

اثرات ضد باکتریایی عصاره پودری میوه کامل و آبمیوه انار و کدو قلیانی (Bottle Gourd) بر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی

قدرت‌اله ناصح^۱، محمد حسن پور فرد^۲، سوبه‌اش بودانکار^۳، مادهوریما دیکشیت^۴

چکیده

زمینه و هدف: استفاده از داروهای آنتی‌بیوتیکی با مشکلاتی نظیر عوارض جانبی ناخواسته و مقاومت دارویی همراه است. گیاهان می‌توانند به عنوان یک جانشین مناسب در نظر گرفته شوند؛ زیرا ممکن است دارای عوارض جانبی کمتری باشند. انار و کدو قلیانی (Bottle Gourd) از میوه‌هایی هستند که به سهولت در بسیاری از مناطق یافت می‌شوند. مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر ضد باکتریایی آنها انجام شد.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی عصاره پودری میوه کامل انار و کدو قلیانی و آبمیوه بدون پوست آنها به منظور بررسی اثرات ضد باکتریایی تهیه و با استفاده از روش دیسک پلیت بر علیه شش گونه مختلف باکتری، شامل سالمونلا تیفی، اشریشیا کلی، کلبسیلا پنومونیه، باسیلوس سرئوس، باسیلوس سوبتیلیس و شیگلا دیسانتری انجام شد. با افزودن نمونه‌ها و تتراسیکلین (به عنوان مرجع) در محیط کشت حاوی باکتری، میزان هاله عدم رشد اندازه‌گیری شد (حداقل ۳ بار برای هر نمونه). برای مقایسه بین گروه‌ها از آزمون‌های آنالیز واریانس و توکی در سطح معنی‌داری $P < 0.05$ استفاده گردید.

یافته‌ها: عصاره پودری انار با مقدار ۲۵۰ میکروگرم در دیسک توانست جلوی رشد باکتری‌های مورد مطالعه به جز باسیلوس سوبتیلیس را به طور خفیف بگیرد، آبمیوه انار و کدو قلیانی و عصاره پودری کدو قلیانی فعالیت ضد باکتریایی نشان ندادند. نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که عصاره پودری کامل انار دارای فعالیت ضد باکتریایی خفیفی است که می‌تواند ناشی از مقادیر بیشتر اجزای پلی‌فنولیک آن در مقایسه با کدو قلیانی باشد.

واژه‌های کلیدی: انار، کدو قلیانی، فعالیت ضد باکتریایی، تتراسیکلین

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۸۹؛ ۱۷(۴): ۲۶۴-۲۵۷

دریافت: ۱۳۸۹/۰۳/۱۸ اصلاح نهایی: ۱۳۸۹/۱۲/۱۵ پذیرش: ۱۳۸۹/۱۲/۱۶

^۱ نویسنده مسؤل، استادیار گروه جراحی، بیمارستان امام رضا^(ع)، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، ایران

