ارزیابی اثر ضد میکروبی عصاره گیاه تره کوهی (*Allium ampeloprasum* L. subsp. *iranicum*) بر ریزاندامگان بیماری زا با منشاء غذایی

منصور سعیدی[1]، مرضیه یگانگی[1]، بهروز علیزاده بهبهانی[2]، علیرضا وسیعی[2]، فریده طباطبایی یزدی[3*]

۱- کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۲- دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳- استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(تاریخ دریافت: ۹۵/۰۳/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰٤/۲۹)

چکیده

در دنیای امروز با توجه به اینکه داروهای گیاهی دارای اثر ضدمیکروبی قوی‌تر و عوارض ناخواسته‌ی کمتری نسبت به داروهای شیمیایی در درمان عفونت-ها هستند، یک رویکرد جدید جهت استفاده از داروهای گیاهی به وجود آمده است. در این پژوهش فعالیت ضد میکروبی عصاره های آبی و اتانولی تره کوهی بر ۵ باکتری بیماری زا مورد ارزیابی قرار گیرد. غلظت‌های مختلفی از عصاره‌های آبی و اتانولی برگ گیاه تره کوهی آماده شد و اثر ضدباکتری عصاره‌ها با روش‌های پور پلیت، انتشار در آگار به کمک دیسک، میکرودایلوشن براث و معرف تری فنیل تترازولیوم کلراید و حداقل غلظت کشندگی مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون واریانس یک طرفه و مقایسه‌ی میانگین نیز با آزمون دانکن، انجام گرفت. حداقل غلظت بازدارندگی رشد عصاره آبی تره کوهی در مورد *سالمونلا تیفی*، *اشرشیا کلی*، *باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* به ترتیب برابر ۲۵٦، ۱۲۸، ٦٤، ۳۲ و ۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود و حداقل غلظت بازدارندگی عصاره اتانولی نیز با همین ترتیب برابر ۱۲۸، ٦٤، ۳۲ و ۱٦ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی تره کوهی به ترتیب برابر ۲۵٦، ۱۲۸، ۱۲۸، ٦٤ و ۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود و حداقل غلظت کشندگی عصاره اتانولی تره کوهی برای *سالمونلا تیفی* و *اشرشیا کلی* برابر ۲۵٦، برای *باسیلوس سرئوس* برابر ۱۲۸ و در نهایت برای *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* برابر ۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بدست آمد. نتایج این پژوهش به روشنی مبین این مطلب بود که عصاره گرفته شده از تره کوهی اثر ضد باکتریایی مطلوبی بر همه **ریزاندامگان** مورد نظر داشت و توانست در جلوگیری از رشد باکتری‌های گرم مثبت عملکرد موثرتری داشته باشد.

کلید واژگان: اثر ضد میکروبی، تره کوهی، عصاره های آبی و اتانولی، ریزاندامگان بیماری زا.

*مسئول مکاتبات: tabatabai@um.ac.ir:

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-23]

۱- مقدمه

در کشور ما ۷۵ گونه‌ی پیازدار خودرو جنس *Allium* وجود دارد که در سراسر ایران پراکنده هستند و برخی از آن‌ها به عنوان علف هرز مزارع مطرح هستند ولی اکثرا به صورت خودرو در مناطق کوهستانی می‌رویند [۱]. تره کوهی با نام علمی (*Allium ampeloprasum* L. subsp. *iranicum*) ساقه گل ده بلند و برگ‌های نسبتا پهن داشته و دارای یک قسمت غده‌ای می‌باشد که از نظر شیمیایی برخی خواص سیر را نشان می‌دهد، اما اثرات آن ملایم‌تر از سیر است. بعضی از مواد موجود در تره کوهی دارای خاصیت محافظت کنندگی در برابر عوامل آسیب رسان به پوست، ضد انگل، ضد آسم، کاهش دهنده کلسترول، ضد اسپاسم، افزایش دهنده‌ی جریان صفرا، افزایش دهنده‌ی دفع عرق، دیورتیک، خلط آور، تب بر، موثر بر اعمال ترشحی معده دارند. با توجه به اینکه گیاه دارای مقادیر زیادی از سولفوکسیدهای سیستئینی می‌باشد، خاصیت ضد دیابتی و آنتی اکسیدانی نیز دارد [۲-٤].

در دنیای امروز با توجه به اینکه داروهای گیاهی دارای اثرات ضدمیکروبی قوی‌تر و عوارض ناخواسته‌ی کمتری نسبت به داروهای شیمیایی در درمان عفونت‌ها هستند، یک رویکرد جدید جهت استفاده از داروهای گیاهی بوجود آمده است[۵]. امروزه باکتری‌ها در نتیجه تغییرات کروموزومی و یا تغییر در ماده‌ی ژنتیکی خود از طریق پلاسمیدها و ترانسپوزون‌ها، در حال مقاوم شدن به عوامل آنتی بیوتیکی هستند. امروزه برخی استرپتوکوکوس‌ها و استافیلوکوکوس‌ها که موجب عفونت‌های پوستی و تنفسی می شوند و نیز اعضای خانواده انتروباکتریاسه و سودوموناس، که موجب عفونت ادارای، اسهال و سپسیس می‌شوند؛ تقریبا به همه‌ی آنتی بیوتیک‌های قدیمی مقاوم هستند. استفاده گسترده و بی رویه آنتی بیوتیک‌ها در جوامع و در بیمارستان‌ها بیش از پیش به این بحران دامن زده است. برخی ساز وکارها مانند برنامه‌های کنترل مصرف آنتی بیوتیک، رعایت بیشتر نکات بهداشتی و در نهایت ساخت مواد ضد میکروبی جدید از جمله مواد گرفته شده از گیاهان، می‌تواند در حل این بحران کمک شایانی کند [٦].

