اثر ضد میکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه چویل(Ferulago angulata) بر استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس و سالمونلا تیفی در شرایط آزمایشگاهی

فریده طباطبایی یزدی*[۱]، مریم حیدری سورشجانی[۲]، بهروز علیزاده بهبهانی[۳]

۱ . دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۲ . دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳ . دانشجوی دکترای علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

* **نشانی برای مکاتبه:** تلفن ثابت: ۸۷۶۳۸۴۲ – ۰۵۱۱، تلفن همراه: ۰۹۱۵۵۱۳۸۴۱۵، farideh_tabatabaee@yahoo.com
دریافت مقاله: آذر نود و دو پذیرش برای چاپ: بهمن نود و دو

چکیده

سابقه و هدف: *بررسی گیاهان دارویی به منظور کشف منابع جدید دارویی بر علیه عفونت‌های باکتریایی در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است. در این پژوهش اثر ضد میکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه چویل (Ferulago angulata) به صورت آزمایشگاهی بر باکتری‌های Staphylococcus aureus ATTC 25923 ، Bacillus cereus PTTC 1015 و PTTC 1609 Salmonella typhi بررسی شده است.*

روش کار: *غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه چویل تهیه گردید. اثر ضد باکتریایی عصاره‌ها با استفاده از روش تمام ظرف و روش انتشار در آگار (به کمک دیسک) بررسی شد. حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی نیز به روش رقت لوله‌ای بررسی گردید. تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه انجام شد.*

یافته‌ها: *در روش انتشار در آگار همه غلظت‌های عصاره اتانولی بر Bacillus cereus و Staphylococcus aureus اثر بازدارندگی داشت. MIC عصاره‌های آبی و اتانولی برای Bacillus cereus و Staphylococcus aureus به ترتیب ۱۶ mg/ml و ۸ و برای Salmonella typhi به ترتیب ۶۴ mg/ml و ۳۲ بود . MBC عصاره‌های آبی و اتانولی نیز در خصوص Bacillus cereus و Staphylococcus aureus به ترتیب ۳۲ mg/ml و ۱۶ و برای Salmonella typhi به ترتیب برابر ۱۲۸ mg/ml و ۶۴ بود.*

نتیجه‌گیری: *عصاره اتانولی گیاه چویل در مقایسه با عصاره آبی در شرایط آزمایشگاهی اثر بازدارندگی بیش‌تری روی سویه‌های مورد مطالعه داشت. همچنین سالمونلا تیفی بیش ترین مقاومت را به عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه چویل نشان داد.*

واژگان کلیدی: *چویل، عصاره‌های آبی و اتانولی، اثر ضد میکروبی*

مقدمه

بیماری‌های عفونی یکی از مهم‌ترین عوامل مرگ و میر بخصوص در کشورهای جهان سوم است. آنتی‌بیوتیک‌های موجود، علاوه بر گران بودن و مقرون به صرفه نبودن تولید آن‌ها، مشکلاتی هم چون مقاوم شدن ایزوله-های بیماری‌زا در برابر آن‌ها را هم در بر دارند. از طرف دیگر مصرف طولانی و حتی مقطعی آن‌ها عوارض جانبی برجا می‌گذارد که بعضا ممکن است از خود بیماری نیز خطرناک‌تر باشد(۱).

استافیلوکوکوس گستره وسیعی از عفونت‌ها از عفونت‌های ساده پوستی تا بیماری‌های تهدید کننده زندگی (مانند پنومونی، مننژیت، استئومیلیت، اندوکاردیت، سندرم شوک سمی و سپتی سمی) را ایجاد می‌نماید و به عنوان یکی از پنج عامل شایع ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی به ویژه عفونت‌های زخم پس از جراحی است(۲). اسپور باسیلوس سرئوس به صورت گسترده‌ای در طبیعت، آب و خاک پراکنده شده به طوری‌که می‌توان آن را از مواد غذایی گوناگون جدا نمود. این باکتری مولد انتروتوکسین‌های مولد اسهال و تهوع بوده و قادر به ایجاد سندرم اسهال و سندرم تهوع است(۳). آلودگی سالمونلایی در انسان به صورت مسمومیت غذایی، گاستروآنتریت، تب تیفوئید و گاهی اوقات سپتی سمی بروز می کند. غذاهای حیوانی محل مناسبی برای سروتیپ‌های سالمونلا بوده و از این لحاظ به عنوان یک منبع آلودگی مهم برای سالمونلاهای غیرتیفوئیدی در انسان می‌باشند غذاهایی از قبیل گوشت ماکیان و محصولات گوشتی منشا سالمونلوزیس‌های ناشی از مصرف مواد غذایی هستند. سروتیپ‌هایی مانند سالمونلا تیفی و سالمونلا پاراتیفی با انسان سازگار بوده و در میزبان‌های غیر انسانی بیماری ایجاد نمی‌کنند(۴).

