Archive of SID

گروه‌های عاملی و فعالیت ضدمیکروبی عصاره آبی برگ انجیر معابد بر تعدادی از باکتری‌های استاندارد بیماری‌زا در شرایط آزمایشگاهی

بهروز علیزاده بهبهانی[۱]*، حسن برزگر[۲]، محمدامین مهرنیا[۱]، هادی تناور[۳]

۱- استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

۲- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

*نشانی برای مکاتبه: B.alizadeh@asnrukh.ac.ir

دریافت مقاله: آذر نود ونه پذیرش برای چاپ: بهمن نود و نه

چکیده

سابقه و هدف: *امروزه استفاده از ترکیب‌های گیاهان دارویی جهت کنترل و درمان مسمومیت و عفونت‌های باکتریایی مورد توجه قرار گرفته است. انجیر معابد (Ficus religiosa L.) گیاهی چند ساله است که به خانواده Moraceae تعلق دارد. هدف از این پژوهش تعیین گروه‌های عاملی ترکیبات زیست فعال و اثر ضدباکتریایی عصاره آبی برگ انجیر معابد بر تعدادی از سویه‌های بیماری‌زا در شرایط آزمایشگاهی بود.*

روش کار: *عصاره‌گیری از برگ‌های انجیر معابد با روش خیساندن به مدت ۴۸ ساعت انجام پذیرفت. با استفاده از روش‌های کربی-بائر و چاهک آگار قطر هاله‌های بازدارندگی از رشد باکتری‌ها توسط عصاره آبی برگ انجیر معابد اندازه‌گیری شد. حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی به ترتیب با استفاده از روش رقیق سازی در چاهک ۹۶ خانه‌ای و پورپلیت تعیین گردید. از دستگاه طیف-سنج مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) جهت بررسی گروه‌های عاملی ترکیبات زیست فعال موجود در عصاره آبی برگ انجیر معابد استفاده شد.*

یافته‌ها: *باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس با قطر هاله ۱۳/۱ و ۱۶/۳ میلی‌متری در روش‌های کربی-بائر و چاهک آگار بیش‌ترین حساسیت را نسبت به عصاره برگ انجیر معابد داشت. حداقل غلظت بازدانگی برای سالمونلا تیفی موریوم، انتروباکتر آئروژنز، استافیلوکوکوس اپیدرمیس و لیستریا اینوکوا به ترتیب ۱۲۸، ۶۴، ۳۲ و ۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد. حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی برگ انجیر معابد برای سالمونلا تیفی موریوم، انتروباکتر آئروژنز، استافیلوکوکوس اپیدرمیس و لیستریا اینوکوا به ترتیب بزرگتر از ۵۱۲، ۵۱۲، ۱۲۸ و ۲۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد. طیف حاصل از عصاره آبی برگ انجیر معابد پیک‌هایی در محدوده ۳۳۹۵/۹، ۲۹۷۶/۵۵، ۲۹۲۹/۴، ۱۵۶۸/۹۶، ۱۴۲۳/۱۳، ۱۳۱۱/۲۴، ۱۱۶۸/۲۲، ۱۰۶۸/۳، ۸۶۱/۷۵، ۸۳۳/۱۴، ۷۷۱/۸۵، ۶۶۵/۶۱ و ۶۱۶/۱۴ سانتی‌متر نشان داد.*

نتیجه‌گیری: *عصاره آبی انجیر معابد دارای فعالیت ضدمیکروبی بر باکتری‌های سالمونلا تیفی موریوم، انتروباکتر آئروژنز، استافیلوکوکوس اپیدرمیس و لیستریا اینوکوا بود. بنابراین، استفاده از عصاره آبی شیشه‌شور در صنایع داروسازی توصیه می‌شود.*

واژگان کلیدی: انجیر معابد، میکرودایلوشن براث، کربی-بائر، ترکیبات زیست فعال

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

با وجود دستاوردهای کسب شده و انواع روش‌های به کار گرفته شده میزان ابتلا به مسمومیت و عفونت‌های باکتریایی نرخ بالا و نگران کننده‌ای دارد(۱). آنتی‌بیوتیک‌ها و نگهدارنده‌های مصنوعی طی سالیان متمادی به‌عنوان روشی همه‌گیر جهت مقابله با باکتری-ها به کار گرفته شدند. با گذشت زمان مشخص گردید نگهدارنده-های سنتزی تاثیر سویی بر سلامتی مصرف کنندگان دارند. همچنین مواجهه مستمر باکتری‌ها و ترکیبات آنتی‌بیوتیکی موجب مقاومت باکتری‌ها به این ترکیبات و ظهور سویه‌های جدید شده است(۲).

استفاده از خواص درمانی گیاهان دارویی جهت مقابله و درمان انواع بیماری‌ها سابقه طولانی مدت دارد. امروزه نیز با توجه به عوارض پیش آمده ناشی از مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و نگهدارنده‌های سنتزی توجه پژوهشگران و تمایل عمومی به استفاده از ترکیبات گیاهی با منشا طبیعی بیش از پیش افزایش یافته است(۳). خوشبختانه موقعیت جغرافیایی و شرایط آب و هوایی موجود به گونه‌ای است که طیف وسیعی از گیاهان دارویی توانایی رشد در کشور ایران را دارند(۴).

