Journal of Birjand University of Medical Sciences

Birjand University of Medical Sciences

Original Article

Evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of aqueous and hydroalcoholic extracts of *Ferula gummosa* Boiss plant gum: An *in-vitro* study

Mostafa Ghasemi[1], Mostafa Govahi[2]*, Hajar Rajaei Litkohi[2]

ABSTRACT

Background and Aims: Due to various antioxidant and antimicrobial compounds, plants are considered valuable sources. *Ferula gummosa* Boiss plant is one of the most important species of the Apiaceae family and is scattered in the eastern and western regions of Iran. This study aimed to investigate the antioxidant and antimicrobial properties of aqueous and hydroalcoholic extracts of *Ferula gummosa* Boiss plant gum.

Materials and Methods: The levels of phenolic and flavonoid compounds and the antioxidant capacity (by the iron reduction and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging methods) were determined in this laboratory study. The antimicrobial activity of the extracts was evaluated using the disc diffusion method, the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration were determined for some bacteria. Data analysis was performed using a factorial experiment within a completely randomized design, and Duncan's multiple range test was used to compare the means.

Results: The highest content of phenolic compounds and flavonoids in methanol extract were (53.21±2.43 mg GAE/g dw) and (38.42±1.78 mg QE/g dw), respectively. The highest percentage of free radical scavenging and iron reduction power related to the methanolic extract was 96.43±3.56% and 1.963±0.012 µg/ml, respectively. Antimicrobial activity using the disk diffusion method and the MIC of *Bacillus subtilis* bacteria in all three extracts showed the most sensitivity compared to other bacteria.

Conclusion: The results of this study showed that the methanolic extract of the *Ferula gummosa* Boiss plant had antimicrobial activity, antioxidant potential, and higher phenolic and flavonoid content than the ethanolic and aqueous extracts.

Keywords: Antimicrobial activity, Antioxidant activity, *Ferula gummosa* Boiss, Hydroalcoholic extract, Minimum inhibitory concentration

Citation: Ghasemi M, Govahi M, Rajaei Litkohi H. [Evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of aqueous and hydroalcoholic extracts of *Ferula gummosa* Boiss plant gum: An *in vitro* study]. J Birjand Univ Med Sci. 2023; 30(3): 243-256. [Persian]

DOI http://doi.org/10.32592/

Received: August 5, 2023 **Accepted:** December 19, 2023

[1] Department of Microbial Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran
[2] Department of Nano Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

***Corresponding author:** Department of Nano Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran
Tel: +989111550015 Fax: +981144442135 E-mail: m.govahi@ausmt.ac.ir

مقاله اصیل پژوهشی

ارزیابی فعالیت‌های ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و هیدروالکلی صمغ گیاه باریجه: در شرایط آزمایشگاهی

مصطفی قاسمی[۱]، مصطفی گواهی[۲]*، هاجر رجایی لیتکوهی[۲]

چکیده

زمینه و هدف: گیاهان به‌دلیل داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی مختلف، به‌عنوان منابع ارزشمندی شناخته می‌شوند. گیاه باریجه یکی از گونه‌های مهم خانواده چتریان است و در مناطق شرق و غرب ایران پراکنده است. هدف از این مطالعه، بررسی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره‌های آبی و هیدروالکلی صمغ گیاه باریجه می‌باشد.

روش تحقیق: در این مطالعه آزمایشگاهی، میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (به روش‌های قدرت احیاءکنندگی آهن و مهار رادیکال آزاد DPPH) تعیین شد. فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌ها به روش انتشار دیسک، حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) بر روی برخی باکتری‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. آنالیز داده‌ها با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد و برای مقایسه میانگین‌های از آزمون تعقیبی چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

یافته‌ها: بیشترین محتوای فنل کل و ترکیبات فلاونوئیدی مربوط به عصاره متانولی به ترتیب به میزان ۲/۴۳±۵۳/۲۱ میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم وزن خشک و ۱/۷۸±۳۸/۴۲ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک بود. بالاترین درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و قدرت احیاءکنندگی آهن مربوط به عصاره متانولی به ترتیب به میزان ۳/۵۶±۹۶/۴۳ درصد و ۰/۰۱۲±۱/۹۶۳ میکروگرم در میلی‌لیتر به دست آمد. در فعالیت ضدمیکروبی با استفاده از روش انتشار دیسک و حداقل غلظت بازدارندگی باکتری باسیلوس سوبتیلیس، در هر سه عصاره بیشترین حساسیت را نسبت به دیگر باکتری‌ها از خود نشان داد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره متانولی صمغ گیاه باریجه دارای فعالیت ضدمیکروبی، پتانسیل آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنلی و فلاونوئیدی بالاتری نسبت به عصاره‌های اتانولی و آبی بود.

واژه‌های کلیدی: فعالیت ضدمیکروبی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، باریجه، عصاره هیدروالکلی، حداقل غلظت بازدارندگی

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۴۰۲؛ ۳۰ (۳): ۲۴۳-۲۵۶.

دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۱۴ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۲۸

[۱] گروه زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست‌فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران

[۲] گروه نانو زیست فناوری، دانشکده زیست‌فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران

***نویسنده مسئول:** گروه نانو زیست فناوری، دانشکده زیست‌فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران

آدرس: آمل- دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل- دانشکده زیست‌فناوری- گروه نانو زیست فناوری

تلفن: ۰۹۱۱۱۵۵۰۰۱۵ نمابر: ۰۱۱۴۴۴۴۲۱۳۵ پست الکترونیکی: govahi@ausmt.ac.ir

مقدمه

در سال‌های اخیر، باکتری‌های بیماری‌زا و عوامل فساد مواد غذایی، یکی از چالش‌های مهم ایمنی مواد غذایی را به وجود آورده‌اند، به عبارتی شیوع بیماری‌های مختلف به دلیل مصرف غذاهای جدید افزایش یافته است. همچنین، واکنش اکسیداسیون لیپیدها ممکن است منجر به تشکیل محصولات جانبی سمی شود که می‌تواند سلامت انسان را به خطر بیاندازد (۱). گیاهان به دلیل مزایایی مانند قیمت ارزان، دسترسی آسان و سازگاری با محیط زیست، به عنوان یک راه حل برای درمان بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. استفاده از ترکیبات گیاهی در درمان بیماری‌ها، روشی قدیمی و تا قبل از قرن نوزدهم میلادی، از راه‌های اصلی درمان بیماری‌ها بود. گسترش علوم مختلف به عنوان مثال فیتوشیمی و فارماکولوژی، استفاده از مواد شیمیایی در تولید داروهای ضدمیکروبی را فراهم کرده است، اما به دلیل استفاده نادرست و بی‌رویه از این داروها، دانشمندان دوباره به استفاده از ترکیبات گیاهی برای درمان بیماری‌های عفونی بازگشته‌اند. عصاره‌های گیاهی دارای اثرات ضدباکتریایی شناخته شده هستند و رویکرد تحقیقات علمی بر روی دستیابی به مواد زیستی گیاهی متمرکز شده است. استفاده از مواد گیاهی به عنوان منابع طبیعی برای درمان بیماری‌ها، به دلیل کاهش مقاومت دارویی و عوارض جانبی داروهای شیمیایی، بسیار مورد توجه قرار گرفته است. آنتی‌اکسیدان‌ها، ترکیباتی هستند که از سلول‌های بدن در برابر اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کنند. گیاهان دارای مواد مؤثری هستند که برای درمان بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲).

