

Original Article

Identification of Chemical Compounds, Antioxidant Potential, Phenolic Content and Evaluation of Inhibitory and Bactericidal/Fungicidal Effects of Ginger Essential Oil on Some Pathogenic Microorganisms in Vitro

Farideh Tabatabaei Yazdi^{1*}, Fereshteh Falah¹, Behrooz Alizadeh Behbahani²,
Alireza Vasiee¹, Seyed Ali Mortazavi¹

¹Department of Food Science & Technology, School of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

²Department of Food Science & Technology, School of Animal Science & Food Technology, Agricultural Sciences & Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

*Corresponding Author:
Farideh Tabatabaei Yazdi;
Department of Food Science & Technology, School of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Email:
tabatabai@um.ac.ir

Received: 20 Jan, 2019
Accepted: 18 Feb, 2019

Abstract

Background and Objectives: Ginger (*Zingiber officinale*) has been used as medicine and spice in Iran, China, and India since ancient times. Currently ginger is used in many foods, beverages and pharmaceutical agents. The purpose of this research was to evaluate the antibacterial and antifungal activities of ginger essential oil on some pathogenic strains and to determine the chemical compounds, total phenolic content, and antioxidant activity of the ginger essential oil using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

Methods: In this experimental study, identification of chemical compounds of the ginger essential oil and their quantitative measurement was performed using gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry devices. The antimicrobial properties were determined by various qualitative and quantitative methods [disc diffusion agar, minimum inhibitory concentration (MIC), and minimum bactericidal/fungicidal concentration (MBC/MFC)]. Measurement of total phenol and antioxidant potential were carried out by Seevers and Daly colorimetric and radical scavenging methods, respectively. The data were analyzed using one-way ANOVA and Tukey test.

Results: In this study, the highest and the lowest diameters of the inhibition zone at the concentration of 100mg/ml were observed for *Candida albicans* and *Salmonella typhi*, respectively. The MIC of the ginger essential oil was equal to 50, 50, 25, 6.25, 12.5, 12.5, 6.25, and 6.25mg/ml for *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria innocua*, *Bacillus cereus*, *Candida albicans*, and *Aspergillus niger*, respectively. The MBC/MFC of the essential oil, were higher than MIC. Zingiberene (29.48%) was the major compound in the ginger essential oil, and the antioxidant activity (IC₅₀) and total phenolic content of ginger essential oil were equal to 93.45μg/ml and 76.65 mg GAE/g, respectively.

Conclusion: The results of the current study showed that the effect of ginger essential oil on Gram-positive bacteria was higher as compared to Gram-negative bacteria. Therefore, clinical trials are suggested for future researches.

Keywords: Ginger; Minimum inhibitory concentration; Minimum bactericidal/fungicidal concentration; Gas chromatography; Radical scavenging.

DOI: 10.29252/qums.13.3.50

شناسایی ترکیبات شیمیایی، فعالیت آنتی اکسیدانی، میزان فنل و ارزیابی اثر مهارکنندگی و کشندگی اسانس زنجبیل بر تعدادی از سویه‌های میکروبی بیماریزا در شرایط برون تنی

فریده طباطبایی یزدی^{۱*}، فرشته فلاح^۱، بهروز علیزاده بهبهانی^۲، علیرضا وسیعی^۱، سید علی مرتضوی^۱

چکیده

زمینه و هدف: زنجبیل (زنجفیل)، از زمان‌های قدیم در ایران، چین و هند به‌عنوان دارو و ادویه مورد استفاده بوده است. امروزه، زنجبیل در بسیاری از مواد غذایی، نوشیدنی‌ها و مواد دارویی مصرف می‌شود. این مطالعه با هدف ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی و ضدقارچی اسانس زنجبیل بر تعدادی از سویه‌های بیماریزا و تعیین ترکیبات شیمیایی، فنل کل و فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس زنجبیل با ۲ و ۲ دی فنیل - ۱- پیکریل هیدرازیل انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، شناسایی ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس زنجبیل و اندازه‌گیری کمی آن به کمک دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنجی جرمی صورت گرفت. فعالیت ضد میکروبی با روش‌های مختلف کیفی و کمی (دیسک دیفیوژن آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی) ارزیابی شد. فنل کل و فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس زنجبیل به روش رنگ‌سنجی سیور - دالی و کاهش ظرفیت رادیکالی تعیین گردید. داده‌ها با استفاده از آزمون یک‌طرفه و توکی آنالیز شدند.

یافته‌ها: در این مطالعه، بیشترین و کمترین قطر هاله بازدارندگی در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر بر کاندیدا آلبیکنس و سالمونلا تیفی مشاهده شد. حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس زنجبیل برای سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا، سالمونلا تیفی، اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا اینوکوا، باسیلوس سرئوس، کاندیدا آلبیکنس و آسپرژیلوس نایجر به ترتیب برابر با ۵۰، ۵۰، ۲۵، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵ و ۶/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد. حداقل غلظت کشندگی اسانس، بالاتر از حداقل غلظت مهارکنندگی بود. Zingiberene با ۲۹/۴۸٪، ترکیب اصلی اسانس زنجبیل بود و فعالیت آنتی اکسیدانی (IC₅₀) و فنل کل اسانس زنجبیل به ترتیب: ۹۳/۴۵ میکروگرم بر میلی لیتر و ۷۶/۶۵ میلی گرم گالیک اسید برآورد شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد اسانس زنجبیل بر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی، مؤثرتر است؛ بنابراین آزمایش‌های بالینی برای تحقیقات آتی پیشنهاد می‌گردد.

کلیدواژه‌ها: زنجبیل؛ تست حساسیت میکروبی؛ کروماتوگرافی گازی؛ کاهش ظرفیت رادیکالی.

^۱گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

^۲گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

فریده طباطبایی یزدی؛ گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:

tabatabai@um.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۰/۳۰

تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۱/۲۹

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Tabatabaei Yazdi F, Falah F, Alizadeh Behbahani B, Vasiee A, Mortazavi SA. Identification of chemical compounds, antioxidant potential, phenolic content and evaluation of inhibitory and bactericidal/fungicidal effects of ginger essential oil on some pathogenic microorganisms in vitro. Qom Univ Med Sci J 2019;13(3):50-62. [Full Text in Persian]

مقدمه

استفاده از گیاهان دارویی با اثر ضد میکروبی، قدمتی همپای تاریخ بشر دارد. در چند دهه اخیر، استفاده از مواد شیمیایی و سنتزی در تولید داروهای ضد میکروبی 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).

