ORIGINAL ARTICLE

Correlation between Antioxidant Activity and Antibacterial Activity of Nine Medicinal Plant Extracts

Bahman Fazeli-Nasab[1, 4],
Mohammad Rahnama[2],
Ayuob Mazarei[3]

[1] Lecturer, Department of Agronomy and Plant Breeding, Center of Agricultural Research, University of Zabol, Zabol, Iran
[2] Associate Professor, Department of Nutrition and animal breeding, Faculty of Veterinary, University of Zabol, Zabol, Iran
[3] MSc Student in Medicinal Plant, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran
[4] Center of Agricultural Biotechnology, University of Zabol, Zabol, Iran

(Received November 16, 2016 Accepted April 3, 2017)

Abstract

Background and purpose: Measurement of DPPH free radical scavenging is a valid, accurate, and easy method with high repeatability in evaluating the in vitro antioxidant activity of plant extracts. A positive correlation is reported between antioxidant activity and antimicrobial activity. The aim of this study was to evaluate the correlation between antioxidant and antimicrobial activity of medicinal plant extracts.

Materials and methods: The extracts were prepared and DPPH was used to determine free radical-scavenging activity. Antimicrobial effects of hydro-ethanol extract on the bacteria was surveyed using diffusion method in a culture medium Mueller-Hinton agar by paper discs (6 mm) based on Bauer and Kirby instructions.

Results: The ability of medicinal plant extracts in scavenging free radicals was found to be higher in the extracts of *Myrtus* (89.583 µg/mL) and rosemary (80.921 µg/mL). The antioxidant activity of the extracts increased by increase in concentration of the extract. Meanwhile, in low concentrations of the extract (16 and 32 µg/mL) the highest antioxidant activity of the extract was found in Myrtus and then Rosemary, but at high concentrations (64 µg/mL) it was seen in *Teucrium polium* extract. Rosemary extract was found to be effective against *Escherichia coli* and *Myrtus* extract was the most effective on Listeria bacteria, *Salmonella typhimurium*, and *Staphylococcus aureus*.

Conclusion: The results showed that plants with high antioxidant properties have high antimicrobial activity too, such as the extract of *Myrtus* and rosemary that were the most effective extracts on bacteria.

Keywords: plant extract, antioxidant, antibacterial, DPPH

J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 27 (149):63-78 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و هفتم شماره ۱۴۹ خرداد سال ۱۳۹۶ (۷۸-۶۳)

ارزیابی ارتباط بین خواص آنتی‌اکسیدانی و خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های ۹ گیاه دارویی

بهمن فاضلی نسب[۱و۴]
محمد رهنما[۲]
ایوب مزارعی[۳]

چکیده

سابقه و هدف: اندازه‌گیری میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH از روش‌های معتبر، دقیق، آسان و مقرون‌به‌صرفه با قابلیت تکرارپذیری بالا در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی در شرایط آزمایشگاهی بوده و گزارش‌شده که فعالیت آنتی‌اکسیدانی با خاصیت ضد میکروبی همبستگی مثبتی دارد لذا هدف از مطالعه حاضر ارزیابی ارتباط بین خواص آنتی‌اکسیدانی و خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های گیاهان دارویی است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، بعد از تهیه عصاره‌ها، برای تعیین فعالیت به دام اندازی رادیکال آزاد، از دی فنیل پیکریل هیدرازیل استفاده شد و سپس اثرات ضد میکروبی عصاره‌های هیدرو الکلی بر باکتری ها با روش انتشار در محیط کشت مولر هینتون آگار با استفاده از دیسک‌های کاغذی ۶ میلی‌متری منطبق بر دستورالعمل Bauer و Kirby بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج حاصل از ارزیابی میزان توانایی به دام اندازی رادیکال‌های آزاد عصاره هیدرو الکلی گیاهان دارویی مورد استفاده نشان داد که، عصاره مورد و سپس رزماری به ترتیب با میانگین ۸۹/۵۸۳ و ۸۰/۹۲۱ میکروگرم در میلی‌لیتر بیش‌ترین نقش را در مهار رادیکال‌های آزاد داشته‌اند. با افزایش غلظت، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها بیش‌تر شده است. ضمناً در غلظت‌های پایین عصاره (۱۶ و ۳۲ میکروگرم در میلی‌لیتر) بیش‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصاره مورد و سپس رزماری بود اما در غلظت بالا (۶۴ میکروگرم در میلی‌لیتر) بیش‌ترین فعالیت متعلق به عصاره کلپوره همدانی بود. عصاره رزماری مؤثرترین عصاره بر باکتری اشریشیاکلی، عصاره مورد مؤثرترین عصاره بر باکتری لستریا مونوسیتوژنز، سالمونلا تیفی موریوم، استافیلوکوکوس اورئوس بودند.

استنتاج: نتایج نشان داد گیاهانی که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی هستند خاصیت ضد میکروبی بالایی نیز دارند به‌طوری که عصاره مورد و سپس رزماری که دارای بالاترین میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده اند، مؤثرترین عصاره‌ها بر باکتری‌های مورد آزمایش بودند.

واژه های کلیدی: عصاره، آنتی‌اکسیدان، ضد میکروبی، دی فنیل پیکریل هیدرازیل

مقدمه

افزایش بیماری‌هایی که در اثر مصرف غذاهای آلوده به باکتری‌های بیماری‌زا یا توکسین آن‌ها ایجاد می‌شوند سال‌های زیادی است که به‌عنوان یک موضوع مهم برای بهداشت عمومی در نظر گرفته

مولف مسئول: بهمن فاضلی نسب–زابل: پژوهشکده کشاورزی، دانشگاه زابل Email: Bfazeli@uoz.ac.ir
۱. عضو هیئت‌علمی پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل
۲. دانشیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه زابل
۳. دانشجوی کارشناسی ارشد گیاهان دارویی دانشگاه زابل
۴. پژوهشکده زیست‌فناوری کشاورزی دانشگاه زابل
تاریخ دریافت : ۱۳۹۵/۸/۲۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۵/۹/۱ تاریخ تصویب : ۱۳۹۶/۱/۱۴

می‌شود. باکتری‌ها بیش‌تر از دیگر عوامل بیماری‌زایی که به‌وسیله غذا منتقل می‌شوند، سبب بروز و شیوع بیماری شده‌اند. باکتری‌هایی مانند سالمونلا، لیستریا مونوسیتوژنز و اشریشیاکلی بیشترین بیماری و مرگ را سبب و علاوه بر مرگ‌ومیر بالایی که ایجاد می‌کنند، هزینه زیادی نیز برای درمان به‌جا می‌گذارند(۱). مصرف مدام و بی‌رویه ترکیبات دارویی شیمیایی باعث ایجاد پدیده مهم مقاومت نسبت به میکروارگانیسم‌ها شده و با ایجاد این پدیده اثر داروها ضعیف و یا خنثی‌شده و در نهایت باعث افزایش مقدار مصرف دارو و تمایل به استفاده از ترکیبات با فرمولاسیون جدیدتر و قوی‌تر می‌شود. ضمناً عیب دیگر استفاده از این داروها افزایش اثرات جانبی آن‌ها بوده که منجر به ایجاد بیماری‌هایی می‌شود که از بیماری اولیه خطرناک‌تر است(۲). همین موضوع یکی از دلایل استفاده رو به رشد از گیاهان به‌عنوان مواد طبیعی کم‌خطر، در دسترس و ارزان قیمت، نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سنتتیک، در درمان عفونت‌های باکتریال بوده است. هم‌چنین این داروهای گیاهی نزد مردم دارای مقبولیت بیشتری در مصرف هستند(۳). این دلایل علت افزایش موج جدید مطالعات گسترده جهانی و معرفی اثرات ضد باکتری گیاهان مختلف در سال‌های اخیر بوده است(۴).

یکی از مشکلات صنعت غذا و دارو، گسترش سویه‌های میکروبی مقاوم به داروها و آنتی‌بیوتیک‌ها بوده و امروزه به دلیل خاصیت سمی و سرطان‌زایی ترکیبات شیمیایی و سنتزی، استفاده از گیاهان دارویی جهت درمان بیماری‌های مزمن توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود معطوف نموده است و ازاین‌رو، استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی طبیعی مانند اسیدهای آلی، اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی می‌تواند جایگزین مناسب و ایمنی در مواد غذایی باشد(۵). همچنین، در بیماری‌های دهان و دندان و ورم مفاصل و استخوان که کلاژن در معرض تخریب قرار می‌گیرد، ترکیبات فنلی و مواد آنتی‌اکسیدانی این گیاهان می‌تواند از آن جلوگیری کند(۶).