تحقیقات در زمینه خواص آنتی‌رادیکالی گیاهان دارویی باعث شناخته شدن ترکیبات فنلیک آن‌ها شده است. این ترکیبات، بهبود پایداری اکسیداتیو در برخی سامانه‌های غذایی را به دنبال دارند و از کاهش کیفیت تغذیه‌ای و واکنش‌های نامطلوب در محصول جلوگیری می‌کنند. استفاده از گیاهان دارویی به عنوان جایگزین داروهای شیمیایی، به دلیل داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌رادیکالی، کاهش عوارض جانبی داروهای شیمیایی و مهار رشد میکروارگانیسم‌ها، بسیار مورد توجه قرار گرفته است. گیاهان دارای ترکیباتی هستند که ضدمیکروبی بوده و به عنوان جایگزین مناسبی برای داروهای شیمیایی مطرح شده‌اند. ترکیبات فنلی، تانن‌ها، آلکالوئیدها و فلاونوئیدها از جمله متابولیت‌های ثانویه گیاهان هستند که خواص ضدمیکروبی دارند. به همین دلیل، کشف و معرفی مواد ضدمیکروبی با منشأ گیاهی، به عنوان یک رویکرد موثر در مقابله با بیماری‌ها، رو به افزایش است (۳). ترکیبات ضدمیکروبی مشتق شده از گیاهان با مکانیسم‌های متفاوت در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌ها، باعث از بین رفتن باکتری‌ها می‌شوند. این موضوع در درمان عفونت‌های ناشی از سویه‌های مقاوم میکروبی از نظر بالینی بسیار مهم است. با توجه به رویکرد دوباره به مصرف داروها و محصولات گیاهی، بررسی خواص درمانی گیاهان اهمیت ویژه‌ای دارد. از جهت دیگر، بدن به ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نیاز دارد؛ زیرا آنتی‌اکسیدان‌ها با جلوگیری از فعالیت رادیکال‌های آزاد (که از واکنش‌های اکسیداسیون ناشی می‌شوند و می‌توانند باعث آسیب به سلول‌ها شوند) یا حذف آن‌ها و حفاظت از سلول‌های بدن در برابر اثرات مخرب این ترکیبات، در پیشگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی، سکته، پیری و پیشرفت سرطان کمک می‌کنند. همچنین، در صورت تشکیل رادیکال‌های آزاد، می‌توانند تأثیر آن‌ها را بر بدن کاهش دهند (۴). با ظهور سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف، تلاش‌های فراوانی برای به‌کارگیری خاصیت ضدمیکروبی گیاهان به عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌ها انجام شده است. از سوی دیگر، حضور سویه‌های مقاوم در باسیل‌های گرم منفی و کوکسی‌های گرم مثبت از جمله سودوموناس، کلبسیلا، انتروباکتر، استافیلوکوکوس و انتروکوکوس، درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری‌ها را دشوار کرده است (۵). باکتری‌های مورد استفاده در این پژوهش، *باسیلوس سوبتیلیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیاکلای* و *سودوموناس آئروژینوزا* می‌باشد. *سودوموناس‌ها*، باکتری‌های گرم منفی، هوازی و متحرک هستند و برخی از آن‌ها قابلیت تولید رنگدانه‌های حلال در آب را دارند. این باکتری‌ها در خاک، آب، گیاهان و حیوانات به صورت گسترده‌ای یافت می‌شوند. *سودوموناس آئروژینوزا*، تنها زمانی به عنوان عامل بیماری‌زا عمل می‌کند که به محیطی که از دفاع طبیعی برخوردار نیست، وارد شود.

برای درمان عفونت‌های بالینی *سودوموناس آئروژینوزا*، بهتر است از روش درمان تک دارویی خودداری شود، زیرا این روش احتمال موفقیت کمتری دارد و ممکن است باعث ایجاد مقاومت سریع باکتری شود (۶). *اشرشیا کلای*، یک باکتری گرم منفی از خانواده انتروباکتریاسه است که بی‌هوازی اختیاری و بدون اسپور می‌باشد. این باکتری‌ها اغلب متحرک هستند. عموماً *اشرشیا کلای* در دستگاه گوارش انسان زندگی می‌کند و به صورت عادی بیماری‌زا نیست؛ اما سویه‌های خاصی از این باکتری تحت شرایط خاص می‌توانند بیماری‌های مختلفی را ایجاد کنند (۷). *باسیلوس سوبتیلیس*، یک باکتری گرم مثبت، میله‌ای شکل و اغلب هوازی اجباری و بی‌هوازی اختیاری است. این باکتری می‌تواند اسپور تولید کند و برای مدت‌های طولانی در برابر شرایط نامساعد محیطی، مانند خشکی، نمک بالا، pH بالا، تشعشع و حلال‌ها مقاومت کند. *باسیلوس‌ها*، باکتری‌های بسیار مفیدی هستند و می‌توانند به عنوان پروبیوتیک در افراد سالم استفاده شوند. با این حال، فقط در بیمارانی که به ضعف پاسخ ایمنی شدید دچار هستند، می‌تواند بیماری‌زایی ایجاد کند. باید توجه داشت که *باسیلوس سوبتیلیس* به ندرت باعث مسمومیت غذایی می‌شود (۸). *استافیلوکوکوس اورئوس*، کوکسی گرم مثبت و بی‌هوازی اختیاری است که به شکل خوشه در زیر میکروسکوپ قابل مشاهده است. کلنی باکتری، به شکل زرد طلایی بوده و هنگام رشد بر روی محیط آگار خون، همولیز ایجاد می‌کند (۹).

خانواده چتریان با ۱۳۳ گونه در مناطق مدیترانه و آسیا مرکزی، یکی از خانواده‌های گیاهی بزرگ در ایران است. برخی گونه‌های این خانواده در گروه‌های سبزیجات ریشه‌ای و معطره قرار می‌گیرند و برای مصرف تغذیه انسان به کار می‌روند. همچنین، میوه‌ها و دانه‌های آن‌ها برای معطر کردن مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۰). باریجه یا *Ferula gummosa* Boiss، یکی از گیاهان دارویی، صنعتی و آروماتیک ایران است که در شاخه نهاندانگان، رده دولپه‌ای‌ها و خانواده چتریان[1] (در ایران با حدود ۳۰ گونه) قرار دارد. این گیاه بومی مناطق شرق و غرب ایران است و در استان‌های سمنان، خراسان رضوی، خراسان شمالی، اصفهان، فارس و استان‌های مرکزی پراکنده است (۱۱). باریجه گیاهی علفی، خودرو و چندساله است که در سال آخر رویش، ساقه می‌دهد و گل و میوه خود را تشکیل می‌دهد. صمغ حاصل از باریجه، به دلیل شفافیت و پیوند با قدرت بالا، در تولید انواع چسب‌ها، پارچه و لوازم آرایشی استفاده می‌شود. همچنین، به عنوان مواد اولیه در تولید چسب بی‌رنگ، جواهرات و الماس مورد استفاده قرار می‌گیرد. باریجه دارای ویژگی‌های درمانی ضدعفونی‌کننده، ضداسپاسم، تسکین‌دهنده درد، ضد التهاب و مقوی معده است. این گیاه در صنعت تولید چسب و پارچه، لوازم آرایشی-بهداشتی و جواهرسازی استفاده می‌شود و قابلیت استحصال شیرابه‌ای با ارزش دارویی و صنعتی دارد. باریجه بیشتر به عنوان طعم‌دهنده در محصولات غذایی و به عنوان معطرکننده و تثبیت‌کننده عطر در فرآورده‌های آرایشی استفاده می‌شود. گیاه باریجه در گذشته، برای درمان ناراحتی‌های عصبی همراه با آنغوزه مصرف می‌شد (۱۲).

