مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۱۳، خرداد ۱۳۹۳، ۲۸۰-۲۶۷

تأثیر روش استخراج عصاره اندام هوایی گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea Purpurea* L.) بر خاصیت ضد میکروبی آن در تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زا

زهرا ایزدی[۱]، علی سروش‌زاده[۲]، سیدعلی‌محمد مدرس‌ثانوی[۳]، محمود اثنی‌عشری[۴]، مجید آقاعلیخانی[۵]، پوراندخت داودی[۶]

دریافت مقاله: ۹۲/۳/۲۸ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۲/۴/۲۹ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۲/۱۲/۲۰ پذیرش مقاله: ۹۳/۱/۱۹

چکیده

زمینه و هدف: در سال‌های اخیر بر استفاده از مواد طبیعی مانند اسانس‌ها و عصاره‌ها به جای نگهدارنده‌های شیمیایی در صنعت غذا تأکید بیشتری شده است. هدف اصلی تحقیق حاضر تأثیر روش استخراج عصاره اندام هوایی گیاه دارویی سرخارگل بر خاصیت ضد میکروبی آن در تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه آزمایشگاهی در سال ۱۳۹۱ انجام گرفت. ترکیب‌های فنلی عصاره سرخارگل از طریق روش خیساندن و امواج مایکروویو با حلال‌های آب، متانول ۸۰٪ و استون استخراج و اندازه‌گیری شد. میکروارگانیسم‌های مورد پژوهش باسیلوس سرئوس، لیستریا مونوسیتوژنز، اشرشیاکلی، شیگلا دیسانتری و سودوموناس آئروژینوزا بودند. تجزیه آماری داده‌های آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۵ و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

یافته‌ها: عصاره متانولی در روش استخراج به کمک مایکروویو بیشترین میزان ترکیب‌های فنلی را به خود اختصاص داد، در حالی که عصاره استونی کمترین میزان ترکیب‌های فنلی را در هر دو روش استخراج شامل شد. در مقایسه دو روش استخراج، عصاره‌های مایکروویوی در مورد هر سه حلال مورد آزمون کارایی استخراج بالاتری داشتند. در بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره اندام هوایی سرخارگل، کمترین غلظت بازدارندگی و کمترین غلظت کشندگی در برابر باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس سرئوس و لیستریا مونوسیتوژنز حاصل شد. سودوموناس آئروژینوزا مقاوم‌ترین باکتری نسبت به عصاره‌ها بود.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که در بیشتر موارد عصاره‌های مایکروویوی نسبت به عصاره‌های استخراج شده با روش خیساندن، فعالیت ضد میکروبی بیشتری داشتند. بنابراین عصاره استخراج شده این گیاه به کمک امواج مایکروویو می‌تواند به عنوان یک نگهدارنده مواد غذایی مطرح شود. با وجود این انجام تحقیقات بیشتر در مدل‌های غذایی، اثرات ضد میکروبی آن را آشکارتر خواهد کرد.

واژه‌های کلیدی: عصاره سرخارگل، خواص ضد میکروبی، روش عصاره‌گیری

۱- دانشجوی دکتری زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۲- (نویسنده مسئول) دانشیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
تلفن: ۴۸۲۹۲۰۹۸-۰۲۱، دورنگار: ۴۸۲۹۲۲۰۰-۰۲۱، پست الکترونیکی: soroosh@modares.ac.ir
۳- استاد گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۴- استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
۵- دانشیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۶- استادیار گروه آموزشی بیماری‌های دهان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

مقدمه

بیماری‌های ناشی از مصرف غذاهای آلوده به باکتری‌های بیماری‌زا از اهمیت فراوانی در بهداشت عمومی برخوردار بوده است و سالانه خسارت مالی و جانی فراوانی را به جوامع تحمیل می‌نمایند [۱]. بنابراین کنترل رشد باکتری‌های بیماری‌زا در مواد غذایی از نظر قوانین استاندارد کیفی مواد غذایی و همچنین از نظر بهداشت و سلامت عمومی حائز اهمیت است. امروزه مقاومت در برابر داروهای ضد میکروبی به یک مشکل بزرگ جهانی تبدیل شده است، که ناشی از استفاده بی‌رویه داروهای ضد میکروبی است. این مقاومت آنچنان با اهمیت است، که در سال ۲۰۱۱ سازمان جهانی بهداشت عبارت "مقاومت به داروهای ضد میکروبی، یک تهدید جهانی" را به عنوان شعار سال برگزید [۲].

بشر از دیرباز برای افزایش مدت زمان ماندگاری مواد غذایی با استفاده از روش‌های مختلف به فکر کاهش یا حذف عوامل میکروبی بیماری‌زا در مواد غذایی بوده است. لذا نیاز به استفاده از نگهدارنده‌ها برای افزایش طول دوره نگهداری مواد غذایی ضروری به نظر می‌رسد. با وجود این که امروزه استفاده از مواد شیمیایی به منظور پیشگیری و به تعویق انداختن فساد مواد غذایی در تکنولوژی صنایع غذایی کاربرد وسیعی دارد اما درباره ایمنی مواد شیمیایی صنعتی به ویژه احتمال سرطان‌زایی و سمیت آن‌ها برای انسان، هنوز ابهاماتی وجود دارد. این نگرانی‌ها همراه با افزایش سطح آگاهی مصرف کنندگان در سطح جامعه جهانی، موجب شده است علاقه روز افزونی به استفاده از مواد نگهدارنده نظیر اسانس‌ها، عصاره‌ها و آنتی‌بیوتیک‌های طبیعی ایجاد گردد [۳]. خوشبختانه مشخص شده است که اغلب اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی استخراج شده از گیاهان دارای خواص ضد میکروبی می‌باشند [۴]. به منظور کاهش و یا حذف ترکیبات آنتی‌باکتریال و نگهدارنده‌های صناعی و جایگزینی با ترکیبات نگهدارنده طبیعی در صنایع غذایی، مطالعه این اثرات در مدل‌های آزمایشگاهی و سپس در مدل‌های غذایی ضروری است [۳].

