فصلنامه علمی زیست‌شناسی کاربردی دانشگاه الزهرا (س)
دوره ۳۶، شماره ۲، پیاپی ۷۶، تابستان ۱۴۰۲، ص ۶۱-۳۹
نوع مقاله: پژوهشی
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۹/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۳/۲۹
وب سایت نشریه: https://jab.alzahra.ac.ir

The Quarterly Scientific Journal Of Applied Biology
Vol.36, No.2, Sering. 76, Summer 2024, p. 43-65.
Article type: Research Paper

https://doi.org/10.22051/jab.2023.41521.1507

مقایسه ترکیبات شیمیایی، اثرات آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره برگ چای سیاه و چای سبز *Camellia sinensis* بر باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی (*زانتوموناس کامپستریس* و *سودوموناس سیرینگه*) و بیماری‌زای انسانی (*استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کلی*)

مسعود حیدری زاده*[۱]، فاطمه علیجانی[۲]، مراحم آشنگرف[۳]، سجاد آتشی[۲]

چکیده

مقدمه: *شناسایی و معرفی ترکیبات جدید طبیعی ضد میکروبی در برابر عوامل بیماری‌زای انسانی و گیاهی مورد توجه پژوهشگران است. مطالعه حاضر با هدف مقایسه ترکیبات شیمیایی، اثرات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی چای سیاه و چای سبز انجام گرفت.* ***روش‌ها:*** *عصاره آبی و متانولی برگ چای سیاه و چای‌سبز تهیه و ترکیبات عصاره‌های متانولی با GC- Mass شناسایی شد. اثرات ضد باکتری با روش انتشار دیسک و حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و ویژگی آنتی اکسیدانی به‌روش DPPH (۱و۱ دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل) اندازه گیری گردید.* ***نتایج و بحث:*** *کافئین ترکیب اصلی تشکیل دهنده عصاره چای‌سبز و چای سیاه است که مقدار آن به‌ترتیب در این دو عصاره ۸۲/۹۷، و ۸۶/۲۵ درصد است. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره چای‌سبز در برابر اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس سیرینگه (پنج میلی گرم بر لیتر) به‌طور معنی‌دار سه برابر بیشتر از مهارکنندگی عصاره چای سیاه (۱۵ میلی گرم در لیتر) است. مهارکنندگی عصاره چای‌سبز در برابر زانتوموناس کمپستریس و مهار کنندگی عصاره چای سیاه در برابر سودوموناس سیرینگه به‌طور معنی‌دار بیشتر از سه باکتری دیگر مورد مطالعه بود. بسیاری از اثرات درمانی و پیشگیری مرتبط با مصرف چای‌سبز و چای سیاه را می‌توان مرتبط با ظرفیت نسبتا بالای مهار رادیکال‌های آزاد در نظر گرفت. ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدانی چای‌سبز (EC_{50} برابر با ۲۸/۸۷۵ گرم بر لیتر) به‌طور معنی‌دار یک و نیم برابر چای سیاه (EC_{50} برابر ۴۴/۲۲۲ گرم بر لیتر) است. به‌طور نسبی و معنی دار، توانایی مهارکنندگی هر دو عصاره در برابر پاتوژن‌های گیاهی بیشتر از پاتوژن‌های انسانی است. از فراورده‌های مختلف و شاید پسماند چای سیاه و چای‌سبز برای کنترل میکروارگانیزم‌های آسیب‌رسان می‌توان استفاده‌کرد.*

واژه های کلیدی: پاداکسایندگی، ضد باکتریایی، حداقل غلظت مهارکنندگی

استادیار،گروه علوم زیستی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران(نویسنده مسئول: m.haidarizadeh@uok.ac.ir)
[۲]کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه علوم زیستی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران
[۳]دانشیار،گروه علوم زیستی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

این مقاله بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد دانشجو فاطمه علیجانی به راهنمایی دکتر مسعود حیدری زاده و مشاوره دکتر مراحم آشنگرف اعضای هیئت علمی دانشگاه کردستان می‌باشد.

مقدمه

گیاهان ظرفیتی ارزشمند برای تولید بسیاری از داروها، آفت‌کش‌ها و نگهدارنده‌های طبیعی بوده و قابلیت جایگزینی با فرآورده‌های سنتزی آلوده کننده محیط زیست را دارند. گیاهان زیادی به‌دلیل ویژگی‌های ضدمیکروبی و دارویی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. چای با نام علمی *Camellia sinensis* درختچه‌ایی همیشه‌سبز است، که ارتفاع آن به شش تا هفت و گاهی به ۱۵ متر می‌رسد. چای یکی از پرمصرف‌ترین نوشیدنی‌های جهان است و به‌صورت تخمیر شده (چای سیاه)، نیمه تخمیری (چای اولانگ) و تخمیر نشده (چای‌سبز) مصرف‌می‌شود. چای‌سبز به‌وسیله خشک‌کردن برگ‌های گیاه به‌دست می آید. چای سیاه نیاز به یک مرحله فرآوری اضافی دارد، که با تولید پلی فنل‌هایی مانند Theaflavin و Thearubigin همراه است. تقریبا ۷۸-۷۶درصد چای تولید شده و مصرف آن مربوط به چای سیاه، ۲۲-۲۰ درصد مربوط به مصرف چای‌سبز و کمتر از ۲ درصد مربوط به چای اولانگ است (Cabrera *et al*., 2006). در سال‌های اخیر، مزایای سلامتی مصرف چای‌سبز، شامل پیشگیری از سرطان و بیماری‌های قلبی عروقی، و اثرات ضدالتهابی، آنتی‌آرتریت، ضدباکتری، آنتی‌اکسیدانی، ضدویروسی، جلوگیری از آسیب سلول‌های عصبی، کاهش کلسترول و مواد تشکیل‌دهنده آن در پژوهش‌های متعدد بررسی‌شده‌اند (Sharangi,2009).

شکل ۱ – مقایسه چای سیاه و چای‌سبز فرآوری شده از برگ چای

Figure 1. Comparison of black tea and green tea processed from tea leaves (*Camellia sinensis)*

برخی از بررسی‌های اپیدمیولوژیک نشان‌می‌دهد که مصرف چای‌سبز با کاهش بروز بیماری‌های قلبی عروقی، سکته مغزی، چاقی و سرطان در ارتباط است. این اثرات به‌طور نسبی به فعالیت‌های آنتی‌اکسیداتیو و مهار رادیکال‌های آزاد اجزا پلی فنولیک نسبت داده‌می‌شود (Koech *et al*., 2017). برگ‌های چای دارای ترکیباتی هستند که در دفاع گیاهان در برابر پاتوژن هایی همچون حشرات، باکتری‌ها، قارچ و ویروس‌ها نقش دارند. بیماری‌های ناشی از باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی تهدیدی برای امنیت غذایی جهانی هستند. *زانتوموناس کمپستریس* گونه‌ای از باکتری‌های گرم منفی است که سبب بیماری‌های گوناگون گیاهی مانند پوسیدگی سیاه در کلم‌سانان و پژمردگی باکتریایی چمن می‌شود. پوسیدگی سیاه ناشی از *زانتوموناس کامپستریس* یکی از مهم‌ترین و مخرب‌ترین بیماری‌های سرده کلمیان (crucifers) است (Singh *et al*., 2011). *سودوموناس*

سیرینگیه یک باکتری گرم منفی میله‌ای شکل است که به‌عنوان یک پاتوژن گیاهی، می‌تواند طیف وسیعی از گونه‌ها را آلوده کند (Anzai *et al.*, 2000). *اشریشیاکلی* نوعی باسیل گرم منفی از خانواده انتروباکتریاسه است که به‌طور شایع در روده جانوران خونگرم وجود دارد و یکی از مهم‌ترین عوامل ایجاد کننده بیماری التهاب معده و روده به‌ویژه در کودکان است (Malakar, 2014). *استافیلوکوک اورئوس* یکی از عوامل مهم در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی و عفونت‌های همه‌گیر در جمعیت‌های انسانی به‌شمار می‌رود. امروزه مقاومت این باکتری به آنتی‌بیوتیک‌ها به‌دلیل مصرف بیش از حد در حال افزایش بوده و این مساله موجب نگرانی در سرتاسر جهان شده‌است. *استافیلوکوک اورئوس* یک پاتوژن فرصت طلب گرم مثبت است و طیف گسترده‌ای از اگزوتوکسین‌ها را تولید می‌کند که باعث بیماری در میزبان پستاندار است. تحقیقات مختلف نشان‌می‌دهد که ۸۰-۱۵ درصدسویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از منابع مختلف، قادر به تولید انتروتوکسین (عامل مسمومیت غذایی) هستند (Bowersox, 1999).

استفاده بی رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها به‌تدریج در میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا مقاومت به وجود آورده‌است. از این‌رو شناسایی و معرفی منابع جدید طبیعی ضد باکتریایی در برابر این عوامل بیماری‌زای انسانی و گیاهی، دارای اهمیت و یک ضرورت پژوهشی است. بر این اساس مطالعه حاضر با هدف ارزیابی و مقایسه اثرات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی چای سیاه و چای‌سبز طراحی گردید.

مقایسه اثرات ضد باکتریایی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی چای سیاه و چای‌سبز و همچنین بررسی حساسیت و مقاومت پاتوژن‌های گیاهی (*زانتوموناس کامپستریس* و *سودوموناس سیرینگه*) و پاتوژن‌های انسانی (*استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی*) نسبت به اثرات ضد باکتریایی چای سیاه و چای‌سبز از اهداف این پژوهش است. در زمینه ارزیابی اثرات ضد باکتریایی چای‌سبز و سیاه در برابر باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی (*زانتوموناس کامپستریس* و *سودوموناس سیرینگه*) گزارشی مشاهده نشد. آیا می‌توان از چای سیاه و چای‌سبز برای کنترل پاتوژن‌ها و میکروارگانیزم‌ها آسیب‌رسان به انسان و گیاهان استفاده‌کرد؟ به نظر می‌رسد که عصاره چای‌سبز و سیاه خاصیت ضدباکتریایی، ضد قارچی و آنتی‌اکسیدانی متفاوتی داشته و اثرات بیولوژیک چای سیاه و چای‌سبز متفاوت باشند. در این پژوهش عصاره آبی و متانولی برگ چای سیاه و چای‌سبز تهیه و ترکیبات موجود در آنها با GC- Mass شناسایی و اندازه گیری گردید. اثرات ضد باکتری با روش‌های انتشار دیسک و حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و ویژگی آنتی اکسیدانی با روش DPPH اندازه گیری و مقایسه گردید.

