DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijmapr.2011.6562

فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۷، شمارهٔ ۱، صفحهٔ ٥٦-٤٧ (۱۳۹۰)

ارتباط فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدقارچی عصاره قسمت‌های مختلف انار (*Punica granatum* L.) با محتوای فنولیکی آن

یحیی سلاح‌ورزی[1*]، علی تهرانی‌فر[2] و وحید جهانبخش[3]

۱*- نویسنده مسئول، مربی، مرکز تحقیقات انار، دانشگاه فردوسی مشهد، پست الکترونیکی: selahvarzi@ferdowsi.um.ac.ir
۲- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳- دانشجوی دکتری، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۸۸ تاریخ اصلاح نهایی: اردیبهشت ۱۳۸۹ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۸۹

چکیده

در بسیاری از کشورها، ضایعات محصولات کشاورزی اکثراً به علت فرایندهای اکسیداسیونی و حمله میکروارگانیسم‌ها در انبار صورت می‌گیرد. در عین حال، بسیاری از گیاهان حاوی ترکیب‌هایی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا و خواص ضدقارچی قوی می‌باشند که می‌توانند به صورت نگهدارنده‌های طبیعی بکار برده شوند. به منظور بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی و ضدقارچی انار (*Punica granatum* L.)، آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار انجام شد. در این پژوهش اثر سه قسمت مختلف گیاه انار (پوست میوه، بذر و برگ) و دو حلال مصرفی (آبی و متانولی) با ٤ غلظت (۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ ppm) بر روی دو نوع قارچ پس از برداشت (*Alternaria citri* و *Aspergillus niger*) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که عصاره متانولی پوست میوه انار با میانگین‌های ٤٧/٦٪ و ۳۷/۷٪ به‌ترتیب بیشترین اثر بازدارندگی را بر رشد میسلیوم‌ها ((Inhibitory of Mycelia Growth (IMG)) و جوانه‌زنی اسپور (Inhibitory of Spore Germination (ISG)) قارچ‌ها دارد. همچنین محتوای فنولیک پوست میوه انار ۱/۸ برابر محتوای فنولیک برگ آن و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پوست میوه، بذر و برگ درخت انار به‌ترتیب برابر ۵۵/۳٪، ۳۵/۷٪ و ١٦/٤٪ مشخص گردید. بنابراین به نظر می‌رسد که محتوای فنولیکی بالای پوست و بذر انار می‌تواند خاصیت ضدقارچی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قوی این عصاره‌ها را بوجود آورد.

واژه‌های کلیدی: برگ انار، بذر انار، پوست میوه انار، عصاره متانولی، فعالیت ضدقارچی.

مقدمه

انار درختچه‌ایست خزان‌دار و بومی ایران که از قدمت کشت و کار زیادی در کشور برخوردار است (سرخوش و همکاران، ١٣٨٦). ایران با تولید ٦٧٠ هزار تن در سال بزرگترین تولیدکننده انار در جهان محسوب می‌شود (پایگاه اطلاعاتی مرکز آمار ایران، www.amar.sci.org.ir). این گیاه دارای خواص ضدمیکروبی فراوانی در انسان بوده و از گذشته‌های دور مصارف گوناگونی در این زمینه داشته است. از طرف دیگر قسمت‌های مختلف انار شامل برگها، پوست تنه،

ریشه، پوست میوه، آب انار و بذر آن، همگی حاوی ترکیب‌های مؤثری می‌باشند که می‌توانند علاوه بر خاصیت ضدمیکروبی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی گسترده‌ای را نیز شامل شوند (Seeram *et al*., 2006). آنتی‌اکسیدان‌ها نقش ویژه‌ای در حفظ سلامت افراد دارند. در سالهای اخیر بخوبی نشان داده شده است که پیشگیری از بسیاری از بیماریها، نظیر عوارض قلبی و حتی سرطان‌های مختلف با مقدار جذب و مصرف میوه‌ها و سبزیجات حاوی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی همبستگی دارد (Casanova *et al*., 2008).

الاژیک اسید (Ellagic acid) از مهمترین ترکیب‌های موجود در پوست انار بوده که ساختار و طبیعت فنلی این ترکیب موجب فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی آن می‌شود. در حال حاضر علاوه بر این‌که انار به‌عنوان یک میوه مطرح است، خصوصیات دارویی آن نیز مورد توجه محققان کشورهای زیادی قرار گرفته است (سرخوش و همکاران، ۱۳۸٦). در مورد ترکیب‌های فنولیک و به خصوص پونیکالاژین (Punicalagin) بدست آمده از پوست انار گزارشهایی وجود دارد که بیانگر خاصیت ضدمیکروبی آن در برابر قارچ *Candida albicans* می‌باشد (Burapadaja & Bunchoo, 1995). خاصیت ضدقارچی عصاره حاصل از پوست میوه انار با توجه به نوع میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش، متنوع گزارش شده است. به‌عنوان مثال، این عصاره می‌تواند از رشد *Penicillum citrinum* برای ۸ روز و از رشد *Aspergillus ochraceus* برای ۳ روز جلوگیری کند. در کشور چین حتی در مواردی از عصاره حاصل از پوست انار جهت تهیه قارچ‌کش استفاده می‌گردد (Seeram *et al*., 2006).