آدرس: بیرجند- خیابان طالقانی- بیمارستان امام رضا^(ع)- بخش جراحی

تلفن: ۰۵۶۱-۲۲۲۲۳۰۰. نمابر: ۰۵۶۱-۴۴۳۰۰۷۶. پست الکترونیکی: ghodrat.naseh@yahoo.com

^۲ استادیار گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، ایران

^۳ استاد گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه بهاراتی، هند

^۴ استاد گروه بیوشیمی، دانشگاه پونا، هند

مقدمه

هرچند در سه دهه گذشته صنایع دارویی تعداد قابل ملاحظه‌ای از آنتی‌بیوتیک‌ها را تولید کرده‌اند اما مقاومت میکروارگانیسم‌ها نسبت به این داروها افزایش یافته است؛ به طور کلی باکتری‌ها از نظر ایجاد مقاومت اکتسابی و ذاتی نسبت به داروهایی که به عنوان عوامل درمانی به کار می‌روند، توانایی ژنتیکی دارند (۱)؛ بنابراین بایستی اقداماتی به منظور کاهش مقاومت باکتریایی انجام گیرد که یکی از راه‌ها، کشف داروهای جدید از منابع طبیعی و صناعی می‌باشد (۲). انار^۱ درختچه‌ای است از خانواده پونیکاسه که بومی ایران و هند (قسمت شمالی) می‌باشد و از زمان‌های قدیم در سراسر ناحیه مدیترانه‌ای آسیا، آفریقا و اروپا کشت می‌شده است (۳). قسمت خوراکی آن به صورت تازه و همچنین به صورت فرآورده‌هایی از قبیل آب‌میوه، رب، مربا و یا افزودنی به عنوان طعم‌دهنده و رنگ‌دهنده در دیگر نوشیدنی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴). میوه انار از نظر ترکیبات شیمیایی غنی از فلاونوئیدها (۱۰/۰-۲۰/۲٪) می‌باشد. تقریباً ۳۰٪ از همه آنتوسیانیدین‌های^۲ موجود در انار در پوست آن است؛ همچنین میوه انار حاوی ۸۵/۴٪ رطوبت، ۱۰/۶٪ قند، ۱/۴٪ پکتین و ۰/۱ گرم اسید سیتریک (اسید اصلی در بیشتر گونه‌های آن) و مواد دیگر می‌باشد (۵، ۶). از دانه انار ترکیباتی مانند ایزوفلاون^۳، جنیستین^۴، جنیستین^۵، دیادزین^۶، دیادزین^۷ و استرول استخراج شده است (۷، ۸). پونیکالژین^۸ مسؤول فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای انار می‌باشد. انار دارای برخی دیگر از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (۹، ۱۰). در طب سنتی یونان از آب انار برای درمان التهاب، کرم‌های روده‌ای، سرفه‌های مداوم و اسهال استفاده می‌شده است؛ همچنین

مصرف آن به منظور تقویت سیستم عروقی و پیشگیری از تصلب شرایین، آسم و برونشیت تجویز می‌شده است (۱۱). اخیراً اثرات ضد التهابی عصاره میوه انار که با مهار فعالیت آنزیم‌های تولیدکننده ایکوزانوئید^۹ همراه است، گزارش شده است (۱۲).

کدو قلیانی^{۱۰} از خانواده کوکوربیتاسه^{۱۱} می‌باشد. این گیاه در سراسر هند به صورت وحشی و کشت‌شده وجود دارد و به عنوان سبزی در تمام طول سال مورد استفاده قرار می‌گیرد. در میوه کدو قلیانی ترکیباتی نظیر فلاونوئید، استرول، ساپونین^{۱۲}، کوکوربیتاسین^{۱۳}، ترکیبات پلی‌فنولیک، پروتئین و کربوهیدرات وجود دارد (۱۳، ۱۴). در طب سنتی از همه قسمت‌های کدو قلیانی شامل میوه، برگ، ریشه، دانه و گل استفاده درمانی می‌شود. میوه دارای اثرات مدر، ضد صفرا، جلوگیری‌کننده از تشکیل سنگ، ضد سرفه، قی‌آور و مسهل می‌باشد و همچنین به عنوان غذا در طی هزاران سال مورد استفاده قرار می‌گرفته است (۱۵-۱۷).

مصرف عصاره‌های کلروفومی و الکلی در موش صحرایی باعث کاهش معنی‌داری در مقدار کلسترول تام، تری‌گلیسیرید، LDL^{۱۴} و افزایش HDL^{۱۵} شده است. اثرات حفاظت کبدی، ضد دیابت و تنظیم سیستم ایمنی عصاره میوه گزارش شده است (۱۳، ۱۸).

در این مطالعه، اثرات ضد باکتریایی عصاره پودری و آب‌میوه انار و کدو قلیانی که دارای مقادیر بالایی از آنتی‌اکسیدان بوده، همچنین از جمله گیاهان در دسترس به شمار می‌روند، بر علیه شش گونه مختلف باکتری، شامل سالمونلا تیفی^{۱۶}، اشریشیا کلی^{۱۷}، کلبسیلا پنومونیه^{۱۸}،

^۹ Eicosanoid
^{۱۰} Lagenaria siceraria Molina Standley
^{۱۱} Cucurbitaceae
^{۱۲} Saponin
^{۱۳} Cucurbitacin
^{۱۴} Low Density Lipoprotein
^{۱۵} High Density Lipoprotein
^{۱۶} Salmonella typhi
^{۱۷} Escherichia coli
^{۱۸} Klebsiella pneumonia

^۱ Punica granatum L. or Pomegranate
^۲ Anthocyanidin
^۳ Isoflavan
^۴ Genistein
^۵ Genistin
^۶ Diadzein
^۷ Diadzin
^۸ Punicalagins

ب- استریلیزاسیون:

در یک ظرف ارلن مایر محیط نوترینت براث با غلظت مناسب در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل و به طور کامل مخلوط گردید و به آن آگار ۲/۵٪ اضافه و $\text{pH}=6/9 \pm 0/2$ در ۲۵ درجه سانتیگراد تنظیم گردید. محلول به دست آمده به مدت ۲۰ دقیقه در درجه حرارت ۱۲۱ درجه سانتیگراد و در فشار ۱۵ پاسکال اتوکلاو گردید. از محلول اتوکلاوشده، به مقدار ۱۵ میلی‌لیتر در هر یک از پلیت‌های استریل پتری ریخته و پس از منجمدشدن برای آزمایشات ضد باکتریایی بکار برده شد.

ج- روش آزمایش و بررسی:

اثرات ضد باکتریایی چهار نمونه تهیه شده، شامل: آب میوه انار، آب میوه کدو قلیانی و عصاره‌های پودری کدو قلیانی و میوه کامل انار با غلظت $5 \text{ mg}/100 \mu\text{l}$ با روش دیسک پلیت بر علیه شش گونه باکتری مذکور تعیین گردید (۱۹، ۲۰). طبق این روش با حل کردن عصاره‌های پودری در دی‌متیل‌فرمامید^۵ غلظت $5 \text{ mg}/100 \mu\text{l}$ تهیه گردید؛ سپس کشت‌های شش میکروارگانیسم با حجم باکتری مشخص (10^5 CFU/ml , $0/2 \text{ ml}$) روی پلیت‌های محتوی نوترینت آگار گسترش و تهیه گردید و دیسک‌های کاغذ صافی با قطر ۵ میلی‌متر محتوی 250 میکروگرم از نمونه‌ها روی پلیت‌ها قرار داده شد. پس از آن پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در درجه حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد در انکوباتور قرار گرفتند. فعالیت ضد باکتریایی نمونه‌ها با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد^۶ به میلی‌متر ثبت گردید. آنتی‌بیوتیک تتراسیکلین با مقدار ($30 \mu\text{g}/\text{disc}$) به عنوان شاهد مثبت و ماده ضد میکروبی مرجع در نظر گرفته شد و متوسط هاله عدم رشد از حداقل سه بار اندازه‌گیری برای نمونه‌های مختلف روی محیط کشت باکتری‌های مذکور به دست آمد. هاله عدم رشد بیش از ۱۸ میلی‌متر به عنوان فوق‌العاده حساس، بین ۱۵-۱۸ میلی‌متر، متوسط حساس، بین ۱۰-۱۵ میلی‌متر با حساسیت خفیف و

باسیلوس سرئوس^۱، باسیلوس سوبتیلیس^۲ و شیگلا دیسانتری^۳ انجام گرفت.

پس از بررسی متون قبلی تا زمان انجام تحقیق، هیچ مقاله و پژوهشی در زمینه اثرات ضد باکتریایی عصاره‌های میوه کامل انار و کدو قلیانی به دست نیامد.

روش تحقیق**۱- گیاهان و استخراج عصاره‌ها:**

در این مطالعه تجربی، میوه انار و کدو قلیانی برای مطالعه انتخاب شدند و میوه آنها از بازار شهر پونا خریداری و توسط گیاه‌شناس (Dr. A.M. Mujumdar) در مؤسسه تحقیقاتی Agharkar شناسایی و تأیید گردید؛ سپس هر کدام از میوه‌ها جداگانه به طور کامل (به همراه پوست و دانه و پالپ) به منظور عصاره‌گیری با آسیاب خرد شدند. عصاره‌گیری با حلال آب صورت گرفت و بعد از اتمام عملیات، عصاره‌ها با استفاده از دستگاه تقطیر در خلأ در درجه حرارتی حدود ۵۰ درجه سانتیگراد، تغلیظ شدند. در انتها عصاره پودری هر کدام تهیه گردید. آب میوه‌های انار (بدون پوست) و کدو قلیانی به طور جداگانه تهیه شدند.

۲- بررسی اثرات ضد میکروبی:

باکتری‌ها که قبلاً به تأیید آزمایشگاه مرجع رسیده بودند، از بخش میکروبیولوژی دانشگاه پونا (هندوستان) تهیه شدند و مورد آزمایش قرار گرفتند. در تمام آزمون‌های میکروبیولوژی که نیاز به محیط ضد عفونی بوده از هود لامینار فلو استفاده شد.

الف- محیط‌های کشت:

در آزمایشات دیسک پلیت از محیط کشت آگار استفاده شد. تمام محیط‌های کشت بر اساس دستور کارخانه سازنده تهیه و با استفاده از دستگاه اتوکلاو استریل شدند. محیط کشت از نوع نوترینت براث^۴ بود.

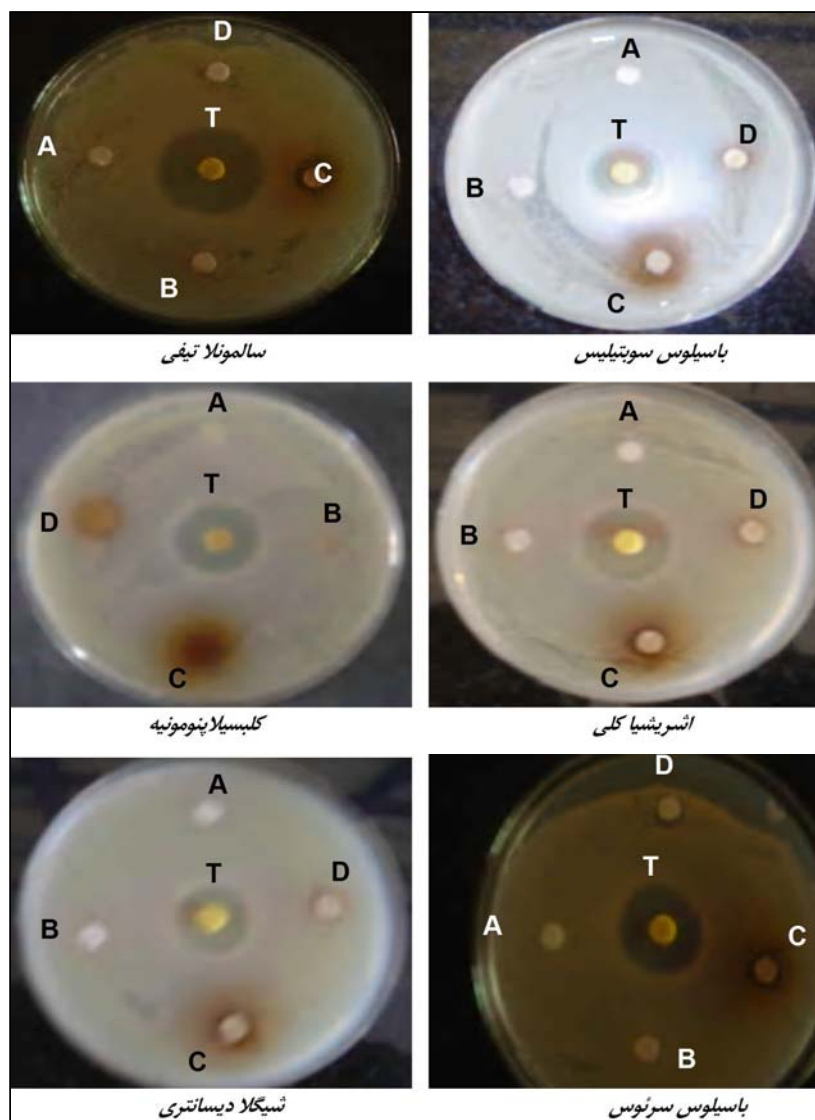
^۱ *Bacillus cereus*^۲ *Bacillus subtilis*^۳ *Shigella dysenteriae*^۴ *Nutrient broth*^۵ *Dimethyl Formamide (DMF)*
^۶ *Zone of Inhibition (ZOI)*

بسیلوس سرئوس، باسیلوس سوبتیلیس و شیگلا دیسانتری نشان داد که عصاره پودری میوه کامل انار با مقدار ۲۵۰ میکروگرم در دیسک می‌تواند به طور خفیف مانع رشد باکتری‌های شیگلا دیسانتری، سالمونلا تیفی، اشریشیا کلی، کلبسیلا پنومونیه و باسیلوس سرئوس شود؛ در صورتی که آب‌میوه انار، آب‌میوه کدو قلیانی و عصاره پودری کدو قلیانی دارای فعالیت ضد باکتریایی با غلظت‌های مذکور نمی‌باشند (جدول ۱ و شکل ۱).

کمتر از ۱۰ میلیمتر، مقاوم در نظر گرفته شد. مقایسه گروه‌های مورد مطالعه با استفاده از آزمون‌های آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی و نرم‌افزار Graph Pad Prism (Graph Pad Software, Inc. USA) (نسخه ۴/۰۳) انجام شد. $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری تلقی گردید.

یافته‌ها

فعالیت ضد باکتریایی نمونه‌های مختلف بر علیه باکتری‌های سالمونلا تیفی، اشریشیا کلی، کلبسیلا پنومونیه،



شکل ۱- تصاویر هاله عدم رشد نمونه‌ها بر علیه باکتری‌های مختلف

T: تتراسیکلین A: آب‌میوه کدو قلیانی B: آب‌میوه انار C: عصاره میوه کامل انار (۵ mg/۱۰۰µl) D: عصاره پودری میوه کدو قلیانی (۵ mg/۱۰۰µl)

جدول ۱- میانگین و انحراف معیار هاله عدم رشد نمونه‌ها بر حسب میلیمتر

تتراسیکلین (۳۰ µg/disc)	عصاره کدو قلیانی (۲۵۰ µg/disc)	عصاره میوه کامل انار (۲۵۰ µg/disc)	آب میوه انار (۵ µl/disc)	آب میوه کدو قلیانی (۵ µl/disc)	نمونه میکروارگانیزم
۲۰/۳±۰/۳۳	۷/۰±۰/۵۸	۱۳/۳±۰/۳۳	۶/۷±۰/۳۳	۵/۳±۰/۳۳	شیگلا دیسانتری
۲۰/۰±۰/۵۷	۶/۷±۰/۳۳	۹/۷±۰/۳۳	۵/۷±۰/۳۳	۵/۳±۰/۳۳	باسیلوس سوبتیلیس
۱۷/۳±۰/۳۳	۷/۷±۰/۳۳	۱۱/۷±۰/۳۳	۶/۳±۰/۳۳	۵/۰±۰/۰۰	سالمونلا تیفی
۱۹/۳±۰/۸۸	۸/۷±۰/۳۳	۱۱/۰±۰/۵۸	۶/۰±۰/۰۰	۵/۷±۰/۳۳	اشریشیا کلی
۱۹/۰±۰/۵۸	۸/۳±۰/۳۳	۱۱/۰±۰/۵۸	۵/۷±۰/۳۳	۵/۳±۰/۳۳	کلسیلا پنومونیه
۱۳/۰±۰/۵۸	۸/۰±۰/۵۸	۱۰/۳±۰/۳۳	۵/۷±۰/۶۸	۵/۳±۰/۳۳	باسیلوس سرئوس

هاله عدم رشد بیش از ۱۸ میلیمتر به عنوان فوق‌العاده حساس، بین ۱۵-۱۸ میلیمتر، متوسط حساس، بین ۱۰-۱۵ میلیمتر با حساسیت خفیف و کمتر از ۱۰ میلیمتر، مقاوم در نظر گرفته شد.

