گروه‌های عاملی و فعالیت ضدمیکروبی عصاره آبی برگ سدر بر باکتری‌های اشرشیا کلی، سودوموناس ائروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا

حسن برزگر*[1]، بهروز علیزاده بهبهانی[2]، محمدامین مهرنیا[2]، هادی تناور[3]

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 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:** hbarzegar@asnrukh.ac.ir

دریافت مقاله: شهریور نود ونه پذیرش برای چاپ: مهر نود و نه

چکیده

سابقه و هدف: *در سالیان اخیر استفاده از عصاره‌های گیاهی جهت کنترل عفونت‌های باکتریایی مورد توجه قرار گرفته است. سدر یا کنار با نام علمی .Ziziphus spina-christi L بومی مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری است. هدف از این پژوهش، تعیین گروه‌های عاملی و فعالیت ضدمیکروبی عصاره آبی سدر بر باکتری‌های اشرشیا کلی، سودوموناس ائروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا در شرایط برون‌تنی بود.*

روش کار: *در این پژوهش آزمایشگاهی، عصاره‌گیری از پودر برگ‌های سدر با استفاده از روش خیساندن به مدت ۴۸ ساعت انجام شد. فعالیت ضدباکتریایی عصاره برگ سدر با استفاده از چهار روش دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی مورد ارزیابی قرار گرفت. گروه‌های عاملی عصاره آبی سدر با استفاده از دستگاه طیف سنج مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) شناسایی شد.*

یافته‌ها: *در روش دیسک دیفیوژن آگار و چاهک آگار تمام غلظت‌های عصاره آبی برگ سدر موجب مهار سویه‌های باکتریایی شدند. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره برای باکتری‌های اشرشیا کلی، سودوموناس ائروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا به ترتیب ۶۴، ۳۲، ۸ و ۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. نتایج نشان داد حداقل غلظت کشندگی عصاره برای تمامی باکتری‌ها بیش‌تر از غلظت مهارکنندگی بود. پیک‌های اصلی گروه‌های عاملی عصاره آبی برگ سدر در اعداد موجی ۳۳۹۰، ۲۹۷۴، ۲۹۳۳، ۱۷۱۵، ۱۶۰۶، ۱۴۱۹، ۱۳۰۷، ۱۲۷۴، ۱۰۵۹، ۸۸۵، ۸۲۰، ۷۷۹ و ۶۲۹ بر سانتی‌متر مشاهده شدند.*

نتیجه‌گیری: *بر اساس نتایج به دست آمده عصاره آبی سدر دارای اثر ضدباکتریایی مطلوبی بود. نتایج نشان داد که باکتری‌های گرم منفی مقاومت بیش‌تری در برابر عصاره از خود نشان دادند. استفاده از این ترکیب گیاهی در مواد غذایی و صنعت داروسازی را می‌توان به‌عنوان روشی موثر جهت کنترل باکتری‌های بیماری‌زا برشمرد.*

واژگان کلیدی: کنار، عصاره آبی، فعالیت ضدباکتریایی، طیف سنج مادون قرمز تبدیل فوریه

مقدمه

ابتلا به بیماری بر اثر استفاده از مواد غذایی همواره یکی از مشکلات جوامع بشری بوده است. بیماری‌هایی که در اثر استفاده از مواد غذایی در انسان بروز پیدا می‌کنند موجب عفونت و یا مسمومیت در افراد می‌شوند(۱). طی سالیان متمادی استفاده از انواع آنتی‌بیوتیک با طیف‌های متنوع به‌عنوان موثرترین روش جهت کنترل بیماری-های باکتریایی به کار گرفته شده است. پژوهش‌های مختلفی در سال ۱۹۹۰ میلادی نشان داد که طول عمر آنتی‌بیوتیک‌ها محدود است(۲). در حقیقت باکتری‌ها ساختاری محافظ به نام بیوفیلم در برابر اثرات نامطلوب آنتی‌بیوتیک‌ها اطراف خود ایجاد می‌کنند. بیوفیلم ساختاری حفاظتی متشکل از پروتئین، ماده ژنتیکی و نوعی اگزوپلی‌ساکارید است که مقاومت باکتری‌ها به عوامل نامساعد محیطی مانند آنتی‌بیوتیک‌ها را می‌تواند حتی تا هزار برابر افزایش دهد(۳). از مهم‌ترین سویه‌های باکتریایی بیماری‌زا می‌توان به سودوموناس ائروژینوزا، اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا اشاره کرد که حتی به پنی‌سیلین نیز مقاومت بالایی نشان می‌دهند(۴). امروزه پژوهشگران با علم به افزایش مقاومت باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها در جستجوی موادی جدید با فعالیت ضدباکتریایی مناسب و عوارض جانبی کم‌تر هستند(۵).گزارش‌های سازمان بهداشت جهانی نشان می‌دهد حدود ۲۵ درصد از داروهای موجود منشاء گیاهی دارند و اقبال عمومی نیز

به استفاده از مواد و داروهای گیاهی رو به افزایش است. بر اساس آمار ارائه شده بیش از نیمی از مردم جهان در مواجه با انواع بیماری‌ها از داروهای گیاهی استفاده می‌کنند(۶). از مهم‌ترین عوامل برتری داشتن ترکیبات اشتقاقی گیاهان نسبت به مواد شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌ها می‌توان به زیست‌تخریب پذیر بودن، عوارض جانبی اندک، تهیه آسان، خاستگاه طبیعی و رایحه مطبوع ترکیبات گیاهی اشاره کرد(۷ و ۸).

