

بررسی تأثیر عصاره الکلی سیر بر روی برخی از باکتری‌های بیماری‌زای با منشاء مواد غذایی

مهدی قیامی راد^{۱*}، رضا اکبری^۲، علی صفری^۲

۱. استادیار گروه میکروبی‌شناسی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران

۲. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد میکروبی‌شناسی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران

* نویسنده مسئول مکاتبات: m_ghiyamirad@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۹۴/۱/۲۵ پذیرش نهایی: ۹۵/۹/۲۸)

چکیده

با توجه به رویکرد مردم به مصرف محصولات غذایی فاقد مواد نگهدارنده و یا دارای مواد نگهدارنده طبیعی، امروزه استفاده از عصاره‌های گیاهی به‌عنوان نگهدارنده مواد غذایی به‌جای مواد شیمیایی رونق یافته است. این مطالعه با هدف تعیین اثر غلظت‌های مختلف عصاره الکلی گیاه سیر (*Allium sativum*) بر روی سویه‌های استاندارد باکتری‌های *سالمونلا اینترتیدیس*، *باسیلوس سوبتیلیس*، *لیستریا مونوسیژنوز* و *یرسینیا اینترکولونیکا* با روش انتشار از چاهک در محیط آگار انجام گرفت. حداقل غلظت مهاری و حداقل غلظت باکتری‌کشی عصاره به روش میکروتیتراپلیت و با استفاده از رزازورین تعیین گردید. یافته‌ها نشان دادند که عصاره الکلی گیاه سیر اثر بازدارنده بر روی هر چهار باکتری مورد آزمایش دارد. بیشترین تأثیر بر روی باکتری *باسیلوس سوبتیلیس* و کمترین تأثیر روی باکتری *سالمونلا اینترتیدیس* مشاهده شد. حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری در مورد *باسیلوس سوبتیلیس* با ۰/۳۹ و بیشترین مقدار آن در باکتری *سالمونلا اینترتیدیس* با غلظت ۱۲/۵ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر مشاهده شد. با عنایت به یافته‌های حاصل از تحقیق حاضر در مجموع می‌توان گفت که عصاره الکلی سیر دارای خاصیت ضدباکتریایی مناسب علیه باکتری‌های مورد مطالعه بود و به‌عنوان یک نگهدارنده طبیعی در مواد غذایی مختلف می‌تواند مورد ارزیابی قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: عصاره سیر، اثر ضدباکتریایی، حداقل غلظت بازدارندگی، حداقل غلظت کشندگی

مقدمه

بیماری‌هایی که از طریق مصرف مواد غذایی آلوده به باکتری‌های بیماری‌زا حاصل می‌شوند از اهمیت فراوانی در بهداشت عمومی برخوردار بوده و سالانه خسارات مالی و جانی فراوانی را به جوامع بشری تحمیل می‌نمایند (Harris et al., 2001). مرکز کنترل و پیشگیری بیماری‌های آمریکا در سال ۱۹۹۹ اعلام کرد سالانه ۷۶ میلیون نفر در ایالات متحده بر اثر میکروب‌های بیماری‌زا با منشا مواد غذایی بیمار می‌شوند چنین بیماری‌هایی منجر به ۲۲۵۰۰۰ مورد بستری در بیمارستان و ۵۰۰۰ مورد مرگ می‌گردد (Djenane et al., 2011).

کنترل رشد باکتری‌های بیماری‌زا در مواد غذایی از نظر بهداشت و سلامت عمومی حائز اهمیت فراوانی است. یکی از راه‌های کنترل رشد باکتری‌ها بیماری‌زا در مواد غذایی استفاده از نگهدارنده‌ها و ترکیبات ضد میکروبی می‌باشد (Ertürk, 2006). افزودن مواد شیمیایی به منظور نگهداری مواد غذایی معمولاً بر مبنای جلوگیری از رشد میکروب‌ها و یا کشتن و از بین بردن میکروارگانیسم‌های مضر می‌باشد. با توجه به نگرانی‌های عمومی در خصوص عوارض نگهدارنده‌های شیمیایی، تمایل به مصرف محصولاتی که فاقد نگهدارنده بوده و یا از نگهدارنده‌های طبیعی در آنها استفاده شده، بالا رفته است (Canillac and Mourey, 2001). از جمله این نگهدارنده‌ها، اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهانی مانند سیر می‌باشد. استفاده از گیاهان دارویی به منظور درمان بیماری‌ها در انسان قدمتی طولانی دارد. تخمین زده می‌شود که بیش از ۱۰ درصد از گونه‌های گیاهی شناخته شده، کاربرد دارویی دارند. سازمان بهداشت