در اکثر کشورهای جهان، پژوهش‌های بسیاری در جهت شناخت و کشف ترکیبات جدید (منابع مختلف گیاهی، جانوری و میکروارگانیسم‌ها) با فعالیت ضد میکروبی در حال انجام است. در حال حاضر، مقاومت دارویی (کاهش اثر یک دارو در درمان یک بیماری)، یکی از مهم‌ترین چالش‌ها در زمینه سلامت انسان‌ها محسوب می‌شود. میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا به وسیله سازوکارهای گوناگونی نسبت به داروها و آنتی‌بیوتیک‌های درمانی مقاوم می‌شوند. مطالعات نشان می‌دهند شمار میکروارگانیسم‌های بیماری‌زایی که هر روز نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی مقاوم می‌شوند، روند رو به افزایش دارد. از آنجایی که سطح آگاهی مصرف‌کنندگان در کشورهای کمتر توسعه‌یافته و یا در حال توسعه نسبت به کشورهای توسعه‌یافته کمتر است، مقاومت دارویی در این کشورها نیز بیشتر از کشورهای توسعه‌یافته می‌باشد؛ زیرا در کشورهای در حال توسعه، استفاده گسترده و پیوسته از آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی، همچنین پدیده خوددرمانی (عدم مراجعه به پزشک) بیشتر است (۲،۳).

تخمین زده می‌شود ۵۰۰-۲۵۰ هزار گونه مختلف گیاهی بر کره زمین وجود دارد. با وجود تعداد زیاد گونه‌های مختلف گیاهی، درصد نسبتاً کوچکی از گیاهان به عنوان منبع غذایی انسانی مورد استفاده قرار می‌گیرند؛ در حالی که نتایج مطالعات متعدد نشان داده‌اند از گونه‌های مختلف گیاهان چه در صنایع داروسازی، پزشکی و چه در صنعت غذا (ماده نگهدارنده) می‌توان به عنوان یک داروی مؤثر در کنترل رشد سویه‌های بیماری‌زا،

همچنین درمان بیماری‌های مختلف، از جمله بیماری‌های عفونی استفاده کرد. اسانس‌های روغنی، ترکیبات فرآری هستند که از قسمت‌های مختلف گیاهان به دست می‌آیند. اسانس‌های روغنی دارای ترکیبات شیمیایی متعددی بوده و هریک از ترکیبات سازنده این اسانس‌ها می‌تواند نقش‌های متعددی (فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی) را ایفا کند. وجود ترکیبات متعدد شیمیایی در اسانس‌های حاصل از گیاهان دارویی سبب شده تا بتوان از آن‌ها در صنایع مختلفی همچون پزشکی، داروسازی و غذایی استفاده کرد (۴). زنجبیل (زنجفیل) با نام علمی *Zingiber officinale* گیاه علفی چندساله از تیره زنجبیلیان است. در ایران باستان این گیاه با نام ژنگویر شناخته شده است. مطالعات باستانی نشان می‌دهد این گیاه از ایران و کشورهای عربی به کشورهای اروپایی و غربی معرفی شده است. در طب سنتی کشورهای مختلف، از این گیاه برای درمان بیماری‌های متعددی استفاده می‌شود؛ به عنوان مثال در کشور چین جهت درمان اسهال، استفراغ، تنگی نفس و سرفه کاربرد دارد. به طور کلی این گیاه در درمان نفخ، شکم‌درد، اسهال و استفراغ، سوء هاضمه، سردرد، اختلالات عضلانی و روماتیسم، درمان سرماخوردگی و آنفلوآنزا به کار می‌رود. عطر و طعم ویژه زنجبیل به دلیل ترکیباتی مانند زینجرول، زینجیبرین، جینجرول، اولئورزین، زایولن، شوقول، روغن ولاتین و سایر ترکیبات (نشاسته، موسیلاژ و پروتئین) می‌باشد (۵-۷). Sasidharan و همکاران در سال ۲۰۱۰، گزارش دادند اسانس زنجبیل اثر ضد میکروبی قوی بر *کاندیدا آلبیکنس* دارد (۸). Singh و همکاران نیز در سال ۲۰۰۸، اثر ضد میکروبی اسانس زنجبیل را تأیید کردند (۹). احمدی و همکاران در سال ۱۳۹۵، ارتباط مستقیمی بین اثر ضد میکروبی و ترکیبات فنلی عصاره زنجبیل به اثبات رساندند. همچنین این پژوهشگران گزارش دادند حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره زنجبیل برای سویه‌های *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس*، ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر است (۱). Bayala و همکاران در سال ۲۰۱۴، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس زنجبیل را ۳۲/۱٪ گزارش کردند (۱۰). با توجه به مقاومت میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی و از سویی، تمایل بیشتر مصرف‌کنندگان نسبت به مواد طبیعی (چه نگهدارنده غذایی و چه

گیاه زنجبیل (ریزوم یا زمین ساقه) از منطقه جافرق مشهد خریداری شد. نام علمی زنجبیل (*Zingiber officinale*) خریداری شده با استفاده از کتب مرجع علمی و توسط پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد مورد شناسایی و تأیید قرار گرفت (۱۱).

بعد از تأیید نام علمی زنجبیل (*Zingiber officinale*)، ابتدا گیاه خریداری شده به آزمایشگاه میکروب شناسی صنعتی، گروه علوم و صنایع غذایی مشهد منتقل گردید، سپس به وسیله آسیاب آزمایشگاهی، خرد و آسیاب شد. گیاه پودر شده با ترازوی دیجیتال (دقت ۰/۰۰۱) توزین گردید. براساس روش Sasidharan و همکاران (سال ۲۰۱۰)، میزان ۵۰ گرم از گیاه آسیاب شده که از الک آزمایشگاهی عبور داده شده بود با ۷۵۰ میلی لیتر آب مقطر به مدت ۵ ساعت به روش تقطیر با آب، در دستگاه کلونجر اسانس گیری شد، سپس اسانس به دست آمده با سولفات سدیم بی آب، رطوبت زدایی شد. اسانس زنجبیل در یک ظرف شیشه ای تیره رنگ و درب بسته که اطراف آن با پارافیلם مسدود شده بود تا زمان انجام آنالیزهای شیمیایی و ارزیابی های میکروبیولوژیکی، در یخچال با دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد. بازده اسانس زنجبیل براساس وزن خشک گیاه محاسبه گردید (۸).

از ۸ سویه میکروبی استاندارد که در آزمایشگاه میکروب شناسی صنعتی به صورت لیوفیلیزه موجود بود، جهت آزمون های ضد میکروبی اسانس زنجبیل استفاده شد. در جدول شماره ۱، اسامی سویه های میکروبی بیماریزا نشان داده شده است.

داروهای گیاهی) به دلیل عوارض جانبی کمتر، انجام پژوهش های متعدد در زمینه استفاده از گیاهان دارویی برای جایگزینی با داروهای ضد میکروبی و نگهدارنده های سنتزی، ضروری است. تاکنون مطالعات اندکی در مورد شناسایی ترکیبات شیمیایی و اثر ضد میکروبی اسانس زنجبیل در جهان انجام شده است. اکثر تحقیقات صورت گرفته، اثر ضد میکروبی عصاره زنجبیل و سایر قسمت های مختلف گیاه همانند برگ و ... را مورد بررسی قرار داده اند. پژوهش حاضر با هدف شناسایی ترکیبات شیمیایی، فنل کل، پتانسیل آنتی اکسیدانی و فعالیت ضد میکروبی اسانس زنجبیل بر سویه های بیماریزای *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *لیستریا اینوکوا*، *اشرشیاکلی*، *سالمونلا تیفی*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *آسپرژیلوس نایجر* و *کاندیدا آلبیکنس* در شرایط برون تنی صورت گرفت.

