

مقایسه اثر عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز و نالیدیکسیک اسید بر میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا

پگاه نمازی^۱، بهروز علیزاده بهبهانی*^۲، حسن برزگر^۳، محمد امین مهرنیا^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملائانی، ایران

۲- استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملائانی، ایران

۳- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملائانی، ایران

*نشانی برای مکاتبه: B.alizadeh@asnruckh.ac.ir

دریافت مقاله: دی‌نود و نه پذیرش برای چاپ: اسفند نود و نه

چکیده

سابقه و هدف: امروزه مقاوم شدن سویه‌های میکروبی بیماری‌زا در برابر آنتی‌بیوتیک‌های درمانی، سبب بروز نگرانی جوامع بشری شده است. به همین دلیل استفاده از عصاره‌های گیاهی به‌دلیل پتانسیل کنترل و درمان عفونت‌های باکتریایی مورد توجه قرار گرفته‌اند. فلفل دلمه‌ای قرمز با نام علمی (*Capsicum annuum* L.) از راسته بادمجان‌سانان، بومی مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری می‌باشد. هدف از این پژوهش، ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز بر باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *سالمونلا تیفی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا اینوکوا* و *باسیلوس سرئوس* در شرایط برون‌تنی بود. **روش کار:** در این مطالعه تجربی، عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز به‌کمک حلال اتانول استخراج شد. فعالیت ضد میکروبی عصاره با ۴ روش، دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی (ماکرودایلوشن براث) و حداقل غلظت کشندگی بر سویه‌های بیماری‌زا تعیین شد. از میانگین‌های به دست آمده برای آنالیزهای آماری استفاده گردید. داده‌ها به کمک نسخه ۲۶ نرم افزار SPSS و آزمون دانکن در سطح معنی‌داری، ۵ درصد تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: بیشترین هاله عدم رشد عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز به‌ترتیب مربوط به باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* و کمترین قطر هاله عدم رشد مربوط به باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بود. هاله عدم رشد در باکتری‌های *سالمونلا تیفی* و *لیستریا اینوکوا* در اثر عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز، نسبت به هاله عدم رشد در اثر آنتی‌بیوتیک نالیدیکسیک اسید بزرگتر بود. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره برای باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *سالمونلا تیفی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا اینوکوا* و *باسیلوس سرئوس* به‌ترتیب ۴۰۰، ۴۰۰، ۴۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت کشندگی عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز برای تمامی باکتری‌ها بیشتر از حداقل غلظت مهارکنندگی بود.

نتیجه‌گیری: عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز دارای فعالیت ضد میکروبی بوده و پتانسیل کاربرد در صنایع دارویی جهت کنترل عفونت‌های باکتریایی را دارد. پیشنهاد می‌شود به‌منظور تعیین دوز مناسب عصاره، پژوهش‌های بیشتری در این زمینه صورت گیرد.

واژگان کلیدی: عصاره اتانولی، فلفل دلمه‌ای قرمز، فعالیت ضد میکروبی، خواص دارویی.

مقدمه

امروزه استفاده از داروهای گیاهی ضمن کم‌هزینه بودن و ارزش اقتصادی آن‌ها به دلیل عدم آسیب به محیط زیست، عوارض جانبی کم، عدم ایجاد مقاومت نسبی در برابر عامل بیماری‌زا و منحصر به فرد بودن در درمان برخی از بیماری‌ها در مقایسه با داروهای شیمیایی دارای جایگاه ویژه‌ای می‌باشند (۱). در گذشته، نه تنها از انواع فلفل قرمز به عنوان داروی گیاهی در طب سنتی جهت درمان بیماری‌های مختلف به صورت گسترده استفاده می‌شد، بلکه در سال‌های اخیر میوه فلفل دلمه‌ای قرمز نیز به صورت خام، پخته و پودر شده در تهیه انواع مواد غذایی به کار برده می‌شود (۲). فلفل دلمه‌ای قرمز گیاهی علفی، گلدار و یک‌ساله با نام علمی *Capsicum annuum L.* از راسته بادمجان‌سانان و خانواده *Solanaceae* است (۳). این نوع فلفل دارای ساقه‌ای بی‌کرک با ارتفاع ۰/۳ تا ۱ متر، برگ‌های بیضی شکل و نوک تیز، گل‌های سفید یا سفید مایل به زرد و اندازه متفاوت میوه می‌باشد.

فلفل دلمه‌ای قرمز دارای عصاره‌ی روغنی و غلیظی می‌باشد که در محصولات غذایی مختلف جهت رنگ‌دهنده و طعم‌دهنده استفاده می‌شود (۴). عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز دارای مقادیر فراوان فلاونوئید و فنول از جمله کوئرستین لوتولین و ۰/۰۲ درصد کپسایسین، کپسیتین، کپسانتین، کپسوربین، سولانین کاروتنوئید، آلکالوئید، اسیدهای چرب، ویتامین‌های A، B، C، E، آهن، منیزیم و پتاسیم است (۳ و ۵-۷). کاروتنوئیدهایی نظیر کپسانتین، کپسانتین ۵ و ۶ اپوکسید، کپسوربین، کاروتن و فلاونوئیدها عامل اصلی ایجاد رنگ قرمز در این میوه گزارش شده‌اند. اختلاف در میزان وجود این ترکیبات می‌تواند سبب ایجاد رنگ‌های متفاوت در میوه شود (۸ و ۹). وجود ترکیبات ذکر شده در فلفل دلمه‌ای قرمز، سبب بروز اثرات زیستی نظیر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و خواص ضد میکروبی در آن‌ها می‌شود به عبارت دیگر وجود این ترکیبات در مواد غذایی، بیانگر ارزش غذایی آن محصول در حفظ سلامت فرد مصرف‌کننده است (۱۰). اثرات زیستی نظیر فعالیت آنتی‌اکسیدانی فلفل دلمه‌ای قرمز در پژوهش‌های متعددی به اثبات رسیده است، بسیاری از محققین علت آن را وجود ترکیباتی نظیر پلی‌فنول‌ها به ویژه کپسایسین و وجود ویتامین C در میوه گزارش کرده‌اند (۵ و ۱۰). پژوهش‌های انجام شده حاکی از این است که فلفل دلمه‌ای قرمز به دلیل وجود ترکیبات متعدد فلاونوئیدی و فنولی نظیر کپسایسین، دارای خواص فیزیولوژیکی و فارماکولوژیکی چشمگیری از جمله کاهش کلسترول خون، کاهش گلوکز سرم خون، کاهش دردهای عضلانی نظیر سیاتیک، تقویت سیستم عصبی، بهبود ناراحتی گلو و لارنژیت جلوگیری از سکنه مغزی، بهبود ناراحتی قلبی، کاهش عوارض آلزایمر، تحریک حرکات روده و معده می‌باشد (۱۱-۱۴). بنابراین تجویز خوراکی فلفل دلمه‌ای قرمز نه تنها در کنترل بیماری‌هایی چون امراض کبدی، چاقی و دیابت مفید می‌باشد و از

عوارض آن‌ها می‌کاهد بلکه در کاهش سرعت روند پیری، جلوگیری از ابتلا به بیماری سرطان به ویژه سرطان پانکراس و پروستات نیز مؤثر است (۱۵-۱۷). وجود کپسایسین در فلفل دلمه‌ای قرمز هرچند ناچیز اما نقش به‌سزایی در درمان سلول‌های سرطانی، کاهش تکثیر و زنده‌مانی آن‌ها در بدن انسان دارد. کپسایسین یک ترکیب اولئورزینی با ساختار فنولی، بلوری، فرار و بی‌بو می‌باشد که به نظر می‌رسد، ضمن اینکه با توقف فاز M و G₂ در چرخه سلولی باعث مهار رشد سلول‌های سرطانی می‌شود، با ایجاد اختلال در پتانسیل غشای میتوکندری سلولی و فعال کردن کاسپاز ۹، ۳ و پلی‌مراز در سلول‌های سرطانی باعث بروز مرگ سلول‌های سرطانی نیز می‌شود (۱۸).

عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز علاوه بر خواص درمانی ذکر شده، دارای خواص ضد میکروبی قوی به دلیل حضور ترکیبات ضد میکروب نظیر بتاپنین، آلفاپنین، لینالئول و ترپینئول نیز می‌باشد، به صورتی که قادر است در سنتز آنزیمی غشا میکروارگانیسم‌ها اختلال ایجاد کند. از دیگر خواص دارویی این عصاره می‌توان به خواص ضد انقباض کننده، ضد عفونی کننده، ضد باکتری، تب‌بر، مسهل و مؤثر در درمان عفونت‌های چرکی اشاره کرد (۲).

در بروز بسیاری از عفونت‌ها و مسمومیت‌ها، باکتری‌هایی نظیر *اشرشیا کلی*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *سالمونلا تیفی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* به عنوان عامل اصلی شناخته شده‌اند. *اشرشیا کلی* یک باسیل گرم منفی از خانواده انتروباکتریاسه، میله‌ای، متحرک، بی‌هوازی اختیاری می‌باشد که موجب عفونت دستگاه ادراری می‌شود. بیشتر سویه‌های *اشرشیا* باعث ایجاد عفونت ادراری، مننژیت و پریتونیت می‌شوند. این باکتری توانایی تولید اسیدهایی همانند لاکتات، سوکسینات، اتانول، استات و دی اکسید کربن را نیز دارد (۱۹ و ۲۰). *سودوموناس آئروژینوزا* یک باسیل گرم منفی است که قادر به ایجاد عفونت‌هایی در مجاری ادراری، معده، روده، سیستم تنفسی و بیماری پوستی می‌باشد (۲۰ و ۲۱). *سالمونلا تیفی* یک باسیل گرم منفی از خانواده انتروباکتریاسه است که از طریق آب و غذای آلوده موجب ابتلا به بیماری تب تیفوئید یا حصبه می‌شود (۲۲). *استافیلوکوکوس اورئوس*، باکتری گرم مثبت می‌باشد که سبب ایجاد بیماری‌هایی از جمله اندوکارتیت، استئومیلیت،

پنومونی، سندرم شوک توکسیکو ... می‌شود (۱۹). *لیستریا اینوکوا*، باکتری گرم مثبت، میله‌ای شکل با توانایی تحمل دما و غلظت ده درصدی نمک است. این باکتری از نظر فیزیولوژیکی شباهت زیادی به باکتری *لیستریا مونوسایتوزنز* عامل بیماری لیستریوز دارد. *لیستریا مونوسایتوزنز* را مسبب ایجاد ۷۵ درصد عفونت‌های مرگبار و ابتلا به بیماری‌های دیگری نظیر سپتی‌سمی، آنسفالیت و سقط جنین می‌دانند (۲۲ و ۲۳). *باسیلوس سرئوس*، باکتری گرم مثبت از خانواده باسیلاسه است که در آب و خاک به صورت پراکنده وجود

از سویه‌های استاندارد میکروبی موجود در کلکسیون میکروبی آزمایشگاه میکروبیولوژی مواد غذایی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی که شامل ۳ باکتری گرم منفی (اشرشیا کلی ATCC 25922، سودوموناس اتروژینوزا ATCC 27853 و سالمونلا تیفی PTCC 1609) و ۳ باکتری گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 25923، لیستریا اینوکوا ATCC 33090 و باسیلوس سرئوس ATCC 14579) استفاده شد.

به منظور فعال‌سازی سویه‌های میکروبی استاندارد، تهیه سوسپانسیون میکروبی و استاندارد کردن آن‌ها جهت ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز بر آن‌ها، مطابق با استاندارد نیم‌مک‌فارلند اقدام گردید. طبق این استاندارد کشت تازه و ۲۴ ساعته سویه‌های میکروبی مورد استفاده قرار گرفت. پس از برداشت با دقت تک کلنی خالص از هر سویه میکروبی، در محلول رینگر ریخته شدند و در ادامه تا برابر شدن جذب آن با محلول نیم‌مک‌فارلند، عمل رقیق‌سازی صورت گرفت. سپس جذب در طول موج ۶۲۵ نانومتر مورد قرائت گرفت. در این حالت میزان هر سویه میکروبی برابر با $10^8 \times 1/5$ می‌باشد (۲۶).

به منظور ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز اولین روش ضد میکروبی استفاده شده، روش دیسک دیفیوژن آگار بود. جهت انجام این آزمون، ۲ دیسک کاغذی (ساخت پادتن طب) و یک دیسک دیگر نیز به‌عنوان شاهد منفی با پنس استریل در پتری‌دیش قرار گرفتند. محیط کشت مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) خریداری شده را پس از استریل کردن در اتوکلاو به درون پتری‌دیش‌ها ریخته شد. پس از آماده شدن محیط کشت، سوسپانسیون‌های میکروبی تهیه شده از سویه‌های بیماری‌زا با استفاده از اسپریدر بر سطح محیط کشت پخش گردید. سپس به کمک پنس استریل در مجاورت با شعله چراغ الکلی دیسک‌های استریل در محل مناسب خود بر محیط کشت قرار گرفتند و میزان ۲۰ میکرولیتر از عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز روی دیسک‌ها ریخته شد، دیسک سوم به منظور کنترل منفی فاقد عصاره بود. از دیسک آنتی‌بیوتیک نالیدیکسیک اسید به‌عنوان کنترل مثبت نیز استفاده شد. پس از قرار گرفتن پتری‌دیش‌های کشت شده به مدت ۱۵ دقیقه در دمای یخچال، پتری‌دیش‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد درون انکوباتور قرار گرفتند. پس از اتمام زمان انکوباسیون و خروج پتری‌دیش‌های میکروبی از انکوباتور، ناحیه بازدارندگی یا عدم رشد در محیط اطراف دیسک‌ها با خط‌کش اندازه‌گیری و به صورت میلی‌متر گزارش گردید. قابل ذکر است، اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز بر هر سویه در سه تکرار انجام شد (۲۷).

به منظور اندازه‌گیری فعالیت ضد میکروبی عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز بر سویه‌های استاندارد بیماری‌زا، روش چاهک آگار دومین روشی بود که استفاده شد. پس از آماده‌سازی محیط کشت

دارد. باسیلوس سرئوس، عامل شایع در ایجاد سندرم اسهال و سندرم تهوع معرفی شده است (۲۳).

