مقاله پژوهشي
مجله دانشگاه علوم پزشكي رفسنجان
دوره یازدهم، خرداد و تیر ۱۳۹۱، ۱۱۴-۱۰۳

مقایسه اثرات ضد میکروبی غلظت‌های مختلف عصاره‌های الکلی رزماری (*Rosmarinus officinalis*)، علف چای (*Hypericum Perforatum*) و کاجیره (*Carthamus Tinctorius*) بر مراحل مختلف رشد باکتری اشرشیا کولی *O157*

منصور مشرقی[1]، فرزانه ممتازی[2]

دریافت مقاله: ۹۰/۱/۳۰ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۰/۳/۴ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۰/۶/۷ پذیرش مقاله: ۹۰/۶/۱۴

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به کمترین اثرات جانبی گیاهان دارویی و کاربردهای مختلف آنها در زمینه‌های درمانی ، گیاهان مختلفی از جهت خواص ضدباکتریایی مورد بررسی قرار گرفته‌اند. در این تحقیق تأثیر عصاره الکلی سه گیاه رزماری، علف چای و کاجیره بر مراحل رشد سویه E.coli O157 NCTC 1290 بررسی شده است. این سویه باکتریایی جزء خطرناک‌ترین میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای دستگاه گوارش می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش آزمایشگاهی، برگ و سرشاخه‌های گلدار خشک شده گیاه رزماری، گیاه علف چای و گیاه کاجیره برای تهیه غلظت‌های مختلف عصاره الکلی گیاهی (۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ گرم در میلی‌لیتر) مورد استفاده قرار گرفتند. برای بررسی اثرات ضدباکتریایی این عصاره‌های الکلی از روش چاهک پلیت و اسپکتروفوتومتری استفاده شده است. تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از برنامه آنالیز واریانس (ANOVA) انجام شد.

یافته‌ها: در سه ساعت اولیه در هر سه غلظت (۰/۲ ، ۰/۳ و ۰/۴ گرم در میلی‌لیتر) مشاهده شد باکتری اشرشیاکلی O157 در حضور عصاره الکلی گیاه رزماری رشد کمتری نسبت به دو گیاه دیگر داشته است و در این میان کمترین اثر مربوط به عصاره الکلی گیاه علف چای می‌باشد. از ساعت سوم به بعد، این تغییرات حالت معکوس پیدا می‌کنند و کاهش رشد باکتری O157 در حضور عصاره الکلی علف چای بیشتر از دیگر عصاره‌ها می‌باشد.

نتیجه‌گیری: با مقایسه منحنی‌های رشد می‌توان نتیجه گرفت، عصاره گیاه رزماری بیشترین اثرات کاهشی را در روند رشد باکتری O157 داشته است. عصاره‌های الکلی علف چای و کاجیره اثرات کاهشی قابل‌ملاحظه‌ای بر مراحل رشد باکتری O157 نداشته است. بررسی اثرات عصاره‌های گیاهی بر منحنی رشد باکتری می‌تواند در خصوص استفاده از این مواد در مبارزه با باکتری‌های بیماری‌زا در مراحل مختلف ایجاد بیماری درک مناسبی را ایجاد کند.

واژه‌های کلیدی: رزماری، علف چای، کاجیره، اشرشیاکلی O157، منحنی رشد باکتری

1- (نویسنده مسئول) استادیار گروه آموزشی زیست‌شناسی، عضو گروه تحقیقاتی بیوتکنولوژی سلولی ومولکولی، پژوهشکده فناوری زیستی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد

تلفن: ۰۵۱۱-۸۷۹۷۰۲۲، دورنگار: ۰۵۱۱-۸۷۶۲۲۲۷، پست الکترونیکی: mashrghi@ferdowsi.um.ac.ir

2- کارشناس ارشد، گروه آموزشی زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-10-30]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.2.7.6]

مقدمه

افزایش بیماری‌هایی که در اثر مصرف غذاهای آلوده به باکتری‌های بیماریزا یا توکسین آنها ایجاد می‌شوند سال‌های زیادی است که به عنوان یک موضوع مهم و حیاتی برای بهداشت عمومی در نظر گرفته می‌شود. باکتری‌ها بیشتر از دیگر عوامل بیماری‌زایی که به وسیله غذا منتقل می‌شوند سبب بروز و شیوع بیماری شده‌اند. باکتری‌هایی مانند سالمونلا، لیستریا مونوسیتوژنز و اشرشیاکلی بیشترین بیماری و مرگ را سبب شده‌اند. علاوه بر مرگ و میر بالایی که این باکتری‌ها ایجاد می‌کنند، هزینه زیادی نیز برای درمان بیماری‌های حاصل از غذاهای آلوده صرف می‌گردد به عنوان مثال در کانادا این هزینه به ۵۰۰ میلیون دلار رسیده است [۱].

باکتری اشریشیاکلی O157 یک سویه انتروهوموراژیک است که از نظر بهداشت عمومی از اهمیت جهانی برخوردار می‌باشد [۲]. این سویه ابتدا در آمریکای شمالی در سال ۱۹۸۲ در طی یک بررسی اپیدمولوژیکی به عنوان عامل شیوع بیماری کلیت خونریزی‌دهنده (hemorrhagic colitis) شناسایی گردید [۳].

از سال ۱۹۸۰ این سویه از اشریشیاکلی به مقدار زیادی در شیوع بیماری‌های کلیت خونریزی‌دهنده و سندرم اورمی همولیتیک (hemolytic uremic syndrome) نقش داشته است. این سویه به طرق مختلف می‌تواند به انسان سرایت کند که مهم‌ترین آن مصرف آب و غذاها خصوصاً گوشت گاو ناپخته یا کم‌پز می‌باشد. البته این سویه می‌تواند مستقیماً در نتیجه تماس از حیوان به انسان یا از انسان به انسان نیز منتقل گردد [۴].