در سال‌های اخیر عصاره‌های گیاهی متنوعی به عنوان عوامل ضد میکروبی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. یکی از این عصاره‌ها، عصاره اندام هوایی سرخارگل می‌باشد. سرخارگل (Echinacea purpurea L.) از جمله گیاهان دارویی مهمی است که کاربرد وسیعی در صنایع دارویی، آرایشی و بهداشتی دارد. اگرچه بومی ایران نیست، اما در سال‌های اخیر مورد توجه محققان بخش کشاورزی و باغبانی قرار گرفته است و در مزارع آزمایشی و تجاری کشور کشت و کار می‌شود. این گیاه علفی، چند ساله و متعلق به تیره میناسانان (گل ستاره) (Asteraceae) است و دارای ریزوم کوتاه و ریشه مستقیم و کم و بیش منشعب به رنگ قهوه‌ای تیره تا سفید مات است. ساقه این گیاه قائم و استوانه‌ای شکل بوده و رنگ آن به علت وجود آنتوسیانین سبز روشن، آبی و یا حتی قرمز رنگ می‌باشد [۵]. برگ‌های این گیاه پهن، نیزه‌ای و یا بیضوی شکل است، گل‌ها مخروطی شکل و در انتهای ساقه‌های اصلی و فرعی پدیدار می‌شوند [۶]. طول گلچه‌های زبانه‌ای ۴ تا ۶ و پهنای آن ۰/۵ تا ۰/۶ سانتی‌متر می‌باشد [۶]. در طب گیاهی، سرخارگل به دلیل خاصیت تحریک ایمنی آن شناخته شده است و در حال حاضر نیز به منظور پیشگیری و درمان سرماخوردگی معمولی و درمان سرفه، برونشیت و عفونت‌های ریوی و بیماری‌های مزمن ناشی از

نقص پاسخ ایمنی استفاده می‌شود [۷]. همچنین این گیاه فعالیت آنتی‌اکسیدانی یا ظرفیت خنثی‌سازی رادیکال آزاد را دارا می‌باشد که این ویژگی به اجزای پلی‌فنلی آن نسبت داده می‌شود [۸]. اخیراً سازمان بهداشت جهانی (WHO) نیز مصرف موضعی آن را علاوه بر موارد فوق، در درمان التهابات پوستی تأیید کرده است و همچنین به عنوان کاندیدای درمان بیماری ایدز مطرح می‌باشد [۹].

در سال‌های اخیر ویژگی‌های ضد میکروبی عصاره این گیاه شناخته شده و این خاصیت به وجود ترکیب‌های فنلی نسبت داده شده است [۹]. ترکیب‌های فنلی مختلفی در عصاره سرخارگل شناسایی شده که از جمله آن‌ها اکیناکوزید، کلرژنیک اسید، سینارین، کافئیک اسید و اسید شیکوریک (مهم‌ترین ترکیب فنلی) می‌باشد [۱۰]. تاکنون مطالعات چندی درباره خواص ضد میکروبی عصاره اندام هوایی این گیاه علیه برخی میکروارگانیسم‌ها انجام شده که در مورد استرپتوکوک پیوژنز، هموفیلوس آنفلوانزا، کلستریدیوم تتانی، لژیونلا پنوموفیلا و لاکتوباسیلوس پلانتاروم نتایج مطلوبی به دست آمده است [۱۱]. هر چند در برخی مطالعات اثر ضد میکروبی آن روی برخی سویه‌های باکتری مثل اشرشیاکلی رد شده است [۱۲].

برای استخراج ترکیب‌های فنلی موجود در گیاهان از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود. در گذشته استخراج با حلال متداول‌ترین روش استخراج بود. این روش زمانبر می‌باشد و در آن حلال زیادی هم مصرف می‌شود. به همین دلیل در سال‌های اخیر استفاده از روش‌های مختلفی برای کاهش زمان استخراج،کاهش مصرف حلال،کاهش آلودگی ، تسریع و تسهیل استخراج ترکیب‌های فنلی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. یکی از این روش‌ها استخراج با امواج مایکروویو (MAE: Microwave Assisted Extraction) است. امواج جذب شده توسط نمونه تولید گرما می‌کند. این گرما باعث تبخیر آب نمونه و در نتیجه ایجاد فشار زیاد روی دیواره سلولی نمونه و متلاشی شدن این دیواره می‌شود. به این ترتیب ترکیب‌های فعال به راحتی از نمونه خارج می‌شوند. این روش در مقایسه با روش‌های سنتی استخراج (استخراج با حلال) برتری دارد، زیرا این روش نیاز به حلال و زمان کمتری دارد و بازدهی استخراج و دقت آن بیشتر می‌باشد [۱۳]. البته آسیب دیدن ترکیبات حساس به حرارت و فیلتراسیون انتهایی مورد نیاز بعد از استفاده از این روش، از معایب آن محسوب می‌شود [۱۴].

در پژوهشی مشخص شد که بیشترین میزان استخراج ترکیب‌های فنلی به کمک امواج مایکروویو بعد از ۱۰ دقیقه اشعه‌دهی به دست آمد که در مقایسه با روش خیساندن (soaking) (۱۵ ساعت) روش مناسب‌تری برای استخراج این ترکیب‌ها می‌باشد [۱۵]. همچنین در پژوهشی مشخص شده است که برای رسیدن به بازده استخراجی معادل روش مایکروویو، نیاز به زمان ۲۴ ساعت و دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد [۱۶].همچنین داده‌های یک پژوهش حاکی از راندمان بالای استخراج ترکیبات فنلی ریشه چای (۸۲/۴۶٪ در ۶ دقیقه) به کمک امواج مایکروویو در مقایسه با روش خیساندن (۴۳/۳۹٪ در ۲۴ ساعت) بود [۱۷].

معمولا انتخاب حلال‌ها برای استخراج با توجه به هدفی که وجود دارد، ماهیت ترکیبات، خصوصیات فیزیکی و شیمیایی ماده، قابل دسترس بودن مواد و تجهیزات انجام می‌شود [۱۸]. در تحقیقات انجام شده بهترین حلال برای استخراج عصاره سرخارگل، حلال‌های آب و متانول ذکر شده است [۱۹].

