

## 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.

### 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 of this 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. *Journal of Research in Environmental Health*. 10(3):25-38.

Received: 2024/03/24

Accepted: 2024/08/27

Doi:10.22038/jreh.2024.25293

## بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره‌ی اتانولی گیاه برزا ( *Johernia aromatica* ) بر میکروارگانیسم‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی، کلستریدیوم پرفرینجنس و مخمر کلویورومایسس مارکسیانوس

آرام سلیمی

\* صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، سنندج، ایران. (نویسنده مسئول) salimi\_aram97@yahoo.com

فریدین میراحمدی

صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، سنندج، ایران.

### چکیده

**زمینه و هدف:** استفاده از خواص ضد میکروبی گیاهان دارویی می‌تواند اثرات ضد میکروبی قابل ملاحظه‌ای داشته باشد. از این رو پژوهش کنونی با هدف بررسی اثرات ضد میکروبی 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 ضد میکروبی 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. تجزیه و تحلیل 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 ۱/۸، ۳/۷، ۷/۵ و ۱۵۰ بودند. حداقل میزان مهارکنندگی عصاره‌ی مورد مطالعه برای باکتری گرم مثبت کلستریدیوم پرفرینجنس در حدود ۸ میلی گرم بر میلی لیتر بود. هم‌چنین نتایج نشان داد که حداقل غلظت کشندگی برای تمام سویه‌های مورد استفاده در این پژوهش به جز سویه‌ی مخمری کلویورومایسس-مارکسیانوس برابر با ۱۰۲۴ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد.

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

**کلیدواژه‌ها:** عصاره‌ی اتانولی، اثرات ضد باکتریایی، گیاه برزا، گیاهان دارویی

◀ **استناد:** سلیمی آ، میراحمدی ف. بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره‌ی اتانولی گیاه برزا/ (*Johernia aromatica*) بر میکروارگانیسم‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی، کلستریدیوم پرفرینجنس و مخمر کلویورومایسس مارکسیانوس. فصلنامه‌ی پژوهش در بهداشت محیط. پاییز ۱۴۰۳؛ ۱۰(۳): ۲۵-۳۸.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۰۶

نوع مقاله: پژوهشی

## 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 این حال، امروزه به‌واسطه‌ی اثرات سوء داروهای سنتزی، استفاده از گیاهان و ترکیبات طبیعی موجود در آن‌ها به‌عنوان دارو، غذاهای فراسودمند و نیز به‌عنوان ترکیباتی ضد میکروبی با داشتن اثرات بازدارندگی و کشندگی بر عوامل بیماری‌زا در ایران و کشورهای اروپایی بیش‌تر مورد توجه 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 قلبی عروقی و سکت 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 سمی بودن و اثرات سوء تغذیه‌ای آنتی‌اکسیدان‌های ساختگی اضافه‌شده به مواد غذایی را نشان می‌دهد (۶). مطالعات نشان می‌دهد که گیاهان به‌عنوان منابع سرشار از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، اثرات ضد میکروبی 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 ضد میکروبی بالایی دارند (۸). با این حال، 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

از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدقارچی و ضدباکتریایی به‌طور قابل توجهی در محصولات غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۸). مکانیسم اثر ضد میکروبی 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 در نهایت 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، شمال غرب، مرکز، شرق و شمال شرق پراکنده است. به‌عنوان یک سبزی معطر در رژیم غذایی، عامل خلط‌آور، ضداسپاسم، افزایش‌دهنده‌ی شیر، ضد عفونی کننده، ضدنفخ و نیز به‌عنوان افزودنی در صنایع نوشیدنی استفاده می‌شود (شکل ۱) (۱۰). در سال‌های اخیر مطالعات بسیاری در مورد خواص ضد میکروبی اسانس گیاهان مختلف بر روی بعضی از باکتری‌های بیماری‌زا از جمله باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، 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 ضد میکروبی گیاهان دارویی / اسپند و / ستوقدوس علیه میکروارگانیسم بیماری‌زای استافیلوکوکوس اورئوس 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 انزایی و جوادلی اثرات ضد میکروبی عصاره‌ی متانولی پیازقرمز<sup>۱</sup> به روش تعیین MIC<sup>۲</sup> و MBC<sup>۳</sup> 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 کلستریدیوم پرفرینجنس و یرسینیانتروکولیتیکا با MIC معادل ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و کم‌ترین اثر هم بر روی استافیلوکوکوس اورئوس MIC معادل ۵۰۰ میکروگرم بر

