زیست‌شناسی گیاهی، سال پنجم، شماره شانزدهم، تابستان ۱۳۹۲، صفحه ۹۳-۱۰۲
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۰۸/۰۹
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۱/۰۲/۰۵
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۱/۰۹/۲۰
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۱/۱۰/۰۲

مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره متانولی سه گونه از جنس *Trigonella* L. از ایران

رؤیا کرمیان *، مصطفی اسدبگی و زهرا حاج‌مرادی
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

چکیده

جنس *Trigonella* L. یکی از جنس‌های مهم تیره Fabaceae است که اغلب گونه‌های آن ارزش غذایی و دارویی دارند. در این بررسی، فعالیت پاد اکسایشی (آنتی‌اکسیدانی) عصاره‌های متانولی سه گونه از این جنس (*T. disperma*، *T. teheranica* و *T. subenervis*) به روش مهار رادیکال آزاد DPPH ارزیابی شد. محتوای فنل و فلاونوئید کل به ترتیب به روش‌های فولن-سیوکالتو و کلرید آلومینیوم اندازه‌گیری شد. همچنین، فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های متانولی به روش انتشار دیسک در برابر شش سویه باکتری گرم مثبت و منفی مطالعه و مقایسه شد. نتایج نشان داد که محتوای فنل کل در سه گونه مطالعه شده از ۰/۲۸ ± ۸ تا ۱/۴ ± ۲۲/۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک و محتوای فلاونوئید کل از ۰/۳۳ ± ۵/۲۳ تا ۱/۲ ± ۱۰/۴۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک متغیر است. به علاوه، عصاره‌های گونه‌های مطالعه شده فعالیت آنتی‌اکسیدانی درخور توجهی نشان دادند. با وجود این، تفاوت معنی‌داری میان مقادیر غلظت مهار بیشینه ۵۰ درصد (IC_{50}) آنها مشاهده نشد. بیشترین فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH در گونه *T. subenervis* با مقدار IC_{50} معادل ۰/۰۰۶ ± ۰/۱۲۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. گونه‌های مطالعه شده به ویژه *T. teheranica* فعالیت ضد میکروبی خوبی در برابر باکتری‌های مورد مطالعه نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فعالیت ضد میکروبی، فلاونوئید، فنل، *Trigonella* L.

مقدمه

جنس شنبلیله (*Trigonella* L.) متعلق به تیره بزرگ باقلائیان (Fabaceae) متشکل از حدود ۶۵۰ جنس و ۱۸۰۰۰ گونه در دنیاست (Rakhee *et al.*, 2004). گونه‌های مختلف این جنس مصارف دارویی و تغذیه‌ای دارند. *T. foenum-graecum* یکی از گونه‌های معروف این جنس است که معمولاً به عنوان سبزی کشت می‌شود. این گونه دارای ویژگی کرم‌کُشی در برابر نماتودهاست و در طب سنتی هند به عنوان ماده تب‌بُر و مدرّ و نیز برای درمان ورم،

*نویسنده مسؤول: نشانی پست الکترونیک: r_karamian@basu.ac.ir، شماره تماس: ۰۸۱۱۸۲۷۱۰۴۳

بیماری‌های قلبی، گرفتگی عروق و بزرگ‌شدگی طحال و کبد به کار می‌رود. از این گونه همچنین، به عنوان عامل ضد دیابت و پایین آورنده گلوکز و کلسترول خون نیز به طور گسترده استفاده می‌شود (Dangi *et al*., 2004). *T. caerulea* گونه دیگری از این جنس است که از دانه‌رُست‌های جوان آن به عنوان غذا و نیز در صنعت تهیه پنیر استفاده می‌شود (Grossheim, 1945). *T. elliptica* یا شنبلیله شیرازی از بقولات انحصاری و بسیار ارزشمند مرتعی در ایران است که با پراکندگی نسبتاً زیاد، به صورت گونه همراه در ترکیب گیاهی موجود در تیپ‌های مرتعی عرصه‌های کوهستانی دیده می‌شود (مقیمی، ۱۳۸۴).

