

مطالعه اثر ضدباکتریایی عصاره‌های آبی و الکلی گلبرگ زعفران بر برخی از باکتری‌های بیماریزای غذایی

حسن گندمی نصرآبادی^۱، لیلا اعظمی ساروکلایی^۲، علی میثاقی^۳، سپیده عباس‌زاده^۴، نبی شریعتی فر^{۵*}، نسرین طیار هشتاجین^۶

- ۱- استادیار، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران
 - ۲- دانشجوی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران
 - ۳- دانشیار، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران
 - ۴- مریم، گروه تغذیه و بهداشت مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه بقیه‌الله، تهران
 - ۵- دکترای تخصصی بهداشت و کنترل مواد غذایی، معاونت غذا و داروی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران
 - ۶- کارشناس، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران
- *آدرس مکاتبه: تهران، خیابان قدس، معاونت غذا و دارو، تلفن و نامبر: ۰۲۱(۶۶۴۸۲۴۹۲) پست الکترونیک: nshariatifar@ut.ac.ir

تاریخ تصویب: ۹۰/۳/۲۹

تاریخ دریافت: ۸۹/۹/۱۵

چکیده

مقدمه: با توجه به نگرانی‌های عمومی درخصوص عوارض نگهدارنده‌های شیمیایی، تمایل به مصرف محصولاتی است که قادر نگهدارنده هستند و یا در آنها از نگهدارنده‌های طبیعی مثل انسان‌ها و عصاره‌های گیاهی استفاده شده است.

هدف: در این مطالعه اثر ضدباکتریایی عصاره آبی، اتانولی و متانولی گلبرگ زعفران بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا تیفی موریوم، ای کولای H7:O157. لیستریا مونوسایتوژن و باسیلوس سرئوس مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: در آزمایش غربالگری حساسیت باکتری‌های مورد مطالعه به روش انتشار دیسک بررسی شد. حداقل غلظت بازدارنده (MIC) به روش آگار دایلوشن و براث میکرودایلوشن مورد مطالعه قرار گرفت.

نتایج: در روش انتشار دیسک سالمونلاتیفی موریوم حساس‌ترین باکتری و استافیلوکوکوس اورئوس و ای کولای مقاوم‌ترین باکتری تعیین شد. حداقل غلظت بازدارنده هر سه عصاره مورد مطالعه در مورد تمام باکتری‌های تحت آزمایش در روش آگار دایلوشن ۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر محاسبه شد. براساس نتایج به دست آمده میزان MIC عصاره‌های آبی و متانولی در روش میکرودایلوشن برای تمام باکتری‌های فوق ۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر محاسبه شد، در حالی که MIC عصاره اتانولی در مورد استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس و لیستریا مونوسایتوژن ۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و برای باکتری‌های سالمونلاتیفی موریوم و ای کولای H7:O157 بیشتر از ۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر محاسبه شد.

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر نشان داد که عصاره‌های گلبرگ زعفران می‌تواند به عنوان نگهدارنده طبیعی بر ضد باکتری‌های فوق مورد استفاده قرار گیرد و استفاده از این عصاره‌ها را در مواد غذایی پیشنهاد می‌نماید.

گل واژگان: زعفران، گلبرگ، عصاره، فعالیت ضدمیکروبی



مقدمه

وسيع کشت آن در ايران می باشد. ايران يکی از مهمترین قطب های تولید زعفران در دنيا محسوب می شود، به طوری که ارزش صادرات زعفران ايران از مرز ۳۰۰ ميليارد ریال در سال می گذرد. در فرآيند تولید زعفران از قسمت کالله و خامه گل به عنوان زعفران تجارتی استفاده می شود و سایر قسمت های گل از جمله گلبرگ ها به عنوان ضایعات دور ریخته می شود که از حجم بسيار بالايی برخوردار می باشد، به طوری که سالانه رقمی معادل ۷۲۵۷۶۲۵ کيلوگرم گلبرگ زعفران به عنوان محصول فرعی به دست می آيد که با توجه به روند افزایش تولید، پيش بیني می شود در سال های آينده حتی اين مقدار هم افزایش پيدا کند [۴]. بنابراین يافتن راه حلی برای بازيافت اين حجم عظيم ضایعات از اهميت بالايی برخوردار می باشد. يکی از اين راه حل ها می تواند استفاده از گلبرگ زعفران به عنوان يک ماده ضدميکروبی طبیعی در صنایع غذایي باشد. در خصوص اثرات بازدارندگی زعفران و تركیبات آن تاکنون مطالعاتی انجام شده است اما اثر ضدميکروبی گلبرگ زعفران بر باكتري های بيماري زعفران برآورده کردن این مطالعه بررسی اثر عصاره های آبي، اتانولی و متانولی گلبرگ زعفران بر روی تعدادی از مهمترین باكتري های بيماري زعفران می باشد و در صورت داشتن چنین اثری علاوه بر برآورده کردن خواست مصرف کنندگان برای نگهدارنده های طبیعی و افزایش عمر نگهداری مواد غذایي و بالا بردن سطح ايمني مواد غذایي از هدر رفتن يك محصول جانبی جلوگیری می شود.

