

بررسی خواص ضدباکتریایی عصاره اتانولی کنگر (*Gundelia tournefortii*) کردستان بر روی استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کولای

بشرا ایوبی^{۱*}، شعله درویشی^۲، فردین میراحمدی^۳

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات کردستان، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

۲. استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

۳. مربی گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

* نویسنده مسئول مکاتبات: boshra.aiobi@gmail.com

(دریافت مقاله: ۹۴/۱/۲۴ پذیرش نهایی: ۹۵/۴/۲۶)

چکیده

با توجه به افزایش روزافزون مقاومت دارویی میکروارگانیسم‌ها و تمایل به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی، هدف از این مطالعه تشخیص خاصیت ضدباکتریایی کنگر بر روی استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کولای است. در این مطالعه عصاره اتانولی ساقه گیاه کنگر کردستان در روتواوپراتور عصاره‌گیری گردید و فعالیت ضدباکتریایی (حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی) به روش تست رقت بر روی محیط مولر هیتون آگار ارزیابی شد. مطالعه در سه تکرار انجام گرفت و داده‌ها با روش تجزیه پروبیت با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.2 تجزیه و تحلیل شدند. کمترین حداقل غلظت مهارکننده رشد برای استافیلوکوکوس اورئوس ۶۲/۵ µg/ml و همچنین کمترین میزان کشندگی این ماده برابر غلظت کمترین میزان محدودکنندگی بود. کمترین غلظت کشندگی برای اشریشیا کولای ۳۱/۲۵ µg/ml و کمترین غلظت مهارکنندگی ۱۵/۶۲ µg/ml برآورد شد. این مطالعه نشان داد عصاره اتانولی کنگر از توان ضد میکروبی بسیار بالایی برخوردار است، بنابراین می‌توان از آن در ترکیب با سایر نگهدارنده‌ها جهت محافظت مواد غذایی در مقابل میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: عصاره اتانولی، کنگر، ضدباکتریایی، استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیا کولای

مقدمه

در حالی که برخی دیگر از اثرات جانبی بیماری می‌کاهند. مشخص شده است که خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی با مقدار کل ترکیبات فنولی رابطه مستقیمی دارد و معمولاً گیاهانی که خواص ضد میکروبی بالایی دارند خواص آنتی‌اکسیدانی مناسبی نیز دارند (Devasagayam *et al.*, 2004). مسمومیت غذایی استافیلوکوکی از مهم‌ترین مسمومیت‌های غذایی به شمار می‌آید، به طوری که از مجموع حدود ۲۴ میلیون مورد کل مسمومیت‌های غذایی گزارش شده در کشور ایالات متحده امریکا ۸/۹ میلیون مورد آن مربوط به استافیلوکوکوس اورئوس بوده که بیش از یک سوم موارد کل مسمومیت‌های غذایی در این کشور است (Gill, 2006; Ultee *et al.*, 2000). اشریشیا کولای انتروهومورازیک باکتری بیماری‌زای انسانی است که از طریق اغذیه آلوده منتقل می‌شود. بیماری ناشی از این باکتری به صورت انفرادی و اپیدمی در نقاط مختلف دنیا گزارش می‌شود (Momeni *et al.*, 1991). چون باکتری عمدتاً از طریق مواد غذایی آلوده منتقل می‌شود، لذا روش‌های طبخ و نگهداری مواد غذایی در جلوگیری از شیوع بیماری نقش مهمی ایفا می‌کند (Fotadar *et al.*, 2005).

گیاه کنگر با نام علمی (*Gundelia tournefortii*) از خانواده *Asteraceae* است. کنگر گیاهی چندساله، مقاوم و شیرابه‌دار پوشیده از کرک و با تیغ فراوان است (Kamalak *et al.*, 2005). موسم گل‌دهی این گیاه اردیبهشت و خرداد ماه است و انتشار جغرافیایی وسیعی دارد که شامل مناطق غرب، شمال غرب، جنوب و جنوب شرق ایران می‌شود. مصرف این گیاه به احتمال قریب به یقین به دوران باستان یعنی بیش از

افزایش مقاومت دارویی میکروارگانیسم‌ها و عدم کفایت داروهای شیمیایی معمول مورد استفاده در درمان بیماری‌های عفونی از یک سو و افزایش آگاهی و توجه هرچه بیشتر مصرف‌کنندگان و متولیان بهداشتی به اثرات مضر نگهدارنده‌های غذایی شیمیایی و سنتتیک از سوی دیگر، موجب انجام تحقیقات گسترده جهت دستیابی به ترکیب‌های طبیعی با دامنه وسیع فعالیت‌های بیولوژی مشتق از منابع گیاهی، حیوانی و میکروبی شده است تا علاوه بر افزایش ماندگاری غذا از اثرات مضر نگهدارنده‌های شیمیایی مصون باشند (Abad *et al.*, 2007; Hausner and Wuertz, 1999).

عصاره‌های گیاهی دارای ترکیبات مهمی هستند که فعالیت‌های بیولوژیکی مختلفی نظیر خواص ضدباکتریایی، ضدقارچی و ضدویروسی در آن‌ها مشاهده شده است. امنیت مواد غذایی یک مسئله مهم در سطح جهانی است که همه انسان‌ها درگیر آن هستند. بسیاری از مواد غذایی فسادپذیرند و برای رسیدن به یک عمر انبارداری مناسب نیازمند مراقبت در مراحل تولید، انبار و پخش در برابر میکروب‌های مولد فساد و بیماری‌زا هستند (Pinstrup-Andersen, 2009). امروزه تمایل به استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی و موادی که بر روی سلامت انسان و محیط زیست اثر منفی دارند، در صنعت مواد غذایی از طرف مصرف‌کنندگان و تولیدکنندگان مواد غذایی کاهش یافته است (Charnley and Doull, 1999). گیاهان دارویی به علت دارا بودن ویتامین‌ها، فلاوونوئیدها، ترپنوئیدها و مواد معدنی، اثرات مهمی در درمان بیماری‌های مختلف دارند. بعضی از گیاهان دارویی بیماری را درمان می‌کنند،

۴۰۰ دور در دقیقه نگهداری تا عمل خیساندن و انحلال کامل شد و ترکیبات گیاه از آن استخراج گردید. سپس توسط کاغذ صافی آن را صاف کرده و با استفاده از دستگاه روتواوپراتور با دمای ۴۰ درجه سلسیوس و سرعت ۹۰ دور در دقیقه در فشار پایین عمل تقطیر انجام گرفت تا حلال از عصاره جدا شد و عصاره تغلیظ شده بدست آمد سپس عصاره تغلیظ شده توسط آن تحت خلاء در دمای ۴۰ درجه سلسیوس خشک و نهایتاً به پودر تبدیل شد. درجه و بازده استخراج پودر عصاره ۱۵۰ g/Kg تعیین شد. پودر تا زمان استفاده در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. سویه‌های باکتریایی *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC ۱۱۱۲) و *اشریشیا کولای* (PTCC ۱۳۹۹) از سازمان پژوهش‌های علمی- صنعتی ایران تهیه گردید. از لحاظ تعیین محیط کشت برای فعال‌سازی این باکتری، از محیط‌های کشت نوترینت براث و نوترینت آگار (مرک، آلمان) استفاده شد. بعد از فعال‌سازی و کشت باکتری بر روی محیط پایه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه قرار گرفت (علم هولو و ناظری، ۱۳۹۳؛ Treagan and Paliim, 1987). در ابتدا پرگنه خالص از میکروارگانسیم تهیه گردید و اختصاصات پرگنه اعم از شکل، رنگ، قوام، حاشیه و اندازه ثبت گردید. در مرحله بعدی از نمونه باکتری مورد مطالعه لام میکروسکوپی تهیه و به روش گرم رنگ‌آمیزی شد. ویژگی‌های باکتری در زیر میکروسکوپ در صفاتی همچون شکل باکتری، وضعیت انتهای سلول‌ها، داشتن یا نداشتن اسپور، گرم مثبت و یا منفی بودن بررسی گردید (Treagan and Paliim, 1987). بعد از انجام کشت، تعداد معادل نیم مک‌فارلند از باکتری مورد

۲۰۰۰ سال پیش بر می‌گردد (Lev-Yadum and Abbas, 1999). نتایج حاصل از یک پژوهش در ایران نظریه طب سنتی در باره اثرات مفید کنگر در درمان بیماری‌های کبدی را تأیید می‌نماید (Jamshidzadeh et al., 2007). خاصیت ضدباکتریایی این گیاه در دو پژوهش مجزا، یکی در اردن نسبت به باکتری گونه سودوموناس که به پنی‌سیلین G و اریترومیسین (Aburajai et al., 2001) مقاوم بودند و دیگری در ایران نسبت به باکتری‌های گونه *هلیکوباکتر پیلوری* (Nariman et al., 2009) به اثبات رسیده است. ژو و همکاران ترکیبات فنلی موجود در عصاره کنگر را مورد بررسی قرار داده و فعالیت ضد میکروبی آن‌ها را نشان دادند (Zhu et al., 2004). کردستان یکی از مناطق غنی از گیاهان دارویی می‌باشد که مکان مناسبی جهت رشد گیاهان مختلف می‌باشد و با عنایت به این ویژگی، اهمیت مطالعه جهت بررسی خواص ضد باکتریایی کنگر در منطقه کردستان طراحی گردید. بنابراین هدف از این مطالعه ارزیابی خواص ضدباکتریایی عصاره کنگر کردستان بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کولای* ضد باکتریایی بود.

مواد و روش‌ها

گیاه کنگر در اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۲ از منطقه کردستان جمع‌آوری شد. سپس عصاره گیاه کنگر با روش خیساندن تهیه شد. به این ترتیب که ۵۰ گرم از گیاه کنگر با حداقل ۲۰ درصد رطوبت را ابتدا خشک کرده و سپس توسط دستگاه خردکن ساییده شد و ۱۰۰ میلی‌لیتر الکل ۷۰ درجه به آن اضافه شد، و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق بر روی دستگاه شیکر با سرعت

حجم همه لوله‌ها برابر شود. مقدار ۱ میلی‌لیتر از مخلوط باکتریایی تهیه شده بر اساس کدورت لوله ۰/۵ مک‌فارلند به هر کدام از لوله‌های شماره ۱ تا ۱۱ اضافه شد و متعاقب هم زدن، به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در حرارت ۳۵ تا ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. سپس اولین رقتی که فاقد رشد بود به‌عنوان کمترین غلظت مهارکننده رشد (MIC) انتخاب شد. بدیهی است که لوله شماره ۱۱ باید دارای رشد قابل رویت و لوله‌های ۱۲ و ۱۳ باید عاری از هر گونه رشد می‌بودند. برای محاسبه مقدار MBC مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از هر لوله آزمایش بر روی محیط کشت حاوی مولر هیتون آگار منتقل و سپس در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه گرمخانه قرار گرفت. پس از شمارش پرگنه‌ها روی پلیت کانت آگار، MBC به‌عنوان کمترین غلظت از عصاره مورد آزمایش که منجر به کشته شدن ۹۹/۹٪ از باکتری‌ها می‌گردد، تعریف شد. لذا لوله‌هایی که دارای ۵ پرگنه یا کمتر از آن پرگنه باشد می‌تواند به‌عنوان MBC انتخاب شود (Treagan and Paliim, 1987).

یافته‌ها

- اثر عصاره کنگر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس
جدول (۱) نشان‌دهنده میزان MIC و MBC عصاره این گیاه در ارتباط با استافیلوکوکوس اورئوس است. براین اساس کمترین مقدار محدودکننده رشد برای این باکتری، مقدار $62/5 \mu\text{g/ml}$ برآورد گردید. همچنین کمترین میزان کشندگی این ماده برابر غلظت کمترین میزان محدودکنندگی رشد آن بود. این نتایج نشان

آزمایش در لوله یا پلیت تهیه شد و گرمخانه‌گذاری گردید. اولین لوله یا پلیت که نشان‌دهنده مهار رشد ارگانسیم مزبور بود به‌عنوان کمترین غلظت مهارکننده رشد یا MIC انتخاب شدند. از محتویات لوله‌های محیط کشت مایع برای مطالعه بیشتر و تشخیص این‌که در این لوله‌ها رشد ارگانسیم مهار شده یا ارگانسیم‌ها از بین رفته‌اند، بر روی محیط‌های کشت مولر هیتون آگار (مرک، آلمان) تلقیح داده شد. معمولاً مقادیر MIC (Minimum Inhibitory Concentration) و MBC (Minimum Bactericidal Concentration) با واحد میکروگرم در میلی‌لیتر نشان داده می‌شود (Treagan and Paliim, 1987). رشد ۲۴ ساعته حاصل از محیط کشت مایع تریپتیک‌سوی‌براث (مرک، آلمان) با کدورت لوله استاندارد نیم مک‌فارلند شماره ۰/۵ تهیه شد. محلول تهیه شده محتوی 10^6 - 10^5 ارگانسیم در هر میلی‌لیتر بود و تا ۳۰ دقیقه پس از تهیه مورد استفاده قرار گرفت (Treagan and Paliim, 1987).

تعداد ۱۳ لوله آزمایش سترون با شماره مشخص شد. مقدار ۱ میلی‌لیتر از محیط کشت سترون تریپتیک سوی‌براث (مرک، آلمان) در هر کدام از لوله‌های شماره ۲ تا ۱۰ در شرایط سترون اضافه شد و رقت‌سازی صورت گرفت. سپس از محلول عصاره تهیه شده با غلظت استوکی ۱۰۰۰ ppm به میزان ۱ میلی‌لیتر به لوله‌های شماره ۱، ۲ و ۱۳ اضافه گردید. پس از اضافه کردن محلول عصاره به لوله‌های ۱، ۲ و ۱۳ از لوله شماره ۲ رقت‌سازی آغاز شد. بدین ترتیب که، ابتدا یک میلی‌لیتر برداشته و به لوله شماره ۳ اضافه شد. این کار تا لوله شماره ۱۰ ادامه پیدا کرد. سپس از لوله شماره ۱۰ همان مقدار ۱ میلی‌لیتر برداشت و دور ریخته شد تا

نشان‌دهنده استفاده از روش پروبیت (Probit Regression) جهت تعیین بهترین غلظت (فرشادفر، ۱۳۸۴) از عصاره می‌باشد. بر اساس نتایج این قسمت، بهترین مقدار مصرفی هم برای MIC و MBC مقدار $46/095 \mu\text{g/ml}$ برآورد گردید.

می‌دهد که عصاره استخراج شده از این گیاه دارای خاصیت ضد میکروبی روی استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد. پایین بودن مقدار مصرفی برای کنترل رشد و نابودی این باکتری حاکی از تأثیر بالای این عصاره است. همچنین با توجه به برابری هر دو غلظت MIC و MBC، احتمالاً بتوان از این عصاره برای کاربردهای پزشکی و دارویی استفاده نمود. جدول (۲) نیز

جدول (۱) - میزان MIC و MBC عصاره کنگر بر روی استافیلوکوکوس اورئوس

MBC	MIC	غلظت عصاره ($\mu\text{g/ml}$)	لوله
-	-	۱۰۰۰	۱
-	-	۵۰۰	۲
-	-	۲۵۰	۳
-	-	۱۲۵	۴
-	-	۶۲/۵	۵
+	+	۳۱/۲۵	۶
+	+	۱۵/۶۲	۷
+	+	۷/۸۱	۸
+	+	۳/۹	۹
+	+	۱/۹	۱۰
+	+		شاهد کشت
-	-		شاهد محیط کشت
-	-		شاهد اتانول

انحراف معیار کلیه غلظت‌ها به غیر از غلظت ۳۱/۲۵ برای MIC ($SD=0/07$) برابر صفر است (همه تکرارها با هم برابر بودند).

جدول (۲) - نتایج حاصل از روش آماری پروبیت جهت تعیین بهترین غلظت با رگرسیون در

استافیلوکوکوس اورئوس برای تعیین MIC و MBC

	Intercept	B (Log_{10})	LC ₅₀ (log)	LC ₅₀
MIC	-۹۶/۰۶۲۴	۴۴/۰۲	۱/۴۴۴۳	۴۶/۰۹۵
MBC	-۹۶/۰۶۲۴	۴۴/۰۲	۱/۴۴۴۳	۴۶/۰۹۵

LC₅₀ = میزان غلظتی که ۵۰ درصد باکتری‌های تیمار شده را از بین می‌برد.

B = شیب خط رگرسیون در مدل پروبیت یا Beta

اثر عصاره کنگر روی باکتری اشریشیا کولای

در این آزمایش کمترین غلظت محدود کننده رشد در مقدار $31/25 \mu\text{g/ml}$ و کمترین غلظت کشندگی آن در مقدار $15/62 \mu\text{g/ml}$ مشاهده گردید (جدول ۳). با توجه به این نتایج، اثر عصاره کنگر بر این باکتری معنی دار می باشد. همچنین عصاره کنگر با دوز کمتر از

دوز مورد استفاده برای استافیلوکوکوس اورئوس موجب از بین رفتن اشریشیا کولای شد. نتایج رگرسیون به روش آماری پروبیت نشان دهنده برآورد غلظت کشندگی $44/194 \mu\text{g/ml}$ و غلظت مهارکنندگی $22/095 \mu\text{g/ml}$ بر اساس سه تکرار هر قسمت بود (جدول ۴).

جدول (۳) - تعیین میزان MIC و MBC اشریشیاکلی در حضور عصاره گیاه کنگر

MBC	MIC	غلظت عصاره ($\mu\text{g/ml}$)	لوله
-	-	۱۰۰۰	۱
-	-	۵۰۰	۲
-	-	۲۵۰	۳
-	-	۱۲۵	۴
-	-	۶۲/۵	۵
-	-	۳۱/۲۵	۶
+	-	۱۵/۶۲	۷
+	+	۷/۸۱	۸
+	+	۳/۹	۹
+	+	۱/۹	۱۰
+	+		شاهد کشت
-	-		شاهد محیط کشت
-	-		شاهد اتانول

انحراف معیار کلیه غلظت‌ها به غیر از غلظت ۷/۵ برای MIC و MBC

($SD = 0/57$) برابر صفر است (همه تکرارها با هم برابرند).

جدول (۴) - نتایج حاصل از روش آماری پروبیت جهت تعیین بهترین غلظت با رگرسیون در اشریشیا

کولای برای تعیین MIC و MBC

	Intercept	B(Log ₁₀)	LC ₅₀ (log)	LC ₅₀
MIC	-۸۶/۰۶۲۴	۶۴/۰۲	۱/۳۴۴۳	۲۲/۰۹۵
MBC	-۱۰۵/۴۷۳	۶۴/۱۰۳۲	۱/۶۴۵۳۷	۴۴/۱۹۴

LC₅₀ = میزان غلظتی که ۵۰ درصد باکتری‌های تیمار شده را از بین می برد.

B = شیب خط رگرسیون در مدل پروبیت یا Beta

بحث و نتیجه گیری

با توجه به افزایش روز افزون مقاومت باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها و عوارض جانبی آن‌ها، استفاده از گیاهان دارویی و عصاره‌های گیاهی مورد توجه زیادی قرار گرفته است. اکثر گیاهان دارویی را می‌توان از مناطق بکر کشور جهت انجام تحقیقات مورد ارزیابی قرار داد. بر این اساس کنگره‌های وحشی و غیر اهلی شده از کوه‌های مناطق اطراف شهرستان‌های (سنندج، سقز و کامیاران) جمع‌آوری و خاصیت ضدباکتریایی عصاره آن روی دو باکتری بیماری‌زای غذایی مورد بررسی قرار گرفت. یکی از مهم‌ترین میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در فرآورده‌های گوشتی به‌ویژه آن‌هایی که طی تولید مکرراً با دست تماس دارند، *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشد (Zheng and Sun, 2006). در حال حاضر سلامت عمومی را در سراسر جهان به خطر انداخته است. گسترش این قبیل بیماری‌های مربوط به غذا در کنار مشکلات اجتماعی و اقتصادی ناشی از آن، لزوم تولید مواد غذایی سالم‌تر و به تبع آن استفاده از ترکیبات ضد میکروبی جدید و تا حد امکان غیر سنتزی را مطرح نموده است. در این میان توجه تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان به استفاده از عصاره‌های گیاهی معطوف شده که خواص ضد میکروبی ترکیبات فوق مورد مطالعه قرار گرفته و اثرشان علیه طیف وسیعی از باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌ها به اثبات رسیده است (Chemat et al., 2011). از جمله آن‌ها می‌توان به تحقیقات انجام گرفته روی عصاره‌های گیاهی به دست آمده از سیر، پیاز، دارچین، جوز، کاری (زردچوبه هندی)، خردل، فلفل سیاه، آویشن، پونه کوهی، رزماری (اکلیل کوهی)، بادیان،

فلفل قرمز، زردچوبه، برگ بو، هل، کرفس، شبدرد، گشنیز، زنجبیل، مرزنگوش، سماق، نعناع، ریحان و غیره نیز اشاره نمود (Zaika et al., 1983). در تحقیقات مختلفی که بر روی گیاه کنگر صورت گرفته است ترکیباتی نظیر ترکیبات فنلیکی مانند gallic acid و فلاونول Quercetin (Apak et al., 2007)، کومارین‌های Esculetin، Scopoletin و Isoscapoletin و مخلوطی از استروئیدهای β -sitosterol و Stigmasterol، روغن‌های فرار Zingiberene، Methyl eugenol، α -terpinyl acetate و لیمونن از این گیاه استخراج شده است که در این میان وجود مقادیر قابل توجه از ترکیبات استرولی در گیاه مورد نظر، در تحقیقات انجام شده در خارج از ایران به اثبات رسیده است (Halabi et al., 2005). همچنین طی پژوهش انجام شده تحت عنوان مقایسه ترکیبات شیمیایی عصاره و اسانس ریشه گیاه کنگر ترکیبات این گیاه شامل اینولین، سیناروپکتین، سینارین، کافئیک اسید و اوژنول که حاکی بر ضدباکتریایی بودن این گیاه می‌باشد اثبات شده است. عصاره اتانولی کنگر بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در غلظت $62/5 \mu\text{g/ml}$ دارای حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی است. پایین بودن مقدار مصرفی برای کنترل رشد و نابودی این باکتری حاکی از عملکرد بالای این عصاره است. همچنین با توجه به برابری هر دو غلظت MIC و MBC می‌توان از این عصاره برای مصارف پزشکی و دارویی استفاده نمود. نتایج نشان داد که عصاره متانولی گلپر ایرانی بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در غلظت $\text{MIC} = 200 \mu\text{g/ml}$ و $\text{MBC} = 500 \mu\text{g/ml}$ مؤثر است (Nazemi et al., 2005).

عصاره گیاهان بابونه بازار، پونه، گل محمدی، کدو، چوب مسواک و کنگر خوراکی بر روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *کلبسیلا پنومونیه*، *سراشیا مارسسنس*، *میکروکوکوس لوتئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیس*، *سودوموناس آئروژنیوزا* و *باسیلوس سابتیلیس* به روش رقت آگار مورد بررسی قرار داد. طبق نتایج بدست آمده از این تحقیق گیاه گل محمدی بر روی تمام انواع میکروب مؤثر بوده است. گیاه پونه بر روی تمام انواع باکتری به جز *کلبسیلا* مؤثر بوده است و گیاهان چوب مسواک و بابونه بازار بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سابتیلیس* مؤثر بوده‌اند. عصاره کدو و کنگر اثر ضد میکروبی نداشت. طبق بررسی‌های انجام شده در این تحقیق عصاره کنگر بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در غلظت $62/5 \mu\text{g/ml}$ دارای کمترین مقدار محدود کننده بود. همچنین عصاره کنگر بر روی باکتری *اشریشیا کولای* نیز خاصیت ضد میکروبی داشت. کمترین مقدار محدود کننده رشد بر روی این باکتری $15/62 \mu\text{g/ml}$ تعیین شد.

عصاره میوه سماق و برگ گیاهان درمنه، و همیشه سبز در غلظت $125 \mu\text{g/ml}$ بر *اشریشیا کولای* اثر باکتریواستاتیک داشت (Taleie et al., 2003). که نسبت به اثر عصاره کنگر در مهار رشد این باکتری در غلظت‌های بالاتر مؤثر است. عصاره گیاه الف در غلظت $600 \mu\text{g/ml}$ بر *اشریشیا کولای* اثر باکتریوسیدال نشان داد (Taleie et al., 2003). حداقل غلظت کشندگی *اشریشیا کولای* در اثر عصاره کنگر $31/25 \mu\text{g/ml}$ بود که نسبت به عصاره الف در غلظت خیلی پایین‌تری مؤثر است. در بررسی اثر آنتی‌باکتریال، اسانس آویشن

عصاره گلپر ایرانی نسبت به عصاره کنگر نیاز به غلظت بالاتری برای مهار رشد *استافیلوکوکوس* دارد. در مطالعه‌ای که بر روی اسانس *Thymus Spinulosus* نیز اثر آنتی‌باکتریال علیه باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* مشاهده شده است که با نتایج ما مطابقت دارد. مطالعه اثرات ضدباکتریایی آلکالوئیدهای استخراج شده از برگ و پوست ساقه زیتون نشان داده است که این مواد بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر مؤثرند تا بر گرم منفی‌ها (Defeo et al., 2003). حداقل غلظت باکتریواستاتیک آن‌ها بر *استافیلوکوکوس اورئوس* برابر با $95 \mu\text{g/ml}$ و اثر باکتریوسیدال آن‌ها $180 \mu\text{g/ml}$ گزارش شده است (Chakraborty and Brantner, 1999) که نسبت به عصاره کنگر در غلظت بالاتر اثر مهاری بر *استافیلوکوکوس اورئوس* داشت. در بررسی اثر آنتی‌باکتریال، اسانس آویشن الگودرز در غلظت $120 \mu\text{g/ml}$ بر *استافیلوکوکوس اورئوس* و اثر باکتریوسیدال نیز در غلظت $120 \mu\text{g/ml}$ مشاهده شد (Taleie et al., 2006). اسانس برگ کنگر در غلظت $30 \mu\text{g/ml}$ بر *استافیلوکوکوس اپیدرمیس* اثر باکتریواستاتیک نشان داد (Taleie et al., 2006). اسانس برگ کنگر نسبت به عصاره ریشه کنگر در غلظت کمتری اثر مهارکنندگی بر خانواده کوکسی‌ها گرم مثبت نشان داد. کشاورز در سال ۱۳۸۹ در تحقیقی تحت عنوان اثرات آنتی‌باکتریال شش گیاه دارویی کنگر، بابونه بازار، کدو، گل محمدی و چوب مسواک که انجام داد به این نتیجه رسید که عصاره‌های گیاهی دارای ترکیبات مهمی هستند که فعالیت‌های بیولوژیکی مختلفی نظیر خواص ضدباکتریایی، ضدقارچی و ضدویروسی در آن‌ها مشاهده شده است. در این تحقیق اثر ضدباکتریال

و باکتریوسیدال عصاره سماق لری در غلظت‌هایی نزدیک به غلظت‌های عصاره کنگر بر روی اشریشیا کولای مؤثر است، عصاره الف نسبت به کنگر در غلظت‌های خیلی بالاتر بر اشریشیا کولای مؤثر تشخیص داده شد. احتمالاً به دلیل ضعیف بودن ترکیبات آن باید در غلظت‌های بالا استفاده شود.

نتایج به دست آمده در بخش تعیین حداقل غلظت ممانعت از رشد و حداقل غلظت کشندگی نشان دهنده توان بالای ضد میکروبی عصاره کنگر علیه استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کولای بود. بنابراین با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر استفاده از عصاره این گیاه می‌تواند در جهت محافظت از غذا و کنترل میکروارگانیسم‌های عامل فساد و پاتوژن، و نیز کنترل بیماری‌های میکروبی انسان و گیاهان در ترکیب با سایر نگهدارنده‌های طبیعی مورد توجه و بررسی بیشتری قرار گیرد. پیشنهاد می‌شود که با توجه به اثر ضدباکتریایی موجود در عصاره این گیاه بررسی دقیق‌تر و اختصاصی‌تر بر روی اجزاء تشکیل‌دهنده این گیاه انجام گیرد. با توجه به این‌که این عصاره بیشترین اثر را بر باسیل گرم منفی نسبت به کوکوسی گرم مثبت را نشان داده است پس می‌توان گفت که احتمالاً بعد از بررسی‌های دقیق و اختصاصی‌تر بر روی اثرات ضدباکتریایی عصاره گیاه کنگر بر سایر گونه‌های باکتریایی صنعتی می‌تواند جایگزین مناسبی برای نگهدارنده‌های شیمیایی و مصنوعی باشد.

الیگودرز در غلظت $30 \mu\text{g/ml}$ بر اشریشیا کولای اثر باکتریواستاتیک نشان داد. اثر باکتریوسیدال این اسانس در غلظت $90 \mu\text{g/ml}$ بر اشریشیا کولای مشاهده شد (Taleie et al., 2006). حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس آویشن الیگودرز تقریباً دو برابر عصاره کنگر است، که نشان می‌دهد که باکتری اشریشیا کولای نیاز به غلظت‌های بالاتری از اسانس آویشن نسبت به عصاره کنگر برای مهار رشد دارد. نتایج تحقیق طالعی و همکاران (۱۳۸۱) نشان داد که عصاره سماق لری (وحشی لرستان) اثر قوی آنتی‌باکتریال دارد؛ به طوری که در رقت بسیار پایین اثر باکتریوسیدال $78 \mu\text{g/ml}$ بر باسیلوس سرئوس نشان داد و رشد را متوقف نمود و در غلظت $5 \mu\text{g/ml}$ اثر باکتریواستاتیک داشت. عصاره سماق بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از گرم منفی بود (Taleie et al., 2003)، در حالی که اثر باکتریوسیدال و باکتریواستاتیک این عصاره بر روی دو باکتری سودوموناس و اشریشیا کولای در غلظت $30 \mu\text{g/ml}$ و بر روی انتروکوکوس فکالیس برابر $600 \mu\text{g/ml}$ یا بیشتر بود. همچنین عصاره گیاه علف در غلظت‌های پائین بر باسیلوس سرئوس اثر آنتی‌باکتریال داشت و در غلظت $600 \mu\text{g/ml}$ بر استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و اشریشیا کولای اثر باکتریوسیدال نشان داد. اثر آنتی‌باکتریال عصاره همیشه سبز بر باکتری‌های مورد آزمایش بسیار کم و یا در غلظت مورد آزمایش بی‌اثر بود. عصاره گیاه جوشن نیز به همین ترتیب بر بعضی از باکتری‌های مورد آزمایش مؤثر بود. اثر باکتریواستاتیک

منابع

- آبرومندآذر، پرویز؛ متقیان پور، زهرا؛ شریفان، انوشه و لاریجانی، کامبیز (۱۳۸۹). بررسی اثر روش استخراج بر ترکیب شیمیایی و ضد میکروبی اسانس گیاه زنیان (*carum copticum*). مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی تهران، سال ۷، شماره ۲، صفحات: ۷۵-۸۴.
- نهایی، محمدرضا و جلالی، علی (۱۳۶۶). روش‌های نوین آزمایشگاهی میکروبی شناسی پزشکی. (ترجمه). تألیف: تریگان، لوسی، و پالیام، لین، چاپ اول، مؤسسه انتشاراتی نیکنام، صفحات: ۲۹۹-۳۱۶.
- طالعی، غلامرضا؛ مشکوه‌السادات، محمدهادی و دلفان، بهرام (۱۳۸۳). اثر آنتی‌باکتریال آلکالوئید استروئیدهای نیشکر، شوکران و عروسک پشت پرده بر روی تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی. فصلنامه دانشگاه علوم پزشکی لرستان، سال ۶، شماره ۲۱، صفحه ۸-۳.
- طالعی، غلامرضا؛ مشکوه‌السادات، محمدهادی و موسوی، زهرا (۱۳۸۵). بررسی ترکیبات شیمیایی و اثر ضدباکتریایی اسانس چهارگونه از گیاهان دارویی استان لرستان. فصلنامه گیاهان دارویی، سال ۶، ویژه‌نامه ۱، صفحات: ۴۵-۵۲.
- طالعی، غلامرضا؛ مشکوه‌السادات، محمدهادی و دلفان، بهرام (۱۳۸۲). بررسی اثر آنتی‌باکتریال عصاره‌های الف، جوشن، همیشه سبز و سماق لری بر روی تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی. فصلنامه دانشگاه علوم پزشکی لرستان، سال ۵، شماره ۱۸، صفحات: ۱۹-۲۳.
- علم هولو، مصطفی؛ و ناظری، سنبل (۱۳۹۳). بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی عصاره‌های الکلی گل و ریشه گیاه سیاه گینه روی برخی باکتری‌های بیماری‌زای انسانی. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان، سال ۲۱، شماره ۴، صفحات: ۲۷۷-۲۸۵.
- کشاورز، محمدعلی (۱۳۸۹). مطالعه اثر آنتی‌باکتریال شش گیاه دارویی کنگر، بابونه بازار، کدو، پونه، گل محمدی و چوب مسواک. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، شماره پایان‌نامه ۵۸۳.
- مؤمنی، تاج‌خانم و شاهرخی، نوبهار (۱۳۷۰). اسانس‌های گیاهی و اثرات درمانی آن‌ها. چاپ اول، انتشارات دانشگاه تهران، صفحات: ۱-۸.
- ناظمی، علی؛ هاشمی، مهرداد؛ خاتمی‌نژاد، محمدرضا و پورشمسیان، کامران (۱۳۸۴). اولین بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های آبی *Heracleum Persicum* و متانولی گیاه. مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، سال ۱۵، شماره ۲، صفحات: ۹۱-۹۴.
- Abad, M.J., Ansuategui, M. and Bermejo, P. (2007). Active antifungal substances from natural sources. *Archivoc*, 7: 116-145.
- Aborajai, A., Darwish, R.M., Al-khalils, S., Mahafzah, A. and Al-Abbadi, A. (2001). Screening of antibiotic resistant inhibitors from local plant materials against two different strains of *Pseudomonas areoginosa*. *Journal of Ethnopharmacology*, 76(1): 39-44.
- Apak, R., Guklu, K., Demirata, B., Ozyurek, M., Esin Celic, S., Bektassoglu, B., et al. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC Assay. *Molecules*, 12: 1496-547.

- Chakraborty, A. and Brantner, A.H. (1999). Antibacterial steroid alkaloids from the stem bark of *Holarrbena pubescens*. *Journal of Ethnopharmacology*, 68: 339-344.
- Charnley, G. and Doull, J. (1999). Human exposure to dioxins from food. *Food and Chemical Toxicology*, 43: 671-679.
- Chemat, F., Huma, Z.E. and Kamran Khan, M. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonic Sonochemistry*, 18(4): 813-835.
- Defeo, V., Brunn, M. and Tahiri, B. (2003). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil from *Thymus spinulosus* ten. (*lamiaceae*). *Journal of Agriculture, Food and Chemistry*, 51: 2849-2853.
- Devasagayam, T., Tilak, J., Bloor, K., Sane, K., Ghaskadbi, S.S. and Lele, R. (2004). Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Journal of Pharmacology Review*, 52: 794-804.
- Fotadar, U., Zaveloff, P. and Terracio, L. (2005). Growth of *Escherichia coli* at elevated temperatures. *Journal of Basic Microbiology*, 45(5): 403-4.
- Gill, A.O. and Holley, R.A. (2006). Disruption *E. coli*, *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus sakei* cellular membranes by plant oil aromatics. *International Journal of Food Microbial*, 108: 1-9.
- Halabi, S., Battah, A.A., Aburjai, T., Hudai, B.M. (2005). Phytochemical and antiplatelet investigation of *Gundelia tournefortii* L. *Journal of Pharmaceutical Biology*, 4(6): 496-500.
- Hausner, M. and Wuertz, S. (1999). High rates of conjugation in bacterial biofilms as determined by Quantitative in situ analysis. *Applied Environmental Microbiology*, 65: 3710-13.
- Jamshidzadeh, A., Fereidoni, F., Salehi, Z., Niknahad, H. (2007). Hepato protective activity of *Gundelia tournefortii* L. extract and inhibition on glutathione- S- transferas activity. *Zahedan Journal of Research Medical Sciences*, 100: 1249-53.
- Kamalak, A., Canbolat, O., Gurbuz, Y., Erol, A. and Ozay, O. (2005). Effect of maturity stage on chemical composition in vitro and in situ dry matter degradation of tumbleweed hay (*Gundelia tournefortii* L.). *Small Ruminant Research*, 58: 149-156.
- Lev_Yadum, S., Abbo, S. (1999). Traditional use of Akub (*Gundelia tournefortii*, asteraceae) in Israel and the polistinian authority area. *Journal of the Society for Economic Botany*, 53 (2): 217-19.
- Mitscher, L. A., Drake, S., Gollapudi, S. R. and Okwute, S. K. (1987). A modern look at folkloric use of anti-infective agents. *Journal of Natural Products*, 50: 1025-1040.
- Nariman, F., Eftekhari, F., Habibi, Z., Massarrat, S., Malekzadeh, R. (2009). Antibacterial of *Helicobacter pylori*. *Iranian Journal Basic Medicen Science*, 12(2): 105-11.
- Pinstup-Andersen, P. (2009). Food security: definition and measurement. *Food Security*; 1(1): 5-7.
- Treagan. L., and Paliiam, L. (1987). Microbia laboratory, In: Nahai, M. R., Jalali, A. *Medical Microbiology Laboratory Procedures*, First edition, Tabriz, 299-316.
- Ultee, A., Kets, E.P.W. and Alberda, M. (2000). Adaptation of the food-borne pathogen *Bacillus cereus* to carvacrol. *Arch Microbiology*, 174(4): 233-238
- Zaika, L.L., Kissinger, J.C. and Wasserman, A.E. (1983). Inhibition of lactic acid bacteria by *Heracleum persicum* herbs. *Journal of Food Science*, 48: 1455-1459.
- Zheng, L. and Sun, D.W. (2006). Innovative applications of power ultrasound during food freezing processes. A review. *Trends in Food Science & Technology*, (17)1: 16-23.
- Zhu, X., Zhang, H. and Lo, R. (2004). Phynolic componds from the leaf extract of artichoke and their antimicrobial. *Journal of Agriculture and Food Chemistery*, 52: 7272-7278.

Antibacterial properties of Kurdistan *Gundelia tournefortii* ethanolic extract against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

Ayoubi, B.^{1*}, Darvishi, S.², Mirahmadi, F.³

1. M.Sc. in Food Science and Technology, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran
2. Assistant professor of Food Science and Technology Department, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran
3. M.Sc. in Food Science and Technology, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

*Corresponding author email: boshra.aiobi@gmail.com
(Received: 2015/4/13 Accepted: 2016/7/16)

Abstract

Due to the ever-increasing of antibiotic-resistance microorganisms and the tendency towards the application of natural preservatives, in the present study the ethanolic extract of stalk portion of Kurdistan *Gundelia tournefortii* L. was extracted in rotary evaporator. The antibacterial effect (MIC and MBC) of the extract was investigated against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. using agar dilution assay on Muller-Hinton agar. The experiment was conducted with 3 replicates and probity analysis of the data was analyzed using SAS 9.2 software. Result showed that both MIC and MBC for *S. aureus* was 62.5 µg/ml. Moreover, the MBC and MIC values for *E. coli* were estimated at 31.25 µg/ml and 15.62 µg/ml, respectively. Since ethanolic extract of *G. tournefortii* was highly effective on indicator bacteria, it can be used in combination with the other preservatives to protect foods from foodborne organisms.

Keywords: *Gundelia tournefortii*, Antibacterial, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*