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

**ایوب مزارعی[1]، لیلا فهمیده[2]***

[1] دانشجوی دکتری، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل، زابل، ایران.

[2] 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 به‌ترتیب با روش‌های معرف فولین-سیوکالتیو و رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم، فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش DPPH[1] و فعالیت آنتی‌باکتریایی عصاره‌ها علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی به روش دیسک دیفیوژن سنجیده شد. نتایج نشان داد که به‌ترتیب عصاره متانولی درمنه و آویشن‌کوهی 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 اشریشیاکلی با قطر هاله عدم رشد ۱۵/۱ و ۱۶/۸ میلی‌متر بوده است. به‌طورکلی 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 عصارها باید در *in vitro* و *in vivo* به دقت بررسی شوند.

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

1- 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

*نویسنده مسئول: leila.fahmideh@yahoo.com

**مقدمه**

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 که‌عوارض جانبی این ترکیب‌ها در مقایسه با داروهایشیمیایی 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 et al., 2015). فلاونوئیدها ازجمله ترکیب‌های فنولی هستند که به‌طور 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 واز مهم‌ترین خصوصیاتی 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 وپروتئین 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). استافیلوکوکوس‌اورئوس عامل ایجاد عفونت‌های خارج روده‌ای مانند جوش، زخم، ذات الریه، سندرم شوک توکسیک، مننژیت و عامل

اصلی مسمومیت غذایی استافیلوکوکی در بدن انسان می‌باشد (Razavilar, 2002). انتروتوکسین‌های تولید شده توسط برخی از باکتری‌ها مانند *Staphylococcus aureus* و گونه‌های Yersinia، Salmonella و Clostridium و 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، منتژیت 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* وگونه‌های Yersinia، Salmonella و Clostridium و از جمله باعث مسمومیت دستگاه گوارش و بروز علائم گوارشی می‌شوند (Fazeli-Nasab et al., 2017).

بنابراین، امروزه با توجه به مقاومت روزافزونی که میکروارگانیسم‌ها نسبت به آنتیبیوتیک‌ها از خود نشان می‌دهند، استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی 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، 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، آویشن‌کوهی، بابونه و بنه بر باکتری‌های اشریشیاکلی 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 بوخنرانجام شد. قبل از صاف کردن توسط کاغذ صافی به عصاره استخراج شده اجازه داده شد تا بخش جامد بر اساس اختلاف دانسیته با حلال‌های مورداستفاده، از حلال جدا گردد. بخش اعظم حلال‌ها با استفاده از دستگاه تبخیر گردان چرخنده (روتاری) حذف شد.عصاره تغلیظ شده در سطح پلیت‌های شیشه ای 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.

**جدول ۱:** اسامی گیاهان مورد استفاده

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

**تعیین میزان فنول کل:** مقادیر فنول تام با روش فولین سیوکالتیو اندازه‌گیری‌شد (Ordone et al., 2008). عصاره با غلظت ۱۰mg/ml تهیه شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از هر عصاره با ۲۵ میلی‌لیتر واکنشگر ۰/۲ نرمال فولین سیوکالتیو مخلوط و بهمدت ۵ دقیقه هم زده شد. سپس ۲ میلی‌لیتر 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) اندازه‌گیری شد. مقادیرفنول تام عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر اساس میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره اندازه‌گیری شد.

**تعیین محتوای فلاونوئیدی عصاره:** میزان محتوای فلاونوئید عصاره با روش رنگ‌سنجیارزیابی شد (Chang et al., 2002). عصاره با غلظت ۱۰ mg/ml تهیه شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره در ۱/۵ میلی‌لیتر متانولحل و ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد به آن اضافه شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر محلول پتاسیم استات ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر به این مخلوط اضافهشد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. جذب مخلوط حاصل در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. میزان فلاونوئید با استفاده از منحنی استاندارد بر اساس میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره گزارش شد.

