



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

اثر ضد میکروبی و برهمکنش عصاره آبی انجبار بر تعدادی از میکروارگانیسم های بیماری زا در شرایط آزمایشگاهی

بهروز علیزاده بهبهانی^{۱*}، محمد گلباشی^۲، Alaa G. Al-Hashimi^۳

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

۲-استادیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

3-Food Science Department, College of Agriculture, University of Basrah, 61004 Basrah, Iraq

چکیده

اطلاعات مقاله

بیماری های ناشی از غذا که توسط میکروارگانیسم های بیماری زا ایجاد می شوند، با حدود ۶۰۰ میلیون مورد و ۴۲۰،۰۰۰ مرگ سالانه، یک چالش بهداشت جهانی مهم است. در مطالعه حاضر، پتانسیل ضد میکروبی عصاره آبی انجبار (*Bistorta officinalis*) در برابر عوامل بیماری زای غذایی از جمله لیستریا مونوسیژنر، استفیلوکوکوس اپیدرمیدیس، اروینیا امیلورا، سودوموناس سیرینگه، زانتوموناس کمپستریس و سالمونلا تیفی مورد بررسی قرار گرفت. عصاره با خیساندن پودر ریشه خشک شده در آب مقطر و سپس فیلتراسیون و سانتریفیوژ تهیه شد. فعالیت ضد میکروبی با استفاده از روش های دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار و حداقل غلظت مهارکننده (MIC) و حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) ارزیابی شد. نتایج نشان داد که لیستریا مونوسیژنر و استفیلوکوکوس اپیدرمیدیس با مناطق بازدارندگی به ترتیب ۱۲/۰۶ و ۱۱/۹۵ میلی متر در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر حساس ترین حساسیت ها بودند. مقادیر MIC از ۴ میلی گرم در میلی لیتر برای لیستریا مونوسیژنر تا ۱۶ میلی گرم در میلی لیتر برای اروینیا امیلورا و سالمونلا تیفی متغیر بود. مقادیر MBC برای لیستریا مونوسیژنر کمترین (۱۲۸ میلی گرم در میلی لیتر) و برای اروینیا امیلورا و سالمونلا تیفی بالاترین بود. هنگامی که عصاره با تتراسایکلین ترکیب شد، یک اثر هم افزایی مشاهده شد. این مطالعه اثر ضد میکروبی وابسته به غلظت عصاره انجبار، به ویژه در برابر باکتری های گرم مثبت، به دلیل ساختار دیواره سلولی نفوذپذیر آنها را برجسته می کند. این یافته ها نشان می دهد که عصاره انجبار می تواند به عنوان یک نگهدارنده طبیعی عمل کند و جایگزینی امن و سازگار با محیط زیست برای افزودنی های مصنوعی در نگهداری مواد غذایی باشد.

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۳/۷

کلمات کلیدی:

انجبار،

فعالیت ضد میکروبی،

پاتوژن های غذایی،

نگهدارنده های طبیعی،

حداقل غلظت بازدارنده،

اثر هم افزایی.

DOI: 10.22034/FSCT.22.166.278.

* مسئول مکاتبات:

B.alizadeh@asnrukh.ac.ir

۱- مقدمه

مجموعه وسیعی از متابولیت‌های ثانویه مانند فنولیک‌ها، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها و اسانس‌ها را تولید می‌کنند که فعالیت ضد میکروبی قوی در برابر پاتوژن‌های ناشی از غذا نشان می‌دهند. این ترکیبات طبیعی نه تنها ایمنی مواد غذایی را افزایش می‌دهند، بلکه با تقاضای رو به رشد مصرف‌کننده برای محصولات با برجسب تمیز و عاری از افزودنی‌های مصنوعی همسو می‌شوند [۱۵-۲۵]. در میان گیاهان بی‌شماری که به خاطر پتانسیل نگهدارنده‌شان مورد مطالعه قرار گرفته‌اند، گیاه انجبار به دلیل خواص زیست فعال آن توجه را به خود جلب کرده است.

انجبار (*Bistorta officinalis*)، گیاهی چند ساله بومی اروپا و آسیا، به طور سنتی در طب عامیانه به دلیل خواص ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی آن استفاده می‌شود. این گیاه حاوی مجموعه‌ای غنی از ترکیبات فعال زیستی از جمله تانن‌ها، فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک است که به اثرات درمانی آن کمک می‌کند [۲۶]. مطالعات اخیر پتانسیل عصاره‌ها و اسانس‌های انجبار را به عنوان نگهدارنده‌های طبیعی در سیستم‌های غذایی برجسته کرده‌اند. به عنوان مثال، نشان داده شده است که عصاره متانولی آن فعالیت ضد میکروبی قوی علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* و *شریشیا کلی* از خود نشان می‌دهد و آن را به یک کاندید مناسب برای نگهداری مواد غذایی تبدیل می‌کند [۲۷]. علاوه بر این، خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه به کاهش فساد اکسیداتیو کمک می‌کند و کاربرد آن را در برنامه‌های غذایی افزایش می‌دهد.

این مطالعه با هدف بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره آبی انجبار با استفاده از روش‌های دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار و تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت باکتری کشی در برابر میکروارگانیسم‌های پاتوژن انجام شده است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- استخراج عصاره

بیماری‌های ناشی از غذا که توسط میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا ایجاد می‌شوند، یک نگرانی مهم بهداشت عمومی جهانی است که سالانه میلیون‌ها نفر را تحت تأثیر قرار می‌دهد و بار اقتصادی قابل‌توجهی را بر دستگاه‌های مراقبت‌های بهداشتی و صنایع غذایی تحمیل می‌کند. بر اساس گزارش سازمان جهانی بهداشت، تخمین زده می‌شود که سالانه ۶۰۰ میلیون نفر به دلیل مصرف مواد غذایی آلوده بیمار می‌شوند که ۴۲۰ هزار مورد مرگ ناشی از بیماری‌های ناشی از غذا است [۱]. میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا مانند سوبه‌های *سالمونلا*، *شریشیا کلی*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس* از جمله شایع‌ترین عواملی هستند که باعث عفونت‌های شدید از جمله گاستروانتریت، سپتی‌سمی و حتی مرگ می‌شوند [۲، ۳]. تداوم این پاتوژن‌ها در سامانه‌های غذایی بر نیاز فوری به استراتژی‌های مؤثر برای کاهش رشد آنها و تضمین ایمنی غذا تأکید می‌کند. روش‌های سنتی، مانند سرد کردن و فرایند حرارتی، اغلب برای از بین بردن کامل این میکروارگانیسم‌ها کافی نیستند و نیاز به کاوش در تکنیک‌های نگهداری جایگزین وجود دارد [۴، ۵].

