Journal of Research in Environmental Health
Volume 10, Issue 3, Autumn 2024

Crobial Effects of the Ethanolic Extract of Barza Plant (*Johernia Aromatica)* on the Microorganisms Staphylococcus Aureus, Escherichia Coli, Clostridium Perfringens and Kluyoromyces Marcianos Yeast

Aram Salimi
* Food Industry, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Sanandaj Branch, Sanandaj, Iran.
(Corresponding Author) salimi_aram97@yahoo.com
Fardin Mir Ahmadi
Food Industry, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Sanandaj Branch, Sanandaj, Iran.

Received: 2024/03/24
Accepted: 2024/08/27
Doi:10.22038/jreh.2024.25293

Abstract

Background and Purpose: Using the antimicrobial properties of medicinal plants can have significant antimicrobial effects. Therefore, the present study was conducted with the aim of investigating the antimicrobial effects of the ethanolic extract of the plant on the microorganisms Staphylococcus aureus (gram positive), Escherichia coli (gram negative), Clostridium perfringens, and the yeast Chloivromyces marcianus.

Materials & Methods: Antimicrobial effect of alcoholic extract of Barza plant was investigated by disk diffusion method, agar well, minimum inhibitory concentration and minimum lethal concentration in the studied microorganisms. Also, the compounds in the ethanolic extract of Barza plant were determined by GC-Mass. Data analysis was done using SPSS version 25 software at the 5% level.

Results: According to the results, Clostridium perfringens and Staphylococcus aureus were the most sensitive microorganisms to 18.5, 37, 75 and 150 dilutions. The minimum inhibitory level of the studied extract for the gram-positive bacterium Clostridium perfringens was around 8 mg/ml. Also, the results showed that the minimum lethality concentration for all the strains used in this research, except for the yeast strain Chloromyces Marcianos, was equal to 1024 mg/ml.

Conclusion: The ethanol extract of the plant in the laboratory environment showed considerable anti -immigration activity on the seats. Therefore, further studies need to be conducted on this plant to be introduced as a natural and natural anticoagulant.

Keywords: Ethanolic Extract, Antibacterial Effects, Johernia Aromatica, Herbal Medicine

Open Access Policy: This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. To view a copy ofthis licence, visit https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

Citation: Salimi A, MirAhmadi F. Crobial Effects of the Ethanolic Extract of Barza Plant (*Johernia Aromatica)* on the Microorganisms Staphylococcus Aureus, Escherichia Coli, Clostridium Perfringens and Kluyoromyces Marcianos Yeast**.** *Iranian Journal of Research in Environmental Health*. Autumn 2024; 10(3):25-38.

بررسی اثرات ضدمیکروبی عصاره‌ی اتانولی *گیاه برزا* (*Johernia aromatica*) بر میکروارگانیسم‌های استافیلوکوکوس‌اورئوس، اشرشیاکلی، کلستریدیوم‌پرفرینجنس و مخمر کلویورومایسس‌مارکسیانوس

آرام سلیمی
* صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، سنندج، ایران. (نویسنده مسئول)
salimi_aram97@yahoo.com
فردین میراحمدی
صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، سنندج، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۰۵
تاریخ پذیرش:۱۴۰۳/۰۶/۰۶
نوع مقاله: پژوهشی

چکیده

زمینه و هدف: استفاده از خواص ضدمیکروبی گیاهان دارویی می‌تواند اثرات ضدمیکروبی قابل‌ملاحظه‌ای داشته باشد. از این‌رو پژوهش کنونی با هدف بررسی اثرات ضدمیکروبی عصاره‌ی اتانولی *گیاه برزا* بر میکروارگانیسم‌های استافیلوکوکوس اورئوس (گرم مثبت)، اشرشیاکلی (گرم منفی)، کلستریدیوم پرفرینجنس و مخمر کلویورومایسس مارکسیانوس انجام شد.

مواد و روش‌ها: اثر ضدمیکروبی عصاره‌ی الکلی گیاه برزا به روش دیسک دیفیوژن، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی در میکروارگانیسم‌های مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. هم‌چنین ترکیبات موجود در عصاره‌ی اتانولی *گیاه برزا* توسط دستگاه (GC-Mass) تعیین شد. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۵ در سطح ۵ درصد انجام پذیرفت.

یافته‌ها: براساس نتایج، کلستریدیوم پرفرینجنس و استافیلوکوکوس اورئوس حساس‌ترین میکروارگانیسم‌ها نسبت به رقت‌های ۱۸/۵، ۳۷، ۷۵ و ۱۵۰ بودند. حداقل میزان مهارکنندگی عصاره‌ی مورد مطالعه برای باکتری گرم‌مثبت کلستردیوم‌پرفریجنس در حدود ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. هم‌چنین نتایج نشان داد که حداقل غلظت کشندگی برای تمام سویه‌های مورد استفاده در این پژوهش به‌جز سویه‌ی مخمری کلویورومایسس-مارکسیانوس برابر با ۱۰۲۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد.

نتیجه‌گیری: عصاره‌ی اتانولی *گیاه برزا* در محیط آزمایشگاهی فعالیت ضدمیکروبی قابل‌توجهی روی سویه‌های مورد مطالعه نشان داد. بنابراین لازم است که مطالعات بیش‌تری در مورد این گیاه انجام گیرد تا بتوان آن را به‌عنوان یک ماده‌ی ضدمیکروبی طبیعی و جدید معرفی نمود.

کلیدواژه‌ها: عصاره‌ی اتانولی، اثرات ضدباکتریایی، *گیاه برزا*، گیاهان دارویی

استناد: سلیمی آ، میراحمدی ف. بررسی اثرات ضدمیکروبی عصاره‌ی اتانولی *گیاه برزا* (*Johernia aromatica*) بر میکروارگانیسم‌های استافیلوکوکوس‌اورئوس، اشرشیاکلی، کلستریدیوم‌پرفرینجنس و مخمر کلویورومایسس‌مارکسیانوس. *فصلنامه‌ی پژوهش در بهداشت محیط*. پاییز ۱۴۰۳;۱۰(۳): ۲۵-۳۸.

