مقایسه فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های استخراجی (آبی، آلی و آنتوسیانین) از بخش‌های مختلف انار(پوست، آب و هسته) بر روی باکتری های پاتوژن سالمونلا تیفی، استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و باسیلوس سرئوس

هدا پارسه[1*]، زهرا امام جمعه[2]، علیرضا شهاب لواسانی[3]

۱- کارشناس ارشد مهندسی علوم و صنایع غذایی، کرج، ایران.

۲- استاد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی دانشگاه تهران، ایران.

۳- استادیار، رشته مهندسی علوم و صنایع غذایی، مرکز تحقیقات فناوری های نوین تولید غذای سالم، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده کشاورزی، ورامین، ایران.

چکیده

امروزه مصرف کنندگان به شدت نگران استفاده از نگهدارنده های شیمیایی درغذاها هستند و گرایش به سمت مصرف محصولات غذایی طبیعی ایمن و با فواید سلامتی زا دارند. انار می تواند چنین نقشی را ایفا کند. در این مطالعه خاصیت ضدمیکروبی عصاره های استخراج شده از بخش های مختلف میوه انار(پوست، آب و هسته) از جمله عصاره های آلی، آبی و آنتوسیانین ها ارزیابی و کمترین غلظت بازدارنده(MIC) و کمترین غلظت کشنده(MBC) بر روی باکتری‌های گرم منفی سالمونلا تیفی و اشرشیاکلی و همچنین باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس با استفاده از روش آزمون حساسیت رقت مایع تعیین گردید. به این ترتیب حداقل غلظت بازدارندگی مربوط به عصاره های آلی و آنتوسیانین پوست بود که در غلظت ppm ۱۲۵ بر روی باکتری سالمونلا تیفی و باسیلوس سرئوس موثر و در غلظتppm ۶۲/۵ بر روی استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی تأثیر بازدارندگی داشتند و همچنین عصاره های آلی و آنتوسیانین پوست در غلظت ppm۱۲۵ بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی و در غلظت ppm۲۵۰ بر روی سالمونلا تیفی و باسیلوس سرئوس تأثیر کشندگی داشتند. سپس عصاره آبی پوست بیشترین تأثیر بازدارندگی و کشندگی را داشت که میزان MIC و MBC آن به ترتیب ppm۲۵۰ و ppm۵۰۰ برای سالمونلا و باسیلوس سرئوس تعیین گردید، همچنین برای اشرشیاکلی هردو ppm۱۲۵ و برای استافیلوکوکوس هر دو ppm۲۵۰ تعیین گردید. عصاره های آب انار نیز در غلظت ppm ۵۰۰ بر روی باکتری‌های سالمونلا تیفی و باسیلوس سرئوس تأثیر بازدارندگی و در غلظت ppm۱۰۰۰ تأثیر کشندگی داشتند و برروی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی این مقادیر به ترتیب ppm۲۵۰ و ppm۵۰۰ تعیین گردید. اما عصاره های هسته در غلظت های مورد آزمون تأثیر بازدارندگی و کشندگی کمتری داشتند. که می‌توان گفت عصاره های پوست و آب انار به علت ترکیبات فنولیک وفعالیت آنتی اکسیدانی بالا، تأثیرات ضدباکتریایی بالایی دارند.

کلید واژگان: MIC، MBC، انار

* مسئول مکاتبات: parseh.h@gmail.com

۱- مقدمه

بسیاری از فراورده‌های غذایی جهت داشتن ماندگاری طولانی، در طی آماده سازی، انبارداری و توزیع نیاز به محافظت از فساد دارند، علیرغم وجود تکنیک‌های بسیار گسترده نگهداری مواد غذایی پاتوژن‌های موجود در مواد غذایی هنوز به عنوان یک مشکل بزرگ در صنعت مواد غذایی محسوب می‌شوند، برخی از این تکنیک‌ها مناسب بوده اما برخی دیگر سبب کاهش تمایل مصرف کننده به استفاده از محصولات و همچنین افزایش مقاومت پاتوژن‌ها در محیط شده است[۱]. از جمله این تکنیک‌ها توسعه داروهای ضد میکروبی می‌باشد که داروهای گیاهی به علت داشتن منشأ طبیعی نسبت به داروهای شیمیایی با ارگانیسم‌های بدن سازگاری بیشتری داشته وعوارض آن‌ها نادر می‌باشد [۲]. امروزه عقیده بر این است که استفاده از عصاره‌ی تام گیاه به جای مواد مؤثره جدا شده از آن به علت اثر سینرژیسم و اثر پوشاننده سمیت بین مواد موجود در گیاه در بسیاری از موارد ارجحیت داشته و اثر درمانی بهتری به دست می‌آید [۳]. میوه‌های دانه‌ای، منابع غنی از ترکیبات زیست فعال مثل ترکیبات پلی فنولی و اسیدهای آلی هستند که فعالیت‌های متنوع بیوشیمیایی را نشان داده‌اند از جمله : آنتی اکسیدانی، ضد پیری، ضد سرطان، ضد التهاب، ضد تصلب شرائین، محافظت قلبی عروقی، فعالیت‌های افزایش دهنده عملکرد اندوتلیال و بازدارنده فعالیت‌های تکثیر سلولی[٤]. انار که در جهان به عنوان بومی ایران شناخته می‌شود منبع مهمی از ترکیبات فعال زیستی می‌باشد و در طول قرن‌های متمادی در طب سنتی مورد اثبات قرار گرفته است [٥]، انار با داشتن ترکیبات پکتین، اسکوربیک اسید، تانن‌ها، آنتوسیانین‌ها و فلاوونوئیدها اثرات آنتی اکسیدانی بالایی را نشان داده است [٦] که این ترکیبات اخیراً به علت اثر ممانعت کنندگی و کشندگی میکروارگانیسم‌های پاتوژن مورد توجه قرار گرفته‌اند. MIC کمترین غلظت از ماده ضد میکروبی است که دارای اثر بازدارندگی بر رشد یک میکروارگانیسم خاص باشد، به این معنی که میکروارگانیسم در محیط حضور دارد اما قادر به تکثیر نیست. کاهش تعداد میکروارگانیسم در این شرایط به علت اثر کشندگی عصاره نبوده بلکه به سبب رسیدن میکروارگانیسم به فاز مرگ است و چون دیگر تکثیر پیدا نمی کند بنابراین تعداد آن کاهش می‌یابد. MBC کمترین غلظت از ماده ضد میکروبی است که سبب مرگ میکروارگانیسم می شود به این ترتیب هیچ میکروارگانیسم زنده ای نباید در محیط حاوی غلظت MBC حضور داشته باشد[۷].

هدف از انجام این پژوهش، ارزیابی خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های استخراج شده از بخش‌های مختلف انار(پوسته، آب و هسته) از جمله عصاره‌های آلی[1]، آبی[2] و آنتوسیانین‌ها و تعیین کمترین غلظت بازدارنده[3] و کمترین غلظت کشنده[4] بر روی باکتری‌های گرم منفی سالمونلا تیفی و اشرشیاکلی و باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس بوده است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

انار مورد استفاده جهت انجام این پژوهش(رقم ملس ساوه)، در آذر ماه ۱۳۹۰ از مرکز تحقیقات کشاورزی و باغبانی شهرستان ساوه تهیه گردید.