انجیر معابد گیاهی چند ساله و همیشه سبز است که متعلق به جنس فیکوس و خانواده Moraceae می‌باشد(۵). جنس فیکوس دارای۷۵۰ گونه شناخته شده است که در این میان ۴ گونه آن از جمله انجیر معابد در حوضه پزشکی اهمیت ویژه‌ای دارند. این گیاه با نام علمی .Ficus religiosa L شناخته می‌شود ولی در برخی منابع از آن با نام‌های Peepal و Ashwatha نیز یاد شده است(۶ و ۷). از نظر گیاه‌شناسی انجیر معابد درختی بزرگ و پرشاخ و برگ است. پوست این درخت به رنگ قهوه‌ای و برگ‌ها سبز و براق می-باشند. میوه‌ها به صورت جفت رشد می‌کنند که در مراحل اولیه سبز رنگ هستند و پس از رسیدن به بنفش و قرمز مایل به سیاه تغییر رنگ می‌دهند. تمام قسمت‌های این گیاه حاوی متابولیت‌های ثانویه فراوان هستند که در داروسازی مورد استفاده قرار می‌گیرند. خاستگاه اصلی انجیر معابد کشور هند است ولی امروزه در کشورهایی مانند بنگلادش، نپال، چین، پاکستان و سریلانکا نیز می-توان درختان انجیر معابد را مشاهده کرد(۶). این گیاه در میان پیروان دین بودا و هندو درختی مقدس است از این رو در نزدیکی مکان‌های مذهبی و معابد کاشته می‌شود(۸).

علاوه بر جنبه معنوی، خواص درمانی این گیاه نیز در گذشته مورد توجه قرار گرفته و در طب سنتی از آن استفاده می‌کرده‌اند(۹). از جمله خواص درمانی انجیر معابد که امروزه مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است می‌توان به فعالیت‌های ضدباکتریایی، ضدویروسی، ضدقارچی و مهار استیل کولین استراز اشاره کرد. همچنین از ترکیبات استخراجی این گیاه جهت پیشگیری و درمان بیماری‌های پوستی (اتهاب، تورم و ترمیم زخم‌ها)، سرطان پستان، بیماری‌های واژن رحم، اختلالات گوارشی، اختلالات تنفسی، صرع، دیابت، اختلات عصبی و تنظیم چرخه قاعدگی می‌توان استفاده کرد(۱۰ و ۱۱).با توجه به امکان رشد درخت انجیر معابد در استان‌های جنوبی ایران و همچنین پژوهش‌های اندک صورت گرفته بر عصاره استخراجی از برگ‌های انجیر معابد بررسی و استفاده از خواص درمانی این گیاه در حوضه‌های پزشکی و صنایع غذایی می‌تواند ثمربخش باشد. لذا هدف از این پژوهش تعیین گروه‌های عاملی ترکیبات زیست فعال و فعالیت ضدباکتریایی عصاره آبی برگ انجیر معابد به روش‌های کربی-بائر، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی بر تعدادی از سویه‌های استاندارد بیماری‌زا در شرایط آزمایشگاهی بود.

روش کار

در این پژوهش آزمایشگاهی از ۴ سویه استاندارد بیماری‌زا شامل دو سویه گرم منفی (انتروباکتر آئروژنز ATCC ۲۹۰۰۷ و سالمونلا تیفی موریوم ATCC ۱۴۰۲۸) و دو سویه گرم مثبت (استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس ATCC ۱۴۹۹۰ و لیستریا اینوکوا ATCC ۳۳۰۹۰) استفاده شد. سویه‌های بیماری‌زا به صورت کشت لیوفیلیزه در آزمایشگاه میکروبیولوژی مواد غذایی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان وجود داشت. جهت انجام آزمون‌های ضدمیکروبی ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمون-های ضدمیکروبی از هر سویه میکروبی کشت تازه تهیه می‌شد.

برگ‌های انجیر معابد از محوطه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان جمع آوری شد. اسم علمی گیاه با کمک متخصصان گیاه‌شناسی تایید گردید (کد هرباریومی (KHAU) ۲۷۲). عصاره‌گیری از برگ‌های انجیر معابد با استفاده از روش خیساندن صورت پذیرفت. ابتدا برگ‌های سبز درخت انجیر معابد با آب شست‌وشو سطحی داده شدند. برگ‌های شسته شده به مدت ۵ روز در سایه قرار گرفتند تا کاملا خشک گردید. پودر برگ‌های الک شده و آب با نسبت ۱ به ۷ ترکیب شده و به مدت ۴۸ ساعت روی شیکر قرار داده شد. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با دور rpm ۶۰۰۰ سانتریفیوژ شد. در نهایت خشک کردن محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ با کمک آون ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت صورت پذیرفت. پودر به دست آمده تا زمان انجام آزمون‌ها در ظروف شیشه‌ای تیره و در یخچال نگهداری شد(۲).