باکتری *Escherichia coli* از اعضای خانواده اینتروباکتریاسه و از رایج‌ترین باکتری‌های ساکن در روده انسان و حیوانات می‌باشد. این باکتری شایع‌ترین باکتری گرم منفی مولد عفونت‌های بیمارستانی می‌باشد. همچنین غالب‌ترین عامل عفونت دستگاه ادراری بوده و یکی از برجسته‌ترین ارگانیسم‌هایی است که در منتزیت نوزادان جدا شده است. مقاومت *E. coli* به مواد ضدمیکروبی در سراسر جهان گزارش شده است [۷]. *Bacillus cereus* باکتری میله‌ای، متحرک، گرم مثبت است که تشکیل اسپور می‌دهد و از طیف گسترده‌ای از محیط‌های گوناگون جدا شده است. این باکتری را به عنوان باکتری بیماری‌زا و یا بیماری‌زای فرصت طلب می شناسند و از برخی عفونت‌های مختلف انسانی جدا شده است [۸]. *Salmonella typhi* یک باکتری بیماریزای انسانی می‌باشد که سالانه منجر به مرگ ۲۰۰ هزار نفر و ۲۱ میلیون مورد تب حصبه می‌شود. سالمونلا باکتری گرم منفی، محرک، میله‌ای و متعلق به خانواده انتروباکتریاسه می‌باشد که می‌تواند با مهار اکسیداتیو لکوسیت‌ها سیستم ایمنی ذاتی را از کار بیاندازد [۹]. *Staphylococcus aureus* شایع‌ترین باکتری بیماریزاست که از انسان جدا شده است و یکی از عوامل مهم بروز عفونت‌های پوستی، درون عروقی و بیماری‌هایی همچون اندوکاردیتیس، سپتیس و استئومیلیتیس می‌باشد. جدایه‌های *Staphylococcus aureus* مقاوم به متیسیلین به همه انواع پنیسیلین و سایر داروهای بتالاکتام مقاوم هستند [۱۰, ۱۱].

این پژوهش با هدف مقایسه اثر بازدارندگی و کشندگی عصاره‌های آبی و اتانولی برگ‌های گیاه تره کوهی (*Allium ampeloprasum* L. subsp. *iranicum*) بر باکتری‌های بیماریزای *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اپیدرمیدیس*، *باسیلوس سرئوس*، *سالمونلا تیفی* و *اشرشیا کلی* انجام گرفت.

۲- مواد و روش ها

جمع آوری گیاه و تهیه سویه های میکروبی

نمونه های تره کوهی از بازار محلی در شهرستان بوکان واقع در استان آذربایجان‌غربی تهیه شده و به آزمایشگاه میکروب‌شناسی صنعتی گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-23]

فردوسی مشهد منتقل گردید. برگ‌های گیاه تره کوهی پس از تمیز شدن در دمای اتاق و در سایه خشک شدند تا در مراحل بعد از آن ها استفاده شود. در این مطالعه از سویه‌های شاخص: *Escherichia coli* PTCC 1330, *Staphylococcus aureus* PTCC 1337 *Staphylococcus epidermidis* PTCC 1435, *Salmonella typhi* و *Bacillus cereus* PTCC 1665 PTCC 1609 استفاده گردید.

تهیه عصاره های آبی و اتانولی

برگ‌های خشک شده گیاه تره کوهی با دستگاه آسیاب آزمایشگاهی مدل Warningپودر گردید و سپس عصاره آن با استفاده از روش خیساندن به دست آمد. جهت انجام این کار ۵۰ گرم از پودر گیاه وزن شد و به ارلن‌های جداگانه‌ای ریخته شد که به ترتیب حاوی ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر و اتانول ۹۶ درجه بودند، پس از بستن درب ارلن‌ها؛ آن‌ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد در انکوباتور چرخان قرار گرفتند. پس از عبور دادن محلول‌ها از کاغذ صافی واتمن محلول به دست آمده به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰rpm سانتریفوژ شد و در نهایت عصاره بدست آمده در دستگاه تقطیر در خلاء وارد شده و تغلیظ شد. عصاره‌های حاصل در ظروف استریل ریخته شده و تا زمان استفاده در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند [۱۲, ۱۳].

