بررسی فعالیت ضد قارچی و ضد باکتریایی عصاره اتانولی ریشه شیرین بیان با روش الایزا

زهره کرمی دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم و کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

Email: z_karami_gua@yahoo.com

حبیب الله میرزایی[1]، زهرا امام جمعه، مرتضی خمیری، علیرضا صادقی ماهونک، عماد آیدانی

Email: {habibmirzaei@yahoo.ca}, {mkhomeiri@yahoo.com}, {emamj@ut.ac.ir}, {sadeghiaz@yahoo.com}

چکیده

گیاه شیرین بیان از خانواده لگومیناسه است. اینگیاه حاوی مواد موثره شامل تری ترپن های ساپونینی، فلاونوئیدها، چالکون ها و ایزوفلاون ها است. مهم ترین ماده فعال این گیاه، گلیکوزیدی از دسته ساپونین ها به نام گلیسیریزین ($C_{۴۲}H_{۲۲}O_{۱۶}$) می باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره اتانولی ریشه گیاه شیرین بیان در برابر طیف وسیعی از باکتری ها ی گرم مثبت و منفی (اشرشیا کلی، لاکتوباسیلوس دلبروکی، استافیلوکوکوس ارئوس، لوکونوستوک مزنتروئیدس، باسیلوس سرئوس، سالمونلا انتریتیدیس) با روش الایزا و مخمرهای (ساکارومایسس سرویزیه و کاندیدا کروزئی) با روش میکرودیلوشن می باشد. نتایج نشان داد که عصاره اتانولی ریشه شیرین بیان نسبت به باکتری ها و مخمرها دارای فعالیت ضد میکروبی می باشد. در بین باکتری ها باسیوس سرئوس نسبت به عصاره اتانولی ریشه شیرین بیان مقاوم ترین (MIC=۱mg/ml، MBC=۳mg/ml) و لاکتوباسیلوس دلبروکی حساس تری ن (MIC=۰/۷mg/ml، MBC=۰/۸mg/ml) بودند و مخمرهای ساکارومایسس سرویزیه و کاندیدا کروزئی دارای MIC=۰/۸mg/ml، MBC= ۰/۸mg/ml می باشند.

کلمات کلیدی

ریشه شیرین بیان، عصاره اتانولی، ضد باکتریایی، ضد قارچی.

۱. مقدمه

شیرین بیان گیاهی پایا است که در نواحی مدیترانه، جنوب مرکزی روسیه و آسیا از جمله ایران می روید و درحال حاضر به طور وسیعی در اروپا، شرق میانه و آسیا کشت می شود، نام لاتین آن *Glycyrrhiza glabra* می باشد. شیرین بیان [۱] و فرآورده های آن از زمان های بسیار دور توسط پزشکان و گیاه شناسان مورد توجه قرار داشته است. بسیاری از دلایل ابتدایی کاربرد عصاره شیرین بیان، جوشانده و داروی آن توسط انسان بوسیله علوم پیشرفته امروزی مورد تایید قرار گرفته است. شیرین بیان یکی از مهمترین گیاهان دارویی می باشد که به صورت گسترده مورد پژوهش قرار گرفته است [۴]. گیاهان دارویی گیاهانی هستند که مواد موثره موجود در آنها به صورت مستقیم یا غیر مستقیم اثر درمانی دارد و به عنوان دارو مورد استفاده قرار می گیرد [۱]. در اندام های مختلف گیاهان دارویی مواد خاصی ساخته و ذخیره می شود که مواد موثره یا مواد فعال نام دارند. این مواد تاثیر فیزیولوژیکی بر پیکر موجود زنده به جا می گذارند. مواد فعال مذکور در طی یک سلسله فرآیندهای ویژه و پیچیده شیمیایی به مقدار بسیار کم و معمولاً کمتر از وزن خشک گیاه ساخته می شوند و کاشت، داشت و برداشت این گیاهان صرفاً به خاطر استفاده از مواد موثره آنها صورت می گیرد [۲].گلیسیریزین[۲] یکی از اجزای اصلی ریشه شیرین بیان است که از لحاظ بیولوژیکی و پزشکی ترکیبی فعال است. هم اکنون عصاره های شیرین بیان و گلیسیریزین کاربردهای گسترده ای در صنایع غذایی، داروسازی و دخانیات دارند. گیاه شیرین بیان، محتوی ساپونین های تری ترپنوئید (۲۰-۴ درصد) است که مهم ترین آن اسید گلیسیریزیک است و این اسید ۵۰ بار شیرین تر از شکر است. سایر ترکیبات موثره آن فلاونوئید های لیکوریتیجنین[۳]، لیکوریتین[۴]، ایزولیکوریتیجنین[۵] و ایزولیکوریتین[۶] مشتقات کومارین، آسپارژیناز، گلوکز و سوکروز (۱۵-۳ درصد)، نشاسته، پلی ساکاریدها، استرول ها، رزین ها و روغن های فرار است [۵]. همچنین ترکیباتی نظیر ایزوفلاونوئیدهایی شامل هیسپا گلابریدین A، هیسپا گلابریدین B، چهار ارتومتیل گلابریدین، ۳- هیدروکسی گلابریدین و لیکو بنزوفوران در ریشه شیرین بیان از خود فعالیت ضد میکروبی نشان می دهند [۶].

