بررسی و مقایسه ویژگی های ضد باکتریایی عصاره های آبی دانه دو واریته کرچک روی پاتوژن های شاخص غذایی

ثمانه حاتمی[۱]*، مسعود یاورمنش[۲]، علی محمدی ثانی[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قوچان، گروه کشاورزی، قوچان، ایران
۲- عضو هیأت علمی، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی
۳- عضو هیأت علمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قوچان، گروه کشاورزی- تکنولوژی، قوچان، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۱/۸/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۲/۳/۸)

چکیده

هدف ازانجام این پژوهش بررسی اثرضدباکتریایی عصاره آبی دانه کرچک (دوواریته مشهد واصفهان) روی باکتری های *استافیلوکوکوس اورئوس*ATCC25923، *اشرشیاکلی* ATCC25922 و *لیستریااینوکوآ*ATCC33090 به عنوان پاتوژن های شاخص غذایی می باشد. حساسیت این ریزسازواره ها به عصاره های کرچک به روش انتشار دیسک و کمترین غلظت بازدارندگی(MIC) و کشندگی (MBC) به روش براث میکرودایلوشن مورد بررسی قرار گرفت. در روش آزمون انتشار دیسک، باکتری های گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا اینوکوآ* مقاومترین و *اشرشیاکلی* حساس ترین باکتری تعیین شد. ازآنتی بیوتیک های اریترومایسین، جنتامایسین، کلرامفنیکل به عنوان کنترل مثبت روی *لیستریااینوکوآ*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیاکلی* به *ترتیب* استفاده شد و اثر بازدارندگی این آنتی بیوتیک ها با عصاره های مورد آزمون مقایسه گردیدکه قطر هاله آنها ۱۲ mm، ۲۲mm، ۳۰mm بود. براساس رقت های تهیه شده در آزمایش، محدوده کمترین غلظت بازدارندگی عصاره آبی کرچک واریته مشهد برای *لیستریااینوکوآ*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی* بین mg/ml ۱۶۰-۴۰ و محدوده عصاره آبی دانه کرچک واریته اصفهان روی *لیستریا اینوکوآ* بین mg/ml ۴۰-۲۰ و برای*استافیلوکوکوس اورئوس* بین mg/ml ۸۰-۴۰ و روی *اشرشیاکلی* بین mg/ml۸۰-۲۰ محاسبه شد. درآزمون کمترین غلظت کشندگی، عصاره های آبی دانه کرچک واریته مشهد و اصفهان در غلظت mg/ml۱۶۰موجب غیر فعال شدن باکتری ها شدند. نتایج نشان داد که عصاره های آبی دانه کرچک واریته مشهد و اصفهان هر دو دارای ویژگی ضد باکتریایی قوی بوده اما عصاره آبی دانه کرچک واریته اصفهان ویژگی بازدارندگی قوی تری نسبت به عصاره آبی دانه کرچک واریته مشهد از خود نشان داد. همچنین عصاره این دو واریته از لحاظ ویژگی ضد باکتریایی می تواند با آنتی بیوتیک اریترومایسین برابری کند.

کلید واژگان: عصاره آبی دانه کرچک، حداقل غلظت بازدارندگی، حداقل غلظت کشندگی، انتشار دیسک

* مسئول مکاتبات: eng.s.hatami@gmail.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-19]

۱- مقدمه

کرچک با نام علمی *Ricinus communis L.* از تیره فرفیون (Euphorbiaceae)، یکی از اولین گیاهانی است که به وسیله انسان های نخستین به منظور استفاده از روغن دانه های آن، کشت می شد [۱]. بررسی ها نشان می دهد که کرچک بومی آفریقای شمالی و به احتمال زیاد اتیوپی می باشد [۲]. این گیاه به دلیل ویژگی های منحصر به فرد خود به عنوان یکی از گیاهان مقاوم به شرایط آب و هوایی مختلف شناخته شده است [۳]. گیاه کرچک در مناطق سرد سیر گیاهی علفی و یکساله بوده که ارتفاع آن به ۲ تا ۳ مترمی رسد. در حالی که در مناطق گرمسیری به صورت درختچه های چند ساله بوده که ارتفاع آن به بیش از ۳ متر می رسد[۴].

