مقاله پژوهشی

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی عصاره های الکلی گل و ریشه گیاه سیاه گینه روی برخی باکتری‌های بیماریزای انسانی

مصطفی علم هولو*، دکتر سنبل ناظری**

دریافت: ٩٣/٥/٧ پذیرش: ٩٣/٩/٢٥

چکیده:

مقدمه و هدف: با افزایش اطلاع افراد از عوارض جانبی خطرناک آنتی‌بیوتیک‌های سنتتیک، میزان تقاضا برای جایگزینی طبیعی این داروها افزایش پیدا کرده است. هدف از این مطالعه تعیین خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی عصاره‌های ریشه و گل گیاه دارویی سیاه گینه (Dendrostellera lesserti) علیه برخی باکتری‌های بیماریزای انسانی است.

روش کار: در این مطالعه تجربی گیاه سیاه گینه در سال ١٣٩٢ از استان همدان جمع‌آوری گردید. پس از شناسایی، عصاره‌ها به روش خیساندن تهیه شدند. اثرات ضدباکتریایی به روش انتشار چاهک در آگار ، MIC (به روش رقت لوله‌ای) و MBC بررسی شدند. خواص آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH و میزان فنول و فلاونوئید به ترتیب به روش فولین سیوکالتو و آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شدند. نتایج توسط نرم افزار SAS 9.2 در سطح احتمال ٠/٠٥ آنالیز آماری شدند.

نتایج: بیشترین هاله بازدارندگی با قطر٠/٦٦ ± ٢١/٣٣ میلی‌متر در کشت باکتری سالمونلا تیفی در برابر عصاره متانولی ریشه مشاهده گردید. MIC وMBC عصاره ریشه در مقایسه با گل کمتر بود. عصاره متانولی گل در غلظت ٠/٨ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بیشترین درصد مهار رادیکال آزاد را داشت. بیشترین میزان فنول و فلاونوئید مربوط به عصاره متانولی ریشه به ترتیب برابر ٢/٦٩ ±mgGAE/g ١١١ /٨ و mgQ/g ٠/٣٥ ±٢/٢٥ بود.

نتیجه نهایی: بر اساس نتایج بدست بدست آمده بخش های گل و ریشه گیاه سیاه گینه دارای ترکیباتی با خواص آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی است.

کلید واژه ها: آنتی اکسیدان ها / باکتری های بیماری زای انسانی / سیاه گینه / ضد باکتری

مقدمه:

بیش از پنجاه سال از مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها برای کنترل و درمان بیماری‌های عفونی می‌گذرد ولی استفاده مداوم و نادرست از این ترکیبات باعث بروز پدیده مقاومت به آنتی‌بیوتیک و پیدایش سویه‌های مقاوم شده و درمان بیماری‌ها را با مشکل روبه‌رو کرده است (١). میکروب‌ها با ایجاد ژن مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک، این مقاومت را از نسلی به نسل دیگر منتقل می‌کنند و حتی به صورت شایع این مقاومت از یک گونه میکروبی به گونه دیگر انتقال می‌یابد که حتی با وجود تجویز آنتی‌بیوتیک در مقادیر بالا نتیجه‌ای حاصل نمیشود و عفونت پایدار می‌ماند. از طرف دیگر درمان با آنتی‌بیوتیک‌ها همواره نگرانی عوارض جانبی دارو را به همراه دارد، بطوریکه گزارشاتی از ایجاد سمیت و تولید سرطان منتشر گردیده است (٢).

گیاهان دارویی به دلیل مزیت‌های دارویی و طبیعی، برای درمان بیماری‌ها از جمله عفونت‌ها مورد توجه قرار گرفته‌اند. به طور مثال به دلیل ساختار پیچیده‌ی ترکیبات دارویی گیاهی مقاومت میکروبی به سختی در برابر آنها مشاهده شده است (٣). با توجه به رویکرد جهانی به استفاده از گیاهان دارویی و ترکیب‌های طبیعی در صنایع دارویی و به دلیل سازگاری آنها با بدن انسان، تحقیقات برای تولید مواد ضدمیکروبی، ضروری به نظر می رسد.

* کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا همدان

** استادیار گروه بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا همدان (snblnazeri@yahoo.com)

ترکیبـاتی ماننـد ترکیبـات فنـولی و فلاونوئیـدی در گیاهان دارای پتانسیل آنتی‌اکسیدانی هستند. رادیکال‌های آزاد، مولکول‌هایی که فاقد پوسته‌ی الکترونی کامل هستند بطور طبیعی در بدن موجودات زنده تولید مـی‌گردنـد امـا زمانی که تولید این رادیکال‌ها بیش از حد باشد سوبستراها از جمله غشاهای سلولی، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک در معرض اکسیداسیون قرار مـی‌گیرنـد. در ایـن حالـت از جمله تخریب DNA وپروتئین اتفـاق مـی‌افتـد. ترکیبـات آنتی‌اکسیدان توانایی از بین بردن رادیکال آزاد و در نتیجه محافظت از بدن را به عهده دارند (۴).

گیاه دارویی سـیاه گینـه (Dendrostellera lesserti) تنهـا گونـه جـنس دندروسـتلرا در ایـران از خـانواده Thymelaeaceae است. این گیـاه، بوتـه‌ای چنـد سـاله بـا ساقه چوبی بـه ارتفـاع ۶۰-۲۰ سـانتی متـر اسـت کـه در منـاطق شـمال و شـمال‌غـرب ایـران انتـشار دارد.خـواص دارویی جنس‌های مختلف این خانواده گزارش شده اسـت. مطالعات نشان داده است کـه فلاونوئیـدهـای موجـود در گیاه Phaleria macrocarpa دارای فعالیـت ضـدمیکروبـی بوده و قادر به ممانعت از سنتز نوکلئیـک اسـید، عملکـرد غـشای سیتوپلاسـمی و متابولیـسم انـرژی هـستند (۵). هرچند تاکنون گزارشی از اثر ضدمیکروبی بافت‌هـای ایـن گیاه منتشر نگردیده است اما تحقیقات نشان داده انـد کـه ترکیبات موثره در بافت‌های سیاه گینه بر تکثیر سلول‌های سرطانی موثر هستند. هدف از این مطالعه تعیـین فعالیـت آنتی‌اکسیدانی و اثرات ضدمیکروبی عـصاره‌هـای اتـانولی و متانولی گل و ریـشه گیـاه سـیاه گینـه روی رشـد برخـی پاتوژن‌های بیماری‌زای انسانی است.

