بررسی فعالیت ضدباکتریایی عصاره متانولی برگ سنجد بر انتروباکتر آئروژنز، سودوموناس آئروژینوزا، استرپتوکوکوس پیوژنز و باسیلوس سرئوس

محمد نوشاد[1*]، بهروز علیزاده بهبهانی[2]، مصطفی رحمتی جنیدآباد[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-استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
*نشانی برای مکاتبه: Noshad@asnrukh.ac.ir

چکیده

سابقه و هدف: بیماری‌های عفونی ایجاد شده توسط سویه‌های باکتریایی پاتوژن در بسیاری از کشورها از جمله ایران رو به افزایش است. سنجد (Hippophae rhamnoides L.) منبع مهمی از عوامل ضد میکروبی طبیعی است. این مطالعه با هدف استخراج عصاره متانولی برگ سنجد و بررسی فعالیت ضدمیکروبی آن در برابر انتروباکتر آئروژنز، سودوموناس آئروژینوزا، استرپتوکوکوس پیوژنز و باسیلوس سرئوس انجام گرفت.

روش کار: در این مطالعه، عصاره متانولی برگ سنجد با استفاده از روش ماسراسیون استخراج گردید و سپس اثر ضد باکتریایی آن در برابر باکتری‌های پاتوژن انتروباکتر آئروژنز، سودوموناس آئروژینوزا، استرپتوکوکوس پیوژنز و باسیلوس سرئوس با کمک روش‌های دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی بررسی گردید.

یافته‌ها: نتایج آزمون‌های دیسک دیفیوژن آگار و چاهک آگار نشان داد که افزایش غلظت عصاره از ۵ به ۳۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر سبب افزایش معنی‌دار قطر هاله عدم رشد برای تمامی سویه‌های میکروبی گردید. سودوموناس آئروژینوزا مقاوم‌ترین و استرپتوکوکوس پیوژنز حساس‌ترین سویه‌ها در برابر عصاره بودند. حداقل غلظت مهارکنندگی برای باکتری‌های گرم مثبت (۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) کمتر از باکتری‌های گرم منفی (۱۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به دست آمد. همچنین، حداقل غلظت کشندگی برای استرپتوکوکوس پیوژنز و سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب برابر با ۲۵۶ و ۵۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود.

نتیجه‌گیری: نتایج فعالیت ضدمیکروبی عصاره متانولی برگ سنجد نشان داد که امکان استفاده از عصاره برای مصارف دارویی و نگهداری مواد غذایی وجود دارد.

واژگان کلیدی: *سنجد؛ عصاره متانولی؛ مقاومت به آنتی‌بیوتیک؛ ضد میکروب طبیعی؛ بیماری‌های ناشی از مواد غذایی.*

مقدمه

غذا تضمین اساسی برای بقای انسان است. بیماری‌های انسانی ناشی از مصرف غذاهای حاوی باکتری، ویروس یا انگل بیماری‌های ناشی از مواد غذایی نامیده می‌شوند. بیماری‌های ناشی از مواد غذایی به یکی از معضلات اصلی که سلامت و ایمنی جهان را به خطر می‌اندازد، تبدیل شده و نرخ بالای بروز آن‌ها نگرانی‌های گسترده‌ای را در جامعه برانگیخته است (۱). بر اساس گزارش سازمان جهانی بهداشت در ۶ جولای ۲۰۲۱، هر ساله ۶۰۰ میلیون مورد بیماری‌های ناشی از مواد غذایی گزارش می‌شود (۲). پاتوژن‌های غذایی عامل اصلی بیماری‌های ناشی از مواد غذایی هستند. بر اساس گزارش سازمان جهانی بهداشت، حدود ۷۰ درصد از بیماری‌های ناشی از مواد غذایی، ناشی از آلودگی پاتوژن‌های غذایی است که متابولیت‌ها و عوامل بیماری‌زا را از طریق متابولیسم خود به خاک، آب و غذا ترشح می‌کند و در نتیجه باعث عفونت‌های بیماری‌زا در انسان می‌شود (۳). انواع مختلفی از پاتوژن های غذایی وجود دارد، از جمله *سالمونلا، اشرشیا کلی، لیستریا مونوسیتوژنز* و غیره که تهدیدی جدی برای سلامت و ایمنی انسان به شمار می‌روند (۱).

ظهور تعداد زیادی از باکتری‌های مقاوم به دارو، به‌ویژه سویه‌های مقاوم به چند دارو، بیماری‌های ناشی از مواد غذایی را در کانون توجه جهانی قرار داده است. کسب مقاومت دارویی توسط باکتری‌ها عمدتاً با تغییر مکانیسم نفوذپذیری غشای سلولی، مکانیسم پمپ خروجی، مکانیسم هیدرولیز آنزیمی و مکانیسم جهش در محل هدف دارو حاصل می‌شود (۶-۴). بنابراین، مقاومت ضد میکروبی یک چالش جدی در صنایع غذایی است.