سدر یا کنار با نام علمی .Ziziphus spina-christi L متعلق به جنس Ziziphus و خانواده Rhamnaceae است(۹). میوه‌های این گیاه کوچک و نارنجی رنگ هستند. سدر به صورت درخت و درختچه‌هایی با شاخه‌های خاردار رشد می‌کند(۱۰). این گیاه را می‌توان به صورت گسترده در تمام مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری کره زمین مانند استرالیا، آفریقا، اروپای جنوبی، آمریکای شمالی و جنوبی مشاهده کرد اما خاستگاه این گیاه را آسیا می‌دانند(۷). مطالعات فیتوشیمیایی وجود فلاونوئید، آلکانوئید، ساپونین، لیپیدها، پروتئین و موسیلاژ را در این گیاه نشان داده است(۱۱). وجود ساپونین در برگ‌های سدر باعث شده از دیرباز تا به امروز برگ‌های این گیاه به‌عنوان منبعی ارزان قیمت از مواد شوینده مورد استفاده گیرند. در طب عامیانه از سدر جهت درمان اختلالات گوارشی، ضعف، چاقی، دیابت، عفونت‌های پوستی و بی‌خوابی استفاده می‌شود(۱۲). امروزه نیز با پیشرفت علم پژوهش‌های فراوانی وجود خواص ضدباکتریایی، ضدالتهابی، ضد ویروسی، ضد قارچی در گیاه سدر ثابت کرده‌اند(۱۳).

با توجه به امکان دسترسی ساده به درخت‌های سدر در استان‌های جنوبی ایران و اثبات فعالیت ضدباکتریایی مطلوب آن استفاده از ترکیبات استخراجی سدر را می‌توان به‌عنوان روشی ارزان قیمت جهت مقابله با باکتری‌های بیماری‌زا برشمرد. لذا هدف از این پژوهش، بررسی گروه‌های عاملی و فعالیت ضدمیکروبی عصاره آبی سدر بر باکتری‌های اشرشیا کلی، سودوموناس ائروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا در شرایط برون‌تنی بود.

روش کار

محیط کشت مولر هینتون براث و مولر هینتون آگار با برند مرک (آلمان) خریداری شد و برای تهیه عصاره آبی از برگ‌های سدر ابتدا مقدار کافی از برگ‌های سبز و براق درخت‌های سدر محوطه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان جمع‌آوری گردید. جهت کاهش آلودگی، برگ‌ها به مدت کوتاهی شستشو سطحی داده شدند. برگ‌های سدر به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق و سایه قرار داده شدند تا کاملا خشک شوند. پودر برگ‌های الک شده و آب مقطر با نسبت ۱ به ۱۳ ترکیب شده و ۴۸ ساعت روی شیکر قرار گرفتند. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۶۰۰۰ rpm قرار داده شد. طی این مرحله تمامی ناخالصی‌های محلول جدا گردید. عمل خشک کردن مایع شفاف رویی حاصل از سانتریفیوژ (سوپرناتانت) در آون ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت صورت پذیرفت. در انتها جهت حفظ ویژگی‌های عصاره از آسیب‌های محیطی، پودر حاصل تا زمان آزمایش در ظرف شیشه‌ای تیره و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (۱۴).در این پژوهش از ۴ روش ضدمیکروبی برای ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی عصاره آبی سدر استفاده شد. در زیر روش‌های ضدمیکروبی آورده شده است.

دیسک دیفیوژن آگار: در ابتدا پلیت‌ها با استفاده از محیط کشت مولر هینتون آگار استریل شده با اتوکلاو، تا نیمه پر شدند. پس از سرد شدن محیط کشت ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون‌های باکتریایی معادل ۰/۵ مک‌فارلند بر سطح پلیت‌ها تلقیح و پخش گردید. دیسک‌های بلانک با فاصله مناسب از دیواره و دیگر دیسک‌ها بر سطح محیط کشت جای‌گذاری شدند. ۲۰ میکرولیتر از عصاره استریل شده با فیلتر سرسرنگی ۰/۴۵ میکرون به دیسک‌ها اضافه شد و یک دیسک بلانک نیز به‌عنوان شاهد در مرکز پلیت قرار گرفت. پلیت‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و بلافاصله پس از آن به انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد منتقل گردیدند. قطر هاله‌های ایجاد شده اطراف دیسک‌ها پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری و بر حسب میلی‌متر گزارش شد(۱۵).

