پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره هفدهم شماره ۵۹ مرداد و شهریور سال ۱۳۸۶ (۸۶-۷۶)

بررسی اثر ضد میکروبی چند نوع عصاره مختلف میوه گیاه *Pycnocycla spinosa*

محمد جلالی (Ph.D.) *+ **داریوش عابدی** (Ph.D.)**

غلامرضا اصغری (Ph.D.)*** **زینب رضایی** (Ph.D.)****

چکیده

سابقه و هدف : تنوع گونه‌های گیاهی و گرایش جامعه جهت استفاده از مواد طبیعی در درمان بیماری‌ها باعث گردیده است تا غربالگری اسانس ها و عصاره‌های گیاهی مورد توجه محققین قرار گیرد. اثرات ضد میکروبی برای برخی از گیاهان خانواده چتریان ذکر شده است بر همین اساس در این مطالعه اثرات ضد میکروبی یکی از اعضای این خانواده، گیاه سگ دندان خاردار(Pycnocycla Spinosa Decne) بررسی گردید.

مواد و روش‌ها : پس از جمع‌آوری و تهیه میوه گیاه و انجام مطالعات فارماکوگنوزی (Pharmacognosy) عصاره‌های هیدروالکلی، هگزانی، کلروفرمی و متانولی گیاه تهیه گردید و اثرات ضد میکروبی عصاره‌ها با استفاده از روش انتشار دیسک و همچنین تعیین حداقل غلظت مهار کننده رشد میکروب‌ها (MIC)[1] با استفاده از روش رقیق‌سازی لوله‌ای انجام شد. میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه عبارت بودند از: استافیلوکوکوس ارئوس، لیستریا مونوسیتوژنز، باسیلوس سوبتیلیس، سودومانوس آئروژنوزا، سالمونلا انتریتیدیس، اشرشیا کلی، کاندیدا آلبیکنس و آسپرژیلوس نایجر.

یافته‌ها : عصاره‌های مورد استفاده بر روی باسیلوس سوبتیلیس، آسپرژیلوس نایجر و کاندیدا آلبیکنس اثر ضد میکروبی داشتند. عصاره هیدرو الکلی دارای بیشترین اثر ضد میکروبی بود ($p<۰/۰۰۱$) . هر چند اثر ضد میکروبی با افزایش غلظت عصاره تشدید گردید اما در مجموع این اثر در حد متوسط ارزیابی گردید.

استنتاج : اثر ضدمیکروبی متوسط می‌تواند ناشی از ناکافی بودن مواد مؤثره میوه گیاه باشد. در نتیجه احتمالاً بررسی اثر ضد میکروبی عصاره گیاه و مطالعهٔ اثر ضد میکروبی سایر اندام‌های گیاه ممکن است نتایج ضدمیکروبی بهتری را نشان دهد.

واژه های کلیدی : ضد میکروبی، عصاره، Pycnocycla spinosa

1. Minimal inhibitory concentration

* متخصص میکروبیولوژی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

** متخصص بیوتکنولوژی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

*** متخصص فارماکوگنوزی، استاد دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

**** دکترای داروسازی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

+ ✉ **مولف مسئول :** اصفهان- دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده بهداشت

E-mail : Jalali@mui.ac.ir

تاریخ دریافت : ۸۵/۸/۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۸۵/۱۲/۱۳ تاریخ تصویب: ۸۶/۴/۲۷

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-06-05]

www.SID.ir

مقدمه

بیماری‌های عفونی از مهمترین بیماری‌های شایع در جهان هستند که بار مالی فراوانی را به جوامع بشری تحمیل می‌نمایند. آنتی‌بیوتیک‌های ساختگی(Synthetic) در دهه‌های گذشته هر چند توانسته‌اند نقش مهمی را در درمان بیماری‌های عفونی ایفا نمایند، اما مشکلاتی که در رابطه با بروز مقاومت‌های میکروبی آنتی‌بیوتیک‌ها به وجود آمده باعث گردیده است تا به مصرف هر چه بیشتر داروهای گیاهی گرایش پیدا شود(۱تا۳). در صنایع غذایی نیز به علت گرایش منفی مردم در مصرف غذاهایی که در آنها از نگهدارنده‌های شیمیایی استفاده شده است باعث گردیده که از منابع گیاهی علاوه بر استفاده به عنوان طعم دهنده به عنوان ضد میکروب نیز استفاده نمایند(۴،۲). استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی به عنوان جایگزین مواد محافظ ساختگی جای خود را در صنایع غذایی بخوبی پیدا کرده است. لذا به منظور دست‌یابی به مواد طبیعی ضدمیکروبی، غربالگری اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است(۵تا۸). در همین راستا مطالعات انجام شده نشان داده است که بسیاری از گیاهان خانواده چتریان (Umbelleferea) دارای اثرات ضد میکروبی می‌باشند(۱۰،۹). اثر ضد میکروبی عصارهٔ الکلی، اتیل استات و کلروفرم گیاه Coriandrum osativum و گیاه Pimpinella anisum از خانواده چتریان بر روی میکروارگانیسم‌های مختلف بررسی شده است(۹) اثر ضد میکروبی گیاه کرفس (Apium graveolens) از خانواده چتریان نیز بررسی شده است و گزارش شده است که عصارهٔ الکلی آن دارای MIC برابر ۲ درصد (v/v) برای اشرشیاکلی می‌باشد(۱۰). گیاه Pycnocycla spinosa نیز یکی از گیاهان خانواده چتریان است در مناطق مرکزی ایران رویش دارد(۱۱). اندام هوائی گیاه سگ دندان خاردار حاوی اسانس، ترکیبات فلاونوئیدی و ساپونین است(۱۲). بررسی فیتوشیمیایی (Phytochemistry) اسانس این گیاه نشان داده است که گیاه حاوی ترکیبات مونوترپن و سزکوئی‌ترپن می‌باشد(۱۳). بررسی‌های فارماکولوژیکی اثرات ضد اسهال (۱۴)، ضد اسپاسم (۱۲) و قلبی-عروقی (۱۵) را نشان داده است. نظر به این‌که اغلب میوه گیاهان این خانواده همانند زیره، رازیانه و انیسون در صنایع غذایی و دارویی مورد مصرف دارند و اثرات ضد میکروبی اسانس و عصاره میوه آنها گزارش شده است در این تحقیق اثرات ضد میکروبی عصاره میوه گیاه Pycnocycla spinosa بررسی می‌شود.