امروزه باید متناسب با پیشرفت علم و تکنولوژی از گیاهان دارویی بهره گرفت. به طور مثال بررسی اثرات ضد میکروبی گیاهان می تواند راه را برای به دست آوردن آنتی بیوتیک های گیاهی و جدید هموار سازد بدین منظور در این مطالعه اثرات ضد میکروبی عصاره ریشه شیرین بیان مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روش ها

۱.۲. شناسایی و جمع آوری گیاهان

گیاه شیرین بیان در اواخر تابستان مورد شناسایی گیاه شناسی قرار گرفت پس از آن که برگ های گیاه شروع به زرد شدن نمود، ریشه ها از خاک خارج شدند و پس از تمیز کردن گرد و غبار آن به قطعات کوچک تقسیم شدند و به مدت یک هفته در آون و در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد، کاملاً خشک گردیدند .ریشه های خشک شده توسط آسیاب چکشی پودر گردیدند و ازالک مش ۲۰ عبور داده شدند. سپس تا زمان استفاده در کیسه های پلی اتیلنی در دمای یخچالی نگهداری شدند.

۲.۲. آماده سازی عصاره اتانولی ریشه شیرین بیان

در این روش از مایکروویو خانگی طبق روش میرزا پور و همکاران (۲۰۱۰) استفاده گردید[۷]. ۵ گرم ریشه شیرین بیان با نسبت ۱:۱۵ نمونه به حلال (اتانول ۸۰٪) به مدت ۹۰ دقیقه مخلوط گردید [۸]. سپس مخلوط با امواج مایکروویو در زمان ۵ دقیقه اشعه دهی شد و عصاره های حاصله با استفاده از کاغذ صافی از مواد گیاهی جدا گردید. عصاره تا زمان استفاده لیوفیلیزه

---

[۱] Licorice
[۲] Glycyrrhizine
[۳] Liquiritigenin
[۴] Liquritin
[۵] Isoliquiritigenin
[۶] Isoliquiritin

شد.

۳.۲. سویه های باکتری

باکتری های مورد استفاده، اشرشیا کلی [۷]، استافیلوکوکس ارئوس [۸]، باسیلوس سرئوس [۹]، سالمونلا انتریتیدیس [۱۰]، لاکتوباسیلوس دلبروکی[۱۱]، لوکونوستوک مزنتروئیدس[۱۲] و مخمرهای مورد استفاده ساکارومایسس سرویزیه [۱۳]و کاندیدا کروزئی [۱۴]می باشند.

۴.۲. احیاء میکروارگانیسم ها

قبل از هر آزمون میکروبی زیر هود لامینار، قسمت های سطحی هود با پنبه آغشته به الکل ۷۰ ٪ استریل گردید و به مدت ۳۰ دقیقه تحت UV قرار گرفت. محیط کشت مایع را داخل لوله ریخته و در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه استریل نموده سپس آنها را خنک کرده و از سوش های مورد نظر حدود ۲ الی ۳ لوپ به داخل لوله ها برده شد. درب لوله ها با پنبه استریل و پارافیلم بسته شد و سپس لوله ها به انکوباتور منقل گردیدند و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت (مخمرها) و ۳۷ درجه سانتی گراد (باکتری ها) نگهداری شدند.