چاهک آگار: تفاوت این روش با روش دیسک دیفیوژن آگار محل تلقیح عصاره است. در این روش به دلیل ایجاد چاهک ارتفاع محیط کشت اهمیت دارد به همین دلیل تمامی پلیت‌ها دقیقا با ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت مولر هینتون آگار پر شدند. چاهک‌ها با استفاده از انتهای پی‌پت پاستور استریل بر سطح محیط کشت مولر هینتون آگار ایجاد گردیدند. ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون‌های باکتریایی معادل ۰/۵ مک‌فارلند بر سطح محیط کشت اضافه و پخش شد. ۲۰ میکرولیتر از عصاره استریل سدر به درون چاهک‌ها با استفاده از سمپلر ریخته شد. گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت صورت گرفت. قطر هاله‌های ایجاد شده بر حسب میلی‌متر گزارش گردید(۱۶).

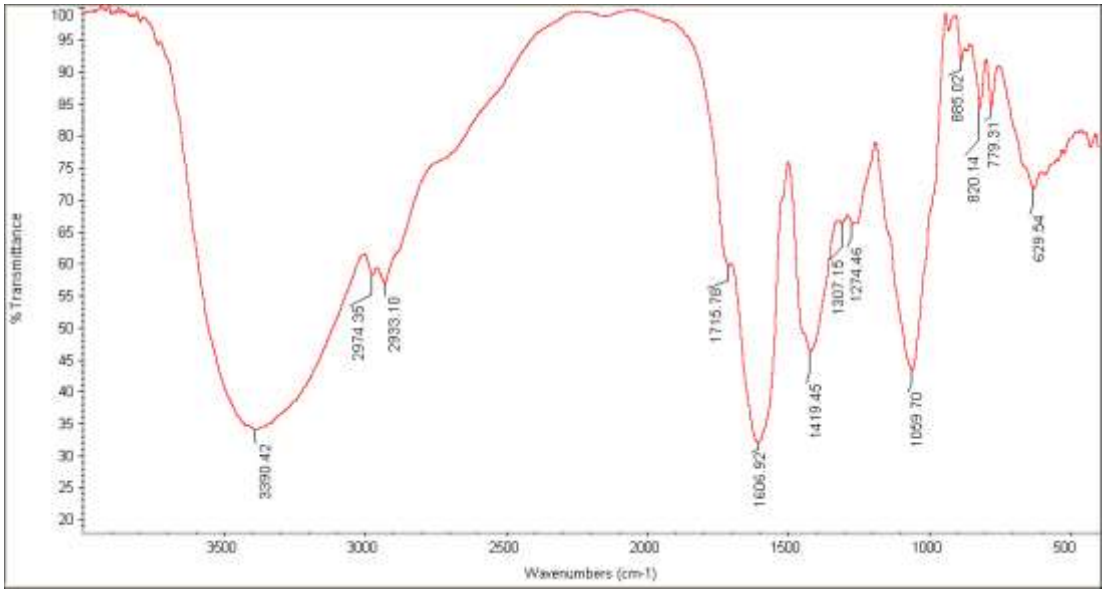
حداقل غلظت مهارکنندگی: در این آزمون حداقل غلظتی از عصاره برگ سدر که موجب مهار رشد باکتری‌های مورد نظر می‌شود محاسبه شد. برای این منظور محلول مادر از ترکیب ۴ گرم پودر خشک برگ سدر، ۹ میلی‌لیتر محیط کشت مولر هینتون براث و ۱ میلی‌لیتر امولسیفایر تهیه گردید. محلول مادر به صورت متوالی تا ۱۰ برابر رقیق سازی شد. میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای جهت گزارش حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره استفاده مورد استفاده قرار گرفت. ستون‌های میکروپلیت به غلظت‌های متوالی عصاره و ردیف‌ها به سوسپانسیون‌های باکتریایی اختصاص یافت. درون هر چاهک ۱۰۰

میکرولیتر از غلظت عصاره برگ سدر و ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی اضافه گردید. چاهک‌های دو ستون آخر به شاهدهای مثبت و منفی اختصاص داده شد. میکروپلیت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری گردید. به تمامی چاهک‌ها ۱۰ میکرولیتر معرف ۵ درصد تری فنیل تترازولیوم افزوده شد تا چاهک‌هایی که در آن‌ها باکتری رشد کرده است مشخص شوند. میکروپلیت مجددا به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شد. حداقل غلظت بازدارندگی عصاره برگ سدر برابر با غلظت اولین چاهکی بود که پس از گرمخانه گذاری در آن تغییر رنگی رخ نداد(۱۷).

حداقل غلظت کشندگی: جهت محاسبه حداقل غلظت عصاره آبی سدر که موجب مرگ باکتری‌ها می‌شود از نتایج آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی استفاده شد. در ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک-هایی که در آن‌ها رنگ قرمز ظاهر نشده بود را برداشته و بر سطح پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار تلقیح و پخش گردید. غلظت اولین پلیتی که پس از گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت کلنی در آن رشد نکرده بود به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی عصاره گزارش شد(۱۷ و ۱۸).باندهای عاملی عصاره آبی برگ سدر با استفاده از دستگاه طیف سنج مادون قرمز تبدیل فوریه(Fourier-transform infrared spectroscopy) FTIR شناسایی شدند. میزان جذب در محدوده cm^{-1} ۴۰۰۰-۴۰۰ تنظیم شد(۱۹).میانگین داده‌های به دست آمده با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این پژوهش از نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ جهت آنالیز داده‌ها استفاده شد.