منابع ژنتیکی گیاهان دارویی در اکوسیستم‌های خشک و نیمه‌خشک ایران به خاطر روش‌های نامناسب برداشت و بهره‌برداری تهدید شده‌اند. کاهش فراوانی برخی از گونه‌های گیاهی دارویی و تخریب اکوسیستم‌های آن‌ها می‌تواند خطر انقراض را به دنبال داشته باشد. فعالیت اقتصادی جمع‌آوری گیاهان دارویی از منابع طبیعی، مورد توجه میلیون‌ها نفر در ایران قرار گرفته است، اما نیاز به مطالعات اکولوژیکی بیشتری برای بهره‌برداری پایدار از این منابع وجود دارد. در مناطق در حال توسعه، استفاده از داروهای گیاهی گسترده است، اما اطلاعات کافی در مورد سلامت و کارایی درمانی آن‌ها وجود ندارد. لازم است اقدامات مناسبی برای حفاظت و بهره‌برداری پایدار از این منابع صورت گیرد (۱۳). این مطالعه با هدف استخراج عصاره آبی و هیدروالکلی صمغ گیاه باریجه و ارزیابی و مقایسه تأثیر حلال بر میزان فنل و فلاونوئید، خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدمیکروبی علیه برخی از میکروارگانیسم‌های شاخص عفونت و مسمومیت در شرایط آزمایشگاهی طراحی و اجرا شده است.

[1] Apiaceae

روش تحقیق

تهیه عصاره آبی و هیدروالکلی گیاه باریجه

صمغ گیاه باریجه (هرباریوم ۴۸۵۹۰) از ارتفاعات استان خراسان شمالی در اردیبهشت ۱۴۰۰ جمع‌آوری شده است. سپس پس از تأیید گونه گیاهی در دانشکده گیاهان دارویی، به آزمایشگاه دانشکده زیست فناوری منتقل شد. پس از تمیز کردن و جداسازی آلودگی از نمونه گیاهی، به‌منظور به کارگیری مفیدتر، در آسیاب پودر شد. ۱۰ گرم از پودر صمغ گیاه باریجه به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شده و به مدت یک ساعت روی همزن مغناطیسی با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس عصاره به مدت ۷۲ ساعت درون انکوباتور شیکردار گذاشته شد. در ادامه عصاره با دور ۶۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و سپس با کاغذ واتمن شماره ۱ فیلتر شد. در نهایت توسط دستگاه خشک‌کن انجمادی در دمای منفی ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک و عصاره‌های به‌دست آمده برای ادامه کار، در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. همچنین جهت تهیه عصاره‌های هیدروالکلی گیاه باریجه، مراحل فوق با تغییر حلال به متانول ۸۰ درصد و اتانول ۷۰ درصد تکرار شد. حذف حلال نیز توسط دستگاه تبخیر در خلا صورت گرفت و عصاره‌ها تا هنگام استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (۱۴).

تعیین میزان فنل کل

جهت ارزیابی میزان محتوای فنل کل موجود در عصاره‌ها، با استفاده از روش فولین–سیوکالتیو[1] به شیوه‌ی طیف‌سنجی بررسی شد. در این روش، ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاه با ۱۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتیو و ۱۲۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۲۰ درصد ترکیب شده و با افزودن آب دیونیزه به حجم نهایی ۴۰۰۰ میکرولیتر رسانده شد. سپس ترکیب به دست آمده به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در محیط تاریک قرار داده شد و سپس جذب نوری نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (۱۵). نتایج محتوای فنل کل عصاره‌ها بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک گیاه بیان گردید.

تعیین مقدار فلاونوئیدی کل

برای تعیین مقدار فلاونوئیدها در نمونه عصاره‌های گیاهی، از روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید استفاده شد. در این روش، ۶۰۰ میکرولیتر از عصاره با ۶۰۰ میکرولیتر آلومینیوم کلرید و ۱۸۰۰ میکرولیتر استات پتاسیم ترکیب شده و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در محیط تاریک قرار داده شد. سپس جذب نوری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (۱۵). مقدار فلاونوئید کل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک مشخص شد.

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش مهار رادیکال آزاد DPPH[2]

در این آزمون، ۱۰۰۰ میکرولیتر عصاره با غلظت‌های ۴۰، ۸۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، به ۳۰۰۰ میکرولیتر محلول DPPH تهیه شده با متانول، اضافه شد. سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در محل تاریکی نگهداری شد. جذب نمونه همراه با نمونه شاهد (متانول) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد (۱۶). همچنین، با استفاده از داده‌ها، منحنی ترکیب آنتی‌اکسیدانی رسم شده و سپس میزان IC_{50} (مقداری از آنتی‌اکسیدان که لازم است تا غلظت DPPH را به ۵۰ درصد اولیه برساند) محاسبه شد. درصد مهارکنندگی رادیکال‌های DPPH با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید:

درصد بازدارندگی = [(جذب نوری شاهد/جذب نوری نمونه–جذب نوری شاهد)×۱۰۰]

بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی از طریق تعیین قدرت احیاءکنندگی آهن

روش احیاء آهن به عنوان یک شاخص از قدرت آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌شود که در این روش، آهن (III) به آهن (II) احیاء می‌شود و تغییر رنگ مخلوط آزمایش این واکنش را تأیید می‌کند.

[1] Folin-Ciocalteu

[2] 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

برای انجام این آزمون، ۱۰۰۰ میکرولیتر از عصاره با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، با ۱۰۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار با pH=۶/۶ ترکیب شده و سپس ۱۰۰۰ میکرولیتر پتاسیم فری سیانید ۱ درصد به آن اضافه شده و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در ادامه، مقدار ۱۰۰۰ میکرولیتر تری کلرو استیک اسید ۱۰ درصد به ترکیب اضافه شده و سپس ۱۵۰۰ میکرولیتر از محلول حاصل با ۱۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر و ۴۰۰ میکرولیتر کلرید آهن (III) ترکیب شد. در نهایت، جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۱۶).

ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی

فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌ها با استفاده از روش انتشار دیسک[1] طبق استاندارد (CLSI M02-A12) تعیین گردید (۱۷). جهت ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های به دست آمده، میکروارگانیسم‌های *باسیلوس سوبتیلیس (PTCC654)*، *استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC1431)*، *اشرشیا کلای (PTCC1399)* و *سودوموناس آئروژینوزا (PTCC1074)* از مرکز منطقه‌ای کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران تهیه شدند.