**ارزیابی میزان توانایی به دام اندازی رادیکال یا سنجش خواص آنتی‌اکسیدانی:** ابتدا از عصاره ۴۰ میلی‌گرم وزن نموده در ۲۵ سی‌سی 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 سی‌سی رسانده و سپس در دمای اتاق به مدت ۱ ساعت قرار داده و نهایت جذب نوری را با طول‌موج ۵۱۷ نانومتر انجام می‌دهیم. به منظور مقایسه فعالیت عصاره‌ها از مفهوم $IC_{50}$ استفاده شد. $IC_{50}$ غلظتی از عصاره که ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد را از بین می‌برد.

$IC(\%): [(Ao-As)/A0] \times 100$

Ao: جذب کنترل

As: جذب نمونه آزمایش

IC%: بیانگر مقداری از عصاره که قادر به جذب درصدی از رادیکال آزاد می‌باشد (Burits and Bucar, 2000).

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

مریم گلی، درمنه، آویشن کوهی و بنه) بر باکتری‌های مورد مطالعه، با روش انتشار در محیط کشت مولر هینتون 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، قطرهاله‌های عدم رشد با کولیس اندازه‌گیری شد. به‌منظور بروز هر گونه خطا در نتایج به‌دست آمده این 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).

**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 $^{**}$: به‌ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار، اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۵ و ۱ درصد

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 آویشن‌کوهی با میانگین ۱۴۲/۵۹ بیشترین و بابونه با میانگین ۱۱۴/۳۴میلی‌گرم در میلی‌لیتر، کمترین میزان فلاونوئید را نشان دادند ودر 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).

**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 غیرمعنی‌دار 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 آویشن‌کوهی بود (جدول ۴).

**جدول ٤:** ارزیابی اثر متقابل غلظت و عصاره‌های مختلف گیاهی بر میزان فنول

| عصاره گیاهی | غلظت‌های مورداستفاده از هر عصاره (میکروگرم در میلی لیتر) | | |
|---|---|---|---|
| | ۱۶ | ۳۲ | ۴۰ |
| اویشن 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 غیرمعنی‌دار 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 آویشن‌کوهی در غلظت ۱۶ مشاهده نشد و در غلظت بالا (۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) بیشترین مقدار متعلق به عصاره آویشن‌کوهی و سپس مریم گلی بود (جدول ۵).

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

| عصاره گیاهی | غلظت‌های مورداستفاده از هر عصاره (میکروگرم در میلی لیتر) | | |
|---|---|---|---|
| | ۱۶ | ۳۲ | ۴۰ |
| اویشن 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 غیرمعنی‌دار بین آن‌هاست

نتایج آزمون مقایسه میانگین اثرات ساده عصاره‌های گیاهی نشان داد که، عصاره درمنه (میانگین ۷۲/۰۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) بیشترین و عصاره بابونه (میانگین ۵۶/۰۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) کمترین نقش را داشتند. در بین غلظت‌های مختلف عصاره، مؤثرترین غلظت، غلظت ۴۰ و کم اثرترین غلظت ۱۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود و با افزایش غلظت عصاره فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها نیز 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 آویشن‌کوهی و مریم‌گلی بود (جدول ۶).

**جدول ٦:** ارزیابی اثر متقابل غلظت و عصاره‌های مختلف گیاهی بر میزان مهار رادیکال‌های آزاد

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

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت غیرمعنی‌دار بین آن‌هاست

نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر گیاه، غلظت و اثر متقابل گیاه در غلظت بر قطرهاله عدم رشد باکتری استافیلوکوکوس و باکتری اشرشیاکلی در جدول ۷ آورده شده است. با توجه به نتایج تمامی اثرات مورد بررسی در سطح یک درصد معنی دار بودند.

