

بررسی اثرات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی عصاره آبی گیاه خون فام (*Lythrum Salicaria*)

مصطفی گواهی^{۱*}، مجتبی رنجبر^۲، فاطمه نوروزی جوبی^۳، حسین عزیزی^۴

مقاله پژوهشی

مقدمه: گسترش سویه های بیماری زا مقاوم در برابر دارو و افزایش رادیکال های آزاد در منابع غذایی عمده ترین مشکلات بهداشتی در سراسر جهان هستند. عوارض جانبی داروهای شیمیایی، محققین را به سمت استفاده از ترکیبات طبیعی سوق داده است. در این مطالعه اثرات آنتی میکروبی و آنتی اکسیدانی عصاره آبی برگ گیاه خون فام بررسی شده است.

روش بررسی: این تحقیق یک مطالعه پایه ای تجربی می باشد. عصاره آبی برگ گیاه خون فام به روش خیساندن تهیه شد. اثرات ضد میکروبی عصاره به روش دیسک دیفیوژن ارزیابی شد. خواص آنتی اکسیدانی به روش های DPPH و قدرت احیا کنندگی آهن تعیین شد. هم چنین میزان فنل، فلاونوئید و فلاونول کل با روش های فولین سیو کالتو و آلومینیوم کلرید اندازه گیری گردید. اختلاف معنی دار توسط آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و با استفاده از نرم افزار SPSS version 16 مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: تمام سویه های مورد مطالعه به جزء اشریشیاکلای نسبت به عصاره آبی برگ خون فارم حساس بودند. میانگین قطر هاله عدم رشد ناشی از عصاره ها بر روی باکتری های مورد آزمون در محدوده ۲۴/۶۷ – ۱۲/۶۷ میلی متر به دست آمد. هم چنین، آزمون آماری نشان داد ارتباط معنی داری بین افزایش غلظت عصاره ها و قطر هاله عدم رشد وجود دارد ($P < 0/001$). میزان ارزش فنل کل، فلاونوئید کل و فلاونول کل عصاره به ترتیب $1/27 \pm 36/53$ میلی گرم گالیک اسید بر گرم عصاره، $0/95 \pm 20/8$ میلی گرم گوئرسیتین بر گرم عصاره و $0/4 \pm 5/2$ میلی گرم گوئرسیتین بر گرم عصاره تعیین شده است.

نتیجه گیری: عصاره خون فام می تواند جایگزین مناسبی برای آنتی بیوتیک های رایج باشد. اثرات آنتی اکسیدانی قابل قبول عصاره خون فام می تواند آن را به عنوان یک عامل بازدارنده دیابت و سرطان معرفی کند.

واژه های کلیدی: فعالیت ضد میکروبی، خون فام، آنتی اکسیدان، ترکیبات فنلی

ارجاع: گواهی مصطفی، رنجبر مجتبی، نوروزی جوبی فاطمه، عزیزی حسین. بررسی اثرات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی عصاره آبی گیاه خون فام (*Lythrum Salicaria*). مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۰؛ ۲۹ (۲): ۹۹-۳۴۹۱.

۱ و ۲ - گروه نانو زیست فناوری، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران.

۲ - گروه زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران.

۳ - فارغ التحصیل کارشناسی ارشد زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران.

* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۱۱۵۵۰۰۱۵، پست الکترونیکی: mostafagovahi@gmail.com، صندوق پستی: ۴۶۱۵۶۶۴۶۱۶