بدین منظور، در ابتدا سوسپانسیون‌های باکتریایی رشد یافته و استاندارد شده با محلول ۰/۵ مک فارلند تهیه شد و سپس با استفاده از سوآپ استریل بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار استفاده گردید. در ادامه، دیسک‌های کاغذی به قطر ۶ میلی‌متر به فاصله حداقل ۲۵ میلی‌متر از یکدیگر و از لبه پلیت، به وسیله پنس استریل روی سطح محیط کشت قرار گرفته و مقدار ۲۰ میکرولیتر از عصاره با غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دیسک‌ها اضافه شد. سپس پلیت‌ها به انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت منتقل شدند. در نهایت، پس از گذشت ۲۴ ساعت قطر هاله‌های عدم رشد اطراف دیسک بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری و ثبت شد. برای کنترل نتایج آزمون، از دو آنتی‌بیوتیک جنتامایسین (۱۰ میکروگرم بر دیسک) و وانکومایسین (۳۰ میکروگرم بر دیسک) به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد (۱۸).

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC)

حداقل غلظت بازدارندگی رشد (MIC[2]) با استفاده از روش ماکرودایلوشن براث (Broth Macro dilution) طبق استاندارد (CLSI M07-A8) تعیین گردید (۱۹). برای این منظور، سوسپانسیون باکتریایی هر کدام از سویه‌ها، مطابق با استاندارد ۰/۵ مک فارلند (10^8 CFU/mL) در محیط‌کشت نوترینت براث تهیه شده و پس از رقت سازی تا 10^6 CFU/mL در لوله‌های آزمایش استریل توزیع گردید. سپس حجم معین از رقت‌های دو برابری هر عصاره (۰/۱ تا ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به آن اضافه گردید. تمامی لوله‌های آزمایش به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. غلظتی که هیچ کدورتی ناشی از رشد باکتری در آن دیده نشد، به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی رشد (MIC) در نظر گرفته شد. جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC[3]) ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های فاقد کدورت، بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شدند و پس از ۲۴ ساعت انکوبه شدن، کمترین غلظتی از عصاره که قادر به مرگ ۹۹/۹ درصد از باکتری‌ها بود، به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی میکروارگانیسم‌ها در نظر گرفته شد (۱۸).

تجزیه و تحلیل آماری

برای اطمینان از صحت نتایج آزمایشات، هر آزمایش سه بار تکرار شد. جهت آنالیز آماری نتایج به دست آمده در این پژوهش از نرم افزار SPSS نسخه ۲۶ استفاده شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون تعقیبی چند دامنه‌ای دانکن به صورت انحراف استاندارد±میانگین (mean±SD) استفاده شد. از نظر آماری نیز مقدار P-value کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

[1] Disk diffusion

[2] Minimum Inhibitor Concentration (MIC)

[3] Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

یافته‌ها

محتوای فنلی و فلاونوئیدی کل

مقادیر ترکیبات فنلی و فلاونوئید عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گیاه باریجه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که مقادیر ترکیبات فنلی عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی به ترتیب ۱/۲۱±۲۹/۱۲، ۱/۷۳±۴۲/۳۸ و ۲/۴۳±۵۳/۲۱ میلی‌گرم گالیک‌اسید بر وزن خشک بود. همچنین میزان محتوای فلاونوئید کل عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی به ترتیب ۰/۸۷±۲۳/۲۵، ۱/۳۲±۳۲/۱۶ و ۱/۷۸±۳۸/۴۲ میلی‌گرم کوئرستین بر وزن خشک بود.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش مهار رادیکال DPPH

تأثیر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گیاه باریجه با درصد مهار رادیکال DPPH مورد ارزیابی قرار گرفت و در جدول ۱ آورده شده است. رنگ بنفش محلول DPPH به تدریج در حضور عصاره به رنگ زرد تغییر یافت که نشانگر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره باریجه می‌باشد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت عصاره، میزان مهار رادیکال DPPH افزایش یافت. کمترین قدرت بازدارندگی مربوط به عصاره‌ی آبی باریجه ۱/۱۲±۲۵/۶۳ درصد در غلظت ۴۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بیشترین میزان بازدارندگی مربوط به عصاره متانولی باریجه ۳/۵۶±۹۶/۴۳ درصد در غلظت ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. درصد مهار رادیکالی ۵۰ درصد IC_{50} عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گیاه باریجه محاسبه گردید. بدیهی است که هر چه این عدد کوچک‌تر باشد، قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتر است. مقادیر درصد مهار رادیکالی در عصاره آبی ۱۵۴/۷۰، عصاره اتانولی ۹۷/۱۲ و عصاره متانولی ۵۷/۲۵ بود که نشان‌دهنده خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر عصاره متانولی نسبت به دیگر عصاره‌ها است.

جدول ۱- میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش مهار رادیکال‌های آزاد DPPH عصاره‌های آبی و هیدروالکلی صمغ گیاه باریجه در غلظت‌های مختلف

نوع حلال	غلظت‌های عصاره (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	درصد مهار رادیکال DPPH	میزان IC_{50} (میکروگرم بر میلی‌لیتر)
آبی	۴۰	۱/۱۲±۲۵/۶۳ k	۱۶۳/۲۱ a
	۸۰	۱/۶۸±۴۳/۵۷ h	۱۰۸/۳۶ c
	۱۵۰	۲/۲۱±۶۲/۵۷ f	۷۳/۹۷ f
	۳۰۰	۲/۸۷±۸۴/۵۶ c	۴۴/۱۲ i
اتانولی	۴۰	۱/۴۵±۳۳/۱۲ j	۱۲۹/۵۶ b
	۸۰	۲/۰۲±۵۴/۲۳ g	۸۲/۴۷ e
	۱۵۰	۲/۷۹±۷۲/۴۳ d	۵۴/۶۳ h
	۳۰۰	۳/۳۴±۹۱/۶۷ b	۲۷/۴۷ k
متانولی	۴۰	۱/۶۲±۴۲/۵۶ i	۱۰۰/۷۵ d
	۸۰	۲/۴۵±۶۵/۲۱ e	۵۷/۵۳ g
	۱۵۰	۳/۰۱±۸۴/۲۳ c	۲۹/۸۸ j
	۳۰۰	۳/۵۶±۹۶/۴۳ a	۱۴/۷۶ l

*** میانگین‌هایی که دارای حرف مشابه هستند، بر مبنای آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۰/۰۵ تفاوت معنی‌داری ندارند.**

فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش قدرت احیاءکنندگی آهن

قدرت احیاءکنندگی آهن عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گیاه باریجه در غلظت‌های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفته و در جدول ۲ آورده شده است. نتایج نشان داد که تمام عصاره‌ها دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی بوده و با افزایش غلظت عصاره‌ها، فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت. بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصاره متانولی باریجه ۰/۰۱۲±۱/۹۶۳ در غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر است و کمترین فعالیت مربوط به عصاره آبی باریجه ۰/۰۰۵±۰/۳۳۶در غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود.

