نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۸ شماره ۳/ سال ۱۳۹۷/ صفحات ۳۷ تا ۴۵

مطالعه اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی عصاره اتانولی چای ترش و علف چای بر علیه *سالمونلا انتریکا، باسیلوس سرئوس، اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس*

مهسا رشیدی[۱]، مریم مصلحی شاد[۲]، پریسا زیارتی[۱،۳] و فاطمه قمری[۴] *

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۱/۸ تاریخ پذیرش: ۹۶/۳/۲۸

[۱] کارشناس ارشد مرکز تحقیقات علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران

[۲] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد صفادشت، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

[۳] مربی گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران

[۴] استادیارگروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور تهران

*مسئول مکاتبه: Email: f.ghamari@pnu.ac.ir

چکیده

اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهان با داشتن ترکیبات ضدمیکروبی، ضدسرطانی و آنتی‌اکسیدانی به عنوان ترکیبات دارویی جدید چه در زمینه بهداشت و درمان و چه محافظت از مواد غذایی خام و فرآوری شده یا تولید محصولات غذایی سالم-تر، از اهمیت خاصی برخوردارند. این مطالعه با هدف بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره اتانولی چای ترش و علف چای صورت گرفت. خصوصیات ضدباکتریایی آن‌ها علیه باکتری‌های بیماری‌زا (*سالمونلا انتریکا، باسیلوس سرئوس، اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس*) با استفاده از روش انتشار در چاهک و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها نیز به روش ABTS بر اساس ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل ترولوکس تعیین گردید. بر اساس نتایج به دست آمده *استافیلوکوکوس اورئوس* در هر دو مورد حساس‌ترین باکتری مورد ارزیابی نسبت به عصاره علف چای و چای ترش بود و دو گیاه از نظر خواص ضدباکتریایی در برابر این میکروارگانیسم با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند ($P\geq ۰/۰۵$). *بر اساس این نتایج اختلاف معنی‌داری بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه چای ترش و علف چای مشاهده شد* ($P<۰/۰۵$). ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد که میزان IC_{50} گیاه علف‌چای ۱/۰±۵۶/۳۱ mg/mL و گیاه چای ترش ۰/۰±۷۸/۲۰ mg/mL است که گویای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر عصاره چای ترش می‌باشد. نتایج حاصل نشان می‌دهد که عصاره اتانولی گیاهان علف چای و چای ترش از خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی مناسبی برخوردارند و بنابراین می‌توان از آن‌ها در تولید فرآورده‌های مختلف غذایی و دارویی و حتی به عنوان جایگزین نگهدارنده‌های شیمیایی بهره جست.

واژگان کلیدی: چای ترش، علف چای، عصاره اتانولی، آنتی‌اکسیدان، ضدمیکروب

مقدمه

در سال‌های اخیر پژوهش‌های گسترده‌ای در مورد گیاهان دارویی صورت گرفته است؛ گیاهان دارویی حاوی مواد شیمیایی مفید برای مصارف دارویی، چاشنی‌های غذایی و مواد خوشبوکننده و معطر هستند (مولاباگال و همکاران ۲۰۰۴). یکی از مهم‌ترین محصولات گیاهان دارویی، عصاره آن‌ها است. عصاره که حاوی انواع مولکول‌های فرار، شامل ترپنوئیدها و ترکیبات آروماتیک و آلیفاتیک می‌باشد، از اندام‌های مختلف گیاهی از جمله برگ‌ها، میوه، ریشه، گل و چوب گیاه به دست می‌آید (آنتونی و همکاران ۲۰۱۱؛ ریچلینگ و همکاران ۲۰۱۰؛ هوی و همکاران ۲۰۰۹). عصاره‌های گیاهی مجموعه‌ای از ترکیبات فرار تولید شده توسط ارگانیسم‌های زنده گیاهی هستند که توسط روش‌های فیزیکی شامل عصاره‌گیری و تقطیر بدست می‌آیند. این ترکیبات به طور کلی نقش مهمی در سیستم دفاعی گیاهان در مقابل بیماری‌ها و همچنین در جهت مقابله با میکروارگانیسم‌ها ایفا می‌کنند (شهنیا و همکاران ۱۳۹۱). در حدود پنجاه هزار ماده شیمیایی فعال مختلف از ۲۰ تا ۳۰ درصد گیاهان آلی جداسازی و مورد شناسایی قرار گرفته‌اند که این فهرست پیوسته در حال گسترش بوده و هر روزه کشفیات جدیدی در این زمینه صورت می‌گیرد (فلورز و همکاران ۱۹۹۲؛ فلورز و همکاران ۱۹۹۹؛ اکسمن و همکاران ۱۹۹۱).