یافته‌ها

طیف مادون قرمز عصاره آبی سدر در شکل ۱، نشان داده شده است. باتوجه به طیف به دست آمده، پیک‌های اصلی عصاره برگ سدر در اعداد موجی ۳۳۹۰، ۲۹۷۴، ۲۹۳۳، ۱۷۱۵، ۱۶۰۶، ۱۴۱۹، ۱۳۰۷، ۱۲۷۴، ۱۰۵۹، ۸۸۵، ۸۲۰، ۷۷۹ و ۶۲۹ بر سانتی‌متر مشاهده شدند.



شکل۱- طیف FTIR عصاره آبی سدر

عصاره آبی برگ سدر در تمامی غلظت‌ها به جز غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر ضدباکتریایی مناسبی بر باکتری اشرشیا کلی داشت. تمامی غلظت‌های عصاره سدر اثر مهاری بر سویه‌های سودوموناس ائروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا داشتند. میان افزایش غلظت و افزایش قطر هاله بازدارندگی از رشد در تمامی سویه‌های مورد آزمایش رابطه مستقیم برقرار بود. استافیلوکوکوس اورئوس با قطر هاله ۱۶ میلی‌متری در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره آبی برگ سدر به‌عنوان حساس‌ترین سویه باکتریایی گزارش شد. بر اساس نتایج به دست آمده سویه باکتریایی اشرشیا کلی بیش‌ترین مقاومت را در برابر عصاره آبی برگ سدر داشت. مقایسه دوتایی میان میانگین قطر هاله‌های اندازه‌گیری شده اشرشیا کلی نشان داد در تمامی غلظت‌های عصاره به غیر از غلظت

۵۰ با ۷۵ در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری برقرار است. در مقایسه دو به دو میانگین قطر هاله عدم رشد برای باکتری سودوموناس ائروژینوزا به جز غلظت ۲۵ با ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره در سایر غلظت‌ها اختلاف در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. مقایسه دوتایی میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره آبی برگ سدر بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا در تمامی غلظت‌ها (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری داشت(جدول ۱).

جدول۱- میانگین قطر هاله عدم رشد میکروبی (دیسک دیفیوژن) عصاره آبی سدر بر باکتری‌های بیماری‌زا برحسب میلی‌متر

باکتری	غلظت عصاره برگ سدر (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) ۲۵	۵۰	۷۵	۱۰۰
اشرشیا کلی	-[a]	۸/۳۰±۰/۴۱[b]	۹/۲۰±۰/۵۴[b]	۱۲/۲۰±۰/۶۳[c]
سودوموناس ائروژینوزا	۷/۴۰±۰/۳۸[a]	۸/۴۰±۰/۴۹[a]	۱۰/۶۰±۰/۱۷[b]	۱۳/۳۰±۰/۵۷[c]
استافیلوکوکوس اورئوس	۸/۹۰±۰/۳۵[a]	۱۰/۸۰±۰/۳۰[b]	۱۳/۵۰±۰/۶۷[c]	۱۶/۰۰±۰/۵۳[d]
لیستریا اینوکوا	۷/۸۰±۰/۲۵[a]	۹/۹۰±۰/۲۹[b]	۱۲/۶۰±۰/۵۹[c]	۱۴/۵۰±۰/۵۰[d]

- **حروف غیر مشابه کوچک در یک ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح معنی‌داری ۵ درصد میان غلظت‌های مختلف عصاره آبی سدر است.**

عصاره آبی برگ سدر در تمامی غلظت‌ها به روش چاهک آگار بر باکتری‌های اشرشیا کلی، سودوموناس ائروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا دارای اثر مهاری بود. افزایش غلظت عصاره آبی برگ سدر در تمامی سویه‌های باکتریایی موجب گسترش قطر هاله بازدارندگی شد. در تمامی غلظت‌ها مقایسه دوتایی میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره آبی برگ سدر بر باکتری‌های اشرشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد بود. نتایج نشان داد که مقایسه دوتایی میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره بر باکتری‌های سودوموناس ائروژینوزا و لیستریا اینوکوا به جز غلظت ۲۵ با ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در سطح ۵ درصد دارای اختلاف معنی‌داری است. قطر هاله بازدارندگی ایجاد شده توسط عصاره برای تمام باکتری‌ها و غلظت‌ها با استفاده از روش چاهک آگار بیش‌تر از روش دیسک دیفیوژن بود(جدول ۲).