جدول ۲- قدرت احیاءکنندگی آهن غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی و هیدروالکلی صمغ گیاه باریجه

نوع حلال	غلظت‌های مختلف عصاره (میکروگرم بر میلی‌لیتر)			
	۴۰۰	۲۰۰	۱۰۰	۵۰
آبی	۱/۰۵۷±۰/۰۱۳ e	۰/۷۷۶±۰/۰۱۰ f	۰/۵۲۶±۰/۰۰۷ g	۰/۳۳۶±۰/۰۰۵ h
اتانولی	۱/۸۱۷±۰/۰۱۴ b	۱/۴۳۶±۰/۰۱۲ c	۱/۰۷۱±۰/۰۰۹ e	۰/۷۴۰±۰/۰۰۶ f
متانولی	۱/۹۶۳±۰/۰۱۲ a	۱/۷۸۱±۰/۰۱۳ b	۱/۴۳۵±۰/۰۱۱ c	۱/۱۲۴±۰/۰۰۸ d

*** میانگین‌هایی که دارای حرف مشابه هستند، بر مبنای آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۰/۰۵ تفاوت معنی‌داری ندارند.**

جدول ۳- میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری‌ها (بر حسب میلی‌متر) غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی و هیدروالکلی صمغ گیاه باریجه

نوع حلال	سویه‌های میکروبی	غلظت عصاره (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)				
		۱۰۰	۲۰۰	۴۰۰	آنتی‌بیوتیک	نوع آنتی‌بیوتیک
آبی	*استافیلوکوکوس اورئوس*	۱۳±۰/۲ pq	۱۶/۵±۰/۳ j	۱۹±۰/۴ fg	۲۰±۰/۰	وانکومایسین
	اشرشیا کلای	۱۲±۰/۵ r	۱۵/۵±۰/۶ kl	۱۸±۰/۳ hi	۱۸±۰/۰	جنتامایسین
	باسیلوس سوبتیلیس	۱۴/۵±۰/۳ mn	۱۸/۵±۰/۴ gh	۲۱±۰/۲ d	۲۰±۰/۰	وانکومایسین
	سودوموناس آئروژینوزا	۱۰±۰/۴ t	۱۲/۵±۰/۵ qr	۱۵±۰/۴ lm	۱۸±۰/۰	جنتامایسین
اتانولی	*استافیلوکوکوس اورئوس*	۱۵±۰/۵ lm	۱۹±۰/۳ fg	۲۲±۰/۴ c	۲۰±۰/۰	وانکومایسین
	اشرشیا کلای	۱۴±۰/۳ no	۱۸/۵±۰/۴ gh	۲۱/۵±۰/۲ cd	۱۸±۰/۰	جنتامایسین
	باسیلوس سوبتیلیس	۱۶±۰/۴ jk	۲۰±۰/۶ e	۲۳/۵±۰/۵ b	۲۰±۰/۰	وانکومایسین
	سودوموناس آئروژینوزا	۱۱±۰/۲ s	۱۳/۵±۰/۳ op	۱۵/۵±۰/۴ kl	۱۸±۰/۰	جنتامایسین
متانولی	*استافیلوکوکوس اورئوس*	۱۶±۰/۴ jk	۲۰±۰/۳ e	۲۳/۵±۰/۲ b	۲۰±۰/۰	وانکومایسین
	اشرشیا کلای	۱۵/۵±۰/۳ kl	۱۹/۵±۰/۵ ef	۲۳±۰/۲ b	۱۸±۰/۰	جنتامایسین
	باسیلوس سوبتیلیس	۱۷/۵±۰/۲ i	۲۲±۰/۵ c	۲۵/۵±۰/۳ a	۲۰±۰/۰	وانکومایسین
	سودوموناس آئروژینوزا	۱۲/۵±۰/۳ qr	۱۵±۰/۴ lm	۱۷/۵±۰/۵ i	۱۸±۰/۰	جنتامایسین

*** میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشابه هستند، بر مبنای آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۰/۰۵ تفاوت معنی‌داری ندارند.**

فعالیت ضدمیکروبی

فعالیت ضدمیکروبی سه عصاره آبی، اتانولی و متانولی در غلظت‌های مختلف بر روی باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت بررسی شد. نتایج به‌دست آمده در جدول ۳ نشان داد که تمامی عصاره‌های گیاه باریجه دارای اثر ضدمیکروبی خوبی بوده و با افزایش غلظت عصاره‌ها، سطح هاله مهاری افزایش می‌یابد. بیشترین سطح هاله مهار رشد در عصاره متانولی صمغ گیاه باریجه در غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مربوط به باکتری‌های گرم مثبت *باسیلوس سوبتیلیس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب با میزان ۲۵/۵±۰/۳ و ۲۳/۵±۰/۲ میلی‌متر ایجاد شده و کمترین هاله عدم رشد در تمام غلظت‌ها و در همه حلال‌ها متعلق به باکتری‌های گرم منفی *سودوموناس آئروژینوزا* و *اشرشیا کلای* بود.

در این بررسی، نتایج حاصل از حداقل غلظت بازدارندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گیاه باریجه علیه چهار باکتری استفاده شده در جدول ۴ آورده شده است. بر اساس نتایج به دست آمده مشخص شد که تمامی عصاره‌های گیاه باریجه، فعالیت بازدارندگی و کشندگی خوبی را در برابر باکتری‌های مورد آزمایش داشتند. به‌گونه‌ای که کمترین میزان MIC و MBC در عصاره متانولی باریجه با بالاترین فعالیت ضدمیکروبی در برابر باکتری *باسیلوس سوبتیلیس* و به‌ترتیب در غلظت‌های ۱/۵۶ و ۳/۱۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد.

جدول ۴- حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره‌های آبی و هیدروالکلی صمغ گیاه باریجه

نوع حلال	سویه‌های میکروبی	غلظت عصاره (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	
		MIC	MBC
آبی	*استافیلوکوکوس اورئوس*	۱۲/۵	۲۵
	اشرشیا کلای	۱۲/۵	۲۵
	باسیلوس سوبتیلیس	۳/۱۳	۶/۲۵
	سودوموناس آئروژینوزا	۲۵	۵۰
اتانولی	*استافیلوکوکوس اورئوس*	۲۵	۵۰
	اشرشیا کلای	۲۵	۵۰
	باسیلوس سوبتیلیس	۶/۲۵	۱۲/۵
	سودوموناس آئروژینوزا	۱۲/۵	۲۵
متانولی	*استافیلوکوکوس اورئوس*	۶/۲۵	۱۲/۵
	اشرشیا کلای	۶/۲۵	۱۲/۵
	باسیلوس سوبتیلیس	۱/۵۶	۳/۱۳
	سودوموناس آئروژینوزا	۱۲/۵	۲۵