مقدمه

یکی از عوامل اصلی مرگ و میر در جهان مربوط به بیماری‌های عفونی بوده که روزانه حدود ۵۰ هزار نفر به این علت جان خود را از دست می‌دهند. در سال‌های اخیر، مقاومت دارویی در برابر باکتری‌های پاتوژن انسانی از سراسر جهان گزارش شده است که به دلیل استفاده مداوم از آنتی‌بیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌ها مقاوم شده‌اند. علاوه بر این مشکل، بعضی از آنتی‌بیوتیک‌ها دارای اثرات نامطلوب بر روی میزبان هستند که شامل حساسیت شدید، سرکوب سیستم ایمنی و واکنش‌های آلرژیک می‌باشد. این امر مشکلات بالینی زیادی در درمان بیماری‌های عفونی ایجاد کرده بنابراین نیاز به توسعه داروهای ضد میکروبی طبیعی و جایگزین، برای درمان بیماری‌های عفونی وجود دارد. در مطالعات دهه‌های اخیر، مواد گیاهی به عنوان یک منبع طبیعی برای درمان بیماری‌های عفونی در جهان مورد توجه قرار گرفته است (۱). تعادل بین رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌ها برای عملکرد فیزیولوژیکی مناسب ضروری است. رادیکال‌های آزاد، لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA را آلوده می‌کنند و منجر به برخی از بیماری‌ها از جمله سرطان، دیابت، آلزایمر، پارکینسون و غیره می‌شوند. از این رو استفاده از منبع خارجی آنتی‌اکسیدان‌ها به مقابله با این استرس اکسیداتیو کمک می‌کند. اخیراً آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی مانند هیدروکسی تولوئن و بوتیل هیدروکسی آنیزول گزارش شده‌اند، که برای سلامت انسان خطرناک است. بنابراین، جستجو برای ترکیبات موثر و غیر سمی طبیعی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سال‌های اخیر افزایش یافته است (۲). گیاهان دارویی، منابع طبیعی ارزشمندی هستند که امروزه مورد توجه قرار گرفته و به عنوان مواد اولیه برای تبدیل به داروهای بی‌خطر برای انسان تلقی می‌شوند. محققین داروساز، داروهای قرن بیست و یکم را در گیاهان جستجو می‌کنند و معتقدند که حلال مشکلات پزشکی در آینده گیاهان می‌باشند، زیرا تاکنون بسیاری از داروهای درمان عفونت، آنتی‌اکسیدان، ضدسرطان و غیره از گیاهان استخراج شده‌اند. از جمله گیاهانی که امروزه در علم طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرد، می‌توان به گیاه خون فام

اشاره کرد که برای درمان عفونت‌ها، التیام زخم‌ها، ورم روده، کمبود ویتامین ث (اسکوروی) و خونریزی بیش از اندازه مورد توجه قرار گرفته است. گیاه خون فام با نام علمی *Lythrum salicaria* از خانواده *Lythraceae* بوده که در مناطق مختلف ایران به خصوص در استان‌های مازندران، لرستان، همدان، گیلان، گرگان رشد می‌کند. با توجه به موارد ذکر شده، هدف از انجام این پژوهش، استخراج عصاره گیاه خون فام و بررسی اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن است.

روش بررسی

تهیه عصاره آبی گیاه خون فام

گیاه خون فام از شهرستان بهشهر در شرق مازندران جمع آوری و توسط دکتر علیرضا نقی‌نژاد در گروه زیست‌شناسی دانشگاه مازندران، ایران شناسایی شد. برگ‌های گیاه خون فام سه بار با آب مقطر دیونیزه شسته شدند تا ذرات گرد و غبار از بین بروند و سپس در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در آن خشک شدند. برگ‌های خشک شده در آسیاب پودر شدند. پنج گرم پودر برگ خشک شده در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شده و در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه بر روی هیتر استریل قرار گرفت. در ادامه محلول ساخته شده بر روی سکوی آزمایشگاه قرار گرفت تا به دمای محیط برسد. سپس با دور ۶۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و سپس با کاغذ واتمن صاف شد. عصاره به دست آمده در یخچال نگهداری شد تا در آزمایش‌های بعدی مورد استفاده قرار گیرد (۳).

تعیین میزان ترکیبات فنلی کل

تعیین مقدار فنل تام

جهت ارزیابی میزان محتوای فنلی تام موجود در عصاره گیاه خون فام از روش فولین سیو-کالتو استفاده شد. در این آزمایش ۳۰۰ میکرولیتر عصاره با ۱۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیو کالتو و ۱۲۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۲۰ درصد (w/v) مخلوط شده و به مدت ۶۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شد و جذب در ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. نتایج محتویات فنلی به صورت میلی‌گرم اسید گالیک در گرم وزن خشک عصاره بیان شد. از (۳۰۰ میکرولیتر) متانول ۸۰ درصد، (۱۵۰۰ میکرولیتر)

میکرولیتر کلرید آهن (III) اضافه شد. سپس جذب نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت شد. از تمام ترکیبات بالا به غیر از عصاره که به جای آن آب مقطر استفاده کردیم به عنوان شاهد در نظر گرفته شد (۴).