روش بررسی

این مطالعه تجربی در آزمایشگاه بیوپالایش زیست محیطی (دانشکده علوم) و میکروب شناسی صنعتی (دانشکده کشاورزی)، دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۷ انجام شد. مواد شیمیایی و محیط های کشت میکروبی شامل: سولفات سدیم، معرف تری فنیل تترازولیوم کلراید، الکل ۹۶٪، معرف فولین سیوکالتو، ۲ و ۲ دی فنیل - ۱- پیکریل هیدرازیل، دی متیل سولفوکساید، اسید سولفوریک، کلرید باریم، گالیک اسید، نوترینت براث، نوترینت آگار، مولر هینتون براث، مولر هینتون آگار، سابروز دکستروز براث و سابروز دکستروز آگار با برندهای مرک آلمان و سیگما آلد ریچ آمریکا خریداری شدند.

جدول شماره ۱: سویه های میکروبی بیماریزا مورد بررسی

ردیف	سویه میکروبی	شناسه میکروبی (ATCC)	آزمون گرم
۱	<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>	۲۵۹۲۳	+
۲	<i>باسیلوس سرئوس</i>	۱۰۸۷۶	+
۳	<i>لیستریا اینوکوا</i>	۳۳۰۹۰	+
۴	<i>اشرشیاکلی</i>	۲۵۹۲۲	-
۵	<i>سالمونلا تیفی</i>	۱۹۴۳۰	-
۶	<i>سودوموناس آئروژینوزا</i>	۲۷۸۵۳	-
۷	<i>آسپرژیلوس نایجر</i>	۱۱۴۱۴	انجام نشد
۸	<i>کاندیدا آلبیکنس</i>	۱۰۲۶۱	انجام نشد

در این پژوهش از ۳ سویه گرم مثبت، ۳ سویه گرم منفی و ۲ سویه قارچی استفاده شد. جهت فعال سازی میکروارگانیزم ها، سویه های باکتریایی به محیط کشت نوترینت براث و سویه های قارچی به محیط کشت سابروز دکستروز براث منتقل شدند. پس از عمل گرمخانه گذاری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد برای سویه های باکتریایی و ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد برای سویه های قارچی و ایجاد کدورت در محیط کشت مایع، عمل انتقال از محیط کشت مایع به محیط های کشت مولر هینتون آگار (سویه های باکتریایی) و سابروز دکستروز آگار (سویه های قارچی) انجام شد. پس از انکوبه گذاری مجدد، از پرگنه های خالص و تک ایجاد شده بر سطح محیط کشت، برای ایجاد سوسپانسیون میکروبی استاندارد اقدام گردید. مطابق با روش استاندارد مک فارلند، محلول استاندارد تهیه شد، سپس کلنی خالص از سویه های میکروبی با سرم فیزیولوژی رقیق گردید (۱۲). به منظور شناسایی هریک از ترکیبات تشکیل دهنده اسانس زنجبیل، از دستگاه های کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنجی جرمی استفاده شد. ۰/۱ میکرولیتر اسانس زنجبیل به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق و با استفاده از زمان بازداری ترکیبات، اندیس بازداری کواتس، طیف جرمی، همچنین مقایسه مؤلف های ذکر شده با ترکیب های استاندارد و NIST (National Institute of Standards and Technology) هریک از اجزای تشکیل دهنده اسانس زنجبیل شناسایی شدند. مقدار کمی هریک از ترکیبات اسانس زنجبیل با محاسبه سطوح زیر منحنی در کروماتوگرام به دست آمد. از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنجی جرمی (مدل Finnigan Trace Ms- Thermo-USA) موجود در آزمایشگاه بیوپالایش زیست محیطی، دانشگاه فردوسی مشهد جهت شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس زنجبیل استفاده گردید. برنامه ریزی دمایی مطابق با روش امیری و همکاران (سال ۱۳۹۵) انجام گرفت. دمای آون در ابتدا از ۶۰ درجه سانتیگراد با سرعت ۵ درجه سانتیگراد بر دقیقه تا ۲۵۰ درجه سانتیگراد افزایش یافت. از گاز هلیوم با سرعت ۱/۱ میلی لیتر در دقیقه استفاده شد. انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت بود (۱۳).

برای تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی از روش Wei و همکاران (سال ۲۰۰۷)، از طریق اندازه گیری کاهش ظرفیت رادیکالی ۲ و ۲ دی فنیل -۱- پیکریل هیدرازیل استفاده شد (۱۴). برای تعیین فنل کل اسانس زنجبیل، روش رنگ سنجی سیور - دالی با معرف فولین سیوکالتو به کار برده شد. در این روش از گالیک اسید به عنوان استاندارد استفاده گردید (۱۵، ۱۶).

در این مطالعه با استفاده از روش انتشار در آگار و به کمک دیسک، قطر هاله عدم رشد اندازه گیری شد، همچنین از روش رقیق سازی سریالی برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و درنهایت، حداقل غلظت کشندگی اسانس زنجبیل برای سویه های بیمارزا استفاده شد.

ارزیابی فعالیت ضد میکروبی به روش انتشار در آگار به کمک دیسک مطابق با روش محمدی ثانی و همکاران (سال ۱۳۹۶) انجام گرفت (۱۶). در این روش، اسانس زنجبیل به کمک فیلتر سرسنگی با قطر منفذ ۰/۲۲ میکرونی استریل شد، سپس جهت تأیید استریل شدن اسانس زنجبیل، از اسانس استریل شده بر سطح محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شد (هیچ کلنی بر سطح محیط کشت مشاهده نشد). در ادامه، غلظت های مختلفی از اسانس زنجبیل (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) تهیه گردید. دیسک های بلانک خریداری شده از شرکت پادتن طب (با قطر ۶ میلی متر) در ظروف حاوی غلظت های مختلف اسانس زنجبیل خیسانده شدند. همچنین جهت کشت سویه های بیمارزا از محیط های کشت مولر هینتون آگار و سابروز دکستروز آگار به ترتیب از سویه های باکتریایی و قارچی استفاده شد. دیسک های حاوی غلظت های مختلف اسانس زنجبیل با دقت و تحت شرایط استریل به کمک پنس استریل برای هریک از سویه های میکروبی قرار گرفتند. پلیت های حاوی دیسک برای مرحله پیش انتشار، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد در یخچال نگهداری شدند. درنهایت، سویه های باکتریایی در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت و سویه های قارچی در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت انکوبه گذاری شدند. قطر هاله عدم رشد میکروبی با خط کش به طور دقیق اندازه گیری و میانگین آن ها ثبت گردید (۱۶، ۳).

