

ارزیابی مقایسه‌ای میزان فنول و فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی
و ضدباکتریایی عصاره متانولی گیاهان *Thymus vulgaris* L.، *Artemisia annua* L.،
Pistacia atlantica var *mutica* و *Salvia officinalis* L.، *Matricaria chamomilla* L.

ایوب مزارعی^۱، لیلا فهمیده^{۲*}

^۱ دانشجوی دکتری، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
^۲ دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۶/۶/۱۷ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۸/۷

چکیده

در این تحقیق سرشاخه‌های گلدار گیاهان دارویی: درمنه، آویشن کوهیو مریم گلی (قبل از گلدهی)، بابونه (مرحله گلدهی) و میوه پسته وحشی (بعد از رسیدن میوه) از مزارع و رویشگاه‌های مختلف استان سیستان و بلوچستان و فارس در سال ۱۳۹۴، جمع‌آوری شدند. تهیه عصاره‌ها به روش خیساندن، محتوای فنول و فلاونوئید کل به ترتیب با روش‌های معرف فولین-سیوکالتیو و رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم، فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش DPPH^۱ و فعالیت آنتی‌باکتریایی عصاره‌ها علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی به روش دیسک دیفیوژن سنجیده شد. نتایج نشان داد که به ترتیب عصاره متانولی درمنه و آویشن کوهی از بیشترین میزان ترکیبات فنولی (۲۲/۳۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و فلاونوئیدی (۱۴۲/۵۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و از عملکرد آنتی‌اکسیدانی بهینه (ICSO) با میزان ۷۲/۰۱ و ۷۰/۷۵ میکروگرم در میلی‌لیتر و فعالیت آنتی‌باکتریایی علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی با قطر هاله عدم رشد ۱۵/۱ و ۱۶/۸ میلی‌متر بوده است. به طور کلی عصاره متانولی گیاهان مورد مطالعه سطوح مختلفی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان دادند و بهترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به گیاه درمنه بود. از این رو می‌توان بیان کرد که این عصاره‌ها می‌توانند جایگزین داروهای شیمیایی برای درمان عفونت‌ها شوند. البته همه اثرات این عصاره‌ها باید در *in vitro* و *in vivo* به دقت بررسی شوند.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌باکتریال، آنتی‌اکسیدانت، آویشن کوهی، بابونه، پسته وحشی، درمنه کوهی، فلاونوئید کل، فنول، مریم گلی

مقدمه

(et al., 2015). فلاونوئیدها از جمله ترکیب‌های فنولی هستند که به طور مستقیم باعث مهار مولکول‌های فعال سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن، و رادیکال‌های هیدروکسیل می‌گردد (Sharma et al., 2012).

در گزارشی مزارعی و همکاران (Mazaraie et al., 2018) بیان کردند ترکیبات فنولی تقریباً در تمام بخش‌های گیاهی وجود دارد و از مهم‌ترین خصوصیات که به این گروه نسبت داده می‌شود، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده که به آن‌ها امکان از دست دادن هیدروژن و به دام انداختن رادیکال آزاد را می‌دهد. رادیکال‌های فعال اکسیژن می‌توانند بهترین ترکیبات سلول مانند اسیدهای چرب، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و رنگدانه‌ها را مورد حمله قرار دهند (Jafari et al., 2007).

رادیکال‌های آزاد، مولکول‌هایی هستند فاقد پوسته‌ی الکترونی کامل که به طور طبیعی در بدن موجودات زنده تولید می‌گردند اما زمانی که تولید این رادیکال‌ها بیش از حد باشد سوبستراها از جمله غشاهای سلولی، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک در معرض اکسیداسیون قرار می‌گیرند. در این حالت از جمله تخریب DNA و پروتئین اتفاق می‌افتد (Khalili et al., 2014) و در نتیجه برای خنثی کردن اثر سمی رادیکال‌های فعال اکسیژن، ترکیبات آنتی‌اکسیدانت نیاز است (Fazeli-Nasab et al., 2017).

استافیلوکوکوس اورئوس به‌عنوان یکی از پنج عامل شایع ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی به ویژه عفونت‌های زخم پس از جراحی است که از عفونت‌های ساده پوستی تا بیماری‌های تهدید کننده زندگی را ایجاد می‌نماید (Holley and Patel, 2005). استافیلوکوکوس اورئوس عامل ایجاد عفونت‌های خارج روده‌ای مانند جوش، زخم، ذات‌الریه، سندرم شوک توکسیک، مننژیت و عامل

بیش از پنجاه سال از مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها برای کنترل و درمان بیماری‌ها می‌گذرد ولی استفاده مداوم و نادرست از این ترکیبات باعث بروز پدیده مقاومت به آنتی‌بیوتیک و پیدایش سویه‌های مقاوم شده و درمان بیماری‌ها را با مشکل روبه‌رو کرده است از طرف دیگر درمان با آنتی‌بیوتیک‌ها همواره نگرانی عوارض جانبی دارو را به همراه دارد، به‌طوری که گزارشاتی از ایجاد سمیت و تولید سرطان منتشر گردیده است (Alamhulu and Nazeri, 2015). از این رو در سال‌های اخیر استفاده از گیاه در درمان بیماری‌ها روند رو به رشدی یافته است. گیاهان و ترکیب‌های آن‌ها شامل اسانس‌ها و عصاره‌های مختلف دارای توان بالقوه جهت جایگزینی با داروهای شیمیایی هستند. این در حالی است که عوارض جانبی این ترکیب‌ها در مقایسه با داروهای شیمیایی کمتر است (Modarres sanavi et al., 2012).

مشخص شده است که اغلب اسانس‌های گیاهی مستخرج از گیاهان دارای خواص حشره‌کشی، ضد قارچی، ضدانگل، ضدباکتری، ضدویروس، آنتی‌اکسیدانی و سیتوتوکسیک می‌باشند (Aali et al., 2017) که این فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی گیاهان دارویی به مقدار کل ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی آن‌ها بستگی دارد (An-jun et al., 2010). ترکیبات فنولی شامل فنول‌های ساده، با یک حلقه آروماتیک که حداقل دارای یک گروه هیدروکسی روی آن است. ترکیبات پلی‌فنولی که دارای دو بخش فنولیباشند، فلاونوئیدها را تشکیل می‌دهند. فلاونوئیدها و دیگر ترکیبات فنولی گیاه 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 (Mozdastan

اهمیت ویژه‌ای دارد. بر این اساس هدف از تحقیق حاضر نیز ارزیابی ارتباط بین میزان فنول، فلاونوئید با فعالیت آنتی‌اکسیدانی و خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های متانولی گیاهان دارویی مریم‌گلی، درمنه، آویشن کوهی، بابونه و بنه بر باکتری‌های اشريشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد مطالعه در این تحقیق (جدول ۱) به منظور تهیه عصاره متانولی (۷۶ درصد) در سایه خشک و سپس به وسیله آسیاب به صورت پودر در آمدند. عصاره‌گیری به روش خیساندن انجام شد. برای این منظور ابتدا ۵ گرم از تمام نمونه‌های گیاهی با ترازوی دیجیتالی وزن و به نسبت ۱ به ۱۰ در حلال مورد نظر ریخته شد و پس از گذشت ۴۸ ساعت در دمای محیط روی شیکر عمل فیلتراسیون با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک و قیف بوخترانجام شد. قبل از صاف کردن توسط کاغذ صافی به عصاره استخراج شده اجازه داده شد تا بخش جامد بر اساس اختلاف دانسیته با حلال‌های مورد استفاده، از حلال جدا گردد. بخش اعظم حلال‌ها با استفاده از دستگاه تبخیر گردان چرخنده (روتاری) حذف شد. عصاره تغلیظ شده در سطح پلیت‌های شیشه‌ای به صورت ورقه نازک پخش و آن‌گاه به آون منتقل شدند تا باقیمانده حلال حذف شود و رسوب خشک شده هریک از عصاره‌ها بدست آمد. پس از خشک شدن، عصاره‌ها به وسیله تیغه فلزی از روی سطح پلیت‌های شیشه‌ای خراش داده شد و پودر حاصله در ظروف شیشه‌ای تیره رنگ تا زمان انجام آزمایش‌های بعدی در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

اصلی مسمومیت غذایی استافیلوکوکی در بدن انسان می‌باشد (Razavilar, 2002). آنتروتوکسین‌های تولید شده توسط برخی از باکتری‌ها مانند *Staphylococcus aureus* و گونه‌های *Yersinia*، *Salmonella* و *Clostridium* از جمله *E.coli* مسمومیت دستگاه گوارش و بروز علائم گوارشی ناشی از این گونه‌ها می‌باشند (Kotzé et al., 2002).

استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان یکی از پنج عامل شایع ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی به‌ویژه عفونت‌های زخم پس از جراحی و عامل ایجاد عفونت‌های خارج روده‌ای مانند جوش، زخم، ذات‌الریه، سندرم شوک توکسیک، مننژیت است. همچنین عامل اصلی مسمومیت غذایی استافیلوکوکی در بدن انسان می‌باشد (Fazeli-Nasab et al., 2017). آنتروتوکسین‌های تولید شده توسط برخی از باکتری‌ها مانند *Staphylococcus aureus* و گونه‌های *Yersinia*، *Salmonella* و *Clostridium* از جمله باعث مسمومیت دستگاه گوارش و بروز علائم گوارشی می‌شوند (Fazeli-Nasab et al., 2017).

بنابراین، امروزه با توجه به مقاومت روزافزونی که میکروارگانیزم‌ها نسبت به آنتیبیوتیک‌ها از خود نشان می‌دهند، استفاده از ترکیبات ضد میکروبی موجود در گیاهان به‌عنوان عوامل طبیعی که اثرهای کشندگی و بازدارندگی بر عوامل بیماری‌زا دارند، بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. در همین راستا با توجه به تنوع آب و هوایی و در نتیجه فلور گیاهی بسیار متنوع در ایران امکان شناسایی مواد موثره گیاهی در گیاهان مختلف بومی کشور و استخراج آن‌ها به منظور تولید این مواد به مقدار زیاد و در سطح صنعتی وجود دارد. بررسی این قابلیت‌ها به‌ویژه در مورد گیاهانی که بومی ایران هستند و تاکنون کمتر مورد بررسی قرار گرفته‌اند،

جدول ۱: اسامی گیاهان مورد استفاده

ردیف	گیاه	قسمت مورد استفاده	محل جمع آوری	زمان جمع آوری	خانواده	نام علمی
۱	بابونه	برگ و گل	شهرستان فراشبند	مرحله گلدهی	Compositae	<i>Matricaria chamomilla</i>
۲	بنه	میوه	شهرستان سراوان	بعد از رسیدن میوه	Anacardiaceae	<i>Pistacia atlantica</i>
۳	آویشن کوهی	برگ	گیاهان دارویی دانشگاه زابل	قبل از گلدهی	Lamiceae	<i>Thymus vulgaris</i>
۴	درمنه	سرشاخه‌های برگ دار	شهرستان سراوان	قبل از گلدهی	Compositae	<i>Artemisia annua</i>
۵	مریم گلی	سرشاخه‌های برگ دار	گیاهان دارویی دانشگاه زابل	قبل از گلدهی	Lamiceae	<i>Salvia officinalis</i>

با استفاده از منحنی استاندارد بر اساس میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره گزارش شد.

ارزیابی میزان توانایی به دام اندازی رادیکال یا سنجش خواص آنتی اکسیدانی: ابتدا از عصاره ۴۰ میلی گرم وزن نموده در ۲۵ سی سی متانول حل و سپس از این محلول سه غلظت ۱۶، ۳۲ و ۴۰ میکرو لیتر برداشته و با DPPH (با غلظت ۰/۱ میلی مول) به حجم ۴ سی سی رسانده و سپس در دمای اتاق به مدت ۱ ساعت قرار داده و نهایت جذب نوری را با طول موج ۵۱۷ نانومتر انجام می دهیم. به منظور مقایسه فعالیت عصاره‌ها از مفهوم IC₅₀ استفاده شد. IC₅₀ غلظتی از عصاره که ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد را از بین می برد.

$$IC(\%) = [(A_0 - A_s) / A_0] \times 100$$

A₀: جذب کنترل

A_s: جذب نمونه آزمایش

IC₅₀: بیانگر مقداری از عصاره که قادر به جذب درصدی از رادیکال آزاد می باشد (Burits and Bucar, 2000).

بررسی اثرات ضد میکروبی: باکتری‌های *E. coli* ATCC25922 و *Staphylococcus aureus* ATCC25923 از شرکت پاتن طب تهیه شدند و اثرات ضد میکروبی عصاره‌های مختلف گیاهی (بابونه،

تعیین میزان فنول کل: مقادیر فنول تام با روش فولین سیوکالتیو اندازه گیری شد (Ordone et al., 2008). عصاره با غلظت ۱۰ mg/ml تهیه شد. ۰/۵ میلی لیتر از هر عصاره با ۲۵ میلی لیتر واکنشگر ۰/۲ نرمال فولین سیوکالتیو مخلوط و به مدت ۵ دقیقه هم زده شد. سپس ۲ میلی لیتر محلول کربنات سدیم ۲۰ درصد با غلظت ۷۵ گرم در لیتر اضافه شد. جذب نمونه‌ها پس از ۲ ساعت قراردادن نمونه‌ها در دمای اتاق با دستگاه اسپکتروفوتومتر با طول موج ۷۶۰ نانومتر در مقابل بلانک (متانول) اندازه گیری شد. مقادیر فنول تام عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر اساس میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره اندازه گیری شد.

تعیین محتوای فلاونوئیدی عصاره: میزان محتوای فلاونوئید عصاره با روش رنگ سنجی رزیابی شد (Chang et al., 2002). عصاره با غلظت ۱۰ mg/ml تهیه شد. ۰/۵ میلی لیتر از عصاره در ۱/۵ میلی لیتر متانول حل و ۰/۱ میلی لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد به آن اضافه شد. سپس ۰/۱ میلی لیتر محلول پتاسیم استات ۱ مولار و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر به این مخلوط اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. جذب مخلوط حاصل در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر اندازه گیری شد. میزان فلاونوئید

آزمایش سه بار تکرار انجام شد (Jahan et al., 2013).
تجزیه و تحلیل آماری: پس از اندازه‌گیری ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی کل، میزان به دام اندازی رادیکال‌های آزاد و خواص آنتی‌باکتریایی، داده‌های حاصله بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی (فاکتورها شامل: تعداد گیاه (۵ سطح)، غلظت (۳ سطح) و باکتری (۲ سطح) با ۳ تکرار، تجزیه واریانس و مقایسه میانگین (روش دانکن) شدند. برای این منظور از نرم‌افزار Excel و SAS ver 9.1 استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل تجزیه واریانس نشان داد که اثر گیاه و غلظت عصاره و همچنین اثر متقابل عصاره گیاهی و غلظت‌های عصاره، بر میزان فنول، فلاونوئید و مهار رادیکال‌های آزاد عصاره متانولی در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

مریم گلی، درمنه، آویشن کوهی و بنه) بر باکتری‌های مورد مطالعه، با روش انتشار در محیط کشت مولر هیتون آگار مورد بررسی قرار گرفت. پس از تهیه سوسپانسیون میکروبی در مدت ۵ دقیقه پلیت‌ها توسط سوآپ استریل آغشته به سوسپانسیون میکروبی تلقیح شد و دیسک گذاری توسط پنس استریل و در کنار شعله انجام و فاصله دیسک‌ها (با قطر ۶ میلی‌متری) با دیواره پلیت حداقل ۵ میلی‌متر و از یکدیگر حداقل ۲۵ میلی‌متر تعیین شد و بعد از تماس کامل با محیط کشت با سمپلیر استریل مقدار ۱۸ میکرو لیتر از عصاره‌های گیاهی روی دیسک‌ها ریخته شد بعد از انجام مراحل فوق پلیت‌ها به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در انکوباتور نگه‌داری شدند. پس از سپری شدن زمان لازم، قطر هاله‌های عدم رشد با کولیس اندازه‌گیری شد. به‌منظور بروز هر گونه خطا در نتایج به‌دست آمده این

جدول ۲: نتایج تجزیه واریانس غلظت و عصاره‌های مختلف گیاهی بر میزان فنول، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی

منابع تغییر	درجه آزادی	فنول	فلاونوئید	فعالیت آنتی‌اکسیدانی
گیاه	۴	۲۶/۹۷ ^{**}	۱۰۹۷/۷۸ ^{**}	۲۰/۷۷ ^{**}
غلظت	۲	۶۰۴/۱۴ ^{**}	۳۲۵۶۴/۷۶ ^{**}	۷۶۹۸/۷۳ ^{**}
گیاه × غلظت	۸	۲/۷۲ ^{**}	۶۳/۴۰ ^{**}	۱/۹۲ ^{**}
خطا	۳۰	۰/۲۴	۸/۸۱	۰/۳۳
ضریب تغییرات	-	۲/۵۳	۲/۲۷	۴/۶۹

^{ns}، * و **: به ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار، اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۵ و ۱ درصد

۱۱۴/۳۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، کمترین میزان فلاونوئید را نشان دادند و در بین غلظت‌های مختلف عصاره، مؤثرترین غلظت، غلظت ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و کم اثرترین غلظت ۱۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود و با افزایش غلظت عصاره میزان فنول و فلاونوئید عصاره‌ها نیز بیشتر شده است (جدول ۳).