جدول۲- میانگین قطر هاله عدم رشد میکروبی (چاهک آگار) عصاره آبی سدر بر باکتری‌های بیماری‌زا برحسب میلی‌متر

باکتری	غلظت عصاره برگ سدر (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) ۲۵	۵۰	۷۵	۱۰۰
اشرشیا کلی	۷/۵۰±۰/۱۹[a]	۹/۴۰±۰/۱۷[b]	۱۱/۱۰±۰/۴۱[c]	۱۳/۶۰±۰/۵۱[d]
سودوموناس ائروژینوزا	۸/۰۰±۰/۲۷[a]	۹/۱۰±۰/۱۱[a]	۱۱/۰۰±۰/۳۸[b]	۱۳/۹۰±۰/۶۲[c]
استافیلوکوکوس اورئوس	۹/۰۰±۰/۶۱[a]	۱۱/۵۰±۰/۴۶[b]	۱۴/۱۰±۰/۳۷[c]	۱۷/۲۰±۰/۵۰[d]
لیستریا اینوکوا	۸/۶۰±۰/۲۰[a]	۹/۶۰±۰/۱۳[a]	۱۳/۱۰±۰/۲۳[b]	۱۶/۰۰±۰/۳۶[c]

- **حروف غیر مشابه کوچک در یک ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح معنی‌داری ۵ درصد میان غلظت‌های مختلف عصاره آبی سدر است.**

میزان حداقل غلظت مهارکنندگی در تمامی سویه‌های باکتریایی ذکر شده کم‌تر از حداقل غلظت کشندگی بود. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره آبی سدر برای اشرشیا کلی، سودوموناس ائروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا اینوکوا به ترتیب ۶۴، ۳۲، ۸ و ۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی سدر برای باکتری‌های گرم منفی اشرشیا کلی و سودوموناس ائروژینوزا بیش از ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا برابر با ۲۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود(جدول ۳).

جدول۳- حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی سدر بر باکتری‌های بیماری‌زا

باکتری	حداقل غلظت مهارکنندگی (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	حداقل غلظت کشندگی (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)
اشرشیا کلی	۶۴	>۵۱۲
سودوموناس ائروژینوزا	۳۲	>۵۱۲
استافیلوکوکوس اورئوس	۸	۲۵۶
لیستریا اینوکوا	۱۶	۲۵۶

۴- بحث

نتایج شناسایی گروه‌های عاملی عصاره آبی سدر نشان داد که نوار پهن حول پیک با عدد موجی ۳۳۹۰ بر سانتی‌متر ممکن است مربوط به کشش گروه O-H ملکول‌های آب یا باند N-H پروتئین-ها باشد (۱۷). پیک قرار گرفته در ۲۹۳۳ بر سانتی‌متر ناشی از ارتعاشات کششی باند C-H می‌باشد (۲۰). علاوه بر این پیک‌های ظاهر شده در عدد موجی ۱۷۱۵ بر سانتی‌متر مربوط به پیوندهای C=O گروه کربوکسیلیک اسید، ۱۶۰۶ بر سانتی‌متر ناشی از ترکیبات آروماتیک، ۱۴۱۹ بر سانتی‌متر مربوط به ارتعاش کششی C=C ترکیبات آروماتیک و ۱۰۵۹ بر سانتی‌مترمؤید به باند کششی S-O گروه سولفونات‌ها تعلق دارد (۲۱، ۲۲، ۲۳ و ۲۴). همچنین پیک قرار گرفته در عدد موجی ۶۲۹ بر سانتی‌متر به کشش متقارن پیوند C-N-C تعلق دارد (۲۰). Temerk و همکاران (۲۰۱۷)، حضور گروه‌های عاملی عصاره سدر را با استفاده از دستگاه طیف سنج مادون قرمز تبدیل فوریه مورد بررسی قرار دادند و ۳ پیک گزارش شد. بر اساس نتایج پیک cm^{-1} ۳۳۸۵ مربوط به باند کششی N-H پروتئین‌ها و باند O-H ناشی از ملکول‌های آب یا گروه‌های موجود در سلولز، همی سلولز و لیگنین بود. پیک cm^{-1} ۱۶۳۵ مربوط به باند لرزشی C=N آمین‌های نوع اول پروتئین‌ها است. در نهایت پیک cm^{-1} ۱۰۸۵ به آمین‌های نوع دوم پروتئین‌ها تعلق داشت (۱۷). Khani و همکاران (۲۰۱۸)، از دستگاه فوریه مادون قرمز جهت بررسی گروه‌های عاملی عصاره میوه سدر استفاده کردند. گسترده‌ترین پیک در cm^{-1} ۳۳۹۸ مشاهده شد که مربوط به باند کششی O-H الکل و فنل‌های تحت تاثیر گروه NH بود. ارتعاشات گروه C-H در محدوده cm^{-1} ۲۸۹۸ و cm^{-1} ۲۹۳۲ مشاهده شد. باندهایی که در cm^{-1} ۱۳۶۴ و cm^{-1} ۱۶۲۴ ظاهر شدند به باند C=O گروه‌های کربوکسیلی نسبت داده شد (۲۰).

