

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

Bahman Fazeli-Nasab^{1,4},
Mohammad Rahnama²,
Ayuob Mazarei³

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

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

بهمن فاضلی نسب^۱ و

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 گزارش شده 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 باکتری‌ها با روش انتشار در محیط کشت مولر هیتون آگار با استفاده از دیسک‌های کاغذی ۶ میلی‌متری منطبق بر دستورالعمل Kirby و Bauer 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 مونوسیتوزنز، سالمونلا تیفی موریوم، استافیلوکوکوس اورئوس بودند.

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

واژه‌های کلیدی: عصاره، آنتی‌اکسیدان، ضد میکروبی، دی فنیل پیکریل هیدرازیل

مقدمه

می‌شوند سال‌های زیادی است که به‌عنوان یک موضوع مهم برای بهداشت عمومی در نظر گرفته

افزایش بیماری‌هایی که در اثر مصرف غذاهای آلوده به باکتری‌های بیماری‌زا یا توکسین آن‌ها ایجاد

Email: Bfazeli@uoaz.ac.ir

مؤلف مسئول: بهمن فاضلی نسب-زابل: پژوهشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

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

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 بخش‌های 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 از جمله 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 از جمله ترکیب‌های 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 قابل توجه این که بخش‌های بذری و پوست برخی میوه‌ها از فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیش‌تری حتی نسبت به گوشت برخوردارند. به‌عنوان نمونه بذرها، 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،

می‌شود. باکتری‌ها بیش‌تر از دیگر عوامل بیماری‌زایی که به‌وسیله غذا منتقل می‌شوند، سبب بروز و شیوع بیماری شده‌اند. باکتری‌هایی مانند سالمونلا، لیستریا مونوسیتوژنز و اشریشیا کلی 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 خنثی شده 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 از این رو، استفاده از ترکیبات ضد میکروبی 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

مصرف به صورت 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 مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۱۶). از این مواد علاوه بر جلوگیری از رشد باکتری‌ها و کپک‌های آلوده‌کننده مواد غذایی، به منظور 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، مننژیت، استئومیلیت، اندوکاردیت، سندرم شوک سمی و سیتی سمی) را ایجاد می‌کند و به‌عنوان یکی از پنج عامل شایع ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی به‌ویژه عفونت‌های زخم پس از جراحی است (۱۸). آلودگی سالمونلایی در انسان به صورت مسمومیت غذایی، گاستروانتریت، تب تیفوئید و گاهی اوقات سیتی سمی بروز می‌کند (۱۹). انتروتوکسین‌های تولید شده توسط برخی از باکتری‌ها مانند اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس و سالمونلا و گونه‌های 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 ضد میکروبی اسانس و عصاره آویشن روی اشریشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس (۲۱، ۲۲)، عصاره آبی مورد بر سوبه‌های پسودوموناس آئروژینوزا (۲۳)، عصاره قسمت‌های مختلف زعفران از جمله برگ‌ها، مادگی و کرولا را علیه باکتری‌های ای کولای، استافیلوکوکوس اپیدرمیس، استافیلوکوکوس اورئوس، میکروکوکوس و

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 (سوپراکسید 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 (Reactive Oxygen Species) ROS 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 می‌باشد. 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 کشورهای همچون ژاپن و چین مصرف چای سبز تأمین‌کننده 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 از جمله 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

فنل تام

برای اندازه گیری محتوای فنل تام به ۱۰۰ میکرو لیتر از عصاره گیاه، ۲ میلی لیتر کربنات سدیم (۲ درصد)، ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرو لیتر معرف فولین سیو کالتیو (۵۰ درصد) (Folin-Ciocalteu) اضافه شد. بعد از گذشت نیم ساعت جذب آن‌ها در طول موج ۷۲۰ نانومتر نسبت به بلانک ثبت گردید. اسید گالیک به عنوان استاندارد برای رسم منحنی استاندارد بکار رفت (تصویر شماره ۱). محتوای فنل تام عصاره‌ها بر اساس میلی گرم 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 میلی لیتر متانول (۸۰ درصد)، ۱۰۰ میکرو لیتر محلول آلومینیوم کلراید (۱۰ درصد)، ۱۰۰ میکرو لیتر محلول استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط بعد از گذشت ۴۰ دقیقه در طول موج ۴۱۵ نانومتر نسبت به بلانک اندازه گیری 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 میلی گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه (mgQUEg^{-1}) گزارش شد (۲۹).