سویه های میکروبی اشرشیاکلی (ATCC35218)، باسیلوس سرئوس (ATCC11788) و سالمونلا تیفی (ATCC1609) از سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران به صورت آمپول لیوفیلیزه خریداری گردید. استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC1431) از بخش میکروبیولوژی گروه صنایع غذایی دانشگاه تهران تهیه گردید.

جهت انجام آزمایش‌ها از محیط کشت جامد مولر هینتون آگار و مایع مولر هینتون براث ساخت شرکتMAST انگلستان استفاده شد.

جهت تهیه کشت تازه و فعال سازی سویه های میکروبی از محیط برین‌هارت آگار و نوترینت آگار (ساخت شرکت مرک آلمان) استفاده گردید.

جهت استخراج عصاره‌ها از حلال‌های متانول، آب، استون و

1. Organic extracts
2. Aqueous extracts
3. Minimum Inhibitory Concentration (MIC)
4. Minimum Bactericidal Concentration(MBC)

اسید استیک HPLC Grade (از شرکت مرک آلمان) استفاده شد.

۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱- آماده سازی نمونه‌ها

میوه‌ها ابتدا شسته و تمیز شدند سپس بوسیله چاقوی دستی پوست آنها جدا گردید و با استفاده از آبمیوه‌گیری پرسی آب آن‌ها گرفته شد و هسته‌ها جدا گردیدند. پوست‌ها و هسته‌ها ابتدا در آون ۶۰ درجه سانتی گراد به طور کامل خشک گردیدند و بعد با آسیاب پودر شدند. سپس توسط الک ۱میلی متر صاف شدند.

۲-۲-۲- روش تهیه عصاره‌ها

از پودرهای پوست و هسته و همچنین آب انار به میزان ۲۵ گرم توزین و درون ظرف‌های درب دار شیشه‌ای مات به طور جداگانه ریخته شد و با حلال اختصاصی آن مخلوط گردید، سپس به مدت ۲۴ساعت روی شیکر مغناطیسی قرار گرفت. پس از این مدت توسط سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه و با دور ۵۰۰۰ تفاله و حلال از هم جدا شدند و تفاله مجدد با حلال جدید مخلوط و روی شیکر مغناطیسی به مدت ۲۴ساعت قرار گرفت و پس از این زمان مجدد توسط سانتریفیوژ تفاله و حلال جدا و این حلال با حلال قبلی مخلوط گردید.

استخراج عصاره آبی با استفاده ازحلال آب /متانول به نسبت ۱۵/۸۵ حجمی/حجمی، طبق روش Seeram, Adams and Haraly (2004) انجام شد[۸]. استخراج عصاره آلی با استفاده ازحلال استون / متانول /آب به نسبت ۲۰/۴۰/۴۰ حجمی/حجمی/حجمی، به روش [۹] و استخراج آنتوسیانین‌ها به روش [۱۰] با استفاده از متانول/ آب/ اسید استیک (۸۵/ ۱۴/۵ / ۰/۵ حجمی/حجمی/حجمی) بر هر سه قسمت میوه اعمال شد.

۲-۲-۳- تهیه کشت تازه (در فاز لگاریتمی) از میکروارگانیسم‌ها

هر یک از سویه‌های باکتریایی روز قبل از انجام تست MBC و MIC برروی محیط کشت‌های مذکور کشت سطحی داده شدند، تا میکروارگانیسم‌ها پس از یک شب اینکوباسیون در هنگام تهیه سوسپانسیون میکروبی در فاز لگاریتمی قرار داشته باشند.

۲-۲-۴- تهیه غلظت‌های مختلف عصاره‌ها

غلظت‌های مختلف عصاره ها با امولسیون کردن مقدار معین هر یک از آنها با استفاده از حلال اختصاصی هر یک از آنها انجام گرفت.

۲-۲-۵- تهیه سوسپانسیون ۱مک فارلند

سوسپانسیون استاندارد ۱ مک فارلند با استفاده از اضافه کردن ۰/۱ mL از محلول آبی٪ ۱/۱۷۵ کلرور باریم به طور آهسته و همراه با همزنی مداوم به ۹/۹ mL اسید سولفوریک ٪۱ تهیه گردید [۷].

کدورت ایجاد شده توسط این سوسپانسیون دانسیته سلولی تقریباً معادل با ^{8} ۱۰× ۳ سلول بر میلی لیتر ایجاد می کند، سپس کدورت آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر CECIL 2502-Instruments Cambridge) Serial England No. 125-624) در طول موج ۶۲۵nm اندازه-گیری شد.

۲-۲-۶- تهیه سوسپانسیون میکروبی

یک لوپ پر از هر سویه ی میکروبی تحت شرایط استریل (بین دو شعله وجود) به ۲۵ میلی لیتر محیط کشت مولرهینتون براث جهت تهیه سوسپانسیون غلیظ میکروبی اضافه گردید. سپس تا هنگام برابر شدن دانسیته نوری (OD) آن با محلول ۱ مک فارلند توسط محیط کشت مایع (MHB) رقیق شد. برای به دست آوردن مقدار ^{6}۱۰×۱ میکروارگانیسم بر میلی لیتر تحت شرایط استریل به نسبت ۱:۵۰۰ با محیط کشت مایع MHBمخلوط شد[۱۱].

۲-۲-۷- ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره ها با استفاده از روش آزمایش رقت در محیط مایع

شش سطح غلظت از هر عصاره شامل ppm ۳۱/۲۵، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ تهیه شد، برای انجام آزمایش‌ها از روش آزمون حساسیت رقت مایع استفاده گردید. یک میلی لیتر از مایع تلقیح استاندارد که روش تهیه آن در بخش قبل ذکر شد (حاوی ^{6}۱۰×۱ ریززنده در هر میلی لیتر) به ۶ لوله آزمایش درب دار حاوی حجم برابر(یک میلی لیتر) از رقت‌ها ی تهیه شده از عصاره های گیاهی اضافه گردید. یک لوله آزمایش فاقد ماده ضد میکروبی نیز به عنوان کنترل رشد (کنترل مثبت) در نظر گرفته شد، بنابراین کنترل دارای یک میلی لیتر

سوسپانسیون میکروبی و یک میلی لیتر آب مقطر می باشد. افزودن سوسپانسیون میکروبی به رقت‌های عصاره‌های گیاهی باعث رقیق شدن سوسپانسیون میکروبی و غلظت ماده ضد میکروبی خواهد شد، که این موارد طی آماده سازی نمونه‌ها در نظر گرفته شده است . برای تهیه هر یک از رقت‌های ماده ضد میکروبی نیز یک کنترل منفی حاوی تمامی اجزا به جز سوسپانسیون میکروبی رشد در نظر گرفته شد، پس از انجام این مراحل از لوله کنترل فاقد ماده ضد میکروبی(کنترل) ml ۰/۵ به یک لوله آزمایشی دیگر برده و سپس mL ۰/۵ محیط کشت براث به آن اضافه گردید وml ۰/۰۰۱ از این مخلوط با استفاده از اتوسمپلر فوراً روی سطح پلیت حاوی MHA کشت داده شد تا پس از یک شب گرمخانه گذاری تعداد کلونی‌های رشد کرده شمارش شوند .تعد اد کلونی‌ها ی پدیدار شده باید در حدود ۲۵۰ تا ۳۰۰ عدد باشد [۱۱]. این عملیات برای هر یک ازعصاره‌ها و دو میکروارگانیسم مورد نظر در سه تکرار به طور جداگانه انجام شد. پس از یک شب گرمخانه گذاری در ۳۷ درجه سانتیگراد از هر یک از لوله‌های آزمایش کشت سطحی بر روی محیط کشت جامد مولر هینیتون آگار انجام گرفت و سپس پلیت‌ها جهت مشاهده رشد یا عدم رشد میکروراگانیسم‌ها یک شب گرمخانه گذاری شدند [۱۱].

