

ارزیابی اثر ضد باکتری عصاره متانولی پوسته خارجی پسته وحشی (*Pistacia vera*)

میترا صالحی¹، نگار رئیس نیا² و صدیقه مهربان³

- 1- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، گروه میکروبیولوژی، تهران، ایران
- 2- اداره کل حفاظت و نگهداری، سازمان اسناد و کتابخانه ملی جمهوری اسلامی ایران، تهران، ایران
- 3- دانشگاه تربیت معلم، گروه زیست شناسی، تهران، ایران

نویسنده مسئول: میترا صالحی، تهران، خیابان ولیعصر، کوچه سالار، مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال.
mitra_salehi_microbiology@yahoo.com

دریافت: 90/7/18 پذیرش: 90/9/28

چکیده

زمینه و هدف: امروزه به علت افزایش سویه های میکروبی مقاوم به آنتی بیوتیک، شناسایی و معرفی ترکیبات ضد میکروبی با منشاء گیاهی حائز اهمیت است. گیاه پسته با نام علمی *Pistacia vera* سطح وسیعی از اراضی زیر کشت کشور را به خود اختصاص داده است. در این پژوهش اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی اپی کارپ میوه پسته بصورت *in vitro* مورد مطالعه قرار گرفت.

روش بررسی: در این بررسی عصاره اپی کارپ پسته با استفاده از متانول به روش ماسراسیون (خیساندن) تهیه شد. فعالیت ضد میکروبی عصاره گیاه علیه باکتری های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (*Staphylococcus epidermidis*)، استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*)، انتروکوکوس فکالیس (*Enterococcus faecalis*)، استرپتوکوکوس پایوژنز (*Streptococcus pyogenes*)، سودوموناس آئروجینوزا (*Pseudomonas aeruginosa*)، باسیلوس سوبتیلیس (*Bacillus subtilis*)، اشریشیا کلی (*Escherichia coli*) و پروتئوس ولگاریس (*Proteus vulgaris*) به روش سنجش انتشار در آگار و رقت در لوله مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: عصاره اپی کارپ پسته، از رشد باکتری ها جلوگیری کرد. کمترین غلظت مهار کننده عصاره متانولی در مورد عدم رشد باکتری های گرم مثبت انتروکوک فکالیس 60 میکرو گرم در مایکرولیتر و در باکتری های گرم منفی، سودوموناس آئروجینوزا با غلظت 62/5 میکرو گرم در مایکرولیتر مشاهده شد.

نتیجه گیری: مواد موجود در عصاره متانولی پوسته سبز پسته از رشد باکتری های گرم منفی و گرم مثبت جلوگیری می کند. بنابراین اپی کارپ پسته بومی ایران با دارا بودن مواد موثر می تواند به عنوان منبع ارزان قیمت و قابل دسترس، جهت اهداف دارویی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه های کلیدی: پسته وحشی، فعالیت ضدباکتریایی، اپی کارپ

مقدمه

تاریخ پیشینیان مبین این مطلب است که همواره گیاهان به عنوان یکی از مهمترین منابع غذایی و داروئی بشمار می آمده اند (1). سالیان متمادی، داروهای طبیعی خصوصا گیاهان داروئی اساس و حتی در برخی موارد تنها طریق درمان محسوب می شده اند.