ترکیبات فنلی بخش کاملی از رژیم غذایی انسان را تشکیل داده و بزرگ‌ترین نفع رایج آن فعالیت‌های ضد سرطانی و آنتی‌اکسیدانی آن‌ها است(۷) فلاونوئیدها و دیگر ترکیبات فنلی گیاه مانند اسیدهای فنلی، استیلبن، تانن‌ها، لیگنان‌ها و لیگنین‌ها معمولاً در برگ‌ها و بخش های چوبی مانند ساقه و شاخه وجود دارند. این ترکیبات نقش مهمی در رشد طبیعی گیاه و مقاومت در برابر عفونت و ضربه دارند(۸). تفاوت در مقادیر کمی ترکیب‌های فیتو شیمیایی ازجمله ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدها در بین توده‌های مناطق مختلف می‌تواند ناشی از تنوع ژنتیکی یا شرایط اکولوژیکی حاکم بر رویشگاه‌ها باشد(۹) هم‌چنین در یک مطالعه(۱۰) اختلاف معنی‌داری بین مقادیر فنل کل، محتوای فلاونوئیدها و قابلیت آنتی‌اکسیدانی گونه *W. somnifera* حاصل از رویشگاه‌های مختلف گزارش شده است.

فلاونوئیدها ازجمله ترکیب های فنلی هستند که به‌طور مستقیم باعث مهار مولکول‌های فعال سوپر اکسید، پر اکسید هیدروژن، رادیکال‌های هیدروکسیل و پراکسیل می‌گردد. گزارش شده است که گیاهان حاوی ترکیب‌های فلاونوئیدی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی از خود نشان می‌دهند(۱۰) این فعالیت آنتی‌اکسیدانی عمدتاً مربوط به توانایی این ترکیب‌ها به دادن الکترون یا اتم‌های هیدروژن بوده و به همین دلیل از نظر دارویی حائز اهمیت می‌باشند(۱۱). نکته قابل‌توجه این که بخش‌های بذر و پوست برخی میوه‌ها از فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیش‌تری حتی نسبت به گوشت برخوردارند. به‌عنوان نمونه بذرهای انگور و پوست انار فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به گوشت داشته و غنی از پروآنتوسیانیدین است که مهارکننده قوی رادیکال‌های فعال اکسیژن هستند(۱۲).

رادیکال‌های فعال اکسیژن می‌توانند بهترین ترکیبات سلول مانند اسیدهای چرب، پروتئین‌ها،

اسیدهای نوکلئیک و رنگ‌دانه‌ها را مورد حمله قرار دهند(۱۳) برای خنثی کردن اثر سمی رادیکال‌های فعال اکسیژن، به ترکیبات آنتی‌اکسیدانت نیاز است. سلول‌های گیاهی از دو سیستم آنتی‌اکسیدان آنزیمی (سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، متابولیت‌های آنتی‌اکسیدانی فنل، کارتنوئیدها) و غیر آنزیمی برای حل این معضل استفاده می‌کنند(۱۴). فرآیند اکسیداسیون و تولید رادیکال‌های آزاد و ذرات فعال اکسیژن ROS (Reactive Oxygen Species) بخش لازمی از حیات بوده که در واکنش‌های بیولوژیک مهمی شرکت دارند. رادیکال‌های آزاد و ROS تنها زمانی مفید هستند که در زمان و مکان درستی تولید شوند، در غیر این صورت می‌توانند مضر باشند. استرس اکسیداتیو ناشی از تولید بیش از اندازه رادیکال‌های آزاد و ذرات فعال اکسیژن و ضعیف شدن سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی به علت برداشت کم آن‌ها یا تولید کم آنتی‌اکسیدان‌های اندوژن و یا افزایش استفاده از آن‌ها است. بسیاری از بیماری‌های مزمن در ارتباط با استرس اکسیداتیو می باشد. به‌منظور جلوگیری از آسیب ROS، در بدن موجودات زنده، سیستم‌های آنتی‌اکسیدان قوی و پیچیده‌ای وجود دارد(۸).

مطالعات نشان داده منبع دریافت فنل‌ها و فلاونوئیدها در نقاط مختلف جهان به نوع رژیم غذایی مردم منطقه وابسته است. برای مثال در کشورهایی همچون ژاپن و چین مصرف چای سبز تأمین کننده این ترکیبات مورد نیاز بدن هست درحالی‌که این مواد در کشورهای غربی با مصرف سیب و پیاز و در کشورهای شرقی با مصرف سبزی‌ها و مواد غذایی تخمیری تأمین می‌شوند(۱۵). در کشور ایران به‌طور جامع نوع خاص استفاده از انواع مواد حاوی آنتی‌اکسیدان وجود ندارد اما با تبلیغات مختلف کارهایی ازجمله مصرف سبزی‌ها به صورت خام و پخته، برگ گیاهان و درختان مختلف (به‌صورت دم‌نوش، عرقیات، اسانس، عصاره، مربا، شربت، ترشی، مواد شوینده (از جمله سدر) و حتی مصرف به‌صورت دلمه و غیره) صورت گرفته است که پیرو مطالعات مختلف باید از اندام‌های مختلف گیاهان که دارای نوع خاصی از مواد آنتی‌اکسیدانی می‌باشند، استفاده خاصی بشود. اسانس‌های گیاهی پس از غربالگری در زمینه‌های فارماکولوژیکی، داروشناسی گیاهی، میکروبیولوژی پزشکی و کلینیکی، فیتوپاتولوژی و نگهداری مواد غذایی، میوه‌ها و سبزی‌ها مورداستفاده قرارگرفته‌اند(۱۶). از این مواد علاوه بر جلوگیری از رشد باکتری‌ها و کپک‌های آلوده‌کننده مواد غذایی، به‌منظور افزایش عمر نگهداری غذاهای فرآوری شده در سیستم غذایی و نیز افزایش عمر نگهداری میوه‌ها و سبزی‌ها استفاده شده است(۱۷).

استافیلوکوکوس گستره وسیعی از عفونت‌های ساده پوستی تا بیماری‌های تهدیدکننده زندگی (مانند پنومونی، منتژیت، استئومیلیت، اندوکاردیت، سندرم شوک سمی و سپتی سمی) را ایجاد می‌کند و به‌عنوان یکی از پنج‌عامل شایع ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی به‌ویژه عفونت‌های زخم پس از جراحی است(۱۸). آلودگی سالمونلایی در انسان به‌صورت مسمومیت غذایی، گاستروآنتریت، تب تیفوئید و گاهی اوقات سپتی سمی بروز می‌کند(۱۹). انتروتوکسین‌های تولید شده توسط برخی از باکتری‌ها مانند اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس و سالمونلا و گونه های کلاستریدیوم و یرسینیا سبب مسمومیت دستگاه گوارش و بروز علائم گوارشی ناشی از آن می‌باشند(۲۰). تاکنون خواص ضد میکروبی برخی گیاهان بر روی باکتری‌های مختلفی ارزیابی شده است. مثلاً خواص بازدارندگی و ضدمیکروبی اسانس و عصاره آویشن روی اشریشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس(۲۱، ۲۲)، عصاره آبی مورد بر سویه‌های پسودوموناس آئروژینوزا(۲۳)، عصاره قسمت‌های مختلف زعفران از جمله برگ‌ها، مادگی و کرولا را علیه باکتری‌های‌ای کولای، استافیلوکوکوس اپیدرمیس، استافیلوکوکوس اورئوس، میکروکوکوس و

قارچ‌ها(۲۴، ۲۵)، عصاره رزماری بر لوکونوستوک مزانتروئیدس، لیستریا منوسایتوژنس، استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس موتانس و باسیلوس(۲۶) و عصاره بومادران بر کاندیدا آلبیکنس و باسیلوس سوبتیلیس(۲۷) بررسی شده است. با افزایش سن و در افرادی که دچار بیماری‌های مشخصی هستند آنتی‌اکسیدان‌های درونی بدن نیازمند کمک‌های خارجی هستند که از طریق آنتی‌اکسیدان‌های موجود در مواد غذایی به‌منظور حفظ سلامت غشاهای سلولی تأمین می‌گردد و ازآن‌جاکه گیاهان موردبررسی در این مطالعه استفاده دارویی گسترده‌ای دارند لذا بهره‌مندی از خصوصیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در کنار سایر خواص آن‌ها زمینه مطالعه حاضر قرار گرفت و بر این اساس هدف از این مطالعه نیز ارزیابی ارتباط بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های هیدرو الکلی گیاهان دارویی، مورد، زعفران، بومادران، آویشن شیرازی، انشک، آوندول، کلپوره همدانی و رزماری بر باکتری‌های اشریشیاکلی، لستریا مونوسیتوژنز، سالمونلا تیفی موریوم و استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد.