گیاهان را می توان به عنوان منبعی از مواد شیمیایی بالقوه مفید دانست که تنها بخشی از آن مورد بهره برداری قرار گرفته است. این مواد شیمیایی بالقوه مفید را می توان نه تنها به عنوان دارو بلکه به عنوان الگویی بی نظیر به صورت نقطه شروعی برای ساخت آنالوگ های دارویی به کار برد و هم چنین به عنوان ابزاری جالب به منظور فهم و درک بیش تر و به تر پدیده-های زیست شناختی به کمک گرفت(۵).

گیاه چویل با نام علمی .Ferulago angulata (Schlecht) Boiss متعلق به تیره چتریان (Apiaceae) یکی از گیاهان با ارزش و بومی غرب ایران می‌باشد که در کشورهای ترکیه، سوریه، لبنان، عراق و ایران پراکنش دارد(۶). جنس Ferulago با حدود ۳۵ گونه به طور گستره در جنوب اروپا و نواحی بالکان پراکنده می باشد. هفت گونه آن در ایران رویش دارد(۷، ۸). این گیاه در کوهستان‌های برف گیر و سرسبز سرزمین بختیاری (استان‌های چهارمحال و بختیاری و خوزستان) و ارتفاعات زیبای اورامانات در فصل بهار و اوایل اردیبهشت با ذوب شده نخستین توده های برف رویش خود را آغاز می کند و عمر آن بیش از یک ماه تجاوز نمی کند در هنگام رویش این گیاه می توان از چند متری عطر و بوی خوش و بی مانند آن را به مدد نسیم روح نواز کوهستان به خوبی حس کرد. در فرهنگ و زندگی مردمان لر بختیاری و نیز در ابیات تغزلی محلی گیاه چویل به عنوان نماد سرسبزی و خوش بویی جایگاه ویژه وکم نظیری دارد و هم چنین در نام گذاری نوزادان به عنوان نام دختر نیز استفاده می‌شود. گیاه چویل از نظر مورفولوژی گیاهی است، علفی، بدون کرک، پایا، ساقه‌ها به ارتفاع ۶۰ تا ۱۵۰ سانتی متر، شیاردار تا عموما کانال دار، برگ‌ها به صورت قاعده‌ای می‌باشد(۹).

با توجه به روند رو به رشد گیاهان دارویی، وجود ترکیبات فعال بیولوژیکی موجود در گیاه چویل و پراکندگی آن در ایران بر آن شدیم تا در این پژوهش اثر ضد میکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه چویل را علیه باکتری‌های Staphylococcus aureus ATTC 25923، Bacillus cereus PTTC 1015 و Salmonella PTTC 1609 typhiرا تعیین کنیم.

روش کار

این پژوهش آزمایشگاهی در خرداد ماه ۱۳۹۲ تا شهریور ماه ۱۳۹۲ به منظور تعیین اثر ضد میکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه چویل بر باکتری‌های Staphylococcus aureus ATTC25923 ، PTTC 1015 Bacillus cereus و Salmonella typhi PTTC 1609 انجام گرفت. با جمع آوری اطلاعات از وزارت کشاورزی در مورد محل رویش طبیعی گیاه چویل، جمع آوری این گیاه در ابتدای دوره رویشی (اردیبهشت ماه) از ارتفاعات استان چهارمحال و بختیاری انجام گردید، سپس این گیاه با هم کاری هرباریوم و آزمایشگاه سیستماتیک گیاهی دانشکده علوم پایه و پژوهشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد شناسایی و تایید گونه شد. نمونه‌های برگ چویل به آزمایشگاه میکروبیولوژی صنعتی و فناوری‌های نوین دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد انتقال یافت. پس از تمیز کردن و شست و شو، گیاه چویل در شرایط مناسب (سایه) خشک و توسط آسیاب آزمایشگاهی مدل Waring پودر گردید.