<sup>3</sup> Minimum Lethal Concentration

<sup>1</sup> *Allium cepa L.*

<sup>2</sup> Minimum Inhibitory Concentration

کرمانشاه)، سرشاخه‌های برگ و ساقه‌ی گیاه برزا برای تهیه‌ی عصاره، مورد استفاده قرار گرفت. برای تهیه‌ی عصاره‌ها ابتدا برگ و ساقه‌های گیاه برزا با آب مقطر 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 آن 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 سوبه‌های باکتری

در این پژوهش جهت بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره‌ی اتانولی گیاه برزا بر میکروارگانیسم‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی، کلستریدیوم پرفرینجنس و مخمر کلویورومایسس مارکسیانوس مورد مطالعه قرار گرفت. جهت

میلی‌لیتر است (۱۳). کرامتی‌جبه‌دار و همکاران، به بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ی تفاله‌ی انگور، پوست پسته، و تفاله‌ی انار علیه کلستریدیوم پرفرینجنس (*C. Perfringens*) در حضور یا عدم وجود نشاسته مقاوم<sup>۱</sup> 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 ضد میکروبی اسانس ال‌تورزین‌بنه بر استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و کلویورومایسس مارکسیانوس 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 کلویورومایسس مارکسیانوس و استافیلوکوکوس اورئوس به‌دست آمد (۱۵). از آن‌جایی‌که مصرف‌کنندگان به ایمنی مواد غذایی با نگهدارنده‌ی سنتزی اطمینان نداشته از مواد غذایی طبیعی با قابلیت استفاده، به‌عنوان نگهدارنده در مواد غذایی مصرف می‌کنند. لذا به‌دلیل این‌که مطالعه روی اثرات ضد میکروبی این گیاه اندک است، هدف از مطالعه‌ی حاضر بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره‌ی اتانولی گیاه برزا بر میکروارگانیسم‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی، کلستریدیوم پرفرینجنس و مخمر کلویورومایسس مارکسیانوس است.



شکل ۱. گیاه برزا (*Joherni aromatica*)

### روش کار

#### 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

<sup>1</sup> Resistant Starch (RS)

(MBC و MFC)<sup>۲</sup> از روش رقت لوله‌ای استفاده گردید. جهت انجام روش انتشار دیسک، ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی سویه‌های اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس روی سطح محیط کشت مولر هینتون آگار تهیه شده از قبل، کشت داده شد. غلظت‌های ۱۸/۷۵، ۳۷/۵، ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر تهیه شد. به تعداد سویه‌های مورد مطالعه دیسک ۶ میلی متری تهیه شده و در داخل رقت‌های مختلف عصاره اتانولی با فواصل معینی در سطح محیط کشت قرار داده شدند. سپس پلیت‌های تلقیح شده به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت تا حلال آن بخار و دیسک‌ها خشک شود. محیط کشت‌ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی گراد برای سویه مخمری کالیورومایسس مارکسیانوس روی محیط کشت مولر هینتون آگار و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد برای سویه کلستریدیوم پرفرنجنس در جاربیه‌هوازی قطر هاله‌ها قرائت گردید (۲۰).