جدول شماره ۱: مشخصات گیاهان دارویی مورد استفاده

گیاه دارویی	اسم علمی	بافت مورد استفاده	ماده پوژه	محل جمع آوری
رزمری	<i>Rosmarinus officinalis</i>	برگ	رزمریک	دانه کبرک، -ایلام
یوخران	<i>Achillea millefolium</i>	برگ	ماریگولین	شیراز -خراس
تنک	<i>Nectarioscordan tripedale</i>	برگ	-	دانه کبرک، -ایلام
کهوره هندی	<i>Teucrium polium</i>	برگ	کوریولین اکساید	شیراز -خراس
آونول	<i>Synyanian condifolium Boiss</i>	برگ	جرمادان دنی	شیراز -خراس
آونین شیرازی	<i>Zataria Multiflora</i>	برگ	نیول	شیراز -خراس
زعفران	<i>Crocus sativus</i>	گیوهک	کروستین	قن -خراس، جوی
مورد	<i>Myrtus communis</i>	برگ	میوتول	دانه کبرک، -ایلام
پونه کوهی	<i>Mentha longifolia</i>	برگ	نیول	دانه کبرک، -ایلام

قارچ‌ها (۲۴، ۲۵)، عصاره رزماری بر لوکونوستوک مزانتروئیدس، لیستریا منوسایتوژنس، استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس موتانس و باسیلوس (۲۶) و عصاره بومادران بر کاندیدا آلیکنس 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 به منظور حفظ سلامت غشاهای سلولی تأمین می‌گردد و از آن‌جا که گیاهان مورد بررسی 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 مونوسیترنژن، سالمونلا تیفی موریوم و استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد.

مواد و روش‌ها

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 سی سی 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 ۰ سانتیگراد ۴ نگهداری شد (۲۸) ضمناً جهت اندازه گیری مقدار فنل تام و فلاونوئید، ۱۰۰ میلی گرم پودر عصاره در ۱ سی سی متانول حل شد (۲۹).

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 پلیت‌ها 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. به منظور بروز هر گونه خطا در نتایج به دست آمده این آزمایش سه بار تکرار انجام شد (۳۱، ۳۳).

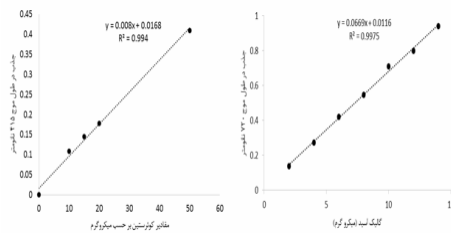
تجزیه آماری داده‌ها

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.

یافته‌ها

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 ($p < 0.01$)



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

ارزیابی میزان توانایی به دام‌اندازی 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 میلی‌گرم 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 طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. جهت کنترل مثبت (شاهد) می‌توان از اسکوربیک اسید استفاده کرد (۲۸).

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

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

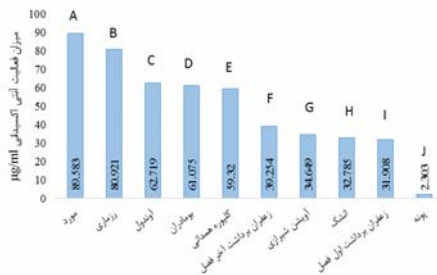
بررسی اثرات ضد میکروبی

در این بخش، اثرات ضد میکروبی ۵ نوع از عصاره‌های (بومادران، رزماری، آویشن شیرازی، زعفران برداشت آخر فصل و مورد) که دارای بیش‌ترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی و برخی نیز متوسط بودند بر باکتری اشریشیا کلی (ATCC25922)، لستریا مونوسیژنوز (کد ATCC 19118)، سالمونلا تیفی موریوم (PTTC 1609) و استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC25923) تهیه‌شده از شرکت پاتن طب با روش

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 کم‌اثرترین غلظت ۱۶ میکروگرم در میکرولیتر 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 دام‌اندازی 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	۱۸۶۱۶/۷	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 دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد

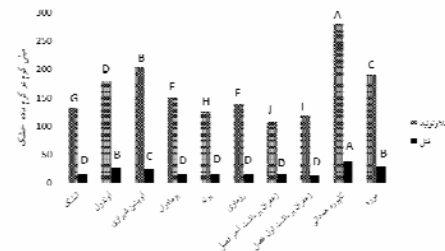
تأثیر عصاره بر باکتری‌های انسانی

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

(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	میانگین مربعات فلاونوئید
ژنوتیپ	۹	۲۱۱/۱۱۵**	۸۱۹۷/۳۳**



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

ارزیابی میزان توانایی به دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد

نتایج حاصل از ارزیابی میزان توانایی به دام‌اندازی 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 ($p < 0/01$) (جدول شماره ۳). آزمون تعقیبی LSD نشان داد که عصاره مورد و سپس رزماری به ترتیب با میانگین ۸۰/۹۲۱ و ۸۹/۵۸۳ میکروگرم در میلی‌لیتر بیش‌ترین

مختلف بر باکتری اش‌ریشیاکلی، لستریا مونوسیتوژنز، سالمونلا تیفی موریوم و استافیلوکوکوس اورئوس متفاوت و معنی دار بود ($p < 0/01$) (جدول شماره ۵).

جدول شماره ۴: ارزیابی اثر متقابل فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره و غلظت‌های مختلف عصاره گیاهی

عصاره گیاهی	غلظت‌های مورد استفاده از هر عصاره (میکروگرم در میلی‌لیتر) در آزمون DPPH		
	۱۶	۳۲	۶۴
مورد	۸۸/۸۱۶ bc	۸۹/۸۰۳ b	۹۰/۱۳۲ b
رزماری	۷۰/۷۳۴ g	۸۴/۵۳۹ cd	۸۷/۵ c
بومادران	۱۱/۱۸۴ f	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
آوبشن 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 lu
کلبوره همدانی	۴/۶۰۵ s	۷۴/۳۴۲ f	۹۹/۰۱۳ a

جدول شماره ۵: 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**	۱/۸۳۵**	۶/۶۵**	۱۷/۱۵**
عصاره گیاهی × میزان عصاره	۰/۰۸۷۵**	۱/۶۷۵**	۰/۴**	۰/۶۵**

** معنی دار 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 ۶: مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره‌های مختلف بر باکتری انسانی مورد استفاده

عصاره	غلظت عصاره مورد استفاده	میانگین قطر هاله عدم رشد (سانتی‌متر)			
		اش‌ریشیاکلی	لستریا مونوسیتوژنز	سالمونلا تیفی موریوم	استافیلوکوکوس اورئوس
رزماری	۶۰	۱۵b	۰e	۰d	۰e
بومادران	۹۰	۱۵b	۲d	۱۵b	۱۵d
آوندول	۱۲۰	۲a	۲d	۲a	۳a
انشک	۶۰	۱۵b	۰e	۰d	۰e
آوبشن شیرازی	۹۰	۱۵b	۲d	۱۵b	۲c
زعفران برداشت اول	۱۲۰	۱۵b	۳۵a	۱۵b	۲۵b
زعفران برداشت آخر فصل	۶۰	۱۵b	۲d	۱c	۱۵d
پونه کوهی	۹۰	۱۵b	۲d	۱۵b	۲c
کلبوره همدانی	۱۲۰	۱۵b	۳b	۲a	۲۵b
مورد	۶۰	۱c	۲d	۱۵b	۱۵d
بومادران	۹۰	۱۵b	۲۵c	۱۵b	۲۵b
آوندول	۱۲۰	۱۵b	۳b	۲a	۳a
انشک	۶۰	۱۵b	۰e	۰d	۰e
آوبشن شیرازی	۹۰	۱۵b	۲d	۱c	۲c
زعفران برداشت اول	۱۲۰	۱۵b	۳۵a	۱۵b	۲۵b

در باکتری سالمونلا تیفی موریوم عصاره مورد با میانگین ۱/۶۷ سانتی‌متر قطر هاله عدم رشد باکتری مؤثرترین 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 هر گونه هاله عدم رشد بودند (جدول شماره ۶).