۲-۲-۸- تعیین غلظت کلی مواد فنولی به روش فولین – سیوکالتو

میزان پلی فنول های کل بر اساس روش فولین – سیوکالتو اندازه گیری شد. ابتدا ۰/۱ میلی لیتر از نمونه ۱۰ برابر رقیق شده را در بالن حجمی ۱۰ میلی لیتر ریخته شد و مقدار ٦ میلی لیتر آب به آن اضافه و سپس ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین- سیوکالتو به آن افزوده و هم زده، به مدت ٤ دقیقه در دمای اتاق نگهداری می کنیم. سپس ۱/۵ میلی لیتر کربنات سدیم ۲۰ درصد افزوده و مخلوط کرده و با آب مقطر به حجم رسانده شد. پس از مدت زمان ۲ ساعت میزان جذب نمونه ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷٦۵ نانومتر در مقابل شاهد خوانده شد.

۲-۲-۹- تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH (۲-۲ دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل):

توکوفرول استاندارد و نمونه با محلول ۲-۲ دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل در متانول/آب برای یک ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد در یک بشر قرار داده شدند تا با هم واکنش بدهند. سپس جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه گیری شد.

مقدار نمونه مورد نیاز برای واکنش با نیمی از محلول ۲-۲ دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل بر حسب مقدار نسبی توکوفرول واکنش داده بیان می شود. فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه بر حسب میکرومول اکی والانت توکوفرول واکنش داده بیان می شود. فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه بر حسب میکرومول اکی والانت توکوفرول (TE) در ۱۰۰ گرم نمونه بیان می شود [۱۲].

۳- نتایج و بحث

نتایج آزمایش ترکیبات فنولی کل همانطور که در جدول ۱ ارائه شده است، میانگین اعداد محاسبه شده در سه تکرار است که نشان می دهد بالاترین میزان ترکیبات فنولی مربوط به عصاره ی آلی پوست است که میزان آن برابر با ۵۹۱/۱۱ می باشد. پس از عصاره ی آلی پوست بالاترین میزان ترکیبات فنولی مربوط به عصاره ی آنتوسیانین پوست با میزان ۵۷۱/۷۱ می باشد. کمترین میزان ترکیبات فنولیک هم مربوط به عصاره ی آنتوسیانین هسته می باشد که میزان آن ٤۱/٤ محاسبه گردیده است. عصاره های پوست نسبت به عصاره ی بخش های دیگر انار میزان ترکیبات فنولی بیشتری داشتند و بین بخش های مختلف انار تفاوت معنی دار وجود دارد($p<۰/۰۵$)، همچنین عصاره ها نیز با یکدیگر تفاوت معنی دار دارند($p<۰/۰۵$). پس از پوست، آب انار بالاترین میزان ترکیبات فنولی را داشت و کمترین میزان مربوط به هسته بود. در بین عصاره ها نیز، عصاره ی آلی بالاترین میزان ترکیبات فنولی و سپس عصاره آنتوسیانین بیشترین میزان را داشت و عصاره ی آبی کمترین میزان ترکیبات فنولی را دارا بود. ترکیبات فنولی عصاره ها بر حسب میزان به ترتیب به صورت زیر می باشد:

۱- عصاره آلی پوست، ۲- عصاره ی آنتوسیانین پوست، ۳- عصاره ی آبی پوست، ٤- عصاره آلی آب انار، ۵- عصاره ی آلی هسته، ٦- عصاره ی آنتوسیانین آب انار، ۷- عصاره ی آبی آب انار، ۸- عصاره ی آبی هسته، ۹- عصاره ی آنتوسیانین هسته(جدول۱).

Table 1 Total phenolic compounds, Total anthocyanin and anti-oxidant activities of different parts of pomegranate

Group	A	B	C	D	E	F	G	H	I
total phenolic compounds Mean ± Sd	551.07 ± 27.581	591.11 ± 17.684	571.71 ± 31.3	63.577 ± 2.750	72.063 ± 4.29	65.623 ± 5.27	56.923 ± 5.64	70.884 ± 8.153	41.4 ± 1.623
Total Anthocyanin Mean ± Sd	105.2 ± 14.796	236.01± 75.202	184.8 ± 144.82	645.69 ± 119.64	612.85 ± 22.525	669.06 ± 6.919	8.349 ± 2.727	56.776 ± 5.453	28.388± 13.634
DPPH usage Mean ± Sd	0.0049 ± 0.0015	0.003 ± 0.0007	0.0034 ± 0.0008	0.502 ± 0127	0.390 ± 0.085	0.352 ± 0.102	1.155 ± 0.255	0.199 ± 0.126	0.664 ± 0.089

A: aqueous extract of pomegranate peel; B: organic extract of pomegranate peel; C: anthocyanin extract of pomegranate peel
D: aqueous extract of pomegranate juice; E: organic extract of pomegranate juice; F: anthocyanin extract of pomegranate juice; G: aqueous extract of pomegranate seed; H: organic extract of pomegranate seed; I: anthocyanin extract of pomegranate seed
Sd: Standard deviation

نتایج آزمون تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی که در جدول ۱ ارائه گردیده، میانگین اعداد به دست آمده از سه تکرار است که بر اساس مصرف DPPH می باشد، به طوری که هرچه مصرف DPPH کمتر باشد فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتر می باشد. طبق نتایج تعیین شده کمترین مصرف DPPH مربوط به عصاره های پوست می باشد که به ترتیب عصاره های آلی، آنتوسیانین و آلی می باشد که نشان می دهد این سه عصاره به ترتیب بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی را در بین تمامی عصاره ها دارند. پس از عصاره های پوست، کمترین میزان مصرف DPPH مربوط به عصاره های آب انار می باشد که ابتدا عصاره ی آنتوسیانین، سپس عصاره ی آلی و بعد عصاره ی آبی بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی را نشان دادند. پس از عصاره های آب انار، عصاره های هسته کمترین فعالیت آنتی اکسیدانی را داشتند که البته عصاره ی آلی هسته فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی را نسبت به دوتای دیگر نشان داد و کمترین فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به عصاره ی آبی هسته بود. در کل نتایج نشان داد که از لحاظ فعالیت آنتی اکسیدانی، بین عصاره های پوست، آب و هسته تفاوت معنی داری وجود دارد($p<۰/۰۵$) و عصاره های پوست قدرت آنتی اکسیدانی بسیار بیشتری نسبت به دو بخش دیگر دارند. همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های مختلف هر بخش تفاوت معنی داری با هم دارند($p<۰/۰۵$). در بین عصاره های پوست و هسته، عصاره ی آلی بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی را نشان داد و در بین عصاره های آب انار، عصاره ی آنتوسیانین بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی را داشت. در کل ترتیب قدرت فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها به ترتیب به صورت زیر می باشد:

۱- عصاره ی آلی پوست، ۲- عصاره ی آنتو سیانین پوست، ۳- عصاره ی آبی پوست، ٤- عصاره ی آلی هسته، ٥- عصاره ی آنتوسیانین آب انار، ٦- عصاره ی آلی آب انار، ۷- عصاره ی آبی آب انار، ۸- عصاره آنتوسیانین هسته، ۹- عصاره ی آبی هسته (جدول۲).