هدف نهایی استفاده از عصاره‌های طبیعی و گیاهی افزایش طول عمر نگهداری مواد غذایی و ممانعت از رشد باکتری‌های بیماری‌زای غذایی می‌باشد. علاوه بر آن می‌توان با استفاده از این ماده از کاربرد مواد شیمیایی در صنایع غذایی جلوگیری نمود. بر این اساس هدف از مطالعه حاضر تأثیر روش استخراج عصاره اندام هوایی گیاه سرخارگل بر خاصیت ضد میکروبی آن در مقابل میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا از گروه باکتری‌ها در شرایط آزمایشگاه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه آزمایشگاهی در سال ۱۳۹۱ در گروه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. به منظور تأمین عصاره گیاهی بوته‌های گیاه سرخارگل کشت شده در مزرعه آموزشی پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا همدان در مرحله گلدهی کامل از ارتفاع پنج سانتی‌متری سطح زمین برداشت شد و در سایه خشک گردید. هرباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی همدان گیاه مورد بررسی را با نام علمی (Echinacea purpurea L.) تأیید نمود (شکل ۱). در این تحقیق از پنج گونه باکتریایی باسیلوس سرئوس (ATCC 1247)، لیستریا مونوسیتوژنز (ATCC 7644)، اشرشیاکلی (ATCC 8739)، شیگلا دیسانتری (ATCC 13313) و سودوموناس آئروژینوزا (ATCC 1074) استفاده شد.

به منظور استخراج عصاره گیاه با روش خیساندن، اندام هوایی گیاه سرخارگل با آسیاب، پودر و از الک با شماره منفذ ۴۰ عبور داده شد. پودر اندام هوایی این گیاه با نسبت ۱:۱۰ (۱ گرم پودر اندام هوایی در ۱۰ میلی‌لیتر حلال) با ۳ حلال (آب، متانول ۸۰٪ و استون) در دمای محیط به مدت ۳ ساعت به خوبی مخلوط و عصاره حاصل با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ جدا شد. به منظور استخراج عصاره به کمک امواج مایکروویو نیز از یک مایکروفر با افزودن کندانسور در قسمت بالای مایکروفر برای خروج و سرد کردن بخارات و برگشت حلال به بالن استخراج و همزن مغناطیسی استفاده گردید [۲۰]. همزمان با مخلوط شدن محتویات داخل بالن به کمک همزن مغناطیسی، اشعه‌دهی با فرکانس ۲۴۵۰ مگاهرتز و با قدرت ۸۰۰ وات در طی ۱۵ دقیقه انجام شد. توضیح این که برخی محققین نشان دادند که تاثیر دما روی ترکیب‌های فنلی اثر تخریبی ندارد [۲۱]، لذا در این پژوهش اطمینان حاصل گردید که دمای به کار برده شده تأثیر منفی روی ترکیب‌های فنلی نخواهد داشت. بعد از پایان اشعه‌دهی و سرد شدن بالن، عصاره حاصل با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شد. ترکیب‌های فنلی با ۳ حلال ذکر شده با نسبت ۱:۱۰ استخراج شد. عصاره‌های حاصل از هر دو روش پس از صاف شدن با دستگاه تبخیرکننده چرخان (هیدلف آلمان مدل ۴۰۰۰) با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ و با دستگاه خشک‌کن انجمادی (ساخت شرکت اپرون مدل اف دی بی ۵۵۰۳) خشک و میزان ترکیب‌های فنلی موجود در عصاره این گیاه از طریق رنگ سنجی به روش فولین- سیوکالتو مورد بررسی قرار گرفت [۲۲]. مطابق روش Mc Donald و همکاران، ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره استخراجی با ۵ میلی‌لیتر معرف فولین – سیوکالتو (که با آب مقطر ۱۰ برابر رقیق شده بود) و ۴ میلی‌لیتر از محلول کربنات سدیم ۱ مولار به خوبی مخلوط شد. مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. سپس مقدار جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد [۲۳]. بدین منظور روش رنگ‌سنجی (فولین-

سیوکالتو) نیز روی محلول‌های استاندارد اسید تانیک با غلظت‌های مختلف انجام شد. منحنی استاندارد در برابر جذب اسید تانیک رسم گردید (Y=۰/۰۰۱۱۴X+۰/۰۱۰۶۲، Y، عدد جذب و X، غلظت بر حسب ppm). برای تعیین غلظت فنل نمونه‌ها اعداد جذب به دست آمده از اسپکتروفتومتر را در معادله بالا (Y) قرار داده و میزان غلظت ترکیب‌های فنلی موجود در نمونه‌ها بر حسب ppm (X) محاسبه گردید.

به منظور بررسی ویژگی‌های ضد میکروبی عصاره‌های مذکور از میکروپلیت‌های ۹۶ چاهکی استفاده گردید، به این صورت که در هر یک از چاهک‌های پلیت الایزا، ابتدا ۹۵ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث و ۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی معادل لوله ۰/۵ مک فارلند اضافه و سپس به هر کدام از چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های متوالی عصاره اضافه گردید. پس از مخلوط کردن نمونه‌ها توسط شیکر (۲۰ ثانیه با دور ۳۰۰ rpm) آن‌ها را به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شده و بعد از طی این دوره میزان کدورت توسط دستگاه الایزا (شرکت بیوتک آمریکا مدل ای ال ایکس ۸۰۰) در طول موج ۵۴۰ نانومتر قرائت و ثبت نموده و در صورت عدم ایجاد کدورت میزان حداقل غلظت بازدارندگی از رشد باکتری (MIC: Minimum Inhibitory Concentration) تعیین گردید. سپس از نمونه‌های چاهک‌های بدون کدورت روی محیط کشت مولر هینتون آگار پاساژ داده و با روش رقت‌های متوالی عمل شمارش کلنی صورت گرفت. اولین لوله‌ای که مقدار کاهش رشد تعداد باکتری‌ها نسبت به زمان صفر لوله شاهد، بیشتر از یک هزارم بود به عنوان حداقل غلظت کشندگی (MBC: Minimum Bactericidal Concentration) تعیین گردید [۲۴].

شایان ذکر است در این آزمایش تأثیر هر یک از تیمارها در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت و نتایج بدست آمده با استفاده از آنالیز واریانس دو طرفه با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۵ مورد تجزیه و تحلیل‌های آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ($p<۰/۰۱$) و رسم شکل‌ها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر حلال و روش استخراج عصاره و اثر متقابل آن‌ها بر میزان ترکیب‌های فنلی عصاره سرخارگل در سطح احتمال ۱٪ درصد معنی‌دار است. مقایسه میانگین‌ها حاکی از آن بود عصاره متانولی در روش مایکروویو و عصاره استونی استخراج شده به روش خیساندن به ترتیب بیشترین و کمترین میزان ترکیب‌های فنلی را به خود اختصاص دادند (جدول ۱). در مورد هر سه حلال مورد آزمون، روش مایکروویو، بازده استخراج بالاتری نسبت به روش خیساندن نشان داد.