Motamedi و همکاران (۲۰۱۴)، با استفاده از روش‌های دیسک دیفیوژن، حداقل غلظت مهاری و حداقل غلظت کشندگی میزان فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌های متانولی و اتانولی برگ سدر را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد سویه‌های گرم منفی مقاومت بیش‌تری نسبت به عصاره داشتند. باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر حساسیت‌ترین سویه نسبت به عصاره برگ سدر بود (۲۵). نتایج این پژوهشگران مشابه با مطالعه حاضر بود. در مطالعه ما نیز باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان حساس‌ترین سویه میکروبی بود. Bukar و همکاران (۲۰۱۵)، از روش چاهک آگار جهت بررسی قدرت ضدباکتریای عصاره استخراجی از هسته سدر در برابر چهار باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی، سودوموناس ائروژینوزا و شیگلا استفاده کردند. باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با هاله ۱۱ میلی‌متری حساس‌ترین سویه در برابر عصاره بود. به صورت کلی باکتری‌های گرم منفی مقاومت بیش‌تری در برابر عصاره هسته سدر داشتند (۱۰). در مطالعه ما نیز باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا نسبت به سویه‌های گرم منفی اشرشیا کلی و سودوموناس ائروژینوزا حساس‌تر بودند. Abdallah (۲۰۱۷)، قدرت ضدباکتریایی عصاره متانولی میوه‌های سدر را در برابر چندین سویه باکتری گرم مثبت و گرم منفی مورد ارزیابی قرار دادند. بر اساس نتایج گزارش شده سویه‌های گرم مثبت بیش‌ترین حساسیت را در برابر عصاره نشان دادند. بیش‌ترین قطر هاله اندازه‌گیری شده طی روش چاهک آگار (در برابر عصاره با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به باکتری استافیلوکوک اپیدرمیدیس با هاله ۱۱ میلی‌متری تعلق داشت. حداقل غلظت مهارکنندگی برای باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس و استافیلوکوک اپیدرمیدیس به ترتیب

۱۰۰، ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش شد. همچنین حداقل غلظت کشندگی برای باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوک اپیدرمیدیس ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای باکتری باسیلوس سرئوس بیش از ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود (۲۶). نتایج این پژوهشگران با یافته‌های مطالعه حاضر تا حدود زیادی مشابهت داشت. Temerk و همکاران (۲۰۱۷)، عصاره‌های متانولی و اتانولی از دانه، ریشه، پوست، برگ و میوه‌های درخت سدر را تهیه کردند. قدرت ضدباکتریایی عصاره‌ها با استفاده از روش‌های چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی در برابر ۷ سویه‌ی باکتریایی (اشرشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا، انتروکوک فکالیس، انتروباکتر آئروژینوزا، انتروباکتر کلوآسه، کلبسیلا پنومونیه و استافیلوکوکوس اورئوس) مورد ارزیابی قرار گرفت. همه‌ی عصاره‌های استخراج شده دارای قدرت ضدباکتریایی بودند و تمامی سویه‌های گرم مثبت و گرم منفی نسبت به عصاره‌ها حساسیت نشان دادند (۲۰). EL-Hefny و همکاران (۲۰۱۸)، از عصاره ان-هگزانی میوه‌های سدر جهت کنترل رشد باکتری‌های عامل فساد سیب زمینی استفاده کردند. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره میوه‌های سدر در برابر باکتری‌های مورد مطالعه در محدوده ۳۲ تا ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شد. بیش‌ترین هاله اندازه‌گیری شده با قطر ۱۳/۳ میلی‌متر به باکتری باسیلوس پومیلوس تعلق داشت (۹). Al-Mousawi و Al-Kaabi (۲۰۱۸)، میزان حداقل غلظت مهارکنندگی و برهمکنش عصاره آبی برگ سدر با آنتی-بیوتیک‌های پنی‌سیلین و موکسی‌فلوکساسین را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد میان آنتی‌بیوتیک‌های ذکر شده و عصاره آبی برگ سدر رابطه هم‌افزایی برقرار است (۲۷). Gheithl و El-Mahmoudy (۲۰۱۸)، قدرت ضدمیکروبی عصاره سدر را بر تعدادی از سویه‌های گرم مثبت و گرم منفنی باکتریایی و همچنین سویه قارچی کاندیدا آلبیکنس مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج پژوهش حاصل نشان داد فعالیت بازدارندگی عصاره سدر با افزایش غلظت عصاره رابطه مستقیمی دارد. این پژوهشگران استفاده از این عصاره طبیعی را جهت درمان بیماری‌های باکتریایی توصیه کردند (۲۸). Suliman و Mohammed (۲۰۱۸)، از روش انتشار دیسک در آگار جهت بررسی قدرت ضدباکتریایی عصاره برگ سدر علیه شش سویه گرم مثبت و گرم منفی باکتریایی استفاده کردند. بر اساس نتایج به دست آمده سویه‌های گرم منفی مقاومت بیشتری نسبت به عصاره از خود نشان دادند. استافیلوکوکوس اورئوس با بیش‌ترین هاله بازدارندگی در میان سایر سویه‌های مورد آزمایش به-عنوان حساس‌ترین سویه باکتریایی معرفی شد (۲۹). Hadi Jebur و همکاران (۲۰۲۰)، میزان فعالیت ضدباکتریایی عصاره استخراجی از برگ سدر را مورد بررسی قرار دادند. در این پژوهش به ترتیب از ۵ و ۸ سویه باکتریایی گرم مثبت و گرم منفی استفاده شد که رشد همگی توسط عصاره برگ سدر مهار گردید. این پژوهشگران اعلام کردند که استفاده از پتانسیل ضدباکتریایی برگ‌های سدر می‌تواند موجب توسعه داروهای ضدباکتریایی شود (۳۰).

۵- نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره آبی استخراجی از برگ‌های سدر دارای قدرت ضدباکتریایی مطلوبی است. باتوجه به نتایج حاصله سویه باکتریایی گرم منفی اشرشیا کلی بیش‌ترین مقاومت و سویه باکتریایی گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس کم‌ترین مقاومت را در برابر عصاره آبی سدر داشتند. به طور کلی می‌توان گفت سویه‌های باکتریایی گرم مثبت در برابر این عصاره گیاهی حساسیت بیش‌تری دارند. بر اساس نتایج این پژوهش و امکان دسترسی ساده و ارزان به این گیاه در نواحی جنوبی ایران استفاده از پتانسیل بالقوه ضدباکتریایی سدر می‌تواند از شیوع بیماری‌های عفونی با منشاء باکتریایی در این نواحی و دیگر بخش‌های کشور جلوگیری نماید. پیشنهاد می‌شود پژوهش‌های گسترده‌تری بر گیاه سدر جهت استفاده در صنعت غذایی و داروسازی صورت گیرد.

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 حمایت-های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

REFERENCES

1. Shahbazi N, Jamshidi A, Azizzadeh M. The effect of short-time microwave exposure, organic Acid and Salt on *Pseudomonas aeruginosa* inoculated in veal parts during refrigerated shelf life. Food Science and Technology. 2019;88(16):357-364. [Full Text in Persian].

2. Kordjazi A. Farahmandfar R. Antibacterial activity of hydroalcoholic extract of Cardin leaf on *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* and *Pseudomonas aeruginosa*. Food Science and Technology. 2020;16(97):29-35. [Full Text in Persian].

3. Masoumipour F, Hassanshahian M, Sasan H, Jafarinasab T. Antimicrobial Effect of Combined Extract of Three Plants *Camellia Sinensis*, *Teucrium Polium* and *Piper Nigrum* on Antibiotic Resistant Pathogenic Bacteria. Iranian Journal of Medical Microbiology. 2019;13(2):114-124. [Full Text in Persian].

4. Hashemi B, Taghiloo S, Allahmoradi E, Karami zarandi M, Rahdar H. Assessment of antibacterial effect of hydro-alcoholic extract of *Portulaca oleracea* on the human pathogen bacteria. Journal of Sabzevar University of Medical Sciences. 2018;25(3):303-308. [Full Text in Persian].

5. Kolbadi Nejad M, Najafian L. Identification of chemical compounds and evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of date plum (*Diospyros Lotus*) syrup. Food Science and Technology. 2020;17(100):151-163. [Full Text in Persian].

6. Barzegar H, Hojjati M, Panahi M. Antioxidant and antimicrobial activity of different extracts of *Pistacia atlantica* leaf. Food Science and Technology. 2017;14(8):147-158. [Full Text in Persian].

7. Rocchetti G, Alcántara C, Bäuerl C, GarcíaPérez J.V, Lorenzo J.M, Lucini L, Carmen Collado M, J. Barba F. Bacterial growth and biological properties of *Cymbopogon schoenanthus* and *Ziziphus lotus* are modulated by extraction conditions. Food Research International. 2020;136: 109534.

8. Javanmard R, Mahdavi S. Investigating antibacterial effect of thyme (*Thymus persicus*) and pennyroyal (*Mentha longifolia*) alcoholic and aqueous extracts against isolated bacteria from domestic cheeses. Journal of Fasa University of Medical Sciences. 2018;8(3):911-917. [Full Text in Persian].

9. EL-Hefnya M, Mohamed A.A, Salem M.Z.M, Abd El-Kareem M.S.M, Ali H.M. Chemical composition, antioxidant capacity and antibacterial activity against some potato bacterial pathogens of fruit extracts from phytolacca dioica and *Ziziphus spina-christi* grown in egypt. Scientia Horticulturae 2018;233: 225-232.

10. Bukar A.M, Kyari M.Z, Gwaski P.A, Gudusu M, Kuburi F.S, Abadam Y.I. Evaluation of phytochemical and potential antibacterial activity of *Ziziphus spina-christi* L. against some medically important pathogenic bacteria obtained from university of maiduguri teaching hospital, maiduguri, borno state–nigeria. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2015;3(5):98-101.

11. A. Dkhil M, B. Kassab R, Al-Quraishy S, M. Abdel-Daim M, Z Rafat, E. Abdel Moneim A. *Ziziphus spina-christi* (L.) leaf extract alleviates myocardial and renal dysfunction associated with sepsis in mice. Biomedicine and Pharmacotherapy. 2018;102:64-75.

