Journal of Gorgan University of Medical Sciences

e-ISSN: 2008-4080 p-ISSN: 1562-4765

2023 / Vol 24 / No 4

OPEN ACCESS

Original Paper

Investigation of Antioxidant and Antimicrobial Effects of Methanolic Extracts of *Berberis integerrima* and *Graminifolius tragopogon*

Fahimeh Khodabandeh Shahraki [1], Mojtaba Ranjbar (Ph.D)*[2], Mostafa Govahi (Ph.D)[3], Majid Tafrihi (Ph.D)[4]

1 M.Sc Student of Microbial Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran. 2 Associate Professor, Department of Microbial Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran. 3 Assistant Professor, Department of Nano Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran. 4 Assistant Professor, Department of Molecular Cell Biology, Faculty of Basic Sciences, Mazandaran University, Babolsar, Iran.

Abstract

Background and Objective: Medicinal plants contain a high level of antioxidant compounds such as flavonoids, phenolic, carotenoids, and tannins, which can be used to eliminate excess free radicals in the body. This study aimed to determine the total phenolic and flavonoid content and to investigate the antioxidant and antibacterial effects of *Berberis integerrima* and *Graminifolius tragopogon* methanolic extracts on some Gram-positive and Gram-negative microorganisms.

Methods: In this descriptive-analytical study, methanolic extracts of *B. integerrima* and *G. tragopogon* were prepared using 80% methanol. Total phenol and flavonoid contents were determined by Folin–Ciocalteu and aluminum chloride colorimetric methods, respectively. The antioxidant capacity was assessed by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity and reducing power methods. The antibacterial activity of the extracts of *B. integerrima* and *G. tragopogon* on *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella typhimurium* were determined by the disk diffusion method. Butylated hydroxytoluene and ciprofloxacin were used as positive controls for antioxidant activity and bacterial strains, respectively.

Results: Total phenol and flavonoid compounds in the extracts of *B. integerrima* and *G. tragopogon* were 46.90±0.70 and 22.63±0.59 mg gallic acid per gram of extract and 5.61±0.01 and 46.74±0.81 mg quercetin per gram of extract, respectively. The extracts of *B. integerrima* and *G. tragopogon* showed significant antibacterial activity. *B. subtilis* and *S. typhimurium* showed the highest sensitivity and resistance to the extracts, respectively. Moreover, the extract of *B. integerrima* had the most potent inhibitory effect on the examined microorganisms.

Conclusion: *B. integerrima* extract exhibits higher phenolic content, antioxidant properties, and antimicrobial activity than *G. tragopogon* extract.

Keywords: Antioxidant, Antimicrobial, *Berberis Integerrima*, *Graminifolius Tragopogon*

***Corresponding Author:** Mojtaba Ranjbar (Ph.D), E-mail: ranjbarf@ausmt.ac.ir

Received 20 Nov 2021
Final Revised 5 Jul 2022
Accepted 11 Jul 2022
Published Online 5 Apr 2023

Cite this article as: Khodabandeh Shahraki F, Ranjbar M, Govahi M, Tafrihi M. [Investigation of Antioxidant and Antimicrobial Effects of Methanolic Extracts of *Berberis integerrima* and *Graminifolius tragopogon*]. J Gorgan Univ Med Sci. 2023; 24(4): 118-125. [Article in Persian]

© The author(s)
Owned: Golestan University of Medical Sciences **Publisher:** Deputy of Research and Technology

مجله دانشگاه علوم پزشکی گرگان

زمستان ۱۴۰۱ / دوره ۲۴ / شماره ۴ (پی در پی ۸۴)

دارای رتبه علمی -پژوهشی از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

e-ISSN: ۲۰۰۸-۴۰۸۰ p-ISSN: ۱۵۶۲-۴۷۶۵

با دسترسی آزاد

تحقیقی

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی و خواص ضدمیکروبی عصاره‌های متانولی زرشک وحشی (*Berberis integerrima*) و شنگ (*Graminifolius tragopogon*)

فهیمه خدابنده شهرکی[۱]، دکتر مجتبی رنجبر*[۲]، دکتر مصطفی گواهی[۳]، دکتر مجید تفریحی[۴]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران. [۲] دانشیار گروه زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران. [۳] استادیار گروه نانوزیست فناوری، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران. [۴] استادیار گروه زیست شناسی سلولی مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: *گیاهان دارویی دارای مقادیر قابل توجهی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند فلاونوئیدها، فنولیکها، کاروتنوئیدها و تانن‌ها بوده که می‌توانند برای از بین بردن رادیکال‌های آزاد اضافی موجود در بدن مورد استفاده قرار گیرند. این مطالعه به منظور ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی و خواص ضدمیکروبی عصاره‌های متانولی زرشک وحشی (Berberis integerrima) و شنگ (Graminifolius tragopogon) انجام شد.*

روش بررسی: *در این مطالعه توصیفی - تحلیلی عصاره متانولی از دو گونه گیاهی زرشک وحشی و شنگ به واسطه متانول ۸۰ درصد تهیه شد. محتوی فنل و فلاونوئید کل به ترتیب به روش‌های فولن سیوکالتیو و کلرید آلومینیوم اندازه‌گیری شد. ظرفیت آنتی اکسیدانی با روش فعالیت رادیکال‌های آزاد دی فنیل پیکریل (DPPH) و قدرت احیاء کنندگی (RP) تعیین شد. فعالیت ضدباکتریایی متانولی دو گونه گیاهی زرشک وحشی و شنگ بر روی باکتری‌های اشریشیا کلی، باسیلوس سوبتیلیس، لیستریا مونوسیتوژنز، استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا تیفی موریوم به روش دیسک دیفیوژن تعیین شد. بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) و سیپروفلوکساسین به ترتیب به عنوان کنترل مثبت فعالیت آنتی‌اکسیدانی و سویه‌های باکتریایی به‌کار برده شدند.*