مواد و روش ها

عصاره گیری

میوه‌گیاه سگ‌دندان خاردار(Pycnocycla spinosa) از محوطه دانشگاه اصفهان جمع‌آوری و توسط بخش زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه اصفهان شناسایی گردید. نمونه هرباریومی گیاه در دانشکده داروسازی اصفهان موجود است. میوه‌ها قبل از آسیاب کردن در هوای آزاد و در سایه کاملاً خشک شد تا عمل خرد کردن آنها در آسیاب برقی به راحتی صورت گیرد. مقدار ۲۰۰ گرم از پودر میوه گیاه سگ دندان خاردار به دقت توزین و با اتانول ۹۶ درجه به نسبت ۱ به ۱۰ عصاره‌گیری انجام شد. جهت آماده‌سازی پودرها قبل از ریختن درون پرکولاتور (Percolator) ابتدا مطابق روش Samuelsson (۱۳) با حدود ۶۰۰ میلی‌لیتر خیسانده شدند، سپس توده حاصله برای کامل شدن عمل خیساندن به مدت ۲ ساعت به حال خود گذاشته شد. این

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-06-05]

www.SID.ir

عمل از خشک شدن و ترک برداشتن گیاه در پرکولاتور جلوگیری می‌کند. قبل از ریختن پودرها درون پرکولاتور ابتدا دهانه خروجی آنرا با مقداری پنبه پوشانده، سپس توده گیاهی را به آرامی و به وسیلهٔ چند تکان ملایم و با استفاده از میله شیشه‌ای به طور یکنواخت درون پرکولاتور ریخته و به هنگام وارد کردن پودرها، فشار ملایمی به سطح پودرها وارد شد تا فضای خالی ایجاد نشود، روی سطح گیاهان با کاغذ صافی پوشانده شد تا از جابجا شدن پودر گیاهی درون پرکولاتورجلوگیری شود. سپس شیرخروجی پرکولاتور را باز کرده و به آرامی مقداری از حلال باقیمانده درون پرکولاتور ریخته شد. به محض این‌که اولین قطرات حلال از شیر پرکولاتور شروع به خارج شدن نمود، شیر را بسته و برای ۴۸ ساعت عمل پرکولاسیون (Percolation) در حالی‌که روی تودهٔ گیاهی به طور کامل توسط حلال پوشانده شده بود، ادامه یافت. در طول این مدت عمل تورم تکمیل شده و خیساندن بینابینی صورت می‌گیرد. بعد از پایان این مدت، ضمن ورود منظم بقیه حلال از بالا، عصاره قطره قطره از پرکولاتور خارج شد(۱۳). به منظور تهیه عصاره‌های هگزانی، کلروفرمی و متانولی از روش سوکسله (Soxhlet) استفاده شد. در این روش مقدار ۵۰۰ گرم از پودر گیاه را داخل کاغذ صافی ریخته و در دستگاه سوکسله قرار داده شد. سپس عمل سوکسله به ترتیب با ۵۰۰ میلی لیتر از هر یک از حلال‌های هگزان، کلروفرم و متانول عصاره‌گیری به مدت یک ساعت انجام گرفت. در ادامه عصاره‌های هیدروالکلی، متانولی، کلرو فرمی و هگزانی تهیه شده با دستگاه روتاری و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ و سپس در آون و در همان دما خشک گردید. برای تهیه محلول‌های رقیق موردنیاز در آزمایشات بررسی اثر ضد میکروبی از عصاره‌های خشک شده، استفاده شد. به منظور بررسی اثرات ضد میکروبی حلال‌ها در روش دیسک، دیسک‌های حاوی ۲۰ µl از هر یک از حلال‌ها تهیه و بررسی گردید. همچنین در روش تعیین MIC در هر سری آزمایش یک لوله واجد محیط کشت و میکروارگانیسم به همراه حلال مورد آزمایش و فاقد هر گونه عصاره مورد آزمایش قرار گرفت.