مواد و روش ها

روش تهیه عصاره هیدرو الکلی

مقدار ۱۰ گرم بافت ۹ گیاه دارویی مختلف (جدول شماره ۱) در سایه و در مجاورت هوای خشک، آسیاب و سپس در ۱۰۰ سی‌سی محلول (الکل ۷۰ و آب مقطر ۳۰) خیسانده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق و بر روی شیکر نگهداری گردید. پس از طی شدن زمان مورد نظر، عصاره‌ها صاف، سپس حلال در دمای کم‌تر از سانتی‌گراد ۴۰ توسط دستگاه روتاری تبخیر و باقیمانده بعد از خشک شدن برای انجام آزمایش‌ها در یخچال با درجه حرارت° سانتیگراد ۴ نگهداری شد(۲۸) ضمنا جهت اندازه‌گیری مقدار فنل تام و فلاونوئید، ۱۰۰ میلی‌گرم پودر عصاره در ۱ سی‌سی متانل حل شد(۲۹).

فنل تام

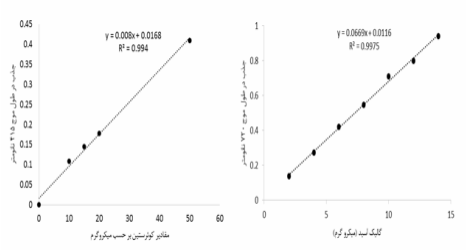
برای اندازه‌گیری محتوای فنل تام به ۱۰۰ میکرو لیتر از عصاره گیاه، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم (۲ درصد)، ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرو لیتر معرف فولین‌سیوکالتیو (۵۰ درصد) (Folin–Ciocalteu) اضافه شد. بعد از گذشت نیم ساعت جذب آن‌ها در طول‌موج ۷۲۰ نانومتر نسبت به بلانک ثبت گردید. اسید گالیک به‌عنوان استاندارد برای رسم منحنی استاندارد بکار رفت (تصویر شماره ۱). محتوای فنل تام عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک گیاه ($mgQUEg^{-1}$) گزارش شد(۳۰).

فلاونوئید

برای سنجش میزان فلاونوئید کل به ۵۰۰ میکرو لیتر از هر عصاره ۱/۵ میلی‌لیتر متانول (۸۰ درصد)، ۱۰۰ میکرو لیتر محلول آلومینیوم کلراید (۱۰ درصد)، ۱۰۰ میکرو لیتر محلول استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط بعد از گذشت ۴۰ دقیقه در طول موج ۴۱۵ نانومتر نسبت به بلانک اندازه‌گیری گردید. بلانک حاوی تمام ترکیبات ذکر شده در بالا بود اما به جای عصاره، همان حجم متانول ۸۰ درصد به آن اضافه شده بود. برای رسم منحنی استاندارد از کوئرستین استفاده شد (تصویر شماره ۱). میزان فلاونوئید کل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه ($mgQUEg^{-1}$) گزارش شد(۲۹).

جدول شماره ۱: مشخصات گیاهان دارویی مورد استفاده

گیاه‌دارویی	اسم علمی	بافت‌مورد استفاده	ماده‌مؤثره	محل جمع آوری
رزماری	*Rosmarinus officinalis*	برگ	رزمارینیک	دامنه کبیر کوه -ایلام
بومادران	*Achillea millefolium*	برگ	ماتریکارین	شیراز -فارس
انشک	*Nectaroscordum tripedale*	برگ	-	دامنه کبیر کوه -ایلام
کلپوره همدانی	*Teucrium polium*	برگ	کاریوفیلن اکساید	شیراز -فارس
آوندول	*Smyrnium cordifolium Boiss*	برگ	جرماکرن-دی	شیراز -فارس
آویشن شیرازی	*Zataria Multiflora*	برگ	تیمول	شیراز -فارس
زعفران	*Crocus sativus*	گلبرگ	کروستین	قائن -خراسان جنوبی
مورد	*Myrtus communis*	برگ	میرتول	دامنه کبیر کوه -ایلام
پونه کوهی	*Mentha longifolia*	برگ	تیمول	دامنه کبیر کوه -ایلام



تصویر شماره ۱: منحنی استاندارد؛ گالیک اسید جهت اندازه‌گیری مقادیر فنل (راست)، کوئرستین جهت اندازه‌گیری مقادیر فلاونوئید (چپ)

ارزیابی میزان توانایی به دام اندازی رادیکال یا سنجش خواص آنتی‌اکسیدانی

رادیکال پایدار دی فنیل پیکریل هیدرازیل برای تعیین فعالیت به دام‌اندازی رادیکال آزاد به کار رفت. ابتدا از عصاره ۴۰ میلی گرم وزن نموده در ۲۵ سی‌سی متانول حل کرده و سپس از این محلول سه غلظت ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکرو لیتر برداشته و با DPPH (با غلظت ۰/۱ میلی‌مول) به حجم ۴ سی‌سی رسانده و سپس در دمای اتاق به مدت ۱ ساعت قرار داده و در نهایت جذب نوری با طول‌موج ۵۱۷ نانومتر اندازه گیری شد. جهت کنترل مثبت (شاهد) می توان از اسکوربیک اسید استفاده کرد(۲۸).

$$F = \frac{A_b - A_s}{A_b} * 100$$

F = مقدار به دام اندازی رادیکال DPPH؛ A_b = جذب بلانک؛ A_s = جذب نمونه یا استاندارد

بررسی اثرات ضد میکروبی

در این بخش، اثرات ضدمیکروبی ۵ نوع از عصاره‌ها ی (بومادران، رزماری، آویشن شیرازی، زعفران برداشت آخر فصل و مورد) که دارای بیش‌ترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی و برخی نیز متوسط بودند بر باکتری اشریشیاکلی(ATCC25922)، لیستریا مونوسیتوژنز(کد ATCC 19118)، سالمونلا تیفی موریوم (PTTC 1609) و استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC25923) تهیه‌شده از شرکت پاتن طب با روش انتشار در محیط کشت مولر هینتون آگار (ساخت شرکت مرک آلمان) با استفاده از دیسک‌های کاغذی ۶ میلی‌متری بررسی(۳۱) و تعیین حساسیت میکروبی نیز به روش Bauer و همکاران(۳۲) انجام شد.

دیسک‌ها به مدت ۲ ساعت در زیر اشعه ماورای بنفش قرار گرفتند تا استریل شوند. پس از تهیه سوسپانسیون میکروبی در مدت ۵ دقیقه پلیت ها توسط سوآپ استریل آغشته به سوسپانسیون میکروبی تلقیح شدند و دیسک گذاری توسط پنس استریل و در کنار شعله انجام و فاصله دیسک‌ها با دیواره پلیت حداقل ۵ میلی‌متر و از یکدیگر حداقل ۲۵ میلی‌متر تعیین شد و بعد از تماس کامل با محیط کشت با سمپلر استریل مقدار ۱۰ میکرولیتر از عصاره‌های گیاهی روی دیسک‌ها ریخته شد. بعد از انجام مراحل فوق پلیت‌ها به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انوکوباتور نگهداری شدند. پس از سپری شدن زمان لازم، قطر هاله‌های عدم رشد با کولیس اندازه‌گیری شد. به‌منظور بروز هر گونه خطا در نتایج به‌دست‌آمده این آزمایش سه بار تکرار انجام شد(۳۱، ۳۳).

تجزیه آماری داده‌ها

بعد از جمع‌آوری داده‌ها، تجزیه واریانس توسط نرم‌افزارهای SAS 9.1 و student statistic 9 و هم‌چنین مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد انجام شد.