درحالی‌که نگهدارنده‌های سنتزی به طور گسترده‌ای برای افزایش ماندگاری محصولات غذایی و مهار رشد میکروبی استفاده می‌شود، پیامدهای ایمنی و سلامت طولانی مدت آنها نگرانی‌های قابل‌توجهی را ایجاد کرده است. مطالعات مصرف طولانی مدت آنها را با اثرات نامطلوب سلامتی، از جمله واکنش‌های آلرژیک و سرطان‌زایی مرتبط دانسته‌اند [۶، ۷]. این یافته‌ها مصرف‌کنندگان و نهادهای نظارتی را بر آن داشته تا به دنبال جایگزین‌های ایمن‌تر و طبیعی برای نگهدارنده‌های مصنوعی باشند و تحقیقات را به سمت جایگزین‌های گیاهی هدایت کنند [۸-۱۴].

نگهدارنده‌های گیاهی، به ویژه عصاره‌های گیاهی، به دلیل خواص ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی خود به عنوان جایگزین‌های امیدوارکننده‌ای ظاهر شده‌اند. گیاهان

درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و قطر نواحی بازدارنده اطراف چاهک‌ها تعیین شد [۲۴].

۲-۲-۳- حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی

حداقل غلظت مهارکنندگی با استفاده از روش میکرودايلوشن براث تعیین گردید. رقت‌های متوالی عصاره آبی انجبار (۵۱۲، ۲۵۶، ۱۲۸، ۶۴، ۳۲، ۱۶، ۸، ۴، ۲ و ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) در محیط مولر هیتون براث بر روی میکروپلیت تهیه شد و سوسپانسیون‌های میکروبی ($10^8 \times 1/5$ CFU/mL) به چاهک‌های میکروپلیت اضافه گردید. سپس پلیت‌های مذکور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. پس از افزودن تری‌فنیل‌تترازولیم کلرید (غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و انکوباسیون به مدت ۳۰ دقیقه، فعالیت به صورت رنگ قرمز در چاهک‌ها ثبت گردید. حداقل غلظت مهارکنندگی به عنوان کمترین غلظتی از عصاره که از رشد قابل مشاهده جلوگیری می‌کرد تعیین گردید. در آزمون حداقل غلظت کشندگی، ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت از هر چاهک که در آن رنگ قرمز مشاهده نشد، روی مولر هیتون آگار کشت گردید. پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت برای سویه‌های باکتریایی انکوبه شدند و کمترین رقت که باعث مهار کامل رشد شد به عنوان حداقل غلظت باکتری کشی عصاره در نظر گرفته شد [۲۹-۳۱].

۲-۲-۴- برهمکنش عصاره آبی انجبار با آنتی‌بیوتیک تراسایکلین

از غلظت‌های معادل نصف حداقل غلظت مهارکنندگی در این روش استفاده شد. در این راستا، کشت میکروبی استاندارد بصورت چمنی بر روی محیط کشت مولر هیتون آگار حاوی عصاره صورت پذیرفت و دیسک آنتی‌بیوتیک تراسایکلین با کمک پنس استریل بر سطح محیط کشت میکروبی قرار داده شد. گرمخانه‌گذاری نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انجام شد و در نهایت

ریشه‌های تازه انجبار از ارتفاعات سهند آذربایجان جمع‌آوری شد. ابتدا ریشه‌ها به قطعات کوچکتر برش داده شده و سپس در سایه خشک شدند. پس از آسیاب کردن ریشه‌ها با آسیاب، ۳۰۰ گرم از پودر به دست آمده در ۱۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر خیسانده شده و پس از ۷۲ ساعت نگهداری در دمای اتاق، فیلتر و به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس مایع رویی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد خشک شد و در نهایت جرم نیمه جامد به دست آمده تا زمان استفاده در یخچال نگهداری گردید [۲۶].

۲-۲-۲- فعالیت ضد میکروبی

فعالیت ضد میکروبی عصاره آبی انجبار در برابر *اروینیا ایلوورا*، *سودوموناس سیرینگه*، *زانتوموناس کمپستریس*، *سالمونلا تیفی*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *لیستریا مونوسیتوژنز* مطابق روش‌های دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار و حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی بررسی گردید.

۲-۲-۱- دیسک دیفیوژن آگار

غلظت‌های مختلف عصاره (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با کمک میکروفیلتر سرنگ ۰/۴۵ میکرونی استریل شدند. در ادامه، دیسک‌های بلانک به مدت ۱۵ دقیقه در محلول‌های عصاره غوطه‌ور و سپس روی سطح محیط کشت مولر هیتون آگار قرار داده شدند. پس از آن، محیط کشت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد و اثر ضد میکروبی بر حسب قطر ناحیه بازدارندگی اطراف دیسک‌ها تعیین شد [۲۸].

۲-۲-۲- انتشار چاهک آگار

در این روش، سوسپانسیون میکروبی با استفاده از پخش‌کننده L شکل بر روی محیط مولر هیتون آگار در ظروف پتری پخش شد. پس از آن، چندین چاهک با قطر ۶ میلی‌متر روی سطح محیط کشت ایجاد شد و عصاره با غلظت‌های مختلف (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به هر چاهک افزوده گردید. پتری‌دیش‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷

هاله عدم رشد اندازه‌گیری و بر حسب میلی‌متر گزارش گردید [۱۷].