امروزه جمعیت قابل‌ملاحظه‌ای از افراد زیر خط فقر در کشورهای آسیایی و آفریقایی، اثر سوء قارچ‌ها را تحمل می‌کنند (Majumder *et al*., 1997). از طرف دیگر استفاده از قارچ‌کش‌ها و سموم شیمیایی بیشترین مقادیر مصرف را جهت کنترل قارچ‌ها به خود اختصاص داده است. اما نکته مهم و قابل‌توجه در این زمینه خاصیت تجمع‌پذیری این مواد در سلول‌های بدن مصرف‌کنندگان، دوره کارنس بالا و همچنین زیان‌های بی‌شمار زیست‌محیطی این ترکیب‌های مصنوعی است که استفاده بی‌رویه آنها را با تردید همراه کرده است (Barnard *et al*., 1997). Chang و همکاران (۲۰۰۸) ایجاد نژادهای مقاوم از عوامل بیماری‌زا را از دیگر معضل‌های مهم استفاده از این سموم برشمردند. از این رو، طی دو دهه اخیر کاربرد برخی ترکیب‌های طبیعی مانند عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی جهت کنترل بیولوژیک عوامل بیماری‌زا مورد توجه قرار گرفته است (Verma & Dubey, 1999).

اما به‌رغم تحقیقات وسیع بر روی این میوه و شناسایی ترکیب‌های گیاهی و حتی بررسی خواص ضدمیکروبی آن در برابر عوامل بیماری‌زای انسانی، باید گفت که تاکنون خاصیت ضدقارچی آن جهت کنترل قارچ‌های پس از برداشت گیاهی مورد تحقیق قرار نگرفته است. در حالی‌که مشخص شده است که بخش عمده‌ای از ضایعات محصولات غذایی به علت فرایندهای اکسیداسیونی و حمله میکروارگانیسم‌ها در انبار صورت می‌گیرد (Casanova *et al*., 2008). بنابراین پژوهش حاضر جهت بررسی خاصیت ضدقارچی عصاره قسمت‌های مختلف انار و تعیین محتوای فنولیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی این عصاره‌ها به منظور معرفی یک فراورده ایمن انجام شد.

مواد و روشها

مواد گیاهی

رقم شیشه کب انار که همواره بـه صـورت گسـترده و تجاری در خراسان مورد کشت قرار می‌گیرد، جهت انجام این پژوهش در نظـر گرفتـه شـد. پوسـت میـوه، بـرگ و بذرهای این رقم پس از جمع‌آوری از شهرسـتان فـردوس در سایه خشک و در مراحل بعدی آزمایش مورد اسـتفاده قرار گرفتند.

تهیه عصاره

در این تحقیـق از دو عصـاره آبـی و متـانولی اسـتفاده گردید. جهت تهیه این عصاره‌ها ابتدا مقـدار ۲ گـرم مـاده خشک گیاهی در ۲۰ میلی‌لیتر حلال خیسانده شـد. سـپس بعد از گذشت ۲٤ ساعت، محلول حاصل از طریق پارچـه نازک نخی صاف گردید و در نهایت عصاره‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شـدند. در ایـن مرحلـه جهـت ضـدعفونی عصـاره آبـی از صـافی میکروبیولوژیک استفاده شد. در نهایت غلظـت‌هـای ppm ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ از هـر یـک از عصـاره‌هـای آبـی و متانولی تهیه و در ظروف جداگانه نگهداری شد.

تهیه ایزوله‌های قارچ و اثبات بیماری‌زایی آنها

در این پژوهش دو نوع قـارچ *Alternaria citri* عامـل بیمـاری پوسـیدگی سـیاه مرکبـات و *Aspergillus niger* عامل پوسیدگی انباری میـوه‌هـای دانـه‌دار و هسـته‌دار، از روی سطوح میوه‌های آلوده (سیب، لیموشیرین و پرتقـال) جمع‌آوری و پس از کشت‌های متوالی، خالص و شناسایی شـدند. در مرحلـه بعـد بـه منظـور اثبـات بیمـاری‌زایـی جدایه‌های مذکور، قسمت کوچکی از کلونی آنهـا جـدا و در محل زخم‌هـای ایجـاد شـده روی میـوه‌هـای سـالم و سترون، قـرار داده شـد. در نهایـت پـس از ظهـور علائـم بیماری، نمونه‌برداری و شناسـایی مجـدد قـارچ‌هـا انجـام گردید.