یافته‌ها: *میزان فنل و فلاونوئید کل در عصاره زرشک وحشی و شنگ به ترتیب ۰/۷۰±۴۶/۹۰ و ۰/۵۹±۲۲/۶۳ میلی‌گرم گالیک اسید برگرم عصاره و ۰/۰۱±۵/۶۱ و ۰/۸۱±۴۶/۷۴ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره ثبت گردید. برهمکنش غلظت‌های مختلف عصاره گیاهان زرشک وحشی و شنگ و باکتری‌های مورد مطالعه از نظر آماری معنی‌دار بودند (P<۰/۰۵). عصاره زرشک وحشی و شنگ دارای اثرات ضدباکتریایی متفاوتی بودند. به طوری که باسیلوس‌سوبتیلیس حساس‌ترین باکتری و سالمونلا تیفی موریوم مقاوم‌ترین باکتری به عصاره‌ها تعیین شدند. همچنین عصاره زرشک وحشی اثر مهاری بیشتری روی میکروارگانیسم‌های مورد بررسی نشان داد.*

نتیجه‌گیری: *عصاره گیاه زرشک وحشی برتری قابل ملاحظه‌ای در میزان ترکیبات فنلی، خواص آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدمیکروبی در مقایسه با عصاره گیاه شنگ دارد.*

واژه‌های کلیدی: *آنتی اکسیدان ، ضد میکروبی ، زرشک وحشی ، شنگ*

* نویسنده مسؤول: دکتر مجتبی رنجبر ، پست الکترونیکی ranjbarf@ausmt.ac.ir

نشانی: آمل، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، دانشکده زیست فناوری، گروه زیست فناوری میکروبی، تلفن ۰۱۱-۴۴۱۵۳۴۵۲ ، نمابر ۴۴۱۵۴۲۶۵

وصول ۱۴۰۰/۸/۲۹ اصلاح نهایی ۱۴۰۱/۴/۱۴ پذیرش ۱۴۰۱/۴/۲۰ انتشار ۱۴۰۲/۱/۱۶

مقدمه

امروزه تغییر سبک زندگی به خصوص مصرف غذاهای نیمه‌آماده و فست فود و قرارگرفتن در معرض مواد شیمیایی و آلاینده‌های زیست محیطی موجب عدم تعادل بین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و رادیکال‌های آزاد تولید شده بدن گشته است.[۱] افزایش گونه‌های فعال اکسیژن می‌توانند سبب آسیب اکسیداتیو به پروتئین‌ها، لیپیدها، آنزیم‌ها و DNA شده که این موضوع با پیری سلول، سرطان، بیماری‌های التهابی و روماتیسم، دیابت و افزایش خطر تصلب شرایین همراه است.[۲] به منظور ایجاد تعادل بین آنزیم‌های آنتی‌آکسیدانی و رادیکال‌های آزاد در بدن، تولید آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی در صنایع غذایی و داروسازی افزایش یافته است. در سال‌های اخیر جستجو برای تولید آنتی‌اکسیدان‌هایی با منشاء طبیعی افزایش یافته است.[۳] از دیگر مشکلات دنیای مدرن درمان عفونت‌های باکتریایی و افزایش مقاومت آنها به آنتی‌بیوتیک‌هاست. باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک باعث مرگ و میر قابل توجهی می‌شوند. از این رو با افزایش روز افزون مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها، تلاش در پی

جایگزین کردن درمان‌های جدید در سراسر جهان در حال انجام است.[۴-۶] در این مورد از جمله موارد امیدبخش، استفاده از گیاهان دارویی است. گیاهان دارویی دارای مقادیر قابل توجهی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند فلاونوئیدها، فنولیک‌ها، کاروتنوئیدها و تانن‌ها بوده که می‌توانند برای از بین بردن رادیکال‌های آزاد اضافی موجود در بدن مورد استفاده قرار گیرند. مطالعاتی اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی و ضدقارچی عصاره‌های گیاهی را گزارش کرده‌اند.[۷-۹]

گیاه زرشک وحشی با نام علمی *Berberis integerrima* و گیاه شنگ با نام علمی *Graminifolius tragopogon* از جمله گیاهان دارویی بومی ایران هستند. گیاه زرشک وحشی متعلق به خانواده Berberidaceae است. زرشک وحشی درختچه‌ای خاردار، کوتاه با گل‌های زرد، میوه‌های بیضی شکل و قرمز رنگ است. از جمله ترکیبات فعال زیستی آن شامل آلکالوئیدها، ویتامین C، رزین، تانن‌ها و فلاونوئیدها است. در طب سنتی این گیاه برای تقویت اعصاب، کمک به درمان بیماری‌های قلبی و عروقی، کاهش چربی خون، ضدالتهاب، خواص ضدسرطانی و ضدمیکروبی مورد استفاده قرار می‌گیرد.[۱۰-۱۲]

گیاه شنگ متعلق به خانواده Asteraceae و گیاهی علفی دوساله دارای ساقه و برگ‌های دراز و گسترده است. این گیاه دارای ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی، کوئرستین وساپونین‌ها است.[۱۳]

این مطالعه به منظور ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و خواص ضدمیکروبی عصاره‌های متانولی زرشک وحشی و شنگ انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه توصیفی - تحلیلی در دانشکده زیست فناوری دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل طی سال ۱۴۰۰ انجام شد.

مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل (IR.AUSMT.REC.1400.14) قرار گرفت.

گیاه زرشک وحشی (هرباریوم ۳۵۴) از منطقه بندپی بابل استان مازندران و گیاه شنگ (هرباریوم ۴۵۰) از ارتفاعات شهرکرد استان چهار محال و بختیاری جمع‌آوری و پس از تایید گونه‌های گیاهی در دانشکده گیاهان دارویی، به آزمایشگاه دانشکده زیست فناوری انتقال داده شدند.

تهیه عصاره: ابتدا نمونه‌ها شسته شده و به منظور خشک شدن به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. در ادامه ۲۰ گرم از نمونه‌های گیاهی آسیاب شده با ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد ترکیب و روی هیتر استیرر به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از آن به مدت ۱۵ ساعت در دستگاه شیکر در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با ۱۲۰ دور بر دقیقه و ۵ ساعت در دمای محیط در حالت سکون قرار گرفتند. عصاره حاصله به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۶۰۰۰ بر دقیقه سانتریفوژ و سپس با کاغذ واتمن صاف گردید. عصاره متانولی حاصل توسط دستگاه روتاری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد با ۸ دور بر دقیقه تغلیظ و در پتری دیش استریل ریخته شد و در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک گردید. عصاره خشک شده پس از جمع‌آوری برای آزمایش‌های بعدی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.[۵]

تعیین میزان فنل کل: مقدار فنل کل موجود در عصاره گیاه زرشک وحشی و شنگ به وسیله روش فولین - سیوکالتو اندازه‌گیری شد. در این آزمون ۳۰۰ میکرولیتر از هر نمونه با غلظت یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با ۱۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین یک مولار و ۱۲۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ترکیب و با افزودن آب دیونیزه به حجم نهایی ۴۰۰۰ میکرولیتر رسانده شد و به مدت ۵۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. از گالیک اسید در غلظت‌های ۰/۳، ۰/۲، ۰/۱، ۰/۰۷۵، ۰/۰۲۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای رسم منحنی استاندارد استفاده گردید. نتایج بر اساس میکروگرم گالیک اسید بر گرم عصاره خشک بیان شدند.[۱۴]

تعیین میزان فلاونوئید کل: میزان فلاونوئید کل به وسیله کلرید آلومینیوم ارزیابی شد. برای محاسبه محتوی فلاونوئید کل موجود در عصاره این دو نمونه گیاهی، ۱۵۰۰ میکرولیتر از هر نمونه با غلظت یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با ۱۵۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۲۰ درصد ترکیب شد و به مدت ۴۰ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد، در فضایی تاریک قرار گرفت. سپس جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری و مقدار فلاونوئید کل گیاه زرشک وحشی و شنگ با استفاده از منحنی استاندارد کوئرسیتین بر اساس میکروگرم کوئرستین بر گرم عصاره خشک گزارش شد.[۹]

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی: بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی از طریق آزمون ۲ و ۲ دی فنیل -۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) انجام شد. برای انجام این آزمایش ۱۰۰۰ میکرولیتر از هر نمونه با غلظت‌های ۷، ۱۰، ۴۰، ۸۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر را در تیوپ ریخته و با ۳۰۰۰ میکرولیتر محلول DPPH ۰/۰۰۲ درصدمخلوط نموده و به‌مدت ۳۰ دقیقه در فضایی تاریک قرار داده شدند. سپس جذب آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر ثبت گردید. در این آزمایش از بوتیلات هیدروکسی تولوئن (Butylated hydroxytoluene) به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد و درصد به دام اندازی رادیکال DPPH از فرمول زیر محاسبه گردید.[۱۵]

$$\%RSA = (A\ control - A\ sample) / Acontrol \times 100$$

RSA: درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH؛ A control: میزان جذب شاهد؛ A sample: میزان جذب نمونه

تعیین اثر آنتی‌اکسیدانی از طریق تعیین قدرت احیاءکنندگی آهن: در این آزمایش ۱۰۰۰میکرولیتر عصاره با غلظت‌های ۱۰۰، ۳۰۰، ۶۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم برمیلی‌لیتر را با ۱۰۰۰ میکرولیتر بافرفسفات ۰/۲ مولار (pH=۶/۶) و ۱۰۰۰ میکرولیتر پتاسیم فری‌سیانید یک درصد، ترکیب و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. به این ترکیب ۱۰۰۰ میکرولیتر تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد افزوده و به مدت ۱۰ دقیقه با دور۳۰۰۰ بر دقیقه سانتریفوژ شد. ۱۵۰۰ میکرولیتر از قسمت رویی مخلوط سانتریفیوژ شده را با ۱۰۰۰ میکرولیتر آب مقطر و ۴۰۰ میکرولیتر کلرید آهن ۰/۱ ترکیب کرده و در آخر جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج۷۰۰ نانومتر گزارش گردید. برای نمونه شاهد نیز از ترکیب ۱۰۰۰ میکرولیتر متانول ۸۰ درصد به همراه ۱۰۰۰ میکرولیتر آب مقطر و ۴۰۰ میکرولیتر کلرید آهن ۰/۱درصد استفاده شد.[۱۶]

ارزیابی خواص میکروبی: میکروارگانیسم‌های *اشریشیا کلی (Escherichia coli)*، *باسیلوس سوبتیلیس (Bacillus subtilis)*، *لیستریا مونوسیتوژنز (Listeria monocytogenes)*، *استافیلوکوکوس اورئوس (Staphylococcus aureus)* و *سالمونلا تیفی موریوم (Salmonella typhimurium)* از مرکز منطقه‌ای کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران تهیه شدند (جدول یک).