جهت عمل عصاره گیری از عمل خیساندن (Maceration) و حلال‌های آب مقطر و اتانول ۹۶ درجه استفاده شد. بدین منظور ۱۰۰گرم از برگ‌های پودر شده گیاه چویل به دقت توسط ترازوی دیجیتال وزن شد سپس جهت تهیه عصاره‌های آبی و اتانولی هرکدام را به طور جداگانه به ارلن حاوی ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و اتانول ۹۶ درجه اضافه گردید، ارلن‌ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق روی دستگاه هم زن مغناطیسی قرار گرفت تا استخراج عصاره به طور کامل انجام گیرد. سپس مخلوط حلال و گیاه توسط کاغذ صافی (واتمن) از هم جدا شد تا تفاله‌ها را فشرده و کاملا تخلیه شود، و در نهایت عصاره‌های اولیه به دست آید. عصاره‌های اولیه حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در دور rpm ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. سپس عصاره‌ها حاصل وارد دستگاه تقطیر در خلاء (روتاری) شده و در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد حلال آن‌ها به مدت یک ساعت تبخیر و عصاره‌های تغلیظ شده به دست آمد. پس از اینکه عصاره‌ها کاملا خشک شدند عصاره-ها توسط کاردک آزمایشگاهی کاملا تراشیده شدند. جهت حذف هرگونه آلودگی میکروبی، عصاره‌های خشک شده توسط اشعهUV استریل، و جهت اطمینان از استریل بودن، عصاره‌ها روی محیط کشت نوترینت آگار (مرک آلمان) بررسی شد. عصاره‌های حاصل تا زمان انجام آزمایش‌ها در ظرف تیره استریل ریخته، و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند(۱۰).

برای تعیین وزن خشک عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه چویل ابتدا وزن یک لوله آزمایش تعیین و ml ۱ از عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه چویل در آن ریخته شد. سپس محتوی لوله در دمای اتاق خشک گردید. بعد از خشک شدن عصاره، وزن لوله آزمایش مجددا تعیین گشت. اختلاف وزن لوله معادل ml ۱ از عصاره‌ها است . میانگین سه بار تکرار، به عنوان وزن خشک عصاره ها محاسبه شد(۱۱). .

برای تهیه سوسپانسیون میکروبی ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش، از کشت ذخیره به محیط کشت شیب‌دار Muller Hinton Agar تلقیح انجام شد. سوسپانسیون غلیظ میکروبی با استفاده از محلول رینگر پس از رشد باکتری بر سطح شیب‌دار آگار آن تهیه گردید. سپس کدورت سوسپانسیون حاصل توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر اندازه گیری شد، و تا برابر شدن کدورت محلول با کدورت ۰/۵ محلول استاندارد مک فارلند($۱/۵\times۱۰^{۸}$ (CFU) /ml)، توسط محلول رینگر رقیق شد(۱۱، ۱۲) .

برای تعیین حساسیت سویه‌های باکتری نسبت به عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه مورد مطالعه از روش انتشار در آگار به کمک دیسک و روش پخش عصاره در سطح محیط کشت (تمام ظرف) استفاده شد. در روش تمام ظرف پس از افزودن ۰/۲ گرم از عصاره‌های آبی و اتانولی به ۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل، مخلوط حاصل به کمک دستگاه ورتکس هم زده شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از این محلول به ظرف های پتری استریل اضافه گشت. پس از آنکه محیط کشت استریل مولر هینتون آگار (مرک آلمان) به ظرف-های پتری اضافه شد یک لوپ از کشت استاندارد هر سوش بر روی این محیط‌ها کشت داده شد و به مدت ۲۴ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی-گراد قرار گرفت(۱۳). در روش انتشار در آگار به کمک دیسک، ابتدا $۱/۵\times۱۰^{۸}$ CFU /ml (معادل استاندارد نیم مک فارلند) از کشت استاندارد هر سوش روی سطح محیط آگار کشت داده شد و توسط اسپریدر شیشه‌ای استریل بر سطح آگار پخش شد. دیسک‌هایی که قبلا در غلظت‌های مشخص عصاره(۲۰mg/ml، ۴۰، ۶۰ و ۸۰) خیسانده شده بودند توسط پنس استریل با کمی فشار بر سطح محیط کشت ثابت گردید. پتری‌ها پس از گرم خانه‌گذاری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، با استفاده از خط‌کش به طور دقیق قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد. تمامی آزمایشات با ۳ تکرار انجام گرفت(۱۴).

برای تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC) از روش رقت لوله‌ای استفاده گردید به طوری‌که برای هر عصاره از یک سری ۹ تایی لوله آزمایش استریل استفاده شد، ۸ لوله برای آزمایش رقت‌های مختلف هر عصاره (۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸ و ۲۵۶ mg/ml) و یک لوله به عنوان کنترل منفی تهیه شد. پس از کشت تمام لوله‌های آزمایش به مدت ۲۴ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم خانه‌گذاری شد و پس از آن لوله‌ها از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری‌های تلقیح شده بررسی شد. پایین‌ترین غلظتی که در آن کدورتی مشاهده نگردید و کاملا شفاف بود، به عنوان MIC در نظر گرفته شد(۱۶،۱۵).

حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه چویل نیز توسط روش رقت لوله‌ای تعیین گردید. برای تعیین MBC برای هر عصاره از یک سری ۹ تایی لوله آزمایش استریل استفاده شد، ۸ لوله برای آزمایش رقت‌های مختلف هر عصاره (۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸ و ۲۵۶ mg/ml) یک لوله هم به عنوان کنترل به کار گرفته شد. پس از کشت تمام لوله‌های آزمایش به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم خانه‌گذاری شدند از تمام لوله‌های که هیچ رشدی در آن‌ها مشاهده نشده بود نمونه-برداری و جهت تعیین MBC به روش Pour Plate Method کشت داده شد. لوله‌ای که حاوی کم‌ترین غلظت عصاره بود و در پلیت مربوط به آن هیچ رشدی مشاهده نشده بود به عنوان MBC در نظر گرفته شد(۱۷).

داده‌های حاصل از تاثیر ۴ سطح متفاوت غلظت عصاره‌های آبی و اتانولی بر میکروارگانیسم‌های مورد بررسی با سه تکرار، به روش تجزیه واریانس یک طرفه با استفاده از نرم‌افزار SPSS Ver 16 تجزیه و تحلیل آماری شد. برای مقایسه میانگین‌ها از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

یافته‌ها

در روش پخش عصاره در محیط کشت عصاره آبی و اتانولی درغلظت ۲mg/ml برروی Staphylococcus aureus و Bacillus cereus کاملا موثر اما فاقد اثر ضد باکتریایی مشخصی روی Salmonella typhi بود و از رشد این باکتری بر روی محیط کشت جلوگیری نکرد.

در روش انتشار در آگار (به کمک دیسک) عصاره اتانولی گیاه چویل در تمامی غلظت‌ها روی Bacillus cereus و Staphylococcus aureus و در غلظت‌های ۲۰ mg/ml و ۴۰ روی Salmonella typhi دارای اثر بازدارندگی داشت. به جز درغلظت ۲۰ با ۴۰ اثر عصاره اتانولی بر Bacillus cereus و Staphylococcus aureus در بقیه موارد اختلاف میانگین قطر عدم رشد (به صورت دو به دو) با هم معنی‌دار بود. در مقایسه دو به دو میان غلظت‌های عصاره اتانولی بر Salmonella typhi نیز اختلاف میانگین قطر بازدارندگی مشاهده شد. عصاره آبی رویBacillus cereus و Staphylococcus aureus تنها در غلظت ۲۰ mg/ml اثر بازدارندگی نشان نداد. اثر ضد میکروبی عصاره آبی روی Salmonella typhi فقط غلظت ۸۰ mg/ml اثر بازدارندگی نشان داد. مقایسه دو به دو میانگین‌های قطر هاله عدم رشد در مورد عصاره آبی بر باکتری‌های مورد بررسی نشان داد که در تمامی غلظت‌ها، میانگین قطر عدم رشد اختلاف معنی‌دار دارند. بر اساس نتایج آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد هم عصاره اتانولی و هم عصاره آبی غلظت موثر ۸۰mg/ml بود(جدول۱).

حداقل غلظت مهار کنندگی عصاره اتانولی گیاه چویل برای Bacillus cereus ، Staphylococcus aureus و Salmonella typhi به ترتیب ۸ ، ۸ و ۳۲ میلی گرم بر میلی لیتر بود و حداقل غلظت مهار کنندگی عصاره آبی برای Bacillus cereus، Staphylococcus aureus وSalmonella typhi به ترتیب ۱۶،۱۶ و ۶۴ میلی گرم بر میلی لیتر بود(جدول ۲).

حداقل غلظت کشندگی عصاره اتانولی و عصاره آبی گیاه چویل برای Bacillus cereus و Staphylococcus aureus به ترتیب ۱۶و ۳۲ میلی گرم بر میلی لیتر و MBC عصاره اتانولی و عصاره آبی گیاه چویل برای Salmonella typhi به ترتیب برابر با ۶۴ و ۱۲۸ میلی گرم بر میلی لیتر بود(جدول ۳).