گیاهان دارویی نقش حیاتی در درمان و پیشگیری از بیماری‌های مختلف و گسترش آنها دارند و علاقه روزافزونی به جستجوی داروهای جدید از منابع طبیعی وجود دارد (۹-۶). مردمی که در بسیاری از کشورهای در حال توسعه آسیا و آفریقا زندگی می‌کنند، به دلیل دسترسی محدود به امکانات پزشکی مدرن، عمدتاً برای اهداف درمانی به داروهای سنتی وابسته هستند. آنها همچنین به دلیل بهداشت ضعیف و قرار گرفتن در معرض آب آشامیدنی و مواد غذایی آلوده، موارد بیشتری از بیماری‌های ناشی از مواد غذایی را دارند (۱۰, ۱۱). مطالعات مختلف به طور منظم فعالیت ضد میکروبی داروهای سنتی از این بخش از جهان را گزارش کرده‌اند. گیاهان دارویی حاوی ترکیبات شیمیایی زیست فعال مختلف هستند که می‌توانند به عنوان عوامل ضد میکروبی عمل کنند. همچنین گزارش شده است که محصولات طبیعی اثر سینرژیستی با بسیاری از داروهای مدرن برای مبارزه با پاتوژن های مقاوم به دارو دارند (۴, ۱۲, ۱۳). بنابراین، کشف این ضد میکروب‌های طبیعی امیدی برای کاهش بیماری‌های ناشی از غذا است. داروهای سنتی از دیرباز برای درمان بیماری‌های ناشی از عوامل بیماری‌زای غذایی مورد استفاده قرار گرفته‌اند و مطالعات مختلف اثربخشی آن‌ها را در مدیریت بیماری‌های ناشی از مواد غذایی نشان داده‌اند (۱۴, ۱۵). اخیراً به دلیل عوارض جانبی مربوط به استفاده از نگهدارنده‌های مصنوعی در مواد غذایی، علاقه بیشتری به نگهدارنده‌های طبیعی وجود دارد. مواد خام گیاهی از جمله عصاره‌ها، اسانس‌ها و اجزای جدا شده از آنها به طور گسترده برای جلوگیری از تهاجم پاتوژن‌های مسئول فساد مواد غذایی مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند و بنابراین ممکن است گسترش عفونت‌های ناشی از مواد غذایی را محدود کنند (۵, ۱۸-۱۶).

سنجد (*Hippophae rhamnoides* L.) گیاهی منحصر به فرد و ارزشمند است که عمدتاً به دلیل پتانسیل دارویی و تغذیه‌ای آن، توجه جهانی را به خود جلب کرده است. سنجد یک درختچه خاردار برگ‌ریز تثبیت کننده نیتروژن در منطقه سرد و خشک بومی اروپا و آسیا است. در حال حاضر به دلیل خواص غذایی و دارویی که دارد در چندین نقطه جهان اهلی شده است. تمام قسمت‌های این گیاه منبع خوبی از تعداد زیادی مواد زیست فعال مانند ویتامین‌ها (A، C، E، K، ریبوفلاوین، اسید فولیک)، کاروتنوئیدها (α، β، δ- کاروتن، لیکوپن)، فیتواسترول‌ها (ارگوسترول، استیگماسترول، لانسترول، آمیرین‌ها)، اسیدهای آلی (اسید مالیک، اسید اگزالیک)، اسیدهای چرب چند غیراشباع و برخی اسیدهای آمینه ضروری می‌باشد (۱۹). روغن، آب‌میوه، برگ‌ها و پوست درخت سنجد به دلیل خواص دارویی خود به خوبی شناخته شده‌اند و برای درمان علائم چربی خون بالا، التهاب لثه، بیماری‌های چشم و پوست و بیماری‌های قلبی عروقی استفاده می‌شوند (۲۰, ۲۱). علاوه بر این، عصاره و اسانس سنجد دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی قابل‌توجهی می‌باشند (۲۲, ۲۳).

هدف از این مطالعه، استخراج عصاره متانولی برگ سنجد و بررسی فعالیت ضد باکتریایی آن در برابر باکتری‌های پاتوژن *انتروباکتر آئروژنز*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *استرپتوکوکوس پیوژنز* و *باسیلوس سرئوس* در شرایط برون‌تنی بود.