پیشرفت های علم شیمی منجر به جایگزینی داروهای سنتتیک و شیمیایی به جای داروهای گیاهی گردید. امروزه عواملی نظیر بروز حساسیت ها، پیدایش عوارض جانبی و سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک، اهمیت گیاهان داروئی را مجددا مورد توجه قرار داده است. از طرفی بهره گیری از روشهای نوین، امکان شناسایی مواد مؤثره موجود در گیاهان را فراهم کرده است. تخمین زده می شود که یک سوم کلیه فرآورده های داروئی مورد مصرف در جوامع انسانی دارای منشاء گیاهی باشند (2). در دو دهه اخیر مقالات متعددی در مورد عصاره های گیاهی و ترکیبات موجود در آنها از طرف محققین منتشر شده است (1). گیاه پسته معمولی با نام علمی *Pistacia vera* از تیره *Anacardiaceae* به عنوان یکی از گیاهان مهم و مورد توجه در اقتصاد ایران مطرح است. میوه درخت پسته از نوع شفت می باشد که از سه قسمت: اپی کارپ یا برونبر (پوسته نرم خارجی)، آندوکارپ یا میان بر (پوسته سخت خارجی) مزوکارپ یا درون بر (بخش داخلی میوه پسته) تشکیل شده است (3). گیاه پسته علاوه بر اینکه یک منبع غذایی غنی محسوب می گردد، می تواند به عنوان یک گیاه داروئی نیز مطرح باشد. بررسی های انجام شده در منابع معتبر کهن به خواص درمانی گیاه پسته اشاره کرده است: به عنوان مثال جویدن پوسته خارجی پسته را در قدیم الایام برای جلوگیری از پوسیدن دندانها، استحکام دندان و لثه و خوشبو کردن دهان و نیز التیام زخم های داخل دهان مفید و جوشانده اپی کارپ را برای رفع اسهال و استفراغ نافع می دانستند (4).

بیشترین مطالعات در مورد بررسی اثرات اسانس رزین و صمغ گونه های مختلف *Pistacia* نسبت به قارچ ها انجام شده است (5-6-7). متاسفانه تحقیقات کاملی مبنی بر اثرات ضد باکتریایی عصاره اپی کارپ میوه پسته صورت نگرفته است. با توجه به اختصاص بیش از یکصد و شصت هزارهکتار از باغات میوه ایران به پسته (3) و جایگاه منحصر به فرد کشور ایران از نظر تولید انبوه این محصول و همچنین توجه به این واقعیت که قسمت عمده ای از محصول پسته که شامل پوسته خارجی

(اپی کارپ) میوه آن است جزو ضایعات محصول محسوب می گردد، استفاده از آن به عنوان یک ماده ضد باکتریایی می تواند کمک شایانی به اقتصاد و سلامت جامعه نماید. هدف از این تحقیق بررسی خاصیت ضد باکتریایی عصاره متانولی استخراج شده از اپی کارپ *Pistacia vera* بر روی تعدادی از باکتری های گرم مثبت و گرم منفی می باشد.

روش بررسی

تهیه عصاره گیاهی: محصول پسته در اواخر شهریور ماه که میوه ها در نهایت رسیدگی خود می باشند، تهیه و در موسسه بیوتکنولوژی اصلاح بذر و نهال شناسایی شد. اپی کارپ میوه جدا و در شرایط تهویه مناسب و دور از نور خورشید خشک و آسیاب گردید. عصاره گیری توسط حلال متانول (مرک) به طریقه ماسراسیون (Maceration) یا خیساندن انجام شد. برای این منظور ابتدا پودر گیاه پس از توزین (100gr) ، با مقدار معینی از حلال (200 میلی لیتر متانول خالص) مخلوط و چند ساعت بر روی شیکر قرار گرفت. سپس در داخل دکانتور های شیشه ای ریخته و عمل عصاره گیری طی سه مرحله (200 میلی لیتر متانول) انجام شد. در نهایت محلول های حاصل از عصاره گیری، حاوی ترکیبات حل شده ماده گیاهی، در داخل دستگاه Rotary Evaporator در دمای 40 °C برای حفظ مواد فرار احتمالی قرار گرفته و تغلیظ شدند. عصاره به صورت شیره غلیظ قهوه ای رنگ تهیه و تا زمان انجام آزمایشات در تاریکی و دمای 4 درجه سانتی گراد نگهداری شدند (8).

استوک غلظت های متوالی از عصاره با حلال متانول (500، 250، 125 و 62/5 میکروگرم در میکرولیتر) تهیه و بعد از گذراندن از فیلتر 0/45 μm مورد استفاده قرار گرفت. در روش های انتشار در آگار، دیسک و چاهک ها حاوی مقادیر 10، 5، 2/5 و 1/2 میلی گرم از عصاره بودند.