جدول۱.میانگین قطر هاله عدم رشد Bacillus cereus، Staphylococcus aureus و Salmonella typhi بر حسب میلی‌متر در حضور عصاره‌های اتانولی و آبی برگ گیاه چویل(انتشار در آگار)

نوع عصاره	میکروارگانیسم	غلظت عصاره برگ گیاه چویل(mg/ml)			
		۲۰	۴۰	۶۰	۸۰
اتانولی	**Bacillus cereus**	^{a}۰/۲۸±۱۱/۳۰	^{a}۰/۵۰±۱۲/۵۰	^{b}۰/۵۷±۱۴/۳۰	^{c}۰/۵۰±۱۵/۹۰
اتانولی	**Staphylococcus aureus**	^{a}۰/۵۷±۱۰/۵۰	^{a}۰/۵۳±۱۱/۱۰	^{b}۰/۵۳±۱۲/۸۰	^{c}۰/۵۷±۱۴/۰۰
اتانولی	**Salmonella typhi**	-	-	^{a}۰/۵۰±۱۱/۳۰	^{b}۰/۵۷±۱۲/۸۰
آبی	**Bacillus cereus**	-	^{a}۰/۵۳±۹/۹۰	^{b}۰/۵۷±۱۱/۶۰	^{c}۰/۵۲±۱۳/۳۰
آبی	**Staphylococcus aureus**	-	^{a}۰/۵۷±۸/۹۰	^{b}۰/۵۰±۱۰/۶۰	^{c}۰/۲۸±۱۲/۲۰
آبی	**Salmonella typhi**	-	-	-	^{a}۰/۵۳±۱۱/۱۰

- علامت (-) نشان دهنده عدم وجود فعالیت ضد باکتری عصاره آبی و اتانولی گیاه چویل می‌باشد.
- حروف غیر مشابه در یک ردیف نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار میان اثر ضد میکروبی غلظت‌های مختلف می‌باشد.
- حروف مشابه در یک ردیف نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار میان اثر ضد میکروبی غلظت‌های مختلف می‌باشد.

جدول۲. نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) عصاره‌های اتانولی و آبی عصاره گیاه چویل بر Staphylococcus aureus ، Bacillus cereus و Salmonella typhi

نوع عصاره	میکروارگانیسم	غلظت عصاره گیاه چویل(mg/ml)								
		۲	۴	۸	۱۶	۳۲	۶۴	۱۲۸	۲۵۶	کنترل
اتانولی	**Bacillus cereus**	-	-	+	+	+	+	+	+	-
اتانولی	**Staphylococcus aureus**	-	-	+	+	+	+	+	+	-
اتانولی	**Salmonella typhi**	-	-	-	-	+	+	+	+	-
آبی	**Bacillus cereus**	-	-	-	+	+	+	+	+	-
آبی	**Staphylococcus aureus**	-	-	-	+	+	+	+	+	-
آبی	**Salmonella typhi**	-	-	-	-	-	+	+	+	-

+: عدم رشد -: رشد

جدول۳. نتایج حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره‌های اتانولی و آبی عصاره برگ گیاه چویل بر Bacillus cereus، Staphylococcus aureus و Salmonella typhi.

نوع عصاره	میکروارگانیسم	غلظت عصاره گیاه چویل(mg/ml)								
		۲	۴	۸	۱۶	۳۲	۶۴	۱۲۸	۲۵۶	کنترل
اتانولی	**Bacillus cereus**	-	-	-	+	+	+	+	+	-
اتانولی	**Staphylococcus aureus**	-	-	-	+	+	+	+	+	-
اتانولی	**Salmonella typhi**	-	-	-	-	-	+	+	+	-
آبی	**Bacillus cereus**	-	-	-	-	+	+	+	+	-
آبی	**Staphylococcus aureus**	-	-	-	-	+	+	+	+	-
آبی	**Salmonella typhi**	-	-	-	-	-	-	+	+	-

+: عدم رشد -: رشد

بحث

مقاومت باکتری ها به آنتی‌بیوتیک‌ها روز به روز در حال افزایش است که این مسئله باعث می شود تا محقیقین به فکر جای گزین کردن عوامل ضد میکروبی مؤثر و با عوارض جانبی کم تر به جای مواد ضد میکروبی با اثر کم‌تر و عوارض ناخواسته بیش‌تر باشند، عصاره‌های گیاهی دارای موادی هستند که می توانند بر علیه بسیاری از میکروارگانیسم‌ها به کار روند. این اثرات ضد میکروبی بر علیه باکتری‌ها و قارچ‌ها در پژوهش‌های مختلفی بررسی شده است(۱۸).