امروزه عوامل ضد میکروبی مختلفی شامل محافظت کننده‌های غذایی و اسیدهای آلی برای جلوگیری از آلودگی مواد غذایی به عوامل بیماری‌زا و طولانی کردن زمان مصرف غذاها استفاده می‌شود [۵]. در این میان مشخص شده است که بسیاری از ترکیبات طبیعی موجود در گیاهان دارویی دارای خواص ضد میکروبی بوده و به عنوان یک عامل ضد میکروبی می‌تواند بر علیه پاتوژن‌های غذایی به کاربرده شود. در تحقیقی که توسط Kermanshahi و همکاران صورت گرفت، اثرات ضدمیکروبی غلظت‌های مختلف (۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ گرم در میلی‌لیتر) عصاره گیاهی کاجیره یا گلرنگ C. tinctorius را بر سویه معمول اشرشیاکلی و چند باکتری گرم منفی و مثبت دیگر مورد بررسی قرار دادند [۶] و مشخص شد مقدار غلظت ۱ گرم در میلی‌لیتر دارای اثر بازدارندگی می‌باشد.

سه گیاه دارویی رزماری R. officinalis علف چای H. perforatum و کاجیره یا گلرنگ Carthamus tinctorius در این تحقیق برای بررسی اثرات ضدمیکروبی آنها انتخاب گردیدند. گیاه رزماری با نام علمی Rosmarinus officinalis L. متعلق به خانواده نعناعیان (Lamiacea) می‌باشد و به عنوان ادویه و گیاه دارویی در بسیاری از کشورها معروفیت عام دارد. این گیاه کاربردهای پزشکی متفاوتی دارد که از جمله آن‌ها خاصیت ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی آن می‌باشد [۸-۷]. همچنین خاصیت ضد جهش‌زایی آن شناخته شده است [۹] و مشاهده شده که اثر سمی بر روی تکامل جنینی در موش ندارد [۱۰]. Del Campo و همکاران [۷] اثر عصاره رزماری را بر چندین میکروارگانیسم بیماری‌زا از قبیل لوکونوستوک مزانتروئیدس، لیستریا منوسایتوژنس، استافیلوکوکوس

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-10-30]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.2.7.6]

اورئوس، استرپتوکوکوس موتانس و باسیلوس سرئوس بررسی نمودند. نتایج نشان داد که حداقل غلظت بازدارنده (MIC) عصاره اتانولی رزماری برای باکتری‌های مختلف متفاوت بوده و از ۰/۰۶٪ برای باسیلوس سرئوس شروع شده و به ۰/۱٪ برای لوکونوستوک مزانتروئیدس می‌رسد. البته تحقیقاتی که توسط Angioni و همکارانش [۱۱] بر روی اثرات روغن‌های ضروری یا آروما (Essential oils) یک نمونه رزماری (Sardinian Rosmary) انجام شد نشان داد که این نمونه از رزماری اثرات بازدارندگی قابل‌توجهی بر روی باکتری‌های بیماری‌زای مهم مانند استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و اشریشیاکلی نداشته است در صورتی که محققین دیگری اثرات بازدارنده نمونه دیگری از رزماری (Argentinian Rosmary) را بر قارچ‌ها گزارش نموده‌اند [۱۲]. همچنین Okoh و همکاران [۱۳] بر روی اثرات ضدباکتریایی گیاه رزماری مطالعاتی را انجام دادند. نتایج آزمایشات آنها نشان داد که اسانس روغنی گیاه رزماری تنها در محدوده غلظتی مشخصی اثرات ضدمیکروبی قابل‌ملاحظه ای بر روی باکتری‌های مورد آزمایش داشته است.

گیاه علف چای با نام علمی Hypericum perforatum L. یک علف چند ساله است که از جنبه‌های شیمیایی و بیولوژیکی با ارزش می‌باشد. کاربرد این گیاه در درمان بیماری‌های عفونی در گزارشات متعددی ذکر شده است به طوری که ترکیبات نووایمانین (Novoimanine) و ایمانین (Imanine) تهیه شده از این گیاه به طور گسترده‌ای بر علیه عفونت‌های استافیلوکوک اورئوسی تجویز شده است و مشخص شده که از داروهای سولفانامیدی مؤثرتر می‌باشد [۱۴]. اثرات ضدباکتریایی سه نوع پماد حاوی روغن H. perforatum نیز مورد بررسی قرار گرفته است که نتایج نشان داد این پماد کاربرد مناسبی در ناحیه پوست و واژن بر علیه شش سویه باکتریایی استرپتوکوکوس پیوژن (دوسویه)، استرپتوکوکوس ویریدنس، میکروکوکوس لوتئوس ATCC9341، موارکسلا کاتارالیس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس دارد [۱۴]. همچنین عصاره‌ها و قطعاتی که از بخش‌های هوایی گل‌زای گیاه H.perforatum به دست آمده بود بر علیه نمونه‌های استاندارد و کلینیکی هلیکوباکتری پیلوری مورد ارزیابی قرار گرفت و مشخص گردید که در غلظت‌های بین ۱/۹۵ و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره فعالیت ضدباکتریایی دارد [۱۵].

کاجیره با نام علمی Carthamus tinctorius L در فارسی به نام‌های دیگر مانند گلرنگ نیز معروف می‌باشد. این گیاه عمدتاً به خاطر روغن و رنگ آن مورد توجه می‌باشد، البته از جنبه دارو و درمان نیز ارزش زیادی دارد و باعث گردش مناسب جریان خون و کاهش ایست قلبی می‌گردد [۱۶]. در سالیان اخیر گلچه خشک شده گیاه کاجیره برای درمان بیماری‌های زنان، کوفتگی‌ها، بیماری‌های قلبی و عروقی، فشارخون، دیابت و پوکی استخوان (استئوپروزیس) به کار رفته است [۱۸-۱۷]. با توجه به تحقیقات انجام شده در خصوص اثرات عصاره‌های گیاهان فوق بر باکتری‌های مختلف، در این تحقیق اثرات عصاره الکلی آنها بر سویه خاص E.coli O157 مورد بررسی قرار گرفت. از اهداف دیگر انجام این تحقیق انتخاب گیاه دارویی مناسب با غلظت مشخص برای مقابله با عفونت‌های ایجاد شده توسط سویه خاص E.coli O157 می‌باشد. بر این اساس در تحقیق حاضر سعی گردید در خصوص اثرات ضدمیکروبی عصاره الکلی گیاهان بومی منطقه در محدوده غلظتی مشخص بر سوش اختصاصی از

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-10-30]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.2.7.6]

اشرشیاکلی که با سویه‌های معمول E.coli از نظر بیماری‌زایی و ژنتیکی متفاوت می‌باشد، بررسی‌های لازم صورت گیرد.

موا د و روش‌ها

این پژوهش آزمایشگاهی در آزمایشگاه میکروبیولوژی و بیوتکنولوژی میکروبی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شده است. در این بررسی رشد باکتری (منحنی رشد) در محیط کشت مایع در شرایط معمول و در حضور غلظت‌های مختلف عصاره گیاهی مورد مطالعه قرار گرفته است. در هر آزمایش جهت انجام محاسبات آماری و دقت در نتایج از ۳ تکرار استفاده گردیده است. سویه باکتری E.coli O157 NCTC1290 از دپارتمان میکروبیولوژی پزشکی دانشگاه آبردین انگلستان سفارش و ارسال گردیده است. نمونه‌های گیاهی با همکاری هرباریوم و آزمایشگاه سیستماتیک گیاهی دانشکده علوم پایه و پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد جمع‌آوری و شناسایی گردید.

عصاره‌گیری: ۲۰ گرم از سرشاخه‌های گلدار و برگ‌های گیاه علف چای و۲۰ گرم از برگ‌های گیاه رزماری توزین و سپس به منظور حذف میکروارگانیسم‌های احتمالی به مدت ۲۰ دقیقه در محلول ضدعفونی‌کننده و میکروب کش بنزل کونیوم کلراید ۱۰٪ قرار گرفتند. پس از چندبار آبکشی جهت حذف اثرات ماده ضدعفونی‌کننده، باقیمانده‌های گیاهی در دو ارلن استریل قرار گرفته و به آنها ۱۰۰ میلی‌لیتر الکل ۹۸٪ به منظور حل کلیه قسمت‌های گیاه اضافه گردید. در مورد گیاه کاجیره ۱۰ گرم از پودر سرگل گیاه را به روش تندالیزاسیون کاملاً استریل نموده و سپس ۱۰۰ میلی لیتر الکل ۹۸٪ به آن اضافه گردید. سپس هر سه ارلن مربوط به گیاهان کاجیره، علف چای و رزماری ا به مدت ۴۸ ساعت درون شیکر قرار داده شدند تا در دمای ۳۵ سانتی گراد حلال اثر خود را اعمال کند و در ادامه از دستگاه روتاری جهت حذف حلال استفاده گردید. در نهایت عصاره‌های سه گیاه فوق در آب مقطر استریل حل گردیدند و به منظور جلوگیری از اثر نور و گرما در ظروفی استریل با پوشش ورق آلومینیوم تا زمان آزمایش در یخچال نگهداری گردید. برای اطمینان از استریل بودن چند قطره از هر عصاره به محیط کشت اضافه گردید و کدورت محیط کشت بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت بررسی شد [۱۹].

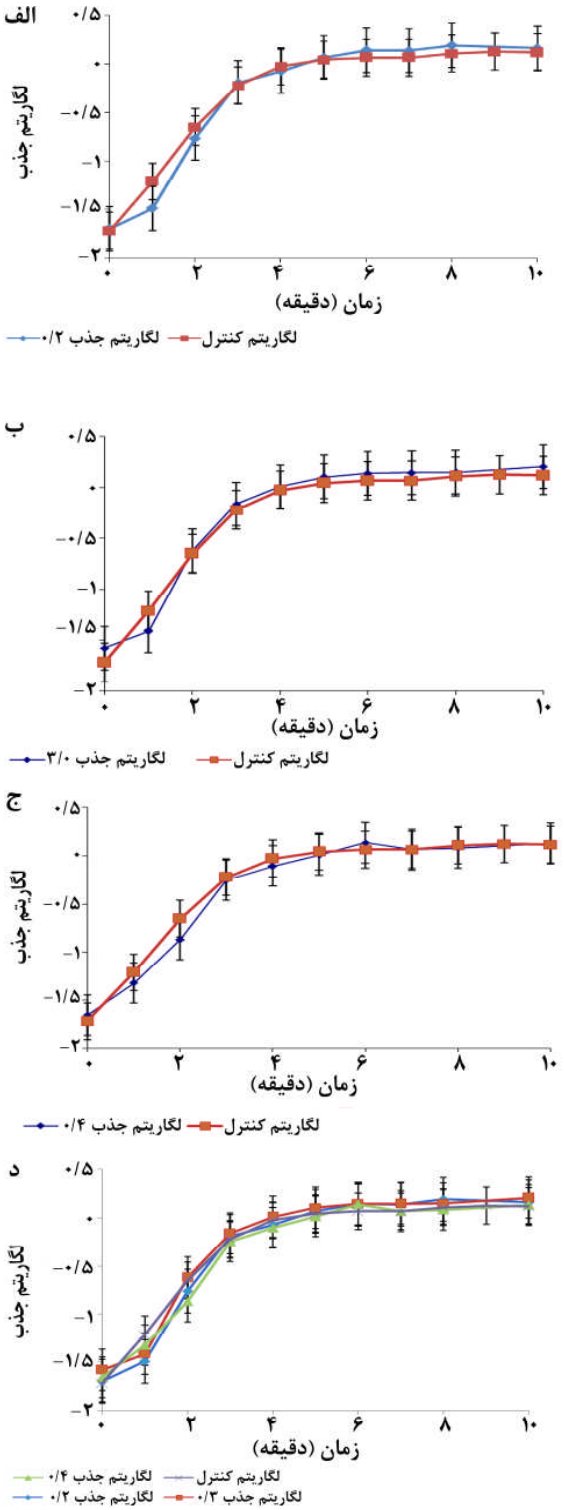
تعیین هاله عدم رشد: از دو نوع (پلیت بزرگ به قطر۱۲ سانتی‌متر و کوچک به قطر ۸ سانتی‌متر) حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار برای این آزمایش استفاده گردید. سپس ۴ تا ۵ چاهک به ظرفیت ۰/۴ میلی‌لیتر به وسیله پانچ استریل با فاصله مشخص و قطرهای یکسان ایجاد شد. بنابر این براساس اندازه قطر پلیت‌ها تقریباً تعداد ۳ عدد پلیت برای هر غلظت بکار برده شد. سپس چاهک‌ها با حجم‌های مختلفی از نمونه عصاره‌های گیاهی (۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴، تا ۱ گرم در میلی‌لیتر) پر شدند و پس از ۲۴ ساعت قرار دادن پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، قطرهاله عدم رشد بررسی شد. غلظت‌هایی که بیشترین هاله عدم رشد را ایجاد کرده بودند برای آزمایشات بعدی مورد استفاده قرار گرفتند [۱۹].

طیف سنجی (Spectrophotometery): اثرات عصاره‌های آنها بر رشد باکتری E.coli O157 به روش اسپکتروفتومتری مورد مطالعه قرار گرفت. مزیت روش اسپکتروفتومتری که در این تحقیق بکار رفته است بر

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-10-30]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.2.7.6]

روش‌های معمول مانند چاهک پلیت این است که علاوه بر اثر بازدارندگی یک ماده ضدمیکروبی می‌توان اثر آن را بر روند رشد باکتری مورد بررسی قرار داد. برای تعیین منحنی رشد و اثر عصاره بر روی این منحنی از محیط کشت مایع مغذی (Merck, Darmstadt, Germany) استفاده گردید [۲۰] . سپس به منظور هم دما شدن و مخلوط شدن اکسیژن از یک روز قبل، ارلن‌های حاوی محیط کشت درون شیکر (۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۲۰۰ دور در دقیقه) قرار گرفتند. یک لوپ از کشت خالص باکتری اشرشیاکلی O157 ا یک روز قبل به محیط کشت مایع مغذی تلقیح شده و با سایر ارلن‌ها در شرایط مساوی قرار داده شد. در روز بعد به میزان ۰/۳ میلی‌لیتر از محیط کشت حاوی باکتری به سایر ارلن‌ها به طور مساوی تلقیح گردید. سپس برای غلظت‌های انتخابی (۰/۲ ، ۰/۳ و ۰/۴ گرم در میلی‌لیتر) هر عصاره ۳ ارلن تهیه شد (جهت محاسبه میانگین از سه تکرار استفاده گردید). انتخاب محدوده غلظت (۰/۲ تا ۰/۴ گرم در میلی‌لیتر) بر اساس آزمایش چاهک پلیت (انتشار در آگار) بوده است به طوری که آزمایشات انجام شده نشان داد که درخارج از این محدوده غلظتی، هیچ‌گونه هاله عدم رشدی مشاهده نگردید. علاوه بر این، ارلن‌های شاهد حاوی باکتری و بدون عصاره و دیگری حاوی عصاره و بدون باکتری نیز به عنوان کنترل‌های مثبت و منفی در نظر گرفته شدند. به فاصله هر یک ساعت، کدورت محیط کشت (Absorbance) هر یک از ارلن‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Biochrom WPA Lightwave UV/Vis Spectrophotometer, UK) اندازه‌گیری و نمودار مربوطه رسم گردید [۲].



نمودار۱- تأثیر غلظت‌های مختلف ۰/۲ (الف)، ۰/۳ (ب)، ۰/۴ (ج) میلی‌لیتر عصاره الکلی گیاه رزماری Rosmarinus officinalis بر مراحل رشد باکتری Ecoli O157. مقایسه اثر غلظت‌های مختلف بر رشد باکتری در مقایسه با کنترل در نمودار"د" نشان داده شده است.

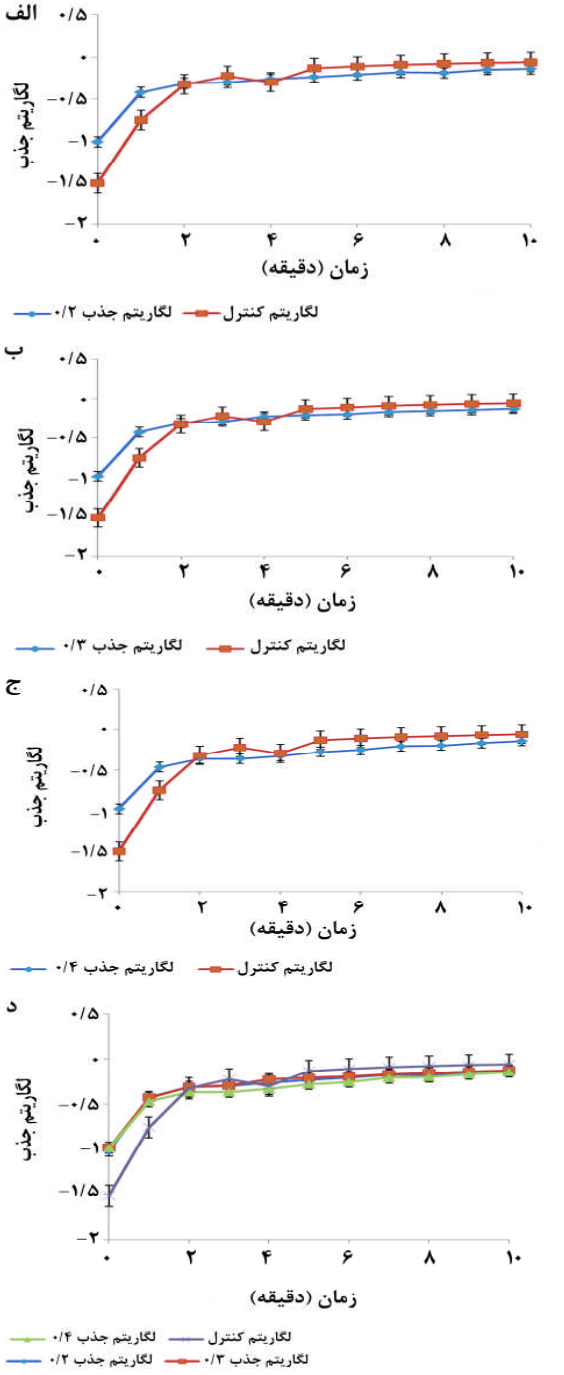
[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-10-30]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.2.7.6]

محاسبات آماری: رسم نمودارها و محاسبه انحراف معیار و خطای بار برای هر نقطه از منحنی با استفاده از برنامه نرم‌افزاری Excel انجام پذیرفت. جهت بررسی اختلاف معنی‌دار بین اثرات ضد میکروبی غلظت‌های مختلف عصاره یک گیاه و گیاهان مختلف از برنامه آنالیز واریانس (ANOVA) استفاده گردید.

نتایج

اثرات عصاره الکلی گیاه رزماری R. officinalis: به طور کلی اختلاف معنی‌داری بین اثرات غلظت‌های متفاوت عصاره الکلی گیاه رزماری (۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ گرم در میلی‌لیتر) بر مراحل مختلف رشد باکتری اشرشیاکلی O157 مشاهده نگردید (نمودار ۱- د). در هر سه غلظت مورد استفاده، در ساعات اولیه رشد باکتری یعنی در ۳ ساعت اولیه، تراکم باکتری در حضور عصاره بیشتر می‌باشد. اما بعد از گذشتن ۴ ساعت از رشد باکتری، تراکم باکتری در حضور عصاره با غلظت‌های ۰/۲ و ۰/۳ (نمودار ۱- الف و ب) نسبت به کنترل کاهش نسبی مشاهده می‌گردد. در مقایسه، این کاهش نسبی در غلظت ۰/۴ (نمودار ۱- ج) نسبت به دو غلظت دیگر بیشتر بوده است. همچنین از مشاهدات به دست آمده این نتیجه‌گیری را می‌توان استنباط نمود که عصاره مزبور در مراحل اولیه رشد باکتری تأثیر چندانی نداشته و اثرات آن در هنگام رشد و تکثیر باکتری بیشتر بروز می‌کند.

اثرات عصاره الکلی گیاه علف چای: تفاوت میزان رشد باکتری در حضور و عدم حضور غلظت‌های مختلف عصاره الکلی گیاه علف چای نسبت به رزماری کمتر می‌باشد (نمودار ۲- الف تا د). به عبارت دیگر به جز مراحل اولیه رشد هیچ‌گونه اختلافی حتی بصورت کاهش نسبی نیز بین میزان رشد باکتری در حضور و عدم حضور باکتری در غلظت‌های ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ گرم در میلی‌لیتر عصاره الکلی علف چای وجود نداشت و منحنی‌های رشد تقریباً بر یکدیگر منطبق می‌باشند.

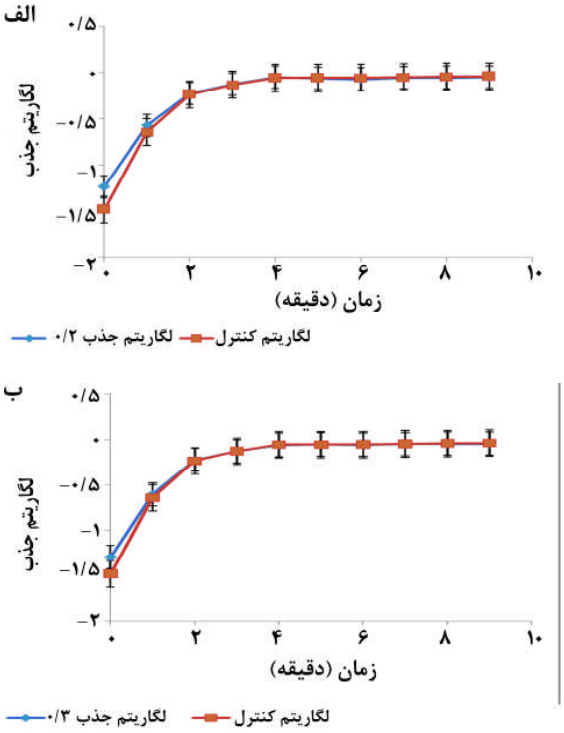


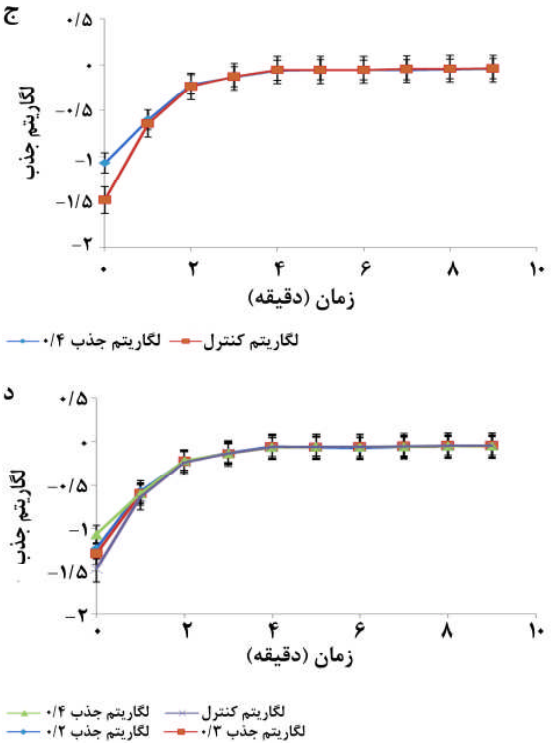
نمودار ۲- تأثیر غلظت‌های مختلف ۰/۲ (الف)، ۰/۳ (ب)، ۰/۴ (ج) میلی‌لیتر عصاره الکلی گیاه علف چای بر مراحل رشد باکتری Ecoli O157 . مقایسه اثر غلظت‌های مختلف بر رشد باکتری در مقایسه با کنترل در نمودار"د" نشان داده شده است.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-10-30]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.2.7.6]

اثرات عصاره الکلی گیاه کاجیره: غلظت‌های مختلف عصاره الکلی گیاه کاجیره نیز اثرات کاهشی را بر رشد باکتری اشرشیاکلی O157 نشان نداد (نمودار ۳ – الف تا د). تنها تفاوتی که بین اثرات غلظت‌های مختلف گیاه کاجیره در مقایسه با کنترل مشاهده می‌شود بین میزان رشد باکتری اشرشیاکلی O157 در یک ساعت اول رشد می‌باشد که این اختلاف در غلظت ۰/۴ (نمودار ۱- ج) به مراتب بیشتر از دو غلظت دیگر می‌باشد (نمودار ۱- الف و ب). البته این اختلاف بر خلاف فرض معمول می‌باشد زیرا در حضور عصاره باکتری تراکم بیشتری را نشان داده است.

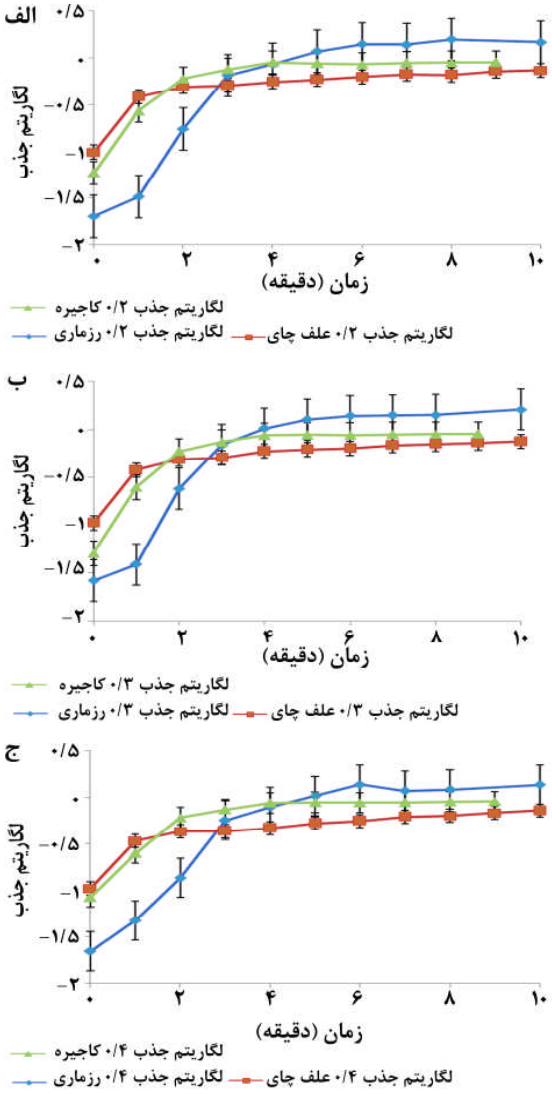




نمودار۳- تاثیر غلظت‌های مختلف ۰/۲(الف)، ۰/۳(ب)، ۰/۴(ج) میلی‌لیتر عصاره الکلی گیاه کاجیره بر مراحل مختلف رشد باکتری Ecoli O157. مقایسه اثر غلظت‌های مختلف بر رشد باکتری در مقایسه با کنترل در نمودار"د" نشان داده شده است.

نتایج تجزیه واریانس بین غلظت‌های مختلف هر گیاه نشان داد که اختلاف معنی‌دار آماری بین اثرات غلظت‌های به کار برده شده بر باکتری مزبور در این تحقیق وجود ندارد. سعی گردید معنی‌دار بودن اختلاف بین غلظت‌های مشابه (۰/۲ ، ۰/۳ و ۰/۴ گرم در میلی‌لیتر) در سه گیاه منتخب در این تحقیق نیز با تجزیه و تحلیل آماری علاوه بر مشاهدات نموداری مشخص گردد. نتایج آنالیز آماری اختلاف معنی‌داری را بین غلظت‌های مشابه از گیاهان مختلف نشان نداد.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-10-30]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.2.7.6]



نمودار ۴- بررسی مقایسه‌ای تأثیر غلظت‌های متفاوت ۰/۲ (الف) ۰/۳ (ب) ۰/۴ (ج) عصاره‌های الکلی گیاهان رزماری، علف چای و کاجیره بر مراحل رشد باکتری اشرشیاکلی O157.

بحث

نتایج نشان داد که عصاره‌های الکلی علف چای و کاجیره اثرات کاهشی بر مراحل رشد باکتری اشرشیاکلی O157 نداشته است اگرچه در روش چاهک پلیت هاله عدم رشد مشاهده گردیده بود. افزایش غلظت در محدوده ۰/۲ تا ۰/۴ نیز اثرات کاهشی را افزایش نداده است. اثر ضدمیکروبی کاجیره یا گلرنگ (safflower) در تحقیقی دیگر بر روی باکتری E.coli O157:H7 به روش چاهک پلیت نتایج مشابهی را نشان داد به طوری که هاله عدم رشدی مشاهده نگردید [۲۱]. اثرات ضدمیکروبی ۱۹ عصاره گیاهی از جمله Carhamus tinctorius بر روی دو باکتری پروپیونی باکتریوم اکنه (Propionibacterium acnes) و استافیلوکوکوس اورئوس (Staphylococcus aureus) نشان داد که این گیاه تنها در غلظت‌های بیشتر از ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثرات ضدمیکروبی داشته است که در مقایسه با ۱۹ گیاه دیگر تقریباً بی‌اثر تشخیص داده شده است [۲۲].

خواص پزشکی ترکیبات شیمیایی شناخته شده گیاه علف چای توسط Sadiqqe و همکارانش [۱۴] در جدولی لیست گردیده است. بر اساس این جدول ترکیب هایپرفورین (Hyperforin) این گیاه بر باکتری‌های گرم مثبت اثر ضدمیکروبی مؤثرتری داشته است. مؤثرتر بودن عصاره گیاهی علف چای بر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی در گزارشات دیگر نیز آمده است [۲۳-۲۴]. بررسی‌های جداگانه نتایج آزمایشات در این تحقیق نشان داد که عصاره گیاه رزماری بیشترین اثرات کاهشی را در روند رشد باکتری اشرشیاکلی O157 در ساعت سوم به بعد داشته است، اگرچه بین غلظت‌های مختلف تفاوتی مشاهده نگردید. در تحقیقی عصاره رزماری کیتوسان و آلفاتکوفرول به طور جداگانه و مخلوط به سوسیس گوشت اضافه گردید و پارامترهای میکروبیولوژیکی از جمله شمارش انتروباکتریاسه‌ها و سودوموناس مورد بررسی قرار گرفتند [۲۵] و مشخص گردید که بهترین اثر ضدمیکروبی و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به اثرات مخلوط رزماری و کیتوسان می‌باشد. در بررسی بر روی گیاهان متعددی که به صورت

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-10-30]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.2.7.6]

دم کرده استفاده می‌شوند مشخص گردید که عصاره گیاه رزماری مؤثرترین عامل ضدمیکروبی بر علیه باکتری Streptococcus sorbinus می‌باشد [۲۶].