بحث

در سال‌های اخیر، گرایش عمومی به استفاده از عصاره‌های طبیعی به عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدان، ضدمیکروب و نگهدارنده افزایش یافته است. استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، به دلیل از میان بردن رادیکال‌های آزاد و پیشگیری از عوارض جانبی آن‌ها، روشی موثر است. گیاهان حاوی مقدار قابل توجهی فنل و فلاوونوئید هستند که در تمام قسمت‌های آن‌ها پراکنده شده‌اند و خواص آنتی‌اکسیدانی به آن‌ها می‌دهند. ترکیبات زیست فعال گیاهی، برای درمان بسیاری از بیماری‌ها، پتانسیل بالایی دارند، زیرا می‌توانند بدون هیچگونه عوارض جانبی ایفای نقش کنند. مطالعات نشان داده‌اند که ترشح ترکیبات مؤثره گیاهی به دلیل فعال شدن مسیر سنتز متابولیت‌های ثانویه آن‌ها صورت می‌گیرد و می‌تواند در گیاهان مختلف، به اشکال متفاوتی دیده شود. به نظر می‌رسد که میزان متابولیت‌های ثانویه، تحت تأثیر شرایط مختلفی از قبیل موقعیت جغرافیایی و نحوه استخراج آن‌ها از گیاه، متفاوت باشد (۲۰). ترکیبات ثانویه موجود در گیاهان دارویی در بررسی‌های اخیر توجه ویژه‌ای را به خود جلب کرده‌اند. به ویژه، وجود ترکیبات ضدمیکروبی در این گیاهان، اهمیت آن‌ها را برای تولید پادزیست‌های طبیعی و نوین در علوم پزشکی دو چندان کرده است. آنتی‌بیوتیک‌ها داروهای مهمی برای درمان بسیاری از بیماری‌ها هستند، اما استفاده بیش از حد از آن‌ها می‌تواند منجر به مقاومت میکروبی شود. به همین دلیل، دانشمندان در تحقیقات خود بر روی قسمت‌های مختلف گیاهان دارویی تمرکز کردند تا داروهای جدید با منشأ گیاهی را کشف کنند (۲۱). مطالعات انجام شده توسط محققان نشان داد که گیاهان دارویی، به دلیل داشتن ترکیبات مختلف، قابلیت کنترل باکتری‌های مختلف بیماری‌زا را دارا هستند. این گیاهان، با داشتن آنتی‌اکسیدان‌های قوی، می‌توانند به سلامتی بدن کمک کرده و در برابر عوامل مخربی مانند آلودگی هوا و آب، محافظت نمایند. در این مطالعه آزمایشات، وجود ترکیبات فنولیک و فلاونوئید را تأیید کرد. نتایج نشان داد که بیشترین مقدار ترکیبات فنلی و فلاونوئید مربوط به عصاره متانولی صمغ گیاه باریجه به ترتیب به میزان ۵۳/۲۱ میلی‌گرم گالیک‌اسید بر وزن خشک عصاره و ۳۸/۴۲ میلی‌گرم کوئرستین بر وزن خشک عصاره بود که این امر ناشی از غنی بودن عصاره از ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی است. در تحقیقات دیگری نتایج حاصل شده نشان داد که استخراج ترکیبات فنلی تحت تأثیر قطبیت حلال قرار داشته و مقادیر پلی‌فنل‌ها و فلاونوئیدها به دلیل استفاده از حلال‌های مختلف، به شدت متفاوت هستند. در یک مطالعه بر روی گیاه *Stachys tmolea* و با استفاده از دو حلال آبی و متانولی برای استخراج عصاره، مشاهده شد که میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئید در عصاره متانولی بیشتر از عصاره آبی هستند (۲۲).

در یک تحقیق بر روی گیاه *Rosmarinus eriocalyx*، نتایج نشان داد که میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در عصاره متانولی بیشتر از عصاره آبی است (۲۳). همچنین در پژوهشی که توسط گواهی و همکاران بر روی گیاه *Teucrium hyrcanicum* انجام شده، میزان فنل و فلاونوئید عصاره متانولی بیشتر از عصاره آبی به دست آمد (۱۶). در مطالعه احمدی و همکاران بر روی گیاه *Brassica oleracea* میزان مقادیر فنل و فلاونوئید در عصاره متانولی نسبت به عصاره اتانولی بیشتر بود (۲۴). نتایج این تحقیقات نشان داد که عصاره متانولی در مقایسه با عصاره آبی در میزان ترکیبات فنلی، برتری دارد که تأییدکننده نتایج پژوهش ما می‌باشد.

بدان جهت که ترکیبات زیست فعال موجود در گیاهان نظیر فنل‌ها و فلاونوئیدها دارای قابلیت نهفته به منظور پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد می‌باشند، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه باریجه به روش رادیکال‌های آزاد DPPH مورد بررسی قرار گرفت. رادیکال آزاد DPPH با دریافت اتم هیدروژن از گروه‌های هیدروکسیل ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره، باعث کاهش محتوای DPPH و تغییر رنگ محلول از بنفش تیره به زرد خواهد شد. نتایج بررسی حاکی از آن بود که عصاره‌های گیاه باریجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی در غلظت‌های مختلف داشته و فعالیت آن‌ها وابسته به غلظت بود به طوری که عصاره متانولی گیاه باریجه دارای بالاترین درصد مهار رادیکال آزاد به میزان ۹۶/۴۳ درصد بوده که این نتیجه می‌تواند به دلیل قطبیت کمتر متانول نسبت به آب یا اتانول باشد. در پژوهشی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی چهار گونه نعناع توسط رنجبر و همکاران بررسی شد. نتایج نشان داد که عصاره متانولی نعناع پیپریتا بیشترین مقدار فنل، فلاونوئید و درصد مهار رادیکال آزاد را در بین گونه‌های مورد مطالعه داشت (۲۵). با توجه به مطالعات اخیر و همراستا بودن با این پژوهش، استفاده از عصاره متانولی باعث افزایش عملکرد آنتی‌اکسیدانی می‌شود. استفاده از اتانول به عنوان حلال برای استخراج پلی‌فنل‌ها شناخته شده و برای مصرف انسان بی‌خطر می‌باشد. با این حال، به دلیل طیف گسترده‌ای از ترکیبات با قطبیت‌های مختلف، متانول برای استخراج و تجزیه و تحلیل فیتوشیمیایی نمونه‌های گیاهی پیشنهاد می‌شود، به خصوص ترکیباتی که قطبیت کمتری دارند و دارای وزن مولکولی پایین‌تر هستند. همچنین در تکنیک خیساندن برای استخراج کامل نمونه‌های گیاهی، متانول نسبت به اتانول ارجحیت دارد. احیاءکنندگی بدین صورت است که با از دست دادن الکترون به وسیله یک آنتی‌اکسیدان سبب تغییر رنگ محلول و ایجاد ماده رنگی که شدت رنگ تولید شده بیانگر پیشرفت واکنش می‌شود که در این تحقیق، بالاترین میزان احیاءکنندگی مربوط به عصاره متانولی با مقدار ۱/۹۶۳ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. فیروزکوهی و همکاران با بررسی تأثیر حلال‌های مختلف بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه *Momordica charantia* به این نتیجه رسیدند که بیشترین فعالیت احیاءکنندگی و آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصاره متانولی می‌باشد (۲۶). فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌ها در برابر چهار سویه باکتریایی *باسیلوس سوبتیلیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیا کلای* و *سودوموناس آئروژینوزا* مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفت. نتایج ضدمیکروبی این مطالعه نشان داد که هر چهار سویه باکتریایی نسبت به سه حلال مختلف عصاره حساس بوده و با کاهش غلظت، فعالیت ضدمیکروبی نیز کاهش پیدا کرد. این کاهش می‌تواند به دلیل افزایش رقت عصاره و کاهش غلظت مواد مؤثره آن باشد. بالاترین فعالیت مربوط به باکتری‌های گرم مثبت *باسیلوس سوبتیلیس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بود. ترکیبات فعال موجود در این عصاره‌ها، کمترین اثر ضدمیکروبی را بر روی باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* که دارای غشاء خارجی با منافذ بسیار کوچک بوده، داشت. تفاوت در ساختار دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی ممکن است علت تأثیر متفاوت عصاره‌ها بر رشد آن‌ها باشد. باکتری‌های گرم منفی دارای غشای خارجی هستند که به عنوان یک عامل محافظتی عمل می‌کند و به آب و مولکول‌های بزرگ و آب گریز اجازه عبور نمی‌دهد. بنابراین، به دلیل ماهیت آب گریزی اکثر ترکیبات مؤثر موجود در عصاره‌ها، این مواد امکان ورود و دسترسی به نقاط فعال درون باکتری‌های گرم منفی را ندارند. به همین دلیل، باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت، مقاومت بیشتری نسبت به این ترکیبات از خود نشان می‌دهند (۲۷). در مطالعه‌ای که توسط ایزدی و همکاران بر روی گیاه

