر با قطر ۱۴/۲۰ میلی‌متر بود. در پژوهش حاضر در میان سویه‌های باکتریایی موردبررسی، باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر با قطری معادل با ۱۳/۷۰ میلی‌متر، بالاترین هاله بازدارندگی را داشت. مقاوم‌ترین سویه نیز در برابر اسانس زنجبیل مربوط به باکتری گرم منفی *سالمونلا تیفی* بود. برای سویه *سالمونلا تیفی* در غلظت ۲۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر، هاله عدم رشد مشخص نشد و در بالاترین غلظت (۱۰۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر)، قطر هاله عدم رشد ۹/۶۰ میلی‌متر بود. از نظر تئوری، قطر هاله عدم رشد (هاله بازدارندگی) عکس‌العملی از غلظت ماده مؤثر موجود در اسانس زنجبیل است. به‌طورکلی، نتایج پژوهش حاضر نشان داد سویه‌های گرم منفی (*سودوموناس آئروژینوزا*، *سالمونلا تیفی* و *اشرشیاکلی*) در مقایسه با سویه‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *لیستریا اینوکوا*) دارای هاله عدم رشد کمتری هستند (جدول شماره ۳).

Burt در سال ۲۰۰۴، وجود یک غشای خارجی هیدروفیل متشکل از لیپوپروتئین‌ها و لیپوپلی‌ساکاریدها را با خاصیت نفوذپذیری انتخابی در باکتری‌های گرم منفی، از عوامل مهم مقاومت نسبت به ترکیبات ضدمیکروبی موجود در عصاره و اسانس‌های گیاهی ذکر کرد (۲۸). سازوکارهای متعددی که در آن ترکیبات فنلی موجود در عصاره و اسانس‌های گیاهی باعث از بین رفتن میکروارگانیسم‌های بیماریزا می‌شوند شامل: تداخل در عملکرد و پروتئین‌های غشای سیتوپلاسم، محدود کردن دسترسی آزاد به یون‌های فلزی موردنیاز میکروارگانیسم‌های بیماریزا و جذب سطحی و از بین بردن غشای سلول است (۱،۲۹).

نتایج فعالیت ضدمیکروبی اسانس زنجبیل به روش‌های حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی، نشان داد سویه‌های گرم منفی *سالمونلا تیفی* و *سودوموناس آئروژینوزا*، بالاترین مقاومت و سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *کاندیدا آلبیکنس* و *آسپرژیلوس نایجر*، کمترین مقاومت را در برابر اسانس از خود نشان داده‌اند (جدول شماره ۴).

Sasidharan و همکاران در سال ۲۰۱۰، با بررسی فعالیت ضدمیکروبی اسانس زنجبیل بر *باسیلوس سوبتلیس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *کاندیدا آلبیکنس*، *آسپرژیلوس نایجر*، *ساکارومایسس سروزیه* و گونه‌های پنیسیلیوم به روش‌های دیسک دیفیوژن و حداقل غلظت مهارکنندگی در شرایط آزمایشگاهی، نشان دادند بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به *کاندیدا آلبیکنس* بوده است (۸). نتایج این مطالعه با یافته‌های پژوهش حاضر همخوانی داشت. Singh و همکاران نیز در سال ۲۰۰۸، با بررسی اثر ضدمیکروبی اسانس زنجبیل بر تعدادی از باکتری‌ها و قارچ‌های بیماریزای غذازاد، نشان دادند اسانس زنجبیل دارای اثر ضدمیکروبی است (۹). سیاسی و همکاران (سال ۱۳۹۶) در بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره زنجبیل بر باکتری‌های شایع عفونت‌های ادراری جداشده از بیماران، مشخص کردند مقدار حداقل غلظت مهارکنندگی مربوط به عصاره متانولی زنجبیل برای باکتری *اشرشیاکلی* بوده است (۳۰). همچنین احمدی و همکاران در سال ۱۳۹۵، گزارش دادند حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره زنجبیل برای سویه‌های *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس*، ۵۰۰ میکروگرم برمیلی‌لیتر می‌باشد (۱).