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که عصاره اتانولی گیاه چویل در مقایسه با عصاره آبی گیاه چویل اثر بازدارندگی بیش‌تری روی سوش‌های مورد مطالعه دارد. علت آن درصد استحصال بیش تر عصاره اتانولی نسبت به عصاره آبی و در نتیجه استخراج بیش تر مواد موثر در گیاه چویل توسط حلال اتانول می‌باشد. سول و آگبابیکا (۲۰۰۸) خواص ضد باکتریایی عصاره‌های آبی و اتانولی Eucalyptus citriodora، Vernonia amygdalina و Phyllanthus amarus در برابر Escherichia coli ، Klebsiella sp. ، Salmonella sp. و Shigella sp. را بررسی کرده اند. نتایج نشان داد عصاره آبی Vernonia amygdalina و Phyllanthus amarus بر میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش موثر نبوده و عصاره اتانولی بیش‌ترین تاثیر را بر تمامی باکتری‌های تست شده دارد، نتایج این پژوهش گران با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد(۱۹).

رضازاده و هم کارن (۱۳۸۲) اجزای اسانس سرشاخه‌های هوایی گیاه Ferulago angulata را بررسی کرده اند . در این بررسی ۳۳ ترکیب شناسایی شدند که ۸۹/۷٪ کل اجزا را تشکیل می‌دادند. از این مقدار ۷۷/۱٪ مونوترپن و ۱۲/۶٪ سس کویی ترپن بودند. ترکیبات اصلی شناسایی شده در این بررسی آلفا پینن، بورنیل استات و سیس-اسمن بودند(۸).

داشتن یا نداشتن تفاوت معنی‌دار میانگین قطر عدم رشد غلظت‌های مختلف را می‌توان به مقدار ماده مؤثر موجود در عصاره‌ها نسبت داد. ولی به طوری کلی می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش غلظت عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه چویل میزان قطر هاله عدم رشد افزایش پیدا می‌کند(جدول ۲) . بنکبلیا (۲۰۰۴) خواص ضد میکروبی اسانس‌های استخراج شده از سیر و پیاز را بررسی کرد.

اثر ضد میکروبی اسانس‌های استخراج شده از سه نوع پیاز و سیر را در مقابل باکتری‌های Staphylococcus aureus وentridis Salmonella و سه قارچ Aspergillus niger ، Penicillium cyclopiumو Fusarium oxysporum بررسی شد. نتایج نشان داد با افزایش غلظت اسانس‌ها اثر ضد میکروبی افزایش پیدا می‌کند(۲۰). در پژوهش دیگر سدیک و هم کاران (۲۰۰۲) فعالیت ضد میکروبی اسانس‌های مریم گلی، آویشن، پونه کوهی و زیره سبز را بر رشد Escherichia coli مطالعه کردند. برای این منظور از آزمون دیسک‌های کاغذی و محیط کشت مایع استفاده شد. آن‌ها دریافتند میزان بازدارندگی و ضد باکتریایی این اسانس‌ها با میزان غلظت آن‌ها تغییر می‌کند. اسانس آویشن و پونه کوهی بالاترین میزان اثر ضد میکروبی را در مقایسه با بقیه اسانس‌ها نشان داد. نتایج نشان داد با افزایش غلظت اسانس‌ها اثر ضد میکروبی افزایش پیدا می‌کند(۲۱). رضایی و رسولی (۱۳۷۹) فعالیت بیولوژیکی و ترکیبات شیمیایی اسانس آویشن و پونه را بررسی کردند. در این مطالعه اسانس آویشن و پونه با روش تقطیر با بخار استخراج شده و تأثیر ضد میکروبی آن مطالعه شد. اسانس‌ها در رقت‌های مختلف در برابر سه رقت سوسپانسیون باکتریایی قرار گرفتند تا حداقل غلظت ممانعت کنندگی و حداقل غلظت کشندگی تعیین شود. در غلظت‌های بالاتر اسانس، هاله عدم رشد باکتری-ها بیشتر می باشد نتایج این پژوهشگران با نتایج بررسی حاضر هم‌سویی دارد(۲۲).