مهم ترین ماده تشکیل دهنده بذر، روغن می باشد که میزان آن در واریته های تجارتی معمولا بین ۴۰ تا ۶۰ درصد می باشد[۲].

با توجه به اثرات مضر نگهدارنده های شیمیایی، مصرف کنندگان و تولید کنندگان مواد غذایی، خواهان استفاده از نگهدارنده های طبیعی نظیر اسانس ها و عصاره های گیاهی می باشند که علاوه بر افزایش زمان ماندگاری غذا از اثرات نامطلوب نگهدارنده های شیمیایی در امان باشند. کرچک یکی از مهمترین گیاهان دارویی مورد استفاده در صنایع داروسازی، آرایشی و بهداشتی بیشتر کشور های توسعه یافته است. کاربرد های فراوان آن در صنایع مختلف و اخیرا در صنایع غذایی باعث شده است تا پژوهش های زیادی روی آن انجام گیرد [۵].

جامبو و اننکبیکو در سال (۲۰۰۷)، فعالیت ضد باکتریایی دانه کرچک روی *سودوموناس آئروژینوزا*[1] را به روش انتشار دیسک[2] بررسی کردند مشخص شد که عصاره متانولی دانه کرچک، فعالیت ضد باکتریایی بیشتری در مقایسه با عصاره آبی آن نشان می دهد [۶].

در پژوهش بانزو و همکاران در سال (۲۰۰۳)، خاصیت ضدباکتریایی عصاره برگ کرچک روی باکتری های*استافیلوکوکوس اورئوس*[3] و *استرپتوکوکوسپیوژنز*[4]، *اشرشیاکلی*[5] و *B فراجیلس*[6] به روش براث میکرو دایلوشن[7] و انتشار دیسک بررسی شد. نتایج نشان داد که *استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس، اشرشیاکلی* و *B فراجیلس* به عصاره های برگ کرچک حساس بوده وبا افزایش غلظت عصاره، فعالیت ضد باکتریایی آنها بیشتر می شود. این مشاهده مطابق گزارش کوراساکی و نیشی (۱۹۸۳) است که غلظت های بالاتر عصاره، توام با افزایش فعالیت بازدارندگی روی ریزسازواره ها می باشد[۷ و۸].

سانکار و همکاران در سال (۲۰۱۲)، اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی برگ کرچک و گیاه *سنتیلاآسیاتیسا*[8]را روی سویه های ویبریو از جمله *ویبریوهاروی*[9]، *ویبریوپاراهمولیتیکوس*[10] و *ویبریوآلژینولیتیکوس*[11]به روش انتشار دیسک بررسی کردند. بر اساس نتایج به دست آمده، عصاره متانولی برگ کرچک روی این باکتری ها، خاصیت بازدارندگی بالایی داشت در صورتیکه عصاره متانولی گیاه *سنتیلاآسیاتیسا*هیچ خاصیت بازدارندگی از خود نشان نداد [۹].

در خصوص اثرات بازدارندگی عصاره دانه کرچک به روش میکرودایلوشن (MIC)، روی ریزسازواره های پاتوژن به ویژه *لیستریا اینوکوآ* اطلاعات دقیقی در دست نیست. همچنین در این مطالعه با بکارگیری میزان جذب نوری حداقل غلظت بازدارنده (MIC)، به صورت محدوده غلظت گزارش شده است که نسبت به کارهای مشابه معیار دقیق تری از میزان بازدارندگی حاصل خواهد شد. از این رو، هدف از انجام این پژوهش بررسی ومقایسه خواص ضد باکتریایی عصاره آبی دو واریته کرچک ایران روی پاتوژن های شاخص غذایی و مقایسه این عصاره با آنتی بیوتیک های ‘‘ یتروومایسین، جنتامایسین، کلرامفنیکل) می باشد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- تهیه عصاره آبی کرچک

