

## ارزیابی اثرات ضد باکتریایی عصاره‌های آبی و الکلی گیاه گلرنگ بر روی تعدادی از باکتری‌ها

روحا- کسری کرمانشاهی\*، فریبرز معطر و علیرضا سلیمانی منش

\*گروه بیولوژی - دانشگاه اصفهان

گروه فارماکوگنوزی - دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

پست الکترونیکی: rkasra@yahoo.com

### چکیده

اخیراً توجه به تحقیقات دارویی برای جایگزینی داروهای شیمیایی توسط گیاهان دارویی سنتی معطوف گردیده است و بدین ترتیب ایجاد پایه علمی برای شناسایی اثرات آن‌ها، امری لازم است. لذا در این پژوهش اثرات عصاره‌های آبی و الکلی (اتانولی) از گلرنگ را بر روی باکتری‌های گرم مثبت: استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس فکالیس و باسیلوس سرئوس و نیز بر روی باکتری‌های گرم منفی: سالمونلاتیفی، اشیریشیاکلی و شیگلافلکسنزی بررسی گردید. نتایج آزمایشات نشان داد، که عصاره‌های آبی و الکلی در غلظت اصلی ۱ gr/ml دارای اثرات ضد میکروبی قابل ملاحظه‌ای بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس فکالیس و سالمونلاتیفی می‌باشد، درحالی که بر روی باکتری‌های اشیریشیاکلی، باسیلوس سرئوس و شیگلافلکسنزی فاقد اثر ضد میکروبی است. حداقل غلظت کشنده باکتری عصاره‌های گیاه با حداقل غلظت کشنده باکتری آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین G و کلرآمفنیکل سدیم سوکسینات مقایسه شد. حداقل غلظت بازدارنده رشد باکتری و حداقل غلظت کشنده باکتری به ترتیب با روش سری رقت لوله‌ای و آگار پلیت تعیین شد. حداقل غلظت کشنده عصاره اتانولی مربوط به باکتری سالمونلاتیفی برابر با ۲۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و کلرآمفنیکل سدیم سوکسینات برای این باکتری معادل ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تعیین گردید. این عصاره برای استافیلوکوکوس اورئوس برابر با ۱۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و پنی‌سیلین G بر روی باکتری فوق برابر ۵ واحد در میلی‌لیتر می‌باشد. با روش‌های مختلف آنالیز، فیتوشیمیایی عصاره‌ها، نظیر آزمایش ویلسون-تابوک، آزمایش شینودا و واکنش‌های با لجت و کد و مورن-تراگر، تست لیبرمن-بورشارد و تست سالکوفسکی انجام شد. مشخص شده است که آلکالوئیدها و فلاونوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها و تری‌پرنوئیدها در عصاره‌های این گیاه وجود دارند. مطالعات گوناگون نشان داده است که گیاهان غنی از ترکیبات فنلی دارای فعالیت ضد میکروبی علیه تعداد زیادی از میکروارگانیسم‌ها می‌باشند. بنابراین عصاره‌های این گیاه می‌تواند به عنوان یک منبع بالقوه برای داروهای جدید در نظر گرفته شود.

واژه‌های کلیدی: عصاره، ضد میکروب، گیاه گلرنگ، باکتری‌ها.

## مقدمه

و [۵]، در این پژوهش اثرات ضد میکروبی گیاه مزبور بر روی باکتری‌های عامل عفونت‌های گوناگون مورد بررسی قرار داده شده است.