مواد و روش

روش عصاره‌گیری از چای‌سبز و چای سیاه

نمونه‌های چای سیاه و چای‌سبز ایرانی از یک فروشگاه معتبر و مطمئن شهر سنندج تهیه گردید. بعد از شستشوی کامل، در سایه خشک و آسیاب شد و با استفاده از کلونجر با نسبت ۱۰ گرم در ۱۰۰ میلی لیتر حلال (متانول خالص (مرک) یا آب دوبار تقطیر بر حسب مورد) عصاره‌گیری شد. عصاره‌ها به‌کمک دستگاه تقطیر دوار (مدل Tecan sunrise) در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شد. حذف کامل حلال در یک ظرف شیشه‌ای و در زیر هود به‌طور کامل انجام شد. از ماده خشک باقیمانده غلظت‌های مختلف بر حسب آزمایش تهیه گردید. برای هر یک از آزمایش‌ها عصاره تازه تهیه شد (Haidarizadeh *et al.*,2022).

جداسازی و شناسایی ترکیبات عصاره با استفاده از دستگاه GC-MS

نمونه‌ها پس از عصاره‌گیری، توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (Agilent Technologies, USA, 7890B GC System/ 5977A MSD) آنالیز شد. مقدار ۰/۲ میکرولیتر از عصاره یا اسانس به دستگاه GC-Massتزریق شد. ستون به کار رفته HP-5 ms (30 m×0.25mm ,0.25 Micron) و دمای محل تزریق در ۲۸۰ درجه سانتیگراد و دمای اکسیلاری در ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. دمای اولیه ستون ۵۰ درجه سانتیگراد بود، به‌مدت دو دقیقه در این دما ثابت نگه‌داشته شد، سپس دمای آن با افزایش ۷ درجه سانتیگراد در دقیقه تا رسیدن به دمای ۲۶۰ درجه، افزایش یافت. از گاز حامل هلیوم با درصد خلوص ۹۹/۹۹۹۵ درصد، فشار psi ۳۴ و شدت جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. شناسایی ترکیبات به‌کمک مقایسه‌ی طیف‌های جرمی آنها با داده‌های پایگاه‌های اطلاعاتی دستگاه شامل NIST و Wiley و همچنین مقایسه‌ی اندیس‌های بازداری و الگوی شکست گزارش شده برای آنها صورت پذیرفت (Haidarizadeh *et al.*, 2018).

ثرات ضد باکتریایی عصاره چای‌سبز و سیاه

پس از تهیه محیط کشت مولر هینتون آگار، ارزیابی اثرات آنتی باکتریال به‌روش انتشار دیسک (Disk diffusion) انجام گرفت. قبل از انجام آزمایش، عصاره آبی برگ چای‌سبز و چای سیاه در غلظت‌های مختلف (۱۰۰، ۷۵،۵۰، ۲۵، گرم بر لیتر) با استفاده از کلونجر تهیه شد. سوسپانسیون میکروبی از تک کلونی باکتری‌های مورد مطالعه *(استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیا کلی، زانتوموناس کامپستریس و سودوموناس سیرینگه)* با کدورت معادل نیم مک فارلند (۱/۵× ۱۰^{۸} ml /cfu) (کلنی فرمینگ یونیت در میلی‌لیتر) تهیه شد و ۱۰۰ میکرولیتر از آنها به‌طور مجزا و به‌صورت کشت چمنی بر روی محیط کشت مولر

هینتون، کشت داده شدند. پس از آماده‌سازی محیط کشت و استریل کردن آن و قبل از سرد شدن کامل، حدود ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت در پلیت های استریل ریخته شد. از عصاره آبی چای‌سبز و چای سیاه، غلظت‌های مختلف (۱۰۰، ۵۰،۷۵، ۲۵، ۰ گرم بر لیتر) تهیه شد. دیسک‌های بلانک استریل به‌مدت ۳۰ دقیقه در غلظت‌های مختلف عصاره و کنترل منفی قرار داده شدند. بر روی محیط کشت از سوسپانسیون میکروبی ۰/۵ مک فارلند به‌صورت کشت چمنی یکنواخت، کشت داده شد. دیسک‌ها را به‌مدت ۵ دقیقه از غلظت‌ها بیرون آورده که آب اضافی آن‌ها گرفته شود. سپس با فاصله معین از یکدیگر و از لبه پلیت روی سطح محیط کشت قرار داده شد. پلیت‌های آماده شده به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس قطر هاله عدم رشد در مقابل نور اندازه گیری شد. کشت باکتری و دیسک گذار در سه تکرار انجام شد. درصد قطر نسبی ناحیه مهار به‌عنوان یک شاخص فعالیت ضد میکروبی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد که در آن RIZD (Relative inhibitory zone diameter)، درصد قطر نسبی ناحیه مهار و IZD، قطر ناحیه مهار (inhibitory zone diameter) بر حسب میلی‌متر است (Haidarizadeh *et al*.,2020).

(درصد) $RIZD = (IZD_{zon\ diameter} - IZD_{negative\ control}) / IZD_{zon\ diameter}$

سویه‌های باکتریایی مورد مطالعه به‌صورت کشت فعال از مرکز ذخایر زیستی و ژنتیکی ایران خریداری شدند.

جدول ۱- ویژگی ها و بیماریزایی سویه‌های باکتریایی مورد استفاده در آزمایش اثرات ضدمیکروبی

Table 1. Characteristics and pathogenicity of bacterial strains used in antimicrobial testing

Pathogenicity	Property	Bacterial strain
Food poisoning, scabies, staphylococcal scaly skin syndrome (Kluytmans et al. 1997)	Gram-positive, Coccid	*S. aureus IBRC-M 10690*
(Malakar,2014)Urinary tract infection, bloody diarrhea	Gram-negative, bacilli	*E. coli IBRC-M 10871*
Bacterial black knot, blight (coarse and irregular spots of dead tissue in white to yellow color on the leaf) bacterial wheat (Mori *et al*., 2019)	Gram negative, bacteria	*P. syringae IBRC-M 10702*
Black rot in Brassica plants (Bajpai *et al*. 2011)	Gram negative, rod	*X. campestris IBRC-M 10644*

آزمون تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC (Minimum Inhibitory Concentration

برای انجام آزمون MIC از محیط لوریا برتانی براث در میکروپلیت و همچنین غلظت‌های مختلفی از عصاره چای‌سبز و سیاه استفاده شد. به این منظور میزان ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی تهیه شده (با تراکم ۰/۵ مک فارلند) به چاهک‌های الایزا حاوی ۱۴۰ میکرولیتر لوریا برتانی براث که شامل غلظت‌های مشخصی از عصاره چای‌سبز و سیاه (۱، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵، ۴۰ و ۴۵ گرم در لیتر) و همچنین غلظت یک گرم در لیتر کلرامفنیکل (به‌عنوان کنترل مثبت) هستند، اضافه گردید. پلیت‌های حاوی باکتری‌های پاتوژن انسانی به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و باکتری پاتوژن

گیاهی به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند. به تمام خانه‌های هر پلیت، ۱۰ میکرولیتر محلول ۲، ۳ و ۵ تری فنیل تترازولیوم کلراید با غلظت اولیه ۲۰ میلی گرم در میلی‌لیتر اضافه شد و به‌مدت سه ساعت گرمخانه گذاری شد. در خانه‌هایی که رشد میکروبی اتفاق افتاده باشد ظرف مدت کمتر از ۳ ساعت رنگ قرمز ایجاد می‌شود. دلیل این امر این است که باکتری‌های فعال و زنده به‌کمک آنزیم هیدروژن از خود تری فنیل تترازولیوم کلراید را به نمک‌های فورمازان احیا می نمایند که رنگ قرمز دارند. پس از گذشت سه ساعت انکوبه گذاری، میکروپلیت‌ها از گرمخانه خارج و از نظر ایجاد رنگ قرمز بررسی شد. اولین غلظتی که در آن رشد میکروبی رخ نداد و رنگ قرمز تشکیل نشد، به‌عنوان MIC برای باکتری‌های مورد بررسی در نظر گرفته شد (Eloff, 1998).

بررسی ویژگی آنتی‌اکسیدانی عصاره چای‌سبز و چای سیاه

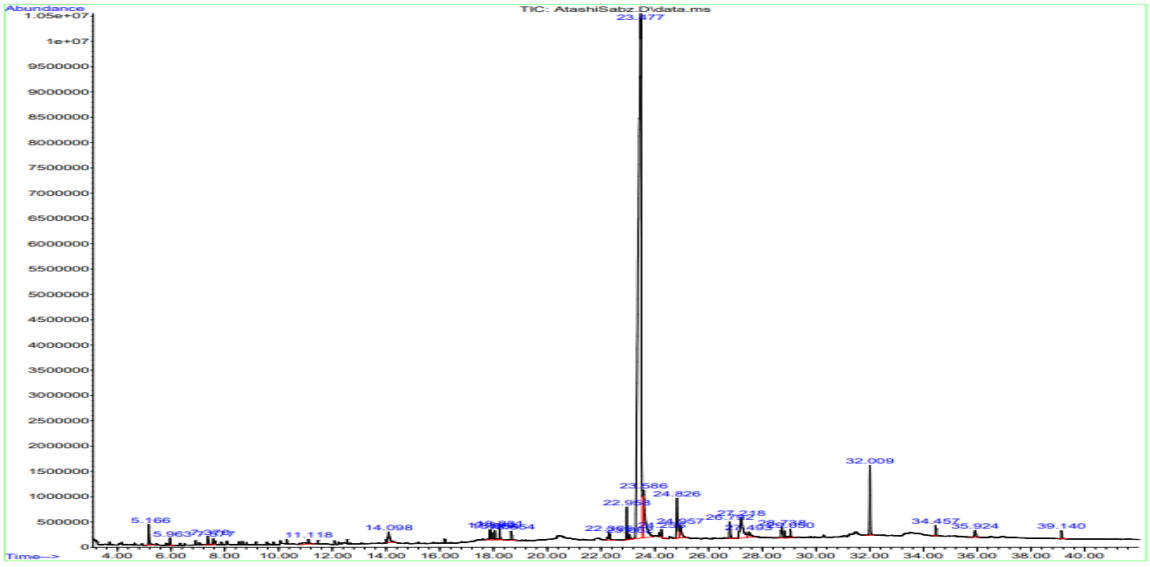
هدف از انجام این آزمایش، بررسی خواص آنتی اکسیدانی عصاره‌های متانولی چای‌سبز و سیاه به‌روش DPPH در مقایسه با اسکوربیک اسید (ویتامین C) است. DPPH (۱و۱ دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل) از رادیکال‌های آزاد پایدار است. در این روش توانایی اهداء اتم هیدروژن یا الکترون توسط عصاره، از روی میزان تغییر رنگ محلول ارغوانی به محلول زرد رنگ سنجیده می‌شود. بدین‌منظور ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره‌های چای‌سبز و سیاه (۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ گرم بر لیتر) با ۳ میلی‌لیتر از محلول متانولی DPPH (غلظت ۱۵۰ میکرومولار) مخلوط شد. از اسکوربیک اسید (غلظت‌های ۱، ۰/۵، ۰/۲۵، ۰/۱۲۵ میلی مولار) به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. جذب DPPH به‌عنوان کنترل منفی اندازه گرفته شد و در سه تکرار ارزیابی گردید. جذب نمونه‌ها بعد از ۳۰ دقیقه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. تمام مراحل آزمایش برای عصاره‌ها در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد. درصد حذف رادیکال DPPH به‌روش زیر محاسبه شد (Znati *et al.*, 2017).