مقدمه

گیاهان دارویی از دیرباز ویژگی‌ها و خواص فراوانی در صنایع غذایی و پزشکی داشته‌اند (۱). توجه به گیاهان به‌واسطه‌ی ورود داروهای سنتزی به زندگی انسان به‌جهت راحتی مصرف، کم‌تر شد. با این‌حال، امروزه به‌واسطه‌ی اثرات سوء داروهای سنتزی، استفاده از گیاهان و ترکیبات طبیعی موجود در آن‌ها به‌عنوان دارو، غذاهای فراسودمند و نیز به‌عنوان ترکیباتی ضدمیکروبی با داشتن اثرات بازدارندگی و کشندگی بر عوامل بیماری‌زا در ایران و کشورهای اروپایی بیش‌تر موردتوجه قرار گرفته است (۲و۳). از این‌رو، در سالیان اخیر با ارتقای آگاهی از فواید استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و رغبت تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان نسبت به محصولات طبیعی، مطالعات بسیاری در مورد یافتن منابع سرشار از آنتی‌اکسیدان‌ها انجام شده است (۴). آنتی‌اکسیدان‌های موجود در گیاهان دارویی از یک طرف باعث کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی‌عروقی و سکته شده و از سوی دیگر با کاهش آسیب به DNA موجب جلوگیری از پیشرفت سرطان‌ها می‌شوند. جلوگیری از پیشرفت سرطان‌ها موجب کاهش آسیب به DNA می‌شوند. علی‌رغم وجود آنتی‌اکسیدان‌های مختلف در پلاسما، سیستم دفاعی بدن به‌تنهایی قادر به از بین بردن رادیکال‌های آزاد ایجاد شده در بدن نیست، به‌همین جهت نیاز به تأمین آنتی‌اکسیدان از منابع خارجی شیمیایی و طبیعی داشته که از طریق منابع غذایی تأمین می‌شوند (۵). شواهد بسیار زیادی سمی‌بودن و اثرات سوء تغذیه‌ای آنتی‌اکسیدان‌های ساختگی اضافه‌شده به موادغذایی را نشان می‌دهد (۶). مطالعات نشان می‌دهد که گیاهان به‌عنوان منابع سرشار از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، اثرات ضدمیکروبی بالایی نیز دارند. همین‌طور استفاده از مواد طبیعی نسبت به مواد شیمیایی از اهمیت بالایی برخوردار بوده که بدون تردید استفاده از اسانس و عصاره‌ی گیاهان جایگزین‌های مناسبی محسوب می‌شوند (۷). اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی مختلف فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی بالایی دارند (۸). با این‌حال، در شرایط اقلیمی مختلف و با توجه به گونه‌های گیاهی موجود در آن ناحیه، میزان و ترکیبات اسانس موجود در آن‌ها متفاوت بوده که نیاز به پژوهش و بررسی دارند (۳). عصاره‌های گیاهی به‌دلیل داشتن فعالیت‌های بیولوژیکی چشمگیری ازجمله خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدقارچی و ضدباکتریایی به‌طور قابل‌توجهی در محصولات غذایی مورداستفاده قرار می‌گیرند (۸). مکانیسم اثر ضدمیکروبی عصاره‌های گیاهی به‌دلیل خاصیت آب‌گریزی آن‌ها است که باعث ورود این مواد به فسفولیپیدهای غشاء سلول باکتری‌ها شده و در نتیجه با اختلال در ساختمان آن‌ها و افزایش نفوذپذیری همراه است. این مسئله با خروج و نشت یون‌ها و سایر محتویات سلولی همراه بوده که درنهایت منجر به مرگ سلول خواهد شد (۹). گیاه برزا با نام علمی *Johernia aromatica* و نام فارسی جعفری کوهی از خانواده‌ی چتریان می‌باشد. *برزا* گیاهی پایا، علفی، سبز متمایل به زرد، بن گیاه پوشیده از برگ‌های خشک بوده و دارای ریشه‌ای با انشعابات طویل فیبری است. پراکندگی جغرافیایی این گونه در آناتولی، ایران، ترکمنستان، افغانستان، قفقاز و عراق است. در ایران، در شمال، شمال‌غرب، مرکز، شرق و شمال‌شرق پراکنده است. به‌عنوان یک سبزی معطر در رژیم غذایی، عامل خلط‌آور، ضداسپاسم، افزایش‌دهنده‌ی شیر، ضدعفونی کننده، ضدنفخ و نیز به‌عنوان افزودنی در صنایع نوشیدنی استفاده می‌شود (**شکل ۱**)(۱۰). در سال‌های اخیر مطالعات بسیاری در مورد خواص ضدمیکروبی اسانس گیاهان مختلف بر روی بعضی از باکتری‌های بیماری‌زا ازجمله باکتری‌های استافیلوکوکوس‌اورئوس، اشرشیاکلی، صورت گرفته است؛ برای نمونه طولابی و همکاران اثرات ضدباکتریایی عصاره‌ی میوه‌ی *کنار* روی باکتری غذازاد اشرشیاکلی را مورد بررسی قرار دادند، بر اساس نتایج، عصاره‌ی متانولی *کنار*، دارای تأثیرات ضدباکتریایی بسیار مطلوبی بر علیه باکتری اشرشیاکلی نشان داد (۱۱). زمانی‌فر و همکاران، با بررسی اثر ضدمیکروبی گیاهان دارویی *اسپند* و *استوقدوس* علیه میکروارگانیسم بیماری‌زای استافیلوکوکوس‌اورئوس در شرایط آزمایشگاهی، قطر هاله، عدم رشد حاصل از تأثیر عصاره‌ی متانولی اسپند بر روی باکتری مورد بررسی را ۳۴/۳۳ میلی‌متر گزارش نمودند (۱۲). مطالعه‌ی انزابی و جوادی اثرات ضدمیکروبی عصاره‌ی متانولی *پیازقرمز*[1] به روش تعیین MIC[2] و MBC[3] را بر روی سویه‌های استاندارد تعدادی از باکتری‌های مهم به لحاظ بهداشت بررسی نمودند، نتایج نشان داد که بیش‌ترین اثر ممانعت از رشد بر روی کلستریدیوم‌پرفرینجنس و یرسینیاانتروکولیتیکا با MIC معادل ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و کم‌ترین اثر هم بر روی استافیلوکوکوس‌ارئوس MIC معادل ۵۰۰ میکروگرم بر

[1] *Allium cepa L.*
[2] Minimum Inhibitory Concentration
[3] Minimum Lethal Concentration

میلی‌لیتر است (۱۳). کرامتی‌جبه‌دار و همکاران، به بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌ی تفاله‌ی انگور، پوست پسته، و تفاله‌ی انار علیه کلستریدیوم‌پرفرنجنس (*C. Perfringens*) در حضور یا عدم وجود نشاسته مقاوم[1] به‌عنوان یک پری‌بیوتیک پرداختند، یافته‌ها نشان داد که ۱۰۰ پی‌پی‌ام عصاره‌ی پوست پسته می‌تواند به‌عنوان یک عامل بازدارنده در برابر رشد عمل کند. هم‌چنین بر اساس نتایج، عصاره‌ی تفاله انگور، با و بدون RS، به‌طور موثری از *C. Perfringens* جلوگیری می‌کند (۱۴). احمدی و همکاران، به بررسی خاصیت ضدمیکروبی اسانس الئورزین‌بنه بر استافیلوکوکوس‌اورئوس، اشرشیاکلی و کلویوروماییسس‌مارکسیانوس و اثر آن بر ماندگاری دوغ ایرانی پرداختند، نتایج نشان داد که بیش‌ترین (۴۳/۷۸ میلی‌متر) و کم‌ترین (۲۲ میلی‌متر) قطر هاله‌ی عدم رشد ناشی از اسانس به‌ترتیب در برابر کلویوروماییسس‌مارکسیانوس و استافیلوکوکوس‌اورئوس به‌دست آمد (۱۵). از آن‌جایی‌که مصرف‌کنندگان به ایمنی موادغذایی با نگهدارنده‌ی سنتزی اطمینان نداشته از موادغذایی طبیعی با قابلیت استفاده، به‌عنوان نگهدارنده در موادغذایی مصرف می‌کنند. لذا به‌دلیل این‌که مطالعه روی اثرات ضدمیکروبی این گیاه اندک است، هدف از مطالعه‌ی حاضر بررسی اثرات ضدمیکروبی عصاره‌ی اتانولی *گیاه برزا* بر میکروارگانیسم‌های استافیلوکوکوس‌اورئوس، اشرشیاکلی، کلستریدیوم‌پرفرینجنس و مخمر کلویوروماییسس‌مارکسیانوس است.