## روش‌ها و مواد

روش فیتوشیمیایی مقدماتی گیاه به کار رفته گیاه کامل (ریشه و دانه) از باغ نباتات دارویی دانشگاه اصفهان در اواخر فصل بهار جمع‌آوری و بعد از خشک نمودن در حرارت آزمایشگاه، توسط آسیاب خرد و الک گردید. سپس مهم‌ترین مواد متشکله گیاه از جمله آلکالوئیدها، گلیکوزیدهای قلبی، ساپونین‌ها، تانن‌ها و ترکیبات پلی فنلیک، فلاونوئیدها، استروئیدها و تری‌ترپنوئیدها مورد بررسی قرار گرفتند. جهت شناسایی الکلوئیدها از معرف یدومایر و استروئیدها و ترپنوئیدها به ترتیب از تست لیبرمن بورشاد و نیز تست سالکوفسکی و جداسازی و شناسایی گلیکوزیدهای قلبی از روش واکنش با لجت و واکنش کد و ترکیبات آنتراکینون‌ها از آزمایش بورن - تراگر و ساپونین‌ها از روش ایجاد کف، تانن‌ها و ترکیبات پلی فنلیک از روش واکنش رنگی با محلول کلرورفریک و نیز واکنش ایجاد رسوب با محلول استات سرب، و فلاونوئیدها از روش ویلسون تابوک و نیز تست شینودا طبق منبع [۶] استفاده شد. عصاره آبی و الکلی با روش ماسراسیون انجام شد [۷].

توسعه داروهای ضد میکروبی یکی از مهم‌ترین پیشرفت‌ها در درمان می‌باشد. داروهای گیاهی به علت داشتن منشاء طبیعی نسبت به داروهای شیمیایی با ارگانسیم‌های بدن سازگاری بیشتری داشته و عوارض آن‌ها نادر است [۱]. امروزه عقیده بر این است که استفاده از عصاره تام گیاه به جای مواد مؤثره جدا شده از آن به علت اثر سینرژیسم و اثر پوشاننده سمیت بین مواد موجود در گیاه در بسیاری موارد ارجحیت داشته و اثر درمانی بهتری به دست می‌آید [۱].

در طی چهل سال اخیر کوشش‌های فراوانی جهت یافتن آنتی‌بیوتیک‌های جدید که از نظر بالینی مفید باشند، صورت گرفته و این امر موجب تولید بیش از هزار نوع آنتی‌بیوتیک گردیده است [۲].

اما علت عمده توجه به گیاه درمانی از این رو است که گیاهان از قرن‌های پیش مورد توجه پزشکان بوده و اثرات درمانی و بی‌ضرر آن‌ها در طول سال‌های متمادی تجربه و به ثبت رسیده است [۳]. باید یادآور شد که با پیدایش مقاومت‌های روزافزون میکروب‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها انجام اقدامات جدیدتری در این زمینه ضرورت دارد.

با توجه به خواص درمانی گوناگون گیاه گلرنگ، نظیر مقوی سلسله اعصاب، خلط‌آور و قاعده‌آور بودن و نیز کاربرد آن در طب سنتی که دانه این گیاه به عنوان ملین و ضد تعریق، سقط کننده جنین و ضماد آن با سرکه جهت خارش بدن و باد سرخ و ورم کبد مورد استفاده قرار می‌گرفته است [۴]

## چگونگی تهیه عصاره‌های آبی و الکلی با روش

### ماسراسیون

برای تهیه عصاره آبی ۲۵ گرم پودر خشک تهیه شده از گیاه کامل گلرنگ را با ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر دوبار تقطیر شده در یک ارلن سر سمباده‌دار ۵۰۰ میلی‌لیتری مخلوط نموده و به مدت ۲۴ ساعت در حرارت آزمایشگاه قرار داده شد و در انتها به مدت ۳ ساعت بر روی شیکر با حرارت ملایم قرار داده و سپس محتویات ارلن، از صافی عبور داده شد [۷]. در ادامه عمل با استفاده از دستگاه تقطیر در خلاء، محلول مزبور در حرارت  $35 \pm 5$  درجه سانتی‌گراد تا یک دهم حجم اولیه تغلیظ گردید. عصاره الکلی آن نیز مانند عصاره آبی تهیه گردید ولی به جای آب از ۲۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درجه استفاده شد. بعد از تغلیظ عصاره با دستگاه تقطیر در خلاء، به وسیله اتانول ۱۰ درجه حجم آن به یک دهم حجم اولیه رسانده شد [۸].