Salvia officinalis صورت گرفت، نتایج نشان داد که فعالیت ضدمیکروبی در برابر سویه‌های گرم مثبت، قوی‌تر از آن در مقابل سویه‌های گرم منفی بود (۲۸). نتایج تحقیقی بر روی گیاه *Rosmarinus eriocalyx* نشان داد که عصاره متانولی این گیاه خاصیت ضدمیکروبی بیشتری نسبت به عصاره آبی دارد (۲۳). در تحقیقی که بر روی فعالیت‌های ضدمیکروبی عصاره‌های آبی و متانولی گیاه *Beta vulgaris* انجام شد، نتایج نشان داد که عصاره آبی بر روی هیچ‌کدام از گونه‌های باکتری‌های مورد مطالعه تأثیری نداشت، در عین حال عصاره متانولی این گیاه بر روی باکتری‌های *باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلای* و *سالمونلا انتریکا* تأثیر بازدارندگی داشت (۲۹). بر اساس اندازه هاله عدم رشد، می‌توان قدرت بازدارندگی عصاره‌ها را طبقه‌بندی کرد. برای رتبه‌بندی عصاره با فعالیت متوسط، هاله مهاری باید در بازه ۸ تا ۱۳ میلی‌متر باشد؛ در حالی که برای فعالیت بسیار بالا، هاله مهاری باید بیشتر از ۱۴ میلی‌متر باشد. بنابراین، نتایج نشان داد که عصاره‌های مورد بررسی اثر متوسط در مقابل باکتری‌های گرم منفی نشان دادند، در حالی که در مقابل باکتری‌های گرم مثبت فعالیت بسیار بالایی داشتند. در این پژوهش، بیشترین اندازه هاله عدم رشد مربوط به عصاره متانولی در برابر باکتری *باسیلوس سوبتیلیس*، به میزان ۲۵/۵ میلی‌متر بود. همچنین، کمترین اندازه هاله عدم رشد مربوط به عصاره آبی در برابر باکتری سودوموناس آئروژینوزا، به میزان ۱۰ میلی‌متر بود. نتایج این مطالعه با دیگر تحقیقات انجام شده مطابقت دارد و نشان می‌دهد متانول بهترین حلال برای استخراج مواد ضدمیکروبی از گیاهان در مقایسه با سایر حلال‌ها مانند آب و اتانول می‌باشد (۳۰). بیشتر ترکیبات ضدمیکروبی در گیاهان دارویی، شامل ترکیبات آروماتیک و ترکیبات آلی اشباع هستند که در حلال‌های الکلی مانند متانول و اتانول حلالیت بیشتری دارند. تفاوت در نوع ترکیبات گیاهی یافت شده در گیاهان دارویی در برخی موارد می‌تواند عامل این اختلاف باشد. در مجموع، نتایج ارزیابی در شرایط آزمایشگاهی نشان داد که عصاره متانولی گیاه دارویی باریجه دارای بیشترین فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. پس از انجام بررسی‌های بیشتر بر روی حیوانات آزمایشگاهی، می‌توان آن را به عنوان یک گزینه مناسب در تولید داروهای گیاهی جدید با کمترین عوارض جانبی به دلیل طبیعی بودن، در نظر گرفت.

نتیجه‌گیری

گیاه باریجه از زمان‌های قدیم مورد توجه طب سنتی واقع شده است اما به طور جدی به جنبه‌های آن توجه نشده است. بطور کلی، نتایج به‌دست آمده نشان داد که عصاره متانولی گیاه باریجه بیشترین پتانسیل آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنلی و فلاونوئیدی را دارد. همچنین، در مقایسه با عصاره آبی و اتانولی، عصاره متانولی فعالیت ضدمیکروبی بیشتری روی باکتری‌های گرم مثبت مورد مطالعه دارد.

تقدیر و تشکّر

این مطالعه ماحصل بخشی از پایان‌نامه دانشجو تحت عنوان "سنتز سبز نانوذرات نقره توسط عصاره گیاه باریجه *Ferula gummosa* Boiss پوشش‌دار شده با کیتوزان و ارزیابی فعالیت‌های بیولوژیکی و ضدتوموری آن"، در مقطع کارشناسی ارشد در سال ۱۴۰۱ با کد رهگیری ۱۷۳۴۸۱۴ بوده و از دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل به دلیل همکاری در اجرای این پژوهش تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر پس از تأیید شورای پژوهشی دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل و کمیته اخلاق در پژوهش با کد IR.ASMT.REC.1402.008 انجام شد.

حمایت مالی

این پژوهش با هزینه نویسندگان و معاونت آموزشی و پژوهشی دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل انجام شد.

مشارکت نویسندگان

مصطفی قاسمی: طراحی و انجام آزمایش‌ها، جمع‌آوری داده‌ها، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، نگارش و ویرایش مقاله را انجام داد. مصطفی گواهی: طراحی و هدایت آزمایش‌ها، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، ویرایش مقاله را بر عهده داشت. هاجر رجایی لیتکوهی: نظارت و هدایت آزمایش‌ها، تفسیر نتایج و ویرایش مقاله را مسئول بود. مقاله نهایی توسط نویسندگان بررسی و تأیید شد.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

منابع:

1- Alizadeh behbahani B, Noshad M, Falah F. Study the chemical composition of essential oil of Foeniculum vulgare and antioxidant activity and its cell toxicity. Journal of food science and technology (Iran). 2020; 17(104): 124-33. [Persian] DOI: 10.52547/fsct.17.104.124 URL: http://fsct.modares.ac.ir/article-7-42484-en.html

2- Al-Rifai A, Aqel A, Al-Warhi T, Wabaidur SM ,Al-Othman ZA, Badjah-Hadj-Ahmed AY. Antibacterial, antioxidant activity of ethanolic plant extracts of some Convolvulus species and their DART-ToF-MS profiling. eCAM. 2017; 2017: 5694305. DOI: 10.1155/2017/5694305

3- Khosravi S, Rezayatmand Z, Ghiasian M. Study of antioxidan and antimicrobial effects of aqueous and alcoholic extract of plant (Lawsonia inermis, punica granatum, walnut, Myrtus) on gram positive and gram negative bacteria. Applied Biology. 2020; 9(36): 1-17. URL: https://sjoapb.qom.iau.ir/article_672589.html?lang=en

4- Dzah CS, Duan Y, Zhang H, Wen C, Zhang J, Chen G, et al. The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: A review. Food Biosci. 2020; 35: 100547. DOI: 10.1016/j.fbio.2020.100547

5- Carvalho RJ, Souza PF, Malveira EA, Neto NA, Silva RR, Melo GL, et al. Antimicrobial Activity of the Essential Oil from Croton Pluriglandulosus Carn. Leaves against Microorganisms of Clinical Interest. J Fungi. 2023; 9, 756. DOI: 10.20944/preprints202305.0615.v1