روش کار

تهیه عصاره متانولی سنجد

عصاره متانولی برگ‌های خشک شده سنجد به روش ماسراسیون و مطابق روش ساگو و همکاران (۲۰۰۷) با تغییرات مورد نیاز تهیه شد (۲۴). پودر برگ خشک شده در متانول در دمای اتاق خیسانده شد. پس از ۲۴ ساعت، مایع رویی (سوپرناتانت) تخلیه شد و باقی مانده دوباره در حلال تازه خیسانده شد. این فرآیند چهار بار برای استخراج کامل تکرار گردید. مواد رویی ادغام شده، از طریق پارچه صافی فیلتر شده و سپس در ۸۰۰۰ برابر شتاب گرانشی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. مایع رویی به دست آمده پس از سانتریفیوژ سپس توسط اواپراتور چرخشی و تحت خلأ تغلیظ گردید. در نهایت، عصاره تغلیظ شده در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ روز خشک شد.

تهیه و آماده‌سازی سوسپانسیون میکروبی

از سویه‌های باکتریایی لیوفیلیزه شده *انتروباکتر آئروژنز* ATCC 13048، *سودوموناس آئروژینوزا* PTCC 1849، *استرپتوکوکوس پیوژنز* PTCC 1522 و *باسیلوس سرئوس* PTCC 1948 موجود در گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان استفاده شد. باکتری های لیوفیلیزه تحت شرایط استریل در محیط مولر هینتون براث در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت فعال شدند. در ادامه سوسپانسیون میکروبی تازه از طریق کشت دادن محلول استوک در نوترینت آگار و سپس شستشو با محلول رینگر استریل تهیه گردید. سپس کدورت سوسپانسیون میکروبی غلیظ در طول‌موج ۶۳۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر تنظیم شد و در نهایت سوسپانسیون میکروبی با ۰/۵ مک فارلند یا CFU/ml $۱/۵ \times ۱۰^{۸}$ تهیه گردید (۶).

ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی عصاره متانولی سنجد

اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی برگ سنجد در برابر باکتری‌های *انتروباکتر آئروژنز*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *استرپتوکوکوس پیوژنز* و

باسیلوس سرئوس توسط آزمون‌های ضدمیکروبی برون‌تنی دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی بررسی گردید.

روش دیسک دیفیوژن

در روش ضد میکروبی دیسک دیفیوژن آگار، دیسک‌های بلانک به مدت ۱۵ دقیقه در محلول عصاره (۵، ۱۵، ۲۵ و ۳۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) غوطه‌ور شدند. سپس دیسک‌ها از محلول عصاره برداشته شدند و روی سطح محیط کشت مولر هینتون آگار حاوی سویه‌های میکروبی قرار داده شدند. در ادامه، پتری‌دیش‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شدند. در نهایت، منطقه مهار یا قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها اندازه‌گیری و به عنوان اثر ضد میکروبی گزارش گردید (۲۵).

روش چاهک آگار

روش برزگر و همکاران (۲۰۲۰) با کمی تغییر برای انجام آزمون چاهک آگار به کار گرفته شد (۲۶). برای این منظور، ۲۰ میکرولیتر عصاره (۵، ۱۵، ۲۵ و ۳۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به چاهک‌هایی (با قطر ۶ میلی‌متر) که قبلاً روی سطح مولر هینتون آگار در پتری‌دیش‌ها ایجاد شده بودند و با سویه‌های باکتریایی تلقیح شده بودند، اضافه گردید. سپس پتری‌دیش‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و سپس قطر هاله عدم رشد ثبت و به عنوان اثر ضد باکتریایی عصاره ارائه گردید.

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی عصاره متانولی سنجد

حداقل غلظت مهارکنندگی (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) و حداقل غلظت کشندگی (Minimum Bactericidal Concentration; MBC)عصاره متانولی برگ سنجد در برابر رشد باکتری‌های پاتوژن بر اساس روش کیارسی و همکاران (۲۰۲۰) با اصلاحات مورد نیاز تعیین گردید (۱۴). برای این منظور، ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی با ۰/۵ مک فارلند به چاهک پلیت ۹۶ خانه‌ای اضافه شد. سپس، چاهک‌ها با ۱۰۰ میکرولیتر عصاره استریل (۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶، ۵۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) پر شدند و پلیت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در ادامه، ۲۰ میکرولیتر از محلول ۵ درصد تری‌فنیل‌تترازولیوم کلرید به چاهک‌ها اضافه گردید و سپس پلیت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه گرمخانه گذاری شد. پس از این مدت، اولین غلظت عصاره که از رشد سویه‌های باکتریایی و تشکیل رنگ قرمز تیره در چاهک‌ها جلوگیری می‌کرد، به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی ثبت شد. چاهک‌های بدون رشد میکروبی متعاقباً برای تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شدند. محیط در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد و کمترین غلظت عصاره که قادر به سرکوب رشد باکتری بود (عدم تشکیل کلنی)، به عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته شد.

