DOR: 20.1001.1.23832592.1400.34.1.19.6

بررسی اثرات ضدباکتریایی، آنتی‌اکسیدانی و تعیین محتوی فنلی و فلاونوئیدی گیاه داروئی توت طلائی(*Physalis peruviana* L.)

بهروز دوستی[1*]، کامران سمیعی[2] و سپیده زرین زاده[1]

[1] **ایران، خرم‌آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه زیست‌شناسی**

[2] **ایران، کنگاور، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه مهندسی کشاورزی**

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۸/۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۹/۱۷

چکیده

با شیوع مقاومت‌های آنتی بیوتیکی و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و بیماری‌های ناشی از آنها، کشف ترکیبات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی جدید ضروری است. هدف این مطالعه، بررسی خواص ضدباکتریایی عصاره برگ و میوه گیاه توت طلایی بر روی باکتری‌های بیماری زای گیاهی و جانوری و همچنین بررسی خواص آنتی اکسیدانی و تعیین میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی این گیاه دارویی می‌باشد. فعالیت آنتی اکسیدانی توت طلایی با استفاده از آزمون به دام اندازی رادیکال آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل و اثرات ضدباکتریایی آن بر سه باکتری جانوری (*استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیا کلی*، *انتروکوکوس فکالیس*) و دو باکتری گیاهی (*اروینیا آمیلوورا* و *زانتاموناس سیتری*) به روش انتشار دیسک مورد بررسی قرارگرفت. حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی برای هرکدام از عصاره‌ها به روش رقت سازی در لوله تعیین شد. ترکیبات فنلی میوه و برگ نیز توسط معرف فولین- سیوکالتیو و ترکیبات فلاونوئیدی به روش رنگ سنجی آلومینیوم کلراید اندازه‌گیری شدند. براساس نتایج به دست آمده اثرات ضدباکتریایی میوه بیش تر از برگ بود. اثر ضد باکتریائی ترکیب عصاره میوه و برگ با میانگین اثرات ضد باکتریائی عصاره برگ و عصاره میوه به تنهایی اختلاف معنی‌داری نداشت. نتایج نشان داد که خواص آنتی اکسیدانی، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی برگ نسبت به میوه بیشتر بود. نتایج به طور کلی نشان داد که عصاره برگ و میوه توت طلایی اثرات ضدباکتریایی و آنتی اکسیدانی مناسبی دارد ضمن اینکه خواص آنتی اکسیدانی بالاتر برگ احتمالاً ناشی از میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی آن می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، ضد باکتریایی،توت طلایی، فنل، فلاونوئید

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۶۶۳۳۲۳۷۷۳۱ ، پست الکترونیکی: doostybehrooz@yahoo.com

مقدمه

هر ساله به دلیل مقاومت‌های باکتریایی و ظهور سویه‌های جدید باکتری‌های مختلف، از میزان اثربخشی آنتی بیوتیک‌ها کاسته شده که این امر سبب افزایش خطر بروز آلودگی‌ها و عفونت‌های شدید باکتریایی در زندگی انسان شده است. مطالعات نشان داده که عوامل بیماری‌زا از جمله باکتری‌ها، قادرند با استفاده از فرایندهای ژنتیکی و غیرژنتیکی، تأثیرات موثری برای خنثی کردن اثر ترکیبات ضد میکروبی به وجود آورند. از این رو علی رغم شناسایی و تولید طیف وسیعی از ترکیبات ضد میکروبی، تعداد بسیار اندکی از آن‌ها در مقابل سویه‌های مقاوم باکتریایی موثر خواهندبود بنابراین طراحی و تکامل آنتی‌بیوتیک‌های جدیدی که براین محدودیت‌ها غلبه کنند، از اهمیت زیادی برخوردار است (۷، ۲۱، ۲۳و ۲۹).

DOR: 20.1001.1.23832592.1400.34.1.19.6

باتوجه به مقاومت باکتری‌ها به آنتی بیوتیک‌های موجود و عوارض ناشی از مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها (۳۴) کشف و توسعه مواد ضدمیکروبی جدید علیه باکتری‌های با شیوع بالا نظیر *استافیلوکوکوس اورئوس* (*Staphylococcus aureus*)، *اشرشیا کلی* (*Escherichia coli*)، *انتروکوکوس فکالیس* که از عوامل شایع عفونت‌های باکتریایی هستند ضروری به نظر می‌رسد (۶). علاوه بر این برخی از این باکتری‌ها نظیر *اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس*، باعث ایجاد مسمومیت‌های غذایی نیز می‌شوند (۲۸). با توجه به ایجاد آلودگی‌های زیست محیطی مختلف توسط آنتی‌بیوتیک‌ها و سموم باکتری‌کش(۱۸) می‌توان برای کنترل پاتوژن‌های گیاهی نظیر باکتری عامل آتشک درختان میوه دانه‌دار (*اروینیا آمیلوورا*) (*Erwinia amylovora*) (۲۰) و باکتری عامل بیماری شانکر مرکبات (*زانتاموناس سیتری*) (*Xanthomonas citri*) (۱۹) که از مخرب‌ترین بیماری‌های مرکبات محسوب می‌شوند، از مواد طبیعی دارای خاصیت ضدباکتریایی استفاده کرد.

مطالعات نشان داده‌اند که رادیکال‌های آزاد یکی از علل اصلی بسیاری از بیماری‌ها و نارسایی‌ها ازجمله بیماری‌های قلبی و عروقی (۲۵) روماتیسم، اختلالات کبدی آسم و سرطان (۲۲) به شمار می‌روند. اثرات مثبت آنتی اکسیدان‌های طبیعی مثل ویتامین‌ها، فنل‌ها، کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و کاتچین‌ها به طور گسترده‌ای طی دو دهه گذشته گزارش شده است (۱۲، ۱۶و ۳۳). این ترکیبات علاوه بر فعالیت ضد میکروبی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز هستند (۲۳).

جنس فیسالیس (*Physalis*) متعلق به خانواده سیب‌زمینی (Solanaceae) است و تاکنون حدود ۱۲۰ گونه مختلف از این گیاه در سراسر جهان مورد شناسائی قرارگرفته است (۳۲). گیاه دارویی توت طلایی(*P. peruviana* L.) یکی از مهمترین گونه‌های جنس فیسالیس محسوب می‌گردد. میوه های این گیاه به دلیل دارا بودن ویتامین‌های فراوان، مواد معدنی و آنتی‌اکسیدان‌ها از ارزش غذایی بالایی برخوردار هستند. علاوه‌براین خواص دارویی بالقوه از جمله ضد باکتری، ضد التهاب و خاصیت آنتی اکسیدانی نیز برای این گیاه گزارش شده است (۱۸). بر همین اساس سالیان درازی است که از میوه این گیاه به عنوان غذا یا چاشنی استفاده می‌گردد. در گزارش‌های متعددی کاربرد گسترده این گیاه را در طب سنتی برای درمان بیماری‌هایی نظیر مالاریا،آسم، هپاتیت و روماتیسم اشاره شده است (۲۹).

میوه گیاه توت طلائی دارای خواص تقویت سیستم ایمنی، کاهش قندخون، از بین بردن انگل‌های روده‌ای و درمان بیماری‌های پوستی است. همچنین دارای خواص درمانی نظیر خواص ضدباکتریایی، ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی نیز می‌باشد (۱۵و ۱۶). با القای مرگ سلولی در فازهای مختلف سلول‌های سرطانی، خاصیت ضد سرطانی نیز دارد، بنابراین در دهه اخیر توجه به خواص دارویی و درمانی گیاه توت طلایی در نقاط مختلف دنیا افزایش پیدا کرده است (۲۹). تاکنون ترکیبات متعدد و متنوعی از این گیاه جداسازی شده است. از مهمترین متابولیت‌های ثانویه این گیاه می‌توان به فیزالین‌ها، گلیکوزیدها، تیکلودین (Ticloidine)، ویتانولوئیدها، فنولیک‌ها، اسیدهای فنولیک و فیتواسترول‌ها اشاره کرد (۱۷). نتایج مطالعه ارتورک و همکاران (۲۰۱۷) نشان داد که بذر و میوه گیاه دارویی توت طلایی دارای خواص ضدمیکروبی بالایی بوده و بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به ترتیب مربوط به بذر و ریشه این گیاه می‌باشد (۱۶).

در ایران مطالعات مختلفی روی خواص دارویی گیاه عروسک پشت پرده ***P.alkekengi*** انجام شده است (۱و ۷). هوشنی و همکاران (۱۳۹۱) در مطالعه‌ای به بررسی پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره الکلی اندام‌های مختلف گیاه توت طلائی پرداختند و براساس نتایج به دست آمده بیان شد که اندام‌های مختلف ضمن داشتن تفاوت معنی‌دار در مقادیر ترکیبات فنلی، از پتانسیل آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی

DOR: 20.1001.1.23832592.1400.34.1.19.6

برخوردار هستند. با این حال تاکنون مطالعه‌ای در مورد توت طلایی (*P.peruviana*) انجام نگرفته است. بر همین اساس بررسی خواص ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی و تعیین ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصاره آبی میوه و برگ گیاه دارویی توت طلایی ضرورت اجرای این پژوهش را توجیه می‌کند.

مواد و روشها

به منظور تهیه عصاره آبی میوه و برگ گیاه توت طلایی، نمونه‌های گیاهی از گلخانه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خرم‌آباد جمع‌آوری و پس از خشک شدن در دمای ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت، مورد استفاده قرار گرفتند. عصاره‌گیری با استفاده از روش خیساندن در آب مقطر استریل و سپس فیلتراسیون توسط کاغذ صافی و فیلترسرنگی ۰/۲۲ میکرون صورت گرفت. به منظور عصاره‌گیری از هر دو نمونه گیاهی برگ و میوه، از غلظت ۱۰ گرم پودر گیاهی و ۹۰ سی‌سی آب مقطر استفاده شد.

باکتری‌های مورد استفاده شامل سه باکتری جانوری *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیا کلی*، *انتروکوکوس فکالیس* و دو باکتری پاتوژن گیاهی *اروینیا آمیلوورا* و *زانتاموناس سیتری* بودند. به منظور انجام آزمایش‌های ضدمیکروبی، باکتری‌های موردمطالعه در محیط LB مایع و در ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شدند. غلظت باکتری‌های مورد مطالعه با استفاده از میزان جذب سوسپانسیون باکتری‌های کشت داده شده در طول موج ۶۰۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر(Bio Rad، آلمان) تعیین گردید (۱۳).

آزمایش ضد میکروبی عصاره به روش انتشار دیسک: جهت انجام آزمایش ضدمیکروبی از روش انتشار دیسک و در نظر گرفتن ۳ تکرار برای هر تیمار استفاده شد. ۲۰ میکرولیتر از هر عصاره بر روی دیسک بلانک استریل (پادتن طب،ایران) تزریق گردید. پس از کشت چمنی هر کدام از باکتری‌ها، دیسک بلانک‌های حاوی عصاره و دیسک آنتی بیوتیک جنتامایسین (Gentamicin) (۱۰میکروگرم) بر روی محیط قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت گرماگذاری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، قطر هاله عدم رشد باکتری برای هرکدام از دیسک‌ها به کمک کولیس اندازه‌گیری شد.

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی رشد (Minimum Inhibitory Concentration) (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (Minimum Bactericidal Concentration) (MBC): جهت تعیین حداقل غلظت بازدارندگی رشد باکتری‌های مورد مطالعه از روش ماکرودایلوشن استفاده شد. برای این منظور از غلظت‌های متوالی هر عصاره بر حسب میکروگرم (۱۰۰ الی۸۰۰ میکروگرم) استفاده گردید.آخرین لوله‌ای که در آن هیچ گونه کدورتی مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی در نظر گرفته شد. جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی باکتری از لوله‌های شفاف به دست آمده روی محیط لوریا برتانی آگار کشت داده شد و غلظتی که در آن هیچ باکتری رشد نکرده بود به عنوان حداقل غلظت کشندگی (MBC) در نظر گرفته شد.

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی: فعالیت آنتی اکسیدانی با استفاده از رادیکال آزاد ۱،۱-دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل(DPPH) ارزیابی شد (۲۹). به همین منظور هریک از عصاره‌های آبی میوه و برگ را به محلول متانولی۰/۱ میلی‌مولار DPPH افزوده و از یک نمونه حاوی متانول و محلول DPPH به عنوان کنترل استفاده شد. بعد از ۱۵ دقیقه نگهداری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس جذب محلول‌ها و کنترل در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (Bio Rad، آلمان) اندازه‌گیری و میزان فعالیت گیرندگی رادیکال آزاد با استفاده از محاسبه میزان به دام اندازی رادیکالهای آزاد توسط نمونه کنترل (فرمول ۱) محاسبه گردید. غلظت مورد نیاز جهت مهار ۵۰ درصد

DOR: 20.1001.1.23832592.1400.34.1.19.6

رادیکال های آزاد (Inhibitory Concentration (IC_{50})) نیز محاسبه شد.

فرمول (۱):

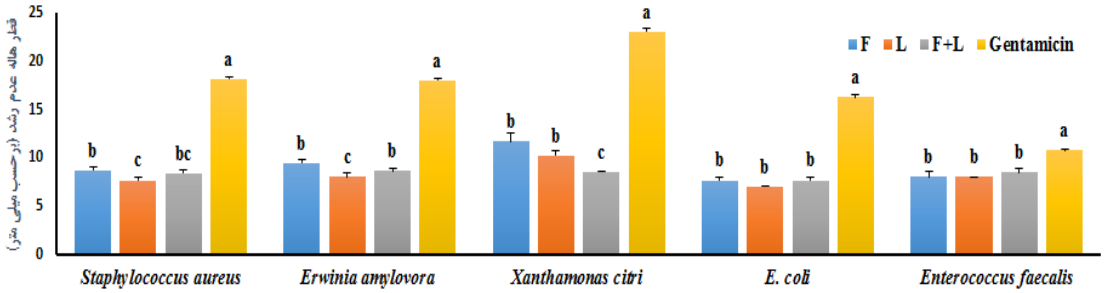
$$\%RSA = (A_{control} - A_{sample} / A_{control}) \times 100$$

تعیین ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی: جهت تعیین محتوی فنل تام، از روش رنگ سنجی سیور و دالی (Seevers and Daly) با استفاده از معرف فولین- سیوکالتیو استفاده شد (۳۲). برهمین اساس قدرت احیاکنندگی گروه‌های هیدروکسیل ترکیبات فنلی با استفاده از گالیک اسید به عنوان استاندارد معین شد. سپس با رسم منحنی مربوطه توسط معادله خط به دست آمده، مقادیر فنل هریک از نمونه‌ها تعیین گردید. میزان ترکیبات فلاونوئیدی نیز به روش رنگ سنجی آلومینیوم کلراید اندازه گیری شد (۳۲). از کوئرستین به عنوان استاندارد و به روشی مشابه با روش تعیین ترکیبات فنلی استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری و مقایسه میانگین: به منظور تعیین اثر هریک از تیمارهای مورد آزمایش در مطالعه حاضر، تجزیه واریانس بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار مورد ارزیابی قرارگرفت. مقایسه میانگین با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح ۵ درصد انجام گرفت. جهت تجزیه آماری از نرم افزار SAS استفاده شد.

نتایج

نتایج آزمون اثرات ضد میکروبی: براساس نتایج به دست آمده از آزمون کشندگی عصاره میوه و برگ گیاه دارویی توت طلایی، بیشترین هاله عدم رشد باکتری‌ها مربوط به عصاره میوه برروی باکتری‌های *X. citri* و *E. amylovora* بود و این در حالی است که کمترین کشندگی به تأثیر عصاره میوه برروی دو باکتری جانوری *E. Faecalis* و *E. coli* تعلق داشت. به طوری که قطر هاله عدم رشد برای باکتری زانتاموناس سیتری و اشرشیاکلی به ترتیب ۱۱/۷ و ۷/۷ میلی متر بود (نمودار ۱). اثر مهارکنندگی و کشندگی برگ نسبت به عصاره میوه در تمام باکتری‌ها کم‌تر و اختلاف بین آنها در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که استفاده از ترکیب عصاره میوه و برگ اختلاف معنی‌دار با همدیگر نداشت (نمودار ۱).



نمودار۱- مقایسه میانگین اثر ضد میکروبی عصاره برگ، میوه و مخلوط برگ و میوه توت طلایی بر روی باکتری‌های مختلف مورد مطالعه. ستون‌ها با حروف متفاوت در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار هستند. حروف L، F و L+F به ترتیب بیانگر عصاره‌های برگ، میوه و مخلوط برگ و میوه توت طلایی می‌باشند.

نتایج به‌دست آمده از آزمون MBC و MIC با نتایج به‌دست آمده از آزمون انتشار دیسک هم‌خوانی داشت به طوری که دو باکتری *باکتری‌های X. citri* و *E. amylovora* بیش‌ترین حساسیت را نسبت به عصاره برگ و میوه نشان دادند و مقادیر MBC و MIC برای این دو باکتری کم‌تر از سایر باکتری‌ها مورد مطالعه بود. کم‌ترین و بیش‌ترین مقدار MIC به ترتیب به باکتری‌های *X. citri* و *E. Faecalis* با ۳۰۰ و ۷۰۰ میکروگرم در میلی لیتر تعلق داشت و در رابطه

DOR: 20.1001.1.23832592.1400.34.1.19.6

با مقادیر MBC نیز باکتری *X. citri* با ۴۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و باکتری *E. coli* با ۸۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین حساسیت را نسبت به عصاره برگ و میوه گیاه توت طلایی نشان دادند. همانند آزمون انتشار دیسک، استفاده از مخلوط عصاره برگ و میوه اثر معنی‌دار بر روی مهار رشد یا کشندگی باکتری‌های مورد مطالعه نداشت (جداول ۱و۲).

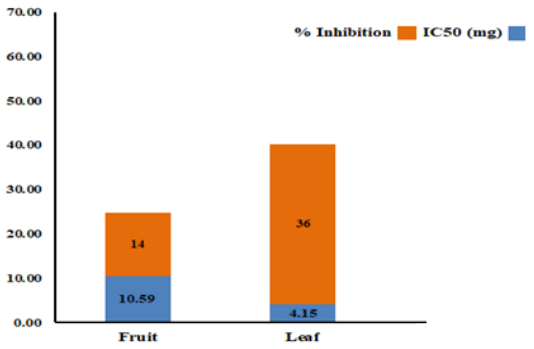
فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه و برگ: نتایج نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ نسبت به عصاره میوه بیش‌تر است. به طوریکه عصاره برگ با ۳۶ درصد و عصاره میوه با ۱۴ درصد توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH را داشتند. براساس محاسبات انجام شده، غلظت مهار ۵۰ درصد برای میوه ۱۰/۵۹ میلی‌گرم و برای برگ ۴/۱۵ میلی‌گرم به دست آمد که نشان دهنده خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تر برگ نسبت میوه می‌باشد (نمودار ۲).

جدول ۱- مقادیر حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) باکتری‌های مختلف با استفاده از عصاره برگ، میوه و ترکیب عصاره برگ و میوه گیاه توت طلایی (مقادیر بر حسب میکروگرم می‌باشند).

عصاره گیاهی	باکتری‌های مورد مطالعه				
	E. faecalis	*E. coli*	*X. citri*	*E. amylovora*	*aureus S.*
برگ	۷۰۰	۷۰۰	۳۵۰	۵۰۰	۶۰۰
میوه	۵۵۰	۶۰۰	۳۰۰	۴۰۰	۶۵۰
مخلوط برگ و میوه	۶۵۰	۷۰۰	۳۰۰	۶۰۰	۶۰۰

جدول ۲- مقادیر حداقل غلظت کشندگی باکتری‌های (MBC) مختلف با استفاده از عصاره برگ، میوه و ترکیب عصاره برگ و میوه گیاه توت طلایی (مقادیر بر حسب میکروگرم می‌باشند).

عصاره گیاهی	باکتری‌های مورد مطالعه				
	E. faecalis	*E. coli*	*X. citri*	*E. amylovora*	*aureus S.*
برگ	۸۵۰	۸۵۰	۵۰۰	۸۰۰	۸۵۰
میوه	۸۰۰	۸۵۰	۴۵۰	۷۵۰	۸۵۰
مخلوط برگ و میوه	۸۵۰	۸۵۰	۴۵۰	۸۰۰	۸۰۰



نمودار ۲- مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه و برگ گیاه توت طلایی

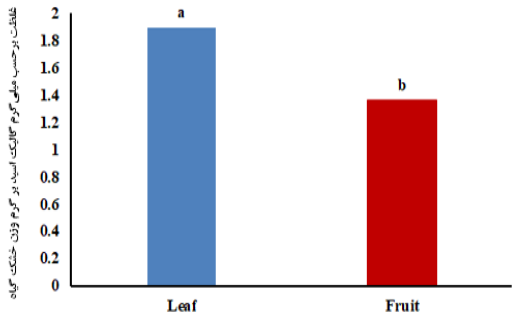
میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصاره: آزمون تعیین محتوی فنلی عصاره برگ و میوه نشان داد که هر گرم عصاره خشک شده برگ و میوه به ترتیب حاوی ۱/۸ و ۱/۳ میلی‌گرم ترکیبات فنلی بودند که میزان ترکیبات فنلی موجود در برگ بیشتر از میوه بود ضمن اینکه اختلاف بین آنها در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (نمودار۳). همچنین ترکیبات فلاونوییدی برای میوه ۰/۳۹ و برای برگ ۰/۶ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک عصاره برآورد گردید (نمودار۴). اعداد به دست آمده برای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در میوه و برگ گیاه دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بودند.

بحث و نتیجه گیری

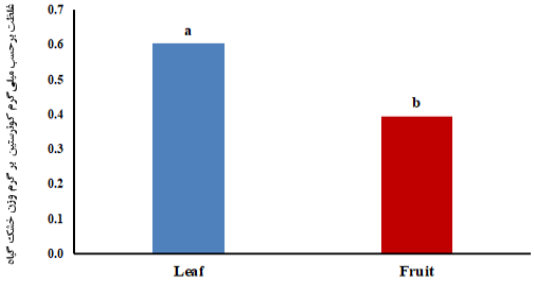
براساس نتایج به‌دست آمده میزان ترکیبات فنلی و

DOR: 20.1001.1.23832592.1400.34.1.19.6

فلاونوئیدی عصاره برگ گیاه دارویی توت طلایی بیش تر از محتوی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی برگ بود و نتایج به دست آمده بیانگر رابطه مستقیم خاصیت آنتی اکسیدانی بالاتر عصاره برگ نسبت به عصاره میوه می‌باشد.



نمودار۳- میزان ترکیبات فنلی در میوه و برگ گیاه دارویی توت طلایی. ستون‌ها با حروف مشترک در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیستند.



نمودار۴- میزان ترکیبات فلاونوئیدی در میوه و برگ گیاه دارویی توت طلایی. ستون‌ها با حروف مشترک در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیستند.

در مطالعه ارتوک و همکاران (۲۰۱۷) (۱۳) میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی میوه توت طلایی بیش‌تر از برگ گزارش شده که دلیل این تفاوت را می‌توان به تفاوت در عوامل اندازه‌گیری نظیر حلال‌ها و روش اندازه‌گیری متفاوت در این مطالعه مربوط دانست (۸). علاوه بر این تفاوت در زمان برداشت نمونه‌های گیاهی، رسیدگی و شرایط اقلیمی رشد نمونه‌های گیاهی، در تفاوت میزان ترکیبات بیوشیمیایی نظیر فنل‌ها و فلاونوئیدها بسیار موثر است (۱۱).

اندام‌های فتوسنتز کننده فعال نظیر برگ‌ها به دلیل نزدیکی به محل ساخت متابولیت‌های اولیه، نسبت به سایر اندام‌های گیاهی، محتوای متابولیت‌های ثانویه غنی دارند. ساختارهای سلولی نظیر کلروپلاست‌ها به منظور حفاظت در برابر اثرات مضر اشعه ماورا بنفش، دارای غلظت بالایی از ترکیبات فنلی هستند (۲۲). علاوه براین باتوجه به خاصیت آنتی اکسیدانی متابولیت‌های ثانویه نظیر فنل‌ها، از این مواد می‌توان به عنوان عامل احیا کننده در جذب و خنثی سازی رادیکال های آزاد استفاده نمود که نقش اصلی آن‌ها عمدتاً به واسطه خاصیت دهیدروژنازی آن‌ها می‌باشد (۱۰و ۲۵). نتایج به طور کلی بیانگر خاصیت ضد میکروبی بالاتر عصاره میوه نسبت به عصاره برگ بود که با نتایج ارائه شده توسط ارتوک و همکاران (۲۰۱۷) (۱۳) مطابقت دارد. خاصیت ضد میکروبی عصاره گیاه توت طلایی را علاوه بر وجود متابولیت‌های ثانویه می‌توان به سایر ترکیبات عالی نظیر ویتامین‌های مختلف نظیر A، B، و C و همچنین ترکیبات بیوشیمیایی پیچیده‌تر نسبت داد (۳۳). احمدی و همکاران (۱۳۹۵) (۱) در مطالعه خود بیان کردند که علی‌رغم تأثیر مثبت ترکیبات فنلی در خاصیت ضد میکروبی برخی از عصاره‌های گیاهی همبستگی مثبت و معنی‌دار بین افزایش محتوای فنلی و خاصیت ضد میکروبی وجود ندارد.

عصاره آبی میوه و برگ علیه باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی اثر کشندگی معنی‌دار نشان داد که می‌توان از این ویژگی در تولید سموم بیوشیمیایی علیه پاتوژن‌های گیاهی استفاده نمود. استفاده از سموم ارگانیک بر پایه گیاه، علاوه بر سازگاری بالاتر با میزبان‌های گیاهی، از آلودگی محیط زیست جلوگیری نموده و امنیت غذایی و سلامت انسان را بهبود خواهد بخشید (۱۹). استفاده روزافزون از سموم شیمیایی در کشاورزی سبب شده که علاوه بر مقاومت‌های پاتوژنی در گیاهان به مصرف این سموم، در انتقال این مقاومت به باکتری‌های بیماری زای جانور نیز موثر باشد

DOR: 20.1001.1.23832592.1400.34.1.19.6

(۱۳). بر همین اساس ضروری است که جایگزین مناسبی برای این گروه از سموم انتخاب گردد.

براساس نتایج به دست آمده به طورکلی استفاده از ترکیب عصاره میوه و برگ گیاه توت طلایی نسبت به استفاده جداگانه از هریک از عصاره‌ها هم افزایی معنی داری نشان نداد. علت این موضوع را می‌توان به ترکیب مواد سازنده عصاره‌ها و اثرات آن‌ها مربوط دانست (۲۷). نتایج مشابه نیز در پژوهشی که موسایی و آلایی (۲۰۱۶) انجام دادند مشاهده گردید، اثرات ضدمیکروبی مخلوط روغن‌های ضروری چند عصاره گیاهی و آنتی‌بیوتیک را بررسی کردند که در بعضی موارد به علت ترکیبات سازنده مواد مخلوط شده اثر سینرژیک دیده نشد (۲۶). طبق پژوهش چشمی و رضایی خواص آنتی‌اکسیدانی گلبرگ گیاه داتوره مرتبط با آلکالوئیدها، فلاونوئیدها و تانن‌های موجود در گیاه می‌باشد (۲).

آنتی‌بیوتیک‌ها ترکیبات شیمیایی با ارزشی هستند که می‌توانند در درمان بسیاری از بیماریهای انسانی مورد استفاده قرارگیرند، با این حال استفاده بیش از حد این داروها مقاومت‌های میکروبی را در پی خواهد داشت. برخی از باکتری‌های بیماری‌زا به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌های موجود مقاومت نشان می‌دهند. بکائیان و همکاران (۱۳۹۴) در مطالعه خود بیان نمودند که باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس به ۸ گروه مختلف آنتی‌بیوتیکی مقاومت نسبتاً بالائی نشان می‌دهد به طوریکه این مقاومت بیش از ۸۰ درصد برای دو آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین و اریترومایسین بود. با این وجود عصاره گیاه داروئی سیر اثر مهار کنندگی بسیار معنی‌داری بر روی این رشد این باکتری نشان داد. براساس نتایج به دست آمده توسط این محققین، بیان شد که از عصاره گیاه سیر می‌توان به عنوان یک داروی ضدمیکروبی به خصوص برای درمان بیماری‌های ناشی از باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* استفاده نمود (۴).

امینیان و همکاران (۱۳۹۷) در مطالعه‌ای به بررسی اثرات ضد میکروبی دو گیاه داروئی بارهنگ و ناخنک بر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی پرداختند. نتایج مطالعه آنها به طور کلی نشان داد که اثر ضد میکروبی عصاره گیاهان داروئی مورد استفاده بر روی باکتری‌های مختلف، تفاوت معنی‌داری نشان می‌دهد ضمن اینکه مقدار مهار کنندگی عصاره نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده چندان قابل توجه نبود. باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت مقاومت بالاتری نشان دادند که این موضوع را می‌توان به دلیل سیستم مقاومت متفاوت در این دو گروه باکتری یا ناشی از وجود متابولیت‌های سمی برای باکتری‌های گرم منفی در عصاره گیاهان داروئی مورد استفاده دانست (۳).

مطابق نتایج محققان با وجود بیش‌تر بودن ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در برگ گیاه داتوره خواص آنتی‌اکسیدانی ریشه بیشتر بود. غلظت‌های PPM ۱۰۰۰ و ۷۵۰ از عصاره برگ بیش‌ترین خواص آنتی‌اکسیدانی ۳۷/۵ درصد و ۴۳/۰۹ درصد را نشان دادند و غلظت‌های PPM ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ به‌ترتیب دارای خواص آنتی‌اکسیدانی۴۲/۶۵ درصد، ۴۷/۵۸ درصد، ۵۰/۸۸ درصد در برگ بودند (۲۱). در مطالعه مشابه‌ای خواص آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی تعدادی از گیاهان داروئی از جنسهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت. عصاره متانولی برگ گیاهان مورد مطالعه و گلیکوآلکالوئیدهای استروئیدی مستخرج از آنها حساسیت‌های مختلفی را علیه باکتری‌های گرم مثبت وگرم منفی نشان دادند (۹).

نتایج پژوهش طالعی و همکاران (۱۳۸۳) نشان داد آلکالوئیدهای مستخرج از عروسک پشت پرده *P. alkekengi* دارای اثر باکتریواستاتیک و باکتریوسیدال بر علیه باکتری‌های *B. cerrous* و *E. coli* بودند (۵). در پژوهش هوشنی و همکاران (۱۳۹۱) فعالیت آنتی اکسیدانی برگ، غلاف گل، میوه سبز و نارنجی عروسک پشت پرده

DOR: 20.1001.1.23832592.1400.34.1.19.6

در طی مراحل مختلف رویش بررسی شد. میزان فنل و فلاونوئید کل آن‌ها اندازه گیری گردید. طبق نتایج میزان فنل فلاونوئید و قدرت احیا کنندگی آهن در برگ بیش‌تر از سایر بخش‌ها بود و بیش‌ترین فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH و مهارکنندگی اکسیداسیون اسید چرب در میوه نارنجی به دست آمد (۷).

نتایج مطالعه حاضر به طور کلی بیان کننده اثرات آنتی اکسیدانی معنی‌دار عصاره آبی گیاه داروئی توت طلائی بود. علاوه براین اثرات ضد میکروبی عصاره این گیاه بر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی جانوری و گیاهی نیز مشاهده شد. باتوجه به مطالب ارائه شده می‌توان از گیاه توت طلائی در مصارف کشاورزی و پزشکی استفاده نمود.

منابع

۱- احمدی، ا.، عبداللهی، ع.، نجفی پور، س.، مشکی باف، م.، فصیحی رامندی، م.، نامدار، ن.، عبداللهی خیرآبادی، س.، موسوی، م.، سمیع زاده، ب.، و الهوردی، ق.، ۱۳۹۵. بررسی تأثیر ترکیبات فنلی بر فعالیت ضدباکتریایی عصاره گیاهان دارویی، ارزیابی *in vitro* گیاهان دارویی شهرستان فسا–فارس، مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا، سال ششم، شماره۲، صفحات ۲۲۰–۲۱۰.

۲- امینیان، ر.، مردانی، م.، و داودنیا، ب.، ۱۳۹۷. بررسی اثر ضد باکتری عصاره هیدروالکلی بارهنگ کبیر (*Plantago major* L.) و ناخنک (*Astragalus hamosus*) بر تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، مجله پژوهش‌های گیاهی، جلد ۳۱، شماره ۳، صفحات ۹۶۷–۹۵۶.

۳- بکائیان، م.، فرازمند، ر.، کی‌قبادی، س.، و سعیدی، س.، ۱۳۹۴. بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره اتانولی سیر (*Allium sativum*) بر سویه‌های مختلف *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به آنتی بیوتیک مختلف، مجله پژوهش‌های گیاهی، جلد ۲۸، شماره ۱، صفحات ۴۱–۳۴.

۴- چشمی، ح.، و رضایی سرشت، ج.، ۱۳۹۴. مطالعه خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره گلبرگ داتوره تماشایی آنتی اکسیدانی نوین با منشأ طبیعی در صنایع غذایی، علوم تغذیه و تغذیه، شماره ۱۴ صفحات ۳۶–۲۹.

۵- طالعی، غ.، مشکوه السادات، م.، و دلفان، ب.، ۱۳۸۳. اثر آنتی باکتریال استروئیدهای نیشکر، شوکران و عروسک پشت پرده بر روی تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، فصلنامه دانشگاه علوم پزشکی لرستان، شماره ۲۱ صفحات ۳–۸.

۶- محمدی، ف.، تبرایی، ب.، داوودیان، ل.، ملکی، ع.، ملک نیا، ش.، صادقی فرد، و.، نجاتی، م، و تبرایی، ت.، ۱۳۹۰. بررسی فراوانی مقاومت دارویی ایزوله های انتروکوک فکالیس و انتروکوک فاسیوم و شناسایی ژن VanA/B در میان سویه های مقاوم به ونکومایسین با روش PCR در بیمارستان‌های ایلام و کرمانشاه، مجله میکروب شناسی پزشکی ایران، شماره، ۵ صفحات ۱۴–۱۸.

۷- هوشنی، م.، میان آبادی، م.، اقدسی، م.، و عظیم حسینی، م.، ۱۳۹۱. بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی گیاه عروسک پشت پرده در طی مراحل مختلف رویش، شماره ۱۴، صفحات ۱۱۲–۱۰۱.

8- Ahmed, N., and Zawawy, E., 2015. Antioxidant, Antitumor, Antimicrobial Studies and Quantitative Phytochemical Estimation of Ethanolic Extracts of Selected Fruit Peels. *International Journal of Current Microbiology Applied Science*, 4(5), PP: 298–309.

9- Almoulah, N. F., Voynikov, Y., Gevrenova, R., Schohn, H., Tzanova, T., Yagi, S., and Laurain-mattar, D., 2017. South African Journal of Botany Antibacterial , antiproliferative and antioxidant activity of leaf extracts of selected Solanaceae species. *South African Journal of Botany*, 112, PP: 368–374.

10- Bouyahya, B., Moussaoui, N., Abrini, J., and Bakri, Y., 2016. Determination of Phenolic Contents, Antioxidant and Antibacterial Activities of Strawberry Tree (*Arbutus Unedo L.*) Leaf Extracts. *British Biotechnology Journal*, 14(3), PP: 1–10.

11- Bravo, K., Sepulveda-Ortega, S., Lara-Guzman, O., Navas-Arboleda, A. A., and Osorio, E., 2015. "Influence of Cultivar and Ripening Time on Bioactive Compounds and Antioxidant Properties in Cape Gooseberry (*Physalis Peruviana* L.), *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(7), PP: 1562–69.

12- Chang, Q., Wang, W., Regev-Yochay, G., Lipsitch, M., and Hanage, W. P., 2015. Antibiotics in agriculture and the risk to human health: How worried should we be? Evolutionary Applications, 8(3), PP: 240–247.

13- Damm, C., Münstedt, H., and Rösch, A., 2008.

DOR: 20.1001.1.23832592.1400.34.1.19.6

The antimicrobial efficacy of polyamide 6/silver-nano- and microcomposites. *Materials Chemistry and Physics*, 108(1), PP: 61–66.

14- DeSouza. V. R., Pereira, P. A., daSilva, T. L., deOliveira Lima, L. C., Pio, R., and Queiroz, F., 2014. Determination of the Bioactive Compounds, Antioxidant Activity and Chemical Composition of Brazilian Blackberry, Red Raspberry, Strawberry, Blueberry and Sweet Cherry Fruits, *Food Chemis*try, 156, PP: 362–68.

15- Ertürk, Ö., Çol Ayvaz, M., Can, Z., Karaman, Ü., and Korkmaz, K., 2017. Antioxidant, antimicrobial activities and phenolic and chemical contents of Physalis peruviana L. from Trabzon, Turkey. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research.*

16- Farhadi, Khalil et al. 2016. "Determination of Phenolic Compounds Content and Antioxidant Activity in skin, pulp, seed, cane and leaf of five native Grape Cultivars in West Azerbaijan Province, Iran, *Food Chemistry*, 199, PP: 847–55.

17- Gautam, S. K., Dwivedi, D. H., and Kumar, P., 2015. Preliminary studies on the bioactive phytochemicals in extract of Cape gooseberry (*Physalis Peruviana* L .) fruits and their Products. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, PP: 93–95.

18- Gothwal, R., and Shashidhar, T., 2015. Antibiotic Pollution in the Environment: A Review, *Clean - Soil, Air, Water*, 43(4), PP: 479–489.

19- Gottig, N., Garavaglia, B. S., Daurelio, L. D., Valentine, A., Gehring, C., Orellano, E. G., and Ottado, J., 2008. *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* uses a plant natriuretic peptide-like protein to modify host homeostasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(47), PP: 18631–18636.

20- Islam, M. A., Alam, J., Urmee, S. A., Rahaman, M. H., and Razu, M. H., 2014. Isolation, identification, In Vitro Antibiotic Resistance and Plant Extract Sensitivity of Fire blight Causing Erwinia amylovora, *Plant Pathology and Microbiology*, 5(3), PP: 3–6.

21- Javid, M., Aziz, A., Azhar, M. F., Qayyum, A., Javid, M., Aziz, A., and Qayyum, A., 2018. *Composition of Leaves and Roots Extracts of Datura alba.*

22- Jena, P., Mohanty, S., Mallick, R., Jacob, B., and Sonawane, A., 2012. Toxicity and antibacterial assessment of chitosancoated silver nanoparticles on human pathogens and macrophage cells. *International Journal of Nanomedici*ne, 7, PP: 1805–1818.

23- Jouda, M. M., 2013. The Antibacterial Effect of Some Medicinal Plant Extracts and their Synergistic Effect with Antibiotic and Non-antibiotic Drugs. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(2), PP: 23-33.

24- Mahmoudi, S., Khali, M., Benkhaled, A., Benamirouche, K., and Baiti, I., 2016. Phenolic and flavonoid contents, antioxidant and antimicrobial activities of leaf extracts from ten Algerian Ficus carica L, varieties. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6:(3), PP: 239–245.

25- Mokrani, A., and Madani, k., 2016. separation and purification technology Effect of Solvent, Time and Temperature on the Extraction of Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Peach (*Prunus Persica* L.) Fruit. Elsevier B.V.

26- Moussaoui, F., and Alaoui, T., 2016. Evaluation of antibacterial activity and synergistic effect between antibiotic and the essential oils of some medicinal plants. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(1), PP: 32–37.

27- Patra, J., Das, G., Kumar, A., Ansari, A., Kim, H., and Shin, H., 2018. In Press. Photo-mediated Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using the Non-edible Accrescent Fruiting Calyx of Physalis peruviana L. Fruits and Investigation of its Radical Scavenging Potential and Cytotoxicity Activities, Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. Elsevier B.V.

28- Palmieri, A. C. B., Amaral, A. M., Homem, R. A., and Machado, M. A., 2010. Differential expression of pathogenicity and virulence-related genes of *Xanthomonas axonopodis* pv. citri under copper stress. G*enetics and Molecular Biology*, 33(2), PP: 348–353.

29- Ramadan, M., El-Ghorab, A., and Ghanem, K., 2015. Volatile compounds, antioxidants, and anticancer activities of cape gooseberry fruit (*Physalis peruviana* L.): An *in-vitro* study. *Journal of The Arab Society for Medical Research*, PP: 1687-4293.

30- Rodrigues, E., Rockenbach, I., Cataneo, C., Gonzaga, L., Chaves, S., and Fett, R., 2009. Minerals and essential fatty acids of the exotic fruit *Physalis Peruviana* L. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 29(3), PP: 642–45.

31- Saravanakumar, A., Peng, M. M., Ganesh, M.,

DOR: 20.1001.1.23832592.1400.34.1.19.6

Jayaprakash, J., Mohankumar, M., and Jang, H. T., 2017. Low-cost and eco-friendly green synthesis of silver nanoparticles using prunus japonica (Rosaceae) leaf extract and their antibacterial, antioxidant properties. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, 45(6), PP: 1165–1171.

32- Savithramma, N., and Rao, M., 2011. Screening of medicinal plants for secondary metabolites. *Middle-East Journal of Scientific*, 8(3), PP: 579–584.

33- Sharma, N., Bano, A., Dhaliwal, S. H., and Sharma, V., 2015. Prespectives and possibilities of Indian species of genus (*Physalis* L.) a comprehensive review. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, 2(2), PP: 326-353.

34- Singh, R., Sripada, L., and Singh, R., 2014. Side effects of antibiotics during bacterial infection: Mitochondria, the main target in host cell. *Mitochondrion*, 16, PP: 50–54.

DOR: 20.1001.1.23832592.1400.34.1.19.6

The study of antibacterial and antioxidant effects and determination of phenolic and flavonoid contents of *Physalis peruviana* L.

Doosti B.,[1] Samiei K.[2] and Zeynvand A.[1]

[1] **Faculty of Biology, Khorramabad branch, Islamic Azad University Khorramabad, I.R. of Iran.**

[2] **Faculty of agriculture, Kangavar branch, Islamic Azad University Kangavar, I.R. of Iran.**

Abstract

Due to the prevalence and increase of antibiotic resistance and the increase in the production of free radicals and their diseases, the discovery of new antimicrobial and antioxidant compounds seems necessary. The aim of the present study was to investigate the antibacterial properties of *P. peruviana* leaf and fruit extracts on plant and animal pathogenic bacteria and also to investigate the antioxidant properties and to determine the phenolic and flavonoid contents of this medicinal plant. *P. peruviana* antioxidant activity was determined using free radical scavenging test by DPPH assay and its antibacterial effects on three animal and two plant bacteria were investigated by disk diffusion method. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) for each extract were determined by microdilution method. The phenolic compounds of the fruits and leaves were measured by folin-ciocalteau reagents and the flavonoid compounds were evaluated by aluminum chloride assay. According to the results, antibacterial effect of fruit extract was more than leaf extract but the antibacterial effect of fruit and leaf extract composition was not significantly different from the mean antibacterial effect of leaf extract and fruit extract alone. The results showed that leaf antioxidant, phenolic and flavonoid compounds were higher than fruit. In general, the results showed that leaf and fruit extract have significant antibacterial and antioxidant effects, while higher leaf antioxidant properties were probably due to higher levels of phenolic and flavonoid compounds and better antibacterial properties of fruit due to other metabolites.

Key words: Antioxidant, Antibacterial, *Physalis peruviana* L., Phenol, Flavonoid