برای تعیین فعالیت ضدباکتریایی عصاره آبی برگ انجیر معابد به روش کربی-بائر ابتدا عصاره آبی برگ انجیر معابد با استفاده از فیلتر

www.SID.ir

Archive of SID

سرسنگی ۰/۴۵ میکرون استریل گردید. پس از پر کردن پلیت‌ها با محیط کشت مولر هینتون آگار استریل ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی معادل ۰/۵ مک‌فارلند بر سطح پلیت‌های حاوی محیط کشت اضافه شد. سوسپانسیون باکتریایی تلقیح شده بر سطح محیط کشت توسط پی‌پت پاستور خمیده پخش گردید. دیسک‌های بلانک (قطر ۶ میلی‌متر) با فاصله مناسب از لبه پلیت (۲۵ میلی‌متر) و دیگر دیسک‌ها (۲۰ میلی‌متر) بر سطح محیط کشت ثابت شدند. پس از افزودن ۲۰ میکرولیتر از عصاره استریل به دیسک‌های بلانک پلیت‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای یخچال قرار گرفتند. در نهایت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت صورت گرفت و هاله تشکیل شده بر حسب میلی-متر گزارش گردید(۱۲).

تعیین فعالیت ضدباکتریایی عصاره آبی برگ انجیر معابد به روش چاهک آگار نیز همانند روش کربی-بائر عمل شد و تنها تفاوت این دو روش مکان انتقال عصاره است. در این روش با استفاده از انتهای پی‌پت پاستور استریل شده چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر بر سطح محیط کشت مولر هینتون آگار ایجاد شد. انتهای چاهک‌های ایجاد شده با یک قطره آگار مذاب مسدود گشت. ۲۰ میکرولیتر از عصاره به دقت درون چاهک‌ها انتقال داد شد. پس از طی مرحله پیش انتشار (۱۵ دقیقه در دمای یخچال) و گرمخانه گذاری (۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد) قطر هاله ایجاد شده با استفاده از خط‌کش و بر حسب میلی‌متر گزارش گردید(۱۳).

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی به روش رقیق سازی در چاهک ۹۶ خانه‌ای(میکرودایلوشن براث) انجام گرفت. در این روش حداقل غلظتی از عصاره آبی برگ انجیر معابد که موجب مهار رشد سویه-های باکتریایی می‌شود محاسبه گردید. محلول مادر با غلظت ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از ترکیب ۵/۱۲ گرم عصاره با ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت مولر هینتون براث و دی متیل سولفوکساید (با نسبت ۹ به ۱) ساخته شد. ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های متوالی ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸ و ۲۵۶ به صورت ستونی به میکروپلیت ۹۶ خانه-ای انتقال یافت. ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی که مطابق با استاندارد نیم مک‌فارلند تنظیم شده بود جهت تلقیح به چاهک‌ها استفاده شد. هر کدام از ردیف‌های میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای مختص یک سویه باکتریایی استاندارد بیماری‌زا بود. دو ستون‌های انتهایی به‌عنوان شاهدهای مثبت (محیط کشت میکروبی و سویه باکتریایی استاندارد بیماری‌زا) و منفی (محیط کشت میکروبی و عصاره آبی برگ انجیر معابد) لحاظ شدند. گرمخانه گذاری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. پس از گذشت زمان گرمخانه گذاری به تمامی چاهک‌های میکروپلیت ۱۰ میکرولیتر معرف ۵ درصد تری فنیل تترازولیوم کلراید اضافه شد. میکروپلیت مجددا به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و اولین چاهکی که پس از گذشت زمان فوق تغییر رنگ نداده بود به‌عنوان حداقل غلظت بازدارندگی عصاره انجیر معابد گزارش گردید(۱۴).

حداقل غلظت کشندگی بر اساس نتایج به دست آمده از روش حداقل غلظت بازدارندگی انجام شد. برای این منظور میزان ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک‌هایی که در روش حداقل غلظت بازدارندگی تغییر رنگ نداده بودند به روش پور پلیت در محیط کشت مولر هینتون آگار کشت گردید. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شدند. اولین محیط کشت فاقد هرگونه کلنی به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی برگ انجیر معابد تعیین شد(۱۵).جهت بررسی گروه‌های عاملی عصاره آبی برگ انجیر معابد از دستگاه طیف سنج مادون قرمز تبدیل فوریه استفاده شد. میزان جذب در دامنه CM ۴۰۰-۴۰۰ مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۶).

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و روش آنالیز واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. از آزمون دانکن (Duncan) در سطح ۵ درصد جهت مقایسه میانگین داده‌ها استفاده شد.

یافته‌ها

عصاره آبی برگ انجیر معابد در غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تنها بر باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیس تاثیر داشت و بر سویه-های سالمونلا تیفی موریوم، انتروباکتر آئروژنز، و لیستریا اینوکوا بی-اثر بود و از رشد آن‌ها بر محیط کشت جلوگیری به عمل نیاورد. غلظت ۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی انجیر معابد برخلاف سالمونلا تیفی موریوم بر سویه‌های انتروباکتر آئروژنز، استافیلوکوکوس اپیدرمیس و لیستریا اینوکوا اثر مهاری داشت. غلظت‌های ۹۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی انجیر معابد توانایی مهار هر چهار سویه سالمونلا تیفی موریوم، انتروباکتر آئروژنز، استافیلوکوکوس اپیدرمیس و لیستریا اینوکوا را داشت. بیش‌ترین هاله عدم رشد با قطر ۱۳/۱۰ میلی‌متر به باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیس تعلق داشت که در غلظت ۱۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره ثبت گردید. مقایسه دوتایی میانگین قطر هاله‌های اندازه-گیری شده سالمونلا تیفی موریوم در غلظت‌های ۹۰ با ۱۲۰ میلی-گرم بر میلی‌لیتر عصاره نشان داد تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد برقرار نیست. مقایسه دو به دو میانگین قطر هاله‌های عدم رشد مربوط به باکتری انتروباکتر آئروژنز در سطح ۵ درصد نشان داد در غلظت‌های ۶۰ با ۹۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره تفاوت معنی

www.SID.ir

Archive of SID

دار است ولی در غلظت‌های ۹۰ با ۱۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تفاوت معنی‌دار نبود. بررسی قطر هاله‌های عدم رشد استافیلوکوکوس اپیدرمیس به صورت دوتایی نشان داد به جز غلظت ۳۰ با ۶۰ میلی-گرم بر میلی‌لیتر در سایر غلظت‌های عصاره تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد برقرار است. در نهایت مقایسه دو به دو هاله‌های عدم رشد بر لیستریا اینوکوا در سطح ۵ درصد نشان داد برخلاف غلظت‌های ۶۰ با ۹۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره در غلظت‌های ۹۰ با ۱۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره تفاوت معنی‌داری دارد(جدول ۱)

جدول ۱- میانگین قطر هاله بازدارندگی (روش کربی- بائر) عصاره آبی برگ انجیر معابد بر باکتری‌های استاندارد بیماری‌زا برحسب میلی‌متر

باکتری	غلظت عصاره آبی برگ انجیر معابد (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)			
	۳۰	۶۰	۹۰	۱۲۰
سالمونلا تیفی موریوم	-[a]	-[a]	۸/۶۰±۰/۵۶[b]	۹/۴۰±۰/۷۳[b]
انتروباکتر آئروژنز	-[a]	۷/۲۰±۰/۳۳[b]	۹/۰۰±۰/۵۵[c]	۱۰/۱۰±۰/۵۷[c]
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	۷/۵۰±۰/۴۰[a]	۸/۴۰±۰/۶۷[a]	۱۱/۰۰±۰/۴۸[b]	۱۳/۱۰±۰/۴۷[c]
لیستریا اینوکوا	-[a]	۸/۲۰±۰/۵۷[b]	۹/۳۰±۰/۶۶[b]	۱۲/۰۰±۰/۴۳[c]

- **حروف غیر مشابه در یک ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح معنی‌داری ۵ درصد میان غلظت‌های مختلف عصاره آبی برگ انجیر معابد است.**
- **قطر دیسک ۶ میلی‌متر بود.**

غلظت‌های ۳۰ و ۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره هیچ‌گونه تاثیری بر سالمونلا تیفی موریوم نداشتند. تمامی غلظت‌های عصاره بر باکتری‌های انتروباکتر آئروژنز، استافیلوکوکوس اپیدرمیس و لیستریا اینوکوا اثر مهاری داشته و از رشد آن‌ها بر محیط کشت جلوگیری به عمل آوردند. در تمامی سویه‌های باکتریایی با افزایش غلظت عصاره قطر هاله عدم رشد افزایش یافت. بیش‌ترین قطر هاله عدم رشد (۱۶/۳ میلی‌متر) به باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیس تعلق داشت که در غلظت ۱۲۰میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره مشاهده شد. با مقایسه دوتایی قطر هاله عدم رشد بر باکتری سالمونلا تیفی موریوم میان غلظت‌های ۹۰ با ۱۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. مقایسه دو به دو میانگین‌های قطر هاله عدم رشد انتروباکتر آئروژنز نشان داد به جز غلظت ۶۰ با ۹۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره میان سایر غلظت‌ها تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد وجود ندارد. مقایسه دوتایی قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری شده بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اپیدرمیس و لیستریا اینوکوا نشان داد میان تمام غلظت‌های عصاره در سطح ۵ درصد تفاوت معنی دار است.(جدول۲).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- میانگین قطر هاله بازدارندگی (روش چاهک آگار) عصاره آبی برگ انجیر معابد بر باکتری‌های بیماری‌زا برحسب میلی‌متر

باکتری	غلظت عصاره آبی برگ انجیر معابد (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) ۳۰	۶۰	۹۰	۱۲۰
سالمونلا تیفی موریوم	-[a]	-[a]	۹/۲۰±۰/۴۴[b]	۱۱/۰۰±۰/۳۵[c]
انتروباکتر آئروژنز	۷/۰۰±۰/۵۷[a]	۸/۱۰±۰/۵۸[a]	۱۰/۶۰±۰/۳۴[b]	۱۱/۵۰±۰/۷۰[b]
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	۸/۹۰±۰/۲۸[a]	۱۱/۸۰±۰/۲۷[b]	۱۳/۸۰±۰/۵۳[c]	۱۶/۳۰±۰/۴۹[d]
لیستریا اینوکوا	۷/۳۰±۰/۴۱[a]	۹/۶۰±۰/۴۵[b]	۱۲/۱۰±۰/۳۹[c]	۱۴/۷۰±۰/۵۲[d]

- حروف غیر مشابه در یک ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح معنی‌داری ۵ درصد میان غلظت‌های مختلف عصاره آبی برگ انجیر معابد است.
- قطر چاهک ۶ میلی‌متر بود.

بررسی حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی برگ انجیر معابد در جدول ۳، ذکر شده است. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره برای سالمونلا تیفی موریوم، انتروباکتر آئروژنز، استافیلوکوکوس اپیدرمیس و لیستریا اینوکوا به ترتیب ۱۲۸، ۶۴، ۳۲ و ۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید. همچنین حداقل غلظت کشندگی عصاره برای باکتری‌های سالمونلا تیفی موریوم، انتروباکتر آئروژنز، استافیلوکوکوس اپیدرمیس و لیستریا اینوکوا به ترتیب بیش از ۵۱۲، ۵۱۲، ۱۲۸ و ۲۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. نتایج نشان داد حداقل غلظت کشندگی عصاره در تمامی سویه‌های باکتریایی پژوهش صورت گرفته بیش‌تر از حداقل غلظت مهارکنندگی بود(جدول ۳).

جدول ۳- حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی برگ انجیر معابد بر باکتری‌های استاندارد بیماری‌زا

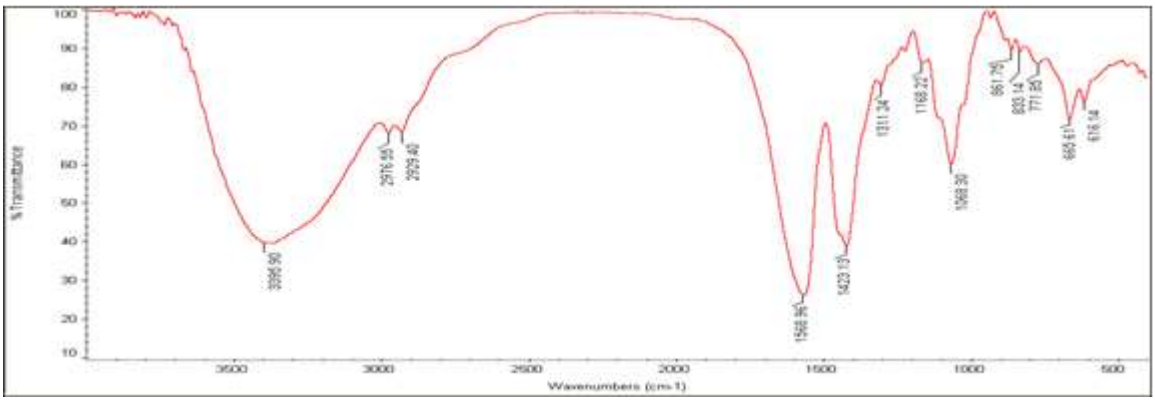
باکتری	حداقل غلظت مهارکنندگی (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	حداقل غلظت کشندگی (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)
سالمونلا تیفی موریوم	۱۲۸	>۵۱۲
انتروباکتر آئروژنز	۶۴	۵۱۲
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	۳۲	۱۲۸
لیستریا اینوکوا	۳۲	۲۵۶

www.SID.ir

Archive of SID

طیف حاصل از عصاره آبی برگ انجیر معابد پیک‌هایی در محدوده ۳۳۹۵/۹، ۲۹۷۶/۵۵، ۲۹۲۹/۴، ۱۵۶۸/۹۶، ۱۴۲۳/۱۳، ۱۳۱۱/۲۴، ۱۱۶۸/۲۲، ۱۰۶۸/۳، ۸۶۱/۷۵، ۸۳۳/۱۴، ۷۷۱/۸۵، ۶۶۵/۶۱ و ۶۱۶/۱۴ سانتی‌متر نشان داد(شکل ۱).

شکل ۱- گروه‌های عاملی عصاره آبی برگ انجیر معابد با دستگاه طیف‌سنج مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR).



بحث

در این پژوهش فعالیت ضدباکتریایی عصاره آبی برگ انجیر معابد بر تعدادی از سویه‌های بیماری‌زای استاندارد به ۴ روش کربی-بائر، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره آبی برگ انجیر معابد دارای فعالیت ضدمیکروبی بر سویه‌های مورد بررسی بود و از رشد آن بر سطح محیط کشت جلوگیری نمود.

Mirzaei (۲۰۱۷)، پتانسیل ضدمیکروبی پنج گیاه دارویی (از جمله انجیر معابد) برابر سویه‌های بیماری‌زا مجاری ادراری شامل اشرشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا پنومونیه و گونه‌های پروتئوس را مورد ارزیابی قرار دادند. سویه‌های انتخاب شده مقاومت دارویی بالایی پیدا کرده‌اند. در این آزمون از روش دیسک دیفیوژن، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی جهت بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصاره آبی پوست و میوه گیاه انجیر معابد استفاده شد. بیش-ترین قطر هاله ایجاد شده با ۱۲ میلی‌متر به سویه اشرشیا کلی تعلق داشت. بر اساس نتایج هر پنج گونه گیاهی دارای پتانسیل ضدمیکروبی مطلوبی بودند. این پژوهشگران شناسایی و جداسازی ترکیبات ضدمیکروبی از گیاهان دارویی را به‌عنوان راه حلی جهت درمان عفونت‌های انسانی پیشنهاد دادند (۱۷).

Pai L و همکاران (۲۰۱۷)، از روش دیسک دیفیوژن و حداقل غلظت مهارکنندگی جهت بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصاره برگ انجیر معابد بر باکتری‌های اشرشیا کلی و باسیلوس سابتلیس استفاده کردند. در این آزمون از ۸ نوع حلال جهت استخراج عصاره استفاده شد. بیش‌ترین هاله ایجاد شده با قطر ۱۳/۷۵ میلی‌متر به عصاره اتیل استاتی برگ انجیر معابد تعلق داشت و فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های استونی، اتیل استاتی و اتانولی برگ انجیر معابد تایید شد (۱۸). Iqbal Daing و همکاران (۲۰۱۷)، میزان حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره برگ انجیر معابد علیه سویه‌های میکروبی اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا انتریکا و انتروکوک فکالیس مورد بررسی قرار دادند. در انتها سویه انتروکوکوس فکالیس مقاوم‌ترین سویه میکروبی در برابر عصاره برگ انجیر معابد معرفی گردید. بر اساس نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی برای سویه‌های اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا انتریکا و انتروکوک فکالیس به ترتیب ۶/۶۷، ۵، ۴/۱۷ و ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. همچنین حداقل غلظت کشندگی برای سویه-های اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا انتریکا و انتروکوک فکالیس به ترتیب ۱۳/۳۳، ۱۰،۱۰ و ۱۶۰ گزارش

www.SID.ir

Archive of SID

شد (۱۹). Shahbazi (۲۰۱۷)، میزان فعالیت ضدمیکروبی عصاره متانولی میوه .Ficus carica L مورد ارزیابی قرار داد. بر اساس نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی این عصاره در برابر سویه‌های باسیلوس سابتلیس و باسیلوس سرئوس ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش شد. سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی، سالمونلا تیفی موریم و لیستریا منوسیتوژنز نسبت به عصاره مقاومت بیشتری نشان دادند و حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی برای آن‌ها بیش از ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. همچنین قطر هاله ایجاد شده طی آزمون دیسک دیفیوژن برای سویه‌های باسیلوس سابتلیس و باسیلوس سرئوس ۳/۱۴ میلی‌متر گزارش شد اما برای سایر سویه‌های میکروبی هاله تشخیص داده نشد (۲۰). Tkachenko و همکاران (۲۰۱۹)، فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های متانولی برگ گونه‌های مختلف جنس فیکوس را با استفاده از روش دیسک دیفیوژن در برابر یرسینیا راکری مورد بررسی قرار دادند. در این آزمون ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون یرسینیا راکری معادل نیم مک‌فارلند بر سطح پلیت‌ها تلقیح شد. هاله ایجاد شده عصاره برگ انجیر معابد در پلیت‌های حاوی ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی به ترتیب ۸/۸۳ و ۱۳/۴۲ میلی‌متر گزارش شد (۲۱). Raisagar و همکاران(۲۰۱۹)، میزان فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی پوست گیاه انجیر معابد را با استفاده از روش چاهک آگار مورد ارزیابی قرار دادند. بر اساس نتایج قطر هاله ایجاد شده عصاره آبی انجیر معابد علیه سویه‌های میکروبی استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوک موتانس، باسیلوس کواگولانس و کاندیدا آلبیکانس به ترتیب ۱/۴۱، ۱/۵۶، ۱/۶۳ و ۱/۵۱ میلی‌متر گزارش شد. همچنین قطر هاله ایجاد شده عصاره اتانولی انجیر معابد علیه سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوک موتانس، باسیلوس کواگولانس و کاندیدا آلبیکانس به ترتیب ۱/۶، ۱/۷۱، ۱/۹۱ و ۱/۹ میلی‌متر بود (۲۲). Chavan و همکاران (۲۰۱۹)، قطر هاله بازدارندگی عصاره آبی برگ انجیر معابد به روش دیسک دیفیوژن علیه باکتری‌های باسیلوس سابتلیس، اشرشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس را به ترتیب ۸، ۵، ۴ و ۱۰ میلی‌متر گزارش کردند. فعالیت ضدمیکروبی علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سابتلیس مطلوب بود. بر اساس نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره برگ انجیر معابد برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و باسیلوس سابتلیس ۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ذکر شد (۲۳). مقایسه نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر با یافته‌های سایر پژوهشگران ذکر شده در بالا نشان داد که هرچند اختلاف‌هایی در میزان قطر هاله عدم رشد میکروبی و همچنین حداقل غلظت مهارکنندگی برای سویه‌های میکروبی وجود داشت اما با این حال در اکثر پژوهش‌های انجام شده فعالیت ضدمیکروبی عصاره انجیر معابد تایید شده است.

نتایج شناسایی گروه‌های عاملی زیست فعال عصاره آبی برگ انجیر معابد نشان داد که پیک پهن ظاهر شده در محدوده عدد موجی ۳۳۹۵/۹ بر سانتی‌متر به ارتعاشات کششی گروه-های O-H ترکیبات الکلی نسبت داده شده است. پیک قرار گرفته در عدد موجی ۲۹۷۶/۵۵ بر سانتی‌متر ناشی از ارتعاشات کششی CH_3 می‌باشد. همچنین پیک‌های موجود در اعداد موجی ۲۹۲۹/۴ بر سانتی‌متر مربوط به ارتعاشات کششی C-H، ۱۵۶۸/۹۶ بر سانتی‌متر مربوط به آمین‌های گروه دوم، ۱۰۶۸/۳ بر سانتی‌متر مربوط به ارتعاشات کششی C-O می‌باشند. علاوه بر این پیک ظاهر شده در عدد موجی ۶۶۵/۶۱ نیز به آمین‌های گروه دوم نسبت داده شده است (۲۴-۲۶). Singhal و همکاران (۲۰۱۷)، گروه‌های عاملی نانوذرات به دست آمده از عصاره برگ Ficus retusa را با استفاده از دستگاه طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه مورد ارزیابی قرار دادند. در طیف اندازه‌گیری مورد بررسی ۸ پیک شناسایی شد. بر اساس نتایج گزارش شده پیک‌های محدوده cm^{-1} ۳۶۵۱، cm^{-1} ۲۳۵۵، cm^{-1} ۱۷۳۴ و cm^{-1} ۱۷۷۴ مربوط به ارتعاشات کششی گروه‌های O-H و O=O بود. ارتعاش کششی باند C=C به پیک cm^{-1} ۱۶۵۴ تعلق داشت. پیک‌های cm^{-1} ۱۵۶۰، cm^{-1} ۶۶۹ و cm^{-1} ۴۲۰ به ترتیب مربوط به باند آمید گروه دوم، باند ارتعاشی کششی C-Cl و ارتعاش کششی گروه C-I بود (۲۴). Haldhar و همکاران (۲۰۱۸)، جهت بررسی گروه‌های عاملی عصاره میوه انجیر معابد از دستگاه طیف سنج مادون قرمز تبدیل فوریه استفاده کردند. عدد موجی در محدوده cm^{-1} ۴۰۰۰-۵۰۰ اندازه‌گیری شد. گسترده‌ترین پیک‌ها در cm^{-1} ۳۳۷۴/۹ و cm^{-1} ۱۶۲۰/۰۹ مشاهده شد که مربوط به گروه‌های O-H کششی و N-H خمیده بود (۲۵).

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه‌گیری

نتایج به دست آمده نشان داد عصاره آبی برگ انجیر معابد اثر ضدباکتریایی مناسبی بر تمامی سویه‌های مورد مطالعه داشت. در این میان سویه‌های باکتریایی گرم منفی سالمونلا تیفی موریوم و انتروباکتر آئروژنز نسبت به سویه‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و لیستریا اینوکوا در برابر اثر ضدباکتریایی عصاره آبی برگ انجیر معابد مقاومت بیش‌تری از خود نشان دادند. بر اساس نتایج ارائه شده عصاره آبی برگ انجیر معابد دارای فعالیت ضدمیکروبی مناسبی در برابر باکتری‌های بیماری‌زا دارد لذا استفاده از این ترکیب گیاهی در صنعت داروسازی توصیه می‌شود. هر چند این امر نیازمند پژوهش‌های گسترده‌تری است.

تقدیر و تشکر

مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی با کد ۹۸۱/۵۹ می‌باشد لذا نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

REFERENCES

1. Tanavar H, Barzegar H, Alizadeh Behbahani B, Mehrnia M.A. Evaluation of the antimicrobial activity of *Mentha pulegium* essential oil on some foodborne pathogens and its interaction with gentamicin and chloramphenicol in vitro. Food Science and Technology. 2020;16(97):77-87. [Full Text in Persian].

2. Sosani Gharibvand Z, Alizadeh Behbahani B, Noshad M, Jooyandeh H. Investigation of the functional groups of bioactive compounds, radical scavenging potential, antimicrobial activity and cytotoxic effect of *Callistemon Citrinus* aqueous extract on cell line ht29: a laboratory study. Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences. 2020;19(5):463-484. [Full Text in Persian].

3. Saffari Samani E, Jooyandeh H, Alizadeh Behbahani B. Evaluation of reciprocal pharmaceutical effect and antimicrobial activity of Shirazi thyme essential oil against some gram-positive and gram-negative bacteria. Food Science and Technology. 2020;17(104):1-11. [Full Text in Persian].

4. Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Heidari Sureshjani M, Mortazav A, Tabatabaei Yazdi F. Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic *Satureja Bachtiarica* extracts " in vitro". Iranian Journal of Infectious Diseases. 2014;19(64):13-20. [Full Text in Persian].

5. Hesami M, Tohidfar M, Alizadeh M, Daneshvar M.H. Effects of sodium nitroprusside on callus browning of *Ficus religiosa*: an important medicinal plant. Journal of Forestry Research. 2020;31(3):789-796.

6. Sandeep, Kumar A, Dimple, Tomer V, Gat Y, Kumar V. *Ficus religiosa*: A wholesome medicinal tree. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2018;7(4):32-37.

www.SID.ir

Archive of SID

7. Abusufyan S, Ibrahim M, Mohib K. Comparative in vitro antidiabetic and antioxidant activity of various extracts of ficus species. Pharmacognosy Journal. 2018;10(2):349-354.

8. Devanesan E.B, Anand A.V, Kumar P.S, Vinayagamoorthy P, Basavaraju P. Phytochemistry and pharmacology of *Ficus religiosa*. Systematic Reviews in Pharmacy. 2018;9(1):45-48.

9. Mehrnia M.A, Dehghan N, Heidary M. Effect of drying method and solvent type on antioxidant properties
and chemical composition of sacred fig (*Ficus religiosa*). Food Science and Technology. 2019;16(95):27-37. [Full Text in Persian].

10. Priyanka K, Sahu P.L, singh S. Optimization of processing parameters for the development of *Ficus religiosa* L. extract loaded solid lipid nanoparticles using central composite design and evaluation of antidiabetic efficacy. Journal of Drug Delivery Science and Technology. 2018;43:94-102.

11. Suriyakalaa U, Ramachandran R, Doulathunnisa J.A, Bell Aseervatham S, Sankarganesh D, Kamalakkannan S, et al. Upregulation of Cyp19a1 and PPAR-γ in ovarian steroidogenic pathway by *Ficus religiosa*: A potential cure for polycystic ovary syndrome. Journal of Ethnopharmacology. 2020; https://doi.org/10.1016/ j.jep.2020.113540.

12. Barzegar H, Alizadeh Behbahani B, Mehrnia M.A. Quality retention and shelf life extension of fresh beef using *Lepidium sativum* seed mucilage-based edible coating containing *Heracleum lasiopetalum* essential oil: an experimental and modeling study. Food Science and Biotechnology. 2020;29(5):717-728.

13. Alizadeh Behbahani B, Falah F, Lavi Arab F, Vasiee M, Tabatabaee Yazdi F. Chemical composition and antioxidant, antimicrobial, and antiproliferative activities of *cinnamomum zeylanicum* bark essential oil. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2020;1-8.

14. Bagyalakshmi B, Nivedhitha P, Balamurugan A. Studies on phytochemical analysis, antioxidant and antibacterial activity of *Ficus racemosa* L. leaf and fruit extracts against wound pathogens. Vegetos. 2019;32(1):58-63.

15. Zangeneha M.M, Ghaneialvar H, Akbaribazm M, Ghanimatdan M, Abbasi N, Goorani S, et al. Novel synthesis of *Falcaria vulgaris* leaf extract conjugated copper nanoparticles with potent cytotoxicity, antioxidant, antifungal, antibacterial, and cutaneous wound healing activities under in vitro and in vivo condition. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2019;197:1-13.

16. Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Shahidi F, Hesarinejad M.A, Mortazavi S.A, Mohebbi M. *Plantago major* seed mucilage: optimization of extraction and some physicochemical and rheological aspects. Carbohydrate Polymers. 2017;155(2):68-77.

17. Mirzaei B. Investigation of antibacterial effects of medicinal plants on bacterial pathogens of patients. Medbiotech Journal. 2017;1(2):85-89.

18. Pai L G, Saurabh S, Aligeti G, Kruna R.S. Photochemical studies on *Ficus religiosa* and *Ocimum tenuiflorum* L. and their antimicrobial effect on *Bacillus Subtilis* and *Escherichia Coli*. Indo-Iranian Journal of Scientific Research. 2017;1(1):95-110.

www.SID.ir

Archive of SID

19. Iqbal Daing M, Pathak A.K, Altaf Bhat M, Aqib Zargar M. Antioxidant and antibacterial potential of condensed tannins containing tree leaves extract. Veterinary Practitioner. 2017;18(1):118-121.

20. Shahbazi Y. Antibacterial and antioxidant properties of methanolic extracts of apple (*Malus pumila*), grape (*Vitis vinifera*), pomegranate (*Punica granatum* L.) and common fig (*Ficus carica* L.) fruits. Pharmaceutical Sciences. 2017;23(4):308-315.

21. Tkachenko H, Buyun L, Terech-Majewska E, Honcharenko V, Prokopiv A, Osadowski Z. Preliminary in vitro screening of the antibacterial activity of leaf extracts from various *Ficus species* (Moraceae) against *Yersinia ruckeri*. Fisheries and Aquatic Life. 2019;27:15-26.

22. Raisagar A, Deep Kaur C, Sawarkar H.A, Kumar L, Raisagar A, Karmakar A, et al. Comparative study of wound-healing effect of bark extracts of *Ficus religiosa* & *Ficus benghalensis* by mice model. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2019;8(2):1815-1821.

23. Chavan A, Bedekar G, Miniyar P, Gawande V. Phytochemical screening and antimicrobial investigation of *Ficus religiosa* leaves. Current Trends in Pharmacy and Pharmaceutical Chemistry. 2019;1(1): 31-42.

24. Singha A, Singha N, Bhattacharya A, Gupta A. Synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) using *Ficus retusa* leaf extract for potential application as antibacterial and dye decolourising agents. Inorganic and Nano-Metal Chemistry. 2017;47(11):1520-1529.

25. Haldhara R, Prasada D, Saxenaa A, Kumar R. Experimental and theoretical studies of *Ficus religiosa* as green corrosion inhibitor for mild steel in 0.5 m h_2so_4 solution. Sustainable Chemistry and Pharmacy. 2018; 9:95-105.

26. Ping Zhang Z, Zhi Rong M, Qiu Zhang M, Yuan C. Alkoxyamine with reduced homolysis temperature and its application in repeated autonomous self-healing of stiff polymer. Polymer Chemistry. 2013;4(17):4648-4654.

www.SID.ir