**جدول ۷:** نتایج تجزیه واریانس غلظت و عصاره‌های مختلف گیاهی بر قطرهاله عدم رشد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی

| منابع تغییر | درجه آزادی | استافیلوکوکوس اورئوس | اشریشیا کلی |
|---|---|---|---|
| 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 **: به‌ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار، اختلاف معنی‌دار درسطح ۰/۵ و ۱ درصد

بر اساس نتایج مقایسه میانگین اثرعصاره گیاهی بر قطرهاله عدم رشد باکتری استافیلوکوکوس، آویشن‌کوهی با میانگین ۱/۶۹ بیشترین و عصاره بنه با میانگین ۰/۷۳ سانتی‌متر قطر هاله کمترین تأثیر را نشان دادند. همچنین اختلاف معنی‌داری بین 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 کم اثرترین بود (جدول ۸).

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

| تیمارها | استافیلوکوکوس ارئوس | 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

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 قطرهاله عدم رشد) به‌ترتیب بیشترین وکمترین بودند. در مقایسه اثر عصاره‌های گیاهی با آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده مشخص شد که عصاره آویشن‌کوهی نسبت به آمپی‌سیلین بر باکتری استافیلوکوکوس اثر مثبت داشته است (جدول ۹).

**جدول ۹:** ارزیابی اثر متقابل غلظت و عصاره‌های مختلف گیاهی بر قطرهاله عدم رشد باکتری استافیلوکوکوس‌اروئوس

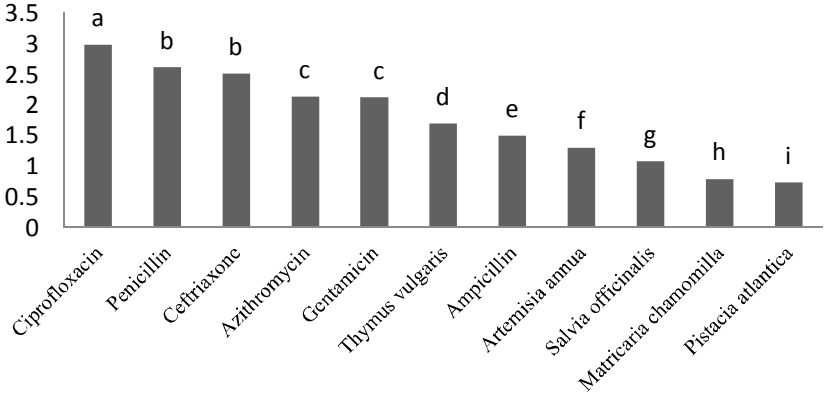
| عصاره گیاهی | غلظت‌های مورداستفاده از هر عصاره (میکروگرم در میلی لیتر) | | |
|---|---|---|---|
| | ۱۶ | ۳۲ | ۴۰ |
| اویشن کوهی | ۰/۸۴efg | ۱/۲۳de | ۱/۹۶b |
| درمنه | ۰/۹۶efg | ۱/۴۳cd | ۲/۶۶a |
| مریم گلی | ۰/۵۶ hi | ۱/۰۶def | ۱/۶۳bc |
| بنه | ۰/۳i | ۰/۶۶ghi | ۱/۲۳de |
| بابونه | ۰/۴۶hi | ۰/۷fgh | ۱/۲de |

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت غیرمعنی‌دار بین آن‌هاست

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 قطرهاله عدم رشد باکتری اشریشیاکلی، درمنه با میانگین ۱/۵۱ 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 قطرهاله عدم رشد باکتری اشریشیاکلی مشاهده نگردید و در بین غلظت‌های مورد استفاده عصاره، به ترتیب غلظت ۴۰ مؤثرترین و غلظت ۱۶ میلی‌گرم در سی‌سی متانول کم

اثرترین بود (جدول ۸). با بررسی نتایج اثر متقابل گیاه در غلظت، غلظت ۴۰ میلی‌گرم در سی سی متانول عصاره درمنه (میانگین ۲/۴۶ سانتی‌متر) و غلظت ۱۶ میلی‌گرم در سی‌سی متانول عصاره بابونه (میانگین ۰/۵۷ سانتی‌متر قطرهاله عدم رشد) به‌ترتیب بیشترین و کمترین بودند (جدول ۱۰).