۵.۲. روش تهیه محیط کشت

جهت تهیه محیط کشت مایع (Muller Hintone Broth و y_m-Broth) مورد استفاده در آزمون های میکروبی از روش double strength استفاده شد. در واقع گرم محیط کشت در محلول دو برابر میزان توصیه شده توسط شرکت تولید کننده در نظر گرفته شد تا از رقیق شدن محیط کشت در هنگام اضافه شدن بخش حاوی اسانس در طی آزمون جلوگیری به عمل آید.

۶.۲. تهیه کشت تازه (در فاز لگاریتمی) از میکروارگانیسم ها

هر یک از سویه های باکتریایی یک روز قبل از انجام تست MIC و MBC و در مورد مخمرها ۲ روز قبل از انجام تست بر روی محیط کشت ذکر شده کشت سطحی داده شدند تا میکروارگانیسم ها پس از یک شب (باکتری ها) یا دو شب (مخمرها) انکوباسیون در هنگام تهیه سوسپانسیون میکروبی در فاز لگاریتمی قرار داشته باشند.

۷.۲. تهیه سوسپانسیون ۱ مک فارلند

سوسپانسیون استاندارد ۱ مک فارلند با استفاده از اضافه کردن ۰/۱ میلی لیتراز محلول آبی ۱/۱۷۵ ٪ کلرید باریم به طور آهسته و همراه با همزنی مداوم به ۹/۹۵ میلی لیتر اسید سولفوریک ۱٪ تهیه گردید و جذب آن در طول موج ۶۲۰ نانومتر خوانده شد.

۸.۲. تهیه سوسپانسیون میکروبی

یک لوپ پر از کشت های تازه برداشته و به ۱۵ میلی لیتر محیط دوبل استریل اضافه کرده و جذب آن با استاندارد مک فارلند برابر گردید. در مرحله بعد برای به دست آوردن مقدار 1×10^{6} cfu/ml تحت شرایط استریل به نسبت ۱:۳۰۰ با محیط کشت مایع double مخلوط گردید.

---

[۷] Escherichia coli ATCC 35218

[۸] Staphylococcus aureus (ATCC 29213)

[۹] Bacillu cereus ATCC *11778*

[۱۰] Salmonela entritidis WHO

[۱۱] Lactobacillus delbruekii PTCC ۱۳۳۳

[۱۲] Leuconostoc mesenteroides PTCC ۱۵۹۱

[۱۳] Saccharomyces cerevisia PTCC ۵۲۶۹

[۱۴] Issatchenikia orientalis Candida krusei PTCC ۵۲۹۵

۹.۲. ارزیابی فعالیت ضد میکروبی (باکتری ها) عصاره ریشه شیرین بیان با استفاده از روش الایزا

ابتدا عصاره ریشه شیرین بیان با فیلتر سرنگی ۰/۲۲ استریل شد سپس ۱۰۰ میکرولیتر از رقت های مورد نظر (۱۰۰، ۲۰۰،۳۰۰،۴۰۰،۵۰۰،۶۰۰،۷۰۰،۸۰۰،۹۰۰،۱۰۰۰،۲۰۰۰،۳۰۰۰،۴۰۰۰ پی پی ام) را به چاهک های پلیت الایزا اضافه کرده و ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون فوق اضافه گردید. کلیه رقت ها در ۲ تکرار و با کنترل منفی بودند. برای هر میکروارگانیسم نیز در تکرار مثبت شامل محیط و سوسپانسیون و یک کنترل مثبت عدم رشد از محلول ۱۰۰ پی پی ام کلرامفنیکل استفاده شد. جذب چاهک ها در ۶۲۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر خوانده شد و در ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت در انکوباسیون نگهداری شدند. پس از ۲۴ ساعت جذب پلیت الایزا در ۶۲۰ نانومتر خوانده که در نهایت حداقل غلظتی از عصاره که تغییر OD در آن مشاهده می شود به عنوان MIC در نظر گرفته شد. پس از ۲۴ ساعت از هر یک از غلظت های که تغییر جذب در آنها دیده نشده کشت سطحی بر روی محیط کشت جامد انجام گرفت و سپس پلیت ها جهت مشاهده رشد یا عدم رشد به مدت ۲۴ ساعت گرم خانه گذاری شدند و نتایج MBC گزارش گردیدند [۹].