یافته ها

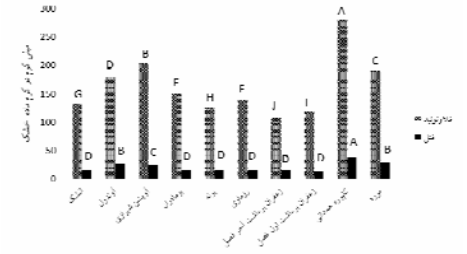
فنل تام و فلاونوئید

نتایج حاصل از تجزیه داده‌ها نشان داد که میزان فنل ژنوتیپ‌های مختلف که در محدوده ۱۴/۰۴۷ تا ۳۹/۰۴۹ و میانگین ۲۱/۳۷ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک بوده و فلاونوئید در محدوده ۱۰۷/۷۸ تا ۲۷۹/۵۲ و میانگین ۱۶۲/۹۷ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک بوده در سطح یک درصد معنی‌دار ($p<0/01$)

(جدول شماره ۲) و مقایسه میانگین نیز نشان داد که بیش‌ترین میزان فنل (۳۹/۰۴۹ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک) در کلپوره همدانی و کمترین میزان (با میانگین ۱۵/۵۲ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک) در بومادران، پونه رزماری و زعفران به دست آمد. بیش‌ترین میزان فلاونوئید (۲۷۹/۵۲ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک) در کلپوره همدانی و کمترین میزان (۱۰۷/۷۸ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک) در زعفران برداشت آخر فصل به دست آمد (تصویر شماره ۲).

جدول شماره ۲: تجزیه واریانس ژنوتیپ‌های مختلف بر اساس میزان فنل تام و فلاونوئید

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		فنل	فلاونوئید
ژنوتیپ	۹	۲۱۱/۱۱۵**	۸۱۹۷/۳۲**



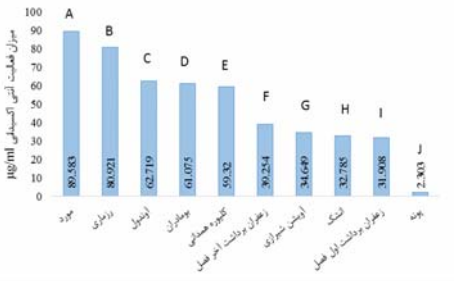
تصویر شماره ۲: ارزیابی ژنوتیپ‌های مختلف بر اساس میزان فنل تام و فلاونوئید (میلی‌گرم در گرم وزن خشک عصاره)
(حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین ژنوتیپ‌های مختلف است)

ارزیابی میزان توانایی به دام اندازی رادیکال‌های آزاد

نتایج حاصل از ارزیابی میزان توانایی به دام اندازی رادیکال‌های آزاد عصاره هیدرو الکلی گیاهان دارویی مورد، زعفران، بومادران، آویشن شیرازی، رزماری، کلپوره همدانی، آوندول، انشک، غلظت‌های مختلف عصاره‌های مورد استفاده و هم‌چنین اثر متقابل عصاره گیاهی و غلظت‌های عصاره معنی‌دار بود ($p<۰/۰۱$) (جدول شماره ۳). آزمون تعقیبی LSD نشان داد که عصاره مورد و سپس رزماری به ترتیب با میانگین ۸۹/۵۸۳ و ۸۰/۹۲۱ میکروگرم در میلی‌لیتر بیش‌ترین نقش را در مهار رادیکال‌های آزاد و عصاره پونه کوهی با میانگین ۲/۳۰۳ کم‌ترین اثر را داشته‌اند (تصویر شماره ۳). در بین غلظت‌های مختلف عصاره، مؤثرترین غلظت، غلظت ۴۰ میکروگرم در میکرولیتر و کم اثرترین غلظت ۱۶ میکروگرم در میکرو لیتر بود و با افزایش غلظت عصاره فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها نیز بیش‌تر شده است. در اثر متقابل عصاره گیاهی و میزان عصاره در به دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد نیز مشخص شد که در غلظت‌های پایین عصاره (۱۶ و ۳۲ میکروگرم در میلی‌لیتر) بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی متعلق به عصاره مورد و سپس رزماری بود اما در غلظت بالا (۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) بیش‌ترین فعالیت متعلق به عصاره کلپوره همدانی و سپس مورد و رزماری بود (جدول شماره ۴).

جدول شماره ۳: تجزیه واریانس عصاره گیاهی و میزان عصاره در میزان توانایی به دام اندازی رادیکال‌های آزاد

منابع تغییر	df	SS	MS	F
عصاره گیاهی	۹	۵۵۲۶۹/۷	۶۱۴۱/۰۷	۷۵۸۱/۵۷**
میزان عصاره	۲	۱۷۰۲۳/۸	۸۵۱۱/۹۱	۱۰۵۰۸/۵۴**
عصاره گیاهی * میزان عصاره	۱۸	۱۸۶۲۶/۷	۱۰۳۴/۸۲	۱۲۷۷/۵۵**
خطا	۶۰	۴۸/۶	۰/۸۱	
کل	۸۹	۹۰۹۶۸/۸		



تصویر شماره ۳: ارزیابی عصاره گیاهان مختلف در میزان توانایی به دام اندازی رادیکال‌های آزاد

تأثیر عصاره بر باکتری‌های انسانی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس قطر هاله عدم رشد عصاره هیدرو الکلی گیاهان مورد، زعفران، بومادران، آویشن شیرازی و رزماری، غلظت‌های مختلف عصاره مورد استفاده و همچنین اثر متقابل عصاره و غلظت‌های

مختلف بر باکتری اشریشیاکلی، لستریا مونوسیتوژنز، سالمونلا تیفی موریوم و استافیلوکوکوس اورئوس متفاوت و معنی‌دار بود ($p<۰/۰۱$) (جدول شماره ۵).

جدول شماره ٤: ارزیابی اثر متقابل فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره و غلظت‌های مختلف عصاره گیاهی

عصاره گیاهی	غلظت‌های مورداستفاده از هر عصاره (میکروگرم در میلی‌لیتر) در آزمون DPPH		
	۱۶	۳۲	۶۴
مورد	۸۸/۸۱۶ bc	۸۹/۸۰۳ b	۹۰/۱۳۲ b
رزماری	۷۰/۷۲۴ g	۸۴/۵۳۹ cd	۸۷/۵ e
بومادران	۱۱/۱۸۴ r	۸۵/۱۹۷ d	۸۶/۸۴۲ e
آوندول	۳۴/۲۱۱ l	۶۷/۱۰۵ h	۸۶/۸۴۲ d
انشک	۲۱/۳۸۲ q	۳۴/۲۱۱ l	۴۲/۷۶۳ i
آویشن شیرازی	۲۵/۶۵۵ o	۳۷/۵ k	۴۰/۷۸۹ j
زعفران برداشت اول	۲۷/۳۰۳ n	۳۰/۹۲۱ m	۳۷/۵ k
زعفران برداشت آخر فصل	۲۳/۳۵۵ o	۲۵ p	۶۹/۴۰۸ g
پونه کوهی	۱/۳۱۶ u	۲/۹۶۱ t	۲/۶۳۲ tu
کلپوره همدانی	۴/۶۰۵ s	۷۴/۳۴۲ f	۹۹/۰۱۳ a

جدول شماره ٥: ارزیابی عصاره گیاهان مورد استفاده بر عدم رشد باکتری‌های انسانی

منابع تغیر	میانگین مربعات			
	اشریشیاکلی	لستریا مونوسیتوژنز	سالمونلا تیفی موریوم	استافیلوکوکوس اورئوس
عصاره گیاهی	۰/۱۲۵**	۱/۹۲۵**	۱/۰۷۵**	۱/۳۲۵**
میزان عصاره	۰/۱۵**	۱۸/۳۵**	۶/۶۵**	۱۷/۱۵**
عصاره گیاهی * میزان عصاره	۰/۰۸۷۵**	۱/۴۷۵**	۰/۴**	۰/۶۵**

** معنی‌دار در سطح ۱ درصد

در باکتری اشریشیاکلی عصاره رزماری با میانگین ۱/۶۶ سانتی‌متر قطر هاله عدم رشد باکتری، مؤثرترین و عصاره مورد با میانگین ۱/۳۳ سانتی‌متر قطر هاله عدم رشد، کم اثرترین و در بین غلظت‌های مورد استفاده غلظت ۱۲۰ میلی‌گرم در سی‌سی هیدرو الکلی عصاره رزماری با میانگین ۲ سانتی‌متر قطر هاله عدم رشد مؤثرترین و غلظت ۷۰ میلی‌گرم در سی‌سی هیدرو الکلی با میانگین ۱ سانتیمتر قطر هاله عدم رشد، کم اثرترین عصاره بر باکتری اشریشیاکلی بودند (جدول شماره ۶). در باکتری لستریا مونوسیتوژنز عصاره مورد با میانگین ۲/۵ سانتی‌متر قطر هاله عدم رشد باکتری، مؤثرترین و عصاره رزماری با میانگین ۱/۳۳ سانتی‌متر قطر هاله عدم رشد کم اثرترین بودند. در بین غلظت‌های مورد استفاده غلظت ۱۲۰ میلی‌گرم در سی‌سی متانول عصاره بومادران و زعفران با میانگین ۳/۵ سانتی‌متر قطر هاله عدم رشد مؤثرترین و غلظت ۶۰ میلی‌گرم در سی‌سی متانول عصاره‌های رزماری، بومادران و زعفران کم اثرترین بودند (جدول شماره ۶).