آنالیز داده‌های این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۸) مطابق آنالیز واریانس یک‌طرفه صورت پذیرفت. اختلاف بین میانگین داده‌ها با کمک آزمون دانکن در $p< ۰/۰۵$ تعیین شد. لازم به ذکر است که تمام آزمون‌ها در سه نوبت تکرار شدند.

یافته‌ها

بر اساس جدول ۱، به طور کلی با افزایش غلظت عصاره قطر هاله-های عدم رشد در باکتری‌ها افزایش یافت. مشاهده می‌شود که غلظت ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره اثر ضد میکروبی بر روی باکتری *انتروباکتر آئروژنز* نداشته اما قطر هاله‌های عدم رشد در غلظت‌های ۱۵، ۲۵ و ۳۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اختلاف معنی‌داری (در سطح اماری ۵ درصد) در این باکتری نشان دادند. در باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* غلظت ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اثر ضد میکروبی نشان نداد در حالی که هر یک از غلظت‌های ۱۵، ۲۵ و ۳۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر دارای اثر معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) در این باکتری بودند. در باکتری *استرپتوکوکوس پیوژنز* قطر هاله‌های عدم رشد در غلظت‌های ۵ و ۱۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند اما بین این غلظت‌ها و غلظت‌های ۲۵ و ۳۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اختلاف معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) مشاهده شد. در باکتری *باسیلوس سرئوس* بین قطر هاله‌های تشکیل شده در غلظت‌های ۱۵ و ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت اما این غلظت‌ها با غلظت‌های ۵ و ۳۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر دارای اختلاف معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) بودند. در این جدول مشاهده می‌شود که باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* دارای کمترین قطر هاله عدم رشد و باکتری *استرپتوکوکوس پیوژنز* دارای بیشترین قطر هاله عدم رشد می‌باشد.

جدول ۱- میانگین قطر هاله عدم رشد (برحسب میلی‌متر) عصاره متانولی برگ سنجد در برابر باکتری‌های پاتوژن، بر اساس روش دیسک دیفیوژن آگار

باکتری	غلظت عصاره (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)			
	۵	۱۵	۲۵	۳۵
انتروباکتر آئروژنز	–	۷/۲۰±۰/۲۳ c	۹/۳۰±۰/۲۹ b	۱۱/۶۰±۰/۴۲ a
سودوموناس آئروژینوزا	–	۷/۰۰±۰/۳۵ c	۹/۴۰±۰/۲۷ b	۱۲/۰۰±۰/۲۱ a
استرپتوکوکوس پیوژنز	۷/۶۰±۰/۳۹ c	۸/۵۰±۰/۵۴ c	۱۰/۸۰±۰/۴۴ b	۱۳/۱۰±۰/۳۸ a
باسیلوس سرئوس	۷/۱۰±۰/۲۶ c	۹/۲۰±۰/۴۶ b	۱۰/۱۰±۰/۵۵ b	۱۳/۰۰±۰/۲۵ a

حروف متفاوت (a، b و c) در هر سطر بیان اختلاف معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) بین غلظت‌های مختلف عصاره متانولی برگ سنجد می‌باشد.

عصاره متانولی برگ سنجد در روش چاهک آگار در مقایسه با روش دیسک دیفیوژن اثر ضد میکروبی بالاتری بر روی باکتری‌ها نشان داد و با افزایش غلظت این ویژگی افزایش یافت (جدول ۲). در هر یک از باکتری‌های *انتروباکتر آئروژنز* و *سودوموناس آئروژینوزا* قطر هاله‌های ایجاد شده در غلظت‌های ۲۵ و ۳۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اختلاف معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) با یکدیگر نشان ندادند اما در قطر هاله‌های ایجاد شده در این غلظت‌ها با هر یک از غلظت‌های ۵ و ۱۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اختلاف معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) مشاهده شد. در هر یک از باکتری‌های *استرپتوکوکوس پیوژنز* و *باسیلوس سرئوس* قطر هاله‌های عدم رشد در غلظت‌های مختلف اختلاف معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) با یکدیگر نشان دادند. در این روش، باکتری *انتروباکتر آئروژنز* با قطری برابر با ۷/۰۰ میلی‌متر کمترین حساسیت و باکتری *استرپتوکوکوس پیوژنز* با قطری برابر با ۱۴/۹۰ میلی‌لیتر بیشترین حساسیت را در برابر عصاره متانولی برگ سنجد نشان دادند.