تعیین فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

برای انجام این آزمایش از رادیکال‌های پایدار DPPH استفاده شد. ۱۰۰۰ میکرولیتر عصاره مورد نظر با غلظت‌های مختلف (۱۰، ۲۰، ۴۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در تیوپ ریخته و با ۳۰۰ میکرولیتر محلول (۰/۰۰۲٪) DPPH مخلوط کرده و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده و سپس جذب آن با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. ۱۰۰۰ میکرولیتر متانول با ۳۰۰ میکرولیتر DPPH ترکیب و به عنوان شاهد استفاده شد. این آزمایش ۳ بار برای هر غلظت تکرار شد و سپس درصد به دام‌اندازی رادیکال DPPH از فرمول زیر محاسبه گردید (۷).

$$I (\%) = (A_0 - A) / A_0 \times 100$$

A₀: جذب شاهد، A: جذب نمونه، I (%): درصد به

دام‌اندازی رادیکال DPPH

در این آزمایش از بوتیل‌ات هیدروکسی تولوئن، BHT (آنتی‌اکسیدان سنتزی)، به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

آزمایش ضد میکروبی

روش دیسک دیفیوژن برای بررسی فعالیت ضد میکروبی استفاده شد. از آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین به عنوان استاندارد برای فعالیت ضد باکتریایی و آموکسیسیلین B برای فعالیت ضد قارچی استفاده شد. به منظور انجام آزمایش ابتدا باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس و باکتری گرم منفی اشریشیاکلای مورد نظر در محیط کشت نوترینت براث و قارچ‌های فوزاریوم تاپسینوم و پریکولاریا اوریزه در محیط کشت دکستروز رشد داده شد. سپس از میکروب‌های رشد کرده سوسپانسیون معادل با نیم مک فارلند تهیه شد. در ادامه از سوسپانسیون تهیه شده ۱۰۰ میکرولیتر بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار و دکستروز آگار به طور یکنواخت پخش گردید. سپس ۳۰ میکرولیتر از سه

فولین و (۱۲۰۰ میکرولیتر) کربنات سدیم به عنوان شاهد دستگاه و از گالیک اسید در غلظت‌های ۰/۳، ۰/۲، ۰/۱، ۰/۰۷۵، ۰/۰۲۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای تهیه منحنی استاندارد استفاده شد (۴).

تعیین مقدار فلاونوئید تام

مقدار فلاونوئید تام عصاره با استفاده از روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید مشخص شد. در این روش، ۱۵۰۰ میکرولیتر عصاره (۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) با ۱۵۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم (۲۰ گرم بر لیتر) ترکیب و به مدت ۴۰ دقیقه در دمای ۲۰ درجه نگهداری و جذب در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت شد (۵).

تعیین مقدار فلاونول تام

جهت ارزیابی میزان محتوای فلاونول تام موجود در عصاره گیاه خون‌فام، (۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) ۶۰۰ میکرولیتر عصاره، ۶۰۰ میکرولیتر آلومینیوم کلراید و ۱۸۰۰ میکرولیتر استات سدیم را با هم مخلوط نموده و سپس به مدت ۲/۵ ساعت در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و جذب آن در طول موج ۴۴۰ نانومتر قرائت شد. برای رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف ۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۱۵ و ۰/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر کوئرسیتین استفاده شد (۶).

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی

تعیین قدرت کاهندگی آهن

روش احیاء آهن به عنوان شاخصی از قدرت آنتی‌اکسیدانی است که طی آن آهن (III) به آهن (II) احیاء می‌شود و تغییر رنگ مخلوط آزمایش این واکنش را تأیید می‌کند. ۱۰۰۰ میکرولیتر عصاره در غلظت‌های مختلف (۱۰۰۰ و ۵۰۰، ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در لوله‌های آزمایش ریخته و با ۱۰۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار با PH= ۶/۶ مخلوط کرده سپس ۱۰۰۰ میکرولیتر پتاسیم فری سیانات به آن اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول تری‌کلریداسید اضافه شد. ۱۵۰۰ میلی‌لیتر از محلول حاصل را برداشته در یک لوله آزمایش حاوی ۱۵۰۰ میکرولیتر آب ریخته و به آن ۶۰۰

غلظت مختلف ۴۰، ۷۰ و ۱۰۰ میکرولیتر بر میلی لیتر عصاره گیاه خون فام بر روی دیسک های کاغذی (۶ میلی متری) اضافه شد. در پایان پلیت های باکتری در دمای ۳۷ درجه و پلیت های قارچ در دمای ۳۰ درجه در گرم خانه به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. سپس قطر ناحیه مهار شده بر حسب میلی متر اندازه گیری شد (۸، ۹، ۱۰ و ۱۱).

تجزیه و تحلیل آماری

آنالیز آماری داده ها به صورت خطای استاندارد $\pm$ میانگین ارائه گردیده است. اختلاف معنی دار توسط آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) با آزمون تعقیبی چند دامنه ای دانکن و با استفاده از نرم افزار SPSS version 16 مورد بررسی قرار گرفت و مقادیر کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شدند.

ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این تحقیق توسط دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل با کد اخلاق IR.AUSMT.REC.1399.01.35 تأیید شده است.

نتایج

محتوی فنولی، فلاونول و فلاونوئید

محتوای فنلی، فلاونول و فلاونوئید کل عصاره آبی گیاه خون فام مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که این گیاه دارای محتوای فنل کل (۱/۲۷ $\pm$ ۳۶/۵۳ میلی گرم گالیک اسید برگرم عصاره)، فلاونول (۵/۲ $\pm$ ۰/۴ میلی گرم کوئرستین بر گرم عصاره) و فلاونوئیدها (۲۰/۸ $\pm$ ۰/۹۵ کوئرستین بر گرم عصاره) است.

نتایج سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی

نتایج قدرت احیاء کنندگی آهن

مطالعات مختلف نشان دادند که آنتی اکسیدان ها دارای خواص الکترون دهنده گی می باشد. در این آزمایش هر چه عصاره یا ترکیب آنتی اکسیدان بتواند باعث احیاء کل بیشتر Fe (III) به Fe (II) شود می تواند از تبدیل H_2O_2 به OH° که یک رادیکال بسیار پایدار و خطرناک است جلوگیری کند. نتایج آزمایش نشان داد که با افزایش میزان غلظت عصاره میزان قدرت احیاء کنندگی آهن افزایش می یابد به طوریکه در غلظت

۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر برابر با 0.17 ± 0.126 ، در غلظت ۳۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر برابر با 0.25 ± 0.43 ، ۶۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر برابر با 0.33 ± 0.115 و در غلظت ۹۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر برابر با 0.3 ± 0.604 بود.

نتایج فعالیت مهار رادیکال های DPPH

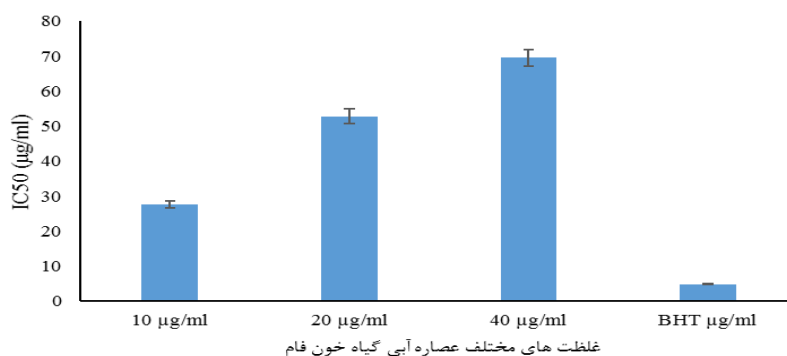
اثر آنتی اکسیدانی عصاره با درصد مهار رادیکال DPPH محاسبه شد. رنگ بنفش محلول DPPH به تدریج در حضور عصاره به رنگ زرد کم رنگ تغییر یافت که نشانگر ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره خون فام است. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت عصاره میزان مهار رادیکال DPPH افزایش یافته و کمترین مهار در غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر عصاره (۱/۰۲ $\pm$ ۲۷/۶ میکروگرم بر میلی لیتر) و بیشترین میزان مهار در غلظت ۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر عصاره (۲/۲۷ $\pm$ ۶۹/۵ میکروگرم بر میلی لیتر) مشاهده شد (شکل ۱). میزان IC_{50} بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT) نیز برابر با $0.2 \pm 4/85$ میکروگرم بر میلی لیتر به دست آمد.