سنجش فعالیت ضد قارچی عصاره‌هـا در بازدارنـدگی از رشد میسلیوم‌ها

در ابتـدا دمـای محـیط کشـت پـی.دی.ای (Potato Dextrose Agar (PDA)) مورداسـتفاده در ایـن آزمـایش پس از اتوکلاو شدن به کمک بن‌ماری در حدود ٤۰ درجه سانتی‌گراد ثابت نگهداشته شد. سپس نسبت‌های مختلـف از عصاره‌های آبی و متـانولی قسـمت‌هـای مختلـف انـار جهت بدست آوردن غلظت‌های نهایی ppm ۵۰۰،۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ به ظروف جداگانه منتقل گردید. در مرحله بعـد ۱۵ میلی‌لیتر از هـر یـک از ایـن محـیط‌هـای کشـت (حـاوی نسبت‌های مختلـف از عصـاره) بـه درون پتـری‌هـای ۹۰ میلـی‌متـری منتقـل گردیـد. در نهایـت از کشـت ۷ روزه قارچ‌های مورد نظر به کمک چوب‌پنبه سوراخ‌کن سـترون حلقه‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر تهیه و در وسط ظروف پتری قرار گرفت. در این آزمایش بـرای هـر تیمـار ۵ تکـرار در نظر گرفته شد. سرانجام پتری‌ها بـه انکوبـاتور بـا شـرایط دمایی ۱±۲۸ درجه سانتی‌گـراد، ۱۲ سـاعت تـاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی منتقل گردیدند. درصد ممانعـت از رشـد میسلیوم قارچ‌ها با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید.

$$\text{درصد ممانعت از رشد میسلیوم قارچ‌ها} = \left(\frac{a-b}{a}\right)\times 100$$

a بیانگر میانگین قطر رشد میسلیوم در تیمار شاهد و b بیانگر میانگین قطر آن در تیمار عصاره است.

سنجش فعالیت ضدقارچی عصاره‌ها در بازدارندگی از جوانه‌زنی اسپورها

به این منظور در ابتدا با استفاده از محیط کشت مایع سیب‌زمینی- دکستروز و سپس شمارش اسپورها توسط لام هموسیتومتر، سوسپانسیون اسپوری با غلظت ۲×۱۰^{۶} اسپور در هر میلی‌لیتر تهیه شد. در مرحله بعد یک قطره کوچک از سوسپانسیون اسپوری هر یک از قارچ‌ها به وسط ظرف پتری حاوی غلظت‌های مختلف عصاره‌ها انتقال یافته و به وسیله یک لام شیشه‌ای سترون بر روی محیط کشت پخش شد. نهایتاً پس از ۲۰ ساعت، شمارش اسپورهای جوانه‌زده با قرار دادن پتری‌ها در زیر عدسی ۱۰x در محدوده‌ای معین (اثر دهانه لوله آزمایش به قطر ۲ سانتی‌متر) انجام گردید (Bajpai *et al*., 2007).

اندازه‌گیری فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها

تعیین فنول کل با استفاده از معرف Folin-ciocalteu در طول موج ٦٦٠ نانومتر انجام گردید (Singleton & Rossi, 1965). در این آزمایش مقادیر فنول کل به‌وسیله کالیبره‌کردن منحنی استاندارد با گالیک اسید اندازه‌گیری شد (Mousavinejad *et al*., 2009).

روش DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) نیز جهت اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها و ارزیابی فعالیت خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد، مورد استفاده قرار گرفت (Gil *et al*., 2000). در این روش ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره الکلی از هر نمونه گیاهی به ۱ میلی‌لیتر DPPH (۵۰۰ میکرومول در متانول) اضافه شد. سپس مخلوط حاصل را به شدت تکان داده و پس از ۳۰ دقیقه میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. در نهایت محاسبه فعالیت آنتی‌اکسیدانی از طریق رابطه زیر انجام شد.

$$\text{Antioxidant activity} = \left(1 - \frac{A_{sample(517nm)}}{A_{control(517nm)}}\right) \times 100$$

