مطالعه اثر ضدباکتریایی عصاره‌های آبی و الکلی گلبرگ زعفران بر برخی از باکتری‌های بیماریزای غذایی

حسن گندمی نصرآبادی[1]، لیلا اعظمی ساروکلایی[2]، علی میثاقی[3]، سپیده عباس‌زاده[4]، نبی شریعتی‌فر[5]*، نسرین طیار هشتجین[6]

۱- استادیار، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران
۲- دانشجوی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران
۳- دانشیار، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران
٤- مربی، گروه تغذیه و بهداشت مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه بقیه‌الله، تهران
٥- دکترای تخصصی بهداشت و کنترل مواد غذایی، معاونت غذا و داروی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران
٦- کارشناس، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران
*آدرس مکاتبه: تهران، خیابان قدس، معاونت غذا و دارو، تلفن و نمابر: ٦٦٤٨٢٤٩٢ (٠٢١)
پست الکترونیک: nshariatifar@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۹/۹/۱۵ **تاریخ تصویب:** ۹۰/۳/۲۹

چکیده

مقدمه: با توجه به نگرانی‌های عمومی درخصوص عوارض نگهدارنده‌های شیمیایی، تمایل به مصرف محصولاتی است که فاقد نگهدارنده هستند و یا در آنها از نگهدارنده‌های طبیعی مثل اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی استفاده شده است.

هدف: در این مطالعه اثر ضدباکتریایی عصاره آبی، اتانولی و متانولی گلبرگ زعفران بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا تیفی موریوم، ای کولای ***O157:H7***، لیستریا مونوسایتوژنز و باسیلوس سرئوس مورد بررسی قرارگرفت.

روش بررسی: در آزمایش غربالگری حساسیت باکتری‌های مورد مطالعه به روش انتشار دیسک بررسی شد. حداقل غلظت بازدارنده **(MIC)** به روش آگار دایلوشن و براث میکرودایلوشن مورد مطالعه قرار گرفت.

نتایج: در روش انتشار دیسک سالمونلاتیفی موریوم حساس‌ترین باکتری و استافیلوکوکوس اورئوس و ای کولای مقاوم‌ترین باکتری تعیین شد. حداقل غلظت بازدارنده هر سه عصاره مورد مطالعه در مورد تمام باکتری‌های تحت آزمایش در روش آگار دایلوشن ٤٠ میلی‌گرم در میلی‌لیتر محاسبه شد. براساس نتایج به دست آمده میزان **MIC** عصاره‌های آبی و متانولی در روش میکرودایلوشن برای تمام باکتری‌های فوق ٤٠ میلی‌گرم در میلی‌لیتر محاسبه شد، در حالی که **MIC** عصاره اتانولی در مورد استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس و لیستریا مونوسایتوژن ٤٠ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و برای باکتری‌های سالمونلاتیفی موریوم و ای کولای ***O157:H7*** بیشتر از ٤٠ میلی‌گرم در میلی‌لیتر محاسبه شد.

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر نشان داد که عصاره‌های گلبرگ زعفران می‌تواند به عنوان نگهدارنده طبیعی بر ضد باکتری‌های فوق مورد استفاده قرار گیرد و استفاده از این عصاره‌ها را در مواد غذایی پیشنهاد می‌نماید.