$$\text{درصد احیا رادیکال (٪)} = \{(A_{control} - A_{sample}) / A_{control}\} \times 100$$

: جذب نمونه مورد آزمایش A_{sample}جز نمونه مورد آزمایش است، : جذب واکنش کنترل شامل تمام واکنشگرها به$A_{control}$ شود. محاسبه می‌DPPH : با استفاده از رابطه خطی بین غلظت ترکیب و احتمال درصد مهار EC_{50} .است

نتایج و بحث

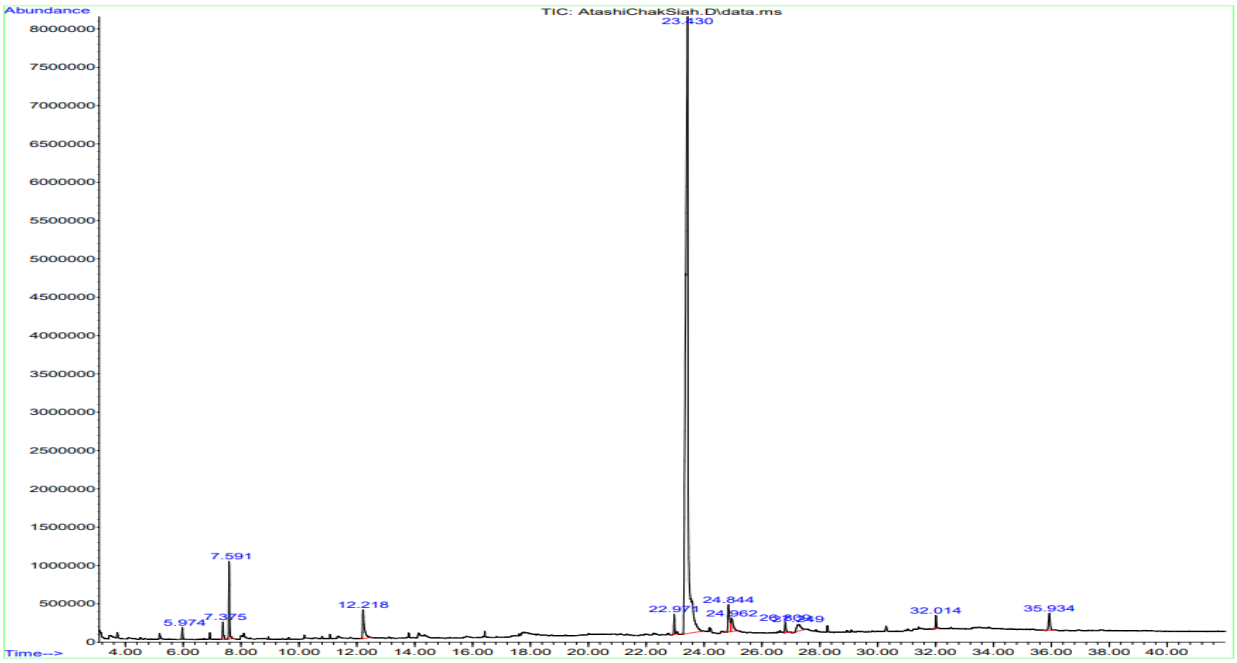
در نمودار شکل ۲ دیاگرام به‌دست آمده از آنالیز GC-Mass عصاره متانولی چای‌سبز و در نمودار شکل ۳ آنالیز GC-Mass عصاره متانولی چای‌سبز نشان داده‌شده‌است.



شکل ۲ – دیاگرام به‌دست آمده از آنالیز GC-Mass عصاره متانولی برگ چای‌سبز برحسب زمان بازداری(محور افقی) و فراوانی(محور عمودی)

Figure 2. Diagram obtained from GC-Mass analysis of methanolic extract of green tea leaves

دیاگرام شکل ۲ ، ۲۳ ترکیب موجود در عصاره برحسب زمان بازداری و فراوانی را نشان‌می‌دهد. ترکیبات شناسایی شده به‌همراه ویژگی‌های آنها در جدول ۲ نشان داده‌شده‌اند.



شکل ۳– دیاگرام به‌دست آمده از آنالیز GC-Mass عصاره متانولی برگ چای سیاه برحسب برحسب زمان بازداری(محور افقی) و فراوانی(محور عمودی)

Figure 3. Diagram obtained from GC-Mass analysis of methanolic extract of black tea leaves

دیاگرام، نه ترکیب موجود در عصاره برحسب زمان بازداری و فراوانی را نشان‌می‌دهد. ترکیبات شناسایی شده به‌همراه ویژگی‌های آنها در جدول ۳ نشان داده‌شده‌اند.

جدول ۲- ترکیبات شناسایی شده احتمالی موجود در عصاره متانولی برگ چای‌سبز به‌دست آمده از آنالیز GC-Mass

Table 2. Possible compounds in methanolic extract of green tea leaves obtained from GC-Mass analysis

شماره پیک	فرمول بسته	زمان بازداری (دقیقه)	درصد (درصد)	ترکیب احتمالی
۱	$C_6H_{10}O$	۵/۱۶۹	۰/۹۶	Cyclohexanone
۲	$C_{10}H_{16}$	۵/۹۶۳	۰/۳۱	(1R)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1] hept-2-ene
۳	$C_8H_{16}O_2$	۷/۵۷۵	۰/۲۲	1,1-Dimethoxycyclohexane
۴	$C_6H_8O_4$	۱۱/۱۱۶	۰/۶۰	2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one
۵	$C_{10}H_{14}O$	۱۴/۰۹۸	۱/۰۰	3-Methyl-4-isopropylphenol
۶	$C_6H_6O_3$	۱۷/۸۹۸	۱/۰۰	Pyrogallol
۷	$C_6H_6O_3$	۱۸/۰۵۷	۰/۳۷	Pyrogallol
۸	$C_6H_6O_3$	۱۸/۲۳۳	۰/۳۹	1,2,4-Benzenetriol
۹	$C_6H_6O_3$	۱۸/۶۶۲	۰/۳۹	1,2,4-Benzenetriol
۱۰	$C_{14}H_{14}$	۲۲/۳۰۳	۰/۵۷	Benzene, 1-methyl-2- (phenylmethyl) -
۱۱	$C_{20}H_{38}$	۲۲/۹۵۶	۱/۲۵	Neophytadiene
۱۲	$C_{10}H_{16}O$	۲۳/۰۶۲	۰/۲۴	2-Acetyl,- 1,5-dimethyl,-8-oxabicyclo [3.2.1] octane
۱۳	$C_8H_{10}N_4O_2$	۲۳/۴۸۰	۷۷/۱۲	Caffeine
۱۴	$C_8H_{10}N_4O_2$	۲۳/۵۸۶	۵/۶۰	Caffeine
۱۵	$C_8H_{10}N_4O_2$	۲۴/۲۵۶	۰/۲۵	Caffeine
۱۶	$C_{16}H_{32}O_2$	۲۴/۸۲۷	۲/۶۹	n-Hexadecanoic acid
۱۷	$C_9H_{12}N_4O_3$	۲۴/۹۵۶	۱/۲۷	1H-Purine-2,6-dione, 3,7-dihydro-8-methoxy-1,3,7-trimethyl-
۱۸	$C_{20}H_{40}O$	۲۶/۷۹۱	۰/۸۵	Phytol
۱۹	$C_{19}H_{32}O_2$	۲۷/۲۲۱	۳/۱۰	9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z, Z, Z) -
۲۰	$C_{18}H_{36}O_2$	۲۷/۴۹۱	۰/۶۶	Octadecanoic acid
۲۱	$C_{18}H_{34}O_2$	۲۸/۷۳۸	۰/۶۹	6-Octadecenoic acid
۲۲	$C_{14}H_{14}$	۲۹/۰۵۰	۰/۲۶	3-(2-naphthyl)-1-butene
۲۳	$C_{18}H_{34}O_2$	۳۹/۱۳۸	۰/۳۲	Octadec-9-enoic acid

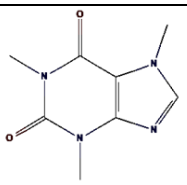
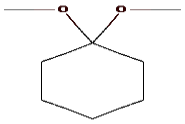
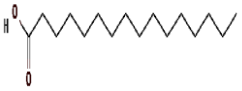
جدول ۳- ترکیبات شناسایی شده احتمالی موجود در عصاره متانولی برگ چای سیاه به‌دست آمده از آنالیز GC-Mass

Table 3. Possible compounds in methanolic extract of black tea leaves obtained from GC-Mass analysis

شماره پیک	فرمول مولکولی	زمان بازداری (دقیقه)	درصد (درصد)	ترکیب احتمالی
۱	$C_{10}H_{16}$	۵/۹۷۵	۰/۶۲	(1S)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1] hept-2-ene
۲	$C_8H_{16}O_2$	۷/۵۹۲	۳/۴۸	1,1-Dimethoxycyclohexane
۳	$C_5H_8N_4O_2$	۱۲/۲۱۶	۲/۶۴	1-ETHYL-5-AMINO-1,2,4-TRIAZOLE
۴	$C_{20}H_{38}$	۲۲/۹۷۴	۰/۸۸	Neophytadiene
۵	$C_8H_{10}N_4O_2$	۲۳/۴۳۳	۸۶/۲۵	Caffeine
۶	$C_{16}H_{32}O_2$	۲۴/۸۴۴	۲/۴۹	n-Hexadecanoic acid
۷	$C_9H_{12}N_4O_3$	۲۴/۹۶۲	۱/۵۶	1H-Purine-2,6-dione, 3,7-dihydro-8-methoxy-1,3,7-trimethyl-
۸	$C_{20}H_{40}O$	۲۶/۸۰۹	۰/۶۴	Phytol
۹	$C_{18}H_{34}O_2$	۲۷/۲۵۰	۱/۴۴	6-Octadecenoic acid