تعیین وزن خشک عصاره ها

برای به دست آوردن وزن خشک عصاره‌های بدست آمده ابتدا وزن لوله آزمایش خالی اندازه‌گیری شد و یک میلی‌لیتر از عصاره آبی و متانولی به صورت جداگانه به لوله‌ها اضافه شد و در دمای اتاق کاملا خشک گردید. لوله‌ها پس از خشک شدن توزین گردید. میانگین اختلاف در توزین اول و دوم به عنوان وزن یک میلی‌لیتر عصاره در نظر گرفته شد [۱٤].

روش پورپلیت یا آمیخته

برای انجام روش پورپلیت ۱ میلی‌لیتر از محلول آبی و اتانولی در هر پلیت ریخته شد و محیط کشت مولر هینتون آگار (DEFCO Laboratories, USA) به درون پلیت اضافه گردید. سپس یک لوپ از کشت استاندارد هر سویه بر روی این پلیت‌ها کشت داده شد. گرمخانه‌گذاری برای پلیت‌ها به مدت ۲٤ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت [۱۵].

انتشار در آگار به کمک دیسک

برای تهیه دیسک‌ها کاغذی جهت انجام روش انتشار در آگار به کمک دیسک، ابتدا آن ها در غلظت‌های مشخص (mg/ml ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰) از محلول‌های آبی و اتانولی خیسانده شدند. آزمایش ها در سه تکرار انجام شد و گرمخانه‌گذاری پلیت‌ها نیز به مدت ۲٤ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد بود. پس از گرمخانه‌گذاری قطر ناحیه‌ای که در آن رشد صورت نگرفته بود بر حسب میلی‌متر گزارش گردید [۱٦].

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی به روش ماکرودایلوشن براث

در این مطالعه برای اندازه‌گیری حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) از روش ماکرودایلوشن براث استفاده شد. به این ترتیب که غلظت-های ۲، ٤، ۸، ۱٦، ۳۲، ٦٤، ۱۲۸ و ۲۵٦ از عصاره‌ها و نیز یک لوله کنترل منفی حاوی یک میلی‌لیتر عصاره خالص تهیه شد و سپس **ریزاندامگان** در لوله‌های حاوی مقدار مشخصی از سوسپانسیون (معادل ۰/۵ مک‌فارلند) تحت تاثیر عصاره‌های آبی و اتانولی قرار گرفتند. گرمخانه‌گذاری لوله‌ها به مدت ۲٤ ساعت ودر دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام پذیرفت و پس از آن لوله-ها جهت اندازه‌گیری کدورت بررسی شدند [۱۷, ۱۸].

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی به میکرودایلوشن براث و معرف تری‌فنیل تترازولیوم

برای روش تعیین MIC به کمک معرف تری‌فنیل تترازولیوم نیز همانند روش ماکرودایلوشن براث عمل شد با این تفاوت کوچک

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-23]

که در این روش پس از گرمخانه‌گذاری، محلول تری‌فنیل تترازولیوم (triphenyltetrazolium chloride) با غلظت ۵ میلی‌گرم بر لیتر تهیه و به لوله‌ها اضافه گردید. در اینجا، در کمتر از نیم ساعت لوله‌هایی که در آنها **ریزاندامگان** رشد کرده است رنگ قرمز تیره ایجاد می‌شود؛ بر همین اساس کمترین غلظتی که در آن رشد **ریزاندامگان** رخ ندهد به عنوان MIC گزارش می‌شود [۱۸, ۱۹].

تعیین حداقل غلظت کشندگی

با توجه به نتایج بدست آمده از حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی از رشد، از تمام لوله‌هایی که در آنها رشد **ریزاندامگان** کاملا متوقف شده بود، ۱۰ میکرولیتر بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار انتقال داده شد و سپس پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید. بر این اساس غلظت‌هایی که فاقد رشد **ریزاندامگان** بودند، به عنوان حداقل غلظت کشندگی یا MBC (Minimum Bactericidal Concentration) گزارش شدند [۲۰].

آنالیز آماری

جهت آنالیز داده‌ها در این پژوهش از نرم افزار SPPS 16 و آزمون واریانس یک طرفه استفاده شد. مقایسه‌ی میانگین نیز با آزمون دانکن، در سطح اطمینان ۹۵٪ انجام گرفت.