#### روش انتشار از چاهک جهت تعیین اثرات ضد باکتریایی

در روش انتشار چاهک، ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر عصاره اتانولی گیاه برز با غلظت‌های ۱۸/۷۵، ۳۷/۵، ۷۵ و ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر به صورت جداگانه به درون چاهک‌ها ریخته شد. به تعداد سویه‌های مورد مطالعه چاهک‌هایی به عمق ۶ میلی متر با کمک انتهای میله ال شکل روی سطح محیط کشت مولر هینتون آگار ایجاد گردید. در انتها پتری‌دیش‌ها حاوی سویه‌های اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس به مدت ۲۴ ساعت در گرم‌خانه با دمای ۳۷ درجه قرار داده شدند. سویه مخمری کالیورومایسس مارکسیانوس در دمای ۲۷ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت انکوبه‌گذاری شد. همچنین پلیت‌های مربوط به سویه کلستریدیوم پرفرنجنس در جاربیه‌هوازی قرار گرفت و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شد. در نهایت و قطر هاله‌ی عدم رشد در اطراف چاهک‌ها با کمک خط‌کش بر حسب میلی متر اندازه‌گیری شد (۲۱). تمام آزمایش‌ها سه بار تکرار شد.

#### تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی از رشد و کشندگی

برای عصاره حاصل از گیاه برز که دارای اثر ضد میکروبی بودند، مقدار MIC و MBC تعیین شد. تعیین غلظت کشندگی (MBC و MFC) با استفاده از یک سری لوله‌ی

بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره گیاه برز سویه‌های بیماری‌زای میکروبی از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران تهیه گردید. پس از انتقال میکروارگانیسم‌ها به صورت لیوفیلیزه شده به آزمایشگاه، عصاره خشک شده گیاه برز قبل از انجام مراحل بعدی با استفاده از اشعه فرابنفش استریل گردید. جهت تایید عمل استریل شدن عصاره توسط اشعه فرابنفش، عصاره اشعه‌دیده به صورت سطحی بر سطح محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و عدم رشد هیچ کلنی میکروبی، استریل بودن عصاره الکی گیاه برز تایید شد (۱۷).

#### تهیه سوسپانسیون نیم مک‌فارلند

برای تهیه سوسپانسیون ابتدا سویه‌های میکروبی اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس روی محیط کشت مولر هینتون آگار و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شد (۱۸). برای سوش باکتریایی کلستریدیوم پرفرنجنس بدین صورت انجام گردید که در ابتدا آمپول حاوی کلستریدیوم پرفرنجنس ((ATCC 13124) (۱۷۶۵) از مرکز منطقه‌ای کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران<sup>۱</sup> با احتیاط کامل در زیر هود لامینار و در شرایط کاملاً استریل شکسته شد. سپس با کمک سمپلر حدود نیم میلی لیتر از محیط کشت مایع استریل مناسب (رین‌فورست کلستریدیوم براث) به آن افزوده شد تا سوسپانسیون باکتری تشکیل شود. در نهایت سوسپانسیون به دست آمده باکتریایی، به محیط کشت رین‌فورست کلستریدیوم براث منتقل گردید و به جاربیه‌هوازی همراه با گازیک مرطوب منتقل گردید. جاربیه‌هوازی به همراه سویه مورد نظر در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت (۱۹). سویه مخمری کالیورومایسس مارکسیانوس روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شده سپس در دمای ۲۷ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت انکوبه‌گذاری شد (۲۰). در نهایت سوسپانسیون میکروبی برابر با کدورت نیم مک‌فارلند معادل  $1 \times 10^8$  CFU/ml از تمام سویه‌ها تهیه گردید.