در این مطالعه MIC و MBC عصاره‌های استخراجی از بخش‌های مختلف انار بر روی میکروارگانیسم های سالمونلا تیفی، استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و باسیلوس سرئوس با انجام آزمون حساسیت رقت‌های مایع در ۳ تکرار تعیین گردید که میانگین نتایج ۳ تکرار به ترتیب زیر گزارش می‌گردد.

Table 2 The results of the antimicrobial effect of extracts of peel on salmonella tiphy

	Dilutions of extracts of the peel in ppm					
	31.25	62.5	125	250	500	1000
organic extract	+	+	20	-	-	-
anthocyanin extract	+	+	8	-	-	-
aqueous extract	++	++	+	19	-	-

++ shows the high growth of microorganisms, + low growth of microorganisms, and - lack of growth

سطح غلظت مورد آزمون نشان داد که عصاره‌های آلی و آنتوسیانین بر روی باکتری سالمونلا تیفی در غلظت ۱۲۵، کلنی‌های رشد یافته درون پلیت‌ها به ترتیب ۲۰ و ۸ عدد بود که تأثیر بازدارندگی این عصاره‌ها را در برابر باکتری مورد آزمون نشان می‌دهد و این غلظت به عنوان MIC معرفی می‌گردد و همچنین از غلظت ۱۰۰۰ تا ۲۵۰ هیچگونه رشدی از باکتری مشاهده نگردید و حداقل غلظت کشندگی یعنی ۲۵۰ به عنوان MBC معرفی می‌گردد، به همین ترتیب طبق نتایج حداقل غلظت بازدارندگی برای عصاره آبی غلظت ۲۵۰ و حداقل غلظت کشندگی آن ۵۰۰ می‌باشد. همانطور که نتایج نشان می‌دهد هر سه نوع عصاره پوست دارای تأثیر بازدارندگی و کشندگی روی باکتری مورد آزمون می‌باشند و عصاره‌های آلی و آنتوسیانین دارای تأثیر بازدارندگی و کشندگی بالاتری نسبت به عصاره آبی پوست می‌باشند. (جدول ۲).

نتایج آزمایشات انجام شده بر روی عصاره‌های آب انار در شش سطح غلظت مورد آزمون نشان داد که عصاره‌های آلی و آنتوسیانین و آبی آب انار بر روی باکتری سالمونلا تیفی در غلظت ppm ۵۰۰، کلنی‌های رشد یافته درون پلیت‌ها به ترتیب ۲۷ و ۳۰ و ٤۲ عدد بود که تأثیر بازدارندگی این عصاره‌ها را در برابر باکتری مورد آزمون نشان می‌دهد و این غلظت به عنوان MIC معرفی می‌گردد و همچنین در غلظت ppm ۱۰۰۰ هیچگونه رشدی از باکتری درون پلیت‌ها مشاهده نگردید و این غلظت به عنوان حداقل غلظت کشندگی یا MBC معرفی می‌گردد. همانطور که نتایج نشان می‌دهد هر سه نوع عصاره آب انار دارای تأثیر بازدارندگی و کشندگی روی باکتری مورد آزمون می‌باشند و به ترتیب عصاره‌ی آلی، آنتوسیانین و آبی آب انار مؤثر بودند. (جدول۳)

نتایج آزمایشات صورت گرفته بر روی عصاره‌های استخراجی از هسته انار نشان داد که هر سه نوع عصاره آلی، آنتوسیانین و آبی هسته هیچ گونه تأثیر بازدارندگی و کشندگی در غلظت‌های مورد بررسی بر روی سالمونلا تیفی نشان ندادند که این نتایج به علت میزان پایین تر ترکیبات فنولی هسته نسبت به سایر بخش‌های انار می‌باشد(جدول٤).

Table 3 The results of the antimicrobial effect of extracts of juice on salmonella tiphy

	Dilutions of extracts of the juice in ppm					
	31.25	62.5	125	250	500	1000
organic extract	++	++	+	+	27	-
anthocyanin extract	++	++	+	+	30	-
aqueous extract	++	++	+	+	42	-

++ shows the high growth of microorganisms, + low growth of microorganisms, and - lack of growth

Table 4 The results of the antimicrobial effect of extracts of seed on salmonella tiphy

	Dilutions of extracts of the seed in ppm					
	31.25	62.5	125	250	500	1000
organic extract	++	++	++	+	+	+
anthocyanin extract	++	++	++	+	+	+
aqueous extract	++	++	++	+	+	+

++ shows the high growth of microorganisms, + low growth of microorganisms, and - lack of growth

نتایج آزمایشات انجام شده بر روی عصاره‌های پوست انار در شش سطح غلظت مورد آزمون نشان داد که عصاره‌های آلی و آنتوسیانین بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در غلظت ٦۲/۵، کلنی‌های رشد یافته درون پلیت‌ها به ترتیب ۹ و ٤ عدد بود که تأثیر بازدارندگی این عصاره‌ها را در برابر باکتری مورد آزمون نشان می‌دهد و این غلظت به عنوان MIC معرفی می‌گردد و همچنین از غلظت ۱۰۰۰ تا ۱۲۵ هیچگونه رشدی از باکتری مشاهده نگردید و حداقل غلظت کشندگی یعنی ۱۲۵ به عنوان MBC معرفی می‌گردد، به همین ترتیب طبق نتایج حداقل غلظت بازدارندگی برای عصاره آبی غلظت ۲۵۰ و حداقل غلظت کشندگی آن نیز۲۵۰ می‌باشد. همانطور که نتایج نشان می‌دهد هر سه نوع عصاره پوست دارای تأثیر بازدارندگی

و کشندگی روی باکتری مورد آزمون می‌باشند و عصاره‌های آلی و آنتوسیانین دارای تأثیر بازدارندگی و کشندگی بالاتری نسبت به عصاره آبی پوست می‌باشند. (جدول۵).