از روش رقیق سازی سریالی جهت تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد اسانس زنجبیل استفاده شد. این روش مطابق با روش Yeganegi و همکاران (سال ۲۰۱۸)، با اندکی تغییر انجام گرفت (۱۷). ابتدا از اسانس زنجبیل یک محلول مادر با غلظت ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر تهیه شد، سپس ۴ گرم اسانس با ۹/۵ میلی لیتر محیط کشت های مولر هیتون براث (برای باکتری ها) و سابورو دکستروز براث (برای قارچ ها) و ۰/۵ میلی لیتر دی متیل سولفوکساید مخلوط و با استفاده از فیلتر میکروبی با قطر منافذ ۰/۴۵ میکرون استریل گردید. در مرحله بعد، ۵ میلی لیتر از محلول صاف شده را برداشته و با ۵ میلی لیتر محیط کشت، درون یک شیشه استریل مخلوط گردید و بدین ترتیب ادامه داده تا غلظت ها نصف شدند و غلظت های متوالی ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۳/۱۲۵، ۱/۵۶۲ و ۰/۷۸۱ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد. تمام نمونه ها قبل از رقت سازی با ورتکس همگن شدند. برای بررسی حداقل غلظت مهارکنندگی با استفاده از رقیق سازی سریالی، از پلیت ۹۶ خانه ای استریل استفاده شد. به هر خانه ۱۰۰ میکرو لیتر از رقت های تهیه شده و در نهایت، ۱۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون میکروبی (معادل ۰/۵ مک فارلند) اضافه گردید. از خانه های حاوی محیط کشت و سوسپانسیون میکروبی فاقد اسانس نیز به عنوان کنترل مثبت و خانه های حاوی اسانس و محیط کشت به عنوان کنترل منفی استفاده شد. پس از عمل انکوبه گذاری از محلول ۵٪ وزنی/وزنی تری فنیل تترازولیوم کلراید به عنوان معرف (در صورت رشد سویه های میکروبی تغییر رنگ ارغوانی یا قرمز تیره ایجاد می گردد) استفاده شد. اولین خانه ای که در آن تغییر رنگ مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس زنجبیل گزارش گردید (۱۷).

برای تعیین حداقل غلظت کشندگی اسانس زنجبیل، از خانه هایی که تغییر رنگی در آن ها مشاهده نشد بر سطح محیط کشت مولر هیتون آگار و سابورو دکستروز آگار به ترتیب برای سویه های باکتریایی و قارچی، کشت انجام شد. پس از طی مدت زمان انکوبه گذاری مطابق با روش دیسک دیفیوژن آگار، اولین پلیتی که در آن هیچ کلنی باکتری یا قارچ مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی گزارش گردید (۱۷).

تمامی آزمون های شیمیایی و ضد میکروبی اسانس زنجبیل، سه مرتبه تکرار شدند. از میانگین های به دست آمده برای آنالیزهای آماری استفاده گردید. داده ها به کمک نسخه ۱۸، آزمون واریانس و توکی در سطح معنی داری، ۵٪ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها

راندمان استخراج شده برای اسانس زنجبیل (براساس وزن خشک) پس از ۵ ساعت عمل اسانس گیری به روش تقطیر با آب و دستگاه کلونجر، ۱/۲۵٪ به دست آمد. ترکیبات شناسایی شده در اسانس زنجبیل به همراه زمان بازداری (دقیقه) و درصد ترکیبات در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. براساس جدول شماره ۲، در اسانس روغنی گیاه زنجبیل در مجموع ۱۷ ترکیب شناسایی شد که ۱۰۰٪ کل اسانس استخراجی را تشکیل می داد. ترکیبات اصلی اسانس زنجبیل به ترتیب شامل: Zingiberene (۲۹٪/۴۸)، α -curcumene (۱۶٪/۳۳)، β -sesquiphellandrene (۱۵٪/۹۴)، β -bisabolene (۹٪/۴۷)، Muurolene (۸٪/۵) و Camphene (۷٪/۲۴) بود. در میان ترکیبات شناسایی شده در اسانس زنجبیل، مشخص گردید Zingiberene با ۲۹/۴۸٪ ترکیب اصلی بوده است.

جدول شماره ۲: ترکیبات شناسایی شده اسانس زنجبیل

ردیف	ترکیب شناسایی شده	درصد	زمان بازداری (دقیقه)
۱	1R- α -pinene	۲/۴۳	۹/۶۸
۲	Camphene	۷/۲۴	۱۰/۳۴
۳	Sulcatone	۰/۹۱	۱۱/۳۵
۴	β -pinene	۰/۷۳	۱۱/۵۷
۵	α -phellandrene	۰/۲۵	۱۲/۳۸
۶	D-limonene	۰/۹۱	۱۳/۳۵
۷	β -phellandrene	۱/۸۸	۱۳/۴۷
۸	p-cineole	۱/۳۳	۱۳/۵۳
۹	Camphol	۱/۵۱	۱۹/۷۷
۱۰	α -terpineol	۰/۷۹	۲۰/۷۴
۱۱	β -elemene	۱/۲۸	۲۹/۳۹
۱۲	α -curcumene	۱۶/۳۳	۳۳/۳۰
۱۳	Zingiberene	۲۹/۴۸	۳۳/۹۷
۱۴	Murolene	۸/۵	۳۴/۱۷
۱۵	β -bisabolene	۹/۴۷	۳۴/۴۰
۱۶	β -sesquiphellandrene	۱۵/۹۴	۳۵/۰۹
۱۷	Cedrenol	۱/۰۲	۴۱/۵۶
مجموع		۱۰۰	

نتایج فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس زنجبیل به روش کاهش ظرفیت رادیکالی ۲ و ۲ دی فنیل - ۱- پیکریل هیدرازیل و برحسب IC₅₀ (بیانگر غلظت مؤثری از اسانس بوده که ظرفیت مهار ۵۰٪ ترکیب ۲ و ۲ دی فنیل - ۱- پیکریل هیدرازیل را دارد) برابر با $93/45 \pm 0/93$ میکروگرم بر میلی لیتر بود. فنل کل اسانس زنجبیل برحسب میلی گرم گالیک اسید برابر با $76/65 \pm 0/72$ به دست آمد.

نتایج بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس زنجبیل به روش انتشار در آگار به کمک دیسک بر سویه های بیماریزا در جدول شماره سه نشان داده شده است. با افزایش غلظت اسانس زنجبیل، قطر هاله بازدارندگی مشاهده شده در اطراف هریک از سویه های میکروبی افزایش یافت که بیشترین و کمترین قطر هاله عدم رشد در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر به ترتیب مربوط به سویه های کاندیدا آلیکنس و سالمونلا تیفی بود.