جهانی برآورد کرده است حدود ۸۰ درصد از مردم دنیا از گیاهان دارویی برای جنبه‌هایی از مراقبت‌های بهداشتی خود استفاده می‌کنند (Bahmani et al., 2010). گیاهان دارویی ضمن برخوردار بودن از خواص متعدد دارویی نسبت به داروهای شیمیایی ارزان‌تر بوده و مصرف آنها نیز ساده‌تر است و از این رو عمدتاً از جانب بیماران بهتر پذیرفته شده و استفاده می‌گردد (Zargari, 1996).

سیر با نام علمی *Allium sativum* گیاهی است علفی و دائمی که ارتفاع ساقه آن تا ۴۰ سانتی‌متر می‌رسد (Zargari, 1996). خواص طبی سیر از قدیم شناخته شده است و تصاویر و کنده‌کاری‌های گیاه سیر مربوط به ۲۷۰۰ سال پیش از میلاد روی دیوارها و اهرام مصر و معابد فراعنه نشان مقدس بودن و استفاده مطلوب از این گیاه می‌باشد. سیر، حاوی ماده آلیسین (Allylsine) است که در نابودی عفونت‌ها نقش به‌سزایی دارد. این ماده باعث کاهش فشار خون و مانع لخته شدن خون شده، جریان خون را متعادل می‌کند (Joerger, 2003). در سال ۱۹۴۲، مشخص گردید که آلیسین مهمترین عاملی است که خاصیت دارویی سیر را تضمین می‌کند. این ماده دارای خواص بسیار مهمی از جمله خاصیت ضد میکروبی و یا افزایش مقاومت بدن در برابر میکروب‌ها می‌باشد (Joerger, 2003). مزیت دیگر آلیسین موجود در سیر، توانایی آن در ترکیب با مواد دیگر از جمله ویتامین‌ها می‌باشد، که نتیجه آن افزایش تضمین سلامتی بدن است. برای نمونه این ماده با تیامین (Thiamine) واکنش داده و به آلیتامین (Al-Tamim) تبدیل می‌شود، بسیار قوی‌تر از تیامین بوده و برای بدن نیز مفیدتر است (Al-qattan et al., 1999).

- استخراج عصاره الکلی گیاه سیر

ابتدا غده گیاه سیر به دور از نور خورشید و در درجه حرارت اتاق خشک شد. سپس گیاه خشک شده توسط آسیاب برقی به صورت پودر درآمد و جهت عصاره‌گیری از روش سوکسله استفاده گردید. برای این منظور ۳۰۰ گرم از پودر تهیه شده گیاه داخل کاغذ صافی ریخته شد و با مقدار کمی متانول آغشته گردید و سپس در داخل سوکسله قرار گرفت. سپس به بالن متصل به سوکسله ۵۰۰ میلی‌گرم متانول خالص افزوده و حرارت‌دهی شد و تا زمان بی‌رنگ شدن حلال خروجی ادامه یافت. پس از آن جهت به‌دست آوردن عصاره خالص و بدون حلال، از دستگاه روتاری در دمای ۴۰ درجه سلسیوس و تحت شرایط خلاء استفاده شد (Jensen, 2007).

از عصاره حاصله توسط حلال ۵ درصد دی‌متیل‌سولفوکساید (DMSO)، غلظت‌های (۰/۳۹، ۰/۷۸، ۱/۵۶، ۳/۱۲، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰) میلی‌گرم در میلی‌لیتر تهیه شدند و در آزمون انتشار از چاهک و تعیین حداقل غلظت ممانعت از رشد باکتری (MIC) Minimum Inhibitory Concentration و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) Minimum Bactericidal Concentration مورد استفاده قرار گرفتند.