جدول ۲- میانگین قطر هاله عدم رشد (برحسب میلی‌متر) عصاره متانولی برگ سنجد در برابر باکتری‌های پاتوژن، بر اساس روش چاهک آگار

باکتری	غلظت عصاره (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)			
	۵	۱۵	۲۵	۳۵
انتروباکتر آئروژنز	۷/۰۰±۰/۱۶ c	۸/۹۰±۰/۱۳ b	۱۱/۸۰±۰/۴۷ a	۱۲/۲۰±۰/۵۸ a
سودوموناس آئروژینوزا	۷/۲۰±۰/۱۳ c	۹/۴۰±۰/۳۸ b	۱۲/۲۰±۰/۵۵ a	۱۳/۰۰±۰/۴۱ a
استرپتوکوکوس پیوژنز	۷/۸۰±۰/۱۵ d	۱۰/۱۰±۰/۲۰ c	۱۲/۸۰±۰/۲۸ b	۱۴/۹۰±۰/۲۲ a
باسیلوس سرئوس	۷/۵۰±۰/۱۴ d	۱۰/۰۰±۰/۲۳ c	۱۲/۳۰±۰/۴۲ b	۱۴/۶۰±۰/۱۹ a

حروف متفاوت (a، b و c) در هر سطر بیان اختلاف معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) بین غلظت‌های مختلف عصاره متانولی برگ سنجد می‌باشد.

مطابق جدول ۳، استرپتوکوکوس پیوژنز و باسیلوس سرئوس دارای حداقل غلظت مهارکنندگی می‌باشند و پس از آن انتروباکتر آئروژنز و سودوموناس آئروژینوزا قرار دارند. استرپتوکوکوس پیوژنز در غلظت ۲۵۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر دارای حداقل غلظت کشندگی می‌باشد و سودوموناس آئروژینوزا و باسیلوس سرئوس و انتروباکتر آئروژنز به ترتیب پس از آن قرار می‌گیرند.

جدول ۳- حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی عصاره متانولی برگ سنجد در برابر باکتری‌های پاتوژن

باکتری	حداقل غلظت مهارکنندگی[1] (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)	حداقل غلظت کشندگی[2] (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)
انتروباکتر آئروژنز	۱۶	بزرگتر از ۵۱۲
سودوموناس آئروژینوزا	۱۶	۵۱۲
استرپتوکوکوس پیوژنز	۴	۲۵۶
باسیلوس سرئوس	۴	۵۱۲

[1]Minimum Inhibitory Concentration
[2]Minimum Bactericidal Concentration

بحث

فاسد شدن مواد غذایی به دلیل وجود عفونت‌های باکتریایی و قارچی در دهه‌های گذشته یکی از دغدغه‌های اصلی بوده و ضرر قابل‌توجهی را در سراسر جهان به همراه دارد. تقاضا برای نگهدارنده‌های غیر سمی و طبیعی با افزایش آگاهی و گزارش‌ها در مورد اثرات نامطلوب مواد شیمیایی مصنوعی موجود در غذاها در حال افزایش است. علاوه بر این، ظهور پاتوژن‌های ناشی از مواد غذایی اخیراً به یک نگرانی عمده بهداشت عمومی تبدیل شده است. بسیاری از ترکیبات موجود در گیاهان دارای فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی هستند و در این راستا، بطور قابل‌توجهی جهت افزایش زمان ماندگاری محصولات غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۸, ۲۲, ۲۶). بنابراین، در این مطالعه، عصاره متانولی برگ سنجد استخراج گردید و فعالیت ضدمیکروبی آن در برابر باکتری‌های پاتوژن *انتروباکتر آئروژنز*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *استرپتوکوکوس پیوژنز* و *باسیلوس سرئوس* بررسی گردید.

نتایج ضدمیکروبی دیسک دیفیوژن آگار و چاهک آگار نشان داد که اثر ضدمیکروبی عصاره متانولی برگ سنجد وابسته به غلظت و نوع میکروارگانیسم می‌باشد. افزایش غلظت عصاره سبب افزایش معنی‌دار قطر هاله عدم رشد برای تمام سویه‌های میکروبی مورد مطالعه گردید که هماهنگ با یافته‌های سایر محققین می‌باشد. میشل و همکاران (۲۰۱۲)، فعالیت ضدمیکروبی سنجد را بر تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بیماری‌زا در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که عصاره سنجد توانست از رشد باکتری‌های بیماری‌زا جلوگیری نماید (۲۷). کومور و همکاران (۲۰۱۳)، فراکسیون‌های مختلف عصاره سنجد را بر تعدادی از میکروارگانیسم‌های عامل عفونت و مسمومیت مورد ارزیابی قرار دادند. این پژوهشگران بیان فعالیت ضدمیکروبی عصاره را مورد تایید قرار دادند (۲۸).

