نشریه علمی فناوری و گیاهان دارویی ایران
دوره۵- شماره ۲- پیاپند ۹-پائیز و زمستان ۱۴۰۱

بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره گیاه آب‌بشقابی (*Centella asiatica* L.) منطقه شمال کشور

Investigation of antioxidant and antimicrobial properties of *Centella asiatica* L. extract in the northern region of the country

محمد رضا حق شناس[۱]، سید محمد وحدت*[۲]

۱. دانشجوی دکتری شیمی آلی، گروه شیمی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.
۲. دانشیارشیمی آلی، گروه شیمی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران ، (نگارنده مسئول)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۰۸ - شناسانهٔ برنمود رقمی:10.22092/mpt.2024.365160.1142

چکیده

حق شناس، م.ر.، وحدت، س. م.، **بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره گیاه آب‌بشقابی (*Centella asiatica* L.) منطقه شمال کشور**
نشریه علمی فناوری وگیاهان دارویی ایران، دوره ۵ - شماره ۲- پیاپند ۹-پائیز و زمستان ۱۴۰۱ صفحه: ۵۹-۴۳

این تحقیق با هدف بررسی اثرات ضدمیکروبی عصاره هیدرواتانولی گیاه آب‌بشقابی (*Centella asiatica* L.) روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی، سالمونلا تایفی موریوم، استرپتوکوکوس موتانس و قارچ‌های آسپرژیلوس فلاووس و کاندیدا آلبیکنس و نیز بررسی فعالیت‌های مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH، فنل تام و فلاونوئید عصاره گیاه انجام شد. نمونه‌های این گیاه از شهر شفت واقع در استان گیلان جمع‌آوری شد. عصاره از طریق خیساندن و توسط دستگاه روتاری استخراج شد. فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی در عصاره با افزایش غلظت، افزایش یافت. باکتری استافیلوکوس اورئوس و قارچ آسپرژیلوس فلاووس با حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از بیشترین حساسیت نسبت به عصاره آب‌بشقابی برخوردار بودند. میانگین فنل تام در عصاره این گیاه برابر با ۱/۴۶۹ میلی‌گرم معادل گالیک‌اسید در هر گرم از عصاره و میانگین فلاونوئید برابر با ۲/۶۷۹ میلی‌گرم معادل کوئرستین در هر گرم از عصاره این گیاه بوده است. در بررسی درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH، غلظت‌های ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر با میانگین ۹۴/۸۹ درصد و غلظت ۶/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر با میانگین ۴۲/۰۱ درصد به ترتیب از بیشترین و کمترین درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد برخوردار بوده‌اند.

واژه های کلیدی: آب بشقابی، ضد میکروبی، آنتی اکسیدان، فنل تام، فلاونوئید

آدرس پست الکترونیکی نگارنده مسئول: (vahdat_mohammad@yahoo.com)

مقدمه

گیاهان دارویی از دیرباز خواص و ویژگی‌های فراوانی در پزشکی و صنایع غذایی داشته‌اند، امروزه اثرات ضدباکتریایی چشمگیری از این گیاهان گزارش شده است (Ebrahimi-Pure. *et all*, 2014). در سال‌های اخیر با افزایش آگاهی نسبت به فواید مصرف ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و تمایل تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان به محصولات طبیعی، پژوهش‌های فراوانی در زمینه یافتن منابع غنی از آنتی‌اکسیدان‌ها انجام شده است (Gülçin *et al.*, 2003). آنتی‌اکسیدان‌ها، از فعالیت رادیکال‌های آزاد با قدرت تخریبی بالا جلوگیری و آنها را به ترکیبات بی‌خطر تبدیل می‌کنند و با این کار سبب محافظت از بدن انسان می‌شوند و آن را سالم نگه می‌دارند. همچنین آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند در غلظت‌های کم فعالیت کنند و از آسیب‌های اکسیداتیو به سایر مولکول‌های زیستی پیشگیری کنند یا میزان آنها را به حداقل برسانند (Ghasemzadeh & Ghasemzadeh., 2011). مطالعات حاکی از آن است که گیاهان به‌عنوان منابع غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، دارای اثرات ضدمیکروبی قابل‌توجهی نیز هستند. همچنین استفاده از مواد طبیعی به‌جای مواد شیمیایی از اهمیت خاصی برخوردار است، بی‌شک استفاده از عصاره و اسانس گیاهان جایگزین های بسیار مناسبی بشمار می آیند. عصاره‌های گیاهی دارای موادی هستند که می‌توانند علیه بسیاری از میکروارگانیسم‌ها به کار روند. اثرات ضدمیکروبی عصاره‌های گیاهی علیه باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌ها بارها و بارها توسط پژوهشگران ثابت شده است (Burt., 2004 ؛ Cowan *et al.*,1999؛ Thuille *et al.*, 2003).

گیاه دارویی آب‌بشقابی با نام علمی *Centella asiatica* L.، از خانواده چتریان، گیاهی علفی و چندساله است (Taghizadeh *et all*, 2005) و ازجمله گیاهان دارویی ارزشمند، پرمصرف و محبوب در سراسر دنیا به‌ویژه در خاورمیانه، اروپا و آمریکا به شمار می‌رود که با نام‌های قدح مریم و گوتو کلا (Gotu kola) نیز شناخته می‌شود. هزاران سال است از این گیاه به‌عنوان یک داروی مفید و مؤثر در سنت آیورودادر هند استفاده می‌شود،در چین نیز از ۲۰۰۰ سال پیش تاکنون از آن به‌عنوان «اکسیر معجزه‌گر زندگی» یاد می‌کنند. نام این گیاه در فارماکوپه گیاهان دارویی هند، همئوپاتی آلمان، اروپا و جمهوری چین آورده شده است (James&Dubery, 2009؛ Schaneberg *et al.*, 2003)، در سال ۱۹۹۸ در کانادا این گیاه به‌عنوان برجسته‌ترین دارو شناخته شد، در طول تاریخ نیز از آن برای درمان بیماری‌هایی مانند سیفلیس، هپاتیت، زخم‌های معده، مشکلات مغزی، صرع، اسهال، تب و آسم استفاده می‌نمودند (Schultz *et al.*,2000). اثرات درمانی و ضدمیکروبی قابل‌توجه این گیاه، آن را به یکی از ارزشمندترین گیاهان دارویی تبدل کرده است. این گیاه در نواحی مرطوب هندوستان، پاکستان و سری‌لانکا تا ارتفاع ۷۰۰ متری مشاهده می‌شود، نزدیک‌ترین محل پراکنش این گیاه به ایران، غرب ترانس قفقاز است. تاکنون گزارشی از این گیاه نم‌روی و

آسیب‌پذیر، فراتر از محدوده تالاب انزلی ارائه نشده است (Taghizadeh *et al*, 2005).

