فنآوری تولیدات گیاهی/ جلد بیست و دوم/ شمارهٔ دوم/ صفحات ۱۰۷-۱۲۲/ پاییز و زمستان ۱۴۰۱
DOI: 10.22084/PPT.2023.27762.2098

فعالیت آنتی‌اکسیدانی، قابلیت مهارکنندگی آنزیم لیپاز و خاصیت ضدمیکروبی عصاره کلیر (*Capparis decidua*)، پنیرباد (*Withania somnifera*)

Antioxidant, Lipase Inhibitory Activity, and Antimicrobial Properties of *Capparis decidua* and *Withania somnifera* Extracts

سمیرا پورحمزه[۱]، مریم مصلحی شاد[۲*] و سیده مرضیه حسینی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۲۹
(مقاله پژوهشی)

چکیده

هدف از این پژوهش ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و قابلیت مهارکنندگی آنزیم لیپاز و خاصیت ضدمیکروبی عصاره کلیر و پنیرباد می‌باشد. بدین منظور ابتدا ترکیبات فنلی کل عصاره گیاه پنیرباد و کلیر با روش فولین‌سیوکالتو و سپس فعالیت آنتی‌اکسیدانی از طریق آزمون مهار رادیکال آزاد ABTS بررسی شد. خاصیت مهارکنندگی آنزیم لیپاز درعصاره‌ها موردبررسی قرار گرفت. هم‌چنین خاصیت ضدمیکروبی عصاره‌ها نیز روی سویه‌های *کاندیدا آلبیکنس، سودوموناس آئروژینوزا، استرپتوکوکوس موتانس به* روش هاله عدم رشد موردارزیابی قرارگرفت. هم‌چنین تأثیر عصاره پنیرباد و کلیر بر روی *هلیکوباکترپیلوری بررسی شد*. نتایج آزمون محتوای فنلی کل و درصد مهار رادیکال آزاد عصاره‌ها، ارتباط مثبت و معنی‌داری را بین میزان ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی و غلظت عصاره نشان داد ($P<0/05$). بیش‌ترین میزان ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره گیاه پنیرباد وجود دارد. در بررسی عصاره‌ها مشخص شد که بیش‌ترین تأثیر را عصاره کلیر (۹۴/۳۲ درصد) در مهارکنندگی آنزیم لیپاز داشت. بررسی میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره‌ها در برابر باکتری *سودوموناس آئروژینوزا، استرپتوکوکوس موتانس و* مخمر *کاندیدا آلبیکنس* نشان داد که عصاره پنیرباد در برابر باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* بیش‌ترین قطر را داشت. عصاره کلیر در برابر مخمر *کاندیدا آلبیکنس* بیش‌ترین خاصیت ضدمیکروبی دارد و هم‌چنین عصاره کلیر بیش‌ترین هاله عدم رشد در برابر باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* از خود نشان داده است. در بررسی تأثیر عصاره‌ها بر روی *هلیکو باکترپیلوری* مشخص شد که بیش‌ترین میزان مهارکنندگی *هلیکوباکتر* مربوط به عصاره کلیر (۹۴/۳۲ درصد) بود. با بررسی نتایج به‌دست‌آمده از خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی این گیاهان، می‌توان از عصاره این گیاهان به‌عنوان افزودنی‌های طبیعی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: خواص عملکردی، افزودنی طبیعی، گیاهان دارویی

۱ و ۲. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد صفادشت، تهران، ایران
۳. دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
*: نویسنده مسئول Email: mmoslehishad@gmail.com
مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد نویسنده اول به راهنمایی مریم مصلحی شاد می‌باشد.

مقدمه

سال‌هاست که از افزودنی‌ها و نگهدارنده‌های طبیعی و شیمیایی با خاصیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی در محصولات غذایی به‌منظور جلوگیری از آلودگی ماده غذایی و افزایش زمان ماندگاری و حفظ کیفیت غذا پس از تولید استفاده می‌شود (*کامپلو*[1] و همکاران، 2019).

با افزایش آگاهی مردم نسبت به نگهدارنده‌های شیمیایی تمایل به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی مواد غذایی به‌ویژه عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی رشد چشم‌گیری داشته است (*امیدبیگی*[2] و همکاران، 2007).

امروزه پژوهش‌های فراوانی درخصوص گیاهان دارویی صورت گرفته است، گیاهان دارویی حاوی مواد شیمیایی مفید برای مصارف دارویی و هم‌چنین جایگزین مناسبی برای افزودنی‌های شیمیایی هستند (*مولاباگالو*[3] و همکاران، 2004). عصاره گیاهان دارویی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین محصول گیاهان دارویی نام برده می‌شود که از اندام‌های مختلف گیاه ازجمله برگ‌ها، میوه، ریشه، گل و چوب گیاه به‌دست می‌آید (*آنتونی*[4] و همکاران، 2011؛ *هویی*[5] و همکاران، 2009؛ *ریچیلینگ*[6] و همکاران، 2010). عصاره‌ها حاوی انواع مولکول‌های فرار شامل ترکیبات آروماتیک و آلیفاتیک و ترپنوئیدها می‌باشند و به روش‌های فیزیکی ازجمله عصاره‌گیری و تقطیر به‌دست می‌آیند (شهنیا و همکاران، ۱۳۹۱). ترکیبات فنلی و ترپنوئیدهای کوچک موجود در عصاره گیاهان دارویی دارای عوامل ضدباکتریایی، ضدقارچی، ضدسرطانی و ضدویروسی هستند و همین خاصیت بازدارندگی و کشندگی میکروارگانسیم‌های بیماری‌زا در عصاره گیاهان دارویی باعث شده که جایگزین مناسبی برای نگهدارنده‌ها و داروهای شیمیایی محسوب شوند (برومند و همکاران، ۱۳۹۱). عصاره استخراج شده از گیاهان دارویی غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی است. وجود ترکیبات فنلی در گیاهان دارویی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی منجر به کندشدن سرعت اکسیداسیون در مواد غذایی می‌شود، هم‌چنین در بیماری‌های دهان و دندان، ورم مفاصل و استخوان که کلاژن در معرض تخریب قرار می‌گیرد، ترکیبات فنلی و مواد آنتی‌اکسیدانی این گیاهان می‌تواند از آن جلوگیری کند (*کواک*[7] و همکاران، 2010).

این ترکیبات را می‌توان از گیاهان دارویی بومی ایران استخراج کرد. گیاهانی مانند کلیر و پنیرباد که هرکدام از آن‌ها متعلق به یک منطقه خاص جغرافیایی در ایران است. ترکیبات استخراج شده از گیاهان دارویی با خاصیت ضدمیکروبی می‌توانند در محصولات مختلفی استفاده شوند. بر طبق بررسی‌های به‌عمل آمده، مشخص شده است که تاکنون تحقیقی در خصوص ارزیابی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره گیاه کلیر انجام نشده است و یا در دسترس نیست. بنابراین، با توجه به اهمیت استفاده از افزودنی‌های طبیعی، پژوهش حاضر با اهداف بررسی تأثیر عصاره‌ی این گیاهان به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی و بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های منتخب در غلظت‌های مختلف در شرایط آزمایشگاهی و غذایی انجام می‌شود.

گیاه پنیرباد با نام علمی (*Withania somnifera*) از تیره *Solanaceae* است . این گیاه در شهرستان‌های سرباز، سراوان، ایرانشهر، نیک‌شهر، دامن، قصرقند، خاش در استان سیستان و بلوچستان می‌روید (ولی‌زاده و همکاران، ۱۳۹۴). ترکیبات موجود در این گیاه، بیش از ۱۳ نوع آلکالوئید و ۱۳۸ نوع ویتانولید و تعدادی گلیکوویتانولید به نام سیتواویندوزیت هستند که مهم‌ترین نوع ویتانولیدهای موجود در این گیاه ویتافرین A، ویتانولید A و ویتانون می‌باشد. این ترکیبات جزو لاکتون‌های استروئیدی هستند (ولی‌زاده و همکاران، ۱۳۹۴).

خواص این گیاه شامل آمیب‌کش، ضددرد، ضدپیری، ضدباروری، سقط‌کننده، ضدباکتری، ضدادم (ضدتورم)، ضدآندوتوکسین، ضدکم‌خونی، ضدآرتریت (Arthritis)، ضدصرع (Epilepsy)، ضداکسیدان، ضداسترس، ضدویروس تبخال، ضدالتهاب، ضدتب، ضدسارکوما (Sarcoma)، ضداسپاسم، ضدتومور، التیام زخم معده، ضدویروس، ادرارآور، سیتوتوکسیک (Cytotoxic)، مسکن، خواب‌آور، محافظ کبد، قارچ‌کش، حشره‌کش، تقویت‌کننده‌ی حافظه، محرک تنفسی، کرم‌کش و شپش‌کش است (لشکریزاده بمی و همکاران، ۱۳۹۹).

گیاه کلیر با نام علمی (*Capparis decidua*) از تیره *Capparidaceae* است. این گیاه جزء گیاهان بیابانی است که به دما، خشکی و تنش‌های شوری مقاوم است (اسمعیل بگی کرمانی و همکاران، ۱۴۰۱). رویشگاه‌های طبیعی این گیاه مربوط به مناطق جنوبی ایران از شرق استان هرمزگان در منطقه سیریک شروع و تا استان سیستان و بلوچستان امتداد پیدا کرده است (دمی‌زاده و همکاران، ۱۳۸۸). ترکیبات موجود در این گیاه آلکالوئیدها، اسیدهای چرب، کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، استرول‌ها، ویتامین C، ترکیبات فنلی (تانن‌ها، فلاونول و فلاونوئیدها می‌باشد. این گیاه خواص ضددیابت،

1. Campêlo
2. Omidbeygi
3. Mulabagal
4. Anthony
5. Hui
6. Reichling
7. Kwok

ضدانگلی، ضددرد، محافظ کبد، ضدالتهاب، ضدروماتیسم، ضدچربی خون، ضدسرطان، ضدآترواسکلروتیک، ضدمیکروبی و ضدقارچ دارد (اسمعیل بگی کرمانی و همکاران، ۱۴۰۱).

پژوهش حاضر با هدف بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی و قابلیت مهارکنندگی آنزیم لیپاز و خاصیت ضدمیکروبی عصاره کلیر (*Capparis decidua*) و پنیرباد (*Withania somnifera*) به‌عنوان گیاهان بومی (اندمیک) ایران انجام شد (ولی‌زاده و همکاران، ۱۳۹۴).

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاهان

به‌منظور شناسایی و تهیه گیاه کلیر و پنیرباد از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی بلوچستان کمک گرفته شد. گیاه کلیر در اوایل مهرماه از شهر قصرقند و گیاه پنیرباد هم در اوایل مهرماه از شهرستان نیک‌شهر واقع در استان سیستان و بلوچستان جمع‌آوری شدند. پس از شستشو و خشک شدن، گیاهان آسیاب و پودر شدند و سپس در محیط خشک و خنک و تاریک نگهداری شدند.

عصاره‌گیری گیاهان دارویی

جهت عصاره‌گیری ابتدا ۱۰ گرم از میوه گیاهان پودر شده را داخل بشر ریخته و نسبت نمونه به حلال (اتانول ۷۰ درصد) ۱ به ۲۰ است. سپس داخل آون گذاشته و بعد از نیم ساعت نمونه‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه با روش فراصوت عصاره‌گیری شد. برای انجام فیلتراسیون از پنبه استفاده شد و بعد از فیلتراسیون عصاره را در دمای ۵۰ درجه سلسیوس خشک و تا زمان انجام آزمون نهایی در یخچال نگهداری شد و جهت انجام آزمون‌ها، رقت‌های متوالی ۱۲۵ تا ۴۰۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تهیه شد (احمدی کمازانی و همکاران، ۱۳۹۶).

شکل ۱الف: گیاه کلیر
Fig. 1B: *Capparis decidua*

شکل ۱ب: گیاه پنیرباد
Fig. 1B: *Withania somnifera*

شکل ۲ الف: میوه خشک شده کلیر
Fig. 2B: Dried fruit of the *Withania somnifera*

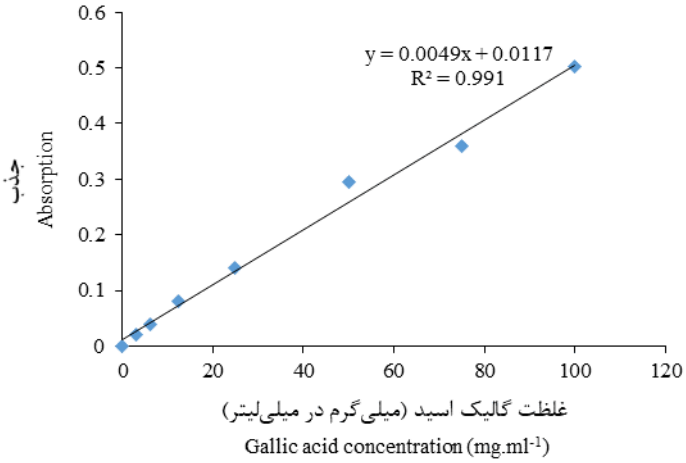
شکل ۲ب: میوه خشک شده پنیرباد
Fig. 2A: Dried fruit of the *Capparis decidua*

آزمون عصاره‌ی گیاهان

تعیین میزان ترکیبات فنلی

برای اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل از روش رنگ‌سنجی فولین سیوکالتو (Folin-ciocalte) استفاده شد. ۲۵ میکرولیتر نمونه (عصاره در رقت‌های متوالی) به معرف فولین سیوکالتیو اضافه شد. بعد از مدت ۱۰ دقیقه، سدیم کربنات ۲۰ درصد به میزان ۳۷۵ میکرولیتر اضافه شد و به مدت ۲ ساعت دور از نور و در دمای محیط قرار گرفت. سپس جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و منحنی استاندارد با استفاده از گالیک اسید با

رابطه، y = 0.0049 x + 0.0117، R² = 0.991 رسم شد. شکل ۳ منحنی استاندارد گالیک اسید را نشان می‌دهد.



شکل۳: منحنی استاندارد گالیک اسید
Fig. 3: Gallic acid standard curve

تعیین خاصیت مهار رادیکال آزاد

در این پژوهش از روش مهار رادیکال آزاد ABTS[1] برای ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها استفاده شد. محلول رادیکال آزاد ABTS در حضور پتاسیم پرسولفات آماده شد. سپس جذب نمونه‌ها در حضور رادیکال آزاد ABTS در طول‌موج ۷۳۴ نانومتر پس از ۵ دقیقه با استفاده از دستگاه الایزاریدر تعیین شد و درصد مهارکنندگی نمونه‌ها از رابطه زیر به‌دست آمد (ریی[2] و همکاران، 1999).

$$\text{درصد مهار رادیکال آزاد} = \frac{A-B}{A}\times 100$$

A: مقدار جذب نمونه

B: میزان جذب کنترل

بررسی قابلیت مهارکنندگی آنزیم لیپاز

ابتدا ۰/۰۰۵ گرم آنزیم لیپاز خوکی و ۱میلی‌لیتر فسفات بافر سالین مخلوط شد و سپس سوسپانسیون پودر باکتری غیرفعال را به مقدار ۴۰ میکرولیتر در بافر سالین pH = ۷/۴ و ۲۴۰ میکرولیتر فسفات بافر سالین pH = ۷/۴ و ۴ میکرولیتر آنزیم و ۶ میکرولیتر محلول ۳/۱۲ میلی‌مولار پارانیتروفنیل استات را در پلیت ریخته شد و همه نمونه‌ها را به مدت نیم ساعت داخل آون با درجه ۳۷ گذاشته و بعد از گذشت نیم ساعت، آن را در دستگاه الایزا با طول‌موج ۴۰۵ نانومتر قرار داده و مقدار جذب خوانده شد و تأثیر غلظت‌های متفاوت عصاره‌های کلیر و پنیرباد را بر آنزیم لیپاز بررسی شد (خلیلی و همکاران، ۱۳۹۱).

درصد مهار فعالیت آنزیم لیپاز هر عصاره از این رابطه محاسبه شد:

$$AI = \frac{A-Ao}{Ao}\times 100$$

AI: درصد مهار آنزیم لیپاز

A: جذب محلول فاقد مهارکننده

Ao: جذب محلول حاوی مهارکننده

بررسی خاصیت ضدمیکروبی به روش قطر هاله عدم رشد

سه سویه میکروبی جهت ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌ها در شرایط آزمایشگاهی استفاده شدند که در جدول ۱ آورده شده است. این سویه‌ها از دانشگاه تهران تهیه شدند و فعال‌سازی آن‌ها در آزمایشگاه و در شرایط استریل انجام شد.

جدول ۱: معرفی سویه‌های میکروبی مورداستفاده
Table 1: Introduction of the microbial strains used

میکروارگانسیم‌ها Microorganisms	شماره استرین باکتری Bacterial strain number
Candida albicans	PTCC 5027
Pseudomonas aeruginosa	PTCC 1950
Streptococcus mutans	PTCC 1683

1. 2 2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6- sulfonic acid
2. Re

ابتدا استاندارد کردن جمعیت میکروبی معادل نیم مک فارلند تنظیم و کدورت آن‌ها با اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. به‌وسیله سوآپ استریل مقداری سوسپانسیون میکروبی روی محیط‌کشت ۷۵ درصد مولر هینتون آگار جامد شده، کشت خطی داده شد. سپس ۱۰۰ میکرومتر عصاره به داخل چاهک‌ها به قطر ۶ میلی‌متر انتقال یافت و پلیت‌ها به داخل یخچال منتقل شدند و پس از نیم ساعت به انکوباتور در شرایط رشد مناسب میکروارگانیسم موردنظر منتقل گردید. پس از طی زمان رشد میکروارگانیسم موردنظر پلیت‌ها از انکوباتور خارج و قطر هاله عدم رشد میکروارگانیسم‌ها اندازه گیری شد (*ژوا*[1] و همکاران، 2022).

بررسی خاصیت ضدمیکروبی به روش تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)

از روش میکرودایلوشن در پلیت ۹۶ خانه استریل جهت تعیین حداقل غلظت بازدارندگی استفاده شد. غلظت‌های متوالی عصاره به محیط‌کشت مولر هینتون براث استریل اضافه شد. سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک‌فارلند به چاهک‌ها اضافه شد. پلیت الایزا در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به‌مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. پس از طی زمان مناسب جهت رشد میکروارگانیسم‌ها حداقل غلظتی که در آن رشدی مشاهده نشد به‌عنوان حداقل غلظت بازدارندگی تعیین شد (*اووااما*[2] و همکاران، 2017).

تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC)

از چاهک‌های مرحله قبل (تعیین حداقل غلظت بازدارندگی) که هیچ‌گونه میکروارگانیسمی در آن‌ها رشد نکرد، استفاده شد. با استفاده از سوآپ استریل نمونه‌ای از تک‌تک چاهک‌ها به سطح محیط‌کشت موجود در پلیت منتقل شد. اولین غلظتی که هیچ‌گونه رشد میکروبی در محیط‌کشت از خود نشان ندهد معادل MBC تعیین شد (*اووااما* و همکاران، 2017).

بررسی قابلیت مهارکنندگی *هلیکوباکترپیلوری*

بررسی قابلیت مهارکنندگی *هلیکوباکترپیلوری* با استفاده از مهار آنزیم اوره انجام شد. این روش به بررسی آزاد شدن آمونیوم توسط واکنش برتلوت می‌پردازد. ابتدا ۵۰ میکرولیتر اوره‌آز و ۸۵۰ میکرولیتر اوره و ۱۰۰ میکرولیتر بافر سالین pH = ۷/۴ و سدیم فسفات مخلوط کرده سپس مخلوط را به‌مدت نیم ساعت در دمای ۳۰ درجه داخل انکوباتور قرار داده و پس از آن ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره‌ها را برداشته و ۵۰۰ میکرولیتر از محلولی حاوی ۴/۴۷ گرم سالسیلیک اسید، ۲۰ میلی‌گرم سدیم نیترو پروساید و ۲/۵ گرم سدیم هیدروکسید در ۵۰ میلی‌لیترآب‌مقطر مخلوط کرده و ۵۰۰ میکرولیتر دیگر عصاره را هم به ۰/۵ گرم سدیم هیدروکساید و ۱/۵ میلی‌لیتر آب کلرینه در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. سپس آن‌ها به مدت نیم ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در انکوباتور قرار داده شدند و میزان جذب آن‌ها در طول‌موج ۶۲۵ نانومتر خوانده شد (*سوی*[3] و همکاران، 2022).

بر اساس معادله زیر میزان فعالیت مهارکنندگی آنزیم را محاسبه می‌شود:

$$I(\%)=[1-(T/C]\times100$$

I: فعالیت مهارکنندگی آنزیم

T: جذب نمونه‌ی آزمایشی در حضور آنزیم

C: جذب نمونه‌ی فاقد مهارکننده در حضور آنزیم

تجزیه‌وتحلیل آماری

جهت تجزیه‌وتحلیل داده‌های حاصل از تحقیق، طرح با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. داده‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون مقایسه میانگین دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ مقایسه شد. در مورد مقایسه دوتایی نیز از آزمون مقایسه میانگین دو جامعه مستقل (Independent Samples t-Test) در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

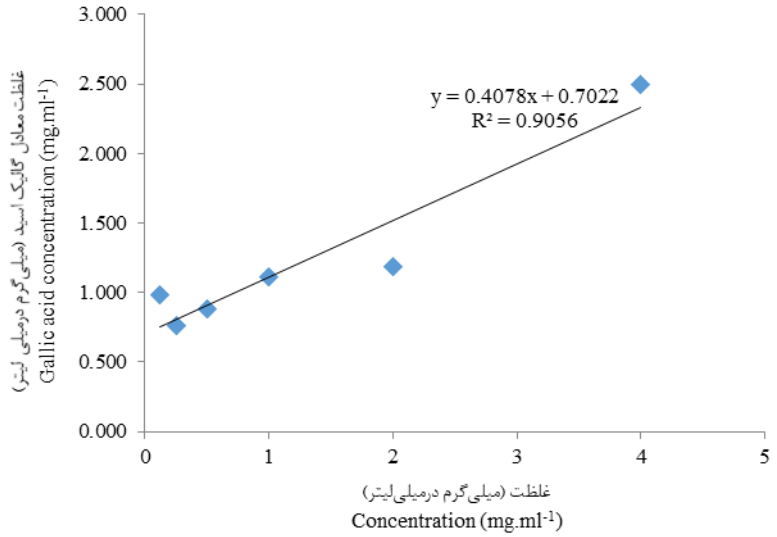
نتایج

تعیین میزان ترکیبات فنلی

نتایج بررسی میزان محتوای فنلی عصاره گیاه کلیر و پنیرباد در غلظت‌های مختلف در شکل زیر آمده است. میزان ترکیبات فنلی در دو عصاره به روش رنگ‌سنجی فولین سیوکالتو از متداول‌ترین روش‌های اندازه‌گیری محتوای فنلی انجام شد. جذب نمونه‌ها با قرار دادن نمونه‌ها در دستگاه اسپکتوفتومتر با طول‌موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد و منحنی استاندارد با استفاده از گالیک اسید با رابطه، $y = 0.049 x + 0.00117$ ،R^2 0.96 = رسم شد. غلظت‌های معادل گالیک اسید برای هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید و معادله خط آن، به‌دست آمد.

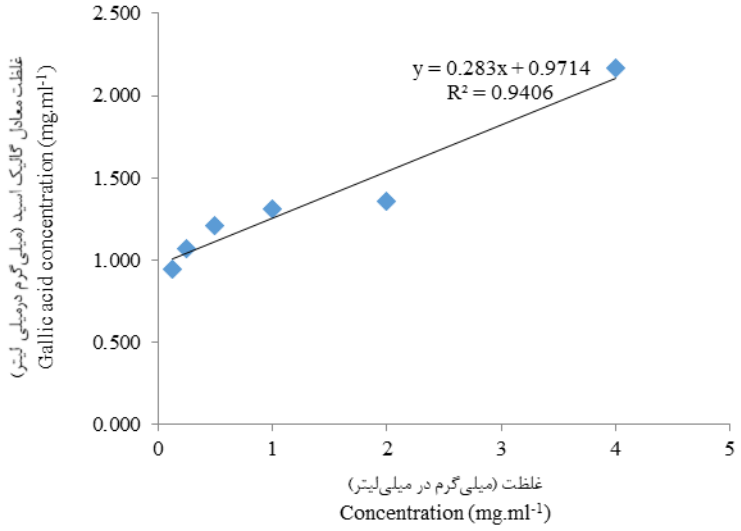
1. Zhou
2. Owuama
3. Thuy

هم‌چنین نتایج بررسی محتوای فنلی در غلظت‌های مختلف عصاره پنیرباد نشان داد که در غلظت ۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر این عصاره مقدار ترکیبات فنلی ۰/۰۰۲میلی‌گرم در میلی‌لیتر گالیک اسید است که در شکل ۴ آمده است.



شکل ۴: روند تغییرات محتوای فنلی درغلظت‌های مختلف عصاره پنیرباد

Fig. 4: Changes in the phenolic content in different concentrations of *Withania somnifera* extract



شکل ۵: روند تغییرات محتوای فنلی درغلظت‌های مختلف عصاره کلیر

Fig. 5: Changes in the phenolic content in different concentrations of *Capparis decidua* extract

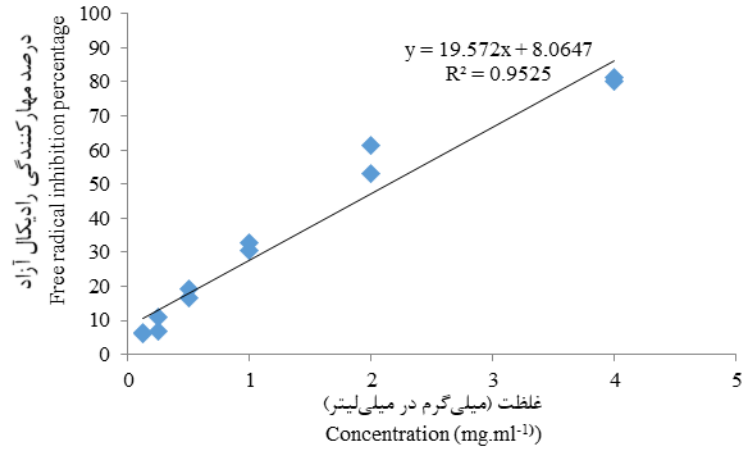
در بررسی میزان ترکیبات فنلی در غلظت‌های مختلف گیاه کلیر هم نتایج به‌دست آمده در جدول ۳ و شکل ۵ آمده است که نشان می‌دهد در بالاترین غلظت عصاره (۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) میزان ترکیبات فنلی ۰/۰۰۲میلی‌گرم در میلی‌لیتر گالیک اسید است.

نتایج تعیین خاصیت مهار رادیکال آزاد

خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاهان به روش درصد مهار رادیکال آزاد ABTS موردبررسی قرار گرفت. اساس کار این روش مهار رادیکال آزاد نسبتاً پایدار سبز-آبی است که نهایتاً بی‌رنگ شد. میزان و شدت رنگ کاهش یافته مقدار رادیکال ABTS را نشان داد که توسط آنتی‌اکسیدان مهار شده و مقدار آن با دستگاه الایزا اندازه‌گیری شد و نتایج به‌دست‌آمده بر اساس درصد مهارکنندگی رادیکال ABTS به‌صورت جدول و نمودار در زیر آمده است.

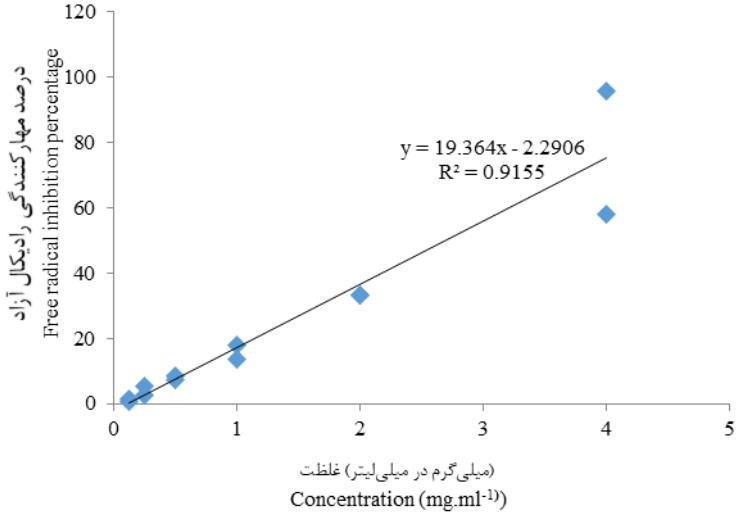
ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره پنیرباد هم در غلظت‌های مختلف موردبررسی قرار گرفت و درصد مهارکنندگی این عصاره در شکل ۶ مشاهده شد.

بررسی درصد مهارکنندگی عصاره کلیر در غلظت‌های مختلف بررسی شد و نتایج حاصله نشان داد که با افزایش غلظت عصاره، درصد مهارکنندگی هم افزایش می‌یابد. ظرفیت آنتی‌اکسیدان در غلظت‌های مختلف عصاره کلیر در شکل ۷ نشان داده شده است.



شکل ۶: روند تغییرات ظرفیت انتی‌اکسیدان در غلظت‌های مختلف عصاره پنیرباد

Fig. 6: Changes in antioxidant capacity in different concentrations of *Withania somnifera* extract



شکل ۷: روند تغییرات ظرفیت آنتی‌اکسیدان در غلظت‌های مختلف عصاره کلیر

Fig. 7: Changes in antioxidant capacity in different concentrations of *Capparis decidua* extract

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره پنیرباد و کلیر در غلظت‌های مختلف، مشخص شد که عصاره پنیرباد دارای (IC50=2.14) و عصاره کلیر با (IC50=2.45) دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند.

بررسی قابلیت مهارکنندگی آنزیم لیپاز

مهارکننده‌های آنزیم لیپاز می‌توانند باعث شوند که آنزیم لیپاز بخشی از توانایی تجزیه را از دست بدهد و می‌تواند چربی ورودی به خون را از منبع کنترل کند تا اثر کاهش چربی را به‌وجود آورد. نتایج حاصله از بررسی میزان مهارکنندگی آنزیم لیپاز در غلظت‌های مختلف عصاره‌ها در جدول زیر آمده است. نتایج حاصله از این بررسی نشان داد که عصاره پنیرباد و کلیر در مهارکنندگی آنزیم لیپاز مؤثر هستند (جدول ۲).

بررسی خاصیت ضدمیکروبی عصاره‌ها

بررسی خاصیت ضدمیکروبی عصاره پنیرباد و کلیر به روش قطر هاله عدم رشد انجام شد. نتایج بررسی تأثیر عصاره پنیرباد و کلیر بر روی باکتری *سودوموناس آئروژینوزا*، *استرپتوکوکوس موتانس* و *مخمرکاندیدا آلبیکنس* در جداول شماره ۳ و۴ و ۵ و اشکال شماره ۸ و ۹ آمده است.

تأثیر عصاره‌ها بر باکتری *سودوموناس آئروژینوزا*، مخمر *کاندیدا آلبیکنس* و باکتری *استرپتوکوکوس موتانس*

بر اساس نتایج به‌دست آمده از بررسی میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره پنیرباد و کلیر در برابر باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* که در جدول ۳ آمده است، قطر هاله عدم رشد در نمونه‌ها باهم اختلاف معنی‌دار داشتند ($P<۰/۰۵$). نتایج به‌دست آمده از خاصیت ضدمیکروبی عصاره پنیرباد در برابر باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* نشان داد که این عصاره تأثیری مثبت در برابر عدم رشد این باکتری دارد. هم‌چنین بی‌تأثیر بودن و کم‌ترین قطر هاله عدم رشد مربوط به عصاره کلیر در برابر باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* مشاهده شد ($P<۰/۰۵$).

تأثیر عصاره پنیرباد و کلیر بر مخمر *کاندیدا آلبیکنس* هم در جدول ۳ مشاهده می‌شود عصاره کلیر خاصیت ضدمیکروبی داشت اما عصاره پنیرباد هیچ تأثیری بر روی مخمر *کاندیدا آلبیکنس* نداشت. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از بررسی میانگین قطر هاله عدم رشد در نمونه‌ها، قطر هاله عدم رشد در عصاره کلیر و عصاره پنیرباد باهم اختلاف معنی‌دار داشتند ($P<۰/۰۵$).

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از بررسی میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره پنیرباد و کلیر در برابر باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* که در جدول زیر آمده است، قطر هاله عدم رشد در نمونه‌ها باهم اختلاف معنی‌دار داشتند ($P<۰/۰۵$). بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، هر دو عصاره در برابر باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* تأثیرگذار بودند. اما عصاره کلیر در برابر باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* تأثیر قابل مشاهده‌ای از خود نشان داده است. این عصاره بیش‌ترین هاله عدم رشد در برابر باکتری موتانس ایجاد کرده است ($P<۰/۰۵$).

جدول ۲: میزان مهارکنندگی آنزیم لیپاز عصاره پنیرباد، کلیر

Table 2: The lipase enzyme inhibitory level of *Withania somnifera* extract, *Capparis decidua*

نمونه Sample	غلظت (میلی‌گرم در میلی‌لیتر) Concentration ($mg.ml^{-1}$)	مهار آنزیم لیپاز (درصد) Lipase Inhibitory Activity (percentage)
Withania somnifera extract	4	73.39 ± 0.02^{a}
Capparis decidua extract	4	62.23 ± 0.05^{b}

حروف کوچک غیرمشابه در یک ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهد

Different small letters in each column indicate significant differences ($P<0.05$)

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)

جهت تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از روش میکرودایلوشن استفاده شد و نتایج بررسی خاصیت ضدمیکروبی عصاره‌ها بر روی *سودوموناس آئروژینوزا*، *کاندیدا آلبیکنس* و *استرپتوکوکوس موتانس* از روش حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظتی که در آن رشدی مشاهده نشده در جدول زیر آمده است. حداقل غلظت عصاره پنیرباد در برابر باکتری *موتانس* 0.625 ± 0.001 میلی‌گرم در میلی‌لیتر و حداقل غلظتی که در آن باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* هیچ رشدی نداشته است برابر 1.25 ± 0.001 میلی‌گرم در میلی‌لیتر است. هم‌چنین این عصاره بر مخمر *کاندیدا* هیچ تأثیری از خود نشان نداد. این نتایج به‌دست آمده در جدول ۴ نشان داده شده است.

جدول ۳: خاصیت ضدمیکروبی عصاره پنیرباد و کلیر با غلظت ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در برابر باکتری *استرپتوکوکوس موتانس*، مخمر *کاندیدا آلبیکنس*، باکتری *سودوموناس آئروژینوزا*

Table 3: Antimicrobial properties of *Withania somnifera* and *Capparis decidua* extracts with Concentration ($5\ mg.ml^{-1}$) against *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*

نمونه Sample	قطر هاله بازدارنده (میلی‌متر) Inhibitory halo diameter (mm)		
	Pseudomonas aeruginosa	*Candida albicans*	*Streptococcus mutans*
Withania somnifera extract	10.10 ± 0.14^{Ab}	0.000 ± 0.00^{Bc}	12.1500 ± 0.07^{Ba}
Capparis decidua extract	0.00 ± 0.00^{Bc}	10.150 ± 0.07^{Ab}	22.1000 ± 0.14^{Aa}

حروف بزرگ غیرمشابه در یک ستون و حروف کوچک غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهد

Different capital letters in each column and different small letters in each row indicate significant differences ($P<0.05$)

جدول ۴: حداقل غلظت بازدارندگی (میلی‌گرم در میلی‌لیتر) عصاره پنیرباد و عصاره کلیر در برابر باکتری *استرپتوکوکوس موتانس*، مخمر *کاندیدا آلبیکنس*، باکتری *سودوموناس آئروژینوزا*

Table 4: The The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) (mg.ml^{-1}) of *Withania somnifera*, *Capparis decidua* extract against *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*

Streptococcus mutans	*Candida albicans*	*Pseudomonas aeruginase*	نمونه Sample
0.625±0.001^{Ba}	0.000±0.00^{Bc}	1.25±0.001^{Ab}	*Withania somnifera*
0.039±0.001^{Aa}	2.50±0.001^{Ab}	0.000±0.00^{Bc}	*Capparis decidua*

حروف بزرگ غیرمشابه در یک ستون و حروف کوچک غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهد

Different capital letters in each column and different small letters in each row indicate significant differences (P<0.05)

حداقل غلظت بازدارندگی عصاره کلیر در برابر باکتری *موتانس* 0.039±0.001 میلی‌گرم در میلی‌لیتر و در برابر مخمر *کاندیدا آلبیکنس* 2.50±0.001 میلی‌گرم در میلی‌لیتر است، هم‌چنین این عصاره بر *باکتری سودوموناس آئروژینوز* هیچ تأثیری از خود نشان نداد.

تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC)

نتایج حداقل غلظت کشندگی عصاره گیاه پنیرباد و کلیر بر روی *سودوموناس آئروژینوزا*، *کاندیدا آلبیکنس* و *استرپتوکوکوس موتانس* در شکل‌ها و جدول زیر نشان داده شده است. میزان غلظت مؤثره عصاره پنیرباد در برابر باکتری *سودوموناس آئروژینوز* 1.25±0.001 میلی‌گرم در میلی‌لیتر و در برابر مخمر *کاندیدا آلبیکنس* بی‌اثر و در برابر باکتری *موتانس* 0.625±0.001 میلی‌گرم در میلی‌لیتر است. این نتایج نشان می‌دهد که این عصاره بر باکتری *موتانس* و باکتری *سودوموناس آئروژینوز* تأثیرگذار است.

میزان غلظت مؤثره عصاره کلیر در برابر باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* 0.039±0.001 میلی‌گرم در میلی‌لیتر و در برابر مخمر *کاندیدا آلبیکنس* 2.50±0.001 میلی‌گرم در میلی‌لیتر و در برابر باکتری *سودوموناس آئروژینوز* بی‌اثر است. این نتایج نشان می‌دهد که این عصاره بر باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* و مخمر *کاندیدا آلبیکنس* تأثیرگذار است. در شکل ۹ حداقل غلظت کشندگی عصاره کلیر در برابر باکتری *استرپتوکوکوس موتانس*، *سودوموناس آئروژینوز*، *کاندیدا آلبیکنس* نشان داده شده است.

در شکل ۸ حداقل غلظت کشندگی عصاره پنیرباد در برابر باکتری *موتانس*، *سودوموناس آئروژینوز*، *کاندیدا آلبیکنس* نشان داده شده است.

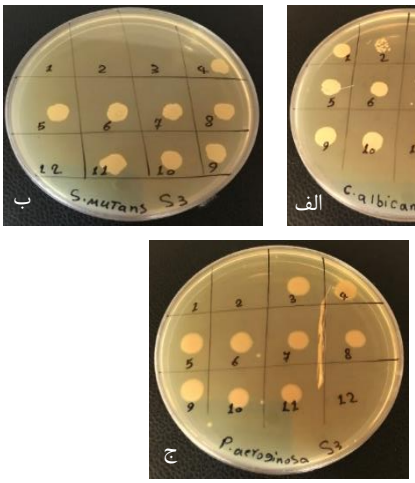
جدول ۵: حداقل غلظت کشندگی (میلی‌گرم در میلی‌لیتر) عصاره پنیرباد و عصاره کلیر در برابر باکتری *استرپتوکوکوس موتانس*، مخمر *کاندیدا آلبیکنس*، باکتری *سودوموناس آئروژینوزا*

Table 5: The Minimum Bactericidal Concentration (MBC) (mg.ml^{-1}) of *Withania somnifera* and *Capparis decidua* extract against *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*

Streptococcus mutans	*Candida albicans*	*Pseudomonas aeruginase*	نمونه Sample
0.625±0.001^{Ba}	0.000±0.00^{Bc}	1.25±0.001^{Ab}	*Withania somnifera*
0.039±0.001^{Aa}	2.50±0.001^{Ab}	0.000±0.00^{Bc}	*Capparis decidua*

حروف بزرگ غیرمشابه در یک ستون و حروف کوچک غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهد.

Different capital letters in each column and different small letters in each row indicate significant differences (P<0.05).



شکل ۸: حداقل غلظت کشندگی عصاره پنیرباد در برابر الف) مخمر *کاندیدا البیکنس*، ب) باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* و ج) *سودوموناس ائروژینوزا*

Fig. 8: Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of *Withania somnifera* extract against A) *Candida albicans* yeast, B) *Streptococcus mutans* bacteria and C) *Pseudomonas aeruginosa*

بررسی قابلیت مهارکنندگی *هلیکوباکتر پیلوری*

بررسی قابلیت مهارکنندگی *هلیکوباکترپیلوری* با استفاده از مهار آنزیم اوره انجام شد. نتایج مهارکنندگی *هلیوباکترپیلوری* توسط غلظت‌های مختلف عصاره پنیرباد و کلیر در جدول زیر آمده است. این قابلیت در دو عصاره به میزان چشم‌گیری قابل مشاهده بود. نتایج حاصله در جدول ۶ آمده است و نشان می‌دهد که بیش‌ترین میزان مهارکنندگی *هلیکوباکتر* مربوط به عصاره کلیر در غلظت ۴۰۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر حدود ۹۴/۳۲ درصد است که نتیجه مطلوبی است.

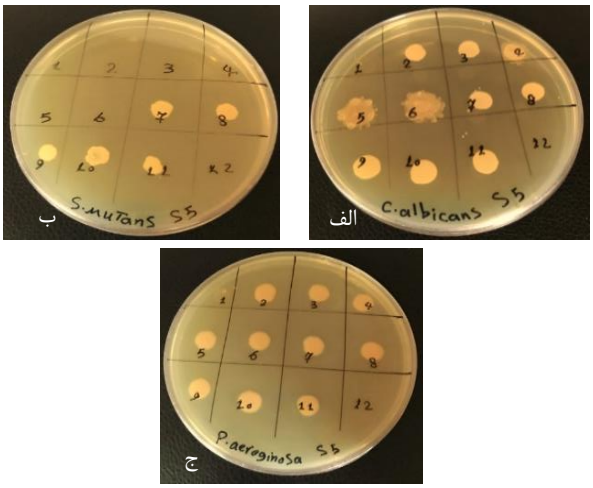
جدول ۶: مهارکنندگی *هلیکوباکتر پیلوری* عصاره پنیرباد و کلیر

Table 6: Inhibition of Helicobacter pylori of *Withania somnifera* and *Capparis decidua* extracts

نمونه Sample	غلظت عصاره (میلی‌گرم در میلی‌لیتر) Concentration extract ($mg.ml^{-1}$)	درصد بازدارندگی Inhibition percentage
Withania somnifera extract	4	94.00±0.11[a]
Capparis decidua extract	4	94.32±0.12[a]

حروف کوچک غیرمشابه در یک ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهد

Different small letters in each column indicate significant differences (P<0.05)



شکل ۹: حداقل غلظت کشندگی عصاره کلیر در برابر الف) مخمر *کاندیدا البیکنس*، ب) باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* و ج) *سودوموناس ائروژینوزا*

Fig. 9: Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of *Capparis decidua* extract against A) *Candida albicans* yeast, B) *Streptococcus mutans* bacteria and C) *Pseudomonas aeruginosa*

بحث

میزان ترکیبات فنلی

یکی از مهم‌ترین ترکیبات موجود در گیاهان ترکیبات فنلی هستند که با به دام انداختن رادیکال‌های آزاد و مهارکردن یون‌های فلزی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند. گیاهان یکی از غنی‌ترین منابع ترکیبات فنلی هستند که به دلیل وجود این ترکیبات به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی مورداستفاده قرار می‌گیرند. نتایج بررسی میزان محتوای فنلی عصاره گیاه کلیر و پنیرباد در غلظت‌های مختلف براساس گالیک اسید نشان داد که میزان ترکیبات فنلی عصاره‌ها با غلظت آن‌ها رابطه مستقیم دارد و هرچه میزان غلظت عصاره‌ها بیش‌تر می‌شود، میزان ترکیبات فنلی هم افزایش می‌یابد که به دلیل حضور بیش‌تر محتوای فنلی مانند اسیدهای فنلی، فلاونوئیدها و تانن‌ها است. نتایج به‌دست‌آمده با یافته‌های گزارش شده از *استانکویک*[1] و همکاران (2011) مطابقت دارد. آن‌ها محتوای فنلی کل و غلظت فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه مریم نخودی را بررسی کردند و به این نتیجه دست یافتند که با افزایش میزان غلظت عصاره مریم نخودی میزان ترکیبات فنلی افزایش می‌یابد. پژوهش‌های دیگری که توسط نعمت شاهی و همکاران (۱۴۰۰) بر روی برگ گیاه به‌لیمو انجام شد و میزان ترکیبات فنلی این گیاه موردبررسی قرار گرفت. آن‌ها محتوای فنلی برگ گیاه به‌لیمو را موردبررسی قرار دادند و به نتایج مشابهی دست یافتند که نشان می‌دهد با افزایش غلظت عصاره برگ به‌لیمو، میزان ترکیبات فنلی افزایش معنی‌داری پیدا می‌کند. این نتایج به‌دست‌آمده با نتایج سایر تحقیقات ازجمله ادیب فرد و همکاران (۱۳۹۰) با موضوع ارزیابی میزان خواص آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل تام برخی از سبزیجات مصرفی شهر یاسوج و هم‌چنین با نتایج ساده میری و همکاران (۱۳۹۴) در مورد اندازه‌گیری فنول تام آنتوسیانین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در پریکارب میوه کدو رقم قزوینی و تحقیقات صبورا و همکاران (۱۳۹۱)، شاهی و همکاران (۱۳۹۵)، مطابقت دارد.

در پی تحقیقات انجام شده توسط *خیا*[2] و همکاران (2020) در مورد گیاه مریم‌گلی و بررسی میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه، آن‌ها بیان کردند که با افزایش میزان غلظت عصاره مریم‌گلی، میزان ترکیبات فنلی نیز افزایش می‌یابد. آن‌ها چنین استنباط کردند که با افزایش غلظت عصاره، میزان ترکیباتی مانند اسید اسکوربیک، اسیدگالیک، اسید ۴- هیدروکسی بنزوئیک، اسید تانیک و روتین افزایش می‌یابد و این دلیل افزایش میزان ترکیبات فنلی است.

در پژوهش حاضر روند تغییرات محتوای فنلی در غلظت‌های مختلف عصاره پنیرباد و عصاره کلیر موردبررسی قرار گرفت. نتایج به‌دست آمده با نتایج حاصل از تحقیقات محققین دیگر مطابقت دارد. نتایج حاصله از آزمون محتوای ترکیبات فنلی نشان داد که ارتباط مثبت و معنی‌داری بین غلظت‌های عصاره و میزان ترکیبات فنلی وجود دارد. هم‌چنین میزان ترکیبات فنلی در غلظت‌های اولیه نمونه حاوی عصاره، بالا می‌باشد و با کاهش غلظت عصاره موجود در نمونه، میزان ترکیبات فنلی هم کاهش می‌یابد. هم‌چنین بررسی میزان ترکیبات فنلی این دو گیاه و مقایسه میزان ترکیبات فنلی آن‌ها باهم نشان داد که بیش‌ترین میزان ترکیبات فنلی در عصاره گیاه پنیرباد وجود دارد (۲/۴۹۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر گالیک اسید).

نتایج خاصیت مهار رادیکال آزاد

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که به‌منظور خنثی کردن رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از فعالیت مخرب آن‌ها در بدن انسان و هم‌چنین مواد غذایی مورداستفاده قرار می‌گیرند. این ترکیبات با دادن اتم هیدروژن به رادیکال آزاد، از اکسیداسیون جلوگیری می‌کند. یکی از بهترین ترکیبات آنتی‌اکسیدان، ترکیبات فنلی هستند که به‌خوبی هیدروژن اهدا می‌کنند و نقش مهمی در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد ایفا می‌کنند که این خاصیت به گروه‌های آروماتیک و هیدورکسیل فراوان موجود در ساختارشان مربوط می‌شود.

خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاهان به روش درصد مهار رادیکال آزاد ABTS موردبررسی قرار گرفت. اساس کار این روش مهار رادیکال آزاد نسبتاً پایدار سبز-آبی است که نهایتاً بی‌رنگ شد. میزان و شدت رنگ کاهش یافته مقدار رادیکال ABTS را نشان داد که توسط آنتی‌اکسیدان مهار شده و مقدار آن با دستگاه الایزا اندازه گیری شد. در پژوهش حاضر با بررسی نتایج به‌دست آمده مشخص شد که با افزایش غلظت عصاره گیاه، ترکیبات حاوی گروه‌های هیدروکسیل موجود در عصاره افزایش می‌یابد که این امر موجب بالا رفتن احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال آزاد و به دام‌اندازی رادیکال آزاد و افزایش قدرت مهارکنندگی عصاره می‌شود.

این نتایج به‌دست آمده با نتایج گزارش شده توسط سیدعلی‌پور و همکاران (۱۳۹۵) با موضوع رابطه بین غلظت عصاره گیاه و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، محتوی فنول و فلاونوئید تام عصاره‌های بخش هوای گیاه فراسیون آسای کجوری، و علیزاده و همکاران (۱۳۹۹) با موضوع مطالعه ترکیبات فعال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پسماند باقی‌مانده از اسانس و گلاب‌گیری ۲۴ جمعیت گل محمدی آذربایجان شرقی و غربی،

1. Stankovic
2. Khiya

مطابقت دارد. نتایج حاصله از بررسی آن‌ها نشان داد که با افزایش غلظت عصاره، درصد مهارکنندگی هم افزایش می‌یابد.

چاوس[1] و همکاران (2020) در بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی دوازده گونه گیاه به این نتیجه رسیدند که با افزایش غلظت عصاره، میزان ترکیبات فنلی نیز افزایش می‌یابد و همین امر باعث افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود.

بر اساس نتایج به‌دست آمده از بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره پنیرباد و کلیر در غلظت‌های مختلف، مشخص شد که عصاره پنیرباد دارای (IC50=2139.55) و عصاره کلیر با (IC50=2459.24) دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند. کم‌ترین غلظتی از آنتی‌اکسیدان که اثر ممانعت‌کنندگی ۵۰ درصد رادیکال آزاد (IC_{50}) (Maximal Inhibitory Concentration Half) را دارد به گیاه پنیرباد مربوط می‌شود که نشان‌دهنده بیش‌ترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه است.

قابلیت مهارکنندگی آنزیم لیپاز

لیپازها نوعی گلیکوپروتئین هستند که در بدن اغلب جانوران یافت می‌شوند. آن‌ها دسته مهمی از آنزیم‌ها هستند که در صنعت پزشکی و صنایع دیگر کاربرد فراوانی دارند. مهارکننده‌های آنزیم لیپاز نقش کلیدی در متابولیسم چربی انسان ایفا می‌کند. چربی موجود در منبع غذایی را به مولکول‌های کوچک گلیسرول و اسیدهای چرب تجزیه می‌کند که بدن می‌تواند جذب کند و در متابولیسم شرکت کند. مهارکننده‌های آنزیم لیپاز می‌توانند باعث شوند که آنزیم لیپاز بخشی از توانایی تجزیه را از دست بدهد و می‌تواند چربی ورودی به خون را از منبع کنترل کند تا اثر کاهش چربی را به وجود آورد.

حبیبی و همکاران (۱۳۹۲) به بررسی مهارکننده‌های لیپازی پرداختند و گزارش کردند که یکی از ترکیبات مهارکننده لیپاز، ترکیبات ترپنی هستند که در گیاهان بافت می‌شوند. هم‌چنین *لئو*[2] و همکاران (2020) به بررسی مهارکننده‌های لیپازی پرداختند و به نتایج مطلوبی ازجمله معرفی ترکیبات حاوی پلی‌فنل‌ها و فلاونوئیدها به‌عنوان مواد مؤثر برای مهار فعالیت لیپاز در عصاره گیاهان رسیدند.

نتایج حاصله از این بررسی نشان داد که منابع طبیعی رایج مهارکننده‌های لیپاز حاوی مواد فعالی ازجمله پلی فنل‌ها، فلاونوئیدها، ساپونین‌ها، ترپنوئیدها، آلکالوئیدها و سایر مواد فعال هستند. گروه‌های متیل، بوتنیل و فنل هیدروکسیل نیز به‌عنوان گروه‌های تعیین‌کننده فعالیت مهم هستند. در بررسی عصاره پنیرباد و کلیر مشخص شد که عصاره پنیرباد و کلیر در مهارکنندگی آنزیم لیپاز مؤثر هستند. به‌طورکلی می‌توان گفت عصاره کلیر (۹۴/۳۲ درصد) بیش‌ترین خاصیت مهارکنندگی آنزیم لیپاز را دارا می‌باشد.

خاصیت ضدمیکروبی عصاره‌ها

عصاره‌های گیاهی زیادی به‌عنوان ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی برای کنترل باکتری‌های بیماری‌زا و نیز افزایش ماندگاری غذاهای فراوری شده در صنایع غذایی مورداستفاده قرار می‌گیرند.

عصاره‌ها حاوی ترکیبات فنلی هستند که همراه با ساپونین و فلاونوئیدها دارای خواص ضدمیکروبی هستند. وجود این ترکیبات در عصاره‌ها باعث شده که به‌عنوان نگهدارنده و آنتی‌اکسیدان طبیعی در صنایع غذایی و دارویی مورداستفاده قرار بگیرند.

شهنیا و همکاران (۱۳۹۱) به بررسی ترکیبات موجود در عصاره‌های به‌دست آمده از گیاهان دارویی پرداختند و گزارش کردند که این ترکیبات دارای خواص ضدمیکروبی بوده و به‌عنوان منبع مواد ضدمیکروبی در مقابل میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا عمل می‌کنند. با در نظر گرفتن اثرات ضدمیکروبی مؤثر عصاره‌های گیاهی، می‌توان از آن‌ها به‌عنوان جایگزین مواد شیمیایی ضدمیکروبی در صنایع غذایی استفاده کرد. هم‌چنین فاضلی و همکاران (۱۳۹۸) در ارزیابی ارتباط بین خواص آنتی‌اکسیدانی و خاصیت میکروبی عصاره‌های ۹ گیاه به این نتیجه رسیدند که با افزایش غلظت عصاره، خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره و هم‌چنین خاصیت ضدمیکروبی عصاره بیش‌تر می‌شود. به‌طورکلی آن‌ها دریافتند گیاهانی که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی هستند، خاصیت ضدمیکروبی بالایی هم دارند.

این نتایج با گزارشات جلالی و همکاران (۱۳۹۶) که اثر ضدمیکروبی عصاره گیاه سگ دندان خاردار را بررسی کردند مطابقت دارد.

همگ[3] و همکاران (2020) به بررسی اثرات ضدمیکروبی عصاره اتانولی پنج گیاه برگ‌های گواوا، مریم گلی، ارجنگ، توت و زیتون در برابر تعدادی از میکروب‌های گرم مثبت، گرم منفی پرداختند. این گیاهان هم به دلیل وجود ترکیبات مؤثر در عصاره آن‌ها، دارای خاصیت ضدمیکروبی هستند.

1. Chaves
2. Liu
3. Hemeg

گونلیمالی[1] و همکاران (2018) خواص ضدمیکروبی و مکانیسم عمل عصاره گیاه گل رز، رزماری، میخک و آویشن بر روی برخی از پاتوژن‌های غذایی را بررسی کردند و اعلام کردند که عصاره‌های گیاهی به‌عنوان ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی ارزش زیادی دارند و می‌توان به‌عنوان نگهدارنده مواد غذایی از آن‌ها استفاده کرد.

در این پژوهش خاصیت ضدمیکروبی عصاره پنیرباد و کلیر به روش قطر هاله عدم رشد بر روی باکتری *سودوموناس آئروژینوزا*، *استرپتوکوکوس موتانس* و *مخمرکاندیدا آلبیکنس* انجام شد که در این بررسی، قطر هاله عدم رشد عصاره پنیرباد در برابر باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* بیش‌ترین قطر را داشت که نسبت به عصاره دیگر نتیجه بهتری از خود نشان داده است. نتایج به‌دست آمده از خاصیت ضدمیکروبی پنیرباد در برابر باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* نشان داد که این عصاره تأثیری مثبت در برابر عدم رشد این باکتری دارد. هم‌چنین کم‌ترین قطر هاله عدم رشد در عصاره پنیرباد در برابر مخمر *کاندیدا آلبیکنس* قابل مشاهده است اما عصاره کلیر در برابر مخمر کاندیدا آلبیکنس خاصیت ضدمیکروبی دارد. در آخرین بررسی میکروبی، عصاره‌ها در برابر باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* تأثیرگذار بودند. اما عصاره کلیر در برابر باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* تأثیر قابل مشاهده‌ای از خود نشان داده است. این عصاره بیش‌ترین هاله عدم رشد در برابر باکتری استرپتوکوکوس موتانس ایجاد کرده است و کم‌ترین هاله عدم رشد به عصاره پنیرباد مربوط است.

با توجه به نتایج این پژوهش خاصیت ضدمیکروبی عصاره پنیرباد و کلیر روی باکتری‌های گرم مثبت بیش‌تر از باکتری‌های گرم منفی بود که این به دلیل ساختار سلولی باکتری‌ها است. به دلیل وجود ترکیبات فنلی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در عصاره گیاهان موردبررسی، این گیاهان بر روی غشاء سلولی باکتری‌ها اثر می‌گذارند و باعث افزایش نفوذپذیری غشای سلول و تورم آن می‌شوند. لازم به‌ذکر است که این نتایج تحت‌تأثیر عواملی مانند روش استخراج عصاره، pH محیط، مدت زمان و دمای انکوباتور، محیط مورداستفاده برای رشد میکروارگانیسم‌ها، دستخوش تغییر است.

حداقل غلظت کشندگی (MBC)

بررسی نتایج حداقل غلظت کشندگی عصاره گیاه پنیرباد و کلیر بر روی *سودوموناس آئروژینوزا*، *کاندیدا آلبیکنس* و *استرپتوکوکوس موتانس* نشان داد که میزان غلظت مؤثره عصاره پنیرباد در برابر باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* ۰/۶۲۵میلی‌گرم در میلی‌لیتر و در برابر مخمر *کاندیدا آلبیکنس* بی‌اثر و در برابر باکتری *سودوموناس آئروژینوز* ۱/۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر است. این نتایج نشان می‌دهد که این عصاره بر باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* و باکتری *سودوموناس آئروژینوز* تأثیرگذار است. میزان غلظت مؤثره عصاره کلیر در برابر باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* ۰/۰۳۹ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و در برابر مخمر *کاندیدا آلبیکنس* ۲/۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و در برابر باکتری *سودوموناس آئروژینوز* بی‌اثر است. این نتایج نشان می‌دهد که این عصاره بر باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* و *کاندیدا آلبیکنس* تأثیرگذار است. در تحقیق انجام شده توسط شرافتی و همکاران (۱۳۹۰) تفاوت اثر کشندگی تحت‌تأثیر عوامل متعددی مانند میزان عصاره گیاه، نوع محیط‌کشت، غلظت عصاره می‌باشد. آن‌ها بیان کردند که میزان ترکیبات فنلی، بر روی خاصیت ضدمیکروبی عصاره تأثیرگذار است و به همین دلیل با کاهش غلظت عصاره، میزان کشندگی هم کاهش می‌یابد.

نتیجه‌گیری

استفاده از افزودنی‌ها و نگهدارنده‌ها در محصولات غذایی زمانی توجیه‌پذیر است که برای مصرف‌کننده مضر نباشد. برخی از نگهدارنده‌ها شیمیایی برای انسان مضر بوده به‌عنوان مواد سرطان‌زا طبقه‌بندی می‌شوند. با افزایش آگاهی مردم نسبت به نگهدارنده‌های شیمیایی تمایل به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی مواد غذایی به‌ویژه عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی رشد چشم‌گیری داشته است. با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره گیاه کلیر و پنیرباد، می‌توان از عصاره این گیاهان به‌عنوان نگهدارنده و آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در صنایع غذایی استفاده کرد.

1. Gonelimali

منابع

احمدی، ن.، الهامیراد، ع.، غلامرضا، م.، مریدی، م. و آرمین، م. ۱۳۹۶. استخراج با کمک اولتراسوند عصاره آنتی‌اکسیدانی از ضایعات کاهو (*Lactuca sativa* L.) و ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی. فناوری غذایی و تغذیه، ۱۴ (۲): ۲۱-۳۸.

ادیب فرد، ع.، میرزایی، ع.، حاج حسینی، ر. و صادقی، ح. ۱۳۹۷. ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنل کل برخی سبزیجات مصرفی در شهر یاسوج. مجله ارمغان دانش، ۱۶ (۵): ۴۵۳.

جلالی، م.، اصغری، غ.، عابدی، د. و رضایی، ز. ۱۳۹۵. بررسی اثر ضدمیکروبی چند نوع عصاره میوه *Pycnocycla spinosa*. مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ۱۷ (۵۹):۷۶-۸۶.

خلیلی، س.، مددکار سبحانی، ع.، هلالی، ع.، لاریجانی، ب. و ابراهیم حبیبی، ع. ۱۳۹۲. مطالعه مدل‌سازی مولکولی و آزمایشگاهی مهارکننده‌های پیشنهادی آنزیم لیپاز. مجله دیابت و چربی ایران، ۴: ۳۳۱-۳۳۹.

ساده میرنژاد، س.، لاری. ه. و عرب، آ. ۱۳۹۴. اندازه‌گیری فنل کل آنتوسیانین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در پریکارپ میوه کدو تنبل قزوینی. سومین همایش ملی موضوعات نوین در کشاورزی.

سیدعلی پور، ب.، حسنی، ع.، ابراهیم زاده، م. و طراوتی، ع. ۱۳۹۴. فعالیت آنتی‌اکسیدانی، محتوای فلاونوئید کل و فنلی کل عصاره‌های بخش هوای گیاه فراسیون آسای کجوری با استفاده از سه روش پرکلاسیون، اولتراسونیک و پلی فنولیک. دوماهنامه فیض، ۲۰ (۲): ۱۵۶-۱۴۷.

شرافتی، ر.، شرافتی، ف.، رفیعان، م. و اشرفی، ک. ۱۳۹۷. ترکیبات فنلی مغز گردو اتانولی و اثر ضدمیکروبی آن. مجله علمی- پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ۱۹ (۴): ۵۲۵-۵۳۲.

شهنیا، م. و خاکسار، ر. ۱۳۹۲. بررسی اثرات ضدمیکروبی و روش‌های تعیین غلظت بازدارندگی اسانس‌های گیاهی بر باکتری‌های پاتوژن. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، ۷ (۵): ۹۴۹-۹۵۵.

صبورا، ع.، احمدی، ع.، زینالی، ع. و پارسا، م. ۱۳۹۳. مقایسه محتوای ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندام‌های هوایی دو جمعیت گیاه صفحه بشقابی سنبله‌ای در شمال ایران. مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، ۱۳: ۲۴۹-۲۶۶.

فاضلی نسب، ب.، مشتاقی، ن. و فروزنده، م. ۱۳۹۷. بررسی اثر حلال استخراجی بر میزان فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی برخی از گیاهان دارویی بومی ایران. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ۲۷ (۳): ۱۴-۲۶.

لشکری زاده بمی، ش.، سرحدی، ح. و صفرزی، ع. ۱۳۹۸. تهیه و بررسی عصاره‌های *Withania somnifera* بر خواص فیزیکوشیمیایی، ضدمیکروبی و مکانیکی فیلم‌های خوراکی بر پایه نشاسته ساگو. مجله علوم و صنایع غذایی، ۱۷ (۱۰۲): ۱۴۵-۱۶۰.

نعمت شاهی، م.، الهامی راد، ع.، نعمت شاهی، ن. و استیری، ح. ۱۴۰۰. بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و شناخت ترکیبات شیمیایی عصاره‌های برگ گیاه پرسیاوشان (*Adiantum capillus-veneris*). مجله نوآوری در علوم و صنایع غذایی، ۱۳ (۱): ۱۵-۲۹.

Anthony, J. P., Fyfe, L. and Smith, H. 2011. Plant active components. A resource for antiparasitic agents Trends in Parasitol. Journal Microbiology and Biotechnology, 3 (21): 462-468.

Campêlo, M., Medeiros, J. and Silva, J. 2019. Natural products in food preservation. International Food Research Journal, 26 (1): 41-46.

Chaabane, M., Maktouf, S., Nadhem, S., Soumaya, Z., Najiba, Z. and Raoudha, E. G. 2014. Antioxidant and antimicrobial properties of the extracts from Nitraria retusa fruits and their applications to meat product preservation. Food Science and Technology, 109 (6): 629-642.

Chaves ,S., rocha-júnior,V., encarnação,I., martins-costa,H. 2020. Effects of Horizontal and Incline Bench Press on Neuromuscular Adaptations in Untrained Young Men. International Journal of Exercise Science 13(6): 859-872.

Esmailbegi Kermani, S. and Ahmadi, M. 2022. A review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology of Caparis decidua (FORSSK.) EDGEW: an unknown medicinal plant in Iran Iran. Studies in Medical Sciences, 33 (6): 413-425.

Gonelimali, F., Lin, J., Miao, W., Xuan, J. and Charles, F. 2018. Antimicrobial properties and mechanism of action of some plant extracts against food pathogens and Spoilage microorganisms. Front Microbiol, 9: 1639.

Hui, H. and Tang, G. 2009. Hyperglycemic herbs and their actions mechanisms. Journal of Chines Medicine, 5 (4): 11-22.

Hemeg, H., Moussa, I., Ibrahim, S. H., Dawoud, T. H. and Alhaji, J. 2020. Antimicrobial effect of different herbal plant extracts against different microbial population. Saudi Journal of Biological Sciences, 27: 3221-3227.

Kwok, C., Wong, C. N.-Y., Yau, M. Y.-C., Yu, P. H-F., Au, A. L. S. and Poon, C. C.-W. 2010. Consumption of dried fruit of rataegus pinnatifida (hawthorn) suppresses high– cholesterol diet- induced hypercholesterolemia in rats. Journal of Functional Foods, 2 (3): 179-186.

Liu, T., Liu, X., Chen, Q. and Shi, Y. 2020. Lipase inhibitors for obesity: A Review. Biomed Pharmacother, 128: 110314.

Mulabagal, V. and Tsay, H. 2004. Plant cell cultures and alternative and efficient source for the production of biologically important secondary metabolites. International Journal of Applied Science and Engineering, 3 (2): 29-48.

Omidbeygi, M., Barzegar, M., Hamidi, Z., Naghdibadi, H. 2007. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against Aspergillus flavus in liquid medium and tomato paste. Food Control, 18 (12): 1518-1523.

Owuama, C. 2017. Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) using a novel dilution tube method. African Journal of Microbiology Research, 11 (23): 977-980.

Reichling, J., Schnitzler, P., Suschke, U. and Saller, R. 2010. Essential oils of aromatic plants with antibacterial antifungal antiviral and cytotoxic properties. Journal of Abbreviation: Forsch Komplementmed, 2 (16): 79-90.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine, 26: 1231-1237.

Stanković,M. 2011. Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of Marrubium peregrinum L. Extracts. Kragujevac Journal of Science, 33: 63-72.

Thuy, T., Nguyen-Thi, N. and Tran, T. 2022. Cerium-modified cryptomelane: an antibacterial activity against Pseudomonas aeruginosa. IOP Conf. Ser. Earth and Environmental Science, Pp. 947.

Walizadeh, M., Bagheri, A., Walizadeh, J., Mirjalili, M. 2014. Phytochemical investigation of medicinal and multipurpose plant Withania coagulans (Stocks) Dunal in natural habitats of Sistan and Baluchistan province. Bimonthly Scientific-Research Journal of Medicinal and Aromatic Plants of Iran, 31 (3): 406-417.

Zhou, Y., Cao, X. and Peng, C. 2022. Antimicrobial activity of natural products against MDR bacteria: A scientometric visualization analysis. Journal Frontiers in Pharmacology, 13 (10): 1-16.

Antioxidant, Lipase Inhibitory Activity, and Antimicrobial Properties of *Capparis decidua* and *Withania somnifera* Extracts

Pourhamzeh[1], S., Moslehisahd[2*], M. and Hosseini[3], S. M.

Abstract

This research aims to evaluate the antioxidant, lipase inhibitory activity, and antimicrobial properties of *Capparis decidua* and *Withania somnifera* extracts. For this purpose, the total phenolic compounds of the plant extracts were investigated by Folin-ciocalte method, and the antioxidant activity by ABTS free radical inhibition test and lipase inhibitory activity were determined. The antimicrobial properties of the extracts were also evaluated on *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Streptococcus mutans* strains by well diffusion method. Also, the effect of *Withania somnifera* and *Capparis decidua* extracts on Helicobacter pylori was investigated. The results of the total phenolic content in the extracts showed a positive relationship between the phenolic compounds and the concentration of extract. The highest amount of phenolic compounds is present in the extract of *Withania somnifera* plant. The results of the investigation of the antioxidant property showed that there is a positive and significant relationship between the percentage of free radical inhibition and the concentration of the extracts, and *Withania somnifera* extract has the highest antioxidant property in the examination of the extracts. It was found that the extract of *Capparis decidua* (94.32%) was the most effective in inhibiting lipase enzymes. Examining the average diameter of zone of inhibition of the extracts against *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, and *Streptococcus mutans* showed that *Withania somnifera* extract had the largest diameter against *Pseudomonas aeruginosa*. *Capparis decidua* extract has the most antimicrobial properties against *Candida albicans* and also *Capparis decidua* extract has the highest non-growth halo against *Streptococcus mutans* bacteria. The minimum inhibitory concentration against *Pseudomonas aeruginosa* is related to *Withania somnifera* extract with concentration. The minimum concentration of *Capparis decidua* extract is against *Streptococcus mutans* and against *Candida albicans*, which has the highest antimicrobial properties compared to *Withania somnifera* in the minimum concentration. In the study of the effect of extracts on *Helicobacter pylori*, it was found that the highest *Helicobacter* inhibitory rate was related to *Capparis decidua* extract (94.32%).Therefore, the extracts of these plants can be used as natural additives.

Keywords: Functional properties, Natural additive, Medicinal plants

1 and 2. MSc Graduated and Associate Professor, Respectively, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Safadasht Branch, Tehran, Iran

3. Associate Professor, Department of Food Industry, Faculty of Agriculture, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

*: Corresponding author Email: Ma.Moslehishad@iau.ac.ir

This paper has been extracted from the first author's MSc thesis under the supervision of Maryam Moslehisahd.