جدول شماره ۳: میانگین قطر هاله بازدارندگی (میلی متر) اسانس زنجبیل بر سویه های بیماریزا (انتشار در آگار به کمک دیسک)

سویه های میکروبی / غلظت اسانس زنجبیل	۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر	۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر	۷۵ میلی گرم بر میلی لیتر	۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر
سودوموناس آئروژینوزا	-	$7/80 \pm 0/82^a$	$8/30 \pm 0/66^a$	$9/90 \pm 0/51^b$
سالمونلا تیفی	-	$7/00 \pm 0/50^a$	$8/00 \pm 0/76^a$	$9/60 \pm 0/33^b$
اشرشیا کلی	$7/20 \pm 0/48^a$	$8/30 \pm 0/39^a$	$9/00 \pm 0/45^a$	$10/80 \pm 0/50^b$
استافیلوکوکوس اورئوس	$8/00 \pm 0/33^a$	$9/80 \pm 0/65^b$	$11/60 \pm 0/60^c$	$13/70 \pm 0/48^d$
باسیلوس سرئوس	$7/30 \pm 0/52^a$	$9/40 \pm 0/39^b$	$10/70 \pm 0/50^b$	$12/20 \pm 0/69^c$
لیستریا اینوکوا	$7/60 \pm 0/46^a$	$8/80 \pm 0/37^a$	$10/00 \pm 0/50^a$	$12/10 \pm 0/45^b$
کاندیدا آلیکنس	$8/10 \pm 0/44^a$	$9/70 \pm 0/35^b$	$12/00 \pm 0/50^c$	$14/20 \pm 0/50^d$
آسپرژیلوس نایجر	$7/90 \pm 0/50^a$	$9/50 \pm 0/52^b$	$11/30 \pm 0/67^c$	$13/00 \pm 0/50^d$

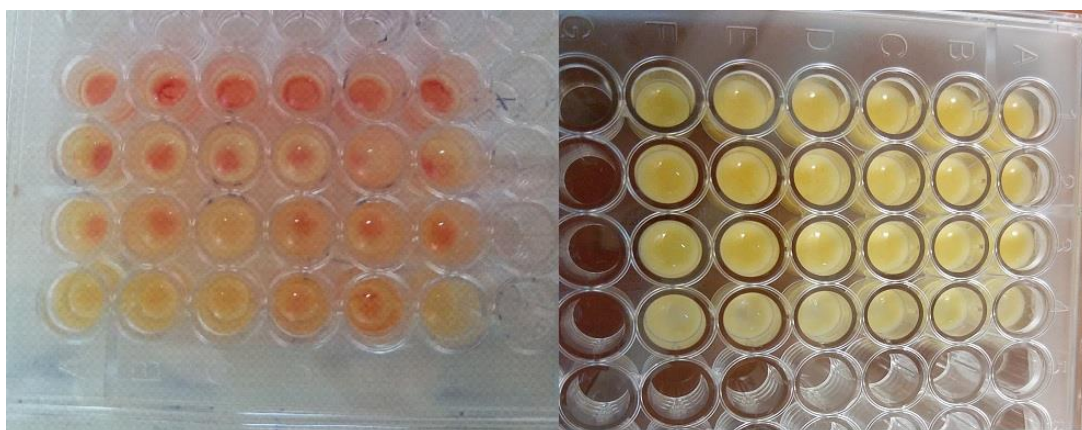
• نتایج حاصل از میانگین سه تکرار (آزمون آماری توکی) در سطح معنی داری، $p \leq 0/05$ است و داده ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار آورده شده اند. (-) هاله عدم رشد مشاهده نمی شود.

معرف تری فنیل تترازویلیوم کلراید نشان داده شده است که بیشترین مقاومت در برابر اسانس زنجبیل مربوط به باکتری‌های گرم منفی *سودوموناس آئروژینوزا* و *سالمونلا تیفی* می‌باشد.

نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس زنجبیل بر سویه‌های بیماریزا در جدول شماره ۴ آمده است. در شکل نیز نمایی از روش تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی به روش میکرودايلوشن برات قبل و بعد از افزودن

جدول شماره ۴: نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس زنجبیل بر سویه‌های بیماریزا برحسب میلی گرم بر میلی لیتر

حد اقل غلظت کشندگی	حد اقل غلظت مهارکنندگی	سویه‌های میکروبی
بزرگتر از ۴۰۰	۵۰	<i>سودوموناس آئروژینوزا</i>
بزرگتر از ۴۰۰	۵۰	<i>سالمونلا تیفی</i>
۲۰۰	۲۵	<i>اشرشیاکلی</i>
۲۵	۶/۲۵	<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>
۵۰	۱۲/۵	<i>باسیلوس سرئوس</i>
۵۰	۱۲/۵	<i>لیستریا اینوکوا</i>
۲۵	۶/۲۵	<i>کاندیدا آلیکنس</i>
۲۵	۶/۲۵	<i>آسپرژیلوس نایجر</i>



(ب)

(الف)

شکل: نمایی از حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس زنجبیل بر سویه‌های بیماریزا، قبل از افزودن معرف (الف) و بعد از افزودن معرف (ب).

بحث

در پژوهش حاضر مقایسه نتایج ترکیبات شیمیایی اسانس زنجبیل با مطالعات پیشین در نقاط مختلف دنیا نشان داد هرچند اجزای اصلی اسانس زنجبیل تا حدودی مشابه با سایر مطالعات است، اما با این وجود دارای یک سری تفاوت‌هایی (به‌ویژه درصد ترکیبات) نیز می‌باشد. امیری و همکاران (سال ۱۳۹۵)، ترکیبات شیمیایی دو گونه زنجبیل چینی و هندی را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد ترکیب Zingiberene با ۲۸/۲۵ و ۳۵/۶۷٪ به ترتیب در گونه چینی و هندی زنجبیل، ترکیب اصلی است (۱۳).

در سال‌های اخیر به دلیل استفاده نادرست از مواد شیمیایی و سنتزی، تعداد سویه‌های بیماریزای مقاوم افزایش یافته است. از سویی دیگر، با توجه به عوارض ناشی از مواد شیمیایی و سنتزی در انسان‌ها، پژوهشگران و دانشمندان به استفاده از گیاهان دارویی جهت کنترل رشد میکروارگانیسم‌های بیماریزا علاقه‌مند شده‌اند (۱). با توجه به مصرف سنتی گیاه زنجبیل در ایران (به‌عنوان چاشنی در مواد غذایی) و استفاده در طب سنتی برای درمان بیماری‌ها مختلف مانند سرماخوردگی، آنفلوآنزا و ...، به نظر می‌رسد بتوان از پتانسیل آن بهره برد.