ترکیبات طبیعی بدست آمده از عصاره گیاهان دارویی به‌طور گسترده‌ای دارای عوامل ضدباکتریایی، ضد-ویروسی، ضدقارچی، ضدانگلی و ضدسرطانی هستند (تاج کریمی و همکاران ۲۰۱۰؛ زرگری ۲۰۱۲). فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌ها در واقع به گروهی از ترپنوئیدهای کوچک و ترکیبات فنلی آنها نسبت داده شده است. بنابراین امروزه استفاده از این ترکیبات به علت خاصیت بازدارندگی و کشندگی میکروارگانیسم-های بیماری‌زا مورد توجه قرار گرفته‌اند. استفاده از عصاره‌های گیاهی در نگهداری مواد غذایی مشکلی از لحاظ سلامتی برای مصرف‌کننده ایجاد نمی‌کند و می-تواند جایگزین مناسبی برای نگهدارنده‌های شیمیایی با اثرات مضر بر سلامت انسان محسوب شود (برومند و همکاران ۱۳۹۱).

امروزه گیاهان دارویی به عنوان منابع طبیعی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی مورد توجه محققین برای استفاده در فرآورده‌های غذایی و بیولوژیک قرار گرفته-اند به علاوه محصولاتی که از اکسیداسیون لیپیدها حاصل می‌شوند، می‌توانند روی دیگر اجزای موجود در ماده غذایی نیز تاثیر منفی داشته باشند، به طوری که علاوه بر اثرات نا مطلوب حسی در محصولات غذایی با از بین بردن ویتامین‌ها و اسیدهای چرب ضروری بدن و ایجاد ترکیبات سمی می‌توانند منجر به اثرات نامطلوب از قبیل بیماری‌های التهابی، دیابت، مشکلات قلبی عروقی و مغزی، سرطان و غیره در انسان شوند. از این‌رو استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها به منظور کند کردن سرعت اکسیداسیون در مواد غذایی ضروری به نظر می‌رسد. اخیرا با پی بردن به سمیت و سرطان‌زایی بسیاری از آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک، توجه محققین به شناسایی آنتی‌اکسیدان‌های برگرفته از منابع طبیعی معطوف شده است (کامکار و همکاران ۱۳۹۰). عصاره چای سیاه به عنوان منبع مناسبی برای تامین آنتی-اکسیدان‌های طبیعی شناخته شد و مشخص شد در ترکیب با میخک این خاصیت افزایش می‌یابد (عموزاده و همکاران ۱۳۹۵؛ رفتنی امیری و مداح ۱۳۹۴).

علف چای با نام علمی *Hypericum perforatum* گیاهی علفی و پایا از تیره هیپریکاسه *Hypericaceae* است که به صورت خودرو یافت می‌شود. در ایران در دامنه کوههای البرز، چالوس، مازندران و نقاط غرب ایران در حد زیادی می‌روید (مصحفی و همکاران ۱۳۸۵). در سال‌های اخیر استفاده از این گیاه افزایش پیدا کرده است و بیشتر مورد مصرف دارویی قرار می‌گیرد و یکی از معدود گیاهان دارویی اقتصادی است که به عنوان گیاهی غیر سمی شناخته شده است. علف چای در نواحی گرم از جمله مناطق مدیترانه‌ای می‌روید و به صورت گسترده در اروپا، آسیا (از جمله ایران)، آفریقای شمالی و ایالات متحده آمریکا می‌روید. ترکیبات مختلفی با فعالیت‌های بیولوژیک اثبات شده از

این گونه گزارش شده‌اند مانند هایپریسین[1] سودوهایپریسین[2] فلاونوئیدهای مختلف مانند کوئرستین[3] هایپرین[4] اثرات مختلف ضدافسردگی، ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدان و فعالیت ضدالتهابی از آنها گزارش شده است. در سال‌های اخیر جهت درمان جایگزین برای افسردگی‌های خفیف تا متوسط رواج یافته است (ماروزلا ۱۹۶۰ ؛ برونی و ساچتی ۲۰۰۹). این گیاه در درمان اگزما، زخم پوستی و سوختگی مورد استفاده قرار می‌گیرد و ضدسرماخوردگی، گلودرد و اشتهاآور است و به عنوان گیاهی ضدسرطانی و ارتقا دهنده ایمنی بدن شناخته شده است (بنجی رنو ۲۰۱۰)

چای ترش[5]به طور گسترده در مناطق حاره‌ای کاشت می‌شود و رنگ قرمز گلبرگ آن به عنوان نوشیدنی و رنگ غذایی کاربرد دارد. برای پیشگیری و درمان سنگ-های کلیوی و مثانه در طب سنتی، هم چنین به عنوان ضدباکتریایی، ضد قارچ، کاهنده فشارخون استفاده می-شود (دهیوریوکس کالیکس و همکاران ۲۰۰۴).