12. Bozicevic A, De Mieri M, Di Benedetto A, Gafner F, Hamburger M. Dammarane-type saponins from leaves of *Ziziphus spina-christi*. Phytochemistry. 2017;138:134-144.

13. Fares Alzahrani F, Al-Shaebi E.M, Dkhil M.A, Al-Quraishy S. In vivo anti-eimeria and in vitro anthelmintic activity of *ziziphus spina-christi* leaf extracts. Pakistan Journal of Zoology 2016;48(2):409-413.

14. Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Shahidi F, Mohebbi M,Vasiee AR. Antimicrobial effect aqueous and ethanolic extract of *Avicennia marina* on microorganisms the infection and intoxication in vitro. Journal of North Khorasan University of Medical Science. 2014;6(1):99-109. [Full Text in Persian].

15. Gutiérrez-Morales A, Velázquez-Ordoñez V, Khusro A, Salem A.Z.M, Estrada-Zúñiga M.E, Salem M.Z.M, et al. Anti-staphylococcal properties of *Eichhornia crassipes*, *pistacia vera*, and *Ziziphus amole* leaf extracts: isolates from cattle and rabbits. Microbial Pathogenesis 2017;113:181-189.

16. Alizadeh Behbahani B, Noshad M, Falah F. Study of chemical structure, antimicrobial, cytotoxic and mechanism of action of *Syzygium aromaticum* essential oil on foodborne pathogens. Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences 2019;13(1):875-883.

17. Temerk H.A, Salem W.M, Sayed W.F, Hassan F.S. Antibacterial effect of phytochemial extracts from *Ziziphus-spina christi* against some pathogenic bacteria. Egyptian Journal of Botany 2017;57(3):595-604.

18. Sureshjani MH, Yazdi FT, Mortazavi A, Shahidi F, Behbahani BA. Antimicrobial effect of Satureja bachtiarica extracts aqueous and ethanolic on Escherichia coli and Staphylococcus aureus. Scientific Journal of Biological Sciences. 2013;2(2):24-31.

19. Alizadeh Behbahani B, Noshad M, Falah F. Study the chemical composition of essential oil of *Foeniculum vulgare* and antioxidant activity and its cell toxicity. Food Science and Technology. 2020;17(104):124-133. [Full Text in Persian].

20. Khani R, Roostaei B, Bagherzade G, Moudi M. Green synthesis of copper nanoparticles by fruit extract of *Ziziphus spina-christi* (L.) willd.: Application for adsorption of triphenylmethane dye and antibacterial assay. Journal of Molecular Liquids 2018;255:541-549.

21. Azhar J. Mousawi A, R. Khair S. The use of macro lament of alginate and rosemary in monterey cheese coating. Plant Archives. 2019;19(2):4369-4378.

22. Cai Y, Zhou X, Han A, Chen P, Bai H. In vitro immunological and anti-complementary activities of two water-soluble lignins from *Zizyphus jujube cv*. Jinchangzao. International Journal of Biological Macromolecules. 2017;105(1):204-212.

23. M.Sirry S, Kooli F, A.Al –Shareef S. Characterization and cation exchange capacity of seeds of *Ziziphus spina-christi*. Algerian Journal of Natural Products. 2014;2(3):75-84.

24. EI Messaoudi N, EI Khomri M, Dbik A, Bentahar S, Lacherai A. Selective and competitive removal of dyes from binary and ternary systems in aqueous solutions by pretreated jujube shell (*Zizyphus lotus*). Journal of Dispersion Science and Technology. 2016;38(8):1168-1174.

25. Motamedi H, Seyyednejada S.M, Hasannejad Z. Dehghani F. A comparative study on the effects of *ziziphus spina-christi* alcoholic extracts on growth and structural integrity of bacterial pathogens. Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2014;10(2):1-10.

26. Abdallah E.M. Antibacterial activity of fruit methanol extract of *ziziphus spina-christi* from sudan. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 2017;6(5):38-44.

27. Al-Mousawi A.H, Al-Kaabi S.J. Effect of *Ziziphus spina christy* extract in biofilm formation of methicillin resistance *Staphyiococcus aureus* and *Staphylococcus haemolyticus*. Pakistan Journal of Biotechnology. 2018;14(4):791-795

28. Gheith I, El-Mahmoudy A. Assessment of the antimicrobial potential of the hydro-methanolic extract of Sidr (*Ziziphus spina-christi*) plant against selected pathogens in vitro. Life Science Journal. 2018;15(9):27-34.

29. Suliman M.B, Mohammed A.A. Preliminary phytochemical screening and antibacterial activity of ethanolic and aqueous extracts of Sudanese medicinal plant *Ziziphus spina-christi* L leaves. Arabian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 2018;4(1):36-44.

30. Hadi Jebur M, Khazal Kadhim Hind N, Jassim Hamza H, Alkaim A.F. The Activity of Aquatic Extract of *Ziziphus Spina-christi* against Bacteria, an in Vitro Study. International Journal of Psychosocial Rehabilitation. 2020;24(5):1821-1827.