روش آزمونهای ضد میکروبی

میکروارگانیسم‌های مورد استفاده در این تحقیق عبارت بودند از : استافیلوکوکوس ارئوس (*Staphylococcus aureus* PTCC 1337)، اشرشیا کلی (*Escherichia coli* PTCC 1338)، لیستریا مونوسیتوژنز (*Listeria monocytogenes* RITCC 1397) ، تهیه شده از مؤسسه واکسن وسرم‌سازی رازی) سودوموناس ائروژینوزا (*Pseudomonasa aeruginosa* PTCC 1074)، سالمونلا انتریتیدیس (*Salmonella enteritidis* PTCC 16,24)، باسیلوس سوبتیلیس (*Bacillus subtilis* PTCC 1023)، کاندیدا آلبیکنس(*Candida albicans* PTCC 5027) و آسپرژیلویس نایجر (*Aspergillus niger* PTCC 5021). میکروارگانیسم‌های فوق الذکر در دسترس بودند و در عین حال به نمایندگی از باکتری‌های گرم منفی و مثبت انتخاب شدند. در ضمن برخی از آنها بیماری‌زا و برخی دیگر غیر بیماریزا بودند. آمپول لیوفیلیزه میکرو-ارگانیسم‌های مورد استفاده زیر هود لامینارفلو و در شرایط استریل باز شده و به محیط کشت مایع مولر هینتون (Merk, Germany) انتقال یافت و سپس به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس از محیط کشت ۲۴ ساعته یک چرخش کامل بر روی محیط‌های مورب و همچنین کشت خطی بر روی پلیت‌های مولرهینتون آگار (Merk Germany)

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-06-05]

www.SID.ir

انجام داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۵ درجه سانتی‌گراد در گرمخانه قرار داده تا به عنوان منبع باکتری استفاده شود. در مورد آسپرژیلوس نایجر و کاندیدا آلبیکنس از محیط سابراد دکستروز استفاده شده و به مدت ۴۸ ساعت در گرمخانه ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. محیط های منبع در یخچال نگهداری و در موارد لزوم مورد استفاده قرار گرفت.

فعالیت ضدمیکروبی براساس متد انتشار دیسک(۱۴) و MIC و حداقل غلظت کشندگی ماده ضد میکروبی (MBC)[1] با استفاده از روش رقت لوله‌ای(۱۵) تعیین گردید. بدین منظور ابتدا از کشت ۲۴ ساعته باکتری سوسپانسیونی در نرمال سالین استریل که در هرمیلی لیتر حاوی $۱/۵\times۱۰^{۸}$ (CFU/ml) باکتری بود با استفاده از محلول استاندارد ۰/۵ مک فارلند تهیه شد. از عصاره گیاه مورد نظر حداقل ۹ رقت (mg/ml ۴۸۰ و ۲۴۰ و ۱۲۰ و ۶۰ و ۳۰ و ۱۵ و ۷/۵ و ۳/۷۵ و ۱/۷۸) تهیه و به هردیسک µl ۲۰ از رقت مورد نظر اضافه و به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۵ درجه سانتی‌گراد خشک گردید. سپس به مقدار کافی از محیط مولر هینتون آگار به عنوان لایه اولیه درون پلیت‌های استریل ریخته و اجازه داده شد تا سفت شود. یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروبی کشت یک شبه به ۱۰ میلی‌لیتر کشت آگار مذاب ۴۵-۵۰ درجه سانتی‌گراد اضافه و از آن به عنوان لایه زاینده استفاده گردید (برای باکتری‌ها از محیط کشت مولرهینتون و در مورد قارچ‌ها برای هر دو لایه از محیط کشت سابراد دکستروز استفاده شد). پس از بستن سطح پلیت‌های حاوی میکروارگانیسم مورد نظر، دیسک‌های تهیه شده در فواصل مناسب بر روی لایه زاینده ثابت گردیده و پلیت‌ها برای مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند(۱۴). از دیسک آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد سیپروفلوکساسین، کتوکونازول و آمفوترپسین B به عنوان کنترل استفاده گردید. پس از طی دوره گرما گذاری هاله‌های عدم رشد بررسی و قطر هاله‌های عدم رشد توسط کولیس اندازه‌گیری شد. آزمون‌ها برای هر عصاره و هر میکرو-ارگانیسم حداقل ۳ بار تکرار و میانگین نتایج گزارش و همچنین میزان انحراف معیار محاسبه گردید. تفاوت اثر ضد باکتری عصاره‌های مختلف توسط آزمون آنالیز واریانس آنوا (ANOVA) انجام گردید. برای بررسی آماری تفاوت اثر ضدقارچی عصاره‌ها از آزمون t مستقل استفاده گردید.

به منظور تعیین MIC (۱۵) ابتدا از هر عصاره غلظت ۴۰mg/ml و برای هر عصاره به ازای هر میکروارگانیسم از یک سری ده تایی لوله‌های آزمایش استفاده شد. هشت لوله برای غلظت‌های مختلف هر عصاره و یک لوله به عنوان کنترل مثبت و یک لوله به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. به هر کدام از لوله‌ها به میزان ۹ میلی لیتر از محیط کشت مولرهینتون مایع همراه با غلظت معینی از عصاره و یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون کشت یک شبه میکروارگانیسم اضافه گردید. بدین ترتیب در لوله شماره یک و هشت غلظت عصاره به ترتیب برابر µg/ml ۱۰۰۰ و µg/ml ۷/۸۱ بود. سپس لوله‌ها برای مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از طی زمان انکوباسیون (Incubation) لوله‌ها از نظر کدورت ناشی از رشد میکروارگانیسم بررسی گردیدند (۱۵). از میان لوله‌هایی که در آنها باکتری رشد نکرده بود لوله‌ای که حاوی کمترین غلظت عصاره گیاهی بود به عنوان MIC گزارش گردید. به منظور تعیین حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) و قارچ (MFC)[2] یک میلی‌لیتر از