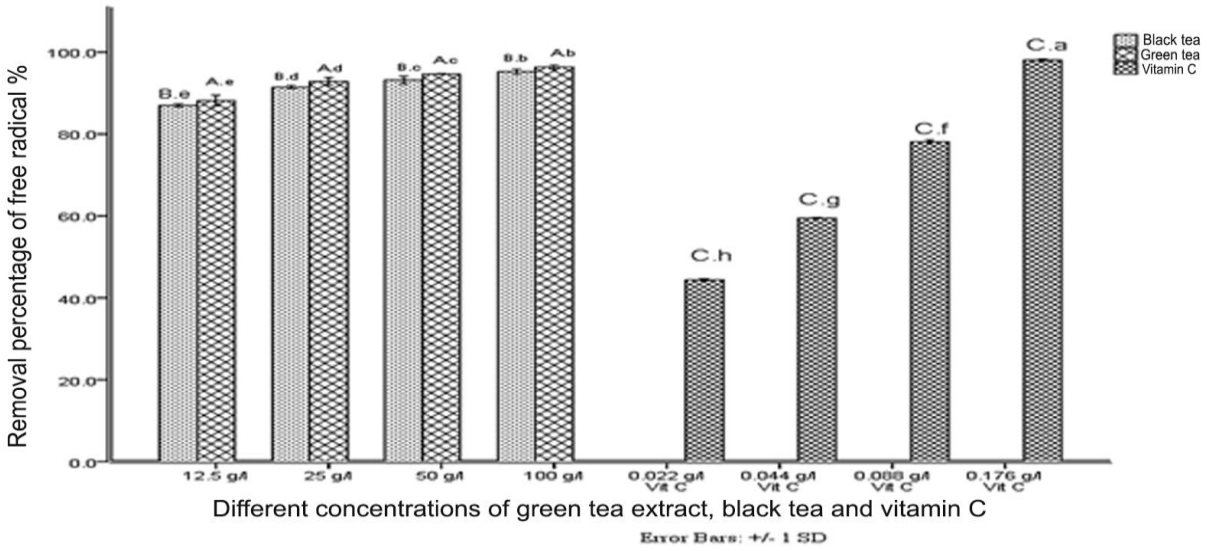
جدول ۴- مقایسه ترکیبات عصاره چای‌سبز و چای سیاه

Table 4. Comparison of green tea and black tea extract compositions

ترکیبات اصلی	کافئین	دی متوکسی سیکلوهگزان	اسید هگزادکانوئیک	نئوفیتادین
چای‌سبز (درصد)	۸۲/۹۷	۰/۲۲	۲/۶۹	۱/۲۵
چای سیاه (درصد)	۸۶/۲۵	۳/۴۸	۲/۴۹	۰/۸۸
ساختار شیمیایی				
فرمول مولکولی	$C_8H_{10}N_4O_2$ (ترکیب فنلی)	$C_8H_{16}O_2$ (ترکیب فنلی)	$C_{16}H_{32}O_2$	$C_{20}H_{38}$

بر اساس نتایج جدول ۳ و ۲ ترکیب اصلی تشکیل دهنده عصاره چای‌سبز شامل کافئین (۸۲/۹۷ درصد)، و ترکیب اصلی عصاره چای سیاه نیز کافئین (۸۶/۲۵ درصد) است. کافئین چای سیاه سه و نیم درصد بیشتر از چای‌سبز است. کافئین در هر دو عصاره بالاترین درصد را داشته و بیشترین ترکیب است. در جدول ۴ مقایسه ترکیبات شیمیایی شناسایی شده در هر دو عصاره، انجام شده‌است. ترکیبات اصلی برگ چای پلی‌فنل‌ها هستند. چای‌سبز حاوی مقادیر بیشتری از پلی‌فنل‌ها در مقایسه با چای سیاه است. که این ناشی از تفاوت در فرایندهای فراوری برگ‌های چای بعد از برداشت است. در چای‌سبز، برگ‌های تازه چای پس از برداشت، در دمای بالا تبخیر و سپس خشک می‌شود تا آنزیم پلی‌فنل اکسیداز آن غیرفعال گردد. در نتیجه، از اکسیداسیون کاتچین‌ها جلوگیری می‌شود و پلی‌فنل‌ها در فرم مونومری حفظ می‌گردند. علاوه بر جلوگیری از اکسیداسیون پلی‌فنل‌ها، فرایند تبخیر از تجزیه آنزیمی ویتامین‌ها جلوگیری می‌کند. از طرف دیگر چای سیاه از تخمیر برگ‌های چای به‌دست می‌آید که منجر به تولید ترکیبات پلی‌مریک همچون تیاروبیجین (Thearubigin) و تئافلاوین (Theaflavin) می‌شود و عمدتا چای سیاه حاوی اپی‌کاتچین‌هاست (Senanayake,2013). چای سیاه دارای ترکیبات و اجزای بیشتری از چای‌سبز است بخشی از آن به‌دلیل فرایندهای اکسیداسیونی است که در طول تخمیر رخ می‌دهد. مهم‌ترین ترکیبات پلی‌فنلی شناسایی شده براساس ساختار، ایزوفلاون‌ها هستند. هرچند تشابه قابل توجهی بین ترکیبات گزارش شده در این پژوهش با دیگر پژوهش‌های مرتبط مشاهده می‌شود تفاوت در نوع و درصد ترکیبات گزارش شده را می‌توان به شرایط اقلیمی، عرض و طول جغرافیایی، ارتفاع محل رویش و کشت و همچنین تا حدودی ژنوتیپ گونه مورد مطالعه مرتبط دانست.

ظرفیت آنتی اکسیدانی: پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره طبیعی چای‌سبز و چای سیاه بعد از محاسبه خاصیت مهارکنندگی با استفاده از فرمول ۲-۱ و محاسبه EC_{50} با استفاده از رابطه خطی بین غلظت ترکیب و احتمال درصد حذف DPPH ارزیابی شد. ویتامین C به‌عنوان کنترل مثبت با چهار غلظت مختلف در نظر گرفته شد. بعد از محاسبه درصد مهار، EC $_{50}$آن محاسبه گردید. EC_{50}، غلظتی مؤثر از ترکیب آنتی‌اکسیدانی است که در آن، ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH احیا شده باشند از این رو، مقدار EC_{50} کم، بیانگر خاصیت آنتی اکسیدانی بالا است.



شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف عصاره چای‌سبز، چای سیاه و ویتامین C بر درصد بازدارندگی و حذف DPPH

Figure 4. The effect of different concentrations of green tea extract, black tea and vitamin C on DPPH inhibition and removal percentage

نمودار شکل ۴ اثر غلظت‌های مختلف عصاره چای‌سبز و چای سیاه (۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ گرم بر لیتر) و ویتامین C (۰/۱۷۶، ۰/۰۸۸، ۰/۰۴۴، ۰/۰۲۲ گرم بر لیتر) را بر درصد بازدارندگی نشان‌می‌دهد. غلظت‌های عصاره چای‌سبز و چای سیاه در سمت چپ نمودار و غلظت‌های ویتامین C در سمت راست نمودار مشخص‌شده‌اند. با افزایش غلظت، میانگین درصد بازدارنگی برای ویتامین C و غلظت‌های عصاره‌ها افزایش یافته‌است. ویتامین C با غلظت ۰/۱۷۶ گرم بر لیتر و غلظت ۱۰۰ گرم بر لیتر هر دو عصاره نیز با اختلاف کمی از غلظت ۵۰ گرم بر لیتر بیشترین درصد بازدارندگی را نشان دادند. هرچه درصد بازدارندگی بالاتر باشد به‌معنای خاصیت آنتی اکسیدانی بالا است. همچنان‌که نمودار نشان‌می‌دهد خاصیت آنتی‌اکسیدانی هر دو عصاره چای‌سبز و سیاه قابل مقایسه با بالاترین غلظت ویتامین C است. خاصیت آنتی‌اکسیدانی چای‌سبز بیشتر از چای سیاه است که تفاوت معنی‌دار است. می‌توان به‌طور کلی نتیجه‌گیری کرد ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد در غلظت ۱۰۰ گرم در لیتر عصاره چای سیاه و چای‌سبز تقریبا برابر ظرفیت مهار رادیکل های آزاد غلظت ۰/۱۷۶ گرم در لیتر ویتامین C خالص

است. برای محاسبه EC_{50} از رابطه خطی بین غلظت ترکیب و درصد مهار، استفاده شد. با استفاده از معادله‌های به‌دست آمده از این نمودارها، EC_{50} برای عصاره‌های چای‌سبز، سیاه و ویتامین C محاسبه شد. در جدول ۵، EC_{50} نشان داده‌شده‌است.

جدول ۵ – فعالیت مهاری رادیکال DPPH (EC_{50}) در برگ چای‌سبز، چای سیاه و ویتامین C

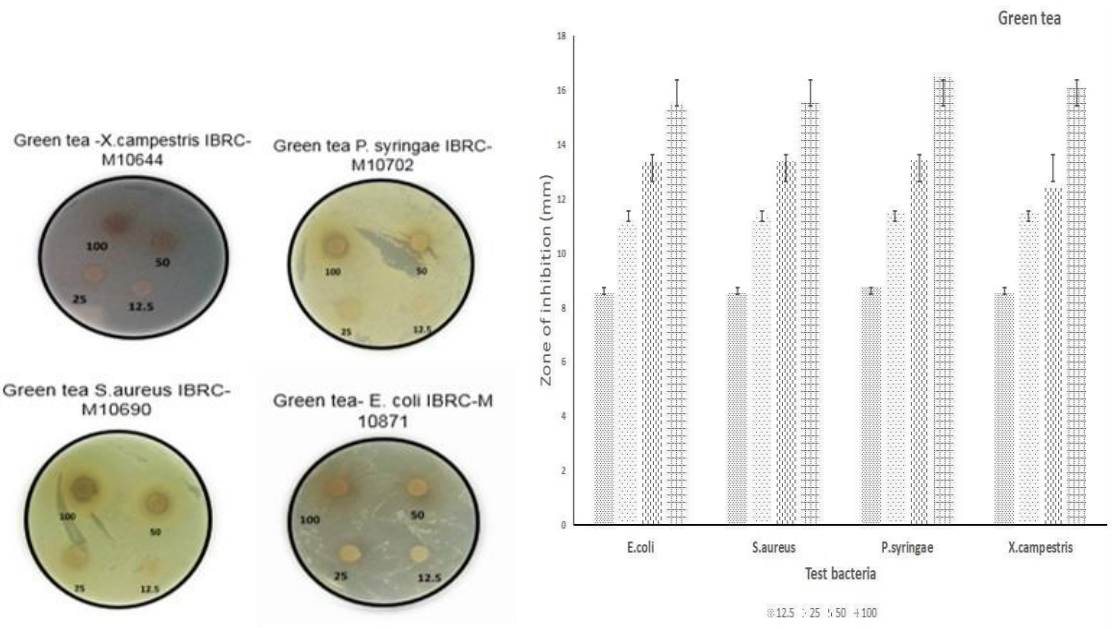
Table 5- DPPH radical inhibitory activity (EC_{50}) by green and black tea leaves and vitamin C

نمونه	EC_{50} (g/l)
عصاره چای‌سبز	۲۸/۸۷۵g/l
عصاره چای سیاه	۴۴/۲۲۲ g/l
ویتامین c	۰/۱۲۵ g/l

جدول۵، مقادیرEC_{50} را در نمونه‌های مورد مطالعه نشان‌می‌دهد. میزان EC_{50} در ویتامین C دارای کمترین مقدار، معادل ۰/۱۲۵ گرم بر لیتر و میزان EC_{50} عصاره چای سیاه دارای بیشترین مقدار، معادل ۴۴/۲۲۲ گرم بر لیتر است. طبق تعریف، EC_{50} پایین، نشان دهنده خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا *است*. داده‌های مرتبط با EC_{50} نشان‌می‌دهد ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد توسط عصاره چای‌سبز با مقدار اندازه گیری شده ۲۸/۸۵۷ گرم در لیتر ۱/۵۳ برابر ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد عصاره چای سیاه با مقدار اندازه گیری شده ۴۴/۲۲۲ گرم بر لیتر است. یعنی خاصیت آنتی اکسیدانی چای‌سبز یک و نیم برابر چای سیاه است.