شکل ۱. گیاه برزا (*Joherni aromatica*)

روش‌کار

عصاره‌گیری

در این تحقیق برگ‌ها و ساقه‌ی تازه‌ی *گیاه برزا* در نیمه‌ی دوم فروردین ۱۳۹۹ از ارتفاعات کوه‌های دالاهو در استان کرمانشاه به مقدار ۶ کیلوگرم جمع‌آوری شد. پس از شناسایی گونه (بعد از تأیید اسم علمی گیاه توسط اداره کل منابع طبیعی کرمانشاه)، سرشاخه‌های برگ و ساقه‌ی *گیاه برزا* برای تهیه‌ی عصاره، مورد استفاده قرار گرفت. برای تهیه‌ی عصاره‌ها ابتدا برگ و ساقه‌های *گیاه برزا* با آب‌مقطر به‌صورت سطحی شستشو و سپس به‌مدت ۳ روز در سایه خشک گردیدند. پس از خشک‌شدن، هر یک از گیاهان به‌صورت تفکیک‌شده در هاون چینی خرد و از پودر حاصله برای انجام مراحل بعدی آزمایش استفاده گردید. جهت تهیه عصاره‌ی اتانولی از روش ماسراسیون استفاده شد. عصاره‌های تهیه‌شده به‌وسیله ماسراسیون، جهت خشک و بخارشدن حلال آن به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد در آون قرار داده شدند. عصاره‌های خشک‌شده جهت جلوگیری از آلودگی میکروبی در ظروف شیشه‌ای استریل جمع‌آوری و تا مراحل بعدی در دمای یخچال نگهداری شدند (**شکل ۲**) (۱۶).

شکل ۲. تهیه‌ی عصاره‌ی گیاه برزا (*Joherni aromatica*)

آماده‌سازی سویه‌های باکتری

در این پژوهش جهت بررسی اثرات ضدمیکروبی عصاره‌ی اتانولی گیاه برزا بر میکروارگانیسم‌های استافیلوکوکوس‌اورئوس، اشرشیاکلی، کلستریدیوم‌پرفرینجنس و مخمر کلویوروماییسس‌مارکسیانوس مورد مطالعه قرار گرفت. جهت

[1] Resistant Starch (RS)

بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌ی *گیاه برزا* سویه‌های بیماری‌زای میکروبی از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران تهیه گردید. پس از انتقال میکروارگانیسم‌ها به‌صورت لیوفیلیزه شده به آزمایشگاه، عصاره‌ی خشک‌شده *گیاه برزا* قبل از انجام مراحل بعدی با استفاده از اشعه فرابنفش استریل گردید. جهت تایید عمل استریل‌شدن عصاره توسط اشعه‌ی فرابنفش، عصاره‌ی اشعه‌دیده به‌صورت سطحی بر سطح محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و عدم رشد هیچ کلنی میکروبی، استریل‌بودن عصاره‌ی الکی *گیاه برزا* تایید شد (۱۷).

تهیه‌ی سوسپانسیون نیم مک‌فارلند

برای تهیه‌ی سوسپانسیون ابتدا سویه‌های میکروبی اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس‌اورئوس روی محیط کشت مولر هینتون آگار و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت کشت داده شد (۱۸). برای سوش باکتریایی کلستریدیوم‌پرفرنجنس بدین‌صورت انجام گردید که در ابتدا آمپول حاوی کلستریدیوم‌پرفرنجنس ((ATCC 13124) ۱۷۶۵) از مرکز منطقه‌ای کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران[1] با احتیاط کامل در زیر هود لامینار و در شرایط کاملا استریل شکسته شد. سپس با کمک سمپلر حدود نیم میلی‌لیتر از محیط کشت مایع استریل مناسب (رین‌فورست کلستریدیوم براث) به آن افزوده شد تا سوسپانسیون باکتری تشکیل شود. در نهایت سوسپانسیون به‌دست آمده باکتریایی، به محیط کشت رین‌فورست کلستریدیوم براث منتقل گردید و به جار بی‌هوازی همراه با گازپک مرطوب منتقل گردید. جار بی‌هوازی به‌همراه سویه‌ی مورد نظر در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت (۱۹). سویه‌ی مخمری کالیورومایسس‌مارکسیانوس روی محیط کشت مولرهینتون آگار کشت داده شده سپس در دمای ۲۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ ساعت انکوبه‌گذاری شد (۲۰).

در نهایت سوسپانسیون میکروبی برابر با کدورت نیم مک‌فارلند معادل ($۱/۵\times۱۰^{۸}$ CFU/ml) از تمام سویه‌ها تهیه گردید.

روش انتشار از دیسک جهت تعیین اثرات ضدباکتریایی

در این پژوهش جهت بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره‌ی اتانولی *گیاه برزا* از روش انتشار دیسک و انتشار چاهک و برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC و MFC[2]) از روش رقت لوله‌ای استفاده گردید. جهت انجام روش انتشار دیسک، ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی سویه‌های اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس‌اورئوس روی سطح محیط کشت مولرهینتون آگار تهیه شده از قبل، کشت داده شد. غلظت‌های ۱۸/۷۵، ۳۷/۵، ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. به تعداد سویه‌های مورد مطالعه دیسک ۶ میلی‌متری تهیه شده و در داخل رقت‌های مختلف عصاره‌ی اتانولی با فواصل معینی در سطح محیط کشت قرار داده شدند. سپس پلیت‌های تلقیح‌شده به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت تا حلال آن بخار و دیسک‌ها خشک شود. محیط کشت‌ها به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد برای سویه‌ی مخمری کالیورومایسس‌مارکسیانوس روی محیط کشت مولرهینتون آگار و به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد برای سویه‌ی کلستریدیوم‌پرفرنجنس در جار بی‌هوازی قطر هاله‌ها قرائت گردید (۲۰).

روش انتشار از چاهک جهت تعیین اثرات ضدباکتریایی

در روش انتشار چاهک، ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر عصاره‌ی اتانولی *گیاه برزا* با غلظت‌های ۱۸/۷۵، ۳۷/۵، ۷۵ و ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌صورت جداگانه به درون چاهک‌ها ریخته شد. به تعداد سویه‌های موردمطالعه چاهک‌هایی به عمق ۶ میلی‌متر با کمک انتهای میله ال‌شکل روی سطح محیط کشت مولرهینتون آگار ایجاد گردید. در انتها پتری‌دیش‌ها حاوی سویه‌های اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس‌اورئوس به‌مدت ۲۴ ساعت در گرم‌خانه با دمای ۳۷ درجه قرار داده شدند. سویه‌ی مخمری کالیورومایسس‌مارکسیانوس در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ ساعت انکوبه‌گذاری شد. هم‌چنین پلیت‌های مربوط به سویه‌ی کلستریدیوم‌پرفرنجنس در جار بی‌هوازی قرار گرفت و به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. درنهایت و قطر هاله‌ی عدم رشد در اطراف چاهک‌ها با کمک خط‌کش بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد (۲۱). تمام آزمایش‌ها سه بار تکرار شد.

تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی از رشد و کشندگی

برای عصاره‌ی حاصل از *گیاه برزا* که دارای اثر ضدمیکروبی بودند، مقدار MIC و MBC تعیین شد. تعیین غلظت کشندگی (MBC و MFC) با استفاده از یک سری لوله‌ی

[1] Persian Type Culture Collection (PTCC)

[2] Minimum Fungicidal Concentration (MFC)

آزمایش ۱۵تایی استریل روش رقت لوله‌ای انجام گردید. برای هر سویه ۱۳ لوله برای آزمایش رقت‌های مختلف عصاره‌ی اتانولی *گیاه برزا*، دو لوله هم به‌عنوان کنترل به‌کار رفت. پس از کشت، لوله‌های آزمایش حاوی سویه‌های اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس‌اورئوس به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، سویه‌ی مخمری به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و سویه‌ی کلستردیوم‌پرفریجنس به‌مدت ۴۸ ساعت شرایط بی‌هوازی در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری شدند. از تمام لوله‌های که هیچ رشدی در آن‌ها مشاهده نشده بود نمونه‌برداری و جهت تعیین MBC و MFC کشت داده شدند. لوله‌ای که حاوی کمترین غلظت عصاره بود و در پلیت مربوط به آن هیچ رشدی مشاهده نشده بود به‌عنوان MBC و MFC در نظر گرفته شد (۲۲).