جدول شماره ٦: مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره‌های مختلف بر باکتری انسانی مورداستفاده

عصاره	غلظت عصاره مورداستفاده	اشریشیاکلی	لستریا مونوسیتوژنز	سالمونلاتیفی موریوم	استافیلوکوکوس اورئوس
رزماری	۶۰	۱/۵b	۰e	۰d	۰e
	۹۰	۱/۵b	۲d	۱/۵b	۱/۵d
	۱۲۰	۲a	۲d	۲a	۳a
بومادران	۶۰	۱/۵b	۰e	۰d	۰e
	۹۰	۱/۵b	۲d	۱/۵b	۲c
	۱۲۰	۱/۵b	۳۵a	۱/۵b	۲/۵b
آویشن شیرازی	۶۰	۱/۵b	۲d	۱c	۱/۵d
	۹۰	۱/۵b	۲d	۱/۵b	۲c
	۱۲۰	۱/۵b	۳b	۲a	۲/۵b
مورد	۶۰	۱c	۲d	۱/۵b	۱/۵d
	۹۰	۱/۵b	۲۵c	۱/۵b	۲/۵b
	۱۲۰	۱/۵b	۳b	۲a	۳a
زعفران	۶۰	۱/۵b	۰e	۰d	۰e
	۹۰	۱/۵b	۲d	۱c	۲c
	۱۲۰	۱/۵b	۳۵a	۱/۵b	۲/۵b

در باکتری سالمونلا تیفی موریوم عصاره مورد با میانگین ۱/۶۷ سانتی‌متر قطر هاله عدم رشد باکتری مؤثرین و عصاره زعفران با میانگین ۰/۸۳ سانتی‌متر قطر هاله عدم رشد کم اثرترین و در بین غلظت‌های مورد استفاده عصاره، غلظت ۱۲۰ میلی‌گرم در سی‌سی هیدرو الکلی عصاره مورد، رزماری و زعفران با میانگین ۲ سانتی‌متر قطر هاله عدم رشد مؤثرترین و غلظت ۶۰ میلی‌گرم در سی‌سی هیدرو الکلی عصاره بومادران و رزماری و زعفران فاقد هرگونه هاله عدم رشد بودند (جدول شماره ۶).

در باکتری استافیلوکوکوس اورئوس عصاره مورد با میانگین ۲/۳۳ سانتی‌متر قطر هاله عدم رشد باکتری مؤثرین و عصاره‌های زعفران، بومادران و رزماری با میانگین ۱/۵ سانتی‌متر قطر هاله عدم رشد کم اثرترین و در بین غلظت‌های مورد استفاده، غلظت ۱۲۰ میلی‌گرم در سی‌سی هیدرو الکلی عصاره مورد و رزماری با

میانگین ۳ سانتی‌متر قطر هاله عدم رشد مؤثرترین و غلظت ۶۰ میلی‌گرم در سی‌سی هیدرو الکلی عصاره‌های رزماری زعفران و بومادران فاقد هرگونه هاله عدم رشد بودند (جدول شماره ۶).

بحث

نتایج حاصل از تجزیه داده‌ها نشان داد که میزان فنل ژنوتیپ‌های مختلف که در محدوده ۱۴/۰۴۷ تا ۳۹/۰۴۹ و میانگین ۲۱/۳۷ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک بوده و فلاونوئید در محدوده ۱۰۷/۷۸ تا ۲۷۹/۵۲ و میانگین ۱۶۲/۹۷ میلی‌گرم در گرم عصاره خشک معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) و هم‌چنین نتایج حاصل از ارزیابی میزان توانایی به دام اندازی رادیکال‌های آزاد عصاره هیدرو الکلی گیاهان دارویی مورد، زعفران، بومادران، آویشن شیرازی، رزماری، کلپوره همدانی، آوندول، انشک، غلظت‌های مختلف عصاره‌های مورد استفاده و هم چنین اثر متقابل عصاره گیاهی و غلظت‌های عصاره معنی‌دار بود ($p<۰/۰۱$).

قاسمی و همکاران(۳۴) میزان فلاونوئید پوست رقم ساتسوما را ۰/۳ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره؛ جانگ و همکاران(۳۵) میزان فنل تام را در پوملو ۰/۲۱۴ میلی‌گرم در گرم عصاره، گرنستین و همکاران(۳۶) محتوای فنلی ارقام لمون، پرتقال و گریپ‌فروت را به ترتیب ۱/۹، ۱/۸ و ۱/۶ میلی‌گرم در گرم عصاره؛ فتاحی مقدم و همکاران(۳۷) نیز در مطالعه‌ای با ارزیابی برخی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی پوست میوه شش رقم مرکبات، میزان فنل تام ارقام (تامسون (۰/۳)، سیاورز (۰/۴۹)، مورو (۰/۳۷)، سانگینلا (۰/۱۹)، تاراکو (۰/۱۳) و پیچ (۰/۴۳) میلی‌گرم در گرم عصاره به دست آمد و در گزارشی (۳۸) نیز بیشترین میزان فلاونوئید (۰/۲۴ میلی‌گرم در گرم عصاره) در پایه یوزو و کم‌ترین میزان (۰/۱۱۵) در پایه شل محله به دست آمد و همچنین در تمام ارقام مورد مطالعه میزان ترکیبات فنلی پوست را بیش‌تر از گوشت میوه گزارش دادند. ضمناً در مطالعه حاضر میزان فنل از ۰/۱۶ تا ۰/۴۹ و فلاونوئید از ۰/۰۵ تا ۰/۴ میلی‌گرم در گرم بود که می‌توان نتیجه گرفت محتوای فنولی و فلاونوئیدی تمام گیاهان دارویی استفاده شده در این مطالعه بیش‌تر از نتایج ارایه شده در مورد سایر گیاهان است همچنین طبق استفاده‌های متفاوت از مواد آنتی‌اکسیدانی که جهت درمان و پیشگیری از بیماری‌های سرطانی و تصلب شرایین، جهت افزایش انبارمانی چربی‌ها و روغن‌ها، جهت نگهداری چیپس‌های سیب‌زمینی و غیره بوده(۳۹). می‌توان به‌جای هدر دادن و دور ریختن برگ و گلبرگ گیاهان مورد استفاده در این مطالعه از مواد آنتی‌اکسیدانی آن‌ها علاوه بر پیشگیری و درمان، جهت استفاده‌های جانبی نیز استفاده کرد.

گزارش‌شده است که عصاره اتانولی مورد بر استافیلوکوکوس اورئوس(۴۰، ۴۱) تأثیر مثبت داشته ولی روغن مورد تأثیر بیشتری نشان داده است(۴۰). از طرفی تأثیر بیش‌تر عصاره هیدرو الکلی نسبت به عصاره اتانولی برگ و شاخه گیاه مورد بر باکتری‌های لستریا مونو سایتوژنز، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس و همچنین تأثیر بیشتر عصاره مورد بر باکتری‌های گرم مثبت بوده است(۴۲). در مطالعه‌ای دیگر(۴۳) مشخص شده که اگر چه عصاره هیدرو الکلی گیاه مورد تأثیری در فعالیت انتشار نفوذی اشریشیاکلی نشان نداده است اما حداقل غلظت کشنده برای اشریشیاکلی بالای 40 mg/ml گزارش شده است و مطالعات دیگر نیز از عدم تأثیر عصاره مورد بر اشریشیاکلی حکایت داشته‌اند(۴۰، ۴۲). در مطالعه حاضر مشخص شد که عصاره برگ مورد توانسته مؤثرترین عصاره بر باکتری‌های لستریا مونوسیتوژنز، استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا تیفی موریوم و استافیلوکوکوس اورئوس باشد اما کم اثرترین عصاره بر باکتری اشریشیاکلی بود.