با توجه به داده‌های جدول ۲، عصاره استونی در روش مایکروویو کمترین غلظت بازدارندگی را در باکتری‌های باسیلوس سرئوس و لیستریا مونوسیتوژنز به ترتیب با مقادیر ۱۵۶ و ۳۱۵ میکروگرم در میلی‌لیتر داشت. در بین عصاره‌های استخراج شده به روش خیساندن، عصاره متانولی و استونی در این دو میکروارگانیسم حداقل غلظت بازدارندگی یکسانی داشتند (جدول ۲). کمترین غلظت بازدارندگی در باکتری‌های اشرشیاکلی و شیگلا دیسانتری

به ترتیب با مقادیر ۱۲۵۰ و ۶۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر در عصاره‌های متانولی و استونی در روش استخراج با مایکروویو مشاهده شد. در بین عصاره‌های استخراج شده، عصاره‌های متانولی و استونی در روش‌های خیساندن و مایکروویو در باکتری اشرشیاکلی حداقل غلظت بازدارندگی یکسانی داشتند (جدول ۲). همان طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، کمترین غلظت بازدارندگی (۶۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر) در باکتری سودوموناس آئروژینوزا مربوط به عصاره استونی در روش خیساندن مشاهده گردید. در باکتری‌های لیستریا مونوسیتوژنز و سودوموناس آئروژینوزا عصاره‌های متانولی در هر دو روش استخراج، قدرت بازدارندگی یکسانی داشتند (جدول ۲).

جدول ۱- مقایسه میانگین‌های میزان ترکیب‌های فنلی (میلی‌گرم تانیک اسید در گرم عصاره) عصاره سرخارگل تحت تأثیر اثر روش استخراج و نوع حلال*

روش استخراج	حلال		
	آب	متانول ۸۰٪	استون
روش خیساندن	۱۹۱/۲۴۷±۰/۷۲^{d}	۲۲۵/۱۸۹±۰/۰۲^{b}	۱۵۵/۵۴۱±۰/۶۴^{f}
روش مایکروویو	۲۱۰/۳۷۸±۰/۳۴^{c}	۲۵۱/۰۰۰±۰/۴۶^{a}	۱۷۴/۱۳۱±۰/۱۲^{e}

: حروف غیر مشابه در هر ردیف و هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ می‌باشند.

حرف‌های کوچک در جلوی داده‌ها به شکل اندیس نشان دهنده معنی‌دار بودن یا نبودن اختلاف بین داده‌هاست (بدین صورت میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شد. a بالاترین میانگین بدست آمده، f کمترین میانگین بدست آمده، کاهش میانگین‌ها به ترتیب از بزرگ‌ترین به کوچک‌ترین میانگین بدست آمده با حروف b ،c ،d و e نشان داده شده است.

جدول ۲- حداقل غلظت بازدارندگی (میکروگرم در میلی‌لیتر) عصاره‌های مختلف سرخارگل بر باکتری‌های مورد بررسی

باکتری	روش استخراج					
	خیساندن			مایکروویو		
	آب	متانول ۸۰٪	استون	آب	متانول ۸۰٪	استون
باسیلوس سرئوس	۱۲۵۰	۶۲۵	۶۲۵	۲۵۰۰	۳۱۵	۱۵۶
لیستریا مونوسیتوژنز	۲۵۰۰	۱۲۵۰	۱۲۵۰	۵۰۰۰	۱۲۵۰	۳۱۵
اشرشیاکلی	۱۰۰۰۰	۲۵۰۰	۲۵۰۰	۲۵۰۰	۱۲۵۰	۱۲۵۰
سودوموناس آئروژینوزا	۱۰۰۰۰	۵۰۰۰	۶۲۵	۵۰۰۰	۵۰۰۰	۲۵۰۰
شیگلا دیسانتری	۵۰۰۰	۲۵۰۰	۱۲۵۰	۲۵۰۰	۶۲۵	۶۲۵

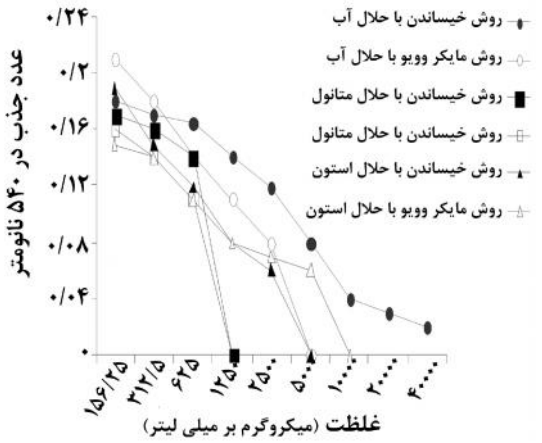
عصاره‌های آبی استخراج شده با روش خیساندن نیز به عنوان یکی از روش‌ها استفاده گردید، اما استفاده از آن هیچ تأثیری در نابودی تمامی باکتری‌ها نداشت، بنابراین از نشان دادن تأثیر آن روی حداقل غلظت کشندگی باکتری در جدول ۳ صرف نظر گردید. در روش مایکروویو افزایش میزان استخراج ترکیب‌های فنلی، موجب نابودی این باکتری‌ها نسبت به روش خیساندن شد (جدول ۳). حداقل غلظت کشندگی در باکتری‌های باسیلوس سرئوس و

لیستریا مونوسیتوژنز به ترتیب با مقادیر ۱۲۵۰ و ۲۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر مربوط به عصاره‌های متانولی در هر دو روش استخراج بود (جدول ۳). حداقل غلظت کشندگی در باکتری‌های اشرشیاکلی و شیگلا دیسانتری در عصاره‌های آبی و متانولی استخراجی به کمک روش مایکروویو حاصل شد. همچنین حداقل غلظت کشندگی در باکتری سودوموناس آئروژینوزا مربوط به عصاره‌های استونی در هر دو روش استخراج و عصاره مایکروویوی متانول به دست آمد (جدول ۳). بجز عصاره‌های استونی، در سایر موارد عصاره‌های مایکروویوی در غلظت کمتری قادر به نابودی باکتری‌ها بودند.

جدول ۳- حداقل غلظت کشندگی (میکروگرم در میلی‌لیتر) عصاره‌های مختلف سرخارگل بر باکتری‌های مورد بررسی

باکتری	روش استخراج				
	خیساندن		مایکروویو		
	متانول ۸۰٪	استون	آب	متانول ۸۰٪	استون
باسیلوس سرئوس	۱۲۵۰	۵۰۰۰	۵۰۰۰	۱۲۵۰	۱۰۰۰۰
لیستریا مونوسیتوژنز	۲۵۰۰	۵۰۰۰	۱۰۰۰۰	۲۵۰۰	۲۰۰۰۰
اشرشیاکلی	۴۰۰۰۰	۲۰۰۰۰	۱۰۰۰۰	۱۰۰۰۰	۴۰۰۰۰
سودوموناس آئروژینوزا	۴۰۰۰۰	۲۰۰۰۰	۴۰۰۰۰	۲۰۰۰۰	۲۰۰۰۰
شیگلا دیسانتری	۲۰۰۰۰	۲۰۰۰۰	۵۰۰۰	۵۰۰۰	۴۰۰۰۰

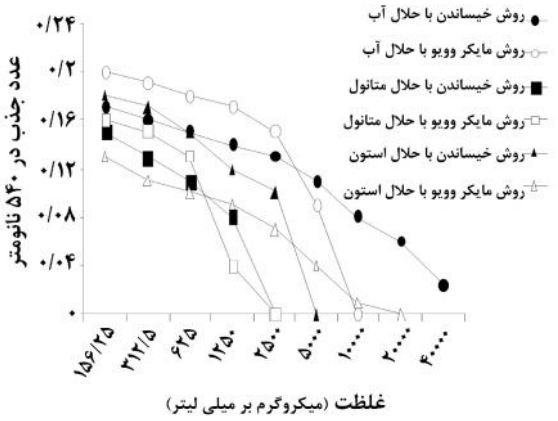
نمودارهای ۱ تا ۵ اثر غلظت‌های مختلف عصاره‌ها را به ترتیب در باکتری‌های باسیلوس سرئوس، لیستریا مونوسیتوژنز، اشرشیاکلی، شیگلا دیسانتری و سودوموناس آئروژینوزا نشان می‌دهد. در تمامی شکل‌ها، کاهش میزان جذب معادل افزایش تأثیر (فعالیت ضد میکروبی) می‌باشد. همچنین هر چه میزان کدورت بیشتر باشد اثر ضد باکتری کمتر می‌گردد.



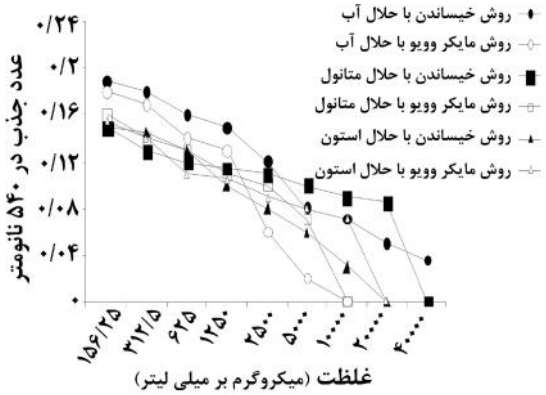
نمودار ۱- میزان کدورت حاصل از باکتری باسیلوس سرئوس در حضور عصاره‌های مختلف سرخارگل



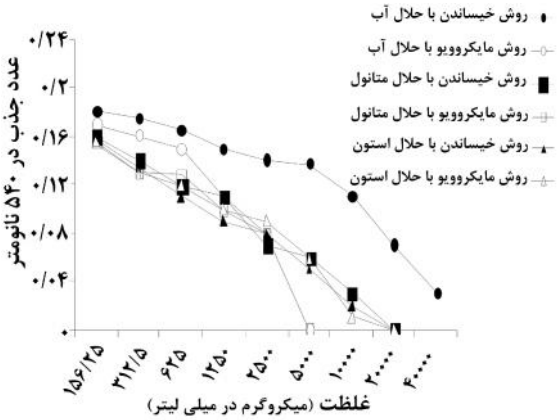
شکل ۱- گیاه سرخارگل مورد استفاده در تحقیق حاضر



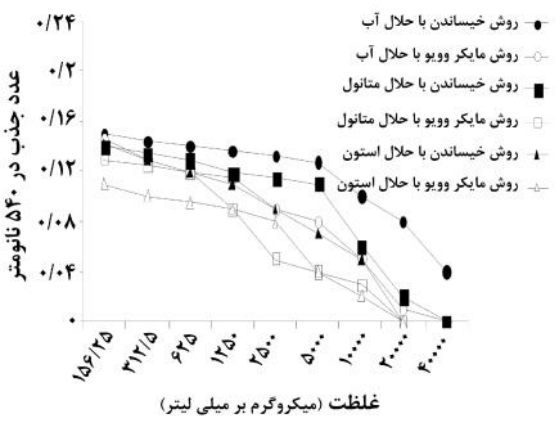
نمودار ۲- میزان کدورت حاصل از باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در حضور عصاره‌های مختلف سرخارگل



نمودار ۳- میزان کدورت حاصل از باکتری اشرشیاکلی در حضور عصاره‌های مختلف سرخارگل



نمودار ۴- میزان کدورت حاصل از باکتری شیگلا دیسانتری در حضور عصاره‌های مختلف سرخارگل



نمودار۵- میزان کدورت حاصل از باکتری سودوموناس آئروژینوزا در حضور عصاره‌های مختلف سرخارگل

بحث

در سال‌های اخیر تحقیقات گسترده‌ای به منظور ارزیابی اثر ضد میکروبی انواع اسانس‌ها و عصاره‌ها صورت گرفته است، که حاکی از قدرت و توانایی این ترکیبات در ممانعت از رشد دامنه وسیعی از میکروارگانیسم‌ها است [۲۴]. یافته‌های این مطالعه حاکی از آن است که حداقل غلظت کشندگی با استفاده از روش Microdilution در باکتری‌های باسیلوس سرئوس، لیستریا مونوسیتوژنز، اشرشیاکلی، شیگلا دیسانتری و سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب برابر با ۱۲۵۰، ۲۵۰۰، ۱۰۰۰۰، ۵۰۰۰ و ۲۰۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بود که نشان‌دهنده مقاوم‌تر بودن باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا، اشرشیاکلی و شیگلا دیسانتری نسبت به باکتری‌های باسیلوس سرئوس و لیستریا مونوسیتوژنز می‌باشد. باسیلوس سرئوس و لیستریا مونوسیتوژنز باکتری‌های گرم مثبت و باکتری‌های اشرشیاکلی، شیگلادیسانتری و سودوموناس آئروژینوزا گرم منفی می‌باشند. باکتری‌های گرم منفی علاوه بر پپتیدوگلیکان، یک مایکولیک اسید هم دارند که سطح هیدروفیلی آن غنی از مولکول‌های لیپوپلی‌ساکاریدی (LPS) می‌باشد و به عنوان مانع در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها

عمل می‌کند [۲۵]. همچنین، آنزیم‌های موجود در فضای پری‌پلاسمی (فسفاتازها و پروتئازها از گروه آنزیم‌های تجزیه‌ای و بتالاکتامازها (مانند پنی‌سیلیناز) و آنزیم‌های فسفوریله‌کننده آمینوگلیکوزید از گروه آنزیم‌های سم‌زدا) قادرند مولکول‌های وارد شده را تجزیه کنند، اما در مورد باکتری‌های گرم مثبت، مواد ضد میکروبی به راحتی دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی را تخریب کرده که منجر به نشت سیتوپلاسم و انعقاد آن می‌شوند [۲۶]. با توجه به موارد گفته شده علت بالاتر بودن حداقل غلظت کشندگی در باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت مورد آزمایش توجیه می‌شود.

حلال‌هایی با قطبیت بالا مانند آب و حلال‌های غیرقطبی مانند استون برای استخراج ترکیب‌های فنلی مناسب نیستند، از طرفی، استفاده از آب به عنوان حلال، موجب استخراج ناخالصی‌های زیادی از جمله قندها، اسیدهای آلی، پروتئین‌های محلول همراه با ترکیب‌های فنلی می‌شود [۲۷]، اما استفاده از آب به عنوان حلال به شکل ترکیب شده با دیگر حلال‌های آلی ایجاد محیطی با قطبیت متوسط می‌کند، که بهترین شرایط برای استخراج ترکیب‌های فنلی است. علاوه براین استفاده از آب همراه با الکل برای استخراج، باعث تورم بافت گیاهی و افزایش سطح تماس ماتریکس و حلال و در نتیجه بهبود بازدهی استخراج می‌شود [۱۳]. از آنجایی که استون یک حلال غیرقطبی می‌باشد، برای استخراج ترکیب‌های قطبی ازجمله فنل‌ها مناسب نبوده و با توجه به موارد ذکر شده، علت میزان بالای استخراج ترکیب‌های فنلی در عصاره‌های متانولی نسبت به آب در روش خیساندن توجیه می‌شود. در روش استخراج به کمک امواج مایکروویو، حلال‌های غیرقطبی به دلیل داشتن ثابت دی‌الکتریک و فاکتور اتلاف پایین، نسبت به حلال‌های قطبی برای استخراج ترکیب‌ها با روش مایکروویو مناسب نیستند، زیرا هر چه فاکتور اتلاف پایین‌تر باشد گرما کندتر در سرتاسر ماتریکس توزیع شده و آهسته‌تر به حلال انتقال می‌یابد [۱۳]. دلایل فوق، کارایی پایین استون در استخراج ترکیب‌های فنلی را توجیه می‌کند، اما در میان حلال‌های قطبی آب به دلیل داشتن ثابت دی‌الکتریک بالا، انرژی مایکروویو را به خوبی جذب می‌کند و منجر به تولید حرارت و جنبش مولکولی بیشتر می‌شود. متانول نسبت به آب ثابت دی‌الکتریک کمتری دارد ولی زمانی که همراه با آب به عنوان حلال استفاده شود نتیجه بهتری حاصل می‌شود [۲۸]. در بین دو روش، روش مایکروویو ترکیب‌های فنلی بیشتری در یک زمان کوتاه استخراج نمود، بنابراین این روش می‌تواند جایگزین روش خیساندن شود. افزایش استخراج ترکیب‌های فنلی با روش مایکروویو به اثر حرارت‌دهی آن بستگی دارد. این حرارت در نتیجه چرخش دو قطبی حلال در مقابل اشعه‌های مایکروویو اتفاق می‌افتد، که خود باعث افزایش دمای حلال و در نتیجه افزایش حلالیت ترکیب‌های هدف می‌گردد [۲۹]. همچنین اشعه‌دهی به کمک مایکروویو، با افزایش ناگهانی دما و فشار داخلی تخریب دیواره سلولی را تسریع کرده و خروج ترکیب‌ها از داخل بافت به درون حلال را افزایش می‌دهد [۳۰]. به نظر می‌رسد بین برخی پژوهشگران در خصوص این که دمای به کار برده شده ممکن است روی ترکیب‌های فنلی اثر تخریبی داشته باشد اختلاف نظر وجود دارد، اما در جمع‌بندی این نتیجه حاصل می‌گردد که تأثیر دما در محدوده‌ای که در این پژوهش استفاده شده روی دقت نتایج بدست آمده اثر منفی نداشته است. بدیهی است در این رابطه می‌توان مطالعات دقیق‌تری انجام داد تا اثر

واقعی دما در گستره‌های مختلف روی ترکیبب‌های فنلی مشخص گردد.

بر اساس گزارش‌ها و مطالعات متعدد قبلی خاصیت ضد میکروبی ترکیب‌های فنلی شناخته شده است [۸]. عصاره‌های مایکروویوی به دلیل اینکه حاوی ترکیب‌های فنلی بیشتری بودند، فعالیت ضد میکروبی بیشتری نسبت به عصاره‌های استخراج شده به روش خیساندن داشتند. عصاره‌های آبی در مقایسه با عصاره‌های متانولی و استونی در روش خیساندن فعالیت ضد میکروبی ضعیف‌تری نشان دادند و متانول با استخراج مناسب‌تر ترکیب‌های فنلی باعث افزایش فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌های حاصل شد. عصاره‌های استونی نیز به دلیل میزان بالای استخراج فنل‌های دی‌کربوکسیلیک از نظر بازدارندگی روی میکروارگانیسم‌ها، فعالیت ضد باکتریایی بهتری در مقایسه با عصاره‌های آبی نشان دادند، که در پژوهش Korukluoglu و همکاران نیز این مورد اثبات شده است [۳۱]. اثرهای بازدارندگی ترکیب‌های فنلی، به جذب سطحی غشاهای سلولی، واکنش به آنزیم‌ها، سوبسترا و یون‌های فلزی بستگی دارد [۳۲]، شکی نیست ترکیب‌های ناشناخته دیگری در عصاره موجود باشند که بعضاً فاقد یا واجد خاصیت ضد میکروبی باشند، این موضوع می‌تواند در مطالعات دیگری تحت بررسی قرار گیرد.