نتایج ضد میکروبی عصاره خون فام

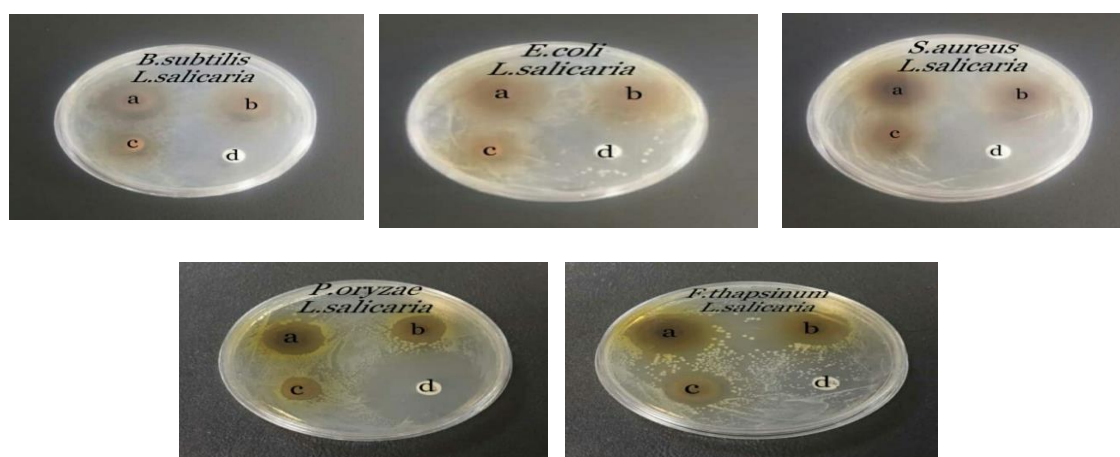
فعالیت ضد باکتریایی عصاره خون فام در غلظت های مختلف بر روی ۲ سویه باکتری گرم مثبت و ۴ سویه باکتری گرم منفی در محیط کشت مولر هینتون آگار به روش دیسک دیفیوژن بررسی شد. نتایج جدول ۱ نشان داد که با افزایش عصاره، سطح هاله مهار افزایش می یابد. سطح مهار حاصل از عصاره با ۳ غلظت مختلف (۴۰، ۷۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) با آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم بر دیسک) به عنوان استاندارد مقایسه شد. نتایج به دست آمده در شکل ۲ و جدول ۱ ارائه شده که نشان می دهد بیشترین سطح هاله مهار رشد در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر به ترتیب مربوط به باسیلوس سوبتلیس (۲۰ میلی متر) و استافیلوکوکوس اورئوس (۱۷ میلی متر) می باشد. بیشترین سطح هاله مهار رشد در غلظت ۷۰ میکروگرم بر میلی لیتر به ترتیب مربوط به باسیلوس سوبتلیس (۱۶ میلی متر) و استافیلوکوکوس اورئوس (۱۴ میلی متر) می باشد. هم چنین

میلی لیتر به ترتیب مربوط به فوزاریوم تاپسینوم (۲۴ میلی متر) و پری کولاریا اوریزه (۲۱ میلی متر) می باشد. درحالی که بیشترین اندازه هاله مهار در غلظت ۷۰ میکروگرم بر میلی لیتر به ترتیب مربوط به فوزاریوم تاپسینوم (۲۱ میلی متر) و پری کولاریا اوریزه (۱۹ میلی متر) می باشد. در غلظت ۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر بیشترین اندازه سطح مهار متعلق به فوزاریوم تاپسینوم (۱۷ میلی متر) و پری کولاریا اوریزه (۱۴ میلی متر) است. هاله مهار رشد آنتی بیوتیک آمفوتریسین B در قارچ پری کولاریا اوریزه ۳۴ میلی متر است، درحالی که این آنتی بیوتیک منجر به مهار قارچ فوزاریوم تاپسینوم نشد.

بیشترین اندازه هاله مهار رشد در غلظت ۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر به ترتیب مربوط به باسیلوس سوبتلیس (۱۳ میلی متر) و استافیلوکوکوس اورئوس (۱۲ میلی متر) می باشد. در حالی که عصاره خون فام منجر به مهار باکتری اشرشیا کلی نشد، دیسک آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین منجر به مهار ۳۳ میلی متری باسیلوس سوبتلیس، ۳۶ میلی متری استافیلوکوکوس اورئوس و ۲۸ میلی متری اشرشیاکلائی شد. فعالیت ضد قارچی عصاره خون فام در ۳ غلظت مختلف (۴۰، ۷۰، ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده در شکل ۱ و جدول ۲ نشان داد که بیشترین اندازه هاله مهار در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر



شکل ۱: میزان فعالیت مهار رادیکال های DPPH توسط عصاره آبی گیاه خون فام



شکل ۲: نتایج آزمایش ضد میکروبی عصاره گیاه خون فام، (a) غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر (b) غلظت ۷۰ میکروگرم بر میلی لیتر (c) غلظت ۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر (d) دیسک آنتی بیوتیک

جدول ۱: میانگین هاله عدم رشد غلظت‌های مختلف عصاره گیاه خون فام بر تعدادی از میکروارگانیسم‌ها بر حسب میلی‌متر

سیپروفلوکساسین	آمفوتریسین B	۴۰ (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	۷۰ (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	۱۰۰ (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	میکروارگانیسم
۳۳	-	$13/33 \pm 0.58^c$	$16/67 \pm 1.16^b$	$20/33 \pm 0.58^a$	باسیلوس سوبتلیس
۳۶	-	$12/67 \pm 0.58^c$	$14/33 \pm 1.16^b$	17 ± 1^a	استافیلوکوکوس اورئوس
۲۸	-	عدم مهار	عدم مهار	عدم مهار	اشرشیاکلا
-	عدم مهار	$17/33 \pm 0.58^c$	21 ± 1^b	$24/67 \pm 1.16^a$	فوزاریوم تاپسینوم
-	۳۴	$14/67 \pm 1.16^c$	$19/33 \pm 0.58^b$	$21/67 \pm 1.16^a$	پری کولاریا اوریزه

بحث

اهمیت آنتی‌اکسیدان‌ها مخصوصاً از دو جنبه قابل بررسی است. یکی از این موارد، تامین سلامتی انسان‌ها به‌منظور حذف رادیکال‌های آزاد و دیگری در زمینه صنعت غذا است. با توجه به مضرات آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی توجه زیادی به سمت آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی معطوف شده است. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که گیاه خون فام دارای $36/53 \pm 1/27$ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره فنل، $20/8 \pm 0/95$ کوئرستین بر گرم عصاره فلاونوئید و $5/2 \pm 0/4$ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره فلاونول می‌باشد. نتایج به‌دست آمده در یک تحقیق بر روی عصاره آبی ۹ گیاه نشان داد که عصاره آبی گیاه برگ بو و ریحان میزان فنل بالاتری نسبت به دیگر عصاره‌های آبی مورد مطالعه داشتند (۱۲). در تحقیقی گواهی و همکاران (۲۰۱۹) با بررسی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی روی گیاه دارویی *Scutellaria peginensis* نشان دادند که بیشترین میزان مهار رادیکال آزاد و قدرت احیاء کنندگی آهن مربوط به عصاره آبی این گیاه در مقایسه با عصاره متانولی آن می‌باشد (۱۳). در مطالعه‌ای فعالیت آنتی‌اکسیدانی چهار گونه نعنای توسط رنجبر و همکاران (۲۰۲۰) مورد بررسی قرار گرفت. در بین گونه‌های مورد مطالعه عصاره متانولی نعنای پیپریتا بالاترین میزان فنل کل، فلاونوئید، فلاونول و درصد مهار رادیکال آزاد را دارا بوده است. هم‌چنین در تحقیق مذکور میزان جذب احیاء کنندگی آهن از $0/189$ تا $1/16$ گزارش شده است و یک هم‌خوانی خوبی بین نتایج این آزمایش و نتایج ما وجود داشته

به‌طوریکه در هر دو آزمایش رابطه مثبتی بین افزایش غلظت عصاره و میزان قدرت احیاء کنندگی وجود دارد (۴). بنابراین می‌توان گفت که عصاره آبی خون فام دارای ظرفیت الکترون‌دهی و احیاء کنندگی آهن بالایی می‌باشد. نتایج این تحقیق و مطالعات قبلی نشان داده که رابطه مثبتی بین میزان ترکیبات فنلی و قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاه وجود دارد به‌طوریکه هر چقدر میزان فنل و فلاونوئید کل بیشتر باشد عصاره خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری دارد (۱۵، ۱۴). از دلایل احتمالی تفاوت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی این آزمایش با گزارشات قبلی می‌توان به تفاوت نوع و میزان فنل، فلاونوئید و فلاونول اشاره کرد. نتایج فعالیت ضد میکروبی عصاره گیاه خون فام نشان داد که عصاره این گیاه توانایی مهار کنندگی خوبی نسبت به گونه‌های میکروبی مورد مطالعه به جزء اشرشیاکلا دارد. در یک مطالعه صفری و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که عصاره متانولی گیاه *Mespilus germanica* دارای اثر مهار کنندگی بیشتری بر روی رشد استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به گونه اشرشیاکلا می‌باشد (۱۶). هاشمی و همکاران (۲۰۱۸)، خاصیت ضد قارچی و آنتی‌اکسیدانی ترکیب صمغ بادام تلخ با عصاره *Satureja intermedia* را ارزیابی کردند نتایج آنها نشان داد که بیشترین سطح مهار کنندگی بر روی قارچ *penicillium citrinum* مشاهده شد. هم‌چنین ترکیب مورد نظر دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی بود (۱۷). در مقایسه با مهار رشد باکتری‌ها توسط عصاره گیاه خون فام، میزان مهار عصاره بر روی قارچ‌ها کمتر بوده و دلیل آن می‌تواند مربوط به حضور

است. نتایج به دست آمده در این تحقیق می تواند اهمیت این گیاه دارویی را بیشتر از گذشته نشان دهد. نتایج حاکی از آن است که عصاره خون فام خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی خوبی از خود نشان می دهند و حتی می توان آن را به عنوان یک جایگزین مناسب برای آنتی بیوتیک ها و آنتی اکسیدان های موجود در بازار در نظر گرفت.

سپاس گذاری

این طرح تحقیقاتی (کد: ۹۷۱۲/۸۱) با استفاده از اعتبارات ویژه پژوهشی (گرت) دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل انجام گردیده است.

حامی مالی: دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل
تعارض در منافع: وجود ندارد.

کتین در دیواره سلولی قارچ ها باشد که مقاومت بیشتری نسبت به لیپوپلی ساکاریدها در دیواره سلولی باکتری دارد. به طور کلی مکانسیم های احتمالی فعالیت ضد میکروبی عصاره را می توان به از بین رفتن یکپارچگی غشای سلولی ناشی از اختلال در لایه فسفولیپید، به عنوان یکی از مهم ترین مکانسیم های مهاری اشاره کرد. هم چنین استرس اکسیداتیو ناشی از تولید انواع اکسیژن فعال (ROS) یکی دیگر از ساز و کارهای مهم بوده و این مولکول های ROS بیشتر با مهار یا تغییر در همانندسازی DNA، چرخه سنتز پروتئین، چرخه متابولیسم غذایی یا چرخه تنفسی باعث مرگ میکروب می شوند (۲۰-۱۸).

نتیجه گیری

گیاه خون فام از زمان های قدیم مورد توجه طب سنتی واقع شده است اما به طور جدی به جنبه های دارویی آن توجه نشده

References:

- 1-Alavijeh PK, Alavijeh PK, Sharma D. *A Study of Antimicrobial Activity of Few Medicinal Herbs*. Asian J Plant Sci Res 2012; 2(4): 496-502.
- 2-Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. *Free Radicals, Antioxidants and Functional Foods: Impact on Human Health*. Pharmacognosy Reviews 2010; 4(8): 118-26.
- 3-Singh A, Singh NB, Hussain I, Singh H, Yadav V Singh SC. *Green Synthesis of Nano Zinc Oxide and Evaluation of its Impact on Germination and Metabolic Activity of Solanum Lycopersicum*. J Biotechnology 2016; 233: 84-94.
- 4-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.
- 5-Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. *Comparison of the Free Radical-Scavenging Activity of Propolis from Several Regions of Argentina*. J Ethnopharmacol 2000; 71(1): 109-14.
- 6-Loziene K, Venskutonis PR, Sipailiene A, Labokas J. *Radical Scavenging and Antibacterial Properties of the Extracts from Different Thymus Pulegioides L. Chemotypes*. Food Chem 2007; 103(2): 546-59.
- 7-Singh HP, Mittal S, Kaur S, Batish DR, Kohli RK. *Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oil from Residues of Artemisia Scoparia*. Food Chem 2009; 114(2): 642-45.
- 8-Do QD, Angkawijaya AE, Tran-Nguyen PL, Huynh LH, Soetaredjo FE, Ismadji S, et al. *Effect of Extraction Solvent on Total Phenol Content, Total Flavonoid Content, And Antioxidant Activity of*

- Limnophila Aromatica*. J Food and Drug Analysis 2014; 22(3): 296-302.
- 9-Khan ZUH, Sadiq HM, Shah NS, Khan AU, Muhammad N, Hassan SU, et al. *Greener Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles Using Trianthema Portulacastrum Extract and Evaluation of its Photocatalytic and Biological Applications*. J Photochemistry and Photobiology B: Biology 2019; 192: 147-57.
- 10-Gupta M, Tomar RS, Kaushik S, Sharma D, Mishra RK. *Effective Antimicrobial Activity of Green Zno Nano Particles of Catharanthus Roseus*. Frontiers in Microbiology 2018; 9: 2030.
- 11-Rao B, Tang RC. *Green Synthesis of Silver Nanoparticles with Antibacterial Activities Using Aqueous Eriobotrya Japonica Leaf Extract*. Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology 2017; 8(1): 015014.
- 12-Mirzaei A, Mohammadi J, Mirzaei N, Mirzaei M. *The Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents of Some Medicinal Plants in Iran*. J Fasa University Medical Sci 2011; 1(3):160-7. [Persian]
- 13-Govahi M, Ghorbani F, Ranjbar M, Rahaiee S, Azizi H. *Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Activity, and Determination of Phenolic and Flavonoid Content of Aqueous and Methanolic Extracts of Scutellaria Pekinensis*. Scientific J Ilam Uni Med Sci 2019; 27(3): 91-100. [Persian]
- 14-Kamkar A, Shariatifar N, Jamshidi AH, Mohammadian M. *Study of Antioxidant Functional of the Water, Methanol, And Ethanol Extracts Endemic Cuminum Cyminum L. and Cardaria Draba L. in the Invitro Systems*. Ofogh-E-Danesh. GMUHS J 2010; 16(2): 37-44. [Persian]
- 15-Salamian SH, Sadeghi Mahoonak AR, Alami M, Ghorbani M. *Evaluation of Total Phenolic, Flavonoid, Anthocyanin Compounds, Antibacterial and Antioxidant Activity of Hawthorn (Crataegus Elbursensis) Fruit Acetonic Extract*. JRUMS 2013; 13(1): 53-66. [Persian]
- 16-Safari M, Ahmady-Asbchin S. *Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Activities of Methanolic Extract of Medlar (Mespilus Germanica L.) Leaves*. Biotechnology and Biotechnological Equipment 2018; 33(1): 372-8.
- 17-Hashemi SMB, Raeisi S. *Evaluation of Antifungal and Antioxidant Properties of Edible Coating Based on Apricot (Prunus Armeniaca) Gum Containing Satureja Intermedia Extract in Fresh Wild Almond (Amygdalus Scoparia) Kernels*. J Food Measurement and Characterization 2018; 12(1): 362-9.
- 18-Roy S. *Green Synthesized Gold Nanoparticles: Study of Antimicrobial Activity*. J Bionanosci 2017; 11(2): 131-5.
- 19-Stoimenov PK, Klinger RL, Marchin GL, Klabunde KJ. *Metal Oxide Nanoparticles as Bactericidal Agents*. Langmuir 2011; 18: 6679-86.
- 20-Umadevi M, Rani T, Balakrishnan T, Ramanibai R. *Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles Prepared Under an Ultrasonic Field*. Int J Pharm Sci Nanotechnol 2011; 4(3): 1491-96.

Antimicrobial and Antioxidant Effects of Aqueous Extract of *Lythrum Salicaria*

Mostafa Govahi^{*1}, Mojtaba Ranjbar², Fatemeh Norouzi Jobie³, Hossein Azizi¹

Original Article

Introduction: The spread of drug-resistant pathogenic strains and the increase of free radicals in food sources are major health problems worldwide. The side effects of chemical drugs have led the researchers to use natural products. In this study, the antimicrobial and antioxidant effects of leaf extract of *Lythrum Salicaria* have been investigated.

Methods: This research was a basic experimental study. The aqueous extract of *Lythrum Salicaria* leaf was prepared by maceration method. Antimicrobial effects of the extract were evaluated by disk diffusion method. The antioxidant properties of extract were determined by DPPH and iron reducing power methods. In addition, the amounts of phenol, flavonoid and flavonol were assayed by Folin-ciocalteu and Aluminum chloride methods, respectively. Data were compared by analysis of variance (ANOVA) using SPSS version 16 software.

Results: All of the studied strains were sensitive to the aqueous extract of *Lythrum Salicaria* leaf except *E. coli*. The mean zones of inhibition were due to the extracts on the tested bacteria obtained in ranging from 12.67 to 24.67 mm. Statistical analysis showed a significant relationship between the mean diameters of growth inhibition zone and increased extract concentrations ($P < 0.001$). The total phenolic content, total flavonoid content and total flavonol content values of extract were determined as 36.53 ± 1.27 mg gallic acid per gram extract, 5.2 ± 0.4 mg quercetin per gram extract and 20.8 ± 0.95 quercetin per gram extract, respectively.

Conclusion: Extract of *Lythrum Salicaria* can be a good alternative to common antibiotics resistant. The acceptable antioxidant effects of the *Lythrum Salicaria* extract can be introduced it as an inhibitor of diabetes and cancer.

Keywords: Antimicrobial Activity, *Lythrum Salicaria*, Antioxidant, Phenolic Compounds.

Citation: Govahi M, Ranjbar M, Norouzi Jobie F, Azizi H. **Antimicrobial and Antioxidant Effects of Aqueous Extract of *Lythrum Salicaria***. J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2021; 29(2): 3491-99.

^{1,4}Department of NanoBiotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Technology, Amol, Iran.

²Department of Microbial Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Technology, Amol, Iran.

³Master of Microbial Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Technology, Amol, Iran.

***Corresponding author: Tel:** 021-51212252, **email:** mostafagovahi@gmail.com