تاکنون پژوهش‌های اندکی در زمینه ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز در جهان به‌ویژه ایران انجام شده است این در حالی است که عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز در صنایع غذایی، آرایشی، بهداشتی، دارویی و درمانی کاربرد وسیع دارد و همین امر موجب توجه روزافزون جوامع بشری به این میوه شده است (۲۴). با توجه به مقاوم شدن میکروارگانسیم‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌های درمانی و در دسترس بودن فلفل دلمه‌ای، این پژوهش با هدف ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز بر سویه‌های اشرشیاکلی، سودوموناس اتروژینوزا، سالمونلا تیفی، استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا اینوکوا و باسیلوس سرئوس به روش‌های دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی (ماکروداپلوشن براث) و حداقل غلظت کشندگی در شرایط برون‌تنی انجام شد. در نهایت، مقایسه فعالیت ضد میکروبی عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز با آنتی‌بیوتیک نالیدیکسیک اسید نیز صورت گرفت.

روش کار

این پژوهش تجربی سال ۱۳۹۹، در آزمایشگاه میکروبیولوژی مواد غذایی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شد.

میوه فلفل دلمه‌ای قرمز از شهر اهواز خریداری شد. فلفل‌های دلمه‌ای قرمز با آب سرد شسته و در سایه با دمای محیط خشک شد. میوه خشک شده با استفاده از آسیاب آزمایشگاهی به پودر تبدیل گردید. میوه پودر شده با استفاده از حلال اتانول به نسبت ۵ به ۱ مخلوط شد. مدت ۷۲ ساعت بر دستگاه شیکردر دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) مورد نگهداری واقع گردید. مخلوط حلال و میوه بعد از گذشت ۷۲ ساعت، از پارچه تمیز توری عبور داده شد و سپس بعد از چندین مرحله فشردن و اطمینان از استخراج کامل، بقایای میوه فلفل دلمه‌ای قرمز دور ریخته شد. مخلوط عصاره و حلال ابتدا از کاغذ صافی عبور داده شد و سپس در دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه، سانتریفیوژ گردید. جهت حذف حلال اتانول، مخلوط در دستگاه روتاری قرار گرفت و در نهایت، در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شد. عصاره استخراج شده جهت انجام آزمون‌های میکروبیولوژی، در ظرف تمیزی که با فویل آلومینیومی (کاملاً تاریک) پوشانده شده بود و در دمای یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری گردید (۲۵).

پتری‌دیش که در آن کلنی باکتری مشاهده نشد به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز گزارش گردید (۳۰). جهت ارزیابی داده‌های به‌دست آمده از آزمون‌های میکروبی عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز، از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد و نرم افزار SPSS نسخه ۲۶ استفاده شد. لازم به ذکر است که آزمون‌ها در ۳ مرتبه تکرار شد.

یافته‌ها

در مقایسه دو به دو نتایج اثر ضد میکروبی عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز به روش دیسک دیفیوژن آگار بر باکتری‌های مورد بررسی مشخص گردید که میان باکتری‌های گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا، سالمونلا تیفی و باکتری‌های گرم مثبت لیستریا اینوکوا و استافیلوکوکوس اورئوس اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد وجود ندارد. همچنین مقایسه دو به دو نتایج اثر عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای بر باکتری گرم منفی اشرشیا کلی و باکتری گرم مثبت باسیلوس سرئوس مشخص گردید که تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد میان آن‌ها وجود ندارد. در سایر باکتری‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد مشاهده شد (جدول ۱).

نتایج آزمون دیسک دیفیوژن آگار نشان داد که باکتری گرم منفی اشرشیا کلی بیشترین میزان مقاومت را در برابر عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز از خود نشان داد به طوری که قطر هاله بازدارندگی برای این باکتری در روش دیسک دیفیوژن، ۷/۷۵ میلی‌متر بود. باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا و باکتری گرم مثبت لیستریا اینوکوا حساس‌ترین سویه در برابر عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز بودند، به طوری که قطر هاله عدم رشد آن‌ها در روش دیسک دیفیوژن به ترتیب ۱۱/۷۵ و ۱۱ میلی‌متر گزارش شد.

نتایج اثر آنتی‌بیوتیک نالیدیکسیک اسید بر سویه‌های بیماری‌زا نشان داد که باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا به ترتیب با قطر هاله عدم رشد ۱۹/۵۰ و ۶/۲۵ میلی‌متر حساس‌ترین و مقاوم‌ترین سویه میکروبی بود. مقایسه دوتایی میان اثر آنتی‌بیوتیک نالیدیکسیک اسید و عصاره اتانولی فلفل قرمز بر باکتری‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری میان باکتری‌های مورد بررسی در سطح ۵ درصد مشاهده شد. اثر عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز بر باکتری گرم مثبت لیستریا اینوکوا نسبت به اثر آنتی‌بیوتیک نالیدیکسیک اسید تقریباً ۲ برابر بود (۱۱ میلی‌متر به ۶/۲۵ میلی‌متر). اثر عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز بر باکتری گرم منفی سالمونلا تیفی نیز نسبت به آنتی‌بیوتیک نالیدیکسیک اسید بیشتر بود، اما در مورد سایر باکتری‌های بیماری‌زای مورد بررسی (اشرشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس) اثر آنتی‌بیوتیک نالیدیکسیک اسید

مولر هینتون آگار، به کمک پی‌پت پاستور استریل ۳ عدد چاهک به قطر ۶ میلی‌متر که یکی از آن‌ها به‌عنوان کنترل منفی بود، در سطح پتری‌دیش ایجاد شد. سوسپانسیون میکروبی تهیه شده از کشت تازه سویه‌های میکروبی بیماری‌زا مطابق با استاندارد نیم مک‌فارلند، در سطح محیط کشت پخش شد. توسط سمپلر درون ۲ تا از چاهک‌ها میزان ۲۰ میکرولیتر از عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز ریخته شد و پتری‌دیش‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوباتورگذاری شدند. پس از پایان زمان انکوباسیون، ناحیه بازدارندگی یا عدم رشد در اطراف هر یک از چاهک‌های درون پتری‌دیش‌ها توسط خط‌کش به‌طور دقیق اندازه‌گیری و به‌صورت میلی‌متر نیز گزارش شد. قابل ذکر است که اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز بر هر سویه در سه تکرار صورت گرفت (۲۸).

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی یکی از روش‌های مهم کمی جهت تعیین فعالیت ضد میکروبی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی می‌باشد. جهت ارزیابی حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز از روش رقت لوله‌ای (ماکروداپلوشن برات) استفاده شد. ابتدا غلظت‌های مختلف از عصاره استریل اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز شامل ۰/۷۸، ۱/۵۶، ۳/۱۲۵، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌لیتر تهیه شد. در این روش از ۱۲ لوله آزمایشگاهی استریل برای هر سویه استفاده شد. ۱۰ لوله آزمایشگاهی حاوی غلظت‌های عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز ۲ لوله آزمایشگاهی نیز به‌عنوان کنترل مثبت و منفی در نظر گرفته شدند. در ادامه، از هر سوسپانسیون‌های میکروبی استاندارد نیز به هر لوله آزمایشگاهی افزوده شد. لازم به ذکر است جهت تهیه غلظت‌های مختلف عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز میزان ۴ گرم از عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز با ۹/۵ میلی‌لیتر محیط کشت مولر هینتون برات و ۰/۵ میلی‌لیتر دی‌متیل سولفواکسید ترکیب تا غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ساخته شد. با نصف کردن غلظت اولیه عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز سایر غلظت‌ها ساخته شدند. پس از قرار گرفتن لوله‌های آزمایشگاهی درون انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، لوله‌های آزمایشگاهی در زیر هود آزمایشگاهی توسط چشم بررسی شدند. چنانچه رشد باکتری در هر یک از لوله‌های آزمایشگاهی صورت گرفته باشد، عمل رشد به‌صورت کدورت نمایان می‌شود. در نهایت اولین لوله‌ای که در آن کدورت مشاهده نگردید، غلظت آن به‌عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی برای سویه بیماری‌زا گزارش و ثبت گردید (۲۹).