تحلیل آماری

برای تجزیه ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره‌ی اتانولی *گیاه برزا*، از دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی (مدل Agilent Technologies 7890 A، آمریکا) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنجی جرمی (Agilent Technologies 5975 C، آمریکا) استفاده گردید. در این روش میزان ۰/۱ میکرولیتر از عصاره‌ی اتانولی *گیاه برزا* به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق شد تا نوع و طیف ترکیبات تشکیل‌دهنده‌ی آن مشخص گردد. در این پژوهش، طرح کاملاً تصادفی با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) در سطح ۵ درصد انجام شد. مقایسه‌ی میانگین داده‌ها بر اساس آزمون دانکن با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ انجام پذیرفت. هم‌چنین قسمتی از این آزمایش با استفاده از روش پروبیت نرم‌افزار مینی‌تب نسخه‌ی ۲۱ مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

نتایج تجزیه‌وتحلیل داده‌های آزمایشگاهی به‌روش پروبیت نشان داد که مقدار P برای هر دو آنالیز جدول بر اساس میزان احتمال کای‌اسکور معنی‌دار نمی‌باشد و روش آزمون میزان کارایی و برازش چنین روشی را برای تحلیل این نتایج مناسب نشان می‌دهد (**جدول ۱**). عرض از مبدا و شیب در سطح ۵ درصد معنی‌دار جهت تعیین MIC، MBC و MFC بود (**جدول ۲**). نتایج حاصل از اندازه‌گیری میانگین قطر هاله‌های عدم رشد حاصل از تأثیر غلظت‌های ۱۸/۷۵ تا ۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نشان داد که عصاره‌ی اتانولی *گیاه برزا* دارای فعالیت ضدمیکروبی بر روی این میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. به‌گونه‌ای که با افزایش میزان غلظت‌های عصاره مهار رشد نیز افزایش می‌یافت. عصاره‌ی اتانولی *گیاه برزا* تاثیر قابل‌توجهی بر میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه داشت، به‌طوری که این تاثیرات بر میکروارگانیسم‌های کلویورومایسس‌مارکسیانوس و اشریشیاکلی کمتر از کلستریدیوم‌پرفرینجنس و استافیلوکوکوس‌اورئوس بودند. مطابق نتایج با افزایش غلظت عصاره‌ی اتانولی *گیاه برزا* اثر ضدمیکروبی نیز تشدید یافت به‌گونه‌ای که در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر قطر هاله‌ی عدم رشد در تمامی میکروارگانیسم‌ها بیشتر از سایر غلظت‌ها بود. نتایج حاصل از سه بار تکرار آزمایش انتشار از چاهک برای عصاره‌ی اتانولی گیاه مورد مطالعه نشان داد که در بالاترین میزان غلظت (۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، مقاوم‌ترین میکروارگانیسم مربوط به مخمر کلویورومایسس‌مارکسیانوس بود. هم‌چنین، باکتری گرم مثبت کلستریدیوم‌پرفرینجنس با قطر هاله‌ی ۶/۵۰ میلی‌متر حساس‌ترین میکروارگانیسم در غلظت ۱۸/۷۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. مقایسه‌ی آماری نتایج نشان داد که میان غلظت‌های ۱۸/۷۵ و ۳۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، میان تمامی میکروارگانیسم‌ها هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد مشاهده نشد (**جداول ۳ و ۴**). بر اساس نتایج حداقل میزان مهارکنندگی عصاره‌ی اتانولی *گیاه برزا* برای باکتری گرم‌مثبت کلستردیوم‌پرفریجنس در حدود ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. این مقدار برای سایر میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه به‌ترتیب برابر با ۴، ۴ و ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. هم‌چنین نتایج نشان داد که حداقل غلظت کشندگی برای تمام سویه‌های مورد استفاده در این پژوهش به‌جز سویه‌ی مخمری کلویورومایسس‌مارکسیانوس برابر با ۱۰۲۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود (**جدول ۵**). بر اساس **جدول ۶**، بهترین غلظت عصاره‌ی اتانولی *گیاه برزا* برای MIC و MFC باکتری *استافیلوکوکوس‌اورئوس* به‌ترتیب ۸/۸۶۷ و ۸۲۰/۹۱۸ به‌دست آمد. هم‌چنین نتایج حاصل از شناسایی ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره‌ی اتانولی *گیاه برزا* مورد استفاده در این پژوهش نشان داد که عمده‌ترین ترکیب موجود در عصاره‌ی مورد مطالعه در این تحقیق بتا پینن به‌میزان ۳۴/۶۰ درصد بود (**شکل ۳ و جدول ۷**).

جدول ۱. آزمون میزان کارایی و برازش مدل (Goodness-of-Fit Tests)

منابع میکروبی	آنالیزهای آماری	مقدار	درجه آزادی	نسبت مقدار به درجه آزادی	مقدار معیار P
C.perfringens	Pearson Chi-Square	۳/۴۸۳	۱۱	۰/۳۱۷	۰/۹۸۳
	L.R. Chi-Square	۳/۸۹۷	۱۱	۰/۳۵۴	۰/۹۷۳
S. aureus	Pearson Chi-Square	۳/۴۵۴	۱۱	۰/۳۱۴	۰/۹۸۳
	L.R. Chi-Square	۳/۸۶۸	۱۱	۰/۳۵۲	۰/۹۷۴
E. coli	Pearson Chi-Square	۳/۴۵۴	۱۱	۰/۳۱۴	۰/۹۸۳
	L.R. Chi-Square	۳/۸۶۸	۱۱	۰/۳۵۲	۰/۹۷۴
K. marxianus	Pearson Chi-Square	۳/۷۳۰	۱۱	۰/۳۳۹	۰/۹۷۷
	L.R. Chi-Square	۴/۰۸۷	۱۱	۰/۳۷۲	۰/۹۶۷

جدول ۲. آنالیز برآورد پارامتر بیش‌ترین احتمال

منابع میکروبی	پارامتر	برآورد(تخمین)	درجه آزادی	خطای استاندارد	مقدار معیار P
C.perfringens	عرض از مبدا	-۲/۹۴۷	۱	۰/۵۰۲	۰/۰۰۳
	شیب	۱/۰۱۹۷	۱	۰/۱۵۲	۰/۰۰۱
S. aureus	عرض از مبدا	-۲/۲۱۵	۱	۰/۴۲۰	۰/۰۰۸
	شیب	۱/۰۱۵	۱	۰/۱۵۳	۰/۰۰۱
E. coli	عرض از مبدا	-۲/۲۱۵	۱	۰/۴۲۰	۰/۰۰۸
	شیب	۱/۰۱۵	۱	۰/۱۵۳	۰/۰۰۱
K. marxianus	عرض از مبدا	-۱/۴۵۴	۱	۰/۳۴۹	۰/۰۳۸
	شیب	۰/۹۹۳	۱	۰/۱۵۴	۰/۰۰۱

جدول ۳. میانگین قطر هاله‌ی عدم رشد میکروبی (دیسک دیفیوژن) عصاره‌ی اتانولی گیاه برزا بر باکتری‌های بیماری‌زا برحسب میلی‌متر

غلظت (میلی‌گرم‌برمیلی‌لیتر)					
نوع میکروارگانیسم	۱۸/۷۵	۳۷	۷۵	۱۵۰	۳۰۰
E. coli	۶/۳۰±۰/۴۲^{Ba}	۶/۵۰±۰/۳۰^{Bab}	۷/۲۰±۰/۵۲^{BCb}	۷/۵۰±۰/۵۰^{BC}	۸/۰۰±۰/۴۰ ^{ABc}
S.aureus	۷/۱۰±۰/۱۷^{Aa}	۷/۴۰±۰/۴۲^{Aab}	۷/۷۰±۰/۲۶^{ABab}	۷/۹۰±۰/۳۰^{ABb}	۸/۲۰±۰/۴۳^{Abc}
C.perfringens	۷/۵۰±۰/۲۶^{Aa}	۷/۸۰±۰/۴۲^{Aab}	۸/۰۰±۰/۳۰^{Ab}	۸/۳۰±۰/۴۳^{Ab}	۸/۶۰±۰/۴۳^{Ac}
K.marxianus	۶/۵۰±۰/۱۷^{Ba}	۶/۷۰±۰/۳۶^{Ba}	۶/۹۰±۰/۳۶^{Bab}	۷/۳۰±۰/۳۶^{BC}	۸/۶۰±۰/۳۰^{Bc}

نتایج به‌صورت "انحراف‌معیار± میانگین" سه تکرار (n =۳) گزارش شده‌اند و از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Duncan برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها استفاده شده است.