#### روش انتشار از دیسک جهت تعیین اثرات ضد باکتریایی

در این پژوهش جهت بررسی اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی گیاه برز از روش انتشار دیسک و انتشار چاهک و برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی

<sup>۲</sup> Minimum Fungicidal Concentration (MFC)

<sup>۱</sup> Persian Type Culture Collection (PTCC)



آزمایش ۱۵ تایی 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 استفیلوکوکوس اورئوس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، سویه‌ی مخمری به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و سویه‌ی کلستریدیوم پرفریجنس به مدت 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 نسخه ۲۱ مورد بررسی قرار گرفت.

### یافته‌ها

نتایج تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایشگاهی به روش پروبیت نشان داد که مقدار P برای هر دو آنالیز جدول بر اساس میزان احتمال کای اسکور 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 ضد میکروبی بر روی این میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. به‌گونه‌ای

که با افزایش میزان غلظت‌های عصاره مهار رشد نیز افزایش می‌یافت. عصاره‌ی اتانولی گیاه برزا تأثیر قابل‌توجهی بر میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه داشت، به‌طوری که این تأثیرات بر میکروارگانیسم‌های کلویورومایسس مارکسیانوس و اشرشیاکلی کمتر از کلستریدیوم پرفریجنس و استفیلوکوکوس اورئوس بودند. مطابق نتایج با افزایش غلظت عصاره‌ی اتانولی گیاه برزا اثر ضد میکروبی 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 کلویورومایسس مارکسیانوس بود. هم‌چنین، باکتری گرم مثبت کلستریدیوم پرفریجنس 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 (جدول ۳ و ۴). بر اساس نتایج حداقل میزان مهارکنندگی عصاره‌ی اتانولی گیاه برزا برای باکتری گرم مثبت کلستریدیوم پرفریجنس در حدود ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. این مقدار برای سایر میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه به ترتیب برابر با ۴، ۲ و ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. هم‌چنین نتایج نشان داد که حداقل غلظت کشندگی برای تمام سویه‌های مورد استفاده در این پژوهش به جز سویه‌ی مخمری کلویورومایسس مارکسیانوس برابر با ۱۰۲۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود (جدول ۵). بر اساس جدول ۶، بهترین غلظت عصاره‌ی اتانولی گیاه برزا برای MIC و MFC باکتری استفیلوکوکوس اورئوس به ترتیب ۸/۸۶۷ و ۸۲۰/۹۱۸ به دست 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 به میزان 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 برزرا بر باکتری‌های بیماری‌زا برحسب میلی‌متر

| غلظت (میلی گرم بر میلی لیتر) |                           |                            |                             |                            |                            |
|------------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| نوع میکروارگانیسم            | ۱۸/۷۵                     | ۳۷                         | ۷۵                          | ۱۵۰                        | ۳۰۰                        |
| <i>E. coli</i>               | ۶/۳۰ ± ۰/۴۲ <sup>Ba</sup> | ۶/۵۰ ± ۰/۳۰ <sup>Bab</sup> | ۷/۲۰ ± ۰/۵۲ <sup>BCb</sup>  | ۷/۵۰ ± ۰/۵۰ <sup>BC</sup>  | ۸/۰۰ ± ۰/۴۰ <sup>ABc</sup> |
| <i>S.aureus</i>              | ۷/۱۰ ± ۰/۱۷ <sup>Aa</sup> | ۷/۴۰ ± ۰/۴۲ <sup>Aab</sup> | ۷/۷۰ ± ۰/۲۶ <sup>ABab</sup> | ۷/۹۰ ± ۰/۳۰ <sup>ABb</sup> | ۸/۲۰ ± ۰/۴۳ <sup>ABc</sup> |
| <i>C.perfringens</i>         | ۷/۵۰ ± ۰/۲۶ <sup>Aa</sup> | ۷/۸۰ ± ۰/۴۲ <sup>Aab</sup> | ۸/۰۰ ± ۰/۳۰ <sup>Ab</sup>   | ۸/۳۰ ± ۰/۴۳ <sup>Ab</sup>  | ۸/۶۰ ± ۰/۴۳ <sup>Ac</sup>  |
| <i>K.marxianus</i>           | ۶/۵۰ ± ۰/۱۷ <sup>Ba</sup> | ۶/۷۰ ± ۰/۳۶ <sup>Ba</sup>  | ۶/۹۰ ± ۰/۳۶ <sup>Bab</sup>  | ۷/۳۰ ± ۰/۳۶ <sup>BC</sup>  | ۸/۶۰ ± ۰/۳۰ <sup>Bc</sup>  |