مطابق نتایج این پژوهش، باکتری‌های *استرپتوکوکوس پیوژنز* و *انتروباکتر آئروژنز* به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین سویه‌های میکروبی نسبت به عصاره متانولی برگ سنجد بودند. علاوه بر این، حساسیت باکتری‌های گرم مثبت (*استرپتوکوکوس پیوژنز* و *باسیلوس سرئوس*) در برابر عصاره بیشتر از باکتری‌های گرم منفی (*انتروباکتر آئروژنز* و *سودوموناس آئروژینوزا*) بود. این حالت ممکن است عمدتاً ناشی از تفاوت در ترکیب دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی باشد. باکتری‌های گرم مثبت دارای یک لایه موکوپپتید ضخیم‌تری در دیواره سلولی خود هستند، در حالی که باکتری‌های گرم منفی تنها دارای یک لایه نازک موکوپپتید هستند و ساختار دیواره عمدتاً از لیپوپروتئین و لیپوپلی‌ساکارید تشکیل شده است اما پوشش سلولی باکتری‌های گرم مثبت ها معمولا ساده است و از چند لایه تشکیل شده اما پوشش سلولی گرم منفی ها یک ساختمان چند لایه ای و بسیار پچیده است. لازم به ذکر است که دیواره سلولی باکتری های گرم مثبت معمولا بدون غشای خارجی است در حالی که باکتری‌های گرم منفی دارای غشای خارجی می‌باشند. در نتیجه منجر به مقاومت بالاتر در برابر عوامل ضد باکتریایی می‌شود (۱۳). علاوه بر این، قطر هاله عدم رشد در آزمون چاهک آگار بزرگتر از آزمون دیسک دیفیوژن آگار بود که به دلیل تماس مستقیم بین عوامل ضد میکروبی و باکتری‌ها در این روش می‌باشد (۲۹). اثر ضدمیکروبی عصاره متانولی برگ سنجد عمدتاً به حضور ترکیبات فنولی در آن مرتبط می‌باشد (۲۲). فعالیت ضد میکروبی پلی‌فنول‌ها با تغییرات در نفوذپذیری غشای سلولی میکروبی، تغییرات در یکپارچگی دیواره سلولی ناشی از برهمکنش فنول‌ها و غشای سلولی و برخی تغییرات در فعالیت درون‌سلولی به دلیل اتصال هیدروژنی فنول‌ها به آنزیم‌ها نسبت داده می‌شود (۳۰). رادین کووس و همکاران (۲۰۱۸)، گزارش کردند که عصاره سنجد بر باکتری‌های گرم مثبت هوازی و گرم منفی اختیاری داری اثر مهاری می‌باشد به نحوی که عصاره قادر بود از رشد باکتری‌های باسیلوس، اشرشیا، یرسینا، سالمونلا و شیگلا جلوگیری کند (۳۱). یو و همکاران (۲۰۱۷) اسانس‌های دانه، پالپ و برگ سنجد را با روش تقطیر با آب