رادیکال‌های آزاد باعث ایجاد بیش از صد گونه بیماری در انسان مانند آترواسکلروزیز، دیابت، آرتریت، کم‌خونی، صدمات جبران ناپذیر بافتی، آسیب به سیستم عصبی مرکزی، گاستریت و سرطان می‌شوند (Cook and Samman, 1996؛ Kumpulainen and Salonen, 1999؛ Valko *et al*., 2004). فرآیند اکسیداسیون، عامل اصلی تولید رادیکال‌های آزاد در مواد غذایی، داروها و موجودات زنده است (Halliwell, 2000). عدم توازن بین تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی می‌تواند باعث آسیب به ماکرومولکول‌های زیستی مهم مانند لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک شود (Poulson *et al*., 1998). در حال حاضر، آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در غذاها و گیاهان توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند، زیرا دارای آثار جانبی کمتری هستند (Maxwell, 1995). فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی اساس کاربرد وسیع آنها در داروسازی، پزشکی و درمان‌های طبیعی است (Abiy *et al*., 2005).

تنوع گسترده‌ای از مولکول‌های آنتی‌اکسیدانی مانند ترکیبات فنلی (اسیدهای فنلی، فلاونوئیدها، کوئینون‌ها و تانن‌ها)، توکوفرول‌ها، کاروتنوئیدها و آسکوربیک اسید در گیاهان حضور دارند. این آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در بخش‌های مختلف گیاه مانند چوب، پوست، ساقه، میوه، برگ، ریشه، گل، دانه گرده و بذر توزیع شده‌اند (Chanwitheesuk *et al*., 2005). ترکیبات فنلی آنتی‌اکسیدانی ممکن است به عنوان اجزای مهارکننده رادیکال‌های آزاد یا کلات‌کننده یون‌های فلزی فعال در واکنش‌های احیا که قادر به کاتالیز پراکسیداسیون لیپیدها هستند، به کار روند (Schroeter *et al*., 2002). این ترکیبات در کموتاکسونومی نیز کاربرد وسیعی دارند. فلاونوئیدها مهم‌ترین ترکیبات فنلی از نظر تاکسونومیکی هستند که واجد هسته مشترک با تنوع وسیعی از گروه‌های جانبی هستند. در گونه‌های گیاهی مختلف تنوع چشمگیری از فلاونوئیدها مشاهده می‌شود. باقلائیان، فلاونوئیدهایی مانند ایزوفلاونوئیدها و ۵- داکسی ایزوفلاونوئیدها با ساختار شیمیایی ویژه تولید می‌کنند. این فلاونوئیدها به عنوان ترکیبات دفاعی در برابر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و یا سیگنال‌های شیمیایی در هم‌زیستی برای تثبیت ازت نقش مهمی ایفا می‌کنند. از سوی دیگر، به عنوان ترکیبات غذایی و علوفه‌ای اهمیّت زیستی فراوانی برای انسان و دام دارند (Aoki *et al*., 2000).

اغلب مطالعاتی که تاکنون در جنس *Trigonella* پیرامون شناسایی ترکیبات شیمیایی، خواص دارویی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها صورت گرفته است، روی

گونه خوراکی *T. foenuem-greacum* متمرکز است (Sood, 1975؛ Girardon *et al*., 1985؛ Girardon *et al*., 1989). همچنین، اجزا مختلف تشکیل‌دهنده اسانس گونه *T. disperma* بررسی و با اجزا اسانس گونه *T. foenuem-greacum* مقایسه شد (Ranjbar *et al*., 2009). در این مطالعه، برای نخستین بار محتوای فنل و فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی سه گونه *T. disperma*، *T. teheranica* و *T. subenervis* بررسی شده است. این گونه‌ها، گیاهانی چندساله و انحصاری ایران بوده، متعلق به بخش *Ellipticae* هستند.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

گونه‌های مطالعه شده از زیستگاه‌های طبیعی خود جمع‌آوری شده، در هرباریوم دانشگاه بوعلی سینا (BASU) نگهداری شده‌اند که مشخصات آنها در جدول ۱ مشاهده می‌شود.

جدول ۱- مشخصات سه گونه مطالعه شده از جنس *Trigonella*

گونه مطالعه شده	محل جمع‌آوری	جمع‌آوری کننده	تاریخ جمع‌آوری	ارتفاع (متر)	شماره هرباریومی
T. disperma	قزوین: آوج به آبگرم، آبگرم	رنجبر و حاج‌مرادی	۳/۸/۱۳۸۷	۱۷۳۲	BASU14486
T. teheranica	تهران: تهران به هراز، ۲۰ کیلومتر به بومهن	رنجبر و حاج‌مرادی	۱۳۸۶/۳/۹	۱۵۶۰	BASU29401
T. subenervis	خراسان: کاشمر به نیشابور، کوه سرخ، قبل از ریوش	رنجبر و حاج‌مرادی	۱۳۸۶/۳/۱۴	۱۶۲۰	BASU27614

مواد شیمیایی

همه مواد شیمیایی و حلال‌های استفاده شده در این پژوهش از شرکت مرک (آلمان) و ۱و۱- دی فنیل ۲- پیکریل هیدرازیل (DPPH) از شرکت سیگما (آمریکا) با درصد خلوص بالا تهیه شده است.