نتایج به صورت "انحراف معیار ± میانگین" سه تکرار (n = ۳) گزارش شده‌اند و از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی Duncan برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شده است.

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

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

| غلظت (میلی گرم بر میلی لیتر) |                          |                           |                          |                         | نوع میکروارگانیسم    |
|------------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|-------------------------|----------------------|
| ۳۰۰                          | ۱۵۰                      | ۷۵                        | ۳۷                       | ۱۸/۷۵                   |                      |
| ۷/۱۰±۰/۵۵ <sup>Ac</sup>      | ۶/۹۰±۰/۳۶ <sup>Ab</sup>  | ۶/۵۰±۰/۴۳ <sup>Abab</sup> | ۶/۲۰±۰/۲۶ <sup>Aab</sup> | ۶/۱۰±۰/۱۷ <sup>Aa</sup> | <i>E. coli</i>       |
| ۷/۴۰±۰/۴۵ <sup>Ac</sup>      | ۷/۰۰±۰/۷۲ <sup>Ab</sup>  | ۶/۷۳±۰/۳۲ <sup>Abab</sup> | ۶/۶۰±۰/۵۵ <sup>Aab</sup> | ۶/۳۰±۰/۳۰ <sup>Aa</sup> | <i>S.aureus</i>      |
| ۷/۶۰±۰/۴۳ <sup>Ac</sup>      | ۷/۳۰±۰/۴۳ <sup>Abc</sup> | ۷/۰۰±۰/۳۰ <sup>Ab</sup>   | ۶/۷۰±۰/۳۰ <sup>Aab</sup> | ۶/۵۰±۰/۳۶ <sup>Aa</sup> | <i>C.perfringens</i> |
| ۷/۰۰±۰/۳۰ <sup>Ac</sup>      | ۶/۵۰±۰/۲۰ <sup>Ab</sup>  | ۶/۳۰±۰/۳۰ <sup>Bab</sup>  | ۶/۱۰±۰/۱۰ <sup>Aa</sup>  | ۶/۰۰±۰/۰۰ <sup>Aa</sup> | <i>K.marxianus</i>   |

نتایج به صورت "انحراف معیار ± میانگین" سه تکرار (n=۳) گزارش شده‌اند و از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی Duncan برای تجزیه و تحلیل 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 (میلی گرم بر میلی لیتر) | حد اقل غلظت ممانعت‌کننده (MIC) |                |                 |                      | حد اقل غلظت کشته‌ده (MBC or MFC) |                |                 |                      |
|---------------------|------------------------------|--------------------------------|----------------|-----------------|----------------------|----------------------------------|----------------|-----------------|----------------------|
|                     |                              | <i>K.marxianus</i>             | <i>E. coli</i> | <i>S.aureus</i> | <i>C.perfringens</i> | <i>K.marxianus</i>               | <i>E. coli</i> | <i>S.aureus</i> | <i>C.perfringens</i> |
| 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 میکروارگانیسم‌های