با توجه به مطالب فوق، هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره اتانولی چای ترش و علف چای بر علیه *سالمونلا انتریکا، باسیلوس سرئوس، اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع آوری گیاهان و عصاره‌گیری

اندام های هوایی گیاهان علف چای و چای ترش به طور جداگانه خریداری شدند و تائید گیاه‌شناسی روی جنس و گونه آن‌ها انجام گرفت. گیاه علف چای *Hypericum perforatum* L. با Voucher No: 1542Aupf و چای ترش *Hibiscus gossypifolius Mill* با Voucher No: PMP/A415 شناسایی شد. تهیه عصاره اتانولی به روش خیساندن انجام شد. بدین منظور گیاه مورد نظر خشک و کاملا آسیاب گردید. گیاه پودر شده در پرکولاتور قرار داده شد و اتانول تا حدی که کاملا سطح گیاه را بپوشاند، ریخته شد. خیساندن گیاه به مدت ۳ روز به طول انجامید. سپس عصاره تام حل شده داخل اتانول با باز کردن شیر دکانتور جمع-آوری شد. این عمل ۳ بار تکرار شده و در انتها عصاره حاصل توسط دستگاه روتاری از حلال جدا و تغلیظ گردید. عصاره تغلیظ شده در داخل ظروف مخصوص ریخته شد و خشک گردید.

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش مهار رادیکال آزاد ABTS

۲ و '۲ آزینوبیس ۳- اتیل بنزوتیازولین ۶- سولفونیک اسید (ABTS) در حضور پتاسیم پرسولفات به شکل رادیکالی در می‌آید. این ساختار در طول موج ۷۳۴ و ۶۵۰ نانومتر از خود جذب نشان می‌دهد و در حضور آنتی‌اکسیدان‌ها این میزان جذب به تدریج کاهش می‌یابد. از این ویژگی به منظور تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌گردد (رنی و همکاران ۲۰۰۴). در این مطالعه ابتدا از عصاره گیاهان غلظت‌های متفاوتی به این ترتیب غلظت‌های ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۳/۱۲۵، ۱/۵۶، ۰/۷۸، ۰/۳۹ و ۰/۱۹۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نیز تهیه گردید. در بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی، از روش مهار رادیکال کاتیونی ABTS استفاده گردید. بدین منظور محلولی به میزان ۷ میلی مولار از ABTS همراه با پتاسیم پرسولفات ۲/۵۴ میلی مولار تهیه گردید. محلول حاصله به مدت ۱۲ تا ۱۶ ساعت در تاریکی و دمای اتاق نگهداری شد تا رادیکال-های آزاد ABTS ایجاد گردد. سپس نمونه به محلول ABTS با جذب اولیه ۰/۷±۰/۲ اضافه شد و جذب نمونه در طول موج ۷۳۴ نانومتر تعیین گردید (رنی و همکاران ۲۰۰۴). درصد مهار کنندگی توسط رابطه زیر محاسبه گردید:

$$(A_{blank} - A_{sample}) / A_{blank} \times ۱۰۰$$

A_{blank} : میزان جذب شاهد بعد از ۵ دقیقه، A_{sample}: میزان جذب نمونه بعد از ۵ دقیقه منحنی استاندارد نیز با غلظت‌های مختلفی از ترولوکس (۰–۶۰۰ μM) تهیه

[1] Hypericin
[2] Pseudohypericin
[3] Quercetin
[4] Hyperin
[5] *Hibiscus Sabdariffa*

گردید. کاهش جذب محلول‌های استاندارد در مقابل غلظت ترولوکس به عنوان نمودار استاندارد آنتی-اکسیدانی رسم گردید (رنی و همکاران ۲۰۰۴).

استاندارد کردن جمعیت میکروبی

میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه از کلکسیون میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید. باکتری‌های مورد استفاده در این تحقیق شامل *سالمونلا انتریکا* PTCC ۱۷۰۹، *اشرشیاکلی* PTCC ۱۳۳۰، *باسیلوس سرئوس* PTCC ۱۰۱۵ و *استافیلوکوکوس اورئوس* PTCC ۱۱۱۲ است. سویه‌های میکروبی به محیط کشت BHI براث تلقیح گردید پس از ۲۴ ساعت میزان کدورت با لوله‌های مک‌فارلند مقایسه گردید. در این پژوهش جمعیت سویه‌های میکروبی معادل نیم مک-فارلند ($۱/۵ \times ۱۰^{۸}$ CFU/mL) استاندارد گردید.