مواد و روش ها

استخراج عصاره های آبي، اتانولی و متانولی گلبرگ زعفران گلبرگ زعفران مورد مطالعه از مزرعه ای واقع در شهرستان گناباد جمع آوري و خشک شد. جهت تهيه عصاره های آبي، اتانولی و متانولی، ۵۰ گرم از گلبرگ خشک شده با ۴۵۰ ميليلiter آب مقطر در مورد عصاره آبي و الكل ۸۰ درصد در مورد عصاره های اتانولی و متانولی با استفاده از شيكر به مدت

بيماري های حاصل از مصرف غذاهای آلوده به باكتري های بيماريزا از اهميت فراوانی در بهداشت عمومی برخوردار بوده و سالانه خسارات مالي و جانی فراوانی را به جوامع تحويل می نماید. از اين رو کاهش تعداد ميكروارگانيسم ها در مواد غذائي هم از نظر كتrol كيفيت و هم از نظر بهداشت و سلامت عمومي حائز اهميت فراوان است [۱]. يکی از راه های كتrol رشد باكتري های بيماريزا در مواد غذائي استفاده از نگهدارنده ها و تركیبات ضدميکروبی می باشد. افزودن مواد شيميايی به منظور نگهداری مواد غذائي معمولاً بر مبنای جلوگيری از رشد ميكروبی و يا كشتن و از بين بردن گروه هایي از ميكروارگانيسم های مضر می باشد. با توجه به نگرانی های عمومی در خصوص عوارض نگهدارنده های شيميايی تمایل به مصرف محصولاتي است که فاقد نگهدارنده بوده و يا در آنها از نگهدارنده طبیعی استفاده شده است. به همين دليل در سال های اخير مطالعات زيادي پيرامون نگهدارنده های طبیعی صورت گرفته است. از جمله اين اثرات شناخته شده ضدباكتريائي می باشند [۲]. كاربردهای زيادي آنها به منظور كتrol رشد باكتري های بيماري زعفران گلبرگ و اسانس های گيahan دارويي و اجزاي تشکيل دهنده آنها داراي اثرات شناخته شده ضدباكتريائي می باشند. زعفران گياهي کوچک و چند ساله از خانواده زنبق است که کاللهی خشك شده گل اين گياه به عنوان زعفران در صنایع غذایي (به عنوان ادویه معطر و برای رنگين کردن غذا) و صنعت دارويي (به عنوان آرامبخش و مسكن بيماري آسم، سیاه سرفه و التهاب) مورد استفاده قرار می گيرد [۳]. از زمان های قدیم زعفران به طور وسيعی به عنوان دارو در درمان بيماري ها و تقویت سلامتی به ویژه در خاورمیانه و جنوب غربی آسیا به کار می رفته است. زعفران در قسمت های مختلف دنيا کشت می شود، اما قسمت



شمارش تعداد باکتری به روش کشت سطحی صورت گرفت تا مشخص شود که سوسپانسیون باکتریایی با جذب نوری ۰/۱ دارای چه مقدار باکتری در هر میلی لیتر می‌باشد. در مراحل بعدی با تهیه سوسپانسیون باکتریایی با جذب نوری ۰/۱ و رقیق‌سازی سوسپانسیون تهیه شده دوز تلقیح موردنظر آماده شد.