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

اسدی و همکاران در سال ۳۹۴)، اثر ضد میکروبی زنجبیل بر برخی از باکتری‌های بیماریزای آبزیان را به روش‌های انتشار در آگار به کمک دیسک، حداقل غلظت مهاری و حداقل غلظت باکتری‌کشی بررسی کردند. نتایج نشان داد زنجبیل بر تمامی باکتری‌ها اثر مهارکنندگی و کشندگی دارد (۳۱). مؤمنی و همکاران در سال ۱۳۸۸، با بررسی فعالیت ضدمیکروبی زنجبیل و پیاز بر تعدادی از باکتری‌های بیماریزا و مخمر *کاندیدا آلبیکنس* به روش دیسک دیفیوژن، نشان دادند گیاه زنجبیل در مقایسه با پیاز اثر ضدمیکروبی بیشتری بر سویه‌های موردمطالعه داشته است (۳۲). دهقان و همکاران در سال ۱۳۸۱، با مطالعه اثر ضدمیکروبی زنجبیل و تعدادی از گیاهان دارویی بر هلیکوباکترپیلوری در شرایط برونتنی، عنوان کردند زنجبیل کاملاً بر هلیکوباکترپیلوری مؤثر است (۳۳). بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس زنجبیل نشان داده است سیکویی‌ترین‌های هیدروکربنی، بیشترین درصد ترکیب اسانس زنجبیل را تشکیل می‌دهد. در اکثر مطالعات صورت‌گرفته نیز عامل اصلی اثر ضدمیکروبی و بوی تند زنجبیل، ترکیب Zingiberene ذکر شده است. معمولاً خواص ضدمیکروبی گیاهان را مربوط به یک نوع متابولیت ثانویه نمی‌دانند؛ بلکه به همکاری ترکیبات موجود در گیاه نسبت داده‌اند. ترکیبات فیتوشیمیایی با اثر ضدمیکروبی به چند گروه تقسیم می‌شوند که شامل ترکیبات فنلی و پلی‌فنل‌ها هستند (۲۸). براساس نتایج آنالیزهای شیمیایی اسانس زنجبیل، مشخص گردید ترکیباتی مانند α-curcumene، Camphene، D-limonene و Camphol که از اجزای تشکیل‌دهنده اسانس زنجبیل می‌باشند همگی دارای ماهیت فنولیک یا گروه هیدروکسیل آزاد بوده و به‌عنوان فعال‌ترین ترکیب‌های ضدمیکروبی شناخته شده‌اند (۳۴).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد اسانس زنجبیل دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی است و میزان فنل کل اسانس زنجبیل، ۷۶/۶۵ میلی‌گرم گالیک اسید می‌باشد که در این مطالعه نیز بیشترین فعالیت ضدمیکروبی اسانس زنجبیل (روش‌های متنوع کیفی و کمّی) بر سویه‌های *کاندیدا آلبیکنس*، *آسپرژیلوس نایجر* و *استافیلوکوکوس اورئوس* مشاهده گردید و بیشترین مقاومت در برابر اسانس زنجبیل مربوط به باکتری گرم منفی *سالمونلا تیفی* بود. طبق آزمون شناسایی ترکیبات شیمیایی به‌وسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی، ترکیب Zingiberene با ۲۹/۴۸٪، بیشترین جزء اسانس زنجبیل معرفی شد که به‌نظر می‌رسد بخش عمده‌ای از فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی اسانس زنجبیل نیز مربوط به همین ترکیب بوده است. ازآنجایی‌که در پژوهش حاضر، اسانس زنجبیل بر ۸ سویه بیماریزا موردبررسی دارای اثر مهارکنندگی و کشندگی بود؛ بنابراین می‌توان این اسانس را به‌عنوان یک اسانس مؤثر در کنترل رشد میکروارگانیسم‌های بیماریزا معرفی کرد، هرچند مطالعات بالینی تکمیلی موردنیاز است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان مقاله برخود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به دلیل مساعدت‌های مالی جهت اجرای این طرح پژوهشی (با کد ۲/۴۵۳۶۹) صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

References:

1. Ahmadi E, Abdollahi A, Najafipour S, Meshkibaf MH, Fasihi Ramandi M, Namdar N, et al. Surveying the effect of the phenol compounds on antibacterial activity of herbal extracts: In vitro assessment of herbal extracts in Fasa-Fars province. J Fasa Univ Med Sci 2016;6(2):210-20. [Full Text in Persian] Link

2. Heidari-Sureshjani M, Tabatabaei-Yazdi F, Alizadeh-Behbahani B, Mortazavi A. Antimicrobial effect of aqueous, ethanol, methanol and glycerin extracts of Satureja bachtiarica on Streptococcus pyogenes, Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus epidermidis. Zahedan J Res Med Sci 2015;17(7):1-5. Link

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

3. Tabatabaei Yazdi F, Alizade Behbahani B, Heidari Sureshjani M. The comparison of antimicrobial effects of chevil (ferulago angulata) extract with a variety of common therapeutic antibiotics in vitro. J Arak Univ Med Sci 2014;17(3):35-46. [Full Text in Persian] Link

4. Sadeghi E, Dargahi A, Mohammadi A, Asadi F, Sahraee S. Antimicrobial effect of essential oils: a systematic review. J Food Hyg 2015;5(2):1-26. [Full Text in Persian] Link

5. Aghayan S, Zaker S, SHahlaei M. Evaluation the effect of concentration of ginger extract on the growth rate of ActinomycesNaslundicolony (in vitro study). J Res Dental Sci 2017;14(1):27-33. [Full Text in Persian]. Link

6. Chen JC, Huang LJ, Wu SL, Kuo SC, Ho TY, Hsiang CY. Ginger and its bioactive component inhibit enterotoxigenic Escherichia coli heat-labile enterotoxin-induced diarrhea in mice. J Agric Food Chem 2007;55(21):8390-7. PubMed

7. Momeni l, Zamanzad B. 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 2010;11(4):81-7. [Full Text in Persian] Link

8. Sasidharan I, Menon AN. Comparative chemical composition and antimicrobial activity fresh & dry ginger oils (Zingiber officinale Roscoe). Int J Curr Pharm Res 2010;2(4):40-3. Link

9. Singh G, Kapoor I, Singh P, de Heluani CS, de Lampasona MP, Catalan CA. Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of Zingiber officinale. Food Chem Toxicol 2008;46(10):3295-302. PubMed

10. Bayala B, Bassole IHN, Gnoula C, Nebie R, Yonli A, Morel L, et al. Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and anti-proliferative activities of essential oils of plants from Burkina Faso. PloS one 2014;9(3):1-11. PubMed

11. Tabatabaei Yazdi F, Alizadeh Behbahani B, Mortazavi A. Investigating the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of the lavandula stoechas L. and Rosmarinus officinalis L. extracts on pathogen bacterias "in vitro". J Paramed Sci 2014;5(2):91-101. Link

12. Alizadeh Behbahani BA, Tabatabaei Yazdi F, Shahidi F, Riazi F. Antifungal effect of the aqueous and ethanolic avicennia marina extracts on alternaria citri and penicillium digitatum. Zahedan J Res in Med Sci 2016;18(2):1-6. Link

13. Amiri H, Mohammadi M, Sadatmand S, Taheri E. Study the chemical composition of essential oil of ginger (zingiber officinale) and antioxidant and cell toxicity. J Med Plants 2016;2(58):89-98. [Full Text in Persian] Link

14. Wei A, Shibamoto T. Antioxidant activities and volatile constituents of various essential oils. J Agric Food Chem 2007;55(5):1737-42. PubMed

15. Seevers P, Daly J. Studies on wheat stem rust resistance controlled at the Sr6 locus. I. The role of phenolic compounds. Phytopathology 1970;60(9):1322-8. Link

16. Mohamadi Sani A, Behnam K, Esmaeilpour M. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil from Shirazi Turnip root (Brasica rappa L.) in in-vitro conditions. J Food Microbiol 2017;4(3):31-40. [Full Text in Persian] Link

17. Yeganegi M, Tabatabaei Yazdi F, Mortazavi SA, Asili J, Alizadeh Behbahani B, Beigbabaei A. Equisetum telmateia extracts: Chemical compositions, antioxidant activity and antimicrobial effect on the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection. Microbial Pathog 2018;116:62-7. PubMed