دانه کرچک مشهد از استان خراسان رضوی شهر مشهد با کد هرباریوم[12] ۱۲۹۱۵ و دانه کرچک اصفهان از استان اصفهان بخش

1. *Pseudomonas aeruginosa*
2. Disc diffusion
3. *Staphylococcus aureus*
4. *Streptococcus pyogenes*
5. *Escherichia Coli*
6. *Bacteroiedsfragilis*
7. Broth Micro Dilution
8. Centellaasiatica
9. Vibrio harveyi
10. V.parahaemolyticus
11. V.alginolyticus
1. Herbarium

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-19]

بن رود رودشت شرقی روستای کفران با کد هرباریوم ۱۲۹۱۶ در فصل پاییز جمع آوری شد. اصالت دانه ها به همراه نام علمی آنها توسط پژوهشکده گیاه شناسی دانشگاه فردوسی مشهد مورد تایید قرار گرفت.

۲-۲- آماده سازی عصاره های آبی کرچک

عصاره گیری به روش خیساندن انجام شد. ابتدا ۵۰گرم دانه کرچک در آسیاب خرد و سپس با آب مقطر استریل به حجم ۲۰۰ میلی لیتررسیده و طی ۷۲ ساعت در دمای محیط تکان داده شد. در ادامه با کاغذ صافی استریل، عصاره ها صاف و عصاره های حاصل به طور جداگانه در پلیت های شیشه ای ریخته شد. به منظور خشک کردن، عصاره ها در آون با دمای ۸۳ درجه سانتی گراد به مدت ۲ روز قرار گرفت، بعد این مدت، عصاره های خشک شده توسط اسپاتول جدا شده و پودر حاصل از آن توزین شد. هرکدام از پودر عصاره های کرچک واریته مشهد و اصفهان در ظروف شیشه ای درب دار استریل، که در فویل آلومینیم پیچیده شده بودند، قرار داده شد و تا زمان استفاده در یخچال مورد نگهداری قرار گرفت[۱۰].

شکل ۱ دانه کرچک واریته اصفهان

شکل ۲ دانه کرچک واریته مشهد

۲-۳- ریزسازواره های مورد آزمون

در این پژوهش از ریزسازواره های پاتوژن، *لیستریا اینوکوآ* (ATCC 33090)، *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 25923) و *اشرشیاکلی* (ATCC25922) از بخش باکتری شناسی دانشکده کشاورزی، علوم و صنایع غذایی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه گردید.

۲-۴- فعال سازی ریزسازواره ها

ابتدا کشتهای منجمد شده از حالت جامد خارج و در شرایط استریل یک لوپ از هر کدام از سوش ها به درون لوله های آزمایش درب دار حاوی ۱۰ میلی لیتر محیط کشت مولرهینتون براث انتقال داده شد. سپس توسط همزن محتوی لوله ها کاملاً باهم مخلوط شدند. محیط های کشت به مدت یک شبانه روزدرانکوباتور۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفته وسپس به روش کشت سطحی محتوی لوله های آزمایش به پلیت های حاوی محیط کشت مولرهینتون آگار (در شرایط استریل) منتقل شد. پس ازگرمخانه گذاری مجدد در انکوباسیون ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت یک شبانه روز، در مرحله بعد تحت شرایط استریل، از کلونی های حاصل از کشت سطحی مرحله قبل روی محیط کشت مولرهینتون آگار کشت خطی صورت گرفت. پس از گرمخانه گذاری مجدد و رشد ریزسازواره ها، پلیت های حاوی کشت خطی تا زمان استفاده در یخچال نگهداری گردید. به منظور تهیه محلول نیم مک فارلند، کلونی های ایجاد شده به لوله آزمایش حاوی محلول نرمال سالین ۰/۹ درصد اضافه شد و تا هنگام رسیدن به دانسیته نوری معادل با محلول نیم مک فارلند (۱/۵ ×۱۰۸cfu/ml) از محلول نرمال سالین استفاده شد[۲].