جدول ۱ : میکروارگانیسم‌های مورد استفاده در آزمایش اثر ضد میکروبی

نام باکتری	کد اختصاری	مشخصات ظاهری
اشریشیا کلی	PTCC1399	باسیل گرم منفی
باسیلوس سوبتیلیس	PTCC 654	باسیل گرم مثبت
لیستریا مونوسیتوژنز	PTCC1298	باسیل گرم مثبت
استافیلوکوکوس اورئوس	PTCC 1431	کوکسی گرم مثبت
سالمونلا تیفی موریوم	PTCC1709	باسیل گرم منفی

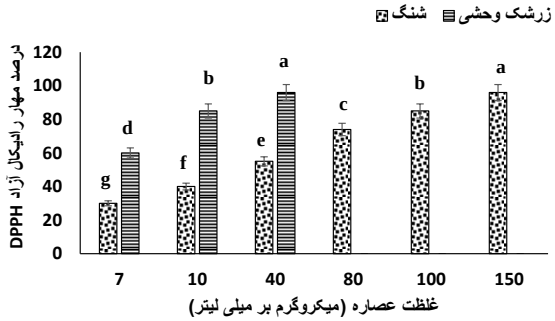
حساسیت این میکروارگانیسم‌ها به عصاره دو گیاه زرشک وحشی و شنگ توسط روش دیسک دیفیوژن بررسی شدند. برای انجام این آزمایش مقدار مشخصی از عصاره خشک شده گیاه (۰/۱گرم) به صورت جداگانه وزن و در ۱۰۰ میکرولیتر آب استریل کاملاً حل شد و به این ترتیب غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه گردید. سپس با استفاده از آب دوبار تقطیر رقیق و غلظت‌های ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه شدند. ۳۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری روی پتری دیش حاوی محیط کشت نوترینت آگار پخش و به کمک سواپ استریل به صورت کشت چمنی گسترش داده شدند. سپس سطح پتری دیش با فاصله مشخص دیسک‌گذاری و از دیسک آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین به عنوان نمونه کنترل مثبت در هر پتری دیش استفاده شد. در ادامه دیسک‌های خام به ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های عصاره گیاهی آغشته شدند و پتری دیش‌ها در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. سپس قطر هاله عدم رشد نمونه‌ها با استفاده از کولیس اندازه‌گیری شد.[۱۷]

تجزیه و تحلیل آماری: برای اطمینان از نتایج حاصل از آزمایشات سه تکرار از هر آزمایش انجام شد و میانگین و انحراف معیار آنها محاسبه و به عنوان نتیجه ثبت شد. برای انجام آزمون تجزیه واریانس صفت‌های مورد نظر از آزمایش فاکتوریل و در ادامه و بعد از معنی‌دار شدن آزمون F برای انجام مقایسه میانگین‌ها از آزمون تعقیبی دانکن استفاده شد. محاسبات با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-20 در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ انجام شد.

یافته‌ها

میزان فنل و فلاونوئیدی کل برای زرشک وحشی به ترتیب ۴۶/۹۰±۰/۷۰ میلی‌گرم گالیک اسید برگرم عصاره و ۵/۶۱±۰/۰۱ میلی‌گرم کوئرستین برگرم عصاره و برای عصاره گیاه شنگ ۲۲/۶۳±۰/۵۹ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره و ۴۶/۷۴±۰/۸۱ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره ثبت شد که نشان‌دهنده تفاوت آماری معنی‌دار مقادیر این ترکیبات، بین عصاره گیاه زرشک وحشی و شنگ بود (P<۰/۰۵).

اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های دو گیاه زرشک وحشی و شنگ با درصد مهار رادیکال DPPH از نظر آماری معنی‌دار بودند (جدول ۲) (P<۰/۰۵).



نمودار ۱ : درصد مهار رادیکال آزاد DPPH (دی فنیل پیکریل هیدرازیل) در غلظت‌های مختلف عصاره متانولی زرشک وحشی و شنگ
میانگین‌های دارای حروف مشابه برای هر تیمار معرف عدم معنی داری (P>۰/۰۵)

با افزایش غلظت عصاره، میزان مهار رادیکال DPPH افزایش یافت و کمترین قدرت مهار کنندگی برای هر دو عصاره در غلظت ۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره و بیشترین میزان مهارکنندگی در غلظت ۴۰ میکروگرم برمیلی‌لیتر عصاره برای گیاه زرشک وحشی و ۱۵۰میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره برای گیاه شنگ مشاهده شد (نمودار یک). همچنین میزان IC50 برای زرشک وحشی (۲۰/۲±۰/۸) میکروگرم بر میلی‌لیتر) و شنگ (۳۵/۱±۱/۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در مقایسه با بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT) ۳۰/۰±۰/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد.

