

## ارزیابی تأثیر نوع حلال استخراج کننده عصاره چای سبز بر خصوصیات ضدباکتریایی و ضدقارچی آن

آیدا پروین<sup>۱</sup>، نویده انرجان<sup>۲\*</sup>

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد سراب، دانشگاه آزاد اسلامی، سراب، ایران

۲. استادیار گروه مهندسی شیمی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

\*نویسنده مسئول مکاتبات: anarjan@iaut.ac.com

(دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۳/۲۴ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۱۰/۲۱)

### چکیده

استفاده از منابع گیاهی دارای خواص ضد میکروبی در چند دهه اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است. عصاره‌های گیاهی از جمله عصاره چای سبز به دلیل دارا بودن ترکیبات دارویی و ضد میکروبی، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشند. از این رو هدف از تحقیق حاضر، استخراج عصاره گیاه چای سبز و ارزیابی خاصیت ضد میکروبی آن بود. بدین منظور از سه حلال قطبی، نیمه قطبی و غیر قطبی به ترتیب شامل اتانول ۸۰ درصد، اتیل استات و n-هگزان جهت استخراج عصاره از این گیاه استفاده گردید. نتایج نشان داد از سه حلال مذکور، حلال هیدروالکلی بالاترین راندمان استخراج را دارد بطوری که بازده استخراج حلال هیدروالکل در حدود ۷، اتیل استات ۳ و n-هگزان حدود ۲ درصد حاصل گردید. ارزیابی خاصیت ضدباکتریایی سه عصاره استحصالی نشان داد که عصاره هیدروالکلی با غلظت ۲۵۰ میلی گرم در لیتر به عنوان کمترین غلظت کشنده باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و گرم منفی اشیریشیاکلی می‌تواند به عنوان یک عامل ضدباکتریایی مؤثر مورد استفاده قرار گیرد. خاصیت ضدقارچی غلظت ۲۵۰ میلی گرم در لیتر عصاره هیدروالکلی بر روی دو گونه قارچ آسپروژیلوس ترئوس و آسپروژیلوس فلاووس مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که نمونه حاوی عصاره با غلظت مذکور نسبت به نمونه شاهد در حدود ۶۰ درصد رشد کمتری داشته و به طور مؤثری مانع رشد توده میسیلیومی هر دو قارچ گردید. بدین ترتیب غلظت ۲۵۰ میلی گرم در لیتر عصاره هیدروالکلی چای سبز می‌تواند به عنوان یک عامل ضدباکتریایی و ضدقارچی مؤثر معرفی گردد.

واژه‌های کلیدی: چای سبز، حلال استخراج کننده، ضدباکتریایی، ضدقارچی

## مقدمه

افزایش روزافزون جمعیت جهانی و اهمیت تأمین سلامتی انسان‌ها مستلزم توسعه در زمینه‌های مختلف از جمله دارویی و غذایی می‌باشد. در این زمینه غلبه بر آلودگی میکروبی امری بحث‌برانگیز و مهم می‌باشد. مطالعات انجام شده در دنیا حاکی از آن است که بعضی از گیاهان توانایی مهار رشد میکروارگانیسم‌ها را داشته و استفاده از منابع گیاهی دارای خواص ضد میکروبی در چند دهه اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Shariat et al., 2013). چای سبز از جمله گیاهانی است که تحقیقات زیادی در رابطه با اثرات دارویی و ضد میکروبی آن انجام شده است. چای یک منبع طبیعی از کاتچین، کافئین، تیوفیلین، تیانین و آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشد. ترکیبات متشکله برگ چای شامل فلاوانول‌ها، فلاونونول‌ها، اسیدهای فنولیک، تیوبرومین، پروتئین، اسیدهای آمینه، اسیدهای آلی، مونو و پلی‌ساکاریدها، لیگنین، چربی، کلروفیل و سایر رنگدانه‌ها، خاکستر و مواد معطر می‌باشند که ترکیبات فلاونوئیدی (پلی‌فنل‌ها) از مهم‌ترین آن‌ها محسوب می‌گردند و دارای نقش سلامت‌زا هستند (Harbowy and Balentin, 1997). اکثر پلی‌فنل‌ها دارای فعالیت ضد میکروبی می‌باشند. کاتچین چای سبز با ممانعت از تولید وروتوکسین، از اختلالات سنتز پروتئین‌ها در سلول‌های یوکاریوت و در نتیجه از آسیب بافت و سلول‌های اندوتلیال و بافت‌های کلیه و مغز جلوگیری می‌کند (Kao et al., 2000; Tedeschi et al., 2004).