1. Minimum Bactriocidal Concentration

2. Minimum Fungicidal concentration

Archive of SID
www.SID.ir
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-06-05]

لوله‌هایی که باکتری در آن رشد نکرده بود با ۱۵ میلی‌لیتر از محیط کشت مولرهینتون، آگار مذاب با درجه حرارت ۴۸ درجه سانتی‌گراد در یک پلیت مخلوط و پس از بسته شدن آگار، در ۳۵ درجه سانتی‌گراد برای ۲۴ ساعت گرماگذاری شد. سپس پلیتی را که حاوی کمترین غلظت عصاره بود و در آن رشد مشاهده نشد به عنوان MBC یا MFC آن عصاره در نظر گرفته شد(۱۵).

یافته ها

نتایج به دست آمده از آزمون‌های انتشار دیسک (جداول شماره ۱ و۲) نشان داد که هیچ یک از عصاره‌ها حتی با غلظت بالا (۱۰۰۰ µg/ml) روی باکتری‌های استافیلوکوکوس آروئوس، لیستریا مونوسیتوژنز، سودوموناس آئروژنوزا، سالمونلا انتریتیدیس و اشرشیا کلی اثر ضدمیکروبی نداشته و هاله عدم رشد تشکیل نشد. تنها باکتری که برضد آن اثر ضد میکروبی مشاهده گردید با سیلوس‌سوبتیلیس بود. عصاره هیدروالکلی گیاه سگ دندان خاردار با کمترین غلظت (۳/۷۵ mg/ml) قطر هاله‌ای برابر با ۱/۰۷ ± ۷/۸ میلی‌متر ایجاد نمود. بالاترین غلظت عصاره (۴۸۰ mg/ml) قطر هاله‌ای برابر با ۰/۴۷± ۱۵/۳۳ میلی‌متر پدید آورد(p<۰/۰۰۱). عصاره هگزانی گیاه سگ‌دندان خاردارکمترین اثر ضدمیکروبی را داشت و کمترین غلظتی که هاله مهار رشد نشان داد غلظت ۲۴۰mg/ml بود که هاله‌ای برابر با ۰/۸۹±۷/۶۳ میلی‌متر پدیدآورد. در مجموع اثر ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی به طور معنی‌داری(p<۰/۰۰۱) از دیگر عصاره اثر ضد میکروبی قوی‌تری داشت. نتایج میانگین قطر هاله مهار رشد عصاره‌های مختلف گیاه سگ دندان خاردار با غلظت‌های مختلف علیه باسیلوس سوبتیلیس در جدول شماره ۲ آمده است. عصاره‌های هیدروالکلی و هگزانی گیاه سگ دندان خاردار بر روی هر دو گونه قارچی مورد مطالعه (آسپرژیلوس نایجر و کاندیدا آلبیکنس) اثرضدقارچی نشان داد اما اطراف دیسک‌های حاوی عصاره‌های کلرفرمی و متانولی هاله مهار رشد مشاهده نشد. آسپرژیلوس نایجر حساسیت بیشتری به هر دو نوع عصاره هیدروالکلی و هگزانی نشان داد P<0.5 . کمترین غلظت عصاره هیدروالکلی که این میکرو-ارگانیسم به آن حساسیت نشان داد برابر mg/ml ۱۵ بود و قطر هاله مهار رشد برابر ۰/۶۶ ± ۷/۱ میلی‌متر ایجاد نمود. این در حالی است که کاندیدا آلبیکنس در کمترین غلظتی که حساسیت نشان داد برابر ۶۰mg/ml بود که قطر هاله‌ای برابر با ۰/۱۴±۶/۹ میلی‌متر ایجاد نمود. در خصوص عصاره هگزانی نیز در غلظت‌های برابر با ۶۰mg/ml، قطر هاله مهار عدم رشد برای آسپرژیلوس نایجر و کاندیدا آلبیکنس به ترتیب برابر با ۰/۹۴ ± ۱۲/۶۶ و ۰/۲۴ ± ۶/۷۱ میلی‌متر بود. در مجموع تفاوت معنی‌داری بین تاثیر دو نوع عصاره بر قارچ‌ها مشاهده نشد (p<0.0016, p<0.3) نتایج میانگین قطر هاله مهار رشد عصاره‌های هیدروالکلی و هگزانی بر علیه آسپرژیلوس و کاندیدا آلبیکنس در جدول شماره۲ آمده است.

نتایج به دست آمده از آزمون‌های رقت لوله‌ای (جدول شماره ۳) نشان داد که عصاره‌های گیاه مورد مطالعه در محیط مایع نیز روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریامونوسیتوژنز، سودوموناس ائروژینوزا، سالمونلا انتریتیدیس و اشرشیا کلی اثر ضد باکتری نداشتند. همانند نتایج آزمون‌های انتشار دیسک تنها باکتری که به عصاره مورد مطالعه حساسیت نشان داد باسیلوس سوبتیلیس بود. عصاره هگزانی وکلرفرمی بیشترین MIC هر یک برابر

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-06-05]

www.SID.ir

µg/ml ۲۵۰ را داشتند و عصاره‌های متانولی و هیدروالکلی به ترتیب MIC برابر ۲۵۰ و µg/ml ۶۲/۵ داشتند.