روش کار:

مـواد شـیمیایی: محـیط‌کـشت‌هـای نوتریـنت بـراث و مولرهینتون آگار (Mueller hinton agar) و همچنین مواد شیمیایی در بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی ازشرکت مـرک آلمـان و دیـسک‌هـای آنتـی‌بیوتیـک کانامایـسین و وانکومایسین از شرکت پادتن تب تهیه گردیدند.

جمع‌آوری گیاه و روش عصاره‌گیری: در ایـن مطالعـه تجربـی گیاه سیاه گینه از استان همدان در ارتفـاع ۱۹۶۱ متـر در تابستان سال ۱۳۹۲جمع آوری گردید(شکل ۱). نمونـه‌هـا بعد از تأیید توسط متخصصین زیست شناس به آزمایشگاه انتقال و به طور کامل شستشو شدند. نمونه‌ها در دمای اتاق و دور از نور مستقیم خورشید در سایه خشک گردیدند.

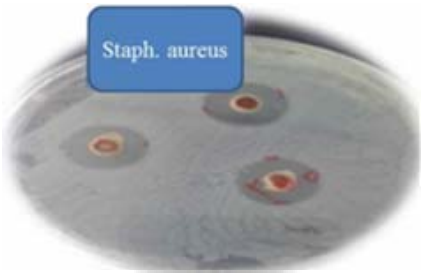
شکل ۱: گیاه سیاه گینه

برای تهیه عصاره‌های اتانول و متانول از روش خیساندن استفاده شد. پس از خشک کـردن ریـشه و گـل در سـایه، گیاه توسط دستگاه آسیاب تا قطـر حـداکثر ۲ میلـی متـر پودر گردید. جهت تهیه عصاره‌ها،۳۰۰ میلی‌لیتر حلال‌های اتانول و یا متانول به ۳۰ گرم از پودر خـشک شـده اضـافه شد و ترکیب حاصله به مدت ۴۸ سـاعت بـا سـرعت ۱۰۰ دور در دقیقه تکان داده شد (۶). عـصاره‌هـا توسـط کاغـذ صافی واتمن، صاف و به مدت ۱۰ دقیقه با شـدت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردیدند. قسمت رویی برداشته و سپس توسط دستگاه روتـاری تغلـیظ شـد. بـرای خـشک شدن کامل، عصاره‌ها به آون با دمای ۴۰ درجه سلـسیوس منتقل شدند. عصاره‌ها تا زمان استفاده در فریزر۲۲- درجه سلسیوس نگهداری گردیدند.

تهیه سویه‌های میکروبی اسـتاندارد: سـویه هـای باکتریـایی شـامل: اشریـشیا کـولای (ATCC25922)، شـیگلا بایـدی، سـالمونلا تیفـی (PTCC1609)، انتروبـاکتر آئروژنـز (PTCC1221)، میکروکوکـوس لوتئـوس(PTCC1110)، باسـیلوس سـرئوس(PTCC1247)، باسـیلوس سـابتیلیس (PTCC1156) ، اسـترپتوکوکوس پیـوژنز(PTCC1447)، سـودوموناس آئروژینـوزا(PTCC1181) و اسـتافیلوکوکوس اوروئوس(PTCC1189)، از دانشگاه علـوم پزشـکی اسـتان همدان تهیه شدند. برای تهیه کـشت تـازه بـاکتری، یـک کلونی باکتری بر روی محـیط جامـد مـولر هینتـون آگـار منتقل و ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سـانتیگراد انکوبـه گردید. سپس یک کلنی باکتریایی به محیط نوترینت براث انتقـال داده شـد. پـس از ۲۴-۱۸ سـاعت، غلظتـی از سوسپانسیون باکتری معادل نـیم مـک فارلنـد ($1/5\times10^8$ باکتری در هرمیلی‌لیتر) تهیه گردید.

تعیین فعالیت ضدباکتریایی به روش انتشار چاهک در آگار: در این مطالعه عصاره‌های اتانولی و متانولی گیاه با غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰ و۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر از اندام‌های گل

و ریشه تهیه شدند. درهنگام آزمایش، ۲۰۰ میکرولیتـر از سوسپانسیون باکتری روی پلیت‌های مـولر هینتـون آگـار اسـتریل منتقـل و در ادامـه بـا سـوآپ اسـتریل بـصورت یکنواخت بر روی محیط پخش شد. چاهک‌هـایی بـه قطـر پنج میلی متر ایجاد و ۵۰ میکرولیتر از هر یک از غلظت‌ها به داخل این چاهک‌ها ریختـه شـد. بـرای جـذب مناسـب عصاره در محیط، پلیت‌ها ابتدا یک ساعت در دمای پـایین نگهداری و سپس ۲۴ سـاعت در دمـای ۳۷ درجـه انکوبـه گردیدند (۷). دیسک‌های آنتی بیوتیـک‌هـای کانامایـسین (۳۰ میکروگرم) و وانکومایسین (۳۰ میکروگرم) به عنـوان کنترل مثبت، به ترتیب برای باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت و حلال‌های متانول واتانول به عنوان کنتـرل منفـی استفاده شدند. سنجش خـواص ضـدباکتریایی بـرای تمـام غلظت‌ها در سه تکرار صورت گرفت. اندازه قطر هالـه‌هـای بازدارنـدگی رشـد بـاکتری در اطـراف چاهـک بـر حـسب میلیمتر اندازه‌گیری شد(شکل ۲).



شکل ۲: هاله عدم رشد Staph.aureus در برابر عصاره اتانولی ریشه

MIC و MBC به روش رقت لوله‌ای: با اسـتفاده از روش رقـت لوله‌ای، حداقل غلظت مهارکنندگی رشد و حـداقل غلظـت کشندگی عصاره‌هـای اتـانول و متـانول تعیـین گردیدنـد. جهت تعیین MIC سـری‌هـای رقـت ۱۰۰،۲۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵و ۶/۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتـر از عـصاره در محـیط NB تهیـه شـدند (۸). بعـد از تهیـه سـری رقـت‌هـا، ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری معادل نیم مک فارلنـد به همه لوله‌ها به جزء کنترل مثبت(محیط+ عصاره) اضافه شد. در نهایت لوله‌های تلقیح شده به مدت ۲۴ سـاعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیدند. کمترین رقتی از عصاره که در آن کدورتی مشاهده نگردید، بعنوان MIC در نظر گرفته شد. برای تعیین حداقل غلظت کشندگـــی نمونه‌هایی از تمامی لوله‌هایی که در آنها عدم رشد مشاهده شده بود، در سطح محیط کشت مولرهینتون‌آگـــار کشت داده شد. محیط‌کشت‌های تلقیح شده به مدت ۲۴ سـاعت در دمای ۳۷ درجه قرار داده شدند. بعد از انکوباسیون کمترین غلظتی از عصاره که در آن رشد باکتری مشاهده نگردید به عنوان MBC در نظر گرفته شد. از محیط کشت نوترینـت براث همراه با عصاره فاقد باکتری و محیط کشت بدون عصاره حاوی باکتری به عنوان کنترل مثبت و منفی استفاده گردید.

