مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۵، شماره۲، خرداد و تیر ۱۳۹۹(شماره پی در پی ۱۳۹)

بررسی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.) بر تعدادی از سویه‌های باکتریایی گرم مثبت و گرم منفی

زهرا ایزدی[1*]، ناصر میرازی[2]

[1]گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه نهاوند، نهاوند، ایران، [2]گروه زیست شناسی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۸/۰۴/ ۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۷/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: بررسی گیاهان دارویی به منظور کشف منابع جدید دارویی بر علیه عفونت‌های میکروبی در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این تحقیق تعیین و بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی اندام هوایی سرخارگل بر برخی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۷ در دانشگاه بوعلی‌سینا انجام گرفت، از روش خیساندن و استفاده از حلال‌های آب و اتانول با نسبت ۱ به ۵ (گیاه به حلال) جهت عمل عصاره‌گیری استفاده شد. سنجش میزان ترکیبات فنلی عصاره‌ها با روش فولین سیوکالتو انجام، سپس مقدار شیکوریک اسید عصاره‌های سرخارگل با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا تعیین شد. فعالیت ضد اکسایشی غلظت‌های مختلف هر دو نوع عصاره با آزمون مهار رادیکال‌های آزاد دی‌فنیل پیکریل هیدرازیل مورد بررسی قرار گرفت و با آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیل هیدروکسی تولوئن مقایسه شد. میکروارگانیسم‌های مورد پژوهش استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، لیستریا اینوکوا، باسیلوس سرئوس، اشرشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا، سالمونلا تیفی‌موریوم و شیگلا فلکسنری بودند. فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی سرخارگل به روش‌های پورپلیت، چاهک در آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی بر سویه‌های بیماری‌زا تعیین شد. همچنین واکنش متقابل عصاره‌های این گیاه از طریق محاسبه شاخص بازدارندگی افتراقی علیه میکروارگانیسم‌ها نیز بررسی شد. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری تی و دانکن تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره اتانولی بیشترین مقدار ترکیبات فنلی و شیکوریک اسید را دارا است. نتایج حاصل از ارزیابی میزان توانایی به دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد عصاره‌های آبی و اتانولی سرخارگل نیز نشان داد که عصاره اتانولی با غلظت ۳۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بیشترین نقش را در مهار رادیکال‌های آزاد داشت. عصاره آبی سرخارگل در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر هیچ اثر مهاری بر رشد باکتری‌های گرم منفی نداشت. بیشترین قطر هاله عدم رشد عصاره‌های آبی و اتانولی این گیاه در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مربوط به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و کمترین قطر هاله عدم رشد در همین غلظت مربوط به باکتری سودوموناس آئروژینوزا بود. عصاره‌های سرخارگل بر باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی اثر بازدارندگی بیشتری نشان داد. همچنین مشخص شد که عصاره اتانولی در مقایسه با عصاره آبی اثر بازدارندگی بیشتری روی سویه‌های مورد مطالعه داشت. محدوده حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره اتانولی این گیاه بین ۲۵۶-۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بسته به نوع باکتری(گرم مثبت یا گرم منفی) متفاوت بود.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره اتانولی گیاه سرخارگل دارای اثر ضدمیکروبی قوی‌تری بر باکتری‌های گرم مثبت بوده و می‌تواند در صنایع غذایی مورد استفاده قرار گیرد. همچنین با توجه به نتایج این مطالعه، پژوهش‌های بیشتری در زمینه ترکیبات ضدمیکروبی گیاه سرخارگل پیشنهاد می‌شود تا بتوان از این گیاه در درمان بیماری‌های عفونی بهره جست.

واژه‌های کلیدی: عصاره سرخارگل، ترکیبات فنلی، شیکوریک اسید، فعالیت ضد میکروبی، خاصیت آنتی اکسیدانی

***نویسنده مسئول: زهرا ایزدی**، نهاوند، دانشگاه نهاوند، گروه علوم و مهندسی باغبانی

Email: armaghan.izadi@gmail.com

مقدمه

استفاده از گیاهان دارویی با اثر ضدمیکروبی، قدمتی همپای تاریخ بشر دارد. در چند دهه اخیر، استفاده از مواد شیمیایی و سنتزی در تولید داروهای ضدمیکروبی همزمان با گسترش شاخه‌های مختلف علوم همانند فارماکولوژی و فیتوشیمی، روند رو به رشدی داشته است. استفاده بیش از حد و نادرست انسان‌ها از ترکیبات ضد میکروبی(شیمیایی و سنتزی)، باعث به وجود آمدن سویه‌های بیماری‌زا مقاوم شده است، لذا در سال‌های اخیر پژوهشگران و دانشمندان دوباره مجبور به استفاده از گیاهان دارویی جهت کنترل رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا شده‌اند(۱).

میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا به وسیله سازوکارهای گوناگونی نسبت به داروها و آنتی‌بیوتیک‌های درمانی مقاوم می‌شوند که می‌توان به تغییر نفوذپذیری دیواره، تغییر گیرنده در سطح سلول، دستیابی به مسیرهای متابولیک فرعی و تولید آنزیم‌های تخریب کننده اشاره کرد(۲). از آن جایی که سطح آگاهی مصرف کنندگان در کشورهای کمتر توسعه یافته و یا درحال توسعه نسبت به کشورهای توسعه یافته کمتر است، مقاومت دارویی در این کشورها نیز بیشتر از کشورهای توسعه یافته می‌باشد(٤ و۳). همین موضوع یکی از دلایل استفاده رو به رشد از گیاهان به عنوان مواد طبیعی کم خطر، در دسترس و ارزان قیمت، نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سنتتیک، در درمان عفونت‌های باکتریال بوده است(۶ و۵).

ترکیبات فنلی، فلاوونوئیدها، فلاوونول‌ها، آلکالوئیدها و گلیکوزیدها از جمله مواد پیش‌ساز در بافت‌های گیاهی می‌باشند. ترکیبات فنلی بخش کاملی از رژیم غذایی انسان را تشکیل داده و بزرگ‌ترین نفع رایج آن فعالیت‌های ضد سرطانی و آنتی‌اکسیدانی آن‌ها است(۷). عصاره‌ها دارای ترکیبات شیمیایی متعددی بوده و هر یک از ترکیبات سازنده آن‌ها می‌تواند نقش‌های متعددی(فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی) را ایفا کند. وجود ترکیبات متعدد در عصاره‌های حاصل از گیاهان دارویی سبب شده تا بتوان از آن‌ها در صنایع مختلفی همچون پزشکی، داروسازی و غذایی استفاده کرد(۸).

سرخارگل[1] از جمله گیاهان دارویی مهمی است که کاربرد وسیعی در صنایع دارویی، آرایشی و بهداشتی دارد. این گیاه اگر چه بومی ایران نیست، اما در سال‌های اخیر مورد توجه محققان بخش کشاورزی و باغبانی قرار گرفته و در مزارع آزمایشی و تجاری کشور کشت و کار می‌شود. گیاه مذکور متعلق به تیره میناسانان(گل ستاره‌ای‌ها)[2] می‌باشد(۱۰ و۹). در طب گیاهی، سرخارگل به دلیل خاصیت تحریک ایمنی آن شناخته شده است و در حال حاضر نیز به منظور پیشگیری و درمان