در باکتری استافیلوکوکوس اورئوس عصاره مورد با میانگین ۲/۳۳ سانتی‌متر قطر هاله عدم رشد باکتری مؤثرترین 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

بیش تر 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 میلی گرم در گرم بود که می توان نتیجه گرفت محتوای فنولی و فلاونوئیدی تمام گیاهان دارویی استفاده شده در این مطالعه بیش تر از نتایج ارایه شده در مورد سایر گیاهان است همچنین طبق استفاده های متفاوت از مواد آنتی اکسیدانی که جهت درمان و پیشگیری از بیماری های سرطانی و تصلب شرایین، جهت افزایش انبارمانی چربی ها و روغن ها، جهت نگهداری چپس های سیب زمینی و غیره بوده (۳۹). می توان به جای هدر دادن و دور ریختن برگ و گلبرگ گیاهان مورد استفاده در این مطالعه از مواد آنتی اکسیدانی آن ها علاوه بر پیشگیری و درمان، جهت استفاده های جانبی نیز استفاده کرد.

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

میانگین ۳ سانتی متر قطر هاله عدم رشد مؤثرترین و غلظت ۶۰ میلی گرم در سی سی هیدرو الکلی عصاره های رزماری زعفران و بومادران فاقد هر گونه هاله عدم رشد بودند (جدول شماره ۶).

بحث

نتایج حاصل از تجزیه داده ها نشان داد که میزان فنل ژنوتیپ های مختلف که در محدوده ۱۴/۰۴۷ تا ۳۹/۰۴۹ و میانگین ۲۱/۳۷ میلی گرم در گرم عصاره خشک بوده و فلاونوئید در محدوده ۱۰۷/۷۸ تا ۲۷۹/۵۲ و میانگین ۱۶۲/۹۷ میلی گرم در گرم عصاره خشک معنی دار ($p < 0.01$) و همچنین نتایج حاصل از ارزیابی میزان توانایی به دام اندازی رادیکال های آزاد عصاره هیدرو الکلی گیاهان دارویی مورد، زعفران، بومادران، آویشن شیرازی، رزماری، کلپوره همدانی، آوندول، انشک، غلظت های مختلف عصاره های مورد استفاده و هم چنین اثر متقابل عصاره گیاهی و غلظت های عصاره معنی دار بود ($p < 0.01$).

قاسمی و همکاران (۳۴) میزان فلاونوئید پوست رقم ساتسوما را ۰/۳ میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره؛ جانگ و همکاران (۳۵) میزان فنل تام را در پوملو ۰/۲۱۴ میلی گرم در گرم عصاره، گرنستین و همکاران (۳۶) محتوای فنلی ارقام لیمون، پرتقال و گریپ فروت را به ترتیب ۱/۹، ۱/۸ و ۱/۶ میلی گرم در گرم عصاره؛ فتاحی مقدم و همکاران (۳۷) نیز در مطالعه ای با ارزیابی برخی ترکیبات آنتی اکسیدانی 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) میلی گرم در گرم عصاره به دست آمد و در گزارشی (۳۸) نیز بیشترین میزان فلاونوئید (۰/۲۴) میلی گرم در گرم عصاره در پایه یوزو و کم ترین میزان (۰/۱۱۵) در پایه شل محله به دست آمد و همچنین در تمام ارقام مورد مطالعه میزان ترکیبات فنلی پوست را

در مطالعاتی اثر ضد میکروبی عصاره آبی گلبرگ (۴۴) و کلاله (۴۵) زعفران بر برخی از باکتری‌های بیماری‌زای غذایی مورد بررسی قرار دادند و متوجه شدند که عصاره آبی گلبرگ زعفران بر باکتری سالمونلا تیفی موریوم مؤثر است اما بر استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سوبتیلیس و اشیریشیاکلی کم اثر بوده اما عصاره کلاله بر اشیریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس مؤثر بوده است. در مطالعه حاضر نیز عصاره هیدرو الکلی گلبرگ زعفران بر اشیریشیاکلی مؤثر بوده اما افزایش غلظت عصاره تأثیر معنی‌داری بر اشیریشیاکلی نداشته است. ضمناً عصاره هیدرو الکلی زعفران تا سطح ۶۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بر باکتری‌های لستریا مونوسیژنز، سالمونلا تیفی موریوم و استافیلوکوکوس اورئوس تأثیر نداشته اما با افزایش غلظت عصاره تأثیر آن بر این سه سویه باکتری بیشتر شده است. حتی مؤثرترین عصاره بر باکتری لستریا مونوسیژنز عصاره گلبرگ زعفران به همراه عصاره برگ بومادران (در غلظت ۱۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) بوده است اما نسبت به سایر گیاهان بر باکتری سالمونلا تیفی موریوم و باکتری استافیلوکوکوس اورئوس کم اثرتر بوده است. اثرات مثبت اسانس رزماری (۴۶-۴۸) بر باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس گزارش شده است.

