



اثر ممانعت‌کنندگی عصاره سیر بر رشد باکتری‌های سالمونلا تیفی و شیگلا دیسانتری

الهام زاده‌هاشم^۱ (D.V.M.)، طاهره فرخنده^{۱*} (D.V.M.)، پریسا صدیق‌آرا^۱ (D.V.M.)، سمیرا صباح^۲ (M.Sc.)

۱- دانشگاه تهران- دانشکده دامپزشکی- دانشجوی دکتری تخصصی سم‌شناسی. ۲- معاونت غذا و دارو تهران- کارشناس ارشد.

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۲/۱۳، تاریخ پذیرش: ۸۸/۴/۲۸

چکیده

مقدمه: امروزه استفاده از عصاره‌های گیاهی به‌عنوان افزودنی ضد میکروبی نقش مهمی در حفظ کیفیت مواد غذایی دارد. سیر از جمله گیاهانی است که با بررسی‌های بیوشیمیایی تأثیرات ضد میکروبی آن به اثبات رسیده است. هدف از این تحقیق، ارزیابی اثر غلظت‌های مختلف عصاره حاصل از پودر سیر و عصاره حاصل از قرص سیر در شرایط یکسان، بر باکتری‌های سالمونلا تیفی موربوم و شیگلا دیسانتری می‌باشد.

مواد و روش‌ها: به‌منظور انجام این بررسی، سیر تازه از منطقه همدان و قرص سیر از شرکت داروسازی کوثر تهیه گردید. حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی و حداقل غلظت میکروب‌کشی عصاره حاصل از پودر سیر و قرص سیر بر رشد دو میکروارگانیسم به‌روش استاندارد لوله‌ای اندازه‌گیری شد.

نتایج: حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی، عصاره حاصل از پودر سیر بر میکروارگانیسم‌های آزمایش شده ۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت‌کنندگی آن ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر حاصل شد، درحالی‌که حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی عصاره حاصل از قرص سیر بر رشد این میکروارگانیسم ۴۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و حداقل غلظت‌کنندگی آن ۸۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌دست آمد. طبق نتایج اخذ شده، عصاره سیر از رشد هر دو باکتری به‌صورت یکسان ممانعت نموده، اما حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی عصاره حاصل از پودر سیر به مراتب قوی‌تر از عصاره حاصل از قرص سیر می‌باشد (۳/۳ برابر).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به‌دست آمده از این بررسی و سایر گزارشات موجود در این زمینه، استفاده از این عصاره در سیستم‌های نگهدارنده مواد غذایی، برای جلوگیری از آلودگی‌های میکروبی و بیماری‌های ناشی از آن‌ها مفید خواهد بود.

واژه‌های کلیدی: عصاره سیر، سالمونلا تیفی موربوم، شیگلا دیسانتری، حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی، حداقل غلظت میکروب‌کشی.

Original Article

Knowledge & Health 2009;4(2):6-9

Inhibitory Effect of Garlic Extract on the Growth of Salmonella Typhimurium and Shigella Dysenteric

Elham Zadehashem¹, Tahere Farkhondeh^{1*}, Parisa Sadighara¹, Samira Sabah²

1- Ph.D. Candidate in Toxicology, University of Tehran, Tehran, Iran. 2- M.Sc., Food & Drug Vice-presidency, Tehran, Iran.

Abstract:

Introduction: Nowadays, using plant extracts as antimicrobial additives has got an important role in maintaining the quality of food products. Garlic is one of the plants the antimicrobial effect of which has been proved by biochemical investigation. The aim of this study was to assess the effect of different concentrations of garlic powder extract and garlic tablet extract on *Salmonella typhimurium* and *Shigella dysenteric* in the same conditions.

Methods: To do this investigation, fresh garlic from Hamadan and garlic tablets from Kowsar Pharmacy Company was provided. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of garlic Powder extract and garlic tablet extract on the growth of two micro-organisms were tested through tube standard method.

Results: The MIC of garlic Powder extract on the tested microorganisms was 12.5 mg/ml and the MBC was 25 mg/ml, while the MIC of garlic tablet extract was 40mg/ml and the MBC was 80 mg/ml. According to these results, the inhibitory effect of the extract of the garlic (GP >) on both bacteria was similar, but the inhibitory effect of the garlic powder was much more than that of garlic tablet (3.28 times), either on *Salmonella* or *Shigella*.