۲-۳- آنالیز آماری

آزمایشات سه بار انجام شد. نتایج با استفاده از نرم‌افزار Minitab (نسخه ۱۶) و آزمون توکی در سطح معنی‌داری ۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

۳- نتایج و بحث

نتایج ارائه شده در شکل ۱، آنالیز اثر ضد میکروبی عصاره آبی انجبار بر پاتوژن‌های مختلف غذایی از طریق اندازه‌گیری ناحیه بازدارندگی در روش دیسک دیفیوژن آگار را نشان می‌دهد. اثر اصلی نوع باکتری نشان داد که ناحیه بازدارندگی در بین گونه‌های مختلف باکتری به طور قابل توجهی متفاوت است. لیستریا مونوسیتوژنز (۱۲/۰۶ میلی‌متر) و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (۱۱/۹۵ میلی‌متر) بالاترین نواحی بازدارندگی را بخود اختصاص دادند که نشان می‌دهد آنها بیشترین حساسیت را به عصاره گیاه دارند ($p < 0.05$). سودوموناس سیرینگه، زانتوموناس کمپسترینس، اریوینیا امیلوورا و سالمونلا تیفی، قطر بازدارندگی کوچک‌تری را با مقادیر میانگین از ۱۰/۳۷ تا ۹/۳۸ میلی‌متر نشان دادند که نشان‌دهنده حساسیت متوسط آنها نسبت به عصاره آبی انجبار می‌باشد. علاوه بر این، غلظت عصاره به طور قابل توجهی بر قطر بازدارندگی تأثیرگذار بود. بالاترین غلظت (۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) منجر به بزرگ‌ترین مناطق بازدارندگی

(۱۳/۲۵ میلی‌متر) گردید و با کاهش غلظت، مناطق بازدارندگی نیز کاهش معنی‌داری نشان داد که بیانگر اثر ضد میکروبی وابسته به غلظت عصاره می‌باشد، جایی که غلظت‌های بالاتر عصاره گیاه در مهار رشد باکتری مؤثرتر بودند.

اثر متقابل نوع باکتری و غلظت عصاره بر روی قطر بازدارندگی نیز نشان داد در بالاترین غلظت (۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر)، لیستریا مونوسیتوژنز (۱۵/۹۰ میلی‌متر) و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (۱۴/۷۰ میلی‌متر) بزرگ‌ترین نواحی بازدارندگی را بخود اختصاص دادند ($p < 0.05$). با کاهش غلظت عصاره، قطر ناحیه بازدارندگی برای این باکتری‌ها نیز کاهش نشان داد، اما قطر ناحیه بازدارندگی نسبت به سایر باکتری‌ها در همان غلظت‌ها نسبتاً بیشتر بدست آمد. سایر باکتری‌ها نواحی بازدارندگی کوچک‌تری را در تمام غلظت‌ها نشان دادند که با کاهش غلظت عصاره، تفاوت‌های قابل توجهی نیز مشاهده گردید. بطور کلی، نتایج اثر ضد میکروبی عصاره آبی گیاه بر اساس روش دیسک دیفیوژن آگار نشان داد که عصاره فعالیت ضد میکروبی قابل توجهی را در برابر طیف وسیعی از عوامل بیماری‌زا غذایی نشان می‌دهد و اثربخشی آن بر اساس گونه‌های باکتریایی و غلظت عصاره متفاوت بود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که عصاره گیاه می‌تواند به عنوان یک عامل ضد میکروبی طبیعی برای کنترل پاتوژن‌های ناشی از غذا، به ویژه در غلظت‌های بالاتر، استفاده گردد.

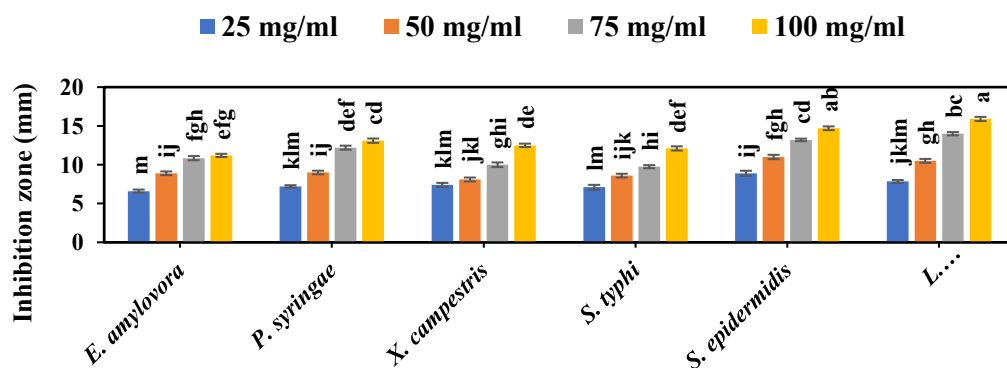


Figure 1. The antimicrobial activity of *Bistorta officinalis* aqueous extract based on disk diffusion agar method. Treatments labeled with different letters show significant differences at $p < 0.05$.

نیز نشان داد که لیستریا مونوسیٹوژنز و استافیلوکوکوس /پیدرمیدیس حساس ترین سویه‌ها در برابر عصاره آبی انجبار می‌باشند. علاوه براین، اثربخشی عصاره وابسته به غلظت بود و غلظت‌های بالاتر مناطق بازدارندگی بزرگ‌تری ایجاد نمود. همچنین، با مقایسه قطر هاله‌های عدم رشد در دو آزمون ضد میکروبی دیسک دیفیوژن آگار و چاهک آگار مشخص گردید که قطر هاله عدم رشد در روش چاهک آگار بزرگ‌تر می‌باشد.

شکل ۲، نتایج اثرات ضد میکروبی عصاره آبی انجبار بر پاتوژن‌های مختلف غذایی با استفاده از روش انتشار چاهک آگار را ارائه می‌دهد. مطابق نتایج، لیستریا مونوسیٹوژنز و استافیلوکوکوس /پیدرمیدیس بالاترین میانگین قطر عدم رشد (به ترتیب ۱۲/۶۷ و ۱۲/۶۵ میلی‌متر) را نشان دادند که بیانگر حساسیت بالاتر این باکتری‌ها نسبت به عصاره می‌باشد. اثر غلظت عصاره بر قطر عدم رشد نیز معنی‌دار بود و بیشترین غلظت عصاره (۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) منجر به بزرگ‌ترین ناحیه بازدارندگی (۱۴/۱۵ میلی‌متر) گردید که نشان‌دهنده قوی‌ترین اثر ضد میکروبی است. نتایج اثر متقابل