جدول ۲: تجزیه واریانس عصاره گیاهی و غلظت عصاره بر میزان مهار رادیکال آزاد DPPH، قدرت احیاء کنندگی آهن و فعالیت ضد میکروبی

منبع تغییرات	درجه آزادی	DPPH	قدرت احیا کنندگی آهن	فعالیت ضدمیکروبی
گیاه	۱	۲۹۵/۱۲ P<۰/۰۰۳	۲۵/۳۴ P<۰/۰۰۲	۷/۵۵ P<۰/۰۰۱
غلظت عصاره	۵	۱۶۴/۲۵ P<۰/۰۰۱	۲۹/۸۵ P<۰/۰۰۱	۵/۸۱ P<۰/۰۰۱
گیاه × غلظت عصاره	۵	۱۸۸/۷۶ P<۰/۰۰۲	۱۵/۲۳ P<۰/۰۰۱	۲/۳۷ P<۰/۰۰۲
خطا	۲۴	۰/۱۱	۰/۶۱	۰/۰۲
درصد ضریب تغییرات	-	۳/۷۵	۲/۵۶	۲/۹۵

جدول ۳ : قدرت احیاءکنندگی آهن غلظت های مختلف دو عصاره گیاه زرشک وحشی و شنگ

نام گیاه	غلظت های مختلف عصاره(میکروگرم بر میلی لیتر)			
	۱۰۰۰	۶۰۰	۳۰۰	۱۰۰
زرشک وحشی	۲/۳۷±۰/۰۳ a	۱/۳۵±۰/۰۳b	۰/۵۳±۰/۰۲e	۰/۲۰±۰/۰۱ g
شنگ	۱/۱۰±۰/۰۵ c	۰/۸۰±۰/۰۳ d	۰/۳۹±۰/۰۱f	۰/۰۷±۰/۰۱ h

* میانگین‌های دارای حروف مشابه برای هر تیمار، در سطح احتمال ۵ درصد فاقد اختلاف معنی‌دار بودند.

جدول ۴: میانگین قطر هاله عدم رشد (برحسب میلی متر)غلظت‌های مختلف عصاره زرشک وحشی، شنگ و آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین

میکروارگانیسم	سیپروفلوکساسین	عصاره شنگ (غلظت میکروگرم بر میلی لیتر)			عصاره زرشک وحشی (غلظت میکروگرم بر میلی لیتر)		
		۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰
باسیلوس سوبتیلیس	۳۱/۵	۷/۷±۰/۶i	۹/۳±۰/۷i	۱۵/۶±۱/۱d	۱۰/۳±۰/۴ h	۱۴/۳±۰/۶ de	۲۳/۱±۰/ ۹ a
لیستریا مونوسیتوژنز	۳۰/۵	عدم مهارکنندگی	عدم مهارکنندگی	عدم مهارکنندگی	۸/۷±۰/۳ i	۱۳/۳±۰/۳ ef	۲۱/۷±۰/۹ b
استافیلوکوکوس اورئوس	۳۱/۷	عدم مهارکنندگی	عدم مهارکنندگی	عدم مهارکنندگی	۸/۳±۰/۳ i	۱۲/۳±۰/۵ fg	۲۰/۷±۰/۹ bc
اشریشیا کلی	۲۸/۵	عدم مهارکنندگی	عدم مهارکنندگی	عدم مهارکنندگی	۷/۳±۰/۵ j	۱۱/۷±۰/۷ gh	۱۹/۳±۱/۵ c
سالمونلا تیفی موریوم	۲۹/۵	عدم مهارکنندگی	عدم مهارکنندگی	عدم مهارکنندگی	عدم مهارکنندگی	عدم مهارکنندگی	عدم مهارکنندگی

* میانگین‌های دارای حروف مشابه برای هر تیمار، در سطح احتمال ۵ درصد برمبنای آزمون تعقیبی چنددامنه‌ای دانکن فاقد اختلاف معنی‌دار بودند.

نتایج قدرت احیاکنندگی آهن در غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاه زرشک وحشی و گیاه شنگ در جدول ۳ آمده است. با افزایش غلظت عصاره، قدرت احیاءکنندگی افزایش نشان داد. کمترین قدرت احیاءکنندگی در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره مشاهده شد. به طوری که برای عصاره‌های زرشک و شنگ به ترتیب میزان جذب برابر ۰/۲۰ و ۰/۰۷ مشاهده شد. بیشترین میزان احیاءکنندگی در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره برای گیاه زرشک وحشی و شنگ به ترتیب جذب ۲/۳۷ و ۱/۱۰ مشاهده شد (جدول ۳). تفاوت آماری معنی‌داری در قدرت احیاءکنندگی آهن در عصاره‌های دو گیاه مشاهده شد. به طوری که گیاه زرشک بالاترین میزان جذب (۲/۳۷) را در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و گیاه شنگ کمترین میزان جذب را (۰/۰۷) در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نشان دادند (P<۰/۰۵).