18. Wang W, Zhang L, Li N, Zu Y. Chemical composition and in vitro antioxidant, cytotoxicity activities of Zingiber officinale Roscoe essential oil. Afr J Biochem Res 2012;6(6):75-80. Link

19. Zhan K, Wang C, Xu K, Yin H. Analysis of volatile and non-volatile compositions in ginger oleoresin by gas chromatography-mass spectrometry. Se Pu 2008;26(6):692-6. PubMed

www.SID.ir
International License Creative Commons Attribution License 4.0

Archive of SID

20. Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Vasiee A, Mortazavi SA. Oliveria decumbens essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some clinical and standard strains causing infection. Microb Pathog 2018;114:449-52. PubMed

21. Behbahani BA, Shahidi F, Yazdi FT, Mortazavi SA, Mohebbi M. Use of Plantago major seed mucilage as a novel edible coating incorporated with Anethum graveolens essential oil on shelf life extension of beef in refrigerated storage. Int J Biol Macromol 2017;94(Pt A):515-26. PubMed

22. Prakash J. Chemical composition and antioxidant properties of ginger root (Zingiber officinale). J Med Plants Res 2010;4(24):2674-9. Link

23. Stoilova I, Krastanov A, Stoyanova A, Denev P, Gargova S. Antioxidant activity of a ginger extract (Zingiber officinale). Food Chem 2007;102(3):764-70. Link

24. Jagetia GC, Baliga MS, Venkatesh P, Ulloor JN. Influence of ginger rhizome (Zingiber officinale Rosc) on survival, glutathione and lipid peroxidation in mice after whole-body exposure to gamma radiation. Radiat Res 2003;160(5):584-92. PubMed

25. Haksar A, Sharma A, Chawla R, Kumar R, Arora R, Singh S, et al. Zingiber officinale exhibits behavioral radioprotection against radiation-induced CTA in a gender-specific manner. Pharmacol Biochem Behav 2006;84(2):179-88. PubMed

26. Kim JK, Kim Y, Na KM, Surh YJ, Kim TY. [6]-Gingerol prevents UVB-induced ROS production and COX-2 expression in vitro and in vivo. Free Radic Res 2007;41(5):603-14. PubMed

27. Platel K, Srinivasan K. Influence of dietary spices and their active principles on pancreatic digestive enzymes in albino rats. Nahrung 2000;44(1):42-6. PubMed

28. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. Int J Food Microbiol 2004;94(3):223-53. PubMed

29. Negi PS. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. Int J Food Microbiol 2012;156(1):7-17. PubMed

30. Siasi E, Sharifnia F, Yahyaii S. Study and evaluation of Zangaber extract antimicrobial effect on common urinary tract infection bacteria from patients isolated. New Cell Mol Biotechnol J 2017;7(26):93-100. [Full Text in Persian] Link

31. Asadi T, Zanguee N, Mousavi SM, Zakeri M, Batvandi Z. Antimicrobial effects of Alcoholic extract of Zingiber officinale on some pathogen bacteria of aquatic organisms. J Appl Ichthyol Res 2015;3(2):59-68. [Full Text in Persian] Link

32. Momeni L, Zamanzad B. Evaluation of antimicrobial effects of onion and ginger extracts on some bacteria and candida albicans isolated infected urinary systems. Persian. J Shahrekord Univ Med Sci 2010;11(4):81-87. [Full Text in Persian] Link

33. Dehghan M, Noorizadeh E, Latifi Navid M. Survey of anti-bacterial effects of turmeric, ginger, clove and cardamom on Helicobacter pylori. J Ardabil Univ Med Sci 2002;1(4):19-26. [Full Text in Persian] Link

34. Alizadeh Behbahani B. Production of an antimicrobial edible coating based on Plantago major seed mucilage in combination with dill and tarragon essential oils: its properties and application in beef. [PhD Thesis]. Mashhad: Ferdowsi University; 2016. p. 1-176. [Text in Persian] Link

www.SID.ir

International License Creative Commons Attribution License 4.0