### کنترل کیفی عصاره‌ها

تعیین فاکتور pH با روش پتانسیومتری انجام شد و دانسیته عصاره‌ها و درجه الکلی آن‌ها تعیین گردید [۸].

### باکتری‌های به کار رفته در این تحقیق

باکتری‌های به کار رفته در این پژوهش از نمونه‌های بیمارستانی جداسازی و شناسایی شدند. باکتری‌های مزبور در محیط کشت نوترینت آگار در لوله‌های

آزمایش که به صورت مورب<sup>۱</sup> تهیه شده بودند کشت و در یخچال نگهداری گردیدند. علت انتخاب آن‌ها بیماری‌زا بودن آن‌ها در دستگاه گوارش می‌باشد [۹].

### روش بررسی اثر ضد میکروبی

جهت بررسی اثر ضد میکروبی عصاره گیاه گلرنگ از دو روش انتشار و رقت استفاده شد، که در مورد اول از روش چاهک پلیت و در مورد دوم، از روش رقت لوله‌ای که جهت تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد باکتری (MIC<sup>۲</sup>) و متعاقب آن با روش کشت در پلیت برای تعیین حداقل غلظت کشنده باکتری (MBC<sup>۳</sup>) استفاده شد [۹]. جهت تهیه مایه میکروبی ۴ تا ۵ کلنی مجزا از باکتری مورد نظر را از محیط کشت ذخیره برداشته و به یک لوله حاوی ۴ تا ۵ میلی‌لیتر محیط مایع آبگوشت منتقل و بعد از ۲۴ ساعت رشد، به محیط مایع آبگوشت جدید منتقل گردید. سپس با قرار دادن در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲-۴ ساعت برحسب باکتری صبر نموده تا کدورت آن به میزان استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند برسد. سپس آن را روی پلیت تلقیح نموده و با ایجاد چاهک‌ها و ریختن عصاره به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر با غلظت‌های مختلف (۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ mg/ml) در آن، کشت در ۳۷ °C اتوگذاری شد و تشکیل هاله‌های عدم رشد بعد از ۲۴ ساعت اندازه‌گیری گردید.

1- Slant

2- Minimal inhibitory concentration

3- Minimal bactericidal concentration

## تهیه آنتی‌بیوتیک استاندارد

از پنی‌سیلین G به عنوان آنتی‌بیوتیک استاندارد جهت ارزیابی عصاره گیاه بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس فکالیس و از کلرامفنیکل سدیم سوکسینات جهت ارزیابی عصاره مذکور بر روی باکتری سالمونلاتیفی استفاده شد. عصاره گیاه گلرنگ به دلیل فاقد اثر بودن، بر روی سایر باکتری‌های به کار رفته آنتی‌بیوتیکی اثر داده نشد.

## محاسبات آماری

جهت کاهش خطای آزمایش به انجام آزمایشات مکرر مبادرت گردید، لذا آزمایش پنج بار تکرار شد و میانگین نتایج آزمایش‌ها و استانداردها همچنین میزان انحراف معیار محاسبه گردید و قطر ناحیه عدم رشد از رابطه (انحراف معیار  $\pm$  میانگین) به دست آمد. انحراف معیار (SD) از رابطه زیر محاسبه شد:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{N - 1}}$$

در این رابطه  $x$  قطر ناحیه عدم رشد در یکبار،  $\bar{x}$  میانگین قطر ناحیه عدم رشد و  $N$  تعداد آزمایشات می‌باشد. جهت بررسی وجود اختلاف معنی‌دار در نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس استفاده شده و همچنین آزمون چند دامنه‌ای دانکن به منظور بررسی معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها به کار گرفته شد [۱۰].