- تعیین قدرت ضدباکتریایی عصاره سیر

ابتدا با سوآب استریل از سوسپانسیون باکتریایی (کدورت معادل ۰/۵ مک فارلند) به صورت یکنواخت روی محیط مولر هیتتون آگار کشت سطحی داده شد. سپس در سطح پلیت چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر به فاصله ۲ سانتیمتر از هم ایجاد شد. هریک از چاهک‌ها

مطالعات مختلف انجام شده در نقاط مختلف جهان ثابت کرده که سیر اثرات قابل توجه ضدسرطانی، ضدقارچی، ضدآرترواسکلروزیس، ضدپروتوزایی، ضدویروسی و ضدباکتریایی دارد. همچنین مطالعاتی در ارتباط با اثرات عصاره‌های گیاهی مختلف بر روی پاتوژن‌های منتقل شونده از راه غذا انجام شده (Orekhov and Gruwald 1997; Alqattan *et al.*, 1999; Ankari and Mirelman, 1999; Harris *et al.*, 2001; Thamson *et al.*, 2003; Hadjzadeh *et al.*, 2006; Aliporyegane *et al.*, 2009) است.

مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر عصاره الکلی گیاه سیر بر روی باکتری‌های *باسیلوس سوبتیلیس*، *یرسینیا انتروکولیتیکا*، *لیستریا مونوسیژنوز* و *سالمونلا اینتریتیدیس* انجام شد.

مواد و روش‌ها

- آماده‌سازی سوش‌های باکتریایی

سوش‌های استاندارد باکتری‌های *سالمونلا اینتریتیدیس* ATCC 1079، *یرسینیا انتروکولیتیکا* ATCC 1676، *لیستریا مونوسیژنوز* ATCC 1297 و *باسیلوس سوبتیلیس* ATCC 1254 به صورت لیوفیلیزه از کلکسیون میکروبی موسسه تحقیقات صنعتی ایران تهیه شد. نمونه‌های میکروبی براساس روش توصیه شده فعال‌سازی گردیدند. به‌منظور تهیه سوسپانسیون میکروبی از کشت تازه و جوان باکتری چند کلنی به محیط کشت مولر هیتتون برات منتقل شده و به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد تا کدورت حاصله مشابه کدورت لوله ۰/۵ مک‌فارلند معادل کدورت حاصل از رشد $1/5 \times 10^8$ cfu/ml باکتری گردد.

عصاره و شاهد محیط، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون ریخته شد. در نهایت از معرف رزازورین به مقدار ۱۰ میکرولیتر به تمامی خانه‌ها اضافه گردید.

پس از طی زمان انکوباسیون، گوده‌ها از نظر تغییر رنگ معرف رزازورین از رنگ آبی متمایل به بنفش به صورتی ناشی از رشد باکتری تلقیح شده بررسی گردیدند. کمترین رقت عصاره که در آن تغییر رنگ مشاهده نگردید (عدم رشد) به عنوان MIC در نظر گرفته شد. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره‌ها (MBC) از گوده‌هایی که در آن‌ها عدم رشد مشاهده شد بود، در سطح محیط کشت مولر-هیتون آگار کشت داده شد. محیط‌های کشت تلقیح شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. پلیت مربوط به گوده‌ای که حاوی کمترین غلظت عصاره بود که در آن رشد باکتری مشاهده نگردید به عنوان MBC عصاره در نظر گرفته شد.

هر یک از آزمایش‌ها در مورد هر باکتری ۳ بار تکرار شد. سپس نتایج به وسیله نسخه ۱۸ نرم افزار SPSS با استفاده از آزمون Student t-test در سطح معنی‌داری $p < 0/05$ تفسیر گردید.

یافته‌ها

- نتایج آزمون اثر ضدباکتریایی عصاره الکلی گیاه سیر در این تحقیق مشخص گردید که عصاره الکلی گیاه سیر اثر بازدارندگی قابل ملاحظه‌ای بر روی هر چهار باکتری مورد آزمایش داشت و با افزایش غلظت عصاره‌ها اثر بازدارندگی نیز افزایش پیدا کرد. با توجه به قطر هاله عدم رشد، میزان تأثیر عصاره به ترتیب بر روی باکتری‌های باسیلوس سوبتیلیس، یرسینیا انتروکولیتیکا،

با رقت‌های ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره پر شدند. آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل به عنوان شاهد مثبت و DMSO به عنوان شاهد منفی استفاده گردید. محیط‌های کشت به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس در انکوباتور قرار داده شد. پس از گذشت این مدت قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی‌متر) در پیرامون چاهک بررسی شدند. این پدیده یک ارتباط خطی بین قطر هاله و لگاریتم غلظت عصاره مورد آزمایش می‌باشد که با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد و مقایسه آن با استاندارد مشخص، قدرت ضد میکروبی عصاره مورد آزمایش تعیین می‌شود.

- تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی

روش میکروتیتر پلیت با استفاده از معرف رزازورین برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره‌ها استفاده گردید. در این روش از میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای ته‌گرد استریل استفاده شد. ابتدا در هر گوده میکروپلیت به میزان ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مولر-هیتون براث ریخته شد.

سپس در گوده اول و دوم ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره تهیه شده ریخته و سپس از گوده دوم ۱۰۰ میکرولیتر برداشته به گوده سوم و از سوم به چهارم الی گوده ۹ انتقال داده شد. از گوده ۹ مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره خارج گردید. به گوده شاهد باکتری عصاره اضافه نشد.

در مرحله بعد از کشت ۲۴ ساعته باکتری مورد نظر با کدورت نیم مک فارلند، رقت ۱ به ۱۰۰ تهیه شد ($1/5 \times 10^6$ cfu/ml) و در تمامی گوده‌ها به جز شاهد

میلی گرم در میلی لیتر بود و در مورد MBC به ترتیب ۰/۷۸ برای باسیلوس سوبتیلیس، ۳/۱۲ برای یرسینیا، ۱۲/۵ برای لیستریا و ۲۵ برای سالمونلا تعیین شد. مهارکنندگی و کشندگی باکتری در جداول (۲) و (۳) آمده است. کمترین میزان MIC در مورد باکتری باسیلوس سوبتیلیس با ۰/۳۹ و بیشترین مقدار آن در باکتری گیاه سیر به روش میکروتیتر پلیت با استفاده از معرف رزازورین تأیید شد.

لیستریا مونوسیتهوزنز، سالمونلا اینترتیدیس بود. تمام غلظت‌های مورد استفاده عصاره روی باکتری باسیلوس سوبتیلیس و یرسینیا/انتروکولیتیکا تأثیر مهاری داشتند ولی غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر هیچ تأثیری روی باکتری‌های لیستریا مونوسیتهوزنز و سالمونلا/انترتیدیس نشان نداد (جدول ۱).

سالمونلا/انترتیدیس با غلظت ۱۲/۵ میلی گرم در هر میلی لیتر مشاهده شد. این شاخص برای یرسینیا/انتروکولیتیکا ۳/۱۲ و لیستریا مونوسیتهوزنز ۶/۲۵

جدول (۱) - قطر هاله عدم رشد باکتری بر حسب میلی متر در غلظت‌های مختلف عصاره الکلی گیاه سیر به روش انتشار از چاهک

نام باکتری	غلظت عصاره (mg/ml)			
	۱۰	۱۰۰	۲۰۰	۴۰۰
باسیلوس سوبتیلیس	۷	۱۲/۳۲	۱۴/۸۴	۱۶/۹
یرسینیا/انتروکولیتیکا	-	۱۰/۴۷	۱۲/۹۰	۱۳/۷۰
لیستریا مونوسیتهوزنز	-	۹/۲۱	۱۱/۸۰	۱۲/۶۰
سالمونلا/انترتیدیس	-	-	۷	۱۱

جدول (۲) - نتایج تعیین حداقل غلظت کشندگی و حداقل غلظت مهارکنندگی غلظت‌های مختلف عصاره الکلی سیر

نام باکتری	تست	غلظت عصاره (mg/ml)										
		۰/۳۹	۰/۷۸	۱/۵۶	۳/۱۲	۶/۲۵	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰	شاهد	
		عصاره	محیط	باکتری								
باسیلوس سوبتیلیس	MIC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	MBC	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
سالمونلا/انترتیدیس	MIC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	MBC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
لیستریا مونوسیتهوزنز	MIC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	MBC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
یرسینیا/انتروکولیتیکا	MIC	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	MBC	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

جدول (۳) - حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی باکتری در غلظت‌های مختلف عصاره الکلی سیر

غلظت عصاره (mg/ml)		نام باکتری
MBC	MIC	
۰/۷۸	۰/۳۹	باسیلوس سوبتیلیس
۳/۱۲	۱/۵۶	یرسینیا ایتروکولیتیکا
۱۲/۵	۶/۲۵	لیستریا مونوسیژنوز
۲۵	۱۲/۵	سالمونلا ایترتیدیس

بحث و نتیجه‌گیری

توجهی از خود نسبت به عصاره الکلی سیر نشان دادند. در غلظت‌های بالا (۱۰۰ mg/ml)، هیچ کدام از باکتری‌های مورد آزمایش توانایی رشد نداشتند. نتایج تست‌های آنتی‌باکتریال عصاره متانولی نشان دهنده میزان تأثیر عصاره به ترتیب بر روی باکتری‌های باسیلوس سوبتیلیس، یرسینیا ایتروکولیتیکا، لیستریا مونوسیژنوز و سالمونلا ایترتیدیس می‌باشد.