۱۰.۲. ارزیابی فعالیت ضد میکروبی (مخمرها) عصاره ریشه شیرین بیان با استفاده از میکرودیلوشن

ابتدا عصاره ریشه شیرین بیان با فیلتر سرنگی ۰/۲۲ استریل شد و در غلظت های مورد نظر (ppm ۳۰۰، ۵۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۳۰۰۰، ۴۰۰۰) تهیه شدند. هر غلظت در ۳ تکرار و با یک کنترل منفی در نظر گرفته شد. به هر میکروتیوب استریل ۱ میلی لیتر از غلظت های مختلف عصاره و ۱ میلی لیتر محیط کشت y_m مایع که به صورت مضاعف تهیه شده بود اضافه شد. به هر میکروتیوب نیز ۰/۱ میلی لیتر از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده اضافه شد. در ضمن یک کنترل مثبت نیز حاوی ۱ میلی لیتر محیط و ۰/۱ میلی لیتر سوسپانسیون تهیه گردید. نمونه ها به مدت ۷۲-۴۸ ساعت در دمای $25^{\circ}C$ در انکوباتور نگهداری شدند. بعد از زمان سپری شده، اولین غلظتی که کدورت در آنها مشاهده نگردید به عنوان MIC تعیین گردیدند. سپس از غلظت هایی که کدورت در آنها مشاهده نشده کشت سطحی بر روی محیط کشت جامد انجام گرفت و سپس پلیت ها جهت مشاهده رشد یا عدم رشد به مدت ۷۲-۴۸ ساعت گرم خانه گذاری شدند و نتایج MBC گزارش شد[۱۰].

۳. نتیجه و بحث

فعالیت ضد میکروبی شیرین بیان در اکثر مطالعات بیان شده است [۱۱]. در این مطالعه اثر ضد باکتریایی مقادیر مختلف عصاره اتانولی ریشه شیرین بیان علیه باکتری های اشرشیا کلی، استافیلوکوکوی اورئوس، سالمونلا انترتیدیس، باسیلوس سرئوس، لاکتوباسیلوس دلبروکی و لوکونوستوک مزنتروئیدس و مخمرهای ساکارومایسس سرویزیه و کاندیدا کروزئی به روش الایزا مورد بررسی قرار گرفت. عصاره اتانولی ریشه شیرین بیان روی تمام باکتری های گرم مثبت و منفی مورد بررسی اثر مهارکنندگی نشان داد. باسیلوس سرئوس با MIC و MBC در مقادیر ۱ mg/ml و ۳ mg/ml مقاوم ترین باکتری و لاکتوباسیلوس دلبروکی با MIC و MBC در مقادیر ۰/۸ mg/ml و ۰/۷ mg/ml ضعیف ترین در برابر عصاره اتانولی شیرین بیان بودند. نتایج حاصل از الایزا نشان داد که MIC استافیلوکوکوس آرئوس، سالمونلا انتریتیدیس، اشرشیا کلی ۰/۸ mg/ml و MBC آنها ۰/۹ mg/ml می باشد. در حالی که MIC و MBC لوکونوستوک مزنتروئیدس یکسان و با مقدار ۰/۹ mg/ml بود. همچنین نتایج حاصل از MIC و MBC ساکارومایسس سرویزیه و کاندیدا کروزئی با روش میکرودیلوشن با مقادیر یکسان ۰/۸ mg/ml بدست آمد (جدول۱). نتایج بررسی حاضر بیان کننده این مطلب است که عصاره اتانولی ریشه شیرین بیان یک ترکیب قوی ضد باکتریایی و با طیف اثر وسیع می باشد که با سایر مطالعات انجام شده در این خصوص هم خوانی دارد. فعالیت آنتی میکروبی عصاره ریشه شیرین بیان می تواند به علت حضورآلکالوئیدها، ساپونین ها، فلاونوئیدها، تانن، گلیکوزیدها و فنول ها در عصاره خام و فراکشن های ریشه شیرین بیان باشد. این گروههای فیتوشیمیایی به عنوان ترکیبات ضد میکروبی شناخته شده می باشند [۱۳و۱۲]. مقاشری و شوبا[۱۵] (۲۰۰۹) فعالیت ضد میکروبی عصاره و فراکشن های ریشه شیرین بیان را در برابر باکتری ها و قارچ ها با