مقایسه میانگین اثرات ساده نشان داد که در بین گیاهان مورد مطالعه، بیشترین و کمترین میزان فنول را به ترتیب عصاره درمنه با میانگین ۲۲/۳۶ و بابونه با میانگین ۱۷/۸۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به خود اختصاص دادند. همچنین عصاره آویشن کوهی با میانگین ۱۴۲/۵۹ بیشترین و بابونه با میانگین

جدول ۳: نتایج مقایسه میانگین اثرات ساده غلظت و عصاره‌های مختلف گیاهی بر میزان فنول، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی

تیمارها	فنول	فلاونوئید	فعالیت آنتی‌اکسیدانی
گیاه			
بنه	۱۸/۶۵d	۱۲۵/۳۷d	۶۹/۲۳c
آویشن کوهی	۲۰/۰۲b	۱۴۲/۵۹a	۷۰/۷۵b
مریم گلی	۱۹/۳۲c	۱۳۷/۶۱b	۷۰/۱۵b
درمنه	۲۲/۳۶a	۱۳۲/۴۲c	۷۲/۰۱a
بابونه	۱۷/۸۱d	۱۱۴/۳۴e	۵۶/۰۱d
غلظت عصاره			
غلظت ۱۶	۱۳/۷۶c	۸۱/۹۲c	۴۸/۰۰۴c
غلظت ۳۲	۱۷/۶۳b	۱۳۴/۶۵b	۶۸/۸۲b
غلظت ۴۰	۲۷/۵۱a	۱۷۴/۸۳a	۹۳/۲۶a

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت غیرمعنی دار بین آن‌هاست

در ارزیابی اثر متقابل عصاره گیاهی و غلظت عصاره در میزان فنول نیز مشخص شد که در غلظت‌های پایین عصاره (۱۶ و ۳۲) بیشترین مقدار فنول از آن عصاره درمنه بود. همچنین در غلظت بالا (۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) بیشترین مقدار متعلق به عصاره درمنه و سپس آویشن کوهی بود (جدول ۴).

جدول ۴: ارزیابی اثر متقابل غلظت و عصاره‌های مختلف گیاهی بر میزان فنول

عصاره گیاهی	۱۶	۳۲	۴۰
آویشن کوهی	۱۵/۳۳h	۲۰/۱۸e	۳۱/۵۸a
درمنه	۱۳/۹i	۱۷/۹۳f	۲۸/۲۳b
مریم گلی	۱۳/۵۴ij	۱۷/۲۲ fg	۲۷/۲c
بنه	۱۳/۰۷ij	۱۶/۴۹g	۲۶/۴c
بابونه	۱۲/۹۵i	۱۶/۳۳g	۲۴/۱۲d

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت غیرمعنی دار بین آن‌هاست.

در ارزیابی اثر متقابل عصاره گیاهی و غلظت عصاره در میزان فلاونوئید نیز مشخص شد که در غلظت‌های پایین عصاره (۱۶ و ۳۲) بیشترین میزان فلاونوئید از آن عصاره آویشن کوهی بود اما اختلاف معنی داری بین مریم گلی، درمنه، بنه و آویشن کوهی در غلظت ۱۶ مشاهده نشد و در غلظت بالا (۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) بیشترین مقدار متعلق به عصاره آویشن کوهی و سپس مریم گلی بود (جدول ۵).

جدول ۵: ارزیابی اثر متقابل غلظت و عصاره‌های مختلف گیاهی بر میزان فلاونوئید

عصاره گیاهی	۱۶	۳۲	۴۰
آویشن کوهی	۸۵/۴۳k	۱۳۶/۸۱h	۱۷۴/۹۸c
درمنه	۸۷/۳k	۱۵۱/۴۸f	۱۸۸/۶۸a
مریم گلی	۸۶/۵۲k	۱۴۴/۱۵g	۱۸۲/۱۸b
بنه	۸۳/۴k	۱۲۵/۷۳i	۱۶۶/۹۲d
بابونه	۶۶/۶l	۱۱۵/۱۰۸j	۱۶۱/۱۳e

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت غیرمعنی دار بین آن‌هاست

بیشتر شده است (جدول ۳). اثر متقابل غلظت و عصاره گیاهی در به دام اندازی رادیکال‌های آزاد نیز مشخص شد که در غلظت‌های پایین عصاره (۱۶ و ۳۲). بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی از آن عصاره درمنه بود و همچنین در غلظت بالا (۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) بیشترین فعالیت متعلق به عصاره درمنه و سپس آویشن کوهی و مریم‌گلی بود (جدول ۶).

نتایج آزمون مقایسه میانگین اثرات ساده عصاره‌های گیاهی نشان داد که، عصاره درمنه (میانگین ۷۲/۰۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) بیشترین عصاره بابونه (میانگین ۵۶/۰۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) کمترین نقش را داشتند. در بین غلظت‌های مختلف عصاره، مؤثرترین غلظت، غلظت ۴۰ و کم‌اثرترین غلظت ۱۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود و با افزایش غلظت عصاره فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها نیز

جدول ۶: ارزیابی اثر متقابل غلظت و عصاره‌های مختلف گیاهی بر میزان مهار رادیکال‌های آزاد

غلظت‌های مورد استفاده از هر عصاره (میکروگرم در میلی‌لیتر)			عصاره گیاهی
۴۰	۳۲	۱۶	
۹۵/۹۸a	۷۰/۵۶e	۴۹/۴۹h	آویشن کوهی
۹۴/۳۱b	۶۹/۴۵f	۴۸/۴۵i	درمنه
۹۳/۴۲b	۶۹/۰۱f	۴۸/۰۴i	مریم‌گلی
۹۲/۳c	۶۷/۸۹g	۴۷/۴۹i	بنه
۹۰/۳d	۶۷/۲۲g	۴۶/۴۱j	بابونه

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت غیرمعنی‌دار بین آن‌هاست

آورده شده است. با توجه به نتایج تمامی اثرات مورد بررسی در سطح یک درصد معنی‌دار بودند.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر گیاه، غلظت و اثر متقابل گیاه در غلظت بر قطر هاله عدم رشد باکتری استافیلوکوکوس و باکتری اشرشیاکلی در جدول ۷

جدول ۷: نتایج تجزیه واریانس غلظت و عصاره‌های مختلف گیاهی بر قطر هاله عدم رشد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی

منابع تغییر	درجه آزادی	استافیلوکوکوس اورئوس	اشرشیاکلی
گیاه	۴	۱/۳۸**	۱/۳**
غلظت	۲	۴/۹۸**	۴/۱۵**
گیاه × غلظت	۸	۰/۱۲**	۰/۱۵**
خطا	۳۰	۰/۰۴۴	۰/۰۵۶
ضریب تغییرات	-	۹/۰۷	۳/۲۷

ns، * و **: به ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار، اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۵ و ۱ درصد

عصاره‌های بنه و بابونه در مهار باکتری استافیلوکوکوس مشاهده نشد و در بین غلظت‌های مورد استفاده عصاره، به ترتیب غلظت ۴۰ مؤثرترین و غلظت ۱۶ میلی‌گرم در سی‌سی متانول کم‌اثرترین بود (جدول ۸).