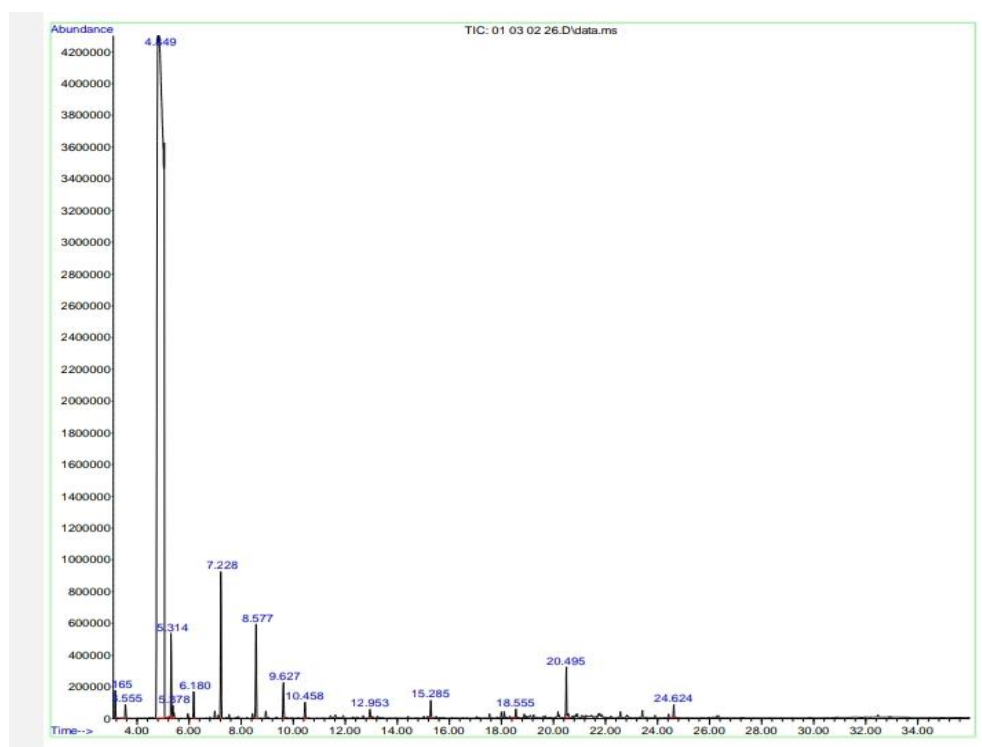
تحت بررسی برای تعیین MIC، MBC و MFC (بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر)

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



جدول ۷. ترکیبات تشکیل دهنده عصاره اتانولی گیاه برزا

| ترکیبات تشکیل دهنده                    | شماره پیک | RT (min) | RI   | مشخصات نمونه و میزان مواد متشکله بر حسب درصد از کل |
|----------------------------------------|-----------|----------|------|----------------------------------------------------|
| $\alpha$ -Pinene                       | ۱         | ۶/۱۷۷    | ۶۴۹  | ۵/۷۰                                               |
| $\beta$ -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 شناسایی شده            |           |          |      | ۱۰۰                                                |



شکل ۳. کروماتوگرام عصاره الکی گیاه برزا

## بحث

راه‌های مقابله با میکروارگانیسم‌ها برآید. ترکیبات گیاهی به‌علت داشتن ترکیبات شیمیایی و اجزا فعال بیولوژیک طبیعی از جمله خاصیت ضدباکتریایی، ضدانگلی، ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی برای درمان بیماری‌های عفونی و غیرعفونی می‌توانند مورد