گل واژگان: زعفران، گلبرگ، عصاره، فعالیت ضدمیکروبی

www.SID.ir

مقدمه

بیماری‌های حاصل از مصرف غذاهای آلوده به باکتری‌های بیماریزا از اهمیت فراوانی در بهداشت عمومی برخوردار بوده و سالانه خسارات مالی و جانی فراوانی را به جوامع تحمیل می‌نماید. از این رو کاهش تعداد میکروارگانیسم‌ها در مواد غذایی هم از نظر کنترل کیفیت و هم از نظر بهداشت و سلامت عمومی حائز اهمیت فراوان است [۱]. یکی از راه‌های کنترل رشد باکتری‌های بیماریزا در مواد غذایی استفاده از نگهدارنده‌ها و ترکیبات ضدمیکروبی می‌باشد. افزودن مواد شیمیایی به منظور نگهداری مواد غذایی معمولاً بر مبنای جلوگیری از رشد میکروبی و یا کشتن و از بین بردن گروه‌هایی از میکروارگانیسم‌های مضر می‌باشد. با توجه به نگرانی‌های عمومی در خصوص عوارض نگهدارنده‌های شیمیایی تمایل به مصرف محصولاتی است که فاقد نگهدارنده بوده و یا در آنها از نگهدارنده طبیعی استفاده شده است. به همین دلیل در سال‌های اخیر مطالعات زیادی پیرامون نگهدارنده‌های طبیعی صورت گرفته است. از جمله این نگهدارنده‌ها اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی است. عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهان دارویی و اجزای تشکیل‌دهنده آنها دارای اثرات شناخته شده ضدباکتریایی می‌باشند [۲]. کاربردهای زیاد آنها به منظور کنترل رشد باکتری‌های بیماریزای غذایی و یا عامل فساد موجب به کارگیری آنها به عنوان نگهدارنده‌های غذایی شده است. از جمله این گیاهان می‌توان به زعفران (*Crocus sativus* L.) اشاره نمود. زعفران گیاهی کوچک و چند ساله از خانواده زنبق است که کلاله‌ی خشک شده‌ی گل این گیاه به عنوان زعفران در صنایع غذایی (به عنوان ادویه معطر و برای رنگین کردن غذا) و صنعت دارویی (به عنوان آرامبخش و مسکن بیماری آسم، سیاه سرفه و التهاب) مورد استفاده قرار می‌گیرد [۳]. از زمان‌های قدیم زعفران به طور وسیعی به عنوان دارو در درمان بیماری‌ها و تقویت سلامتی به ویژه در خاورمیانه و جنوب غربی آسیا به کار می‌رفته است. زعفران در قسمت‌های مختلف دنیا کشت می‌شود، اما قسمت وسیع کشت آن در ایران می‌باشد. ایران یکی از مهم‌ترین قطب‌های تولید زعفران در دنیا محسوب می‌شود، به طوری که ارزش صادرات زعفران ایران از مرز ۳۰۰ میلیارد ریال در سال می‌گذرد. در فرآیند تولید زعفران از قسمت کلاله و خامه گل به عنوان زعفران تجارتی استفاده می‌شود و سایر قسمت‌های گل از جمله گلبرگ‌ها به عنوان ضایعات دور ریخته می‌شود که از حجم بسیار بالایی برخوردار می‌باشد، به طوری که سالانه رقمی معادل ۷۲۵۷۶۲۵ کیلوگرم گلبرگ زعفران به عنوان محصول فرعی به دست می‌آید که با توجه به روند افزایش تولید، پیش‌بینی می‌شود در سال‌های آینده حتی این مقدار هم افزایش پیدا کند [٤]. بنابراین یافتن راه حلی برای بازیافت این حجم عظیم ضایعات از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد. یکی از این راه حل‌ها می‌تواند استفاده از گلبرگ زعفران به عنوان یک ماده ضدمیکروبی طبیعی در صنایع غذایی باشد. در خصوص اثرات بازدارندگی زعفران و ترکیبات آن تاکنون مطالعاتی انجام شده است اما اثر ضدمیکروبی گلبرگ زعفران بر باکتری‌های بیماریزای غذایی ناشناخته می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گلبرگ زعفران بر روی تعدادی از مهم‌ترین باکتری‌های بیماریزای غذایی می‌باشد و در صورت داشتن چنین اثری علاوه بر برآورده کردن خواست مصرف‌کنندگان برای نگهدارنده‌های طبیعی و افزایش عمر نگهداری مواد غذایی و بالا بردن سطح ایمنی مواد غذایی از هدر رفتن یک محصول جانبی جلوگیری می‌شود.

مواد و روش‌ها

استخراج عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گلبرگ زعفران

گلبرگ زعفران مورد مطالعه از مزرعه‌ای واقع در شهرستان گناباد جمع‌آوری و خشک شد. جهت تهیه عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی، ۵۰ گرم از گلبرگ خشک شده با ٤۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر در مورد عصاره آبی و الکل ۸۰ درصد در مورد عصاره‌های اتانولی و متانولی با استفاده از شیکر به مدت

Archive of SID

www.SID.ir

۲٤ ساعت عصاره‌گیری شد. عصاره استخراج شده با دستگاه روتاری اواپوراتور تغلیظ و در فور ٤٠ درجه خشک شد. سپس عصاره‌ها جهت خشک شدن نهایی لیوفلیزه شد. عصاره خشک شده تا زمان مصرف در شیشه‌های رنگی و در یخچال نگهداری شد.