حروف غیرمشابه کوچک در یک ردیف نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار در سطح معنی‌داری ۵ درصد میان غلظت‌های مختلف عصاره‌ی اتانولی *گیاه برزا* است ($p <$ ۰/۰۵).

حروف غیرمشابه بزرگ در یک ستون نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار در سطح معنی‌داری ۵ درصد میان باکتری‌های مختلف است (حروف استفاده‌شده در جداول برای تمام گروه‌های مورد مطالعه به‌کار رفته است) ($p <$ ۰/۰۵).

جدول ۴. میانگین قطر هاله‌ی عدم رشد میکروبی (چاهک آگار) عصاره‌ی اتانولی گیاه برزا بر باکتری‌های بیماری‌زا برحسب میلی‌متر

نوع میکروارگانیسم	غلظت (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)				
	۱۸/۷۵	۳۷	۷۵	۱۵۰	۳۰۰
E. coli	۶/۱۰±۰/۱۷^{Aa}	۶/۲۰±۰/۲۶^{Aab}	۶/۵۰±۰/۴۳^{Abab}	۶/۹۰±۰/۳۶^{Ab}	۷/۱۰±۰/۵۵ ^{Ac}
S.aureus	۶/۳۰±۰/۳۰ ^{Aa}	۶/۶۰±۰/۵۵^{Aab}	۶/۷۳±۰/۳۲^{Abab}	۷/۰۰±۰/۷۲^{Ab}	۷/۴۰±۰/۴۵^{Ac}
C.perfringens	۶/۵۰±۰/۳۶^{Aa}	۶/۷۰±۰/۳۰^{Aab}	۷/۰۰±۰/۳۰ ^{Ab}	۷/۳۰±۰/۴۳^{Abc}	۷/۶۰±۰/۴۳^{Ac}
K.marxianus	۶/۰۰±۰/۰۰ ^{Aa}	۶/۱۰±۰/۱۰ ^{Aa}	۶/۳۰±۰/۳۰ ^{Bab}	۶/۵۰±۰/۲۰ ^{Ab}	۷/۰۰±۰/۳۰ ^{Ac}

نتایج به‌صورت "انحراف‌معیار± میانگین" سه تکرار (n =۳) گزارش شده‌اند و از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Duncan برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها استفاده شده است.

حروف غیرمشابه کوچک در یک ردیف نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار در سطح معنی‌داری ۵ درصد میان غلظت‌های مختلف عصاره‌ی اتانولی *گیاه برزا* است (p <۰/۰۵).

حروف غیرمشابه بزرگ در یک ستون نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار در سطح معنی‌داری ۵ درصد میان باکتری‌های مختلف است (p <۰/۰۵).

جدول ۵. تعیین میزان MIC و MBC برای میکروارگانیسم‌های مختلف در حضور عصاره‌ی اتانولی *گیاه برزا* (نتایج سه تکرار می‌باشد)

لوله	غلظت	حداقل غلظت ممانعت‌کننده (MIC)				حداقل غلظت کشنده (MBC or MFC)			
	(میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	C.perfringens	S.aureus	E. coli	K.marxianus	C.perfringens	S.aureus	E. coli	K.marxianus
۱	۱۰۲۴	+	+	+	+	+	+	+	+
۲	۵۱۲	+	+	+	+	−	−	−	+
۳	۲۵۶	+	+	+	+	−	−	−	−
۴	۱۲۸	+	+	+	+	−	−	−	−
۵	۶۴	+	+	+	+	−	−	−	−
۶	۳۲	+	+	+	+	−	−	−	−
۷	۱۶	+	+	+	+	−	−	−	−
۸	۸	± *	+	+	+	−	−	−	−
۹	۴	± *	± *	± *	+	−	−	−	−
۱۰	۲	−	± *	± *	± *	−	−	−	−
۱۱	۱	−	−	−	± *	−	−	−	−
۱۲	۰/۵	−	−	−	−	−	−	−	−
۱۳	۰/۲۵	−	−	−	−	−	−	−	−
	کنترل میکروب		+				+		
	کنترل عصاره اتانولی		−				−		
	کنترل محیط کشت		−				−		

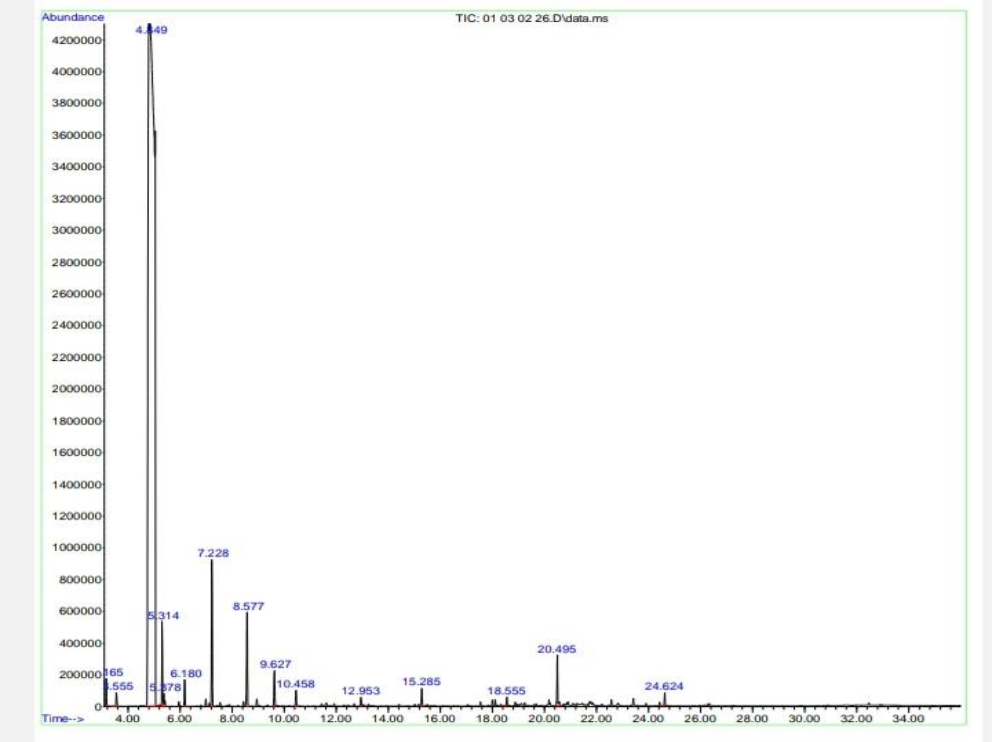
±* : نشان‌دهنده‌ی مشاهده‌ی ممانعت میکروبی در حد کمتر از ۵۰ درصد(یک تکرار از سه تکرار) می‌باشد.