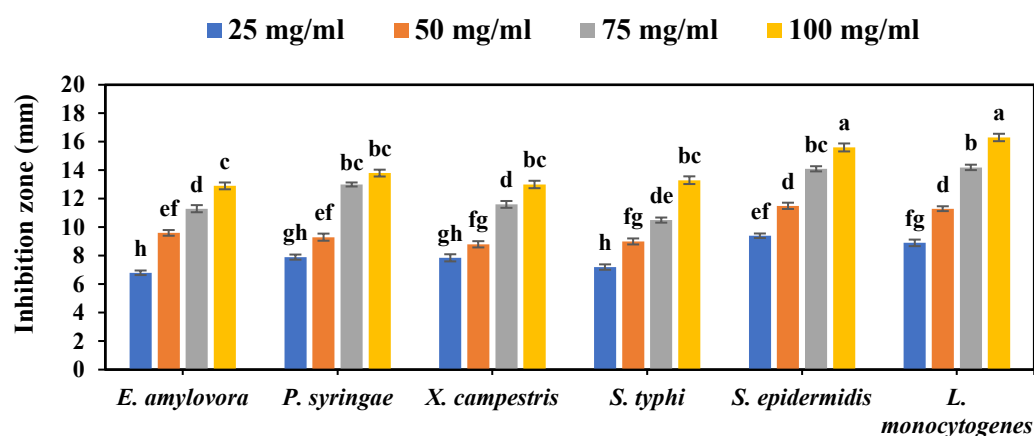


Figure 2. The antimicrobial activity of *Bistorta officinalis* aqueous extract based on well diffusion agar method. Treatments labeled with different letters show significant differences at $p < 0.05$.

مشاهده گردید که نشان می‌دهد عصاره گیاه بسیار مؤثر بوده و بطور بالقوه رشد پاتوژن را در غلظت‌های بسیار پایین کاملاً مهار می‌کند. بیشترین MIC (۱۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به باکتری‌های *اروینیا امیلوورا* و *سالمونلا تیفی* اختصاص پیدا کرد.

شکل ۳، مقادیر حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) را که بر حسب میلی‌گرم در میلی‌لیتر اندازه‌گیری می‌شود، برای عصاره آبی انجبار آزمایش شده در برابر عوامل بیماری‌زای غذایی نشان می‌دهد. هر چه مقدار MIC کمتر باشد، عصاره گیاه در مهار رشد پاتوژن‌های غذایی مؤثرتر است. کمترین MIC (۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) برای لیستریا مونوسیٹوژنز

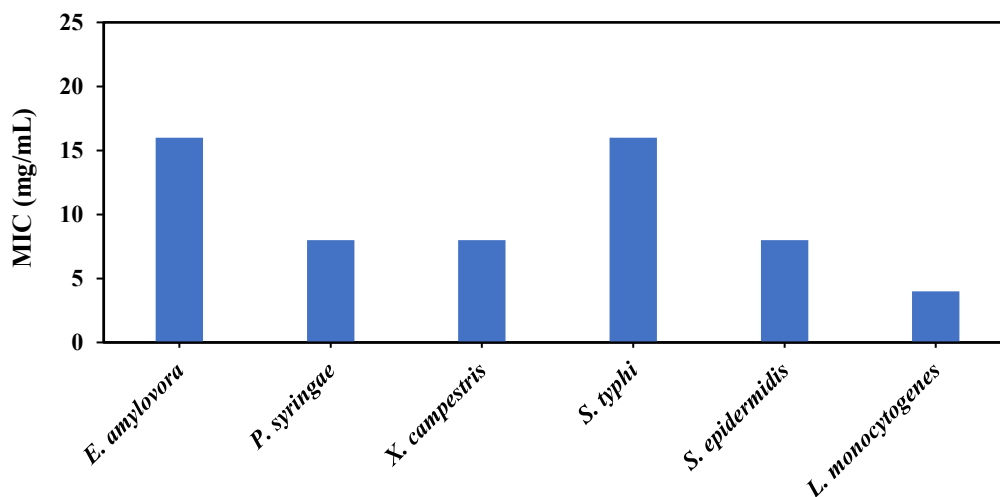


Figure 3. The antibacterial activity of *Bistorta officinalis* aqueous extract based on minimum inhibitory concentration (MIC) method.

لیستریا مونوسیٹوژنز بود و بیشترین MBC به باکتری‌های

اروینیا/امیلوورا و سالمونلا تیفی اختصاص داشت.

شکل ۴، نتایج حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) عصاره

آبی انجبار را نشان می‌دهد. همانطور که از نتایج مشخص

است، کمترین MBC (۱۲۸ میلی گرم در میلی لیتر) مربوط به

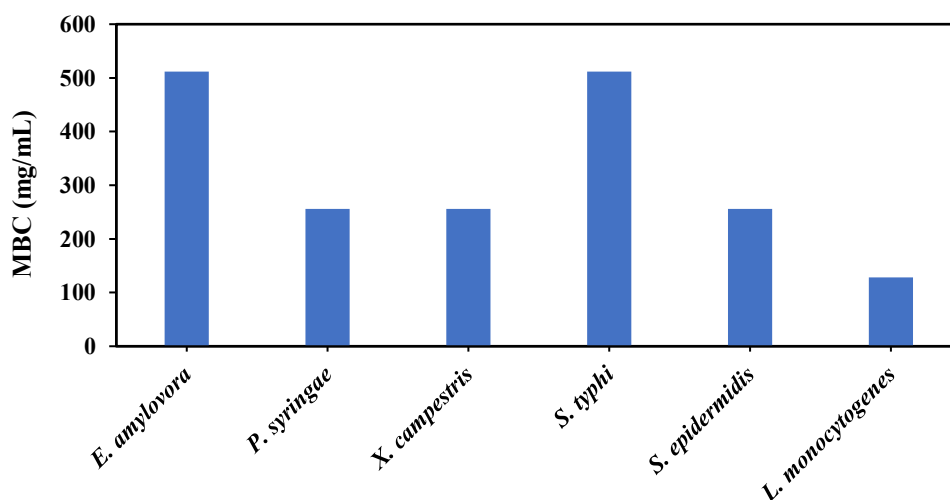


Figure 4. The antibacterial activity of *Bistorta officinalis* aqueous extract based on minimum bactericidal concentration (MBC) method.

میلی‌متر) در مقایسه با آنتی‌بیوتیک به تنهایی (۱۳/۷۰

میلی‌متر)، اثربخشی قابل توجه بالاتری را سبب گردید.