حساسیت بیش‌تر باکتری‌های گرم مثبت در مقابل عوامل ضد میکروبی در مطالعات مختلف مطرح و تایید شده است. باکتری‌های گرم مثبت در دیواره سلولی خود دارای ترکیب موکوپپتید بوده، در حالی‌که باکتری‌های گرم منفی فقط لایه نازکی از موکوپپتید دارند و قسمت اعظم ساختمان دیواره در آنها لیپوپروتئین و لیپوپلی‌ساکارید است. به همین علت در مقابل مواد ضد باکتریایی مقاوم‌ترند(۲۳، ۲۴). نتایج ما نیز نشان داد که باکتری-های گرم مثبت Bacillus cereus و Staphylococcus aureus در مقایسه با باکتری گرم منفی Salmonella typhi حساسیت بیش‌تری داشتند. در مطالعات دیگر نیز محققین بر افزایش اثر ضد میکروبی عصاره-های گیاهان مختلف بر باکتری‌های گرم مثبت مهر تایید زده‌اند. به‌عنوان مثال مجنونی و هم کاران (۲۰۰۹) اثرات ضد میکروبی عصاره آبی الکلی برگ و دانه گیاه شنبلیله بر سویه‌های مختلف میکروبی را بررسی کردند. بر اساس نتایج بدست آمده مشخص گردید که اثر مهارکنندگی و ضد میکروبی عصاره‌های گیاه شنبلیله روی باکتری‌های گرم مثبت به‌طور مشخص بیش تر از باکتری‌های گرم منفی است. مشاهدات این پژوهشگران مبنی بر اثر بیش‌تر عصاره‌ها بر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی با مشاهدات ما هم‌خوانی دارد(۲۵).

از نتایج حاصل از حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی عصاره اتانولی گیاه چویل نیز می‌توان نتیجه گرفت، بیش‌ترین مقاومت مربوط به باکتری گرم منفی Salmonella typhi بود (جدول ۲و ۳). بر اساس پژوهشی که توسط جاوید نیا در سال ۲۰۰۶ انجام پذیرفت مشخص گردید که بازده اسانس در گیاه خشک چویل ۰/۵ درصد بوده و در مجموع از ۲۴ ترکیب شناسایی شده از اسانس گیاه چویل سیس بتا- اوسمین با ۴۱/۳۵ درصد بیش ترین ترکیب را شامل می‌شود، بنابراین شاید بتوان عنوان نمود که بخش زیادی از اثر ضد میکروبی عصاره گیاه چویل مربوط به ترکیب سیس بتا- اوسمین می باشد(۲۶).

نتیجه گیری

با توجه به نتایج پژوهش‌هایی که توسط سایر پژوهش گران انجام گرفته شده است مشخص گردیده که متغییر بودن تاثیر عصاره گیاهان دارویی بر میکروارگانیسم‌های مختلف به نوع، اندازه مولکول‌های موثر و قدرت نفوذ پذیری آن‌ها به درون میکروارگانیسم‌ها بستگی دارد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد، به طور کلی عصاره گیاه چویل در شرایط "in vitro" قابلیت ضد باکتریایی قابل ملاحظه ای روی سویه های مورد مطالعه داشت. در ادامه لازم است مطالعات بیش‌تری در شرایط " in vivo " انجام شود تا عواملی هم چون دوز موثر این عصاره بر باکتری‌های تعیین شود تا در نهایت از عصاره گیاه چویل برای کنترل بیماری عفونی و مسمویت زا استفاده شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از خانم دکتر عادله حیدری سورشجانی و خانم مهندس آزاده ظهوری که در فراهم نمودن مواد لازم و انجام آزمایش‌ها ما را یاری کردند، قدردانی می‌شود. مقاله علمی _ پژوهشی حاضر مستخرج از طرح پژوهشی با کد ۲۶۸۵۲ مصوب تاریخ ۱۳۹۲/۲/۱ در دانشگاه فردوسی مشهد می باشد. نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند که از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به دلیل مساعدت‌های مالی جهت اجرای این طرح پژوهشی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

REFERENCES

1. Ayepola OO, & Adeniyi BA. The antibacterial activity of leaf extracts of Eucalyptus camaldulensis (Myrtaceae). J App Scie Res. 2008; 4(11):1410-13.

2. Clauditz A, Resch A, Wieland KP, Peschel A, & Götz F. Staphylo xanthin plays a role in the fitness of Staphylococcus aureus and its ability to cope with oxidative stress. Infection and immunity. J Infec Immu Microbiol. 2006; 74 (8):4950-53.

3. Kotiranta A, Lounatmaa K, & Haapasalo M. Epidemiology and pathogenesis of Bacillus cereus infections. Microb Infec. 2000; 2(2): 189-98.

4. Shapoori R, Rhnama M, Eghbal Zadeh, SH. Study of Salmonella serotypes in chicken meat and egg, and determine the antibiotic susceptibility in Zanjan. J Biol Sci, Islamic Azad Univer Zanjan. 2009; 2(3):63-71.