تعیین حساسیت باکتری‌های مورد مطالعه به عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گلبرگ زعفران به روش انتشار دیسک

ابتدا سوسپانسیون باکتریایی از باکتری‌های مورد مطالعه با جذب نوری ۰/۱ تهیه شده و سپس با استفاده از سوآب سطح پلیت‌های حاوی محیط آگار BHI با باکتری‌های مورد نظر تلقیح شد. بعد از اینکه سطح پلیت خشک شد، دیسک‌های کاغذی ۶ میلی‌متری حاوی ۶۰ میلی‌گرم از عصاره‌های مورد مطالعه به پلیت منتقل شده و به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شد و بعد از گرمخانه‌گذاری قطره‌های مهار رشد اندازه‌گیری شد.

تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC) به روش آگار دایلوشن

ابتدا محیط کشت آگار BHI را آماده نموده و حجم‌های ۱۹ میلی‌لیتری از محیط کشت حاوی ۱۰ درصد دی‌متیل سولفوكساید را در لوله‌های یونیورسال توزیع نمودیم. بعد از استریل نمودن محیط کشت و سرد شدن محیط تا دمای ۵۰ درجه، ۱ میلی‌لیتر از محلول عصاره‌های فیلتر شده با فیلتر ۰/۴۵ میکرومتر را اضافه نموده و با استفاده از ورتسکس به مدت ۱۰ ثانیه مخلوط کرده و در پلیت پخش شد. غلظت‌های مورد استفاده عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی برابر صفر، ۱۰ و ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. پلیت کنترل حاوی ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت حاوی ۱۰ درصد دی‌متیل سولفوكساید بود. بعد از پخش کردن محیط، سطح پلیت‌ها زیر هود میکروبیولوژیک به مدت ۲۰ - ۳۰ دقیقه به خوبی خشک شد. سپس مقدار ۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری‌های مورد نظر توسط سمپلر به صورت نقطه‌ای تلقیح شد (به نحوی که در هر

۲۴ ساعت عصاره‌گیری شد. عصاره استخراج شده با دستگاه روتاری اوپوراتور تغليظ و در فور ۴۰ درجه خشک شد. سپس عصاره‌ها جهت خشک شدن نهایی لیوفلیزه شد. عصاره خشک شده تا زمان مصرف در شیشه‌های رنگی و در یخچال نگهداری شد.

باکتری‌های مورد مطالعه

شامل باکتری‌های *S. typhimurium*, *E. coli* O157:H7, ATCC 19118, *S. aureus* ATCC 6538, *phagetype II*, *B. cereus* ATCC 11778 و *L. monocytogenes* می‌باشد. ابتدا کشت‌های لیوفلیزه در محیط آبگوشت BHI در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ - ۱۶ ساعت حداقل دوبار متوالی تجدید شده و سپس از کشت دوم به نسبت ۵ به ۱ با گلیسیرین استریل مخلوط و در حجم‌های ۵۰۰ میکرولیتری در میکروتیوب‌های اپندرف در ۲۰ - درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

آماده‌سازی کشت‌های باکتریایی

ابتدا کشت‌های نگهداری شده در ۲۰ - درجه سانتی‌گراد به محیط آبگوشت BHI منتقل شده و ۱۶ - ۱۸ ساعت تجدید شد. سپس در محیط کشت شیبدار تجدید شده و جهت استفاده در طول آزمایش در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای تهیه دوز تلقیح باکتری‌ها از روش سنجش جذب نوری با استفاده از اسپکتروفوتومتر استفاده شد. باکتری‌ها از کشت شیبدار تهیه شده به براث منتقل و به مدت ۱۶ - ۱۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. از باکتری گرمخانه‌گذاری شده برای تهیه سوسپانسیون با جذب نوری ۰/۱ استفاده شد. ابتدا دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر تنظیم شده و توسط لوله شاهد حاوی BHI استریل جذب نوری را صفر نموده و بعد مقدار مناسبی از کشت باکتریایی را به کوت نمایند ۴ میلی‌لیتر محیط آبگوشت BHI استریل اضافه کرده و جذب نوری را قرائت کردیم. از طریق افروden باکتری این کار را تا حدی ادامه داده تا به جذب نوری ۰/۱ برسیم. سپس



۳۵ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شده و بعد از اتمام گرمخانه گذاری کدورت یا عدم کدورت در چاهکها به صورت چشمی مشاهده شد.