آنالیز آماری

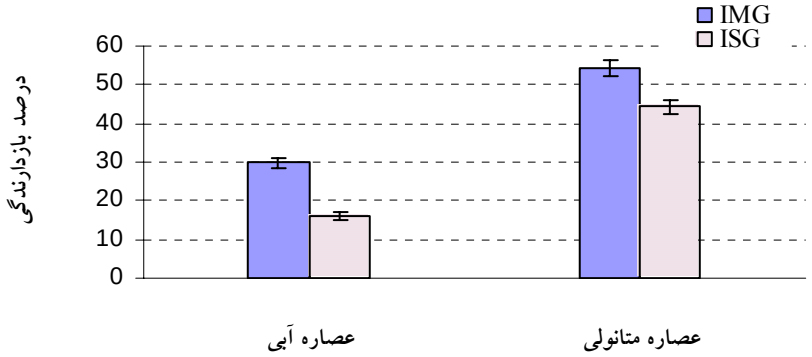
تجزیه آماری داده‌های حاصل از صفات اندازه‌گیری شده توسط نرم‌افزار SAS انجام شد. همچنین تفاوت میانگین‌های اثرهای ساده و متقابل، به‌وسیله مقادیر خطای استاندارد (±SE (Standard Error)) نشان داده شد.

نتایج

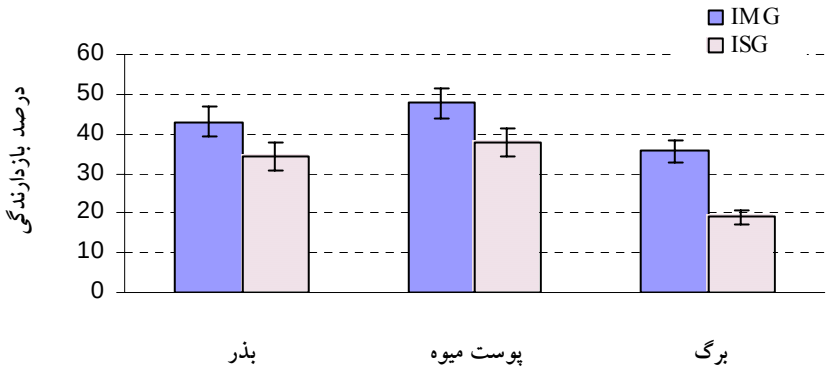
نتایج تجزیه واریانس حاصل از این آزمایش نشان داد که اثرهای اصلی و متقابل نوع اندام گیاهی، روش عصاره‌گیری و غلظت عصاره‌ها بر درصد بازدارندگی از رشد میسیلیوم‌ها و درصد بازدارندگی از جوانه‌زنی اسپور قارچ‌ها معنی‌دار بوده است ($p\leq ۰/۰۱$)، در صورتی که اختلاف معنی‌داری بین قارچ‌های مورد آزمایش از این نظر وجود نداشت.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که عصاره متانولی قسمت‌های مختلف انار بر رشد میسلیوم‌ها و جوانه‌زنی اسپور قارچ‌های مورد آزمایش، به‌ترتیب ۸۲٪ و ۱۷۲٪، بازدارندگی بیشتری را در مقایسه با عصاره آبی آنها داشتند (شکل ۱).

همچنین براساس شکل ۲ بخوبی مشخص است که عصاره بدست آمده از پوست انار با میانگین ٤٧/٦٪ و ۳۷/۷٪ به‌ترتیب دارای بیشترین اثر بازدارندگی بر رشد میسلیوم‌ها و جوانه‌زنی اسپور قارچ‌ها بود. این در صورتی است که عصاره برگ انار به‌ترتیب با میانگین ۳۵/۷٪ و ۱۸/۹٪ اثرهای کمتری را در این زمینه نشان داد.

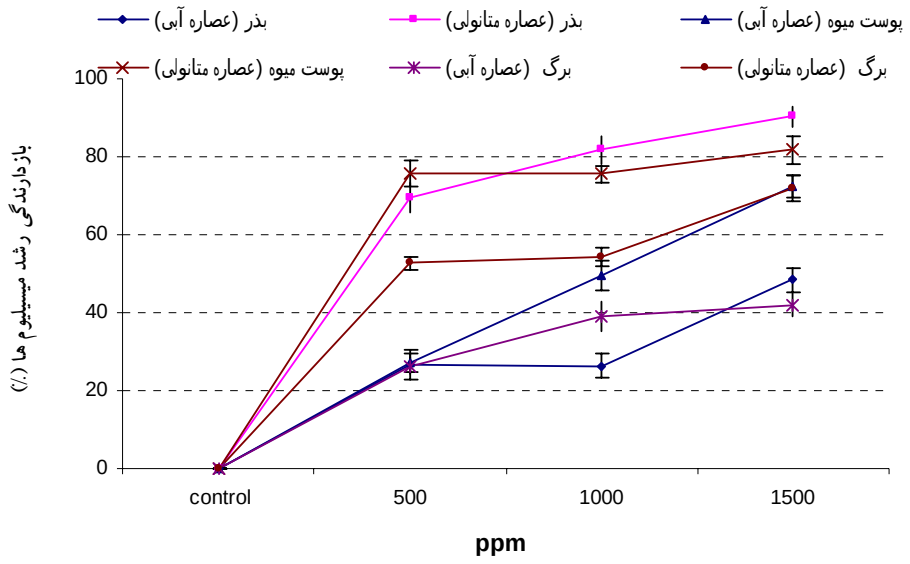


شکل ۱- اثر نوع عصاره بر بازدارندگی از رشد میسیلیوم‌ها (IMG) و بازدارندگی از جوانه‌زنی اسپور (ISG) قارچ‌ها



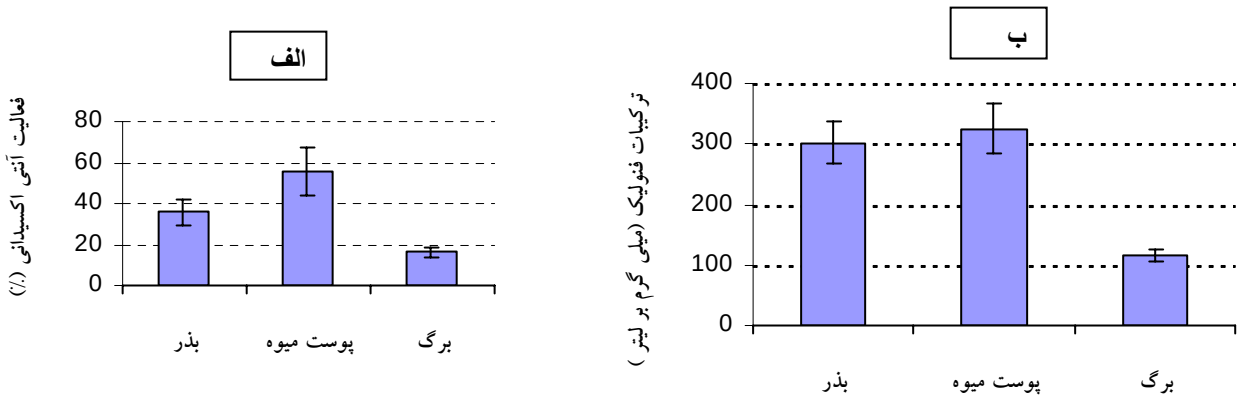
شکل ۲- اثر بازدارندگی قسمت‌های مختلف انار بر رشد میسیلیوم‌ها (IMG) و جوانه‌زنی اسپور (ISG) قارچ‌ها

بررسی عصاره‌های متانولی و آبی قسمت‌های مختلف انار در غلظت‌های مورد آزمایش نیز نشان داد که عصاره متانولی بذر و همچنین عصاره متانولی پوست انار در غلظت ppm ۱۵۰۰ به صورت بهتری توانسته است از رشد میسلیوم قارچ‌ها جلوگیری نماید (شکل ۳). از سوی دیگر به‌گونه‌ای که در این شکل مشخص است بخش اصلی اثر بازدارندگی تمامی عصاره‌ها خصوصاً در عصاره متانولی از تیمار شاهد تا غلظت ppm ۵۰۰ دیده می‌شود و در غلظت‌های بالاتر (ppm ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰) شیب اثر بازدارندگی مذکور کاهش می‌یابد.



شکل ۳- اثر عصاره متانولی و آبی قسمت‌های مختلف انار بر بازدارندگی رشد میسیلیوم‌ها

نتایج این پژوهش همچنین نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست میوه انار در مقایسه با بذر و برگ آن به‌ترتیب برابر ٥٤٪ و ٢٣٧٪ بیشتر است (شکل ٤- الف). در صورتی‌که مقادیر ترکیب‌های فنولیک در پوست، بذر و برگ درخت انار به‌ترتیب برابر ۳۰۲، ۳۲۵ و ۱۱٦ میلی‌گرم بر لیتر است (شکل ٤- ب).



شکل ٤- مقادیر فعالیت آنتی‌اکسیدانی (الف) و ترکیب‌های فنولیک (ب) بذر، پوست میوه و برگ درخت انار

اما برهم‌کنش نوع اندام گیاهی و نوع حلال مصرفی نیز بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مقادیر ترکیب‌های فنولیک بسیار معنی‌دار بود ($p \leq ۰/۰۱$). عصاره آبی برگ انار در این آزمایش پایینترین مقادیر صفات مذکور را به خود اختصاص داد، این در حالیست که عصاره متانولی پوست میوه آن با ٨٥/٤٪ بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و با ٤٢٣/٥ میلی‌گرم بر لیتر بیشترین ترکیب‌های فنولیک را در بین تمامی عصاره‌ها دارا بود (جدول ۱).

جدول ۱- مقادیر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیب‌های فنولیک عصاره‌های متانولی و آبی قسمت‌های مختلف درخت انار

	بذر		پوست میوه		برگ	
	عصاره آبی	عصاره متانولی	عصاره آبی	عصاره متانولی	عصاره آبی	عصاره متانولی
فعالیت آنتی‌اکسیدانی (٪)	۱۹/٦ ± ۱/۳*	۵۱/۷ ± ۲/٤	۲۵/ ۲ ± ۲/۰	۸۵/٤ ± ۳/۱	۱۰/۷ ± ۱/٤	۲۲/۱ ± ۱/۹
مواد فنولیک (میلی‌گرم بر لیتر)	۲۱۹/۸ ± ۱٦/٦	۳۸٤/۷ ± ۲٤/۲	۲۲٦/۹ ± ۱۳/۵	٤۲۳/۵ ± ۳۱/۸	۹۸/٦ ± ۱۲/۷	۱۳۳/۳ ± ۸/۷

*: میانگین ± خطای استاندارد

بحث

محققان زیادی مطابق با نتایج این پژوهش، برتری خاصیت ضدقارچی عصاره متانولی گیاهان مختلف را در مقایسه با سایر حلال‌ها مورد تأکید قرار دادند (Choi *et al*., 2008). Voravuthikunchai و همکاران (۲۰۰۵) نیز عصاره الکلی پوست انار را دارای خاصیت ضدمیکروبی قوی در برابر باکتری اشرشیاکولی *Escherichia coli* برشمردند و مهمترین محتویات این عصاره را شامل فلاونوئیدها، استرول‌ها، تری‌ترپن‌ها، فنل‌ها و تانن‌ها دانستند. در نتیجه تحقیقات Doughari و Obidah (۲۰۰۸) مشخص گردید که ۵۰ppm از عصاره متانولی پوست ساقه *Leptadenia lancifollia* می‌تواند به‌صورت کامل جوانه‌زنی اسپور طیف وسیعی از قارچ‌های مورد آزمایش را متوقف کند، هرچند در این زمینه عصاره آبی گیاه مذکور نتایج خاصی را نشان نداد. در واقع تفاوت هر یک از حلال‌ها جهت عصاره‌گیری و خاصیت ضدقارچی به قطبیت و حلالیت آنها مربوط می‌گردد (Majorie, 1999). بنابراین به نظر می‌رسد که عصاره متانولی در مقایسه با سایر حلال‌ها، ترکیب‌های گیاهی بیشتری را می‌تواند استخراج نموده و اثر بازدارندگی بیشتری را شامل گردد.

اما در مورد خاصیت ضدمیکروبی انار، Ahmad و Beg (۲۰۰۱) گزارش کردند که در عصاره الکلی انار ترکیب‌های ضدقارچی، ضدباکتریایی و حتی ضدویروسی وجود دارد. نقش بازدارندگی عصاره انار بر رشد قارچ *Candida abbicans* می‌باشد اثبات شده است (Vasconcelos *et al*., 2003). در گزارشی دیگر نشان داده شد که همه قسمت‌های مختلف انار، شامل میوه تازه و حتی آب انار سترون می‌تواند روی گونه‌ای دیگر از این قارچ (*Candida mycoderma*) اثر بازدارندگی داشته باشد (Seeram *et al*., 2006). بنابراین یافته‌های مذکور به همراه نتایج این پژوهش می‌تواند نقش مؤثر قسمت‌های مختلف انار در بازدارندگی از رشد و گسترش قارچ‌ها را تأیید کند.

مطالعات متعدد نشان می‌دهد که فعالیت ضدمیکروبی عصاره انار ممکن است به علت حضور طیف گسترده‌ای از ترکیب‌های آنتی‌بیوتیک باشد. در بیشتر گیاهان مورد بررسی، فنل‌ها و تانن‌ها به‌عنوان مهمترین اجزاء فعال در این زمینه شناسایی شده‌اند (Seeram *et al*., 2006). Nasr و همکاران (۱۹۹٦) گزارش کردند که قسمت‌های مختلف انار مانند پوست میوه و برگهای آن حاوی مواد فنولیکی مختلفی می‌باشد که خاصیت ضد میکروبی عصاره آن را

باعث می‌گردد. Seeram و همکاران (۲۰۰٦) میوه انار را منبع غنی از ترکیب‌های فنولیک و این مواد را مسئول خاصیت ضدمیکروبی انار دانستند. در واقع مواد فنولیک به همراه پروتئین‌هایی با وزن ملکولی زیاد، کمپلکس‌های پیچیده‌ای را تشکیل می‌دهند و بدین ترتیب پس از جذب می‌توانند با آنزیم‌های سلولی (اکسید وردکتاز) موجود در سیتوپلاسم و دیواره سلولی واکنش دهند (Seeram *et al*., 2006). از طرف دیگر این مواد می‌توانند از دسترسی پذیرنده‌های (Receptors) سطح سلولی در برابر میکروارگانیسم‌ها نیز جلوگیری نمایند (Cowan, 1999).