مطالعه‌ای که در مورد اثر عصاره و پودر سیر، روی باسیلوس کوآگولانس (*Bacillus coagulans*)، مهم‌ترین باکتری آلوده‌کننده رب گوجه‌فرنگی که با افزودن سیر و عصاره آن به رب‌های گوجه‌فرنگی آلوده به باکتری انجام گرفته، نشان داده که سیر می‌تواند به‌عنوان ممانعت کننده از رشد این باکتری در رب گوجه‌فرنگی عمل کند و به‌عنوان نگهدارنده به‌جای افزودنی‌های شیمیایی می‌توان از آن استفاده کرد (Salouti, 2002) که با نتیجه حاصل از مطالعه حاضر در خصوص اثر بر روی دیگر جنس خانواده باسیلاسه همخوانی دارد.

در مطالعه‌ای دیگر که در رابطه با اثرات ضد میکروبی سیر بر روی باکتری سالمونلا تیفی‌موریوم و شیگلا دیسانتری (*Shigella dysentery*) با روش انتشار از دیسک و رقت در آگار انجام گرفت، مشخص شد که

با توجه به نگرانی مصرف‌کنندگان و متولیان بهداشتی در مورد استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی و مضرات آن‌ها، در سال‌های اخیر تولیدکنندگان مواد غذایی به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی در مواد غذایی گرایش پیدا نموده‌اند. لذا مطالعات مختلفی در ارتباط با اثر اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی مختلف بر روی پاتوژن‌های مهم غذایی انجام شده است (Smith et al., 1998; Sadic et al., 2003; Erturk, 2006; Islam et al., 2008; Sadeghizali et al., 2010; Shetty et al., 2013; Bokaeian et al., 2015). با توجه به خواص دارویی این گیاه مثل قابلیت آنتی‌اکسیدانی، خواص ضدالتهابی و ضدسرطانی از سیر برای درمان بیماری‌های مختلف استفاده می‌شود (Ghadimipour et al., 2015; Hadjzadeh et al., 2006).

در این تحقیق مشخص گردید که عصاره الکلی گیاه سیر اثرات مهاری قابل توجهی بر روی باکتری‌های مورد آزمایش دارد. در این بین اثرات مهاری برای باکتری‌های باسیلوس سوبتیلیس و یرسینیا ایتروکولیتیکا بیشتر از دیگر باکتری‌های مورد آزمایش بود. به طوری که در غلظت ۵۰ mg/ml باکتری سالمونلا ایترتیدیس مقاومت نسبی داشت در حالی که دو باکتری اول حساسیت قابل

در مطالعه حاضر کمترین میزان MIC در مورد باکتری باسیلوس سوبتیلیس با ۰/۳۹ و بیشترین مقدار آن در باکتری سالمونلا ایتريتیدیس با غلظت ۱۲/۵ میلی گرم در هر میلی لیتر مشاهده شد. این شاخص برای یرسینیا اتروکولیتیکا ۳/۱۲ و لیستریا منوسیوتونز ۶/۲۵ میلی گرم در میلی لیتر بود. میزان MIC در مورد باکتری های مختلف و برخی باکتری های مورد آزمایش در این تحقیق با نتایج مطالعات دیگر تفاوت هایی را نشان می دهد. یکی از دلایل تفاوت در میزان MIC در مطالعات مختلف اختلاف ترکیب عصاره ها می باشد. ترکیبات عصاره های حاصل از یک گونه گیاهی می تواند بر اساس جغرافیای منطقه، فصل برداشت، سن گیاه، مرحله رشد و روش خشک کردن و استخراج متفاوت باشد (Kazemipour et al., 2005). به طور کلی عصاره در گیاه در طی گل دهی و یا بلافاصله پس از گل دهی دارای بیشترین فعالیت ضد میکروبی است و ترکیبات عصاره های بدست آمده از بخش های مختلف یک گیاه خاص نیز فعالیت ضد میکروبی متفاوتی دارد. اختلاف در روش های ارزیابی بررسی خواص ضدباکتریایی عصاره ها می تواند سبب نتایج متفاوت در میزان اثرات ضدباکتریایی و همچنین MIC و MBC محاسبه شده در تحقیقات باشد.

بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره متانولی گیاه سیر، نشان داد که عصاره های الکلی این گیاه تأثیر متفاوتی بر روی باکتری ها داشت. علت تأثیر متفاوت عصاره الکلی بر روی رشد باکتری های مختلف ممکن است به دلایل متفاوتی از جمله: تفاوت ساختاری موجود بین دیواره این باکتری ها و یا مقاومت ذاتی باکتری، تفاوت در نوع دیواره باکتری (گرم مثبت، منفی یا اسید فست)، تفاوت

عصاره الکلی سیر از رشد این باکتری ها جلوگیری می کند، که با اثراتی که در تحقیق حاضر روی سالمونلاها بدست آمد مطابقت می کند. (et al., 2009) Aliporyegane

برخی مطالعات نشان دهنده تأثیر محل کشت بر خواص ضدباکتریایی سیر هستند به طوری که در مطالعه ای اثر ضداتروکوکوی عصاره سیر جنوب کشور (جیرفت) بیشتر از سیر شمال (بابل) گزارش شده است (Kazemipour et al., 2005). برخی از تحقیقات نشان می دهند که عصاره های کلروفرمی و آبی سیر با دوز مناسب می تواند باعث کاهش کلونی های سالمونلا تیفی موریوم (*Salmonella typhimurium*) در مدفوع خرگوش های که بطور تجربی به این باکتری ها آلوده شده اند، شود و در درمان سالمونلوزیس کاربرد داشته باشد. این یافته ها با اثراتی که در تحقیق حاضر روی سالمونلاها بدست آمد، مطابقت دارد (Jalali et al., 2008; Jafari et al., 2004)

مطالعه ای در خصوص تأثیر عصاره آبی سیر بر روی میکروارگانیزم های جدا شده از زخم های دامپزشکی نشان دهنده تأثیر این عصاره بر روی عوامل ایجاد کننده عفونت زخم از جمله سالمونلا و باسیلوس می باشد که در مطالعه حاضر نیز تحت مطالعه قرار گرفته و تأیید شده است (Tajik and Shokuhi, 2008).

مطالعات انجام شده نشان داد که عصاره الکلی سیر می تواند از رشد باکتری های کلبسیلا نومونیه، اشریشیا کولای، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و باسیلوس سوبتیلیس ممانعت نماید، که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد (Ankri and Mirelman, 1999).

گیاهی را به‌عنوان نگهدارنده مواد غذایی پیشنهاد داد (Skandamis *et al.*, 2002; Islam *et al.*, 2008).

با عنایت بر این‌که هر چهار باکتری مورد آزمایش، در دام و طیور نیز بیماری‌زا بوده و در مرغداری‌ها و دامداری‌ها شایع می‌باشند و با توجه به نتایج این تحقیق که نشان می‌دهد عصاره سیر بروی رشد هر چهار باکتری فوق اثر بازدارندگی دارد، می‌توان از سیر در دامداری‌ها و مخصوصاً در مرغداری‌ها به‌عنوان مکمل غذایی برای دام و طیور استفاده کرد.

در مجموع می‌توان گفت که عصاره الکلی سیر دارای خاصیت ضدباکتریایی مناسب برعلیه باکتری‌های مورد مطالعه بود و همچنین ذائقه مصرف‌کنندگان ایرانی نسبت به مصرف سیر و ارزان بودن آن، این عصاره به‌عنوان یک نگهدارنده طبیعی در مواد غذایی مختلف می‌تواند مورد ارزیابی قرار گیرد.