جدول ۶. نتایج حاصل از روش آماری پروبیت جهت تعیین بهترین غلظت عصاره با روش رگرسیون در میکرو ارگانیسم‌های تحت بررسی برای تعیین MIC، MBC و MFC (برحسب میلی‌گرم بر میلی لیتر)

خط رگرسیون منابع میکروبی	عرض از مبدا	شیب	LC50 (log)	LC50(MIC)	LC100(log)	LC100(MFC)
C.perfringens	-۲/۹۴۷	۱/۰۱۹۷	۱/۲۵۵۳	۱۸/۰۰۱	۳/۲۱۲۵	۱۶۳۱/۱۷۳
S. aureus	-۲/۲۱۵	۱/۰۱۵	۰/۹۴۷۸	۸/۸۶۷	۲/۹۱۴۳	۸۲۰/۹۱۸
E. coli	-۲/۲۱۵	۱/۰۱۵	۰/۹۴۷۸	۸/۸۶۷	۲/۹۱۴۳	۸۲۰/۹۱۸
K. marxianus	-۱/۴۵۴	۰/۹۹۳	۰/۶۳۶۰	۴/۳۲۵	۲/۶۴۶۰	۴۴۲/۵۸۸

جدول ۷. ترکیبات تشکیل‌دهنده عصاره‌ی اتانولی *گیاه برزا*

ترکیبات تشکیل‌دهنده	شماره پیک	RT (min)	RI	مشخصات نمونه و میزان مواد متشکله بر حسب درصد از کل
α-Pinene	۱	۶/۱۷۷	۶۴۹	**۵/۷۰**
β-Pinene	۲	۷/۲۳۰	۸۷۰	**۳۴/۶۰**
beta-Phellandrene	۳	۸/۵۷۸	۱۱۵۳	**۲۴/۳۷**
Benzaldehyde	۴	۹/۶۲۵	۱۳۷۳	**۹/۴۰**
Undecane	۵	۱۰/۴۵۸	۱۵۴۸	**۴/۱۵**
2-Cyclohexen-1-one, 4-(1-methylethyl)-	۶	۱۲/۹۵۴	۲۰۷۲	**۲/۴۴**
Phellandral	۷	۱۵/۲۸۷	۲۵۶۲	**۴/۵۰**
Gymnomitrane	۸	۱۸/۵۵۴	۳۲۴۸	**۱/۸۷**
isolongifolene, 9,10-dehydro	۹	۲۰/۴۹۷	۳۶۵۶	**۹/۹۴**
Hexadecanoic acid	۱۰	۲۴/۶۲۵	۴۵۲۳	**۳/۰۳**
درصد کل ترکیبات شناسایی‌شده				**۱۰۰**



شکل ۳. کروماتوگرام عصاره‌ی الکی *گیاه برزا*

بحث

تأثیر گیاهان بر عوامل عفونی از دیرباز در مناطق مختلف جهان مورد توجه پژوهشگران و مردم عادی بوده است که اثر بسیاری از آن‌ها در آزمایش‌ها نیز تأیید شده است. مرگ‌ومیر فراوان ناشی از این عوامل، همواره بشر را بر آن داشته است تا به فکر راه‌های مقابله با میکرارگانیسم‌ها برآید. ترکیبات گیاهی به‌علت داشتن ترکیبات شیمیایی و اجزا فعال بیولوژیک طبیعی ازجمله خاصیت ضدباکتریایی، ضدانگلی، ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی برای درمان بیماری‌های عفونی و غیرعفونی می‌توانند مورد

استفاده قرار گیرند (۲۳و۲۴). در راستای بررسی اثرات ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی، اثرات ضدمیکروبی اسانس برزا، بر روی چهار میکروارگانیسم مختلف به‌ویژه باکتری استافیلوکوکوس‌ارئوس که هم ایجادکننده‌ی مسمومیت‌های غذایی و هم یکی از باکتری‌های مهم در ایجاد عفونت‌ها است، مورد مطالعه قرار گرفت. به این ترتیب که عصاره‌ی اتانولی *گیاه برزا* در غلظت‌های زیاد بر رشد میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه اثر مهارکنندگی و کشندگی داشت که نشان‌دهنده‌ی اثر باکتریال قوی این اسانس بر روی آن‌هاست. میانگین قطر هاله‌ی عدم رشد مربوط به عصاره‌ها (جدول ۱ و ۲) نشان می‌دهد که اغلب هر چه غلظت عصاره افزایش یابد قطر هاله‌ی عدم رشد نیز افزایش می‌یابد. به‌طوری که بیش‌ترین قطر در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمده و کمترین میزان آن در غلظت ۱۷/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر حاصل شد. محققانی نظیر جامه‌دار و همکاران (۲۵)، گلشنی و همکاران (۲۶) و روحی و همکاران (۲۴) چنین نتیجه‌ای را در اسانس‌های دیگر گزارش نمودند. بر اساس مطالعه‌ی سیمانگا و همکاران (۲۷)، در صورتی که قطر هاله‌ی عدم رشد بیشتر یا برابر با ۱۵ میلی‌متر باشد فعالیت بسیار، قطر هاله‌ی عدم رشد بین ۱۰-۱۵ میلی‌متر نشان‌دهنده‌ی فعالیت متوسط و قطر هاله‌ی عدم رشد کمتر از ۱۰ میلی‌متر نشان‌دهنده‌ی غیرفعال بودن عصاره است که حداقل عصاره‌ی اتانولی مورد مطالعه بر علیه کلستردیوم‌پرفریجنس از بسیار فعال تا متوسط ارزیابی شد بود. عوامل متعددی ازجمله میزان اسانس گیاه، روش عصاره‌گیری و نوع حلال مورداستفاده، نوع محیط کشت و مواد موجود در آن و غلظت عصاره در اثرات ضدمیکروبی یک گیاه موثر هستند (۲۸ و ۲۹). سینگ و همکاران (۲۸)، اثرات آنتی‌باکتریال آویشن و میخک را بر علیه باکتری لیستریا نشان دادند در حالی‌که در مطالعه‌ی جلالی و همکاران (۳۰) عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه آویشن هیچ اثری بر ضد لیستریا نشان نداد. همان‌گونه که نتایج نشان داد به‌نظر می‌رسد حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به عصاره‌ی اتانولی *گیاه برزا* مربوط به تفاوت در ساختار دیواره‌ی سلولی باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی می‌باشد. باکتری‌های گرم مثبت در دیواره‌ی سلولی خود دارای ترکیب موکوپپتیدی به نام مورن بوده، در حالی‌که باکتری‌های گرم منفی تنها لایه‌ی نازکی از موکوپپتیدمورن دارند و قسمت اعظمی از ساختار دیواره در آن‌ها لیپوپروتئین و لیپوپلی‌ساکارید است. در نتیجه مقاومت بیشتر باکتری‌های گرم منفی را می‌توان به حضور غشاء فسفولیپیدی خارجی که تقریباً نسبت به ترکیبات چربی‌دوست غیرقابل نفوذ بوده، نسبت داد (۳۱) که با برخی تحقیقات انجام‌شده مطابقت دارد. این نتایج با مطالعه‌ی صرافی و همکاران (۳۲) که اثر ضدباکتری عصاره‌های برگ جعفری کوهی انبوه علیه استافیلوکوکوس‌اورئوس و اشرشیاکلی و تفکیک جزءهای مؤثر را مورد بررسی قرار دادند، و بیان نمودند که عصاره‌های برگ گیاه جعفری روی میکروارگانیسم گرم مثبت تاثیر بیشتری نسبت به باکتری گرم منفی دارد مطابقت داشت. هم‌چنین نتایج مشابهی در تحقیقات جوکی و همکاران (۳۳) که خواص ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی پونه‌ی کوهی، سورشجانی و همکاران (۳۴) که اثرات ضدمیکروبی (کرفس کوهی) را در باکتری‌های منتقل‌شده از مواد غذایی و فساد مواد غذایی، طباطبایی یزدی و همکاران (۳۵) که اثر عصاره‌های الکلی و آبی گیاه کندل کوهی (بیلهر) بر برخی باکتری‌های بیماری‌زا و پیرنیا و همکاران (۳۱) که تاثیر ضدباکتریایی عصاره‌های آبی و اتانولی میوه‌ی درخت سپستان بر استافیلوکوکوس‌اورئوس، باسیلوس‌سرئوس، اشرشیاکلی و سالمونلاتیفی را بررسی نمودند به‌دست آمد. هم‌چنین در این پژوهش میزان حداقل غلظت بازدارنده‌ی رشد کلستردیوم‌پرفریجنس توسط عصاره‌ی اتانولی *گیاه برزا* برابر (MIC = ۸ mg/ml) به‌دست آمد. میزان غلظت کشنده عصاره‌ی مورد مطالعه بر روی این باکتری بیشتر از MIC آن گردید و برابر با (MBC = ۱۰۲۴ mg/ml) بود. نتایج حاصل از پژوهش صرافی و همکاران (۳۲)، نشان داد که عصاره‌ی اتیل‌استات در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر علیه باکتری استافیلوکوکوس‌اورئوس و در غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر علیه باکتری اشرشیاکلی خاصیت ضدمیکروبی داشت. با مقایسه‌ی مقدار MBC عصاره‌ی اتانولی این گیاه بر روی باکتری کلستردیوم‌پرفریجنس و مقدار MBC میکروارگانیسم‌های اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس‌اورئوس مطالعه‌ی حاضر مشخص شد که میزان MBC عصاره‌ی اتانولی میکروارگانیسم‌های مزبور برابر است. وردیان‌ریزی، در مطالعه‌ای میزان حداقل بازدارندگی جعفری کوهی علیه قارچ‌های کاندیداآلبیکانس و ساکارومایسس‌سرویزیه را برابر با ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بیان نمودند (۳۶). تا کنون مطالعه‌ای درباره‌ی *گیاه برزا* انجام نشده است، اما مطالعات متعددی در رابطه با خانواده‌ی گیاه جعفری کوهی انجام پذیرفته است که در تمامی آن‌ها تنها ترکیبات موجود در اسانس این گیاهان بررسی شده است. با توجه به مطالعات انجام شده، ترکیبات اصلی موجود در اسانس این گیاهان بسته به محل رویش آن