6- Hewer SCL, Smith S, Rowbotham NJ, Yule A, Smyth AR. Antibiotic strategies for eradicating Pseudomonas aeruginosa in people with cystic fibrosis. Cochrane Database Syst Rev. 2023; 6(6):CD004197. DOI: 10.1002/14651858.CD004197.pub6

7- Pokharel P, Dhakal S, Dozois CM. The diversity of escherichia coli pathotypes and vaccination strategies against this versatile bacterial pathogen. Microorganisms. 2023; 11(2): 344. DOI: 10.3390/microorganisms11020344

8- Baard V, Bakare OO, Daniel AI, Nkomo M, Gokul A, Keyster M, et al. Biocontrol potential of Bacillus subtilis and Bacillus tequilensis against four fusarium species. Pathogens. 2023; 12(2): 254. DOI: 10.3390/pathogens12020254

9- Tuon FF, Suss PH ,Telles JP, Dantas LR, Borges NH, Ribeiro VST. Antimicrobial treatment of Staphylococcus aureus biofilms. Antibiotics. 2023; 12(1): 87. DOI: 10.3390/antibiotics12010087

10- Eizadifard F, Tafrihi M, Mohadjerani M. Antioxidant, cytotoxic, and genotoxic potentials of the gum of Ferula gummosa Boiss on PC-3 cells. Avicenna J Phytomed.2023; 13(3): 316-327. DOI: 10.22038/ajp.2022.21605

11- Mahboubi M. Ferula gummosa, a traditional medicine with novel applications. J Diet Suppl. 2016; 13(6): 700-18. DOI: 10.3109/19390211.2016.1157715

12- Hashemi Z, Hojjati M, Tahanejad M. Evaluation of antioxidant activity of essential oil extracted from Ferula gummosa Boiss in deep oil frying. Iranian Food Science and Technology Research Journal. 2015; 11(5): 631-42. [Persian] DOI: 10.22067/ifstrj.v0i0.32269 URL: https://ifstrj.um.ac.ir/article_34992.html?lang=en

13- Newman DJ, Cragg GM. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014.J Nat Prod. 2016; 79(3): 629-61. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.5b01055

14- Fotouhi Lasibi MA, Moshtaghi H. The Antimicrobial Effects of Ethanolic and Methanolic Extracts of Rhubarb on Listeria monocytogenes and Yersinia enterocolitica. Trends in Pharmaceutical Sciences. 2023; 9(1): 45-54. DOI: 10.30476/tips.2023.98095.1182

15- Govahi M, Ranjbar M, Jobie FN, Azizi H. Antimicrobial and Antioxidant Effects of Aqueous Extract of Lythrum Salicaria. J Shahid Sadoughi Uni Med Sci. 2021; 29(2): 3491-99. [Persian] DOI: 10.18502/ssu.v29i2.6087

16- Govahi M, Ghorbannia Delavar H, Mousavi Khorshidi FS, Ranjbar M, Rahaiee S. Investigation of Different Extraction Methods on Antioxidant and Antimicrobial Activities of Teucrium hyrcanicum L.J Ilam Univ Med Sci. 2022; 30(3): 44-54 [Persian]. DOI: 10.52547/sjimu.30.3.44

17- CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Twelfth Edition. CLSI document M02-A12. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015; 35(1). URL: https://clsi.org/media/1631/m02a12_sample.pdf

18- Ghanbari Hassan Kiadeh S, Rahaiee S, Azizi H, Govahi M. Evaluation of biological activities of raw and cooked Brassica oleracea sprout extracts rich in bioactive compound Sulforaphane. J Birjand Univ Med Sci. 2021; 28(3): 236-47. [Persian] DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2021.28.3.102

19- CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. 11th ed CLSI document M07 Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018. URL: https://clsi.org/media/1928/m07ed11_sample.pdf

20- Hassanabadi M, Ebrahimi M, Farajpour M, Dejahang A. Variation in essential oil components among Iranian Ferula assa-foetida L. accessions. Ind Crops Prod. 2019; 140: 111598. DOI: 10.1016/j.indcrop.2019.111598

21- Galán JE. Salmonella Typhimurium and inflammation: a pathogen-centric affair. Nat Rev Microbiol. 2021; 19(11): 716-25. DOI: 10.1038/s41579-021-00561-4

22- Elfalleh W, Kirkan B, Sarikurkcu C. Antioxidant potential and phenolic composition of extracts from Stachys tmolea: An endemic plant from Turkey. Ind Crops Prod. 2019; 127: 212-6. DOI: 10.1016/j.indcrop.2018.10.078

23- Wafa N, Sofiane G. Antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial activities of aqueous and methanolic extract of Rosmarinus eriocalyx Jord. & Fourr. Int j biol chem sci. 2020; 14(1): 254-62. DOI: 10.4314/ijbcs.v14i1.21

24- Ahmadi H, Raeeszadeh M, Mohammadiazar S. Comparison between Hydroalcoholic (Ethanolic and Methanolic) of Broccoli Floret (Brassica Oleracea) Extract by GC-MS Method and its Antioxidant Effect by DPPH Method.J Shahid Sadoughi Uni Med Sci. 2023; 31 (2): 6440-6454. [Persian] DOI: 10.18502/ssu.v31i2.12555 URL: http://jssu.ssu.ac.ir/article-1-5683-en.html

25- Ranjbar M, Kiani M, Nikpay A. Antioxidant and scolicidal activities of four Iranian Mentha species (Lamiaceae) in relation to phenolic elements. J Herbmed Pharmacol. 2020; 9(3): 200-8. DOI: 10.34172/jhp.2020.26

26- Firoozkouhi F, Esmaeilzadeh Bahabadi S, Mohkami Z, Yousefzaei F. The effect of different solvents on total phenolic, flavonoid contents and antioxidant activity of different organs of Momordica charantia L. cultured in Sistan region. Ecophytochemistry of medicinal plants. 2018; 5(4): 74-85. [Persian] URL: https://ecophytochemical.gorgan.iau.ir/article_606000.html

27- Elyasi N, Nabizadeh S, Shafiei Z. Phytosynthesis of silver nanoparticles with the aqueous extract of portulaca oleracea and its antimicrobial and antioxidant effect against gram-positive and gram-negative bacteria. Science Journal of Islamic Azad Univesity-Tehran Medical Branch. 2022; 32(1): 21-30. [Persian] DOI: 10.52547/iau.32.1.21

28- Izadi Z, Mirazi N. Identification of chemical compounds and evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of sage (Salvia officinalis L.) essential oil at different harvest times. Qom Univ Med Sci J. 2020; 14(9): 1-15. DOI: 10.29252/qums.14.9.1

29- Ahmadi S, Soleimanian–Zad S, Zaeim D. Antibacterial and antifungal activity of the aqueous and methanolic extracts and essential oils of red beets Beta vulgaris leaves. Zahedan J Res Med Sci. 2020; 22(3): e83725. DOI: 10.5812/zjrms.83725

30- Mokri F, Assmar M, Zarrabi S, Massiha A. The Evaluation of Antibacterial effect of Aquatic and Ethanolic Extract of Nerium oleander against Standard strains of Salmonella Typhi and Listeria Monocytogenes in vitro condition. New Cellular and Molecular Biotechnology Journal. 2018; 8(31): 75-85. [Persian] URL: http://dorl.net/dor/20.1001.1.22285458.1397.8.31.5.2