# بررسی اثر ضد میکروبی عصاره متانولی پیاز گل نرگس

**سمانه تاج‌بخش**
**دانشجوی دکتری بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز**
**Email:** samanetajbakhsh@yahoo.com

## چکیده

امروزه عصاره‌های گیاهی به‌دلیل خاصیت ضد میکروبی در برابر طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها، در صنایع غذایی کاربرد فراوان دارند. در این تحقیق اثر ضد میکروبی عصاره متانولی پیاز گل نرگس بر دو باکتری انتروباکتر ائروژنز و استافیلوکوکوس اورئوس موردبررسی قرار گرفت. بدین ترتیب که عصاره‌گیری به روش غوطه‌ورسازی در متانول انجام شد و سپس جهت تعیین اثر ضد میکروبی عصاره از روش میکرودایلوشن استفاده گردید. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) تعیین شد. نتایج نشان داد که عصاره پیاز گل نرگس قادر به مهار باکتری انتروباکتر ائروژنز بوده و نسبت به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس علاوه بر مهار، اثر کشندگی نیز دارد.

**کلمات کلیدی: عصاره گیاهی، پیاز گل نرگس، انتروباکتر ائروژنز، استافیلوکوکوس اورئوس، ضد میکروبی**

## ۱. مقدمه

گیاهان منبعی از مواد شیمیایی مفید هستند که تنها بخشی از آن‌ها مورد بهره‌برداری قرارگرفته است. عصاره‌های گیاهی و ترکیبات فعال موجود در آن‌ها دارای اثرات شناخته‌شده ضد میکروبی می‌باشند و کاربرد زیادی جهت کنترل رشد باکتری‌های بیماری‌زا و عوامل فساد غذایی دارند (۱). با توجه به عوارض جانبی نگهدارنده‌های شیمیایی و کاهش تمایل مصرف‌کنندگان به این ترکیبات، محصولات ضد میکروبی با منشأ طبیعی درحال‌توسعه می‌باشد.

گل نرگس ازجمله گیاهان زینتی و بسیار معطر است که عصاره بخش‌های مختلف آن ازجمله گل، ساقه و پیاز موردبررسی قرارگرفته است. آلکالوئیدها متابولیت ثانویه اصلی در گیاه نرگس هستند که دارای خاصیت ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی می‌باشد و کاربرد دارویی و درمانی دارد (۴). تحقیقات مختلفی بر اثرگذاری عصاره این گیاه از جنبه‌های مختلف انجام‌گرفته است (۴،۷). انتروباکتر ائروژنز ازجمله باکتری‌های روده‌ای و عامل اصلی مسمومیت هیستامینی به شمار می‌آید (۳). استافیلوکوکوس اورئوس نیز از آلودگی‌های

شایع در مواد غذایی می‌باشد که با تولید انتروتوکسین مقاوم به حرارت، مهم‌ترین عامل مسمومیت‌های غذایی به شمار می‌آید (۱). تحقیقات بسیاری جهت کنترل استافیلوکوکوس اورئوس در مواد غذایی انجام‌شده است (۸). در این پژوهش اثر ضد میکروبی عصاره متانولی پیاز گل نرگس بر دو باکتری انتروباکتر ائروژنز و استافیلوکوکوس اورئوس موردبررسی قرار گرفت.

## ۲. روش کار

### ۲–۱. تهیه عصاره متانولی پیاز گل نرگس

پیاز گل نرگس (Narcissus Amaryllidaceae) از شهر شیراز خریداری شد. پیازها در دمای اتاق به مدت دو هفته خشک و سپس آسیاب گردید. عصاره متانولی از پیاز خشک‌شده، به روش غوطه‌ورسازی تهیه و به‌وسیله روتاری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ و متانول آن، حذف شد. عصاره حاصله با استفاده از فیلتر سر سرنگی ۰/۲۲ میکرومتر (Millipore, Merck) استریل گردید. دو میلی‌لیتر از عصاره در آون ۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۸ ساعت قرار داده‌شده و میزان ماده خشک و غلظت اولیه عصاره محاسبه گردید.