با توجه به اهمیت گیاهان دارویی در درمان بیماری‌های مختلف، استفاده روبه‌رشد از این گیاهان به‌عنوان مواد طبیعی کم‌خطر، در دسترس و ارزان قیمت، همچنین مقبولیت مصرف آنها نزد مردم (Mosaddegh & Naghibi, 2002)، پژوهش پیش‌رو با هدف اصلی بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره گیاه دارویی آب‌بشقابی در منطقه پراکنش خود یعنی استان گیلان انجام شد. در این ارتباط پژوهش‌های مختلفی انجام شده است برای بررسی پیوند این پژوهش با پژوهش‌های قبلی موارد زیر ارائه می‌شوند.

در مطالعه‌ای اثرات ضدمیکروبی عصاره و برگ گیاه آب‌بشقابی را بر تعدادی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد، عصاره استخراج‌شده با حلال اتانول در مقایسه با حلال‌های کلروفرم و آبی، اثرات آنتی‌میکروبیال بهتری دارد. عصاره اتانولی گیاه آب‌بشقابی از قطر هاله عدم رشد بالایی در برابر باکتری‌های اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس آلبوس، سودوموناس آئروژینوزا، استرپتوکوکوس پیوژنز و استرپتوکوکوس پنومونیه برخوردار بوده است. رشد شش باکتری مورد مطالعه به جز سودوموناس آئروژینوزا و استرپتوکوکوس پیوژنز توسط هر سه عصاره مهار شده است. عصاره‌های اتانولی و کلروفرمی روی رشد قارچ‌های آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس نایجر و میکروسپوریوم بولاردی اثرات مهاری داشته است، درحالی‌که تأثیر عصاره آبی در مهار رشد قارچ‌های مورد بررسی کمتر بوده است. همچنین، بهترین فعالیت ضدقارچی در عصاره اتانولی استخراج‌شده از گیاه آب‌بشقابی مشاهده شد و حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتریایی و قارچی برای عصاره اتانولی مربوط به غلظت‌های ۵ تا ۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتربود (Nasution *et al,* 2018).

در بررسی اثر ضدمیکروبی گیاه دارویی آب‌بشقابی روی برخی از میکروارگانیسم‌ها گزارش کردند، عصاره گیاه آب‌بشقابی دارای اثرات ضدمیکروبی قابل‌توجهی بوده است، به‌طوری‌که در مقابل باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس با میانگین قطر هاله عدم رشد ۲۱ میلی‌متر و سودوموناس مارجینالیس با میانگین قطر هاله عدم رشد ۱۴ میلی‌متر از اثرات ضد میکروبی بالایی برخوردار بوده است. میزان حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری استرپتوکوکوس موتانس ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش شد (Restuati & Diningrat, 2018).

Singh و همکاران (۲۰۱۴) ترکیبات عملکردی (ریزمغذی‌ها و مواد شیمیایی) و فعالیت آنتی اکسیدانی برگ گیاه آب‌بشقابی را بررسی نمودند و مشخص شد، در هر ۱۰۰ گرم از برگ گیاه، طیف وسیعی از ترکیبات ریزمغذی مانند منگنز (۹۰/۱–۲۵/۲ میلی‌گرم)، مس (۴۶/۸–۲/۹ میلی‌گرم)، سدیم (۶۹۷/۷–۲۳/۶ میلی‌گرم)، روی (۱۲۲/۹–۱۶/۶ میلی‌گرم)، کلسیم (۲۸۷۰/۸–۱۳۵۴/۹

میلی‌گرم)، آهن (۲۴۷/۲-۱۱۲/۴ میلی‌گرم) و منیزیم (۷۵۷/۴-۳۹۸/۰ میلی گرم) وجود دارد. نتایج آنالیز فیتوشیمیایی ۱۰۰ گرم برگ تازه از گیاه آب بشقابی نشان داد، میزان ترکیبات فنولیک (۳۱۸/۰-۱۲۰/۰ میلی‌گرم)، ترکیبات فلاونوئیدی (۲۶۰/۶-۱۱۱/۸ میلی‌گرم)، تانن (۸۵۶/۶-۲۰۶/۶ میلی‌گرم)، آنتوسیانین (۳۱۵/۲-۱۷۶/۲ میلی‌گرم)، کاروتنوئیدها (۷۲/۶-۱۲/۵ میلی‌گرم) و آسکوربیک‌اسید (۹۶/۶-۳۶/۶ میلی‌گرم) بوده است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی استخراج‌شده در حدود ۷۲ تا ۸۵/۷ درصد گزارش شد که نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌داری با آنتوسیانی، توتال فنل، فلاونوئید و تانن بوده است.

Zahara و همکاران (۲۰۱۴) با مطالعه گیاه *C. asiatica*، خصوصیات و فواید درمانی این گیاه را در طب سنتی و کلینیکال شرح دادند. آنها با اشاره به وجود ترکیباتی چون مادکازیک‌اسید،

اسیاتیک اسید، α-ترپینن،α- کوپانن، α- کاربوفیلن، نقش این مواد را در توان آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌میکروبی، ضد زخمی و ضد ویروسی بیان کردند.

Aziz و Chong (۲۰۱۱) در پژوهش دیگری با عنوان مروری سیستماتیک بر ترکیبات شیمیایی گیاه دارویی آب‌بشقابی، محتویات شیمیایی گیاه *C. asiatica* مطالعه شد، نتایج نشان داد این گیاه غنی از ترکیبات ترپنی و فنلی است.

در مطالعه ای دیگر نتاج حاصل از ویژگی‌های علمی گیاه *C. asiatica*، حاکی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی، محتوای شیمیایی، فعالیت‌های ضدباکتریایی، ضدزخم، ضددیابت، ضدالتهابی، ضدتوموری، حفاظت از سلول‌های عصبی و قلبی عروقی و پوست وحافظه برای این گیاه بود .

در پژوهشی دیگر، ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره‌هایی با حلال‌های اتانول، آب و پترولئوم اترسبک گیاه دارویی آب‌بشقابی بررسی شد، یافته‌های پژوهش نشان داد، عصاره اتانولی برگ گیاه دارویی آب‌بشقابی به‌طور معنی‌داری فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به عصاره آبی و پترولئوم اتری دارد. نتایج پژوهش حاکی از اثرات آنتی‌اکسیدانی بالا در عصاره گیاه دارویی موردمطالعه بوده است، به‌طوری‌که در غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از ۹۴/۸۹ درصد از مهارکنندگی رادیکال آزاد برخوردار بوده است (Hamid *et al.*, 2002).

مواد و روش‌ها

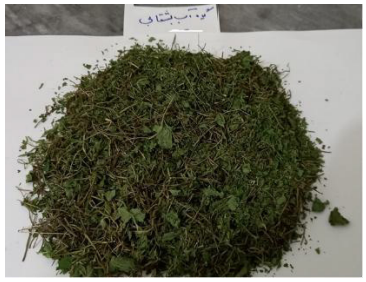
تهیه نمونه‌ها

نمونه گیاه دارویی آب‌بشقابی(شکل ۱) در فصل بهارسال ۱۴۰۰ از شهر شفت واقع در استان گیلان جمع‌آوری، تمیز و قسمت‌های آسیب‌دیده و فاسد از آن جدا شد، سپس در مجاورت هوای آزاد، در سایه، یا تاریکی و دور از نور خورشید خشک شد. گیاه خشک‌شده (شکل ۲) بسته‌بندی و برای عصاره‌گیری آماده شد.