در مطالعه حاضر نیز عصاره رزماری مؤثرترین عصاره بر اشیریشیاکلی اما کم اثرترین عصاره بر باکتری لستریا مونوسیژنز و جزو کم اثرترین عصاره‌ها بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و باکتری سالمونلا تیفی موریوم بوده و تا سطح ۶۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نیز بر هیچ‌کدام از سه سویه نامبرده هیچ اثری نداشته است. با افزایش غلظت عصاره تأثیر آن بر باکتری لستریا مونوسیژنز بیشتر شده ولی این اثر با افزایش بیش از ۹۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نیز تأثیری نداشته است، ولی مؤثرترین غلظت عصاره برگ رزماری بر باکتری

سالمونلا تیفی موریوم و باکتری استافیلوکوکوس اورئوس غلظت ۱۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بوده است. در گزارشی (۴۹) عصاره متانلی گل و برگ بومادران بر استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، سودوموناس آئروژینوزا و اشیریشیاکلی بررسی که مشخص شد بیش‌ترین اثر حاصل از عصاره گل بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و کم‌ترین اثر بر اشیریشیاکلی بود هر چند سودوموناس هیچ حساسیتی به عصاره از خودش نشان نداده است. در مطالعه حاضر نیز میانگین هاله عدم رشد عصاره اتانلی بومادران به روش انتشار دیسک بر باکتری اشیریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس ۱۵ میلی‌متر بود اما رزماری مؤثرتر از بومادران بر باکتری اشیریشیاکلی بود و به ترتیب مورد و سپس آویشن شیرازی نسبت به بومادران بیش‌ترین اثر را بر استافیلوکوکوس اورئوس داشتند.

گزارش شده است که اسانس پونه کوهی بر روی باکتری‌های فسادزا در گوشت (لستریا مونوسیژنز، اشیریشیاکلی و یرسینیا آنتروکولیتیکا) مؤثر نبوده است (۵۰). در مطالعه حاضر نیز عصاره پونه کوهی از لحاظ خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارای سطح پایینی بوده و چون طبق بررسی‌های انجام‌شده نیز بر باکتری‌های هدف مؤثر نبوده است، لذا در بخش دوم این تحقیق یعنی اثر بر باکتری‌ها، مورد ارزیابی قرار نگرفت.

ترکیباتی که رنگ رادیکال آزاد DPPH را با گرفتن هیدروژن یا الکترون از رنگ ارغوانی به زرد تبدیل کنند، ترکیباتی باقابلیت آنتی‌اکسیدانی‌اند. بر این اساس مدل به دام اندازی رادیکال پایدار DPPH برای ارزیابی توانایی به دام اندازی رادیکال آزاد در نمونه‌های گوناگون استفاده می‌شود (۵۱). اندازه‌گیری میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH از روش‌های معتبر، دقیق، آسان و مقرون‌به‌صرفه باقابلیت تکرارپذیری بالاست که در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی در شرایط آزمایشگاهی به کار می‌رود (۵۲). گزارش شده که فعالیت آنتی‌اکسیدانی با خاصیت ضد

غلظت ۶۴ میلی گرم عصاره کلپوره همدانی مؤثرترین بوده است؛ اما در ارزیابی خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره های که در غلظت های پایین مؤثرتر باشند دارای اهمیت هستند که در این بین عصاره مورد مؤثرترین عصاره هم از لحاظ خاصیت آنتی اکسیدانی و هم از لحاظ فعالیت ضد میکروبی بوده است.