تعیین خاصیت ضدباکتریایی

برای ارزیابی اثرات ضدباکتریایی از روش انتشار در آگار به روش چاهک استفاده شد. برای انجام آزمایش ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از هر سوسپانسیون باکتری به محیط کشت BHI آگار انتقال داده شد بعد به درون پلیت با قطر ۸ سانتی متر انتقال داده شد. سپس در محیط کشت چاهک‌هایی با قطر ۶ میلی‌متر در فاصله مناسب از یکدیگر ایجاد گردید و عصاره‌های رقیق شده داخل آن‌ها قرار گرفت. محیـــطهای کشت، برای مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری شد. در انتها قطر هاله‌های عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد. آزمون‌ها حداقل ۳ بار تکرار گردید (بوور و همکاران ۱۹۹۶).

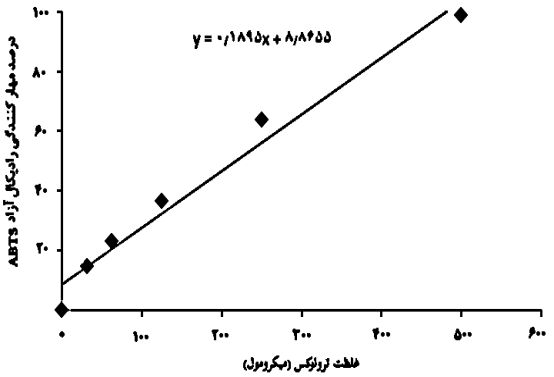
تجزیه و تحلیل آماری

ابتدا از طریق آزمون اسمیرنوف-کولموگراف به بررسی توزیع نرمال داده ها پرداخته شد و با توجه به اینکه سطح سنجش داده ها که در سطح سنجش پارامتریک می‌باشند و با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها برای مقایسه بین تیمارها از جداول تجزیه و تحلیل واریانس استفاده گردید و سپس برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون مقایسه میانگین دانکن (Duncan) استفاده شد و در مقایسه دوتایی از آزمون t-test استفاده گردید. جهت تجزیه و تحلیل آماری، از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۱ استفاده شد.

یافته‌ها

خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصـاره چـای تـرش و علـف چای

منحنی استاندارد در روش رنگ‌سنجی ABTS، با استفاده از ترولوکس ترسیم گردید (شکل۱). مقادیر بازدارندگی عصاره‌های علف چای و چای ترش با استفاده از رگرسیون خطی حاصل از منحنی استاندارد ترولوکس، به صورت میانگین (معادل میکروگرم بر میلی‌لیتر ترولوکس± انحراف معیار) بیان شد.



شکل۱- منحنی استاندارد فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترولوکس

جدول ۱ داده های مربوط به تعیین ظرفیت آنتی-اکسیدانی معادل ترولوکس عصاره چای ترش و علف چای در غلظت‌های مختلف را نشان می‌دهد.

جدول ۱- ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل ترولوکس عصاره چای ترش و علف چای بر حسب میکرو مول در نمونه ها با غلظت های مختلف (mg/mL)

عصاره علف چای	عصاره چای ترش	غلظت
۴۵۲/۴۰±۹/۰۰ [a]	۴۷۲/۰۱±۸/۹۲ [a]	۵۰
۴۶۲/۱۶±۹/۰۴ [a]	۴۷۱/۵۰± ۸/۸۹ [ab]	۲۵
۴۵۳/۰۳±۸/۹۴ [a]	۴۶۲/۷۴±۸/۹۳ [b]	۱۲/۵
۴۶۶/۷۰± ۸/۹۵ [a]	۴۴۴/۲۷±۹/۰۱ [c]	۶/۲۵
۴۰۰/۵۵ ±۹/۰۰ [b]	۴۰۶/۸۳±۹/۰۵ [d]	۳/۱۲۵
۲۸۷/۳۱±۸/۹۲ [c]	۳۴۳/۷۵±۹/۰۷ [e]	۱/۵۶
۲۱۹/۲۹±۸/۹۹ [d]	۱۶۷/۰۵±۹/۱۶ [f]	۰/۷۹
۳۰/۰۵±۸/۹۵ [e]	۹۶/۶۲±۸/۹۷ [g]	۰/۳۹
۰	۲۴/۳۰±۸/۸۹ [h]	۰/۱۹۵
۰	۰	۰/۱۰