1-*Echinacea purpurea* L.
1-Asteraceae

سرماخوردگی معمولی و درمان سرفه، برونشیت و عفونت‌های ریوی و بیماری‌های مزمن ناشی از نقص پاسخ ایمنی، دیابت، ایدز و آرتروز استفاده می‌شود(۱۳ـ۱۱). هم‌چنین این گیاه فعالیت آنتی‌اکسیدانی یا ظرفیت خنثی‌سازی رادیکال آزاد را دارا می‌باشد که این ویژگی به اجزای پلی‌فنلی آن نسبت داده می‌شود(۱۰). در سال‌های اخیر ویژگی‌های ضد میکروبی عصاره این گیاه شناخته شده و این خاصیت به وجود ترکیب‌های فنلی مختلفی نسبت داده شده است(۱۴). 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(۱۶ و ۱۵). تاکنون پژوهش‌های چندی درباره خواص ضدمیکروبی عصاره اندام هوایی این گیاه علیه برخی میکروارگانیسم‌ها انجام شده که در مورد استرپتوکوک پیوژنز، هموفیلوس آنفولانزا، کلوستریدیوم تتانی، لژیونلا پنوموفیلا و لاکتوباسیلوس پلانتاروم نتایج مطلوبی به دست آمده است(۱۸ و۱۷). هر چند در برخی پژوهش‌های اثر ضدمیکروبی آن روی برخی سویه‌های باکتری مثل اشرشیاکلی رد شده است(۱۸). کولبورن و بولاتیتو گزارش کردند عصاره سرخارگل اثر ضد میکروبی قوی بر کاندیدا آلبیکانس دارد(۱۹). پارسون و همکاران، ارتباط مستقیمی بین اثر ضد میکروبی و ترکیبات فنلی عصاره سرخارگل را به اثبات رسانده‌اند. در پژوهشی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و میزان ترکیبات فنلی گیاه سرخارگل با حلال‌های استات اتیلن و اتانول مورد ارزیابی قرار گرفت و مشاهده شد که بالاترین میزان ترکیبات فنلی و خصوصیات آنتی‌اکسیدانی در حلال اتانول حاصل شد(۲۰). با توجه به مقاومت میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی و از سویی تمایل بیشتر مصرف کنندگان نسبت به مواد طبیعی(چه نگهدارنده غذایی و چه داروهای گیاهی) به دلیل عوارض جانبی کمتر انجام پژوهش‌های متعدد در زمینه استفاده از گیاهان دارویی برای جایگزینی با داروهای ضد میکروبی و نگهدارنده‌های سنتزی ضروری است. لذا هدف از انجام این پژوهش، تعیین و ارزیابی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی سرخارگل و برهمکنش عصاره‌ها به روش بازدارندگی افتراقی بر تعدادی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا بود.

روش بررسی

این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۷ در دانشگاه بوعلی‌سینا انجام شد. به منظور تأمین عصاره گیاهی بوته‌های گیاه سرخارگل کشت شده در گلخانه آموزشی پژوهشی دانشگاه نهاوند در مرحله گلدهی کامل از ارتفاع پنج سانتی‌متری سطح زمین برداشت شد و در سایه خشک شد. هرباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی همدان گیاه مورد

بررسی را با نام علمی(*Echinacea purpurea* L.) تأیید کرد. بعد از انتقال گیاه به آزمایشگاه علوم و مهندسی باغبانی، گیاه با آب سرد به صورت سطحی شسته و در دمای اتاق و سایه خشک شد. جهت انجام بهتر عمل عصاره‌گیری، ابتدا گیاه به صورت پودر با اندازه ذرات یکسان تبدیل شد. آماده‌سازی عصاره سرخارگل و عمل عصاره‌گیری از گیاه به روش خیساندن انجام گرفت. در این پژوهش از حلال‌های آب و اتانول جهت عصاره‌گیری استفاده شد. ابتدا میزان ۱۰۰ گرم از پودر این گیاه به دقت به وسیله ترازوی دیجیتال وزن و در ارلن به حجم یکلیتر ریخته شد. به طور جداگانه به ارلن‌ها میزان ۵۰۰ سی‌سی از حلال‌های آب و اتانول اضافه شد. بعد از اختلاط اولیه گیاه سرخارگل و حلال‌های آب و اتانول، دهانه ارلن‌ها با فویل آلومینیوم بسته و به مدت ۷۲ ساعت روی انکوباتور شیکردار در دمای اتاق هم‌زده شد. بعد از گذشت این زمان، مخلوط حلال و گیاه ابتدا صاف و ذرات معلق گیاه جدا شد. عصاره‌های اولیه به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۳۰۰۰ (دور در دقیقه)سانتریفیوژ شدند. جهت حذف حلال‌ها از روتاری استفاده شد. در انتها عصاره‌های تغلیظ شده به طور جداگانه در ظروف شیشه‌ای استریل که جداره آن با فویل آلومنیوم پوشانده شده بود قرار گرفت و در یخچال(دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند(۲۱). برای تعیین وزن خشک عصاره‌های آبی و اتانولی این گیاه ابتدا وزن یک لوله آزمایش تعیین و ۱ میلی‌لیتر از عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه سرخارگل در آن ریخته شد، سپس محتوی لوله در دمای اتاق خشک شد. بعد از خشک شدن عصاره، وزن لوله آزمایش مجدداً تعیین گشت و اختلاف وزن لوله معادل ۱ میلی‌لیتر از عصاره‌ها است(۲۲).

میزان کل ترکیبات فنلی عصاره گیاه سرخارگل با استفاده از معرف فولین ـ سیوکالتو و مطابق روش اسماعیل زاده کناری و همکاران انجام شد(۲۳). برای این منظور ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره‌ها، ۲/۵ میلی‌لیتر معرف(نسبت ۱ به ۱۰ با آب مقطر رقیق شده بود) و ۲ میلی‌لیتر سدیم کربنات ۷/۵ درصد اضافه کرده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی نگهداری و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر جذب هر یک از نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر قرائت شد. غلظت ترکیبات فنلی بر حسب اسیدگالیک با استفاده از منحنی استاندارد رسم شده با معادله ۱ و R^2 =۰/۹۸۲۱ محاسبه شد که X میزان جذب خوانده شده در طول موج ۷۶۰ نانومتر و Y غلظت فنل بر حسب اسید گالیک به صورت میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم عصاره بیان شد. Y=۱/۵۲۳۶ X+۰/۰۴۲۶

اندازه‌گیری توانایی عصاره‌ها در مهار رادیکال‌های آزاد ۲ و ۲ دی فنیل ۱ـ پیکریل هیدرازیل (DPPH) به این صورت انجام شد که ابتدا محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف(۵۰۰ تا ۳۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) از عصاره‌ها آماده شدند، سپس ۰/۳ میلی‌لیتر از عصاره با ۲/۷ میلی‌لیتر از محلول متانولی DPPH به شدت مخلوط و به مدت ۶۰ دقیقه در مکانی

تاریک نگهداری کرده و جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. از آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیلات هیدروکسی تولوئن(BHT)[1] جهت مقایسه استفاده شد(۲۴). در نهایت درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH طبق فرمول زیر محاسبه شد:

درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH = $(A_c - A_s) / A_c \times ۱۰۰$

در این A_c و A_s به ترتیب جذب شاهد و جذب نمونه می‌باشد. سپس با رسم منحنی درصد مهار در مقابل غلظت‌های مختلف عصاره، مقدار IC_{50}(غلظتی از سوبسترا بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر که برای کاهش DPPH به میزان ۵۰ درصد اولیه مورد نیاز است) برای هر عصاره تعیین شد(۲۵).

به منظور سنجش شیکوریک اسید، از دستگاه HPLC مدل Merk hitachi با آشکارساز UV/VIS، دتکتور Doid Array، پمپ L-Merck Hitachi7100 با نرم افزار EZ chrome (Hitachi-Japon) به روش ایزاکراتیک استفاده شد. سرعت جریان حلال یک میلی‌لیتر بر دقیقه و فاز متحرک شامل استونیتریل خالص(حلال A) و آب اسیدی شده با ۰/۱ درصد اسیدفسفریک(حلال B) بود. فاز تهیه شده به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه اولتراسونیک در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا حباب‌های هوا از آن خارج شود. طول موج‌های انتخابی دستگاه شامل ۲۷۸ و ۳۳۰ نانومتر بود. بعد از ظهور پیک‌های مورد نظر از عصاره‌های تزریق شده، سطح زیر منحنی پیک‌ها محاسبه و بعد در فرمول حاصل از خط رگرسیون مربوط به منحنی استاندارد ترکیب شیکوریک اسید قرار داده شد تا غلظت آن به دست آید (۲۶).

در این پژوهش از هشت سویه میکروبی که شامل چهار سویه گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC ۲۵۹۲۳)، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس(ATCC ۱۴۹۹۰)، لیستریا اینوکوا(ATCC 33090) و باسیلوس سرئوس(ATCC ۱۲۴۷) و همچنین از چهار سویه گرم منفی اشرشیاکلی(ATCC ۲۵۹۲۳)، سودوموناس آئروژینوزا(ATCC ۱۰۷۴)، سالمونلا تیفی‌موریوم(ATCC ۱۹۴۳۰) و شیگلا فلکسنری(ATCC ۱۲۳۴) جهت ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های سرخارگل استفاده شد. از محیط کشت مولر هینتون آگار و مولر هینتون براث(مرک آلمان) جهت رشد باکتری‌های مورد آزمون استفاده شد. هم چنین از محیط کشت میکروبی نوترینت آگار (مرک آلمان) جهت استریل بودن عصاره‌های سرخارگل بعد از عمل فیلتراسیون استفاده شد.