از لوله‌هایی که در آن‌ها کدورت (عدم رشد میکروبی) مشاهده نشد به میزان ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و بر سطح محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد. سپس پتری‌دیش‌های کشت داده شده به انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت منتقل شدند. با گذشت ۲۴ ساعت و ارزیابی به‌صورت چشمی، غلظت اولین

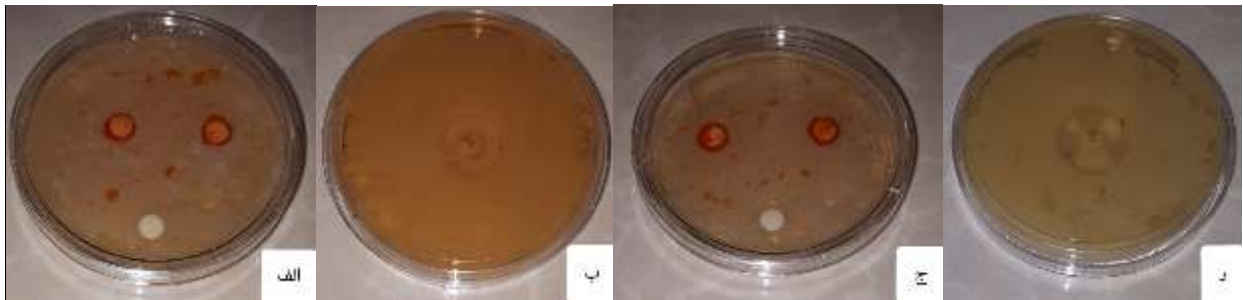
باسیلوس سرئوس به روش دیسک دیفیوژن آگار نشان داده شده است.

نسبت به عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز بیشتر بود (جدول ۱). شکل ۱، نمایی از اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز و آنتی‌بیوتیک نالیدیکسیک اسید بر باکتری‌های اشرشیا کلی و

جدول ۱- میانگین قطر هاله عدم رشد میکروبی (بر حسب میلی‌متر) عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز و آنتی‌بیوتیک نالیدیکسیک اسید بر باکتری‌های بیماری‌زا به روش دیسک دیفیوژن آگار

بakteri	اشرشیا کلی	سودوموناس آئروژینوزا	سالمونلا تیفی	استافیلوکوکوس اورئوس	لیستریا اینوکوا	باسیلوس سرئوس
عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز	۷/۷۵ ± ۰/۶۰ ^{bB}	۱۱/۷۵ ± ۰/۷۲ ^{aB}	۱۰/۵۰ ± ۰/۶۱ ^{aA}	۱۰/۷۵ ± ۰/۵۸ ^{aB}	۱۱/۰۰ ± ۰/۵۵ ^{aA}	۸/۵۰ ± ۰/۵۷ ^{bB}
نالیدیکسیک اسید	۱۷/۵۰ ± ۰/۵۰ ^{bA}	۱۳/۵۰ ± ۰/۵۰ ^{cA}	۷/۵۰ ± ۰/۵۰ ^{dB}	۱۹/۵۰ ± ۰/۵۰ ^{aA}	۶/۲۵ ± ۰/۷۵ ^{dB}	۱۹/۲۵ ± ۰/۲۵ ^{aA}

- نتایج به دست آمده حاصل ۳ تکرار است و میانگین آن‌ها گزارش شده است.
- حروف غیر مشابه کوچک در یک ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد بر باکتری‌های مورد بررسی است.
- حروف غیر مشابه بزرگ در یک ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری اثر عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز و آنتی‌بیوتیک نالیدیکسیک اسید در سطح ۵ درصد است.



شکل ۱- اثر ضد میکروبی (دیسک دیفیوژن آگار) عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز و آنتی‌بیوتیک نالیدیکسیک اسید (الف) اثر عصاره بر اشرشیا کلی (ب) اثر آنتی‌بیوتیک بر اشرشیا کلی (ج) اثر عصاره بر باسیلوس سرئوس (د) اثر آنتی‌بیوتیک بر باسیلوس سرئوس.

باکتری لیستریا اینوکوا در سطح آماری ۵ درصد با باکتری‌های اشرشیا کلی، سالمونلا تیفی و استافیلوکوکوس اورئوس اختلاف معنی‌داری داشت در حالی که اختلاف معنی‌داری با باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا و باسیلوس سرئوس نداشت. مقایسه دوتایی میان باکتری‌های مورد بررسی نشان داد که در سطح آماری ۵ درصد باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس با تمامی باکتری‌های به جز باکتری گرم منفی اشرشیا کلی اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۲).

نتایج نشان داد که در روش چاهک آگار، باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس (۸ میلی‌متر) مقاوم‌ترین سویه‌ی میکروبی و باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا (۱۲/۲۵ میلی‌متر) حساس‌ترین سویه‌ی میکروبی نسبت به عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز بودند. نتایج مقایسه دوتایی اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز نشان داد که باکتری سودوموناس آئروژینوزا در سطح آماری ۵ درصد با تمامی باکتری‌های بیماری‌زا مورد بررسی به جز باکتری گرم مثبت لیستریا اینوکوا اختلاف معنی‌داری داشت.

جدول ۲- میانگین قطر هاله عدم رشد میکروبی (چاهک آگار) عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز بر اشرشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا، سالمونلا تیفی، استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا اینوکوآ و باسیلوس سرئوس بر حسب میلی‌متر

باکتری	اشرشیا کلی	سودوموناس	سالمونلا تیفی	استافیلوکوکوس	لیستریا اینوکوآ	باسیلوس
عصاره	آئروژینوزا			اورئوس		سرئوس
فلفل دلمه‌ای قرمز	$0.82 \pm cd$	12.25 ± 0.77^a	9.75 ± 0.43^c	8.00 ± 0.70^d	11.25 ± 0.40^{ab}	10.10 ± 0.88^{bc}
	۸/۷۵					

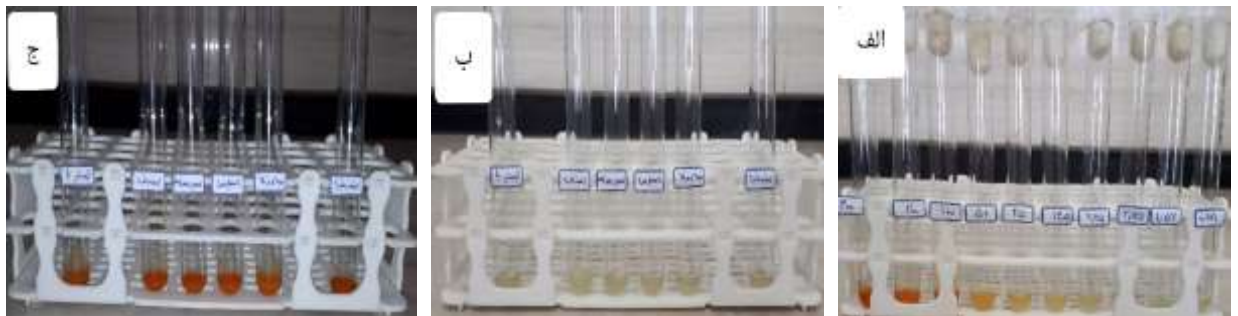
• نتایج به دست آمده حاصل ۳ تکرار است و میانگین آن‌ها گزارش شده است.
حروف غیرمشابه در یک ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح معنی‌داری ۵ درصد میان باکتری‌های مورد بررسی است

مهارکنندگی رشد آن‌ها می‌باشد. (جدول ۳). در شکل ۲، نمایی از تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا نشان داده شده است. حداقل غلظت کشندگی عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز برای تمامی باکتری‌های مورد بررسی بزرگتر از ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. در شکل ۳ نیز نمایی از حداقل غلظت کشندگی در بالاترین غلظت (۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) نشان داده شده است.

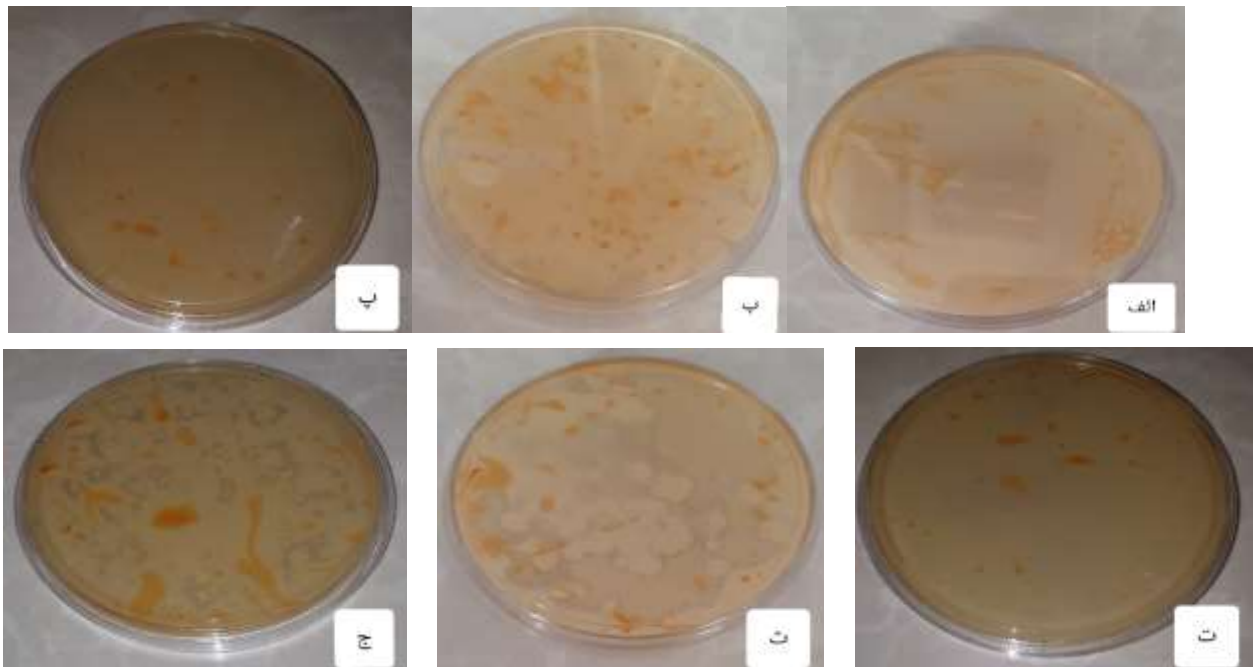
حداقل غلظت مهارکنندگی رشد عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز برای باکتری‌های اشرشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا، سالمونلا تیفی و باسیلوس سرئوس برابر با ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت مهارکنندگی رشد عصاره برای باکتری‌های گرم مثبت لیستریا اینوکوآ و استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب ۲۰۰ و بزرگتر از ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت کشندگی عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز برای باکتری‌های مذکور، بزرگتر از حداقل غلظت

جدول ۳- حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز بر باکتری‌های بیماری‌زا

باکتری	حداقل غلظت مهارکنندگی (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	حداقل غلظت کشندگی (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)
اشرشیا کلی	۴۰۰	>۴۰۰
سودوموناس آئروژینوزا	۴۰۰	>۴۰۰
سالمونلا تیفی	۴۰۰	>۴۰۰
استافیلوکوکوس اورئوس	>۴۰۰	>۴۰۰
لیستریا اینوکوآ	۲۰۰	>۴۰۰
باسیلوس سرئوس	۴۰۰	>۴۰۰



شکل ۲- حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز (الف) اثر غلظت‌های مختلف عصاره بر سویه سودوموناس آئروژینوزا (ب) کنترل مثبت (محیط کشت + سودوموناس آئروژینوزا) (ج) کنترل منفی (محیط کشت + بالاترین غلظت عصاره)).



شکل ۳- حداقل غلظت کشندگی عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز بر سویه‌های میکروبی (الف) اشرشیا کلی (ب) سودوموناس (پ) آئروژینوزا (ت) سالمونلا تیفی (ث) لیستریا اینوکوا (ج) استافیلوکوکوس اورئوس (د) باسیلوس سرئوس).

بحث

نتایج اثر ضد میکروبی به‌روش چاهک آگار بیانگر آن بود که قطر هاله عدم رشد مشاهده شده در برخی از سویه‌های میکروبی نظیر اشرشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا، لیستریا اینوکوا و باسیلوس سرئوس نسبت به‌روش دیسک دیفیوژن افزایش یافته بود. محققان دلیل آن را ارتباط مستقیم در روش چاهک آگار میان عصاره و باکتری در سطح محیط کشت گزارش کرده‌اند (۳۱).

Dorantes و همکاران (۲۰۰۰)، فعالیت ضد میکروبی عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز را به‌روش چاهک آگار روی باکتری‌های سالمونلا تیفی موریوم، لیستریا مونوسایتوزنزا، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس بررسی کردند. آن‌ها گزارش کردند عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز دارای خواص ضد میکروبی علیه سویه‌های مذکور می‌باشد (۳۱). نتایج ارزیابی اثر ضد میکروبی به‌روش حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز در پژوهش حاضر، در جدول ۳، آورده شده است. همواره نتایج حداقل غلظت کشندگی برابر یا بزرگتر از نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی می‌باشند، از این رو حداقل غلظت کشندگی عصاره اتانولی فلفل

فلفل دلمه‌ای قرمز از دیرباز در طب سنتی جهت درمان بیماری‌های مختلف، مورد توجه بوده است. امروزه نه تنها مصرف خوراکی فلفل دلمه‌ای قرمز به صورت خام یا پودر شده مرسوم است بلکه عصاره این میوه نیز جهت طعم‌دهنده و رنگ‌دهنده در تهیه محصولات غذایی مختلف نیز کاربرد دارد (۲ و ۴). در حالی که عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز دارای خواص ضد میکروبی و اثرات مطلوب بر سلامت فرد مصرف‌کننده می‌باشد، پژوهش‌های اندکی در زمینه ارزیابی فعالیت ضد میکروبی آن انجام شده است (۶). لذا با توجه به پتانسیل بالای فلفل دلمه‌ای قرمز جهت درمان برخی بیماری‌ها و کاهش مصرف داروهای شیمیایی به علت عوارض جانبی آن‌ها، در پژوهش آزمایشگاهی حاضر فعالیت ضد میکروبی عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز بر شش سویه بیماری‌زا در شرایط آزمایشگاهی با استفاده از روش‌های کمی و کیفی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از بررسی اثر ضد میکروبی عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز حاکی از آن بود که عصاره مورد نظر بر شش سویه بیماری‌زا اشرشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا، سالمونلا تیفی، استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا اینوکوا و باسیلوس سرئوس دارای اثر مهارکنندگی بود.

غلظت کشندگی و چاهک آگار بر سویه استافیلوکوکوس اورئوس را ارزیابی کردند. آن‌ها میانگین قطر هاله عدم رشد را ۱۵/۶ میلی‌متر، حداقل غلظت مهارکنندگی را ۱۴ و حداقل غلظت کشندگی را ۲۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند (۳۵). میرمالک ثانی و صمدی (۱۳۹۹)، اثر ضد میکروبی عصاره فلفل قرمز را بر دو باکتری گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسایتوزنز) و دو باکتری گرم منفی (اشرشیا کلی و سالمونلا انتریکا) به روش حداقل غلظت مهارکنندگی بررسی کردند. آن‌ها گزارش کردند که عصاره فلفل قرمز از اثر ضد میکروبی قابل توجهی برخوردار است (۳۶). Santos و همکاران (۲۰۱۲)، در مطالعه‌ای فعالیت ضد میکروبی ترکیباتی نظیر اتیل استات، کپسایسین و دی‌هیدروکپسایسین موجود در عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز را بر سویه استرپتوکوکوس موتانس به روش حداقل غلظت مهارکنندگی مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی برای اتیل استات ۲/۵، کپسایسین و دی‌هیدروکپسایسین ۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود (۳۷). علت تفاوت در نتایج پژوهش حاضر با نتایج مطالعه‌های ذکر شده می‌تواند به تفاوت در شرایط آب و هوایی، نوع خاک محل رشد گیاه، جنس گیاه، گونه گیاه، زمان جمع‌آوری و برداشت گیاه، شرایط استخراج و عصاره‌گیری، تفاوت در روش‌های اندازه‌گیری و ... مرتبط باشد (۲۰ و ۳۲). بسیاری از پژوهشگران بر این باورند که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی دارای حساسیت بیشتری در برابر اسانس و عصاره‌های گیاهی می‌باشند (۳۲). این در حالی است که در پژوهش حاضر، عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز در روش‌های دیسک دیفیوژن آگار و چاهک آگار بیشترین اثر ضد میکروبی را بر باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا داشت. دلیل این امر را می‌توان به این صورت توجیه کرد که اسانس و عصاره‌های گیاهی با مکانیسم‌های مختلفی بر باکتری‌ها اثر می‌گذارند اگرچه مهم‌ترین مکانیسم آن‌ها بر اساس دیواره سلولی باکتری‌ها و تفاوت آن در باکتری گرم مثبت و گرم منفی می‌باشد ولی آن‌ها با ممانعت از مکانیسم‌هایی نظیر عملکرد غشای سلولی باکتری‌ها، ساخت پروتئین‌ها و ساخت اسیدهای هسته‌ای می‌توانند سبب مهار رشد باکتری‌ها شوند به‌ویژه اینکه باکتری گرم منفی بر خلاف باکتری گرم مثبت فقط دارای یک لایه نازک پپتیدوگلیکانی می‌باشد (۳۸). زرین‌قلم مقدم و همکاران (۱۳۸۶)، گزارش کردند که عصاره اتانولی فلفل قرمز با ایجاد اختلال در عملکرد غشای سلولی و سنتز آنزیمی باکتری‌ها، مانع از رشد میکروارگانسیم‌ها می‌شود (۲). داداش‌بیک و همکاران (۱۳۸۹)، در مطالعه‌ای به این نتیجه رسیدند که عصاره گیاهی به‌علت ماهیت آب‌گریزی خود قادر است با لایه فسفولیپیدی غشای سلولی باکتری گرم منفی پیوند برقرار کند. عصاره پس از اتصال خود به غشای سلولی با برهم زدن انسجام غشا و ایجاد اختلال در عملکرد میتوکندری باعث خروج یون‌ها و سایر مواد از سلول شده که در نتیجه، منجر به مرگ باکتری می‌شود (۳۹). اشرف‌پور و همکاران (۱۳۹۴)، گزارش کردند که وجود ترکیبات فنولی در عصاره گیاهی می‌تواند با تخریب دیواره سلولی

دلمه‌ای قرمز در پژوهش حاضر برای تمام باکتری‌های مورد بررسی بزرگتر از ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. با توجه به فعالیت ضد میکروبی عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز، این میوه حاوی ترکیباتی نظیر بتاپینن، آلفاپینن، لینالئول و ترپینئول می‌باشد (۲).

بر اساس پژوهش‌های صورت گرفته ترکیبات مذکور سبب فعالیت ضد میکروبی در فلفل دلمه‌ای قرمز می‌شوند به طوری که عصاره میوه پتانسیل کاربرد در مصارف درمانی را دارد. عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز علاوه بر ترکیبات ضد میکروب قوی دارای مقادیری از انواع پلی‌فنول‌ها، فلاونوئیدها، هیدروکسی سینامید، فلاونول، فلاون، کوئرستین، لوتئولین و ... می‌باشد که بسیاری از پژوهشگران، حضور چنین ترکیباتی در عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز را دلیل فعالیت ضد میکروبی آن می‌دانند (۵، ۶ و ۷).

زرین‌قلم مقدم و همکاران (۱۳۸۶)، اثر ضد میکروبی عصاره فلفل قرمز بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس را به روش چاهک آگار و حداقل غلظت مهارکنندگی (ماکرودیالوشن براث) ارزیابی کردند. آن‌ها هاله عدم رشد را ۱۶ میلی‌متر و حداقل غلظت مهارکنندگی را ۱/۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر برای عصاره گزارش کردند. همچنین آن‌ها علت اثر ضد میکروبی را، اثر عصاره بر غشای باکتری و ایجاد اختلال در سنتز آنزیمی باکتری اعلام کردند. علت تفاوت نتیجه پژوهش حاضر با نتیجه آن‌ها می‌تواند به دلیل تفاوت در روش عصاره‌گیری، شرایط اقلیمی گیاه و سایر شرایط اکولوژیکی باشد (۲ و ۳۲).

سعیدی و همکاران (۱۳۹۱)، فعالیت ضد میکروبی عصاره اتانولی فلفل قرمز را بر سویه استافیلوکوکوس اورئوس به دو روش حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی بررسی کردند. نتایج نشان داد که با کاهش غلظت عصاره تأثیر ضد میکروبی آن نیز کاهش می‌یابد. آن‌ها گزارش کردند که عصاره گیاهی فلفل قرمز، در غلظت ۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر دارای بیشترین اثر مهارکنندگی و در غلظت ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر دارای بیشترین اثر کشندگی بر استافیلوکوکوس اورئوس بود (۳۳). خروشی و همکاران (۱۳۹۶)، تأثیر ضد میکروبی عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز بر سویه‌های استرپتوکوکوس موتانس، استرپتوکوکوس سوپرینوس و استرپتوکوکوس سنگونیس به روش حداقل غلظت مهارکنندگی ارزیابی کردند. آن‌ها حداقل غلظت مهارکنندگی برای استرپتوکوکوس موتانس ۲۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، برای استرپتوکوکوس سوپرینوس و استرپتوکوکوس سنگونیس ۱۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند. آن‌ها دلیل فعالیت ضد میکروبی عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز را وجود ویتامین‌های A، C، E، کاروتنوئیدها، ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها در عصاره اعلام کردند (۳۴). جبلی‌جوان و همکاران (۱۳۹۸)، فعالیت ضد میکروبی عصاره متانولی فلفل قرمز به سه روش حداقل غلظت مهارکنندگی، حداقل

هاله عدم رشد برای باکتری های اشرشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس کوچکتر از هاله عدم رشد آن‌ها در برابر اثر آنتی‌بیوتیک نالیدیکسیک اسید بود. با توجه به مصرف خوراکی فلفل دلمه‌ای قرمز پیشنهاد می‌شود پژوهش‌های گسترده‌تری چه در شرایط برون‌تنی و چه در شرایط درون‌تنی انجام شود تا بتوان از عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز به‌عنوان داروی گیاهی با دوز مناسب جهت کنترل و درمان بیماری‌های عفونی با عامل باکتریایی که به آنتی‌بیوتیک‌های درمانی مقاوم شده‌اند، استفاده کرد.

تقدیر و تشکر

مقاله حاضر مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد می‌باشد، لذا نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به‌دلیل حمایت و مساعدت‌های مادی و معنوی صمیمانه، تشکر و قدردانی نمایند.

باکتری، نه‌تنها از ساخت پروتئین‌ها جلوگیری کنند بلکه اختلالاتی در رونویسی RNA و DNA نیز ایجاد کنند (۴۰). Lin و همکاران (۲۰۱۳)، اعلام کردند که کپسایسین موجود در عصاره فلفل قرمز موجب اختلال در عملکرد غشای سلولی باکتری و در نهایت موجب مرگ آن می‌شود (۱۸).

نتیجه‌گیری

تاکنون پژوهش‌های اندکی در زمینه ارزیابی اثر ضد میکروبی عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز صورت گرفته است. این درحالی است که در پژوهش حاضر اثر ضد میکروبی عصاره فلفل دلمه‌ای قرمز به‌صورت ۴ روش کمی و کیفی دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی (ماکرودایلوشن براث) و حداقل غلظت کشندگی مورد ارزیابی واقع شد. نتایج پژوهش حاضر حاکی از آن بود که عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز اثر ضد میکروبی بر باکتری‌های مورد بررسی (سودوموناس آئروژینوزا، سالمونلا تیفی، اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا اینوکوا و باسیلوس سرئوس) داشت. هاله عدم رشد در باکتری‌های سالمونلا تیفی و لیستریا اینوکوا در اثر عصاره اتانولی فلفل دلمه‌ای قرمز، نسبت به هاله عدم رشد در اثر آنتی‌بیوتیک نالیدیکسیک اسید بزرگتر بود. در حالی که

REFERENCE

1. Kamali, M., Jorjani, S., Ghelichi, A. & Kamali, M. (2018). The effect of red pepper (*Capsicum annuum*) and ginger (*Zingiber officinale*) on growth, nutrition, survival and carcass composition scars of *Astronotus scar ocellatus*. *Journal of Aquaculture Development*, 12(4): 107-120. [Full text in Persian].
2. Zaringhalam moghadam, M., Satari, M., Zaringhalam moghadam, J. & Rezazadeh, Sh. (2008). The effect of alcoholic extract of black pepper, red pepper and thyme on inhibition of *Staphylococcus aureus* DNase enzyme. *Journal of Medicinal Plants*. 6 (24): 17-21. [Full text in Persian].
3. Dehlaei, Z., Fahim Danesh, M. & Sahri, M.A. (2016). Comparative study of red pepper extract extraction by ultrasound method Thermal and its effect on the oxidative stability of virgin olive oil. *Quarterly Journal of Food Science and Technology*, 52(13): 173-184. [Full text in Persian].
4. Razavi zadeh, M., Kadkhodayi, R. & Zaafarani, Z. (2016). Extraction and microencapsulation of red pepper oleoresin capsaicinoids. *Journal of Research and Innovation in Food Science and Industry*. 4(4): 219-232. [Full text in Persian].

5. Mohammadi, M., Atai Salehi, I. & Ismailzadeh Kenari, R. (2015). Investigation of antioxidant properties of common red pepper extract in Iran. *Journal of Innovation in Food Science and Technology*, 7(1): 46-54. [Full text in Persian].
6. Babaei Garmkhani, S., Yousef Vand, F., Nesudi, G, & Hatami, K. (2015). Effect of oral consumption of red pepper powder (*Capsicum annuum*) and black pepper (*Piper nigrum*) on Serum levels of blood cholesterol in mice. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Industry*, 10(3): 13-20. [Full text in Persian].
7. Deepaa, N., C. Kaura, B. Georgea, B. Singhb & H. C. Kapoor. (2007). Antioxidant constituents in some sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes during maturity. *Swiss Society of Food Science and Technology*, 40: 121-129.
8. Sun, T., Z. Xu, C. T. Wu, M. Janes, W. Prinyawiwatkul & H. K. No. (2007). Antioxidant activities of different colored sweet bell peppers (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Food Science*, 72: 98-102.
9. Fox, J., A. D. Del Poze-Insfran, J. Hee Lee, S. A. Sargent & S. T. Talcott. (2005). Ripening-induced chemical and antioxidant changes in bell peppers as affected by harvest maturity and postharvest ethylene exposure. *Hort Science*, 40: 732-736.
10. Dehghan Tanha, R., Mehdian, E., Aminifard, M.H., Bayat, H. & Karajian, R. (2019). Optimization of extraction conditions of phenolic compounds of red pepper using ultrasound by response level method. *Journal of Innovation in Food Science and Technology*, 11(1): 86-95. [Full text in Persian].
11. Shariati, A., Pordeli, H. R., Khademian, A. & Aydani, M. (2010). Evaluation of antimicrobial potential of red pepper (*Capsicum annuum*) and (*Capsicum frutescens*) species extract against resistant strains of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Plant Science Research*, 5(1): 76-83. [Full text in Persian].
12. Kono, Y., Kubota, A., Taira, M., Narumi Katsuyama, N. & Sugimoto, K. (2017). Effects of oral stimulation with capsaicin on salivary secretion and neural activities in the autonomic system and the brain. *Journal of Dental Sciences*. 1-8.
13. Guedes, V., Castro, J. P. Brito, I. (2016). Topical capsaicin for pain in osteoarthritis: A literature review. *Reumatol Clin*.
14. Srinivasan, K. (2015). Biological activities of red pepper (*Capsicum annuum*) and its pungent principle capsaicin: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.
15. Roghani, M., Balochnejhad mojarad, T., Sohrabi, Z. & Sadeghi, M. (2005). Evaluation of antihyperglycemic and hypolipidemic effect of oral administration of red pepper in an experimental model of diabetes mellitus in male rats. *Quarterly Journal of Medicinal Plants*. 10: 47-52.
16. Zhang, R., Humphreys, I. & Sahu, R. P. (2008). Invitro and in vivo induction of apoptosis by capsaicin in pancreatic cancer cells is mediated through ROS generation and mitochondrial death pathway. *Springer*, 1465-1478.
17. Ramos-Torres, A., Bort, A., Morell, C., Rodríguez-Henche, N. & Díaz-Laviada, I. (2015). The pepper's natural ingredient capsaicin induces autophagy blockage in prostate cancer cells. *Oncotarget*, 7 (2): 1569-1583.
18. Lin, C. H., Lu, W. C., Wang, C. W., Chan, Y. C. & Chen, M. K. (2013). Capsaicin induces cell cycle arrest and apoptosis in human KB cancer cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13-46.

19. Ansari pour, A., Mehrnia, M. A., Noshad, M., Barzegar, H. & Alizadeh Behbahani, B. (2019). Antimicrobial effect of garlic essential oil on a number of foodborne pathogens and determination of its chemical composition and antioxidant activity. *Journal of Food Science and Technology*. 16 (91): 17-29. [Full text in Persian].
20. Noshad, M. & Alizadeh Behbahani, B. (2019). Identification of Chemical Compounds, Antioxidant Activity, and Antimicrobial Effect of *Elettaria cardamomum* Essential Oil on a Number of Pathogenic Microorganisms in Vitro. *Qom University of Medical Sciences Journal*. 13(2):57-69. [full text in Persian].
21. Alizadeh Behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., Shahidi, F. & Mohebbi, M. (2014). Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic *Avicennia marina* extracts on *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes* and *Pseudomonas aeruginosa* "in vitro". *Iranian South Medical Journal*. 17(5):879-88. [full text in Persian].
22. Razavilar, V. & Genigeorgis, C. (1998). Prediction of *Listeria* spp. Growth as affected by various levels of chemicals, pH, temperature and storage time in model broth. *Food Microbiology*. 40:149-157.
23. Palmer, A. S., Steward, J. & Fyfe, L. (2001). The potential application of plant essential oils as natural preservatives in soft cheese. *Food Microbiology*. 18: 463-470.
24. Azarshab, Z. & Sobhan Ardakani, S. (2018). Evaluation of health index of zinc and cadmium in cinnamon, black pepper and red pepper spices offered in Hamedan. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services*, 40 (5): 7-14. [Full text in Persian].
25. Tabatabaei Yazdi, F., Alizade Behbahani, B. & Heidari Sureshjani, M. (2014). The comparison of antimicrobial effects of Chevil (*Ferulago angulata*) extract with a variety of common therapeutic antibiotics in vitro. *Journal of Arak University Medical Sciences*. 17 (3): 35-46. [Full text in Persian].
26. Tabatabaei Yazdi, F., Alizade Behbahani, B. & Mortazavi, A. (2014). Investigating the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of the *Lavandula stoechas* L. and *Rosmarinus officinalis* L. extracts on pathogen bacteria "in vitro". *Journal of Paramedical Sciences (JPS)*. 5(2): 91-101.
27. Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M., & Falah, F. (2019). Cumin essential oil: Phytochemical analysis, antimicrobial activity and investigation of its mechanism of action through scanning electron microscopy. *Microbial Pathogenesis*, 136, 103716.
28. Alizadeh Behbahani, B., & Imani Fooladi, A. A. (2018). Development of a novel edible coating made by Balangu seed mucilage and Feverfew essential oil and investigation of its effect on the shelf life of beef slices during refrigerated storage through intelligent modeling. *Journal of Food Safety*, 38(3), e12443.
29. Rahmati-Joneidabad, M. & Alizadeh Behbahani, B. (2021). Investigation of the antifungal effect of *Myrtus communis* essential oil on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* (the green and blue fungi of orange). *Journal of Food Science and Technology*. 109 (17):1-7.
30. Alghooneh, A., Alizadeh Behbahani, B., Noorbakhsh, H., & Yazdi, F. T. (2015). Application of intelligent modeling to predict the population dynamics of *Pseudomonas aeruginosa* in Frankfurter sausage containing *Satureja bachtiarica* extracts. *Microbial Pathogenesis*, 85, 58-65.
31. Dorantes, L., Colmenero, R., Hernandez, H., Mota, L., Jaramillo, M. E., Fernandez, F. & Solano, C. Inhibition of growth of some foodborne pathogenic bacteria by *Capsicum annuum* extract. *Int Journal Food Microbial*. 57: 125-128.

32. Noshad, M. & Alizadeh behbahani, B. (2019). Investigation of Phytochemical Compounds, antioxidant Potential and the Antimicrobial Effect of Bergamot Essential Oil on some Pathogenic Strains Causing Infection Invitro. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*, 26(6):122-32. [full text in Persian].
33. Saeedi, S., Khaledi, M. & Porseedi, S. H. (2013). Antimicrobial activity of *Cayenne pepper* ethanolic extract, *Amaranthus retroflexus* and *Satureja hortensis* Against antibiotic-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Biology and Applied*. 41-48. [full text in Persian].
34. Khoroushi, M., Rabbani Khorasgani, M. & Aliasghari, A. (2018). Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) of two plants extract on cariogenic streptococci. *Journal of Dentistry, University of Medical Sciences and Health Services*. 30 (1): 12-17.
35. Jebelli Javan, A., Staji, H., Rezaei, N., Shemshadi, G. H., Soghra Birgani Farhani, S. & Kanani, M. (2019). Assessment of prevalence and molecular characterization of beta-lactams resistant *Staphylococcus aureus* bacteria isolated from raw minced beef in Semnan and effect of red pepper (*Capsicum frutescens*) and red onion (*Allium cepa*) extracts against them. *Journal of Veterinary Research*. 74 (4): 464-473. [full text in Persian].
36. Mairmalek-Sani, H. S. & Samadi, N. (2021). Antimicrobial activity of *Curcuma longa* L., *Capsicum annuum* L. and *Piper nigrum* at different conditions. *Journal of Medicinal Plants*. 19 (74): 145-154. [full text in Persian].
37. Santos, M. M., Vieira-da-Motta, O., Vieira. I. J., Braz-Filho, R., Goncalves, P. S. & Maria, E. J. (2012). Antibacterial activity of *Capsicum annuum* extract and synthetic capsaicinoid derivatives against *Streptococcus mutans*. *Journal Nature Medical*. 66 (2): 354-356.
38. Saffari Samani, E., Jooyandeh, H., Alizadeh Behbahani, B. (2020). Evaluation of reciprocal pharmaceutical effect and antimicrobial activity of Shirazi thyme essential oil against some Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Journal of Food Science and Technology*. 104 (17): 1-11. [full text in Persian].
39. Dadashbiki, M., Rezakhani, V., Peshdar, M., Darabi, A. H. & Masroor, A. (2011). Evaluation of antibacterial effect of basil extract on *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Veterinary Medicine Islamic Azad University*. 4 (4): 71-80. [full text in Persian].
40. Ashrafpour, M., Rezaei, H., Sefidgar, S. A. A, Baradaran, M. & Sharifi, H. (2016). Survey of the Antibacterial Properties of Aqueous Ethanolic and Methanolic Extraction of *Artemisia Annu* Around the City of Babol. *Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 23 (6): 129-141. [full text in Persian].