استخراج و ترکیب فیتوشیمیایی آنها از طریق کروماتوگرافی گازی – طیف‌سنجی جرمی آنالیز نمودند. علاوه بر این، فعالیت ضد باکتریایی اسانس‌ها بر روی پنج باکتری پاتوژن از نظر حداقل غلظت بازدارنده ارزیابی شد. نتایج نشان داد که همه اسانس‌ها حاوی اسیدهای چرب آزاد، استرها و آلکان‌ها می‌باشند. اسانس قسمت‌های مختلف اثر بازدارندگی تقریباً برابری بر *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان دادند و مشخص گردید که اسانس پالپ برای بقیه باکتری‌های آزمایش‌شده به جز *اشرشیا کلی* مؤثرتر است (۳۲). چوهان و همکاران (۲۰۰۷) گزارش نمودند که عصاره آبی دانه سنجد دارای فعالیت ضد باکتریایی با مقادیر حداقل غلظت مهارکنندگی نسبت به *لیستریا مونوسیتوژنز* و *یرسینیا انتروکولیتیکا* به ترتیب ۷۵۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام است (۲۳). اوپادهای و همکاران (۲۰۱۰) اثرات آنتی‌اکسیدانی، محافظت سلولی و ضد باکتریایی عصاره‌های آبی و هیدروالکلی برگ سنجد را بررسی نمودند. ترکیبات فنولی زیست فعال مانند کوئرستین-۳-O-گالاکتوزید، کوئرستین-۳-O-گلوکوزید، کامپفرول و ایزورامنتین در هر دو عصاره برگ سنجد شناسایی شدند. عصاره برگ سنجد فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی نشان داد و مشاهده شد که هر دو عصاره دارای فعالیت محافظ سلولی در برابر پراکسید هیدروژن و آسیب ناشی از هیپوگزانتین-گزانتین اکسیداز به رده سلولی BHK-21 هستند. علاوه بر این، عصاره برگ سنجد اثر بازدارنده رشد را در برابر *باسیلوس سرئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *انتروکوکوس فکالیس* نشان داد (۳۳). این مشاهدات نشان می‌دهد که عصاره‌های آبی و هیدروالکلی برگ سنجد دارای فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، محافظ سلولی و ضد باکتریایی هستند. بطور کلی، این نتایج حاکی از امکان استفاده از عصاره متانولی برگ سنجد برای مصارف دارویی و نگهداری مواد غذایی می‌باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که فعالیت ضد باکتریایی قوی عصاره متانولی برگ سنجد ممکن است به دلیل محتوای ترکیبات فنولی بالای آن باشد. خواص ضد باکتریایی برگ سنجد می‌تواند کاربرد دارویی و غذایی این گیاه شگفت‌انگیز را افزایش دهد. با اینحال، مطالعه حاضر یک گزارش مقدماتی در مورد اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی برگ سنجد است و مطالعات بیشتری برای شناسایی ترکیبات فنولی آن مورد نیاز است تا مکانیسم‌های اصلی خواص زیست فعال و وجود هم‌افزایی احتمالی بین این ترکیبات مشخص شود. انجام آزمون‌های تکمیلی از قبیل بررسی ویژگی‌های مورفولوژیکی سلول باکتری توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی و اندازه‌گیری میزان خروج گلوکز، لاکتات دهیدروژناز و پروتئین از سلول‌های باکتریایی پیشنهاد می‌گردد. علاوه براین، ترکیبات اصلی تشکیل دهنده عصاره سنجد لازم است توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی شناسایی و تعیین مقدار گردند. با جداسازی و خالص‌سازی این ترکیبات و بررسی فعالیت ضدمیکروبی آن‌ها می‌توان بطور دقیق‌تری در مورد سازوکار ضدمیکروبی عصاره سنجد بحث نمود.

تقدیر و تشکر

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.

REFERENCE

1. Ge H, Wang Y, Zhao X. Research on the drug resistance mechanism of foodborne pathogens. Microbial pathogenesis. 2022;162:105306.
2. WHO, Steps up Action to Improve Food Safety and Protect People from Disease. 2021.
3. Second Formal Meeting of the Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group, FERG. 2009.
4. Shahidi F, Tabatabaei Yazdi F, Alizadeh Behbahani B, Roshanak S, Norouzi N, Vasiee A. Aantibacterial Effect of Tragopogon graminifolius Extract on Staphylococcus epidermidis, Bacillus subtilis, Escherichia coli and Salmonella typhi "in vitro". Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2019;24(84):1-10.
5. Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Mortazavi SA, 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.
6. 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 Journal of Research in Medical Sciences*. 2016;18(2): 1-6.
7. Alghooneh A, Alizadeh Behbahani B, Noorbakhsh H, Yazdi FT. Application of intelligent modeling to predict the population dynamics of Pseudomonas aeruginosa in Frankfurter sausage containing Satureja bachtiarica extracts. Microbial pathogenesis. 2015;85:58-65.
8. Alizadeh Behbahani B, Falah F, Vasiee A, Tabatabaee Yazdi F. 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. 2021;9(5):2458-67.
9. Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Fakhri S, Riazi F. Antifungal Effect Of The Aqueous And Ethanolic Avicennia Marina Extracts On Alternaria Citri And Penicillium Digitatum .," *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*. 2016;18(2):e5992.
10. Grace D. Food safety in low and middle income countries. International journal of environmental research and public health. 2015;12(9):10490-507.
11. Odeyemi OA, Sani NA .Antibiotic resistance and burden of foodborne diseases in developing countries. Future Science; 2016. p. FSO139.
12. Ayaz M, Ullah F, Sadiq A, Ullah F, Ovais M, Ahmed J, et al. Synergistic interactions of phytochemicals with antimicrobial agents: Potential strategy to counteract drug resistance. Chemico-biological interactions. 2019;308:294-303.
13. Zanganeh H, Mortazavi SA, Shahidi F, Alizadeh Behbahani B. Evaluation of the chemical and antibacterial properties of Citrus paradise essential oil and its application in Lallemantia iberica seed mucilage edible coating to improve the physicochemical, microbiological and sensory properties of lamb during refrigerated storage. Journal of Food Measurement and Characterization. 2021;15(6):5556-71.
14. Kiarsi Z ,Hojjati M, Alizadeh Behbahani B, Noshad M. In vitro antimicrobial effects of Myristica fragrans essential oil on foodborne pathogens and its influence on beef quality during refrigerated storage. Journal of Food Safety. 2020;40(3):e12782.