ارگانسیم های مورد مطالعه: با توجه به انواع عفونت های مختلف بالینی، برخی از باکتری های گرم مثبت و گرم منفی از سوش های استاندارد موسسه واکسن و سرم سازی رازی و سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران انتخاب و تهیه شدند (جدول شماره 1).

جهت کشت و نگهداری باکتری ها از محیط های شرکت مرک آلمان استفاده شد. باکتری های استرپتوکوکوس و انتروکوکوس از محیط بلاد آگار و برای استافیلوکوکوس ها از نوترینت آگار و

برای این منظور از آخرین رقت عصاره که دارای کمترین هاله عدم رشد بود به مراتب غلظت های رقیق تر عصاره در اب مقطر استریل تهیه شد. رقت های عصاره در محیط کشت مولر هینتون برات همراه با باکتری به مدت 24 ساعت در انکوباتور 37°C گرماگذاری شدند. بعد از این مدت زمان، لوله ها از لحاظ رشد مورد بررسی قرار گرفتند. در نهایت غلظت اولین لوله فاقد کدورت MIC یا حداقل غلظت مهار کننده رشد باکتری (باکتریواستاتیک) در نظر گرفته شد.

همچنین بررسی های فیتوشیمیایی عصاره جهت بررسی حضور مواد فنولیک مانند فلاونوئید، آلکالوئید و تانن در عصاره استخراج شده از پوسته خارجی پسته انجام شد (12). برای حضور آلکالوئیدها مقداری از عصاره پوسته خارجی پسته در هیدروکلریک اسید حل و پس از افزودن کلروسدیم صاف شد. رسوب آن با اسید کلریدریک شسته و محلول حاصل با استفاده از معرف های میر و دراژندروف مورد بررسی قرار گرفت. وجود فلاونوئید از طریق مشاهده رنگ در طی واکنش سیانیدین و الکل آمیلیک مطالعه شد. برای این منظور ابتدا رسوب حاصل از محلول عصاره و اتریترول، در الکل اتانل حل شد. سپس با افزودن اسید کلریدریک غلیظ و براده منیزیم و تولید رنگ، با آب و الکل آمیلیک مخلوط و فازهای تشکیل شده مجدداً از لحاظ رنگ مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای اطمینان از حضور تانن از واکنش محلول ژلاتین 1% با عصاره، تشکیل رسوب و همچنین از تغییر رنگ در حضور کلروفریک بهره گرفته شد.

یافته ها

تاثیر رقت های 500، 250، 125 و 62/5 (میکروگرم بر میکرولیتر) عصاره متانولی در جلوگیری از رشد باکتری های مورد مطالعه، در روش دیسک گذاری و چاهک گذاری با ایجاد هاله های عدم رشد مشاهده شد (شکل 1-2-3).



در مورد باکتری های گرم منفی از مک کانگی آگار استفاده شد. بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره روی محیط پایه مولر هینتون آگار و برات انجام شد.

بررسی حساسیت سوبه ها: ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره ها، به روش انتشار در آگار (دیسک - چاهک) انجام شد (10-9). برای این منظور ابتدا از هر ایزوله 16ساعته در فاز رشد، سوسپانسیون میکروبی برابر با کدورت استاندارد 0/5 مک فارلند (غلظت تقریبی $10^8 \text{ CFU/ml} \times 1/5$) تهیه شد. از سوسپانسیون باکتریایی در شرایط کاملاً سترون با سوآب به صورت سطحی بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد. در روش چاهک گذاری در پلیت های حاوی محیط مولر هینتون آگار 5 چاهک به قطر تقریبی 6 میلی متر با فواصل منظم از هم و فاصله مناسب از دیواره پلیت حفر شد. در هر چاهک 20 میکرولیتر از رقت های 500، 250، 125 و 62/5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ عصاره و در یکی از چاهک ها (چاهک وسط) متانول به عنوان شاهد ریخته شد. در روش انتشار دیسک، برای تهیه دیسک های حاوی عصاره ابتدا میزان 20 میکرولیتر از عصاره های رقیق شده جذب دیسک های بلانک (پادتن طب) شد سپس دیسک ها آغشته به عصاره به مدت 24 ساعت داخل فور با دمای 40°C قرار گرفتند تا کاملاً خشک شوند. یک دیسک آغشته به حلال مربوطه نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. در نهایت دیسک های آماده، در کنار شعله، توسط پنس با فواصل منظم بر روی محیط کشت مولر هینتون حاوی باکتری قرار گرفت.

در هر دو روش، پلیت های حاوی کشت باکتری و عصاره در شرایط یکسان به مدت 24 ساعت داخل انکوباتور 37°C گرمخانه گذاری شدند. بعد از این مدت قطر هاله های عدم رشد تشکیل شده اندازه گیری و ثبت شدند. آزمایشات حداقل 3 بار تکرار شدند. جهت تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS10 و با آزمون دانکن میانگین قطر هاله های عدم رشد مقایسه شدند.

تعیین حداقل غلظت های باز دارنده (MIC): بعد از بررسی نتایج روش های دیسک گذاری و چاهک گذاری، جهت تعیین حداقل غلظت متوقف کننده (Minimum Inhibitory Concentration) عصاره بر رشد باکتری ها، از روش تهیه رقت در لوله (broth dilution test) استفاده شد (11).

جدول 1. باکتری های مورد استفاده در این تحقیق

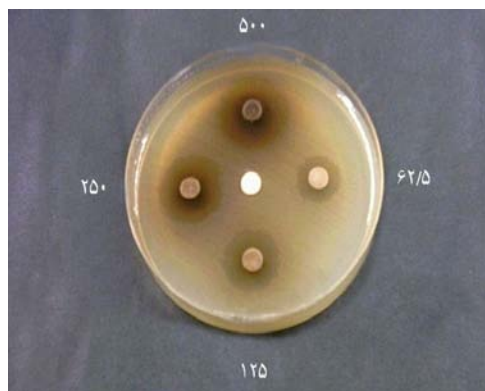
ATCC:12228	استافیلوکوکوس اپیدرمیس
ATCC:29213	استافیلوکوکوس اورئوس
PTCC:1339	انتروکوکوس فکالیس
PTCC:1447	استرپتوکوکوس پایونز
PTCC:1572	سودوموناس آئروجینوزا
RTCC:1058	باسیلوس سوبتیلیس
RTCC:1168	اشرشیا کلی
RTCC:1464	پروتئوس ولگاریس

جدول 2. مقایسه میانگین ها و انحراف معیار غلظت های عصاره متانولی پوسته خارجی پسته بر عدم رشد باکتری ها

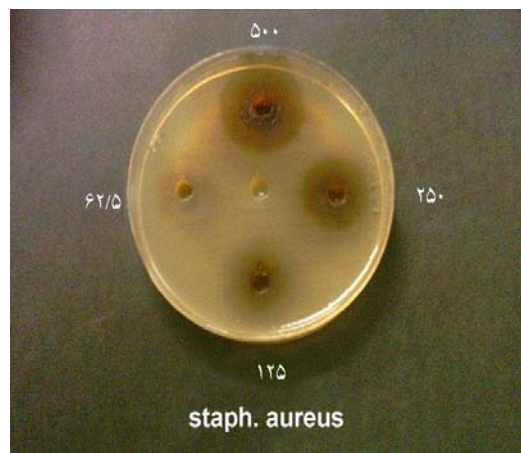
باکتری	500	250	125	62/5	متانول (شاهد)
استافیلوکوکوس اورئوس	15 ± 1/8 a	14/5 ± 2/3 a	11 ± 1/4 b	8/5 ± 1/9 b	0 ± 0/0 c
استافیلوکوکوس اپیدرمیس	14/7 ± 2/9 a	13/2 ± 2/7 a	12 ± 1/8 a	12/5 ± 4 a	0 ± 0/0 b
استرپتوکوکوس پایونز	23/2 ± 2/6 a	18/2 ± 2/7 b	14/5 ± 2/3 c	1 ± 0/8 d	0 ± 0/0 d
انتروکوکوس فکالیس	27 ± 4/3 a	21/2 ± 1/7 b	20/5 ± 1/7 b	18 ± 2/9 b	0 ± 0/0 c
باسیلوس سوبتیلیس	19/2 ± 1/5 a	18 ± 3/9 a	16/2 ± 0/9 a	10/7 ± 0/9 b	0 ± 0/0 c
سودوموناس آئروجینوزا	24/5 ± 1/9 a	20 ± 2/3 a	18/5 ± 1/2 a	15 ± 2/1 b	0 ± 0/0 d
اشرشیا کلی	10 ± 2/1 a	1/2 ± 0/9 b	0/2 ± 0/5 b	0/2 ± 0/5 b	0 ± 0/0 b
پروتئوس ولگاریس	10/2 ± 1/5 a	1/2 ± 1/5 a	0/5 ± 0/5 a	0/2 ± 0/5 a	0 ± 0/0 b

در هرستون حروف a-b-c-d بیانگر مقایسه میانگین تاثیر غلظت های عصاره و شاهد در جلوگیری از رشد باکتری است. حروف غیر یکسان هر ستون حاکی از اختلاف معنی دار بین

شکل 1. هاله عدم رشد ایجاد شده با عصاره متانولی به روش دیسک گذاری (غلظت های 500، 250، 125، 62/5 و 500 µg/ml و شاهد) در مورد سودوموناس آئروجینوزا



شکل 2. هاله عدم رشد ایجاد شده با عصاره متانولی به روش دیسک گذاری (غلظت های 500، 250، 125، 62/5 و 500 µg/ml و شاهد) در مورد استرپتوکوکوس پایونز



شکل 3. هاله عدم رشد ایجاد شده با عصاره متانولی به روش چاهک گذاری (غلظت های 500، 250، 125، 62/5 و 500 µg/ml و شاهد) در مورد استافیلوکوکوس اورئوس

نتایج نهایی حاصل از میانگین میزان هاله های عدم رشد (میلی متر) و آنالیز آماری در جدول 2 آورده شده است. طبق نتایج جدول های 2 و 3 مشاهده شد. نتایج بررسی تعیین حداقل غلظت متوقف کننده رشد باکتری ها در حضور عصاره در جدول 3 نشان داده شده است.

هیچ یک از باکتری های مورد مطالعه خاصیت ضد میکروبی نداشت.

به طور کلی تاثیر رقت های مختلف عصاره گیاهی، بر عدم رشد باکتری های گرم مثبت نسبت به باکتری های گرم منفی بیشتر بود. در هر دو روش انتشار در آگار، توانایی عصاره در جلوگیری از رشد باکتری ها کاملاً قابل مشاهده بود با این تفاوت که در روش دیسک گذاری هاله های عدم رشد منظم تر و در روش چاهک گذاری تاثیر عصاره بر باکتری های گرم منفی بهتر قابل رویت بود. این امر می تواند به دلیل نفوذ بهتر عصاره متانولی از چاهک به درون بافت محیط کشت باشد. در مجموع اغلب باکتری های گرم منفی فقط به غلظت های بالای عصاره حساس بودند. در مطالعه حاضر نشان داده شد که حساسترین باکتری های مورد مطالعه نسبت به عصاره، انتروکوکوس فکالیس، استرپتوکوکوس پایوژن و سودوموناس ائروجینوزا بودند. نتایج این پژوهش با گزارش برزگر و همکاران از لحاظ اثر مهاری عصاره بر رشد استافیلوکوکوس اروئوس همخوانی دارد اما از لحاظ اینکه عصاره متانولی ارقام مختلف پسته را بر عدم رشد باکتری سودوموناس ائروجینوزا، کاملاً بی اثر معرفی می کند مغایرت دارد (13). هر چند علت این تفاوت می تواند ناشی از روش عصاره گیری باشد اما از آنجائیکه باکتری سودوموناس معضل درمان بیماران سوختگی است و همواره تلاش محققان بر این بوده که مواد ضد میکروبی جدید جهت مقابله با باکتری سودوموناس را معرفی کنند، از این رو نتایج تحقیق حاضر بسیار سودمند است. از سوی دیگر نتایج پژوهش حاضر مبنی بر تاثیر عصاره بر عدم رشد باکتری اشرشیا کلی با مطالعه Ghalem در سال 2009 از کشور الجزایر در یک راستا می باشد با این تفاوت که Ghalem به بررسی اسانس پسته پرداخته است. در هر حال نتایج محققان حاکی از این است که در ترکیبات پوسته خارجی پسته، ماده ای با پتانسیل انتی باکتریال وجود دارد (14).

طبق گزارشات منتشره گروهی از گیاهان، دارای قدرت سنتز ترکیبات آروماتیک می باشند و برخی از این ترکیبات جزو مشتقات فنلی می باشند (15). فلاونوئیدها از مهمترین زیرشاخه های ترکیبات فنلی به شمار می آیند که در گیاهان به منظور مقابله با عفونت های میکروبی ساخته می شوند (16). نتایج آزمایش های فیتوشیمیایی بیانگر این بود که پوسته خارجی پسته دارای آلکالوئید، تانن و فلاونوئید بود. تحقیقات انجام شده در سال های اخیر، مبین خاصیت مهار کنندگی فلاونوئیدها بر طیف وسیعی از میکروارگانیسم ها می باشد. این پاپیز 90، دوره سوم، شماره دهم

غلظت ها ($P < 0/05$) و حروف یکسان نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار بین غلظت های عصاره بر عدم رشد باکتری است ($P > 0/05$).

جدول 3. حداقل غلظت متوقف کننده رشد باکتری ها (MIC) بر حسب میکروگرم بر میکرو لیتر

عصاره متانولی	باکتری
62/5	استافیلوکوکوس ارئوس
62/5	استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس
100	استرپتوکوکوس پایوژن
60	انتروکوکوس فکالیس
62/5	باسیلوس سوبتیلیس
62/5	سودوموناس ائروجینوزا
500	اشرشیا کلی
500	پروتئوس ولگاریس

بررسی های کیفی آزمایش های فیتو شیمیایی از طریق معرف های میر (رسوب شیری رنگ) و دژندروف (رسوب نارنجی) حاکی از حضور آلکالوئید و ایجاد فاز رنگی پس از افزودن آمیل کلل نشانه وجود فلاونوئید در عصاره بود. با توجه به نتایج حاصل از آزمایش ژلاتین و کلروفیک از نظر تانن نیز مثبت گزارش شد.

بحث

استفاده از گیاهان دارویی از گذشته های دور در سنت ملل مختلف، جهت درمان بیماری ها رواج داشته است. اغلب اسانس ها و عصاره ها به عنوان منبع ترکیبات آنتی میکروبیال، از گیاهان خاص و بومی منطقه تامین می شده است. به همین دلیل در این تحقیق به بررسی اثرات ضد باکتریایی پوسته خارجی یکی از گونه های مهم پسته که در ایران می روید، پرداخته شد.

بررسی و مقایسه نتایج، بیانگر این مطلب است که عصاره اپی کارپ پسته روی اکثر باکتری ها مورد بررسی تاثیر داشته است. اثر عصاره الکلی پوسته خارجی گیاه پسته به روش انتشار دیسک و روش چاهک نشان داد که کاهش غلظت های عصاره نسبت مستقیم با کاهش قطر هاله های عدم رشد در باکتری های مورد مطالعه دارد. حلال عصاره (متانول) که به عنوان شاهد در روش دیسک و چاهک مورد استفاده قرار گرفت بر

نتیجه گیری

هر ساله در صنعت کشاورزی ایران میزان انبوهی از پوسته سبز پسته به صورت ضایعات کشاورزی تولید می شود، با در نظر گرفتن تاثیر ترکیبات آن در جلوگیری از رشد باکتری ها، به راحتی می توان به عنوان منبع ارزان قیمت زیستی در امور دارویی مورد بهره برداری قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

از خانم دکتر طاهره حسنلو عضو موسسه بیوتکنولوژی اصلاح بذر و نهال، خانم دکتر سهیلا مرادی عضو موسسه واکنش و سرم سازی رازی و دکتر علی قدرت که با پشتیبانی علمی خود، ما را در انجام این تحقیق یاری رساندند صمیمانه قدردانی می شود.

References

- 1- Volak J. *Plantae medicinales*. Ghoghhus. Press. Tehran. 1997:9-15.
- 2- Eisenberg DM, Davis RB, Etnner SL, Appel S, Wilkey S, Van Rompay M, et al. *Trends in alternative medicine use in the United States, 1990-1997: results of a follow-up national survey*. JAMA. 1998;280(18):1569-1575.
- 3- Hady Rad M. *Introduce some morphological and physiological characteristics of pistachio*. Research Institute of Forests and Range Tehran. 1995.
- 4- Mir Heider H. *Education herbal plants used in the prevention and treatment of diseases*. Publication of Bureau of Islamic culture. 1994.
- 5- Alma MH, Nitz S, Kollmannsberger H, Digrak M, Efe FT, Yilmaz N. *Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from the gum of Turkish pistachio (Pistacia vera L.)*. J Agric Food Chem. 2004. 52(12):3911-3914.
- 6- Duru M, ECakir A, Kordali S, Zengin H, Harmandar M, Izumi S, et al. *Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three Pistacia species*. Fitotrapia. 2003.74(2): 170-176.
- 7- Kordalia S, Cakirb A, Zengina H, Duruc ME. *Antifungal activities of the leaves of three Pistacia species grown in Turkey*. Fitoterapia. 2003. 74(1):164-167.
- 8- Briskin DP. *Medicinal Plants and Phytomedicines. Linking Plant Biochemistry and Physiology to Human Health*. Plant Physiol. 2000.124:507-514.
- 9- www.microbelibrary.org/component/resource/laboratory-test/3189-kirby-bauer-disk-diffusion-susceptibility-test-protocol.
- 10- Sharma A, Sharma K. *Should Solubility and Zone of Inhibition Be the Only Criteria for Selection of Solvent in Antimicrobial Assay?* Advances in Biological Research. 2011.5: 241-247.
- 11- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically*. 3rd ed. Approved Standard M7-A6. NCCLS, Villanova, PA, USA. 2004.

خاصیت می تواند به علت اتصال به پروتئین های خارج سلولی، اتصال به دیواره سلولی باکتری ها یا به علت متلاشی کردن غشای باکتری ها باشد (17).

نتایج بسیاری از پژوهش ها حاکی از حضور ترکیبات فنلی در جنس *Pistacia* می باشد. Romani و همکارانش در سال 2002، ترکیبات فلاونوئیدی موجود در برگ های *P.lentiscus* را از نوع آنتوسیانین گزارش کرد (18). مطالعه Ai-jun-hou و همکارانش در سال 2000 منجر به شناسایی گروهی از ترکیبات فنلی در عصاره حاصل از گونه ای پسته با نام *P.weinmannifolia* را که در چین می روید، شد (19). Seeram و همکارانش در سال 2006، حضور ترکیبات آنتوسیانینی در پوسته پسته وحشی (*P.vera*) را گزارش کردند (20). در ایران نیز آهنگی در سال 2004 با بررسی ترکیبات شیمیایی عصاره اپی کارپ پسته وحشی (*P.vera*) به طریقه Atomic absorption، فلاونوئیدهای موجود در اپی کارپ را از نوع آنتوسیانین تشخیص داد (21).

همچنین گزارش پرورده در سال 2002 مبنی بر حضور فلاونوئید و تانن در عصاره صمغ پسته وحشی (*P.vera*) بود (22). از سوی دیگر محققان ایرانی در سال های اخیر، به بررسی عناصر موجود در پوسته پسته جهت جایگزینی آن در جیره غذایی دام پرداخته اند. نتایج مطالعات آنها نیز حاکی از حضور ترکیبات فنلی از جمله تانن ها می باشد (23). افزایش در سال 2009 اثرات مواد فنولیک موجود در پوست سبز پسته (اپی کارپ) را بر کاهش یا مهار تولید زهرا به آفلاتوکسین گزارش کرد (24).

با توجه به مطالعات متعدد مبنی بر حضور ترکیبات فنلی در گیاه پسته بومی ایران (*Pistacia vera*) و نتایج این تحقیق، خاصیت ضد باکتریایی عصاره را می توان به انواع فلاونوئیدها و تانن موجود در اپی کارپ آن نسبت داد. اثر مهار کنندگی عصاره اپی کارپ پسته بر طیف نسبتا وسیع از باکتری ها در شرایط *in vitro*، زمینه تحقیقات گسترده تری را بر ای استفاده از پوسته نرم بیرونی پسته به عنوان یک ماده ضد میکروبی در موارد مختلف از جمله استفاده به عنوان یک ماده نگهدارنده در غذاها با عوارض جانبی کمتر و همچنین استفاده از عصاره آن به اشکال دارویی از قبیل محلول دهانشوی و لوسیون های ضد میکروبی برای کنترل عفونت های سطحی فراهم می کند.

- 12- Sabahi M, Ramezani M, Jaffari G, Heravi G, Bahaeddini F, Aynehchi Y. *Survey of Iranian plants for saponins, Alkaloids, Flavonoids, and Tannins*. IV. The Plants of Kerman Province. *Pharmaceutical Biology*. 1985. 23:165-175
- 13- Rajaei A, Barzegar M, Sahari MA. *Investigation on antioxidative and antimicrobial activities of pistachio (Pistachia vera) green hull extracts*. *JFST*. 2011. 8(1): 111-120.
- 14- Ghalem B, Mohamed B. *Antimicrobial activity evaluation of the oleoresin oil of Pistacia vera L*. *AJPP*. 2009. 3: 92-96
- 15- Geissman T A. *Flavonoid compounds, tannins, lignins and related compounds*. In M. Florkin, and E. H. Stotz (ed.), *Pyrrrole pigments compounds and phenolic plant constituents*. Elsevier. New York, N.Y. 1963. vol. 9: 265.
- 16- Dixon RA, Dey PM, Lamb CJ. *Phytoalexins: enzymology and molecular biology*. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol*. 1983. 55:1-136.
- 17- Tsuchiya H, Sato M, Miyazaki T, Fujiwara S, Tanigaki S, Ohyama M, et al. *Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistance Staphylococcus aureus*. *J Ethnopharmacol*. 1996.50(1):27-34.
- 18- Romani A, Pinelli P, Galardi C, Mulinacci N, Tattini M. *Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of Pistacia lentiscus L*. *Phytochem Anal*. 2002.13(2):79-86.
- 19- Hou AJ, Peng LY, Liu YZ, Lin ZW, Sun HD. *Gallotannins and related polyphenols from Pistacia weinmannifolia*. *Planta Med*. 2000. 66(7):624-6.
- 20- Seeram NP, Zhang Y, Henning SM, Lee R, Niu Y, Lin G, Heber D. *Pistachio skin phenolics are destroyed by bleaching resulting in reduced antioxidative capacities*. *J Agric Food Chem*. 2006. 54(19):7036-7040.
- 21- Ahanghi A. *Phytochemical Study of epicarps in different species of Rafsanjan Pistachio and determine the amount of minerals by atomic absorption*. Thesis pharmacist. Kerman University of Medical Sciences. 2004.
- 22- Parvardeh S, Niapur M and Hossein zadeh H. *Effect protects liver of hydro-Alcoholic extract of gum pistachio (Pistacia vera L.) on liver toxicity induced by carbon tetrachloride in rats*. *J Med Plant*. 2002.4:27-34.
- 23- Bagheri Pour A, Roozbahan y and Alipour D. *Effects of Drying, Ensiling or Addition of PEG on the Nutritive Value of Pistachio By-products Hull*. *J. Anim Sci*. 2009.40(2):77-82.
- 24- Afshari H, Talaie A, Mohammadi Moghadam M, Panahi B. *Differences of elements in early splitting of pistachio nuts and the effect of phenolic compounds and gallic acid on rate*. *JHS*. 2009. 23 (1): 10-17.