Table 5 The results of the antimicrobial effect of extracts of peel on staphylococcus aureus

	Dilutions of extracts of the peel in ppm					
	31.25	62.5	125	250	500	1000
organic extract	+	9	-	-	-	-
anthocyanin extract	+	4	-	-	-	-
aqueous extract	++	++	+	-	-	-

++ shows the high growth of microorganisms, + low growth of microorganisms, and - lack of growth

نتایج آزمایشات انجام شده بر روی عصاره‌های آب انار در شش سطح غلظت مورد آزمون نشان داد که عصاره‌های آلی و آنتوسیانین و آبی آب انار بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در غلظتppm ۲۵۰، کلنی‌های رشد یافته درون پلیت‌ها به ترتیب ۱۰ و ۱۲ و ۳۲ عدد بود که تأثیر بازدارندگی این عصاره‌ها را در برابر باکتری مورد آزمون نشان می‌دهد و این غلظت به عنوان MIC معرفی می‌گردد و همچنین در غلظتppm ۵۰۰ هیچگونه رشدی از باکتری درون پلیت‌ها مشاهده نگردید و این غلظت به عنوان حداقل غلظت کشندگی یا MBC معرفی می‌گردد. همانطور که نتایج نشان می‌دهد هر سه نوع عصاره آب انار دارای تأثیر بازدارندگی و کشندگی روی باکتری مورد آزمون می‌باشند و به ترتیب عصاره‌ی آلی، آنتوسیانین و آبی آب انار مؤثر بودند. (جدول۶)

نتایج آزمایشات انجام شده بر روی عصاره‌های هسته انار در شش سطح غلظت مورد آزمون نشان داد که عصاره‌های آلی و آنتوسیانین و آبی هسته انار بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در غلظتppm ۵۰۰، کلنی‌های رشد یافته درون پلیت‌ها به ترتیب ۱۳ و ۱۵ و ۳۲ عدد بود که تأثیر بازدارندگی این عصاره‌ها را در برابر باکتری مورد آزمون نشان می‌دهد و این غلظت به عنوان MIC معرفی می‌گردد و همچنین در غلظتppm ۱۰۰۰ هیچگونه رشدی از باکتری درون پلیت‌ها مشاهده نگردید و این غلظت به عنوان حداقل غلظت کشندگی یا MBC معرفی می‌گردد. همانطور که نتایج نشان می‌دهد هر سه نوع عصاره هسته انار دارای تأثیر بازدارندگی و کشندگی روی باکتری مورد آزمون می‌باشند و به ترتیب عصاره‌ی آلی، آنتوسیانین و آبی هسته انار مؤثر بودند (جدول۷).

1**Table 6** The results of the antimicrobial effect of extracts of juice on staphylococcus aureus

	Dilutions of extracts of the juice in ppm					
	31.25	62.5	125	250	500	1000
organic extract	++	++	+	10	-	-
anthocyanin extract	++	++	+	12	-	-
aqueous extract	++	++	+	32	-	-

++ shows the high growth of microorganisms, + low growth of microorganisms, and - lack of growth

Table 7 The results of the antimicrobial effect of extracts of seed on staphylococcus aureus

	Dilutions of extracts of the seed in ppm					
	31.25	62.5	125	250	500	1000
organic extract	++	++	++	+	13	-
anthocyanin extract	++	++	++	+	15	-
aqueous extract	++	++	++	+	32	-

++ shows the high growth of microorganisms, + low growth of microorganisms, and - lack of growt

نتایج آزمایشات انجام شده بر روی عصاره‌های پوست انار در شش سطح غلظت مورد آزمون نشان داد که عصاره‌های آلی و آنتوسیانین بر روی باکتری باسیلوس سرئوس در غلظت ۱۲۵، کلنی‌های رشد یافته درون پلیت‌ها به ترتیب ۱۰ و ۵ عدد بود

که تأثیر بازدارندگی این عصاره‌ها را در برابر باکتری مورد آزمون نشان می‌دهد و این غلظت به عنوان MIC معرفی می‌گردد و همچنین از غلظت ۱۰۰۰ تا ۲۵۰ هیچگونه رشدی از باکتری مشاهده نگردید و حداقل غلظت کشندگی یعنی ۲۵۰ به عنوان MBC معرفی می‌گردد، به همین ترتیب طبق نتایج حداقل غلظت بازدارندگی برای عصاره آبی غلظت ۲۵۰ و حداقل غلظت کشندگی آن ۵۰۰ می‌باشد. همانطور که نتایج نشان می‌دهد هر سه نوع عصاره پوست دارای تأثیر بازدارندگی و کشندگی روی باکتری مورد آزمون می‌باشند و عصاره‌های آلی و آنتوسیانین دارای تأثیر بازدارندگی و کشندگی بالاتری نسبت به عصاره آبی پوست می‌باشند(جدول۸).

Table 8 The results of the antimicrobial effect of extracts of peel on Bacillus cerous

	Dilutions of extracts of the peel in ppm					
	31.25	62.5	125	250	500	1000
organic extract	++	+	10	-	-	-
anthocyanin extract	+	+	5	-	-	-
aqueous extract	++	++	+	12	-	-

++ shows the high growth of microorganisms, + low growth of microorganisms, and - lack of growth

نتایج آزمایشات انجام شده بر روی عصاره‌های آب انار در شش سطح غلظت مورد آزمون نشان داد که عصاره‌های آلی و آنتوسیانین آب انار بر روی باکتری باسیلوس سرئوس در غلظتppm ۵۰۰، کلنی‌های رشد یافته درون پلیت‌ها به ترتیب ۱٤ و ۱۷ عدد بود که تأثیر بازدارندگی این عصاره‌ها را در برابر باکتری مورد آزمون نشان می‌دهد و این غلظت به عنوان MIC معرفی می‌گردد و همچنین در غلظتppm ۱۰۰۰ هیچگونه رشدی از باکتری درون پلیت‌ها مشاهده نگردید و این غلظت به عنوان حداقل غلظت کشندگی یا MBC معرفی می‌گردد. اما عصاره آبی نسبت به دوعصاره دیگر تأثیر بازدارندگی و کشندگی بیشتری داشت که به ترتیب ppm۲۵۰ و ppm۵۰۰ تعیین گردید. همانطور که نتایج نشان می‌دهد هر سه نوع عصاره آب انار دارای تأثیر بازدارندگی و کشندگی روی باکتری مورد آزمون می‌باشند و به ترتیب عصاره‌ی آلی، آنتوسیانین و آبی آب انار مؤثر بودند(جدول۹).

Table 9 The results of the antimicrobial effect of extracts of juice on Bacillus cerous

	Dilutions of extracts of the juice in ppm					
	31.25	62.5	125	250	500	1000
organic extract	++	++	++	+	14	-
anthocyanin extract	++	++	+	+	17	-
aqueous extract	++	++	++	23	-	-

++ shows the high growth of microorganisms, + low growth of microorganisms, and - lack of growth

نتایج آزمایشات صورت گرفته بر روی عصاره‌های استخراجی از هسته انار نشان داد که هر سه نوع عصاره آلی، آنتوسیانین و آبی هسته تأثیر کشندگی در غلظت‌های مورد بررسی بر روی باسیلوس سرئوس نشان ندادند اما در غلظت ppm ۱۰۰۰تاثیر بازدارندگی داشتند. که این نتایج به علت میزان پایین تر ترکیبات فنولی هسته نسبت به سایر بخش‌های انار می‌باشد (جدول۱۰).

Table 10 The results of the antimicrobial effect of extracts of seed on Bacillus cerous

	Dilutions of extracts of the seed in ppm					
	31.25	62.5	125	250	500	1000
organic extract	++	++	++	+	+	5
anthocyanin extract	++	++	++	+	+	9
aqueous extract	++	++	++	+	+	23

++ shows the high growth of microorganisms, + low growth of microorganisms, and - lack of growth

نتایج آزمایشات انجام شده بر روی عصاره‌های پوست انار در شش سطح غلظت مورد آزمون نشان داد که عصاره‌های آلی و آنتوسیانین بر روی باکتری اشرشیاکلی در غلظت ٦٢/٥، کلنی‌های رشد یافته درون پلیت‌ها به ترتیب ۱۰ و ٤ عدد بود که تأثیر بازدارندگی این عصاره‌ها را در برابر باکتری مورد آزمون نشان می‌دهد و این غلظت به عنوان MIC معرفی می‌گردد و همچنین از غلظت ۱۰۰۰ تا ۱۲۵ هیچگونه رشدی از باکتری مشاهده نگردید و حداقل غلظت کشندگی یعنی ۱۲۵ به عنوان MBC معرفی می‌گردد، به همین ترتیب طبق نتایج حداقل غلظت بازدارندگی برای عصاره آبی غلظت ۱۲۵ و حداقل غلظت کشندگی آن نیز ۱۲۵ می‌باشد. همانطور که نتایج نشان می‌دهد هر سه نوع عصاره پوست دارای تأثیر بازدارندگی و کشندگی روی باکتری مورد آزمون می‌باشند و عصاره‌های آلی و آنتوسیانین دارای تأثیر بازدارندگی و کشندگی بالاتری نسبت به عصاره آبی پوست می‌باشند(جدول۱۱).

Table 11 The results of the antimicrobial effect of extracts of peel on Escherichia coli

	Dilutions of extracts of the peel in ppm					
	31.25	62.5	125	250	500	1000
organic extract	+	10	-	-	-	-
anthocyanin extract	+	4	-	-	-	-
aqueous extract	++	+	-	-	-	-

++ shows the high growth of microorganisms, + low growth of microorganisms, and - lack of growth

نتایج آزمایشات انجام شده بر روی عصاره‌های آب انار در شش سطح غلظت مورد آزمون نشان داد که عصاره‌های آلی و آنتوسیانین و آبی آب انار بر روی باکتری اشرشیاکلی در غلظتppm ۲۵۰، کلنی‌های رشد یافته درون پلیت‌ها به ترتیب ۱۰ و ۱۲ و ۳۸ عدد بود که تأثیر بازدارندگی این عصاره‌ها را در برابر باکتری مورد آزمون نشان می‌دهد و این غلظت به عنوان MIC معرفی می‌گردد و همچنین در غلظتppm ۵۰۰ هیچگونه رشدی از باکتری درون پلیت‌ها مشاهده نگردید و این غلظت به عنوان حداقل غلظت کشندگی یا MBC معرفی می‌گردد. همانطور که نتایج نشان می‌دهد هر سه نوع عصاره آب انار دارای تأثیر بازدارندگی و کشندگی روی باکتری مورد آزمون می‌باشند و به ترتیب عصاره‌ی آلی، آنتوسیانین و آبی آب انار مؤثر بودند(جدول۱۲).

Table 12 The results of the antimicrobial effect of extracts of juice on Escherichia coli

	Dilutions of extracts of the juice in ppm					
	31.25	62.5	125	250	500	1000
organic extract	++	++	+	10	-	-
anthocyanin extract	++	++	+	12	-	-
aqueous extract	++	++	+	38	-	-

++ shows the high growth of microorganisms, + low growth of microorganisms, and - lack of growth

نتایج آزمایشات انجام شده بر روی عصاره‌های هسته انار در شش سطح غلظت مورد آزمون نشان داد که عصاره‌های آلی و آنتوسیانین و آبی هسته انار بر روی باکتری اشرشیاکلی در غلظتppm ۱۰۰۰، کلنی‌های رشد یافته درون پلیت‌ها به ترتیب ۱۰ و ۱۱ و ۲٦ عدد بود که تأثیر بازدارندگی این عصاره‌ها را در برابر باکتری مورد آزمون نشان می‌دهد و این غلظت به عنوان MIC معرفی می‌گردد اما در غلظت های مورد آزمون تأثیر کشندگی نداشتند. همانطور که نتایج نشان می‌دهد هرسه نوع عصاره هسته انار دارای تأثیر بازدارندگی روی باکتری مورد آزمون می‌باشند و به ترتیب عصاره‌ی آلی، آنتوسیانین و آبی هسته انار مؤثر بودند(جدول۱۳).

Table 13 The results of the antimicrobial effect of extracts of seed on Escherichia coli

	Dilutions of extracts of the seed in ppm					
	31.25	62.5	125	250	500	1000
organic extract	++	++	++	+	+	10
anthocyanin extract	++	++	++	+	+	11
aqueous extract	++	++	++	+	+	26

++ shows the high growth of microorganisms, + low growth of microorganisms, and - lack of growth

در مطالعات پیشین گزارش شده است که غلظت‌های مختلف عصاره پوست انار در برابر گونه‌های مختلف باکتری‌ها همانند *S. aureus*، *E. coli*، *Salmonella enterica*، *Shigella sonnei* و *Enterococcus faecalis* و *Bacillus subtilis* موثر است[۱۳].

Coteet et al. (2011) تأثیر ضد باکتریایی عصاره‌های آبی، آلی و آنتوسیانین زغال اخته را روی ۷ باکتری گرم مثبت و گرم منفی پاتوژن بررسی نمودند و نتایج نشان داد که عصاره‌های آلی و آنتوسیانین حاوی میزان بالای ترکیبات فنولی و آنتوسیانین بودند و فعالیت ضد باکتریایی بالاتری هم نسبت به عصاره‌ی آبی نشان دادند[١٤].

Dahham et al. (2010) فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌های آبی و متانولی بخش‌های مختلف انار را روی ۷ عدد باکتری گرم مثبت و گرم منفی با روش دیسک دیفیوژن بررسی نمودند و به این نتایج رسیدند: عصاره‌های متانولی فعالیت بسیار بالاتری نسبت به عصاره‌ی آبی داشتند، عصاره‌ی آلی پوست روی همه‌ی باکتری‌ها تأثیر بازدارندگی نشان داد و عصاره‌های پوست تأثیر ضدباکتریایی بسیار بالاتری نسبت به عصاره‌های آب و هسته داشتند و باکتری‌های گرم مثبت به خصوص استافیلوکوکوس اورئوس حساسیت بیشتر ی نسبت به باکتری‌های گرم منفی نشان دادند[١٥].

zoreky در سال ۲۰۰۹ فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌ی متانولی پوست انار را روی ٤ باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سوبتیلیس، اشرشیاکلی و سالمونلا انتریت بررسی نمود و میزان MIC را در رنج ۰/۵ الی ٤ (mg/mL) گزارش نمود که بیشترین عدد یعنی ٤ متعلق به سالمونلا بود که مقاومت بیشتر این باکتری را در مقابل عصاره نسبت به بقیه باکتری‌ها نشان می‌دهد و حساس ترین باکتری باسیلوس سوبتیلیس گزارش گردید[١٦].

Lee et al. (2003) فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های آبی و الکلی (متانول) انواعی از گیاهان دارویی را بر روی سالمونلا بررسی نمودند. در این تحقیق عصاره‌های ۱۲ گونه گیاهی دارویی در مقابل ۱۳ گونه سالمونلا از ٦ سروتیت مختلف آزمایش شد. همه گونه‌ها به وسیله‌ی عصاره‌های گیاهی تاثیر بودند اما عصاره‌های الکلی اثر قوی تری داشتند. MIC به دست آمده برای گونه‌های مختلف سالمونلا از ١٥/٦ تا ١٢٥µg/ml متغیر بود[١٧].

Algurairy et al. (2018) تاثیر عصاره الکلی (اتانول) پوست انار روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس را بررسی کردند. نتایج نشان دهنده فعالیت ضد میکروبی عصاره پوست انار بود. این خاصیت آنتی بیوتیکی با آنتی بیوتیک‌های تجاری همانند کلیندامایسین، کلرامفنیکل، جنتامایسین و وانکومایسین قابل مقایسه بود[١٨].

Rahul & Chaudhary (2017) فعالیت ضدباکتریایی عصاره متانولی، اتانولی و بنزنی پوست انار را علیه شش باکتری گرم منفی بیمارگر انسان (*Pseudomonas fluorescens*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Shigellaflexneri*، *Klebsiella pneumoniae*، *Salmonella typhi* و *Bacillus subtilis*) بررسی کردند. تمام عصاره‌ها درجاتی از موثر بودن را نشان دادند با این حال عصاره متانولی حداکثر ممانعت از رشد (۸۵/۷۱ درصد) باکتری *Klebsiella pneumoniae* در غلظت ۱۰۰ µl/ml عصاره را نشان داد[١٩].

Abdulbary (2017) طی یک مطالعه اثر آنتی میکروبی عصاره‌های الکلی و آبی پوست انار را روی استافیلوکوکوس اورئوس جداسازی شده از مو گزارش کردند[٢٠].

در سال ٢٠١٤ فعالیت ضدباکتریایی غلظت‌های مختلف عصاره پوست انار، عصاره دانه‌های انار و ترکیب عصاره پوست و دانه‌های انار روی دو باکتری *Streptococcus mutans* و *Lactobacillus acidophilus* در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. نتایج نشان داد که عصاره پوست انار برخلاف دانه‌های انار دارای اثر بازدارندگی از رشد باکتری‌های مورد مطالعه است. ترکیب عصاره‌های پوست انار و دانه‌های انار دارای تاثیر بازدارندگی بیشتری روی *L. acidophilus* بود. در مقابل بیشترین بازدارندگی از رشد *S. mutans* توسط عصاره خالص پوست انار به دست آمد[٢١].

Yehia et al. (2011) فعالیت ضد میکروبی ترکیب عصاره پوست انار با نمک‌های فلزی و ویتامن C را بررسی کردند. ترکیبات مختلف فعالیت ضد میکروبی متفاوتی را در برابر باکتری‌های مختلف داشتند. به عنوان مثال ترکیب عصاره پوست انار با نمک فلزی ZnSO4 فعالیت آنتی میکروبی بیشتری در برابر *Bacillus subtilis*، *Staphylococcus spp.* و *Brucella spp.* نشان داد. ترکیب عصاره پوست انار با ویتامین C بازدارندگی از رشد بیشتری در برابر *E. coli* و

B. indicus نسبت به سایر ترکیبات از خود نشان داد[۲۲].

در سال ۲۰۱۷ فعالیت آنتی میکروبی عصاره پوست انار و آب انار در برابر *Streptococcus mutans* و *Rothia dentocariosa* بررسی شد. عصاره پوست به طور موثری رشد و بقای هر دو باکتری را کاهش داد. عصاره آب انار نیز به ترتیب بازدارندگی زیاد و متوسط در برابر *S. mutans* و *R. dentocariosa* نشان داد[۲۳].

همانطور که نتایج نشان می‌دهد عصاره‌های استخراج شده از پوست انار نسبت به آب و هسته دارای خاصیت ضدمیکروبی بسیار خوبی می‌باشد که می‌توان این موضوع را به میزان ترکیبات فنولی ربط داد و مشخص گردید که به طور کلی ارتباط مستقیمی بین ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی و خاصیت ضد میکروبی وجود دارد [۲٤].

در کل نتایج نشان داده که استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به سه میکروارگانیسم پاتوژن غذایی دیگر یعنی سالمونلا تیفی، اشرشیاکلی O175:H7 و باسیلوس سرئوس، به عصاره های مورد استفاده در این پژوهش بسیار حساس تر است و همچنین نتایج نشان داد که سالمونلا تیفی مقاومترین میکروب در این آزمون بود. استافیلوکوکوس و باسیلوس باکتری های گرم مثبت هستند حال آن که سالمونلا و اشرشیاکلی از دسته‌ی باکتری های گرم منفی می باشند. به نظر می رسد که علت مقاومت بیشتر باکتری های گرم منفی به روغن های اساسی گیاهی احتمالاً پیچیدگی بیشتر غشای مضاعف سلولی این ارگانیسم ها در مقایسه با غشای یگانه گلیکوپروتئینی/ تکوئیک اسید باکتری های گرم مثبت باشد. همچنین به نظر می رسد مقاومت سلول های میکروبی وابسته به سرعت و میزان انحلال (حل شدن) مواد ضد میکروبی در بخش لیپیدی غشای سلولی باشد. اگرچه این مسئله نمی تواند توضیح کاملی برای شرح اختلاف در حساسیت باکتری های گرم مثبت و منفی باشد به همین علت اختلاف در هیدروفوبیسیتی سطح غشای سلول نیز بعنوان یک عامل مؤثر پیشنهاد شده است[۲۵]. به طور کلی بین بخش های مختلف انار (پوست، آب و هسته) تفاوت معنی دار وجود دارد($p<۰/۰۵$). بین نوع عصاره ها (آلی، آنتوسیانین و آبی) تفاوت معنی دار وجود دارد($p<۰/۰۵$) و همچنین بین اثرات متقابل آنها نیز تفاوت معنی دار می باشد($p<۰/۰۵$).

٤- منابع

[1] Brul, S. and Coote, P. (1999). Preservative agents in foods: Mode of action and microbial resistance mechanisms. International Journal of Food Microbioliogy. 50: 1-17.

[2] Davidson, P.M. (1997). Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. In: Doyle M.P., Beuchat L.R., Montville T.J. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. American Society for Microbiology. pp: 520-556.

[3] Mousavi, M.H., Akhondzadeh-Basti, A., Misaghi, A., Zahraei Salehi, T., Abbasifar, R., Ebrahimzadeh Mousavi, H.A., Alipour, M., Emami Razavi, N., Gandomi, H. and Noori, N. (2008). Effect of Zatariamultiflora Boiss. Essential oil and nisin on Salmonellatyphimurium and Staphylococcus aureus in a food model system and on the bacterial cell membranes. Food Research International. 41:1050–1057.

[4] Han, X., Shen, T. and Lou, H. (2007). Dietary polyphenols and their biological significance. International Journal of Molecular Science. 8:950-988.

[5] Martos, M.V., López, J.F., Álvarez, J.A.P. (2010). Pomegranate and its many functional components as related to human health: a review. Comprehens Rev Food Sci Food Safety; 9(6): 635-54.

[6] Aviram, M., Dornfeld, L., Rosenblat, M., Volkova, N., Kaplan, M., Coleman, R., et al. (2000). Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modification to LDL and platelet aggregation: studies in human and in atherosclerotic apolipoprotein deficient mice. Am J Clin Nutr; 71: 1062-76.

[7] Aussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., and Lacroix, M. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E. coli O157:H7, Salmonella Typhimurium, staphylococcus oureus and Listeria monocyto genes. J. Food Control, 18(5): 414-420.

[8] Seeram, N. P., Adams, L. S., Hardy, M. L. and Heber, D. (2004). Total cranberry extract versus its phytochemical constituents: antiproliferative and synergistic effects against human tumor cell linnes. Journal of Agricultural and food chemistry. 52:2512-2517.