روش عصاره‌گیری

گونه‌های مطالعه از زیستگاه‌های طبیعی خود جمع‌آوری شده، پس از خشک شدن در دمای اتاق تا زمان استفاده در ظرف‌های دربسته و دور از نور نگهداری شدند. برای تهیه عصاره، ۲۵ گرم پودر گیاه خشک شده از هر گونه با ۲۵۰ میلی‌لیتر متانول به وسیله سوکسله عصاره‌گیری شد. سپس، حلال عصاره‌ها تحت شرایط خلأ توسط دستگاه روتاری Lab Tech مدل Ev311 خارج و سپس خشک شد.

تعیین محتوای فنل کل

محتوای فنل کل در عصاره‌ها توسط شناساگر فولین-سیوکالتئو (Folin-Ciocalteu) سنجش شد. بدین منظور ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره رقیق شده (۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره g/ml ۱:۱۰) از هر عصاره گیاهی یا گالیک اسید (استاندارد فنل) با ۵ میلی‌لیتر شناساگر فولین-سیوکالتئو مخلوط شد. سپس ۴ میلی‌لیتر کربنات سدیم یک مولار به مخلوط اضافه و در دمای اتاق به مدت ۱۵ دقیقه نگهداری شد. سپس، جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر Perkin Elmer مدل

UV/Visible Lambda 45 در طول موج ۷۶۵ نانومتر ثبت شد. محتوای فنل کل در عصاره‌های مطالعه شده به صورت معادل میلی‌گرم گالیک اسید (GAE) بر گرم وزن خشک ارایه شد. نمونه‌ها در سه تکرار بررسی شدند (McDonald *et al*., 2001).

تعیین محتوای فلاونوئید کل

سنجش محتوای فلاونوئید کل به روش کلرید آلومینیوم انجام شد. بدین منظور ۰/۵ میلی‌لیتر از هر عصاره (g/ml ۱:۱۰) با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. سپس، جذب مخلوط واکنشی در ۴۱۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر Perkin Elmer مدل UV/Visible Lambda 45 ثبت شد. مقدار فلاونوئید کل عصاره‌ها به صورت معادل میلی‌گرم کوئرستین (QE) بر گرم وزن خشک بیان شد. نمونه‌ها در سه تکرار بررسی شدند (McDonald *et al*., 2001).

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با بررسی فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره گیاهان مورد مطالعه سنجش شد (Stojicevic *et al*., 2008). بدین منظور، محلول متانولی از هر عصاره در غلظت‌های مختلف ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تهیه شد. سپس، ۲/۵ میلی‌لیتر از هر عصاره با یک میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH با غلظت $۳/۰\times۱۰^{-۴}$ مولار مخلوط و پس از بهم زدن شدید به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی نگهداری شد. سپس، جذب مخلوط واکنشی در ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر Perkin Elmer مدل UV/Visible Lambda 45 اندازه‌گیری شد و از آسکوربیک اسید به عنوان شاهد استاندارد استفاده شد. سپس، IC_{50} عصاره‌ها و آسکوربیک اسید محاسبه شد. نمونه‌ها در سه تکرار بررسی شدند. درصد فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH هر عصاره با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد: (A_S=جذب محلول واکنشی (DPPH و عصاره)، A_B=جذب محلول واجد عصاره و فاقد DPPH و A_C=جذب محلول واجد DPPH و فاقد عصاره).

$$DPPH=100[1-(A_S-A_B/A_C)]$$

سویه‌های باکتری مورد مطالعه

باکتری‌های مطالعه شده عبارتند از: *Proteus vulgaris* (PTCC 1079)، *Bacillus megaterium* (PTCC 1017)، *Serratia marcescens* (PTCC 1111)، *Eshershia coli* (Wild)، *Staphylococcus aureus* (Wild) و *Bacillus cereus* (PTCC 1247).