تهیه سویه‌های میکروبی

ویال لیوفیلیزه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس با ۱۴۳۱PTCC=، اشریشیاکلی با

شکل ۱- گیاه دارویی آب بشقابی



شکل ۲- برگ خشک گیاه آب بشقابی

PTCC ۱۷۶۹ = ، سالمونلا تایفی موریوم با PTCC ۱۶۰۹ = ، استرپتوکوکوس موتانس با PTCC ۱۶۸۳ = و قارچ‌های آسپرژیلوس فلاووس با PTCC ۵۰۰۶ = و کاندیدا آلبیکنس با PTCC ۵۰۲۷ = از کلکسیون میکروبی و قارچی سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران خریداری و فعال‌سازی باکتری‌ها براساس دستورالعمل ارائه‌شده انجام شد. در این مرحله باکتری‌های خالص روی محیط های کشت نوترینت براث، نوترینت آگار، تریپتیکیس سوی آگار، پوتیتو دکستروز آگار و ئیست مولد آگار کشت داده شدند.

استخراج عصاره به روش ماسراسیون

عصاره این گیاه با روش غوطه‌وری در حلال هیدرواتانولی ۷۰ درصد استخراج شد. در یک ارلن دربسته، ۵۰۰ میلی‌لیتر حلال به ۱۰۰ گرم از برگ گیاه آب‌بشقابی، افزوده و مخلوط حاصل برای ۷۲ ساعت توسط همزن مغناطیسی همزده شد (Cowan *et al.*,1999). سپس، عصاره حاصل به وسیله کاغذ صافی معمولی از قسمت‌های جامد گیاه جدا شد. عصاره با استفاده از دستگاه تبخیرکننده چرخان و تحت خلأ (روتاری اواپراتور) تغلیظ و تا زمان استفاده در ویال‌های شیشه‌ای کهربایی در فریزر قرار گرفت. از دیسک‌های بلانک (پادتن طب) برای تهیه دیسک‌های حاوی عصاره استفاده شد. برای انجام مراحل مختلف آثار ضدمیکروبی، کلیه وسایل موردنیاز در اتوکلاو (Nüve، ترکیه) با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع به مدت ۱۵ دقیقه سترون شد. همه مواد مورد استفاده در این پژوهش با درجه خلوص بالا و از شرکت‌های مرک، فلوکا، نانوشیمی سبلان و پادتن طب تهیه شدند.

بررسی قطر هاله عدم رشد به روش دیسک دیفیوژن

دیسک‌های بلانک استریل آغشته به تیمارهای مختلف عصاره گیاه دارویی آب‌بشقابی در سطح محیط کشت، برای بررسی هاله عدم رشد باکتری‌ها و قارچ مورد مطالعه استفاده شد. پلیت‌ها به همراه شاهد کنترل که شامل یک پلیت حاوی دیسک‌های آنتی‌بیوتیک و آنتی‌فونگال برای باکتری و قارچ به عنوان کنترل مثبت و دیسک بلانک استریل حاوی آب مقطر استریل به عنوان کنترل منفی درون گرمخانه ۳۷±۲ درجه سانتی‌گراد برای

مدت زمان ۲۴ ساعت نگهداری شد تا هاله عدم رشد هر باکتری و قارچ بررسی شود (Fakoor *et al*., 2007).

تعیین حداقل غلظت مهاری (MIC)

برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره گیاه دارویی آب‌بشقابی به‌طور جداگانه از روش رقت لوله‌ای با سریال متوالی از لوله‌های آزمایش استریل حاوی یک یلی‌لیتر محیط‌های کشت مولرهینتون براث و سابورودکستروز براث استفاده شد که با اضافه کردن یک میلی‌لیتر از تیمار اول عصاره آب‌بشقابی به لوله اوّل و در ادامه کار، یک میلی‌لیتر از محتویات لوله اول گرفته به یک میلی‌لیتر محیط کشت لوله دوم اضافه کرده و بدین طریق رقت‌های ۱/۲ برابر در لوله‌های عصاره تهیه شد. در انتهای کار، یک میلی‌لیتر از محتویات لوله آخر دور ریخته شد. ذکر این نکته لازم است که دو لوله آزمایش،یکی به‌عنوان کنترل مثبت (فاقد عصاره که با اضافه شدن باکتری یا قارچ و رشد آنها، کدر می‌شود) و دیگری کنترل منفی که از مخلوط محیط کشت و عصاره گیاه استفاده شد، در مجموع از نه لوله آزمایش استفاده شد (هفت لوله برای تیمارهای مختلف عصاره‌ها و دو لوله به‌عنوان کنترل مثبت و منفی). در مرحله بعد، به تمام لوله‌ها مقدار ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروب‌ها اضافه شد و برای باکتری‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و برای قارچ مورد مطالعه دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت برای باکتری‌ها و ۷۲ ساعت برای قارچ‌ها انکوبه شد، بعد از انکوباسیون، رشد و کدورت ایجاد شده در لوله‌ها در مقایسه با کدورت ایجاد شده در لوله شاهد یا کنترل مثبت بررسی شد (Mohajerfar *et al.,* 2012).

تعیین حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC)

جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی مقدار ۱۰ میکرولیتر، از لوله MIC و سایر لوله‌های فاقد کدورت در محیط کشت مولرهینتون آگار کشت داده و در گرمخانه ۲±۳۷ درجه سلسیوس به مدت زمان ۲۴ ساعت انکوبه شد و کمترین غلظتی که در آن رشدی مشاهده نشد به عنوان MBC در نظر گرفته شد (Mohajerfar *et al.,* 2012).

اندازه‌گیری میزان فنل تام

در این روش میزان ترکیبات فنلی تام به روش فولین‌سیوکالتیو اندازه‌گیری شد.معرف فولین مخلوطی از فسفو مولیبدیک/ فسفوتنکستیک اسید است که توسط ترکیبات فنلی و در pH بازی، به مولیبدنیم اکسید و تنگستن احیا شده و باعث تشکیل محصولات آبی رنگ می‌شود که در 720 nm حداکثر جذب را دارند. در این سنجش از گالیک‌اسید به‌عنوان استاندارد استفاده شد و ابتدا منحنی استاندارد آن رسم شد. سپس با استفاده از معادله خط حاصل، محتوای فنل عصاره‌ها تعیین شد.

اندازه‌گیری میزان فلاونوئید تام

در این روش میزان ترکیبات فلاونوئیدی تام کل عصاره‌ها براساس روش چانگ و با استفاده از معرف آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد (Chang *et al.,* 2002). آلومینیوم کلرید، کمپلکس‌های پایدار اسیدی با گروه کتونی شماره ۴ و گروه هیدروکسیل‌کربن شماره ۳

یا کربن شماره ۵ در فلاون‌ها و فلاونول‌هاونیز کمپلکس‌های تغییرناپذیر اسیدی با گروه‌های ارتودی‌هیدروکسیل در حلقه A یا B فلاونوئیدها تشکیل می‌دهد که این کمپلکس‌هادر طول موج ۴۱۵ نانومتر حداکثر جذب را دارند. برای تعیین مقدار فلاونوئید موجود در هریک از نمونه‌هاازمنحنی کوئرستین استفاده شد.