یافته‌ها نشان می‌دهد که ترکیب عصاره گیاهی و تتراسایکلین

اثر هم‌افزایی دارد و به طور قابل توجهی فعالیت ضد میکروبی

را در برابر طیف وسیعی از عوامل بیماری‌زای غذایی افزایش

می‌دهد. این رویکرد ترکیبی می‌تواند یک استراتژی

امیدوارکننده برای کنترل پاتوژن‌های ناشی از غذا باشد؛ در

نتایج ارائه شده در شکل ۵، اثرات ضد میکروبی ترکیبی

عصاره آبی انجبار و تتراسایکلین بر پاتوژن‌های مختلف

غذایی را ارائه می‌دهد. لیستریا مونوسیٹوژنز و

/ستافیلوکوکوس/پیدرمیدیس بالاترین میانگین قطر هاله عدم

رشد را به خود اختصاص دادند و سایر باکتری‌ها حساسیت

متوسطی نسبت به عصاره آبی انجبار نشان دادند. همچنین،

برهمکنش بین عصاره گیاهی و تتراسایکلین (۱۶/۹۹

این راستا، اتکا به آنتی‌بیوتیک‌ها به تنهایی و خطر مقاومت آنتی‌بیوتیکی کاهش خواهد یافت.

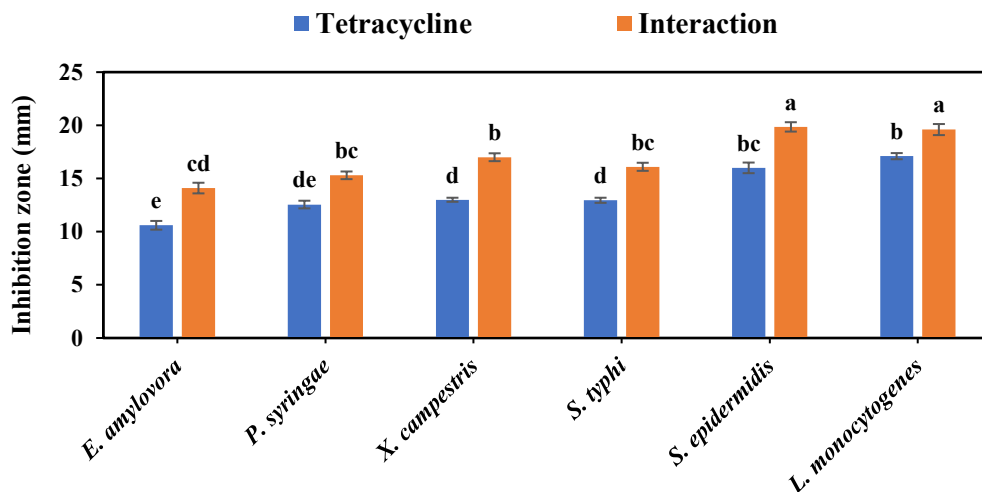


Figure 5. The antibacterial activity of *Bistorta officinalis* aqueous extract based on interaction method (tetracycline+extract). Treatments labeled with different letters show significant differences at $p < 0.05$.

در مطالعه پاولوسکا و همکاران (۲۰۲۰)، خواص ضد باکتریایی و ضد التهابی عصاره آبی انجبار را بررسی نمودند. نتایج نشان داد عصاره آبی ریزوم حاوی ترکیبات فیتوشیمیایی قابل توجهی است، به ویژه فلاوان-۳-اول ها و گالویل گلوکز، که نقش مهمی در تعدیل فعالیت نوتروفیل ضروری برای رفع التهاب و بهبود زخم دارند. نتایج از استفاده سنتی انجبار به عنوان یک عامل موضعی مؤثر در برابر عفونت‌های پوستی و شرایط التهابی حمایت می‌کند. علاوه بر این، عصاره آبی فعالیت ضد باکتریایی قابل توجهی در برابر پاتوژن‌های رایج پوستی مانند گونه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *هلیکوباکتر پیلوری* از خود نشان می‌دهد [۳۲]. در مطالعه‌ای دیگر، اثرات ضد باکتریایی عصاره اتانولی ریشه گیاه انجبار (*Polygonum bistorta*) و مقایسه آن با آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی انجام پذیرفت. اثرات ضد باکتریایی با روش میکرودايلوشن براث بررسی و مقادیر MIC و MBC تعیین مقدار شد. علاوه بر این، اثر غلظت‌های مختلف عصاره بر رشد باکتری‌های *اِترِوباکتر آئروژنز*، *کلبسیا پنومونیه*، *پروتئوس ولگاریس* و *سالمونلا تیفی* موربوم با روش دیسک دیفیوژن در مقایسه با

آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین، پنی‌سیلین و آموکسی‌سیلین مورد آزمون قرار گرفت. نتایج نشان داد عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه انجبار بر روی باکتری‌های مورد آزمایش اثر بازدارندگی قابل ملاحظه‌ای داشت و هر چقدر میزان غلظت عصاره افزایش می‌یافت، اثر بازدارندگی نیز به صورت افزایش قطر هاله عدم رشد مشاهده گردید؛ در غلظت‌های بالا اثر ضد باکتریایی عصاره، مشابه یا حتی بهتر از آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده بود. اثر ممانعت‌کنندگی و کشندگی عصاره در برابر میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه توسط روش میکرودايلوشن براث نیز تأیید گردید. در بین میکروارگانیسم‌های مورد بررسی در این روش، *پروتئوس ولگاریس* و *کلبسیا پنومونیه* به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین میکروارگانیسم‌ها نسبت به عصاره گیاه انجبار بودند [۳۳]. بطور مشابه، قلیچ و همکاران (۲۰۱۴)، اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی گیاه انجبار (*Polygonum bistorta*) بر باکتری‌های اشرشیا کلی، سودوموناس ائروژینوزا، باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس را با استفاده از روش‌های ضد میکروبی دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت

۴- نتیجه‌گیری نهایی

این مطالعه بر پتانسیل ضد میکروبی قابل توجه عصاره آبی گیاه انجبار در برابر عوامل بیماری‌زای مختلف غذایی تأکید می‌کند و اثربخشی آن را به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در حوزه علوم غذایی نشان می‌دهد. این عصاره فعالیت ضد میکروبی وابسته به غلظت را نشان داد، با سطوح بالاتری که منجر به مناطق بازدارندگی بزرگ‌تری شد، به ویژه در برابر باکتری‌های گرم مثبت مانند *لیستریا مونوسیتوژنز* و *استافیلوکوکوس پیدرمیدیس*. مقادیر MIC و MBC تعیین شده، کارایی عصاره را بیشتر تأیید کرد و لیستریا مونوسیتوژنز را به عنوان حساس‌ترین پاتوژن شناسایی کرد. علاوه بر این، اثر هم‌افزایی مشاهده شده بین عصاره انجبار و تتراسایکلین به یک رویکرد امیدوارکننده برای افزایش اثر ضد میکروبی و در عین حال کاهش وابستگی به آنتی‌بیوتیک‌ها اشاره می‌کند و در نتیجه خطر مقاومت آنتی‌بیوتیکی را کاهش می‌دهد. این یافته‌ها با تحقیقات قبلی در مورد خواص ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی مطابقت دارد که اثربخشی آنها را به ترکیبات زیست فعالی مانند پلی‌فنل‌ها، ترپن‌ها و آلکالوئیدها نسبت می‌دهند که غشای سلولی میکروبی را مختل می‌کنند و رشد را مهار می‌کنند. به طور کلی، این مطالعه پتانسیل عصاره آبی انجبار را به عنوان یک جایگزین طبیعی و سازگار با محیط زیست برای نگهدارنده‌های مصنوعی، که تقاضای مصرف‌کنندگان برای محصولات دارای برچسب تمیز را برآورده می‌کند و به افزایش ایمنی مواد غذایی و ماندگاری کمک می‌کند، برجسته می‌کند. تحقیقات بیشتری برای بررسی کاربردهای آن در سیستم‌های مختلف غذایی و ارزیابی پایداری و ایمنی طولانی مدت آن مورد نیاز است.

۵- تقدیر و تشکر

مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی با کد ۱۴۰۳/۵۳ می‌باشد، لذا از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

کشندگی مورد بررسی قرار دادند و نتایج مؤید اثر ضد میکروبی قابل توجه عصاره در برابر میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه بود [۲۷].

اثرات ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی به حضور ترکیبات فنولی موجود در این محصولات بوده که با توجه به خاصیت آب‌گریزی و از طریق اتصال به گروه‌های آمین و هیدروکسیل آمین پروتئین‌ها، نقش مؤثری در تجزیه‌ی لیپیدهای غشاء سلولی و میتوکندری و تغییر نفوذپذیری غشاء و در نتیجه مرگ سلول باکتری داشته باشند [۳۴، ۳۵].

در نتایج مطالعه حاضر مشخص گردید که باکتری‌های گرم مثبت دارای حساسیت بیشتری نسبت به انواع گرم منفی در برابر عصاره آبی گیاه انجبار می‌باشند. در این راستا گزارش شده است که باکتری‌های گرم مثبت عموماً به دلیل تفاوت در ساختار دیواره سلولی و نفوذپذیری آنها نسبت به باکتری‌های گرم منفی به اسانس‌ها یا عصاره‌های گیاهی حساس‌تر هستند. باکتری‌های گرم مثبت دارای یک لایه پپتیدوگلیکان ضخیم در دیواره سلولی خود هستند که متخلخل و فاقد غشای خارجی است. این ساختار باعث می‌شود که ترکیبات آب‌گریز، مانند آن‌هایی که در اسانس‌ها یافت می‌شوند، راحت‌تر به دیواره سلولی و غشاء نفوذ کنند و آن را مختل کنند. با اینحال، باکتری‌های گرم منفی دارای یک لایه پپتیدوگلیکان نازک‌تر و یک غشای خارجی اضافی متشکل از لیپوپلی‌ساکاریدی ساکاریدها هستند. این غشای خارجی به عنوان یک مانع عمل می‌کند و نفوذ ترکیبات آب‌گریز و رسیدن به غشای داخلی سلول را دشوارتر می‌کند [۱۲، ۱۷، ۲۹، ۳۱، ۳۶، ۳۷].

بطور کلی، عصاره آبی گیاه انجبار حاوی ترکیبات فعال زیستی (مانند پلی‌فنول‌ها، ترپن‌ها، آلکالوئیدها) است که از رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و فاسد کننده جلوگیری کرده و عمر مفید محصولات غذایی را افزایش می‌دهد. این عصاره می‌تواند به عنوان جایگزین طبیعی برای نگهدارنده‌های مصنوعی عمل کند و به تقاضای مصرف‌کنندگان برای محصولات دارای برچسب سبز پاسخ دهد.

