مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی پوست لیمو ترش بر روی باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت

زهرا لطیفی[1*]، مارال بهزادی‌نیا[2]، سپیده قرا[3]، پگاه پرهیزکار[4]، محمد عباسی[5]، زهرا جعفری[6]

۱- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، مازندران، ایران.

۲- دانش آموخته کارشناسی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم دارویی، واحد تهران، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد مشهد، دانشگاه فردوسی، خراسان رضوی، ایران.

٤- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و فنون دریایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۵- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد شاهرود، دانشگاه صنعتی، سمنان، ایران.

٦- دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، واحد سروستان، دانشگاه آزاد اسلامی، فارس، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۰٤

تاریخ پذیرش: ۱٤۰۰/۰۲/۱۲

کلمات کلیدی:

عصاره پوست لیموترش،

هاله عدم رشد،

باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی.

DOI: 10.52547/fsct.18.116.55

* مسئول مکاتبات:

yasamin.latifi131@yahoo.com

چکیده

استفاده از داروهای آنتی‌بیوتیکی با مشکلاتی نظیر عوارض جانبی ناخواسته و مقاومت دارویی همراه است و کمبود داروهای ضدمیکروبی جدید و طبیعی که دارای اثرات جانبی کمتری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها هستند احساس می‌شود. هدف از این پژوهش، بررسی اثرات ضدباکتری عصاره هیدروالکلی پوست لیموترش علیه تعدادی از سوش‌های استاندارد باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت می‌باشد. غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره استخراج شده به روش پرکولاسیون به منظور بررسی اثرات ضدباکتریایی تهیه و با استفاده از روش انتشار چاهک علیه ده گونه مختلف از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بررسی شد، سپس حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) به روش رقت در لوله‌ای ارزیابی شد. عصاره الکلی پوست لیموترش بصورت وابسته به دوز، سبب افزایش معنی‌داری در قطر هاله ممانعت از رشد باکتری‌ها بویژه باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با گرم منفی گردید ($p< ۰/۰۵$). در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر حداکثر و حداقل قطر هاله عدم رشد به ترتیب مربوط به *استرپتوکوکوس پیوژنز* برابر با ۲۰ میلی‌متر و سالمونلا تیفی‌موریوم برابر با ۱۲ میلی‌متر بود. روش‌های MIC و MBC هم بیش‌ترین اثر را برروی *استرپتوکوکوس پیوژنز* و کمترین اثر را بر روی *اشریشیاکلی* و *سالمونلا تیفی‌موریوم* داشت. عصاره پوست لیموترش دارای اثرات ضدمیکروبی قابل ملاحظه‌ای می‌باشد که می‌تواند به عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌های سنتزی که مقاومت میکروبی به آن‌ها روز به روز در حال افزایش است، بکار رود.

۱- مقدمه

امروزه مصرف‌کنندگان با توجه به اثرات مضر نگهدارنده های غذایی شیمیایی و سنتتیک، خواهان استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی مشتق شده از منابع گیاهی هستند تا علاوه بر افزایش زمان ماندگاری غذا از اثرات مضر نگهدارنده‌های غذایی شیمیایی مصون باشند. همچنین ترکیبات مشتق از گیاهان باعث بهبود طعم و مزه می‌شوند که مصرف‌کنندگان آن را نسبت به مواد شیمیایی ترجیح می‌دهند [۱].

استفاده از گیاهان دارویی از گذشته‌های دور در سنت ملل مختلف جهت درمان بیماری‌ها رواج داشته است. اغلب اسانس‌ها و عصاره‌ها به عنوان منبع ترکیبات ضدمیکروبی[1] از گیاهان خاص و بومی منطقه تأمین می‌شده است. اثرات ضدباکتریایی عصاره لیمو ترش علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* در شرایط آزمایشگاهی و خارج از بافت مواد غذایی در مطالعات متعددی به اثبات رسیده است [۲].

علیرغم پیشرفت‌های نوین در روش‌های تهیه و تولید مواد غذایی، سلامت و ایمنی مصرف‌کننده بطور روزافزون اهمیت می‌یابد. تخمین زده شده است که ۳۱ درصد از مردم درکشورهای صنعتی، حداقل یک بار در سال از بیماری‌های غذایی رنج می‌برند؛ بنابراین در حال حاضر نیز استفاده از روش‌هایی جهت کاهش یا حذف میکروارگانیسم‌های پاتوژن غذا به شدت احساس می‌شود [۳].

هرچند در سه دهه گذشته صنایع دارویی تعداد قابل توجهی از آنتی‌بیوتیک‌ها را تولید کرده‌اند اما مقاومت میکروارگانیسم‌ها نسبت به داروها افزایش یافته است، بطورکلی باکتری‌ها از نظر ایجاد مقاومت اکتسابی و ذاتی نسبت به داروهایی که به عنوان عوامل درمانی بکار می‌روند توانایی ژنتیکی دارند [٤]. بنابراین بایستی اقداماتی به منظور کاهش مقاومت باکتریایی انجام گیرد که یکی از این راه‌ها کشف داروهای جدید از منابع طبیعی می‌باشد [٥].

لیموترش میوه رسیده گیاه سیتروس لیمونن (*Citrus limonum*) از خانواده روتاسه (*Rutaceae*) است که دارای روغن فرار می‌باشد و منبع غنی از ویتامین ث بوده که یکی از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های شناخته شده است [٦]. لیمو حاوی مقدار زیادی اسید سیتریک است که موجب طعم ترش آنها می‌گردد . اسانس لیمو ترش حاوی ۹۵-۹۲ درصد از ترپن‌های مختلف است. قسمت اعظم آن را لیمونن همراه با فلاندرن (Phellandrene)، کامفن(Camphene) و پینن(Pinene) تشکیل می‌دهد. بوی مطبوع اسانس لیمو مربوط به وجود سیترال (Citral) است که به مقدار ۷-٤ در صد در آن یافت می‌شود. علاوه براین، دارای ژرانیول آزاد (Geraniol)، لینالول(Linalool)، سیترونلول (Citronellol) و به مقدار کم از آلدئید نونیلیک (Nonylic aldehyde) و اسید آنترانیلیک (Anthranilic acid) است [۸و ۷].

سالانه حدود ١٤ میلیون تن لیموترش در جهان تولید می‌شود که ایران با تولید ۷۰۰ هزار تن، ششمین تولید کننده این محصول به شمار می‌رود. هند اولین تولید کننده لیموترش و مکزیک دومین تولید کننده این محصول در جهان است. در ایران نیز منطقه رودان استان هرمزگان قطب تولید لیموترش محسوب می‌شود. مناطق هرمزگان، جیرفت، فارس و کهگیلویه و بویراحمد بیش‌ترین تولید لیموترش در ایران را به خود اختصاص داده‌اند [۹].

اثر ترکیبات فنولیک بر رشد میکروب‌ها در تغییرپذیری دیواره سلولی و خروج ماکرومولکول‌ها از درون سلول مؤثر است و به نابودی میکروارگانیسم منجر می‌گردد [۱۲-۱۰]. پاد اکسنده‌های طبیعی مانند ترکیبات فنولی به دلیل فواید آنها برای سلامتی انسان، کاهش ریسک بیماری‌های کشنده توسط کاهش استرس اکسیداتیو و جلوگیری از اکسیداسیون ماکرومولکول‌ها اهمیت بسیار زیادی دارند [۱۳]. ویژگی‌های پاد اکسندگی[2] ترکیبات فنلی عمدتاً ناشی از قدرت احیا کنندگی و ساختار شیمیایی آن‌هاست که آن‌ها را قادر به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، تشکیل کمپلکس و یون‌های فلزی و خاموش کردن ملکول‌های اکسیژن سه گانه می‌سازد. ترکیبات فنلی از طریق اهداء الکترون به رادیکال‌های آزاد، واکنش‌های اکسیداسیون چربی را مهار می‌کنند . علاوه بر فعالیت پاد اکسندگی مطالعات متعددی فعالیت ضدمیکروبی فنول‌ها و عصاره‌های فنولی را اثبات کرده است که باعث می‌شود جایگزین‌های خوبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها و نگهدارنده‌های شیمیایی باشند [١٤]. بیست ترکیب پاد اکسنده تأیید شده وجود دارد که مهم‌ترین آن‌ها، بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT[3])، بوتیل هیدروکسی آنیزول

1. Antimicrobial

2. Antioxidant
3. Butylated Hydroxy Toluene

(BHA[1])، ترت بوتیل هیدروکینون (TBHQ[2]) و توکوفرول[3] می‌باشند. این فرآورده‌ها به تنهایی و یا بصورت ترکیب با اسیدهای تقویت کننده بکار برده می‌شود. علی‌رغم وجود پاد اکسنده‌های مختلف در پلاسما، سیستم دفاعی بدن به تنهایی قادر به از بین بردن رادیکال‌های آزاد ایجاد شده در بدن نیست، به همین جهت نیاز به تأمین آنتی‌اکسیدان از منابع خارجی دارد که از طریق منابع غذایی تأمین می‌شود [۱۵].

قاسمی و همکاران (۲۰۱۷)، با بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره لیمو ترش بر باکتری‌های مورد آزمون در بافت بستنی سنتی چنین نتیجه گرفتند که میانگین تعداد باکتری در همه بستنی‌های حاوی غلظت‌های مختلف آبلیمو بطور معنی‌داری کمتر از میانگین تعداد باکتری در گروه کنترل بود. از دیگر نتایج این تحقیق تأثیر دوره نگهداری بر تأثیرگذاری عصاره لیمو ترش بود بطوری‌که با گذشت زمان تعداد باکتری‌ها کاهش یافت و در هفته سوم بیش‌ترین کاهش در میانگین تعداد باکتری مشاهده شده است [۱۶]. توموتک و همکارانش (۲۰۰۶)، اثر ضدمیکروبی آب مرکبات مختلف از جمله لیمو را بر روی سویه‌های باکتری *ویبریو* بررسی نمودند و به این نتیجه دست یافتند که آب مرکبات بر روی همه سویه‌های *ویبریو* به ویژه *ویبریو پاراهمولیتیکوس* خاصیت ضدمیکروبی دارد و اسید سیتریک مهم‌ترین اسید آلی مؤثر در خاصیت بازدارندگی از رشد پاتوژن‌ها می‌باشد [۱۷]. کاستیلو و همکارانش (۲۰۰۰)، نیز با بررسی خاصیت ضدمیکروبی آب لیمو تازه بر علیه باکتری *ویبریو کلرا* به نتایج مشابهی دست یافتند [۱۸].

رزمجو و همکاران (۲۰۱۶)، با مطالعه بر عصاره آبی پوست پرتقال دریافتند که قطر هاله عدم رشد باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*) بزرگ‌تر از باکتری‌های گرم منفی (*اشریشیا کلی*) است که می‌تواند به علت تفاوت ساختار دیواره سلولی و چند لایه بودن باکتری‌های گرم منفی باشد [۱۹]. نتایج این محققان با یافته‌های مطالعه کیرباسلاری و همکاران (۲۰۰۹) که به بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره چندین میوه از جمله پرتقال پرداختند [۲۰]، همخوانی دارد.

در این مطالعه اثرات ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی پوست لیمو ترش بر روی باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت بررسی شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱-تهیه عصاره متانولی پوست

عصاره‌گیری به روش خیساندن (ماسراسیون[4]) صورت گرفت. مقدار ۱۵ گرم از پوست خشک شده لیمو ترش وزن گردید و پس از نیمه خردشدن، در ۴۵۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به مدت ۷۲ ساعت و در مکان تاریکی خیسانده شد. درنهایت، عصاره با کاغذ صافی صاف شد و پس از تغلیظ بر روی بن‌ماری با دمای ۴۵ تا ۵۵ درجه سانتی‌گراد، در یخچال دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمون میکروبی نگهداری گردید (۲۱, ۲۲). از عصاره‌های حاصله توسط حلال دی متیل سولفواکسید (DMSO) ۰/۵ درصد، غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تهیه شد و در آزمون‌های انتشار چاهک و تعیین MIC/MBC از آنها استفاده گردید.

سوش‌های میکروبی *اشرشیاکلی*، *سالمونلا تیفی*، *باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استرپتوکوکوس پیوژنز*، *استرپتوکوکوس اپیدرمیس*، *باکتری های سالمونلا تیفی*، *کلبسیلا پنومونیه*، *باسیلوس سوبتیلیس* و *شیگلا دیسانتری* بصورت لیوفیلیزه از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران[5] تهیه گردید.

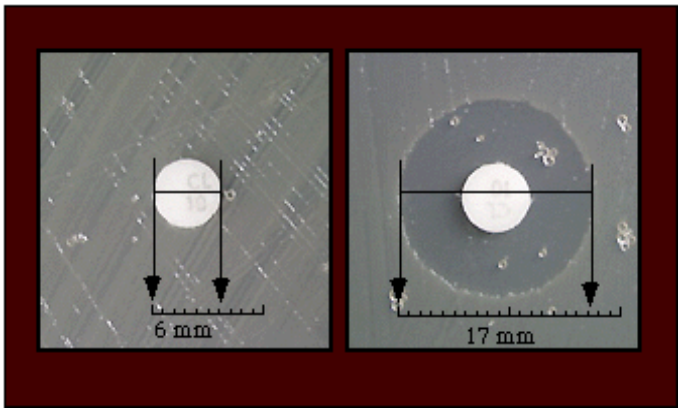

Fig 1 How to calculate the growth inhibition zone

1. Butylated hydroxyanisol
2. Tert-Butylhydroquinone
3. Tocopherol

4. Maceration
5. Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST)

نمونه‌های میکروبی بر اساس روش‌های استاندارد از حالت لیوفیلیزه خارج گردیدند. به منظور تهیه سوسپانسیون میکروبی از کشت تازه و جوان باکتری چند کلنی به محیط کشت مولر هینتون براث منتقل شد تا کدورت حاصله مشابه کدورت لوله ۰/۵ مک فارلند باشد [۲۳].

بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره هیدروالکلی پوست لیمو ترش به دو روش انجام شد، ابتدا از روش انتشار چاهک در آگار استفاده گردید. برای این منظور از سوش‌های یاد شده با کدورتی معادل ۰/۵ مک فارلند تهیه و به روش معمول در پلیت حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار گسترش داده شد. در مرحله بعدی در سطح پلیت، چاهک هایی به قطر ۵ میلی‌لیتر و به فاصله ۲ سانتی‌متر از هم ایجاد گردید. هر یک از چاهک‌ها را بوسیله رقت‌های مایع مختلفی از عصاره که در ابتدا به آنها اشاره شده است پر شد. به عنوان شاهد مثبت آزمایش از آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین با توجه به حلالیت در حلال‌های مختلف در نرمال سالین ۰/۹ درصد رقیق و غلظت ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر تهیه شده است و به عنوان شاهد منفی از DMSO استفاده شد. بعد از اتمام کار، تمامی محیط کشت‌ها به مدت ۲٤ ساعت در حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار داده شدند. پس از گذشت این مدت، کشت‌های باکتریایی از نظر تشکیل یا عدم تشکیل هاله رشد بر حسب میلی‌متر توسط کولیس اندازه‌گیری شد [۲٦-۲٤].

قطر هاله‌ها عکس‌العملی از غلظت عصاره مورد آزمایش می‌باشد. این پدیده یک ارتباط خطی بین هاله و لگاریتم غلظت عصاره مورد آزمایش می‌باشد که با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد میکروبی و مقایسه آن با استاندارد مشخص، قدرت ضدمیکروبی عصاره مورد آزمایش تعیین شد [۲۷].

روش دوم، آزمون تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری (MIC[1]) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC[2]) بصورت رقت لوله‌ای صورت گرفت. جهت تعیین(MIC)، از عصاره الکلی تهیه شده، سری رقت‌های ۰/۷۸، ۱/۵٦، ۳/۱۲۵، ٦/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در محیط کشت مولر هینتون براث تهیه شد. سپس به هرکدام از رقت‌ها ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده اضافه گردید. به عنوان شاهد مثبت لوله‌ای با محتویات (محیط کشت حاوی باکتری، بدون عصاره) و به عنوان شاهد منفی لوله‌ای با محتویات (محیط کشت بدون باکتری) نیز تهیه شدند. بعد از اتمام کار، تمام لوله‌ها به انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ٤۸- ۲٤ انتقال داده شدند [۲۸].

به علت رنگی بودن عصاره، خواندن MIC ممکن نیست و برای رفع این مشکل از تمام لوله‌های تلقیح شده به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار به روش پور پلیت پخش گردید، سپس پلیت‌ها به انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد انتقال یافتند تا بعد از ۲٤ ساعت نتایج خوانده شود. پس از یک شب انکوباسیون، تعداد کلنی‌های رشد یافته در پلیت‌ها شمارش و با هم مقایسه گردید. پلیتی که دارای کمترین غلظت از عصاره بوده و تعداد کلنی‌های کمتری نسبت به سایرین دارد به عنوان MIC و پلیتی که حاوی کمترین غلظت از عصاره بوده و کلنی در آن رشد نکرده به عنوان MBC در نظر گرفته شد [۲۹].

۳- نتایج

جدول (۱)، تأثیر ضدمیکروبی غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی استخراج شده از پوست لیموترش به روش انتشار چاهک را علیه تعدادی از باکتری بیماری‌زای گرم مثبت و گرم منفی را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که این عصاره اثر بازدارندگی قابل ملاحظه‌ای بر روی تمام باکتری‌های مورد آزمایش داشت و هر چقدر غلظت عصاره هیدروالکلی افزایش یافت، اثر بازدارندگی نیز بصورت افزایش قطر هاله عدم رشد میکروبی بیشتر شد. همچنین در شکل (۲)، میزان هاله ایجاد شده در اثر تأثیر ضدمیکروبی غلظت‌های مختلف عصاره استخراج شده از پوست لیموترش نسبت به برخی باکتری‌های مورد بررسی ارائه شده است.

1. Minimum Inhibitory Concentration
2. Minimal Bactericidal Concentration

Table 1 The diameter of the bacterial growth hole in millimeters at different concentrations of hydroalcoholic extract in mg/ml by the well distribution method

Streptomycin (Control +)	DSMO (Control -)	200	100	50	25	Extract concentration / Bacterial Strain
18	-	12	10	8	6	*Salmonella typhimurium*
20	-	18	16	14	12	*Bacillus cereus*
18	-	18	14	12	10	*Klebsiella pneumoniae*
14	-	18	14	12	10	*Staphylococcus aureus*
20	-	16	12	10	8	*Bacillus subtilis*
16	-	16	12	10	8	*Pseudomonas aerogenes*
18	-	14	12	10	8	*Escherichia coli*
20	-	16	12	10	8	*Shigella dysenteriae*
20	-	20	18	16	14	*Streptococcus pyogenes*
18	-	18	16	12	10	*Streptococcus epidermidis*

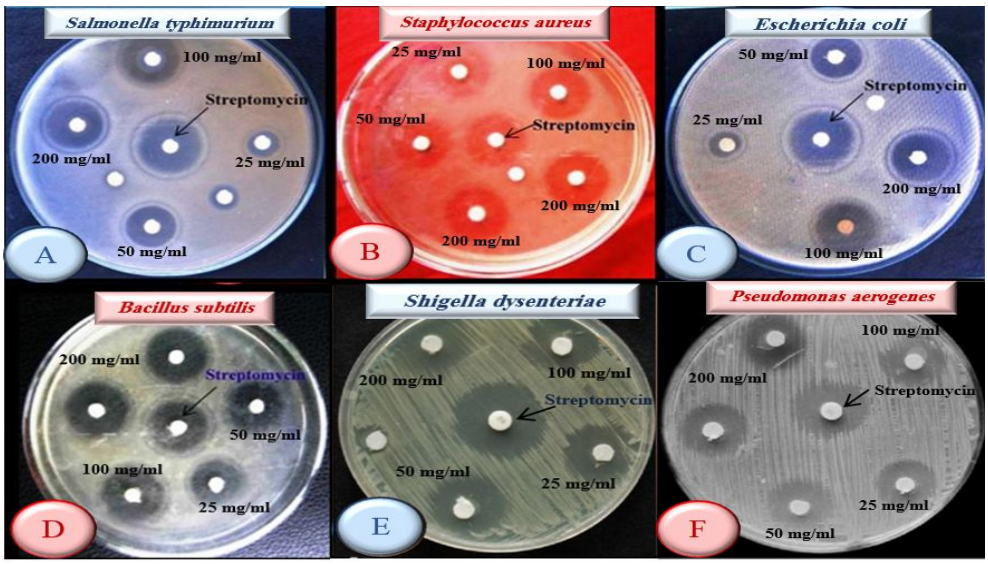

Fig 2 Antimicrobial activity of different concentrations of hydroalcoholic extract extracted from lemon peel; A) *Salmonella typhimurium*; B) *Staphylococcus aureus;* C) *Escherichia coli*; D) *Bacillus subtilis*; E) *Shigella dysenteriae;* F) *Pseudomonas aerogenes.*

جدول (۲) حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره هیدروالکلی پوست لیمو ترش را علیه باکتری‌های گرم مثبت و منفی نشان می‌دهد. که در بین باکتری‌های مورد آزمایش، *استرپتوکوکوس پیوژنز* بیشترین حساسیت و *اشریشیاکلی* و *سالمونلا تیفی‌موریوم* کمترین حساسیت را در برابر عصاره هیدروالکلی استخراج شده از پوست لیموترش نشان دادند.

Table 2 Mean minimum inhibitory concentration and bacterial fecundity in mg / ml against bacteria tested in tubular dilution

Extract concentrationmg/mlv / Bacterial strain	MIC	MBC
Salmonella typhimurium	50	100
bacillus cereus	12.5	50
klebsiella pneumoniae	25	50
staphylococcus aureus	12.5	50
bacillus subtilis	12.5	25
Pseudomonas aeruginosa	25	50
Escherichia coli	50	100
shigella dysenteriae	25	50
streptococcus pyogenes	6.25	6.25
streptococcus epidermidis	6.25	12.5

٤- بحث

با توجه نتایج حاصل از این پژوهش، خواص ضدمیکروبی عصاره هیدرومتانولی پوست لیموترش به روش انتشار چاهک دارای بیش‌ترین اثر مهارکنندگی بر روی باکتری‌های گرم مثبت بویژه *استرپتوکوکوس پیوژنز* با قطر هاله عدم رشد ۲۰ بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. مطابق نتایج بدست آمده می‌توان بیان نمود عصاره هیدروالکلی پوست لیموترش، اثرات ضدمیکروبی قابل توجهی بر اکثر سویه‌های عامل فساد و بیماری‌زا داشت. در این آزمایش قطر هاله بازداری عصاره لیمو در رقت‌های تهیه شده با یکدیگر مقایسه شده‌اند و نشان داده شده که این عصاره بر همه انواع سویه‌های باکتریایی مورد آزمایش اثر بازدارندگی داشت. اگرچه قطر هاله عدم رشد باکتری‌های گرم مثبت، بزرگ‌تر از باکتری‌های گرم منفی است که می‌تواند به علت تفاوت ساختار دیواره سلولی و چند لایه بودن باکتری‌های گرم منفی باشد. این نتایج با یافته‌های کربسلاری و همکاران (۲۰۰۹)، که به بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره چندین میوه از جمله پرتقال پرداختند، همخوانی دارد [۲۰]. همان‌طور که در جدول (۱) مشاهده می‌شود بین غلظت‌های بکار رفته (۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) تفاوت معنی‌داری از نظر تشکیل قطر هاله بازداری وجود داشت و با افزایش غلظت عصاره، قطر هاله عدم رشد در نتیجه اثر بازدارندگی به مقدار قابل توجهی افزایش یافت ($p<$ ۰/۰۵). همچنین، بیشترین فعالیت ضدمیکروبی در رقت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره مشاهده گردید. این نتیجه با نتایج بدست آمده توسط رفیعی و رمضانی (۲۰۱۲)، که بیان نمودند با افزایش غلظت، قطر هاله بازداری بیشتر می‌گردد، مطابقت دارد. در بین باکتری‌های گرم مثبت، باکتری *استرپتوکوکوس پیوژنز* با قطر هاله ۲۰ میلی‌متر بیش‌ترین حساسیت را نسبت به عصاره نشان داد و در بین باکتری‌های گرم منفی، *کلبسیلا پنومونیه* با قطر هاله ۱۸ میلی‌متر دارای بیشترین قطر هاله عدم رشد بودند [۲]. چیت ساز و همکاران (۲۰۰۷)، اثر عصاره متانولی گیاه آویشن و اسانس آویشن را بر باکتری‌های مختلفی از جمله: *استافیلوکوکوس اورئوس* بررسی نمودند. آنها اظهار کردند عصاره متانولی می‌تواند دو گونه باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استرپتوکوکوس پیوژنز* را مهار کند. قطر هاله بازداری گزارش شده برای این باکتری توسط عصاره متانولی آویشن ۲۰ میلی‌متر گزارش گردید [۳۰]. همچنین ویدا-مارتوس و همکارانش (۲۰۰۸)، در تحقیقی دیگر اسانس مرکباتی همچون لیموترش را برروی باکتری‌های مختلف مورد بررسی قرار داده و نشان دادند که اسانس لیمو می‌تواند اثر ضدمیکروبی بهتری نسبت به سایر مرکبات داشته باشد و همچنین گزارش کردند که اثر ضد میکروبی اسانس و عصاره لیمو بر روی پاتوژن‌های مختلف، میزان اثر بازدارندگی اسانس لیمو نسبت به عصاره آن بر روی باکتری‌های مختلف از جمله: *استرپتوکوکوس سنگوئیس* و *استرپتوکوکوس پیوژنز* بیشتر بود [۳۱]. کوما و همکاران (۲۰۱۱)، فعالیت ضدمیکروبی عصاره استخراجی از پوست پرتقال و لیمو با پنج حلال مختلف را بر پنج باکتری بیماری‌زایی (*اشریشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس*، *سالمونلا* و *کلبسیلا*) مورد بررسی قرار دادند و به نتایج مشابهی دست یافتند و ابراز کردند که تأثیر عصاره برروی میکروارگانیسم گرم مثبت، قابل توجه‌تر از میکروارگانیسم گرم منفی بوده است [۳۲].

در روش MIC نیز بیشترین تأثیر عصاره بر روی باکتری گرم مثبت *استرپتوکوکوس پیوژنز* و *استرپتوکوکوس اپیدرمیس* بود (MIC: ٦/٢٥) و کمترین تأثیر بر روی *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *اشریشیاکلی* (MIC:٥٠) بوده است. در تمام مراحل انجام آزمایش کنترل مثبت و کنترل منفی در نظر گرفته شد. همانطور که در جدول (۲) نشان داده شد در ارزیابی حداقل غلظت کشندگی (MBC) همانند نتایج MIC میکروارگانیسم‌های گرم مثبت حساسیت بیشتری نسبت به میکرارگانیسم‌های گرم منفی داشته‌اند یعنی تأثیر عصاره بر باکتری‌های گرم مثبت بیش‌تر از باکتری‌های گرم منفی بود و بیش‌ترین حساسیت برای باکتری گرم مثبت *استرپتوکوکوس پیوژنز* بود، همچنین این عصاره در ارزیابی‌های MIC و MBC کمترین مقدار اثر مهارکنندگی را علیه باکتری‌های گرم منفی *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *اشریشیاکلی* داشت و علت تأثیر متفاوت عصاره بر روی این دو گروه از باکتری‌ها را می‌توان به تفاوت ساختاری موجود بین دیواره آن‌ها نسبت داد است. نتایج هر سه آزمایش نشان دهنده این بود که عصاره هیدروالکلی پوست لیمو ترش تأثیر متفاوتی بر روی باکتری‌ها داشته است پس علت تأثیر متفاوت عصاره‌های هیدروالکلی پوست لیمو ترش بر رشد باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت ممکن است به دلیل تفاوت ساختاری موجود بین دیواره این دو گروه از باکتری باشد. همانطور که در بخش نتایج مشخص گردید عصاره هیدروالکلی اثرات قابل

توجهی علیه باکتری‌های گرم مثبت از جمله *استرپتوکوکوس پیوژنز* و *استرپتوکوکوس اپیدرمیس* داشته و از باکتری‌های گرم منفی بر روی *اشریشیاکلی* و *سالمونلا تیفی‌موریوم* اثر ضعیف‌تری داشت که علت احتمالی آن وجود لیپوپلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی می‌باشد که مانند سدی از عبور مولکول‌های بزرگ و آب‌گریز ممانعت می‌کند و از آنجایی که اکثر ترکیبات مؤثر موجود در عصاره‌ها و اسانس‌ها ماهیت آبگریزی دارند لذا می‌توان نتیجه گرفت که این مواد امکان نفوذ و دسترسی به نقاط فعال داخل باکتری‌های گرم منفی را ندارند و به همین دلیل معمولاً باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت مقاومت بیشتری نسبت به ترکیبات گیاه نشان می‌دهند.

نخعی مقدم (۲۰۰۹) اثر بازدارندگی عصاره متانولی استخراج شده از پوست پرتقال را بر *هلیکوباکترپیلاری* بررسی نمود وی اعلام کرد: غلظت ۲ میلی‌گرم از عصاره متانولی استخراج شده بر تمام سویه‌های جداسازی شده اثر بازدارندگی نشان داده است [۳۳]. در مطالعه پراباسونیواسام و همکاران (۲۰۰۶)، اثر ضدمیکروبی اسانس تعدادی از گیاهان دارویی و از جمله اسانس لیمو را بر روی پاتوژن‌های گرم منفی مثل *اشریشیاکلی*، *کلبسیلا پنومونیه*، *سودوموناس آئروجینوزا*، *پروتئوس ولگاریس* و پاتوژن‌های گرم مثبت مثل: *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* مورد بررسی قرار دادند، در این مطالعه نیز اسانس لیمو دارای خاصیت ضد باکتریایی بر روی تمام پاتوژن‌های مورد بررسی بود (۳٤). میازاوا و همکاران (۱۹۹۹)، بیان نمودند عصاره متانولی پرتقال و فراکسیون دی کلرومتانی آن، فعالیت ضدجهشی در تست ایمز بر *سالمونلا تیفی‌موریوم* داشتند. عصاره متانولی استخراجی در همه رقت‌های تهیه شده بر رشد *باسیلوس سرئوس* اثر بازدارندگی از خود نشان دادند [۳۵].

ممکن است اسانس یا عصاره یک گیاه دارویی بر یک میکروارگانیسم اثر قابل توجهی داشته باشد ولی بر میکروارگانیسم دیگری دارای اثر کمتر و یا بدون اثر باشد. البته باید توجه داشت که عوامل مختلفی مانند: تعیین غلظت ممانعت از رشد مناسب، روش و حلال بکار برده شده جهت عصاره‌گیری و محیط کشت مورد استفاده جهت انجام آزمایشات ضدباکتریایی، نوع پاسخ دریافتی این گونه آزمایشات را تحت تأثیر قرار می‌دهد، تفاوت در تأثیر عصاره‌های گیاهی بر باکتری‌ها به عوامل مختلفی وابسته است که از آن میان می‌توان به منطقه جغرافیایی رویش، رقم و سن گیاه، روش خشک کردن گیاه، روش استخراج ترکیبات مؤثره، نوع حلال، غلظت عصاره و نوع محیط کشت اشاره نمود [۳٦]. عصاره‌های گیاهی و ترکیبات آنها به‌عنوان متابولیک‌های ثانویه گیاهان می‌باشند و خاصیت ضدباکتریایی آنها مدت‌ها است که شناخته شده و کاربردهای زیادی به‌عنوان طعم دهنده و نگهدارنده در صنایع غذایی و دارویی دارند [۳۷]. این مسئله به همراه عوارض جانبی بعضی از آنتی‌بیوتیک‌ها موجب گردیده است که محققین و دانشمندان همواره به دنبال آنتی‌بیوتیک‌های جدید با اثرات جانبی کمتر باشند، به همین دلیل منابع طبیعی به خصوص گیاهان دارویی دارای اسرار بی‌شماری است و کشف هریک از اسرار، گامی در جهت درمان و ریشه‌کن کردن بیماری‌هاست و از جایگاه خاصی برخوردار است [۳۸]، زمان زیادی از اثبات فعالیت ضدمیکروبی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی سپری شده است اما در سال‌های اخیر افزایش علاقه مندی‌ها به توسعه فرآیند سبزگرایی سبب از سرگیری مطالعات و بررسی‌های علمی در ارتباط با این مواد گشته است [۳۹-۳۷]. مرکبات یکی از میوه‌های تجاری است و شامل چندین میوه مهم از جمله پرتقال، لیمو، گریپ فروت و نارنگی می‌باشد از آنجا که پوست این میوه‌ها غنی از فلاوون‌ها و پلی‌متوکسیلات‌ها و فیتوکمیکال‌ها می‌باشد که در گیاهان دیگر بسیار نادر است در نتیجه در سال‌های اخیر توجه ویژه به استفاده از پوست مرکبات شده است. *اشریشیا کلی* یک باکتری گرم منفی از خانواده آنتروباکتریاسه و در ردیف مهم‌ترین باکتری‌های پاتوژن در مواد غذایی مسبب بیماری‌هایی نظیرگاستروآنتریت، مسمومیت غذایی، عفونت خونی و عفونت سایراندام‌ها است. مسمومیت غذایی استافیلوکوکی از مهم‌ترین مسمومیتهای غذایی به‌شمار می‌آید به‌طوری‌که از مجموع حدود بیست و چهار میلیون مورد کل مسمومیت‌های غذایی گزارش شده در کشور ایاالت متحده امریکا ۸/۹ میلیون مورد آن مربوط به استافیلوکوکوس اورئوس بوده که بیش از یک سوم موارد کل مسمومیت‌های غذایی در این کشوراست [٤۰]. لیموترش منبع غنی از ویتامین ث بوده که یکی از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های شناخته شده است طوری‌که این ویتامین نقش مهمی

در جلـوگیری از پیشـرفت بیمـاری آترواسـکلروزیز، سـرطان، امـراض قلبـی و عفونـت‌هـا دارد. لیمو ترش دارای ماده‌ای به نام ترپین است که تولید کلسترول در بدن را کنترل می‌کند و مانع افزایش زیاد آن می‌شـود و ازسایر فواید آن می‌توان به مواردی همچون بالا بـردن عملکـرد سیستم ایمنی بدن، تصفیه کننده خـون، ضد نقـرس، چـاقی، دفـع رسوبات ادراری و صفراوی، یرقـان، مالاریـا، اسـتفاده در محـل گزیدگی حشرات، ضد تیفوس، ضد سرخک، مخملک، روشن کننده پوست و ... اشاره کرد [٤١]، به همین دلیل دو باکتری *اشریشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* از باکتری‌های منتخب در این مطالعه بودند.

بطور کلی حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی در برابر عصاره‌های گیاهان، در مطالعات متعددی از جمله در استرالیا نشان داده شده است [٤٢]. مطالعات نشان داده است که دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی در مقابل بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها، ترکیبات شیمیائی ضد میکروبی [٤٣] و حتی بسیاری از داروهای گیاهی [٤٤] حساسیت زیادی دارند. وجود لایه لیپوپلی‌ساکاریدی دیواره و نیز فضای پری‌پالسمیک از دلایل مهم مقاومت نسبی گرم منفی‌ها می‌باشد. گزارش شده است که باکتری‌های گرم منفی نسبت به عوامل شیمیایی مقاوم‌تر از انواع گرم مثبت هستند [٤٥].

٥- نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد در تمامی سویه‌های میکروبی مورد بررسی، با افزایش غلظت عصاره قطر هاله عدم رشد نیز افزایش می‌یابد. روش استخراج عصاره بر میزان اثر بازدارندگی عصاره لیمو برای اکثر میکروارگانیسم‌های مورد آزمون تأثیر گذار بوده است. بکارگیری غلظت مناسب عصاره متانولی پوست لیمو در مواد غذایی مطابق با ذائقه مصرف کنندگان به دلیل ایجاد ایمنی مناسبی که در جلوگیری یا کاهش رشد باکتری‌های شاخص آلوده کننده مواد غذایی ایجاد می‌نماید، توصیه می‌گردد. با این تفاسیر می‌توان بیان نمود عصاره پوست لیموترش تأثیر بسزایی بر جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و عامل فساد دارد، در نتیجه می‌توان از این عصاره به عنوان یک آنتی‌بیوتیک طبیعی در تهیه مواد غذایی یا در تهیه بسته‌بندی‌های فعال استفاده نمود.

٦- منابع

[1] Sharififar F, Moshafi M, Mansouri S, Khodashenas M, Khoshnoodi M. In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic Zataria multiflora Boiss. Food control. 2007;18(7):800-5.
[2] Rafei F, Ramzani. Antimicrobial Effects of Essential Oil and Extract (Water) of Lime Sour on Oral Microorganisms. Journal of Microbiology Biotechnology, Islamic Azad University. 2012;4(14.(
[3] Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. International journal of food microbiology. 2004;94(3):223-53.
[4] Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. Clinical microbiology reviews. 1999;12(4):564-82.
[5] Nascimento GG, Locatelli J, Freitas PC, Silva GL. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. Brazilian journal of microbiology. 2000;31(4):247-56.
[6] Mahmud S, Saleem M, Siddique S, Ahmed R, Khanum R, Perveen Z. Volatile components, antioxidant and antimicrobial activity of Citrus acida var. sour lime peel oil. Journal of Saudi Chemical Society. 2009;13(2):195-8.
[7] ChunYan H, Hong P, ZhenYu Z, Jing S. Evaluation of antioxidant and antitumour activities of lemon essential oil. Journal of Medicinal Plants Research. 2010;4(18):1910-5.
[8] Manners GD. Citrus limonoids: analysis, bioactivity, and biomedical prospects. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2007;55(21):8285-94.
[9] www.isna.ir.
[10] Kouidhi B, Al Qurashi YMA, Chaieb K. Drug resistance of bacterial dental biofilm and the potential use of natural compounds as alternative for prevention and treatment. Microbial pathogenesis. 2015;80:39-49.
[11] Anagnostopoulou MA, Kefalas P, Kokkalou E, Assimopoulou AN, Papageorgiou VP. Analysis of antioxidant compounds in sweet orange peel by HPLC–diode array detection–electrospray ionization mass spectrometry. Biomedical chromatography. 2005;19(2):138-48.
[12] Sadegh pour M. Antibacterial effect of hydroalcoholic extract of orange peel (citrus

sinensis peel) in laboratory conditions. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2017;27(147.(

[13] Silva BM, Andrade PB, Valentão P, Ferreres F, Seabra RM, Ferreira MA. Quince (Cydonia oblonga Miller) fruit (pulp, peel, and seed) and jam: antioxidant activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2004;52(15):4705-12.

[14] Pokorný J. Are natural antioxidants better–and safer–than synthetic antioxidants? European Journal of Lipid Science and Technology. 2007;109(6):629-42.

[15] Young I, Woodside J. Antioxidants in health and disease. Journal of clinical pathology. 2001;54(3):176-86.

[16] Ghasemi S.M KHFA. The antibacterial activity of lemon juice in laboratory prepared ice cream. Journal of Food Microbiology published quarterly by IAU, Shahrekord Branch. 2017;4(1.(

[17] Tomotake H, Koga T, Yamato M, KASSU A, OTA F. Antibacterial activity of citrus fruit juices against Vibrio species. Journal of nutritional science and vitaminology. 2006;52(2):157-60.

[18] DE CASTILLO MC, De Allori CG, De Gutierrez RC, DE SAAB OA, DE FERNANDEZ NP, DE RUIZ CS, et al. Bactericidal activity of lemon juice and lemon derivatives against Vibrio cholerae. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 2000;23(10):1235-8.

[19] Razmjoo M, Khaki P, Noughani VF. Antimicrobial effect of aqueous extract of orange peel and its effect on the shelf-life of flavored milk. Journal of Gorgan University of Medical Sciences. 2016;18(3.(

[20] Kirbaşlar FG, Tavman A, Dülger B, Türker G. Antimicrobial activity of Turkish citrus peel oils. Pak J Bot. 2009;41(6):3207-12.

[21] Chakraborty M, Mitra A. The antioxidant and antimicrobial properties of the methanolic extract from Cocos nucifera mesocarp. Food Chemistry. 2008;107(3):994-9.

[22] Davidson PM, Branen A. Food antimicrobials—an introduction. Antimicrobials in food: CRC Press; 2005. p. 12-21.

[23] Murray P, Baron R. P fauer EJ, Tenoyer M, Yolken FC, Robert H. Manual of clinical Microbiology 7th Ed, American society for microbiology. 1999:1564-70.

[24] Shirazi M, Fazeli M, Sultan Dallal M, Eshraghi S, Jamalifar H, Alamulhoda E. A comparative study on the Antimicrobial Effect of some Medicinal Herbal Extracts and Selective Antibiotics against the clinical Isolates of Helicobactor pylori. Journal of Medicinal Plants. 2003;3(7):53-60.

[25] Skočibušić M, Bezić N, Dunkić V, Radonić A. Antibacterial activity of Achillea clavennae essential oil against respiratory tract pathogens. Fitoterapia. 2004;75(7-8):733-6.

[26] Sökmen A, Vardar‐Ünlü G, Polissiou M, Daferera D, Sökmen M, Dönmez E. Antimicrobial activity of essential oil and methanol extracts of Achillea sintenisii Hub. Mor.(Asteraceae). Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives. 2003;17(9):1005-10.

[27] Oguntibeju OO. Hypoglycaemic and anti-diabetic activity of selected African medicinal plants. International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology. 2019;11(6):224.

[28] Reller LB, Weinstein M, Jorgensen JH, Ferraro MJ. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. Clinical infectious diseases. 2009;49(11):1749-55.

[29] Stojanović G, Radulović N, Hashimoto T, Palić R. In vitro antimicrobial activity of extracts of four Achillea species: The composition of Achillea clavennae L.(Asteraceae) extract. Journal of ethnopharmacology. 2005;101(1-3):185-90.

[30] Chitsaz M, Pargar, A., Naseri, M., Kamali Nezhad, M., Bazargan, M., Mansouri , S., Ansari, F. Essential Oil and Antibacterial Effects of Hydroalcoholic Extract and Essential Oil of Ziziphora clnopodiodes: LAM on Selected Bacteria. Journal of Daneshvar Medical. 2007;14(68):15-22.

[31] Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernández-López J, Pérez-Álvarez J. Antifungal activity of lemon (Citrus lemon L.), mandarin (Citrus reticulata L.), grapefruit (Citrus paradisi L.) and orange (Citrus sinensis L.) essential oils. Food control. 2008;19(12):1130-8.

[32] Kumar KA, Narayani M, Subanthini A, Jayakumar M. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of citrus fruit peels-utilization of fruit waste. International

Journal of Engineering Science and Technology. 2011;3(6):5414-21.
[33] Nakhaei Moghadam M. Antimicrobial effect of methanolic extract of orange peel on clinical specimens of Helicobacter pylori under laboratory conditions. Journal of Islamic Azad University Zio Microbiology. 2009;1(2):37-43.
[34] Prabuseenivasan S, Jayakumar M, Ignacimuthu S. In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. BMC complementary and alternative medicine. 2006;6(1):39.
[35] Miyazawa M, Okuno Y, Fukuyama M, Nakamura S-i, Kosaka H. Antimutagenic activity of polymethoxyflavonoids from Citrus aurantium. Journal of agricultural and food chemistry. 1999;47(12):5239-44.
[36] Chan EWC, Lim YY, Omar M. Antioxidant and antibacterial activity of leaves of Etlingera species (Zingiberaceae) in Peninsular Malaysia. Food chemistry. 2007;104(4):1586-93.
[37] Smith-Palmer A, Stewart J, Fyfe L. The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. Food microbiology. 2001;18(4):463-70.
[38] Basti AA, Misaghi A, Khaschabi D. Growth response and modelling of the effects of Zataria multiflora Boiss. essential oil, pH and temperature on Salmonella typhimurium and Staphylococcus aureus. LWT-Food Science and Technology. 2007;40(6):973-81.
[39] Guler S, Seker M. The effect of cinnamon and guar gum on bacillus cereus population in milk. Journal of food processing and preservation. 2009;33(3):415-26.
[40] Normanno G, Firinu A, Virgilio S, Mula G, Dambrosio A, Poggiu A, et al. Coagulase-positive Staphylococci and Staphylococcus aureus in food products marketed in Italy. International journal of food microbiology. 2005;98(1):73-9.
[41] Takarada K, Kimizuka R, Takahashi N, Honma K, Okuda K, Kato T. A comparison of the antibacterial efficacies of essential oils against oral pathogens. Oral microbiology and immunology. 2004;19(1):61-4.
[42] Palombo EA, Semple SJ. Antibacterial activity of traditional Australian medicinal plants. Journal of ethnopharmacology. 2001;77(2-3):151-7.
[43] Norajit K, Laohakunjit N, Kerdchoechuen O. Antibacterial effect of five Zingiberaceae essential oils. Molecules. 2007;12(8):2047-60.
[44] Sharifa A, Neoh Y, Iswadi M, Khairul O, Abdul Halim M, Jamaludin M, et al. Effects of methanol, ethanol and aqueous extract of Plantago major on gram positive bacteria, gram negative bacteria and yeast. Ann Microsc. 2008;8:42-4.
[45] Tortora G, Funke B, Case C. Microbiology: An Introduction, Benjamin Cummings Publishing. San Francisco, USA. 2001;88.

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Antimicrobial Effects of Hydroalcoholic Extract of Sour Lemon Peel on G- Bacteria and G+ Bacteria

Latifi, Z. [1]*, Behzadinia, M. [2], Qara, S. [3], Parhizkar, P. [4], Abbasi, M. [5], Jafari, Z. [6]

1. Young and Elite Researchers Club, Sari Branch, Islamic Azad University, Mazandaran, Iran.
2. Bachelor Graduate, Department of Food Science and Technology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tehran Branch, Islamic Azad University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3. Master graduate, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Khorasan Razavi, Iran.
4. Master student, food industry engineering department, Marine Science and Technology Islamic Azad University-Tehran North Branch, Tehran, Iran.
5. Master of food science, Department of Food Science and Technology, agricultural school, Shahrood technical university, Semnan, Iran.
6. Ph.D. student, Department of Food Science and technology, Faculty of Science and Food Industry, Branch of Sarvestan, Islamic Azad University, Fars, Iran.

ARTICIE INFO

Article History:

Received 2019/ 04/ 24
Accepted 2021/ 05/ 02

Keywords:

Extract of sour lemon peel,
Zone of inhibition,
Gram positive and gram negative bacteria.

DOI: 10.52547/fsct.18.116.55

*Corresponding Author E-Mail:
yasamin.latifi131@yahoo.com

ABSTRACT

The use of antibiotic drugs is associated with problems, such as unwanted side effects and drug resistance, and the lack of new and natural antimicrobial drugs that have fewer side effects than antibiotics. The aim of this study, investigating the effects of hydroalcoholic extract of sour lemon peel on a few of standard strains of G+ and G- bacteria. Concentrations of 25,50,100 and 200 mg/ml of extracts by percolation method were prepared to determine antibacterial effects and using a well publication method against ten different species of G+ and G- bacteria, then the Minimum Inhibitory Concentration of bacterial growth (MIC) and Minimum Bacterial Concentration (MBC) were evaluated by dilution in tube. Alcoholic extract of sour lemon peel in a dose-dependent manner significantly increased the diameter of zone to inhibit the growth of the bacteria, especially G+ bacteria, as compared to G- ($p < 0.05$). In the concentration of 200 mg/ml, the maximum and minimum diameter of the inhibition zone was 20 mm for Streptococcus pyogenes and 12 mm for salmonella typhimurium, respectively. MIC and MBC methods had the strongest effect on Streptococcus pyogenes and had the least effect on Escherichia coli and Salmonella typhimurium. Extract of sour lemon peel has a significant antimicrobial effect, which can be used as an alternative to synthetic antibiotics with increasing microbial resistance.