باکتری‌های مورد مطالعه

شامل باکتری‌های *E. coli O157:H7*، *S. typhimurium* phagetype *II*، *S. aureus* ATCC 6538، ATCC 19118 *L. monocytogenes* و *B. cereus* ATCC 11778 می‌باشد. ابتدا کشت‌های لیوفیلیزه در محیط آبگوشت BHI در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ – ١٦ساعت حداقل دوبار متوالی تجدید شده و سپس از کشت دوم به نسبت ٥ به ۱ با گلیسیرین استریل مخلوط و در حجم‌های ٥۰۰ میکرولیتری در میکروتیوب‌های اپندرف در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

آماده‌سازی کشت‌های باکتریایی

ابتدا کشت‌های نگهداری شده در ۲۰- درجه سانتی‌گراد به محیط آبگوشت BHI منتقل شده و ١٦ – ۱۸ ساعت تجدید شد. سپس در محیط کشت شیب‌دار تجدید شده و جهت استفاده در طول آزمایش در یخچال ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای تهیه دوز تلقیح باکتری‌ها از روش سنجش جذب نوری با استفاده از اسپکتوفتومتر استفاده شد. باکتری‌ها از کشت شیب‌دار تهیه شده به براث منتقل و به مدت ١٦ – ۱۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. از باکتری گرمخانه‌گذاری شده برای تهیه سوسپانسیون با جذب نوری ۰/۱ استفاده شد. ابتدا دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ٦۰۰ نانومتر تنظیم شده و توسط لوله شاهد حاوی BHI استریل جذب نوری را صفر نموده و بعد مقدار مناسبی از کشت باکتریایی را به کووت حاوی ٤ میلی‌لیتر محیط آبگوشت BHI استریل اضافه کرده و جذب نوری را قرائت کردیم. از طریق افزودن باکتری این کار را تا حدی ادامه داده تا به جذب نوری ۰/۱ برسیم. سپس شمارش تعداد باکتری به روش کشت سطحی صورت گرفت تا مشخص شود که سوسپانسیون باکتریایی با جذب نوری ۰/۱ دارای چه مقدار باکتری در هر میلی‌لیتر می‌باشد. در مراحل بعدی با تهیه سوسپانسیون باکتریایی با جذب نوری ۰/۱ و رقیق‌سازی سوسپانسیون تهیه شده دوز تلقیح موردنظر آماده شد.

تعیین حساسیت باکتری‌های مورد مطالعه به عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گلبرگ زعفران به روش انتشار دیسک

ابتدا سوسپانسیون باکتریایی از باکتری‌های مورد مطالعه با جذب نوری ۰/۱ تهیه شده و سپس با استفاده از سو آب سطح پلیت‌های حاوی محیط آگار BHI با باکتری‌های مورد نظر تلقیح شد. بعد از اینکه سطح پلیت خشک شد، دیسک‌های کاغذی ٦ میلی‌متری حاوی ٦۰ میلی‌گرم از عصاره‌های مورد مطالعه به پلیت منتقل شده و به مدت ٢٤ ساعت گرمخانه‌گذاری شد و بعد از گرمخانه‌گذاری قطر هاله مهار رشد اندازه‌گیری شد.

تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC) به روش آگاردایلوشن

ابتدا محیط کشت آگار BHI را آماده نموده و حجم‌های ۱۹ میلی‌لیتری از محیط کشت حاوی ۱۰ درصد دی‌متیل سولفوکساید را در لوله‌های یونیورسال توزیع نمودیم. بعد از استریل نمودن محیط کشت و سرد شدن محیط تا دمای ٥۰ درجه، ۱ میلی‌لیتر از محلول عصاره‌های فیلتر شده با فیلتر ۰/٤٥ میکرومتر را اضافه نموده و با استفاده از ورتکس به مدت ۱۰ ثانیه مخلوط کرده و در پلیت پخش شد. (غلظت‌های مورد استفاده عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی برابر صفر، ۱۰، ۲۰ و ٤۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود). پلیت کنترل حاوی ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت حاوی ۱۰ درصد دی‌متیل سولفوکساید بود. بعد از پخش کردن محیط، سطح پلیت‌ها زیر هود میکروبیولوژیک به مدت ۲۰ – ۳۰ دقیقه به خوبی خشک شد. سپس مقدار ٥ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری‌های مورد نظر توسط سمپلر به صورت نقطه‌ای تلقیح شد (به نحوی که در هر

Archive of SID
www.SID.ir

۵ میکرولیتر برابر $۱۰^{۳}$ باکتری موجود باشد). سپس پلیت‌ها در انکوباتور به مدت ۲٤ ساعت گرمخانه‌گذاری شد.

غلظت‌هایی از عصاره‌ها که بیشتر از ۹۹ درصد سبب ممانعت از رشد شود تحت عنوان MIC نامیده می‌شود.

تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC) به روش براث میکرودایلوشن

در این روش از پلیت‌های ۹٦ چاهکی ته گرد با حجم ۳۰۰ میکرولیتر استفاده شد. غلظت‌های مورد استفاده عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گلبرگ زعفران برابر صفر، ۵، ۱۰، ۲۰ و ٤۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. ابتدا مقدار مناسبی از عصاره‌ها در محلول حاوی ٤۰ درصد اتانول و ۱۰ درصد دی‌متیل سولفوکساید حل شد و سپس توسط فیلتر ۰/٤۵ میکرومتر استریل شد و بعد غلظت‌های لازم از آن توسط آبگوشت BHI تهیه شد (غلظت نهایی اتانول در محیط کشت ۱ درصد و غلظت نهایی دی‌متیل سولفوکساید ۵ درصد می‌باشد). ۲۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی به هر چاهک انتقال داده شد. سپس به هر چاهک ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری اضافه شد. غلظت نهایی باکتری در هر چاهک برابر $۱۰^{٤}$ *CFU/ml* بود (تعداد دقیق باکتری از طریق کشت سطحی و شمارش کلونی تأیید شد). در چاهک کنترل رشد ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت حاوی ۵ درصد دی‌متیل سولفوکساید و ۱ درصد اتانول به همراه باکتری تلقیح شد.

محتویات هر چاهک به مدت ۲ دقیقه با استفاده از پلیت شیکر مخلوط شد. پلیت‌ها به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شده و بعد از اتمام گرمخانه‌گذاری کدورت یا عدم کدورت در چاهک‌ها به صورت چشمی مشاهده شد.

نتایج

تعیین حساسیت باکتری‌های مورد مطالعه به عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گلبرگ زعفران به روش انتشار دیسک

نتایج اثر عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گلبرگ زعفران علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلاتیفی موریوم، ای کولای *O157:H7*، لیستریا مونوسایتوژنز و باسیلوس سرئوس در روش انتشار دیسک در جدول شماره ۱ آمده است.

در مورد باکتری سالمونلاتیفی موریوم هر سه عصاره مورد مطالعه سبب مهار رشد باکتری گردیده و قطر هاله رشد درخصوص عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی به ترتیب ۲۱، ۲۰ و ۲۰ میلی‌متر محاسبه شد. در مورد باکتری باسیلوس سرئوس تنها عصاره متانولی باعث ایجاد هاله مهار رشد با قطر ۱٦ میلی‌متر شد و در مورد عصاره‌های آبی و اتانولی مهار رشد مشاهده نشد. در مورد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و ای کولای هیچ یک از عصاره‌های مورد مطالعه نتوانست رشد باکتری را مهار کند و در رابطه با باکتری لیستریا مونوسیتوژن هم تنها عصاره متانولی باعث مهار رشد باکتری با قطر هاله مهار رشدی برابر ۱۳ میلی‌متر شد.

جدول شماره ۱- قطر هاله مهار رشد باکتری‌های مورد مطالعه تحت اثر عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گلبرگ زعفران

عصاره‌ها	قطر هاله مهار رشد (میلی‌متر)				
	سالمونلاتیفی موریوم	ای‌کولای *O157:H7*	استافیلوکوکوس اورئوس	لیستریا مونوسیتوژنز	باسیلوس سرئوس
آبی	۲۰	-	-	-	-
اتانولی	۲۱	-	-	-	-
متانولی	۲۰	-	-	۱۳	۱٦

Archive of SID

www.SID.ir

تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC) به روش آگاردایلوشن

نتایج تعیین MIC عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گلبرگ زعفران علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلاتیفی موریوم، ای‌کولای O157:H7، لیستریا مونوسایتوژنز و باسیلوس سرئوس در روش آگار دایلوشن در جدول شماره ۲ آمده است. بر اساس نتایج به دست آمده میزان MIC عصاره آبی در این روش برای تمامی باکتری‌های فوق برابر ٤٠ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به دست آمد. غلظت‌های پایین‌تر از ٤٠ میلی‌گرم در میلی‌لیتر یعنی ۲۰ و ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اثری بر رشد باکتری‌های فوق نداشتند. میزان MIC عصاره‌های اتانولی و متانولی نیز ٤٠ میلی‌گرم در میلی‌لیتر محاسبه شد و غلظت‌های۲۰ و ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر سبب مهار رشد باکتری‌ها نشدند.

تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC) به روش براث میکرودایلوشن

نتایج MIC عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گلبرگ زعفران علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلاتیفی موریوم، ای‌کولای O157:H7، لیستریا مونوسایتوژنز و باسیلوس سرئوس در روش میکرودایلوشن در جدول شماره ۳ آمده است.

جدول شماره ۲- حداقل غلظت بازدارنده عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گلبرگ زعفران علیه باکتری‌های مورد مطالعه به روش آگاردایلوشن

باکتری‌های مورد مطالعه	حداقل غلظت بازدارنده رشد (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)		
	عصاره آبی	عصاره اتانولی	عصاره متانولی
سالمونلاتیفی موریوم	٤٠	٤٠	٤٠
ای کولای ***O157:H7***	٤٠	٤٠	٤٠
استافیلوکوکوس اورئوس	٤٠	٤٠	٤٠
لیستریا مونوسیتوژنز	٤٠	٤٠	٤٠
باسیلوس سرئوس	٤٠	٤٠	٤٠

جدول شماره ۳- حداقل غلظت بازدارنده رشد عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گلبرگ زعفران علیه باکتری‌های مورد مطالعه به روش میکرودایلوشن

باکتری‌های مورد مطالعه	حداقل غلظت بازدارنده رشد (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)		
	عصاره آبی	عصاره اتانولی	عصاره متانولی
سالمونلاتیفی موریوم	٤٠	٤٠>	٤٠
ای‌کولای *O157:H7*	٤٠	٤٠>	٤٠
استافیلوکوکوس اورئوس	٤٠	٤٠	٤٠
لیستریا مونوسیتوژنز	٤٠	٤٠	٤٠
باسیلوس سرئوس	٤٠	٤٠	٤٠

Archive of SID
www.SID.ir

در مورد عصاره آبی و متانولی تا غلظت ۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره، در تمام چاهک‌های مربوط به تمام باکتری‌ها کدورت حاصل از رشد باکتری قابل تشخیص بود در حالی که در چاهک‌های حاوی ٤٠ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره در مورد تمام باکتری‌ها هیچ کدورتی مشاهده نشد و MIC هر دو عصاره در برابر تمام باکتری‌های مورد مطالعه ٤٠ میلی‌گرم در میلی‌لیتر محاسبه شد. بر اساس نتایج به دست آمده میزان MIC عصاره اتانولی در این روش برای باکتری‌های باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا موسیتوژن ٤٠ میلی‌گرم در میلی‌لیتر محاسبه شد. باکتری‌های سالمونلاتیفی موریوم و ای‌کولای *O157:H7* در این غلظت مهار نشدند و MIC آنها بیشتر از ٤٠ میلی‌گرم در میلی‌لیتر محاسبه شد.

بحث

با توجه به نگرانی مصرف‌کنندگان و متولیان بهداشتی در مورد استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی و مضرات آنها، در سال‌های اخیر تولیدکنندگان مواد غذایی گرایش به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی در مواد غذایی پیدا کرده‌اند. لذا مطالعات مختلفی در ارتباط با اثر اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی مختلف بر روی باکتری‌های بیماریزای با منشأ غذایی در محیط کشت و غذا انجام شده است [۵،٦،۷،۸،۹]. درخصوص اثرات ضدمیکروبی زعفران و ترکیبات آن مطالعاتی انجام شده است، از جمله وحیدی و همکاران (۲۰۰۲) اثرات ضدمیکروبی عصاره قسمت‌های مختلف زعفران از جمله برگ‌ها، مادگی و کرولا را علیه باکتری‌های ای کولای، استافیلوکوکوس اپیدرمیس، میکروکوکوس و قارچ‌ها بررسی و اثرات ضدمیکروبی آنها را گزارش نمودند. MIC عصاره‌های مورد نظر اندازه‌گیری شد. نتایج کسب شده نشان از فعالیت بالای عصاره اتیل استاتی استخراج شده از قسمت‌های مختلف گیاه به جز برگ‌ها علیه ارگانیسم‌های فوق بود [۱۰]. احمد و همکاران (۲۰۰۷) هم در مطالعه‌ای اثرات ضدمیکروبی زعفران بر باکتری‌های بیماریزای غذایی از جمله باسیلوس سوبتلیس، استافیلوکوکوس اورئوس و ای کولای را به روش انتشار دیسک نشان دادند. باسیلوس حساس‌ترین باکتری و ای‌کولای مقاوم‌ترین باکتری‌ها بودند [۱۱]. در مطالعه‌ای توسط رزاقی و همکاران اثرات ضدمیکروبی کلاله زعفران بروی سه سویه میکروبی ای‌کولای، استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا مورد بررسی قرار گرفت و نتایج به دست آمده نشان داد سافرانال موجود در زعفران باعث بازدارندگی رشد سویه‌های ای‌کولای و استافیلوکوکوس اورئوس شده است [۱۲]. همچنین اثر ضدهلیکوباکتری زعفران هم توسط نخعی و همکاران گزارش شده است. در این مطالعه MIC عصاره متانولی ٦۷۷ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که زعفران اثرات ضدهلیکو باکتریایی متوسطی دارد [۱۳]. تاکنون مطالعه‌ای روی اثرات ضدمیکروبی گلبرگ زعفران صورت نگرفته و این مطالعه می‌تواند از این نظر حائز اهمیت باشد. یکی از دلایل تفاوت در میزان MIC محاسبه شده در مطالعات مختلف اختلاف ترکیب عصاره‌ها می‌باشد. ترکیبات عصاره‌های حاصل از یک گونه گیاهی می‌تواند بر اساس جغرافیای منطقه، فصل برداشت، سن گیاه، مرحله رشد و روش خشک کردن و استخراج متفاوت باشد [١٤]. به علاوه ترکیبات عصاره‌های به دست آمده از بخش‌های مختلف یک گیاه خاص نیز فعالیت ضدمیکروبی متفاوتی دارد. همچنین حساسیت باکتری‌های مختلف نسبت به عصاره‌های مختلف متفاوت می‌باشد. اسلام و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که عصاره‌های گیاهان علیه باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی مؤثر است [۱۵]. نتایج مطالعه حاضر هم نشان داد که اثر عصاره اتانولی بر باکتری‌های گرم مثبت مورد مطالعه بیشتر از باکتری‌های گرم منفی می‌باشد (جدول شماره ۳). تفاوت‌های موجود در روش‌های ارزیابی بررسی خواص ضدباکتریایی عصاره‌ها می‌تواند سبب نتایج متفاوت در میزان MIC محاسبه شده در تحقیقات مختلف شود [١٦]، به طوری که در مطالعه حاضر نتایج روش انتشار دیسک با نتایج تعیین MIC قابل مقایسه نمی‌باشد. روش انتشار دیسک یک روش غربالگری تعیین حساسیت میکروارگانیسم‌ها نسبت به مواد بازدارنده

Archive of SID

www.SID.ir

می‌باشد و این روش تحت اثر میزان و سرعت انتشار مواد بازدارنده در محیط کشت قرار دارد و بنابراین برای اندازه‌گیری دقیق فعالیت ضدمیکروبی مناسب نمی‌باشد [۱۷]. مطالعه حاضر نشان می‌دهد که نتایج تعیین MIC به روش آگار دایلوشن به جز در مورد عصاره اتانولی با نتایج میکرودایلوشن همخوانی دارد. روش آگار دایلوشن روش مناسبی در تست‌های ضدمیکروبی می‌باشد که نتایج قابل اعتمادی را به همراه دارد اما به علت سختی روش، روش معمولی در آزمایشگاه‌ها نمی‌باشد و بیشتر روش براث دایلوشن مورد استفاده قرار می‌گیرد. نتایج این مطالعه به طور کلی نشان‌دهنده اثر ضدمیکروبی عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گلبرگ زعفران بر باکتری‌های موردمطالعه می‌باشد، به همین دلیل امکان استفاده از این عصاره در صنایع غذایی وجود دارد. از طرفی به دلیل طعم و عطر مناسب گلبرگ زعفران امکان استفاده از غلظت‌های بالاتر وجود دارد. همچنین از آنجایی که گلبرگ به عنوان یک محصول جانبی در تولید زعفران می‌باشد که در حال حاضر به عنوان ضایعات دور ریخته می‌شود بنابراین با عملی نمودن استفاده از این ماده در صنعت غذایی می‌توان علاوه‌بر برآورده کردن خواست مصرف‌کنندگان برای نگهدارنده‌های طبیعی و افزایش عمر نگهداری مواد غذایی و بالا بردن سطح ایمنی مواد غذایی از هدر رفتن یک محصول جانبی جلوگیری نمود.