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

استفاده قرار گیرند (۲۴و۲۳). در راستای بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس های گیاهی، اثرات ضد میکروبی اسانس برزا، بر روی چهار میکروارگانیسم مختلف به ویژه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس که هم ایجادکننده ی مسمومیت های غذایی و هم یکی از باکتری های مهم در ایجاد عفونت ها است، مورد مطالعه قرار گرفت. به این ترتیب که عصاره ی اتانولی گیاه برزا در غلظت های زیاد بر رشد میکروارگانیسم های مورد مطالعه اثر مهارکنندگی و کشندگی داشت که نشان دهنده ی اثر باکتریال قوی این اسانس بر روی آن هاست. میانگین قطر هاله ی عدم رشد مربوط به عصاره ها (جدول ۱ و ۲) نشان می دهد که اغلب هر چه غلظت عصاره افزایش یابد قطر هاله ی عدم رشد نیز افزایش می یابد. به طوری که بیشترین قطر در غلظت ۳۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمده و کمترین میزان آن در غلظت ۱۷/۵ میلی گرم بر میلی لیتر حاصل شد. محققانی نظیر جامه دار و همکاران (۲۵)، گلشنی و همکاران (۲۶) و روحی و همکاران (۲۴) چنین نتیجه ای را در اسانس های دیگر گزارش نمودند. بر اساس مطالعه ی سیمانگا و همکاران (۲۷)، در صورتی که قطر هاله ی عدم رشد بیشتر یا برابر با ۱۵ میلی متر باشد فعالیت بسیار، قطر هاله ی عدم رشد بین ۱۰-۱۵ میلی متر نشان دهنده ی فعالیت متوسط و قطر هاله ی عدم رشد کمتر از ۱۰ میلی متر نشان دهنده ی غیرفعال بودن عصاره است که حداقل عصاره ی اتانولی مورد مطالعه بر علیه کلستریدیوم پرفریجنس از بسیار فعال تا متوسط ارزیابی شد بود. عوامل متعددی از جمله میزان اسانس گیاه، روش عصاره گیری و نوع حلال مورداستفاده، نوع محیط کشت و مواد موجود در آن و غلظت عصاره در اثرات ضد میکروبی یک گیاه موثر هستند (۲۸ و ۲۹). سینگ و همکاران (۲۸)، اثرات آنتی باکتریال آویشن و میخک را بر علیه باکتری لیستریا نشان دادند در حالی که در مطالعه ی جلالی و همکاران (۳۰) عصاره ی هیدروالکلی گیاه آویشن هیچ اثری بر ضد لیستریا نشان نداد. همان گونه که نتایج نشان داد به نظر می رسد حساسیت بیشتر باکتری های گرم مثبت نسبت به عصاره ی اتانولی گیاه برزا مربوط به تفاوت در ساختار دیواره ی سلولی باکتری های گرم مثبت در مقایسه با باکتری های گرم منفی می باشد. باکتری های گرم مثبت در دیواره ی سلولی خود دارای ترکیب موکوپتیدی به نام مورن بوده، در حالی که باکتری های گرم منفی تنها لایه ی نازکی از موکوپتیدمورن دارند و قسمت اعظمی از ساختار دیواره در آن ها لیپوپروتئین و لیپوپلی ساکراید است. در نتیجه مقاومت بیشتر باکتری های گرم منفی را می توان به حضور غشاء