و عصاره های متانولی و هیدروالکلی به ترتیب MIC برابر ۲۵۰ و µg/ml ۶۲/۵ داشتند. میزان MBC عصاره‌های هگزانی، هیدروالکلی و متانولی برای باسیلوس سوبتیلیس به ترتیب برابر ۵۰۰ ، ۵۰۰ ، ۲۵۰ و ۲۵۰ µg/ml بود. میزان MFC عصاره هیدروالکلی و هگزانی برای آسپرژیلوس نایجر به ترتیب برابر ۲۵۰ و ۱۲۵ µg/ml بود. میزان MFC عصاره هیدروالکلی و هگزانی برای کاندیدا آلبیکنس به ترتیب برابر ۲۵۰ و ۵۰۰ µg/ml بود. همچنین در این مطالعه مشخص گردید هیچ‌کدام از حلال‌های به کار رفته جهت تهیه رقت از عصاره خشک برای انجام آزمایشات فعالیت ضد میکروبی واجد خاصیت ضد میکروبی نمی‌باشند.

جدول شماره ۱: میانگین ± انحراف معیار (SD) قطر هاله مهار رشد (mm) عصاره های گیاه Pycnocycla spinosa بر علیه باسیلوس سوبتیلیس (سه بار تکرار).

غلظت / عصاره mg/ml	۴۸۰	۲۴۰	۱۲۰	۶۰	۳۰	۱۵	۷/۵	۳/۷۵	۱/۷۸
هیدروالکلی	۱۵/۳۳±۰/۴۷	۱۴/۳۳±۱/۲۴	۱۲±۰/۸۱	۱۰/۶۶±۰/۴۷	۱۰/۳۳±۰/۴۷	۹±۰/۸۱	۸/۳۳±۰/۹۴	۷/۸±۱/۰۷	–
هگزانی	۸/۸±۰/۶۲	۷/۶۳±۰/۸۹	–	–	–	–	–		–
کلرفرمی	۹/۶±۰/۴۸	۸/۹±۰/۲۹	۷±۰/۴۵	–	–	–	–		–
متانولی	۱۳±۰/۸۲	۱۱±۰/۸۲	۷/۳۳±۰/۵	–	–	–	–	–	–
آزمون واریانس	F=۷۳/۴۸	F=۳۳/۳۵	F=۶۳/۴	–	–	–	–	–	–
P Value	P<0.001	P<0.001	P<0.05						

(–) عدم مشاهده هاله مهار رشد.

جدول شماره ۲ : میانگین ± انحراف معیار (SD) قطرهاله مهار رشد عصاره های هیدروالکلی و هگزانی گیاه Pycnocycla spinosa بر علیه دوگونه قارچ آسپرژیلوس نایجر و کاندیدا آلبیکنس

عصاره / غلظت mg/ml / میکروارگانیسم		۴۸۰	۲۴۰	۱۲۰	۶۰	۳۰	۱۵	*۷/۵
هیدروالکلی	آسپرژیلوس نایجر	۲۲/۶±۱/۷۱	۱۹±۰/۹۴	۱۵±۲/۴۴	۱۴±۰/۸۱	۹±۰/۸۱	۷/۱±۰/۶۶	-
	کاندیدا آلبیکنس	۱۲±۰/۸۱	۱۰/۶۶±۰/۹۴	۷/۸±۰/۲۳	۶/۹±۰/۱۴	-	-	-
هگزانی	آسپرژیلوس نایجر	۲۴±۱/۴	۱۹/۹±۱/۲۴	۱۶/۶±۱/۲۴	۶/۷±۰/۹۴	۸/۳±۱/۲۴	-	-
	کاندیدا آلبیکس	۱۰±۰/۸۱	۹±۰/۸۱	۷/۸±۰/۲۳	۶/۷±۰/۲۴	-	-	-
آزمون t مستقل	کاندیدا آلبیکنس	T=۹/۱۵	T=۵/۳۷	T=۱/۱۶	T=۱/۱۵			
		P<0.01	P<0.49	P<0.26	P<0.25			
	آسپرژیلوس نایجر	T=۱/۲	T=۱	T=۱/۰۳	T=۱۰۳/۸			
		P<0.3	P<0.35	P<0.34	P<0.001			

* نتایج غلظت های ۳/۷۵ و ۱/۸۷ mg/ml نیامده است

(–) عدم مشاهده هاله مهار رشد.

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-06-05]

www.SID.ir

جدول شماره ۳ : حداقل غلظت مهار کنندگی MIC (Minimum Inhibitory Concentration)عصاره های مختلف میوه گیاه سگ دندان خاردار بر علیه میکرارگانیسم های مختلف

عصاره	غلظت mg/ml / میکروارگانیسم	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۶۲/۵	۳۱/۲۵	۱۵/۶۲	۷/۸۱	کنترل منفی *	کنترل مثبت **
هیدروالکلی	آسپرژیلوس نایجر	–	–	+	+	+	+	+	+	–	+
	کاندیدا آلبیکنس	–	–	+	+	+	+	+	+	–	+
	باسیلوس سوبتیلیس	–	–	–	–	+	+	+	+	–	+
هگزانی	آسپرژیلوس نایجر	–	–	–	–	–	+	+	+	–	+
	کاندیدا آلبیکنس	–	–	–	+	+	+	+	+	–	+
	باسیلوس سوبتیلیس	–	–	+	+	+	+	+	+	–	+
کلرفرمی	آسپرژیلوس نایجر	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+
	کاندیدا آلبیکنس	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+
	باسیلوس سوبتیلیس	–	–	+	+	+	+	+	+	–	+
متانولی	آسپرژیلوس نایجر	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+
	کاندیدا آلبیکنس	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+
	باسیلوس سوبتیلیس	–	–	–	+	+	+	+	+	–	+