در محل زیست و توانایی باکتری در زندگی داخل سلول باشد. در مطالعه حاضر بیشترین مقاومت به عصاره را *سالمونلا* /نتریتیدیس نشان داد که علت احتمالی آن وجود لیپوپلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی باکتری‌های گرم‌منفی می‌باشد که مانند سدی از عبور مولکول‌های بزرگ و آب‌گریز ممانعت می‌کند و از آن‌جایی که اکثر ترکیبات موثر موجود در عصاره‌ها و اسانس‌ها ماهیت آبگریزی دارند لذا می‌توان چنین نتیجه گرفت که این مواد امکان نفوذ و دسترسی به نقاط فعال داخل باکتری‌های گرم‌منفی را ندارند. باکتری لیستریا هم مقاوم‌تر از باکتری‌های دیگر گرم‌مثبت و منفی بود که احتمالاً به‌دلیل ماهیت داخل سلولی این باکتری باشد.

براساس نتایج مطالعه حاضر و سایر مطالعات بر روی عصاره‌های دیگر گیاهی، همچنین با توجه به مضرات افزودنی‌های شیمیایی، می‌توان عصاره‌های

منابع

- Aliporyegane M., Tajik, H., Zadehashem, E., Farkhondeh, T., Sadighara, P. and Sabah S. (2009). Inhibitory effect of garlic extract on the growth of *Salmonella Typhimurium* and *Shigella dysenteric*. Knowledge & Health; 4(2): 6–9 [In Persian].
- Alqattan, K., Alnaqeeb, M. and Ali, M. (1999). The antihypertensive effect of garlic (*Allium sativum*) in the rat two-kidney–one-clip Goldblatt model. Journal of Journal of Ethnopharmacology, 66(2): 217–222.
- Ankri, S. and Mirelman, D. (1999). Antimicrobial properties of allicin from garlic. Microbes Infection, 1(2):75–80.
- Bahmani, M., Avijgan, M., Hossaini, S.R., Najafzadeh Varizi, H., Bahmani E. and Mehrzadi, S. (2010). Traditional application of medicinal plants in southern area of Ilam province for treatment diseases and clinical syndromes in small ruminants. Journal of Herbal Drugs .1(2): 49–57.
- Biedermann, B. (1995). [Garlic a "secret miracle of God"?]. Praxis, 84: 7–10.
- Bokaeian, M., Kyghobadi, S., Farazmand, R. and Saeidi, S. (2015). Study of antimicrobial activity of *Allium sativum* extract on *Staphylococcus aureus* strains resistant to different antibiotics, 28(1): 34–41 [In Persian].

- Canillac, N. and Mourey, A. (2001). Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. *Food Microbiology*, 18(3): 261–268.
- Djenane, D., Yanguela, J., Amrouche, T., Boubrit, S., Boussad, N. and Roncales, P., (2011). Chemical composition and antimicrobial effects of essential oils of *Eucalyptus globulus*, *Myrtus communis* and *Satureja hortensis* against *Escherichia coli* O157: H7 and *Staphylococcus aureus* in minced beef. *Food Science and Technology International*, 17(6): 505–515.
- Erturk, Ö. (2006). Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice plants. *Biologia bratislava*, 61(3): 275–278.
- Ghadimipour, R., Sedigh-Eteghad, S., Chalangar, R., Alipoor-yeganeh, M., Khadiri, B., Afkari, G. (2015). In Vitro antibacterial properties of aqueous extract of garlic against on common diarrhea causing bacteria. *Journal of North Khorasan University of Medical Sciences*, 7(2): 357–367 [In Persian].
- Hadjzadeh, M., Tavakol, Afshari, J., Ghorbani, A., Shakeri, M. (2006). The effects of aqueous extract of Garlic (*Allium sativum* L.) on laryngeal cancer cells (Hep-2) and L929 cells in vitro. *Journal of Medicinal Plant*. 2 (18): 41–48 [In Persian]
- Harris, J. C., Cottrel, S. L., Plummer, S. and Lloyd, D. (2001). Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57(3): 282–286.
- Islam, M., Barua, S., Das, S., Khan, M. and Ahmed, A. (2008). Antibacterial activity of some indigenous medicinal plants. *Journal of Soil Nature*, 2(3): 26–28.
- Jalali, M.R., Jafari, H., Owlia, P., Fallah, N. and Davati A. (2008). In vivo antibacterial effects of garlic aqueous extract on *Salmonella typhimurium* infected rabbits. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plant*. 23(4): 453–457 [In Persian].
- Jafari H., Jalali, M.R. and Ghrebaghi, R. (2004). Effect of garlic on *Salmonella typhimurium* colonies. *The Journal of Qazvin University of Medical Sciences*, 7(25): 8–12 [In Persian].
- Jensen, W.B. (2007). The origin of the Soxhlet extractor. *Journal of Chemical Education*, 84(12): 13–19.
- Joerger, R. (2003). Alternatives to antibiotics: bacteriocins, antimicrobial peptides and bacteriophages. *Poultry Science*, 82(4): 640–647
- Kazemipour, Y., Rezaei, M. and Keivany, Y. (2005). Qualitative comparison of effects of garlic and mallow and motherwort extracts in healing of superficial wounds in the common carp (*Cyprinus carpio*). *Pajouhesh & Sazandegi*. 66: 93–97 [In Persian].
- Orekhov, A.N. and Grunwald, J. (1997). Effects of garlic on atherosclerosis. *Nutrition*, 13(7): 656–663.
- Sadeghizali, M., Abbasiazar, M., Hashempour, A., Delshad, R. and Farahpour, H. (2010). The effect of aqueous extract of garlic on the bacteria *Streptococcus agalactiae* and *Pasteurella multocida* in vitro. *Navidno*; 9(47-48): 81–84 [In Persian].
- Sagdic, O., Karahan, A., Ozcan, M. and Ozkan, G. (2003). Note: effect of some spice extracts on bacterial inhibition. *Food Science and Technology International*, 9(5): 353–358.
- Salouti S. (2002). Application of garlic as a preservative in industries tomato paste. *Journal of Medicinal Plants*, 1(3):45–50 [In Persian].
- Shetty, S., Thomas, B., Shetty, V., Bhandry, R. and Shetty, R.M. (2013). An in-vitro evaluation of the efficacy of garlic extract as an antimicrobial agent on periodontal pathogens: A microbiological study. *Ayu*, 34(4): 445–451.