## نتایج

نتایج مربوط به محاسبات انجام شده برای تعیین pH و دانسیته عصاره‌های آبی و الکلی گیاه گلرنگ در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- میانگین مقادیر محاسبه شده pH و دانسیته عصاره‌های مختلف الکلی و آبی گیاه گلرنگ

نوع عصاره	pH $\pm$ SD میانگین	میانگین دانسیته
عصاره آبی گیاه گلرنگ	6/12 $\pm$ 0/24	1/08
عصاره الکلی گیاه گلرنگ	5/73 $\pm$ 0/36	1/06

نتایج حاصل از بررسی آزمایش‌های فیتوشیمیایی مقدماتی بر روی گیاه گلرنگ که به منظور تعیین وجود یا عدم وجود مهم‌ترین مواد تشکیل دهنده گیاهی در جدول ۲ آمده است.

عصاره الکلی و آبی گیاه گلرنگ اثر ضد میکروبی خوبی بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس فکالیس و سالمونلاتیفی در غلظت اصلی یک گرم در میلی‌لیتر نشان دادند، ولی عصاره مذکور بر روی باکتری‌های باسیلوس سرئوس، اشریشیاکلی و شیگلا فلکسنری فاقد اثر بود (جدول ۳ و ۴).

مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره‌های الکلی و آبی گیاه با پنی‌سیلین G بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس فکالیس نشان داد که قطر ناحیه عدم رشد عصاره الکلی و آبی

به ترتیب با کلرآمفنیکل سدیم سوکسینات بر روی باکتری سالمونلاتیفی نشان داد که قطر ناحیه عدم رشد عصاره الکلی و آبی این گیاه با غلظت ۱ گرم در میلی لیتر بر روی باکتری مزبور  $0.3 \pm 12$  میلی متر بود که تقریباً با میانگین قطر هاله عدم رشد ناشی از ۵ میلی گرم در میلی لیتر کلرآمفنیکل سدیم سوکسینات برابر شد.

گیاه با غلظت ۱ گرم در میلی لیتر بر روی استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب برابر  $0.3 \pm 16$  و  $0.3 \pm 17$  میلی متر و بر روی باکتری استرپتوکوکوس فکالیس برای هر دو عصاره  $0.2 \pm 18$  میلی متر بود که تقریباً برابر با میانگین قطر هاله عدم رشد ناشی از ۳۰ واحد پنی سیلین G است. مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره الکلی و آبی قسمت های مختلف گیاه گلرنگ

جدول ۲- نتایج حاصل از بررسی آزمایش های فیتوشیمیایی مقدماتی بر روی گیاه گلرنگ

نتیجه*	مشاهدات	روش بررسی	نوع ماده
+	۳۶۵ نانومتر توسط لامپ u.v	رنگ زرد مایل به سبز در طول موج	فلاونوئیدها
-	عدم ایجاد رنگ قرمز	شینودا	
+	ایجاد رسوب قهوه ای مایل به سیاه	معرف ید	آلکالوئیدها
+	ایجاد رسوب سفید مایل به زرد	معرف مایر	
-	عدم ایجاد کف	آزمایش ایجاد کف	ساپونین ها
-	عدم وجود رنگ آبی و سبز	محلول کلرور فریک	تانن ها
-	عدم وجود رسوب سفید مایل به زرد	محلول استات سرب	
+	ایجاد رنگ نارنجی	واکنش بالجت	گلیکوزیدهای قلبی
-	عدم ایجاد رنگ ارغوانی	واکنش کد	(کاردنولیدها)
-	عدم ایجاد رنگ زرد	واکنش بورن تراگر	آنتراکینون ها
-	عدم وجود رنگ سبز مایل به آبی	تست لیبرمن بورشارد	استروئیدها و تری ترپنوئیدها
-	عدم وجود حلقه رنگی ارغوانی	تست سالکوفسکی	

\* علائم مثبت و منفی نشان دهنده وجود و یا عدم وجود گروه های مواد مورد بررسی می باشد.