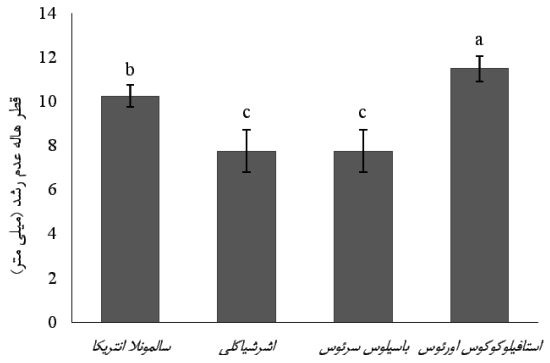
در هر ستون، حروف کوچک غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

مقایسه غلظت معادل ۵۰ درصد مهارکنندگی (IC_{50}) عصاره‌های چای ترش و علف چای برحسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲- مقایسه IC۵۰ اثر عصاره‌های چای ترش و علف چای در مهار رادیکال های آزاد

نوع عصاره	IC_{50}
چای ترش	۰/۷۸ ± ۰/۲۰ [a]
علف چای	۱/۵۶ ± ۰/۳۱ [b]

در هر ستون، حروف کوچک غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.



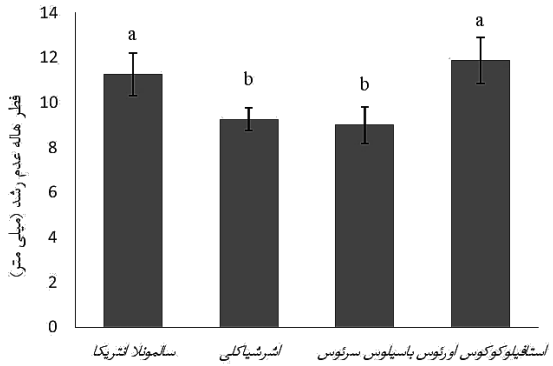
شکل ۲- مقایسه تاثیر عصاره چای ترش بر باکتری‌های مورد مطالعه

حروف انگلیسی متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار آماری است (P<۰/۰۵)

اثر ضدباکتریایی عصاره اتانولی چای ترش و علف چای

نتایج حاصل از بررسی خاصیت ضدباکتریایی عصاره اتانولی چای ترش بر باکتری‌ها (*سالمونلا انتریکا، باسیلوس سرئوس، اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس*) در شکل ۲ نشان داده شده است.

نتایج حاصل از بررسی عصاره اتانولی علف چای بر باکتری‌های مورد مطالعه در شکل ۳ نشان داده شده است.



شکل۳- مقایسه تاثیر عصاره علف چای در برابر باکتری-های مورد مطالعه

حروف انگلیسی متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار آماری (P<۰/۰۵)

جدول ۳ به مقایسه قطر هاله عدم رشد عصاره چای ترش و علف چای در برابر باکتری‌های مورد مطالعه (*سالمونلا انتریکا، باسیلوس سرئوس، اشرشیاکلی واستافیلوکوکوس اورئوس*) می‌پردازد.

جدول۳- میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی متر) اثر عصاره‌های چای ترش و علف چای روی باکتری های مورد مطالعه

نوع اسانس	*اشرشیاکلی*	*استافیلوکوکوس اورئوس*	*باسیلوس سرئوس*	*سالمونلا آنتریکا*
چای ترش	۷/۰±۷۵/۹۶ [b]	۱۱/۵ ± ۰/۵۸ [a]	۷/۷۵ ± ۰/۹۶ [b]	۱۰/۲۵ ۰±/۵۰ [b]
علف چای	۹/۲۵ ۰±/۵۰ [a]	۱۱/۸۸ ۱±/۰۳ [a]	۹/۰±۰۰/۸۲ [a]	۱۱/۲۵ ۰±/۹۶ [a]

در هر ستون (میانگین± انحراف معیار) که دارای حروف کوچک نامشابه هستند، در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار دارند.

بحث و نتیجه گیری

تجزیه و تحلیل نتایج حاصل از بررسی خاصیت آنتی-اکسیدانی عصاره الکلی علف چای و چای ترش در این تحقیق نشان داد که عصاره الکلی گیاهان علف چای و چای ترش دارای قابلیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد می‌باشند. این فعالیت عمدتاً به دلیل وجود قدرت اکسیداسیون- احیا است که می‌تواند نقش مهمی در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد داشته باشد. این فعالیت به طور معمول مربوط به گروه‌های هیدروکسیل فنولی می‌باشد (ایوبی ۱۳۹۲). ارزیابی آزمون آنتی‌اکسیدانی و نتایج جداول ۲ و ۳ نشان داد که میزان IC_{50} گیاه علف چای ۱/۵۶ mg/mL و گیاه چای ترش ۰/۷۸ mg/mL بود. بر اساس این نتایج اختلاف معنی‌داری بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه چای ترش و علف چای مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). این توانایی جهت مهار رادیکال‌های آزاد ممکن است مربوط به مونوترپن‌های فنولی محلول در الکل باشد (دجابو و همکاران ۲۰۱۲).

نتایج حاصل از بررسی خاصیت ضدباکتریایی عصاره الکلی چای ترش و علف چای بر باکتری‌های مورد مطالعه در شکل ۲ و ۳ و جدول ۴ نشان داده شده است. مطالعه اثر عصاره چای ترش بر چهار باکتری مورد مطالعه نشان داد که عصاره چای ترش برعلیه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* از بیشترین خاصیت بازدارندگی برخوردار است ($P<۰/۰۵$). در مقابل *باسیلوس سرئوس* و *اشرشیاکلی* از کمترین حساسیت در برابر چای ترش برخوردار می‌باشند و اختلاف معنی‌داری بین این دو باکتری مشاهده نشد ($\geq ۰/۰۵$).

مقایسه اثر عصاره علف چای بر چهار باکتری مورد مطالعه با آزمون دانکن نشان داد که باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا انتریکا* از بیشترین حساسیت در برابر عصاره علف چای برخوردارند ($P<۰/۰۵$). درحالی‌که *باسیلوس سرئوس* و *اشرشیاکلی* در برابر عصاره علف چای از کمترین حساسیت برخوردار بودند.

نتایج نشان داد؛ عصاره الکلی گیاهان علف چای و چای ترش قدرت قابل توجهی در مهار رشد باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا انتریکا، باسیلوس سرئوس* و *اشرشیاکلی* از خود نشان دادند. بنابراین، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که عصاره الکلی گیاهان علف چای و چای ترش می‌توانند به طور موثری از رشد باکتری‌ها جلوگیری نمایند. عصاره الکلی گیاهان علف چای و چای ترش فعالیت ضدباکتریایی خود را به طور احتمال از طریق آسیب به غشاء سیتوپلاسمی میکروارگانیسم‌ها اعمال می‌کنند. عصاره از غشاء سیتوپلاسمی عبور کرده و سبب ایجاد اختلال در ساختار لیپیدی غشاء و تغییر در نفوذپذیری آن و فرایندهای غشائی می‌گردد (کاتالینیک و همکاران ۲۰۰۶). نفوذپذیر کردن غشاء سبب افزایش نشت پروتون از سلول، اختلال در پتانسیل الکتریکی غشاء و نیروی حرکتی پروتون می‌شود و در نهایت سنتز آدنوزین تری فسفات (ATP) را کاهش می‌دهد (باسر و همکاران ۲۰۰۸). میزان آسیب به غشاء پلاسمایی ناشی از عصاره الکلی گیاهان علف چای و چای ترش و اجزاء اصلی تشکیل دهنده آن‌ها، مربوط به حالت آبگریزی آن‌ها می باشد (نوسترو وهمکاران ۲۰۰۹). همچنین

وجود گروه هیدروکسیل برای فعالیت‌های ضد باکتریایی و ضد قارچی آن‌ها ضروری است (سوکوویک و همکاران۲۰۱۰؛ گارسیا و همکاران ۲۰۱۱). نتایج حاصل نشان داد؛ بین خاصیت ضدباکتریایی عصاره الکلی چای ترش و علف چای در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($P\geq۰/۰۵$). درحالی‌که خاصیت ضد باکتریای آنها در برابر سایر میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P<۰/۰۵$). اختلاف میزان فعالیت عصاره الکلی گیاهان علف چای و چای ترش بر روی باکتری‌های متفاوت احتمالاً مربوط به تفاوت لایه لیپوپلی‌ساکاریدی روی دیواره سلولی آن‌ها وابسته است. باکتری‌هایی که دارای لایه خارجی ضخیم تری از لیپوپلی‌ساکاریدها باشند، ترکیبات عصاره الکلی گیاهان علف چای و چای ترش قادر به نفوذ در درون غشاء پلاسمایی در غلظت‌های پایین نمی-باشند. با این حال، این لایه ضخیم پلی‌ساکاریدی را می توان با غلظت های بالای عصاره مختل نمود (گارسیا و همکاران ۲۰۱۱).