منابع-6

- [1] WHO. (2024). Food safety. *World Health Organization (WHO)*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>. DOI: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>.
- [2] Newell, D. G., Koopmans, M., Verhoef, L., Duizer, E., Aidara-Kane, A., Sprong, H., Opsteegh, M., Langelar, M., Threlfall, J., Scheutz, F., der Giessen, J. v. , & Kruse, H. (2010). Food-borne diseases — The challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. *International Journal of Food Microbiology*, 139, S3-S15. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.01.021>.
- [3] Tauxe, R. V. (2002). Emerging foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*, 78(1), 31-41. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00232-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00232-5).
- [4] Mather, A. E., Gilmour, M. W., Reid, S. W. J. , & French, N. P. (2024). Foodborne bacterial pathogens: genome-based approaches for enduring and emerging threats in a complex and changing world. *Nature Reviews Microbiology*, 22(9), 543-555. DOI: 10.1038/s41579-024-01051-z.
- [5] Hamaideh, S., Olaimat, A. N., Al-Holy, M. A., Ababneh, A., Shahbaz, H. M., Abughoush, M., Al-Nabulsi, A., Osaili, T., Ayyash, M. , & Holley, R. A. (2024). The Influence of Technological Shifts in the Food Chain on the Emergence of Foodborne Pathogens: An Overview. *Applied Microbiology*, 4(2), 594-606. DOI: 10.3390/applmicrobiol4020041.
- [6] Obahiagbon, E. G. , & Ogwu, M. C., (2024). *Organic Food Preservatives: The Shift Towards Natural Alternatives and Sustainability in the Global South's Markets*, in *Food Safety and Quality in the Global South*, M.C. Ogwu, S.C. Izah, and N.R. Ntuli, Editors. Springer Nature Singapore: Singapore. p. 299-329.
- [7] Nooshkam, M. , & Varidi, M., (2024). *Chapter Twelve - Antioxidant and antibrowning properties of Maillard reaction products in food and biological systems*, in *Vitamins and Hormones*, G. Litwack, Editor. Academic Press. p. 367-399.
- [8] Al-Rimawi, F., Sbeih, M., Amayreh, M., Rahhal, B. , & Mudalal, S. (2024). Evaluation of the effectiveness of natural extract as a substituent for synthetic preservatives and antioxidants in pharmaceutical preparations. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 32(5), 102014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2024.102014>.
- [9] Islam, F., Saeed, F., Imran, A., Shehzadi, U., Ali, R., Nosheen, F., Chauhan, A., Asghar, A. , & Ojukwu, M. (2024). Bio-preservatives and essential oils as an alternative to chemical preservatives in the baking industry: a concurrent review. *Journal of Food Science and Technology*, 61(4), 609-620. DOI: 10.1007/s13197-023-05762-8.
- [10] Tanavar, H., Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B. , & Mehrnia, M. A. (2021). Investigation of the chemical properties of Mentha pulegium essential oil and its application in Ocimum basilicum seed mucilage edible coating for extending the quality and shelf life of veal stored in refrigerator (4°C). *Food Science & Nutrition*, 9(10), 5600-5615. DOI: <https://doi.org/10.1002/fsn3.2522>.
- [11] Yazdi, F. T. , & Behbahani, B. A. (2013). Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic Teucrium polium L. extracts on gram positive and gram negative bacteria "in vitro". *Archives of Advances in Biosciences*, 4(4).
- [12] Alizadeh Behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., Shahidi, F. , & Mohebbi, M. (2012). Antimicrobial activity of Avicennia marina extracts ethanol, methanol & glycerin against Penicillium digitatum (citrus green mold). *Scientific Journal of Microbiology*, 1(7), 147-151.
- [13] Noshad, M., Alizadeh Behbahani, B. , & Nikfarjam, Z. (2022). Chemical composition, antibacterial activity and antioxidant activity of Citrus bergamia essential oil: Molecular docking simulations. *Food Bioscience*, 50, 102123. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102123>.
- [14] Jalil Sarghaleh, S., Alizadeh Behbahani, B., Hojjati, M., Vasiee, A. , & Noshad, M. (2023). Evaluation of the constituent compounds, antioxidant, anticancer, and antimicrobial potential of Prangos ferulacea plant extract and its effect on Listeria monocytogenes virulence gene expression. *Frontiers in Microbiology*, 14. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1202228>.
- [15] Shirani, K., Falah, F., Vasiee, A., Yazdi, F. T., Behbahani, B. A. , & Zanganeh, H. (2022). Effects of incorporation of Echinops setifer extract on quality, functionality, and viability of strains in probiotic yogurt. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(4), 2899-2907.
- [16] Tabatabaei Yazdi, F., Falah, F., Alizadeh Behbahani, B., Vasiee, A. , & Mortazavi, A. (2019). Antimicrobial effect of Citrus aurantium essential oil on some food-borne pathogens and its determination of chemical compounds, total phenol content, total flavonoids content and antioxidant potential. *Journal of food science and technology(Iran)*, 16(87), 291-304.
- [17] Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M. , & Falah, F. (2020). The combined effect of the combined Fennel and Clove essential oils on Staphylococcus epidermidis, Bacillus cereus, Salmonella typhi and Enterobacter aerogenes using Checkerboard assay (fractional inhibitory concentration index). *Journal of*