فسفولیپیدی خارجی که تقریباً نسبت به ترکیبات چربی دوست غیرقابل نفوذ بوده، نسبت داد (۳۱) که با برخی تحقیقات انجام شده مطابقت دارد. این نتایج با مطالعه ی صرافی و همکاران (۳۲) که اثر ضدباکتری عصاره های برگ جعفری کوهی انبوه علیه استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی و تفکیک جزء های مؤثر را مورد بررسی قرار دادند، و بیان نمودند که عصاره های برگ گیاه جعفری روی میکروارگانیسم گرم مثبت تاثیر بیشتری نسبت به باکتری گرم منفی دارد مطابقت داشت. هم چنین نتایج مشابهی در تحقیقات جوکی و همکاران (۳۳) که خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی پونه ی کوهی، سورشجانی و همکاران (۳۴) که اثرات ضد میکروبی (کرفس کوهی) را در باکتری های منتقل شده از مواد غذایی و فساد مواد غذایی، طباطبایی یزدی و همکاران (۳۵) که اثر عصاره های الکلی و آبی گیاه کندل کوهی (بیلهر) بر برخی باکتری های بیماری زا و پیرنیا و همکاران (۳۱) که تاثیر ضدباکتریایی عصاره های آبی و اتانولی میوه ی درخت سپستان بر استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، اشرشیاکلی و سالمونلاتیفی را بررسی نمودند به دست آمد. هم چنین در این پژوهش میزان حداقل غلظت بازدارنده ی رشد کلستریدیوم پرفریجنس توسط عصاره ی اتانولی گیاه برزا برابر ( $MIC = 8 \text{ mg/ml}$ ) به دست آمد. میزان غلظت کشنده عصاره ی مورد مطالعه بر روی این باکتری بیشتر از  $MIC$  آن گردید و برابر با ( $MBC = 1024 \text{ mg/ml}$ ) بود. نتایج حاصل از پژوهش صرافی و همکاران (۳۲)، نشان داد که عصاره ی اتیل استات در غلظت ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و در غلظت ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر علیه باکتری اشرشیاکلی خاصیت ضد میکروبی داشت. با مقایسه ی مقدار  $MBC$  عصاره ی اتانولی این گیاه بر روی باکتری کلستریدیوم پرفریجنس و مقدار  $MBC$  میکروارگانیسم های اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس مطالعه ی حاضر مشخص شد که میزان  $MBC$  عصاره ی اتانولی میکروارگانیسم های مزبور برابر است. وردیان ریزی، در مطالعه ی میزان حداقل بازدارندگی جعفری کوهی علیه قارچ های کاندیدا آلبیکانس و ساکارومایسس سرویزیه را برابر با ۲ میلی گرم بر میلی لیتر بیان نمودند (۳۶). تا کنون مطالعه ی درباره ی گیاه برزا انجام نشده است، اما مطالعات متعددی در رابطه با خانواده ی گیاه جعفری کوهی انجام پذیرفته است که در تمامی آن ها 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

گیاه به‌عنوان نگهدارنده در بعضی فرآورده‌های غذایی حرکت کرد.

**تشکر و قدردانی:** این مقاله حاصل پایان‌نامه با عنوان «بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره‌ی اتانولی گیاه برزرا بر میکروارگانیزم‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی، کلستری‌دیوم پرفرینجنس و مخمر کلویورومایسس ماریکسیانوس» به شماره‌ی ۱۶۲۲۴۹۸۹۵ در مقطع کارشناسی ارشد 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 از جمله عدم سرقت ادبی، تحریف داده‌ها و داده‌سازی و انتشار دوگانه را در مقاله مورد نظر 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).

متفاوت است. بررسی اثرات ضدباکتریایی ترکیبات تشکیل‌دهنده گیاهان دارویی از جمله 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 برزرا در محیط آزمایشگاهی فعالیت ضد میکروبی 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 ضد میکروبی طبیعی و جدید معرفی نمود. همین‌طور با شناسایی ترکیبات خالص و مؤثر موجود در این گیاه، می‌توان برای تهیه و تولید مواد ضد میکروبی مناسب علیه بعضی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی به‌ویژه باکتری‌های مورد پژوهش گام برداشت. گرچه مطالعات سازمان‌یافته و منتشرشده دقیقی در مورد اثرات ضد میکروبی گیاه برزرا بر میکروارگانیزم‌های پاتوژن غذازاد در دسترس نیست، با این حال، 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

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, Kırçer E, Küfrevioğlu İ.Ö. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise

(*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. Food Chemistry 2003. 83(3): 382-371.  
[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00098-0](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](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 Anticicrobial 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 Jabejdar S, Mirzaei Aghjehgheshlagh M, Navidshad B, Mahdavi A ,Staji H, Hedayat Evrigh N. Minimum Inhibitory Concentrations of Phenolic Extracts and Resistant Starch for *Clostridium perfringens*: In vitro Study. Iranian Journal 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 *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Cluyveromyces matxianus*, *Penicillium 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 *Marziah 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 *Caliomyces 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](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](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00112-9)
29. Rasodi I, Mirmostafa S. Bacterial susceptibility to and chemical composition of *Thymus persicu*. 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>