در مطالعـاتی **ا**ثـر ضـد میکروبـی عـصاره آبـی گلبرگ(۴۴) و کلاله(۴۵) زعفران بر برخی از باکتری‌های بیماری‌زای غـذایی مـورد بررسـی قـرار دادنـد و متوجـه شـدند کـه عـصاره آبـی گلبـرگ زعفـران بـر بـاکتری سـالمونلا تیفـی موریـوم مـؤثر اسـت امـا بـر اسـتافیلوکوکوس اورئـوس، باسـیلوس سـوبتلیس و اشریـشیاکلی کـم اثـر بـوده امـا عـصاره کلالـه بـر اشریـشیاکلی و اسـتافیلوکوکوس اورئـوس مـؤثر بـوده است. در مطالعه حاضر نیز عصاره هیدرو الکلی گلبرگ زعفران بر اشریـشیاکلی مـؤثر بـوده امـا افـزایش غلظـت عصاره تـأثیر معنـی‌داری بـر اشریـشیاکلی نداشـته اسـت. ضمناً عصاره هیدرو الکلی زعفران تا سطح ۶۰ میلی‌گـرم در میلی‌لیتر بر باکتری‌های لستریا مونوسیتوژنز، سـالمونلا تیفی موریوم و استافیلوکوکوس اورئوس تأثیر نداشته اما بـا افـزایش غلظـت عـصاره تـأثیر آن بـر ایـن سـه سـویه بـاکتری بیـشتر شـده اسـت. حتـی مـؤثرترین عـصاره بـر باکتری لستریا مونوسیتوژنز عـصاره گلبـرگ زعفـران بـه همراه عصاره برگ بومادران (در غلظت ۱۲۰ میلـی‌گـرم در میلی‌لیتر) بوده اسـت امـا نـسبت بـه سـایر گیاهـان بـر بـاکتری سـالمونلا تیفـی موریـوم و بـاکتری استافیلوکوکوس اورئوس کم اثرتـر بـوده اسـت. اثـرات مثبت اسانس رزماری(۴۸- ۴۶) بر باکتری‌های گرم مثبـت اسـتافیلوکوکوس اورئـوس و باسـیلوس سـرئوس گزارش‌شده است.

در مطالعـه حاضـر نیـز عـصاره رزمـاری مـؤثرترین عصاره بر اشریشیاکلی اما کم اثرترین عصاره بر بـاکتری لستریا مونوسـیتوژنز و جـزو کـم اثرتـرین عـصاره‌هـا بـر باکتری اسـتافیلوکوکوس اورئـوس و بـاکتری سـالمونلا تیفی موریوم بوده و تا سطح ۶۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نیز بر هیچ‌کدام از سه سویه نامبرده هیچ اثری نداشـته اسـت. بـا افـزایش غلظـت عـصاره تـأثیر آن بـر بـاکتری لـستریا مونوسیتوژنز بیشتر شده ولی این اثر با افزایش بیش از ۹۰ میلی‌گـرم در میلـی‌لیتـر نیـز تـأثیری نداشـته اسـت، ولـی مـؤثرترین غلظـت عـصاره بـرگ رزمـاری بـر بـاکتری سـالمونلا تیفـی موریـوم و بـاکتری اسـتافیلوکوکوس اورئوس غلظت ۱۲۰ میلی‌گرم در میلـی‌لیتـر بـوده اسـت. در گزارشی(۴۹) عصاره متانلی گل و برگ بومـادران بـر اسـتافیلوکوکوس اورئـوس، باسـیلوس سـرئوس، سـودوموناس آئروژینـوزا و اشریـشیاکلی بررسـی کـه مشخص شـد بـیش‌تـرین اثـر حاصـل از عـصاره گـل بـر بـاکتری اسـتافیلوکوکوس اورئـوس و کـم‌تـرین اثـر بـر اشریشیاکلی بود هر چند سودوموناس هیچ حـساسیتی بـه عصاره از خودش نشان نداده است. در مطالعه حاضر نیـز میانگین هاله عدم رشد عصاره اتانلی بومـادران بـه روش انتشار دیسک بر باکتری اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس ۱۵ میلی‌متر بود اما رزماری مؤثرتر از بومـادران بر باکتری اشریشیاکلی بـود و بـه ترتیـب مـورد و سـپس آویشن شیرازی نسبت به بومـادران بـیش‌تـرین اثـر را بـر استافیلوکوکوس آرئوس داشتند.

گزارش‌شده است که اسانس پونـه کـوهی بـر روی بـاکتری‌هـای فـسادزا در گوشـت (لـستریا مونوسـیتوژنز، اشریـشیاکلی و یرسـینیا آنتروکولیتیکـا) مـؤثر نبـوده است(۵۰) در مطالعـه حاضـر نیـز عـصاره پونـه کـوهی از لحاظ خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارای سطح پایینی بـوده و چون طبق بررسـی‌هـای انجام‌شـده نیـز بـر بـاکتری‌هـای هدف مؤثر نبوده اسـت، لـذا در بخـش دوم ایـن تحقیـق یعنی اثر بر باکتری‌ها، مورد ارزیابی قرار نگرفت.

ترکیبـاتی کـه رنـگ رادیکـال آزاد DPPH را بـا گرفتن هیدروژن یـا الکتـرون از رنـگ ارغـوانی بـه زرد تبدیل کنند، ترکیباتی باقابلیت آنتی‌اکسیدانی‌اند. بر ایـن اساس مدل به دام اندازی رادیکـال پایـدار DPPH بـرای ارزیـابی توانـایی بـه دام انـدازی رادیکـال آزاد در نمونه‌های گوناگون استفاده مـی‌شـود(۵۱). انـدازه‌گیـری میـزان مهـار رادیکـال‌هـای آزاد DPPH از روش‌هـای معتبر، دقیق، آسان و مقرون‌به‌صرفه باقابلیت تکرارپذیری بالاست که در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیـاهی در شـرایط آزمایـشگاهی بـه کـار مـی‌رود(۵۲). گزارش‌شده که فعالیت آنتی‌اکسیدانی بـا خاصـیت ضـد

میکروبی همبستگی مثبتی دارد(۵۳، ۵۴) و اصولاً خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با افزایش غلظت ترکیبات فنل کل زیاد شده(۵۵) و این توانایی بستگی به تعداد حلقه‌های آروماتیکی و ماهیت گروه‌های جابه‌جاشونده هیدروکسیل دارد به‌طوری‌که در غلظت‌های بیش‌تر، ترکیبات فنولی به سبب افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال انتقال هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد(۵۵، ۵۶). در مطالعه‌ای که بر دو گونهٔ بلوط کوئرکوس کریس و کوئرکوس روبور از نظر میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در غلظت‌های گوناگون انجام‌شده است مشخص گردید که با افزایش غلظت عصاره متانلی از ۱۲/۵-۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر درصد مهار رادیکال‌های آزاد به‌طور چشمگیری افزایش‌یافته است(۵۷) از طرفی عصاره اتانلی Limonium delicatulum بیش‌ترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۱۷۷ mg gallic acid/g dry weight) را داشته و متعاقب آن بیش‌ترین فعالیت میکروسکوپی (۱۶ mm بازدارندگی میکروبی) نیز داشته است(۵۸).