۳- نتایج و بحث

میانگین وزن خشک عصاره آبی ۰/۱۲±۹ درصد، و میانگین وزن خشک عصاره اتانولی ۰/۱۷±۱۲/۵ بود. در روش آمیخته هیچ یک از عصاره‌های اتانولی و آبی در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر روی باکتری‌های گرم منفی اثری نداشته و نتوانستند رشد باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی* را متوقف کنند. در مورد باکتری‌های گرم مثبت عصاره آبی توانست تا حدودی از رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* جلوگیری کند اما بر *باسیلوس سرئوس* تاثیری نداشت. بهترین اثر را عصاره اتانولی بر باکتری‌های گرم مثبت داشت که توانست تا حدودی از رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* جلوگیری کرده و رشد *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* را متوقف کند (جدول شماره ۱). بیشترین قطر هاله‌ی بازدارندگی رشد در مورد هر دو عصاره اتانولی و آبی مربوط به باکتری‌های گرم مثبت و به ترتیب مربوط به *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* بود به نحوی که بیشترین قطر هاله مربوط به غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره اتانولی برای *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* بود. اما قطر هاله بازدارنده برای باکتری های گرم منفی کمترین مقدار بود و برای باکتری *سالمونلا تیفی* در همه غلظت‌ها کمترین قطر هاله مشاهده شد. به نحوی که عصاره آبی در دو غلظت و عصاره اتانولی در یک غلظت بر روی این باکتری بی اثر بودند همچنین عصاره آبی در غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر *اشرشیا کلی* تاثیری نداشت (جدول شماره ۲). نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) عصاره‌های آبی و اتانولی به روش ماکرودایلوشن براث بر میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه در جدول شماره ۳ آمده است. بر این اساس MIC عصاره آبی تره کوهی برای *سالمونلا تیفی*، *اشرشیا کلی*، *باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* به ترتیب برابر ۲۵٦، ۱۲۸، ٦٤، ۳۲ و ۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود و MIC عصاره اتانولی تره کوهی برای *سالمونلا تیفی*، *اشرشیا کلی*، *باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* به ترتیب برابر ۱۲۸، ٦٤، ٦٤، ۳۲ و ۱٦ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت کشندگی یا MBC عصاره آبی تره کوهی برای *سالمونلا تیفی*، *اشرشیا کلی*، *باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* به ترتیب برابر ۲۵٦، ۱۲۸، ۱۲۸، ٦٤ و ۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود و MBC عصاره اتانولی تره کوهی برای *سالمونلا تیفی* و *اشرشیا کلی* برابر ۲۵٦، برای *باسیلوس سرئوس* برابر ۱۲۸ و درنهایت برای *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* برابر ۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بدست آمد (جدول شماره ٤).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-23]

Table 1 Antimicrobial effects of 2000µg/ml ethanolic and aqueous *Allium ampeloprasum* leaves extract concentrations, on *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* and *Bacillus cereus* (using the method of Pour plate)

Aqueous	Ethanolic	**Microorganism**
I	**I**	*Staphylococcus aureus*
I	**S**	*Staphylococcus epidermidis*
R	**I**	*Bacillus cereus*
R	**R**	*Salmonella typhi*
R	**R**	*Escherichia coli*

S: Sensitive , R: Resistant , I = Intermediate

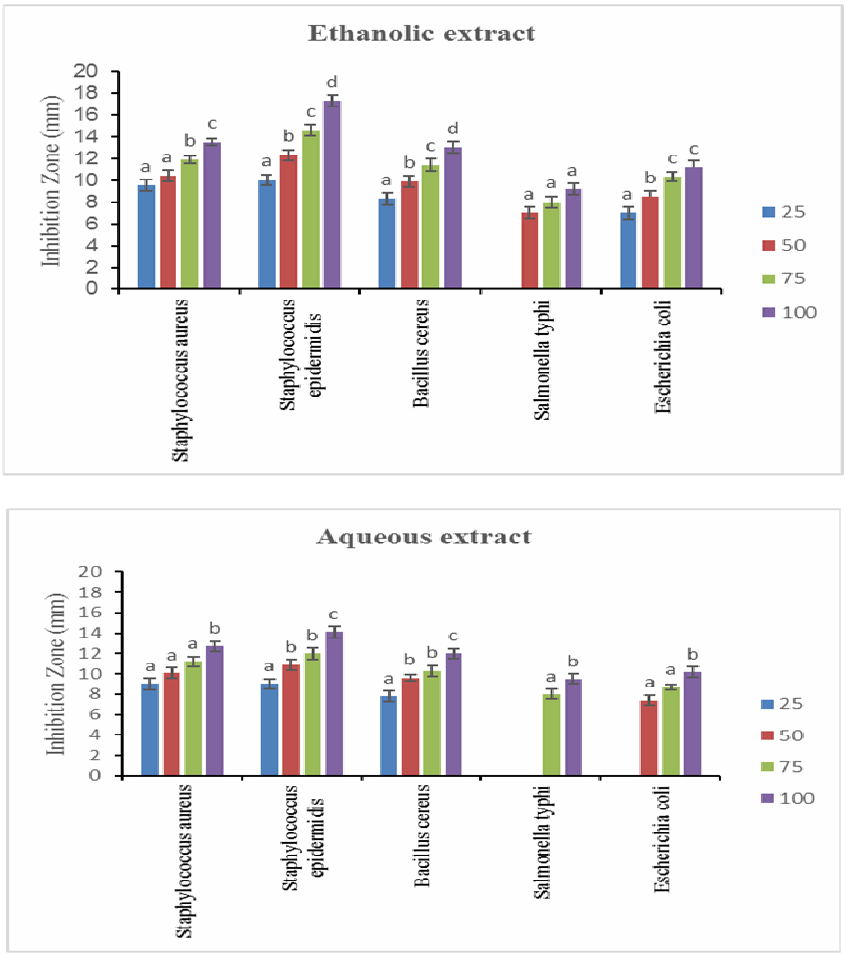

Fig 1 Average diameter (mm) of microbial free zone area of a ethanolic and aqueous *Allium ampeloprasum* extracts concentrations on *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* and *Bacillus cereus* (Disk Agar Diffusion Method).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-23]