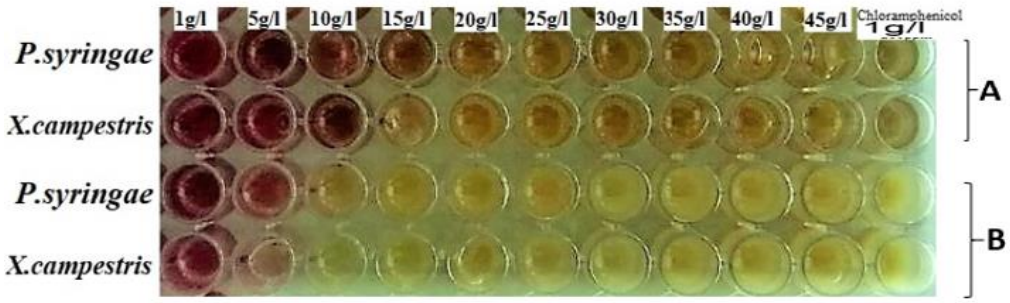
اثرات ضد میکروبی: به‌منظور ارزیابی خاصیت ضد میکروبی عصاره چای‌سبز و چای سیاه دو گونه باکتری پاتوژن انسانی و دو گونه باکتری پاتوژن گیاهی انتخاب شدند. *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌عنوان باکتری گرم مثبت و *اشیرشیاکلی* به‌عنوان باکتری گرم منفی که هر دو پاتوژن انسانی محسوب می‌شوند و *زانتوموناس کامپستریس* و *سودوموناس سیرینگیه* از پاتوژن های گیاهی با روش انتشار دیسک و تعیین میزان حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) مورد ارزیابی قرار گرفتند.

شکل ۵ و شکل۶، نشان دهنده‌ی اثر مهاری عصاره‌ی چای‌سبز در برابر سویه‌های مختلف پاتوژن‌های بیماری‌زا و باکتری های گیاهی است. عصاره‌ی چای‌سبز کمترین اثر مهاری را در برابر باکتری‌های *زانتوموناس کمپستریس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* با میانگین قطر هاله عدم رشد ۱۰ تا ۱۵ میلی متر از خود نشان داد. بیشترین میزان مهارکنندگی هم علیه باکتری *سودوموناس سیرینگیه* با میانگین قطر هاله عدم رشد ۱۵ تا ۱۷ میلی متر بود. ارزیابی اثرات ضد میکروبی عصاره چای سیاه با روش انتشار دیسک نتایج قابل ارائه نشان نداد. نتایج حاصل از تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) در شکل (۴) نشان داده‌شده‌است. هر کدام از سویه‌های باکتریایی دارای MIC مختص به خود بوده که مقادیر آن در جدول (۶) نشان داده‌شده‌است.

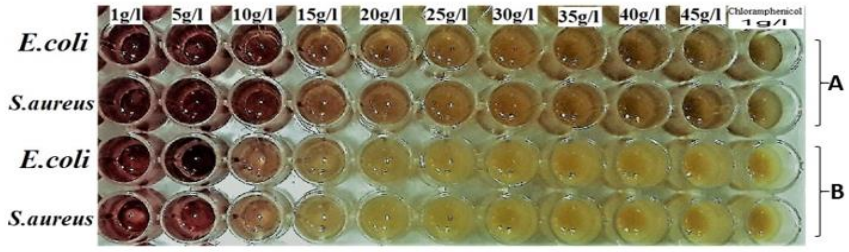


شکل ۵- نتایج اثر مهاری عصاره‌ی چای‌سبز علیه برخی سویه‌های باکتریایی به روش‌های انتشار در آگار

Figure 5. The results of the inhibitory effect of green tea extract against some bacterial strains by diffusion methods in agar



(a



(b

شکل ۶- تعیین میزان MIC عصاره‌های چای‌سبز و سیاه در برابر سویه‌های باکتریایی بیماری‌زا. A عصاره چای سیاه. B عصاره چای‌سبز. a پاتوژن گیاهی b پاتوژن انسانی.

Figure 6. Determination of MIC of green and black tea extracts against pathogenic bacterial strains. A black tea extract. B green tea extract. a. Plant pathogen. b. Human pathogen.

جدول ۶- نتایج حاصل از تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)

Table 6- The results of determining the minimum inhibitory concentration (MIC)

Pathogenic bacteria	Minimum inhibitory concentration extract (mg/ml)	
	Black tea	Green tea
E. coli IBRC-M 10871	15	5
S.aureus IBRC-10690	10	5
P. syringae IBRC- M10702	5	5
X.campestris IBRC-644	10	1

جدول ۶ نشان‌می‌دهد حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره چای‌سبز در برابر *اشرشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس سیرینگه* با غلظت پنج میلی گرم بر لیتر به‌طور معنی‌دار سه برابر بیشتر از مهارکنندگی عصاره چای سیاه با غلظت پانزده میلی گرم در لیتر است. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره چای‌سبز در برابر *زانتوموناس کمپستریس* با غلظت یک میلی گرم در لیتر نشان‌می‌دهد این باکتری بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره چای‌سبز نشان داده و قدرت مهار کنندگی عصاره چای سبز در برابر *زانتوموناس کمپستریس* به‌طور معنی‌دار بسیار بیشتر از سه باکتری دیگر است. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره چای سیاه در برابر *سودوموناس سیرینگه* با غلظت پنج میلی گرم بر لیتر به‌طور معنی‌دار بیشتر از مهارکنندگی عصاره چای سیاه در برابر *اشرشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *زانتوموناس کمپستریس* است. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره چای سیاه در برابر *سودوموناس سیرینگه* با غلظت یک میلی گرم در لیتر نشان‌می‌دهد این باکتری بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره چای سیاه نشان داده و قدرت مهار کنندگی عصاره چای سیاه در برابر *سودوموناس سیرینگه* به‌طور معنی‌دار بسیار بیشتر از سه باکتری دیگر است.

پژوهش‌های متمرکز بر شناسایی و معرفی ترکیبات ضدباکتریایی طبیعی با منشأ گیاهی و کاربردهای احتمالی آن‌ها در کشاورزی برای کنترل بیماری‌های باکتریایی در حال افزایش است. فراورده‌های گیاهی طبیعی و فعال بیولوژیکی مانند اسانس و عصاره می‌توانند جایگزین سموم غیرطبیعی و سنتزی شده و به‌عنوان ترکیبات جدید و مؤثر در کنترل میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای گیاهی استفاده گردند. اسانس‌ها، فرآورده‌های معطر و فرار نتیجه متابولیسم ثانویه یک گیاه معطر بوده، به‌طور معمول در سلول یا گروه‌های سلولی خاص تشکیل می‌شوند. اسانس‌ها عمدتا از مونوترپن‌ها، سزکوئی‌ترپن‌ها و مشتقات اکسیژنه آنها (الکل، آلدهید، استر، کتون، فنل و اکسید) تشکیل‌شده‌اند. اثرات ضدمیکروبی، ضدباکتریایی، ضد قارچی، آنتی لیشمانیا (antileishmanial) و اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره چای‌سبز و چای سیاه در پژوهش‌های متعددی ارزیابی شده‌است.

اثرات آنتی اکسیدانی (پاداکسایندگی): آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که باعث محافظت در برابر آسیب سلولی ناشی از مولکول‌هایی به نام رادیکال‌های آزاد می‌شوند. DPPH به‌عنوان یک معرف برای بررسی مهار رادیکال آزاد توسط عصاره به کار می‌رود. DPPH که یک رادیکال آزاد ارغوانی رنگ است، در تماس با ترکیب آنتی‌اکسیدان (عصاره یا ویتامین C) به ترکیب پایدار زرد رنگی تبدیل می‌شود. DPPH یک رادیکال آزاد پایدار نیتروژن‌دار است که رنگ آن از طریق فرایند الکترون‌گیری هیدروژنی از بنفش تا زرد تغییر می‌یابد. موادی که قادر به انجام این واکنش هستند می‌توانند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌ها و به همین ترتیب مهارکننده‌های رادیکال‌های آزاد در نظر گرفته شوند (Sung *et al*., 2000). در این پژوهش ظرفیت مهار رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره متانولی چای‌سبز، چای سیاه و ویتامین C در غلظت‌های مختلف بررسی شد.

سانگ و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نهایی پلاسمای انسانی پس از مصرف ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی لیتر از چای‌سبز افزایش چشمگیری دارد (Sung *et al*., 2000). چان و همکاران (۲۰۱۱) فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های متانولی برخی از گیاهان دارویی را با روش احیا رادیکال‌های آزاد با استفاده از DPPH ارزیابی کرده و نشان دادند فعالیت آنتی اکسیدانی چای‌سبز بیشتر است (Chan *et al*., 2011).