بر اساس نتایج حاصل از تست مهار رادیکال آزاد (DPPH) گزارش‌شده که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره رزماری بیشتر از عصاره چویر(۵۹)، عصاره هیدرو الکلی درمنه بیشتر از عصاره بابونه و بومادران(۶۰)، عصاره هیدرو الکلی آویشن شیرازی بیش‌تر از زیره سیاه(۶۱) می‌باشد. در مطالعه حاضر عصاره هیدرو الکلی برگ مورد و سپس رزماری بیش‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و متعاقب بیشترین خاصیت ضدمیکروبی نسبت به سایر گیاهان را از خود نشان داده‌اند که با نتایج ارائه‌شده مطابقت داشت. ضمناً نتایج آزمون DPPH نشان داد که توانایی عصاره‌های گونه‌های مورد، رزماری، کلپوره همدانی و سایر گونه‌ها در مهار رادیکال‌های آزاد به غلظت عصاره‌ها بستگی دارد و با افزایش غلظت، فعالیت ضد رادیکالی آن‌ها افزایش می‌یابد. به‌طوری‌که در غلظت ۶۴ میلی‌گرم عصاره کلپوره همدانی مؤثرترین بوده است؛ اما در ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره هایی که در غلظت‌های پایین مؤثرتر باشند دارای اهمیت هستند که در این بین عصاره مورد مؤثرترین عصاره هم از لحاظ خاصیت آنتی‌اکسیدانی و هم از لحاظ فعالیت ضد میکروبی بوده است.

در کل با توجه به این‌که فنل‌ها و ترکیبات پلی فنلی مانند فلاونوئیدها به‌طور گسترده در محصولات غذایی و دارویی یافت می‌شوند و فعالیت آنتی‌اکسیدانی چشمگیری دارند(۶۲) و از طرفی از آن‌جا که افزایش سطح فلاونوئیدها در رژیم غذایی منجر به کاهش برخی بیماری‌ها در انسان می‌شود(۵۵) و با در نظر گرفتن اثرات منفی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و نیز با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان عصاره مورد و سپس رزماری را به‌عنوان جانشینی برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی پیشنهاد نمود.

نتایج این مطالعه نشان داد گیاهانی که دارای میزان بالای فنل و فلاونوئید بودند به نسبت خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی و خاصیت ضد میکروبی بالایی نیز داشتند ولی با توجه به این‌که خاصیت آنتی اکسیدانی مربوط به جزء خاصی از ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی بوده است، لذا لزوما گیاهانی که دارای میزان بالایی از مواد فنلی و فلاونوئیدی باشند خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی ندارنداما گیاهانی که خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی داشته باشند به طور میانگین خاصیت ضدمیکروبی بالایی نیز دارند(۵۳، ۵۴). با آن‌که کلپوره همدانی دارای بالاترین میزان فنل تام و فلاونوئید بوده است در مطالعه حاضر نیز مشخص شد که در غلظت‌های بالاتر نیز دارای بیش‌ترین خاصیت آنتی اکسیدانی بوده اما در غلظت‌های پایین‌تر خاصیت آنتی‌اکسیدانی کم‌تری داشته است. از طرفی چون هدف از مطالعه حاضر شناسایی گیاهانی است که در غلظت‌های پایین بیش‌ترین خاصیت آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی را داشته باشند لذا در کل مشخص شد که عصاره مورد و

سپس رزماری که دارای میزان بالایی از خاصیت آنتی‌اکسیدانی بودند، مؤثرترین عصاره‌ها بر باکتری‌های مورد آزمایش بودند و مشخص شد مؤثرترین عصاره بر باکتری‌های لستریا مونوسیتوژنز، سالمونلا تیفی موریوم و استافیلوکوکوس اورئوس عصاره مورد و بر باکتری اشریشیاکلی عصاره رزماری است.

در نهایت می‌توان پیشنهاد کرد که در مطالعات بعدی، در صورتی که هدف ارزیابی گیاهان دارویی بر اساس خاصیت ضد میکروبی آن‌ها باشد، در ابتدا خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها را مورد ارزیابی قرار دهند و گیاهانی که خاصیت بالایی دارند مورداستفاده قرار گیرند و جهت مدیریت زمان و هم‌چنین جلوگیری از هدر رفت مواد از عصاره‌هایی که خاصیت آنتی‌اکسیدانی کمی دارند استفاده نشود.

سپاسگزاری

این مقاله مرتبط با طرح پژوهشی شماره ۹۶۰۱۰۰۱۳ بوده که هزینه آن توسط پژوهشگاه دانشگاه زابل تامین شده است. لذا از مرکز نامبرده سپاسگزاری می شود.

References

1. Todd EC. Preliminary estimates of costs of foodborne disease in Canada and costs to reduce salmonellosis. J Food Prot 1989; 52(8): 586-594.
2. Pinto RJ, Marques PA, Neto CP, Trindade T, Daina S, Sadocco P. Antibacterial activity of nanocomposites of silver and bacterial or vegetable cellulosic fibers. Acta Biomater. 2009; 5(6): 2279-2289.
3. Mosaddegh M, Naghibi F. Iranian traditional medicine, past and present in traditional medicine and materia medica. Tehran: TMRC Pub 2002: 2-20.
4. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils–a review. Food Chem Toxicol. 2008; 46(2): 446-475.
5. 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.
6. Kwok C-Y, Wong CN-Y, Yau MY-C, Yu PH-F, Au ALS, Poon CC-W, etal. Consumption of dried fruit of Crataegus pinnatifida (hawthorn) suppresses high-cholesterol diet- induced hypercholesterolemia in rats. J Funct Foods 2010; 2(3): 179-186.
7. Dai J, Mumper RJ. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules 2010; 15(10): 7313-7352.
8. Mozdastan S, Ebrahimzadeh MA, Khalili M. Comparing the Impact of Different Extraction Methods on Antioxidant Activities of Myrtle (*Myrtus communis* L.) Mazandaran Univ Med Sci. 2015; 25(127): 10-24.
9. Valizadeh J, Bagheri A, Valizadeh J, Mirjalili MH. Phytochemical Investigation of Withania Coagulans (Stocks) Dunal In Natural Habits Of Sistan and Balochestan ProvinceOf Iran. Iranian Journal Of Medical and Aromatics Plants 2015; 31(3): 406-417.
10. Sharma R, Samant S, Sharma P, Devi S. Evaluation of antioxidant activities of *Withania somnifera* leaves growing in natural habitats of North-west Himalaya, India. J Med Plant Res .2012; 6(5): 657-661.

11. Kumar S, Pandey AK. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. Scientific World J.2013; 2013.
12. Bagchi D, Bagchi M, Stohs SJ, Das DK, Ray SD, Kuszynski CA, etal. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. Toxicology 2000; 148 (2-3): 187-197.
13. Jafari R, Manochehri Kalantari K, Ahmadi Mousavi A. Effect of paclobutrazol on accumulation of antioxidants in tomato seedlings under cold stress. Iranian Journal of Biology 2007; 20(3): 206-216.
14. Chen Y, Zhang M, Chen T, Zhang Y, An L. The relationship between seasonal changes in anti-oxidative system and freezing tolerance in the leaves of evergreen woody plants of Sabina. Soil Biology and Biochemistry .2006; 72(2): 272-279.
15. Wach A, Pyrzyńska K, Biesaga M. Quercetin content in some food and herbal samples. Food Chem. 2007; 100(2): 699-704.
16. Fooladvand Z, Fazeli-nasab B. Antibacterial activities of Stachys lavandulifolia Vahl. extract against eight bacteria. Journal of Herbal Drugs (JHD). 2014; 5(1): 13-18.
17. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. Int J Food Microbiol. 2004; 94(3): 223-253.
18. Holley RA, Patel D. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. Food Microbiol. 2005; 22(4): 273-292.
19. Shapoori R, Rhnama M, Eghbal-Zadeh S. Study of Salmonella serotypes in chicken meat and egg, and determine the antibiotic susceptibility in Zanjan. Journal of Biological Science 2009; 2(6): 63-71.
20. Kotze M, Eloff J, Houghton P. Extraction of antibacterial compounds from Combretum microphyllum (Combretaceae). S Afr J Bot .2002; 68(1): 62-67.
21. Najjafi-moemen R. To investigate the antimicrobial activity of four medicinal plants of the bacterium E. coli colibacillosis poultry. Journal of Agriculture and Natural Resources Research Center in Qom. 2004; 2: 1-15.
22. Sangclic O. Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. Food Sci Technol. 2003; 36(5): 467-473.
23. Al-saimary LE, Bakr SS, Jaffar T, Al-saimary AE, Al-Muosawi R. Effect of some plant extracts and antibiotics on Psendo minas aeruginosa isolated from various burn cases. Saudi Med J 2002; 23(7): 802-805.
24. Vahidi H, Kamalinejad M, Sedaghati N. Antimicrobial properties of Croccus sativus L. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 2002;1(1): 33-35.
25. Tayel AA, El Tras WF. Possibility of fighting food borne bacteria by egyptian folk medicinal herbs and spices extracts. J Egypt Public Health Assoc 2009; 84(1-2): 21-32.
26. Larrán S, Ringuelet JA, Carranza MR, Henning CP, Ré MS, Cerimele EL, Urrutía MI. In vitro fungistatic effect of essential oils against Ascosphaera apis. J Essent Oil Res. 2001; 13(2): 122-124.
27. Sökmen A, Sökmen M, Daferera D, Polissiou M, Candan F, Ünlü M, etal. The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and methanol extracts of Achillea biebersteini Afan.(Asteraceae). Phytother Res. 2004; 18(6): 451-456.