Table 2 Minimum inhibitory concentration (MIC) of ethanolic and aqueous *Allium ampeloprasum* extracts concentrations on *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Salmonella typhi, Escherichia coli* and *Bacillus cereus*

Concentration, mg/mL										
Control	256	128	64	32	16	8	4	2	Microorganism	Extract
−	−	−	−	−	+	+	+	+	*Staphylococcus aureus*	ethanolic
−	−	−	−	−	−	+	+	+	*Staphylococcus epidermidis*	ethanolic
−	−	−	−	+	+	+	+	+	*Bacillus cereus*	ethanolic
−	−	−	+	+	+	+	+	+	*Salmonella typhi*	ethanolic
−	−	−	−	+	+	+	+	+	*Escherichia coli*	ethanolic
−	−	−	−	−	+	+	+	+	*Staphylococcus aureus*	aqueous
−	−	−	−	−	+	+	+	+	*Staphylococcus epidermidis*	aqueous
−	−	−	−	+	+	+	+	+	*Bacillus cereus*	aqueous
−	−	+	+	+	+	+	+	+	*Salmonella typhi*	aqueous
−	−	−	+	+	+	+	+	+	*Escherichia coli*	aqueous

+ grow; - not grow; n = 3. **MIC (Micro dilution broth)**

Table 3 Minimum bactericidal concentration (MBC) and microdilution broth of ethanolic and aqueous *Allium ampeloprasum* extracts concentrations on *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Salmonella typhi, Escherichia coli* and *Bacillus cereus*

MBC (mg/ml)	microdilution broth (mg/ml)	Microorganism	Extract
32	≥ 32	*Staphylococcus aureus*	ethanolic
32	≥ 16	*Staphylococcus epidermidis*	ethanolic
128	≥ 64	*Bacillus cereus*	ethanolic
256	≥ 256	*Salmonella typhi*	ethanolic
256	≥ 128	*Escherichia coli*	ethanolic
64	≥ 32	*Staphylococcus aureus*	aqueous
32	≥ 32	*Staphylococcus epidermidis*	aqueous
128	≥ 64	*Bacillus cereus*	aqueous
256	≥ 256	*Salmonella typhi*	aqueous
128	≥ 128	*Escherichia coli*	aqueous

بر اساس تخمین سازمان جهانی بهداشت، ۸۰ درصد مردم در کشورهای توسعه یافته از داروهای سنتی استفاده می‌کنند و گیاهان دارویی پایه اصلی طب سنتی را تشکیل می‌دهند. این مطلب بیانگر ان است که تعداد بسیار زیادی از مردم به طور منظم از داروهای گیاهی استفاده می‌کنند. همین مسئله منجر به بررسی-های دقیق‌تر بر اثرات درمانی و بی‌خطر بودن گیاهان دارویی شده است. در این بین مقاومت روزافزون **ریزاندامگان** بیماریز ا با آنتی بیوتیک‌های موجود سبب تلاش‌های فراوان در جهت یافتن ترکیبات ضدمیکروبی جدید موجود در گیاهان شده است [۲۱].

چندین گیاه دارویی وجود دارند که در طب سنتی از آن‌ها از آن ها برای درمان عفونت‌ها استفاده می‌شود [۲۲]. گیاه تره کوهی گیاهی بسیار ارزشمند از جنس Allium بوده و دارای مقادیر زیادی از سولفوکسیدهای سیستئینی بوده که این ترکیبات خاصیت ضددیابتی و انتی اکسیدانی دارند. همچنین گیاهان این جنس منبع خوب، ارزان و طبیعی از آنتی اکسیدان‌هایی نظیر اسیدهای فنولی و فلاونوئیدها معرفی شده‌اند . سایر محققان ضدباکتریایی اعضای این جنس را عمدتا به آلیسین موجود در آن نسبت می‌دهند [۲۳, ۲٤]. علاوه بر این ها گیاه تره کوهی در

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-23]

ایران از دیرباز به عنوان درمان سنتی هوموروئید مورد استفاده بوده است. مهم‌ترین ترکیبات فعال موجود در آن فلاونوئیدها و ساپونین‌ها هستند. فلاونوئیدها بر بیماران هوموروئیدی تاثیر بسیار مثبتی داشته و نیز اثرات استروئیدی و ضد التهاب ساپونین‌ها نیز در مطالعات گذشته به اثبات رسیده است [۲۵].

در پژوهش حاضر به بررسی خواص ضدباکتریایی تره کوهی بر پنج گونه باکتری بیماریزای انسانی پرداخته شد. نتایج قطر هاله بازدارنده از رشد نشان داد که در اکثر موارد تفاوت معنی‌داری در غلظت‌های مختلف در مورد باکتری‌های گرم مثبت وجود داشت که چنین اختلافی از نظر آماری در مورد باکتری‌های گرم منفی مشاهده نشد ($p\leq0/05$). با توجه به اینکه بخش اعظم ترکیبات فعال برگ گیاه تره کوهی را فلاونوئیدها و ساپونین‌ها تشکیل می‌دهند و آلیسین عمدتا در ریشه‌ی غده‌ای گیاه متمرکز می‌باشد و با توجه به اینکه اثرات ضد میکروبی ترکیبات فلاونوئیدی در پژوهش‌های بسیاری مورد تایید قرار گرفته است می‌توان اثرات ضدمیکروبی عصاره برگ‌های تره کوهی را به ترکیبات فنلی و فلانوئیدی و نیز اسیدهای موجود در آن نسبت داد [۱۸, ۲۶].