تتراسیکلین با تمام گروه‌ها در تمام میکروب‌ها معنی‌دار بود ($P < 0.001$).

گروه C با گروه‌های A و B در تمام میکروارگانیزم‌ها معنی‌دار بود ($P < 0.001$).

گروه C با گروه D در همه باکتری‌ها جز باکتری اشریشیا کلی در سطح $P < 0.05$ معنی‌دار بود.

بحث

می‌باشند. لازم به ذکر است که امروزه بیشتر عصاره گیاهانی بر علیه باکتری‌های بیماری‌زا در آزمایشگاه مورد بررسی قرار می‌گیرند که دارای ترکیبات پلی‌فنولیک بالاتری باشند. همچنین گزارش شده است که عصاره پودری میوه کامل انار دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به عصاره پودری کدو قلیانی می‌باشد. پوست انار حاوی تانن و به عنوان منبعی از آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشد و ترکیبات فنولیک مانند اسید گالیک و اسید الاژیک به مقدار فراوان در آن وجود دارد (۲۳). فرایندهایی به منظور فعالیت ضد باکتریایی ترکیبات پلی‌فنولیک بیان شده‌اند؛ از جمله این که این ترکیبات که اغلب تانن‌های متراکم نیز نامیده می‌شوند، در هوا آسیب‌پذیر بوده، از طریق واکنش‌های اکسیداسیون پلیمریزه می‌شوند. فنل‌های اکسیدشده، ممکن است نقشی در سمیت میکروارگانیزم‌ها داشته باشند. مهار باکتری‌ها توسط ترکیبات فنولیک ممکن است مربوط به کاهش آهن یا ایجاد باندهای هیدروژنی با پروتئین‌های حیاتی برای میکروب مانند آنزیم‌های میکروبی باشد (۲۴، ۲۵). Cowan ذکر کرد که اثر ضد باکتریایی این ترکیبات آنتی‌اکسیدان مربوط به مهار آنزیم‌های هیدرولیتیک در باکتری می‌باشد (۲۱). تحقیقات بیشتری برای جداسازی و خالص‌سازی ترکیبات پلی‌فنولیک موجود در انار و تعیین اثرات ضد باکتریایی آنها بر علیه

مطالعات زیادی روی خواص ضد باکتریایی فراورده‌های طبیعی بخصوص گیاهان انجام شده و یا در حال انجام می‌باشد. در این مطالعه از چهار نمونه مورد آزمایش، عصاره پودری میوه کامل انار (محتوی پوست، دانه و پالپ) دارای اثر ضد باکتریایی خفیف بر علیه پنج گونه باکتری از شش گونه مورد مطالعه یعنی شیگلا دیسانتری، سالمونلا تیفی، اشریشیا کلی، کلسیلا پنومونیه و باسیلوس سرئوس بود. این عصاره اثر خیلی ناچیزی روی باسیلوس سوبتیلیس (که یک باکتری گرم مثبت می‌باشد) داشت. بیشترین هاله عدم رشد این عصاره مربوط به شیگلا دیسانتری (باکتری گرم منفی) با قطر تقریبی $13/3 \pm 0/33$ میلیمتر بود. نتایج پژوهش Cowan (۲۱) و Karou و همکاران (۲۲) نشان داد که ارتباطی بین ترکیبات پلی‌فنولیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی با اثر ضد باکتریایی گیاهان وجود دارد که با مطالعه حاضر همخوانی دارد؛ زیرا مقادیر ترکیبات پلی‌فنولیک اندازه‌گیری شده در نمونه‌ها با روش "فولین سیو کالتو" در مطالعه حاضر نشان داد که مقدار ترکیبات پلی‌فنولیک موجود در عصاره میوه کامل انار $(157/0 \pm 6/3 \text{ mg/g})$ حدوداً بیش از شش برابر این ترکیبات در عصاره کدو قلیانی $(25/27 \pm 1/10 \text{ mg/g})$

باکتری‌های پاتوژن مختلف (گرم مثبت و گرم منفی) مورد نیاز است تا آنتی‌بیوتیک‌هایی با کارایی بالا تهیه گردد. دیگر عصاره‌گیری و حلال‌های مختلف و همچنین با استفاده از غلظت‌های بالاتر از حداکثر غلظت عصاره به کار برده شده در این تحقیق صورت پذیرد.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این تحقیق، عصاره میوه کامل انار با مقدار ۲۵۰ میکروگرم در هر دیسک دارای اثر ضد باکتریایی خفیف می‌باشد؛ در صورتی که کدو قلیانی (آب‌میوه و عصاره پودری) و همچنین آب‌میوه انار اثرات ضد باکتریایی بر علیه باکتری‌های مذکور را نداشتند. مطالعات بیشتری نیاز است تا اثرات ضد باکتریایی میوه کامل انار با استفاده از روش‌های

تقدیر و تشکر

این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه پونا (هندوستان) و همچنین همکاری کارکنان آزمایشگاه بیوشیمی این دانشگاه بخصوص آقایان Yogish و Sharad دانشجویان دوره Ph.D به انجام رسید؛ نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را اعلام می‌دارند.

منابع:

- 1- Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev. 1999; 12(4): 564-82.
- 2- Nascimento GGF, Locatelli J, Freitas PC, Silva GL. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. Braz J Microbiol. 2000; 31: 247-56.
- 3- Anonymous. The Wealth of India: A dictionary of Indian raw materials and industrial products. New Delhi: CSIR Publication; 2005. p: 317.
- 4- Fadavi A, Barzegar M, Azizi MH, Bayat M. Note. Physicochemical composition of ten pomegranate cultivars (*Punica granatum L.*) grown in Iran. Food Sci Technol Int. 2005; 11: 113-19.
- 5- El-Nemr SE, Ismail IA, Ragab M. Chemical composition of juice and seeds of pomegranate fruit. Nahrung. 1990; 34(7): 601-606.
- 6- Arabi A, Barzegar M, Azizi MH. Effect of Cultivar and cold storage of Pomegranate (*Punica granatum L.*) juices on organic acid composition. ASEAN Food Journal. 2008; 15 (1): 44-55.
- 7- Moneam NM, el Sharaky AS, Badreldin MM. Oestrogen content of pomegranate seeds. J Chromatogr. 1988; 438(2): 438-42.
- 8- Gil MI, Tomás-Barberán FA, Hess-Pierce B, Holcroft DM, Kader AA. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. J Agric Food Chem. 2000; 48(10): 4581-89.
- 9- Cerda B, Llorach R, Ceron JJ, Espin JC, Tomas-Barberan FA. Evaluation of the bioavailability and metabolism in the rat of punicalagin, an antioxidant polyphenol from pomegranate juice. Eur J Nutr. 2003; 42(1): 18-28.
- 10- Naz S, Siddiqi R, Ahmad S, Rasool SA, Sayeed SA. Antibacterial activity directed isolation of compounds from *Punica granatum*. J Food Sci. 2007; 72(9): M341-M345.
- 11- Aviram M, Dornfeld L, Kaplan M, Coleman R, Gaitini D, Nitecki S, et al. Pomegranate juice flavonoids inhibit low-density lipoprotein oxidation and cardiovascular diseases: studies in atherosclerotic mice and in humans. Drugs Exp Clin Res. 2007; 28(2-3): 49-62.
- 12- Shukla M, Gupta K, Rasheed Z, Khan KA, Haqqi TM. Bioavailable constituents/metabolites of pomegranate (*Punica granatum L.*) preferentially inhibit COX2 activity ex vivo and IL-1beta-induced PGE2 production in human chondrocytes in vitro. J Inflamm. 2008; 5: 9.
- 13- Ghule BV, Ghante MH, Saoji AN, Yeole PG. Hypolipidemic and antihyperlipidemic effects of *Lagenaria siceraria* (Mol.) fruit extracts. Indian J Exp Biol. 2006; 44(11): 905-909.

- 14- Gangwal A, Parmar SK, Sheth NR. Isolation and immunomodulatory activity of phytoconstituents of *Lagenaria siceraria*. InPharm Communique (Suppl.). 2007; 2(2): 46-50.
- 15- Duke JA, Ayensu ES. Medicinal Plants of China. Reference Publications, Inc. 1985; ISBN 0-917256-20-24.
- 16- Manandhar NP. Plants and People of Nepal. Oregon: Timber Press; 2002; ISBN 0-88192-526-27.
- 17- Ghule BV, Ghante MH, Yeole PG, Saoji AN. Diuretic activity of *Lagenaria siceraria* fruit extracts in rats. Indian J Pharm Sci. 2007; 69: 817-19.
- 18- Deshpande JR, Choudhari AA, Mishra MR, Meghre VS, Wadodkar SG, Dorle AK. Beneficial effects of *Lagenaria siceraria* (Mol.) standley fruit epicarp in animal models. Indian J Exp Biol. 2008; 46(4): 234-42.
- 19- Rios JL, Recio MC, Villar A. Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. J Ethnopharmacol. 1988; 23(2-3): 127-49.
- 20- Mosquera OM, Correa YM, Niño J. Antibacterial activity of some Andean Colombian plants. Pharm Biol. 2004; 42(7): 499-503.
- 21- Cowan MM. Plants products as antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev. 1999; 12(4): 564-82.
- 22- Karou D, Dicko MH, Simpore J, Traore AS. Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. Afr J Biotechnol. 2005; 4(8): 823-28.
- 23- Aguilar CN, Aguilera-Carbo A, Robledo A, Ventura J, Belmares R, Martinez D, et al. Production of antioxidant nutraceuticals by solid-state cultures of Pomegranate (*Punica granatum*) peel and Creosote Bush (*Larrea tridentata*) leaves. Food Technology and Biotechnology. 2008; 46(2): 218-22.
- 24- Scalbert A. Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry. 1991; 30: 3875-83.
- 25- Field JA, Lettinga G. Toxicity of tannic compounds to microorganisms. Plants Polyphenols: Synthesis, Properties, Significance. Basic Life Sci. 1992; 59: 673-92.

Evaluation of antibacterial activity of fruit juices and whole fruit powder extract of pomegranate and *bottle gourd* on gram positive and negative bacterias

N. Ghodratollah¹, M. Hassanpour-Fard², S. Bodhankar³, M. Dikshit⁴

Background and Aim: Treatment with antibiotics is accompanied by difficulties, such as unwanted side effects and drug resistance. Medicinal plants can be considered as suitable alternative, because they may have fewer side effects. Pomegranate and *bottle gourd* are fruits that are easily available in many areas of the world. The current study was aimed to determine the antibacterial effect of these nutrients.

Materials and Methods: In this experimental study, the antibacterial activity of whole fruit powder extract of skinless pomegranate and *bottle gourd* and their fruit juices, were determined by the disc plate method against six different bacterial species, including *salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Bacillus cereus*, *Bacillus Subtilis* and *Shigella dysentery*. The diameter of zone of inhibition was measured by adding the samples and tetracycline (as reference) in the culture medium containing each bacterium (at least 3 times for each sample). To compare the groups, ANOVA and Tukey's tests were used at the significant level of $P < 0.05$.

Results: Powder extract of pomegranate (250 µg/disc) could stop the growth of the studied bacteria (except *Bacillus Subtilis*) mildly, whereas the fruit juices of pomegranate and *bottle gourd* and the powder extract of *bottle gourd* did not show antibacterial activity.

Conclusion: The mild antibacterial activity of powder extract of pomegranate may be related to its more polyphenolic compounds compared to *bottle gourd*.

Key Words: Pomegranate, *Bottle gourd*, Antibacterial activity, Tetracycline

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2011; 17(4):257-264

Received: 08.06.2010 Last Revised: 06.03.2011 Accepted: 07.03.2011

¹ Corresponding Author; Assistant Professor, Department of Surgery, Imam Reza Hospital, School of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran ghodrat.naseh@yahoo.com

² Assistant Professor, Department of Pharmacology, School of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

³ Professor, Department of Pharmacology, Poona College of Pharmacy, Bharati Vidyapeeth University, Pune, India

⁴ Professor, Biochemistry Division, Department of Chemistry, University of Pune, Pune, India