ارزیابی فعالیت ضد میکروبی

برای تعیین حساسیت سویه های باکتری نسبت به عصاره متانولی گیاهان مورد مطالعه از روش انتشار دیسک استفاده شد (Awoyinka *et al*., 2007). بدین منظور، ابتدا از همه سویه‌های باکتری، سوسپانسیون معادل نیم مک فارلند ($۱/۵\times۱۰^{۸}$ cfu/ml) تهیه شد. سپس، با ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تهیه شده بر سطح محیط مولر هینتون آگار، کشت یکنواخت انجام شد. پس از آن، دیسک‌های بلانک استریل (ساخت ایران، شرکت پادتن طب) در غلظت‌های مختلف عصاره متانولی (۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) غوطه‌ور شد و در نهایت، دیسک‌های تهیه شده با فاصله معین از یکدیگر و از لبه پلیت روی سطح

آگار قرار داده شدند. پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری و سپس قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌های حاوی عصاره اندازه‌گیری شد. قطر هاله ۷ میلی‌متری به عنوان مقاوم در نظر گرفته شد. همچنین، از دیسک حاوی DMSO (رقیق‌کننده عصاره‌ها) به عنوان شاهد منفی و از دیسک حاوی ۳۰ میکروگرم جنتامایسین و پنی‌سیلین به عنوان شاهد مثبت استفاده شد. برای اطمینان، این آزمایش برای هر سویه باکتری سه بار تکرار شد و میانگین قطر هاله‌ها در سه تکرار به عنوان قطر نهایی ثبت شد.

تحلیل داده‌ها

همه آزمایش‌ها در قالب سه تکرار انجام شد. داده‌های حاصل از هر آزمایش با نرم‌افزارهای Excel و SPSS نسخه ۱۲/۰ تحلیل شد. سپس، مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح P<۰/۰۵ انجام شد. نتایج حاصل از این بررسی به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شد.

نتایج

تعیین محتوای فنل و فلاونوئید کل

نتایج حاصل از سنجش محتوای فنل کل با معرف فولین-سیوکالتئو نشان می‌دهد که محتوای فنل کل در نمونه‌ها بین ۸ تا ۲۲/۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک متغیر است. گونه *T. subenervis* با مقدار ۲۲/۲، بیشترین و گونه *T. disperma* با مقدار ۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک کم‌ترین محتوای فنل را نشان داد (جدول ۲). همچنین، گونه *T. subenervis* بیشترین (۱۰/۴۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و گونه *T. disperma* کمترین (۵/۲۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) محتوای فلاونوئید کل را داراست (جدول ۲). محتوای فنل و فلاونوئید کل در دو گونه *T. subenervis* و *T. teheranica* تفاوت معنی‌داری نشان نمی‌دهد.

جدول ۲- محتوای فنل و فلاونوئید کل در سه گونه *Trigonella*. مقادیر، میانگین ۳ تکرار ± SD است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P≤0.05 است.

گونه	محتوای فلاونوئید کل (mg/g)	محتوای فنل کل (mg/g)
T. disperma	۵/۲۳±۰/۳۳[a]	۸±۰/۲۸[a]
T. subenervis	۱۰/۴۸±۱/۲[b]	۲۲/۲±۱/۴[b]
T. teheranica	۹/۱۷±۰/۱۶[b]	۲۱/۳۶±۰/۹[b]

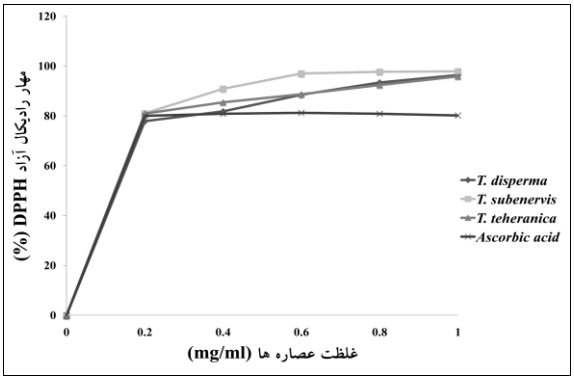
ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی

نتایج حاصل از بررسی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره سه گونه مطالعه شده با روش پتانسیل مهارکنندگی رادیکال DPPH در شکل‌های ۱ و ۲ و جدول ۳ ارایه شده است. هر سه گونه فعالیت آنتی‌اکسیدانی درخور توجهی را نشان می‌دهند، با وجود این، تفاوت معنی‌داری میان مقادیر IC_{50} آنها مشاهده نمی‌شود.

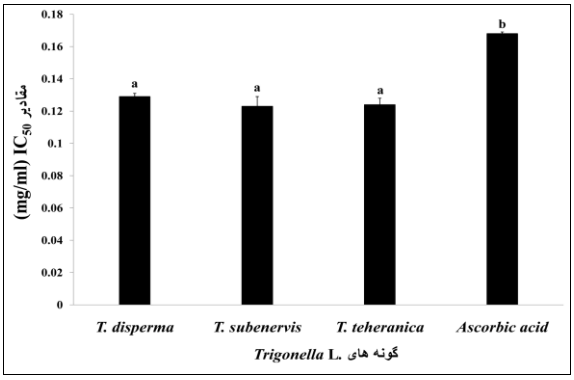
ارزیابی فعالیت ضد میکروبی

نتایج مربوط به ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره سه گونه *T. subenervis*، *T. disperma* و *T. teheranica* در برابر شش سویه باکتری گرم مثبت و منفی، به ترتیب در جدول‌های ۴ تا ۶ ارایه شده است. عصاره حاصل از گونه *T. disperma* در برابر باکتری‌های *Bacillus megaterium*، *Staphylococcus aureus*، *Bacillus cereus* و *Serratia marcescens* و به ویژه *Proteus vulgaris* مؤثر بوده است. غلظت‌های مهار کننده حاصل بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در عصاره متانولی حل شده در محلول DMSO در جدول‌های ۴ تا ۶ ارایه شده است. عصاره گونه

T. subenervis بر روی باکتری‌های *Eshershia coli*، *Proteus vulgaris*، *Bacillus cereus* و *Saphylococcus aureus* و به ویژه *Serratia marcescens* و عصاره گونه *T. teheranica* بر روی باکتری‌های *Proteus vulgaris*، *Basillus megaterium*، *Serratia marcescens*، *Eshershia coli* و *Staphylococcus aureus* و به ویژه *Bacillus cereus* مؤثر بوده است.



شکل ۱- مقایسه فعالیت مهار رادیکال DPPH توسط عصاره سه گونه *Trigonella*.



شکل ۲- مقایسه مقادیر IC_{50} عصاره سه گونه *Trigonella* در مقایسه با آسکوربیک اسید. مقادیر، میانگین ۳ تکرار ± SD است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0.05$ است.

جدول ۳- درصد فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH توسط عصاره سه گونه *Trigonella*. مقادیر، میانگین ۳ تکرار ± SD است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار برای میانگین‌ها و مقادیر IC_{50} در هر ستون و در مورد غلظت‌های مختلف در هر سطر در سطح $P\leq0.05$ است.

گونه	درصد مهار رادیکال DPPH						
	غلظت (mg/ml)					میانگین	IC_{50}
	۰/۲	۰/۴	۰/۶	۰/۸	۱		
T. disperma	۷۷/۶۶±۱/۸^{a}	۸۱/۸۰±۲/۲^{a}	۸۸/۴۸±۱/۲^{b}	۹۳/۳۸±۲/۸^{b}	۹۶/۳۸±۱/۵^{b}	۸۷/۵۴^{b}	۰/۱۲۹±۰/۰۰۲^{a}
T. subenervis	۸۱/۰۰±۳/۳^{a}	۹۰/۸۶±۲/۸^{b}	۹۷/۰۰±۰/۹^{c}	۹۷/۶۹±۱/۲^{c}	۸۳/۹۷±۲/۲^{c}	۹۲/۸۷^{c}	۰/۱۲۳±۰/۰۰۶^{a}
T. teheranica	۸۰/۹۰±۲/۸^{a}	۸۵/۴۱±۰/۸^{a}	۸۸/۶۷±۱/۷^{ab}	۹۲/۳۵±۲/۲^{b}	۹۵/۸۲±۲/۹^{b}	۸۸/۶۳^{b}	۰/۱۲۴±۰/۰۰۴^{a}
Ascorbic acid	۸۰/۰۰±۳/۴^{a}	۸۰/۸۴±۱/۵^{a}	۸۱/۲۱±۱/۷^{a}	۸۰/۸۴±۰/۶^{a}	۸۰/۱۶±۱/۱^{a}	۸۰/۶۱^{a}	۰/۱۶۸±۰/۰۰۱^{b}

جدول ۴- فعالیت ضد میکروبی عصاره *T. disperma* در برابر شش سویه باکتری گرم مثبت و منفی. مقادیر، میانگین ۳ تکرار ± SD است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0.05$ است. na=غیرفعال در برابر باکتری مطالعه شده.

سویه باکتری	ناحیه ممانعت بر حسب (mm) در غلظت‌های مختلف عصاره (mg/ml)				
	شاهد منفی (DMSO)	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰
Proteus vulgaris	na	na	۷ ± ۰/۰۰ ^{a}	۹ ± ۰/۱۸ ^{b}	۱۰ ± ۰/۳۳ ^{c}
Eshershia coli	na	na	na	na	na
Bacillus cereus	na	na	na	na	۸ ± ۰/۱۲
Staphylococcus aureus	na	na	na	۷ ± ۰/۱۸ ^{a}	۸ ± ۰/۰۰ ^{b}
Bacillus megaterium	na	na	na	na	۷ ± ۰/۱۴
Serratia marcescens	na	na	na	na	۷ ± ۰/۰۰

جدول ۵- فعالیت ضد میکروبی عصاره *T. subenervis* در برابر شش سویه باکتری گرم مثبت و منفی. مقادیر، میانگین ۳ تکرار ± SD است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P≤0.05 است. na=غیرفعال در برابر باکتری مطالعه شده.

سویه باکتری	ناحیه ممانعت بر حسب (mm) در غلظت‌های مختلف عصاره (mg/ml)				
	شاهد منفی (DMSO)	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰
Proteus vulgaris	na	na	na	۸±۰/۲۶ [a]	۱۰±۰/۲۴ [b]
Eshershia coli	na	na	na	na	۷±۰/۰۰
Bacillus cereus	na	na	na	۷±۰/۱۲ [a]	۸±۰/۱۶ [b]
Staphylococcus aureus	na	na	na	na	۸±۰/۲۸
Bacillus megaterium	na	na	na	na	na
Serratia marcescens	na	na	۸±۰/۰۰ [a]	۱۰±۰/۱۸ [b]	۱۲±۰/۳۴ [c]

جدول ۶- فعالیت ضد میکروبی عصاره *T. teheranica* در برابر شش سویه باکتری گرم مثبت و منفی. مقادیر، میانگین ۳ تکرار ± SD است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P≤0.05 است. na=غیرفعال در برابر باکتری مطالعه شده.

سویه باکتری	ناحیه ممانعت بر حسب (mm) در غلظت‌های مختلف عصاره (mg/ml)				
	شاهد منفی (DMSO)	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰
Proteus vulgaris	na	na	na	۸±۰/۰۰ [a]	۱۰±۰/۳۳ [b]
Eshershia coli	na	na	na	۷±۰/۱۵ [a]	۹±۰/۳۳ [b]
Bacillus cereus	na	۷±۰/۱۴ [a]	۱۰±۰/۲۴ [b]	۱۲±۰/۱۸ [c]	۱۵±۰/۴۵ [d]
Staphylococcus aureus	na	na	na	۷±۰/۰۰ [a]	۸±۰/۲۴ [b]
Bacillus megaterium	na	۷±۰/۱۱ [a]	۸±۰/۲۲ [b]	۱۰±۰/۳۴ [c]	۱۱±۰/۲۸ [d]
Serratia marcescens	na	na	۷±۰/۰۰ [a]	۸±۰/۲۴ [b]	۹±۰/۱۶ [c]

بحث

اغلب مطالعاتی که تاکنون پیرامون ترکیبات شیمیایی، خواص دارویی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در جنس *Trigonella* L. انجام شده است، بر روی گونه خوراکی *T. foenuem-greacum* متمرکز بوده است. در این مطالعه، محتوای فنل و فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و نیز فعالیت ضد میکروبی سه گونه *T. disperma*، *T. teheranica* و *T. subenervis* بررسی شد. ترکیبات فنلی با ویژگی مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد، ممانعت از فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو و هیدرولیتیک و نیز فعالیت ضد التهابی شناخته شده‌اند (Frankel, 1995). برخی شواهد نشان داده‌اند که فعالیت زیستی این ترکیبات با فعالیت‌های آنتی‌کسیدانی آنها در ارتباط است (Gryglewski *et al.*, 1987). فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان اغلب با در نظر گرفتن محتوای ترکیبات فنلی آنها ارزیابی می‌شود (Shahidi *et al.*, 1992؛ Wojdyło *et al.*, 2007). Lapornik و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که متانول، حلالی مؤثر برای تخریب دیواره سلولی و آزادسازی ترکیبات فنلی از سلول است و آنزیم پلی فنل اکسیداز مخرب پلی فنل‌ها، در این محیط خنثی می‌شود. بنابراین، عصاره متانولی گیاهان بیشترین پتانسیل مهارکنندگی رادیکال DPPH را در مقایسه با بسیاری از حلال‌ها دارد (Miliauskasa *et al.*, 2004).

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای ترکیبات فنلی در گونه‌های مطالعه شده رابطه مستقیمی وجود دارد و با افزایش محتوای ترکیبات فنلی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابد. این ترکیبات می‌توانند مسؤول فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراج شده باشند. رابطه خطی میان محتوای ترکیبات فنلی و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی در بسیاری از گونه‌های گیاهی گزارش شده است (Al-Mustafa *et al.*, 2008). مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن نشان می‌دهد که پتانسیل مهارکنندگی رادیکال DPPH توسط رقت‌های مختلف عصاره حاصل از دو گونه *T. disperma* و *T. subenervis* اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد نشان می‌دهد که با افزایش غلظت ماده مؤثر عصاره در دو گونه فوق، توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH نیز افزایش می‌یابد. ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد گونه‌های مطالعه شده فعالیت آنتی‌اکسیدانی درخور توجهی نشان می‌دهند، با وجود این، تفاوت معنی‌داری میان مقادیر IC_{50} آنها مشاهده نمی‌شود. هر سه گونه فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری در مقایسه با آسکوربیک اسید به عنوان شاهد مثبت نشان می‌دهند. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که قادرند از اکسیداسیون لیپیدها یا مولکول‌های دیگر توسط جلوگیری از آغاز یا گسترش زنجیره واکنش اکسیداتیو ممانعت کرده، یا آن را به تأخیر بیاندازند (McCall and Frei, 1999). گیاهانی که خواص ضد میکروبی دارند، با مکانیسم‌های مختلف از آنتی‌بیوتیک‌ها برای مهار رشد باکتری‌ها استفاده می‌کنند و این امر لزوم تحقیقات جامع‌تر در زمینه گیاهان دارویی را نشان داده، افزایش روزافزون مقالات منتشر شده در زمینه خواص ضد میکروبی گیاهان را توجیه می‌کند (Cecchini, 1995). گونه‌های مطالعه شده به ویژه گونه *T. teheranica* خاصیت ضد میکروبی خوبی در برابر برخی از باکتری‌های مطالعه شده نشان دادند. تفاوت در محتوای ترکیبات مؤثر و فعالیت‌های زیستی عصاره‌های گیاهی به تفاوت‌های گونه‌ای و شرایط اقلیمی حاکم بر مکان جمع‌آوری آنها مربوط می‌شود. بررسی خواص ضد میکروبی با مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری را در رقت‌های به کار برده شده از عصاره برای هر باکتری نشان داد که گویای آن است که با افزایش غلظت ماده مؤثر در عصاره، ممانعت از رشد باکتری نیز افزایش می‌یابد. به هر حال، کاربرد بالینی گیاهان مطالعه شده نیازمند مطالعات بیشتر و وسیع‌تر است و در صورت موفقیت‌آمیز بودن و استاندارد نمودن نتایج حاصل می‌توان از این گیاهان به عنوان جایگزینی برای داروهای آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی کم اثر فعلی استفاده نمود.

جمع‌بندی

نتایج بررسی حاضر نشان می‌دهد که عصاره سه گونه *Trigonella* L. مطالعه شده دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی درخور توجهی هستند. در صورت انجام مطالعات تکمیلی و بررسی آثار جانبی و نیز بهینه‌سازی کاربرد عصاره گونه‌های مطالعه شده می‌توان از این عصاره‌ها در صنایع غذایی و داروسازی استفاده کرد.

همچنین، ترکیبات موجود در عصاره سه گونه مطالعه شده در این تحقیق می‌توانند در آینده به عنوان منابعی امیدبخش برای تولید آنتی‌بیوتیک‌ها و مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی طبیعی با اثربخشی بیشتر باشند.

منابع

مقیمی، ج. (۱۳۸۴) معرفی برخی گونه‌های مهم مرتعی. انتشارات آرون. تهران.

Dangi, R. S., Lagu, M. D., Choudhary, L. B., Ranjekar, P. K. and Gupta, V. S. (2004) Assessment of genetic diversity in *Trigonella foenum-graecum* and *Trigonella caerulea* using ISSR and RAPD markers. Biomed Central Plant Biology 4: 13-23.

Frankel, E. (1995) Nutritional benefits of flavonoids. In: International Conference on Food Factors, Hamamatsu, Japan.

Girardon, P., Bessiere, J. M., Baccou, J. C. and Sauvaire, Y. (1985) Volatile constituents of fenugreek seeds. Planta Medica 6: 533-534.

Girardon, P., Sauvaire, Y., Baccou, U. C. and Bessiere, J. M. (1989) Identification de la 3-hydroxy-4, 5-dimethyl-2(5H)-furanone dansl'arôme des graines de fenugrec (*Trigonella foenum graecum* L.). Lebensittel-Wissenschaft and Technologie 19: 44-46.

Grossheim, A. A. (1945) Fenugreek-*Trigonella* L. In: Flora URSS (Ed. Shishkin, B. K.) 102-129. Nauka, Moscow.

Gryglewski, R. J., Korbut, R. and Robak, J. (1987) On the mechanism of antithromatic action of flavonoids. Biochemical Pharmacology 32: 661-667.