۲-۵- تعیین کمترین غلظت بازدارندگی

ابتدا درون چاهک های میکروپلیت ۹۶خانه ای، ۹۵ میکرولیتر محیط کشت مولرهینتون براث ریخته شده و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره با غلظت مشخص۳۲۰mg/ml که بالاترین غلظت عصاره مورد آزمون بود به چاهک اول اضافه شد. در این حالت غلظت عصاره در خانه اول به ۱۶۰mg/ml کاهش می یابد. سپس۱۰۰ میکرولیتر از چاهک اول برداشته و به چاهک دوم منتقل شد. این کار برای همه چاهک ها به غیر از چاهک شماره (۱۱) که کنترل مثبت است انجام گرفت. یعنی ۱۰۰ میکرولیتر از

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-19]

چاهک شماره ۱۰ برداشته و به چاهک شماره (۱۲) که شاهد و کنترل منفی است اضافه گردید. در مرحله بعد به تمام چاهک ها به غیر از چاهک شماره ۱۲ (کنترل منفی) ۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی (با غلظت۱۰۸cfu/ml× ۱/۵) اضافه شد. پس از آن میکروپلیت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت یک شبانه روز قرار گرفته وسپس کدورت آن توسط دستگاه الایزاریدر *ELX808* در طول موج ۶۲۰ نانومتراندازه گیری شد. به منظور انجام تکرار در آزمون به طور مشابهی یک نمونه میکروپلیت ۹۶ خانه ای دیگر آماده شده وبعد ازتلقیح سوسپانسیون میکروبی درون انکورباتوربا دمای۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. به منظورآماده سازی نمونه شاهد (به منظور حذف میزان جذب سایر ترکیبات بجز تعداد ریزسازواره ها و همچنین محاسبه محدوده MIC) روش ذکر شده بالا بجز افزودن ریزسازواره ها بطور دقیق در دو تکرار انجام شد. برای تعیین MIC به آن ۵۰ میکرولیتر معرف TTC[1] با غلظت ۵mg/mlدر هر چاهک اضافه و سپس به مدت ۳ ساعت دوباره درون انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد گرم خانه گذاری شد. یک غلظت بالاتر ازآخرین غلظتی که رنگ قرمز تترازولیوم به خود گرفته بود به عنوان MIC عصاره در نظر گرفته شد [۱۱].

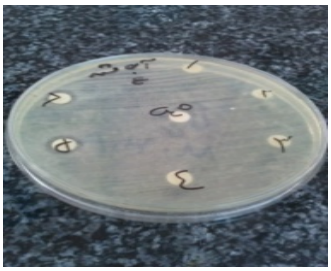
۲-۶- تعیین کمترین غلظت کشندگی

برای تعیین کمترین غلظت کشندگی، از غلظت های فاقد کدورت در آزمون MIC، بروی محیط کشت نوترینت آگار عمل کشت صورت گرفته واولین غلظتی که درآن رشد باکتری مشاهده نشود به عنوان MBC تعیین می گردد. بدین منظور حدود ۱۰ میکرولیتر از غلظت های فاقد کدورت میکروپلیت انتخاب و به پلیت های حاوی محیط کشت نوترنیت آگار در شرایط استریل منتقل شد. پلیت ها به طور وارونه در دمای۳۷ درجه سانتی گراد به مدت یک شبانه روز تحت گرمخانه گذاری قرار گرفته، پلیتی که درآن هیچ ریزسازواره ای رشد نکرد به عنوان MBC تعیین شد[۱۲].

۲-۷- تعیین اثر ضد باکتریایی عصاره های مورد آزمون به روش انتشار دیسک

ابتدا سوسپانسیون باکتریایی با کدورت معادل نیم مک فارلند تهیه سپس با استفاده از سوآپ استریل روی سطح پلیت های حاوی محیط کشت مولرهینتون آگارعمل کشت انجام شد. دیسک های کاغذی با قطر ۶mm ساخت شرکت سیگما حاوی ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره های موردمطالعه روی پلیت ها منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری گردید. پس از گرمخانه گذاری، قطرهاله مهار رشد مورد اندازه گیری قرار گرفت**[۱۳]**.