### ۲–۲. آماده‌سازی سوسپانسیون باکتریایی

باکتری لیوفیلیزه انتروباکتر ائروژنز و استافیلوکوکس اورئوس از گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز تهیه شد. از کشت لیوفیلیزه هر باکتری در محیط TSB کشت داده شد و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری انجام شد. برای ارزیابی خالص بودن باکتری‌ها از انتروباکتر ائروژنز روی محیط مک‌کانکی آگار (MacConkey Agar, Merck) و از باکتری استافیلوکوکس اورئوس روی محیط برد پارکر آگار (Baird parker Agar, Merck) کشت خطی داده شد و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری انجام شد. مجدداً از هر پلیت در محیط TSB کشت داده شد و ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شد. کشت تازه حاصل با نرمال سالین استریل رقیق شد و سوسپانسیونی با کدورت معادل ۰/۵ مک‌فارلند (کدورت معادل $۱/۵\times۱۰^{۸}$ باکتری در هر میلی‌لیتر) تهیه شد (۱۷). سپس جهت رسیدن به غلظت $۱۰^{۶}$ باکتری در هر میلی‌لیتر (دوز تلقیح)، سوسپانسیون ۰/۵ مک‌فارلند به نسبت یک‌صدم رقیق شد. به‌منظور تأیید غلظت باکتری‌ها، از رقت موردنظر بر محیط پلیت کانت آگار (Plate Count Agar, Merck) کشت سطحی داده شد و تعداد پرگنه‌ها شمارش شد (۵).

## ۲-۳. تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره متانولی پیاز گل نرگس بر انتروباکتر ائروژنز و استافیلوکوکوس اورئوس

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره پیاز گل نرگس به روش میکرودایلوشن انجام شد. برای انجام این آزمایش تحت شرایط استریل به هر یک از چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ خانه، ۱۰۰ میکرولیتر محیط TSB اضافه شد. ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره پیاز گل نرگس با غلظت اولیه ۲۸۶۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به اولین چاهک هر ردیف اضافه شد و سپس تا ۹ چاهک رقت سازی متوالی انجام شد. در نهایت به هر چاهک ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری ($۱\times۱۰^{۶}$ باکتری در هر میلی‌لیتر) اضافه گردید و حجم همه چاهک‌ها به ۱۱۰ میکرولیتر رسید. غلظت نهایی عصاره از ۱۴۳۰۰ در چاهک اول تا ۵۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر در چاهک نهم کاهش یافت. جهت جلوگیری از تبخیر محتوای چاهک‌ها اطراف درب میکروپلیت با چسب نواری پوشانده شد. برای هر آزمون، محیط کشت و سوسپانسیون باکتری به‌عنوان کنترل مثبت و محیط کشت حاوی عصاره پیاز گل نرگس به‌عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. میکروپلیت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شد. جذب نوری چاهک‌ها در ساعت ۲۴ با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر (BioTek's PowerWave XS, USA) در طول‌موج ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. آزمایش‌ها در سه تکرار انجام پذیرفت.

فعالیت ضد میکروبی عصاره نسبت به کنترل مثبت بررسی‌شده و حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره پیاز گل نرگس بر اساس جذب نوری، به‌عنوان MIC[1] در نظر گرفته شد. درصد مهار هریک از غلظت‌های عصاره با استفاده از معادله زیر محاسبه شد (۲):

$$\text{درصد مهار عصاره} = \left(100 - \frac{\text{OD of sample} - \text{OD of negative control}}{\text{OD of positive control} - \text{OD of negative control}}\right) \times 100$$

## ۲-۴. تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره متانولی پیاز گل نرگس بر انتروباکتر ائروژنز و استافیلوکوکوس اورئوس

به‌منظور تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره (MBC[2])، ۱۰۰ میکرولیتر از محتویات چاهک‌هایی که افزایش کدورت نداشتند، بر روی محیط کشت پلیت کانت آگار به‌صورت سطحی کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، رشد باکتری بر روی پلیت‌ها موردبررسی قرار گرفت. کمترین غلظتی از عصاره که قادر به کاهش حداقل ۹۹ درصد از دوز تلقیحی باکتری‌های موردبررسی بود، به‌عنوان MBC در نظر گرفته شد (۵).

---

1. Minimum Inhibitory Concentration
2. Minimum Bactericidal Concentration

## ۳. نتایج

### ۳–۱. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره پیاز گل نرگس بر انتروباکتر ائروژنز و استافیلوکوکوس اورئوس

حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره پیاز گل نرگس بر انتروباکتر ائروژنز و همچنین بر استافیلوکوکوس اورئوس، غلظت ۱۷۸۷/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر تشخیص داده شد. این غلظت از عصاره قادر به مهار ۸۰ درصد از استافیلوکوکوس اورئوس و ۱۶/۷۵ درصد از انتروباکتر ائروژنز می‌باشد. غلظت‌های کمتر از این میزان بر هیچ‌یک از دو باکتری اثر مهارکنندگی نشان ندادند. بالاترین غلظت مورداستفاده عصاره (۱۴۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) قادر به مهار ۱۰۰ درصد استافیلوکوکوس اورئوس و ۹۱/۸۴ درصد انتروباکتر ائروژنز بود. درصد مهارکنندگی غلظت‌های مختلف عصاره در جدول ۱ بیان‌شده است.