15. 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): 875-83.
16. Ehiri J, Morris G. Food safety control strategies: A critical review of traditional approaches. International Journal of Environmental Health Research. 1994;4(4):254-63.
17. Anand U, Jacobo-Herrera N, Altemimi A, Lakhssassi N. A comprehensive review on medicinal plants as antimicrobial therapeutics: potential avenues of biocompatible drug discovery. Metabolites. 2019;9(11):258.
18. Alizadeh Behbahani B, Noshad M, Jooyandeh H. Improving oxidative and microbial stability of beef using Shahri Balangu seed mucilage loaded with Cumin essential oil as a bioactive edible coating. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2020;24:101563.
19. Suryakumar G, Gupta A. Medicinal and therapeutic potential of Sea buckthorn (Hippophae rhamnoides L.). Journal of ethnopharmacology. 2011;138(2):268-78.
20. Liu B, Wu Z, Liu W. Preliminary observation on curing effects of Sea-buckthorn fruit juice for high blood cholesterol and coronary heart disease. Acta Academiae Medicinae Sichuan. 1980;11(3):178-82.
21. Baoru Y, Kallio H, Tahvonen R, Kalimo K, Mattila L, Kallio S, et al. Effects of dietary supplementation of Seabuckthorn (Hippophae rhamnoides) oils on fatty acids in patients with atopic dermatitis. 2000.
22. Negi P, Chauhan A, Sadia G, Rohinishree Y, Ramteke R. Antioxidant and antibacterial activities of various seabuckthorn (Hippophae rhamnoides L.) seed extracts. Food Chemistry. 2005;92(1):119-24.
23. Chauhan AS, Negi PS, Ramteke RS. Antioxidant and antibacterial activities of aqueous extract of Seabuckthorn (Hippophae rhamnoides) seeds. Fitoterapia. 2007;78(7-8):590-2.
24. Saggu S, Divekar H ,Gupta V, Sawhney R, Banerjee P, Kumar R. Adaptogenic and safety evaluation of seabuckthorn (Hippophae rhamnoides) leaf extract: a dose dependent study. Food and Chemical Toxicology. 2007;45(4):609-17.
25. Alizadeh Behbahani B, Noshad M, Falah F. Cumin essential oil: Phytochemical analysis, antimicrobial activity and investigation of its mechanism of action through scanning electron microscopy. Microbial pathogenesis. 2019;136:103716.
26. Barzegar H, Alizadeh Behbahani B, Mehrnia MA. Quality retention and shelf life extension of fresh beef using Lepidium sativum seed mucilage-based edible coating containing Heracleum lasiopetalum essential oil: an experimental and modeling study. Food Science and Biotechnology. 2020;29(5):717-28.
27. Michel T, Destandau E, Le Floch G, Lucchesi ME, Elfakir C. Antimicrobial, antioxidant and phytochemical investigations of sea buckthorn (Hippophaë rhamnoides L.) leaf, stem, root and seed. Food chemistry. 2012;131(3):754-60.
28. Kumar MY, Tirpude R, Maheshwari D, Bansal A, Misra K. Antioxidant and antimicrobial properties of phenolic rich fraction of Seabuckthorn (Hippophae rhamnoides L.) leaves in vitro. Food chemistry. 2013;141(4):3443-50.
29. Alizadeh Behbahani B, Shahidi F. Melissa officinalis essential oil: Chemical compositions, antioxidant potential, total phenolic content and antimicrobial activity. Nutr Food Sci Res. 2019;6:17-25.
30. Kremer D, Zovko Končić M, Kosalec I, Košir IJ, Potočnik T, Čerenak A, et al. Phytochemical Traits and Biological Activity of Eryngium amethystinum and E. alpinum (Apiaceae). Horticulturae. 2021;7(10):36.
31. Radenkovs V, Püssa T, Juhnevica-Radenkova K, Anton D, Seglina D. Phytochemical characterization and antimicrobial evaluation of young leaf/shoot and press cake extracts from Hippophae rhamnoides L. Food bioscience. 2018;24:56-66.

32. Yue X-F, Shang X, Zhang Z-J, Zhang Y-N. Phytochemical composition and antibacterial activity of the essential oils from different parts of sea buckthorn (Hippophae rhamnoides L.). journal of food and drug analysis. 2017;25(2):327-32.

33. Upadhyay NK, Kumar MY, Gupta A. Antioxidant, cytoprotective and antibacterial effects of Sea buckthorn (Hippophae rhamnoides L.) leaves. Food and Chemical Toxicology. 2010;48(12):3443-8.