5. Holley R. A, & Patel D. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. J Food Microbiol. 2005; 22(4):273-92.

6. Mozzafarian V. Encyclopedia of Plants. Farhange Moaser Public. 2009; p.740.

7. Zargari A. Medicinal Plants. Tehran Univ Public. 1996; 5: 923-5.

8. Rezazade Sh, Yazdani D, Shahbazi S. Identification of active ingredients of branches of Ferulago angulata collected from West Iran. J Med P. 1382; 7:35-38.

9. Jafari Kokhdan A. Evaluation of traditional medicine in Qashqaees. National conference of sustainable development of medicinal plants. 2004. 178-9.

10. Alizadeh Behbahani B, Shahidi F, Tabatabaei Yazdi F, Mohebbi M. Antifungal effect of aqueous and ethanolic mangrove plant extract on pathogenic fungus "in vitro". Inter J Agronomy Plant Prod. 2013; 4:1652-8.

11. Soltaninejad Sh, Sataei Mokhtari T, 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): 21-28.

12. Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Mortazavi A, Zendeboodi F, Gholian MM, Vasiee A. Effect of aqueous and ethanolic extract of Eucalyptus camaldulensis L. on food infection and intoxication microorganisms "in vitro". Journal of Paramedical Sciences. 2013; 4(3): 89-99.

13. Babayi H, Kolo I, Okogun J.I, Ijah U. J. J. The antimicrobial activities of methanolic extracts of Eucalyptus camaldulensis and Terminalia catappa against some pathogenic microorganisms. Nigerian Society for Experimental Biology. 2004; 16(2):106-11.

14. Awoyinka O.A, Balogun I.O, Ogunnowo A. A. Phytochemical screening and in vitro bioactivity of Cnidoscolus aconitifolius (Euphorbiaceae). J Med Plants Research. 2007; 1(3): 63-65.

15. Vanden DA, Vlietinck AJ. In: Dey, PM., Harborne, JB. (Eds.). Methods in plant biochemistry: screening medthods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. London: Academic Press. 1991; 2(1): 47-69.

16. Tape B, Donmez E, Vnlu M, Candan F, Daferera D, Sokmen A. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of Salvia cryptantha and Salvia multicaulis. Food Chem. 2004; 84(2): 519- 25.

17. Espinel-Ingroff A, Fothergill A, Peter J, Rinaldi M, Walsh T. Testing conditions for determination of minimum fungicidal concentrations of new and established antifungal agents for Aspergillus spp: NCCLS collaborative study. J clini microbiol. 2002; 40(9): 3204-8.

18. Lin J, Opoku AR, Geheeb-Keller M, Hutchings AD, Terblanche SE, Jager AK, Van Staden J. Preliminary screening of some traditional Zulu medicinal plants for anti-inflammatory and antimicrobial activities. J Ethnopharmacol 1999; 68(1): 267-274.

19. Sule I. O, & Agbabiaka T. O. Antibacterial effect of some plant extracts on selected enterobacteriaceae . J Ethnobotan Leaf 2008; 12(1):1035-42.

20. Benkeblia N. Antimicrobial activity of essential oil and extracts of various Onion (Allium cepa) and Garlic (Allium Sativum). Lebensm. wiss. u. Technol. 2004; 37:263-68.

21. Sagdıc O, Kuscu A, Ozcan M, Ozcelik S. Effects of Turkish spice extracts at various concentrations on the growth of Escherichia coli O157: H7. Food Microbiology. 2002; 19(5):473-80.

22. Rezaei M.B & Rasoli A. Biological activity and chemical composition of essential oil of thyme and oregano. Scientific Journal - control research. 2000; 8(31): 1-8.

23. Tabatabaei Yazdi F, Alizadeh Behbahani B. Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic Teucrium polium L. extracts on gram positive and gram negative bacteria “in vitro”. Journal of Paramedical Sciences. 2013; 4(4): 55-61.

24. Tassou CC, Nychas GJ. Antimicrobial activity of the essential oil of Mastic fum on gram-positive and gram-negative bacteria in broth and model food systems. Int. Biodeterio. biodegrad. 1995; 36: 411- 20.

25. Majnuni MB, Abiri R, Malek Khatabi P, Adibi H. Antimicrobial effects of hydro alcoholic leaf and Trigonella foenum seeds on different bacterial strains. J Laboratory Medicine. 2009; 3(2): 31-5.

26. Javidnia K, Miri R, Edraki N, Khoshneviszadeh M, Javidnia A. Constituents of the volatile oil of Ferulago angulata (Schlecht.) Boiss. from Iran. Journal of Essential Oil Research. 2006; 18(5):548-50.