جدول ۳- مقایسه قطر هاله‌های عدم رشد ایجاد شده (برحسب میلی‌متر) در اثر مصرف ۰/۱ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره الکلی تازه گلرنگ بر روی باکتری‌های مختلف با متد چاهک پلیت (میانگین ۵ بار آزمایش)

قطر هاله ایجاد شده به وسیله عصاره در غلظت				نوع باکتری
۱۲۵ mg/ml	۲۵۰ mg/ml	۵۰۰ mg/ml	۱۰۰۰ mg/ml	
۱۰ ± ۰/۲	۱۳ ± ۰/۳	۱۵ ± ۰/۱	۱۸ ± ۰/۳	استافیلوکوکوس اورئوس
۱۱ ± ۰/۲	۱۴ ± ۰/۱	۱۷ ± ۰/۳	۱۹ ± ۰/۲	استرپتوکوکوس فکالیس
۱۰ ± ۰/۱	۱۱ ± ۰/۳	۱۲ ± ۰/۲	۱۵ ± ۰/۳	سالمونلاتیفی
۶	۶	۶	۶	باسیلوس سرئوس
۶	۶	۶	۶	اشریشیاکلی
۶	۶	۶	۶	شیگلا فلکسنری

نتایج به صورت ( $\bar{X} \pm SD$ ) گزارش شده است و قطر ۶ میلی‌متر برابر با قطر چاهک است.

عصاره الکلی گیاه گلرنگ بر روی سالمونلاتیفی برابر ۲۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود و MIC آن برابر ۱۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به دست آمد و در مقایسه با کلرآمفنیکل سدیم سوکسینات، MBC کلرآمفنیکل سدیم سوکسینات بر روی باکتری فوق برابر با ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تعیین شد.

#### بحث و نتیجه‌گیری

گلرنگ یک گیاه دارویی سنتی است که در طب سنتی مصارف گوناگونی داشته و در صنایع مختلف نیز به آثار ضد میکروبی گیاه فوق نیز اشاره گردیده است [۱]. ولی تاکنون هیچ گزارش مستندی دال بر انجام بررسی اثر ضد میکروبی آن انجام نشده است. وجود مقادیر قابل ملاحظه‌ای از آکالوئید، گلیکوزید و فلاونوئید در این گیاه موجب انجام این پژوهش شد. احتمالاً فلاونوئیدها مسئول اثر ضد باکتریایی گیاه

میزان حداقل غلظت بازدارنده رشد استافیلوکوکوس اورئوس توسط عصاره الکلی گیاه گلرنگ برابر ( $MIC = 31/2 \text{ mg/ml}$ ) به دست آمد. میزان غلظت کشنده عصاره مزبور بر روی این باکتری بیشتر از MIC آن گردید و برابر با ( $125 \text{ mg/ml} = MBC$ ) تعیین شد. با مقایسه مقدار MBC عصاره الکلی این گیاه بر روی باکتری مزبور و مقدار MBC تعیین شده توسط پنی‌سیلین G بر روی همین باکتری، مشخص شد که میزان MBC عصاره الکلی گلرنگ با MBC ۵ واحد پنی‌سیلین G بر روی این باکتری برابر است. عصاره آبی گیاه گلرنگ بر روی استافیلوکوکوس اورئوس دارای MBC برابر با ۲۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود که از MIC آن به میزان ۶۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بیشتر بوده و در مقایسه با MBC پنی‌سیلین G بر روی همین باکتری با اثر ۵ واحد از این آنتی‌بیوتیک برابر می‌باشد. MBC

مربوط به هیدرولیز گلیکوزیدی آن در اثر جوشاندن کوتاه مدت دانست.

با توجه به این مطلب که وجود ترکیبات رنگی و آنتوسیانین‌ها در این گیاه و میوه شاه توت به اثبات رسیده [۱۵] است و آنتوسیانین‌های این گیاهان بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس دارای اثرات ضد میکروبی قابل ملاحظه‌ای می‌باشد، لذا با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان با استفاده از ماده رنگی حاوی آنتوسیانین میوه شاه توت و یا مواد رنگی گیاه مورد مطالعه در صنایع غذایی که رنگ‌دهی بسیار مناسب نیز دارند موجب جلوگیری از رشد بعضی از میکروب‌های مضر بر روی آن‌ها شده و کیفیت مواد غذایی را بالا برد [۱۵].