(–) مشاهده عدم رشد میکروارگانیسم
(+) مشاهده رشد میکروارگانیسم
* محیط کشت + عصاره
** محیط کشت + سوسپانسیون میکروبی

بحث

میکروارگانیسم‌ها نقش مهمی را در ایجاد بیماری‌های انسان ایفا می‌کنند. مرگ و میر فراوان ناشی از این عوامل، همواره بشر را بر آن داشته است تا به فکر راه‌های مقابله با میکرارگانیسم‌ها برآید. مواد شیمیایی استخراجی از گیاهان به عنوان ترکیبات ضد میکروبی جایگزین داروهای سنتتیک مطرح شده‌اند زیر دارای عوارض جانبی کمتری هستند. در کشور ما نیز اهمیت تحقیق و مطالعه روی گیاهان دارویی مشخص گردیده است(۱۶). در مطالعات فضلی بزاز و حریرزاده(۹) ، اثرات ضد میکروبی از اندام هوائی گیاه سگ دندان خالدار (Pycnocycla spinosa) مشاهده نگردید. لذا درمطالعهٔ حاضر اثرات ضدمیکروبی عصاره میوه این گیاه بر روی هشت میکرارگانیسم بیماری‌زای انسانی بررسی گردید.

اثرات ضد میکروبی عصاره میوه گیاه سگ دندان خاردار با استفاده از دو روش انتشار دیسک و رقت لوله‌ای بررسی شد(۱۵،۱۴). ازهشت میکرارگانیسم مطالعه شده عصاره‌ها بر روی یک گونه باکتری (باسیلوس سوبتیلیس) و دوگونه قارچی(آسپرژیلوس و کاندیدا) اثر داشت. میانگین قطر هاله عدم رشد مربوط به عصاره‌ها (جداول شماره ۱ و ۲) نشان می‌دهد که اغلب هر چه از غلظت عصاره کاسته می‌شود از قطر هاله عدم رشد نیز کاسته می‌شود. براساس مطالعهٔ سیمانگا (Cimanga) و همکارانش(۱۷) در صورتی‌که قطر هاله عدم رشد برابر یا بیشتر از ۱۵ میلی‌متر باشد فعالیت بسیار، قطر هاله عدم رشد بین ۱۰– ۱۵ میلی‌متر نشان دهنده فعالیت متوسط و قطر هاله عدم رشد کمتر از ۱۰ میلی‌متر نشان دهنده غیر فعال بودن عصاره است. از مجموع عصاره‌های مورد مطالعه بر علیه باسیلوس سوبتیلیس، اثر ضدمیکروبی عصاره هیدروالکی از بسیار فعال تا متوسط ارزیابی شد. عصاره متانولی فعالیت متوسط بر روی باکتری مورد

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-06-05]

www.SID.ir

اشاره داشت و عصاره‌های دیگر غیرفعال بودند. در مورد قارچ‌های مورد مطالعه عصاره هیدروالکلی و هگزانی بر علیه کاندیدا آلبیکنس فعالیت متوسط از خود نشان دادند. عصاره‌های دیگر اثری بر روی کاندیدا نداشتند. آسپرژیلوس نایجر حساسیت بیشتری از خود نشان داد، به طوری که عصاره‌های هیدروالکلی و هگزانی بر علیه آسپرژیلوس به ترتیب اثر ضدمیکروبی بسیار فعال و متوسط داشتند. عصاره‌های دیگر اثری بر روی آسپرژیلوس نشان ندادند. در بررسی فضلی بزاز و حریرزاده(۹)، عصاره اندام هوائی گیاه اثر ضد میکروبی از خود نشان نداد. مطالعه حاضر نشان می‌دهد که احتمالاً نوع و میزان عوامل ضد میکروبی در میوه گیاه در مقایسه با اندام هوائی متفاوت است.

عوامل متعدی در اثرات ضد میکروبی یک گیاه موثر هستند. عواملی چون میزان اسانس گیاه، روش عصاره‌گیری و نوع حلال مورد استفاده، نوع محیط کشت و مواد موجود در آن و غلظت عصاره می‌تواند بر اثرات ضد میکروبی گیاه اثر بگذارد(۱۸تا۲۰). سینگ (Singh) و همکاران (۱۸) اثرات آنتی باکتریال آویشن و میخک را بر علیه باکتری لیستریا نشان دادند در حالی‌که در مطالعهٔ چهارمحالی و همکاران(۲۱) عصاره هیدروالکلی گیاه آویشن هیچ اثری برضد لیستریا نشان نداد. در مطالعهٔ مشابه‌ای فارسی و همکاران(۲۲) نشان دادند که اسانس گیاه خوشاریزه اثرات ضدمیکروبی خوبی دارد در حالی که عصاره هیدروالکلی خوشاریزه هیچ اثر ضد میکروبی نداشت. براساس نتایج مطالعات انجام شده در ایران، ترکیه و تونس(۵تا۸) بر روی اثرات ضد میکروبی اسانس‌های برخی از اعضای خانواده چتریان این اثر تایید گردیده است. عدم مشاهده اثرات ضد میکروبی بسیار خوب و متفاوت از عصاره‌های گوناگون گیاه سگ‌دندان خاردار احتمالاً به‌دلیل تفاوت در میزان اسانس موجود در عصاره است.