۵ میکرولیتر برابر 10^{-3} باکتری موجود باشد). سپس پلیت‌ها در انکوباتور به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شد.

غاظت‌هایی از عصاره‌ها که بیشتر از ۹۹ درصد سبب ممانعت از رشد شود تحت عنوان MIC نامیده می‌شود.

نتایج

تعیین حساسیت باکتری‌های مورد مطالعه به عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گلبرگ زعفران به روش انتشار دیسک نتایج اثر عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گلبرگ زعفران علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلاتیفی موریوم، ای کولاوی *O157:H7*، لیستریا مونوسیتوژن و باسیلوس سرئوس در روش انتشار دیسک در جدول شماره ۱ آمده است.

در مورد باکتری سالمونلاتیفی موریوم هر سه عصاره مورد مطالعه سبب مهار رشد باکتری گردیده و قطر هاله رشد در خصوص عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی به ترتیب ۲۱، ۲۰ و ۲۰ میلی‌متر محاسبه شد. در مورد باکتری باسیلوس سرئوس تنها عصاره متانولی باعث ایجاد هاله مهار رشد با قطر ۱۶ میلی‌متر شد و در مورد عصاره‌های آبی و اتانولی مهار رشد مشاهده نشد. در مورد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و ای کولاوی هیچ یک از عصاره‌های مورد مطالعه نتوانست رشد باکتری را مهار کند و در رابطه با باکتری لیستریا مونوسیتوژن هم تنها عصاره متانولی باعث مهار رشد باکتری با قطر هاله مهار رشدی برابر ۱۳ میلی‌متر شد.

تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC) به روش براث میکرودایلوشن

در این روش از پلیت‌های ۹۶ چاهکی ته گرد با حجم ۳۰۰ میکرولیتر استفاده شد. غلظت‌های مورد استفاده عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گلبرگ زعفران برابر صفر، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. ابتدا مقدار مناسبی از عصاره‌ها در محلول حاوی ۴۰ درصد اتانول و ۱۰ درصد دی‌متیل سولفوکساید حل شد و سپس توسط فیلتر ۰/۴۵ میکرومتر استریل شد و بعد غلظت‌های لازم از آن توسط آبگوشت BHI تهیه شد (غلظت نهایی اثانول در محیط کشت ۱ درصد و غلظت نهایی دی‌متیل سولفوکساید ۵ درصد می‌باشد). ۲۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی به هر چاهک انتقال داده شد. سپس به هر چاهک ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری اضافه شد. غلظت نهایی باکتری در هر چاهک برابر 10^4 CFU/ml بود (تعداد دقیق باکتری از طریق کشت سطحی و شمارش کلونی تأیید شد). در چاهک کنترل رشد ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت حاوی ۵ درصد دی‌متیل سولفوکساید و ۱ درصد اثانول به همراه باکتری تلقیح شد.

محتویات هر چاهک به مدت ۲ دقیقه با استفاده از پلیت شیکر مخلوط شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای

جدول شماره ۱- قطر هاله مهار رشد باکتری‌های مورد مطالعه تحت اثر عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گلبرگ زعفران

عصاره‌ها	سالمونلاتیفی موریوم	ای کولاوی <i>O157:H7</i>	استافیلوکوکوس اورئوس	لیستریا مونوسیتوژن	باسیلوس سرئوس	قطر هاله مهار رشد (میلی‌متر)
آبی	-	-	-	-	-	۲۰
اتانولی	-	-	-	-	-	۲۱
متانولی	۱۳	۱۳	-	-	-	۲۰



محاسبه شد و غلظت‌های ۲۰ و ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر سبب مهار رشد باکتری‌ها نشدند.

تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC) به روش براث میکرودایلوشن

نتایج MIC عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گلبرگ زعفران علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلاتیفی موریوم، ای‌کولای O157:H7، لیستریا مونوسایتوژنر و باسیلوس سرئوس در روش آگار دایلوشن در جدول شماره ۲ آمده است. بر اساس نتایج به دست آمده میزان MIC عصاره آبی در این روش برای تمامی باکتری‌های فوق برابر ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به دست آمد. غلظت‌های پایین‌تر از ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر یعنی ۲۰ و ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اثری بر رشد باکتری‌های فوق نداشتند. میزان MIC عصاره‌های اتانولی و متانولی نیز ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر

جدول شماره ۲ - حداقل غلظت بازدارنده عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گلبرگ زعفران علیه باکتری‌های مورد مطالعه به روش آگار دایلوشن

حداقل غلظت بازدارنده رشد (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)				باکتری‌های مورد مطالعه
عصاره متانولی	عصاره اتانولی	عصاره آبی	باکتری‌های مورد مطالعه	
۴۰	۴۰	۴۰	سالمونلاتیفی موریوم	
۴۰	۴۰	۴۰	ای کولای O157:H7	
۴۰	۴۰	۴۰	استافیلوکوکوس اورئوس	
۴۰	۴۰	۴۰	لیستریا مونوسایتوژنر	
۴۰	۴۰	۴۰	باسیلوس سرئوس	

جدول شماره ۳ - حداقل غلظت بازدارنده رشد عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گلبرگ زعفران علیه باکتری‌های مورد مطالعه به روش میکرودایلوشن

حداقل غلظت بازدارنده رشد (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)				باکتری‌های مورد مطالعه
عصاره متانولی	عصاره اتانولی	عصاره آبی	باکتری‌های مورد مطالعه	
۴۰	۴۰>	۴۰	سالمونلاتیفی موریوم	
۴۰	۴۰>	۴۰	ای کولای O157:H7	
۴۰	۴۰	۴۰	استافیلوکوکوس اورئوس	
۴۰	۴۰	۴۰	لیستریا مونوسایتوژنر	
۴۰	۴۰	۴۰	باسیلوس سرئوس	



تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC) به روش آگار دایلوشن

نتایج تعیین MIC عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گلبرگ زعفران علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلاتیفی موریوم، ای‌کولای O157:H7، لیستریا مونوسایتوژنر و باسیلوس سرئوس در روش آگار دایلوشن در جدول شماره ۲ آمده است. بر اساس نتایج به دست آمده میزان MIC عصاره آبی در این روش برای تمامی باکتری‌های فوق برابر ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به دست آمد. غلظت‌های پایین‌تر از ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اثری بر رشد باکتری‌های فوق نداشتند. میزان MIC عصاره‌های اتانولی و متانولی نیز ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر

استافیلوکوکوس اورئوس و ای کولای را به روش انتشار دیسک نشان دادند. باسیلوس حساس‌ترین باکتری و ای کولای مقاوم‌ترین باکتری‌ها بودند [۱۱]. در مطالعه‌ای توسط رزاقی و همکاران اثرات ضدبیکروبی کالله زعفران بروی سه سویه میکروبی ای کولای، استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آژروژنوزا مورد بررسی قرار گرفت و نتایج به دست آمده نشان داد سافرانال موجود در زعفران باعث بازدارندگی رشد سویه‌های ای کولای و استافیلوکوکوس اورئوس شده است [۱۲]. همچنین اثر ضدھلیکوباکتری زعفران هم توسط نخعی و همکاران گزارش شده است. در این مطالعه MIC عصاره مطالولی ۶۷۷ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که زعفران اثرات ضدھلیکوباکتریایی متوسطی دارد [۱۳]. تاکنون مطالعه‌ای روی اثرات ضدبیکروبی گلبرگ زعفران صورت نگرفته و این مطالعه می‌تواند از این نظر حائز اهمیت باشد. یکی از دلایل تفاوت در میزان MIC محاسبه شده در مطالعات مختلف اختلاف ترکیب عصاره‌ها می‌باشد. ترکیبات عصاره‌های حاصل از یک گونه گیاهی می‌تواند بر اساس جغرافیای منطقه، فصل برداشت، سن گیاه، مرحله رشد و روش خشک کردن و استخراج متفاوت باشد [۱۴]. به علاوه ترکیبات عصاره‌های به دست آمده از بخش‌های مختلف یک گیاه خاص نیز فعالیت ضدبیکروبی متفاوتی دارد. همچنین حساسیت باکتری‌های مختلف نسبت به عصاره‌های مختلف متفاوت می‌باشد. اسلام و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که عصاره‌های گیاهان علیه باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی مؤثر است [۱۵]. نتایج مطالعه حاضر هم نشان داد که اثر عصاره انانولی بر باکتری‌های گرم مثبت مورد مطالعه بیشتر از باکتری‌های گرم منفی می‌باشد (جدول شماره ۳). تفاوت‌های موجود در روش‌های ارزیابی بررسی خواص ضدباکتریایی عصاره‌ها می‌تواند سبب نتایج متفاوت در میزان MIC محاسبه شده در تحقیقات مختلف شود [۱۶]، به طوری که در مطالعه حاضر نتایج روش انتشار دیسک با نتایج تعیین MIC قابل مقایسه نمی‌باشد. روش انتشار دیسک یک روش غربالگری تعیین حساسیت میکروارگانیسم‌ها نسبت به مواد بازدارنده