در این پژوهش با توجه به شناخت اثر ضد میکروبی گیاه و وجود مقادیر قابل توجهی از فلاونوئید، گلیکوزید و آلکالوئید در آن و همچنین ترکیبات رنگی آنتوسیانین‌ها، صحت کاربرد این گیاه در درمان ذات‌الریه و اسهال در طب سنتی، آشکار می‌شود.

افزون بر این با توجه به اثرات قابل ملاحظه عصاره‌های آبی و الکلی گلرنگ بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس فکالیس و اثرات کمتر بر روی سالمونلاتیفی به نظر می‌رسد پس از بررسی‌های گسترده و آزمایشات لازم از نظر بالینی، استفاده از آن به صورت یک فرآورده دارویی می‌تواند جهت درمان عفونت‌ها و زخم‌های چرکی و بعضی از بیماری‌های عفونی نظیر پنومونی و اسهال حائز اهمیت و قابل توجه باشد.

می‌باشند. اثبات اثر ضد میکروبی فلاونوئید نتیجه تحقیقاتی است که هارش و همکارانش [۱۱] و نیز یگانه [۱۲] بر روی این ماده انجام داده‌اند. نظر به این که بهترین حلال برای فلاونوئیدها، محلول آبی و الکلی  $80-70^{\circ}\text{C}$  درجه می‌باشد [۱۳] و نیز مشاهده اثر ضد میکروبی عصاره‌های الکلی و آبی گیاه، دخیل بودن فلاونوئیدها در اثرات ضد میکروبی در این گیاه را روشن تر می‌نماید.

با توجه به نتیجه مثبت آزمایش ویلسون-تابوک در این گیاه که فقط به فلاونول‌ها جواب می‌دهد (جدول ۲)، احتمالاً فلاونوئیدهای موجود در این گیاه در دسته ۵-هیدروکسی فلاونول‌ها قرار می‌گیرد. از طرفی با نتیجه مثبت آزمایش «واکنش بالجت» که نشان دهنده ترکیبات رنگی گلیکوزید است، این آزمایش مشخص نمود که موادی مانند آنتوسیان گلیکوزیدها به میزان یک درصد در گیاه گلرنگ وجود دارد (جدول ۲)، بنابراین این مواد در مقایسه با اثرات ضد میکروبی آنتوسیانین‌های موجود در گیاه شاه توت [۱۴] و اثرات مفید این رنگدانه‌ها می‌تواند باعث اثرات ضد میکروبی فرآورده‌های دارویی با این نوع رنگدانه در نظر گرفته شود.

از آنجا که خاصیت دارویی گلیکوزیدها مربوط به قسمت غیر قندی ملکول می‌باشد و هیدرولیز این ماده (گلیکوزیدها) به وسیله آنزیم‌ها، اسیدهای رقیق، قلیاها و یا جوشاندن منجر به آزاد شدن ترکیبات غیر قندی می‌گردد [۱۶]، لذا شاید بتوان خاصیت ضد میکروبی عصاره آبی گیاه مزبور را

جدول ۴- مقایسه قطر هاله‌های عدم رشد ایجاد شده (برحسب میلی‌متر) در اثر مصرف ۰/۱ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره آبی تازه گلرنگ بر روی باکتری‌های مختلف با متد چاهک پلیت (میانگین ۵ بار آزمایش)

قطر هاله ایجاد شده به وسیله عصاره در غلظت				نوع باکتری
۱۲۵ mg/ml	۲۵۰ mg/ml	۵۰۰ mg/ml	۱۰۰۰ mg/ml	
۹ ± ۰/۲	۱۱ ± ۰/۲	۱۴ ± ۰/۱	۱۷ ± ۰/۳	استافیلوکوکوس اورئوس
۱۰ ± ۰/۱	۱۴ ± ۰/۱	۱۶ ± ۰/۳	۱۸ ± ۰/۲	استرپتوکوکوس فکالیس
۸ ± ۰/۱	۱۱ ± ۰/۲	۱۲ ± ۰/۱	۱۲ ± ۰/۳	سالمونلاتیفی
۶	۶	۶	۶	باسیلوس سرئوس
۶	۶	۶	۶	اشریشیاکلی
۶	۶	۶	۶	شیکلا فلکسنری

نتایج به صورت ( $\bar{X} \pm SD$ ) گزارش شده است و قطر ۶ میلی‌متر برابر با قطر چاهک است.