[۱۵] Meghashri and Shubha

استفاده از دو روش Well diffusion و Microdilution بررسی کردند. هم عصاره و هم فراکشن ها اثر ضد میکروبی مناسبی را نشان دادند. عصاره و فراکشن های ریشه شیرین بیان در برابر ۲ گونه قارچ *Candida albicans* و *Trichophyton rubrum* دارای MIC در حدود ۰.۸ mg/ml الی ۲۰۰ و در برابر گونه های باکتری *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*، *Eshershia coli* دارای MIC در حدود ۰/۲ mg/ml الی ۱/۲mg/ml بودند [۱۴]. فاتیما و همکاران (۲۰۰۹)، گلابریدین جز فعال ریشه شیرین بیان را عامل موثر بر علیه مخمر و قارچ ها دانستند. همچنین گلابریدین بر علیه کاندیدا آلبیکانس دارای MIC در حدود ۲۵۰-۳۱/۲۵ µg/ml بود [۱۵]. همچنین گزارش شده است که گلابریدین دارای فعالیت ضد باکتریایی بر بعضی گونه ها می باشد. فعالیت ضد میکروبی گلابریدین (یکی از فراکشن ها ی ریشه شیرین بیان) ۲۰ برابر بیشتر از عصاره خام یافت شده است [۱۱]. فعالیت ضد باکتریایی عصاره اتانولی ریشه شیرین بیان بر خلاف مایکوباکتریوم توبرکلوسیز $H_{۳۷}R_a$ و $H_{۳۷}R_V$، ۵۰۰ µg/ml گزارش شده است. فعالیت ضد میکروبی گلابریدین در غلظت ۲۹/۱۶ µg/ml در برابر مایکوباکتریوم یافت شد. فراکشن گلابریدین نسبت به گرم مثبت ها فعالتر از گرم منفی ها بود[۱۱].

سولتانا[۱۶] و همکاران (۲۰۱۰) فعالیت ضد میکروبی عصاره متانولی ریشه شیرین بیان را بررسی کردند. این عصاره فعالیت ضد میکروبی معناداری بر علیه استافیلوکوکوس آرئوس، اشرشیا کلی و باسیلوس سوبتیلیس داشت اما بر خلاف سودوموناس ائروجنس اثر ضد میکروبی نداشت. فعالیت ضد میکروبی عصاره ریشه شیرین بیان را می توان حضور ترکیباتی چون گلابرن، لیکولیزوفلاون B، ایزولیکوفلاونول دانست [۱۶].

کیم[۱۷] و همکاران (۲۰۰۲) دریافتند که B گلیسریتینیک جدا شده از شیرین بیان دارای فعالیت ضد باکتریایی بر علیه باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اپیدرمیس می باشد در حالی که چنین اثری را بر اشرشیا کلی، پروتئوس ولگاریس و انواع قارچها ندارد. میکروسکوپ confocal نشان داد که B گلیسرتینیک اسید درون باکتری قرار می گیرد و بدون شکستن غشای سلولی از سنتز DNA ، RNA و پروتئین جلوگیری می کند [۱۷].

گلابریدین و گلابرن موجود در شیرین بیان اثر مهاری روی رشد هلیکوباکتر پیلوری حتی در گونه های مقاوم به آموکسی سیلین و متی سیلین دارند [۱۸]. در یک تحقیق وسیع در ژاپن، فوکای و همکاران تاثیر فلاونوئیدهای مشتق از عصاره گیاه شیرین بیان را بر رشد هلیکوباکتر پیلوری مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل نشان داد که در بین ترکیبات شیمیایی این گیاه گلابریدین، گلابرن، لیکوچالکون A و لیکوایزوفلاون B دارای اثر مهاری بر رشد هلیکوباکتر پیلوری در شرایط آزمایشگاهی هستند. همچنین این محققین عصاره متانولی این گیاه را نیز تهیه کرده و ۱۵ فلاونوئید جدید از این عصاره استخراج کردند که این فلاونوئیدهای جدید دارای تاثیر مهاری بر رشد هلیکوباکتر پیلوری حتی در انواع مقاوم به کلاریترومایسین و اموکسی سیلین بودند [۱۸]. در یک تحقیق مشابه دیگر، اکادا و همکاران در ژاپن (۱۹۸۹) به بررسی ترکیبات عصاره شیرین بیان روسی و چینی پرداختند و اعلام داشتند که گلابرین، گلابریدین و لیکوچالکون A و B دارای اثرات ضد میکروبی و آنتی اکسیدان می باشند [۱۹]. در مطالعه دیگری سلیمانی رهبر و همکاران در بخش میکروبیولوژی دانشکده پزشکی شهید بهشتی تهران از شیرین بیان با استفاده از حلال متانول ۸۰ درصد عصاره گیری کردند و این عصاره به نسبت های متفاوت رقیق شده و سپس دیسک های کاغذی آنتی بیوگرم از آنها تهیه گردید و بر روی محیط های کشت شده اشرشیا کلی و استافیلوکوکوس ارئوس قرار داده شد و با دیسک های جنتامایسین و انکومایسین به عنوان شاهد مقایسه گردید که با مقایسه قطر هاله های عدم رشد در اطراف دیسک ها این نتایج به دست آمد. عصاره غلیظ شیرین بیان بر روی استافیلوکوکوس ارئوس دارای اثر مناسب بر روی اشرشیا کلی اثر متوسط داشته است [۳].

جدول ۱ نتایج MIC و MBC عصاره های اتانولی ریشه شیرین بیان

[۱۶] Sultana
[۱۷] Kim

میکروارگانیسم	MIC_S	MBC_S
باسیلوس سرئوس	۱.۰	۳
استافیلوکوکوس ارئوس	۰.۸	۰.۹
سالمونلا انتریتیدیس	۰.۸	۰.۹
اشرشیا کلی	۰.۸	۰.۹
لاکتوباسیلوس دلبروکی	۰.۷	۰.۸
لوکونوستوک مزنتروئیدس	۰.۹	۰.۹
کاندیدا کروزئی	۰.۸	۰.۸
ساکارومایسس سرویزیه	۰.۸	۰.۸

۴.منابع و مراجع

[۱] امید بیگی، رضا، تولید و فرآوری گیاهان دارویی، جلد سوم، انتشارات آستان قدس رضوی، ۱۳۸۳، ۳۹۷ صفحه

[۲] امیدبیگی، رضا، تولید و فرآوری گیاهان دارویی، جلد اول، انتشارات آستان قدس رضوی، ۱۳۸۴، ۲۸۰ صفحه

[۳] زرگری، علی، گیاهان دارویی (۱)، انتشارات دانشگاه تهران، چاپ هفتم، ۱۳۷۶، صفحات ۶۴۷-۶۵۵

[۴] *Fenwick, G.R., Lutomski, J. and Nieman, C. (۱۹۹۰). Liquorice, Glycyrrhiza glabra L. composition, usese and analysis. Food Chemistry, ۳۸, ۱۱۹-۱۴۳.*

[۵] *Tyler, V.E, Bradly, L.R, Robbers, J.E. Pharmacognosy. ۹th ed. Lea and Febiger. Philadlphia. ۱۹۸۸, pp: ۶۸-۶۹.*

[۶] *Hayashi, H., Hiraoka, N., Ikeshiro Y., Yamamoto,H., Yoshikawa, T., (۱۹۹۸), Seasonal variation of glycyrrhizin and isoliquiritigenin glycosides in the root of Glycyrrhiza glabra L. Biol. Pharm. Bull. ۲۱, ۹۸۷-۹۸۹.*

[۷] *Mirzapour M, Hamedi M, Rahimipanah M (۲۰۱۰) Sunflower Oil Stabilization by Persian Walnut Leaves Extract During Oven Storage Test. Food Scince and Technology Resaerch Vol. ۱۶ (۵) pp. ۴۴۳-۴۴۶.*

[۸] *Pan X, Liu H, Jia G, Shu Y (۲۰۰۰) Microwave-assisted extraction of glycyrrhizic acid from licorice root. Journal of Biochemical Engineering ۵:۱۷۳–۱۷۷.*

[۹] *Kukić, J., Popović, V., Petrović, S., Mucaji, P., Ćirić, A., Stojković, D., Soković, M. (۲۰۰۸). Antioxidant and antimicrobial activity of Cynara cardunculus extracts. Food Chemistry, ۱۰۷, ۸۶۱–۸۶۸.*