به منظور استخراج ترکیبات موجود در چای سبز، حلال‌های مختلفی از جمله حلال‌های قطبی، نیمه‌قطبی و غیرقطبی مورد استفاده قرار می‌گیرد. برای بررسی تأثیر

حلال‌های مختلف بر بازده استخراج عصاره چای سبز و خاصیت ضد میکروبی آن سه نوع عصاره چای سبز با استفاده از سه نوع حلال با قطبیت متفاوت (n-هگزان، اتانول ۸۰ درصد و اتیل‌استات) انتخاب گردید. در تحقیق حاضر، فعالیت ضد باکتریایی عصاره چای سبز حاصل از حلال‌های مذکور، بر روی گونه‌های باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و گرم منفی اشریشیاکلی مورد مطالعه قرار گرفت. هم‌چنین خاصیت ضدقارچی چای سبز بر روی قارچ‌های آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس ترئوس ارزیابی گردیده و غلظت مناسب عصاره گیاهی در کنترل فعالیت باکتری و قارچ تعیین گردید.

## مواد و روش‌ها

## - تهیه عصاره چای سبز









برگ گیاه چای سبز در سایه و به دور از نور آفتاب خشک شد. آنگاه عصاره‌گیری از گیاه چای سبز به روش خیساندن در حلال با استفاده از سه نوع حلال n-هگزان، اتانول ۸۰ درصد و اتیل‌استات انجام گرفت. بدین ترتیب که مقدار ۱۰۰ گرم از گیاه آسیاب شده در حلال به نسبت ۱ به ۱۰ به مدت ۷۲ ساعت در شیکرانکوباتور قرار گرفت. پس از فیلترکردن عصاره، بهره‌گیری از دستگاه روتاری اوپراتور (هایدولف آلمان)، عصاره حاصل تغلیظ گردید. عصاره تغلیظ شده با انکوباسیون در ۵۰°C کاملاً خشک شد. آنگاه در حلال دی‌متیل سولفوکسید (DMSO) ۱۰ درصد به نسبت ۱ به ۲ (ورنی حجمی) حل گردید (Neyestani and Khalaji, 2009).

بدین ترتیب که با بکارگیری روش میکروبراث‌دابلوشن و استفاده از دستگاه الیزاپلیت‌ریدر (DA-3200، دانا-ایران) تأثیر عصاره با غلظت‌های مشخص روی دو نوع باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC 1112) و *اشریشیاکلی* (PTCC 1270)، تهیه شده از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تعیین و با نمونه شاهد مقایسه شد (Mohajerfar *et al.*, 2012). روش کار و ترکیب چاهک‌های میکروپلیت به طور خلاصه در جدول (۱) ارائه شده است.

– تعیین عصاره بهینه بر اساس خاصیت ضدباکتریایی تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی باکتری

به منظور تعیین عصاره بهینه، خاصیت ضدباکتریایی عصاره‌های تهیه شده از گیاه چای سبز مورد بررسی قرار گرفت. در بررسی خاصیت ضدباکتری عصاره چای سبز، حداقل غلظت بازدارندگی (MIC: Minimum Inhibitory Concentration) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC: Minimum Bactericidal Concentration) برای عصاره مورد نظر تعیین گردید.