روش DPPH: فعالیـت رادیکـال آزاد بـا اسـتفاده از روش استوجیسویک وهمکاران (۹) انجام شـد. معـرف ۲،۲-دی فنیل-۱- پیکریل هیـدرازیل (DPPH)، بـه دلیـل حـضور گروه‌های فنیل در ساختار آن یـک منبـع رادیکـال پایـدار است که با گرفتن یک الکترون از ترکیـب آنتـی اکـسیدان رنگ آن از بنفش به زرد تغییر مـی‌کنـد. در ایـن مطالعـه غلظت‌های ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر متانول تهیه و از آسـکوربیک اسـید بـه عنـوان اسـتاندارد استفاده شد. نمونه‌ها ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شدند. جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتوفتومتر با حلال متـانول در طـول مـوج ۵۱۷ نـانومتر ثبـت شـد. درصـد فعالیـت ضدرادیکالی(RSA) با استفاده از رابطه زیر بدست آمد:

$$RSA(\%)=100[1-(As-Ab)/Ac]$$

As: جذب نمونه تیمار Ab: جذب نمونه بلانک

Ac: جذب نمونه شاهد

اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل: بـرای انـدازه گیـری میـزان فلاونوئید کل از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم استفاده شد (۱۰). جذب مخلوط نهایی بعد از ۳۰ دقیقه در دمـای اتـاق در طـول مـوج ۴۱۵ نـانومتر توسـط اسـپکتوفتومتر اندازه‌گیری شد. مقدار فلاونوئیـد کـل بـصورت میلـی‌گـرم کوئرستین بر گرم وزن خشک (mgQ/g) عصاره محاسبه شد.

اندازه گیری میزان فنول کل: در این مطالعـه محتـوی فنـول کل از واکنش‌گر فـولین سـیوکالتو اسـتفاده شـد (۱۱). از معرف گالیک اسید بعنوان استاندارد استفاده گردید. میزان جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتوفتومتر در طول مـوج ۷۶۵ نانومتر اندازه گیـری شـد. مقـدار فنـول کـل معـادل میلی‌گرم اسید گالیـک برگـرم وزن خـشک (mgGAE/g) عصاره محاسبه شد.

آنالیز آماری: این مطالعه در قالب فاکتوریل با طرح پایـــه کاملا تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمـال ۰/۰۵ توسط نرم افزار SAS 9.2 و خطای استانـــدارد (SE) با استفاده از نرم افزار SPSS 20 محاسبه شد.

نتایج:

فعالیت ضدباکتریایی به روش انتشار چاهک در آگار: همانطورکه انتظار میرفت، هاله عدم رشد در کنترل‌های منفی (حلال‌های اتانولی و متانولی)، در کشت باکتری‌های مورد آزمایش، مشاهده نگردید. هاله عدم رشد کنترل مثبت در باکتری‌های مختف متفاوت بود که در جدول ۱و۲ نشان داده شده است. آنالیز آماری هاله های بازدارندگی بطور جداگانه روی تک تک باکتری‌های مورد آزمایش انجام گرفت.

بررسی نتایج اثر عصاره گل نشان داد که، اثر متقابل عصاره × غلظت در رشد باکتری‌های باسیلوس سرئوس، میکروکوکوس لوتئوس، انتروباکتر آئروژنز و سالمونلا تیفی در سطح احتمال ۰/۰۵ اختلاف معنی‌داری را نشان داد. عصاره های الکلی اثرات بازدارندگی متفاوتی در رشد باکتری‌های مورد مطالعه داشتند. عصاره‌های اتانولی و متانولی بیشترین اثر آنتی‌باکتریایی را به ترتیب بر روی باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس سرئوس و میکروکوکوس لوتئوس نشان دادند. در کشت باکتری‌های گرم منفی هاله بازدارندگی عصاره متانولی بیش از عصاره اتانولی بود و بیشترین هاله در کشت باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا مشاهده شد. در مقایسه با آنتی بیوتیک‌های استاندارد بکار رفته، قطر هاله بازدارندگی عصاره متانولی در کشت باکتری‌های میکروکوکوس لوتئوس، استرپتوکوکوس پیوژنز و شیگلا بایدی بیشتر بود (جدول۱).

در بررسی عصاره الکلی ریشه مشاهده شد که، در بیشتر موارد باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با باکتری های گرم مثبت حساسیت بیشتری نسبت عصاره ریشه داشتند و بیشترین هاله بازدارندگی مربوط به عصاره اتانولی در کشت باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس بود. بررسی هاله بازدارندگی در کشت باکتری‌های گرم منفی نشان داد که، عصاره متانولی ریشه روی باکتری سالمونلا تیفی و عصاره اتانولی در کشت انترو باکتر آئروژنز و اشریشیا کولای بیشترین اثر بازدارندگی داشت. هاله بازدارندگی غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر هر دو عصاره اتانولی و متانولی در روی باکتری‌های انتروباکتر آئروژنز، میکروکوکوس لوتئوس، استرپتوکوکوس پیوژنز و سالمونلا تیفی بیشتر از آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده بود (جدول۲).