قبل از انجام آزمایش‌ها از سویه‌ها کشت ۲۴ ساعت تهیه شد. از استاندارد نیم مک فارلند جهت استاندارد کردن سویه‌های میکروبی استفاده شد. استاندارد نیم مک فارلند معادل با $۱/۵ \times ۱۰^{۸}$(واحد تشکیل کلونی در هر میلی‌لیتر) بود. برای تعیین حساسیت از روش پور پلیت استفاده شد. در این روش ۱ میلی‌لیتر از عصاره‌های آبی و اتانولی که قبلاً

1-Butylate Hydroxy Toluen (BHT)

به وسیله فیلتر ۰/۴۵ میکرونی استریل شده بودند، در هر پلیت ریخته شد. بعد از استریل کردن محیط کشت مولر هینتون آگار و قبل از این که محیط کشت به صورت جامد در بیاید به درون پلیت‌ها، محیط کشت به میزان ۱۹ میلی‌لیتر اضافه شد. سپس یک لوپ از هر سویه باکتریایی بر روی ظرف‌ها کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و نتایج حاصل به صورت حساس، نیمه حساس و مقاوم گزارش شد(۲۷). در روش چاهک در آگار برای بررسی عصاره‌ها گیاه سرخارگل، غلظت‌های مختلف از هر عصاره(۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) تهیه شد. با استفاده از سمپلر ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون ۰/۵ مک فارلند از هر باکتری مورد آزمون در سه نقطه از سطح محیط کشت مولر هینتون ریخته و در سطح پتری به کمک میله ال شکل پخش شد. چاهک‌ها به وسیله میله شیشه‌ای استریل با کمی فشار در سطح پتری ایجاد شد. داخل ۵ عدد از چاهک‌ها با سمپلر ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های تهیه شده از عصاره‌های سرخارگل ریخته شد. در این آزمایش یک چاهک برای اتانول و یک چاهک به منظور آب مقطر به عنوان کنترل نیز در نظر گرفته شد. از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک وانکومایسین و جنتامیسین جهت مقایسه نیز استفاده شد. در انتها پتری دیش‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. قطر هاله عدم رشد پس از ۲۴ ساعت به وسیله خط کش اندازه‌گیری و بر حسب میلی‌متر گزارش شد(۲۸).

به منظور تعیین مقادیر حداقل غلظت بازدارندگی(MIC) از سوش‌های مورد مطالعه یک کشت ۲۴ـ۱۸ ساعته(کشت شبانه) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در محیط مولر هینتون براث(MHB, Oxoid) تهیه شد. غلظت‌های متوالی عصاره‌ها به ترتیب شامل؛ ۱، ۲، ۴، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸ و ۲۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. سریال‌های رقت با استفاده از محیط کشت مولر هینتون براث تهیه شد و ۷۰ میکرولیتر از آن‌ها به پلیت‌های میکروتیتر ۹۶ خانه‌ای که قبلاً حاوی ۷۰ میکرولیتر محیط کشت MHB بودند اضافه شدند. بعد ۷۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی معادل استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند که حاوی 10^8 باکتری در هر میلی‌لیتر بود، به پلیت‌های میکروتیتر اضافه گشت. آزمایش‌های مشابه برای کنترل مثبت شامل(MHB، DMSO و باکتری تحت تیمار) و کنترل منفی شامل(MHB، DMSO و عصاره مورد آزمایش) بود. نمونه‌ها به مدت ۲۴ـ۲۲ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در گرمخانه نگهداری شدند. اولین چاهک بدون کدورت به عنوان حداقل غلظت بازدارنده به صورت میلی‌گرم در میلی‌لیتر گزارش شد(۲۹).

از خانه‌هایی که در آن کدورت یا تغییر رنگ مشاهده نشد، جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC)[1] استفاده شد. از این خانه‌های بدون تغییر بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد و پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد پلیت‌هایی که در آن کلنی مشاهده نشد، به عنوان حداقل غلظت کشندگی تعیین شد (۲۹).

1-Minimum Bactericidal Concentration

واکنش متقابل عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه سرخارگل مطابق با روش به کار رفته در مطالعه علیزاده بهبهانی و همکاران طبق پروتکل EUCAST 2000 بر اساس شاخص غلظت بازدارنده افتراقی(FIC)[1] و روش Checkboard انجام شد. محاسبه شاخص غلظت بازدارنده افتراقی(FIC) با استفاده از رابطه زیر انجام شد(۳۰).

$$FICAE = \frac{MIC_A\ incombinaton}{MIC_A\ alone} + \frac{MIC_E incombinaton}{MIC_E alone}$$

بر اساس این روش برهمکنش عصاره‌های آبی(A) و اتانولی (E) اندام هوایی سرخارگل به ۴ حالت امکان پذیر است؛ (FIC< ۰/۵): نشان‌دهنده حالت هم افزایی، (۱≥ FIC ≥۰/۵): نشان دهنده حالت افزایشی، (۴≥ FIC >۱): نشان دهنده حالت عدم تأثیر و (FIC> ۴): نشان دهنده حالت کاهش اثر می‌باشد(۱۰). جهت حصول اطمینان از نتایج به دست آمده به منظور ارزیابی عصاره‌ها، تمامی آزمایش‌های ذکر شده سه بار تکرار شد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری تی و دانکن تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر حلال استخراجی بر میزان ترکیب‌های فنلی عصاره سرخارگل در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار است. در این تحقیق حلال اتانولی دارای محتوای فنلی کل بیشتری نسبت به حلال آب بود(جدول ۱). نتایج آنالیز واریانس نشان داد که نوع حلال‌ها و غلظت عصاره‌ها بر میزان مهار رادیکال‌های آزاد در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT به غیر از غلظت ۳۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر حلال اتانول در همه غلظت‌ها فعالیت ضد رادیکالی بالاتری نسبت به حلال‌های آب و اتانول داشت (نمودار ۱).

مقایسه قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در غلظت‌های مختلف نیز نشان داد که استفاده از غلظت‌های بالاتر سبب افزایش قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد شد. مقدار IC_{50} محاسبه شده و میزان شیکوریک اسید برای هر دو نوع عصاره نشان داد که اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند($p<۰/۰۵$). کمترین مقدار IC_{50}با مقدار ۰/۵۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از طریق حلال اتانول حاصل شد که نشان دهنده کارایی آنتی‌اکسیدانی بالاتر این عصاره می‌باشد، بدین معنا که در غلظت پایین‌تری توانایی مهار ۵۰ درصد رادیکال‌های DPPH را دارد(جدول ۱). بالاترین میزان شیکوریک اسید(۴/۷۵ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) در عصاره اتانولی مشاهده شد(جدول ۱).

وزن خشک عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه سرخارگل به ترتیب ۵ و ۹ درصد بود. نتایج نشان داد که عصاره آبی سرخارگل در روش پور پلیت، به غیر از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نتوانست از رشد سایر میکروارگانیسم‌های مورد بررسی جلوگیری کند و باکتری‌ها در سطح محیط کشت رشد کردند(جدول ۲). نتایج این آزمون در مورد عصاره اتانولی مؤید آن بود

1-Fractional Inhibitory Concentration(FIC)

که هیچ اثر مهاری بر باکتری‌های گرم منفی(اشرشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا، سالمونلا تیفی‌موریوم و شیگلا فلکسنری) و باکتری گرم مثبت باسیلوس سرئوس نداشت و این پنج سویه به طور کامل در مقایسه با نمونه کنترل در سطح محیط کشت رشد کردند، این در حالی است که عصاره اتانولی بر باکتری‌های گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و لیستریا اینوکوا) تاحدودی توانست از رشد آن‌ها در سطح محیط کشت جلوگیری کند(جدول ۲).

نتایج ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه سرخارگل نیز به روش انتشار چاهک در آگار در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که عصاره آبی در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر تمامی باکتری‌های گرم مثبت کاملاً مؤثر بوده، اما فاقد اثر ضدمیکروبی بر باکتری‌های گرم منفی بود و از رشد این باکتری‌ها بر روی محیط کشت جلوگیری نکرد(جدول ۳).

در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی برای تمامی میکروارگانیسم‌ها هاله عدم رشد مشاهده شد. تمامی غلظت‌های عصاره اتانولی بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی دارای اثر بازدارندگی بود و قطر هاله عدم رشد اطراف چاهک در سطح محیط کشت تشکیل داده شد(جدول ۳). در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره‌های آبی و اتانولی بیشترین قطر هاله عدم رشد در باکتری استافیلوکوکوس ارئوس به ترتیب با مقادیر ۱۶/۵۰±۰/۵۰ و ۱۹/۴۰±۰/۴۵ حاصل شد. کمترین قطر هاله عدم رشد نیز در این دو عصاره در باکتری سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب با ۱۰/۰۰±۰/۵۵ و ۱۱/۳۰±۰/۲۵ مشاهده شد. با افزایش غلظت عصاره‌های آبی و اتانولی، قطر هاله عدم رشد افزایش یافت. هم‌چنین مشاهده شد عصاره اتانولی سرخارگل نسبت به عصاره آبی آن دارای اثر ضد میکروبی بیشتری بود.

نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه سرخارگل بر میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه نشان داد که کمترین MIC در عصاره‌های آبی و اتانولی به ترتیب با مقادیر ۳۲ و ۱۶ مربوط به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بود و بیشترین مقدار آن نیز در باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا و سالمونلا تیفی‌موریوم با مقدار ۲۵۶ حاصل شد(جدول ۳). کمترین MBC براورد شده نیز در هردو عصاره مربوط به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بود. از میان میکروارگانیسم‌های مورد بررسی در عصاره آبی بیشترین مقاومت میکروبی متعلق به سودوموناس آئروژینوزا و سالمونلا تیفی‌موریوم و در عصاره اتانولی متعلق به سودوموناس آئروژینوزا بود.

نتایج مربوط به اثر آنتی‌بیوتیک‌های وانکومایسین و جنتامایسین بر ۸ میکروارگانیسم مورد بررسی نیز در جدول ۴ آورده شده است. نتایج نشان داد که در باکتری‌های گرم مثبت نسبت به آنتی‌بیوتیک وانکومایسین و در باکتری‌های گرم منفی نسبت به آنتی‌بیوتیک جنتامایسین بالاترین غلظت

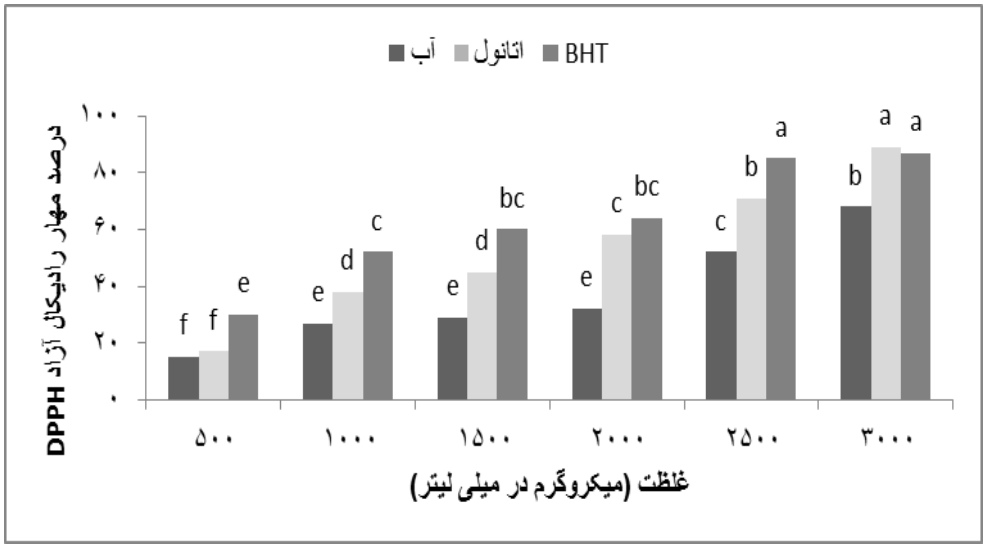
عصاره آبی، قطر هاله عدم رشد کمتری نسبت به هر دو آنتی‌بیوتیک داشت. مقایسه بین نتایج هاله عدم رشد بالاترین غلظت عصاره اتانولی در باکتری‌های گرم مثبت با آنتی‌بیوتیک وانکومایسین نشان داد فقط در مورد باکتری لیستریا اینوکوا قطر هاله عدم رشد این نوع آنتی‌بیوتیک بیشتر از عصاره اتانولی بود. در باکتری‌های گرم منفی بالاترین غلظت عصاره اتانولی در باکتری شیگلا فلکسنری قطر هاله عدم رشد بیشتری نسبت به آنتی‌بیوتیک جنتامایسین داشت(جدول ۴).

هم‌چنین نتایج تعیین مقادیر غلظت بازدارندگی افتراقی عصاره‌های فوق نشان داد که اثر افزایشی در باکتری‌های لیستریا اینوکوا، اشرشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا، سالمونلا تیفی‌موریوم و شیگلا فلکسنری مشاهده شد(جدول ۵).

جدول ۱: مقایسه میانگین‌های میزان ترکیب‌های فنلی، IC_{50} و شیکوریک اسید عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه سرخارگل

حلال	ترکیبات فنلی (میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم عصاره)	IC_{50} (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	شیکوریک اسید (میلی‌گرم بر گرم ماده خشک)
آبی	۱۱۰/۱۳±۰/۰۶^{b}	۰/۹۷±۰/۰۶^{a}	۱/۹۹±۰/۱۴^{b}
اتانولی	۱۹۵/۳۷±۰/۳۴^{a}	۰/۵۲±۰/۷۴^{b}	۴/۷۵±۰/۸۳^{a}

میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک در یک ستون هستند بر مبنای آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.



نمودار ۱: مقایسه میانگین قدرت احیاکنندگی غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاه سرخارگل تحت تاثیر نوع حلال

جدول ۲: اثر ضد میکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه سرخارگل بر میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه به روش پور پلیت

میکروارگانیسم	نوع حلال	
	عصاره آبی	اتانولی
استافیلوکوکوس اورئوس	I	I
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	R	I
لیستریا اینوکوا	R	I
باسیلوس سرئوس	R	R
اشرشیاکلی	R	R
سودوموناس آئروژینوزا	R	R
سالمونلا تیفی‌موریوم	R	R
شیگلا فلکسنری	R	R

R: Resistant (مقاوم) I: Intermediate (متوسط)

جدول ۳: میانگین قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر، حداقل غلظت مهار کنندگی(MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه سرخارگل بر میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه

نوع عصاره	میکروارگانیسم	غلظت عصاره (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) ۲۵	۵۰	۱۰۰	۲۰۰	۴۰۰	حداقل غلظت رشد MIC	MBC
آبی	استافیلوکوکوس اورئوس	۸/۴۰±۰/۲۸ [a*]	۱۰/۴۰±۰/۵۴ [b]	۱۳/۲۰±۰/۵۲ [c]	۱۵/۰۰±۰/۳۴ [d]	۱۶/۵۰±۰/۵۰ [e]	۳۲	۳۲
	استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	۸/۰۰±۰/۴۵ [a]	۱۰/۲۰±۰/۵۰ [b]	۱۲/۰۰±۰/۵۰ [c]	۱۴/۱۰±۰/۵۷ [d]	۱۵/۹۰±۰/۵۳ [e]	۳۲	۶۴
	لیستریا اینوکوا	۷/۱۰±۰/۵۰ [a]	۸/۸۰±۰/۲۸ [b]	۱۰/۱۰±۰/۴۵ [c]	۱۲/۲۰±۰/۵۱ [d]	۱۴/۰۰±۰/۵۰ [e]	۱۲۸	۱۲۸
	باسیلوس سرئوس	۷/۳۰±۰/۴۵ [a]	۹/۴۰±۰/۵۰ [b]	۱۰/۲۰±۰/۵۴ [b]	۱۲/۴۰±۰/۵۰ [c]	۱۴/۴۰±۰/۵۵ [d]	۶۴	۱۲۸
	اشرشیاکلی	– [**]	–	۸/۱۵±۰/۳۴ [a]	۹/۸۰±۰/۵۲ [b]	۱۰/۵۰±۰/۳۵ [b]	۲۵۶	۲۵۶
	سودوموناس آئروژینوزا	–	–	۶/۷۰±۰/۴۵ [a]	۸/۴۰±۰/۵۰ [b]	۱۰/۰۰±۰/۵۵ [c]	۲۵۶	۵۱۲
	سالمونلا تیفی‌موریوم	–	–	۷/۲۰±۰/۲۵ [a]	۸/۷۰±۰/۵۰ [b]	۱۰/۳۰±۰/۳۵ [c]	۲۵۶	۵۱۲
	شیگلا فلکسنری	–	–	۹/۴۰±۰/۵۲ [a]	۱۱/۱۰±۰/۳۶ [b]	۱۲/۰۰±۰/۴۵ [b]	۱۲۸	۱۲۸
اتانولی	استافیلوکوکوس اورئوس	۹/۶۰±۰/۵۵ [a]	۱۲/۲۰±۰/۵۰ [b]	۱۳/۷۰±۰/۳۵ [c]	۱۷/۳۰±۰/۵۰ [d]	۱۹/۴۰±۰/۴۵ [e]	۱۶	۱۶
	استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	۹/۳۰±۰/۵۲ [a]	۱۱/۸۰±۰/۲۵ [b]	۱۳/۰۰±۰/۵۰ [c]	۱۶/۳۰±۰/۳۵ [d]	۱۸/۳۰±۰/۴۵ [e]	۳۲	۳۲
	لیستریا اینوکوا	۸/۱۰±۰/۴۵ [a]	۹/۰۰±۰/۵۵ [a]	۱۱/۴۰±۰/۴۵ [b]	۱۳/۴۰±۰/۵۵ [c]	۱۵/۲۰±۰/۲۸ [d]	۶۴	۱۲۸
	باسیلوس سرئوس	۸/۲۰±۰/۳۵ [a]	۱۰/۷۰±۰/۵۰ [b]	۱۱/۶۰±۰/۴۵ [b]	۱۳/۸۰±۰/۳۵ [c]	۱۶/۱۰±۰/۳۵ [d]	۶۴	۶۴
	اشرشیاکلی	۷/۱۰±۰/۵۰ [a]	۸/۵۰±۰/۵۵ [b]	۹/۴۵±۰/۵۵ [b]	۱۱/۷۰±۰/۳۵ [c]	۱۲/۶۰±۰/۳۵ [c]	۱۲۸	۲۵۶
	سودوموناس آئروژینوزا	۶/۱۰±۰/۵۰ [a]	۷/۴۰±۰/۳۵ [b]	۷/۶۰±۰/۳۵ [b]	۹/۳۰±۰/۴۵ [c]	۱۱/۳۰±۰/۲۵ [d]	۲۵۶	۵۱۲
	سالمونلا تیفی‌موریوم	۶/۷۰±۰/۳۵ [a]	۷/۵۰±۰/۵۵ [a]	۸/۹۰±۰/۵۰ [b]	۱۰/۲۰±۰/۵۵ [c]	۱۲/۴۰±۰/۵۰ [d]	۲۵۶	۲۵۶
	شیگلا فلکسنری	۷/۳۰±۰/۲۵ [a]	۸/۸۰±۰/۵۵ [b]	۱۰/۳۰±۰/۵۰ [c]	۱۲/۴۵±۰/۳۵ [d]	۱۴/۷۵±۰/۵۵ [e]	۶۴	۶۴

[*] در هر ردیف میانگین‌های قطر هاله عدم رشد که دارای حروف مشابه هستند بر مبنای آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

[**] علامت (–) نشان دهنده عدم وجود فعالیت ضد میکروبی عصاره آبی گیاه سرخارگل می‌باشد.

جدول ۴: میانگین قطر هاله عدم رشد آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی بر میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه

میکروارگانیسم	وانکومایسین	جنتامیسین
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۸	–
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	۱۷	–
لیستریا اینوکوا	۱۸	–
باسیلوس سرئوس	۱۶	–
اشرشیاکلی	–	۱۳
سودوموناس آئروژینوزا	–	۱۵
سالمونلا تیفی‌موریوم	–	۱۳
شیگلا فلکسنری	–	۱۲

جدول ۵: برهمکنش عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه سرخارگل بر میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه

میکروارگانیسم	MIC_A ترکیبی	MIC_E ترکیبی	FIC (AE/A)	FIC (EA/E)	FIC_I (A+E)
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۶	۱۶	۰/۵	۱	۱/۵
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	۳۲	۳۲	۱	۱	۲
لیستریا اینوکوا	۶۴	۳۲	۰/۵	۰/۵	۱
باسیلوس سرئوس	۶۴	۳۲	۱	۰/۵	۱/۵
اشرشیاکلی	۱۲۸	۶۴	۰/۵	۰/۵	۱
سودوموناس آئروژینوزا	۱۲۸	۱۲۸	۰/۵	۰/۵	۱
سالمونلا تیفی‌موریوم	۱۲۸	۱۲۸	۰/۵	۰/۵	۱
شیگلا فلکسنری	۶۴	۳۲	۰/۵	۰/۵	۱

(FIC< ۰/۵): نشان‌دهنده حالت هم افزایی، (۱≤ FIC ≤۰/۵): نشان دهنده حالت افزایشی، (۴≤ FIC <۱): نشان دهنده حالت عدم تأثیر، (FIC> ۴): نشان دهنده حالت کاهش

بحث

وجود خواص آنتی اکسیدانی و ضدعفونی کنندگی علاوه بر اثرهای درمانی از عوامل توجه طب سنتی به گیاهان دارویی در سال‌های اخیر بوده است(۳۱). وجود ترکیب‌های ثانویه در گیاهان دارویی سبب شده که در بررسی‌های اخیر توجه ویژه‌ای را به‌خود جلب کنند. به‌ویژه وجود ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی موجود در گیاهان دارویی اهمیت این گیاهان را برای تولید پادزیست‌های طبیعی و جدید در علوم پزشکی و آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در صنایع غذایی دو چندان ساخته است، با این حال استفاده بیش از حد این داروها مقاومت‌های میکروبی را در پی خواهد داشت. بنابراین دانشمندان تحقیق‌هایی بر روی قسمت‌های مختلف گیاهان دارویی، برای کشف داروهای جدید با منشا گیاهی را در اولویت قرار داده‌اند(۳۲)، لذا هدف از انجام این پژوهش، تعیین و ارزیابی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی سرخارگل و برهمکنش عصاره‌ها به روش بازدارندگی افتراقی بر تعدادی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا بود.

وجود خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدعفونی کنندگی علاوه بر اثرهای درمانی از عوامل توجه طب

سنتی به گیاهان دارویی در سال‌های اخیر بوده است(۳۱). وجود ترکیب‌های ثانویه در گیاهان دارویی سبب شده که در بررسی‌های اخیر توجه ویژه‌ای را به‌خود جلب کنند. وجود ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی موجود در گیاهان دارویی اهمیت این گیاهان را برای تولید پادزیست‌های طبیعی و جدید در علوم پزشکی و آنتی اکسیدان‌های طبیعی در صنایع غذایی دو چندان ساخته است، با این‌حال استفاده بیش از حد این داروها مقاومت‌های میکروبی را در پی خواهد داشت. بنابراین دانشمندان تحقیق‌هایی بر روی قسمت‌های مختلف گیاهان دارویی، برای کشف داروهای جدید با منشا گیاهی را در اولویت قرار داده‌اند(۳۲). این مطالعه با هدف ارزیابی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه سرخارگل بر هشت گونه باکتری بیماری‌زا انجام شد.