[۱۰] *Thornsberry C, McDougal LK.(۱۹۸۳), Successful use of broth microdilution in susceptibility tests for methicillin-resistant (heteroresistant) staphylococci. J Clin Microbiol. ۱۸(۵): ۱۰۸۴-۹۱.*

[۱۱] *Gupta, V. K., Fatima, A., Faridi, U., Negi, A. S., Shanker, K., Kumar, J. K., Rahuja, N., Luqmana, S., Sisodia, B.S., Saikia, D., Darokar, M.P., & Khanuja, S. P. S. (۲۰۰۶). Antimicrobial potential of Glycyrrhiza glabra roots. CIMAP Communication, No, ۳۹J.*

[۱۲] *Scalbert, A., ۱۹۹۱. Antimicrobial properties of tannins . Phytochemis try, ۳۰: ۳۸۷۵-۳۸۸۳.*

[۱۳] *Field J.A. and G. Lettinga, ۱۹۹۲. Toxicity of tannic compounds to microorganisms. Plants Polyphenols: Synthesis, Propert ies, Significance. Bas ic Life Science, ۵۹: ۶۷۳-۶۹۲.*

[۱۴] *Meghashri. & Shubha, G. (۲۰۰۹). In Vitro Antifungal and Antibacterial Activities of Root Extract of Glycyrrhiza Glabra. Journal of Applied Sciences Research, ۵(۱۰), ۱۴۳۶-۱۴۳۹.*

[۱۵] *Fatima, A, Vivek, K., Gupta, Luqman, S., Arvind S. Negi, J. K. Kuma, Karuna Shanker, Saikia, D., Srivastava, M. P., Darokar and Suman P.S. Khanuja .(۲۰۰۹). Antifungal Activity of Glycyrrhiza glabra Extracts and its Active Constituent Glabridin. Wiley InterScience.* ***۲۳****, ۱۱۹۰–۱۱۹۳.* ***DOI****: ۱۰.۱۰۰۲/ptr.۲۷۲۶.*

[۱۶] *Sultana, S., Haque, A., Hamid, K., Fatima, K., Urmi and Sumon Roy. (۲۰۱۰). Antimicrobial, cytotoxic and antioxidant activity of methanolic extract of Glycyrrhiza glabra. Agric. Biol. J. N. Am., ۲۰۱۰, ۱(۵), ۹۵۷-۹۶۰.*

[۱۷] *Kim, H.K., Park, Y.K., Kim, H.N., Choi, B.H., Jeong, H. G., Lee D. G., and Hahm K. S. (۲۰۰۲), Antimicrobial mechanism of β-glycyrrhetinic acid isolated from licorice, Glycyrrhiza glabra. Biotechnology Letters* ***۲۴,*** *۱۸۹۹–۱۹۰۲.*

[۱۸] *Fukai T., Morumo, A., kaitou, K., Kanada, T., Teradas, Normura, T. (۲۰۰۲), Anti-helicobacter pylori flavonoids from licorice extract japan, ۹, ۷۱(۱۲), ۱۴۴۹-۶۳.*

[۱۹] *Okada, K., Tamura, Y., Yamamoto, M., Inoue, Y., Takagati, R., Takahashik, Denizs. (۱۹۸۹), Identification of antimicrobial and antioxidant constituents from licorice of russian and Xinjiang origin.chem pharm Bull (Tokyo), ۳۷(۹), ۲۵۲۸-۳۰.*

Abstract

Licorice is a plant of the leguminoseae family. Some of the ingredients of this plant include triterpenoid, soponins, flavonoids, isoflavones and chalcones. The main constituent found in the root is glycyrrhizin. The aim of this study was to evaluate the antimicrobial activity of licorice root ethanolic extract against positive and negative gram bacteria (*Lactobacillus delbruekii*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella entritidis*,

Bacillu cereus) using ELISA method and yeasts (*Saccharomyces cerevisia* and *Candida krusei*) using microdilution method. The result showed that licorice root ethanolic extract possessed antimicrobial effect . In case of bacterial strains, *Bacillu cereus* was most resistant (MIC=١mg/ml, MBC=٣mg/ml) and *Lactobacillus delbruekii* was most susceptible (MIC=٠.٧mg/ml, MBC=٠.٨mg/ml) .and Two fungal strains, *Candida krusei* and *Saccharomyces cerevisia* with MIC=٠.٨ mg/ml and MBC=٠.٨ mg/ml.