نتایج حاصل از فعالیت ضدباکتریایی عصاره زرشک و شنگ و آنتی‌بیوتیک استاندارد سیپروفلوکساسین بر روی باکتری‌های مورد مطالعه در جدول ۴ آمده است. عصاره گیاه شنگ فقط بر روی باکتری *باسیلوس سوبتیلیس* اثر مهار کنندگی داشت. در حالی که عصاره گیاه زرشک به جزء باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* بر روی تمام باکتری‌های مورد مطالعه اثر بازدارندگی داشت. همچنین آنتی‌بیوتیک استاندارد سیپروفلوکساسین بر روی تمام باکتری‌ها اثر مهاری داشت. با افزایش غلظت در هر دو عصاره گیاهی مورد مطالعه، قطر هاله عدم رشد به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد (P<۰/۰۵). نتایج مقایسه میانگین‌های هاله عدم رشد نشان داد که بیشترین اثر مهارکنندگی مربوط به عصاره گیاه زرشک در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر روی باکتری *باسیلوس سوبتیلیس* به میزان ۲۳/۱±۰/۹ میلی‌متر و کمترین میزان هاله عدم رشد مربوط به گیاه زرشک در غلظت ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر روی باکتری گرم منفی *اشریشیا کلی* به میزان ۷/۳±۰/۵ میلی‌متر بودند. نتایج آنالیز اثر مهارکنندگی عصاره زرشک در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نشان داد بیشترین اثر مهارکنندگی بعد از باکتری *باسیلوس سوبتیلیس* به ترتیب مربوط به باکتری‌های *لیستریا مونوسیتوژنز*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* است. هاله عدم رشد بر روی باکتری‌های گرم مثبت بیش از باکتری‌های گرم منفی مشاهده شد.

بحث

نتایج آنالیز فنل و فلاونوئید کل دو گیاه نشان داد که یک تفاوت معنی‌داری بین دو گیاه وجود دارد و فنل کل گیاه زرشک بیش از دو برابر گیاه شنگ بود. در حالی که مقدار فلاونوئید گیاه شنگ ۹ برابر گیاه زرشک است. با مقایسه نتایج قدرت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی دو عصاره و رابطه و همبستگی نتایج مذکور با فنل و فلاونوئید کل ما دریافتیم که بین فنل کل با میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی رابطه معنی‌دار و مثبتی وجود دارد تا با میزان فلاونوئیدی موجود در ترکیبات عصاره دو گیاه. بنابراین نتایج ما نشان داد بین محتوی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی به خصوص ترکیات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی همبستگی قوی و مثبتی وجود دارد.

همراستا با نتایج مطالعه حاضر، Tanruean و همکاران فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی سه گیاه *C. excavata*، *C. harmandiana* و *M. koenigii* را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در گیاه *M. koenigii* در مقایسه با دو گونه *C. excavata* و *C. harmandiana* بیشتر بوده و قاعدتاً خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نیز نسبت به دو گیاه دیگر نشان دادند.[۱۸] Farag و همکاران نیز خاصیت احیاءکنندگی، میزان ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ و میوه چهار گیاه انجیر، گواوا، زیتون و انار را مورد بررسی قرار دادند و نتایج آنها نشان داد این چهار گیاه از نظر مقادیر ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی تفاوت داشته و در همین راستا تفاوت معنی‌داری در فعالیت احیاءکنندگی این چهار گیاه مشاهده شد.[۱۹] بررسی میزان ترکیبات فنلی، فلاونولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ، ریشه ومیوه دو گونه *Berberis vulgaris* و *Horvat Berberis croatica* توسط Zovko Koncić و همکاران نشان داد ترکیبات فنلی، فلاونولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در بین این دو گونه گیاهی متفاوت است.[۲۰] به‌طوری که عصاره برگ گونه *Berberis vulgaris* میزان ترکیبات فنلی بیشتر و در نهایت عملکرد آنتی‌اکسیدانی موثرتری در مقایسه با گونه *Horvat Berberis croatica* نشان داد.

مطلب و همکاران میزان ترکیبات فنلی و خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره الکلی میوه گونه زرشک خوراکی را ارزیابی کردند[۲۱] که با نتایج مطالعه حاضر تفاوت قابل ملاحظه‌ای داشت. مقدار فنل گزارش شده برای عصاره میوه زرشک خوراکی توسط مطلب و همکاران[۲۱] ۰/۵۳±۲۸ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره و تقریباً نصف میزان فنل کل به‌دست آمده در این تحقیق بود که این مورد می‌تواند به‌علت نوع گونه، تأثیر اقلیم و شرایط جغرافیایی باشد.

همان‌طور که نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دو روش مهار رادیکال آزاد و احیاء کنندگی آهن نشان داد؛ در هر دو روش افزایش غلظت عصاره باعث افزایش مهارکنندگی و احیاءکنندگی شد و عصاره زرشک مهار و احیاء کنندگی بهتری نسبت به شنگ نشان داد که همراستا با نتایج قبلی نشان‌دهنده وجود ارتباط مثبت با میزان ترکیبات فنلی و با خاصیت آنتی‌اکسیدانی است.[۲۲و۲۳]

همانطور که نتایج فعالیت ضدباکتریایی به روش دیسک دیفیوژن نشان داد؛ عصاره گیاه زرشک فعالیت مهارکنندگی بهتری را نسبت به گیاه شنگ نشان داد. به طوری که عصاره این گیاه بر روی هر سه باکتری گرم مثبت *باسیلوس سوبتیلیس*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس* و نیز باکتری گرم منفی *اشریشیا کلی* اثر مهارکنندگی نشان داد. در حالی که عصاره گیاه شنگ فقط بر روی باکتری گرم مثبت *باسیلوس سوبتیلیس* اثر مهارکنندگی داشت. احتمالاً اثر مهارکنندگی بیشتر گیاه زرشک بر روی باکتری‌ها مربوط به وجود ترکیبات فنلی عصاره آن بوده است که نسبت به ترکیبات فنلی عصاره گیاه شنگ به‌طور معنی‌داری بیشتر بود.