شکل۳ قطر هاله مهار رشد عصاره آبی مشهد بر روی *لیستریا اینوکوآ*



شکل۴ قطر هاله مهار رشد عصاره آبی مشهد بر روی *اشرشیاکلی*

شکل۵ قطر هاله مهار رشد عصاره آبی اصفهان بر روی *اشرشیاکلی*

1. Triphenyltetrazolium chloride-2,3,5

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-19]

۲- ۸- تعیین قطر هاله آنتی بیوتیک (کنترل مثبت)

دیسک های آنتی بیوتیک (جنتامایسین[1]- اریترومایسین[2]- کلرامفنیکل[3]) به ترتیب حاوی ۱۰ میکروگرم، ۱۵ میکروگرم و ۳۰ میکروگرم آنتی بیوتیک از لابراتوار پژوهشی و تولیدی رشد تهیه گردید. پس از انتقال باکتری ها در پلیت های حاوی محیط کشت مولرهینتون آگار، آنتی بیوتیک های اریترومایسین روی *لیستریااینوکوآ*، جنتامایسین روی *استافیلوکوکوس اورئوس*، و کلرامفنیکل روی *اشرشیاکلی* به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. همچنین اثر بازدارندگی این آنتی بیوتیکها با عصاره های مورد آزمون مورد مقایسه گرفت [۱۴].

۳- نتایج

۳-۱- تعیین کمترین غلظت بازدارندگی(MIC) عصاره های آبی دانه کرچک به روش براث میکرودایلوشن

نتایج کمترین غلظت بازدارنده رشد(MIC) عصاره های آبی دانه کرچک واریته مشهد واصفهان بر باکتری های *استافیلوکوکوس اورئوس*ATTC25923 ، *لیستریا اینوکوآ*ATTC33090 و *اشرشیاکلی*ATTC25922 درجدول های۱و ۲ ارائه شده است.

جدول ۱ تعیین کمترین غلظت بازدارندگی عصاره های آبی دو واریته کرچک

پاتوژن / نوع عصاره	*S.aureus*	*L.Innocua*	*E.coli*
عصاره آبی دانه کرچک واریته مشهد	۴۰ mg/ml	۴۰ mg/ml	۴۰ mg/ml
عصاره آبی دانه کرچک واریته اصفهان	۳۰ mg/ml	۴۰ mg/ml	۲۰ mg/ml

جدول ۲تعیین محدوده کمترین غلظت بازدارندگی عصاره های آبی دو واریته کرچک

پاتوژن / نوع عصاره	*S.aureus*	*L.Innocua*	*E.coli*
عصاره آبی دانه کرچک واریته مشهد	(۴۰-۱۶۰) mg/ml	(۴۰-۱۶۰) mg/ml	(۴۰-۱۶۰) mg/ml
عصاره آبی دانه کرچک واریته اصفهان	(۲۰-۴۰) mg/ml	(۴۰-۸۰) mg/ml	(۲۰-۸۰) mg/ml

بر اساس جداول فوق کمترین غلظت بازدارندگی مربوط به عصاره آبی دانه کرچک واریته اصفهان روی باکتری گرم منفی *اشرشیاکلی* به مقدار۲۰mg/ml بود.

۳-۲ - بررسی ومقایسه MBCعصاره های آبی دانه کرچک

بر اساس جدول۳می توان نتیجه گرفت، عصاره های آبی دانه کرچک مشهد و اصفهان از حداقل غلظت کشندگی یکسانی برخوردار می باشند.

جدول ۳نتایج MBC عصاره های آبی دانه کرچک واریته مشهد و اصفهان

میکروارگانیسم / نوع عصاره	*S.aureus*	*L.Innocua*	*E.coli*
عصاره آبی دانه کرچک واریته مشهد	≤۱۶۰mg/ml	≤۱۶۰mg/ml	≤۱۶۰mg/ml
عصاره آبی دانه کرچک واریته اصفهان	≤۱۶۰mg/ml	≤۱۶۰mg/ml	≤۱۶۰mg/ml

1. Gentamicin
2. Erythromycin
3. Chloramphenicol

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-19]

۳-۳- بررسی اثر عصاره آبی دانه کرچک واریته مشهد و اصفهان بر قطر هاله مهار رشد

طبق جدول ۴ بیشترین قطر هاله در عصاره آبی دانه کرچک واریته مشهد، روی *لیستریااینوکوآ* بااندازه ۹mm در غلظت ۱۶۰ mg/ml قابل مشاهده است. این درحالیست که عصاره آبی دانه کرچک واریته اصفهان روی همین ریزسازواره با غلظت ۱۶۰ mg/ml توانست قطر هاله ای حدود ۸ mm ایجاد نماید.

جدول ۴ اثر نوع عصاره بر قطر هاله مهار رشد

نوع پاتوژن / نوع عصاره	*S.aureus*		*L.Inocua*		*E.coli*	
	قطر هاله (mm)	غلظت mg/ml	قطر هاله (mm)	غلظت mg/ml	قطر هاله (mm)	غلظت mg/ml
عصاره آبی دانه کرچک واریته	–	–	۹	۱۶۰	۸	۱۶۰
مشهد	–	–	–	۱۰	۱۰	۱۰
عصاره آبی دانه کرچک واریته	–	–	۸	۱۶۰	۸	۱۶۰
اصفهان	–	–	–	۱۰	۱۳	۱۰

همچنین قطر هاله در عصاره های آبی کرچک واریته اصفهان ومشهد روی باکتری گرم منفی *اشرشیاکلی* در غلظت ۱۰ mg/ml به ترتیب با اندازه mm (۱۳و۸) بود. اما در غلظت ۱۶۰mg/ml روی همین ریزسازواره عصاره های هر دو واریته قطر هاله یکسانی با اندازه ۸ mm داشتند. در این مطالعه هیچ کدام از عصاره ها روی باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* قادر به ایجاد هاله نبودند.

جدول ۵ اثر آنتی بیوتیک بر قطر هاله مهار رشد

نوع آنتی بیوتیک (غلظت)	قطر هاله(mm) *E.coli*	قطر هاله(mm) *S.aureus*	قطر هاله(mm) *L.Inocua*
اریترومایسین (μg ۱۵)	–	–	۱۲
جنتامایسین(μg ۱۰)	–	۲۲	–
کلرامفنیکل(μg ۳۰)	۳۰		

۳-۴- بررسی اثر آنتی بیوتیک (اریترومایسین، جنتامایسین، کلرامفنیکل) روی سویه های میکروبی مورد آزمون

همانطور که در جدول (۵) نشان داده شده است بیشترین قطر هاله مربوط به آنتی بیوتیک کلرامفنیکل روی *اشرشیاکلی* با قطر هاله ۳۰mm و کمترین قطر هاله با ۱۲ mm مربوط به آنتی بیوتیک اریترومایسین روی *لیستریااینوکوآ* مشاهده شد.

۳-۵- مقایسه عملکرد آنتی بیوتیک های مورد آزمون با عصاره های آبی دانه کرچک واریته مشهد و اصفهان

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش می توان نتیجه گیری کرد که آنتی بیوتیک های کلرامفنیکل و جنتامایسین فعالیت ضدباکتریایی بیشتری به ترتیب روی *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به عصاره آبی دانه کرچک واریته مشهد و اصفهان دارند، ولی بر اساس نتایج فعالیت ضد باکتریایی آنتی بیوتیک اریترومایسین در آزمون انتشار دیسک تقریبا با

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-19]

عصاره های آبی دانه کرچک واریته مشهد و اصفهان روی *لیستریا اینوکوآ* برابری می کند.

۴- بحث و نتیجه گیری

از آنجایی که آب بعنوان حلالی با بیشترین قدرت استخراج برای اغلب مواد طبیعی با وزن مولکولی پایین مثل آلکالوئیدها، ساپونین ها، فلاونوئیدها مطرح می باشد، عصاره های آبی دانه کرچک دراین مطالعه ویژگی بازدارندگی قوی روی سه پاتوژن (*لیستریااینوکوآ- استافیلوکوکوس اورئوس- اشرشیاکلی*) ازخود نشان دادند.

از دلایل اصلی تفاوت در میزان ویژگی بازدارندگی (MIC) در مطالعات مختلف می توان از تفاوت در ترکیب عصاره ها نام برد. عصاره های حاصل از یک گونه گیاهی براساس جغرافیایی منطقه، فصل برداشت، مرحله رشد و... می تواند دارای ترکیبات متفاوت باشد [۱۵]. مشخص شده است فعالیت ضد باکتریایی عصاره کرچک به شدت وابسته به ترکیب شیمیایی آن است [۱۶]. بر اساس تحقیقات، طبق تحلیل GC/MS ترکیبات اصلی عصاره کرچک عبارتست از استروئیدها، ساپونین ها، آلکالوئیدها، فلانوئیدها، گلیکوزیدها، آلفاپینن، کامفور، کامفینی، آلکالوئیدریسین و ان دی متیل ریسینین. نتایج نشان می دهد که تغییر در کمیت ترکیبات اصلی مثلا کامفور، باعث تفاوت در فعالیت ضدمیکروبی می گردد [۱۷]. دانه کرچک همچنین حاوی گلیکوزیدهای ریسینولئیک، ایزوریسینولئیک و به مقدار زیادی ریسینولئیک اسید است [۱۸].

حساسیت باکتری های گرم مثبت و منفی نسبت به بسیاری از مواد ضدمیکروبی به طور قابل توجهی با یکدیگر متفاوت بوده بطوری که گروه اول حساسیت بیشتری از خود نشان می دهند. مقاومت نسبی ارگانسیم های گرم منفی نسبت به بسیاری از مواد ضدمیکروبی احتمالاً به دلیل پیچیدگی طبیعی موانع موجود در پوشش سلول می باشد. این پوشش شامل غشاء سیتوپلاسمی یا داخلی، محتوی لیپید- پروتئین و یک لایه نازک پپتیدوگلیکان و یک ممبران خارجی شامل لیپوپلی ساکارید است (LPS). اگرچه ریزسازواره های گرم مثبت نیز دارای یک لایه ممبران سیتوپلاسمی و پپتیدوگلیکان می باشند ولی بقیه پوشش سلولی آنها بیشتر از پلی ساکاریدهای آنیونی و در بعضی موارد از مقدار کمی پروتئین ساخته شده است. غشاء خارجی در ریزسازواره های های گرم منفی سدی در مقابل نفوذ مواد ایجاد نموده و موجب می گردد، قابلیت نفوذپذیری سلولهای گرم منفی نسبت به بسیاری از انواع مولکولها کمتر از ریزسازواره های گرم مثبت باشد [۱۹]. دانه کرچک حاوی مقدار زیادی اسید چرب ریسینولئیک با ساختار فضایی سیس است در صورتی که در برگ کرچک ریسینولئیک اسید وجود ندارد. ریسینولئیک اسید یک اسید چرب غیر اشباع است که با مهار سنتز موکوپپتید دیواره سلولی ریزسازواره های های گرم منفی، باعث از بین رفتن دیواره سلولی می شود[۲۰]. این پدیده می تواند تاثیر بازدارندگی بیشتر عصاره دانه کرچک روی باکتری *اشرشیاکلی* را در این مطالعه توجیه نماید. همچنین به واسطه بازدارندگی بیشتر واریته اصفهان روی این باکتری، احتمال می رود که مقدار ریسینولئیک اسید موجود در عصاره آبی دانه کرچک واریته اصفهان بیشتر باشد. بر طبق نتایج بدست آمده در این پژوهش، عصاره های آبی دانه کرچک واریته مشهد واصفهان روی باکتری گرم منفی *اشرشیاکلی*، ویژگی بازدارندگی بیشتری نسبت به باکتری های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوآ*) داشتند.