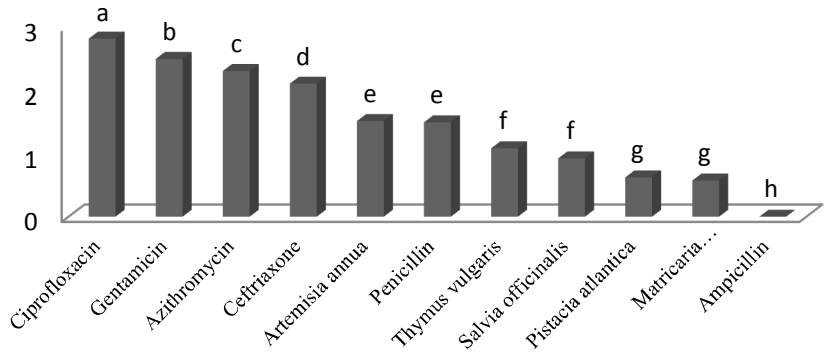



**شکل ۱:** مقایسه میانگین قطرهاله عدم رشد عصاره‌ها و آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بر باکتری استافیلوکوکوس‌اورئوس

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

| عصاره گیاهی | غلظت‌های مورداستفاده از هر عصاره (میکروگرم در میلی لیتر) | | |
|---|---|---|---|
| | ۱۶ | ۳۲ | ۴۰ |
| اویشن کوهی | ۰/۷۶de | ۱/۳bc | ۲/۴۶a |
| درمنه | ۰/۵ef | ۱/۱cd | ۱/۶۶b |
| مریم گلی | ۰/۴۵ef | ۰/۹۵cd | ۱/۳۶bc |
| بنه | ۰/۳۳ef | ۰/۵۳ ef | ۱/۰۱cd |
| بابونه | ۰/۲۶f | ۰/۴۳ef | ۱/۰۳cd |

در مقایسه اثر عصاره‌های گیاهی با برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها، بر میزان قطرهاله عدم رشد باکتری اشریشیا مشخص شد که عصاره درمنه نسبت به آمپی‌سیلین و پنی‌سیلین بر باکتری استافیلوکوکوس اثر مثبت داشته است (شکل ۲).




**شکل ۲:** مقایسه میانگین قطرهاله عدم رشد عصاره‌ها و آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بر باکتری اشرشیاکلی

**بحث**

بر اساس نتایج این تحقیق، بین عصاره‌های مختلف گیاهیاز نظر میزان موادفنلی، فلاونوییدی 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 ۱۴۲/۵۹ (میلی‌گرم در میلی‌لیتر) مربوط به عصاره آویشن‌کوهی 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 فنلی 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 به‌ترتیب ۷۸ و ۳۸/۲ میلی‌گرم اسیدگالیک در گرم عصاره بود. در تحقیقاتی، میزان فلاونویید عصاره متانولی اندام‌های هوایی درمنه، برابر با ۱۲/۴±۰/۰۶ میلی‌گرم کوئرسیتین بر گرم عصاره (Mahmoudi et al., 2009) و میزان فنول عصارهمتانولی اندام‌های هوایی درمنه (Motevasel et al., 2015) برابر با ۱/۴ تا ۲/۳ 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 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 افزیش غلظت ترکیبات فنولی خواص آنتی‌اکسیدانی گونه‌ها افزایش یافت به‌طوری که بیشترین میزان خواص آنتی‌اکسیدانی مربوط به گونه درمنه با بیشترین میزان ترکیبات فنولی بود. وجود مقادیر بالاتری از ترکیبات فنلی در عصاره با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالای آن مرتبط است (Thiand Hwang, 2014) به‌طوری که با افزایش غلظت ترکیبات فنلی 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 فنلی 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 اتردارای کمترین مقدار بود. همچنین بیشترین میزان فلاونوئید در عصاره متانولی و کمترین میزان آن در عصاره دی اتیل اتر مشاهده شد (Mirzaee et al., 2013). میزان فنول و فلاووئید عصاره متانولی صمغ بنه سراوان برابر mg