Conclusion: Noticing the findings of the present study and other related reports in this field, the application of this extract in food preservative systems is useful for inhibiting food contaminations.

Keywords: Garlic extract, *Salmonella typhimurium*, *Shigella dysenteria*, Minimum inhibitory concentration, Minimum bactericidal concentration.

Received: 3 March 2009

Accepted: 19 July 2009

*Corresponding author: T. Farkhondeh, Email: farkhondeh2324@gmail.com

مقدمه

عصاره‌های گیاهی و ترکیبات موجود در آن دارای اثرات شناخته شده ضد باکتریایی می‌باشند و از آن‌ها به‌عنوان نگهدارنده‌های غذایی می‌توان استفاده نمود، چون کاربرد زیادی در کنترل رشد باکتری‌های عامل فساد دارند (۱). استقبال از این موضوع از یک طرف به‌علت رویکرد جدید عموم مردم و از طرف دیگر توصیه سازمان‌های بین‌المللی و ملی ذی‌صلاح در امر بهداشت مواد غذایی در استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی مختلف به جای مواد شیمیایی می‌باشد. به‌طور کلی عصاره‌های گیاهی کاربرد دارویی در طب و طعم‌دهنده در غذا دارند (۱). در میان گیاهان خوراکی سیر (*Alliums stadium*) به‌عنوان یک داروی معجزه-آسا با اثرات درمانی از قبیل معالجه ناراحتی قلبی عروقی، پیش‌گیری از سرطان، اثرات ضد دیابتی و فعالیت ضد میکروبی مورد توجه می‌باشد. سیر گیاه علفی، دو ساله و متعلق به خانواده Liliaceous می‌باشد. اثرات درمانی و ضد میکروبی سیر به دلیل وجود ترکیبات ارگانوسولفور (مهم-ترین آن‌ها آلیسین (Allicin)) است (۲). این ترکیب حدود یک‌ونیم درصد وزن گیاه را تشکیل می‌دهد و مسوول بوی سیر می‌باشد (۲). آلیسین در گیاه تازه به‌صورت یک پیش‌ماده به نام آلیین (Alliin) که بی‌رنگ و بی‌بو است، یافت می‌گردد و در اثر خرد شدن غشای سلول به آلیسین تبدیل می‌شود (۳). برای کاربردی کردن مصرف عصاره گیاهی به‌عنوان نگهدارنده در مواد غذایی، بررسی اثرات ضد میکروبی آن‌ها به تتهایی و توأم با عوامل دیگر مؤثر در رشد پاتوژن‌های منتقله از مواد غذایی و میکروارگانیسم عامل فساد مواد غذایی در مدل‌های آزمایشگاهی و مدل‌های غذایی ضروری است (۴).

سالمونلا تیفی موریوم (*Salmonella typhimurium*)، یک باکتری گرم منفی میله‌ای شکل فاقد کپسول و غیر اسیدفست می‌باشد. در اغلب محیط‌های غذایی رشد کرده و قادر به تخمیر گلوکز و مانوز است. این میکروارگانیسم همواره متداول‌ترین واریته سرولوژیک جدا شده از مواد غذایی در سراسر جهان می‌باشد (۵). شیگلا دیسانتری (*Shigella dysenteriae*) باکتری گرم منفی، کاتالاز مثبت، میله‌ای و غیرمتحرک که در تخمیر کربوهیدرات‌ها است که تولید گاز نمی‌کند. شیگلا بعد از سالمونلا و استافیلوکوک از نظر ایجاد مسمومیت‌های غذایی در مکان سوم قرار دارد (۵). از آنجا که تاکنون میزان دقیق غلظت ممانعت‌کنندگی عصاره سیر بر میکروارگانیسم‌های مذکور تعیین نشده است، در این تحقیق، اثر غلظت‌های مختلف عصاره حاصل از پودر سیر (Garlic Power) و عصاره حاصل از قرص سیر (Garlic tablet) در شرایط یکسان، بر رشد باکتری سالمونلا تیفی موریوم و شیگلا دیسانتری بررسی شد.

مواد و روش‌ها

بررسی اثر عصاره حاصل از پودر سیر و عصاره حاصل از قرص سیر در شرایط یکسان، بر رشد باکتری سالمونلا تیفی موریوم و شیگلا دیسانتری در حضور غلظت‌های مختلف $3/12$ ، $6/25$ ، $12/50$ ، 25 ، 50 و 100 میلی‌لیتر عصاره حاصل از پودر سیر و غلظت‌های مختلف $2/5$ ، 5 ،

10 ، 20 ، 40 و 80 میلی‌گرم در میلی‌لیتر، عصاره حاصل از قرص سیر انجام شد.

میکروارگانیسم‌های مورد استفاده در این بررسی شیگلا دیسانتری (UT104) و سالمونلا تیفی موریوم (UCC101) بود که از کلکسیون کشت میکروبی بخش میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه تهیه گردید. محیط کشت مورد استفاده که شامل برات و آگار می‌باشد از شرکت Merck خریداری گردید.

جهت تهیه عصاره، سیر تازه از منطقه همدان تهیه و پودر گردید. در مرحله بعد، پودر سیر در مقادیر یک گرمی بسته‌بندی و به وسیله اتیلن بوتوکساید استریل شدند. در هر بار آزمایش، بسته‌های یک گرمی در شرایط استریل داخل لوله تخلیه شد سپس 10 میلی‌لیتر آب اضافه گردید و به مدت 24 ساعت در دمای آزمایشگاه دور از نور قرار گرفت. سپس عصاره حاصل به مدت 20 دقیقه و به سرعت 6000 دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید تا عصاره خالص و شفاف گردد. این عصاره حاوی ماده مؤثره می‌باشد.

همچنین برای تهیه عصاره از قرص سیر، خریداری شده از شرکت داروسازی کوثر با وزن 400 میلی‌گرم وزن و پوشش سفید رنگ در اطراف استفاده شد. جهت خالص‌سازی دو قرص 800 میلی‌گرمی در 15 میلی‌لیتر آب مقطر استریل حل گردید. به مدت 24 ساعت در دمای آزمایشگاه دور از نور قرار گرفت. سپس عصاره حاصل به مدت 20 دقیقه و به سرعت 6000 دور در 20 دقیقه سانتریفیوژ گردید تا عصاره خالص و شفاف گردد. این عصاره حاوی ماده مؤثره می‌باشد. بررسی اثر عصاره‌های سیر بر رشد باکتری مورد آزمایش به روش استاندارد لوله‌ای برای اندازه‌گیری حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی (Minimum inhibitory concentration) و حداقل غلظت میکروب‌کشی (Minimum bactericidal concentration) عصاره حاصل از پودر سیر رقت‌های $3/12$ ، $6/25$ ، $12/50$ ، 25 ، 50 و 100 میلی‌لیتر از پودر سیر در محیط برات تهیه گردید. باکتری‌های مورد آزمایش در محیط برات کشت شده، کدورت آن‌ها با روش کدورت سنجی مک فارلند نیم یا نیمه مک فارلند تنظیم شده که معادل آن‌ها با روش کدورت سنجی مک فارلند 1×10^8 ارگانیسم در هر میلی‌لیتر خواهد بود. در مرحله بعد رقت‌های (1×10^{-1}) ، (1×10^{-2}) ، (1×10^{-3}) ، (1×10^{-4}) آماده گردید. از رقت‌های (1×10^{-2}) ، (1×10^{-3}) که حاوی به‌ترتیب (1×10^6) ، (1×10^5) ارگانیسم در هر میلی‌لیتر است، به محیط تلقیح شده و به مدت 24 ساعت در آنکوباتور 37°C قرار گرفتند. بعد از مدت آنکوباسیون، $0/1$ میلی‌لیتر از هر لوله برداشته و بر محیط SS و BHA کشت سطحی داده شد و به مدت 24 ساعت در آنکوباتور 37°C قرار داده شد. سپس حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی (MIC) و حداقل غلظت میکروب‌کشی (MBC) عصاره حاصل از پودر سیر را بر اساس جلوگیری از افزایش تعداد میکروب‌ها یا جلوگیری کامل از رشد آن‌ها اندازه‌گیری نمودیم. حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی و حداقل غلظت میکروب‌کشی عصاره حاصل از قرص سیر مشابه مراحل ذکر شده با غلظت‌های $2/5$ ، 5 ، 10 ، 20 ، 40 ، 80

بر روی سالمونلا تیفی موریوم اعمال می‌کند (۷). در مطالعه‌ای دیگر، با استفاده از سیر، به‌طور کامل عفونت شیگلایی را در خرگوش‌هایی که دارای اسهال شدید بودند، در عرض سه روز درمان نمودند. درحالی‌که خرگوش‌های درمان نشده در عرض دو روز تلف شدند و اثرات قوی ضد باکتریایی سیر روی گونه‌های مختلف شیگلا و نیز توکسین‌های حاصل از اشرشیاکولای (*Escherichia coli*) تأیید گردید. هم‌چنین ملاحظه گردید آلیسین به مراتب قوی‌تر از آنتی‌بیوتیک‌های موجود است به‌ویژه برخی از گونه‌های باکتریایی که نسبت به داروها مقاومت پیدا کرده‌اند، از قبیل سالمونلا اورئوس (*Salmonella aureus*) مقاوم به آمفی‌سیلین و سایر گونه‌های انتروکسین‌زای مقاوم به دارو در شیگلا دیسانتریه (*Shigella dysenteriae*)، شیگلا فلکسنری (*Shigella flexneri*)، سونه-ای (*Shigella sonnei*)، اشرشیا کولای، نسبت به آلیسین حساس هستند (۸).

عصاره سیر در دمای معمولی از فعالیت باکتری‌های گرم منفی مانند اشرشیا کولای و سالمونلا، باکتری‌های گرم مثبت از قبیل آنتراسیس تیپ B و استرپتوکوکوس تیپ A ممانعت به‌عمل می‌آورد و اثرات باکتریسیدی سیر، قوی‌تر از پنی‌سیلین می‌باشد. به‌طوری‌که 1mg آلیسین برابر ۱۵ واحد استاندارد پنی‌سیلین تأثیر دارد. در مطالعه‌ای اثرات آنتی‌باکتریال وسیع‌الطیف سیر روی انواع باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت تأیید گردید (۹).

سیر باعث کاهش گلوکز و چربی خون می‌شود و دارای خاصیت ضد توموری، ضد موتاژنیک، ضد میکروبی، ضد انعقاد و ضد آریتمی می‌باشد. به‌طوری‌که عصاره سیر از فعالیت رادیکال‌های آزاد ممانعت به‌عمل می‌آورد. این اثرات را به *s-allylmercap*، *s-allylcysteine* و *L-cystein* نسبت دادند (۱۰ و ۱۱). بر اساس نتایج به‌دست آمده از این آزمایش، به‌نظر می‌رسد استفاده از ترکیبات دارای عصاره سیر در سیستم‌های نگهدارنده مواد غذایی، برای جلوگیری از آلودگی‌های میکروبی و بیماری‌های ناشی از آن‌ها مفید خواهد بود. البته با توجه به اثر قوی پودر سیر در مقایسه با قرص سیر لازم است آزمایشات انجام شده در این بررسی، در مواد غذایی نیز مورد مطالعه قرار گیرد.

References

- Ankri S, Mirelman D. Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes Infect* 1999;1(2):125-129.
- Heinrich P, Larry DL, editors. *Garlic: The science and therapeutic application of Allium Sativum L. and related species*. 2nd ed. Translated to English by: William W. 1996.
- Leistner L, Gorris L. Food preservation by hurdle technology. *Food Science & Technology* 1995; 6(2):41-46.
- Baghalian K, Ziaib SA, Naghavi MR, Naghdi Badi HN, Khalighia A. Evaluation of allicin content and botanical traits in Iranian garlic (*Allium sativum L.*) ecotypes. *Scientia Horticulturae* 2005;103(2): 155-66.

میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره انجام شد (۴). آزمایشات تعیین MIC و MBC عصاره حاصل از پودر سیر و قرص سیر بر روی هر میکروارگانیسم سه بار تکرار شد و میانگین سه بار تکرار به‌عنوان نتایج مطالعه ارائه شده است.

نتایج

همان‌طوری‌که در جداول ۱ نشان داده شده است، حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی عصاره حاصل از پودر سیر بر روی هر دو میکروارگانیسم ۱۲/۵ mg/ml حاصل شد و حداقل غلظت نابودکنندگی این عصاره بر روی میکروارگانیسم‌های فوق ۲۵ mg/ml به‌دست آمد. این در حالی است که MBC و MIC عصاره حاصل از قرص سیر بر روی هر دو میکروارگانیسم فوق به‌ترتیب ۸۰ mg/ml و ۴۰ mg/ml حاصل شد (جدول ۱).

جدول ۱- حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی و کشندگی عصاره پودر و قرص سیر بر دو نوع میکروارگانیسم بر حسب mg/dl

| نوع میکروارگانیسم | نوع عصاره | | | |
|---------------------|-----------|-----|----------|------|
| | قرص سیر | | پودر سیر | |
| | MBC | MIC | MBC | MIC |
| سالمونلاتیفی موریوم | ۸۰ | ۴۰ | ۲۵ | ۱۲/۵ |
| شیگلا دیسانتری | ۸۰ | ۴۰ | ۲۵ | ۱۲/۵ |

بحث

چنانچه از نتایج کار حاضر بر می‌آید، عصاره سیر در هر دو حالت بر روی این باکتری‌ها مؤثر بوده و به‌طور قابل توجهی از رشد آن‌ها ممانعت کرده است که علت این تغییرات به‌علت وجود آلیسین است که خاصیت ضد باکتریایی چشم‌گیری دارد. هم‌چنین عصاره سیر بر روی هر دو باکتری اثر یکسانی دارد که دور از انتظار هم نیست، چرا که هر دو از خانواده آنتروباکتریاسه و گرم منفی بوده و دارای ویژگی‌ها و ساختار مشابهی هستند. ولی همان‌طوری‌که در نتایج هم دیده می‌شود، اثر عصاره حاصل از پودر سیر بر روی هر دو باکتری بیش‌تر از عصاره قرص سیر است. این امر می‌تواند به‌علت بالا بودن درصد خلوص و تازه بودن پودر سیر نسبت به قرص سیر باشد. البته مراحل تهیه و روش استریل شدن آن‌ها که اولی به‌وسیله اتیلن اکساید استریل شده و در روند تهیه هیچ‌گونه حرارتی دریافت نمی‌کند (آلیسین موجود در سیر به حرارت حساس است)، نیز در این اختلاف بی‌تأثیر نیست. به هر حال خاصیت ضد باکتریایی عصاره حاصل از پودر سیر حدود ۳/۳ برابر قوی‌تر از عصاره حاصل از قرص سیر است (۸۰ تقسیم بر ۲۵). تاکنون تحقیقات مشابهی در مورد اثرات ضد باکتریایی سیر انجام شده است که نتایج حاصل از این پژوهش را تأیید می‌کند. ولی میزان دقیق غلظت ممانعت‌کنندگی سیر ذکر نشده است. در یک بررسی ملاحظه گردید آلیسین موجود در سیر با ممانعت از سنتز rRNA، اثر ضد میکروبی خود را

5. Cetinkaya F, Cibik R, Soyutemiz GE, Ozakin C, Kayali R, Levent B. Shigella and Salmonella contamination in various foodstuffs in Turkey. Food Control 2007;19(11):1059-1063.
6. Muray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH, editors. Manual of clinical microbiology. 2nd ed. USA:ASM press; 1995.p.1405-1413.
7. Feldberg RS, Change SC, Kotik AN, Nadler M, Neuwirth Z, Sundstrom DC, et al. In vitro mechanism of inhibition of bacterial cell growth by allicin. Antimicrob Agent Chemother 1988;32(12):1763-1768.
8. Chowdhury AK, Ahsan M, Islam SN, Ahmad ZU. Efficacy of aqueous extract of garlic & allicin in experimental shigellosis in rabbits. Indian J Med Res 1991;93:33-36.
9. Harris J.C, Cottrell S.L, Plummer s, Lioy D. Antimicrobial properties of Allium sativum (garlic). Appl Microbiol Biotechnol 2001;57(3):282-286.
10. Sharma VD, Sethi MS, Kumar A, Rarotra JR. Antibacterial property of Allium Sativum Linn: in vivo & in vitro studies. Indian J Exp Biol 1977;15(6):466-468.
11. Thaomson M, Ali M. Garlic [Allium sativum]:a review of its potential use as an anti-cancer agent. Curr Cancer Drug Targetds 2003;3(1):67-81.