جدول۱: میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره‌های مختلف گل سیاه گینه علیه برخی باکتری‌های بیماریزای انسانی

اندام گیاه	باکتری	میانگین مربعات			غلظت mg/ml	میانگین قطر هاله‌های بازدارندگی (میلی‌متر)			
		عصاره	غلظت	عصاره× غلظت		اتانول	متانول	وانکومایسین	کانامایسین
گل	B. cereus	۱۵۰/۷*	۱۵/۸*	۵/۳*	۱۰۰	۹±۰/۵۷	۹/۶۶±۰/۳۳	۱۷/۶±۰/۳۳	۲۰±۰/۰۰
					۲۰۰	۱۲/۶±۰/۸۸	۱۳±۱/۱۵	۱۷/۶±۰/۳۳	۲۰±۰/۰۰
					۴۰۰	۱۳/۶±۱/۲	۱۳/۶±۰/۸۸	۱۷/۶±۰/۳۳	۲۰±۰/۰۰
	En.aerogenes	۵۱/۵۴*	۵/۷۷*	۶/۱۴*	۱۰۰	۷/۳۳±۰/۶۶	۱۱/۳۳±۰/۶۶	۱۴/۸۳±۰/۴۴	۱۱±۰/۰۰
					۲۰۰	۱۲/۳۳±۰/۸۸	۷/۶۶±۰/۸۸	۱۴/۸۳±۰/۴۴	۱۱±۰/۰۰
					۴۰۰	۱۲/۳۳±۰/۳۳	۱۱/۶۶±۰/۸۸	۱۴/۸۳±۰/۴۴	۱۱±۰/۰۰
	M. luteus	۱۹/۴۸*	۱۱/۴۴*	۵/۸۱*	۱۰۰	۸/۶۶±۰/۳۳	۸/۳۳±۰/۳۳	۱۳±۰/۰۰	۱۰±۰/۰۰
					۲۰۰	۱۰/۶۶±۰/۸۸	۱۲/۳۳±۰/۸۸	۱۳±۰/۰۰	۱۰±۰/۰۰
					۴۰۰	۱۰/۳۳±۰/۸۸	۱۴±۰/۵۷	۱۳±۰/۰۰	۱۰±۰/۰۰
	Sal. typhi	۶۳/۹۲*	۹/۳۶*	۳/۲۸*	۱۰۰	۹±۰/۵۷	۱۰/۳۳±۰/۳۳	۱۶±۰/۰۰	۱۵/۶۶±۰/۶۶
					۲۰۰	۱۰/۳۳±۰/۸۸	۱۱/۶۶±۰/۶۶	۱۶±۰/۰۰	۱۵/۶۶±۰/۶۶
					۴۰۰	۱۳±۰/۵۷	۱۳/۳۳±۰/۶۶	۱۶±۰/۰۰	۱۵/۶۶±۰/۶۶
	P.aeruginosa	۱۹/۸۸*	۶/۱۹*	۲/۱۹^{ns}	۱۰۰	۸/۶۶±۰/۶۶	۱۲/۳۳±۱/۲	۱۱±۰/۰۰	۱۲/۶۶±۰/۳۳
					۲۰۰	۱۱±۰/۵۷	۱۳/۶۶±۰/۸۸	۱۱±۰/۰۰	۱۲/۶۶±۰/۳۳
					۴۰۰	۱۱/۶۶±۰/۳۳	۱۵±۰/۵۷	۱۱±۰/۰۰	۱۲/۶۶±۰/۳۳
	B. subtilis	۲۹۷/۸*	۴/۸۶*	۱/۷۵^{ns}	۱۰۰	۷/۳۳±۰/۳۳	۹/۶۶±۰/۳۳	۲۰±۰/۰۰	۱۸/۶۶±۰/۸۸
					۲۰۰	۸±۰/۰۰	۱۰/۶۶±۰/۳۳	۲۰±۰/۰۰	۱۸/۶۶±۰/۸۸
					۴۰۰	۹/۳۳±۰/۳۳	۱۲/۶۶±۰/۶۶	۲۰±۰/۰۰	۱۸/۶۶±۰/۸۸
	E. coli	۴۲/۳۹*	۴/۸۶*	۲/۶۷^{ns}	۱۰۰	۸/۳۳±۰/۶۶	۹/۳۳±۰/۳۳	۱۴/۳۳±۰/۳۳	۱۲/۶۶±۰/۶۶
					۲۰۰	۸/۶۶±۱/۲	۱۲/۳۳±۰/۶۶	۱۴/۳۳±۰/۳۳	۱۲/۶۶±۰/۶۶
					۴۰۰	۱۰/۶۶±۰/۳۳	۱۲±۰/۵۷	۱۴/۳۳±۰/۳۳	۱۲/۶۶±۰/۶۶
	Strep pyogenes	۳۹/۹۵*	۱/۰۲^{ns}	۰/۵۰^{ns}	۱۰۰	۸±۰/۰۰	۱۳±۰/۵۷	۱۳±۰/۰۰	۱۲±۰/۰۰
					۲۰۰	۸/۶۶±۰/۸۸	۱۳/۶۶±۰/۶۶	۱۳±۰/۰۰	۱۲±۰/۰۰
					۴۰۰	۹/۶۶±۰/۳۳	۱۳/۶۶±۰/۳۳	۱۳±۰/۰۰	۱۲±۰/۰۰
	Staph .aureus	۷۰/۵۴*	۰/۵۸^{ns}	۰/۸۷^{ns}	۱۰۰	۷/۶۶±۰/۶۶	۱۳/۳۳±۰/۶۶	۱۳/۶۶±۰/۳۳	۱۵±۰/۰۰
					۲۰۰	۹/۶۶±۰/۶۶	۱۳±۰/۰۰	۱۳/۶۶±۰/۳۳	۱۵±۰/۰۰
					۴۰۰	۸/۳۳±۰/۳۳	۱۳±۰/۵۷	۱۳/۶۶±۰/۳۳	۱۵±۰/۰۰
	Sh.boydi	۵۹*	۱/۶۹^{ns}	۰/۸^{ns}	۱۰۰	۷/۶۶±۱/۲	۱۳/۳۳±۰/۶۶	۱۴±۰/۰۰	۱۴±۰/۰۰
					۲۰۰	۹±۱/۰۰	۱۳/۳۳±۰/۳۳	۱۴±۰/۰۰	۱۴±۰/۰۰
					۴۰۰	۹/۶۶±۰/۳۳	۱۴/۳۳±۰/۳۳	۱۴±۰/۰۰	۱۴±۰/۰۰

* اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ ns : عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵

جدول ۲: میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره‌های مختلف ریشه سیاه گینه علیه برخی باکتری‌های بیماریزای انسانی