نتایج نشان داد که میزان استحصال عصاره اتانولی حدود ۳/۵ درصد بیشتر از عصاره آبی بود و حلال اتانول نسبت به حلال آبی توانسته بود به طور موثرتری با اجزا و مواد تشکیل دهنده گیاه تره کوهی واکنش دهد. به طور کلی پژوهش‌های مختلف مبین این مطلب است که بهترین حلال برای بدست آوردن عصاره خام یک گیاه اتانول و یا متانول ۸۰ یا ۸۵ درصد می‌باشد که می‌تواند ۸۰ درصد مواد متشکل دهنده گیاه را در خود حل کند ضمن اینکه این حلال نسبت به سایر حلال‌ها این مزیت را دارد که نشاسته موجود در گیاه را استخراج نمی‌کند [۲۷, ۲۸].

وسیعی و همکاران (۱۳۹۳) اثرات ضدباکتریایی عصاره خرفه (*Portulaca oleracea*) را بر تعدادی از ریزاندامگان بیماری زا در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند. بر اساس یافته‌های آنان بیشترین میزان اثر عصاره اتانولی خرفه بر باکتری‌های گرم مثبت *استرپتوکوکوس پیوژنز* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. کمترین قطر هاله بازندارندگی نیز در مورد باکتری‌های گرم منفی سودوموناس اثروژینوزا و اشرشیا کلی مشاهده شد [۲۸].

شاپوری و همکاران (۱۳۸۳) اثر عصاره کلروفرمی سیر (*Allium Sativum* L) را بر مورفولوژی و فیزیولوژی باکرتی گرم منفی بروسلا بررسی کردند. آنها پس از استخراج عصاره کلروفرمی سیر و تعیین میزان کمی آلیسین، MIC و MBC را برای بروسلا ملی‌تنسیس Rev1 و بروسلا آبورتوس S19 در دما و زمان‌های مختلف تعیین کردند. نتایج نشان داد که اثر ضد میکروبی آلیسین بر روی بروسلا تحت تاثیر دما قرار نمی‌گیرد و اثر کشندگی خود را در همان دو ساعت اول بر روی باکتری نشان می‌دهد [۲۹].

مواد تشکیل‌دهنده موجود در اسانس و نیز اثرات میکروبی اسانس و عصاره‌های مختلف گیاه (*Allium jesdianum* Boiss. & Buhse) با نام محلی بن سرخ توسط امیری در سال ۱۳۸۵ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اثرات بازدارندگی رشد عصاره‌ها به ویژه عصاره اتانولی بیش از اسانس‌ها بود و همچنین عصاره آبی این گیاه تقریبا فاقد اثرات ضدمیکروبی بود. شناسایی مواد متشکله اسانس با استفاده از دستگاه GC و GC/MS نشان داد که اسانس این گیاه همانند اغلب گونه‌های جنس Allium عمدتا از ترکیبات سولفیدی تشکیل شده و اثرات ضد میکروبی اسانس و عصاره‌های مختلف احتمالا به دلیل حضور همی ترکیبات می‌باشد [۳۰].

هاگس و لاوسن (۱۹۹۱) اثرات ضدمیکروبی سیر (*Allium sativum* L) و تره کوهی (*Allium ampeloprasum* L) و پیاز (Allium cepa L) و نیز ترکیبات موثر آنها را بررسی کردند. دی‌آلیل تیوسولفینات یا آلیسین، متیل آلیل تیوسولفینات و آلیل متیل تیوسولفینات در عصاره آبی سیر یافت شده و پودر همگن‌شده آن خاصیت ضدباکتریایی و ضدقارچی نشان داد در حالیکه ترکیبات قطبی سیر نظیر آلین این اثر را نداشتند. آنها همچنین دریافتند که بوته سیر و تره کوهی درای ترکیبات و اثرات مشابهی هستند. به علاوه این دو گیاه نسبت به پیاز بسیار فعال‌تر بودند [۳۱].

براساس تحقیقات انجام شده باکتری های گرم مثبت نسبت به عصاره و اسانس ها حساس تر از باکتری های گرم منفی هستند. به دلیل وجود غشاءهای خارجی احاطه کننده دیواره سلولی در باکتری های گرم منفی این باکتری ها در برابر اثر ضد باکتریایی اسانس ها حساسیت کمتری از خود نشان دهند. در باکتری های گرم مثبت تماس مستقیم ترکیب های آبگریز با این فسفولیپید

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-23]

دولایه ای صورت می گیرد در نتیجه این ترکیب ها اثر خود را بر جای می گذارند اگرچه بروز فعالیت ضد باکتریایی اغلب بسیار واضح است، اما مکانیسم عمل آن به طور کامل درک نشده است. بررسی های صورت گرفته در خصوص مکانیسم عمل اسانس ها اثبات نموده که این ترکیب ها نفوذپذیری غشاء را افزایش می دهند. اجز اء اسانس با نفوذ در غشاء منجر به متورم شدن غشاء گردیده و فعالیت آن را کاهش داده و در نهایت منجر به مرگ سلول می شود [۳۲].