**جدول ۱: درصد مهارکنندگی عصاره پیاز گل نرگس در غلظت‌های مختلف بر استافیلوکوکوس اورئوس و انتروباکتر ائروژنز**

| مهار انتروباکتر ائروژنز (درصد) | مهار استافیلوکوکوس اورئوس (درصد) | غلظت (µg/ml) |
|---|---|---|
| ۹۱/۸۴ | ۱۰۰ | ۱۴۳۰۰ |
| ۶۰/۴۷ | ۱۰۰ | ۷۱۵۰ |
| ۳۰/۱۵ | ۱۰۰ | ۳۵۷۵ |
| ۱۶/۷۵ | ۸۰ | ۱۷۸۷/۵ |
| ۰ | ۰ | ۸۹۴ |
| ۰ | ۰ | ۴۴۷ |
| ۰ | ۰ | ۱۱۲ |
| ۰ | ۰ | ۵۶ |

## ۲-۳. تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره پیاز گل نرگس بر انتروباکتر ائروژنز و استافیلوکوکوس اورئوس

هیچ‌یک از چهار غلظت مهارکننده انتروباکتر ائروژنز، قادر به کاهش حداقل ۹۹ درصد از دوز تلقیحی این باکتری نبود و MBC برای انتروباکتر ائروژنز تعیین نشد. عصاره با غلظت‌های ۱۴۳۰۰ و ۷۱۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر موجب کاهش ۹۹ درصد از میزان اولیه استافیلوکوکوس اورئوس شد و غلظت ۷۱۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، به‌عنوان میزان MBC بر استافیلوکوکوس اورئوس تعیین شد.

عصاره پیاز گل نرگس برخلاف انتروباکتر ائروژنز، بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس علاوه بر توان مهار، دارای خاصیت کشندگی نیز می‌باشد.

## ۴. نتیجه‌گیری

نتایج نشان می‌دهد که عصاره پیاز گل نرگس بر هر دو باکتری انتروباکتر ائروژنز و استافیلوکوکوس اورئوس مؤثر می‌باشد. این عصاره نسبت به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس علاوه بر مهار، قادر به از بین بردن سلول باکتری نیز می‌باشد. در تحقیقات دیگر نیز اثرگذاری عصاره گیاه نرگس بر استافیلوکوکوس اورئوس بیان شده است (۴). استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به انتروباکتر ائروژنز حساسیت بیشتری نسبت به عصاره پیاز گل نرگس نشان داد. نتایج تحقیق حاضر با تحقیقات دیگر که حاکی از حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی نسبت به عوامل ضد میکروبی می‌باشد، موافقت داد (۶). عصاره گیاه نرگس بواسطه داشتن آلکالوئیدهای مختلف، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضد میکروبی فراوانی دارد (۷).

مطالعات بیشتر بر عصاره بخش‌های مختلف گیاه نرگس، بررسی تأثیر بر سایر میکروارگانیسم‌های فسادزا و بیماری‌زای مواد غذایی، مکانیسم‌های اثر آن و قابلیت استفاده از آن در محصولات غذایی همچنان موردنیاز می‌باشد.

## ۵. منابع

1. Ananou, S., et al, Control of Staphylococcus aureus in sausages by enterocin AS-48- Meat. Sci, 71: 549-556, 2005.
2. Jalaei J., et al, In vitro antibacterial effect of wasp (Vespa orientalis) venom- J Venom Anim Toxins Incl 20;20:22, 2014.
3. Kim, J. Y., et al, Biogenic amine formation and bacterial contribution in fish, squid and shellfish. Food Chemistry, 116(1), 87-92, 2009.
4. Razik, A., et al, Antimicrobial, Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of the extract of a Moroccan endemic Narcissus: Narcissus broussonetii- International Journal of Scientific Research in Science and Technology, 2, 6-11, 2016.

**5.** Samadi M., et al, Antimicrobial effects of magnesium oxide nanoparticles and ε-poly-L-lysine against Escherichia coli O157:H7 and Listeria monocytogenes- Iran J Med Microbiol. 10 (2) :33-41, 2016.
**6.** Tabatabaei Yazdi, F., et al, The Comparison of Antimicrobial Effects of Chevil (Ferulago Angulata) Extract with a Variety of Common Therapeutic Antibiotics In Vitro- J Arak Uni Med Sci. 17 (3) :35-46, 2014 (in persion).
**7.** Tariq,H., et al, Photodynamic cytotoxic and antibacterial evaluation of Tecoma stans and Narcissus tazetta mediated silver nanoparticles- Arabian Journal of Chemistry, Volume 15, Issue 3, 2022.
**8.** Zhao,A., et al, Comparative Effects of Food Preservatives on the Production of Staphylococcal Enterotoxin I from *Staphylococcus aureus* Isolate- *Journal of Food Quality*, vol. 2017, 5, 2017.