اندام گیاه	باکتری	میانگین مربعات			غلظت mg/ml	میانگین قطر هاله‌های بازدارندگی (میلی‌متر)			
		عصاره	غلظت	عصاره× غلظت		اتانول	متانول	وانکومایسین	کانامایسین
ریشه	B. cereus	۹۷۲/۰۸*	۷/۱۹*	۴/۳*	۱۰۰	۶/۶۶±۰/۳۳	۷/۳۳±۰/۶۶	۱۷/۶۶±۰/۳۳	۲۰±۰/۰۰
					۲۰۰	۷/۶۶±۰/۸۸	۱۱/۳۳±۰/۳۳	۱۷/۶۶±۰/۳۳	۲۰±۰/۰۰
					۴۰۰	۷/۶۶±۰/۸۸	۱۲±۰/۰۰	۱۷/۶۶±۰/۳۳	۲۰±۰/۰۰
	En. aerogenes	۹۸/۵۶*	۱/۰۸^{ns}	۰/۴۱^{ns}	۱۰۰	۱۸/۳۳±۱/۲	۱۵/۶۶±۱/۸۸	۱۴/۸۳±۰/۴۴	۱۱±۰/۰۰
					۲۰۰	۱۹±۰/۰۰	۱۵/۶۶±۰/۳۳	۱۴/۸۳±۰/۴۴	۱۱±۰/۰۰
					۴۰۰	۱۹/۶۶±۰/۳۳	۱۶/۶۶±۰/۳۳	۱۴/۸۳±۰/۴۴	۱۱±۰/۰۰
	M.luteus	۳۰/۰۰*	۶/۲۵*	۲/۱۳*	۱۰۰	۱۲/۳۳±۰/۳۳	۱۲±۰/۵۷	۱۳±۰/۰۰	۱۰±۰/۰۰
					۲۰۰	۱۴/۶۶±۰/۳۳	۱۴/۶۶±۰/۶۶	۱۳±۰/۰۰	۱۰±۰/۰۰
					۴۰۰	۱۵±۰/۵۷	۱۴/۳۳±۰/۳۳	۱۳±۰/۰۰	۱۰±۰/۰۰
	Sal.typhi	۴۲/۷۴*	۵/۰۸*	۳/۸۲*	۱۰۰	۱۳/۶۶±۰/۳۳	۲۰±۱/۰۰	۱۶±۰/۰۰	۱۵/۶۶±۰/۶۶
					۲۰۰	۱۵±۰/۰۰	۱۸±۰/۳۳	۱۶±۰/۰۰	۱۵/۶۶±۰/۶۶
					۴۰۰	۱۶/۶۶±۰/۳۳	۲۱/۳۳±۰/۶۶	۱۶±۰/۰۰	۱۵/۶۶±۰/۶۶
	P. aeruginosa	۹/۳۶*	۱/۰۲*	۰/۴۷^{ns}	۱۰۰	۱۰±۰/۰۰	۱۱/۶۶±۰/۳۳	۱۱±۰/۰۰	۱۳±۰/۳۳
					۲۰۰	۱۱±۰/۵۷	۱۱/۶۶±۰/۳۳	۱۱±۰/۰۰	۱۳±۰/۳۳
					۴۰۰	۱۱/۳۳±۰/۳۳	۱۲/۶۶±۰/۳۳	۱۱±۰/۰۰	۱۳±۰/۳۳
	B. subtilis	۱۷۲/۳۲*	۵/۰۸*	۲/۳۷*	۱۰۰	۱۲/۳۳±۰/۳۳	۹±۰/۵۷	۲۰±۰//۰	۱۸/۶۶±۰/۸۸
					۲۰۰	۱۴±۰/۵۷	۱۲±۰/۵۷	۲۰±۰/۰۰	۱۸/۶۶±۰/۸۸
					۴۰۰	۱۵±۰/۰۰	۱۰/۶۶±۰/۰۰	۲۰±۰/۰۰	۱۸/۶۶±۰/۸۸
	E. coli	۲۵/۳۳*	۱۰/۰۲*	۱۹/۸*	۱۰۰	۱۳/۶۶±۰/۳۳	۱۷/۶۶±۱/۴۵	۱۴/۳۳±۰/۳۳	۱۲/۶۶±۰/۶۶
					۲۰۰	۱۷/۶۶±۰/۳۳	۲۰±۰/۵۷	۱۴/۳۳±۰/۳۳	۱۲/۶۶±۰/۶۶
					۴۰۰	۱۹±۰/۰۰	۱۲/۳۳±۰/۶۶	۱۴/۳۳±۰/۳۳	۱۲/۶۶±۰/۶۶
	Strep.pyogenes	۷/۴۸*	۱/۳۶^{ns}	۰/۶۲^{ns}	۱۰۰	۱۳±۰/۵۷	۱۴/۶۶±۰/۸۸	۱۳±۰/۰۰	۱۲±۰/۰۰
					۲۰۰	۱۲/۶۶±۱/۳۳	۱۳/۳۳±۰/۶۶	۱۳±۰/۰۰	۱۲±۰/۰۰
					۴۰۰	۱۴±۰/۵۷	۱۴/۶۶±۰/۳۳	۱۳±۰/۰۰	۱۲±۰/۰۰
	Staph. aureus	۱۱۵/۴۸*	۰/۸۶^{ns}	۱/۰۰*	۱۰۰	۱۸±۰/۰۰	۱۰/۶۶±۰/۳۳	۱۳/۶۶±۰/۳۳	۱۵±۰/۰۰
					۲۰۰	۱۸/۶۶±۰/۳۳	۹/۶۶±۰/۸۸	۱۳/۶۶±۰/۳۳	۱۵±۰/۰۰
					۴۰۰	۲۰±۰/۰۰	۱۰/۳۳±۰/۳۳	۱۳/۶۶±۰/۳۳	۱۵±۰/۰۰
	Sh. boydi	۴/۳۹*	۱/۱۹^{ns}	۰/۴۵^{ns}	۱۰۰	۱۲±۰/۵۷	۱۴±۱/۵۲	۱۴±۰/۰۰	۱۴±۰/۰۰
					۲۰۰	۱۳/۳۳±۰/۸۸	۱۴/۶۶±۰/۳۳	۱۴±۰/۰۰	۱۴±۰/۰۰
					۴۰۰	۱۳/۳۳±۱/۲	۱۵±۰/۵۷	۱۴±۰/۰۰	۱۴±۰/۰۰

* اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ ns : عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵

نتایج آزمایشات MBC و MIC: نتایج این بررسی در جدول۳ آورده شده است. یافته ها نشان داد که MIC و MBC عصاره ریشه در مقایسه با گل بیشتر بود. حداقل رقت بازدارندگی ۲۵ میلی گرم بر میلی‌لیتر عصاره متانولی ریشه در کشت باکتری استرپتوکوکوس پیوژنز و همین غلظت عصاره اتانولی در کشت باکتری‌های استرپتوکوکوس پیوژنز، باسیلوس سابتیلیس و سالمونلا تیفی مشاهده گردید. همچنین مشخص گردید که حداقل غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره اتانولی گل بر باکتری انتروباکتر آئروژنز و همین غلظت عصاره اتانولی ریشه بر باکتری‌های انتروباکترآئروژنز و اشریشیا کولای اثر باکتریوسایدی دارد.

فعالیت ضدرادیکالی به روش DPPH: مقایسه نتایج مهار رادیکال آزاد عصاره‌ها و اسید اسکوربیک نشان داد که عصاره متانولی گل در غلظت‌های ۰/۲ تا ۰/۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و عصاره متانولی ریشه در غلظت‌های ۰/۲ تا ۰/۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر درصد مهاری بیشتری در مقایسه با آسکوربیک اسید نشان دادند. IC50 عصاره متانولی گل، ریشه و آسکوربیک اسید به ترتیب ۰/۱۰۳۸ ، ۰/۱۰۲۲ و ۰/۱۰۷۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر محاسبه شد. IC50 بیانگر غلظتی از نمونه است که باعث مهار ۰/۵۰ درصد رادیکال-های آزاد DPPH می‌شود. اختلاف معنی‌داری بین مقدار IC50 عصاره‌های متانولی و آسکوربیک اسید مشاهده نشد (جدول۴).

جدول۳: MBC وMIC عصاره‌های اتانولی و متانولی گل و ریشه سیاه گینه علیه برخی باکتری‌های بیماریزای انسانی

عصاره	باکتری									
	B.cereus	B. subtillis	Sal. typhi	Sh. boydi	En.aerogenes	M.luteus	Staph.aureus	P.aeruginosa	E. coli	Strep.pyogenes
MIC اتانولی	۱۰۰	-	۲۰۰	-	۵۰	۲۰۰	-	۱۰۰	۵۰	-
MBC گل	۲۰۰	-	۲۰۰	-	۵۰	۲۰۰	-	۱۰۰	۱۰۰	-
MIC متانولی	۲۰۰	۱۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۱۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	**۱۰۰**
MBC گل	۲۰۰	۱۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۱۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	**۱۰۰**
MIC اتانولی	-	۲۵	۲۵	۱۰۰	۵۰	۵۰	۵۰	۱۰۰	۵۰	**۲۵**
MBC ریشه	-	۲۰۰	۲۰۰	-	۵۰	۱۰۰	۱۰۰	۲۰۰	۵۰	**۱۰۰**
MIC متانولی	۵۰	۵۰	۵۰	۵۰	۵۰	۵۰	۱۰۰	۱۰۰	۵۰	**۲۵**
MBC ریشه	۲۰۰	۲۰۰	۱۰۰	۲۰۰	۱۰۰	۵۰	۱۰۰	۱۰۰	۲۰۰	**۱۰۰**

- باکتری در بالاترین غلظت عصاره نیز رشد کرده است

جدول۴: بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH

نمونه		عدد جذبی و درصد DPPH برای هر غلظت (mg/ml)					IC50
		۰/۲	۰/۴	۰/۶	۰/۸	۱	
متانولی گل							
	As	۰/۰۹۶۸	۰/۰۴۶۷	۰/۰۴۶۲	۰/۰۵۱۳	۰/۰۵۹۵	۰/۱۰۳۸
	Ab	۰/۰۰۲	۰/۰۱۰۶	۰/۰۱۶۹	۰/۰۲۸۷	۰/۰۲۵۹	
	DPPH%	۹۶/۳۲	۹۸/۵۹	۹۸/۸۶	۹۹/۱۲	۹۸/۶۹	
متانولی ریشه							
	As	۰/۰۸۹۶	۰/۰۹۸۵	۰/۱۱۹۶	۰/۱۲۵۷	۰/۱۳۸۹	۰/۱۰۲۲
	Ab	۰/۰۳۳۹	۰/۰۶۶۸	۰/۰۷۸۸	۰/۰۹۰۵	۰/۱۱۰۵	
	DPPH%	۹۷/۸۳	۹۸/۷۷	۹۸/۴۱	۹۸/۶۳	۹۸/۸۹	
آسکوربیک اسید							
	As	۰/۲۱۵۳	۰/۱۹۲۰	۰/۰۸۹۶	۰/۰۶۳۱	۰/۰۴۱	۰/۱۰۷۶
	Ab	۰/۰۳۳	۰/۰۳۳۴	۰/۰۳۵۲	۰/۰۳۲۹	۰/۰۳۴۱	
	DPPH%	۹۲/۹۲	۹۳/۸	۹۷/۸	۹۸/۸۲	۹۹/۷۲	

بررسی میزان فلاونوئید و فنول کل: جدول۵ مقدار فلاونوئید (برحسب میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) و فنول (برحسب میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک) کل عصاره متانولی گل و ریشه را نشان می‌دهد. مقدار فنول کل گل و ریشه به ترتیب ۶۸/۷۹±۲/۷۷ و ۱۱۱/۸±۲/۶۹ mgGAE/g و فلاونوئید ۱/۱۹± ۰/۰۰۳ و ۲/۲۵±۰/۳۵ mgQ/g بدست آمد. در این بررسی، میزان فنول و فلاونوئید در ریشه بیش از گل است. با توجه به نتایج بدست آمده، بین میانگین مقدار فنول و فلاونوئید کل هر دو بافت اختلاف معنی‌داری مشاهده شد.

جدول ۵: مقدار فلاونوئید و فنول تام عصاره متانولی گل و ریشه سیاه گینه

اندام گیاه	عصاره	میزان فنول تام (mgGA/g)	میزان فلاونوئید تام (mgQ/g)
گل	متانولی	۶۸/۷۹±۲/۷۷[b]	۱/۱۹±۰/۰۰۳[b]
ریشه	متانولی	۱۱۱/۸±۲/۶۹[a]	۲/۲۵±۰/۳۵[a]

حروف غیر مشترک نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵بین یکدیگر می‌باشد

بحث:

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره‌های الکلی هردو بافت ریشه و گل دارای ترکیباتی با ویژگی آنتی باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی هستند اما میزان این ویژگی‌ها در بافت و حلال های مختلف متفاوت است. در بررسی هاله بازدارندگی مشخص گردید که در بیشتر موارد عصاره متانولی در مقایسه با عصاره اتانولی اثرات بازدارندگی بیشتری بر رشد میکروارگانیسم‌های مورد استفاده داشت، که دلیل آن را می توان اثرات متفاوت دو عصاره در استخراج ترکیبات از بافت گیاهی دانست. هرچند هاله بازدارندگی در رشد تمامی میکروارگانیسم‌های مورد استفاده مشاهده گردید، برخی از باکتری‌ها مانند سودوموناس آئروژینوزا و سالمونلا تیفی حساسیت بیشتری در برابر عصاره گیاهی داشتند. مطالعات MIC و MBC عصاره‌ها نشان داد که هردو عصاره بر بیشتر باکتری‌ها اثر باکتریواستاتیکی یا باکتریوسایدی داشتند، هر چند در برخی موارد عصاره‌ها نیز بر رشد

باکتری‌هـایی ماننـد باسـیلوس سـوبتیلیس یـا باسـیلوس سرئوس بی‌اثر بودند. اختلاف در میزان بازدارندگی عـصاره بر رشد باکتری‌های مختلف را می توان بـه مکانیـسم‌هـای متفاوت میکروگانیسم‌ها در برابر عوامل محدود کننده رشد نسبت داد. آزمایشات صورت گرفته بر روی بافت آزمـایش شده نشان داد که عصاره ریشه اثر آنتی‌باکتریـایی بهتـری نسبت به گل دارد. این نکته بیان کننده حـضور ترکیبـات آنتی‌باکتریایی بیشتر یا موثرتر در ریشه است. از آنجـا کـه گروهی از ترکیبات با خاصیت ضد باکتریایی ماهیت فنلـی یا فلاونوئیدی دارند، میتوان گفـت کـه آزمایـشات صـورت گرفته بر روی فنول و فلاونوئید کل روی این دو بافت نیـز تاحدی این مطلب را تایید می کنـد. از آنجـا کـه تـاکنون گزارشی از اثر ضدباکتریایی عصاره‌هـای گیـاه سـیاه‌گینـه روی باکتری‌های بیماریزای انسانی منتشر نشده اسـت، بـه همین علت از نتایج بدست آمده از جنس های دیگـر ایـن خانواده(دافنـه، فالریـا و آکولاریـا) بـرای بحـث و مقایـسه اسـتفاده گردیـد. مطالعـات صـورت گرفتـه بـر روی گیـاه Daphne mucronata نشان داده است کـه عـصاره اتـانولی ریـشه، سـاقه و بـرگ دارای ویژگـی ضـد باکتریـایی روی بـاکتری‌هـای باسـیلوس سـابتیلیس، اشریـشیا کـولای، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اوروئوس هستند (١٢). در تحقیق ذکر شده همچنین مـشخص گردیـد کـه عصاره ریشه در مقایسه با عصاره بافت‌های دیگر دارای اثـر ضدباکتریایی قوی‌تری روی باکتری‌هـای اسـتافیلوکوکوس اوروئوس و باسیلوس سابتیلیس داشته که با نتایج مطالعـه حاضر مطابقت دارد. این شباهت می توانـد نـشان دهنـده این باشد که احتمالا این دو جنس (دندروسـتلرا و دافنـه) ترکیباتی با خاصیت آنتی باکتریایی مشابه داشته و اینکـه در هردو گیاه بافت ریشه میزان بیشتر یا مـوثرتری از ایـن ترکیبات را دارا است.

بررسـی اثرضـدباکتریایی عـصاره اتـانولی گـل گیـاه Daphne oleofolia lam علیه باکتری‌های اشریشیا کولای، باسیلوس و سودوموناس نشان داد که عصاره گل بیشترین عملکرد ضدباکتریایی را علیه باکتری باسیلوس و کمترین اثر را روی اشریشیا کولای داشت(١٣)، در مطالعـه حاضـر نیز در غلظت مشابه عصاره اتانولی گـل روی بـاکتری‌هـای باسیلوس سابتیلیس و باسیلوس سـرئوس اثـر بازدارنـدگی داشت اما میزان بازدارنـدگی عـصاره گیـاه حاضـر بـر روی رشد باکتری اشریشیا کولای بیشتر بود، این اختـــلاف در نتایج می‌تواند به دلیل تفاوت در سویه‌های بـاکتری مـورد استفاده و یا نوع ترکیبات موثره مختلف در دو جنس گیـاه باشد. یوسیه و همکـاران (١۴) نیـز فعالیـت ضـدمیکروبی عـصاره متـانولی بـرگ گیـاه Phaleria macrocarpa روی باکتری‌های سـودوموناس آئروژینـوزا، اشریـشیا کـولای و باسیلوس سرئوس نـشان دادنـد. نتـایج ذکـر شـده نـشان دهنده این است که برخـی از جـنس‌هـای دیگـر خـانواده تیمه‌لئاسـه دارای ترکیبـات ضـدباکتریـایی در بافـت‌هـای مختلف خود هستند.

نتایج دلنـواز هاشـملویان و همکـاران (١۵) در بررسـی میزان فنول اندام‌های مختلـف سـیاه گینـه نـشان داد کـه میزان فنول در ریشه نسبت به سایر قسمت‌های دیگر گیاه بیشتر بود، در نتایج مطالعه حاضر نیز میزان فنـول ریـشه بیش از گل محاسبه گردید.

نتـایج بررسـی IC50 در عـصاره متـانولی جـنس‌هـای مختلف این خانواده نشان داد که ایـن شـاخص در برخـی جـنس‌هـا ماننـد Aquilaria crassna بیـشتر از اسـید آســکوربیک (١۶) و در برخـــی دیگـــر ماننـــد گیـــاه Daphne cneorum (۶) و سـیاه گینـه در مطالعـه حاضـر برابر با اسید اسکوربیک بود. نتایج DPPH نیز بیان کننـده ترکیبات با خاصیت آنتـی‌اکـسیدانی در گیـاه سـیاه گینـه است.

نتیجه نهایی:

عصاره گیاه سیاه گینـه بـه دلیـل داشـتن ترکیبـاتی از جملـه فنـول و فلاونوئیـد دارای خاصـیت ضـدباکتریـایی و آنتی‌اکسیدانی است. بر اساس نتایج ذکر شـده مـی‌تـوان نتیجه گرفت که این اختلاف در میزان فنـول کـل و IC50 وابسته به بافت مورد مطالعـه و نیـز جـنس‌هـای خـانواده تیمه‌لئاسه است. مجموعه نتایج ارائه گردیده، بیان کننـده این مطلب است که این گیاه احتمالاً می‌توانـد جـایگزینی مناســب در تحقیقــات ترکیبــات آنتــی‌باکتریــایی و آنتی‌اکسیدانی طبیعی قرار گیرد.

سپاسگزاری:

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دانـشجویی کارشناسـی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه بوعلی سـینا همـدان می باشد. بدین وسیله از جناب آقـای دکتـر رنجبـر عـضو هیئت علمی و متخصص گروه زیست شناسی و آقای دکتر نگارش که صمیمانه در انجام این تحقیق همکاری نمودند، تشکر می گردد.

منابع:

1. Mazel D, Davies J. Antibiotic resistance in microbs. Cell Mol Life Sci 1999; 56:742- 754.
2. Zhang H, Chen F, Wang X , Yao H Y. Evaluation of antioxidant activity of *parsley (petroselinum crispum)* essential oil and identification of its antioxidant constituents. Food Res Int 2006;39: 833 – 839.
3. Mazutti M, Mossi AJ, Cansian RL, Corazza ML, Dariva C, Oliveira JV. Boldo Chemical profile and antimicrobial activity of (peumus boldus molina) extracts obtained by compressed carbon dioxide extraction. Braz J Chem Eng 2008; 25(34): 427- 434.
4. Oke F, Aslim B, Ozturk S, Altundag S. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of Satureja cuneifoliaTen. Food Chem 2009;112(4): 874-879.
5. Cushnie TPT, Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids. Int J Antimicrob Agents 2005 ; 26: 343-356.
6. Nedeljko T, Pavle Z, Perica J, Ratomir M, Marina Z. HPLC analysis, antimicrobial and antioxidant activities of daphne cneorum L. Hemijska Industrija 2012; 66 (5): 709–716.
7. Hendra R, Ahmad S, Sukari A, Yunus Shukor M, Oskoueian E. Flavonoid analyses and antimicrobial activity of various parts of phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl Fruit. Int J Mol Sci 2011; 12: 3422-3431.
8. Wiegand I, Hilpert K, Hancock RE. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. Nat Protoc 2008; 3(2): 163-175.
9. Stojicevic SS, Stanisiavljevic IT, Velickovic DT, Veljkovic VB, Lazic ML. Comparative screening of the anti-oxidant and antimicrobial activities of sempervivum marmoreum L. extracts obtained by various extraction techniques. J Serbian Chem Soc 2008;73(6): 597-60.
10. Chang WC, Sei CK, Soon SH, Bong KC, Hye JA, Min YL, et al. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. Plant Sci 2002;163:1161-1168.
11. Pourmorad F, Hosseinimehr S, Shahabimajd N. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected iranian medicinal plants. African J Biotechnol 2006; 5(11):1142-1145.
12. Javidnia K, Miri R, Najafi RB, Jahromi NK. A preliminary study on the biological activity of daphne muronata royle. Daru 2003;11(1): 28-31.
13. Tayoub G, Alnaser A.A, Shamma M. Microbial inhibitor of the daphne oleifolia lam.ethanolic extract. Int J Med Arom Plants 2012; 2 (1): 161-166.
14. Yosie A, Effendy MAW, Sifzizul TMT, Habsah M. Antibacterial, radical- scavenging activities and cytoxicity properties of phaleria macrocarpa (scheff) boerl leaves in cell lines. Int J Pharm Sci Res 2011;2 (7): 1700-1706.
15. Delnavaz Hashemloyan B, Mina Mozhdehi S, Atai Azimi O. Extraction and isolation of active ingredients (phenol and tannin) of Dendrostellera lessertii. First national conference of biological sciences 2012; 545-553.
16. Kamonwannasit S, Nantapong N, Kumkrai P, Luecha P, Kupittayanant S, Hudapongse N. Antibacterial activity of aquilaria crassna leaf extract against staphylococcus epidermidis by disruption of cell wall. Animal Clin Microbiol Antimicrob 2013;12 (20): 1-7.

Original Article

Investigation of Antibacterial and Antioxidant Activities of Alcoholic Extracts of Flower and Root of Dendrostellera Lesserti on Some Human Pathogenic Bacteria

M. Alamhulu, M.Sc.[*] ; S. Nazeri, Ph.D.[**]

Received: 29.7.2014 Accepted: 16.12.2014

Abstract

Introduction & Objective: With increasing the information about the dangerous side effects of synthetic antibiotics , the demand for natural alternative of these drugs has increased. The purpose of this study is to investigate the antibacterial and antioxidant properties of root and flower extracts of the medicinal plant of Dendrostellera lesserti against some human pathogenic bacteria.

Materials & Methods: In this experimental study, Dendrostellera lesserti was collected from Hamadan province in 2013. After identification, the extracts were prepared by maceration method. Antibacterial activities were determined by the agar well diffusion method, MIC (serial dilution method) and MBC. Antioxidant properties by DPPH method and amount of phenolic and flavonoid were measured by Folin-ciocalteu and aluminum chloride methods , respectively. The data were analyzed using sas software version 9.2 ($P<0.05$).

Results: The largest growth inhibition zone with diameter of 21.33±.66 mm was seen in Salmonella typhi culture against root methanolic extract. MIC and MBC of root extract was lower in comparison with flower. Methanolic extract of flower in at concentration of 0.8 mg/ml had the highest scavenging percentage of free radical. The higher amount of phenol and flavonoid was related to methanol extract of root, 111.8±2.69 mgGAE/g and 2.25±0.35 mgQ/g, respectively

Conclusion: According to the obtained results, the root and flower methanolic extracts of Dendrostellera lesserti contain compounds with antibacterial and antioxidant properties.

(Sci J Hamadan Univ Med Sci 2015; 21 (4):277-285)

Keywords: Antibacterial /Antioxidants / Bacteria, Human Pathogenic / Dendrostellera Lesserti

---

* M.Sc. in Biotechnology , School of Agriculture
Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran.
** Assistant Professor, Department of Biotechnology, School of Agriculture
Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran. (snblnazeri@yahoo.com)