با بررسی محتوای فنولیک و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مورد آزمایش در جدول ۱ بخوبی مشخص است که ترکیب‌های فنولیک موجود در این عصاره‌ها می‌توانند عامل مهمی در ایجاد فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها محسوب گردند. Kim و همکاران (۲۰۰۲) پوست انار را منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌ها و مواد فنولیکی دانستند، در واقع فعالیت آنتی‌اکسیدانی انار را به حضور مواد فنولیک آن به خصوص الاژیک اسید و پونیکالاژین نسبت می‌دهند (سرخوش و همکاران، ۱۳۸٦). این ترکیب‌ها که به نسبت بیشتری در پوست میوه آن یافت می‌شود (زرگری، ۱۳۷۰)، اثر ضد موتاسیونی، ضدویروسی، ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی قوی را در عصاره قسمت‌های مختلف انار سبب می‌شوند. در عین حال، مطابق با نتایج این پژوهش مشخص شد که به دلیل حضور فنل‌ها و ظرفیت آنها در تنظیم رادیکالهای آزاد، عصاره آبی پوست انار کمترین و عصاره الکلی آن بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را دارا می‌باشد (Ozkan, 2002). در این زمینه Negi و همکاران (۲۰۰۳) نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی حاصل از عصاره‌های آبی، متانولی، استونی و اتیل استاتی پوست انار را اندازه‌گیری کرده و مشخص نمودند که عصاره متانولی حاوی بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی است، هر چند که Li و همکاران (۲۰۰٦) عصاره‌گیری توسط مخلوطی از حلال‌های آبی و متانولی را مؤثرتر برشمردند.

براساس نتایج پژوهش حاضر، عصاره قسمت‌های مختلف انار به‌ویژه پوست میوه و بذرهای آن حاوی مواد فنولیک فراوانی بودند. این ترکیب‌ها از سویی می‌توانند خواص ضدقارچی عصاره‌های مذکور را ایجاد نمایند و از سوی دیگر از طریق تنظیم و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی را شکل دهند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً اثر ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست میوه و یا بذر انار می‌تواند آنها را جهت استفاده بر روی محصولات گیاهی طی دوره‌های پس از برداشت مناسب گرداند.

سپاسگزاری

بدین وسیله از دانشگاه فردوسی مشهد برای تأمین اعتبار پژوهشی طرح و همچنین از مرکز تحقیقات انار آن دانشگاه به واسطه در اختیار نهادن امکانات لازم، سپاسگزاری می‌گردد.

منابع مورد استفاده

- زرگری، ع.، ۱۳۷۰. گیاهان دارویی. جلد دوم، انتشارات دانشگاه تهران، ٤٦٥ صفحه.
- سرخوش، ع.، زمانی، ذ.ا.، فتاحی مقدم، م.ر.، قربانی قوژدی، ح. و هادیان، ج.، ۱۳۸٦. مروری بر خصوصیات دارویی و فارماکولوژیکی انار. گیاهان دارویی، ٦(۲۲): ۲٤-۱۳.
- Ahmad, I. and Beg, A.Z., 2001. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. Journal of Ethnopharmacology, 74(2): 113-123.

- Bajpai, V.K., Shin, S.Y., Kim, H.R. and Kang, S.C., 2007. Anti-fungal action of bioconverted eicosapentaenoic acid (bEPA) against plant pathogens. Industrial Crops and Products, 27: 136-141.
- Barnard, C., Padgitt, M. and Uri, N.D., 1997. Pesticide use and its measurement. International Pest Control, 39: 161-164.
- Burapadaja, S. and Bunchoo, A., 1995. Antimicrobial activity of tannins from *Terminalia citrina*. Planta Medica, 61(4): 365-366.
- Casanova, E., García-Mina, J.M. and Calvo, M.I., 2008. Antioxidant and antifungal activity of *Verbena officinalis* L. leaves. Plant Foods for Human Nutrition, 63(3): 93-97.
- Chang, H.T., Cheng, Y.H., Wu, C.L., Chang, S.T., Chang, T.T. and Su, Y.C., 2008. Antifungal activity of essential oil and its constituents from *Calocedrus macrolepis* var. formosana Florin leaf against plant pathogenic fungi. Bioresource technology, 99(14): 6266-6270.
- Choi, N.H., Choi, G.J., Jang, K.S., Choi, Y.H., Lee, S.O., Choi, J.E. and Kim, J.C., 2008. Antifungal activity of the methanol extract of *Myristica malabarica* fruit rinds and the active ingredients malabaricones against phytopathogenic fungi. Plant Pathology Journal, 24(3): 317-321.
- Cowan, M.M., 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, 12(4): 564-572.
- Doughari, J.H. and Obidah, J.S., 2008. Antibacterial potentials of stem bark extracts of *Leptadenia lancifolia* against some pathogenic bacteria. Pharmacology Online, 3: 172-180.
- Gil, M.I., Tomas-Barberán, F.A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D.M. and Kader, A.A., 2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 48(10): 4581-4589.
- Kim, N.D., Mehta, R., Yu, W., Neeman, I., livney, T., Amichay, A., Poirier, D., Nicholls, P., Kirby, A., Jiang, W., Mansel, R., Ramachandran, C., Rabi, T. and Lansky, E., 2002. Chemopreventive and adjuvant therapeutic potential of pomegranate (*Punica granatum*) for human breast cancer. Breast Cancer Research and Treatment, 71(3): 203-217.
- Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J. and Cheng, S., 2006. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. Food Chemistry, 96: 254-260.
- Majorie, M.C., 1999. Plant product as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, 12(4): 564-582.
- Majumder, U.K., Gupta, M. and Mukhopadhyay, D.K., 1997. Effect of mycotoxins isolated from *Penicillium nigricans* on glucose-6-phosphate dehydrogenase. Indian Journal of Experimental Biology, 35(11): 1233-1236.
- Mousavinejad, G., Emam-Djomeh, Z., Rezaei, K. and Khodaparast, M.H.H., 2009. Identification and quantification of phenolic compounds and their effects on antioxidant activity in pomegranate juices of eight Iranian cultivars. Food Chemistry, 115: 1274-1278.
- Nasr, C.B., Ayed, N. and Metche, M., 1996. Quantitative determination of the polyphenolic content of pomegranate peel. Z Lebensm Unters Forsch, 203(4): 374-378.
- Negi, P.S., Jayaprakasha, G.K. and Jena, B.S., 2003. Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts. Food Chemistry, 80: 393-397.
- Ozkan, M., 2002. Degradation of anthocyanins in sour cherry and pomegranate juices by hydrogenperoxide in the presence of added ascorbic acid. Food Chemistry, 78(4): 499-504.
- Seeram, N.P., Schulman, R.N. and Heber, D., 2006. Pomegranates: Ancient Roots to Modern Medicine. Medicinal and Aromatic Plants, Industrial Profiles 43. CRC Press, Taylor & Francis Group, 244p.
- Singleton, V.L. and Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16: 144-158.
- Voravuthikunchai, S.P., Sirirak, T., Limsuwan, S., Supawita, T., Iida, T. and Honda, T., 2005. Inhibitory effect of active compounds from *Punica granatum* on Verocytotoxin production by enterohaemorrhagic *Escherichia coli*. Journal of Health Science, 51(5): 590-596.
- Vasconcelos, L.C., Sampaio, M.C., Sampaio, F.C. and Higino, J.S., 2003. Use of *Punica granatum* as an antifungal agent against candidosis associated with denture stomatitis. Mycoses, 46(5-6): 192-6.
- Verma, J. and Dubey, N.K., 1999. Prospecdtives of botanical and microbial products as pesticides of tomorrow. Current Science, 76: 172-179.

Relation of antioxidant and antifungal activity of different parts of Pomegranate (*Punica granatum* L.) extracts with its phenolic content

Y. Salahvarzi[1], A. Tehranifar[2] and V. Jahanbakhsh[3]

1*- Corresponding author, Pomegranate Research Center of Ferdowsi University, Mashhad, Iran
E-mail: selahvarzi@ferdowsi.um.ac.ir
2- Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
3- Phd. Student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Received: March 2010 Revised: May 2010 Accepted: July 2010

Abstract

In many countries, wastage of agricultural products is due to oxidative processes and microorganisms activity in warehouses. On the other hand, many plants are the sources of compounds with high antioxidant and antifungal activities that might be used as natural preservatives. To investigate the antioxidant and antifungal properties of pomegranate, a factorial experiment based on completely randomized design with 5 replications was conducted. In this study, the effect of 3 different pomegranate parts (peel, seeds and leaf) and 2 different kind of extracts (aqueous and methanolic) with 4 concentrations (0, 500, 1000 and 1500 ppm) were investigated on 2 post-harvest fungi (*Alternaria citri* and *Aspergillus niger*). According to the results, the methanolic peel extract showed the highest inhibitory effects on the mycelia growth (IMG) and spore germination (ISG) with 47.6 and 37.7 percent respectively. Also, phenolic compounds of peel extract were 1.8 times higher than that of pomegranate leaf extract. Antioxidant capacity of peel, seeds and leaf extracts was respectively 55.3, 35.7 and 16.4%. Therefore, it seems that high antifungal and antioxidant activity of peel and seeds of pomegranate are because of high percentage of phenolic compounds in these plant parts extracts.

Key words: Pomegranate leaf, pomegranate seed, pomegranate peel, methanolic extract, antifungal activity.