جدول (۱) – ترکیب چاهک‌های میکروپلیت در بررسی خاصیت ضدباکتریایی عصاره چای سبز

عصاره همگزان اتیل استات هیدروآلکلی		
A		۰/۱۵ ml محیط کشت C-
B		۰/۱۲۵ml محیط کشت + ۰/۰۱۵ml باکتری C+
C		عصاره ۵٪ ۰/۱۲۷۵ml محیط کشت + ۰/۰۱۵ml باکتری + ۰/۰۰۷۵ml عصاره
D		عصاره ۱۰٪ ۰/۱۲ml محیط کشت + ۰/۰۱۵ml باکتری + ۰/۰۱۵ml عصاره
E		عصاره ۲۰٪ ۰/۱۰۵ml محیط کشت + ۰/۰۱۵ml باکتری + ۰/۰۲ml عصاره
F		عصاره ۳۰٪ ۰/۰۹ml محیط کشت + ۰/۰۱۵ml باکتری + ۰/۰۴۵ml عصاره
G		عصاره ۴۰٪ ۰/۰۷۵ml محیط کشت + ۰/۰۱۵ml باکتری + ۰/۰۶ml عصاره
H		عصاره ۵۰٪ ۰/۰۶ml محیط کشت + ۰/۰۱۵ml باکتری + ۰/۰۷۵ml عصاره

نوترینت آگار کشت سطحی داده شد. پس از انکوباسیون پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C، غلظتی که شمارش تعداد کلنی صفر بوده و هیچ رشدی از باکتری در آن مشاهده نشد به عنوان MBC برای هر باکتری

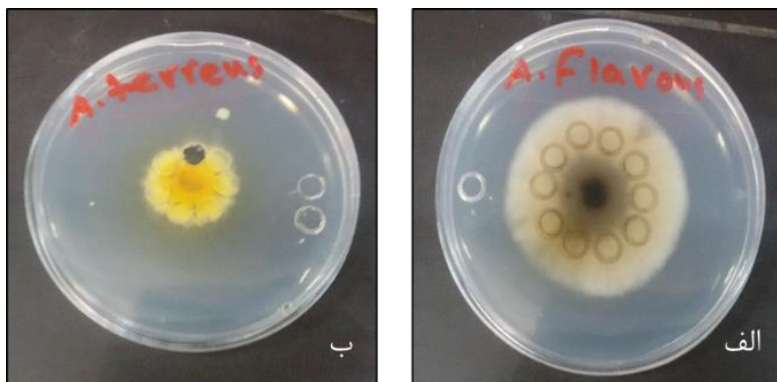
عصاره با کمترین MIC به عنوان عصاره بهینه جهت تعیین MBC انتخاب گردید. از رقت مربوط به MIC در عصاره بهینه و رقت‌های بعد از آن که کلوریتی در آن‌ها مشاهده نگردید در محیط

پژوهش‌های علمی صنعتی ایران، مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا قارچ‌های مورد نظر بر روی محیط کشت PDA کشت داده شدند. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای بهینه رشد قارچ‌ها (۲۵°C)، در شرایط استریل، دیسک‌هایی از آن‌ها تهیه شده و برای بررسی اثر ضدقارچی عصاره مورد استفاده قرار گرفت (Akbarian *et al.*, 2013).

تعیین گردید (Mahon *et al.*, 2011). در ادامه آزمایشات بعدی بر اساس این غلظت از عصاره بهینه انجام گرفت.

#### - بررسی خاصیت ضد قارچی عصاره چای سبز آماده‌سازی دیسک قارچ

به منظور بررسی خاصیت ضدقارچی عصاره، دو قارچ آسپیرژیلوس فلاووس (PTCC 5004) و آسپیرژیلوس ترئوس (PTCC 5021) تهیه شده از سازمان



شکل (۱)- تهیه دیسک از قارچ‌های (الف): آسپیرژیلوس فلاووس و (ب): آسپیرژیلوس ترئوس

که در آن X: درصد بازدارندگی، A: قطر رشد قارچ در پلیت شاهد، B: قطر رشد قارچ در هریک از تیمارها می‌باشد.

#### - تجزیه و تحلیل آماری

این تحقیق در قالب طرح فاکتوریل بر پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شده است. تجزیه و تحلیل آماری مورد استفاده در این تحقیق، به کمک روش آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) صورت گرفته است.

#### - تعیین خاصیت ضد قارچی عصاره

پس از تهیه محیط کشت PDA، مخلوط نمودن آن با درصد غلظت MBC از عصاره و آماده‌سازی پلیت، دیسک قارچ‌های آسپیرژیلوس فلاووس و آسپیرژیلوس ترئوس آماده شده در مرکز پلیت قرار گرفت. نمونه‌ها به مدت یک هفته در دمای ۲۵°C قرار داده شد. هر ۲۴ ساعت، قطر رشد قارچ‌ها (برحسب میلی‌متر) در نمونه‌های مختلف و نمونه شاهد ثبت شده و مقدار بازدارندگی عصاره در مقابل رشد قارچ‌ها با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (Akbarian *et al.*, 2013).

$$X = \frac{(A - B) * 100}{A}$$

### یافته‌ها

#### - تهیه عصاره چای سبز

عصاره هیدروالکلی به دست آمده به طور قابل ملاحظه‌ای نسبت به اتیل استات و n-هگزان مقدار بیشتری داشت. بطوری که بازده استخراج برای حلال

هیدروالکلی در حدود ۷ درصد، اتیل استات ۳ درصد و

n-هگزان حدود ۲ درصد (وزنی-وزنی) حاصل شد.

- بررسی خاصیت ضدباکتریایی عصاره چای سبز به منظور تعیین MIC، اختلاف میزان کدورت در لحظه آماده‌سازی و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون مطابق جدول (۲) تعیین گردید.

جدول (۲)- اختلاف مقادیر جذب نوری نمونه‌های میکروبی در لحظه آماده‌سازی و پس از ۲۴ ساعت

میزان کدورت <i>S.aureus</i>			میزان کدورت <i>E.coli</i>			
عصاره	عصاره	عصاره	عصاره	عصاره	عصاره	
n-هگزان	اتیل استات	هیدروالکلی	n-هگزان	اتیل استات	هیدروالکلی	
۰/۰۰۲±۰/۰۰۱ <sup>c</sup>	۰/۰۰۷±۰/۰۰۲ <sup>c</sup>	۰/۰۰۲±۰/۰۰۱ <sup>c</sup>	۰/۰۲۲±۰/۰۱۶ <sup>b</sup>	۰/۰۲۱±۰/۰۱ <sup>b</sup>	۰/۰۰۵±۰/۰۰۲ <sup>d</sup>	A کنترل منفی
۰/۱۹۵±۰/۰۹ <sup>a</sup>	۰/۱۷۵±۰/۰۷ <sup>a</sup>	۰/۱۶۹±۰/۰۹ <sup>a</sup>	۰/۲۱۵±۰/۱۵ <sup>a</sup>	۰/۲۳۷±۰/۱۹ <sup>a</sup>	۰/۲۴±۰/۰۱۲ <sup>a</sup>	B کنترل مثبت
۰/۲۶۷±۰/۱۳ <sup>a</sup>	۰/۲۱۷±۰/۰۹ <sup>a</sup>	۰/۲۳۹±۰/۱۹ <sup>a</sup>	۰/۲۳۶±۰/۱۹ <sup>a</sup>	۰/۱۳۶±۰/۰۸۶ <sup>a</sup>	۰/۱۹۴±۰/۱۰۶ <sup>b</sup>	C عصاره ۵ درصد
۰/۲۳۵±۰/۱۱ <sup>a</sup>	۰/۱۸۱±۰/۱۱ <sup>a</sup>	۰/۲۱۴±۰/۰۸ <sup>a</sup>	۰/۲۴۷±۰/۲۰ <sup>a</sup>	۰/۱۹۲±۰/۰۹۸ <sup>a</sup>	۰/۱۵۹±۰/۰۱۸ <sup>b</sup>	D عصاره ۱۰ درصد
۰/۲۳۷±۰/۲۱ <sup>a</sup>	۰/۱۵۵±۰/۰۴ <sup>a</sup>	۰/۰۱±۰/۰۰۵ <sup>b</sup>	۰/۲۳۴±۰/۱۹ <sup>a</sup>	۰/۲۱۲±۰/۱۰۸ <sup>a</sup>	۰/۰۲±۰/۰۰۶ <sup>c</sup>	E عصاره ۲۰ درصد
۰/۲۷۹±۰/۱۹ <sup>a</sup>	۰/۰۱±۰/۰۰۳ <sup>c</sup>	۰/۰۲۰۵±۰/۰۱ <sup>b</sup>	۰/۱۸۹±۰/۱۱ <sup>a</sup>	۰/۰۱۳۲±۰/۰۰۹ <sup>bc</sup>	۰/۰۱۷±۰/۰۰۷ <sup>c</sup>	F عصاره ۳۰ درصد
۰/۱۲±۰/۰۰۵ <sup>a</sup>	۰/۰۱۹۵±۰/۰۱۲ <sup>bc</sup>	۰/۰۱۹۸±۰/۰۱ <sup>b</sup>	۰/۲۶۹±۰/۱۸ <sup>a</sup>	۰/۰۰۷۱±۰/۰۰۳ <sup>c</sup>	۰/۰۰۲۸±۰/۰۰۱ <sup>d</sup>	G عصاره ۴۰ درصد
۰/۰۰۷۱±۰/۰۰۲ <sup>b</sup>	۰/۰۲۵±۰/۰۱۲ <sup>b</sup>	۰/۰۲۴۳±۰/۰۱ <sup>b</sup>	۰/۲۳۲±۰/۱۰ <sup>a</sup>	۰/۰۰۴۱±۰/۰۰۱ <sup>c</sup>	۰/۰۰۴±۰/۰۰۲ <sup>d</sup>	H عصاره ۵۰ درصد