نتایج نشان داد که عصاره اتانولی توانسته است ترکیبات پلی‌فنلی بیشتری را از گیاه سرخارگل خارج کند. بنابراین میزان کمپلکس بیشتری را احیا می‌کند. در این مطالعه، آب با وجود قطبیت بالا نسبت به حلال اتانول توانایی کمی در استخراج ترکیبات فنلی نشان داد. آب در طی فرآیند استخراج احتمالاً، با حل کردن پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها و دیگر ترکیبات قطبی، موجب کاهش خلوص عصاره و بازده پایین ترکیبات فنلی شده است. از طرفی این نتیجه احتمالاً به دلیل ماهیت نیمه قطبی و قطبیت کمتر ترکیبات فنلی گیاه سرخارگل بوده که به مقدار کمتری در آب حل شده است. زویتلانا و همکاران در گیاه بادرنجبویه بالاترین ترکیبات فنلی را در استخراج عصاره با اتانول به دست آورند(۳٤ و ۳۳). با افزایش غلظت در هر دو نوع عصاره، میزان مهارکنندگی رادیکال آزاد افزایش یافت که به علت افزایش مقدار ترکیبات فنلی در غلظت بالاتر عصاره است. توانایی مهارکنندگی ترکیبات فنلی روی رادیکال‌های آزاد به علت گروه هیدروکسیل آن‌ها است که با افزایش غلظت ترکیبات فنلی، تعداد گروه‌های هیدروکسیل در محیط واکنش افزایش یافته و در نتیجه احتمال اهدای هیدروژن به رادیکال آزاد DPPH و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد(۳۶ و ۳۵). لینگ و همکاران گزارش کردند که بالاترین مقدار ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی برای مهارکنندگی رادیکال آزاد در عصاره اتانولی انبه و کمترین مقدار آن‌ها برای عصاره آبی این گیاه حاصل شد(۳۷). این محققان مقدار IC_{50} برای فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد عصاره‌ها را در محدوده ۰/۰۲ تا ۰/۴۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند که کمتر از نتایج حاصل از این مطالعه است. نیر و همکاران گزارش کردند که بیشترین میزان استخراج شیکوریک اسید در سرخارگل به ترتیب با استفاده از حلال‌های متانول، اتانول و آب به دست آمد(۳۸).

در این پژوهش فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه سرخارگل و برهمکنش آن‌ها بر تعدادی از میکروارگانیسم‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره

اتانولی سرخارگل دارای اثر ضد میکروبی قوی بر میکروارگانیسم‌ها، به ویژه سویه‌های گرم مثبت بود. اثر ضدمیکروبی عصاره اتانولی سرخارگل نسبت به عصاره آبی بیشتر بود. شاید بتوان دلیل این امر را بالاتر بودن وزن خشک عصاره اتانولی سرخارگل بیان نمود. مقایسه نتایج وزن خشک عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه سرخارگل نشان می‌دهد که یک تفاوت ۴ درصدی استحصال عصاره در مورد حلال‌های آبی و اتانولی وجود دارد. پژوهش‌های زیادی در مورد استحصال عصاره‌های مختلف گیاهان دارویی با حلال‌های متفاوت انجام شده است. نتایج پژوهش‌های مختلف نشان می‌دهد که نوع حلال به کار گرفته شده جهت استخراج عصاره یکی از مهم‌ترین و اساسی‌ترین فاکتورهای تأثیرگذار بر میزان بازده استحصال عصاره می‌باشد(۴۱-۳۹).

اثر ضد میکروبی و قطر هاله عدم رشد تشکیل شده در اطراف چاهک برای عصاره آبی بر میکروارگانیسم‌های مورد بررسی نسبت به عصاره اتانولی این گیاه کمتر بود. کمترین قطر هاله عدم رشد در غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره اتانولی مربوط به باکتری سودوموناس آئروژینوزا بود، بیشترین قطر هاله عدم رشد نیز در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در همین نوع عصاره در باکتری استافیلوکوکوس اورئوس حاصل شد. پژوهشگران مختلف نیز حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت را نسبت به عصاره‌های گیاهان دارویی در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی تأیید کرده‌اند (۴۳ و ۴۲). علت مقاومت بیشتر باکتری‌های گرم منفی به عصاره گیاهان دارویی را به وجود اختلاف ساختمانی و پیچیدگی بیشتر غشای سلولی این باکتری‌ها در مقایسه با غشای تک لایه‌ای باکتری‌های گرم مثبت که در دیواره سلولی خود دارای ترکیب موکوپپتید بوده در حالی که قسمت اعظم ساختمان دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی لیپوپروتئین و لیپوساکارید است، ذکر کرده‌اند(۴۴). نتایج نشان داد که به طور کلی با افزایش غلظت هر دو نوع عصاره، قطر هاله عدم رشد نیز بیشتر شد، اما در عصاره آبی بین غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای باکتری شیگلا فلکسنری و در هر دو نوع عصاره بین غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای باکتری باسیلوس سرئوس و غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی-لیتر باکتری اشرشیاکلی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. مقایسه غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی این گیاه نشان داد که در باکتری‌های لیستریا اینوکوا بین غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا بین غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ و سالمونلا تیفی‌موریوم بین غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. برای سایر میکروارگانیسم‌ها در تمامی غلظت‌ها اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. نتایج حداقل غلظت مهار کنندگی و حداقل غلظت کشندگی هر دو نوع عصاره نشان داد که عصاره اتانولی گیاه سرخارگل در غلظت‌های کمتری نسبت به عصاره آبی اثر مهاری و کشندگی می‌باشد،

دلیل این امر را نیز می‌توان به استحصال بیشتر ترکیبات مؤثر ضدمیکروبی در عصاره اتانولی نسبت داد. بیشترین حساسیت در برابر عصاره‌ها مربوط به باکتری استافیلوکوکوس ارئوس بود و بیشترین مقاومت را باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا و سالمونلا تیفی‌موریوم از خود نشان دادند. اگرچه بروز فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های گیاهان دارویی روشن است، ولی مکانیسم عمل آن به طور کامل درک نشده است. بر اساس بررسی منابع، خواص ضد میکروبی عصاره گیاهان دارویی خانواده میناسانان بر میکروارگانیسم‌های متفاوت در مناطق مختلف گزارش شده است(۴۷-۴۵). به طور مثال افستراتیو و همکاران اثر ضد میکروبی همیشه بهار[1] بر تعدادی باکتری‌های گرم منفی، گرم مثبت و قارچ را بررسی کردند و نتیجه گرفتند که عصاره این گیاه بر باکتری‌های گرم منفی و قارچها مؤثر بود(۴۸). در پژوهش‌های دیگری مشاهده شد که عصاره اتانولی سرخارگل اثر بازدارندگی بر میکروارگانیسم‌های استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس و کاندیدا آلبیکانس داشته است(۵۱-۴۹). گلاواک و همکاران فعالیت ضدمیکروبی عصاره الکلی سرخارگل را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که عصاره این گیاه بیشترین تأثیر ضدمیکروبی را بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس داشت(۵۲). نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های این پژوهشگران مطابقت داشت. نتایج برهمکنش عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه سرخارگل نشان داد که در حالت ترکیبی این دو عصاره، برای باکتری‌های لیستریا اینوکوا، اشرشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا، سالمونلا تیفی‌موریوم و شیگلا فلکسنری می‌توان در غلظت‌های پایین‌تری رشد آن‌ها را متوقف کرد. کمبود یا فقدان دستگاه‌ها و امکانات آنالیز فیتوشیمیایی بیشتر و همچنین محدودیت اعتباری از محدودیت‌های این تحقیق می‌باشد؛ لذا ضرورت دارد در آینده با رفع موانع ذکر شده در تکمیل بیشتر این پروژه اقدام شود. علی‌رغم وجود محدودیت‌های یاد شده، نتایج حاصل از این پژوهش کاملاً رضایت‌بخش و همسو با سایر مستندات پژوهشی است. جهت کنترل و مهار رشد باکتری‌های گرم منفی، کاربرد همزمان هر دو نوع عصاره سرخارگل توصیه می‌شود. خواص تحریک کنندگی سیستم ایمنی و ضدالتهاب بودن این گیاه در کنار خواص ضد میکروبی آن، سبب می‌شود که بتوان عصاره سرخارگل را به عنوان یک ماده ضد باکتریایی برای درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری‌ها و استفاده از آن به جای نگهدارنده‌های شیمیایی در صنعت غذا پیشنهاد کرد. همچنین پیشنهاد می‌شود پژوهش‌های بیشتری بر سایر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در شرایط آزمایشگاهی، همچنین حیوانات آزمایشگاهی انجام گیرد به طوری که دوز مؤثر عصاره جهت کاربرد بالینی و استفاده در صنعت

1-*Calendula officinalis* L

داروسازی مشخص شود و بتوان از عصاره سرخارگل جهت کنترل و درمان بیماری‌ها استفاده کرد.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه سرخارگل اثر ضد میکروبی خوبی بر سویه‌های مورد بررسی داشت. اثر ضدمیکروبی عصاره اتانولی بیشتر از عصاره آبی بود. به نظر می‌رسد مقدار برخی از ترکیبات عصاره آبی که دارای اثر ضدمیکروبی می‌باشند، کم بوده و لذا با تخلیص و تغلیظ عصاره آبی می‌توان میزان این ترکیبات را در عصاره افزایش داد. به طور کلی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه سرخارگل علیه باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی بود. هم‌چنین مشخص شد در حالت ترکیبی هر دو نوع عصاره با توجه به میزان حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد(مشترک) بیشترین اثر افزایشی مربوط به باکتری‌های گرم منفی بود.

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از طرح تحقیقاتی رشته علوم و مهندسی باغبانی با کد اخلاق IR.NAHGU.REC.1399.006 دانشگاه نهاوند می‌باشد. بدین وسیله از مریم روحی و معصومه زمانیان که در فراهم نمودن مواد لازم و انجام آزمایش‌ها ما را یاری کردند قدردانی می‌شود.

REFERENCES

1.Ahmadi E, Abdollahi A, Najafipour S, Meshkibaf MH, Fasihi Ramandi M, Namdar N, et al. Surveying the effect of the phenol compounds on antibacterial activity of herbal extracts: In vitro assessment of herbal extracts in Fasa-Fars province. J Fasa Univ Med Sci 2016; 6(2): 210-20.
2.Khan UA, Rahman H, Niaz Z, Qasim M, Khan J, Yaba T, et al. Antibacterial activity of some medicinal plants against selected human pathogenic bacteria. Eur J Microbiol Immunol 2013; 3(4): 272-4.
3.Momeni l, Zamanzad B. The antibacterial properties of Allium cepa(onion) and Zingiber officinale (ginger) extracts on Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli and Candida albicans isolated from vaginal specimens. J Shahrekord Univ Med Sci 2010; 11(4): 81-7.
4.Tabatabaei Yazdi F, Alizade Behbahani B, Heidari Sureshjani M. The comparison of antimicrobial effects of chevil (ferulago angulata) extract with a variety of common therapeutic antibiotics in vitro. J Arak Univ Med Sci 2014; 17(3): 35-46.
5.Shakeri A, Sahebkar A, Javadi B. Melissa officinalis L: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. J Ethnopharmacol 2016; 188: 204–28.
6.Limem Ben A, Boubaker J, Ben Sgaier M, Skandrani I, Bhouri W, Neffati A, et al. Phytochemistry and biological activities of Phlomis species. J Ethnopharmacol 2009; 125: 183–202.
7.Embuscado ME. Spices and herbs: natural sources of antioxidants – a mini review. J Funct Foods 2015; 18: 811–9.
8.Sadeghi E, Dargahi A, Mohammadi A, Asadi F, Sahraee S. Antimicrobial effect of essential oils: a systematic review. J Food Hyg 2015; 5(2): 1-26.
9.Ceeh R. Phytochemical variation within populations of Echinacea purpurea (Asteraceae). Biochem Syst Ecol 2006; 30: 837-54.
10.Kim HR, Oh SK, Lim W, Lee HK, Moon BI, Seoh JY. Immune enhancing effects of Echinacea purpurea root extract by reducing regulatory T cell number and function. Nat Prod Commun 2014; 9: 511–4.
11.Azay-milhau J, Ferrare K, Leroy J, Aubaterre J, Tournier M, Lajoix A, et al. Antihyperglycemic effect of a natural chicoric acid extract of Chicory (Cichorium intybus L.): A comparative in vitro study with the effects of caffeic and ferulic acids. J Ethnopharmacol 2013; 150(2): 755-60.
12.Nadim MR, Chhipa KM, Patel SP, Ganchi SP, Dhrubo JS. Chicoric acid and its analogues as an anti-hiv integrase agents. World J Pharm Pharm Sci 2014; 3(2): 2321-35.
13.Jiang L, Li W, Wang Y, Zhang X, Yu D, Yin Y, et al. Effects of cichoric acid extract from Echinacea purpurea on collageninduced arthritis in rats. Am J Chin Med 2014; 42(3): 679-92.
14.Guz L, Sopinska A, Oniszczuk, T. Effect of echinacea purpurea on growth and survival of guppy (Poecilia reticulata) challenged with Aeromonas bestiarum. Aquac Nutr 2011; 17: 595–700.
15.Oniszczuk T, Oniszczuk A, Gondek E, Guz L, Puk K, Kocira A, et al. Active polyphenolic compounds, nutrient contents and antioxidant capacity of extruded fish feed containing purple coneflower (Echinacea purpurea (L) Moench). Saudi J Biol Sci 2019; 26: 24-30.
16.Kumar KM, Ramaiah S. Pharmacological importance of Echinacea purpurea. Int J Pharm Biol Sci 2011; 2: 305–14.
17.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.
18.Balciunaite G, Juodsnukyte J, Savickas A, Ragazinskiene O, Siatkute L, Zvirblyte G, et al. Fractionation and evaluation of proteins of Echinacea purpurea (L) Moench. Acta Pharm 2015; 65: 473–9.
19.Coolborn AF, Bolatito B. Antibacterial and phytochemical evaluation of three medicinal plants. J Nat Prod 2010; 3: 27–34.
20.Parsons JL, Cameron SI, Harris CS, Smith ML. Echinacea biotechnology: advances, commercialization and future considerations. Pharm Biol 2018; 56: 485–94.
21.Sureshjani M, Tabatabaei Yazdi F, Alizadeh-Behbahani B, Mortazavi A. Antimicrobial effect of aqueous and ethanolic extracts of Satureja bachtiarica on some pathogenic bacteria in vitro. Zahedan J Res Med Sci 2015; 17(7): 1-5.
22.Dehghan GH, Zarini GH, Hajizadeh M. Phytochemical investigation and antimicrobial, antifungal and synergistic activities of chloroform fractions of the root of Ferula szovitsiana. J Shahrekord Univ Med Sci 2014; 15(6): 10-7.

23.Esmaeilzadeh Kenari R, Mohsenzadeh F, Raftani Amiri Z. Antioxidant activity and total phenolic compounds of Dezful sesame cake extracts obtained by classical and ultrasound-assisted extraction methods. J Food Sci Nutr 2014; 2(4); 426–35.
24.Nakajima JI, Tanaka I, Seo S, Yamazaki M, Saito K. LC/PDA/ESI- MS profiling and radical scavenging activity of anthocyanins in various berries. J Biomed Biotechnol 2004; 5: 241– 7.
25.Maisuthisakul P, Suttajit M, Pongsawatmanit R. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. Food Chem 2007; 100(4): 1409-18.
26.Luo XB, Chen B, Yao SZ Zeng JG. Simultaneous analysis of caffeic acid derivatives and alkamides in roots and extracts of Echinacea purpurea by HPLC-photodiode array detectionelectrospray mass spectrometry. J Chromatogr 2003; 986(1): 73-81.
27.Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Shahidi F, Mohebbi M, Vasiee A. Antimicrobial effect aqueous and ethanolic extract of Avicennia marina on microorganisms the infection and intoxication in vitro. J North Khorasan Univ Med Sci 2014; 6(1): 99-109.
28.Gholami A, Arabestani MR, Ahmadi M. Evaluation of antibacterial activity of aqueous and methanol extracts of Allium Jesdianum plant on a number of pathogenic bacteria resistant to antibiotics. Pajouhan Sci J 2016; 14(4): 18-26.
29.Mehraban A, Haddad Khodaparast MH, Mehraban Sang Atash M. Evaluation of inhibitory and lethal effects of aqueous, ethanolic and hydroalcoholic extracts of aerial parts of Salvia chorassanica against some gram-negative and gram-positive bacteria in vitro. Qom Univ Med Sci J 2016; 10(2): 2-11.
30.Alizadeh Behbahani B, Shahidi F, Yazdi FT, Mortazavi SA, Mohebbi M. the antimicrobial effect and interaction between the aqueous and ethanolic extracts of plantago major on staphylococcus aureus, listeria innocua, escherichia coli and pseudomonas aeruginosa “in vitro”. Iran J Infect Dis Trop Med 2017; 21(75): 1-8.
31.Barnes PM, Powell Griner E, Mcfann K, Nahin RL. Complementary and alternative. Medicine use among adults: United States, 2002. Adv Data 2004; 27(343): 1–19.
32.Reyes Jurado F, Cervantes Rincón T, Bach H, López Malo A, Palou E. Antimicrobial activity of Mexican oregano(Lippia berlandieri), thyme(Thymus vulgaris), and mustard(Brassica nigra) essential oils in gaseous phase. Ind Crops Prod 2019; 131: 90-5.
33.Galanakis CM, Goulas V, Tsakona S, Manganaris GA, Gekas V. A knowledge base for the recovery of natural phenols with different solvents. J Food Prop 2013; 16: 382–96.
34.Zwetlana A, Nandini M, Dorcas K. Antimicrobial activity of medicinal plant extracts on gram negative bacteria. J Med Plants 2014; 2(5): 51–4.
35.Ansari AQ, Ahmed SA, Waheed SA, Sayyed Juned A. Extraction and determination of antioxidant activity of Withania somnifera Dunal. J Exp Biol 2013; 3(5): 502-50.
36.Delfanian M, Esmaeilzadeh Kenari R, Sahari MA. Influence of extraction techniques on antioxidant properties and bioactive compounds of loquat fruit(Eriobotrya japonica Lindl) skin and pulp extracts. J Food Sci Nutr 2015; 3(3): 179-87.
37.Ling LT, Yap SA, Radhakrishnan AK, Subramaniam T, Cheng HM, Palanisamy UD. Standardised mangifera indica extract is an ideal antioxidant. J Food Chem 2009; 113: 1154–9.
38.Nair V, Panneerselvam R, Gopi R, Hong-bo S. Elicitation of pharmacologically active phenolic compounds from Rauvolfia. Ind Crops Prod 2013; 45: 406-15.
39.Vasiee A, Zanganeh H, Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F. The in vitro investigating of antimicrobial effect of portulaca oleracea extract on infectious microorganisms. Iran J Infect Dis Trop Med 2014; 19(66): 37-43.
40.Pirnia M, Edalatian Dovom MR, Tabatabaee Yazdi F, Shahidi F. The antibacterial effects of the aqueous and ethanolic extracts of cordiamyxa L. Fruit on staphylococcus aureus, bacillus cereus, escherichia coli, and Salmonella typhi. Qom Univ Med Sci J 2015; 9(4): 39-48.
41.Xin Zhi C, Jian Ming Y, Shen Xin L, You Liang Z. Antimicrobial activity of the extracts from Coriandrum sativum. Int J Food Nutr Safety 2012; 1(2): 54-9.
42.Yolmeh M, Habibi Naja MB, Farhoosh R, Hosseini F. Evaluation of the antibacterial activity of Annatto Dye on some pathogenic bacteria. Qom Univ Med Sci J 2014; 8(4): 53-7.
43.Amjad L, Mohammadi Kamalabadi M, Mohammadi Sichani M. Antibacterial activity of methanol extract of achillea wilhe imsii C. Koch flower and leaf. Qom Univ Med Sci J 2011; 5(3): 50-6.
44.Heidari Sureshjani M, Tabatabaei Yazdi F, Alizadeh Behbahani B, Mortazavi A. Antimicrobial effect of aqueous and ethanolic extracts of satureja bachtiarica on some pathogenic bacteria in vitro. Zahedan J Res Med Sci 2015; 17(7): 1-5.

45.Aytaç Z, Duman H, Ekici M. Two new achillea L(Asteraceae) species from Turkey. Turk J Bot 2016; 40: 273–9.
46.Eruygur N, Koçyiğit UM, Taslimi P, Ataş M, Tekin M, Gülçin İ. Screening the in vitro antioxidant, antimicrobial, anticholinesterase, antidiabetic activities of endemic Achillea cucullata (Asteraceae) ethanol extract. S Afr J Bot 2019; 120: 141-5.
47.Xie G, Schepetkin IA, Quinn MT. Immunomodulatory activity of acidic polysaccharides isolated from Tanacetum vulgare L. Int Immunopharmacol 2007; 7: 1639–50.
48.Efstratiou E, Hussain A, Nigam P, Moore J, Ayub M, Rao J. Antimicrobial activity of calendula officinalis petal extracts against fungi, as well as gram-negative and gram-positive clinical pathogens. Complement Ther Clin Pract 2012; 18: 173-6.
49.Stanisavljeviü I, Stojiþeviü S, Veliþkoviü D, Veljkoviü V, Laziü M. Antioxidant and antimicrobial activities of Echinacea (Echinacea purpurea L.) extracts obtained by classical and ultrasound extraction. Chin J Chem Eng 2009; 17(3): 478-83.
50.James B. The multiple actions of the phytomedicine Echinacea in the treatment of colds and flu. J Med Plant Res 2010; 4(25): 2746-52.
51.Coss E, Carmel K, Damien B, Patrick W. A laboratory investigation of the antimicrobial activity of a selection of western phytomedicinal tinctures. Eur J Integr Med 2018; 19: 80–3.
52.Glavac N, Kosir I, Rode J, Kreft S. Optimization and use of a spectrophotometric method for determining polysaccharides in Echinacea purpurea. Cent Eur J Biol 2012; 7: 126–31.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Antioxidant and the Antimicrobial Activities of Aqueous and Ethanolic Extracts of Purple Coneflower (*Echinacea purpurea* L.) Against Some Gram Positive and Gram Negative Bacteria

Izadi Z[1*], Mirazi N[2]

[1]Department of Hoticulture, University of Nahavand, Nahavand, Iran, [2]Department of Biology, Bu-Ali Sina university, Hamedan,Iran.

Received: 14 July 2019 Accepted: 07 Oct 2019

Abstract:

Background & aim: The study of medicinal plants in order to discover new medicinal sources against microbial infections in recent years has received much attention. The aim of this study was to determine the antioxidant and antimicrobial properties of aquatic and ethanolic extracts of redheads on some gram-positive and gram-negative bacteria.

Methods: The present experimental study was conducted in 2018 at BuAli Sina University. The Maceration method and solvent of water and ethanol at a ratio of 1 to 5 was used for extraction. The total phenolic contents of the extracts were measured by Folin-ciocalteau method. Then, the amount of cichoric acid of purple coneflower was determined using by high performance liquid chromatography. Antioxidant activity of different concentration of extracts were assessed by diphenyl picrylhydrazyl radical-scavenging activity and compared with synthetic antioxidant butylated hydroxyl toluene (BHT). The micro-organisms investigated in the present study were: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Listeria innocua*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* and *Shigella flexneri*. The antimicrobial activity of aqueous and ethanolic extracts was tested by pour plate, agar well diffusion, minimum inhibitory concentration (MIC), and minimum bactericidal concentration (MBC) methods. Also interaction of these extracts was also studied by FIC_{index} determination using modified dilution checkboard method. Experimental data were analyzed using ANOVA by the SPSS version 20 software and mean comparison were done using the t-test and Duncan's multiple range test.

Results: The results indicated that the ethanolic extract had the highest total phenolic content and cichoric acid. The ability of purple coneflower aqueous and ethanolic extracts in scavenging free radicals was found to be higher in the ethanolic extract with a concentration of 3000 µg/ml. The aqueous extract of purple coneflower at the concentrations of 25 and 50 mg/ml has no inhibitory effect on gram negative bacteria growth. The maximum diameter of inhibition zone of aqueous or ethanolic extracts of this plant in a concentration of 400 mg/ml pertained to the bacterium *Staphylococcus aureus*. The minimum zone diameter in this concentration was associated with *Pseudomonas aeruginosa.* Furthermore, purple coneflower extracts showed greater inhibitory effect on gram positive bacteria in comparison with gram negative bacteria. Also the results showed that ethanolic extract had greater inhibitory effects on the strains studied compared to aqueous extract. The MIC of purple coneflower ethanolic extract ranged from 16 to 256 mg/ml, depending on the type of bacteria (gram positive or gram negative).

Conclusion: These findings revealed that ethanolic extract of purple coneflower has antimicrobial effects on gram positive bacteria and can substitute for chemical preservatives. Also according to the results of this study, further research on the antimicrobial compounds of the purple coneflower is suggested to be used in the treatment of infectious diseases.

Keywords: Purple coneflower extract, Phenolic compounds, Cichoric acid, Antimicrobial activity, Antioxidant properties

[*]**Corresponding author:** Izadi Z**,** Department of Hoticulture, University of Nahavand, Nahavand, Iran
Email:armaghan.izadi@gmail.com

Please cite this article as follows:
Izadi Z, Mirazi N. Antioxidant and the Antimicrobial Activities of Aqueous and Ethanolic Extracts of Purple Coneflower (*Echinacea purpurea* L.) Against Some Gram Positive and Gram Negative Bacteria. Armaghane-danesh 2020; 25(2): 162-180.