آزمون DPPH

توانایی‌دهندگی الکترون یا اتم هیدروژن عصاره‌هابراساسمیزان فعالیت جمع‌آوری رادیکال آزاد ۲و۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) سنجیده شد. در این روش از تغییر رنگ رادیکال آزاد DPPH به کمک اسپکتروفتومتر استفاده شد. DPPH رادیکال پایداری است که در واکنش‌های اکسیداسیون-احیا به‌عنوان یک ماده اکسیدکننده عمل می‌کند. رنگ این معرف در حالت اکسیدشده بنفش است که در طول موج‌های حدود ۵۲۰-۵۱۵ نانومتر جذب دارد و در حالت احیا شده زرد است. موادی که دارای پتانسیل احیای بالاتر از DPPH باشند، می‌توانند آن را احیاکنند و باعث تغییر رنگ آن از بنفش به زرد گردند.

تجزیه آماری

در این پژوهش، خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره گیاه آب‌بشقابی، با استفاده از طرح کاملاً تصادفی در غلظت‌های مختلف ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ و ۶/۲۵ میکرولیتر در میلی‌لیتر و با روش اندازه‌گیری‌های تیمارها در سه تکرار انجام شد، نتایج به‌دست‌آمده با استفاده از روش‌های آنالیز واریانس یک‌طرفه (One- Way–ANOVA)و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش آزمون چنددامنه ایدانکن در سطح احتمال ($P<0/05$) تجزیه‌وتحلیل شد. آنالیزهای آماری در نرم‌افزار Spss V.25 انجام و نمودارها در نرم‌افزار EXCEL رسم شد.

نتایج و بحث

راندمان عصاره‌گیری

راندمان عصاره‌گیری با استفاده از رابطه (۱) برای گیاه دارویی آب‌بشقابی، برابر ۵/۱۵ درصداست.

رابطه ۱

$$\text{راندمان} = \frac{\text{وزن پالن خشک بدون عصاره} - \text{وزن پالن با عصاره}}{\text{وزن کل گیاه استفاده شده}} \times 100$$

اثرات ضدمیکروبی عصاره گیاه دارویی آب بشقابی به روش دیسک دیفیوژن

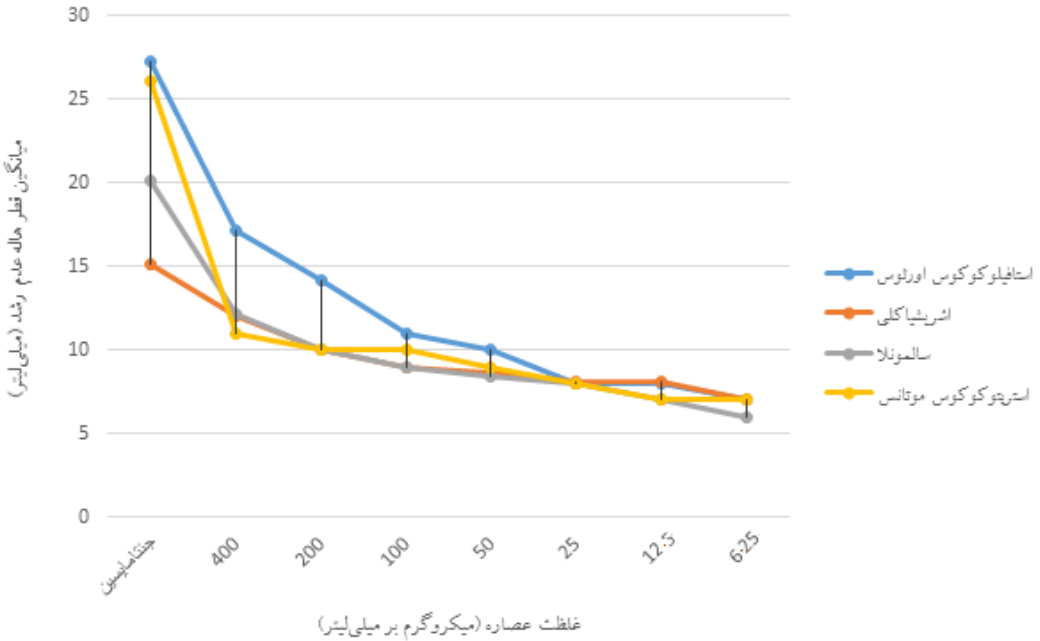
نتایج حاصل از بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره هیدرواتانولی گیاه دارویی آب‌بشقابی روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اروئوس، اشریشیاکلی، سالمونلا و استرپتوکوکوس موتانس و قارچ‌های آسپرژیلوس فلاوس و کاندیدا آلبیکنس به روش دیسک دیفیوژن در جدول ۱ ارائه شده است، داده‌ها نشان می دهند، قارچ آسپرژیلوس فلاووس و باکتری اشریشیاکلی به‌ترتیب دارای بیشترین و کمترین حساسیت هستند.

جدول ۱- نتایج تأثیر آنتی بیوتیک و آنتی فونگال و تیمارهای مختلف عصاره آب بشقابی روی باکتری ها و قارچ های مورد مطالعه

تیمارها	باکتری				قارچ		
	استافیلوکوکوس اورئوس	اشریشیاکلی	سالمونلا	استرپتوکوکوس موتانس	آسپرژیلوس فلاووس	کاندیدا آلبیکنس
جنتامایسین	۲۷/۲±۳۳۰/۵۱۶^{a}	۱۵/۱±۶۶۷/۱۵۴^{a}	۲۰/۱±۶۶۷/۱۵۴^{a}	۲۶/۱±۰۰۰/۰۰۰^{a}	-	-
مایکونازول	-	-	-	-	-	-
۴۰۰	۱۷/۱±۰۰۰/۷۳۲^{b}	۱۲/۰±۳۳۰/۵۷۷^{b}	۱۲/۱±۰۰۰/۰۰۰^{b}	۱۱/۰±۸۳۳/۲۸۸^{b}	۱۲/۰±۵۰۰/۰۵۰^{b}	۱۱/۰±۸۳۳/۷۶۳^{b}
۲۰۰	۱۴/۲±۳۳۰/۰۸۱^{c}	۱۰/۰±۱۶۷/۷۶۳^{c}	۱۰/۰±۵۰۰/۵۷۷^{c}	۱۰/۰±۶۶۷/۵۷۷^{c}	۱۰/۰±۸۳۳/۷۶۳^{bc}	۱۰/۰±۵۰۰/۵۰۰^{c}
۱۰۰	۱۱/۰±۳۳۰/۵۷۷^{d}	۹/۰±۱۶۷/۷۶۳^{cd}	۹/۰±۶۶۷/۵۷۷^{cd}	۱۰/۰±۰۰۰/۵۰۰^{cd}	۱۰/۰±۰۱۱/۰۰۰^{cd}	۹/۰±۸۳۳/۲۸۸^{cd}
۵۰	۱۰/۰±۳۳۰/۲۸۸^{de}	۸/۰±۶۶۷/۵۷۷^{cd}	۸/۴۰۷ ۰±/۵۷۷^{de}	۹/۰۰۰ ۱±/۰۰۰^{de}	۹/۰±۳۳۹/۲۸۸^{cde}	۹/۰±۳۳۳/۲۴۵^{de}
۲۵	۸/۰±۵۰۰/۵۰۰^{ef}	۸/۱±۳۳۰/۲۵۸^{cde}	۸/۰±۰۱۲/۲۸۸^{e}	۸/۰±۱۶۷/۲۸۸^{ef}	۸/۰±۱۶۷/۲۸۸^{de}	۸/۰±۶۶۷/۲۷۵^{ef}
۱۲/۵	۸/۰±۰۰۰/۵۰۰^{ef}	۸/۱±۱۶۷/۰۴۰^{de}	۷/۰±۶۶۷/۲۸۸^{ef}	۷/۰±۳۳۳/۷۶۳^{f}	۷/۰±۶۶۷/۵۷۷^{e}	۷/۰±۸۳۳/۲۸۸^{f}
۶/۲۵	۷/۰±۵۰۰/۵۰۰^{f}	۷/۱±۰۰۰/۰۰۰^{e}	۶/۰±۸۳۳/۲۸۸^{f}	۷/۰±۰۰۰/۵۰۰^{f}	۷/۰±۳۳۰/۲۸۸^{e}	۶/۰±۶۶۷/۷۶۳^{g}