در مطالعه‌ای اثر روش استخراج بر فعالیت ضد میکروبی عصاره برگ سنجد تلخ (Hippophae rhamnoides L.) بررسی شد و مشخص گردید که عصاره‌های مایکروویوی فعالیت ضد میکروبی بهتری نسبت به عصاره‌های غرقابی داشتند، که دلیل این امر میزان بالای استخراج ترکیب‌های فنلی در روش مایکروویو و ارتباط بین میزان ترکیب‌های فنلی و فعالیت ضد میکروبی ذکر شده است [۳۳].

همچنین در مطالعه‌ای دیگر مشخص شد که بهترین روش جهت استخراج ترکیب‌های فنلی عصاره پوست سبز گردو (Juglans regia L.)، استفاده از روش مایکروویو می‌باشد [۳۴]. Pan و همکاران نیز فعالیت ضد میکروبی پوست لنگان (Dimocarpus longan L.) را با اتانول ۹۵٪ و دو روش سنتی و مایکروویو بررسی کردند. بررسی‌های آنان نشان داد که فعالیت ضد میکروبی عصاره حاصل از روش مایکروویو بالاتر از عصاره حاصل از روش سنتی بود [۳۵]. در مطالعه‌ای توسط Hajimehdipoor و همکاران اثر روش‌های مختلف عصاره‌گیری (Maceration، Percolation، Sonication، استخراج مداوم با استفاده از دستگاه Soxhlet و استخراج گرم با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد) و حلال‌های مختلف را بر استخراج ترکیب‌های فنلی گیاه سرخارگل مورد بررسی قرار داده و نشان دادند که مخلوطی از حلال آب و متانول با نسبت ۲۰: ۸۰ و روش عصاره‌گیری گرم در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت نسبت به سایر حلال‌ها و روش‌ها اولویت داشته است. [۳۶].

نتیجه‌گیری

این تحقیق نشان داد که عصاره‌های استخراج شده به روش مایکروویوی علاوه بر بازدهی بالا و کاهش مدت زمان استخراج، در بیشتر موارد توانایی بیشتری در مهار باکتری‌ها دارند. در بین عصاره‌ها، عصاره متانولی بیشترین و عصاره آبی کمترین میزان فعالیت ضد میکروبی را به خود اختصاص داد. در هر حال باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت مقاومت بیشتری نسبت به عصاره‌ها نشان دادند.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از خانم دکتر یزدانی عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی همدان به خاطر راهنمایی‌های مفید و آقای دکتر مدرس عضو هیأت علمی دانشگاه تربیت مدرس به دلیل در اختیار قرار دادن فضای پژوهشی مناسب تقدیر و تشکر می‌گردد.

References

[1] Sharon B. Electroimmunoassay technology for foodborn pathogen detection. *IVD Technol* 2001; 16: 13-34.

[2] Antimicrobial resistance and its spread worldwide. (2011; available at http:// www.WHO.int/medicinedocs).

[3] Miliauskas G, Venskutonis PR, van Beek TA. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chem* 2004; 85(2): 231-7.

[4] Kotan R, Mavi A, Tubaro A, Del Negro P. Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* of Turkish *Artemisia absinthium, A. dracunculus, Artemisia santonicum* and *Artemisia spicigera* essential oils. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 9452-8.

[5] Ceeh R. Phytochemical variation within populations of *Echinacea purpurea* (Asteraceae). Biochem Syst Ecol 2006; 30: 837-54.

[6] Omidbaigi R. Study of cultivation and adaptability of purple coneflower (*Echinacea purpurea*) in the north of Tehran. *J Sic Tech Ayri Nat Res* 2002; 6 (2): 231-41. [Farsi]

[7] Percival SS. Use of echinacea in medicine. *Biochem Pharmacol* 2000; 60: 155-8.

[8] Hu C, Kitts DD. Studies on the antioxidant activity of Echinacea root extract. *J Agric Food Chem* 2000; 48: 1466-72.

[9] Guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants. (Accessed May 25, 2011 available at http:// www.who.int/medicinedocs/2011/pdf).

[10] Luzzatto T, Golan A, Yishay M, Bilkis I, Ben-Ari J, Yedidia I. Priming of antimicrobial phenolics during induced resistance response towards *Pectobacterium carotovorum* in the ornamental monocot calla lily. *J Agri Food Chem* 2007; 55: 10315-22.

[11] Sharma M, Vohra S, Arnason T, Hudson B. *Echinacea* extracts contain significant and selective activities against human pathogenic bacteria. *Pharm Biol* 2008; 46: 111-6.

[12] Hill LL, Foote JC, Erickson BD, Cerniglia CE, Denny GS. *Echinacea purpurea* supplementation

stimulates select groups of human gastrointestinal tract microbiota. *J Clin Pharm Ther* 2006; 31: 599-604.

[13] Mandal V, Mohan Y, Hemalatha S. Microwave assisted extraction an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacogn Rev* 2007; 1: 7-18.

[14] Zolfaghari B, Yegdaneh A. Recent advances in extraction methods of medicinal plant components. *J Herbal Drugs* 2010; 1:51-5. [Farsi]

[15] Japón-Lujan R, Luque-Rodriguez JM, Castro MDL. Multivariate optimisation of the microwave-assisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *J Anal Bioanal Chem* 2006; 385(4): 753-9.

[16] Japon-Lujan R, Luque-Rodriguez JM, Castro MDL. Multivariate optimization of the microwave-assisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *J Anal Bioanal Chem* 2006; 385:753-9.

[17] Quan, PT, Hang TV, Ha NH, De NX, Tuyen TN. Microwave-assisted extraction of polyphenols from fresh tea shoot. *Tap Chi Phat Trien Kh&Cn* 2006; 9: 69-75.

[18] Rebey IB, Bourgou S, Debez IBS, Karoui IJ, Sellami IH, Msaada K, et al. Effects of extraction solvents and provenances on phenolic contents and antioxidant activities of Cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds. *Food Bioprocess Techno* 2011; 5: 2827-36.

[19] Miller SC. Echinacea. London: CRC Press; 2004: 93 - 109.

[20] Inoue T, Tsubaki S, Ogawa K, Onishi K, Azuma J. Isolation of hesperidin from peels of thinned Citrus unshiu fruits by microwave-assisted extraction. *Food Chem* 2010; 123: 542–7.

[21] Arabshahi-Delouee S, Urooj A. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. *Food Chem* 2007; 102(4): 1233-40.