مقادیر بر اساس میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

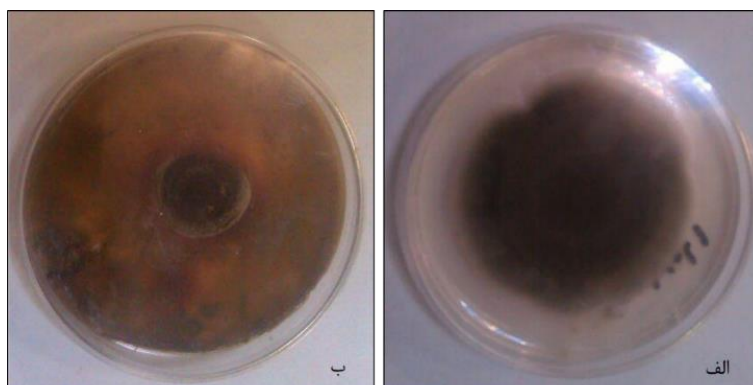
a, b و c نشان عدم وجود تفاوت معنی دار بین تیمارهای مختلف در سطح ۵ درصد  $p < ۰/۰۵$  می‌باشد. مقایسه در هر ستون انجام گرفته است. نمونه‌های حاوی عصاره ۵ درصد، ۱۰ درصد، ۲۰ درصد، ۳۰ درصد، ۴۰ درصد و ۵۰ درصد به ترتیب معادل ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره می‌باشند.

میلی‌گرم در لیتر عصاره هیدروالکلی به عنوان MBC، برای هر دو باکتری معین گردید.

#### - بررسی خاصیت ضد قارچی عصاره چای سبز

مقایسه قطر رشد نمونه شاهد و نمونه حاوی ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره هیدروالکلی در مورد *آسپریژیلوس فلاووس* و *آسپریژیلوس ترئوس* در شکل‌های (۲) و (۳) نشان داده شده است.

بر اساس جدول فوق، برای هر دو باکتری، عصاره هیدروالکلی در غلظت پایین‌تر عصاره، به کدورت ثابت رسیده و حداقل غلظت بازدارندگی کمتر و در نتیجه خاصیت ضد میکروبی قوی‌تری دارد. در نتیجه از میان سه عصاره تهیه شده، عصاره هیدروالکلی به عنوان عصاره مطلوب تعیین گردیده و جهت آزمایشات بعدی مورد استفاده قرار گرفت. هم‌چنین میزان ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره هیدروالکلی به عنوان MIC و ۲۵۰



شکل (۲) - مقایسه قطر رشد آسپیرژیلوس فلاووس (الف): نمونه شاهد و (ب): نمونه حاوی ۲۵۰ میلی گرم در لیتر عصاره



شکل (۳) - مقایسه قطر رشد آسپیرژیلوس ترئوس (الف): نمونه شاهد و (ب): نمونه حاوی ۲۵۰ میلی گرم در لیتر عصاره

درصد بازدارندگی عصاره چای سبز در مقابل رشد قارچ‌ها، بر اساس قطر رشد نمونه شاهد و نمونه حاوی عصاره، مطابق جدول زیر ارائه شده است.

جدول (۳) - درصد بازدارندگی عصاره هیدروالکلی چای سبز بر روی رشد قارچ آسپیرژیلوس فلاووس و آسپیرژیلوس ترئوس

درصد بازدارندگی						
میکروارگانیزم	روز اول	روز دوم	روز سوم	روز چهارم	روز پنجم	روز ششم
آسپیرژیلوس فلاووس	۲۲ ± ۲ <sup>d</sup>	۵۶ ± ۲/۳ <sup>c</sup>	۶۲/۵ ± ۱/۸ <sup>b</sup>	۶۴ ± ۲/۳ <sup>ab</sup>	۶۶ ± ۲/۱ <sup>ab</sup>	۶۶ ± ۱/۴ <sup>a</sup>
آسپیرژیلوس ترئوس	۰	۳۰ ± ۲/۲ <sup>d</sup>	۵۰ ± ۱/۴ <sup>c</sup>	۵۶ ± ۲/۳ <sup>b</sup>	۶۰ ± ۱/۹ <sup>ab</sup>	۶۲ ± ۱/۳ <sup>a</sup>

مقادیر بر اساس میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

a, b و c نشانه عدم وجود تفاوت معنی دار بین تیمارهای مختلف در سطح ۵ درصد  $p < 0.05$  می باشد. مقایسه‌ها در هر سطر انجام شده‌اند.

## بحث و نتیجه گیری

تاکنون، گزارش‌های متعددی درباره اثرات ضد میکروبی انواع چای (Bandyopadnyay *et al.*, 2005) و پلی فنل‌های خالص آن (Taguri, 2004) در برابر انواع میکروب‌ها منتشر شده‌اند. اثرات سینرژیمی چای با آنتی بیوتیک‌ها نیز گزارش شده است (Tiwari *et al.*, 2005). نتایج نشان داده است پلی فنل‌های گیاهی یا تانن‌ها از طریق اتواکسیداسیون و تولید پراکسید هیدروژن، اثرات مهاری خود را بر رشد یاخته اعمال می‌نمایند (Smith *et al.*, 2003). در عین حال بیان شده است پلی فنل‌های باکتریوسید به دو لایه چربی غشا نیز آسیب می‌رسانند (Heredia *et al.*, 2005). در برخی از مطالعات ملاحظه شده است باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی حساسیت بیشتری به پلی فنل‌ها نشان می‌دهند. برخی از پژوهشگران علت این مساله را دافعه بین پلی فنل‌ها و سطوح باکتری‌های گرم منفی که پوشیده از لیپولی ساکارید هستند پیشنهاد کرده‌اند (Ikigai *et al.*, 1993). بر اساس نتایج تحقیق حاضر، عصاره هیدروآلکلی چای سبز اثر تقریباً مشابهی بر روی هر دو باکتری گرم مثبت و گرم منفی نشان داد.

کومار و همکاران، تحقیقی در رابطه با اثر ضدباکتریایی عصاره چای سبز در برابر باکتری‌های جدا شده از سه منبع خاک، آب و هوا با روش دیسک دیفیوژن انجام دادند. نتایج حاصل، اثر ضدباکتریایی عصاره چای سبز را تایید نمود (Kumar *et al.*, 2012). تودا و همکاران ثابت کردند عصاره‌های چای باعث کشتن یا ممانعت از رشد باکتری‌های بیماری‌زا مانند *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس*،

شیگلادیسانتی و گونه‌های ویبیکلرا می‌گردد (Toda *et al.*, 1989). همچنین اثر مهاری اسیدگالیک بر رشد باکتری‌های استرپتوکوک بتاهمولیتیک و اشیریشیاکلی بیماریزا در محیط آزمایشگاه توسط نیستانی و خلجی مورد بررسی قرار گرفته و یافته‌های حاصل مؤید تأثیر مهاری اسیدگالیک بر هر دو نوع باکتری می‌باشد. مو و همکاران عصاره آبی انواع مختلف چای‌های سنتی چینی را بر روی رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس و تولید آفلاتوکسین در این قارچ مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل اثر مهاری انواع چای‌های بکار رفته را بر روی تولید آفلاتوکسین نشان داد. در حالی که تنها برخی از آن‌ها رشد قارچ مورد نظر را کنترل نمودند (Mo *et al.*, 2013). تأثیر عصاره‌های آبی شوید، آویشن، گشنیز و گل محمدی بر روی سویه‌های استاندارد آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس فومیگاتوس نیز توسط یحیی‌آبادی و همکاران بررسی و مقایسه گردید (Yahyaabadi *et al.*, 2011).

مطابق یافته‌های به دست آمده در این پژوهش عصاره‌های هیدروآلکلی و اتیل استات نسبت به عصاره هگزان، خاصیت ضد میکروبی قوی‌تری دارند. نتایج حاصل از آزمایشات مختلف بیانگر آن است که بین ترکیبات پلی فنولیک با اثر ضد میکروبی گیاهان ارتباط وجود دارد (Cowan, 1999). و حلال اتانول-آب، حلال مناسبی برای استخراج ترکیبات دارای خاصیت ضد میکروبی موجود در چای سبز از جمله پلی فنل‌ها، کاتچین‌ها و کافئین می‌باشد (Vuong *et al.*, 2011). از طرفی دیگر، احتمال استخراج محرک‌های عصبی و آلکالوئیدهای سمی توسط این حلال داده می‌شود.

اثرشان و تهیه دارو از مواد مؤثر آنها انجام شود. هم‌چنین تأثیر سایر حلال‌ها به ویژه حلال‌های قطبی، نوع ترکیبات استخراج شده و اثرات ضد میکروبی آنها نیازمند مطالعه و بررسی افزون‌تر می‌باشد.

### تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی برای اعلام ندارند.

علاوه بر این، نتایج حاصل از محاسبه درصد بازدارندگی حاکی از آن بود که عصاره هیدروالکلی چای سبز با غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر، نسبت به نمونه شاهد بیشتر از ۶۰ درصد بازدارندگی در مقابل رشد هر دو قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس ترئوس* ایجاد نموده و تأثیر ممانعتی قابل توجهی در مقابل رشد آنها نشان داده است.

نظر به فعالیت‌های گسترده مواد طبیعی موجود در گیاهان لازم است علاوه بر ارزیابی آثار ضد میکروبی آنها، مطالعاتی نیز در خصوص چگونگی مکانیسم

### منابع

- Akbarian, J., Khomeiri, M., Sadeghi Mahoonak, A., Mahmoodi, E. (2013). Antimicrobial effect of extracts *Phoenix Dactylifera* against pathogenic bacteria and spoilage molds. Journal of Food Processing and Preservation, 5(1): 1–12. [In Persian]
- Bandyopadnyay, D., Chatterjee, T.K., Dasgupta, A., Lourduraja, J. and Dastidar, S.G. (2005). In vitro and in vivo antimicrobial action of tea: The commonest beverage of Asia. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 28(11): 2125-2127.
- Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology, 12(4): 564-582.
- Harbowy, M. and Balentin D. (1997). Tea chemistry. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 16: 415-480.
- Heredia, N., Escobar, M., Rodriguez-Padilla, C. and Garcia, S. (2005). Extracts of Haematoxylon brasiletto inhibit growth verotoxin production and adhesion of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 to HeLa cells. Journal of Food Production. 68(7): 1346-1351
- Ikigai, H., Nakae, T. Hara, Y. and Shimamura, T. (1993). Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes, 1147(1): 132-136.
- Kao, Y.H., Hiipakka, R.A. and Liao, S. (2000). Modulation of endocrine systems and food intake by green tea epigallocatechin gallate. Endocrinology, 141(3):980-987.
- Mahon, C.R., Lehman, D.C. and Manuselis G. (2011). Textbook of Diagnostic Microbiology. 4<sup>th</sup> edition. Philadelphia: W.B. Sunder. Company, pp. 182-276.
- Mo, H.Z., Zhang, H., Wu, Q.H. and Hu, L.B. (2013). Inhibitory effects of tea extract on aflatoxin production by *Aspergillus flavus*. Letters in Applied Microbiology, 56(6): 462-466.
- Mohajerfar T., Hosseinzadeh A., Akhondzadeh Basti A., Khanjari A., Misaghi A., Gandomi Nasrabadi H. (2012). Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) of lysozyme and *Zataria multiflora* Boiss. Essential oil on *L. monocytogenes*. Journal of Medicinal Plants, 4(44): 70–77. [In Persian]