نظری و همکاران (۱۳۹۵) جهت بررسی زمان پایداری روغن‌ها (آفتابگردان، کانولا، زیتون و تالو) به اکسیداسیون، از عصاره چای سیاه استفاده کردند. به‌این منظور عصاره چای سیاه با سه روش استخراج با متانول، اتانول و آبی تهیه گردید. نتایج نشان داد که استخراج آبی مؤثرترین عصاره از نظر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را ایجاد کرده‌است. غلظت‌های مختلف عصاره چای، خاصیت آنتی‌اکسیدانی داشته و روند اکسیداسیون را کاهش دادند (Nazari *et al*. 2016). Khalaf (۲۰۰۸) عصاره متانولی برخی از گیاهان دارویی را جهت به‌دام انداختن رادیکال آزاد بررسی نمودند. نتایج نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی چای‌سبز بیشتر از چای سیاه و سایر گیاهان است (Khalaf *et al*., 2008). العبیدی و همکاران (۲۰۱۵) فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی چای سفید، سبز و سیاه با سه روش احیا رادیکال آزاد (DPPH) روش آنتی‌اکسیدان احیا کننده آهن (FRAP) و ظرفیت آنتی‌اکسیدان معادل (TRAC) ارزیابی کردند. نتایج روش احیا رادیکال آزاد نشان داد که بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدان مربوط به چای سفید است. عصاره‌های آبی چای‌سبز و سیاه نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی چشمگیری داشتند (Al-Obaidi & Sahib, 2015).

فخاری و همکاران (۲۰۱۵) فعالیت آنتی‌اکسیدانی چهار عصاره چای مختلف را با روش DPPH بررسی نمودند. نتایج نشان داد تفاوت چشمگیری بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی چای‌سبز، سفید، سیاه و قرمز وجود دارد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی چای‌سبز بیشتر از چای سفید، سیاه و قرمز بود (Fakheri *et al*., 2015).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان را می‌توان عمدتا به حضور ترکیبات فنلی در آن‌ها نسبت داد. ترکیبات فنلی تقریبا در تمام بخش‌های گیاه وجود دارند و در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک مانند رشد سلولی، جوانه‌زنی دانه و رسیدن میوه نقش

دارند. از مهم‌ترین خصوصیاتی که به این گروه نسبت داده‌می‌شود، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده که به آن‌ها امکان از دست دادن هیدروژن و به دام انداختن رادیکال آزاد را می‌دهد. فنل‌ها و فلاونوئیدها به‌طور گسترده‌ای در محصولات غذایی تولید شده از منابع گیاهی یافت می‌شود و نشان داده‌شده‌است که فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی دارند.

یافته‌های ما نشان داد که عصاره چای‌سبز و سیاه خاصیت آنتی‌اکسیدانی داشته و با افزایش غلظت‌های مختلف از عصاره، IC_{50} آن‌ها کاهش می‌یابد که نشان‌دهنده فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا است. غلظت ۱۰۰ گرم بر لیتر عصاره چای‌سبز، بیشترین درصد مهار رادیکال آزاد را نشان داد. ویتامین C به‌عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد که کمترین IC_{50} را دارد. ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد در غلظت ۱۰۰ گرم در لیتر عصاره چای سیاه و چای‌سبز تقریبا برابر ظرفیت مهار رادیکل های آزاد غلظت ۰/۱۷۶ گرم در لیتر ویتامین C خالص است. مقایسه تیمارهای مختلف با استفاده از آزمون دانکن میانگین‌های مربوط به غلظت‌های عصاره و ویتامین C نمودار شماره را به هشت گروه دسته‌بندی نمود. بین همه تیمارها و غلظت‌ها تفاوت معنی دار وجود دارد. در مقایسه بین غلظت‌های عصاره، غلظت ۱۰۰ گرم بر لیتر در هر دو عصاره بیشترین درصد بازدارندگی رادیکال آزاد را نشان داد. با کاهش غلظت درصد مهار شدن رادیکال آزاد هم کاهش یافته‌است. در مقایسه بین دو عصاره، عصاره چای سبز درصد مهارکنندگی بالاتری دارد. ویتامین C به‌عنوان کنترل مثبت بیشترین درصد مهار معادل ۰/۱۲۵ گرم بر لیتر را نشان داد (EC_{50}). با کمتر شدن غلظت آن، درصد مهار و بازدارندگی آن هم کاهش می‌یابد.

بسیاری از اثرات درمانی و پیشگیری مرتبط با مصرف چای‌سبز و چای سیاه را می‌توان مرتبط با این ظرفیت نسبتا بالای مهار رادیکال‌های آزاد در نظر گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد چای‌سبز به‌طور معنی‌دار یک و نیم برابر بیشتر از چای سیاه است.

اثرات ضدباکتریایی: مقاومت میکروبی در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها و اثرات مخرب افزودنی‌ها و مواد نگهدارنده غذایی از مشکلات رایج سیستم بهداشتی و درمانی است که کنترل و رفع آن‌ها دستیابی به گروه جدیدی از ترکیبات ضد میکروبی را ضروری می سازد. در این راستا ترکیبات مشتق از عصاره‌های گیاهی به‌عنوان منابع بالقوه مهم حائز اهمیت زیادی هستند. بنابراین با توجه به مقاومت آنتی‌بیوتیکی در برابر میکروارگانیسم‌ها و ضرورت شناسایی و معرفی ترکیبات جدید مطالعه حاضر با هدف تعیین اثرات ضدمیکروبی عصاره‌های چای‌سبز و سیاه انجام گرفت.

اخیرا پژوهش‌های متعددی با هدف شناسایی و معرفی مواد ضد میکروبی با منشأ گیاهی انجام شده‌است، گیاهان ترکیباتی با ساختار مولکولی پیچیده می‌سازند که برخی از آن‌ها با خواص ضدمیکروبی گیاهی مرتبط هستند. آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، ایزوفلاونوئیدها، تانن‌ها، گلیکوزیدها، پلی ترپنوئیدها، ترکیبات آروماتیک و سزکوئی ترپن‌ها و ترکیبات فنلی از جمله این

متابولیت‌های ثانویه هستند که خواص ضد میکروبی دارند. چالش جدید، رشد روزافزون مقاومت آنتی بیوتیکی در میان سویه های باکتریایی است. ترکیبات ضدمیکروبی گیاهی، می‌تواند جایگزین مناسبی برای درمان این آلودگی‌ها باشد.

تودا و همکاران (۱۹۸۹) نشان دادند که مصرف روزانه چای‌سبز منجر به از بین رفتن میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا همچون *استافیلوکوکوس‌اورئوس*، *ویبریو پا را همولیتیکا*، *کلستریدیوم پرفرنژنس* و *باسیلوس‌سرئوس* می‌شود (Toda *et al*., 1989).

ساکاناکا و همکاران (۲۰۰۰) فعالیت مهارکنندگی رشد اسپورهای باکتریایی توسط پلی‌فنل‌های چای را مورد بررسی قرار دادند. اپی‌گالاکاتچین جزء اصلی پلی‌فنل‌های چای فعالیت شدیدی در برابر اسپورهای باکتریایی از خود نشان داد (Sakanaka *et al*., 2000).

بیماری نواری باکتریایی گندم یکی از مهم‌ترین بیماری‌های باکتریایی بذر زاد گندم در نواحی گرم و مرطوب است که به‌وسیله باکتری *زانتوموناس ترانسلوسنس* ایجاد می‌شود. بیگی و علیزاده (۱۳۸۲) اثر ضدمیکروبی عصاره گیاهان مختلف از جمله سیر، اسپند، اکلیل کوهی، جارو و داتوره را با روش انتشار در چاهک بررسی کردند. نتایج نشان داد که عصاره‌های بررسی‌شده، اثرات ضد باکتریایی تقریبا یکسانی در برابر باکتری‌های مورد آزمایش دارا هستند (Beyki & Alizadeh, 2006). چان و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی خواص ضدباکتریایی عصاره‌های آبی چای‌سبز، چای سیاه و چای کوهی به این نتیجه رسیدند که این عصاره‌ها اثرات مهاری بر باکتری گرم مثبت دارند اما بر باکتری گرم منفی اثر مهاری ندارند (Chan *et al*., 2011). نادری و همکاران (۲۰۱۱) در آزمایشی اثر عصاره متانولی چای سیاه و سبز را بر روی باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* (عامل پوسیدگی دندان) بررسی نمودند. نتایج نشان داد هر دو عصاره چای‌سبز و سیاه ایرانی در غلظت‌های ۱۰۰ تا ۴۰۰ میلی گرم بر لیتر اثرات ضدباکتریایی دارند و فعالیت ضد باکتریایی چای سیاه ایرانی علیه این باکتری بیشتر است (Naderi *et al*., 2011). مهتا و همکاران (۲۰۱۶) آزمایشی برای ارزیابی و مقایسه فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌های مختلف چای‌سبز و سیاه علیه گونه‌های باکتریایی انجام دادند. فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌های آبی، متانولی، اتانولی و استونی چای‌سبز و سیاه با روش انتشار در آگار بر روی باکتری‌های *اشریشیاکلی*، *استافیلوکوک اورئوس* و *سودموناس آئروژنوزا* بررسی شد. عصاره‌های چای‌سبز بیشترین فعالیت ضد باکتریایی را نسبت به عصاره‌های چای سیاه داشتند. عصاره‌ی آبی چای‌سبز و عصاره متانولی چای سیاه، بیشترین تأثیر را داشتند (Mehta *et al*., 2016). شاجانا و گیتا (۲۰۱۷) به بررسی و مقایسه اثرات ضد میکروبی چای سیاه، سبز و سفید بر *استرپتوکوکوس موتانس* پرداختند. در این تحقیق پتانسیل فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های آبی برگ بررسی شد. آزمایش حداقل غلظت مهاری علیه باکتری استرپتوکوک انجام شد. *استرپتوکوکوس موتانس* آغازگر و دلیل اصلی بیماری های دندان در سطح جهان است. نتایج نشان داد عصاره چای‌سبز، سیاه و سفید خواص ضد میکروبی منحصر به فردی دارند (Shagana & Geetha, 2017). فخاری و همکاران (۲۰۱۵) اثرات ضدمیکروبی عصاره چای در برابر هشت نوع از باکتری را با تکنیک میکرودایلوشن ارزیابی کردند. نتیجه این بررسی نشان داد که عصاره‌های چای‌سبز و سیاه بالاترین محتوای فنلی و

فعالیت آنتی‌اکسیدانی را داشته و یک رابطه مثبت قوی بین محتوای فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در چای قرمز و سبز مشاهده گردید. همه‌ی عصاره‌های چای میکروارگانیسم‌های مختلف را مهار کردند. با این‌وجود باکتری‌های گرم منفی بیشترین مقاومت را به اثرات مهاری عصاره‌های چای نشان دادند. عصاره‌های چای غیر تخمیری بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و اثرات مهاری علیه باکتری‌ها را نشان دادند. عصاره‌های چای در غلظت‌های مختلف رشد میکروب‌ها را مهار کرده و چای سفید و سبز کمترین مقدار MIC (کمترین غلظت مهارکنندگی) علیه باکتری‌های مورد مطالعه را داشتند (Fakheri *et al*. 2015). نیستانی (۱۳۸۵) اثر مهاری عصاره چای‌سبز و سیاه را بر رشد باکتری اشریشیاکلی بیماری‌زا در محیط آزمایشگاه بررسی کردند. یافته‌ها نشان داد که توان آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی چای‌سبز در مقایسه با چای سیاه به‌طرز معنی داری بالاتر است و اثرات مهاری چای مستقیما به توان آنتی‌اکسیدانی آن مربوط است(Neyestani, 2007) . نیستانی (۱۳۸۶) اثر مهاری چای سیاه بر رشد باکتری *استرپتوکوکوس پیوژنز* و مقایسه‌ی آن با چای‌سبز در محیط آزمایشگاه را بررسی نمودند. ملاحظه شد که توان آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی چای‌سبز در مقایسه با عصاره‌ی چای سیاه به‌طور معنی‌داری بالاتر است. اثر مهاری چای مستقیما به توان آنتی اکسیدانی آن مربوط می‌شود و پلی‌فنل‌های چای با تولید پراکسید هیدروژن به‌صورت پرو اکسیدان عمل کرده و از این طریق، اثر مهاری خود را بر رشد باکتری اعمال می‌کنند. تحقیقات نشان داده که پلی‌فنل‌های گیاهی یا تانن‌ها از طریق اتواکسیداسیون و تولید پراکسید هیدروژن، اثر مهاری خود را روی رشد یاخته اعمال می‌کنند (Neyestani *et al*. 2007).