عامل دیگری که ممکن است اثرات ضدمیکروبی عصاره یک گیاه را تحت تأثیر قرار دهد، روش عصاره‌گیری و نوع حلال مورد استفاده می‌باشد(۲۳). عصاره‌هایی که باروش‌ها و حلال‌های متفاوت از یک گیاه استخراج می‌شوند، می‌توانند اثرات ضدمیکروبی متفاوتی بر روی گونه‌های خاص میکروارگانیسم‌ها از خود نشان دهند(۲۳). ابراهیم و عثمان(۲۴) نشان دادند که عصاره اتانولی برگ‌های گیاه Cassia alata اثر ضد قارچی برعلیه چهارگونه قارچی دارد، اما بر روی مخمرها و وگونه‌های باکتریایی بی‌تأثیر است. اما اثرات ضدباکتریایی عصاره متانولی این گیاه توسط خان (Khan) و همکارانش(۲۵) ثابت گردید. در مطالعات دیگری نیز محققین به تفاوت اثر عصاره‌های مختلف مهر تایید زده‌اند. به عنوان مثال پنا (Penna) و همکاران (۲۶) گزارش کرده‌اند که تنها عصاره کلروفرمی گیاه Myrcianthes cisplatensis بر روی باسیلوس سوبتیلیس اثر مهارکننده دارد و عصاره‌های هیدروالکلی، متانولی و آبی بی‌اثر است.

در مطالعهٔ حاضر نیز اثرات متفاوتی از عصاره‌های مختلف مشاهده گردید. عصاره‌های کلرفرمی و متانولی میوه گیاه سگ دندان خاردار برخلاف عصاره‌های هیدروالکلی و هگزانی تاثیری بر روی آسپرژیلوس و کاندیدا نداشت. نظر به این‌که اثرات ضدمیکروبی در عصاره هگزانی که غیر قطبی می‌باشد مشاهده شده است و عصاره نیمه قطبی کلروفرمی و قطبی متانول فاقد اثرات ضد میکروبی بوده‌اند می‌توان نتیجه گرفت که ترکیبات واجد اثر ضد میکروبی میوه گیاه ترکیبات غیر قطبی می‌باشند. همانند مطالعه حاضر دیگر محققین نیز به حساسیت‌های متفاوت گونه‌های باکتریایی و قارچی بر علیه ماده ضدمیکروبی مشابه اشاره کرده‌اند(۲۶). احتمالاً تفاوت حساسیت میکرارگانیسم‌های گوناگون به مواد

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-06-05]

www.SID.ir

ضدمیکروبی به‌علت ساختار متفاوت میکرارگانیسم‌ها می باشد.

غلظت‌های متفاوت عصاره نیز در تأثیر اثر ضد میکروبی مؤثراست و درمطالعات متعددی(۲۸،۲۷) با تغییر میزان غلظت عصاره، اثرات ضدمیکروبی گیاه تغییرکرده است. محیط کشت‌های مورد استفاده در آزمون‌های ضدمیکروبی نیز تأثیر به سزایی در خواص ضد میکروبی عصاره‌ها دارد. استفاده از اندام‌های مختلف گیاه نیز در اثر ضد میکروبی عصاره تأثیر دارد. کودی (Kudi) و همکاران (۲۹) بخوبی اثرات متفاوت ضد میکروبی پوست و برگ برخی از گیاهان را نشان داده‌اند.

در مطالعهٔ حاضر اثر ضد میکروبی میوه گیاه سگ دندان خاردار به عنوان یکی دیگر از اعضای خانواده چتریان بررسی گردید تا در تکمیل یافته‌های فارماکولوژیکی بتوان اطلاعات کامل‌تری از خواص گیاه را فراهم آورد. هر چند اثرات ضد میکروبی عصاره‌های میوه گیاه سگ دندان خاردار در مجموع متوسط ارزیابی گردید اما مشخص نمود که در گام‌های بعدی باید به مطالعه اثرات ضدمیکروبی اندام‌های دیگر گیاه پرداخت. با توجه به غلظت بیشتر ماده مؤثره در اسانس گیاه به احتمال بسیار قوی مطالعهٔ اثرات ضد میکروبی اسانس گیاه اثرات ضد میکروبی بهتری را نشان خواهد داد.

سپاسگزاری

از جناب آقای دکتر سیدمحسن حسینی استادیار محترم گروه آمار و اپیدمیولوژی جهت انجام محاسبات آماری و خانم شهین شفیع زادگان کارشناس آزمایشگاه کنترل میکروبی دانشکده داروسازی تقدیر و تشکر می‌گردد.