بر اساس نتایج مقایسه میانگین اثر عصاره گیاهی بر قطر هاله عدم رشد باکتری استافیلوکوکوس، آویشن کوهی با میانگین ۱/۶۹ بیشترین و عصاره بنه با میانگین ۰/۷۳ سانتی‌متر قطر هاله کمترین تأثیر را نشان دادند. همچنین اختلاف معنی‌داری بین

جدول ۸: مقایسه میانگین اثرات ساده غلظت و عصاره‌های گیاهی بر قطر هاله عدم رشد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اش‌ریشیا کلی

تیمارها	استافیلوکوکوس اورئوس	اش‌ریشیا کلی
گیاه		
بنه	۰/۷۳ d	۰/۶۲ c
آویشن کوهی	۱/۶۸ a	۱/۰۸ b
مریم گلی	۱/۰۹ c	۰/۹۲ b
درمنه	۱/۳ b	۱/۵۱ a
بابونه	۰/۷۹ d	۰/۵۷ c
غلظت عصاره		
غلظت ۱۶	۰/۶ c	۰/۴۶ c
غلظت ۳۲	۱/۰۲ b	۰/۸۴ b
غلظت ۴۰	۱/۷۴ a	۱/۵ a

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت غیرمعنی‌دار بین آن‌هاست

و کمترین بودند. در مقایسه اثر عصاره‌های گیاهی با آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده مشخص شد که عصاره آویشن کوهی نسبت به آمپی‌سیلین بر باکتری استافیلوکوکوس اثر مثبت داشته است (جدول ۹).

با بررسی نتایج اثر متقابل عصاره گیاهی در غلظت، غلظت ۴۰ میلی‌گرم در سی‌سی متانول عصاره آویشن (میانگین ۲/۶۶ سانتی‌متر) و غلظت ۱۶ میلی‌گرم در سی‌سی متانول عصاره بنه (میانگین ۰/۳ سانتی‌متر قطر هاله عدم رشد) به ترتیب بیشترین

جدول ۹: ارزیابی اثر متقابل غلظت و عصاره‌های مختلف گیاهی بر قطر هاله عدم رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

عصاره گیاهی	۱۶	۳۲	۴۰
آویشن کوهی	۰/۸۴efg	۱/۲۳de	۱/۹۶b
درمنه	۰/۹۶efg	۱/۴۳cd	۲/۶۶a
مریم گلی	۰/۵۶ hi	۱/۰۶def	۱/۶۳bc
بنه	۰/۳ i	۰/۶۶ghi	۱/۲۳de
بابونه	۰/۴۶hi	۰/۷fgh	۱/۲de

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت غیرمعنی‌دار بین آن‌هاست

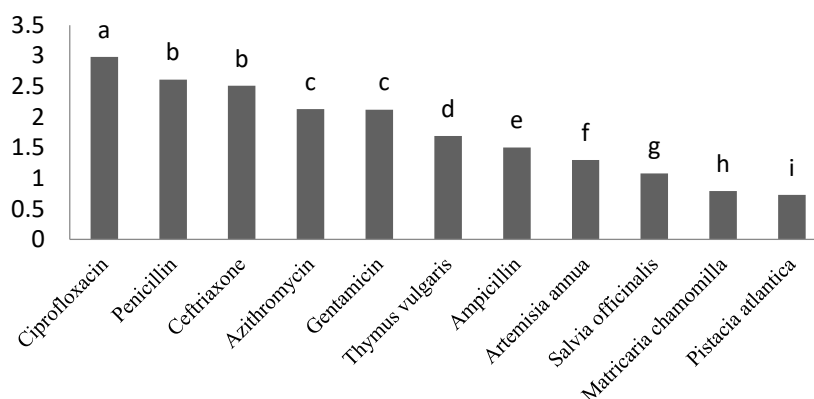
بیشترین و عصاره بابونه با میانگین ۰/۵۷ سانتی‌متر قطر هاله کمترین تأثیر را نشان دادند هرچند که اختلاف معنی‌داری بین عصاره آویشن با عصاره مریم گلی و عصاره بابونه با عصاره بنه بر قطر هاله عدم رشد باکتری اش‌ریشیا کلی مشاهده نگردید و در بین غلظت‌های مورد استفاده عصاره، به ترتیب غلظت ۴۰ مؤثرترین و غلظت ۱۶ میلی‌گرم در سی‌سی متانول کم

در مقایسه اثر عصاره‌های گیاهی با برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها، بر میزان قطر هاله عدم رشد باکتری استافیلوکوکوس مشخص شد که عصاره آویشن کوهی نسبت به آمپی‌سیلین بر باکتری استافیلوکوکوس اثر مثبت داشته است (شکل ۱).

بر اساس نتایج مقایسه میانگین اثر گیاه بر قطر هاله عدم رشد باکتری اش‌ریشیا کلی، درمنه با میانگین ۱/۵۱

میلی‌گرم در سی‌سی متانول عصاره بابونه (میانگین ۰/۵۷ سانتی‌متر قطرهایه عدم رشد) به ترتیب بیشترین و کمترین بودند (جدول ۱۰).

اثرترین بود (جدول ۸). با بررسی نتایج اثر متقابل گیاه در غلظت، غلظت ۴۰ میلی‌گرم در سی‌سی متانول عصاره درمنه (میانگین ۲/۴۶ سانتی‌متر) و غلظت ۱۶



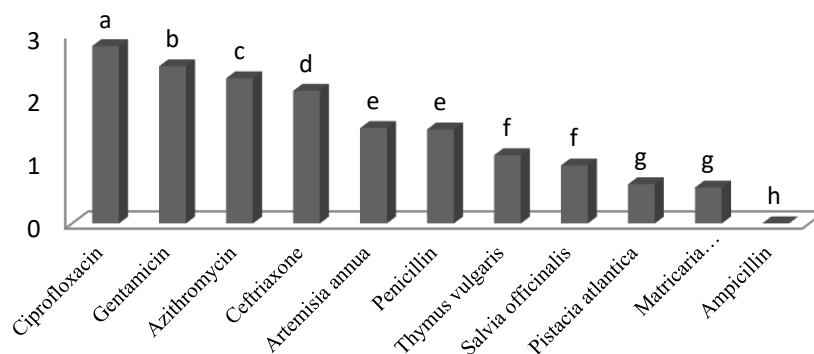
شکل ۱: مقایسه میانگین قطرهایه عدم رشد عصاره‌ها و آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

جدول ۱۰: ارزیابی اثر متقابل کلی و غلظت‌های مختلف عصاره گیاهی

غلظت‌های مورد استفاده از هر عصاره (میکروگرم در میلی لیتر)			عصاره گیاهی
۴۰	۳۲	۱۶	
۲/۴۶a	۱/۳bc	۰/۷۶de	اویشن کوهی
۱/۶۶b	۱/۱cd	۰/۵ef	درمنه
۱/۳۶bc	۰/۹cd	۰/۴ef	مریم گلی
۱/۰۱cd	۰/۵۳ef	۰/۳۳ef	بنه
۱/۰۳cd	۰/۴۳ef	۰/۲۶f	بابونه

آمپی‌سیلین و پنی‌سیلین بر باکتری استافیلوکوکوس اثر مثبت داشته است (شکل ۲).

در مقایسه اثر عصاره‌های گیاهی با برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها، بر میزان قطرهایه عدم رشد باکتری اش‌ریشیا مشخص شد که عصاره درمنه نسبت به



شکل ۲: مقایسه میانگین قطرهایه عدم رشد عصاره‌ها و آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بر باکتری اش‌ریشیا

بحث

مورد مطالعه داشت که نتایج آن‌ها با نتایج مطالعه حاضر مطابقت داشت، این در حالی است که در مطالعه آن‌ها بیشترین میزان ترکیبات فلاونوئیدی از آن عصاره هیدروالکلی بابونه بود، اما بر اساس نتایج این تحقیق کمترین میزان ترکیبات فلاونوئیدی از آن عصاره بابونه بود، که این تفاوت ممکن است ناشی از تأثیر شرایط آب و هوایی محل کاشت بر میزان ترکیبات فنولی در پیکره گیاهان باشد (Mazaraie et al., 2018).