- food science and technology(Iran)*, 17(106), 75-83. DOI: 10.52547/fsct.17.106.75.
- [18] Tabatabaei Yazdi, F., Alizadeh Behbahani, B., Vasiee, A., Mortazavi, S. A. , & Yazdi, F. T. (2015). An investigation on the effect of alcoholic and aqueous extracts of *Dorema aucheri* (Bilhar) on some pathogenic bacteria in vitro. *Archives of Advances in Biosciences*, 6(1).
- [19] Behbahani, B. A., Yazdi, F. T., Mortazavi, A., Gholian, M. M., Zendeboodi, F. , & Vasiee, A. (2014). Antimicrobial effect of Carboxy Methyl Cellulose (CMC) containing aqueous and ethanolic *Eucalyptus camaldulensis* L. leaves extract against *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis*. *Archives of Advances in Biosciences*, 5(2).
- [20] Yazdi, F. T., Tanhaeian, A., Azghandi, M., Vasiee, A., Alizadeh Behbahani, B., Mortazavi, S. A. , & Roshanak, S. (2019). Heterologous expression of Thrombocidin-1 in *Pichia pastoris*: Evaluation of its antibacterial and antioxidant activity. *Microbial Pathogenesis*, 127, 91-96. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.11.047>.
- [21] Tabatabai Yazdi, F., Falah, F., Alizadeh Behbahani, B., Vasiee, A. , & Mortazavi, S. A. (2019). Identification of Chemical Compounds, Antioxidant Potential, Phenolic Content and Evaluation of Inhibitory and Bactericidal/Fungicidal Effects of Ginger Essential Oil on Some Pathogenic Microorganisms in Vitro. *Qom-Univ-Med-Sci-J*, 13(3), 50-62.
- [22] Sureshjani, M. H., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., Behbahani, B. A. , & Shahidi, F. (2014). Antimicrobial effects of *Kelussia odoratissima* extracts against food borne and food spoilage bacteria" in vitro. *Journal of Paramedical Sciences*, 5(2), 115-120.
- [23] Behbahani, B. A., Shahidi, F., Yazdi, F. T. , & Mohebbi, M. (2013). Antifungal effect of aqueous and ethanolic mangrove plant extract on pathogenic fungus" in vitro".
- [24] Falah, F., Shirani, K., Vasiee, A., Yazdi, F. T. , & Behbahani, B. A. (2021). In vitro screening of phytochemicals, antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activity of *Echinops setifer* extract. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 35, 102102.
- [25] Heydari, S., Jooyandeh, H., Alizadeh Behbahani, B. , & Noshad, M. (2020). The impact of Qodume Shirazi seed mucilage-based edible coating containing lavender essential oil on the quality enhancement and shelf life improvement of fresh ostrich meat: An experimental and modeling study. *Food Science & Nutrition*, 8(12), 6497-6512. DOI: <https://doi.org/10.1002/fsn3.1940>.
- [26] Salehi, E., Morovatisharifabad, M., Karimi, M. , & Sazi Zavareh, M. (2022). The effect of hydroalcoholic of Bistort (*Polygonum bistorta* L) root on blood glucose levels of streptozotocin induced diabetic mice. *Applied Biology*, 35(1), 156-166. DOI: 10.22051/jab.2021.37075.1437.
- [27] Ghelich, T., Hashemi Karouei, M. , & Gholampor Azizi, I. (2014). Antibacterial Effect of Methanolic Extraction of *Polygonum Bistorta* on Some Bacteria. *Medical Laboratory Journal*, 8(2), 41-47.
- [28] Alizadeh Behbahani, B. , & Imani Fooladi, A. A. (2018). Evaluation of phytochemical analysis and antimicrobial activities *Allium* essential oil against the growth of some microbial pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 114, 299-303. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.11.055>.
- [29] Tabatabaei Yazdi, F., Nooshkam, M., Shahidi, F., Asadi, F. , & Alizadeh Behbahani, B. (2018). Evaluation of antimicrobial activity and antioxidant potential of chitosan Maillardbased conjugates in vitro. *Applied Microbiology In Food Industries*, 4(3), 1-15.
- [30] Alizadeh Behbahani, B., Falah, F., Vasiee, A. , & Tabatabae Yazdi, F. (2021). Control of microbial growth and lipid oxidation in beef using a *Lepidium perfoliatum* seed mucilage edible coating incorporated with chicory essential oil. *Food Science & Nutrition*, 9(5), 2458-2467. DOI: <https://doi.org/10.1002/fsn3.2186>.
- [31] Alizadeh Behbahani, B., Falah, F., Lavi Arab, F., Vasiee, M. , & Tabatabae Yazdi, F. (2020). Chemical composition and antioxidant, antimicrobial, and antiproliferative activities of *Cinnamomum zeylanicum* bark essential oil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020(1), 5190603.
- [32] Pawłowska, K. A., Hałasa, R., Dudek, M. K., Majdan, M., Jankowska, K. , & Granica, S. (2020). Antibacterial and anti-inflammatory activity of bistort (*Bistorta officinalis*) aqueous extract and its major components. Justification of the usage of the medicinal plant material as a traditional topical agent. *Journal of Ethnopharmacology*, 260, 113077. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113077>.
- [33] Abbasi, S., Aleebrahim Dehkordi, E. , & Kamali, P., *Comparative study of the antimicrobial effect of the total hydroalcoholic extract of Polygonum bistorta root on pathogenic microorganisms with the antibiotics erythromycin, penicillin and amoxicillin*, in *3rd International Conference on Research in Science and Technology*. 2016.
- [34] Ahmad Nejjad, A., Alizadeh Behbahani, B., Hojjati, M., Vasiee, A. , & Mehrnia, M. A. (2023). Identification of phytochemical, antioxidant, anticancer and antimicrobial potential of *Calotropis procera* leaf aqueous extract. *Scientific Reports*, 13(1), 14716. DOI: 10.1038/s41598-023-42086-1.
- [35] Alizadeh Behbahani, B. , & Imani Fooladi, A. A. (2018). Antibacterial activities, phytochemical analysis and chemical composition *Makhlaseh*

extracts against the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection. *Microbial Pathogenesis*, 114, 204-208. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.12.002>.
 [36] Barzegar, H., Hojjati, M. , & Behbahani, B. A. (2023). Improving the shelf life of lamb using edible coating based on *Lepidium perfoliatum* mucilage and *Thymus carmanicus* essential oil. *Food Processing*

and Preservation Journal, 15(2), 1-18. DOI: 10.22069/FPPJ.2023.21395.1763.

[37] Behbahani, B. A. , & Fooladi, A. A. I. (2018). Evaluation of phytochemical analysis and antimicrobial activities *Allium* essential oil against the growth of some microbial pathogens. *Microbial pathogenesis*, 114, 299-303.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Antimicrobial and Interactive Effects of the Aqueous Extract of *Bistorta officinalis* (Anjbar) on Selected Pathogenic Microorganisms *In vitro*

Behrooz Alizadeh Behbahani^{*1}, Mohammad Golbashy², Alaa G. Al-Hashimi³

1–Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

2–Assistant Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

3–Food Science Department, College of Agriculture, University of Basrah, 61004 Basrah, Iraq.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received:2025/4/17 Accepted:2025/5/28 Keywords: Bistorta officinalis, Antimicrobial activity, Foodborne pathogens, Natural preservatives, Minimum inhibitory concentration, Synergistic effect. DOI: 10.22034/FSCT.22.166.278. *Corresponding Author E- B.alizadeh@asnrkh.ac.ir	Foodborne diseases caused by pathogenic microorganisms pose a significant global health challenge, with an estimated 600 million cases and 420,000 deaths annually. This study investigates the antimicrobial potential of <i>Bistorta officinalis</i> (Anjbar) aqueous extract against foodborne pathogens, including <i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Staphylococcus epidermidis</i>, <i>Erwinia amylovora</i>, <i>Pseudomonas syringae</i>, <i>Xanthomonas campestris</i>, and <i>Salmonella typhi</i>. The extract was prepared by soaking dried root powder in distilled water, followed by filtration and centrifugation. Antimicrobial activity was evaluated using disk diffusion agar, well diffusion agar, and minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) methods. Results showed that <i>L. monocytogenes</i> and <i>S. epidermidis</i> were the most susceptible, with inhibition zones of 12.06 mm and 11.95 mm, respectively, at 100 mg/mL extract concentration. The MIC values ranged from 4 mg/mL for <i>L. monocytogenes</i> to 16 mg/mL for <i>E. amylovora</i> and <i>S. typhi</i>. The MBC values were lowest for <i>L. monocytogenes</i> (128 mg/mL) and highest for <i>E. amylovora</i> and <i>S. typhi</i>. A synergistic effect was observed when the extract was combined with tetracycline. The study highlights the concentration-dependent antimicrobial efficacy of <i>B. officinalis</i> extract, particularly against Gram-positive bacteria, due to their permeable cell wall structure. These findings suggest that <i>B. officinalis</i> extract can serve as a natural preservative, offering a safe and eco-friendly alternative to synthetic additives in food preservation.