در مورد عصاره آبی و مطالولی تا غلظت ۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره، در تمام چاهک‌های مربوط به تمام باکتری‌ها کدورت حاصل از رشد باکتری قابل تشخیص بود در حالی که در چاهک‌های حاوی ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره در مورد تمام باکتری‌ها هیچ کدورتی مشاهده نشد و MIC هر دو عصاره در برابر تمام باکتری‌های مورد مطالعه ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر محاسبه شد. بر اساس نتایج به دست آمده میزان MIC عصاره انانولی در این روش برای باکتری‌های باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا موسیتیژن ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر محاسبه شد. باکتری‌های سالمونلاتیفی موریوم و ای کولای O157:H7 در این غلظت مهار نشدند و MIC آنها بیشتر از ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر محاسبه شد.

بحث

با توجه به نگرانی مصرف کنندگان و متولیان بهداشتی در مورد استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی و مضرات آنها، در سال‌های اخیر تولیدکنندگان مواد غذایی گرایش به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی در مواد غذایی پیدا کرده‌اند. لذا مطالعات مختلفی در ارتباط با اثر انسان‌ها و عصاره‌های گیاهی مختلف بر روی باکتری‌های بیماریزای با منشأ غذایی در محیط کشت و غذا انجام شده است [۵,۶,۷,۸,۹]. درخصوص اثرات ضدبیکروبی زعفران و ترکیبات آن مطالعاتی انجام شده است، از جمله وحیدی و همکاران (۲۰۰۲) اثرات ضدبیکروبی عصاره قسمت‌های مختلف زعفران از جمله برگ‌ها، مادگی و کرولا را علیه باکتری‌های ای کولای، استافیلوکوکوس اپیدرمیس، میکروکوکوس و قارچ‌ها بررسی و اثرات ضدبیکروبی آنها را گزارش نمودند. MIC عصاره‌های مورد نظر اندازه‌گیری شد. نتایج کسب شده نشان از فعالیت بالای عصاره اتیل استخراج شده از قسمت‌های مختلف گیاه به جز برگ‌ها علیه ارگانیسم‌های فوق بود [۱۰]. احمد و همکاران (۲۰۰۷) هم در مطالعه‌ای اثرات ضدبیکروبی زعفران بر باکتری‌های بیماریزای غذایی از جمله باسیلوس سوبتیلیس،

زعفران بر باکتری‌های موردمطالعه می‌باشد، به همین دلیل امکان استفاده از این عصاره در صنایع غذایی وجود دارد. از طرفی به دلیل طعم و عطر مناسب گلبرگ زعفران امکان استفاده از غلظت‌های بالاتر وجود دارد. همچنین از آنجایی که گلبرگ به عنوان یک محصول جانبی در تولید زعفران می‌باشد که در حال حاضر به عنوان ضایعات دور ریخته می‌شود بنابراین با عملی نمودن استفاده از این ماده در صنعت غذایی می‌توان علاوه‌بر برآورده کردن خواست مصرف‌کنندگان برای نگهدارنده‌های طبیعی و افزایش عمر نگهداری مواد غذایی و بالا بردن سطح ایمنی مواد غذایی از هدر رفتن یک محصول جانبی جلوگیری نمود.