28. Ebrahimzadeh MA, Hosseinimehr SJ, Hamidinia A, Jafari M. Antioxidant and free radical scavenging activity of Feijoa sallowiana fruits peel and leaves. Pharmacology online 2008; 1: 7-14.
29. Chang C-C, Yang M-H, Wen H-M, Chern J-C. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Food and Drug Analysis;2002; 10(3): 178-182.
30. Meda A, Lamien CE, Romito M, Millogo J, Nacoulma OG. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. Food Chem .2005; 91(3): 571-577.
31. Abubakar LA, Mwangi CM, Uku JU, Ndirangu SN. Antimicrobial activity of various extracts of the sea urchin Tripneustes gratilla (Echinoidea). Afr J Pharmacol Ther. 2012; 1(1):19-23
32. Bauer A, Kirby W, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Pathol. 1966; 45(4): 493 -496
33. Jahan N, Khatoon R, Shahzad A, Shahid M, Ahmad S. Comparison of antibacterial activity of parent plant of Tylophora indica Merr. with its in vitro raised plant and leaf callus. Afr J Biotechnol 2013; 12(31): 4891-4896.
34. Ghasemi K, Ghasemi Y, Ebrahimzadeh MA. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. Pak J Pharm Sci. 2009; 22(3): 277-281.
35. Jang HD, Chang KS, Chang TC, Hsu CL. Antioxidant potentials of buntan pumelo (Citrus grandis Osbeck) and its ethanolic and acetified fermentation products. Food Chem 2010; 118(3): 554-558.
36. Gorinstein S, Martín-Belloso O, Park YS, Haruenkit R, Lojek A, Ĉíž M, etal. Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. Food Chem 2001; 74(3): 309-315.
37. Fatahi moghadam J, Hamid oghli Y, Fotohi ghazvini R, Ghasemnezjad M, Bakhshi D. Evaluation of Physicochemical Properties and Antioxidant Activity of the Peel of Different Commercial Citrus Species. Journal of Horticultural Science. 2011; 25(2): 211-217 (Persian).
38. Hemmati N, Ghasemnezhad A, Fatahi Moghadam J, Ebrahimi P. The Role of Rootstock in Antioxidant Activity of Citrus Fruit: Comparison of Antioxidant Activity of The Fruits of Two Commercial Citrus Varieties With The Fruits of Four Different Rootstocks. Journal of Horticultural Science 2015; 29(2): 277-286.
39. Rehman ZU. Evaluation of antioxidant activity of methanolic extract from peanut hulls in fried potato chips. Plant Foods Hum Nutr.2003; 58(1): 75-83.
40. Salvagnini LE, Oliveira JRS, Santos LEd, Moreira RRD, Pietro RCL. Evaluation of the antibacterial activity of Myrtus communis L.(Myrtaceae) leaves. Rev Bras Farmacogn 2008; 18(2): 241-244.
41. Alem G, Mekonnen Y, Tiruneh M, Mulu A. Invitro antibacterial activity of crude preparation of myrtle (Myrtus communis) on common human pathogens. Ethiop Med J. 2008; 46(1): 63-69.
42. Amensour M, Bouhdid S, Fernandez-Lopez J, Idaomar M, Senhaji NS, Abrini J. Antibacterial activity of extracts of Myrtus communis against food-borne pathogenic and

spoilage bacteria. Int J Food Prop .2010; 13(6): 1215-1224.

43. GhasemiPirbalouti A, Jahanbazi P, Enteshari S, Malekpoor F, Hamedi B. Antimicrobial activity of some Iranian medicinal plants. Archives of Biological Sciences. 2010; 62(3): 633-641.

44. Gandomi Nasrabadi H, Azami Sarokelaei L, Misaghi A, Abbaszadeh S, Shariatifar N, Tayyar Hashtjin N. Antibacterial effect of aqueous and alcoholic extracts from petal of saffron (Crocus sativus L.) on some foodborne bacterial pathogens. JMP. 2012; 2(42): 189-196.

45. Razzaghi R, Nourbakhsh R, Hemmati Kakhaki A, Saberi Najafi M. Antimicrobial effect of saffron. Proceedings of 3rd National Symposium on Saffron. 2014 Nov 12; Mashhad,Iran

46. Tsai PJ, Tsai TH, Ho SC. In vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of Streptococcus sobrinus. Food Chem. 2007; 105(1): 311-316.

47. Seydim A, Sarikus G. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. Food Res Int 2006; 39(5): 639-644.

48. Fu Y, Zu Y, Chen L, Shi X, Wang Z, Sun S, etal. Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination. Phytother Res. 2007; 21(10): 989-994.

49. Nemeth E, Bernath J. Biological activities of yarrow species (Achillea spp.). Curr Pharm Des. 2008; 14(29): 3151-3167.

50. Firouzi R, Shekarforoush SS, Malekzadeh M, Borumand Z, Jooyandeh AR. Effect of essential oils of oregano and nutmeg on growth and survival of Yersinia enterocolitica and Listeria monocytogenes barbecued chicken. J Food Prot. 2007; 70(11): 2626-2630.

51. Lee SE, Hwang HJ, Ha J-S, Jeong H-S, Kim JH. Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity. Life Sci. 2003; 73(2): 167-179.

52. Singh S, Singh R. In vitro methods of assay of antioxidants: an overview. Food Rev Int. 2008; 24(4): 392-415.

53. Amzad Hossain M, Shah MD. A study on the total phenols content and antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of endemic plant Merremia borneensis. Arab J Chem. 2015; 8(1): 66-71.

54. Mirzaei A, Mohammadi J, Mirzaei N, Mirzaei M. The Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents of Some Medicinal Plants in Iran. J Fasa Univ Med Sci .2011; 1(3): 160-167 .(persian)

55. Abolfazli R, Nazarnezhad N, Ebrahimzadeh MA. Evaluation of the Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents of Beech, Hornbeam and Poplar Barks. Journal of the Forest and Wood Products. 2013; 66(3): 339-342. .(persian)

56. Baba SA, Malik SA. Determination of total phenolic and flavonoid content, antimicrobial and antioxidant activity of a root extract of Arisaema jacquemontii Blume. J Taibah Univ Sci. 2015; 9(4): 449-454.

57. Rakić S, Petrović S, Kukić J, Jadranin M, Tešević V, Povrenović D, etal. Influence of thermal treatment on phenolic compounds and antioxidant properties of oak acorns from Serbia. Food Chem. 2007; 104(2): 830-834.

58. Medini F, Fellah H, Ksouri R, Abdelly C. Total phenolic, flavonoid and tannin

contents and antioxidant and antimicrobial activities of organic extracts of shoots of the plant Limonium delicatulum. J Taibah Univ Sci. 2014; 8(3): 216-224.

59. Nayebzadeh K, Alizadeh L, Shahini R. Antioxidant effect of rosemary and ferulago extracts and synthetic TBHQ on oil oxidation during deep-frying. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology .2014; 8(4): 135-143 .

60. Mirzaei A, Akbartabartori M, Sadeghi H, Sharifi B. The evaluation of total phenol and antioxidant activity yarrow, wormwood and chamomile. Armaghane Danesh 2010; 15(3): 243-252 .

61. Zangiabadi M, Sahari MA, Barzegar M, Naghdi- Badi H. Zataria multiflora and Bunium persicum essential oils as two natural antioxidants. Journal of Medicinal Plants 2012; 11(41): 8-21.

62. Van Acker SA, Tromp MN, Griffioen DH, Van Bennekom WP, Van Der Vijgh WJ, Bast A. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. Free Radic Biol Med. 1996; 20(3): 331-342.