*اعداد(انحراف معیار ± میانگین) دارای حروف مشترک در هر ستون از لحاظ آماری تفاوت معنی دار با یکدیگر ندارند(P<۰/۰۵)

*اعداد(انحراف معیار±میانگین) دارای حروف مشترک در هر ستون از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند(P/۰۵>۰)



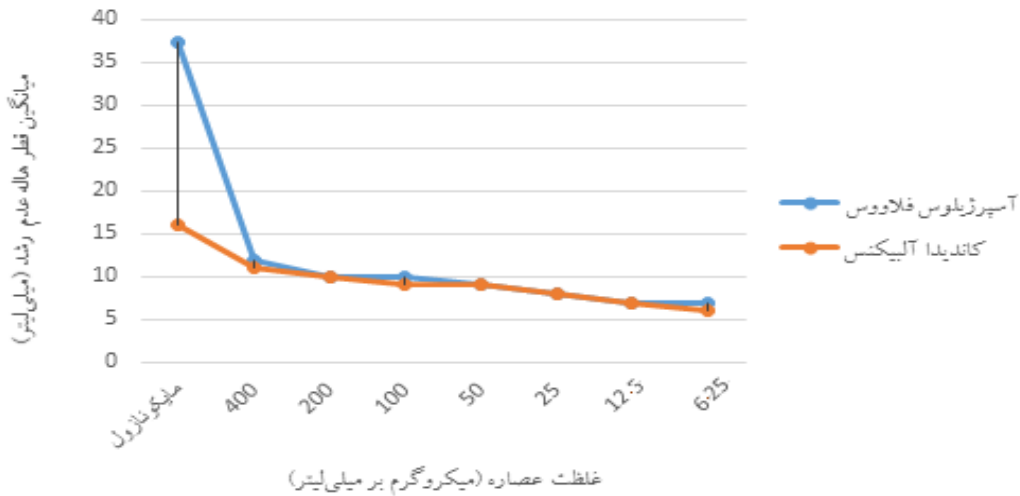
شکل ۳- مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد مربوط به اثر آنتی بیوتیک جنتامایسین و عصاره آب بشقابی بر باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی، سالمونلا تایفی موریوم و استرپتوکوکوس موتانس

اثر ضدباکتریایی عصاره آب‌بشقابی بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی، سالمونلا تایفی موریوم و استرپتوکوکوس موتانس

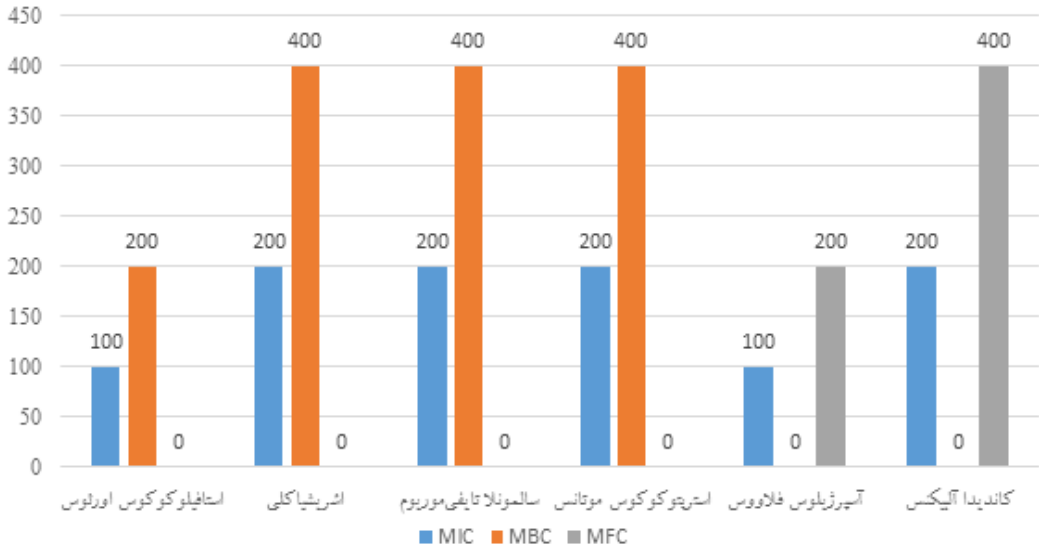
آنالیز واریانس داده‌های حاصل از بررسی مقایسه‌ای اثر ضدباکتریایی عصاره آب‌بشقابی بر هر چهار باکتری یادشده نشان می‌دهد، بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و کمترین قطر هاله عدم رشد مربوط به تیمار ۶/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتربوده است، همچنین، با کاهش غلظت عصاره از قطر هاله عدم رشد کاسته شده است. ذکر این نکته لازم است، در بیشتر موارد، اختلاف آماری معناداری در میان تیمارها مشاهده نشد (شکل ۳).

اثر ضدقارچی عصاره آب‌بشقابی بر قارچ‌های آسپرژیلوس فلاووس و کاندیدا آلبیکنس

آنالیز واریانس داده‌های حاصل از بررسی مقایسه‌ای اثر ضدقارچی عصاره آب‌بشقابی بر هر دو قارچ یادشده نشان می‌دهد، بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به آنتی‌فونگال مایکونازول و کمترین قطر هاله عدم رشد مربوط به تیمار ۶/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتربوده است، همچنین، با کاهش غلظت عصاره از قطر هاله عدم رشد کاسته شده است. درمورد قارچ آسپرژیلوس فلاووستیمارهای ۵۰ تا ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، همچنین ۶/۲۵ تا ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر فاقد اختلاف آماری معنی‌داری با یکدیگر بوده‌اند، اما درمورد قارچ کاندیدا آلبیکنس، برخی از تیمارها اختلاف آماری معنی‌داری با یکدیگرداشته‌اند (شکل ۴).