محمودی و همکاران (۱۳۸۹) اثر ضدباکتریایی اسانس و عصاره آبی گیاهان دارویی بر باکتری‌های عامل شانکر و لکه برگی درختان میوه هسته‌دار را بررسی نمودند. شانکر و لکه برگی باکتریایی درختان میوه هسته‌دار به‌وسیله باکتری‌های *سودوموناس سیرینگیه* و *زانتوموناس اربوریکولا* ایجاد می‌شوند. نتایج نشان دادند که بین اسانس‌ها و عصاره‌ها در بازداری از رشد باکتری‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد. با توجه به اثرات سوء سموم کشاورزی بر اکوسیستم‌های زیستی استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی بی‌خطر از جمله اسانس و عصاره‌های گیاهان دارویی امری ضروری به نظر می‌رسد (Mahmoudi *et al*. 2010).

شکل ۴ اثر مهاری عصاره‌ی چای‌سبز را در برابر سویه‌های باکتریایی مورد مطالعه به‌روش انتشار در دیسک نشان‌می‌دهد. با افزایش غلظت عصاره در مورد هر چهار سویه باکتری قطر هاله عدم رشد افزایش نشان‌می‌دهد که تایید کننده این است که توانایی مهارکنندگی عصاره چای‌سبز وابسته به غلظت بوده و نسبت مستقیم با آن دارد. یعنی هرچه غلظت عصاره بیشتر می شود توانایی مهار رشد و اثر ضد باکتریایی آن افزایش می‌یابد. هم در غلظت‌های کم و هم در غلظت‌های زیاد عصاره چای‌سبز بیشترین اثر مهاری را در برابر *سودوموناس سیرینگیه* نشان‌می‌دهد. در مقابل هم در غلظت‌های کم و هم در غلظت‌های زیاد در مقایسه با چهار سویه باکتری مورد مطالعه عصاره چای‌سبز کمترین اثر مهارکنندگی رشد را در برابر *زانتوموناس کامپستریس* نشان‌می‌دهد.

یافته‌های این پژوهش نشان داد که عصاره‌های چای‌سبز در غلظت‌های مختلف به‌روش انتشار دیسک بر روی باکتری‌های گرم مثبت، منفی و باکتری‌های گیاهی اثر بازدارنده دارد. با افزایش غلظت، قطر هاله عدم رشد افزایش می‌یابد. بیشترین قطر هاله عدم رشد در هر چهار باکتری مربوط به غلظت ۱۰۰ گرم بر لیتر و کمترین مربوط به غلظت ۱۲/۵ گرم بر لیتر است

حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره چای‌سبز در برابر *اشرشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس سیرینگه* با غلظت پنج میلی گرم بر لیتر به‌طور معنی‌دار سه برابر بیشتر از مهارکنندگی عصاره چای سیاه با غلظت پانزده میلی گرم در لیتر است. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره چای‌سبز در برابر *زانتوموناس کمپستریس* با غلظت یک میلی گرم در لیتر نشان‌می‌دهد این باکتری بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره چای‌سبز نشان داده و قدرت مهار کنندگی عصاره چای‌سبز در برابر *زانتوموناس کمپستریس* به‌طور معنی‌دار بسیار بیشتر از سه باکتری دیگر است. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره چای سیاه در برابر سودوموناس سیرینگه با غلظت پنج میلی گرم بر لیتر به‌طور معنی‌دار بیشتر از مهارکنندگی عصاره چای سیاه در برابر *اشرشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *زانتوموناس کمپستریس* است. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره چای سیاه در برابر *سودوموناس سیرینگه* با غلظت یک میلی گرم در لیتر نشان‌می‌دهد این باکتری بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره چای سیاه نشان داده و قدرت مهار کنندگی عصاره چای سیاه در برابر *سودوموناس سیرینگه* به‌طور معنی‌دار بسیار بیشتر از سه باکتری دیگر است. میزان MIC عصاره چای‌سبز در برابر سویه‌های *اشرشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس سیرینگه* پنج میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده و سه برابر قویتر از چای سیاه ۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است. بدین معنی که اثرات ضد میکروبی عصاره چای‌سبز در برابر این سویه‌ها نسبت به چای سیاه سه برابر بیشتر است. بیشترین اثر ضد میکروبی چای‌سبز با یک در برابر *زانتوموناس کمپستریس* مشاهده شد. دیگر سویه‌ها کمترین توانایی مهارکنندگی را نشان‌می‌دهد. در مورد دیگر سویه‌ها یعنی *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس سیرینگه* و *زانتوموناس کمپستریس* و حداقل غلظت مهارکنندگی در یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده و نشان دهنده توانایی مهارکنندگی تقریبا یکسان عصاره‌های چای‌سبز در برابر این سه سویه است. میزان MIC عصاره چای‌سبز بر روی سویه‌های مورد مطالعه در این تحقیق در مورد *اشرشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس سیرینگه* یکسان و برابر و ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است. در مورد *زانتوموناس کمپستریس* نیز حداقل غلظت مهارکنندگی در محدوده یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود که نشان دهنده توانایی مهار کنندگی نسبتا بالای عصاره در برابر این سویه است. مقایسه حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره در برابر پاتوژن‌های گیاهی و انسانی نشان‌می‌دهد که توانایی مهارکنندگی عصاره در برابر پاتوژن‌های گیاهی به‌طور نسبی و معنی‌دار بیشتر از پاتوژن‌های انسانی است. استفاده از پسماند چای‌سبز و چای سیاه برای کنترل آفات و بیماری‌های گیاهی نیز می‌تواند به‌عنوان یک ایده پژوهشی مورد توجه قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این پژوهش ترکیب اصلی تشکیل دهنده عصاره چای‌سبز شامل کافئین (۸۲/۹۷ درصد)، و ترکیب اصلی عصاره چای سیاه نیز کافئین (۸۶/۲۵ درصد) است. کافئین چای سیاه سه و نیم درصد بیشتر از چای‌سبز است. کافئین در هر دو عصاره بالاترین درصد را داشته و بیشترین ترکیب است. خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره چای‌سبز و سیاه قابل مقایسه با ویتامین C است. خاصیت آنتی‌اکسیدانی چای‌سبز به‌طور معنی‌دار بیشتر از چای سیاه است. ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد در غلظت ۱۰۰ گرم در لیتر عصاره چای سیاه و چای‌سبز تقریبا برابر ظرفیت مهار رادیکل های آزاد غلظت ۰/۱۷۶ گرم در لیتر ویتامین C خالص است. داده‌های مرتبط با EC_{50} نشان‌می‌دهد ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد چای‌سبز ۲۸/۸۵۷ گرم در لیتر ۱/۵۳ برابر چای سیاه ۴۴/۲۲۲ گرم بر لیتر است. یعنی خاصیت آنتی اکسیدانی چای‌سبز یک و نیم برابر چای سیاه است. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره چای‌سبز در برابر *اشرشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس سیرینگه* با غلظت پنج میلی گرم بر لیتر به‌طور معنی‌دار سه برابر بیشتر از مهارکنندگی عصاره چای سیاه با غلظت پانزده میلی گرم در لیتر است. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره چای‌سبز در برابر *زانتوموناس کمپستریس* با غلظت یک میلی گرم در لیتر نشان‌می‌دهد این باکتری بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره چای‌سبز نشان داده و قدرت مهار کنندگی عصاره چای‌سبز در برابر *زانتوموناس کمپستریس* به‌طور معنی‌دار بسیار بیشتر از سه باکتری دیگر است. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره چای سیاه در برابر *سودوموناس سیرینگه* با غلظت پنج میلی گرم بر لیتر به‌طور معنی‌دار بیشتر از مهارکنندگی عصاره چای سیاه در برابر *اشرشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *زانتوموناس کمپستریس* است. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره چای سیاه در برابر سودوموناس سیرینگه با غلظت یک میلی گرم در لیتر نشان‌می‌دهد این باکتری بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره چای سیاه نشان داده و قدرت مهار کنندگی عصاره چای سیاه در برابر *سودوموناس سیرینگه* به‌طور معنی‌دار بسیار بیشتر از سه باکتری دیگر است.

به‌طور خلاصه خاصیت آنتی‌اکسیدانی چای‌سبز به‌طور معنی‌دار بیشتر از چای سیاه است. خاصیت آنتی اکسیدانی چای سبز یک و نیم برابر چای سیاه است. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره چای‌سبز در برابر *اشرشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس سیرینگه* به‌طور معنی‌دار سه برابر بیشتر از مهارکنندگی عصاره چای سیاه است. باکتری *زانتوموناس کمپستریس* بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره چای‌سبز نشان داده و قدرت مهارکنندگی عصاره چای‌سبز در برابر *زانتوموناس کمپستریس* به‌طور معنی‌دار بیشتر از سه باکتری دیگر است. باکتری *سودوموناس سیرینگه* بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره چای سیاه نشان داده و قدرت مهارکنندگی عصاره چای سیاه در برابر *سودوموناس سیرینگه* به‌طور معنی‌دار بیشتر از سه باکتری دیگر است.

سپاسگزاری

نویسندگان از همراهی و همکاری کارشناس آزمایشگاه میکروبیولوژی خانم شهناز زارعی و کارشناس آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی آقای عادل محمدی در انجام این پژوهش کمال سپاس‌گزاری و قدردانی را دارند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که در رابطه با انتشار این مقاله به‌طور کامل از اصول اخلاق نشر، از جمله سرقت ادبی، سوء رفتار، جعل داده‌ها و یا ارسال و انتشار دوگانه، پرهیز نموده‌اند و منافعی تجاری در این راستا وجود ندارد و نویسندگان در قبال ارائه اثر خود وجهی دریافت ننموده‌اند.

منابع

Al-Obaidi, R. S., & Sahib, D. (2015). Determination of antioxidants activity in tea extract. Amer. J. Biochem, 5(3), 49-52.

Anzai, Y., Kim, H., Park, J. Y., Wakabayashi, H., & Oyaizu, H. (2000). Phylogenetic affiliation of the pseudomonads based on 16S rRNA sequence. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *50*(4), 1563-1589.

Balentine, D. A., Wiseman, S. A., & Bouwens, L. C. (1997). The chemistry of tea flavonoids. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, *37*(8), 693-704.

Bruno, R. S., Bomser, J. A., & Ferruzzi, M. G. (2014). Antioxidant capacity of green tea (Camellia sinensis). In *Processing and impact on antioxidants in beverages* (pp. 33-39). Academic Press.

Bowersox, J. (1999). Experimental staph vaccine broadly protective in animal studies. NIH News.;27.

Beyki, F., & Alizadeh, A. (2006). Antibacterial effects of some herbal essential oils and plant extracts on the causal agent of bacterial leaf streak in wheat and barley. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources.13(5)70-82

Bajpai, V. K., Kang, S. R., Xu, H. J., Lee, S. G., Baek, K. H., & Kang, S. C. (2011). Potential roles of essential oils on controlling plant pathogenic bacteria Xanthomonas species: a review. *Plant Pathology Journal*, *27*(3), 207-224.

Cabrera, C., Artacho, R., & Giménez, R. (2006). Beneficial effects of green tea—a review. *Journal of the American College of Nutrition*, *25*(2), 79-99.

Chan, E. W., Soh, E. Y., Tie, P. P., & Law, Y. P. (2011). Antioxidant and antibacterial properties of green, black, and herbal teas of Camellia sinensis. *Pharmacognosy Research*, *3*(4), 266.

Chacko, S. M., Thambi, P. T., Kuttan, R., & Nishigaki, I. (2010). Beneficial effects of green tea: a literature review. *Chinese medicine*, *5*(1), 1-9.

Dalluge, J. J., & Nelson, B. C. (2000). Determination of tea catechins. *Journal of Chromatography A*, *881*(1-2), 411-424.

Eloff, J. N. (1998). A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta medica*, *64*(08), 711-713.

Fakheri, B. A., Bagheri, S., & Mahdi Nezhad, N. (2015). Comparison of antimicrobial and antioxidant activities of four different tea extracts. *Journal of Medical Microbiology and Infectious Diseases*, *3*(3), 57-61.

Hamilton-Miller, J. M. (1995). Antimicrobial properties of tea (Camellia sinensis L.). *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *39*(11), 2375-2377.

Haidarizadeh, M., Hemati, M., & Ashengroph, M. (2022). Comparison of antimicrobial effects of rosemary (Rosmarinus officinalis L.) extract and essential oil on plant's pathogens (Xanthomonas compestris and Pseudomonas syringe) and human's pathogens (Staphylococcus aureus and Escherichia coli). Applied Biology, (in press), -. doi: 10.22051/jab.2022.39594.1471

Haidarizadeh, M., Lotfi, V. and Ghanei alvar, M. (2018). Evaluation of chemical compounds, antibacterial and allelopathic properties of cedar leaf extract (Cupressus arizonica). Journal of Plant Research, 31, (1), 72-81

Haidarizadeh, M., Zareie, S., Ashengroph, M., and Maroofi, H. (2020). Chemical Composition and Biological effects of (Koma) Ferula oopoda. Journal of Plant Research, 33, (4), 854-863

Kluytmans, J., Van, BelkumA. and Verbrugh, H. (1997). Nasal carriage of Staphylococcus aureus: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clinical microbiology reviews.;10(3)), 505-20

Koech, K. R., Wachira, F. N., Ngure, R. M., Wanyoko, J. K., Bii, C. C., Karori, S. M., & Kerio, L. C. (2017). Antimicrobial, synergistic and antioxidant activities of tea polyphenols. South Eastern Kenya University. (SEKU), digital repository. http://repository.seku.ac.ke/

Khalaf, N. A., Shakya, A. K., Al-Othman, A., El-Agbar, Z., & Farah, H. (2008). Antioxidant activity of some common plants. *Turkish Journal of Biology*, *32*(1), 51-55.

Mahmoudi, H. A. D. I., Rahnama, K., & Arabkhani, M. A. (2010). Antibacterial effect essential oil and extracts of medicinal plant on the causal agents of bacterial canker and leaf spot on the stone fruit tree. *Journal of Medicinal Plants*, *9*(36), 34-42.

Malakar, M. (2014). Antimicrobial susceptibility patterns of Escherichia coli isolated from urine and stool samples of an infected patient's in the Lakhimpur district of Assam, India.

Mehta, A., Saxena, G., & Mani, A. (2016). Comparative analysis of antibacterial activity of aqueous, ethanolic, methanolic and acetone extracts of commercial green tea and black tea against standard bacterial strains. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *5*(11), 145-152.

Mori, M., Sogou, K. and Inoue, Y. (2019). Development of a selective medium and antisera for Pseudomonas syringae PV. syringe from seeds of barley and wheat. Journal of General Plant Pathology.;85(3)), pp.211-20.

Naderi, N. J., Niakan, M., Fard, M. K., & Zardi, S. (2011). Antibacterial activity of Iranian green and black tea on streptococcus mutans: an in vitro study. *Journal of Dentistry (Tehran, Iran)*, *8*(2), 55.

Nazari, Z., Gharachorloo, M., & Elhamirad, A. H. (2016). Evaluation of the Antioxidative Effects of Black Tea Extracts. *Journal of Food Technology and Nutrition*, *14*(1), 23-34.

Neyestani, T. (2007). The inhibitory effects of black and green teas (Camellia sinensis) on growth of pathogenic Escherichia coli in vitro. *Iranian Journal of Nutrition Sciences&Food Technology*, *1*(3), 33-38.

Neyestani, T., & Khalaji, N. (2007). Inhibitory effects of black tea (Camellia sinensis) extracts on Streptococcus pyogenes: A comparison between black and green teas in vitro. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, *2*(1), 41-47.

Sakanaka, S., Juneja, L. R., & Taniguchi, M. (2000). Antimicrobial effects of green tea polyphenols on thermophilic spore-forming bacteria. *Journal of bioscience and bioengineering*, *90*(1), 81-85.

Senanayake, S. N. (2013). Green tea extract: Chemistry, antioxidant properties and food applications–A review. *Journal of functional foods*, *5*(4), 1529-1541.

Shagana, J. A., & Geetha, R. (2017). Comparative analysis of antimicrobial activity of black tea, green tea and white tea extracts on Streptococcus mutans by tube dilution method. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, *9*(9), 1581.

Sharangi, A. B. (2009). Medicinal and therapeutic potentialities of tea (*Camellia sinensis* L.) –A review. *Food research international*, *42*(5-6), 529-535.

Singh, D., Dhar, S., & Yadava, D. K. (2011). Genetic and pathogenic variability of Indian strains of *Xanthomonas campestris* pv. campestris causing black rot disease in crucifers. *Current microbiology*, *63*(6), 551-560.

Sung, H., Nah, J., Chun, S., Park, H., Yang, S. E., & Min, W. K. (2000). In vivo antioxidant effect of green tea. *European journal of clinical nutrition*, *54*(7), 527-529.

Toda, M., Okubo, S., Ohnishi, R., & Shimamura, T. (1989). Antibacterial and bactericidal activities of Japanese green tea. *Nihon saikingaku zasshi. Japanese journal of bacteriology*, *44*(4), 669-672.

Znati, M., Filali, I., Jabrane, A., Casanova, J., Bouajila, J., & Ben Jannet, H. (2017). Chemical Composition and In Vitro Evaluation of Antimicrobial, Antioxidant and Antigerminative Properties of the Seed Oil from the Tunisian Endemic Ferula tunetana Pomel ex Batt. *Chemistry & biodiversity*, *14*(1), e1600116.

Comparison of chemical compounds, antioxidant and antimicrobial effects of *Camellia sinensis* black tea and green tea leaf extract on plant pathogenic bacteria (*Xanthomonas campestris* and *Pseudomonas syringae*) and human pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*)

Masoud Haidarizadeh[*1], Fatemeh Alijani [2], Morahem Ashengroph[3], Sajjad Atashi[2]

Introduction: Identifying and introducing new natural antimicrobial compounds against pathogenic agents is of concern to researchers. The present study was conducted with the aim of comparing the chemical compounds, antimicrobial and antioxidant effects of black and green tea. Methods: Aqueous and methanolic extracts of black and green tea leaves were prepared and the compounds of the methanolic extracts were identified by GC-Mass, antibacterial effects were measured by the disk diffusion method, the minimum inhibitory concentration (MIC) the antioxidant property by the DPPH method. Results and discussion: Caffeine is the main component of green and black tea extracts, and its amount is 82.97 percent and 86.25 percent in these extracts, respectively. The minimum inhibitory concentration of green tea extract against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas syringae* (5mg/L) is significantly three times higher than that of black tea extract (15 mg/L). The inhibitory capacity of green tea extract against *Xanthomonas campestris* and the inhibitory capacity of black tea extract against *Pseudomonas syringae* is significantly higher than the other bacteria. Many of the effects related to green and black tea can be considered related to the relatively high capacity of inhibiting free radicals. The results of this research showed that the free radical and antioxidant capacity of green tea (EC_{50}, 28.875) is significantly one and half times higher than black tea (EC_{50}, 44.222). The inhibitory ability of the extract against plant pathogens is relatively and significantly higher than human pathogens. Different products and perhaps the waste of black tea and green tea can be used to control harmful microorganisms.

Key words: Antibacterial, Antioxidant, Minimum Inhibitory concentration

---

Assistant Professor of Plant Physiology, Department of Biological Science, Faculty of Science, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran
(*Corresponding Author: m.haidarizadeh@uok.ac.ir)
[2]M.Sc in Cellular and Molecular Biology, Department of Biological Science, Faculty of Science, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran
[3] Associated Professor of Microbiology, Department of Biological Science, Faculty of Science, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran