بررسی اثرسیستمهای مختلف حلال بر استخراج عصاره هسته انگور و ارزیابی خواص ضدمیکروبی آن

امیرسالاری*[1]، محمدباقرحبیبی نجفی[2]، رضافرهوش[2]،سید حسن مرعشی[3]

تاریخ دریافت: ۸۷/۲/۲۵ تاریخ پذیرش: ۸۷/۱۱/۳۰

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی اثر سیستم‌های حلال سه جزیی بر استخراج عصاره هسته انگور و اثر ضد میکروبی این عصاره‌ها بر برخی از باکتری‌های عامل فساد و بیماری‌زا صورت گرفت. در این خصوص عصاره هسته انگور بوسیله ۶ سیستم مختلف حلال سه جزیی استخراج گردید. اثر ضد میکروبی این عصاره‌ها توسط تعیین حداقل غلظت کشندگی(MBC) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نمایانگر توانایی بالای عصاره هسته انگور در ارتباط با از بین بردن باکتری‌های مورد بررسی می‌باشد. در این ارزیابی باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی حساسیت بیشتری نشان دادند. حداقل غلظت کشندگی عصاره‌های مختلف با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشته و در مورد باکتری‌های سالمونلاانتریتیدیس ، اشرشیا کلی وانتروباکترآئروژنیز ۱۰۰۰ پی پی ام و برای باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس ولیستریا مونوسیتوژنز ۵۰۰ پی پی ام می‌باشد.

مقدمه

در سال‌های اخیر تحقیقات زیادی به منظور ارزیابی اثر ضد میکروبی انواع اسانس ها و عصاره ها صورت گرفته است که حاکی از قدرت و توانایی این ترکیبات در ممانعت از رشد دامنه وسیعی از میکروارگانیزم‌های بیماری زا و عامل فساد در مواد غذایی می‌باشد. از آنجا که این ترکیبات طبیعی بوده و به نوعی در بسیاری از موارد حاوی ترکیبات سلامتی زای دیگری نیز هستند، لذا به منظور حفظ سلامت انسان بسیار مورد تاکید می‌باشند.

انگور یکی از میوه هایی است که بیشترین سطح زیر کشت را در دنیا به خود اختصاص داده است بطوریکه سالانه حدود ۵۸ میلیون تن انگور در دنیا تولید می‌شود (۱۴). هسته انگور از ضایعات کارخانه‌های عصاره گیری انگور می‌باشد که با دارا بودن ترکیبات آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی بسیار قوی بطور گسترده ای از آن برای درمان بسیاری از بیماری ها از جمله انواع سرطان ها، بیماری‌های قلبی – عروقی، زخم معده، چاقی مفرط، التهابات پوستی و نیز به عنوان یک نگهدارنده موثر و قوی در موادغذایی استفاده می گردد.

یکی از مهمترین مراحلی که می‌تواند تاثیر فراوانی بر استخراج ترکیبات ضد میکروبی و در نهایت توانایی بیشتر این عصاره در ارتباط با میکروارگانیسم‌های مختلف گردد

* - نویسنده مسئول مکاتبات: Email: SalarSohail@yahoo.com
۱- کارشناسی ارشد گروه علوم وصنایع غذایی دانشگاه فردوسی مشهد، اداره امور تغذیه دانشگاه فردوسی مشهد ،تلفن ۸۷۹۶۷۷۵ -۸۷۹۶۷۹۱
salarsohail@yahoo.com
۲- به ترتیب اعضاء هیات علمی استاد و دانشیار گروه علوم وصنایع غذایی دانشگاه فردوسی مشهد
۳- استادیار، عضو هیات علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

روش استخراج و مخصوصاً نوع حلال‌های مورد استفاده می‌باشد . نگاهی به مطالعات اخیر محققان نشان می‌دهد در خصوص بهینه سازی ساختار حلال‌های مختلف جهت استخراج کمی و کیفی تحقیقات پراکنده‌ای صورت گرفته و این موضوع بطور کامل وجامع مورد بررسی قرار نگرفته است.

شوکو (۱۹۹۹) فعالیت ضد میکروبی عصاره متانولی هسته انگور را گزارش کرد. اسیدگالیک به عنوان ترکیب موثر عصاره هسته انگور در جلوگیری از رشد اشرشیا کلی و سالمونلا انتریتیدیس تشخیص داده شد . چا (۲۰۰۲) خاصیت ضد میکروبی عصاره هسته انگور، نایسین، لیزوزیم و EDTA را در ترکیب با آلژینات سدیم و کاپا کاراژینان بعنوان پوششهای خوراکی مورد برررسی قرار داد .تیمارهای عصاره هسته انگور وترکیب EDTA - هسته انگور بیشترین خاصیت ضد میکروبی را از خود نشان دادند . برای بررسی خاصیت ضد میکروبی ، باکتری‌های لیستریا اینوکا ، اشرشیا کولی ، سالمونلا انتریتیدیس ، استافیلوکوکوس اورئوس و میکروکوکوس لوتئس مورد ارزیابی قرار گرفتند(۱۲). روش مورد استفاده دراین ارزیابی روش نفوذ آگار بود که در سال ۱۹۸۳ توسط بارفوت ارایه گردید . نتایج حاکی از این است که تیمار عصاره هسته انگور از رشد تمام باکتریهای مذکور جلوگیری نموده است.

جایاپراکاشا و همکاران (۲۰۰۳) خصوصیات ضد میکروبی عصاره هسته انگور حاصل از دو سیستم حلال را مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که عصاره‌های استونی در مقایسه با عصاره‌های متانولی در غلظت‌های پایین تری از رشد باکتری ها جلوگیری می کنند(۱۴) . بایدار و همکاران (۲۰۰۴) در بررسی خصوصیات ضد باکتریایی عصاره هسته انگور بر ۱۵ باکتری بیماری زا و عامل فساد دریافتند که سیستم حلال اتیل استات : متانول : آب به نسبت ۶۰: ۳۰: ۱۰ بر روی برخی باکتری ها مانند باسیلوس برویس و لیستریا مونوسیتوژنز موثرتر از سیستم حلال استون : آب : اسید استیک ، ۹۰:۵:۹ : ۰/۵می باشد و در مورد بقیه باکتری ها سیستم استون : آب : اسید استیک موثرتر است.

بایدار و همکاران در سال ۲۰۰۴ بوسیله سه سیستم حلال استون : آب : اسید استیک ۹۰:۵:۹/۵/ اتیل استات : متانول : آب به نسبت ۶۰:۳۰:۱۰ و اتانول : آب به نسبت۹۵:۵ میزان کل ترکیبات فنولی، همچنین خواص ضد باکتریایی عصاره هسته انگور را مورد بررسی قرار دادند. عصاره ها در غلظت‌های ۱، ۲، ۴و۲۰درصد برای ارزیابی خواص ضدمیکروبی بر علیه برخی باکتریهای عامل فساد و بیماریزا مورد استفاده قرار گرفتند. در این پژوهش از روش دیسکهای کاغذی استفاده گردید. بدین منظور باکتریهای بیماریزا وعامل فساد آئروموناس هیدروفیلا، باسیلوس برویس، باسیلوس سرئوس، باسیلوس مگاتریوم، باسیلوس سابتیلیس، باسیلوس آمیلوکوفاسینس، انتروباکتر آئروژینز، انتروکوکوس فکالیس، اشرشیا کولی، کلبسیلا پنومونیا، لیستریا مونوسیتوژنز، پروتئوس وگانی، سودوموناس آئروژینز، سالمونلا مگماتیس و استافیلوکوکوس‌اورئوس موردآزمون قرار گرفتند.

براساس نتایج بدست آمده سیستم استون : آب : اسید استیک خاصیت ضدمیکروبی بهتری نسبت به سایر سیستم‌های حلال نشان داد. عصاره ها در غلظت ۲۰درصد از رشد تمامی باکتریها بجز باسیلوس آمیلوکوفاسینس جلوگیری کردند (۱۰).

مواد و روش ها

سویه‌های میکروبی مورد استفاده

سویه‌های میکروبی *اشرشیاکلی* (PTCC۱۳۹۹) ،*استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC۱۴۳۱) ، *انتروباکتر آئروژینز*(PTCC۱۲۲۱) ، *باسیلوس سرئوس*، *لیستریا مونوسایتوژنز* (بصورت آمپول‌های لیوفیلیزه) از سازمان

پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، کلکسیون باکتریها و قارچهای ایران و *سالمونلا انتریتیدیس* ازمؤسسه سرم‌سازی رازی تهیه گردید.

تهیه و آماده سازی ماده اولیه

تفاله حاصل از آبگیری انگور زرد مشهد از کارخانه شهد ایران واقع در مشهد تهیه گردید. پس از خشک شدن در هوای آزاد، هسته ها به وسیله دست از تفاله جدا شده و پس از شستشو با آب به وسیله آون تحت خلأ در ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۵ ساعت خشک گردیدند. سپس توسط آسیاب خانگی به صورت پودری کاملا یکنواخت درآمده و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد نگهداری شدند (۱۴).

انتخاب سیستم حلال

سیستم‌های حلال مورد استفاده در این پژوهش بر اساس طبقه بندی اشنایدر از گروه‌های مختلف و با قدرت انتخابگری متفاوت انتخاب گردیدند. نوع حلال ها و نسبت آنها طوری تعیین شد تا قطبیت کل سیستم تقریبا ثابت باشد (۱۵).

جدول ۱- ساختار و ترکیب حلالهای مورد استفاده در استخراج عصاره هسته انگور

شماره سیستم حلال	اتیل استات	متانول	آب	پارامتر قطبیت
۱	۶۰	۳۰	۱۰	۵/۶
۲	۴۵	۴۵	۱۰	۵/۶
۳	۳۰	۶۰	۱۰	۵/۶
	استون	متانول	آب	پارامتر قطبیت
۴	۶۰	۳۰	۱۰	۵/۲
۵	۴۵	۴۵	۱۰	۵/۳
۶	۳۰	۶۰	۱۰	۵/۴

توجه به دو ویژگی قدرت[1] و انتخابگری[2] حلالها کمک شایانی به انتخاب سیستم حلال مناسب می‌نماید. مناسبترین راه برای توصیف قدرت یا به عبارت ساده‌تر قطبیت[3] حلالها معرفی پارامتر قطبیت یا P' است که برای حلالهای مختلف در محدوده ۲- تا ۱۰ قرار دارد. بر این اساس ۶ سیستم حلال سه جزیی به شرح جدول ۱ برای استخراج عصاره ها در نظر گرفته شد (۱۵).

استخراج عصاره هسته انگور

برای هر تیمار ۳۰ گرم پودر هسته انگور با ۳۰۰ میلی لیتر ازسیستمهای حلال مذکور مخلوط شده و سوسپانسیون به آرامی هم زده شد. به منظور استخراج بهتر، سوسپانسیون حاصل درون ارلن مایر به مدت ۱۲ ساعت به صورت کاملا تصادفی در اینکوباتور شیکر دار قرار گرفت. دما در ۲۷ درجه سانتی گراد و سرعت همزدن ۱۲۰ دور در دقیقه تنظیم گردید. عصاره‌های حاصل ابتدا توسط پارچه صافی و سپس با استفاده از قیف بوخنر و کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شد. قبل از صاف کردن توسط کاغذ صافی به روغن استخراج شده اجازه داده شد تا براساس اختلاف دانسیته با حلالهای مورد استفاده از حلال جدا گردد. بخش اعظم حلالها با استفاده از دستگاه تبخیر کننده چرخان حذف گردید. عصاره تغلیظ شده در سطح بشقاب‌های شیشه‌ای به

1 - Solvent strength
2 - Solvent selectivity
3 - Polarity

صورت ورقه نازک پخش و آنگاه به آون تحت خلاءزیر ۴۰ درجه سانتی گراد منتقل گردیدند. پس از خشک شدن عصاره ها بوسیله تیغه فلزی از روی سطح بشقاب‌های شیشه ای خراش داده و تا رسیدن به وزن ثابت خشک در دسیکاتور قرار گرفتند. در انتها بازده استخراج محاسبه شده و پودر به دست آمده تا زمان انجام آزمایشهای بعدی در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد نگهداری شد (۱۷).

جدول ۲. دمای گرمخانه گذاری و محیط کشت مورد استفاده برای فعال سازی سویه‌ها

گونه باکتری	شماره PTCC	محیط کشت مورد استفاده	دمای گرمخانه گذاری(°C)
Staphylococcus aureus	۱۴۳۱	Trypticase Soy Agar	۳۷
Escherichia coli	۱۳۹۹	Nutrient Agar	۳۷
Enterobacter aerogenes	۱۲۲۱	Nutrient Agar	۳۷
Salmonella enteritidis *	۱۲۴۷	Brain Heart Agar	۳۷

سالمونلا انتریتیدیس در مؤسسه سرم سازی رازی از نمونه‌های غذایی ایزوله شده و لیوفیلیزه گردیده بود.

تهیه کشت مادر از سویه‌های میکروبی

جهت تهیه کشت مادر[1] مقداری از سوسپانسیون میکروبی فعال شده روی محیط آگار منتقل گردید. سپس محیط‌های کشت به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور گرمخانه‌گذاری شد(مطابق جدول۲) . در مرحله بعد با استفاده از کشت مادر رشد یافته، کشت دیگری به نام کشت ذخیره[2] تهیه گردیدو در مراحل بعدی از کشت ذخیره استفاده شد.

تهیه استاندارد ۰/۵ مک فارلند

استانداردهای مک فارلند با افزودن حجم خاصی از محلول اسید سولفوریک ۱٪ ، باریم کلرید ۱/۱۷۵٪ برای بدست آوردن یک محلول سولفات باریم با دانسیته نوری خاص تهیه می‌شود . معمولاً استاندارد ۰/۵ مک فارلند که حاوی ۹۹/۵ میلی لیتر اسیدسولفوریک ۱٪ و ۰/۵ میلی لیتر کلریدباریم ۱/۱۷۵٪ می‌باشد بیشتر کاربرد دارد. استاندارد ۰/۵ مک فارلند کدورتی معادل با یک سوسپانسیون باکتریایی حاوی $1/5\times10^{8}$ cfu/ml ایجاد می کند (۹).

تهیه سوسپانسیون میکروبی ۰/۵ مک فارلند

برای تهیه سوسپانسیون میکروبی نیاز به کشت ۲۴ ساعته از هر باکتری می‌باشد بنابراین ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش، از کشت ذخیره به محیط کشت شیبدار آگار مغذی تلقیح انجام گردید. پس از رشد کشت مربوطه سطح آن با محلول نرمال سالین شسته شد و سوسپانسیون غلیظ میکروبی حاصل گردید. آنگاه مقداری از سوسپانسیون میکروبی، داخل لوله استریل درب دار حاوی نرمال سالین ریخته شد و کدورت آن با اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر اندازه گیری شد و تا هنگام برابر شدن کدورت محلول با کدورت محلول ۰/۵ مک فارلند، با نرمال سالین رقیق گردید (۹،۵).

تعیین حداقل غلظت باکتری کشی

برای تعیین MBC[3] از روش کشت سطحی استفاده شد . حجم یک میلی لیتر از سوسپانسیون میکروبی ۰/۵ مک فارلند به لوله حاوی ۹ میلی لیترمحلول رینگر انتقال داده شد و رقیق سازی تا رقت 10^{-4} برای تیمارها انجام گردید و سپس ۱۰۰µl از لوله اصلی حاوی سوسپانسون میکروبی

1 - Master Culture
2 - Sub-Master Culture
3 - Minimum Bactericidal Concentration

روی سطح پلیت‌های حاوی محیط مولرهینتون آگار که درحالت مذاب با غلظتهای مختلف۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ قسمت در میلیون از تیمارهای مختلف عصاره هسته انگور مخلوط شده بودند، انتقال داده شد سوسپانسیون میکروبی با اسپریدر استریل بطور یکنواخت بروی پلیت ها گسترده شد . پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت داخل گرمخانه ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شدند سپس تعداد کلونی‌ها بوسیله کلنی کانتر شمارش گردید(۴).

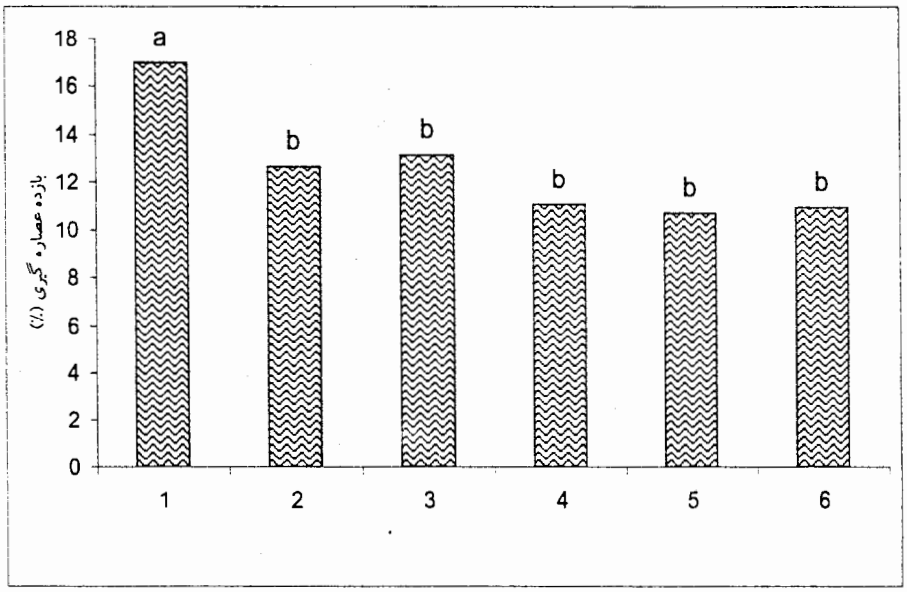
طرح آماری

به منظور بررسی اثر حلال‌های مختلف بر بازده استخراج واثر ضد میکروبی آن آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار اجرا شد.داده ها با استفاده از نرم افزار MSTATC مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و پس از آنالیز واریانس، میانگین‌های مربوطه با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح $\alpha = ۰/۰۱$ مقایسه شدند. در مورد آزمون ضد میکروبی حداقل غلظت کشندگی برای هر باکتری به کمک مقایسه میانگین‌های مربوطه تعیین گردید.

نتایج و بحث

اثر سیستم حلال بر بازده استخراج

نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که سیستم حلال ۱؛ اتیل استات: متانول: آب ۶۰:۳۰:۱۰ بیشترین بازده استخراج را ایجاد می کند(۱۷ درصد). سیستم‌های حلال دیگر تفاوت معنا داری را در بازده استخراج ایجاد نمی کنند (شکل ۱) .



شکل ۱. اثر سیستم‌های مختلف حلال بر روی بازده عصاره‌گیری هسته انگور.

در بین سیستم‌های حلال مورد استفاده بیشترین نسبت اتیل استات مربوط به سیستم حلال ۱ می‌باشد که بالاترین بازده استخراج را داراست. بر اساس گزارش‌های جایاپراکاشا و همکاران(۲۰۰۲) اتیل استات در استخراج ترکیبات فنولی بسیار کارآمد است و مونومرهای بیشتری را مثل کاتچین و اپی کاتچین استخراج می کند(۱۷). جایاپراکاشا و همکاران (۲۰۰۳) با استخراج عصاره هسته انگور با دو سیستم حلال استونی و متانولی دریافتند که

سیستم متانولی در مقایسه با سیستم استونی بازده بالاتری دارد ولی در استخراج ترکیبات فنولی ضعیف تر از سیستم استونی عمل می کند. با ثابت بودن پارامتر قطبیت سیستم‌های حلال مورد استفاده، نتایج بدست آمده از این پژوهش تأییدی بر یافته‌های پیشین محققان می‌باشد(۱۷).

اثر سیستم حلال بر فعالیت ضد میکروبی تیمارهای مختلف هسته انگور

عصاره‌های هسته انگور بدست آمده از تیمارهای مختلف حلال بر همه باکتری‌های مورد بررسی اثر ضد میکروبی داشته و بجز باسیلوس سرئوس نتایج در مورد سایر باکتری‌ها یکسان می‌باشد و تیمارهای مختلف تفاوت معنی داری را با هم نشان نمی دهند. با توجه به جدول ۳ حداقل غلظت کشندگی عصاره ها برای باکتری‌های گرم مثبت کمتر از باکتری‌های گرم منفی می‌باشد که این با نتایج قبلی جایاپراکاشا و همکاران (۲۰۰۳) همخوانی دارد(۱۴).

حداقل غلظت کشندگی عصاره‌های مختلف هسته انگور *برای سالمونلا انتریتیدیس و اشرشیاکلی وانتروباکترآئروژنیز* ۱۰۰۰پی پی ام و برای *استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسیتوژنز* ۵۰۰ پی پی ام می‌باشد. در مورد *باسیلوس سرئوس* حداقل غلظت کشندگی عصاره‌های بدست آمده از سیستم‌های حلال۲و۳ به ترتیب اتیل استات : متانول : آب به نسبت ۳۰: ۶۰: ۱۰ و اتیل استات : متانول : آب به نسبت (۴۵ : ۴۵ : ۱۰) ۱۲۵ پی پی ام و در مورد بقیه سیستم‌های حلال ۲۵۰ پی پی ام بدست آمد. نتایج نشان می‌دهد که در بین باکتری‌های مورد بررسی *باسیلوس سرئوس* نسبت عصاره هسته انگور حساس تر از بقیه می‌باشد. جایاپراکاشا و همکاران (۲۰۰۳) در بررسی ویژگی‌های ضد میکروبی عصاره هسته انگور به چنین نتیجه ای رسیدند و همچنین دریافتند که عصاره‌های استونی در مقایسه با عصاره‌های متانولی در غلظت‌های پایین تری از رشد باکتری ها جلوگیری می کنند (۱۴). مهرابیان و همکاران (۱۳۷۵) نیز به نتایج مشابهی دررابطه با این باکتری در برابر عصاره کاکوتی دست یافتند (۷). بایدار و همکاران (۲۰۰۴) در بررسی خصوصیات ضد باکتریایی عصاره هسته انگور بر ۱۵ باکتری بیماری زا وعامل فساد دریافتند که سیستم حلال اتیل استات : متانول : آب به نسبت ۶۰ : ۳۰ :۱۰ بر روی برخی باکتری ها مانند باسیلوس برویس و لیستریا مونوسایتوژنز موثرتر از سیستم حلال استون : آب : اسید استیک به نسبت ۹۰ :۹/۵ : ۰/۵می باشد و در مورد بقیه باکتری ها سیستم استون : آب : اسید استیک موثرتر می‌باشد (۱۰).

جایاپراکاشا و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که عصاره هسته انگور بر تمامی باکتریهای مورد بررسی خاصیت بازدارندگی بسیار خوبی داشته است و کمترین غلظت بازدارندگی را برای کلیه باکتریها تعیین نمودند. بر اساس نتایج به دست آمده کمترین غلظت بازدارندگی برای باکتریهای گرم مثبت کمتر از باکتریهای گرم منفی بود و نیز کمترین غلظت بازدارندگی برای باکتریهای *باسیلوس سرئوس، باسیلوس سابتیلیس و باسیلوس کواگولانس* کمتر از باکتریهای گرم مثبت دیگر بود و نتایج نشان داد که عصاره استونی خاصیت ضد میکروبی بیشتری از خود نشان می‌دهد(۱۴).

جدول۳. حداقل غلظت کشندگی عصاره‌های مختلف هسته انگور(قسمت در میلیون)

باکتری / سیستم حلال	*سالمونلا انتریتیدیس*	*اشرشیاکلی*	*انتروباکتر آئروژینز*	*استافیلوکوکوس اورئوس*	*لیستریا مونوسایتوژنز*	*باسیلوس سرئوس*
۱	a۱۰۰۰	a۱۰۰۰	a۱۰۰۰	b۵۰۰	b۵۰۰	c۲۵۰
۲	a۱۰۰۰	a۱۰۰۰	a۱۰۰۰	b۵۰۰	b۵۰۰	d۱۲۵
۳	a۱۰۰۰	a۱۰۰۰	a۱۰۰۰	b۵۰۰	b۵۰۰	d۱۲۵
۴	a۱۰۰۰	a۱۰۰۰	a۱۰۰۰	b۵۰۰	b۵۰۰	c۲۵۰
۵	a۱۰۰۰	a۱۰۰۰	a۱۰۰۰	b۵۰۰	b۵۰۰	c۲۵۰
۶	a۱۰۰۰	a۱۰۰۰	a۱۰۰۰	b۵۰۰	b۵۰۰	c۲۵۰

شوکو و همکاران (۱۹۹۹) فعالیت ضد میکربی عصاره متانولی هسته انگور را گزارش کردند. اسید گالیک به عنوان ترکیب موثر در جلوگیری از رشد *اشرشیاکلی* و *سالمونلا انتریتیدیس* در عصاره هسته انگور تشخیص داده شد (۱۴). وجود سه گروه هیدروکسیل در گالیک اسید در ارتباط با خاصیت ضد میکروبی این ترکیب نقش ایفا می‌کند. اسید گالیک (۳، ۴، ۵-تری هیدروکسی اسید بنزوئیک) بطور گسترده ای در گیاهان مختلف وجود دارد و آن را به عنوان جزئی از تانهای گیاهی در نظر می‌گیرند. تمام بنیانهای دارای حلقه بنزنی در مقابل *استافیلوکوکوس اورئوس* موثر می‌باشند(۱۴).

نتیجه گیری کلی

بر اساس نتایج بدست آمده چنین به نظر می‌رسد که حلالهای سه جزیی مذکور نتوانستند اختلاف معنی داری را در توانایی ضد باکتریایی عصاره‌های حاصل بوجود آورند و تقریباً در غالب موارد بطور یکسان عمل نموده‌اند. درمقایسه با نتایج مطالعات سایر محققان نتایج این تحقیق حاکی از آن است که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به عصاره‌های مذکور حساسیت بیشتری از خود نشان می‌دهند و در این میان با سیلوس سرئوس از حساسیت بیشتری برخوردار می‌باشد. نتایج حاصل از حداقل غلظت کشندگی عصاره‌های مختلف نشان می‌دهد عصاره هسته انگور در غلظت‌های زیر ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر توانایی بسیار بالایی در از بین بردن باکتری‌های مختلف دارد و لذا می‌تواند بعنوان ترکیبی بسیار موثر در غلظت‌های پایین در برابر عوامل بیماری‌زا و ایجاد کننده فساد در صنایع غذایی در و پزشکی بکار رود.

منابع

۱) قرآن کریم. سوره مبارکه رعد، آیه ۴.

۲) خیامی، م. و برجیان، ا. ۱۳۸۳. بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره آبی و الکلی سه گونه گیاه پیازدار در ویترو. فصلنامه پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. شماره ۱۹. جلد اول. صفحات: ۱۱۰-۱۰۱.

۳) راد. س. ۱۳۸۷. افزایش عمر انباری محصولات باغی با استفاده از اثرات ضد قارچی اسانس‌های گیاهی. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد.

۴) رضایی، م. ب. و رسولی، ا. ۱۳۷۹. فعالیت بیولوژیکی و ترکیبات شیمیایی اسانس آویشن (Thymas x-prolock) و پونه

(Mentha longifolia). دو ماهنامه علمی – پژوهشی دانشگاه شاهد. سال هشتم. شماره ۳۱. صفحات: ۸-۱.

۵) گاراژیان، ر.، ۱۳۸۵. مطالعه اثر ضد میکروبی اسانس کاکوتی کوهی بر باکتریهای مولد فساد و بیماری زای مواد غذایی. پایان نامه کارشناس ارشد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی.

۶) مجد ا.، مهرابیان ص. و جعفری، ز. ۱۳۸۳. بررسی خواص ضدمیکروبی عصاره‌ی بخش‌های گیاه گزنه دوپایه (Z.clinopodioides). فصلنامه پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. شماره ۱۹. جلد سوم. صفحات ۳۱۲-۲۸۷.

۷) مهرابیان، ص. و جعفری، ز. و مجد، ا. ۱۳۷۵. بررسی اثر ضدمیکروبی سه گونه از گیاهان تیره نعناع (کاکوتی، مریم گلی و نعناع)، بر ۱۵ سویه باکتری بیماریزای روده‌ای و عامل مسمومیت غذایی. نشریه علوم. جلد هشتم. شماره ۱. صفحات: ۱۱-۱.