Mekonnen و Desta با مقایسه فعالیت ضدمیکروبی عصاره سه گیاه *Rumex abyssinicus*، *Zingiber officinale* و *Curcuma longa* نشان دادند که عصاره گیاه *Rumex abyssinicus* به‌طور معنی‌داری نسبت به عصاره دو گیاه دیگر بر روی باکتری‌های *اشریشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* اثر مهارکنندگی داشته است.[۲۴] Elansary و همکاران اثر ضدمیکروبی شش گیاه از گونه *Ferocactus* را روی پنج باکتری *باسیلوس سرئوس*، *اشریشیا کلی*، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *مارینیلوتای کوکوس فلاووس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بررسی کردند که نشان‌دهنده اثر ضدمیکروبی قابل توجه عصاره این گونه ها بر دو باکتری *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در مقایسه با سایر باکتری‌ها بود.[۲۵]

خاصیت مهارکنندگی بیشتر عصاره‌های مورد مطالعه بر روی باکتری‌های گرم مثبت نسبت به گرم منفی می‌تواند به علت اتصال گروه‌های هیدروکسیل ترکیبات فنلی موجود در عصاره به گروه N–استیل گلوگز آمین موجود در دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت باشد و مقاومت بیشتر باکتری‌های گرم منفی به عصاره ممکن است؛ به علت وجود لیپوپلی ساکاریدهای غشاء بیرونی باکتری‌های گرم منفی نسبت داده شود که ذاتاً به عوامل خارجی مانند آنتی‌بیوتیک‌ها و شوینده‌ها مقاومند.[۲۵و۲۶]

با توجه به این که گیاه زرشک و شنگ از دیرباز به واسطه طعم مطلوب، بیشترجنبه خوراکی داشته‌اند؛ به اندازه کافی به خواص دارویی آنها توجه نشده است. لذا نتایج مطالعه حاضر اهمیت توجه به جنبه درمانی این گیاهان به ویژه زرشک وحشی را به خوبی نشان می‌دهد. در صورت انجام تحقیقات گسترده‌تر می‌توان از خواص دارویی این دو گیاه برای درمان بیماری‌های التهابی و عفونی بهره

برد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان از برتری میزان ترکیبات فنلی تام و فلاونوئیدی تام و به دنبال آن قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتر گیاه زرشک وحشی در مقایسه با گیاه شنگ بود. در بررسی خواص ضدمیکروبی این دو گونه نیز تفاوت قابل ملاحظه‌ای دیده شد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه خانم فهیمه خدابنده شهرکی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست فناوری میکروبی (شماره ۱۵۸۶۵۷۹) از دانشکده زیست فناوری دانشگاه تخصصی فناوری نوین آمل بود. بدین‌وسیله نویسندگان از گروه زیست فناوری میکروبی دانشگاه تخصصی فناوری نوین آمل تشکر می‌گردد. بین نویسندگان تضاد منافعی وجود ندارد.