## مراجع

اوحدی، دانشکده داروسازی کرمان، ۱۳۷۳،  
صفحات ۱-۲.

[4] Pereumol samy R., Ignacimuthu, S. and Sen, A., Screening of 34 Indian medicinal plants for antibacterial properties. *J. Ethno. Pharm*, 62 (1998) 173-182.

[۵] زمردی، اردبیلی، ف، کارتاموس‌ها (گلرنگ)، پایان‌نامه دکترای داروسازی، دانشگاه تهران، ۱۳۷۴، صفحات ۴-۵.

[6] Rios, J.L., Recio, M.C. and Villar, A., Screening methods for natural products with antimicrobial activity. *J. Ethno. Pharm*. 23 (1988) 127-149.

[۱] بیرونی، ا، صیدنه، ترجمه فارسی، نیمه اول قرن هشتم هجری از ابوبکر بن علی عثمان کاشانی به کوشش منوچهر ستوده و ایرج افشار انتشارات دانشگاه تهران، جلد دوم، ۱۳۵۸، صفحه ۵۴۶.

[2] Mitschel, P.A., Lea, R.B. and Bathala, M.S., Antimicrobial agents from Higher Plants. I. Introduction, National and methodology *Lloydia*. 35 (1972) 157-166.

[۳] شقایق، م، بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره پوست خارجی پسته تازه واریته کله قوچی و



شاه توت بر روی برخی از باکتری‌های عامل مسمومیت غذایی، مجله علوم دانشگاه شهید چمران اهواز، شماره ۹، تابستان ۱۳۸۱، صفحات ۲۶-۳۷.

[15] Said, H.M., Special issue pharmacographia indica, Hamdard National Foundation, Pakistan, 7, 89 (1972) 110.

[16] Martin, A.R., Antibiotics. In: Doerge, R. F. Wilson and Gisvold's Text book of organic medicinal and Pharmaceutical Chemistry. 8nd. Ed. J. B. Lippincott Co. Toront. (1982) 225.

[۷] شریفیان، ر، بررسی اثرات ضد میکروبی برگ و میوه سنجد، پایان‌نامه دکترای داروسازی دانشگاه اصفهان، ۱۳۷۴، صفحات ۲۸-۳۸.

[۸] کرمانشاهانی، آ، بررسی اثرات ضد میکروبی منتخبی از مواد گیاهی مورد استفاده در پزشکی گذشته ایران به روش *invitro*، پایان‌نامه دکترای داروسازی دانشگاه اصفهان، ۱۳۸۰، صفحات ۹-۱۱.

[9] Forbes, B.A., Sahn, D.F. and Weissfeld, S.A., Diagnostic Microbiology, 10<sup>th</sup> ed. U.S.A. Mosby, (1998) 256-258.

[10] Moxwell, E.A., Introduction to statistical thinking Prentic-Hall, Inc. Newjersey. (1993) 397.

[11] Harsh, M.L., Ng, T.N., Flavonoids with antimicrobial activities of arid Zone plants. Geobios. 15 (1988) 32-35. (through chem.Abs 89702V).

[۱۲] یگانه، م. بررسی اثرات ضد میکروبی داروهای گیاهی ضد سنگ‌های مجاری ادراری (AUL)، پایان‌نامه دکترای داروسازی، دانشکده داروسازی دانشگاه اصفهان، ۱۳۶۵، صفحات ۱۶-۲۲.

[13] Mabry, T.J., Markam, K.R., and Thomas, M.B., The systemic identification of flavonoid, Berlin, Springer Verlag. (1970) 240-255.

[۱۴] کسری کرمانشاهی، ر، فریرز معطر و سعید صرامی فروشانی، اثرات ضد میکروبی آنتوسیانین