[9] Neto, C. C., Krueger, C. G., Lamoureaux, T. L., Kondo, M., Vaisberg, A. J., Hurta, R. A R. (2006). mALDI-TOF MS characterization of proanthocyanidins from cranberry fruit (Vaccinium macrocarpon) that inhibit tumor cell growth and matrix metalloproteinase expression in vitro. journal of the Science of Food Agriculture. 86:18-25.

[10] Wu, X., Beecher, G. R., Holden, J. M., Haytowitz, D. B., Gebhardt, S. E. and Prior, R. L. (2006). concentrations of anthocyanins in common foods in the US and estimation of normal consumption. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 54:4069-4075.

[11] Barnon, E.J., Fineg Old, S.M. (1990). Method for Testing Antimicrobial Effectiveness. In: Diagnostic Microbiology, 8 th ed. The Mosby Company. pp, 172-184.

[12] Mousavinejad G., Emam-djomeh, Z., Rezaei, K. and Haddad Khodaparast, M. H. 2009. identification and quantification of phenolic compounds and their effecte on antioxidant activity in pomegranate juices of eight Iranian cultivars . Food Chem. 115:1274-1278.

[13] Rosas-Burgos, E.C., Burgos-Hernandez, A., Noguera-Artiaga, L., Kačániová, M., Hernández-García, F., Cárdenas-López, J.L., Carbonell-Barrachina, Á.A. (2017). Antimicrobial activity of pomegranate peel extracts as affected by cultivar. Journal of the Science of Food and Agriculture, 97 (3): 802–810.

[14] Cote, J., Caillet, S., Dussault, D., Sylvain, J. F. and Lacroix, M. (2011). Effect of juice processing on cranberry antibacterial properties. Food Research International.

[15] Dahham, S., Mir Naiman, A., Hajera Tabassum and Mazharuddin Khan. (2010). Studies on Antibacterial and Antifungal Activity of Pomegranate (Punica granatum L.). J. Agric. & environ. Sci., 9 (3): 273-281.

[16] Al-Zoreky, N.S. (2009). Antimicrobial activity of pomegranate (Punica granatum L.) fruit peels. Journal of Food Microbiology, 134: 244–248.

[17] Lee, Y.L., Cesario, T., Wang, Y., Shanbrom, E. and Thrupp, L. (2003). Antibacterial activity of vegetables and juices. Nutrition 19:994-996.

[18] Algurairy, A.M. (2018). Assessing the Antibacterial Activity of Pomegranate against Staphylococcus aureus obtained from wound infections. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences, 9 (4): 1602-1606.

[19] Chaudhary, A., Rahul, S.N. (2017). Antibacterial Activity of Punica granatum (Pomegranate) Fruit Peel Extract against Pathogenic and Drug Resistance Bacterial Strains. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 6 (12): 3802-3807.

[20] Abdulbary, M. (2017). The antimicrobial activity of alcoholic and aqueous extracts of pomegranate fruit peel on Staphylococcus aureus isolated from hair in Najaf. Kufa Journal for Veterinary Medical Sciences, 8 (2): 238-244.

[21] Nikfallah, F., Venugopa, A., Tejani, H., Lakshmikantha, H.T. (2014). Evaluation of the Antibacterial Activity in Pomegranate Peels and Arils by using Ethanolic Extract against S. mutans and L. acidophilus. Global Journal of Medical Research: (J) Dentistry and Otolaryngolog, 14 (2): 1-6.

[22] Yehia, H.M., Elkhadragy, M.F., Abdel Moneim, A.E. (2011). Antimicrobial activity of pomegranate rind peel extracts. African Journal of Microbiology Research, 4 (22): 3664-3668.

[23] Ferrazzano, G.F., Scioscia, E., Sateriale, D., Pastore, G., Colicchio, R., Pagliuca, C., Cantile, T., Alcidi, B., Coda, M., Ingenito, A., Scaglione, E., Cicatiello, A.G., Volpe, M.G., Di Stasio, M., Salvatore, P., Pagliarulo, C. (2017). In Vitro Antibacterial Activity of Pomegranate Juice and Peel Extracts on Cariogenic Bacteria. Hindawi. DOI: 10.1155/2017/2152749.

[24] Ghasemzadeh, A., Hawa Z. E. Jaafar., Asmah Rahmat. (2010). Antioxidant Activities, Total Phenolics and Flavonoids Content in Two Varieties of Malaysia Young Ginger (Zingiber officinale Roscoe). 15, 4324-4333.

[25] Holley, R.A., and Patel, D. (2005). Improvement in shelf life and safety of perishable foods by plant essentioal oils and smoke antimicrobials, J. food microbiology, 22(4):273-292.

Comparing of antimicrobial activity of organic, anthocyanin and aqueous extracts acquired from different parts of pomegranate (peel, juice and seed) on four pathogenic bacteria Salmonella tiphy, staphylococcus aureus, Escherichia coli and Bacillus cereus

Parseh, H. [1*], Emam Jomeh, Z. [2], Shahablavasani, A. R. [3]

1. MSc, Department of food Science, Karaj, Iran.
2. Ph. D, Professor, Transfer Phenomena Laboratory (TPL) Department of food Science, Technology and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, Agricultural Campus of the University of Tehran, Iran.
3. Ph. D, Innovative Technologies in Functional Food Production Research Center, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

Nowadays, the consumers are extremely concerned about using chemical preservatives in foods and tend to use safe natural food products with healthful benefits. Pomegranate can have such a role. In this study, the antimicrobial properties of the extracts (peel, juice and nucleus) such as organic, aqueous and anthocyanin extracts extracted from different parts of pomegranate were examined and the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) on Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Bacillus cerous and Salmonella tiphy were determined using liquid dilution susceptibility test. According to results, the most inhibitory effect was related to peel extractions. Minimum inhibitory concentration (MIC) was related to organic extractions and Anthocyanin of peels which were effective in concentration of 62.5 ppm on Staphylococcus aureus and Escherichia coli and had inhibitory effect on Bacillus cereus and Salmonella tiphy and also, organic & Anthocyanin extractions of peel had bactericidal effect in concentration of 125 ppm on Staphylococcus aureus and Escherichia coli and in concentration of 250 ppm on Bacillus cereus and Salmonella. After, peel extractions, the most antimicrobial was dependent on pomegranate juice extractions which aqueous, organic and Anthocyanin extractions in concentration of 250 ppm had inhibitory effect on Staphylococcus aureus and Escherichia coli bacteria and in concentration of 500 ppm had bactericidal effect on bacteria. Also, on Bacillus cereus and Salmonella tiphy bacteria in concentration of 500 ppm had inhibitory effect and in concentration of 1000 ppm had bactericidal effect, of course except aqueous extractions of pomegranate juice which showed inhibitory and bactericidal effects respectively in concentrations 250 and 500 ppm on Bacillus cereus bacterium. It can be mentioned that peel and pomegranate juice extractions have high antibacterial effects for high phenolic compounds and high antioxidant activity and it is concluded that phenolic compounds and antioxidant activity approximately have direct proportion with antimicrobial activity.

Keyword: MIC, MBC, Pomegranate

*Corresponding Author E-Mail Address: parseh.h@gmail.com