شکل ۴- مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد مربوط به اثر آنتی فونگال مایکونازول و عصاره آب بشقابی بر قارچ های آسپرژیلوس فلاووس و کاندیدا آلبیکنین



شکل۵- مقایسه اثر غلظت های مختلف عصاره آب بشقابی در تعیین MIC، MBC و MFC میکروارگانیسم های مورد مطالعه

مقایسه اثر غلظت‌های مختلف عصاره آب‌بشقابی در تعیین MIC، MBC و MFC میکروارگانیسم‌های موردمطالعه

همان‌طور که شکل ۵ نشان می‌دهد،عصاره گیاه دارویی آب‌بشقابی از اثرات مهارکنندگی (MIC) بیشتری روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و قارچ آسپرژیلوس فلاوس برخوردار بوده، درحالی‌که روی دیگر باکتری‌ها و قارچ‌های مورد مطالعه اثرات مهارکنندگی کمتری داشته است. این عصاره، اثرات کشندگی (MBC) بیشتری نیز روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در مقایسه با دیگر باکتری‌های مورد مطالعه داشته است. با توجه

جدول ۲- میانگین مقدار فنل تام و فلاونوئید در عصاره گیاه دارویی آب بشقابی

فنل تام (mg GAE/g EXT)	فلاونوئید (mg QE/g EXT)
۱/۴۶۹ ± ۰/۰۰۵	۲/۶۷۹ ± ۰/۰۰۶

به شکل ۵، عصاره گیاه دارویی آب بشقابی از بیشترین اثرات کشندگی(MFC) روی قارچ آسپرژیلوس فلاووس در مقایسه با کاندیدا آلبیکنس برخوردار بوده است.

اندازه‌گیری میزان فنل تام و فلاونوئید

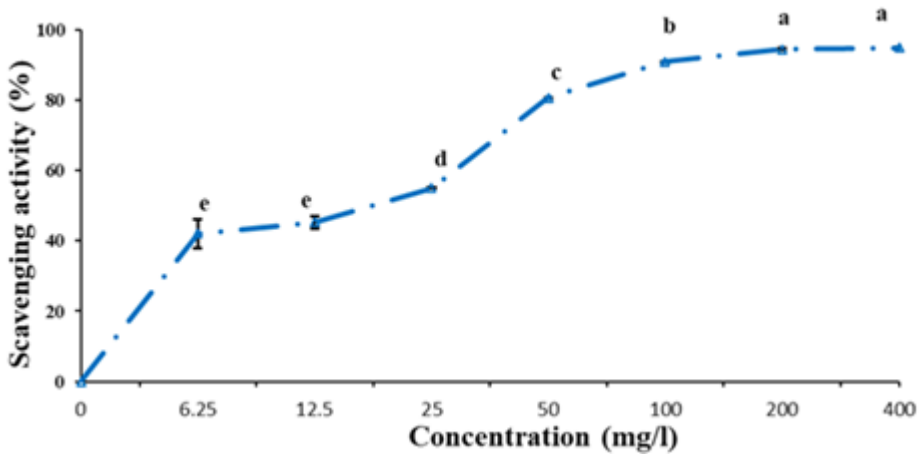
همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود،میانگین فنل تام و فلاونوئید موجود در عصاره گیاه دارویی آب‌بشقابی به‌ترتیب برابر با ۱/۴۶۹ میلی گرم معادل گالیک‌اسیدو ۲/۶۷۹ میلی‌گرم معادل کوئرستین در هر گرم از عصاره این گیاه است.

درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از بررسی درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH درغلظت‌های ۶/۲۵ تا ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر درشکل ۶ نشان می‌دهد، تنها غلظت‌های ۶/۲۵ و ۱۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر فاقد اختلاف آماری معنی‌دار با یکدیگر بوده‌اند. با افزایش غلظت عصاره، درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد نیز افزایش می‌یابد، به‌طوری که غلظت‌های ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر با میانگین ۹۴/۸۹ درصد و ۶/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر با میانگین ۴۲/۰۱ درصد به ترتیب بیشترین و کمترین درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد را داشته‌اند.

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌های حاصل از بررسی مقایسه‌ای اثر ضدباکتریایی عصاره آب‌بشقابی بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نشان داد، عصاره این گیاه، اثرات ضدباکتریایی مناسبی داشته است، تیمارهای ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر با میانگین قطر هاله عدم رشد ۱۷ میلی‌متر و ۶/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر با میانگین قطر هاله با ۷/۵۰۰ میلی‌متر به ترتیب از بیشترین و کمترین اثرات برخوردار بوده‌اند. در همین رابطه، Nasution و همکاران (۲۰۱۴) نیز اثرات ضدمیکروبی عصاره برگ آب‌بشقابی را بر تعدادی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا بررسی کردند و نشان دادند، عصاره استخراج‌شده با حلال اتانول از اثرات ضدمیکروبی بهتری در مقایسه با حلال‌های کلروفرم و آبی برخوردار بوده است. همچنین Sevoratnam و همکاران (۲۰۱۲) نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی قابل‌توجهی را برای این گیاه گزارش کردند.

نتایج بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره آب‌بشقابی بر باکتری اشریشیاکلی در مقایسه با آنتی‌بیوتیک جنتامایسینشان داد، بیشترین قطر هاله عدم رشد با میانگین ۱۵/۶۶ میلی‌متر مربوط به آنتی‌بیوتیک جنتامایسین بوده است. در بررسی غلظت‌های عصاره آب بشقابی، غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر با میانگین ۱۲/۳۳ میلی‌متر و غلظت ۶/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر با میانگین ۷ میلی‌متر به‌ترتیب از بیشترین و کمترین قطر هاله عدم رشد



شکل ۶- مقایسه میانگین درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH در غلظت های مختلف عصاره گیاه آب بشقابی

برخوردار بوده‌اند. استبرقی و همکاران نیز در سال ۱۳۹۷ نشان دادند، تأثیر عصاره بر باکتری گرم منفی اشریشیاکلی کمتر از باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس بوده است، زیرا در باکتری‌های گرم مثبت ترکیبات ضدمیکروبی به‌راحتی دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی را تحت تأثیر قرار می دهند. در پژوهش پیش‌رو نیز، باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس دارای حساسیت بیشتری در مقابل عصاره آب بشقابی نسبت به باکتری اشریشیاکلی بوده است.