References

1. Idris M, Abbas RZ, Masood S, Rehman T, Farooq U, Babar W, et al. The potential of antioxidant rich essential oils against avian coccidiosis. Worlds Poult Sci J. 2016; 73(1): 89-104. doi: 10.1017/S0043933916000787
2. Lai F, Wen Q, Li L, Wu H, Li X. Antioxidant activities of water-soluble polysaccharide extracted from mung bean (Vigna radiata L.) hull with ultrasonic assisted treatment. Carbohydrate Polymers. 2010; 81(2): 323-29. doi: 10.1016/j.carbpol.2010.02.011
3. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. Pharmacogn Rev. 2010 Jul; 4(8): 118-26. doi: 10.4103/0973-7847.70902
4. Andleeb S, Alsalme A, Al-Zaqri N, Warad I, Alkahtani J, Bukhari SM. In-vitro antibacterial and antifungal properties of the organic solvent extract of Argemone mexicana L. Journal of King Saud University – Science. 2020 Apr; 32(3): 2053-58. doi: 10.1016/j.jksus.2020.01.044
5. Ceylan S, Cetin S, Camadan Y, Saral O, Ozsen O, Tutus A. Antibacterial and antioxidant activities of traditional medicinal plants from the Erzurum region of Turkey. Ir J Med Sci. 2019 Nov; 188(4): 1303-309. doi: 10.1007/s11845-019-01993-x
6. Alreshidi M, Noumi E, Bouslama L, Ceylan O, Veettil VN, Adnan M, et al. Phytochemical Screening, Antibacterial, Antifungal, Antiviral, Cytotoxic, and Anti-Quorum-Sensing Properties of Teucrium polium L. Aerial Parts Methanolic Extract. Plants (Basel). 2020 Oct; 9(11): 1418. doi: 10.3390/plants9111418
7. Hadadi Z, Nematzadeh GA, Ghahari S. A study on the antioxidant and antimicrobial activities in the chloroformic and methanolic extracts of 6 important medicinal plants collected from North of Iran. BMC Chem. 2020 Apr; 14(1): 33. doi: 10.1186/s13065-020-00683-5
8. Gonelimali FD, Lin J, Miao W, Xuan J, Charles F, Chen M, et al. Antimicrobial Properties and Mechanism of Action of Some Plant Extracts Against Food Pathogens and Spoilage Microorganisms. Front Microbiol. 2018 Jul; 9: 1639. doi: 10.3389/fmicb.2018.01639
9. Ahmadpour Torki M, Ranjbar M, Govahi M, Tafrihi M. [Effect of Aqueous Extract of Turkey Tail (Trametes versicolor) on Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Fusarium thapsinum]. J Gorgan Univ Med Sci. 2022; 24(3): 93-98. [Article in Persian]
10. Behravan M, Hossein Panahi A, Naghizadeh A, Ziaee M, Mahdavi R, Mirzapour A. Facile green synthesis of silver nanoparticles using Berberis vulgaris leaf and root aqueous extract and its antibacterial activity. Int J Biol Macromol. 2019 Mar; 124: 148-54. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.11.101
11. Anzabi Y. Biosynthesis of ZnO nanoparticles using barberry (Berberis vulgaris) extract and assessment of their physico-chemical properties and antibacterial activities. Green Processing and Synthesis. 2018; 7(2): 114-21. doi: 10.1515/gps-2017-0014
12. Imenshahidi M, Hosseinzadeh H. Berberine and barberry (Berberis vulgaris): A clinical review. Phytother Res. 2019 Mar; 33(3): 504-23. doi: 10.1002/ptr.6252
13. Amirghofran Z, Azadbakht M, Karimi MH. Evaluation of the immunomodulatory effects of five herbal plants. J Ethnopharmacol. 2000 Sep; 72(1-2): 167-72. doi: 10.1016/s0378-8741(00)00234-8
14. Hayouni EA, Abedrabba M, Bouix M, Hamdi M. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian Quercus coccifera L. and Juniperus phoenicea L. fruit extracts. Food Chem. 2007; 105(3): 1126-34. Doi: 10.1016/j.foodchem.2007.02.010
15. Prevc T, Segatin N, Ulrih NP, Cigić B. DPPH assay of vegetable oils and model antioxidants in protic and aprotic solvents. Talanta. 2013 May; 109: 13-19. doi: 10.1016/j.talanta.2013.03.046
16. Ranjbar M, Kiani M, Nikpey A. Antioxidant and scolicidal activities of four Iranian Mentha species (Lamiaceae) in relation to phenolic elements. J Herbmed Pharmacol. 2020; 9(3): 200-208. doi: 10.34172/jhp.2020.26
17. Khan ZUH, Sadiq HM, Shah NS, Khan AU, Muhammad N, Hassan SU, et al. Greener synthesis of zinc oxide nanoparticles using Trianthema portulacastrum extract and evaluation of its photocatalytic and biological applications. J Photochem Photobiol B. 2019 Mar; 192: 147-57. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2019.01.013
18. Tanruean K, Poolprasert P, Suwannarach N, Kumla J, Lumyong S. Phytochemical Analysis and Evaluation of Antioxidant and Biological Activities of Extracts from Three Clauseneae Plants in Northern Thailand. Plants (Basel). 2021 Jan; 10(1): 117. doi: 10.3390/plants10010117
19. Farag RS, Abdel-Latif MS, Abd El Baky HH, Tawfeek LS. Phytochemical screening and antioxidant activity of some medicinal plants' crude juices. Biotechnol Rep (Amst). 2020 Oct; 28: e00536. doi: 10.1016/j.btre.2020.e00536
20. Zovko Koncić M, Kremer D, Karlović K, Kosalec I. Evaluation of antioxidant activities and phenolic content of Berberis vulgaris L. and Berberis croatica Horvat. Food Chem Toxicol. 2010 Aug-Sep; 48(8-9): 2176-80. doi: 10.1016/j.fct.2010.05.025
21. Motalleb G, Hanachi P, Kua SH, Fauziah O, Asmah R. Evaluation of Phenolic Content and Total Antioxidant Activity in Berberis vulgaris Fruit Extract. Journal of Biological Sciences. 2005; 5: 648-53. doi: 10.3923/jbs.2005.648.653
22. Dorman HJ, Koşar M, Kahlos K, Holm Y, Hiltunen R. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from Mentha species, hybrids, varieties, and cultivars. J Agric Food

Chem. 2003 Jul; 51(16): 4563-69. doi: 10.1021/jf034108k

23. Arumugam P, Ramamurthy P, Ramesh A. Antioxidant and Cytotoxic Activities of Lipophilic and Hydrophilic Fractions of Mentha Spicata L. (Lamiaceae). Int J Food Prop. 2010; 13(1): 23-31. doi: 10.1080/10942910802144329

24. Mekonnen A, Desta W. Comparative study of the antioxidant and antibacterial activities of Rumex abyssinicus with commercially available Zingiber officinale and Curcuma longa in Bahir Dar city, Ethiopia. Chem Biol Technol Agric. 2021; 8: 2. doi: 10.1186/s40538-020-00198-0

25. Elansary HO, Szopa A, Klimek-Szczykutowicz M, Ekiert H, Barakat AA, Al-Mana FA. Antiproliferative, antimicrobial, and antifungal activities of polyphenol extracts from Ferocactus species. Processes. 2020; 8(2): 138. doi: 10.3390/pr8020138

26. Koné WM, Atindehou KK, Kacou-N'douba A, Dosso M. Evaluation of 17 medicinal plants from Northern Côte d'Ivoire for their in vitro activity against Streptococcus pneumoniae. Afr J Tradit Complement Altern Med. 2006 Aug; 4(1): 17-22.