نتایج این مطالعه نشان داد که با افزایش غلظت ترکیبات فنولی خواص آنتی‌اکسیدانی گونه‌ها افزایش یافت به طوری که بیشترین میزان آنتی‌اکسیدانی مربوط به گونه درمنه با بیشترین میزان ترکیبات فنولی بود. وجود مقادیر بالاتری از ترکیبات فنولی در عصاره با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالای آن مرتبط است (Thiand Hwang, 2014) به طوری که با افزایش غلظت ترکیبات فنولی تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش افزایش می‌یابد، در نتیجه احتمال دادن هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد (Mazaraie et al., 2018). مازندزانی و همکاران (Mazandarani et al., 2011) و لوتزا و همکاران (Lutza et al., 2011) بیان کردند بالا بودن ترکیبات فنولی دلیل عمده فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها است که تأییدی بر نتایج مطالعه فوق می‌باشد.

در مطالعه‌ای میزان فنول در بین عصاره‌های مختلف میوه بنه معادل ۱۳۴-۷۷ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره بود و عصاره متانولی دارای بیشترین و عصاره دی اتیل اتر دارای کمترین مقدار بود. همچنین بیشترین میزان فلاونوئید در عصاره متانولی و کمترین میزان آن در عصاره دی اتیل اتر مشاهده شد (Mirzaei et al., 2013). میزان فنول و فلاونوئید عصاره متانولی صمغ بنه سراوان برابر mg

بر اساس نتایج این تحقیق، بین عصاره‌های مختلف گیاه‌ها نظر میزان موافنلی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اختلاف معنی‌داری وجود دارد به طوری که در بین عصاره‌ها حداکثر میزان فنل مربوط به عصاره درمنه بود در حالی که بیشترین میزان ترکیبات فلاونوئیدی با میانگین $142/59$ (میلی گرم در میلی لیتر) مربوط به عصاره آویشن کوهی بود. این اختلاف بین عصاره‌های گیاهی مورد بررسی از نظر مقدار ترکیبات بر اساس نظر مزارعی و همکاران (Mazaraie et al., 2018) ممکن است تحت تأثیر تفاوت‌های ژنتیکی، اختلافات آب و هوایی و جغرافیایی مانند ارتفاع در مناطق مختلف باشد و این نشان‌دهنده تأثیر این عوامل بر میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی کل گیاهان دارویی است. بنابراین تفاوت در میزان این ترکیبات در مطالعه حاضر نیز می‌تواند ناشی از عوامل ذکر شده باشد (Hakkinen and Terronen, 2000).

در مطالعه (Mirzaei et al., 2010) میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره هیدروالکلی بابونه به ترتیب 78 و $38/2$ میلی‌گرم اسیدگالیک در گرم عصاره بود. در تحقیقاتی، میزان فلاونوئید عصاره متانولی اندام‌های هوایی درمنه، برابر با $12/4 \pm 0/06$ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره (Mahmoudi et al., 2009) و میزان فنول عصاره متانولی اندام‌های هوایی درمنه (Motevasel et al., 2015) برابر با $1/4$ تا $2/3$ میکروگرم بر صد میکروگرم عصاره گزارش شده است.

نتایج میرزایی و همکاران (Mirzaei et al., 2010) در ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنول و فلاونوئید تام درمنه، بابونه و بومادران نشان داد که عصاره هیدروالکلی درمنه بیشترین میزان فنول تام و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در مقایسه با سایر گیاهان

کنند، ترکیباتی با قابلیت آنتی‌اکسیدانی‌اند. بر این اساس مدل به دام اندازی رادیکال پایدار DPPH برای ارزیابی توانایی به دام اندازی رادیکال آزاد در نمونه‌های گوناگون استفاده می‌شود (Lee et al., 2012). در تحقیقی که در گیاه زولنگ (Eryngium caucasicum) از نظر میزان اسیدهای فنولی، فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در غلظت‌های مختلف انجام شد، مشخص گردید که توانایی عصاره‌ها در مهار رادیکال‌های آزاد وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت فعالیت ضدرادیکالی آن‌ها افزایش می‌یابد و از طرفی عصاره متانولی توانایی بالاتری نسبت به عصاره اتانولی در استخراج ترکیبات فلاونوئیدی و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی برخوردار بود (Mahunak sadeghi et al., 2014).

گزارش شده که فعالیت آنتی‌اکسیدانی با خاصیت ضد میکروبی هم‌بستگی مثبتی دارد (Amzad Hossain and Dawood Shah, 2015) و اصولاً خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با افزایش غلظت ترکیبات فنول کل زیاد شده (Fazli et al., 2013) و این توانایی بستگی به تعداد حلقه‌های آروماتیکی و ماهیت گروه‌های جابه‌جا شونده هیدروکسیل دارد به طوری که 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 افزایش می‌یابد (Babaa and Malik, 2015).

در تحقیق حاضر عصاره متانولی درمنه و سپس آویشن کوهی بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و متعاقباً بیشترین خاصیت ضد میکروبی نسبت به گیاهان مریم‌گلی، بنه و بابونه از خود نشان دادند که با نتایج ارائه شده مطابقت داشت. ضمناً نتایج آزمون DPPH نشان داد که توانایی عصاره‌های

mg Quercetin/g و $7/0 \pm 0/15$ Galic acid/g DW Azizianshermeh et () گزارش شد $1/34 \pm 0/13$ DW (al., 2016).

مطالعات مختلف نشان می‌دهد که گونه‌های مختلف سالویا با داشتن مقادیر بالای ترکیبات فنولی همواره به عنوان یکی از مهمترین منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد توجه و مطالعه بوده‌اند (Farhat et al., 2013). مطالعه امیری (Amiri, 2012) بر روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی و اسانس گونه‌ای (*Salvia multicaulis*) از مریم‌گلی نشان داد که فعالیت عصاره در جمع‌آوری رادیکال‌های DPPH بیشتر از اسانس بوده اما فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن از فعالیت آنتی‌اکسیدانی BHT کمتر بوده است. نتایج مطالعه‌ی یزدی‌نژاد و ملک‌زاده (Yazdi Nezhad and Malekzadeh, 2014) بر روی گونه *viridis Salvia* نشان داد که میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و IC50 (بیانگر غلظتی از نمونه که می‌تواند ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH اولیه موجود در محیط را احیا نماید) به ترتیب $272/2$ (میلی گرم اسید گالیک در گرم نمونه خشک)، $187/3$ (میلی گرم کوئرستین در گرم نمونه خشک) و $35/7 \pm 1/45$ (میلی گرم برمیلی لیتر) بود. در حالی که در این تحقیق میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و میزان به دام اندازی رادیکال‌های آزاد گونه *Salvia officinalis* مورد مطالعه به ترتیب $19/32$ ، $137/61$ و $70/15$ ارزیابی شد. بررسی‌های زیادی بر روی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره‌های مختلف بسیاری از گونه‌های سالویا صورت گرفته است که نتایج این بررسی‌ها نشان می‌دهد در اغلب موارد این گونه‌ها دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی می‌باشند (Kelen and Tepe, 2008). ترکیباتی که رنگ رادیکال آزاد DPPH را با گرفتن هیدروژن یا الکترون از رنگ ارغوانی به زرد تبدیل

باکتری‌ها از جمله استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سوبتیلیس، پروتئوس میرابیلیس کلسیلا پنو- مونیبا، دارای اثرات ضد میکروبی است.

تأثیر مثبت عصاره متانولی درمنه بر روی اشریشیاکلی و اثر متقابل عصاره با غلظت بر باکتری اشریشیاکلی و باکتری‌های گرم منفی (Sefidkon et al., 2013) و تأثیر مثبت عصاره‌های استخراجی آبی (Nasirpour et al., 2016) اتانولی و کلروفومی درمنه (Fabien et al., 2013) و همچنین اثر مهارکنندگی بیشتر اسانس درمنه در مطالعات گذشته گزارش شده است (Sharifan et al., 2014). نتایج حاصل از مطالعه مسیحا و همکاران (Messiha et al., 2013) نشان داد که هاله عدم رشد عصاره متانولی درمنه بر روی باکتری اشریشیاکلی حدود ۱۴ میلی‌متر بود. همچنین هاله عدم رشد در مورد استافیلوکوکوس اورئوس حدود ۱۰ میلی‌متر مشاهده گردید و همچنین اثرات ضد میکروبی اسانس درمنه مشخص کرد که میزان MIC و MBC اسانس در غلظت ۳۲ میکروگرم در میلی‌لیتر بر باکتری اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس به ترتیب ۰/۰۱۷ و ۰/۰۲۴، ۰/۰۳۳ و ۰/۰۷۳ میکروگرم در میلی‌لیتر بود.

در تحقیق حاضر نتایج حاصله از تأثیر عصاره متانولی آویشن کوهی و درمنه بر باکتری اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس نیز نشان داد که مشابه سایر تحقیقات انجام شده عصاره آویشن کوهی بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و عصاره درمنه بر اشریشیاکلی مؤثر بود. با توجه به نتایج این مطالعه مشخص گردید که عصاره متانولی مریم‌گلی بر باکتری اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس مؤثر بوده و با افزایش غلظت تأثیر معنی‌داری نشان داده، هرچند نسبت به عصاره متانولی بنه و بابونه در مهار رشد باکتری اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس مؤثرتر بوده اما در مهار باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نسبت عصاره متانولی آویشن و درمنه کم

گونه‌های درمنه، آویشن کوهی، مریم‌گلی، بنه و بابونه در مهار رادیکال‌های آزاد به غلظت عصاره‌ها بستگی دارد و با افزایش غلظت فعالیت ضد رادیکالی آن‌ها افزایش می‌یابد. نتایج این تحقیق، نتایج مطالعات قبلی را مبنی بر این که با افزایش غلظت عصاره میزان ترکیبات فنولی افزایش می‌یابد (Bahrami et al., 2011) را تأیید می‌کند. نتایج سایر پژوهشگران نیز نشان داد که وجود مقادیر بالاتری از ترکیبات فنولی در عصاره با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالای آن مرتبط است (Thi and Hwang, 2014). نتایج تحقیق حاضر با نتایج سان و همکاران (Sun et al., 2011) همخوانی دارد. این محققین گزارش نمودند که فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH عصاره‌های گیاهی وابسته به غلظت است و با افزایش غلظت مهارکنندگی شدت می‌یابد.

در مطالعه‌ای مصحفی و همکاران (Mashafi et al., 2007) گزارش کردند که عصاره متانولی آویشن بر روی باکتری استافیلوکوکوس تأثیر مثبت داشته ولی اسانس آن اثر مهارکنندگی بیشتری نشان داده است. ضمناً تأثیر مثبت عصاره‌های استخراجی الکلی (Yadegari et al., 2010)، اتانولی (Motevaselet et al., 2015) و هیدروالکلی (Zakerin et al., 2016) آویشن بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و هم‌چنین اثر متقابل عصاره با غلظت (Aoliea et al., 2007) و تأثیر بیشتر عصاره آویشن بر باکتری‌های گرم مثبت (Zakerin et al., 2016) گزارش شده است. نتایج بررسی (Rasooliand Rezaei, 2002) بر اثرات ضد میکروبی اسانس آویشن علیه استافیلوکوکوس اورئوس نشان داد که اسانس در روش دیسک دیفیوژن تا رقت ۱ به ۲۴ دارای اثر ضد میکروبی است. در مطالعه دیگری که توسط جاویدنیا (Gavidniea, 1998) با روش دیسک دیفیوژن صورت گرفت نیز، مشخص گردید که اسانس آویشن شیرازی بر برخی از

به آویشن، مریم‌گلی و درمنه کم اثر تر بود. در گزارشی رانی و همکاران (Rani et al., 2011) اثر ضد میکروبی اسانس بابونه را علیه سه سوشمیکروبی بررسی کردند و اظهار نمودند که این گیاه‌ها ضد میکروبی داشته و می‌تواند برای مقابله با میکروب‌های بیماری‌زای خاص مورد استفاده قرار گیرد. در تحقیقاتی اثر ضد میکروبی اسانس (Kapadia and Talib, 2000) بر باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، سراسشیا مارسنس، اشرشیاکلی و عصاره بابونه (Imelouane et al., 2009) بر باکتری اشرشیاکلی و لیستریا مونوسیتوجنز بررسی و نتایج نشان داد که عصاره و اسانس بابونه باعث مهار رشد باکتری‌های فوق شد. همچنین نتایج مطالعه سلامکی و همکاران (Salamci et al., 2007) نشان داد که عصاره بابونه دارای فعالیت‌های ضد میکروبی علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی است که نتایج این تحقیق نیز حاکی از اثر مهارکنندگی عصاره بابونه بر روی باکتری‌های مورد مطالعه بود.

نتیجه‌گیری نهایی

در این مطالعه با توجه به نتایج به دست آمده از ارزیابی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهان مختلف استخراج شده، می‌توان گفت گیاهانی که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی هستند خاصیت ضد میکروبی بالایی نیز دارند به طوری که مشخص شد عصاره درمنه و سپس آویشن کوهی که دارای بالاترین میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده به همان ترتیب مؤثرترین عصاره بر باکتری‌های مورد آزمایش بودند، به طوریکه مؤثرترین عصاره بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس عصاره آویشن کوهی و بر باکتری اشرشیاکلی عصاره درمنه بود.

اثر تر بود. در حالی که در مهار رشد باکتری اشرشیاکلی بعد از عصاره درمنه بیشترین تأثیر از آن مریم‌گلی و آویشن بود. اثر وسیع آنتی‌باکتریال و ضدقارچ مریم‌گلی بر طیف وسیعی از باکتری‌ها مانند سودوموناس و اسپرژیلوس و کاندیدا گزارش شده است (Arami et al., 2011). گزارش شده است که مریم‌گلی (*S.officinalis*) دارای خاصیت ضد میکروبی است (Chen et al., 2006). در تحقیقاتی اثر ضد میکروبی عصاره مریم‌گلی بر باکتری استافیلوکوکوس (Morello et al., 2004) و اسانس آن بر باکتری اشرشیاکلی (Salimpour et al., 2013) مورد بررسی قرار دادند و بیان کردند که عصاره و اسانس مریم‌گلی بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی مؤثر بوده که در این تحقیق نیز نتایج مشابه برای عصاره مریم‌گلی حاصل شد.

اما با توجه به نتایج این مطالعه با افزایش غلظت عصاره بنه تأثیر معنی‌داری بر قطر هاله عدم رشد باکتری‌های اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس مشاهده شد اما نسبت به آویشن، درمنه و مریم‌گلی کمتر بوده است. در تحقیقاتی اثر ضد میکروبی اسانس بنه (Mortazavi et al., 2014) و عصاره (Hanafi et al., 2015) بر برخی از باکتری‌های بیماری‌زای گرم مثبت و گرم منفی از قبیل استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی مورد بررسی قرار دادند و بیان کردند که عصاره و اسانس بنه بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی مؤثر بوده و با افزایش غلظت، عصاره و اسانس تأثیر معنی‌داری داشته‌اند که در تحقیق حاضر نیز عصاره بنه فعالیت ضد میکروبی تقریباً یکسانی بر هر دو باکتری مورد مطالعه (گرم مثبت و منفی) دارا بود که با نتایج قبلی مطابقت داشت.

در این مطالعه عصاره متانولی بابونه بر باکتری اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس مؤثر بوده و با افزایش غلظت تأثیر معنی‌داری نشان دادند اما نسبت

References

1. Aali, E., Mahmoudi, R., Kazeminia, M., Hazrati, H. and Azarpey, F. 2017. Essential oils as natural medicinal substances: review article. Tehran University Medical Journal, 75(7): 480-489. (In Persian)
2. Alamhulu, H. and Nazeri, S. 2014. Investigation of antibacterial and antioxidant activities of alcoholic extracts of flower and root of *Dendrostellera Lesserti* on Some Human Pathogenic Bacteria. Scientific Journal of Hamadan University of Medical Sciences, 21(4): 277-285. (In Persian)
3. Amiri, H. 2012. Investigation of chemical compounds and antioxidant activity of essential oil and methanolic extracts of *Salvia multicaulis*, Journal of Medicinal Plant, 8: 111-117. (In Persian)
4. Amzad Hossain, M. and Dawood Shah, M.A. 2015. Study on the total phenols content and antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of endemic plant *Merremia borneensis*. Arabian Journal of Chemistry, 8: 66-71. (In Persian)
5. An-Jun, L., Yue-wie, W., Zen-zyan, Z., Yan, W. and Ying, C. 2010. Extraction and antimicrobial activities of polysaccharide from walnut kernel pellicle. Modern Food Science and Technology, 26(4): 160-5.
6. Aoliea, P., Saderi, H., Nieazm Matloub, F. and Rezaie, M.H. 2007. The effect of antibacterial alcohol extract of Thyme on *Staphylococcus aureus*. Quarterly Scientific - Research Medicinal and Aromatic Plants of Iran, 22(1): 22-26. (In Persian)
7. Aparicio, R., Roda, L., Albi, M.A. and Gutierrez, F. 1999. Effect of various compounds on virgin olive oil stability measured by Rancimat. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47: 4150-4155.
8. Arami, S., Kermanshah, H., Hashemi, S. S., Mersalehyan, A., Kamalinazhad, M., Karimi, M. and Jabal Ameli, F. 2011. Antibacterial effect of hydroalcoholic extract of *Salvia Officinalis* and *Menta Longifolia* on three bacteria causing dental caries under laboratory conditions. Journal of Dental School, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, 28(4): 232-237. (In Persian)
9. Azizian Shermeh, A., Valizade, G. and Sadeghi, Z. 2016. The Assessment of phenol, total flavonoids and antioxidant activity of plant gum mastic (*Pistacia atlantica*) in the region of Saravan (Sistan and Baluchistan). Aco-Phytochemical Journal of Medicinal Plants, 3(2): 18-27. (In Persian)
10. Babaa, S.A. and Malik, S.A. 2015. Determination of total phenolic and flavonoid content, antimicrobial and antioxidant activity of a root extract of *Arisaema jacquemontii* Blume. Journal of Taibah University for Science, 9: 449-454.
11. Bahrami, M., Moshtaghian, S.J., Mahzoni, P., Adibi, S. and Kazemi, S. 2011. The effects of hydroalcoholic extract of *Artemisia Aucheri* on bleomycin induced pulmonary fibrosis in rats. Journal Shahrekord University Medicinal Science, 12 (4): 33-40. (In Persian)
12. Burits, M. and Bucar, F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. Phytotherapy Research, 14: 323-328.
13. Canillac, N. and Mourey, A. 2001. Antibacterial activity for the essential oil of picea excelsa on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. Food Microbiol, 18: 261-8.
14. Carta, C., Moretti, M.D. and Peana, A.T. 1996. Activity of oil *Salvia officinalis* against *Botrytis cinerea*. Journal of Essential Oil Research, 8: 399-404.
15. Chang, Y.L., Kim, D.O., Lee, K.W., Lee, H.J. and Lee, C.Y. 2002. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. Journal of Agricultural and food chemistry, 50(13): 3713-3717.
16. Fabien, J., Masottia, V. and Marie Bessie, J. 2002. Antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia annua* essential oil. Journal Fitoterapia, 73(6): 532-535.
17. Falleh, H., Ksouri, R., Lucchessi, M-E., Abdelly, Ch. and Magné, Ch. 2012.

- Ultrasound-assisted extraction: effect of extraction time and solvent power on the levels of polyphenols and antioxidant activity of *Mesembryanthemum edule* L. Aizoaceae shoots, *Journal of Pharmacy Research*, 11(2): 243-249.
18. Farhat, M.B., Landoulsi, A., Chaouch-Hamada, R., Sotomayor, J.A. and Jordn, M.J. 2013. Characterization and quantification of phenolic compounds and antioxidant properties of *Salvia species* growing in different habitats. *Industrial Crops and Products*, 49: 904-14.
 19. Fazeli-Nasab, B., Rahnema, M. and Mazaraie, A. 2017. Correlation between Antioxidant activity and antibacterial activity of nine medicinal plant extracts. *Mazandaran University of Medical Sciences*, 27 (149): 63-78. (In Persian)
 20. Fazli, R., Nazarnezhad, N. and Ebrahimzadeh, M.A. 2013. Evaluation of phenols and flavonoids and antioxidant activity of the bark of beech, hornbeam, and pine. *Journal of the forest and wood products*, 66(3): 339-342. (In Persian)
 21. Gavidniea, K. 1998. Identification of compounds in essential oils *Zataria multiflora*, *Ziziphora tenuis*, *Matricaria decipiens* and effects their antimicrobial. Thesis School of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences. (In Persian)
 22. Hakkinen, SH. and Torronen, A.R. 2000. Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and vaccinium species: Influence of Cultivar, Cultivation Site and Technique. *Food Research International*, 33: 517-524.
 23. Hanafi, Gh. M., Darvishi, N., darvishi, N., Sayedin Ardabili, S.A. and Mer ahmadi, F. 2014. Effects of antimicrobial essential oils Wild pistachio on bacteria *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Clostridium Asporozhenz*. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*, 17(1): 1-11.
 24. Harborne, J.B. 1998. Phytochemical methods: aguide to modern techniques of plant analysis. 3ed ed. London Thomson science, P: 5-8.
 25. Holley, R.A. and Patel, D. 2005. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Journal Food Microbiology*, 22(4): 273-92.
 26. Imelouane, B., Elbachiri, A. and Benzeid, S. 2009. Physico-Chemical compositions and antimicrobi alactivity of essential oil of *Matricaria chamomilla* L. *International Journal of Agricultural and Biological*, 11(4): 113-8.
 27. Jafari, R., Manochehri Kalantari, Kh. and Ahmadi Mousavi, A. 2007. Effect of paclobutrazol on accumulation of antioxidants in tomato seedlings under cold stress. *Iranian Journal of Biology*, 20: 206-216. . (In Persian)
 28. Jahan, N., Khatoon, R., Shahzad, A., Shahid, M. and Ahmad, S. 2013. Comparison of antibacterial activity of parent plant of *Tylophoraindica* Merr. With its in vitro raised plant and leaf callus. *African Journal of Biotechnology*, 12(31): 4891 4896.
 29. Kapadia, L. and Talib, B. 2000. Antibacterial activity of the essential oil of (*Matricaria chamomilla* L.). *Journal Science Researcher*, 85(5): 116-120
 30. Kelen, M. and Tepe, B. 2008. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Biotechnology Pharmacal*, 99: 4096-4104.
 31. Khalaji, S. Zaghari, M., Hatami, K., Hedari-Dastjerdi, S., Lotfi, L. and Nazarian, H. 2011. Black cumin seeds, *Artemisia* leaves (*Artemisia sieberi*), and *Camellia* L. plant extract as phytogetic products in broiler diets and their effects on performance, blood constituents, immunity, and cecal microbial population. *Journal of Poultry Science*, 90(11): 2500-2510.
 32. Khalili1, M. Ebrahimzadeh, M.A. 2014. A review on antioxidants and some of their common evaluation Methods. *Mazandaran University of Medical Sciences*, 24(120): 188-208. (In Persian)
 33. Kotzé, M., Eloff, J. N. and Houghton, P.J. 2002. Extraction of antibacterial compound from *Combretum*

- microphyllum*. South African Journal of Botany, 68(1): 62-67
34. Lee, S.E., Hwang, H.J., Ha, J.S., Jeong, H.S. and Kim, J.H. 2012. Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity. Life Sciences, 73: 167-179.
35. Lutz, M., Henri 'quez, C. and Escobar, M. 2011. Chemical composition and antioxidant properties of mature and baby artichokes (*Cynara scolymus*), raw and cooked. Journal Food Composition. Analysis, 24: 49-54
36. Mahdavi, D. L., Deshpande, S. and Salunkhe, D.K. 1995. Food Antioxidant. Marcel Dekker Inc., New York, USA. 746p. (In Persian)
37. Mahmoudi, M., Ebrahimzadeh, M.A., Ansaroudi, F., Nabavi, S.F. and Nabavi, S.M. 2009. Antidepressant and antioxidant activities of *Artemisia absinthium* L. at flowering stage. African Journal of Biotechnology, 8(24): 7170-7175.
38. Mahunak sadeghi, A.R., Salmanian, Sh., Jamsun, M. and Tabatabai Amid, B. 2014. Identify and measure the phenolic acids, radical scavenging activity and reducing power iron methanol and ethanol extracts Zulang (*Eryngium caucasicum* Trautv). Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology, 2 (2): 193-204. (In Persian)
39. Mashafi, M.H., Mansuri, Sh., Sharifinia, F. and Khoshnodi, M. 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of methanol extracts of thyme. Journal of Kerman University of Medical Sciences, 14 (11): 33-43. (In Persian)
40. Masterova, I., Miskova, E., Sirotkova, L., Vaverkova, S. and Ubik, K. 1996. [Royleanones in the roots of *Salvia officinalis* L. of domestic provenance and their antimicrobial activity]. Ceska Slov Farm Journal Articles, 45(5): 242-245.
41. Mazandarani, M., Makri, S. and Bajian, G.R. 2011. Evaluation of phytochemical and antioxidant activity in different parts of *Heracleum gorganicum* Rech. F. in Golestan Province, north of Iran. - Journal Plant Physiology. 2: 381-388. (In Persian)
42. Mazaraie, A., Mousavi-Nik, S.M. and Fahmideh, L. 2018. Assessments of phenolic, flavonoid and antioxidant activity of aqueous, alcoholic, methanol and acetone extracts of thirteen medicinal plants. Nova Biologica Reperta, 4 (4): 299-309. (In Persian)
43. Messiha, A.R., Khoshkholgh, M.R., Issazadeh, Kh., Bidarigh, S. and Zarrabi, S. 2013. Effects activity antibacterial of essential oils and extracts of *Artemisia annua* In vitro. Journal of Research in Medical Sciences, 15 (6): 47-52. (In Persian)
44. Mirzaee, A., Manteghian, A., Bahrebar, A., and Bahrebar, M. 2013. The Antioxidant activity in vitro and in vivo for mastic extract in rats. Journal of Medical Science Research, 17(6):540-551.
45. Mirzaei, A., Akbartabartori, M., Sadeghi, H. and Sharifi, B. 2010. The evaluation of total phenol and antioxidant activity yarrow, wormwood and chamomile. Journal of Armaghane Danesh, 15(3): 243-252. (In Persian)
46. Modarres Sanavi, S.A.M., Izadi, Z., Sorooshzadeh, A., Esna-Ashari, M. and Davoodi, P. 2012. Antimicrobial activity of chamomile (*Matricaria chamomilla*) and fever few (*Tanacetum parthenium*). Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal, 18(1): 31-43. (In Persian)
47. Morello, J.R., Motilva, M.J., Tovar, M.J. and Romero, M.P. 2004. Changes in commercial virgin olive oil during storage, with special emphasis on the phenolic fraction. Food chemistry, 85: 357-364.
48. Mortazavi, S.H., Azadmard damirchi, S., Suoti, M., Mahmoudi, R., Safaeian, F. and Moradi, S. 2015. Effects of antimicrobial ethanol extract of Shell and kernel Wild pistachio. Journal of Science and New Technologies Food, 1(4): 81-88.
49. Motevasel, M., Akhvat, M.A., Zomorodian, A. and Farshad, Sh. 2015. Effects antibacterial extract of thymus on *Staphylococcus aureus* methicillin-resistant. Medical Journal Bushehr University of Medical Sciences and

- Health Services, 17(5): 900-906.(In Persian)
50. Mour, A., Sruz, G.M., Franco, D. and Dominguez, J. 2001. Natural antioxidant from residual sources. Food chemistry, 72: 145-171.
51. Mozdastan. S., Ebrahimzadeh, M.A. and Khalili, M. 2015. Comparing the impact of different extraction methods on antioxidant activities of *Myrtus communis*. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences, 25 (127):10-24. (In Persian).
52. Nasirpour, M., Yavrmanesh, M., Mohammadi Sanavi, A. and Mohammad Zadeh Moghaddam, M. 2016. Effect of Antibacterial *Artemisia aucheri*, *Artemisia sieberi* and *Hyssopus officinalis* on some pathogenic bacteria originating from food. Journal of Food Science and Technology, 46 (12): 73-84.
53. Ordone, A.L., Gomez, J.D. and Vattuone, M.A. 2008. Antioxidant activities of *Sechium edule* swartz extracts. Food Chemistry, 97: 452-458.
54. Rani, M., Ozguven, M. and Kirici, A. 2011. The effects of some Herb's essential oils on some microbes. Journal Medicinal Plants, 6(20): 3525-3529.
55. Rasooli, I. and Rezaei, M.B. 2002. Bioactivity and chemical properties of essential oils from *Zataria multiflora* and *Mentha longifolia*. Journal of Essential Oil Research, 14: 141-136.(In Persian)
56. Razavilar, V. 2002. Pathogenic micro organisms in foods and epidemiology of food poisoning 2nd ed. Tehran: Tehran University, 311p. (In Persian).
57. Saboura, A., Ahmadi, A., Zeynali, A. and Parsa, M. 2014. Comparison between the Contents of phenolic and flavonoid compounds and aerial part antioxidant activity in *Scutellaria pinnatifida* in two North Iranian Populations. Rafsanjan University of Medical Sciences, 13(3): 249-266.
58. Salamci, E., Kordali, R. and Kotan, A. 2007. Chemical compositions, antimicrobial and herbicidal effects of essential oils isolated from Germany *Tanacetum parthenium*. Biochemical Systematics and Ecology, 35(3): 569-81.
59. Salimpour, F., Mazoji, A., Mazhar, S.F. and Barzen, G. 2013. Comparison of antibacterial properties of essential oils of four species of medicinal plants sage. Journal of the Faculty of Medicine, 37(4): 205-210.
60. Sefidkon, F., TaifeHindi, Al., Fakhari, P. and Timuri, M. 2013. Evaluation of chemical components and antimicrobial activity of essential oils and alcoholic extract of *Artemisia spicigera*. Journal of Phytochemical Medicinal plant, 1(2): 1-13. (In Persian)
61. Sharifan, A., Hedaieti, F., Khodaeian Chegini, F. and Hosseini, S.A. 2014. Antimicrobial activity of Pullulan film incorporated with *Artemisia sieberi* essential oil. Journal of Fasa University of Medical Sciences, 3(2): 130-135. (In Persian)
62. Sharma, R.K., Samant, S.S., Sharma, P. and Devi, S. 2012. Evaluation of antioxidant activities of *Withania somnifera* leaves growing in natural habitats of north-west Himalaya, India. Journal of Medicinal Plants Research, 6(5): 657-661.
63. Sharon, B. 2001. Electro immunoassay technology for food born pathogen detection. IVD Technology, 16:13-34.
64. Shi, J., Nawaz, H., Pohorly, J. and Mittal, G. 2005. Extraction of Polyphenolics from plant material for functional foods–engineering and technology. Food Reviews International, 21:p. 1-12.
65. Sun, L., Zhang, J., Lu, X., Zhang, L. and Zhang, Y. 2011. Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki*) leaves. Food and Chemical Toxicology, 49: 2689-2696.
66. Thi, N.D. and Hwang, E.S. 2014. Bioactive compound contents and antioxidant activity in *Aronia (Aronia melanocarpa)* leaves collected at different growth stages. Neutral. Food Science, 19: 204-212.
67. Todd, E.C. 1989. Preliminary estimates of costs of food borne disease in Canada and costs to reduce Salmonellosis. Journal Food Protect, 52: 586-94.
68. Wardle, E.N. 2005. Cellular oxidative processes in relation to renal disease.

- American Journal of Nephrology, 25(1):13-22
69. Wong, C.C., Li, H.B., Cheng, K.W. and Chen, F.A. 2006. Systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. Food Chemistry, 97(4): 705-11
70. Yadegari, A., Satari, M., Bigdeli, M. and Bakhteyari, F. 2010. Evaluate and compare the antibacterial alcohol extract of leaves, flowers and roots of thyme on *Staphylococcus aureus* methicillin-resistant. Journal of Medicinal Plants, 9 (1): 58-65. (In Persian)
71. Yazdi Nezhad, A.R. and Malekzadeh. M. 2014. Effect of antioxidant properties, total phenolic content, anthocyanins and flavonoids methanol extract of Sage (*Salvia viridis*) collected from Zanjan. Journal of Zanjan University of Medical Sciences, 23(96): 100-108. (In Persian).
72. Zakerin, A., Ahmadi, A., Fasehi ramandi, M., Abdullahi, S., Molazadeh, A.R. and Gafari, S. 2016. Effects Ecological of extracts medicinal plants native to the Fars province of the antimicrobial activity. Fasa University of Medical Sciences, 5 (1): 111-119. (In Persian)