در کل با توجه به این که فنل ها و ترکیبات پلی فنلی مانند فلاونوئیدها به طور گسترده در محصولات غذایی و دارویی یافت می شوند و فعالیت آنتی اکسیدانی چشمگیری دارند (۶۲) و از طرفی از آن جا که افزایش سطح فلاونوئیدها در رژیم غذایی منجر به کاهش برخی بیماری ها در انسان می شود (۵۵) و با در نظر گرفتن اثرات منفی آنتی اکسیدان های سنتزی و نیز با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه می توان عصاره مورد و سپس رزماری را به عنوان جانشینی برای آنتی اکسیدان های سنتزی پیشنهاد نمود.

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

میکروبی همبستگی مثبتی دارد (۵۳، ۵۴) و اصولاً خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره ها با افزایش غلظت ترکیبات فنل کل زیاد شده (۵۵) و این توانایی بستگی به تعداد حلقه های آروماتیکی و ماهیت گروه های جابه جاشونده هیدروکسیل دارد به طوری که در غلظت های بیش تر، ترکیبات فنولی به سبب افزایش تعداد گروه های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال انتقال هیدروژن به رادیکال های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می یابد (۵۵، ۵۶). در مطالعه ای که بر دو گونه بلوط کوثرکوس کریس و کوثرکوس روبرو از نظر میزان مهار رادیکال های آزاد DPPH در غلظت های گوناگون انجام شده است مشخص گردید که با افزایش غلظت عصاره متانلی از ۱۲/۵-۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر درصد مهار رادیکال های آزاد به طور چشمگیری افزایش یافته است (۵۷) از طرفی عصاره اتانلی *Limonium delicatulum* بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی (۱۷۷ mg gallic acid/g dry weight) را داشته و متعاقب آن بیشترین فعالیت میکروسکوپی (۱۶ mm با دارندگی میکروبی) نیز داشته است (۵۸).

بر اساس نتایج حاصل از تست مهار رادیکال آزاد (DPPH) گزارش شده که فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره رزماری بیشتر از عصاره چویر (۵۹)، عصاره هیدرو الکلی درمنه بیشتر از عصاره بابونه و بومادران (۶۰)، عصاره هیدرو الکلی آویشن شیرازی بیش تر از زیره سیاه (۶۱) می باشد. در مطالعه حاضر عصاره هیدرو الکلی برگ مورد و سپس رزماری بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی و متعاقب بیشترین خاصیت ضد میکروبی نسبت به سایر گیاهان را از خود نشان داده اند که با نتایج ارائه شده مطابقت داشت. ضمناً نتایج آزمون DPPH نشان داد که توانایی عصاره های گونه های مورد، رزماری، کلپوره همدانی و سایر گونه ها در مهار رادیکال های آزاد به غلظت عصاره ها بستگی دارد و با افزایش غلظت، فعالیت ضد رادیکالی آن ها افزایش می یابد. به طوری که در

دهند و گیاهانی که خاصیت بالایی دارند مورد استفاده 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 می‌شود.

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 مونوسیژنز، 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

References

- Todd EC. Preliminary estimates of costs of foodborne disease in Canada and costs to reduce salmonellosis. *J Food Prot* 1989; 52(8): 586-594.
- 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.
- Mosaddegh M, Naghibi F. Iranian traditional medicine, past and present in traditional medicine and materia medica. Tehran: TMRC Pub 2002: 2-20.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils—a review. *Food Chem Toxicol.* 2008; 46(2): 446-475.
- 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.
- Kwok C-Y, Wong CN-Y, Yau MY-C, Yu PH-F, Au ALS, Poon CC-W, et al. Consumption of dried fruit of *Crataegus pinnatifida* (hawthorn) suppresses high-cholesterol diet-induced hypercholesterolemia in rats. *J Funct Foods* 2010; 2(3): 179-186.
- Dai J, Mumper RJ. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* 2010; 15(10): 7313-7352.
- 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.
- Valizadeh J, Bagheri A, Valizadeh J, Mirjalili MH. Phytochemical Investigation of *Withania Coagulans* (Stocks) Dunal In Natural Habits Of Sistan and Balochestan Province Of Iran. *Iranian Journal Of Medical and Aromatics Plants* 2015; 31(3): 406-417.
- 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, et al. 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. Sanglic 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 *Pseudo 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 *Crocus 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, Ringuet 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, et al. 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, Číž 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, Hamed 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, et al. 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, et al. 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.