Wang و همکاران در سال ۲۰۱۲ در بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس زنجبیل با کروماتوگرافی گازی، ۷ ترکیب را در اسانس زنجبیل شناسایی کردند که Zingiberene با ۵۲/۳۵٪، بیشترین ترکیب بود (۱۸). Sasidharan و همکاران نیز در سال ۲۰۱۰، با بررسی ترکیبات شیمیایی گیاه خشک شده و تازه زنجبیل نشان دادند Zingiberene با ۲۸/۶٪ در گیاه تازه زنجبیل و ۳۰/۳٪ در گیاه خشک شده، ترکیب اصلی می باشد. نتایج این مطالعات تا حدود زیادی با نتایج پژوهش حاضر همخوانی داشت؛ به نحوی که در پژوهش حاضر نیز Zingiberene با ۲۹/۴۸٪ ترکیب اصلی زنجبیل بود (۸). Zhan و همکاران (سال ۲۰۰۸)، Zingiberene را با ۲۲/۲۹٪ به عنوان ترکیب اصلی زنجبیل گزارش کردند (۱۹). Singh و همکاران (سال ۲۰۰۸) نیز Geranial را با ۲۵/۹٪ به عنوان ترکیب اصلی اسانس زنجبیل معرفی کردند (۹). مقایسه نتایج به دست آمده از مطالعات مختلف (بجز مطالعه Singh و همکاران در سال ۲۰۰۸) (۹)، با پژوهش حاضر نشان داد در تمامی این مطالعات، Zingiberene ترکیب اصلی اسانس زنجبیل بوده است. تفاوت در میزان ترکیب اصلی زنجبیل را می توان به دلایلی همچون تفاوت های اکولوژیکی نسبت داد. ترکیبات موجود در اسانس گیاهان ناشی از تفاوت های اکولوژیکی (مانند طول و عرض جغرافیایی، ارتفاع، دما، رطوبت، اقلیم و خاک، مسیرهای متابولیکی و بیوسنتز مواد مؤثره در این گیاهان) است که در نتیجه متابولیک های ثانویه متنوعی تحت شرایط محیطی متفاوت، بیوسنتز می شود. پژوهش های مختلفی این مطلب را تأیید کرده اند (۲۰، ۲۱). در مطالعه حاضر، فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس زنجبیل بر حسب IC_{50} برابر با $93/45 \pm 0/93$ میکروگرم بر میلی لیتر به دست آمد. امیری و همکاران (سال ۱۳۹۵)، فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس زنجبیل را بر حسب IC_{50} برابر با $80/7$ میکروگرم بر میلی لیتر گزارش دادند. همچنین این پژوهشگران بیان کردند میزان فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس زنجبیل در برابر بوتیل هیدروکسی تولوئن قابل توجه است (۱۳). نتایج فعالیت آنتی اکسیدانی پژوهش حاضر با نتایج مطالعه امیری و همکاران (سال ۱۳۹۵) همسو بود. Bayala و همکاران در سال ۲۰۱۴، فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس زنجبیل را با استفاده از روش کاهش ظرفیت رادیکالی ۲ و ۲ دی فنیل - ۱- پیکریل هیدرازیل و براساس درصد بازدارندگی

اندازه گیری کردند. این پژوهشگران فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس زنجبیل در برابر رادیکال های آزاد را ۳۲/۱٪ به دست آوردند (۱۰). Prakash و همکاران (سال ۲۰۱۰) با بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های مختلف زنجبیل به روش کاهش ظرفیت رادیکالی ۲ و ۲ دی فنیل - ۱- پیکریل هیدرازیل، نشان دادند عصاره متانولی ۸۰٪ و عصاره استونی زنجبیل به ترتیب دارای بیشترین و کمترین فعالیت آنتی اکسیدانی هستند (۲۲). Singh و همکاران (سال ۲۰۰۸)، پتانسیل آنتی اکسیدانی اسانس زنجبیل را با روش های مختلف اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی در مقایسه با بوتیل هیدروکسی آئیزول مورد بررسی قرار دادند که در نتیجه مشاهده کردند اسانس زنجبیل از فعالیت آنتی اکسیدانی مناسبی برخوردار است (۹). Stoilova و همکاران در سال ۲۰۰۷، فعالیت آنتی اکسیدانی زنجبیل را براساس روش های ۲ و ۲ دی فنیل - ۱- پیکریل هیدرازیل و TBARS، به ترتیب ۹۰/۱ و ۷۳/۲٪ گزارش کردند (۲۳). Jagetia و همکاران (سال ۲۰۰۳) (۲۴)، Haksar و همکاران (سال ۲۰۰۶) (۲۵) و Kim و همکاران (سال ۲۰۰۷) (۲۶)، نشان دادند زنجبیل در شرایط *in vivo* و *in vitro* دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قوی است.

در پژوهش حاضر، فنل کل اسانس زنجبیل برابر با $72/76 \pm 0/65$ میلی گرم گالیک اسید بود. اگرچه تمامی موجودات دارای دستگاه هایی جهت حفاظت از آسیب های اکسیداتیو هستند، اما جهت جلوگیری از همه آسیب های احتمالی، این سیستم های محافظت کننده، کافی به نظر نمی رسند؛ به همین دلیل پژوهشگران استفاده از ترکیبات فلاونوئیدی و پلی فنل ها را (به دلیل اثر آنتی اکسیدانی) در رژیم غذایی پیشنهاد داده اند. از آنجایی که زنجبیل جزء ضروری در بسیاری از ترکیبات غذایی همانند پودر کاری، سس، نان، شکلات و نوشیدنی های گازدار است و با توجه به نتایج این پژوهش (فعالیت آنتی اکسیدانی و فنل کل) به نظر می رسد بتوان از این گیاه در صنایع غذایی، صنایع داروسازی و پزشکی بهره مند شد (۲۳، ۲۷). احمدی و همکاران (سال ۱۳۹۵) با بررسی تأثیر ترکیبات فنلی تعدادی از گیاهان دارویی، از جمله زنجبیل، میزان فنل کل این گیاه را $80/1$ میلی گرم گالیک بر گرم وزن نمونه گزارش کردند (۱). همچنین Stoilova و همکاران (سال ۲۰۰۷) در مطالعه خود، میزان فنل عصاره زنجبیل را

۸۷۰/۱ میلی گرم بر گرم وزن خشک به دست آوردند (۲۳). در مطالعات متعددی دلیل تفاوت در میزان فعالیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنلی گیاهان، عواملی همچون شرایط اقلیمی، خاک، زمان جمع آوری گیاه، روش خشک کردن، استحصال و نیز تفاوت در روش های اندازه گیری ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی ذکر شده است (۲۰، ۲۱).

در مطالعه حاضر، نتایج اثر ضد میکروبی اسانس زنجبیل به روش دیسک دیفیوژن نشان داد با افزایش غلظت اسانس زنجبیل (از ۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر به ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر)، قطر هاله عدم رشد را برای سویه های بیمارزا (باکتریایی و قارچی) افزایش می دهد. براساس نتایج آزمون آماری نیز در تعدادی از سویه ها، افزایش غلظت با توجه به افزایش قطر هاله بازدارندگی در سطح ۵٪ معنی دار نبود (جدول شماره ۳). مقایسه دوتایی میان غلظت های مختلف اسانس زنجبیل برای سویه های سودوموناس آئروژینوزا و باسیلوس سرئوس در غلظت های ۵۰ و ۷۵ میلی گرم بر میلی لیتر و برای سویه های سالمونلا تیفی، اشرشیاکلی و لیستریا اینوکوا در غلظت های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی گرم بر میلی لیتر، اختلاف معنی داری مشاهده نشد (در سایر غلظت ها اختلاف معنی دار بود). بیشترین هاله عدم رشد مربوط به سویه کاندیدا آلیکس در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر با قطر ۱۴/۲۰ میلی متر بود. در پژوهش حاضر در میان سویه های باکتریایی مورد بررسی، باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر با قطری معادل با ۱۳/۷۰ میلی متر، بالاترین هاله بازدارندگی را داشت. مقاوم ترین سویه نیز در برابر اسانس زنجبیل مربوط به باکتری گرم منفی سالمونلا تیفی بود. برای سویه سالمونلا تیفی در غلظت ۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر، هاله عدم رشد مشخص نشد و در بالاترین غلظت (۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر)، قطر هاله عدم رشد ۹/۶۰ میلی متر بود. از نظر تئوری، قطر هاله عدم رشد (هاله بازدارندگی) عکس العملی از غلظت ماده مؤثر موجود در اسانس زنجبیل است. به طور کلی، نتایج پژوهش حاضر نشان داد سویه های گرم منفی (سودوموناس آئروژینوزا، سالمونلا تیفی و اشرشیاکلی) در مقایسه با سویه های گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، لیستریا اینوکوا) دارای هاله عدم رشد کمتری هستند (جدول شماره ۳).

Burt در سال ۲۰۰۴، وجود یک غشای خارجی هیدروفیل متشکل از لیوپروتئین ها و لیوپلی ساکاریدها را با خاصیت نفوذپذیری انتخابی در باکتری های گرم منفی، از عوامل مهم مقاومت نسبت به ترکیبات ضد میکروبی موجود در عصاره و اسانس های گیاهی ذکر کرد (۲۸). سازوکارهای متعددی که در آن ترکیبات فنلی موجود در عصاره و اسانس های گیاهی باعث از بین رفتن میکروارگانیسم های بیمارزا می شوند شامل: تداخل در عملکرد و پروتئین های غشای سیتوپلاسم، محدود کردن دسترسی آزاد به یون های فلزی مورد نیاز میکروارگانیسم های بیمارزا و جذب سطحی و از بین بردن غشای سلول است (۱، ۲۹).

نتایج فعالیت ضد میکروبی اسانس زنجبیل به روش های حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی، نشان داد سویه های گرم منفی سالمونلا تیفی و سودوموناس آئروژینوزا، بالاترین مقاومت و سویه های استافیلوکوکوس اورئوس، کاندیدا آلیکس و آسپرژیلوس نایجر، کمترین مقاومت را در برابر اسانس از خود نشان داده اند (جدول شماره ۴).

Sasidharan و همکاران در سال ۲۰۱۰، با بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس زنجبیل بر باسیلوس سوبتیلیس، سودوموناس آئروژینوزا، کاندیدا آلیکس، آسپرژیلوس نایجر، ساکارومایسس سروریه و گونه های پنسیلیوم به روش های دیسک دیفیوژن و حداقل غلظت مهارکنندگی در شرایط آزمایشگاهی، نشان دادند بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به کاندیدا آلیکس بوده است (۸). نتایج این مطالعه با یافته های پژوهش حاضر همخوانی داشت. Singh و همکاران نیز در سال ۲۰۰۸، با بررسی اثر ضد میکروبی اسانس زنجبیل بر تعدادی از باکتری ها و قارچ های بیمارزای غذازاد، نشان دادند اسانس زنجبیل دارای اثر ضد میکروبی است (۹). سیاسی و همکاران (سال ۱۳۹۶) در بررسی اثر ضد میکروبی عصاره زنجبیل بر باکتری های شایع عفونت های ادراری جدا شده از بیماران، مشخص کردند مقدار حداقل غلظت مهارکنندگی مربوط به عصاره متانولی زنجبیل برای باکتری اشرشیاکلی بوده است (۳۰). همچنین احمدی و همکاران در سال ۱۳۹۵، گزارش دادند حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره زنجبیل برای سویه های اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس، ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر می باشد (۱).

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد اسانس زنجبیل دارای فعالیت آنتی اکسیدانی خوبی است و میزان فنل کل اسانس زنجبیل، ۷۶/۶۵ میلی گرم گالیک اسید می باشد که در این مطالعه نیز بیشترین فعالیت ضد میکروبی اسانس زنجبیل (روش های متنوع کیفی و کمی) بر سویه های *کاندیدا* / *آلیککس*، *آسپرژیلوس نایجر* و *استافیلوکوکوس اورئوس* مشاهده گردید و بیشترین مقاومت در برابر اسانس زنجبیل مربوط به باکتری گرم منفی *سالمونلا تیفی* بود. طبق آزمون شناسایی ترکیبات شیمیایی به وسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی، ترکیب Zingiberene با ۲۹/۴۸٪، بیشترین جزء اسانس زنجبیل معرفی شد که به نظر می رسد بخش عمده ای از فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس زنجبیل نیز مربوط به همین ترکیب بوده است. از آنجایی که در پژوهش حاضر، اسانس زنجبیل بر ۸ سویه بیماریزا مورد بررسی دارای اثر مهارکنندگی و کشندگی بود؛ بنابراین می توان این اسانس را به عنوان یک اسانس مؤثر در کنترل رشد میکروارگانیسم های بیماریزا معرفی کرد، هرچند مطالعات بالینی تکمیلی مورد نیاز است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان مقاله برخورد لازم می دانند از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به دلیل مساعدت های مالی جهت اجرای این طرح پژوهشی (با کد ۲/۴۵۳۶۹) صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

اسدی و همکاران در سال ۱۳۹۴، اثر ضد میکروبی زنجبیل بر برخی از باکتری های بیماریزا را به روش های انتشار در آگار به کمک دیسک، حداقل غلظت مهاری و حداقل غلظت باکتری کشی بررسی کردند. نتایج نشان داد زنجبیل بر تمامی باکتری ها اثر مهارکنندگی و کشندگی دارد (۳۱). مؤمنی و همکاران در سال ۱۳۸۸، با بررسی فعالیت ضد میکروبی زنجبیل و پیاز بر تعدادی از باکتری های بیماریزا و مخمر *کاندیدا* / *آلیککس* به روش دیسک دیفیوژن، نشان دادند گیاه زنجبیل در مقایسه با پیاز اثر ضد میکروبی بیشتری بر سویه های مورد مطالعه داشته است (۳۲). دهقان و همکاران در سال ۱۳۸۱، با مطالعه اثر ضد میکروبی زنجبیل و تعدادی از گیاهان دارویی بر هلیکوباکتریلوری شرایط برون تنی، عنوان کردند زنجبیل کاملاً بر هلیکوباکتریلوری مؤثر است (۳۳). بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس زنجبیل نشان داده است سیکویی ترین های هیدروکربنی، بیشترین درصد ترکیب اسانس زنجبیل را تشکیل می دهد. در اکثر مطالعات صورت گرفته نیز عامل اصلی اثر ضد میکروبی و بوی تند زنجبیل، ترکیب Zingiberene ذکر شده است. معمولاً خواص ضد میکروبی گیاهان را مربوط به یک نوع متابولیت ثانویه نمی دانند؛ بلکه به همکاری ترکیبات موجود در گیاه نسبت داده اند. ترکیبات فیتوشیمیایی با اثر ضد میکروبی به چند گروه تقسیم می شوند که شامل ترکیبات فنلی و پلی فنل ها هستند (۲۸). براساس نتایج آنالیزهای شیمیایی اسانس زنجبیل، مشخص گردید ترکیباتی مانند Camphol، D-limonene، Camphene، α -curcumene که از اجزای تشکیل دهنده اسانس زنجبیل می باشند همگی دارای ماهیت فنولیک یا گروه هیدروکسیل آزاد بوده و به عنوان فعال ترین ترکیب های ضد میکروبی شناخته شده اند (۳۴).