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌های به‌دست آمده از بررسی مقایسه‌ای اثر ضدباکتریایی عصاره آب‌بشقابی بر باکتری سالمونلا تایفی‌موریوم حاکی از نبود اختلاف آماری معنی‌دار در میان برخی از تیمارها بود. میانگین قطر هاله عدم رشد در آنتی‌بیوتیک جنتامایسین ۲۰/۶۶ میلی‌متر و غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر با میانگین۱۲ میلی متر از بالاترین اثرات ضدمیکروبی و غلظت ۶/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر با میانگین قطر ۶/۸۳ میلی‌متر از کمترین اثرات برخوردار بود. در همین رابطه، Sieberi و همکاران (۲۰۱۸) در بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره متانولی گیاه دارویی آب‌بشقابی بر باکتری‌های سالمونلا تایفی، اشریشیاکلی، شیگلا سونئی، باسیلوس سرئوس و استافیلوکووس اورئوس نشان دادند، عصاره متانولی *Centella asiatica* در برابر سویه‌های باکتریایی انتخاب شده دارای اثرات ضدمیکروبی بوده است. از نظر آنها، این گیاه می‌تواند منبع مهمی از عوامل ضدباکتری باشد.

نتایج پژوهش پیرامون اثر ضدباکتریایی عصاره آب‌بشقابی بر باکتری استرپتوکوکوس موتانس نشان داد، غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر با قطر هاله عدم رشد ۱۱/۸۳ میلی‌متر و غلظت ۶/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر با قطر هاله عدم رشد ۷ میلی‌متر به ترتیب از بیشترین و کمترین اثر ضدمیکروبی عصاره روی باکتری استرپتوکوکوس موتانس برخوردار بوده‌اند. نتایج Restuati و Diningrat (۲۰۱۸) نیز نشان

داد، عصاره گیاه آب‌بشقابی دارای اثرات ضدمیکروبی قابل‌توجهی بوده است، به‌طوری‌که در مقابل باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس با میانگین قطر هاله عدم رشد ۲۱ میلی‌متر و سودوموناس مارجینالیس با میانگین قطر هاله عدم رشد ۱۴ میلی‌متر از اثرات ضدمیکروبی بالایی برخوردار بوده است.

نتایج حاصل از بررسی اثر ضدقارچی عصاره آب‌بشقابی بر قارچ آسپرژیلوس فلاووس نشان داد، بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به آنتی‌فونگال مایکونازول بوده است. غلظت‌های بالا در عصاره دارای اثرات ضدقارچی مناسبی بوده است، به‌طوری‌که غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر دارای قطر هاله عدم رشد ۱۲/۵ میلی‌متر بوده است و با کاهش غلظت عصاره از قطر هاله عدم رشد کاسته شده است. در همین رابطه، Nasution و همکاران (۲۰۱۸) بهترین فعالیت ضدقارچی را در عصاره اتانولی استخراج‌شده از گیاه آب‌بشقابی گزارش کردند.

نتایج این پژوهش پیرامون اثرات ضدقارچی عصاره آب‌بشقابی بر قارچ کاندیدا آلبیکنس نشان داد، بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به آنتی‌فونگال مایکونازول بوده است و با کاهش غلظت عصاره از قطر هاله عدم رشد کاسته شده است. در همین رابطه، ناسوشن و همکاران بهترین فعالیت ضدقارچی را در عصاره اتانول ریشه *C. asiatica* ثبت کردند. همچنین، حداقل غلظت بازدارنده (MIC) برای عصاره اتانول بین ۵/۰ تا ۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر برای قارچ‌ها و در مقابل مخمر کاندیدا آلبیکنس بود.

همینطور نتایج این پژوهش نشان داد، عصاره گیاه دارویی آب‌بشقابی با حداقل غلظت مهارکنندگی ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اثر مهارکنندگی بیشتری روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و قارچ آسپرژیلوس فلاوس داشته است. در تعیین حداقل کشندگی باکتری‌ها و قارچ‌های موردمطالعه نیز مشخص شد، عصاره این گیاه از اثرات کشندگی بیشتری روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با MBC برابر با ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با دیگر باکتری‌های موردمطالعه برخوردار بوده است و در تعیین حداقل کشندگی قارچ‌های موردمطالعه نیز بیشترین اثرات کشندگی روی قارچ آسپرژیلوس فلاووس در مقایسه با کاندیدا آلبیکنس تعیین شد.

میانگین فنل تام در عصاره این گیاه برابر با ۱/۴۶۹ میلی‌گرم معادل گالیک‌اسید در هر گرم از عصاره و میانگین فلاونوئید برابر با ۲/۶۷۹ میلی‌گرم معادل کوئرستین در هر گرم از عصاره گیاه دارویی آب بشقابی بوده است. نتایج حاصل از بررسی درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH در غلظت‌های ۶/۲۵ تا ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نشان داد، تنها غلظت‌های ۶/۲۵ و ۱۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بایکدیگر بوده‌اند. با افزایش غلظت عصاره، درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد افزایش می‌یابد. در همین رابطه، Singh و همکاران (۲۰۱۴) در هر ۱۰۰ گرم از برگ این گیاه، میزان ۳۱۸/۰–۱۲۰/۰ میلی گرم ترکیبات فنولیک و ۲۶۰/۶–۱۱۱/۸ میلی

گرم ترکیبات فلاونوئیدی وجود دارد. همچین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی استخراج‌شده در حدود ۷۲ تا ۸۵/۷ درصد گزارش شد، که با نتایج حاصل از این پژوهش کاملاً مطابقت دارد. حمید و همکاران نیز در سال ۲۰۰۲ نشان دادند، عصاره اتانولی این گیاه، به طور معنی‌داری فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به عصاره آبی و پترولئوم اتری دارد.

نتیجه گیری کلی

این تحقیق نشان داد، عصاره گیاه دارویی آب‌بشقابی اثرات ضدمیکروبی قابل‌توجهی دارد. این اثرات در مقابل باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس با میانگین قطر هاله عدم رشد ۱۷ میلی‌متر و قارچ آسپرژیلوس فلاووس با میانگین قطر هاله عدم رشد ۱۲/۵ میلی‌متر بیشتر است. حداقل غلظت مهارکنندگی ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در دو میکرارگانیسم یاد شده از اثرات ضدمیکروبی بیشتری نسبت به دیگر میکروارگانیسم‌ها برخوردار بوده، هرچند که این خاصیت را در مقابل همه میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه از خود نشان داده است.

همچنین نتایج حاصل از این پژوهش حاکی از اثرات آنتی‌اکسیدانی بالا در عصاره گیاه دارویی آب‌بشقابی است. این گیاه غنی از ترکیبات ترپنی و فنلی می باشد. لذا با توجه به فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالقوه و مقادیر غنی از ترکیبات فنولی در عصاره این گیاه، می‌توان از عصاره گیاه آب‌بشقابی در صنایع غذایی و داروسازی به جای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و سایر نگهدارنده‌های شیمیایی برای به تأخیر انداختن پراکسیداسیون لیپیدها و جلوگیری از رشد پاتوژن‌های غذایی استفاده کرد.

References

Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in food- a review. International Journal of Food Microbiology, 94: 223-253.

Cetinkaya, F., Cibik, R., Soyutemiz, G.E., Ozakin, C., Kayali, R. and Levent, B. 2007. Shigella and Salmonella contamination in various foodstuffs in Turkey. Food Control, 19(11): 1059-1063.

Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. 2002. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. Food and Drug Analysis, 10: 78-182.

Chong, N. J. and Aziz, Z. 2011. A systematic review on the chemical constituents of centella asiatica. Research Journal of pharmaceutical, Bilogical and Chemical Sciences, 2(3): 445- 459.

Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev, 12(4): 64-82.

Ebrahimi-Pure, A., Daraei-Garmakhany, A. and Salami, M. 2014. Antibacterial effects of pure, aqueous and ethanol extracts of Rasht purple *garlic* and its shell on eight food pathogens. 2nd national conference on optimization of production, distribution and consumption chain in the food industry. 18-19 February, Sari, Iran. 679-685.

Estabraghi, E., Sadeghpour, M. and Mehrabani, A. 2019. Study of Pomegranate Hydromethanol Extract on Staphylococcus Aureus and Escherichia Coli by Microplate in Laboratory Conditions. Journal of Payavard Salamat, 12(3): 183-192.

Fakoor, M.H., Allameh, A., Rasooli, I. and mazaheri, M. 2007. Antifungal effects of *Zataria multiflora Boiss.* and *Thymus eriocalyx (Ronniger) Jalas* essential oils on aflatoxin producing Aspergillus parasiticus. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 23(2): 269-277.

Ghasemzadeh, A. and Ghasemzadeh, N. 2011. Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. Journal of Medicinal Plants Research, 5(31): 6697-6703.

Gülçin, İ., Oktay, M., Kıreçcr, E. and Küfrevıoğlu, İ.Ö. 2003. Screening of

antioxidant and antimicrobial activites of anise (Pimpinella anisum L.) seed extracts. Food Chemistry, 83: 371-382.

Hamid, A. Shahz, M.D., Muse, R. and Mohamad, S. 2002. Characterisation of antioxidative activities of various extracts of Centella asiatica(L.) Urban. Food chemistry, 77: 465-469.

James, J.T. and Dubery, I.A. 2009. Pentacyclic triterpenoids from the medicinal herb, Centella asiatica (L.) Urban. Molecules, 14(10): 3922–3941.

Kaper, J.B., Nataro, J.P. and Mobley, H.L. 2004. Pathogenic Escherichia coli. Nature Reviews Microbiology, 2: 123–140.

Loesche, W.J. 1996. Microbiology of Dental Decay and Periodontal Disease. Baron's Medical Microbiology, 1: 1.

Mohajerfar, T., Hosseinzadeh, A., Akhondzadeh-Basti, A., Khanjari, A., Misaghi, A. and. Gandomi-Nasrabadi, H. 2012. Determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of *Zataria multiflora Boiss.* Essential Oil and Lysozim on L. monocytogenes. Journal of Medicinal Plants, 11(44): 71-80.

Mosaddegh, M. and Naghibi, F. 2002. Iranian traditionalmedicine, past and present in traditionalmedicine andmateria medica. Tehran, TMRC Pub, 2 p.

Nasution, M. Y., Restuati, M., Shafwan, A., Pratiwi, N. and Diningrat, D.S. 2018. Antimicrobial Activities of Centella asiatica Leaf and Root Extracts on Selected Pathogenic Micro-organisms. Journal of Medical Sciences, 18(4): 198-204.

Restuati, M. and Diningrat, D.M. 2018. Antimicrobial Profile of Premna pubescens. Blume and Centella asiatica Extracts Against Bacteria and Fungi Pathogens. Int. J. Pharmacol, 14(2): 271-275.

Schaneberg, B.T., Mikell, J.R., Bedir, E. and Khan, I.A. 2003. An improved HPLC method for quantitative determination of six triterpenes in Centella asiatica extracts and commercial products. Die Pharmazie, 58(6): 381–384.

Schultz, V., Hansel, R. and Tyler, V. 2000. Rational Phytotherapy: a physician's guid to herbal medicine. 4th ed. Springer, Germany, 337 p.

Sevoratnam, V., Banumathis, P., Premlathon, M.R., Sundaram, S.P. and Arumagam, T. 2012. Functronal Properties of centalla asiatia (L.): A Review. International

Journal of Pharmacy and Pharmaccutical Sciences, 4(5): 8-14.

Sieberi, B.M., Omwenga, G.O. and Wambua, R.K. 2020. Screening of the Dichloromethane: Methanolic Extract of Centella asiatica for Antibacterial Activities against Salmonella typhi, Escherichia coli, Shigella sonnei, Bacillus subtilis, and Staphylococcusaureus. Scientific World Journal, 6378712. doi: 10.1155/2020/6378712.

Singh, S., Singh, D.R., Shajeeda Banu, V. and Avish, N. 2014. Functional constituents (micronutrients and phytochemicals) and antioxidant activity of Centella asiatica (L.) Urban leaves. Industrial Crops and Products, 61: 115–119.

Taghizadeh, M., Yasa, N., Naghinejad, E.R. and Ahvazi, M. 2005. investigation of Centella asiatica (L.) Urban as medicinal plants. Journal of medicinal Plants, 3(12): 1-8.

Thuille, N., Fille, M. and Nagl, M. 2003. Bactericidal activity of herbal extracts. International Journal of Hygiene and Environmental Health, 206(3): 217-221.

Zahara, K., Bibi, Y. and Tabassum, S. 2014. Clinical and the rapeutic benefits of centella asiatica. Pure and Applied Biology, 3(4): 152- 159.

Investigation of antioxidant and antimicrobial properties of *Centella asiatica* L. extract in the northern region of the country

Mohammad Reza Haghshenas[1], Seyed Mohammad Vahdat[2*]

1. Ph.D. Student, Department of Chemistry, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.
2. Associate professor, Department of Chemistry, Ayatollah Amoli Branch, Islamic AzadUniversity, Amol, Iran . (Corresponding author)

Received: March 2024 Accepted: April 2024 - DOI: 10.22092/mpt.2024.365160.1142

Abstract

Haghshenas, M. R., Vahdat, S., M., Investigation of antioxidant and antimicrobial properties of ***Centella asiatica*** L. extract in the northern region of the country
Iranian Medicinal Plants and Technology, Vol 5, No. 2, 2022-23 6-7: 43-59(in Persian)

Abstract:

This study was performed to investigate the antimicrobial properties of *Centella asiatica L.* extract in the northern part of the country using the antimicrobial effects of hydroethanolic extract on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus Mutans* and *Aspergillus flavus* and *Candida albicans*, as well as investigating free radical scavenging activities of DPPH, Total phenol and flavonoids were performed. The plant was collected from Shaft city in Gilan province, and the extraction process was performed by Maceration method and distributed by solvent rotary apparatus and for the experiments, the antimicrobial and antioxidant activity in the extract increased with increasing concentration. Staphylococcus aureus and Aspergillus flavus had the most susceptible to plate water extract with minimum inhibitory and Bactericidal concentrations of 100 and 200 µg/ml. The average total phenol in the extract of this plant was equal to 1.469 mg GAE/g EXT and the average flavonoid was equal to 2.679 mg QE/g EXT

Email address of the corresponding author: (vahdat_mohammad@yahoo.com)

of the medicinal plant dish water. In the study of free radical scavenging DPPH, concentrations of 400 µg / ml with an average of 94.89% and concentrations of 6.25 µg / ml with an average of 42.01% had the highest and lowest percentages of free radical scavenging, respectively.