با مشاهده نمودارهای مربوط به اثرات غلظت‌های مشابه عصاره‌های الکلی گیاهان مورد آزمایش بر باکتری اشرشیاکلی O157 (نمودار ۴- الف تا ج) دو مرحله را به تفکیک می‌توان مورد بررسی قرار داد. مرحله اول در سه ساعت اولیه رشد یعنی بین زمان ۰ تا ۳ می‌باشد و مرحله دوم که از ساعت سوم به بعد را شامل می‌شود. در سه ساعت اولیه در هر سه غلظت مشاهده می‌شود که باکتری اشرشیاکلی O157 در حضور عصاره الکلی گیاه رزماری رشد کمتری نسبت به دو گیاه دیگر داشته است و در این میان کمترین اثر مربوط به عصاره الکلی گیاه علف چای می‌باشد. عصاره الکلی گیاه کاجیره در حد وسط قرار گرفته است که البته میزان اثر آن بر رشد باکتری به میزان اثر عصاره الکلی گیاه علف چای نزدیک‌تر است تا رزماری به طوری که در غلظت ۰/۴ خیلی به یکدیگر نزدیک می‌گردند. از ساعت سوم به بعد یعنی تا ۱۰ ساعت بعد از رشد، این تغییرات حالت معکوس پیدا می‌کند و کاهش رشد باکتری O157 در حضور عصاره الکلی علف چای بیشتر از دیگر عصاره‌ها می‌باشد. عصاره الکلی رزماری در هر سه غلظت کمترین اثر را بر رشد باکتری در این مرحله داشته است اما اختلاف اثر آن در غلظت ۰/۴ نسبت به دو غلظت دیگر در مقایسه به اثرات دو عصاره الکلی دیگر کمتر بوده است. جالب توجه است که رشد باکتری در حضور عصاره الکلی کاجیره در این مرحله نیز ما بین اثرات دو عصاره الکلی دیگر (رزماری و علف چای) می‌باشد با این تفاوت که بر خلاف دو گیاه رزماری و علف چای در طول زمان اثرات کاهشی عصاره الکلی گیاه کاجیره افزایش می‌یابد. اگرچه مقایسه اثرات هر غلظت (نمودارهای ۴-الف تا ج) نتایج متفاوتی را با بررسی جداگانه آنها نشان می‌دهد. اما متفاوت بودن اثر عصاره گیاه رزماری از دو گیاه علف چای و کاجیره را مشخص می‌نماید. مقایسه منحنی‌های رشد باکتری E.coli O157 در حضور غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهی رزماری، علف چای و کاجیره نشان می‌دهد که عصاره گیاه رزماری اثرات کاهشی قابل ملاحظه‌ای در ۴ ساعت اولیه رشد باکتری داشته است در صورتی که اثرات ضدمیکروبی عصاره علف چای بیشتر در مراحل پایانی منحنی رشد باکتری نمودار می‌گردد.

نتیجه‌گیری

به طور کلی در بررسی اثرات غلظت‌های بین ۰/۲ تا ۰/۴ گرم در میلی‌لیتر عصاره‌های الکلی سه گیاه علف چای رزماری و کاجیره بر روند رشد باکتری E.coli O157، اثر بازدارندگی مشاهده نگردید. البته بررسی منحنی رشد باکتری در حضور عصاره الکلی گیاهان دارویی ایده جدیدی از اثرات این مواد مؤثره ضد باکتریایی ایجاد می‌کند که در کنار نتایج به دست آمده از روش‌های معمول مانند چاهک پلیت و حداقل غلظت بازدارنده از رشد (Minimum Inhibitory Concentration) می‌تواند در استفاده بهینه از مواد نقش مفیدی داشته باشد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد برای تأمین هزینه‌های این پژوهش (شماره پژوهه: ۴۰۸۳۹) تشکر و قدردانی می‌گردد. همچنین مؤلفان از سرکار خانم ملایی و آقای بصیری که در جمع‌آوری گیاهان و شناسایی آنها و آقای پروفسور Pennington از دانشگاه آبردین که در ارسال سویه E.coli O157 همکاری نمودند کمال تشکر و سپاسگزاری را دارند.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-10-30]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.2.7.6]

References

[1] Todd, EC. Preliminary estimates of costs of food borne disease in Canada and costs to reduce Salmonellosis. *J Food Protect* 1989; 52: 586-94.

[2] Cornu M, Delignette-Muller ML, Flandrois JP. Characterization of unexpected growth of Escherichia coli O157:H7 by modeling. *Appl Environ Microbiol* 1999; 65(12): 5322-**7**.

[3] Riley LW, Remis RS, Helgerson SDT, MC Gee HB, Wells JG, Davis BR,.et al Hemorrhagic colitis associated with a rare Escherichia coli serotype. *N Engl J Med* 1983; 308(12): 681-5.

[4] Armstrong GL, Hollingsworth J, Morris JG. Jr.Emerging foodborne pathogens: Escherichia coli O157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world. *Epidemol Rev* 1996; 18(1):29-51.

[5] kim J, Marshall MR, Wei C-i. Antibacterial activity of some essential oil components agains five food borne pathogens. *J Agric Food Chem* 1995; 43: 2839-45**.**

[6] Kermanshahi R, Moatat F, Solimanimanesh A. Evaluation of antibacterial effects of water and alcoholic extract of Carthamus on some of bacteria. *Shahid Chamran Univ J Sci* 2006; 15(B): 18-25. [Farsi]

[7] Del Campo J, Amiot MJ, Nguyen-The C. Antimicrobial effect of rosemary extracts. *J Food Prot* 2000; 63(10): 1359–68.

[8] Ozcan M. Antioxidant activities of rosemary, sage, and sumac extracts and their combinations on stability of natural peanut oil. *J Med Food* 2003; 6(3): 267–70.

[9] Minnunni M, Wolleb U, Mueller O, Pfeifer A, Aeschbacher HU. Natural antioxidants as inhibitors of oxygen species induced mutagenicity. *Mutat Res* 1992; 269(2): 193–200.

[10] Lemonica IP, Demasceno DC, di-Stasi LC. Study of the embryotoxic effects of an extract of rosemary (Rosmarinus officinalis L.). *Braz J Med Bio Res* 1996; 29(2): 223-7.

[11] Angioni A, Barra A, Cereti E, Barile D, Coisson JD, Arlorio M,et al. Chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of Rosmarinus officinalis L. *J Agric Food Chem* 2004; 52(11): 3530-5

[12] Larra`n S, Ringuelet J A, Carranza MR, Henning CP, Re` MS, Cerimele EL, *et al*. In vitro fungistatic effect of essential oils against Ascosphaera apis. *J Ess Oil Res* 2001; 13: 122-4**.**

[13] Okoh OO, Sadimenko AP, Afolayan AJ. Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. *Food Chem* 2010; 120:308-12**.**

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-10-30]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.2.7.6]

[14] Saddiqe Z, Naeem I, Maimoona A. A review of the antibacterial activity of Hypericum perforatum L. *J Ethnopharmacol* 2010; 131(3):511-21.

[15] Yesilada E, Gurbuz I, Shibata H. Screening of Turkish anti-ulcerogenic folk remedies for anti-Helicobacter pylori activity. *J Ethnopharmacol* 1999; 66(3): 289-93.

[16] Ekin Z. Resurgence of safflower (Carthamus tinctorius L.) Utilization: A Global view. *J Agron* 2005; 4 (2): 83-7.

[17] Zhaomu W, Lijie D. Current situation and prospects of safflower products development in China. 5th *Intl. Safflower Conf*., 23-27 July 2001, USA pp, 315-20.

[18] Kim HJ, Bae YC, Park RW, Choi SW, Cho SH, Choi YS, *et al*. Bone-protecting effect of safflower seeds in ovariectomized rats. *Calcif Tissue Intl* 2002; 71: 88-94.

[19] Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS, Trevino EA. Methods for testing antimicrobial effectiveness. In: Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. (Eds E.J. Baron, L.R. Peterson and S.M. Finegold), Mosby Co: St Louis, Missouri, 1990; pp: 171-94.

[20] Smith RP, Baltch AL, Michelsen PB, Ritz WJ, Alteri R. Use of the microbial growth curve in postantibiotic effect studies of *Legionella pneumophila*. *Antimicrob Agents Chemo* 2003; 47(3):1081-7.

[21] Stonsaovapak S, Chareonthamawat P, Boonyaratanakornkit M. Inhibitory Effects of Selected Thai Spices and Medicinal Plantson Escherichia coli O157 : H 7 and Yersinia enterocolitica.Kasetsart J. (Nat Sci) 2000; 34(4): 510-7.

[22] Chomnawang MT, Surassmo S, Nukoolkarn VS, Gritsanapan W. Antimicrobial effects of Thai medicinal plants against acne-inducing bacteria. *J Ethnopharmacol* 2005; 101(1-3): 330-3.

[23] Reichling J, Weseler A, Saller R. A current review of the antimicrobial activity of Hypericum perforatum L. *Pharmacopsychiatry* 2001; 34(Suppl 1): S116-S8.

[24] Avato P, Raffo F, Guglielmi G, Vitali C, Rosato A. Extracts from St. John's Wort and their antimicrobial activity. *Phytother Res* 2004;18(3): 230-2.

[25] Georgantelis D, Ambrosiadis I, Katikou P, Blekas G, Georgakis SA. Effect of rosemary extract, chitosan and a-tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. *Meat Sci* 2007; 76(1): 172–81.

[26] Tsai P-J, Tsai T-H, Hoa S-C. In vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of Streptococcus sobrinus. *Food Chem* 2007; 105: 311-6.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-10-30]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.2.7.6]

Comparison of the Antibacterial Effects of Various Concentrations of Alcoholic Extracts of *Rosmarinus officinalis, Hypericum perforatum and Carthamus tinctorius* on the Growth Phases of *Esherichia coli O157*

M. Mashreghi[1], F. Momtazi[2]

Received: 19/04/2011 Sent for Revision: 25/05/2011 Received Revised Manuscript: 29/08/2011 Accepted: 05/09/2011

Background and Objectives: Medicinal plants have many therapeutic properties including antimicrobial effects with minimum side effects. The purpose of this study was to investigate the antibacterial effects of alcoholic extracts of three medicinal plants; *Rosmarinus officinalis, Hypericum perforatum, and Carthamus tinctorius* on the growth curve of *E.coli O157*. This strain is one of the most dangerous bacteria among gasterointestinal pathogenic micro-organisms.

Material and Methods: Leaves and dried flowering branches of *rosmary, hypericum and carthamus* were used for preparing various concentrations (0.2, 0.3 and 0.4 gr/ml) of alcoholic extracts. The antibacterial effects of these extracts against *E.coli O157* were investigated utilizing well assay technique and spectrophotmetery. Statistical analysis was carried out by analysis of variance (ANOVA).

Results: At the first three hours of the experiment, alcoholic extraction of rosmary had an inhibitory effect at all three concentrations comparing to the other two extracts. The *hypericum* extract showed the least effect at this stage. However, after the first stage of treatment, the reverse results were observed so that *E.coli O157* had the lowest growth rate at the presence of *hypericum* extract.

Conclusion: Based on the findings of this study, *rosmary* extract had a stronger antimicrobial effect and the other two extracs did not have substantial antibacterial effect on *E.coli O157* although, inhibition zones were previously determined. Further investigations in this regard may shed more light on the field of clinical applications af medicinal plants for treatment of infectious diseases.

Key words: *Rosmarinus officinalis, Hypericum perforatum, Carthamus tinctorius, E.coli O157,* Growth curve

Funding: This research was founded by Ferdowsi University of Mashhad.

Conflict of Interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Ferdowsi University of Mashhad approved the study.

How to cite this article: Mashreghi M, Momtazi F. Comparison of the Antibacterial Effects of Various Concentrations of Alcoholic Extracts of *Rosmarinus officinalis, Hypericum perforatum and Carthamus tinctorius* on the Growth Phases of *Esherichia coli O157. J Rafsanjan Univ Med scie* 2012; 11(2): 103-14. [Farsi]

1- Assistant Prof., Dept. of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Faculty Member of Cell and Molecular Biotechnology Research Group, Institute of Biotechnology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran (Corresponding Author) (0511) 8797022, Fax:(0511) 8762227, E-mail: mashrghi@ferdowsi.um.ac.ir

2- MSc, Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-10-30]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.2.7.6]