۸) همایون مهر، م. ۱۳۷۸. ارزیابی نقش بازدارندگی اسانس‌های آویشن، مرزه و زیره بر رشد استافیلوکوکوس اورئوس. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد.

۹) یزدی نژاد، ع. ۱۳۸۲. اسانس‌های Artemisia khorasanica و Artemisia kopedagh و بررسی اثرات ضدمیکروبی آنها. پایان نامه دکترای داروسازی، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد.

10) Baydar, N. G., Ozkan, G. and sagdic, O. 2004, Total phenolic contents and antibacterial activities of grape seed extracts. *Food Control.*, 15:335-339

11) Beuchat, L. R. 2001. Control of Foodborne Pathogens and Spoilage Microorganisms by Naturally Occurring Antimicrobials. *Microbial Food Contamination.* CRC Press. London.

12) Cha, S. D., Choi, H. J. and Park, J.2002. Antimicrobial films based on Na-alginate and κ-carrageenan. *Lebensm Technol.*, 35: 715-719

13) Grill, A.O. an Holey, R. A.2000.Inhibition of bacterial growth on ham blogna by Lysozyme, Nisin and EDTA. *Food Research International.*,33: 83-90

14) Jayaprakasha, G.K. 2003. Antibacterial and antioxidant activities of grape (Vitis vinifer) seed extracts. *Food Research International.*,36: 117-122.

15) Kallithraka, S., Viguera, C.G. and Bakker, J.1995.Survey of Solvents for the extraction of grape seed phenolics. *Phytochemical analysis*. 6:265-267

16) Sadic. O., Kuca,A., ozcan, M. and ozelik, S.2002. Effects of Turkish spice Extracts at various Concentration on the Growth of Escherichia coli: O157:H7.*Food Microbiology*. 19(5): 473-78.

17) Saxena, a., V. K. an Sharma, R. N. 1999. Antimicrobial activity of the essential oil of toddalia asiatica. *Fitotrapia.*, 70: 64-66.

18) Shafiee, A., Javidnia,K. and tabatabai, M.1999. Volatile constituents and antimicrobial activity of zataria multiflora, population iran .*Journal of Chemistry & Chemistry Engineerig.*, 18(1): 1-5.

19) Sivropoulou, A, Nikoloau, C., Papanikoloau, E., kokkini,S., Lanaras. T. and Arsenaki , M.1997. Antimicrobial properties of plant essential oil. *Journal of Agricaltuer Food Chemistry.*, 45: 3197-3201

20) Smith-Palmer, A., Stewart, J. and Fufe, L.1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food borne pathogens. *Letters in Applied Microbiology.*, 26(2): 112-118.

21) Snyder, L.R. 1978. Classification of solvent properties of common liquids. *Journal of Chromatographic Science*. 16:223-234

Survey of solvents extraction of grape seed extracts and assay of antimicrobial properties

A. Salari *[1] , M.B. Habibi Najafi[2], R. Farhoosh[3], S.H. Marashi[4]

This study has been done to survey of solvent system effect on extraction of grape seed extract and its antimicrobial properties. For this purpose, grape seed extracts were extracted with six different solvent systems. Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of extract on six spoilage and Food-born pathogens was determined. The results indicated that MBC of different extracts have no significant difference and its value for *Salmonella enteritidis, Escherichia coli, Enterobacter aerogenes* was 1000 ppm. This value for *S.aureus* and *listeria monocitogenes* was 500 ppm. Results showed that gram positive bacteria were more sensitive than gram negative ones.

Corresponding Author, Email: SalarSohail@yahoo.com
1 - Former, MSC. Student of Food Sci & Technology , Ferdowsi University of Mashhad
2 - Professor of Dept . of Food Sci & Technology, Ferdowsi University of Mashhad
3 - Associate Professor of Dept. of Food Sci & Technology, Ferdowsi University of Mashhad.
4 - Associate Professor of Dept. of Food Sci & Technology, Ferdowsi University of Mashhad.