mg Quercetin/g و ۷/۰۴±۰/۱۵ Galic acid/g DW ۱/۳۴±۰/۱۳ DW گزارش شد (Azizianshermeh et 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 رادیکال‌هایDPPH بیشتر از اسانس بوده اما فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن از فعالیت آنتی‌اکسیدانی BHT کمتربوده است. نتایج مطالعه‌ی یزدی‌نژاد و ملک‌زاده (Yazdi Nezhad and Malekzadeh, 2014) بر روی گونه *Salvia viridis* 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) به‌ترتیب ۲۷۲/۲ (میلی‌گرم اسید گالیک در گرم نمونه خشک)، ۱۸۷/۳ (میلی‌گرم کوئرسیتین درگرم نمونه خشک و ۱/۴۵±۳۵/۷ (میلی‌گرم برمیلی‌لیتر) بود. در حالی‌که در این تحقیق میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و میزان به دام اندازی رایکال‌های آزاد گونه*Salvia officinalis* مورد مطالعه به‌ترتیب ۱۹/۳۲، ۱۳۷/۶۱ و ۷۰/۱۵ ارزیابی شد. بررسی‌های زیادی برروی 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 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 مهارگنندگی 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 به‌طوری 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 متعاقب بیشترین خاصیت ضدمیکروبی 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

گونه‌های درمنه، آویشن‌کوهی، 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، نتایجمطالعات قبلی را مبنی بر این‌که 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 حاظر 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 تاثیر مثبت داشته ولی اسانس آن اثر مهارکنندگی بیشتری نشان داده است.ضمنا تاثیر مثبت عصاره‌های استخراجی الکلی (Yadegari et al., 2010)، اتانولی ( Motevaselet al., 2015) و هیدروالکلی (Zakerin et al., 2016) آویشن بر باکتری استافیلوکوکوس‌اورئوس و هم‌چنین اثر متقابل عصاره با غلظت (Aoliea et al., 2007) و تاثیر بیشتر عصاره آویشن بر باکتری‌های گرم مثبت (Zakerin et al., 2016) گزارش شده است. نتایج بررسی (Rasooliand Rezaei, 2002) بر اثرات ضدمیکربی اسانس آویشن علیه استافیلوکوکوس اورئوس نشان داد کهاسانسدر روش دیسک دیفیوژن تا رقت ۱ به ۲۴ دارای اثر ضدمیکربیاست. در مطالعهٔ دیگری که توسط جاویدنیا (Gavidniea, 1998) با روش دیسک دیفیوژن صورت گرفت نیز، مشخص گردید که اسانس آویشن شیرازی بر برخی از باکتری‌ها از جمله استافیلوکوکوس‌اورئوس، باسیلوس سوبتیلیس، پروتئوس میرابیلیس کلبسیلا پنو- مونیا، دارای اثرات ضد میکروبی است.

تأثیر مثبت عصاره متانولی درمنه بر روی اشریشیاکلی و اثر متقابل عصاره با غلظت بر باکتری اشریشباکلی و باکتری‌های گرم منفی ( Sefidkon et al., 2013) و تاثیر مثبت عصاره‌های استخراجی آبی (Nasirpour et al., 2016) اتانولی و کلروفرمی 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 که‌هاله عدم رشد عصاره متانولی درمنه بر روی باکتری اشریشیاکلی حدود ۱۴ میلی‌متر بود. همچنین هاله عدم رشد در مورد استافیلوکوکوس اروئوس حدود ۱۰ میلی متر مشاهده گردید و همچنین اثرات ضد میکروبی اسانس درمنه مشخص کرد که میزان MIC و MBC اسانس در غلظت ۳۲ میکروگرم در میلی لیتر برباکتری اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس به‌ترتیب ۰/۰۱۷ و ۰/۰۲۴، ۰/۰۳۳ و ۰/۰۷۳ میکروگرم در میلی‌لیتر بود.

در تحقیق حاضر نتایج حاصله از تأثیر عصاره متانولی آویشن‌کوهی و درمنه بر باکتری اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اروئوس نیز نشان داد که مشابه سایر تحقیقات انجام شده عصاره آویشن کوهی بر باکتری استافیلوکوکوس اروئوس و عصاره درمنه بر اشرشیاکلی مؤثر بود. باتوجه به نتایج این مطالعه مشخص گردید که عصاره متانولی مریم گلی بر باکتری اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس‌اروئوس موثر بوده و با افزایش غلظت تاثیر معنی‌داری نشان داده، هرچند نسبت به عصاره متانولی بنه و بابونه در مهار رشد باکتری اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس‌اروئوس مؤثرتر بوده اما در مهار باکتری استافیلوکوکوس اروئوس نسبت عصاره متانولی آویشن و درمنه کم

اثرتر 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 مریم گلی بر طیف وسیعی از باکتری‌ها مانند سودوموناس و آسپرژیلوس و کاندیدا گزارش شده است (Arami et al.,2011). گزارش شده است که مریم گلی (*S.officinalis*) دارای خاصیت ضدمیکروبی است (Chen et al., 2006). در تحقیقاتی اثر ضد میکروبی عصاره مریم گلی بر باکتری استافیلوکوکوس (Morello et al., 2004) و اسانس آن بر باکتری اشریشیاکلی (Salimpour et al., 2013) مورد بررسی قرار دادند و بیان کردند که عصاره و اسانس مریم گلی بر باکتری استافیلوکوکوس‌اروئوس و اشریشیاکلی موثر بوده که در این تحقیق نیز نتایج مشابه برای عصاره مریم گلی حاصل شد.

اما با توجه به نتایج این مطالعه با افزایش غلظت عصاره بنه تأثیر معنی‌داری بر قطرهاله عدم رشد باکتری‌های اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس مشاهده شد اما نسبت به آویشن، درمنه و مریم گلی کمتر بوده است.در تحقیقاتی اثر ضد میکروبی اسانس بنه (Hanafi et al., 2014) و عصاره (Mortazavi et al., 2015) بر برخی از باکتری‌های بیماریزای گرم مثبت و گرم منفی از قبیل استافیلوکوکوس اروئوس و اشریشیاکلی مورد بررسی قرار دادند و بیان کردند که عصاره و اسانس بنه بر باکتری استافیلوکوکوس اروئوس و اشریشیاکلی مؤثر بوده و با افزایش غلظت، عصاره و اسانس تاثیر معنی‌داری داشته‌اند که در تحقیق حاضر نیز عصاره بنه فعالیت ضدمیکروبی 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 استافیلوکوکوس‌اروئوس موثر بوده و با افزایش غلظت تاثیر معنی‌داری نشان دادند اما نسبت به آویشن، مریم‌گلی و درمنه کم اثر تر بود. در گزارشی رانی و همکاران (Rani et al., 2011) اثر ضدمیکروبی اسانس بابونه را علیه سه سوشمیکروبی بررسی کردند و اظهار نمودند که این گیاهاثر ضد میکروبی داشته و می‌تواند برای مقابله بامیکروب‌های بیماریزای خاص مورد استفاده قرارگیرد.در تحقیقاتی اثر ضد میکروبی اسانس (Kapadia and Talib, 2000) بر باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، سراشیا 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 ضدمیکروبی 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 گفتگیاهانی که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی هستند خاصیت ضد میکروبی بالایی نیز دارند به طوری که مشخص شد عصاره درمنه و سپس آویشن‌کوهی 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 اشریشیاکلی عصاره درمنه بود.

**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 *Saliva 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 Sciense, 12 (4): 33-40 .(In Persian)
12. Burits, M. and Bucar, F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. Phytotheraphy 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 colifom bacteria. Food Microbiol., 18: 261-8.
14. Carta, C., Moretti, M.D. and Peana, A.T. 1996. Activity of oil *Salvia officinalis* against *Botrytiscinerea*. 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 *Artemisiaannua* 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 exraction time and solvent power on the levels of polyphenols and antioxidantv 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., Rahnama, 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 tenur,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, Pp: 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 phytogenic 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. Lutza, M., Henrı´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., Sharifiniea, 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 feverfew (*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., 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)