- Skandamis, P., Tsigarida, E. and Nychas, G.E. (2002). The effect of oregano essential oil on survival/death of *Salmonella typhimurium* in meat stored at 5°C under aerobic, VP/MAP conditions. *Food Microbiology*, 19(1): 97–103.
- Tajik, H., Shokuhi, S. and Jalali, F. (2008). In vitro assessment of antimicrobial efficacy of aqueous extract of garlic against wound-infecting microorganisms. *Journal of Medicinal Plant*. 2(26): 10–15. [In Persian].
- Smith-palmer, A., Stewart, J. and Fyfe, L. (1998). Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Letters in applied microbiology*, 26(2): 118–122.
- Thomson, M. and Ali, M. (2003). Garlic (*Allium sativum*): a review of its potential use as anti-cancer agent. *Current Cancer Drug Targets*. 3(1): 67–81.
- Vanne, L., Karwoski, M., Karppinen, S. and Sjoberg, J.A.M. (1996). HACCP-based food quality control and rapid detection methods for microorganisms. *Food Control*, 7(6): 263–276.
- Zarghari, E. (1996). *Iran Medicinal Plant*. Tehran University Press. pp: 256–271 and 619–626 [In Persian].

Archive of SID

Effect of alcoholic extract of garlic (*Allium sativum*) on some food born pathogenic bacteria

Ghiami Rad, M.^{1*}, Akbari, R.², Safari, A.²

1. Assistant professor of Department of Microbiology, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran

2. M.Sc Graduated in Microbiology, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran

*Corresponding author's email: m_ghiyamirad@yahoo.com

(Received: 2015/4/14 Accepted: 2016/12/18)

Abstract

According to consumers' desire to consume foods without preservatives or containing a natural preservative, the use of plant extracts as a food preservative instead of chemicals has increased. This study was conducted to determine the antibacterial effect of different concentration of alcoholic extract of garlic (*Allium sativum*) on standard strains of *Salmonella enteritidis*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica*. For this purpose, the agar well diffusion method was used. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) were measured with microtiter plate method using the rezazurin reagent. The results showed that garlic alcoholic extract had an inhibitory effect on any four tested bacteria. The highest inhibitory effect was observed on *B. subtilis*; meanwhile, the slightest effect was found on *S. enteritidis*. The minimum inhibitory concentration of 0.39 mg/ml was observed for *B. subtilis*, however the highest amount was estimated at 12.5 mg/ml for *S. enteritidis*. According to the results of recent research it was concluded that alcoholic extract of garlic had appropriate antibacterial impact against bacteria and therefore could be used as a natural preservative in various foods.

Keywords: Garlic extract, Anti-bacterial effect, MIC, MBC