فهرست منابع

1. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. ***Clin. Microbiol. Rev.*** 1999; 12(4): 564-582.
2. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. ***Int. J. Food. Microbiol.*** 2004; 94: 223-253.
3. Ayfer D, Turgay O. Antimicrobil activities of various medicinal and commercial plant extracts. ***Turk. J. Biol. Vol.*** 2003; 27: 157-162.
4. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts.***J.Appl. Microbiol***. 1996; 86: 985-990.
5. Sonboli A, Azzizin D, Yousefzadi M, Kanani, Mehrabian AR. Volatile constituents and antimicrobial activity of Tetrataenium lasiopetalum (Apiaceae) from Iran. ***Flavour. Frag. J.*** 2007; 22: 119-122.
6. Abdelwahed A, Hayder N, Kilani S, Mahmoud A, Chibani J, Hammami M, et al. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Tunisian Pituranthos toruosus (Coss). Maire. ***Flavour. Frag. J.*** 2006; 21: 120-133.
7. Erdurak CS, Coskun M, Demirci B, Baser KHC. Composition of the essential

Archive of SID
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-06-05]

www.SID.ir

oil of fruits and roots of Ferulago isaurica Pesmen and F. syriaca Boiss. (Umbelliferae) from Turkey. ***Flavour. Frag. J.*** 2006; 21: 118-121.

8. Kurkcuoglu M, Husnu KCB, Iscan G, Malyer H, Kaynak G. Composition and anticandidal activity of essential oil of Chaerophyllum byzantinum Boiss. ***Flavour. Frag. J.*** 2006: 21: 115-117.
9. Fazly Bazzaz BS, Harirzadeh G. Screening of Iranian plants for antimicrobial activity. ***Pharmaceutical Biology.*** 2003; 41: 573-583.
10. Sadraei H, Asghar G, Hekmatti AA. Antispusmodic effect of three fractions of hydroalcholic extract of Pycnocycla spinosa. ***J. Ethnopharmacology.*** 2003; 86: 187-190.
11. Asghari G, Houshfar G, Mahmudi Z. Composition of the essential oil of Pycnocycla spinosa Decne. ***ExBoiss from Isfahan,*** Daru. 2001; 9: 28-29.
12. Ahmadi L, Mirza M. Volatile constituents of the essential oil of Pyconcyla spinosa from Iran. ***J. Essent. Oil. Res.*** 1998; 10: 197-198.
13. Samuelsson G. Drugs of Natural Origin, A Textbook of pharmacognosy. 4th ed. Sweedish Pharmaceutical press, Stockholm: 1999; 48-49.
14. Mangena TO, Muyima N Y O, Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of Artemisia afra, Pteronia incana and Rosmarinus on selected bacteria and yeast strains. Lett Appl Microbiol. 1999; 28(4): 291-296.
15. Vanden DA, Vlietinck A J, In: Dey P M, Harborne J B. (Eds.), Methods in plant biochemistry: Screening medthods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. Academic press, London. 1991; 47-69.

۱۶. موسوی، ک. م. ر. داروشناسی و درمان. چاپ سوم. انتشارات سپهر تهران، ۸، ۱۳۶۰.

17. Cimanga K, Kambu K, Tona l, Apers S, De Bruyne T, Hermans N, et al. Correloation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. ***J. Ethnopharnacol***. 2002; 79: 213-220.
18. Singh A, Singh RK, Bhunia AK, Singh N. Efficacy of plant essential oils as antimicrobial agents against, Listeria monocytogenes in hotdogs. Lebenmittel wissenschaft uan Technologic. 2003; 36(8): 787-799.
19. Cosentino S, Tuberoso CLG, Pisano B, Satta M, Mascia V, Araedi E, Planas F. Invitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian thymus essential oils. ***Lett Appl Microbiol.*** 1999; 29: 130-135.
20. Rasodi I, Mirmostafa SA. Bacterial susceptibility to and chemical composition

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-06-05]

www.SID.ir

of Thymus persiscu. ***J. Agric.Food. Chem.*** 2003; 51(8): 2200-5.

۲۱. چهار محالی ا. بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی تعدادی از گیاهان علیه Listeria monocytogenes پایان نامه دکترای عمومی داروسازی. دانشکده داروسازی. دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ۱۳۸۳.

۲۲. فارسی س. بررسی اثرضد میکروبی گیاه خوشاریزه پایان نامه دکترای عمومی داروسازی، دانشکده داروسازی، و علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ، ۱۳۸۴.

23. Nostro A, Gernano MP, Angelo VA, Marino A, Cannatelli MA. Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. Lett Appl Microbiol. 2000; 30: 379-384.

24. Ibrahim D, Osman H. Antimicrobial activity of Cassia alata from Malaysia. ***J Ethnopyarmacol.*** 1995; 45(3): 151-156.

25. Khan MR, Kihara M, Omoloso AD. Antimicrobial activity of Cassia alata. Fitoterapia. 2001; 75(2): 561-564.

26. Penna C, Marino S, Virot E, Cruanes MC, Munoz J, Cruanes J, et al. Antimicrobial activity of Argentine plants used in the treatment of infectious diseases. Isolation of active compounds from Sebastiania brasiliensis. ***J Ethnopharmacol.*** 2001; 77: 37- 40.

27. Kartal M, Yildiz S, Kaya S, Kurucu S, Topcu G. Antimicrobial activity of propolis samples from two different regions of Anatolia. ***J Ethnopharmacol.*** 2003; 86: 69-73.

28. Baydar H, Sagdic O, Ozkan G, Karadogan T. Antibacterial activity and composition od essential oils from origanum, thymbra and satureja species with commercial importarr4e in Turkey. Food Control. 2003.

29. Kudi AC, Umoh JU, Eduvio LO, Gefu J. Screening of some Nigerian medicinal plants for antibacterial activity. ***J Ethnopharmacol.*** 1999; 67: 225-228.

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-06-05]

www.SID.ir