Halliwell, B. (2000) The antioxidant paradox. The Lancet 355: 1179-1180.

Kumpulainen, J. T. and Salonen, J. T. (1999) Natural antioxidants and anticarcinogens in nutrition, health and disease. The Royal Society of Chemistry 3: 178-187.

Lapornik, B., Prosek, M. and Wondra, A. G.

سپاسگزاری

نگارندگان، از همکاری کارشناسان آزمایشگاه‌های فیزیولوژی گیاهی و میکروب‌شناسی گروه زیست‌شناسی دانشگاه بوعلی سینا قدردانی می‌کنند.

Abiy, Y., Solomon, D., Jacob, O. M., Christine, C. B., Matthias, H. and Martin, G. P. (2005) Antimicrobial flavonoids from the stem bark of *Erythrina burtii*. Fitoterapia 96: 496-499.

Ahmadiani, A., Rustaiyan, A., Karimian, M. and Kamalinejad, M. J. (2004) The leaf oil of *Daniellia ogea* L. Journal of Essential Oil Research 16 (4): 282-283.

Al-Mustafa, A. H. and Al-Thunibat, O. S. (2008) Antioxidant activity of some Jordanian medicinal plants used traditionally for treatment of diabetes. Pakistan Journal of Biological Science 11 (3): 351-358.

Aoki, T., Akashi, T. and Ayabe, S. I. (2000) Flavonoids of leguminous plants: structure, biological activity, and biosynthesis. Journal of Plant Research 113 (4): 475-488.

Awoyinka, O. A., Balogun, I. O. and Ogunnowo, A. A. (2007) Photochemical screening and *in vitro* bioactivity of *Cnidoscolus aconitifolius* (Euphorbiaceae). Journal of Medicinal Plants Research 1(3): 63-65.

Cecchini, T. (1995) Encyclopedie des plantes medicinales. De Vecchi, Baron.

Chanwitheesuk, A., Teerawutgularg, A. and Rakariyatham, N. (2005) Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. Food Chemistry 92: 491-497.

Cook, N. C. and Samman, S. (1996) Flavonoids: chemistry, metabolism, cardio protective effects and dietary sources. Nutritional Biochemistry 7: 66-76.

(2005) Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. Journal of Food Engineering 71: 214-222.

Maxwell, S. R. J. (1995) Prospects for the use of antioxidants therapies. Drugs 49(3): 345-61.

McCall, M. R. and Frei, B. (1999) Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans? Free Radical Biology Medicine 26: 1034-1053.

McDonald, S., Prenzler, P. D., Autolovich, M. and Robards, K. (2001) Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. Food Chemistry 73: 73-84.

Miliauskasa, G., Venskutonisa, P. and Van Beek, T. (2004) Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chemistry 85: 231-237.

Poulson, H. E., Prieme, H. and Loft, S. (1998) Role of oxidative DNA damage in cancer initiation and promotion. European Journal of Cancer Prevention 7: 9-16.

Rakhee, S. D., Meena, D. L., Lal, B. C., Prabhakar, K. R. and Vidya, S. G. (2004) Assessment of genetic diversity in *Trigonella foenum-graecum* and *Trigonella caerulea* using ISSR and RAPD markers. Biomed Central Plant Biology 4: 1-11.

Ranjbar, M., Karamian, R. and Hajmoradi, Z. (2009) Composition of the essential oil of *Trigonella disperma* from Iran. Chemistry of Natural Compound 45 (1): 116-117.

Schroeter, H., Boyd, C., Spencer, J. P. E., Williams, R. J., Cadenas, E. and Rice-Evans, C. (2002) MAPK signaling in neurodegeneration: influence of flavonoids and of nitric oxide. Neurobiology of Aging 23: 861-880.

Shahidi, F. and Janitha, P. K. and Wanasundara, P. D. (1992) Phenolic antioxidants. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 32: 67-103.

Sood, A. (1975) Chemical compounds from the leaves of *Trigonella foenum-graecum* L. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences 37: 100-101.

Stojicevic, S., Stanisavljevic, I., Velickovic, D., Veljkovic, V. and Lazic, M. (2008) Comparative screening of the anti-oxidant and antimicrobial activities of *Sempervivum marmoreum* L. extracts obtained by various extraction techniques. Journal of the Serbian Chemical Society 73(6): 597-607.

Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C. J. and Telser, J. (2004) Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. Molecular and Cellular Biochemistry 266: 37-56.

Wojdyło, A., Oszmian´ski, J. and Czemerys, R. (2007) Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. Food Chemistry 105: 940-949.