٤- نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش به روشنی مبین این مطلب بود که عصاره گرفته شده از تره کوهی اثرات ضد باکتریایی مطلوبی بر همه **ریزاندامگان** مورد نظر داشت و توانست در جلوگیری از رشد باکتری‌های گرم مثبت عملکرد موثرتری داشته باشد. با توجه به اینکه گیاه تره کوهی از جنس Allium بوده و اکثر خواص بسیار مفید سیر را دارا می‌باشد و در عین حال به لحاظ طعم و بو ملایم تر از سیر می‌باشد شایسته است که در ادامه پژوهش‌های بیشتری در شرایط «*in vivo*» انجام شود؛ و نیز با استفاده از کروماتوگرافی با کارایی بالا با یافتن مواد موثر ضد میکروبی قسمت‌های مختلف این گیاه، بتوان از آن به صورت خوراکی یا دارویی در درمان بیماری‌های عفونی استفاده کرد.

٥- منابع

[1] Mozaffarian V. A dictionary of Iranian plant names: Latin. English, Persian: Farhang Mo'aser. 1996.

[2] Nguansangiam S, Angsubhakorn S, Bhamarapravati S, Suksamrarn A. Effects of elephant garlic volatile oil (Allium ampeloprasum) and T-2 toxin on murine skin. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2003;34:899-905.

[3] Morita T, Ushiroguchi T, Hayashi N. Steroidal saponins from elephant garlic, bulbs of Allium ampeloprasum L. Chem Pharm Bull. 1988;36:3480-6.

[4] Roghani M, Aghayie M. The effect of Allium ampeloprasum on nociceptive response intensity in diabetic rats. J Gorgan Uni Med Sci. 2007;9:10-4. [Full Text in Persian]

[5] Aghaabbasi K, Dehghan E, Baghizadeh A, Dashti H. Comparing the effect of ethanol extracts of Descurainia sophia (L.) seed and Althaea officinalis root on Streptococcus pyogenes. Zahedan J Res Med Sci. 2014;16:27-32.

[6] Neu HC. The crisis in antibiotic resistance. Science. 1992;257:1064-73.

[7] Von Baum H, Marre R. Antimicrobial resistance of Escherichia coli and therapeutic implications. Int J Med Microbiol. 2005;295:503-11.

[8] Kotiranta A, Lounatmaa K, Haapasalo M. Epidemiology and pathogenesis of Bacillus cereus infections. Microb Infect. 2000;2:189-98.

[9] Devi KP, Nisha SA, Sakthivel R, Pandian SK. Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against Salmonella typhi by disrupting the cellular membrane. J ethnopharmacol. 2010;130:107-15.

[10] Lowy FD. Staphylococcus aureus infections. N Engl J med. 1998;339:520-32.

[11] David MZ, Daum RS. Community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. Clin Microbiol Rev. 2010;23:616-87.

[12] Behbahani BA, Yazdi FT, Mortazavi A, Zendeboodi F, Gholian MM. Effect of aqueous and ethanolic extract of Eucalyptus camaldulensis L. J Paramedic Sci. 2013;4.

[13] Ahmad I, Beg AZ. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. J ethnopharmacol. 2001;74:113-23.

[14] Soltaninejad S, Mokhtari TS, Soltaninejad M. Evaluation of antibacterial activity of methanol extract of eucalyptus leaves against Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Streptococcus pyogenes in vitro. J Microbial Biotech Research Islamic Azad Univ. 1389;2(4):21-8. [Full Text in Persian]

[15] Mohebbi M, Behbahani BA, Ansarifar E, Noshad M. Antimicrobial effect of Aloe vera and Chitosan on some pathogenic bacteria and comparing it with common therapeutic antibiotics “in vitro”. Iran J Infect Dis Tropical Med. 2015;19(67):21-9. [Full Text in Persian]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-23]

[16] Boyanova L, Gergova G, Nikolov R, Derejian S, Lazarova E, Katsarov N, et al. Activity of Bulgarian propolis against 94 Helicobacter pylori strains in vitro by agar-well diffusion, agar dilution and disc diffusion methods. J Med Microbiol. 2005;54:481-3.
[17] Yazdi FT, Behbahani BA, Vasiee A, Alghooneh A. Exploration of antibacterial activity extracts of Ribes rubrum against Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Listeria innocua and Enterobacter aeruginosa "in vitro". J Infect Dis Trop Med. 2015;20(69):31-40. [Full Text in Persian]
[18] Marand SK, Yazdi FT, Mortazavi SA, Babaei AB. Inhibitory and Bactericidal Effects of Artichoke (Cynara scolymus) on Pathogenic Strains and Their Comparison with Antibiotics In Vitro. Qom Univ Med Sci J. 2016;10(2):31-42. [Full Text in Persian]
[19] Mattana C, Satorres S, Sosa A, Fusco M, Alcaráz L. Antibacterial activity of extracts of Acacia aroma against methicillin-resistant and methicillin-sensitive Staphylococcus. Braz J Microbiol. 2010;41:581-7.
[20] Duffy CF, Power RF. Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts. Int J Antimicrob Ag. 2001;17:527-9.
[21] Eloff J. Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants? J Ethnopharmacol. 1998;60:1-8.
[22] Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev. 1999;12:564-82.
[23] Moradkhani S, Hajizadeh N, Molaabaszadeh H. Anti-bacterial Effects of Aquatic and Chloroformed Eextract of Allium Sativum on E. coli. Iran J Infect Dis. 2014;66:45-50.
[24] Fritsch RM, Keusgen M. Occurrence and taxonomic significance of cysteine sulphoxides in the genus Allium L.(Alliaceae). Phytochemistry. 2006;67:1127-35.
[25] Mosavat SH, Ghahramani L, Sobhani Z, Haghighi ER, Heydari M. Topical Allium ampeloprasum Subsp Iranicum (Leek) Extract Cream in Patients With Symptomatic Hemorrhoids A Pilot Randomized and Controlled Clinical Trial. J Evid Based Complementary Altern Med. 2015;20:132-6.
[26] Zhu X, Zhang H, Lo R. Phenolic compounds from the leaf extract of artichoke (Cynara scolymus L.) and their antimicrobial activities. J Agric Food chem. 2004;52:7272-8.
[27] Mehraban A, Dovom MRE, Khodaparast1 MHH, Atash MMS. Evaluation of Inhibitory and Lethal Effects of Aqueous, Ethanolic and Hydroalcoholic Extracts of Aerial Parts of Salvia chorassanica against Some Gram-negative and Gram-positive Bacteria in Vitro. Qom Uni Med Sci J. 2016;10(2):1-11. [Full Text in Persian]
[28] Vasiee A, Zanganeh H, Behbahani BA, Yazdi FT. Antimicrobial Effect of Portulaca oleracea Extract on Infectious Microorganisms- In-vitro Study. Iran J Infect Dis. 2014;66:37-43. [Full Text in Persian]
[29] Shapoury R, Sattari M, Mohammad Hassan Z. Study effect of garlic choloroformic extract (Allicin) on physiology and morphology of brucella. J Med Plants. 2004;2:15-22. [Full Text in Persian]
[30] Amiri H. Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of Allium jesdianum Boiss. & Buhse From Iran. J Med Plants. 2007;1:39-44. [Full Text in Persian]
[31] Hughes BG, Lawson LD. Antimicrobial effects of Allium sativum L. (garlic), Allium ampeloprasum L. (elephant garlic), and Allium cepa L. (onion), garlic compounds and commercial garlic supplement products. Phytother Res. 1991;5:154-8.
[32] Alizadeh-Behbahani B, Tabatabaei-Yazdi F, Noorbakhsh H, Riazi F, Jajarmi A, Tabatabaei-Yazdi F. Study of the antibacterial activity of methanolic and aqueous extracts of Myrtus communis on pathogenic strains causing infection. Zahedan J of Res in Med Sci. 2016;18(2): 1-7.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-23]

Antimicrobial effects of Leek (*Allium ampeloprasum* L. subsp. *iranicum*) extract on some food-borne pathogens *in vitro*

Saeedi, M.[1], Yeganegi, M.[1] Alizadeh Behbahani, B.[2], Vasiee, A. R.[2], Tabatabaei Yazdi, F.[3*]

1. M.Sc Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad
2. Ph.D student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad
3. Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

(Received: 2016/05/31 Accepted: 2016/07/19)

Nowadays, a new approach has emerged to the use of herbal medicines to treat infections, since herbal medicines are stronger antimicrobial activity and fewer side effects than chemical drugs. Aim of this study was assessing the antimicrobial effects of Leek extract on 5 Pathogenic Strains. In this study different concentrations of aqueous and ethanol extracts of Leek leaves were prepared and antibacterial effects of extracts were investigated by pour plate, agar well, broth microdilution, broth microdilution and triphenyltetrazolium chloride indicator methods. To analyze the data, one-way ANOVA was used and the Duncan test was performed to compare the means. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of the aqueous extract of Leek for *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, and *Staphylococcus epidermidis* were 256, 128, 64,32 and 32mg/ml, respectively, and the MIC of the ethanolic extract were 128, 64, 64, 32, and 16mg/ml, respectively. Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of the aqueous extract of Leek were 256, 128, 128, 64 and 32mg/ml, and the MBC of the ethanolic extract were 256, 256, 128, 32, and 32/ml, respectively. The results showed that the Leek extract had a significant antibacterial effect on all studied bacteria. That could especially prevent growth effectively in Gram-positive bacteria.

Keywords: Antimicrobial effects, Leek, Aqueous and ethanolic extract, Pathogen.

* Corresponding Author E-Mail Address: tabatabai@um.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-23]