- Neyestani, T.R., Khalaji, N. (2009). The inhibitory effects of gallic acid on the growth of bacteria, *β-Hemolytic streptococcus* and pathogenic *Escherichia coli* in vitro. *Journal of Microbiology Knowledge*, 1(2): 11–16. [In Persian]
- Shariat, E., Hosseini, H., Pourahmad, R. (2013). Investigate the antimicrobial activity of aqueous extract of nettle and oregano on *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*. *Journal of Food Science and Technology Innovation*, 5(4): 9–15. [In Persian]
- Smith, A.H., Imlay, J.A., Mackie R.I. (2003). Increasing the oxidative stress response allows *Escherichiacoli* to overcome inhibitory effects of condensed tannins. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(6): 3406-3410.
- Taguri, T., Tanaka, T. and kouno, I. (2004). Antimicrobial activity of 10 different plant poly phenols against bacteria causing food-borne disease. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27(12):1965-1969.
- Tedeschi, E., Menegazzi, M., Yao, Y., Suzuki, H., Forstermann, U. and Kleinert, H. (2004). Green tea inhibits human inducible nitric-oxide synthase expression by down-regulating signal transducer and activator of transcription-1a activation. *Molecular Pharmacology*, 65(1): 111-120.
- Tiwari, R. P., Bharti, S.K., Kaur, H.D., Dikshit, R.P., & Hoondal, G.S. (2005). Synergistic antimicrobial activity of tea and antibiotics. *Indian Journal of Medical Research*, 122(1): 80-84.
- Toda, M., Okubo, S., Hiyoshi, R. and Shimamura, T. (1989). The bactericidal activity of tea and coffee. *Letters in Applied Microbiology*, 8(4): 123-125.
- Vuong, Q.V., Stathopoulos, C.E., Nguyen, M.H., Golding, J.B. and Roach, P.D. (2011). Isolation of green tea catechins and their utilization in the food industry. *Food Reviews International*, 27(3): 227-247.
- Yahyaabadi, S., Zibanejad, E. and Doudi, M. (2011). Effect of some of plant extracts on the growth of two *Aspergillus* species. *Journal of Herbal Drugs*, 2(1): 69-81.

## Evaluation of the effect of extracting solvent on antibacterial and antifungal properties of green tea

Parvin, A.<sup>1</sup>, Anarjan, N.<sup>2\*</sup>

1. M.Sc Graduate of Food Science and Technology, Sarab Branch, Islamic Azad University, Sarab, Iran

2. Department of Chemical Engineering, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

\*Corresponding Author: anarjan@iaut.ac.com

(Received: 2016/6/13 Accepted: 2017/10/1)

### Abstract

The plant based antimicrobial compounds have received great attentions last decades. Among plant, green tea is a very interesting medicinal plant due to its various antioxidant and antimicrobial compounds. Thus the aim of this study was to evaluate the effects of solvent type on antimicrobial activity of gained extract. Three common solvent, namely, ethanol (80%), ethyl acetate and hexane were selected as polar, semi polar and non-polar solvents, respectively. The results indicated that among selected solvents, the ethanol (80%) had the highest extraction efficiency (7%) compared to ethyl acetate (3%) and hexane (2%). The antibacterial analysis was also shown that the obtained extract from ethanol (80%) possess the least minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration (250 mg/L) on either selected gram positive *Staphylococcus aureus* or gram negative *E.coli* bacteria. Consequently, it shows the highest antibacterial activity compared to other extracts. The ethanol based extract with obtained MIC and MBC concentrations gives antifungal effects as well, with 60% growth inhibition.

**Conflict of interest:** None declared.

**Keywords:** Green tea, Extracting solvent, Antibacterial, Antifungal