[22] Singleton VL, Rossi jaj. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotu_ ngstic acid reagents. *Am J Eno Vitic* 1965; 16: 144-58.

[23] Oroojalian F, Kasra-Kermanshahi R, Azizi M, Bassami MR. Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens. *Food Chem* 2010; 120(3): 765-70.

[24] Harikrishnan R, Nisha RM, Balasundaram C. Hematological and biochemical parameters in common carp, *Cyprinus carpio*, following herbal treatment for *Aeromonas hydrophila* infection. *Aquaculture* 2003; 221(1-4): 41-50.

[25] Kalemba D, Kunicka A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr Med Chem* 2003; 10(10): 813-29.

[26] Duffy CF, Power RF. Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts. *Int J Antimicrob Agents* 2001; 17: 527-9.

[27] Chirinos R, Rogez H, Campos D, Pedreschi R, Larondelle Y. Optimization of extraction conditions

of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruız & Pavon) tubers. *Separ Purif Technol* 2007; 55(2): 217-25.

[28] Zhang B, Yang R, Liu CZ. Microwave assisted extraction of chlorogenic acid from flower buds of *Lonicera japonica* Thunb. *Separation Purification Technol* 2008; 62(2): 480-3.

[29] Hemwimon S, Pavasant P, Shotipruk A. Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. *Separation and Purification Technology* 2007; 54(1): 44-50.

[30] Pereira AP, Ferreira ICFR, Marcelino F, Valentao P, Andrade PB, Seabra R, et al. Phenolic Compound and Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. obrancosa) leaves. *J Molecules Basel Switzerland* 2007; 12(5): 1153-62.

[31] Korukluoglu M, Sahan Y, Yigit A, Ozer ET, Gucer S. In-Vitro antibacterial activity of olive leaf (*Olea europaea* L.) extracts and their chemical characterization. Proceedings of 4th AACD Congress. Turkey, 3 Oct.2004; 563-5.

[32] Duman AD, Ozgen M, Dayisoylu KS, Erbil N, Durgac C. Antimicrobial Activity of Six Pomegranate (*Punica granatum* L.) Varieties and Their Relation to Some of Their Pomological and Phytonutrient Characteristics. *Mol* 2009; 14(5): 1808-17.

[33] Negi PS, Chauhan AS, Sadia GA, Rohinishree YS, Ramteke RS. Antioxidant and antibacterial activities of various seabuckthorn (Hippophae rhamnoides L.) seed extracts. *Food Chem* 2005; 92: 119-24.

[34] Rahimipanah M, Hamedi M, Mirzapour M. Analysis of some factors affecting the phenolic compounds extracted from green husk of walnut (*Juglans regia* L.). *Iran J Med Aromatic Plant* 2011; 27(3): 419-30. [Farsi]

[35] Pan Y, Wang K, Huang S, Wang H, Mu X, He C, et al. Antioxidant activity of microwave-assisted extract of longan (Dimocarpus Longan Lour.) peel. *Food Chem* 2008; 106: 1264-70.

[36] Hajimehdipoor H, Khanavi M, Shekarchi M, Abedi Z, Pirali Hamedani M. Investigation of the Best Method for Extraction of Phenolic Compounds from Echinacea purpurea L. (Moench). *J Med Plants* 2009; 32(8): 145-52. [Farsi]

Effect of Extraction Method on Antimicrobial Properties of Shoot Extract of Purple Coneflower (*Echinacea Purpurea* l.) Against Some Pathogenic Bacteria

Z. Izadi[1], A. Sorooshzadeh[2], S.A.M. Modarres Sanavi[3], M. Esna-Ashari[4], M. AghaAlikhani[5] P. Davoodi[6]

Received: 18/06/2013 Sent for Revision: 20/07/2013 Received Revised Manuscript: 11/03/2014 Accepted:08/04/2014

Background and Objective: In recent years, it is recommended to use natural materials like plant extracts and essences instead of chemical preservatives in food industry. The main objective of this study was to evaluate the antimicrobial activity of shoot extract of purple coneflower against some gram positive and gram negative bacteria.

Materials and Methods: This Laboratory study was conducted in 2013. Two extraction methods (maceration and microwave-assisted) with three solvents (water, methanol 80% and acetone) were used to extract the phenolic compounds from purple coneflower shoot The micro-organisms investigated in this study were: *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* and *Pseudomonas aeruginosa*. Experimental data were analyzed using ANOVA by the SPSS version 15 software and mean comparison were done using the Duncan's multiple range test.

Results: The highest total phenolic content was related to the methanol extract produced by microwave-assisted extraction (MAE), whereas in both extraction methods, the lowest amount of phenolic was obtained by using acetone extract. Comparing the extraction methods showed that MAE had higher extraction efficiency in all three tested solvents. Regarding to antimicrobial activity of purple coneflower shoot extracts, the minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration were observed in gram positive bacteria (*Bacillus cereus* and *Listeria monocytogenes*). *Pseudomonas aeruginosa* was the most resistant bacterium against the extracts.

Conclusion: The results showed that in most cases, the extracts obtained by MAE method had more antimicrobial activity in comparison to traditional method. In addition the microwave-assisted extract of this plant can be considered as a food preservative. However, more studies, such as examinations in food models are needed to unravel the antimicrobial effects of given plant.

Key words: Purple coneflower extract, Antimicrobial properties, Extraction method.

Funding: This research was funded by Hamadan University of Medical Sciences and Tarbiat Modares University.

Conflict interest: None declared.

Ethical approval: This article does not need permission from the Ethics Committee because the information in this article was derived from a non-animal research.

How to cite this article: Izadi Z, Sorooshzadeh A, Modarres Sanavi S.A.M, Esna-Ashari M, AghaAlikhani M, Davoodi P. Effect of Extraction Method on Antimicrobial Properties of Shoot Extract of Purple Coneflower (*Echinacea Purpurea* l.) Against Some Pathogenic Bacteria?. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2014; 13(3): 267-80. [Farsi]

1- *PhD. Student, Dept. of Agronomy, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran*
2. *Associate Prof., Dept. of Agronomy, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran (Corresponding Author) Tel: (021) 48292098, Fax:(021) 48292200, E-mail: soroosh@modares.ac.ir*
3- *Prof, Dept. of Agronomy, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran*
4- *Prof, Dept. of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran*
5- *Associate Prof., Dept. of Agronomy, Faculty of Agriculture. Tarbiat Modares University, Tehran, Iran*
6- *Assistant Prof., Dept. of Oral Medicine, Dental Faculty, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran*