

ارزیابی ترکیبات شیمیایی و اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه پنجه‌برگ راست (*Potentilla recta*)

حجت آزاد^۱، تورج مهدی زاده^{۲*}

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران.

۲. گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه.

* نویسنده مسئول: t.mehdizadeh@urmia.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۴/۰۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۱/۳۱

چکیده

گیاهان دارویی علاوه بر ماده موثر اصلی، دارای موادی با اثر درمانی هستند که ضمن تشدید اثر درمانی گیاه در بسیاری از موارد می‌توانند از سمیت و اثرات ناخواسته آن نیز جلوگیری نمایند. در این مطالعه برای اولین بار سه نوع مختلف عصاره گیاه پنجه‌برگ راست (*Potentilla recta*)، از گیاهان دارویی بومی ایران و منطقه آذربایجان از نظر ترکیبات شیمیایی تشکیل‌دهنده، قدرت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی مورد مطالعه قرار گرفت. پس از جمع‌آوری گیاه و تهیه عصاره‌های اتانولی، متانولی و اتیل استاتی، از روش کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی برای شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده عصاره‌ها استفاده شد. برای اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی روش ربایش رادیکال آزاد DPPH استفاده و نتایج بر اساس اندیس IC₅₀ گزارش شد. روش چاهک برای اندازه‌گیری قدرت ضد میکروبی و روش برات میکرودیالوژن نیز برای تعیین MIC و MBC به کار رفت. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و روش مقایسه میانگین دانکن با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 16.0 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج اثرات ضد میکروبی عصاره‌های مورد استفاده در تحقیق نشان داد که عصاره متانولی موجب افزایش معنی‌داری در مساحت هاله بازدارندگی رشد میکروبی در محیط کشت می‌شود به طوری که بیشترین تأثیر بر روی باکتری لیستریا مونوسیتوزنز مشاهده شد ($p < 0.05$). تمامی عصاره‌های تهیه شده دارای توانایی رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل بودند و بالاترین قدرت آنتی‌اکسیدانی پس از گذشت ۳۰ دقیقه به عصاره متانولی متعلق بود. بیشترین ترکیبات شیمیایی در عصاره‌های متانولی، اتانولی و اتیل استاتی را به ترتیب: متیل لینولئات، اتیل لینولئات و پنتاکوزان را تشکیل دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره‌ی متانولی گیاه پنجه‌برگ راست دارای خواص ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی بالاتری در مقایسه با سایرین بوده و می‌تواند با تحقیقات بیشتر کاربردهای مختلفی داشته باشد.

کلمات کلیدی: آنتی‌اکسیدان، ضدباکتریایی، استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا مونوسیتوزنز، اشریشیا کلی، پنجه‌برگ راست.

مقدمه

عنوان یک روش مکمل مناسب برای کنترل میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا می‌تواند مطرح باشند. با ظهور عوامل بیماری‌زای مقاوم به دارو به خصوص در کشورهای در حال توسعه، مطالعه در مورد توسعه کاربرد مواد طبیعی غیر سمی لازم به نظر می‌رسد، Chandra (2013). از طرفی با توجه به نگرانی مصرف‌کنندگان و متولیان بهداشتی در رابطه با استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی و مضرات آن‌ها، در سال‌های اخیر گرایش به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی به‌ویژه اسانس گیاهان و ادویه‌ها و شناسایی ترکیبات آن‌ها افزایش یافته و نتایج مثبتی را در غلبه بر پاتوژن‌های غذایی و جلوگیری از

در بسیاری از نقاط دنیا ترکیبات گیاهی به‌منظور درمان برخی بیماری‌ها به‌خصوص بیماری‌های عفونی، اسهال، تب، سرماخوردگی و بهداشت دهان و دندان استفاده می‌شوند. خواص ضد میکروبی گیاهان از زمان‌های قدیم مورد توجه بوده و گذشتگان بدون اطلاع از وجود میکروپها و تنها از طریق تجربه‌های بالینی از این گیاهان در درمان بیماری‌های عفونی استفاده می‌کردند. مواد گیاهی طبیعی سنتی می‌توانند به‌عنوان عوامل ضد میکروبی در درمان عفونت‌ها و یا به‌عنوان نگهدارنده مواد غذایی به‌کاربرده شوند (Palombo and Semple, 2002; Newton, et al., 2002). استفاده از مواد گیاهی به

خاصی از سرطان، عفونت ناشی از باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها، اسهال، دیابت و دیگر بیماری‌ها استفاده شده است. بررسی‌های جامع گیاه‌شناسی این گونه نشانگر آن است که گیاه ترکیبات فیتوشیمیایی خود را در بخش‌های هوایی و زیرزمینی تجمع می‌کند (Tomczyk and Peter Latté, 2009). گونه‌های پوتنتیلا برای مدت‌زمان گسترده‌ای به‌عنوان گیاهان دارویی محلی و دمنوش برای درمان اسهال، هیپاتیت و گال استفاده شده است (Wang et al., 2013). در مطالعات اندک بر روی سمیت بالقوه گونه‌ها و عصاره‌های آن، هیچ نشانه‌ای دال بر مسمومیت حاد یافت نشده است (Lund and Rimpler, 1985). در سال ۲۰۱۰ و در طی مطالعات فارماکولوژیک مشخص شد که به‌طور کلی عصاره‌های بخش‌های هوایی و یا قطعات زیرزمینی پوتنتیلا برای درمان التهاب انواع خاصی از سرطان، عفونت‌های ویروسی و میکروبی، کولیت، بیماری قند خون، اسپاسم و کبد موثر می‌باشد (Tomczyk et al., 2010). در مطالعه‌ای که وانگ و همکاران (۲۰۱۳) بر روی سه گونه پوتنتیلا انجام دادند مشخص شد که در میان گونه‌ها از نظر محتوای فتوکمیکال تفاوت معنی‌داری می‌تواند وجود داشته باشد. همچنین از نظر خاصیت آنتی‌اکسیدانی پوتنتیلا فروتیکوزا^۵ دارای بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی است (Wang et al., 2013). در مطالعات لی و همکاران (۲۰۰۳) تری تریپو نوئیدها شامل اسید پالمولیک و اسید اورسولیک در این گونه شناسایی شده‌اند (Li et al., 2003). نتایج حاصل از مطالعات وانگ و همکاران (۲۰۱۳) بر روی عصاره سه گونه پوتنتیلا نشان داد که این گیاه می‌تواند به‌عنوان مکمل مفید برای محصولات دارویی و یک آنتی‌اکسیدان جدید ضد میکروب عمل نماید (Wang, 2013). باژیلکو و همکاران (۲۰۱۳) در طی مطالعه‌ای مشخص کردند که عصاره پنجه‌برگ راست دارای فعالیتی قوی علیه آب‌اکسیژنه و ممانعت از فعالیت آنزیمی لیبوکسیداز و به‌خصوص هیالورونیداز است

اکسیداسیون به همراه داشته است (Burt, 2004). اهمیت این ترکیبات از آن نظر است که علاوه بر ماده مؤثر اصلی، دارای موادی با ویژگی‌های درمانی هستند که ضمن تشدید اثر درمانی گیاه در بسیاری از موارد می‌توانند از سمیت و عوارض ناخواسته آن نیز جلوگیری نمایند. همچنین طبیعی بودن و پایین بودن عوارض نامطلوب در مقایسه با داروهای شیمیایی، موجب استفاده روزافزون از این ترکیبات شده است (Atanasov et al., 2015). جنس پوتنتیلا^۱ شامل گروه پیچیده‌ای است که بالغ بر ۳۰۰ گونه را شامل می‌شود که به‌طور عمده در مناطق معتدل نیم‌کره شمالی توزیع شده‌اند (Guillén, 2005). گیاه پنجه‌برگ راست^۲ جزء تیره گل سرخ^۳ زیر تیره روزسیده^۴ و جنس پوتنتیلا می‌باشد. این گیاه، گیاهی است چندساله، افراشته یا گسترده ساقه گل‌دهنده به ارتفاع ۱۰ تا ۷۰ سانتی‌متر، سطح فوقانی و تحتانی برگ پوشیده از کرک، گل‌ها به قطر ۱۵ تا ۲۵ میلی‌متر. کاسبرگ‌ها فرعی خطی-نیزه‌ای، مساوی یا کمی کوتاه‌تر از کاسبرگ‌ها، گلبرگ‌ها زرد، فصل گلدهی این گیاه نیز بهار می‌باشد (Khatamsaz, 2003). این گیاه، گیاهی بسیار تهاجمی است که در انواع زیستگاه‌ها یافت می‌شود و توسط نوع خاک محدود نمی‌شود. به‌طور فراوانی ارزش علوفه مراتع و چراگاه‌ها را کاهش می‌دهد و در مناطق سایه و خاک‌های مرطوب گسترش زیادی دارد. این گیاه به‌عنوان علف هرز شناخته می‌شود و می‌تواند به‌تنهایی تا ۲۰ سال در خاک زندگی کند. گیاه بومی منطقه مدیترانه شرقی اوراسیا است و در آسیای غربی و میانه، و از جنوب تا آسیای صغیر و شمال ایران و در کوه‌های شمال آفریقا یافت شده و اغلب به‌طور مداوم در مناطق وسیعی از کنار جاده‌ها و زمین‌های بایر گسترده است (Wang et al., 2013). خواص درمانی جنس پوتنتیلا از گذشته‌ها آشکار بوده و در طب سنتی برای درمان التهاب، زخم، انواع

1. Potentilla
2. Potentilla recta
3. Rosaceae
4. Rosicdeae

متصل به طیف‌سنج جرمی^۵ پژوهشگاه زیست‌فناوری دانشگاه ارومیه استفاده شد (Li et al., 2006).

آماده سازی سوسپانسیون باکتری‌ها سوبه‌های باکتریایی مورد استفاده در این تحقیق شامل *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC29923) *لیستریامنوسایتوژنز* (ATCC19115) *اشریشیاکلی* (PTCC1533) موجود در گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه بود. به‌منظور دستیابی به کشت تازه و فعال از میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه، از محیط کشت ذخیره مورد نظر دو بار به‌طور متوالی با استفاده از سمپلر به لوله‌های در پیچ‌دار استریل حاوی محیط کشت برین هارت اینفوزون برات منتقل و در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. سپس از کشت‌های ۱۸ ساعته دوم، مقادیر مختلف به کووت‌های یکبار مصرف منتقل و جذب نوری با استفاده از اسپکتروفوتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر تعیین شد تا سوسپانسیون باکتری معادل نیم مک فارلند تهیه شود. برای تأیید تعداد باکتری‌ها با کشت پورپلیت مشخص شد.

روش انتشار چاهک^۶

اندازه گیری قدرت ضدباکتریایی عصاره‌ها بر اساس روش چاهک انجام شد. بدین منظور پس از تهیه سوسپانسیون میکروبی از محیط برات مغذی، نمونه باکتری بر روی محیط برین هارت اینفوزون برات (BHI) کشت داده شد و سپس چاهک‌هایی با استفاده از پانچ استریل ایجاد شد که هر یک با ۲۰ میکرولیتر محلول نمونه عصاره‌ی حل شده در حلال دی متیل سولفوکساید تلقیح شدند. همچنین یک چاهک حاوی حلال دی متیل سولفوکساید نیز به‌عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شده و پس از ۲۴ ساعت هاله‌های شفاف عدم رشد در اطراف چاهک‌ها (

و در درمان التهاب پوست تا حدودی مفید می‌باشد (Bazylo et al., 2013). در بررسی کورکوران و همکاران (۲۰۱۲) نیز نتایج فعالیت ضد میکروبی پونتیلاریپتانس^۱ در برابر عوامل بیماری‌زا اثبات شده است که نشانگر مؤثر بودن آن برای درمان زخم و عفونت‌های باکتریایی است (Corcoran et al., 2012). از آنجا که هیچ مطالعه‌ای در ارتباط با بررسی اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانته عصاره‌های مختلف پنجه برگ راست در ایران صورت نگرفته است لذا این تحقیق با این هدف انجام پذیرفت.

مواد و روش کار

تهیه عصاره‌ها

گیاه پنجه برگ راست در اواخر اردیبهشت ماه از مراتع دره قاسملوی ارومیه جمع‌آوری شد و پس از تأیید نام علمی آن توسط محققین گیاه‌شناسی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی به شماره ۹۵۲۷ در هرباریوم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی به ثبت رسید. جهت تهیه عصاره‌ها در این تحقیق از روش مسریشن^۲ به دلیل جلوگیری از آسیب مواد موجود در عصاره‌های تهیه شده استفاده شد. پس از خشک نمودن برگ‌های گیاه در سایه، توسط آسیاب اقدام به تهیه پودر گیاه شده و از الک با اندازه ۴۰ مش^۳ عبور داده شد، سپس ۲۵۰ گرم از پودر در یک لیتر حلال خالص (شرکت مرک آلمان) حل شده و به مدت ۶ ساعت در روتاری شیکر با دور ۱۵۰ قرار داده شد، بعد از انجام این مرحله از کاغذ واتمن^۴ شماره ۴۱ عبور داده شد. سپس در تبخیرکننده با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد برای حذف حداقل ۹۰ درصد حلال قرار داده شد و در نهایت برای تغلیظ نهایی در دسیکاتور خلأ قرار داده شد و تا زمان استفاده در شیشه‌های عایق نور و هوا در دمای یخچال نگهداری شد. جهت شناسایی ترکیبات شیمیایی تشکیل‌دهنده عصاره‌ها از دستگاه کروماتوگرافی

5. Gas chromatography- Mass Spectrometers (ThermoFinnigan, USA) coupled with mass spectrometry (TRACE 2000/EI quadrupole)
6. Well Diffusion

1. *P. reptans*
2. Maceration
3. Mesh
4. Whatman

الکترون توسط ترکیب‌های شیمیایی و عصاره‌های مختلف از روی میزان بی‌رنگ کردن محلول بنفش دیفنیل پیکریل هیدرازیل در متانول سنجیده می‌شود. با استفاده از ترازوی با دقت ده‌هزارم گرم، از هر کدام از عصاره‌ها ۰/۱ گرم توزین و در دی متیل سولفوکساید (مرک آلمان)^۲ ۵ درصد حل شده و بعد از عبور از فیلترهای سرنگی ۰/۴۵ میکرومتر استریل و درلوله‌های در پیچ‌دار جمع‌آوری شد. جهت اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی بر روی هر کدام از غلظت‌ها ۲ سی‌سی از محلول ۱ میلی مولاردیفنیل پیکریل هیدرازیل اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در یک محیط کاملاً تاریک قرار گرفت و نهایتاً در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتوفتومتر میزان جذب نوری آن‌ها قرائت شد. جهت کنترل نیز از متانول خالص مرک استفاده شد. جهت کنترل مثبت نیز از ماده سنتتیک هیدروکسی تولوئن بوتیل^۳ استفاده شد (Akowuah et al., 2005). بر اساس معادله زیر اقدام به اندازه‌گیری درصد مهار رادیکال‌های آزاد شد:

$$\text{DPPH scavenging effect \%} = \frac{\text{AbsDPPH} - \text{Absextract}}{\text{AbsDPPH}} \times 100$$

جهت بررسی بهتر فعالیت آنتی‌رادیکالی از فاکتور IC₅₀ استفاده شد که بیانگر غلظتی از عصاره هست که قادر است رادیکال دیفنیل پیکریل هیدرازیل را به ۵۰ درصد مقدار اولیه برساند که این عدد با استفاده از رسم منحنی استاندارد محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمایش‌ها حداقل در سه تکرار انجام گرفت. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس^۴ یک‌طرفه و نرم‌افزار SPSS^۵ تجزیه و تحلیل شدند. آزمون آماری دانکن^۶ برای مقایسه میانگین‌ها در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ مورد استفاده قرار گرفت و نمودارها توسط نرم‌افزار اکسل رسم شد.

نشان‌گر فعالیت ضد باکتریایی) با کولیس مخصوص به دقت اندازه‌گیری شد. این آزمون در سه تکرار انجام شد (NCCLS, 2002).

آزمایش تعیین کمترین رقت مهاری رشد (MIC) و کمترین رقت باکتری‌کشی (MBC) برای این منظور در پلیت ۹۶ خانه استریل و با روش برات-میکروداپلوشن انجام شد (Koletar, 2000). ۵۰۰ میکروگرم از عصاره‌ها در دی‌متیل‌سولفوکساید ۵ درصد حل شد و سپس اقدام به تهیه غلظت‌های سریالی برای عصاره‌ها در ادامه ۱۶۰ میکرو لیتر از محیط کشت مولر-هینتون برات به همراه ۲۰ میکرو لیتر از غلظت‌های سریالی عصاره‌ها و ۲۰ میکرو لیتر از باکتری مورد مطالعه به چاهک‌های میکرو پلیت ۹۶ خانه‌ای افزوده شده و به مدت ۲۰-۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد و سپس با استفاده از مشاهده ظاهری و مشخص نمودن چاهک‌های روشن فاقد رشد باکتری، برای تأیید چاهک‌هایی که عصاره مانع از رشد باکتری شده بودند را جهت تعیین کمترین رقت مهاری رشد انتخاب و بر روی محیط کشت نوترینت آگار منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. حداقل غلظتی از عصاره که منجر به کاهش ۹۰ درصد تعداد کلنی‌های باکتریایی شده بود به‌عنوان کمترین رقت مهاری رشد در نظر گرفته شد. مقدار ۱۰ میکرو لیتر نیز از هر یک از میکرو پلیت‌های فاقد کدورت بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار تلقیح و کشت داده شد و پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، پلیت‌ها از نظر رشد باکتری بررسی شد و غلظتی از عصاره که ۹۹/۹٪ باکتری در آن رشد نکرده بود، به‌عنوان کمترین رقت باکتری‌کشی در نظر گرفته شد.

تعیین قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها

برای این منظور از روش رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل^۱ استفاده شد. توانایی دادن اتم هیدروژن یا

2. Dimethyl sulfoxide
3. Butylated hydroxytoluene (BHT)
4. ANOVA
5. IBM SPSS (Statistical Package for Social Sciences) Statistics 16
6. Duncan's new multiple range test

1,2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

نتایج

را ۱۷ ترکیب تشکیل دادند که فیتول با ۲۵/۱۱٪ و اتیل لینولئات با ۲۰/۹۵٪ و بتاسیسترونول با ۱۷/۵۳٪ بیشترین درصد مواد تشکیل دهنده را به خود اختصاص دادند. ۹۸٪ از مواد تشکیل دهنده عصاره متانولی را نیز ۹ ترکیب شیمیایی به خود اختصاص دادند که متیل لینولئات با ۴۶/۹۷٪ و فیتول با ۱۳/۴۲٪ بیشترین درصد مواد تشکیل دهنده را به خود اختصاص دادند.

نتایج آنالیز ترکیبات شیمیایی عصاره‌های مورد استفاده در تحقیق با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی در جداول شماره ۲، ۱ و ۳ آورده شده‌اند. از بین ترکیبات تشکیل دهنده عصاره‌ها، ۸۷٪ از مواد تشکیل دهنده عصاره اتیل استاتی را ۱۹ ترکیب به خود اختصاص دادند که به ترتیب: فیتول ۲۳/۷٪ و پنتاکوزان ۱۹/۳۹٪ بیشترین درصد مواد تشکیل دهنده را به خود اختصاص دادند. ۸۲٪ از مواد تشکیل دهنده عصاره اتانولی

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده عصاره گیاه پنجه برگ راست عصاره اتیل استاتی

ردیف	ترکیبات	شاخص زمان بازداری	درصد (Area)
۱	Nonadecane	۲۶/۹۶	۴/۰۴
۲	Farnesene	۲۸/۴۸	۱/۷۱
۳	Octadecane	۲۹/۷۲	۴/۳۶
۴	Nonadecane	۲۹/۸۱	۳/۲۸
۵	Phytol	۳۰/۱۸	۱۰/۵۵
۶	Phytol	۳۰/۴۷	۲/۲۴
۷	Phytol	۳۰/۶۸	۴/۲۲
۸	Di-tert-butyl-1--۷,۹-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione	۳۱/۲۴	۱/۰۸
۱۹	methyloctadecane-۲	۳۱/۴۲	۰/۹۷
۱۰	Eicosane	۳۱/۹۳	۶/۲۷
۱۱	Stearyl alcohol	۳۲/۱	۲/۰۱
۱۲	Phytol	۳۳/۱۳	۶/۶۹
۱۳	Heptacosane	۳۳/۸۶	۶/۱۷
۱۴	Arachidyl alcohol	۳۴/۰۶	۲/۳۵
۱۵	Tetracosane	۳۴/۷۵	۳/۱۱
۱۶	Bis(2-ethylhexyl) adipate	۳۵/۶۵	۴/۱۶
۱۷	Pentatriacontene-۱۷	۳۵/۸۲	۰/۷۵
۱۸	Mono(2-ethylhexyl) phthalate	۳۶/۴۱	۳/۳۳
۱۹	Pentacosane	۳۶/۹	۱۹/۳۹

ترکیب می‌باشد. همانطور که از نتایج مشخص است در بین عصاره‌های تهیه شده از گیاه پنجه برگ راست عصاره متانولی بیشترین قدرت ضد میکروبی را نشان داد ($p < 0.05$) و عصاره‌های اتانولی و اتیل استات از نظر قدرت

نتایج حاصل از داده‌های قدرت آنتی‌اکسیدانتی پس از گذشت ۳۰ دقیقه بر اساس اندیس IC_{50} ، در نمودار شماره ۱ آورده شده است. مشخص است که پایین بودن اندیس IC_{50} نشان دهنده بالاتر بودن قدرت آنتی‌اکسیدانتی

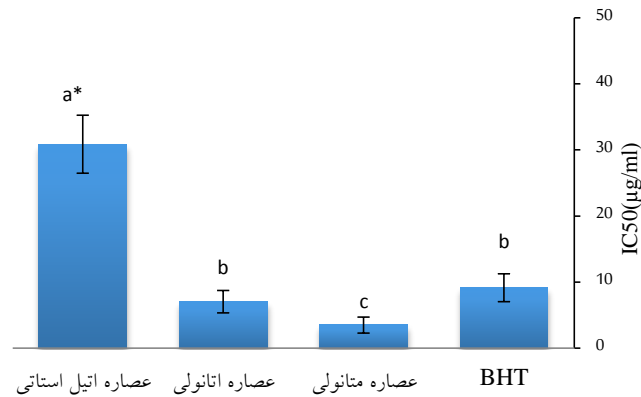
انتی‌اکسیدان‌تی در رده‌های بعدی قرار داشتند (جدول شماره ۱). همچنین از نظر مقایسه با هیدروکسی‌تولون (کنترل مثبت) بوتیله اختلاف معنی‌دار بین آن و عصاره متانولی و نیز بین عصاره اتیل استاتی مشاهده گردید ($p < 0.05$).

جدول ۲- ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده عصاره گیاه پنجه‌برگ راست عصاره اتانولی

ردیف	ترکیبات	شاخص زمان بازداری	درصد (Area)
۱	Octadecane	۲۷/۷	۰/۹۵
۲	Phytane	۲۷/۸	۰/۸۳
۳	phytol	۲۸/۱۸	۲/۹۹
۴	phytol	۲۸/۴۷	۱
۵	phytol	۲۸/۶۸	۱/۴۴
۶	Palmitic acid	۲۹/۷۳	۷/۷۹
۷	Ethyl palmitate	۲۹/۹	۳/۸۸
۸	phytol	۳۱/۱۲	۱۹/۶۸
۹	Ethyl linolenate	۳۱/۶۵	۲۰/۹۵
۱۰	Ethyl stearate	۳۱/۸۴	۰/۷۳
۱۱	Heneicosane	۳۲/۷۵	۱/۵۸
۱۲	Beta Sitosterol	۳۳/۶	۱/۱۶
۱۳	Beta Sitosterol	۳۳/۷۱	۶/۷۷
۱۴	Beta Sitosterol	۳۳/۸۹	۷/۷۱
۱۵	Beta Sitosterol	۳۴/۱۵	۱/۱۸
۱۶	Pentacosane	۳۴/۴۲	۱/۸۹
۱۷	Diisooctyl phthalate	۳۴/۹	۳/۰۸

جدول ۳- ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده عصاره گیاه پنجه‌برگ راست عصاره متانولی

ردیف	ترکیبات	شاخص زمان بازداری	درصد (Area)
۱	<u>Phytol</u>	۶/۱۴	۳/۳۹
۲	Methyl linolenate	۲۶/۳۲	۴۶/۹۷
۳	Squalene	۷/۹	۵/۳۴
۴	Nonacosane	۱۳/۴۵	۸/۷۹
۵	Hentriacontane	۷/۹	۷/۵۶
۶	Eicosane, 2-methyl-	۷/۲۲	۴/۸۲
۷	Octadecane, 2-m	۹/۳۴	۴/۱۳
۸	Vitamin E	۱۱/۷	۷/۱۹
۹	<u>Phytol</u>	۱۰/۰۳	۱۱/۸



نمودار ۱- اندیس IC₅₀ بدست آمده از تست رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل برای عصاره‌های مختلف گیاه پنجه‌برگ راست در مقایسه باکنترل مثبت BHT در ۳۰ دقیقه

*حروف کوچک غیر همسان نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح (p < ۰/۰۵) می‌باشد.

بحث

مقابله با پدیده مقاومت به مواد ضد میکروبی در راستای کاهش بروز آن و یا محدود نمودن عوامل میکروبی مقاوم از اهمیت زیادی برخوردار است (Daneshmandi et al., 2010). مشکلاتی که در این رابطه به وجود آمده، انگیزه زیادی را برای جستجو و ارائه ترکیبات ضد میکروبی به‌ویژه با منشاء گیاهی فراهم آورده است (Kudi et al., 1999; Cimanga et al., 2002). در این بین شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده و موثره گیاهی از اهمیت خاصی برخوردار است. در بررسی تومیچک و همکاران (۲۰۰۹) بر روی آنالیز ترکیبات شیمیایی گونه‌های مختلف گیاه پوتنتیلا از قبیل پوتنتیلا آنسرینا^۱، پوتنتیلا ویسکوزا^۲، پوتنتیلا ارکتا^۳، پوتنتیلا فروتیکوزا^۴، پوتنتیلا ریپنس^۵، پوتنتیلا دیسکولور^۶ و پوتنتیلا مولتی فیلد^۷ مشخص شد که ترکیباتی از قبیل پنتا دی گالیوکوز، آگریمونین، اسید اورژیک، کاتاجین، پونتانین، اسید اورسیک، اسید گالیک، اسید فرومیک و سیسترونول بیشترین مقدار را دارا می‌باشند. در نتایج حاصل از مطالعات باژیلکو و همکاران (۲۰۱۳) بیشترین بخش از ترکیبات شیمیایی

اندازه‌گیری قدرت ضد میکروبی عصاره‌های مختلف گیاه بروش انتشار چاهک در جدول شماره ۴ آورده شده است. نتایج حاصل از داده‌های قدرت ضد میکروبی به‌روش انتشار چاهک نشان داد که در غلظت‌های مساوی عصاره‌ها (۱ mg/ml) عصاره متانولی بیشترین قدرت ضد میکروبی را بر علیه باکتری /شیریشیالکی نشان داد (p < ۰/۰۵) و عصاره‌های اتانولی و اتیل استات از نظر قدرت ضد میکروبی در رده‌های بعدی قرار گرفتند. در مورد باکتری-های استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسیتوزنز نیز اختلاف معنی‌داری بین عصاره‌های متانولی و اتانولی دیده نشد ولی هر دو عصاره فوق اختلاف معنی‌دار با عصاره اتیل استاتی داشتند. در بررسی قدرت ضد میکروبی عصاره‌های به‌دست‌آمده از گیاه پنجه‌برگ راست مشخص شد که باکتری لیستریا منوسایتوزنز بالاترین حساسیت را در برابر هر سه عصاره مورد مطالعه نشان داد. هر چند اختلاف معنی‌دار بین عصاره‌ها به غیر از عصاره اتیل استاتی دیده نشد (p < ۰/۰۵). بر اساس نتایج نمودار شماره ۲ تعیین کمترین رقت مهارى رشد (MIC) و کمترین رقت باکتری کشی (MBC) نیز مشخص گردید که در مورد هر سه باکتری مورد مطالعه عصاره متانولی کمترین غلظت بازدارندگی و کشندگی را داشت و عصاره اتیل استات نیز کمترین قدرت ضد میکروبی را در این روش نشان داد.

1. *P. anserina*
2. *P. viscosa*
3. *P. erecta*
4. *P. fruticosa*
5. *P. reptans*
6. *P. discolor*
7. *P. multifield*

متیل لینولات نسبت داد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی سال‌های زیادی مورد بررسی قرار گرفته است، اما بیشترین تمرکز و بررسی طی سی سال گذشته بوده است. در این دوره بیشتر روی گیاهانی که کاربرد سنتی داشته‌اند به‌ویژه در کشورهای چین و آمریکا بررسی شده اند. در حالی که گزارش‌های مربوط به گیاهان بومی کشور ما بسیار پراکنده و جزئی است (Suffredini et al., 2006). روش‌های مختلفی جهت اندازه‌گیری تعیین قدرت بالقوه آنتی‌اکسیدانی از نمونه‌های زیستی وجود دارد. در میان روش‌های مورد استفاده، روش ربایش رادیکال دیفنیل پیکریل هیدرازیل به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد. از مزایای این روش می‌توان به استفاده سریع، آسان و ارزان بودن اشاره کرد (Kedare and Singh, 2011). در تحقیقی که وانگ و همکاران انجام دادند قدرت آنتی‌اکسیدانی سه گونه از گیاه پوتنتیلا با ترولکس^۴ مقایسه شد. عصاره پوتنتیلا فروتیکوز/بیشترین قدرت آنتی‌اکسیدانی را در بین عصاره سایر گونه‌ها به خود اختصاص داد (IC₅₀ معادل ۲۳/۸۷ میکروگرم بر سی سی) که در مقایسه با تحقیق حاضر، عصاره متانولی مورد تحقیق در ایران اثر آنتی‌اکسیدانی قوی تری داشته است (IC₅₀ معادل ۳/۵ میکروگرم بر سی سی). ولی با افزایش غلظت، تفاوت معناداری بین قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها مشاهده نشد. در مطالعه بازلیکو و همکاران (۲۰۱۳) عصاره اتیل استاتی استخراج شده با روش اولتراسونیکاسیون در مقایسه با عصاره‌های دی اتیل اتری، اتانولی و آبی کم‌ترین میزان IC₅₀ (۳/۵ میکروگرم بر سی سی) را نشان داد که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی ندارد. علت این امر می‌تواند به تفاوت در روش استخراج عصاره مربوط باشد. نتایج این تحقیق نشان داد که در غلظت‌های مساوی عصاره متانولی عملکرد بهتری را در مقایسه با کنترل مثبت (BHT) از خود نشان داد. گیاهان دارای اثرات ضد میکروبی با مکانیسم‌های مختلف و حتی متفاوت از آنتی‌بیوتیک‌ها

تشکیل‌دهنده عصاره اتیل استاتینجه برگ راست که توسط روش کروماتوگرافی با عملکرد بالا^۱ اقدام به تجزیه شده بود، را روتین، اسید الازیک و آگریمونین به خود اختصاص دادند (Bazytko, 2013). در مطالعه‌ای که وانگ و همکاران (۲۰۱۳) بر روی سه گونه از گیاه پوتنتیلا شامل پوتنتیلا گلابر^۲، پوتنتیلا فروتیکوزا و پوتنتیلا پاوی فولیا^۳ به روش کروماتوگرافی فاز معکوس با عملکرد بالا انجام دادند میزان فنولیک استخراج شده در سه گیاه بیانگر این بود که هیپروسید بیشترین فراوانی را به خود اختصاص داده و ترکیبات استخراج شده شامل اسید گالئیک، اسید فرولیک، روتین، اسید الازیک و کاتاجین را شامل می‌شدند (Wang et al., 2013). در مطالعاتی که ژو و همکاران (۲۰۰۵)، وو و همکاران (۲۰۰۹) و تومیچیک و همکاران (۲۰۰۹) انجام داده‌اند از بخش‌های هوایی پنجه برگ راست ده ترکیب از جمله نئوگلیکانگلیکوزیدها و فلاونوئیدها جداسازی شده است. جنس‌های پوتنتیلا به‌عنوان جنس‌های شاخصی که شامل فلاونوئیدها و تریو نوئیدها هستند شناخته شده‌اند (Wu et al., 2009; Xue et al., 2005; Tomczyk et al., 2009). این در حالی است که بیشترین ترکیبات شناسایی شده از عصاره‌های مورد تحقیق پیش رو شامل فیتول، متیل لینئوات، اتیل لینئوات، بتا سیسترویل و پنتاکوزان بودند. نتایج حاصل از مطالعات قبلی و تحقیق حاضر بیانگر این موضوع است که نوع حلال و روش استخراج و نیز منطقه جغرافیایی گیاه می‌تواند بر ترکیبات تشکیل‌دهنده موثر باشد. هر چند استفاده از روش‌های دقیق‌تر و با حساسیت بالاتر می‌تواند در شناسایی اجزاء تشکیل‌دهنده عصاره‌ها بسیار مؤثرتر و تأثیرگذارتر باشد. با توجه به اینکه در هر سه عصاره مورد مطالعه ماده شیمیایی فیتول مشترک بود می‌توان بالا بودن قدرت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره متانولی را بر اساس درصد تشکیل دهندگی به

1. HPLC
2. *P. glabra*
3. *P. parvifolia*

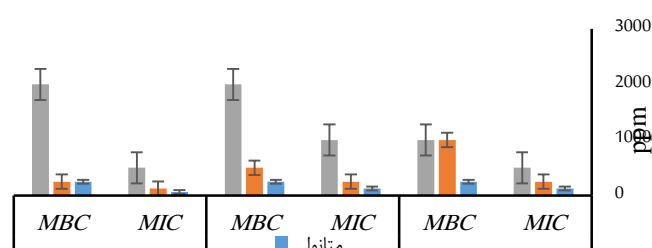
اگرچه باکتری‌های گرم مثبت نیز دارای یک غشاء سیتوپلاسمی و پپتید و گلیکان می‌باشند ولی بقیه پوشش سلولی آن‌ها بیشتر از پلی ساکاریدهای آنیونی و در برخی موارد از مقدار کمی پروتئین ساخته شده است. غشای خارجی در سلول‌های گرم منفی سدی در مقابل نفوذ مواد ایجاد نموده و موجب می‌شود که قابلیت نفوذپذیری سلول‌های گرم منفی نسبت به بسیاری از انواع مولکول کمتر از سلول‌های گرم مثبت باشد (Hussain, 2010). در تحقیق حاضر مشخص شد که باکتری‌های گرم مثبت لیستریا مونوسیتوزنز و استافیلوکوکوس اورئوس بیشترین حساسیت و باکتری اشریشیاکلی کمترین حساسیت را به عصاره‌های مورد مطالعه از خود نشان داد که این کاملاً با مطالعه تومیزک و همکاران (۲۰۰۸) مطابقت دارد. در تحقیق دیگری، واتکینس و همکاران (۲۰۱۲) اثرات ضد میکروبی عصاره اتانولی ریشه گیاه پوتیتلا رپنس که در طب سنتی انگلستان برای درمان زخم بکار برده می‌شد را بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مورد مطالعه قرار دادند و کمترین رقت باکتری کشی (MBC) برابر با ۱ میلی گرم بر سی سی را بدست آوردند که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد (Watkins et al., 2012). براساس نتایج تحقیق حاضر مشخص شد که روش و حلال‌های مورد استفاده برای استخراج ترکیبات گیاهی می‌تواند بر نتایج اثرات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانتهی به‌دست‌آمده تأثیرگذار باشند، به طوری‌که عصاره متانولی از نظر قدرت آنتی‌اکسیدانتهی و ضد میکروبی بالاترین عملکرد را داشت.

رشد باکتری را مهار می‌کنند این امر لزوم تحقیقات جامع‌تر در حیطه گیاهان دارویی را گوشزد نموده و افزایش روزافزون مقالات انتشار یافته در زمینه خصوصیات ضد میکروبی گیاهان را توجیه می‌کند (Srivastava et al., 2014). بر اساس نتایج ضد میکروبی در این تحقیق باکتری لیستریا مونوسیتوزنز بالاترین حساسیت و عصاره متانولی بهترین عملکرد در برابر عصاره‌های مورد مطالعه از خود بروز داد نشان داد. در طی مطالعه‌ای که تومیزک و همکاران انجام دادند (۲۰۰۸) مشخص شد که عصاره آبی گونه‌های پوتیتلا قوی‌ترین فعالیت ضد میکروبی مناسبی را بر روی هلیکوباکتر پیلوری دارد (MIC=0.1-0.5 mg/ml). همچنین در یافته‌های این مطالعه مشخص شد که عصاره در محدوده غلظت ۱۰۰-۱۲/۵ mg/ml از رشد باکتری‌های گرم مثبت ممانعت می‌کند ولی در برابر رشد باکتری‌های گرم منفی ناموفق است (Tomczyk et al., 2008). حساسیت باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی نسبت به بسیاری از مواد ضد میکروبی به‌طور قابل توجهی با یکدیگر متفاوت است به‌گونه‌ای که باکتری‌های گرم مثبت حساسیت بیشتری از خودشان نشان می‌دهند و مقاومت نسبی ارگانیس‌های گرم منفی نسبت به بسیاری از مواد ضد میکروبی احتمالاً به دلیل پیچیدگی طبیعی موانع موجود در پوشش سلولی هست. این پوشش شامل غشاء سیتوپلاسمی یا داخلی، محتوی لیپید-پروتئین و یک لایه نازک پپتید و گلیکان و یک غشاء خارجی شامل لیپو پلی ساکارید است

جدول ۴- اندازه‌گیری قدرت ضد میکروبی عصاره‌های مختلف گیاه بروش انتشار چاهک ($p < 0.05$)

عصاره	غلظت (mg/ml)	قطر میانگین هاله عدم رشد (برحسب میلی‌متر)	میانگین \pm انحراف معیار
متانولی	۱	استافیلوکوس اورئوس	اA۱۶/۰ \pm ۶۶/۵۰
		اشریشیا کلی	اA۱۷/۰ \pm ۶۶/۵۷
		لیستریا منوسایتوژنز	
اتانولی	۱	استافیلوکوس اورئوس	اA۱۳/۱ \pm ۶۶/۵۲
		اشریشیا کلی	بA۱۴/۱ \pm ۳۳/۱۵
		لیستریا منوسایتوژنز	اA۱۵/۱ \pm ۶۶/۵۲
اتیل استات	۱	استافیلوکوس اورئوس	بA۴/۰ \pm ۳۳/۵۷
		اشریشیا کلی	بB۲/۰ \pm ۶۶/۵۷
		لیستریا منوسایتوژنز	بC۶/۱ \pm ۶۶/۵۲

*در هر ستون حروف کوچک و در هر ردیف حروف بزرگ غیر همسان نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ($p < 0.05$) می باشد.



نمودار ۲- مقایسه MIC و MBC عصاره‌های مختلف گیاه پنجه برگ راست

نتیجه‌گیری

متفاوت آشکار گردد و همچنین در مدل‌های غذایی و *In vivo* اقدام به بررسی اثر عصاره‌های مختلف گیاه از نقطه نظر قدرت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی شود.

تشکر و قدردانی

محققین لازم می‌دانند از کلیه کارکنان آزمایشگاه بخش تحقیقات فنی و مهندسی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی و سرکار خانم دکتر هاشمی که در انجام این تحقیق صمیمانه همکاری داشتند نهایت سپاسگزاری را داشته باشند.

در یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان بیان نمود که عصاره‌های گیاه پنجه‌برگ راست دارای قابلیت ضد باکتریایی مناسبی در شرایط *invitro* بر روی سویه‌های گرم مثبت مورد مطالعه بود. واضح است که تنها یک روش نمی‌تواند پیش‌بینی جامعی از تأثیر تمام پارامترهای درگیر در خصوصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی ارائه دهد. بنابراین می‌طلبد که با روش دیگر نیز این بخش از مطالعه حاضر انجام گردد تا تفاوت‌های احتمالی بین روش‌های

منابع

- خاتم ساز، محبوبه (۱۳۸۲). فلور ایران جلد شش تیره گل سرخیان. انتشارات سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. صفحه ۳۵۲.
- Akowuah, G.A., Ismail, Z., Norhayati, I. and Sadikun, A. 2005. The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical-scavenging activity. *Food Chem.* 93:311–317.
- Amal, A. Mohamed., Ashraf A. Khalil. and Hossam E. S. El-Beltagi. 2010. Antioxidant and antimicrobial properties of kaff Maryam (*Anastatica hierochuntica*) and doum palm (*Hyphaene thebaica*). *Grasas Y Aceites.* 61: 67–75.
- Atanov, A.G., Waltenberger, B., Pferschy-Wenzig, E.-M., Linder, T., Wawrosch, C., Uhrin, P. and Stuppner, H. 2015. Discovery and resupply of pharmacologically active

- Antioxidant & Antimicrobial activity of in vivo and in vitro growth plants of *Phyllanthus niruri* L. 2011. *Int. J. Pharm. Biol. Sci.* 2: 78–89.
15. Guillén, A. Rico, E. and Castroviejo, S. 2005. Reproductive biology of the Iberian species of *Potentilla* L. (Rosaceae). *Anales del Jardín Botánico de Madrid.* 62: 9-21.
 16. Kedare, S. B. and R. Singh. 2011. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J. Food Sci. Technol.* 48: 412–422.
 17. Kudi, A., J. Umoh, L. Eduvie and J. Gefu. 1999. Screening of some Nigerian medicinal plants for antibacterial activity. *J. Ethnopharmacol.* 67: 225–228.
 18. Li, Q., Hui, J., Shang, D., Wu, L., Ma, X. 2003. Investigation of the chemical constituents of the roots of *Potentilla anserina* L. in Tibet. *Chin. Pharm. J.* 55: 179–184.
 19. Li, Y., C. Guo, J. Yang, J. Wei, J. Xu. and S. Cheng. 2006. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chem.* 96: 254–260.
 20. Lund, K. and Rimpler, H. 1985. Tormentillwurzel. Isolierung eines Ellagitannins und pharmakologisches Screening. *Deutsche Apotheker Zeitung* 125: 105–108.
 21. Mahmoudi, R. and Nosratpour, S. 2013. *Teucrium polium* L. essential oil: phytochemical component and antioxidant properties. *Int. Food Res. J.* 20: 1697–1701.
 22. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing. 8th Informational Supplement. M100 S12. National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002. Villanova, Pa.
 23. Newton, S. M., C. Lau, S. S. Gurcha, G. S. Besra and C. W. Wright. 2002. "The evaluation of forty-three plant species for in vitro antimycobacterial activities; isolation of active constituents from *Psoralea corylifolia* and *Sanguinaria canadensis*. *J. plant-derived natural products: A review.* *Biotechnol Adv.* 33: 1582–1614.
 5. Bazylko, A., Piwowarski, J. Filipek, A., Bonarewicz, J. Tomczyk, M. 2013. In vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of extracts from *Potentilla recta* and its main ellagitannin, agrimoniin. *J. Ethnopharmacol.* 149: 222–227.
 6. Buhner, S.H. 2012. *Herbal Antibiotics: Natural Alternatives for Treating Drug-Resistant Bacteria.* Storey Publishing, North Adams, MA, USA
 7. Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods—a review. *Int J Food Microb.* 94: 223–53.
 8. Chambers, H.F. 2006. Ceftobiprole: in-vivo profile of a bactericidal cephalosporin. *Clin. Microbiol. Infect.* 12: 17–22
 9. Chandra, M. 2013. Antimicrobial Activity of Medicinal Plants against Human Pathogenic Bacteria. *IJBRR.* 4: 653–658.
 10. Cimanga, K., K. Kambu, L. Tona, S. Apers, T. De Bruyne, N. Hermans, J. Totté, L. Pieters and A. Vlietinck. 2002. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *J. Ethnopharmacol.* 79: 213–220.
 11. Corcoran, O., Watkins, F. Pendrey, F. and Sanchez-medina, A. 2012. Antimicrobial assays of three native British plants used in Anglo-Saxon medicine for wound healing formulations in 10th century England. *J. Ethnopharmacol.* 144: 408–415.
 12. Daneshmandi, S., N. Soleimani, A. A. Pourfathollah and M. Sattari. 2010. "Evaluation of the drug synergistic and antibacterial effects of *cuminum cyminum* essential oil. *Arak Med. Univ. J.* 13: 75–82.
 13. Ehsani, A. Zare, P. and Mahmoudi, R. 1390. Phytochemical, antibacterial and antioxidant properties of *Cuminum Cyminum* L. essential oil. *Int. Food Res. J.* 22: 311 – 321.
 14. Gami, B. and Kothari, I. L. 2011.

- The Braz J Infects Dis. 10:400 – 402.
30. Tomczyk, M. and Latte, K.P. *Potentilla* A review of its phytochemical and pharmacological profile. 2009. J. Ethnopharmacol. 122: 18.
 31. Tomczyk, M., Leszczyńska, K. and Jakoniuk, P. 2008. Antimicrobial activity of *Potentilla* species. *Fitoterapia*. 79: 592–594.
 32. Wang, Dong-Mei. Wang, Shan-Shan. Pu, Wen-Jun. Li. and Deng-Wu. 2013. Phytochemical profiles, antioxidant and antimicrobial activities of three *Potentilla* species. *BMC Complementary Altern. Med.* 13:321.
 33. Wang, S., Melnyk, J.P., Tsao, R. and Marcone, M.F. 2011. Review how natural dietary antioxidants in fruits, vegetables and legumes promote vascular health. *Food Res. Int.* 44: 14–22.
 34. Watkins, F., Pendry, B., Sanchez-Medina, A. and Corcoran, O. 2012. Antimicrobial assays of three native British plants used in Anglo-Saxon medicine for wound healing formulations in 10th century England. *J Ethnopharmacol.* 144: 408–415.
 35. Wu, X.H., Ruan, J.L. and Cai, Y.L. 2009. *Biochem. Syst. Ecol.* 37: 50.
 36. Xue, P.F., Luo, G., Zeng, W.Z., Zhao, Y.Y. and Liang, H. 2005. *Biochem. Syst. Ecol.* 33: 725.
 - Ethnopharmacol. 79: 57–67.
 24. Oroojalian, F., Kasra-Kermanshahi, R., Azizi, M. and Bassami, M.R. 2009. Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens. *Int. J. Food Microbiol.* 120): 765–770.
 25. Palombo, E. A. and S. J. Semple. 2002. "Antibacterial activity of Australian plant extracts against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and vancomycin resistant enterococci (VRE)." *J. Basic Microbiol.* 42: 444–448.
 26. Pandey A, Kumar K, Damini K. 2012. A comparative analysis of antibacterial properties of different varieties of *Rosa Indica* leaves and petals against various pathogen. *IJPRD.* 3:39–47.
 27. Sivasudha, A., Anath, D. Rameshkumar, A., Aseervathan, S. and Jeyadevi, R. 2013. Chemical constituents, in vitro antioxidant and antimicrobial potential of *Caryota urens* L. *Free Radicals and Antioxidants* 3: 107–112.
 28. Srivastava, J., Chandra, H., Nautiyal. and Kalra, Swinder J. S. 2014. Antimicrobial resistance (AMR) and plant-derived antimicrobials (PDAMs) as an alternative drug line to control infections. *3 Biotech* 4: 451-460.
 29. Suffredini, I.B., Paciencia, M.L.B., Varella, A.D. and Younes R.N. 2006. Antibacterial activity of Brazilian Amazon plant Extracts,

Evaluation of the chemical composition, antimicrobial and antioxidant of *Potentilla recta* extracts

Azad¹ H, Mehdizadeh T *²

1. MSc. Student, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University of Urmia, Urmia, Iran.

2. Department of Food Hygiene & quality control, Faculty of veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

*Corresponding author: t.mehdizadeh@urmia.ac.ir

Received: 20 April 2017

Accepted: 22 June 2017

Abstract

The importance of medicinal plants, with the intensification of the therapeutic effect, is that in many cases it can also avoid the toxicity and adverse effects of medication. In this study *Potentilla recta*, one of the Iran and Azerbaijan region-native medicinal plants, was studied in terms of chemical composition, antimicrobial and antioxidant effect. After collecting, drying and milling of plants, the methanol, ethanol and ethyl acetate extracts obtained by maceration method. To identify the constituents of the extracts, gas chromatography connected to mass spectrometry was conducted. The DPPH radical scavenging method used to measure the antioxidant potential and the results was reported based on the IC₅₀ index. After determine MIC and MBC using broth micro dilution method, agar well diffusion assay conducted to assess the antimicrobial effect of extracts. Data were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) and means were compared using Duncan test at P<0.05 using SPSS software ver.16. The results of the antimicrobial activity showed that the extracts had antimicrobial effect and in this case methanol extract significantly increase *L.monocytogenes* microbial growth inhibition zone area (p <0.05). All prepared extracts had the ability to scavenging radical 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl and the highest antioxidant potency after 30 minutes related to methanol extract. Most chemical compounds in methanol, ethanol and ethylacetate extracts, were respectively: methylolinoleate and ethyllinoleate. This study showed that the methanol extract of *Potentilla recta* has great antibacterial and antioxidant properties and with more research can be used in various applications.

Keywords: Antioxidant, Antibacterial, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Potentilla recta*.