References:

- 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. [Full Text in Persian] Link
- Heidari-Sureshjani M, Tabatabaei-Yazdi F, Alizadeh-Behbahani B, Mortazavi A. Antimicrobial effect of aqueous, ethanol, methanol and glycerin extracts of *Satureja bachtiarica* on *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis*. Zahedan J Res Med Sci 2015;17(7):1-5. Link

3. 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. [Full Text in Persian] Link
4. 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. [Full Text in Persian] Link
5. Aghayan S, Zaker S, SHahlaei M. Evaluation the effect of concentration of ginger extract on the growth rate of *ActinomycesNaslundicolony* (in vitro study). *J Res Dental Sci* 2017;14(1):27-33. [Full Text in Persian]. Link
6. Chen JC, Huang LJ, Wu SL, Kuo SC, Ho TY, Hsiang CY. Ginger and its bioactive component inhibit enterotoxigenic *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin-induced diarrhea in mice. *J Agric Food Chem* 2007;55(21):8390-7. PubMed
7. Momeni I, 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. [Full Text in Persian] Link
8. Sasidharan I, Menon AN. Comparative chemical composition and antimicrobial activity fresh & dry ginger oils (*Zingiber officinale* Roscoe). *Int J Curr Pharm Res* 2010;2(4):40-3. Link
9. Singh G, Kapoor I, Singh P, de Heluani CS, de Lampasona MP, Catalan CA. Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*. *Food Chem Toxicol* 2008;46(10):3295-302. PubMed
10. Bayala B, Bassole IHN, Gnoula C, Nebie R, Yonli A, Morel L, et al. Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and anti-proliferative activities of essential oils of plants from Burkina Faso. *PloS one* 2014;9(3):1-11. PubMed
11. Tabatabaei Yazdi F, Alizadeh Behbahani B, Mortazavi A. Investigating the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of the *lavandula stoechas* L. and *Rosmarinus officinalis* L. extracts on pathogen bacteria "in vitro". *J Paramed Sci* 2014;5(2):91-101. Link
12. Alizadeh Behbahani BA, Tabatabaei Yazdi F, Shahidi F, Riazi F. Antifungal effect of the aqueous and ethanolic *avicennia marina* extracts on *alternaria citri* and *penicillium digitatum*. *Zahedan J Res in Med Sci* 2016;18(2):1-6. Link
13. Amiri H, Mohammadi M, Sadatmand S, Taheri E. Study the chemical composition of essential oil of ginger (*zingiber officinale*) and antioxidant and cell toxicity. *J Med Plants* 2016;2(58):89-98. [Full Text in Persian] Link
14. Wei A, Shibamoto T. Antioxidant activities and volatile constituents of various essential oils. *J Agric Food Chem* 2007;55(5):1737-42. PubMed
15. Seevers P, Daly J. Studies on wheat stem rust resistance controlled at the Sr6 locus. I. The role of phenolic compounds. *Phytopathology* 1970;60(9):1322-8. Link
16. Mohamadi Sani A, Behnam K, Esmaeilpour M. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil from Shirazi Turnip root (*Brasica rappa* L.) in in-vitro conditions. *J Food Microbiol* 2017;4(3):31-40. [Full Text in Persian] Link
17. Yeganegi M, Tabatabaei Yazdi F, Mortazavi SA, Asili J, Alizadeh Behbahani B, Beigbabaei A. *Equisetum telmateia* extracts: Chemical compositions, antioxidant activity and antimicrobial effect on the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection. *Microbial Pathog* 2018;116:62-7. PubMed
18. Wang W, Zhang L, Li N, Zu Y. Chemical composition and in vitro antioxidant, cytotoxicity activities of *Zingiber officinale* Roscoe essential oil. *Afr J Biochem Res* 2012;6(6):75-80. Link
19. Zhan K, Wang C, Xu K, Yin H. Analysis of volatile and non-volatile compositions in ginger oleoresin by gas chromatography-mass spectrometry. *Se Pu* 2008;26(6):692-6. PubMed

20. Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Vasiee A, Mortazavi SA. *Oliveria decumbens* essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some clinical and standard strains causing infection. *Microb Pathog* 2018;114:449-52. PubMed
21. Behbahani BA, Shahidi F, Yazdi FT, Mortazavi SA, Mohebbi M. Use of *Plantago major* seed mucilage as a novel edible coating incorporated with *Anethum graveolens* essential oil on shelf life extension of beef in refrigerated storage. *Int J Biol Macromol* 2017;94(Pt A):515-26. PubMed
22. Prakash J. Chemical composition and antioxidant properties of ginger root (*Zingiber officinale*). *J Med Plants Res* 2010;4(24):2674-9. Link
23. Stoilova I, Krastanov A, Stoyanova A, Denev P, Gargova S. Antioxidant activity of a ginger extract (*Zingiber officinale*). *Food Chem* 2007;102(3):764-70. Link
24. Jagetia GC, Baliga MS, Venkatesh P, Ulloor JN. Influence of ginger rhizome (*Zingiber officinale* Rosc) on survival, glutathione and lipid peroxidation in mice after whole-body exposure to gamma radiation. *Radiat Res* 2003;160(5):584-92. PubMed
25. Haksar A, Sharma A, Chawla R, Kumar R, Arora R, Singh S, et al. *Zingiber officinale* exhibits behavioral radioprotection against radiation-induced CTA in a gender-specific manner. *Pharmacol Biochem Behav* 2006;84(2):179-88. PubMed
26. Kim JK, Kim Y, Na KM, Surh YJ, Kim TY. [6]-Gingerol prevents UVB-induced ROS production and COX-2 expression in vitro and in vivo. *Free Radic Res* 2007;41(5):603-14. PubMed
27. Platel K, Srinivasan K. Influence of dietary spices and their active principles on pancreatic digestive enzymes in albino rats. *Nahrung* 2000;44(1):42-6. PubMed
28. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int J Food Microbiol* 2004;94(3):223-53. PubMed
29. Negi PS. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. *Int J Food Microbiol* 2012;156(1):7-17. PubMed
30. Siasi E, Sharifnia F, Yahyaii S. Study and evaluation of Zangaber extract antimicrobial effect on common urinary tract infection bacteria from patients isolated. *New Cell Mol Biotechnol J* 2017;7(26):93-100. [Full Text in Persian] Link
31. Asadi T, Zanguee N, Mousavi SM, Zakeri M, Batvandi Z. Antimicrobial effects of Alcoholic extract of *Zingiber officinale* on some pathogen bacteria of aquatic organisms. *J Appl Ichthyol Res* 2015;3(2):59-68. [Full Text in Persian] Link
32. Momeni L, Zamanzad B. Evaluation of antimicrobial effects of onion and ginger extracts on some bacteria and candida albicans isolated infected urinary systems. Persian. *J Shahrekord Univ Med Sci* 2010;11(4):81-87. [Full Text in Persian] Link
33. Dehghan M, Noorizadeh E, Latifi Navid M. Survey of anti-bacterial effects of turmeric, ginger, clove and cardamom on *Helicobacter pylori*. *J Ardabil Univ Med Sci* 2002;1(4):19-26. [Full Text in Persian] Link
34. Alizadeh Behbahani B. Production of an antimicrobial edible coating based on *Plantago major* seed mucilage in combination with dill and tarragon essential oils: its properties and application in beef. [PhD Thesis]. Mashhad: Ferdowsi University; 2016. p. 1-176. [Text in Persian] Link