شاید بتوان بروز اثرات ضدباکتریایی در عصاره گیاهان مورد مطالعه در این تحقیق را به ترکیبات فلاونوئیدی و پلی‌فنلی آن نسبت داد. اثر ضدمیکروبی فلاونوئیدها از طریق تشکیل کمپلکس با غشاء خارجی و پروتئین های محلول که به غشاء متصل هستند، می-باشد. هم‌چنین این ترکیبات با نفوذ در غشاء سلولی و شکستن آن باعث اثر ضدمیکروبی می‌شوند. ترکیبات فنلی هم با تداخل در عمل غشاء سیتوپلاسمی و تداخل در ورود و خروج مواد به درون سلول اثر ضدمیکروبی خود را اعمال می‌کنند. علت حساسیت بیشتر باکتری-های گرم مثبت نسبت به عصاره‌ها، ممکن است ناشی از این باشد که این باکتری‌ها در دیواره‌ی سلولی یک لایه دارند. درحالی‌که در باکتری‌های گرم منفی این دیواره از چند لایه تشکیل شده است. به طور کلی نتایج این تحقیقات علاوه بر این که اثرات ضد میکروبی گیاهان را تایید می‌کند، بیان‌کننده‌ی این موضوع نیز می‌باشد که گونه‌های مختلف این دو گیاه با توجه به نوع حلال و روش بررسی، اثرات مختلفی دارند. هم چنین تفاوت نتایج ممکن است به دلیل تفاوت سویه‌های باکتری و نوع محیط کشت باشد. نتایج نشان می‌دهد که عصاره اتانولی گیاهان علف چای و چای ترش از توان آنتی-اکسیدانی و ضدباکتریایی مناسبی برخوردارند و بنابراین می توان از آن‌ها در صنایع غذایی و دارویی بهره جست.

منابع مورد استفاده

ایوبی م، ۱۳۹۲. تعیین قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی تام *Phlomis Ianceolata Boiss & Hohen* به سه روش لیپید پراکسیداسیون و فعالیت شلات کنندگی یون‌های فلزی آهن و ظرفیت احیای تام، پایان‌نامه‌ی دکتری داروسازی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی، ۳۰ –۲۸.

برومند ع، حامدی م، امام جمعه ز، رضوی ه و، گلمکانی م، ۱۳۹۱. بررسی خاصیت ضدمیکروبی اسانس بذرهای شوید (*Anethum graveolens*) و گشنیز (*Coriangrum sativum*) روی *استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی* O157:H7، *سالمونلا تیفی موریوم* با استفاده از آزمایش حساسیت رقت در محیط مایع، مجله پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران بومی یزد، مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، ، دوره ۱، ش۳، ۲۰۶–۱۹۷.

رفتنی امیری ز، مداح، پ، ۱۳۹۴. بررسی میزان پلیفنلهای کل و کافئین موجود در چای سبز و سیاه و پودر فوری آنها، نشریه پژوهشهای صنایع غذایی دوره ۲۵، ش ۳، ۴۲۶–۴۱۹.

شهنیا م و، خاکسار ر، ۱۳۹۱. بررسی اثرات ضدمیکروبی و روشهای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی اسانس‌ها گیاهی بر باکتری-های پاتوژن، مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، دوره ۷، ش۵، ۹۵۵–۹۴۹.

عموزاد ع، محمدزاده میلانی ج، معتمدزادگان ع، ۱۳۹۵. بررسی تاثیر افزودنیهای دم کردنی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی چای سیاه، نشریه پژوهشهای صنایع غذایی دوره ۲۶ ش۳، ۴۹۰–۴۸۱.

کامکار ا، شریعتی فر ن، جمشیدی ا، جبلی جوان ا، صادقی ط و ضـغیم منفـرد م، ۱۳۹۰. مطالعـه فعالیـت آنتـی‌اکسـیدانی اسـانس و عصاره پونه (*Mentha longifolia*) ایرانی در شرایط آزمایشگاهی، فصلنامه گیاهان دارویی، ۴۱، ۱۹۴-۱۸۵.

مصحفی م، فروتن ح و مهربانی م، ۱۳۸۵. بررسی اثرات ضدباکتریایی چای مکی(*Hibiscus sabdariffaL.*) به دو روش نفـوذی و بیواتوگرافی تعلیقی، مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ۱۳، ۱۱۰-۱۰۳.

Anthony JP, Fyfe L, Smith H. Plant active components. A resource for antiparasitic agents Trends in Parasitol. 2011; 3(21): 462-468.

Baser KHC. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. Current Pharmaceutical Design. 2008; 14: 3106–3119.

Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single Disk Method. Am. J. Clin. Pathol.1996; 45: 493–496.

Bongiorno P. Hypericum for Depression. Natural Medicine Journal. 2010; 2(12): 1-9.

Bruni R, Sacchetti G. Factors affecting polyphenol biosynthesis in wild and field grown St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L. *Hypericaceae/Guttiferae*). Molecules. 2009; 14: 682-725.

D'Heureux Calix F, Badrie N. Consumer acceptance and physicochemical quality of processed red sorrel/roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) sauces from enzymaticextracted calyces. Food Serv. Technol. 2004; 4(4): 141-8.

Djabou N, Allali H, Battesti MJ, Tabti Costa J, Muselli A, Varesi L. Chemical and genetic differentiation of two Mediterranean subspecies of *Teucrium scorodonia* L., Phytochemistry.2012; 74: 123-132.

Flores H, Curtis W. Approaches to understanding and manipulating the biosynthetic potential of plant roots. Annals of the New York Academy of Sciences.1992; 2 (665): 188- 209.

Flores H, VIvanco J, Loyola Vargas V. Radical Biochemistry: the biology of root specific metabolism. Trends in Plant Science.1999; 4(6): 220- 226.

Garcia-garcia, R, Lopez-Malo A, Palou E. Bactericidal action of binary and ternary mixtures of carvacrol, thymol, and eugenol against *listeria Innocua*. J. Food Sci. 2011; 76, 15: 112-116.

Hui H, Tang G, Go VLW. Hyperglycemic herbs and their actions mechanisms. Chines Medicine. 2009; 5(4): 11-22.

Katalinic V, Milos M, Kulisic T, Jukic M. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. Food Chem. 2006; 94: 550–557.

Maruzzella GC, Sicurella NA. Antibacterial activity of essential oil vapors, Journal of Pharmaceutical Science. 1960; 4(49): 692–694.

Mulabagal V, Tsay H. Plant cell cultures and alternative and efficient source for the production of biologically important secondary metabolites. International Journal of Applied Science and Engineering. 2004; 3 (2): 29- 48.

Nostro A, Marino A, Blanco AR, Cellini L, DiGiulio M, Pizzimenti F, Sudano-Roccaro A, Bisignano G. *In-Vitro* activity of carvacrol against Staphylococcal preformed biofilm by liquid and vapour contact. J. Med. Microbiol.2009; 58: 791–797.

Oksman-Caldenty K, Kivela O, Hiltunen R. Spont NEOUS shoot organogenesis and plNT regeneration from hairy root cultures of Hyoscyamus muticus. Plant Science.1991; 4(78): 129- 136.

Reichling J, Schnitzler P, Suschke U, Saller R. Essential oils of aromatic plants with antibacterial antifungal antiviral and cytotoxic properties. Forschende Komplementar Medizin. 2010; 2(16): 79-90.

Reni R, Pellegrini N, Protegenete A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic. Biol. 1999; 26: 1231–1237.

Sokovic M, Glamoclija J, Marin PD, Brkic D, Van Griensven LJ. Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an *in-vitro* model. Molecules. 2010; 15: 7532–7546.

Tajkarimi MM, Ibrahima SA, Cliver DO. Antimicrobial herb and spice compounds in food. Food Control. 2010; 4(21): 1199–1218.

Zargari A. Herbal drugs. 6th ed. University of Tehran Press. Tehran: 2012, 22–25; Tehran, Iran.

Antioxidant and antimicrobial activity of *Hibiscus gossypifolius* and *Hypericum perforatum* against *Salmonella enterica, Bacillus cereus, Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

M Rashidi[1], M Moslehishad[2], P Ziarati[1,3] and F Ghamari[4*]

Received: January 27, 2017 Accepted: June 18, 2017

[1]MSc, Nutrition and Food Sciences Research Center, Medical Sciences Tehran, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2]Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Safadasht Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[3]Instructor, Department of Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran - Iran (IAUPS)
[4]Assistant Professor, Department of science, Payame Noor University P.O. Box 19395-4697, Tehran, Iran

Abstract

Essential oils and extracts of medicinal plants with antimicrobial, anticancer and antioxidant activity are important as a new drug compounds in the field of health and protection of raw and processed foods or healthier food products. The aim of this study was to compare the antioxidant and antibacterial properties of ethanol extracts of *Hypericum perforatum* and *Hibiscus gossypifolius*. The antibacterial properties against pathogenic bacteria (*Salmonella enterica*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*) using well diffusion and antioxidant activity were also tested using Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) method with $ABTS^{+\bullet}$. The results revealed that *Staphylococcus aureus* was the most sensitive bacteria to *Hypericum* and *Hibiscus* extracts and there was no significant difference between two extracts ($P \geq 0.05$). The results revealed that there was a significant difference between antioxidant activity of *Hibiscus* and *Hypericum* ($P<0.05$). Evaluation of antioxidant activity showed that the IC_{50} of *Hypericum* and *Hibiscus* was 1.56±0.31 mg/mL and 0.78±0.2 mg/mL, respectively. Therefore, *Hibiscus gossypifolius* had higher antioxidant capacity than *Hypericum perforatum.* The results showed that ethanol extracts of *Hypericum* and *hibiscus* had antioxidant and antibacterial activity; therefore, they can be used in food and pharmaceutical industries as natural additive.

Keywords: *Hibiscus gossypifolius*, *Hypericum perforatum*, Ethanol Extract, Antioxidant, Antimicrobial