منابع

1. Brunelle S. Electroimmunoassay technology for food born pathogen detection. *IVD Technol.* 200; 16: 13 - 34.

2. Canillac N, Mourey A. Antibacterial activity for the essential oil of *picea excelsa* on *Listeria, Staphylococcus aureus* and colifom bacteria. *Food Microbiol*. 2001; 18: 261 - 8.

3. Mirheidar H. Herbal information, 2nd edition, Volume 2, Bureau of Islamic culture publication, Iran. 1375.

4. Hemmati Kakhki A, Rahimi SK, Extraction of anthocyanin from petals of saffron (*Crocus sativus* L.) and its stability in a model beverage. Iran. Res. Org. Sci. Technol. 1994.

5. Arques JL, Rodriquez E, Gaya P, Medina M, Nunez M. Effect of combinations of high pressure treatment and bacteriocin producing lactic acid bacteria on the survival of *Listeria monocytogenes* in raw milk cheese. *Int. Dairy J*. 2005; 15: 893 - 900.

6. Singh B, Bernadette FM, Adams MR. Synergistic inhibition of *Listeria monocytogenes* by nisin and garlic exteract. *Food Microbiol*. 2001; 18: 133 - 9.

7. Erturk O. Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice plants. *Section Cell. Mol. Biol.* 2006; 61 (3): 275 - 8.

8. Zhang CY, Yam KL, Chikindas ML. Effective control of *Listeria monocytogenes* by combination of nisin formulated and slowly released into a broth system. *Int. J. Food Microbiol.* 2004; 90: 15 - 22.

9. Ozkan G, Ozcan M, Karahan AG, Sagdic O**.** Effect of some spice extracts on bacterial inhibition. *Food Sci. Technol. Int.* 2003; 9 (5): 353 - 8.

10. Vahidi H, Kamalinejad M, Sedaghati N. Antimicrobial Properties of *Croccus sativus* L. *Iran. J. Pharm. Res*. 2002; 1: 33 - 5.

11. Tayel AA, El-Tras WF. Possibility of fighting food borne bacteria by Egyptian folk medicinal herbs and spices extracts. *J. Egypt Public Health Assoc.* 2009; 84 (1): 21 - 32.

12. Razzaghi R, Nourbakhsh R, Hemmati Kakhaki

Archive of SID
www.SID.ir

A, Saberi Najafi M. Antimicrobial effect of saffron. 3rd national congress on saffron, Iran, 1382.

13. Oussalah M, Caillet S, Saucier L, Lacroix M. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E. coli O157:H7, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes. *Food Control* 2007; 18: 414 - 20.

14. Mazutti M, Mossi AJ, Cansian RL, Corazza ML, Dariva C, Oliveira JV. Chemical profile and antimicrobial activity of Boldo (*peumus boldus* Molina) extracts obtained by compressed carbon dioxide extraction. *Braz. J. Chem. Eng.* 2008; 25 (2): 427 – 34.

15. Lee S, Musa N, Wendy W, Musa N, song CT. Antimicrobial property of 12 spieces and methanol extract of *Oramental sea anmon* against *Edwarsiella* agent and other bacteria. *Adv. Biol. Res*. 2007; 1 (5 - 6): 164 - 6.

16. Singh G, Marimuthu P, Heluani CS, Catalan C. Chemical constituents and antimicrobial and antioxidant potentials of essential oil and acetone extract of *Nigella sativa* seeds. *J. Sci. Food Agric*. 2005; 85: 2297 – 306.

17. Almedia AAP, Farah A, Silva DAM, Nunan EA, Beatriz MAG. Antibacterial activity of coffee extracts and selected coffee chemical compounds against Enterobacteria. *J. Agric. Food Chem*. 2006; 54: 8738 - 43.

Archive of SID

www.SID.ir