متفاوت است. بررسی اثرات ضدباکتریایی ترکیبات تشکیل‌دهنده گیاهان دارویی ازجمله اسانس‌ها و به‌کارگیری هرچه بیش‌تر این مواد به‌عنوان نگهدارنده‌ی طبیعی می‌تواند بسیار مؤثر واقع‌شده و از سوی دیگر با کاهش اثرات ناشی از مواد شیمیایی همراه بوده و خواص ضدباکتریایی بسیار بالایی داشته باشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصله از این پژوهش می‌توان بیان نمود که عصاره‌ی اتانولی *گیاه برزا* در محیط آزمایشگاهی فعالیت ضدمیکروبی قابل‌توجهی روی سویه‌های مورد پژوهش داشته است. در ادامه لازم است که مطالعات بیش‌تری درباره‌ی این گیاه انجام گیرد تا بتوان آن‌را به‌عنوان یک ماده‌ی ضدمیکروبی طبیعی و جدید معرفی نمود. همین‌طور با شناسایی ترکیبات خالص و مؤثر موجود در این گیاه، می‌توان برای تهیه و تولید مواد ضدمیکروبی مناسب علیه بعضی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی به‌ویژه باکتری‌های موردپژوهش گام برداشت. گرچه مطالعات سازمان‌یافته و منتشرشده دقیقی در مورد اثرات ضدمیکروبی *گیاه برزا* بر میکروارگانیسم‌های پاتوژن غذازاد در دسترس نیست، با این‌حال، براساس نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان نتیجه‌گیری کرد که عصاره‌های متانولی ناشی از این گیاه، خواص ضدباکتریایی قابل‌توجهی دارند که می‌توان بر همین اساس به‌وسیله‌ی فرآوری آن در جهت استفاده‌ی این گیاه به‌عنوان نگهدارنده در بعضی فرآورده‌های غذایی حرکت کرد.

تشکر و قدردانی: این مقاله حاصل پایان‌نامه با عنوان «بررسی اثرات ضدمیکروبی عصاره‌ی اتانولی *گیاه برزا* بر میکروارگانیسم‌های استافیلوکوکوس‌اورئوس، اشرشیاکلی، کلستریدیوم‌پرفرینجنس و مخمر کلویورومایسس‌مارکسیانوس» به شماره‌ی ۱۶۲۲۴۹۸۹۵ در مقطع کارشناسی‌ارشد است که بدینوسیله از تمام افرادی که ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض منافع: پژوهش حاضر دارای تعارض منافع نمی‌باشد.

حمایت مالی: این پژوهش با حمایت دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج اجرا شده است .

ملاحظات اخلاقی: نویسندگان تمام نکات اخلاقی ازجمله عدم سرقت ادبی، تحریف داده‌ها و داده‌سازی و انتشار دوگانه را در مقاله موردنظر رعایت کرده‌اند. هم‌چنین هر گونه تضاد منافع حقیقی یا مادی که می‌تواند بر نتایج یا تفسیر مقاله تأثیر بگذارد را رد می‌کنند.

سهم نویسندگان: ۱- آرام سلیمی (نویسنده مسئول) ۲- فردین میراحمدی

References

1. Ebrahimi-Pure A, Daraei-Garmakhany A, Salami M. 2014. Antibacterial effects of pure, aqueous and ethanol extracts of Rasht purple garlic and its shell on eight food pathogens. 2nd national conference on optimization of production, distribution and consumption chain in the food industry. 18-19 February, Sari, Iran. 679-685.(Persian).

2. Lotfi Vanashi A, Ghamari F, Farahmand S, Jamshidi A. Study of Antimicrobial and Antioxidant Effects and Phytochemical Characteristics of Matricaria recutita L, Nigella sativa L., Fumaria parviflora Lam and Myrtus communis L. Extracts on Pathogenic Bacteria from Human Blood and Urine Cultures. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology 2023. 18(2): 49-39. (Persian).

3. Yadi R, Haghshenas Gatabi F, Dehghani N, Danesh Pazhouh H. Evaluation of the antibacterial effect of Danai thyme extract on Streptococcus salivarius, Yersinia enterocolitica and Shigella flexneri bacteria. Experimental Animal Biology 2024. 12(47): 82-73.(Persian).

4. Gülçin İ, Oktay M, Kıreçcr E, Küfrevıoğlu İ.Ö. Screening of antioxidant and antimicrobial activites of anise

(Pimpinella anisum L.) seed extracts. Food Chemistry 2003. 83(3): 382-371. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00098-0

5. Ginter, E, Simko V, Panakova V. Antioxidants in health and disease. Bratislavske lekarske listy 2014. 115(10): 603-6. https://doi.org/10.4149/BLL_2014_116