می‌باشد و این روش تحت اثر میزان و سرعت انتشار مواد بازدارنده در محیط کشت قرار دارد و بنابراین برای اندازه‌گیری دقیق فعالیت ضدمیکروبی مناسب نمی‌باشد [۱۷]. مطالعه حاضر نشان می‌دهد که نتایج تعیین MIC به روش آگار دایلوشن به جز در مورد عصاره اتانولی با نتایج میکرودایلوشن همخوانی دارد. روش آگار دایلوشن روش مناسبی در تست‌های ضدمیکروبی می‌باشد که نتایج قابل اعتمادی را به همراه دارد اما به علت سختی روش، روش معمولی در آزمایشگاهها نمی‌باشد و بیشتر روش براث دایلوشن مورد استفاده قرار می‌گیرد. نتایج این مطالعه به طور کلی نشان‌دهنده اثر ضدمیکروبی عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گلبرگ

منابع

1. Brunelle S. Electroimmunoassay technology for food born pathogen detection. *IVD Technol.* 200; 16: 13 - 34.
2. Canillac N, Mourey A. Antibacterial activity for the essential oil of *picea excelsa* on *Listeria, Staphylococcus aureus* and colifom bacteria. *Food Microbiol.* 2001; 18: 261 - 8.
3. Mirheidar H. Herbal information, 2nd edition, Volume 2, Bureau of Islamic culture publication, Iran. 1375.
4. Hemmati Kakhki A, Rahimi SK, Extraction of anthocyanin from petals of saffron (*Crocus sativus* L.) and its stability in a model beverage. *Iran. Res. Org. Sci. Technol.* 1994.
5. Arques JL, Rodriguez E, Gaya P, Medina M, Nunez M. Effect of combinations of high pressure treatment and bacteriocin producing lactic acid bacteria on the survival of *Listeria monocytogenes* in raw milk cheese. *Int. Dairy J.* 2005; 15: 893 - 900.
6. Singh B, Bernadette FM, Adams MR. Synergistic inhibition of *Listeria monocytogenes* by nisin and garlic extract. *Food Microbiol.* 2001; 18: 133 - 9.
7. Erturk O. Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice plants. *Section Cell. Mol. Biol.* 2006; 61 (3): 275 - 8.
8. Zhang CY, Yam KL, Chikindas ML. Effective control of *Listeria monocytogenes* by combination of nisin formulated and slowly released into a broth system. *Int. J. Food Microbiol.* 2004; 90: 15 - 22.
9. Ozkan G, Ozcan M, Karahan AG, Sagdic O. Effect of some spice extracts on bacterial inhibition. *Food Sci. Technol. Int.* 2003; 9 (5): 353 - 8.
10. Vahidi H, Kamalinejad M, Sedaghati N. Antimicrobial Properties of *Croccus sativus* L. *Iran. J. Pharm. Res.* 2002; 1: 33 - 5.
11. Tayel AA, El-Tras WF. Possibility of fighting food borne bacteria by Egyptian folk medicinal herbs and spices extracts. *J. Egypt Public Health Assoc.* 2009; 84 (1): 21 - 32.
12. Razzaghi R, Nourbakhsh R, Hemmati Kakhki



- A, Saberi Najafi M. Antimicrobial effect of saffron. 3rd national congress on saffron, Iran, 1382.
- 13.** Oussalah M, Caillet S, Saucier L, Lacroix M. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control* 2007; 18: 414 - 20.
- 14.** Mazutti M, Mossi AJ, Cansian RL, Corazza ML, Dariva C, Oliveira JV. Chemical profile and antimicrobial activity of Boldo (*peumus boldus* Molina) extracts obtained by compressed carbon dioxide extraction. *Braz. J. Chem. Eng.* 2008; 25 (2): 427 – 34.
- 15.** Lee S, Musa N, Wendy W, Musa N, song CT. Antimicrobial property of 12 species and methanol extract of *Oramental sea ammon* against *Edwardsiella* agent and other bacteria. *Adv. Biol. Res.* 2007; 1 (5 - 6): 164 - 6.
- 16.** Singh G, Marimuthu P, Heluani CS, Catalan C. Chemical constituents and antimicrobial and antioxidant potentials of essential oil and acetone extract of *Nigella sativa* seeds. *J. Sci. Food Agric.* 2005; 85: 2297 – 306.
- 17.** Almedia AAP, Farah A, Silva DAM, Nunan EA, Beatriz MAG. Antibacterial activity of coffee extracts and selected coffee chemical compounds against Enterobacteria. *J. Agric. Food Chem.* 2006; 54: 8738 - 43.