6. Kumaran A. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of Coleus aromaticus. Food chemistry 2006. 97(1): 109-14. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.03.032
7. Haghshenas M.R, Vahdat S.M. Investigation of antioxidant and antimicrobial properties of Centella asiatica L. extract in the northern region of the country. Iranian Medicinal Plants and Technology 2023. 5(2): 59-42.(Persian).
8. Alizadeh Behbahani B, Rahmati-Joneidabad M, Noshad M. Ethanolic Extract of Prosopis farcta Root: Determination of Total Phenols and Flavonoids, Radical Scavenging Ability and Its Antimicrobial Effect on Some Bacteria Causing Infection and Food Poisoning. Iranian Food Science and Technology Research Journal 2024. 20(1): 46-35.(Persian).
9. Hafezi1 B, Ghasemian O, Gharib Mombeni E. A Survey on the Antimicrobial Effects of Carboxymethylcellulose Coatings with Bay Leaf Extracts and Their Effects on Increasing Shelf life of Chicken Meats. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology 2024. 19(2): 71-59. (Persian). https://doi.org/10.61186/nsft.19.2.59
10. Katiraei P, Khanahmadi M, Shahdusti P. Study on Chemical Composition of The Essential Oil, Antioxidant Activities of Johernia aromatica. National Congress on Medicinal Plants 2015. 23(2): 65-42.
11. Toolabi A, Torbati Zare N, Kazemzadeh Y, Sarhadi H, Raisvand A, Bonyadi Z. Investigation of the Antibacterial Effects of Methanolic Extract of Kenar Fruit on Foodborne Pathogens. Iranian Journal of Research in Environmental Health. Winter 2022; 7(4): 373-380.(Persian).
12. Zamanifar P, Safari M. In Vitro Evaluation Of Anticrobial Effects Of Methanolic And Acetonic Extracts Of Peganumharmala And Lavandula Angustifolia Against Some Of Human Pathogenic Microorganisms. Studies in Medical Sciences 2022. 32(11): 876-864.(Persian). https://doi.org/10.52547/umj.32.11.864
13. Anzabi Y, Javadi A. Evaluation of antibacterial effects of Onions, methanol extracts and some antibiotics against the number of food born bacteria. Journal of Food Microbiology 2017. 3(4): 94-83.(Persian).
14. Karamati Jabehdar S, Mirzaei Aghjehgheshlagh M, Navidshad B, Mahdavi A ,Staji H, Hedayat Evrigh N. Minimum Inhibitory Concentrations of Phenolic Extracts and Resistant Starch for Clostr idium per fr ingens: In vitro Study. Iranian J ournal of Veterinary Medicine 2020. 15(1): 103-93.
15. Ahmadi S.M, Moslehishad M, Rahimi A. Evaluation of antimicrobial activity of oleoresin essential oil of Pistacia atlantica on Staphlicoccus aureus, Escherichia coli, Kluyveromyces matxianus, Penicillum natatum and its impact on Iranian dough shelf life. Journal of food science and industry 2019. 15(85): 124-113.(Persian).
16. Alizadeh Behbahani B, Tabatabai Yazdi F, Heydari Sureshjani M, Mortazavi S.A, Tabatabai Yazdi F. Investigating the antimicrobial effect of aqueous and ethanolic extracts of Marzah Bakhtiari (Satureja bachtiarica) on Gram-positive and Gram-negative bacteria in laboratory conditions. Infectious and tropical diseases of Iran 2014. 19(64): 13-19.
17. Pedram Nia A, Mortazavi A, Nemat Shahi M.M. Study of Chemical Compounds and The Antimicrobial Effects of Leaf Extract of Laurus nobilis L on Various Microbial Strains. Food Sci Technol 2014. 15(81): 217-26.
18. Daulatabadi S, Omrani Sh, Mehrafrouz E, Zhiyani R. Green netting of silver nanoparticles using Eucalyptus camaldolensis and investigating its antibacterial effects. Journal of Neyshabur Faculty of Medical Sciences 2018. 5(3): 74-85.
19. Soltan Dallal M.M, Faraje M, Mirahmadi F. Antibacterial effects of essence of Bene tree fruit on Clostridium

perfringens in laboratory environment and on meat product. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences 2019. 24(1): 112-121. https://doi.org/10.29252/sjku.24.1.112
20. Rouhani N. (2012). Investigating the antimicrobial and sensory properties of the essential oil of mountain kakuti and peppermint on the yeast Caliromyces marcianus in Iranian buttermilk. Master's thesis in food technology, Salemi Azad University, Ayatollah Amoli Science and Research Department.
21. Walter C, Shinwari Z.K, Afzal I, Malik R.N. Antibacterial activity in herbal products used in Pakistan. Pak J Bot 2011. 43: 155-62.
22. Singh, J. (2002). The biodiversity crisis: a multifaceted review. Current Science, 638-47.
23. Jafari-Sales A, Rasi-Bonab F, Sayyahi J. The survey on antimicrobial effects of methanolic extract of Carum copticum L. on Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa in laboratory conditions. Paramedical Sciences and Military Health 2019. 13(4): 19-25.
24. Rouhi S, Ramazanzadeh R, Mohammadi S, Abodollahi A, Shakib P, Mohammadi B, Ahmadi A. Antibacterial effects of Artemisa aucheri leaf and Spirulina Blue-Green algae aqueous and alcoholic extracts on the multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae isolated from the patients with pneumonia. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences 2020. 25(4): 124-39. https://doi.org/10.52547/sjku.25.4.124
25. Jamehdor S, Zarabi M, Mehrnejad F. In vitro Evaluation of antibacterial efficacy of aqueous extracts of Iranian Native Plants on the Standard Strains of Pseudomonas aeruginosa. Iranian Journal of Medical Microbiology 2014. 8(2): 51-4.
26. Golshani Z, D.V. In vitro study of antimicrobial effects of Rosmarinus officinalis leaf extract against some pathogens. Arak Medical University Journal 2013. 77(16): 82-9.
27. Cimanga K, Kambu K, Tona L, Apers S, De Bruyne T, Hermans N, Vlietinck A.J. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. Journal of ethnopharmacology 2002. 79(2): 213-20. https://doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00384-1
28. Singh A, Singh R, Bhunia A, Singh N. Efficacy of plant essential oils as antimicrobial agents against Listeria monocytogenes in hotdogs. LWT-Food Science and Technology 2003. 36(8): 787-94. https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00112-9
29. Rasodi I, Mirmostafa S. Bacterial susceptibility to and chemical composition of Thymus persiscu. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2003. 51(8): 2200-5. https://doi.org/10.1021/jf0261755
30. jalali M, Abedi D, ghasemi dehkordi N, charmahali A. Evaluation of antibacterial activity of ethanol extracts of some medicinal plants against Listeria monocytogenes. Journal of Shahrekord University of Medical Sciences 2006. 8(3): 25-33.
31. Pirnia M, Edalatian Dovom M.R, Tabatabaee Yazdi F, Shahidi F. The Antibacterial Effects of the Aqueous and Ethanolic Extracts of Cordiamyxa L. Fruit on Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Escherichia coli, and Salmonella typhi. Journal of Qom University of Medical Sciences 2015. 9(4): 39-48.
32. Sarrafi Y, Tavahodi H, Dehghan H. Investigation of Antibacterial Activity of Pimpinella affinis Leaves Against E. coli and S. aureus and Separation of Active Fractions. Journal of Medicinal Plants 2017. 16(64): 109-115.
33. Jouki M, Yazdi F.T, Mortazavi S.A, Koocheki A. (2014). Quince seed mucilage films incorporated with oregano essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. Food Hydrocolloids 2014. 36: 9-19. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.08.030

34. Sureshjani M.H, Yazdi F.T, Mortazavi S.A, Behbahani B.A, Shahidi F. Antimicrobial effects of Kelussia odoratissima extracts against food borne and food spoilage bacteria" in vitro". Archives of Advances in Biosciences 2014. 5(2): 43-22.
35. Tabatabaei Yazdi F, Alizadeh Behbahani B, Vasiee A.R, Mortazavi S.A, Tabatabaei Yazdi F. (2015). < An> investigation on the effect of alcoholic and aqueous extracts of Dorema aucheri [Bilhar] on some pathogenic bacteria in vitro.
36. Verdian-rizi M.R. Chemical composition and antimicrobial activity of Pimpinella affinis Ledeb. essential oil growing in Iran. International Journal of Green Pharmacy 2008. (IJGP), 2(3): 65-33. https://doi.org/10.4103/0973-8258.42728