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد، عصاره آبی خانواده کرچک (باتوجه به منطقه رشد و آب و هوایی آن) می تواند به عنوان یک عامل ضدباکتریایی به کار گرفته شود. به عبارت دیگر براساس نتایج حاصل از مطالعه پیش رو این عصاره از لحاظ خواص ضد باکتریایی می تواند با آنتی بیوتیکی مانند اریترومایسن برابری کند.

۵- منابع

[1] Auld, Dl., Zanatto, MD., Mckeon, T., 2009, Oil crops *Spriger Dordrecht Heidelberg germany*. Vol. 3, PP. 548.

[2] Weiss, EA., 2000, Oilseed crops. *Blackwell Science*,Vol. 6, PP. 364.

[3] Ogunniyi, DS., 2006, Castor oil: A Vital industrial raw material. *Bioresource technology*.Vol. 2, PP. 91-1086.

[4] Marter, AD., 1981, Castor: markets, utilization and prospects. *Journal ofTropical product institute*.Vol. 6,PP. 55-58.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-19]

[5] National Institute of science Communication Resource, 1972, *The Wealth ofIndia, Rawmaterials*. Vol. 9, pp. 26-47.

[6] Gambo, GTA., Enenebeaku, MNO., 2007, Antimicrobial susceptibility patterns of bacteria to seed extract of *Ricinus communis*; findings of a preliminary study in Nigeria. *The internet journal of microbiology*. Vol. 4, pp. 1.

[7] Banso, AA., Sania, B., 2003, Anti bacterial effect of leaf extract of *Ricinus communis*. *African Scientist Printed in Nigeria*,Vol. 4, no. 3, pp. 129-133.

[8] Kurosaki, F., Nishi, A., 1983, Isolation and antimicrobial activity of the phytoalexin 6-methoxymellein from cultured carrot cells. *Journal of phytochemistry.* Vol. 22, PP. 669-672.

[9] San kar, GK., 2010, Romamoortny Antibactrial activity oh herbal extract on Patnogens isolated from the swollenhindgutofp, Monodon (fabricus*). In Food and Chemical Toxicology.*Vol. 1, no. 3, pp. 17-22.

[10] Oyewole, Ol., Owoseni, AA., Faboro, EO., 2010, Studies on medicinal and toxicological properties of cajanuscajan, *Ricinuscommunis* and thymus vulgaris leaf extracts. *Journal of Medical Plant.* Vol. 4, no. 19, pp. 2004-2008.

[11] Mahesh Kumar, G., Sharma, PK., Ansari, SH., 2006, In-vitro antioxidant activityofthesuccessive extracts of *Ricinus communis* leaves. *International Journal of Plant Sciences.*Vol. 2, pp. 229-231.

[12] Ramesh Kumar, Gupta, MK., Katiyar, Deepti, Srivastava, A., Singh, P., 2010, in-vitro antioxidant activity of the successive extracts of *Ricinus communis* stems. *journal of Food Chemistry IJPSR.* Vol. 1, no. 8, pp. 158-190.

[13] Poonam, k., 2012, Antimicrobial Activities of *Ricinus communis* Againts some Human pathogens. *Journal of Medical Plant.*Vol. 7, pp. 29-37.

[14] Talei, gh., Meshkatosadat, MH., 2003, Evaluation effect of antibacterial extraction of zataria Multifloraon the Bacteria Gram Positive and Gram Negative. *Journal of Medicinal Plants.*Vol. 3, pp. 23-25.

[15] Lord, MJ., Jollife, NA., Marsden, CJ., Pateman, CS., Smith, DC., Spooner, RA., Watson, PD., Roberts, LM., 2003, Ricin Mechanisms of cytotoxity. *Journal of EthropharmacolToxicol Rev*. Vol. 22, no. 1, pp. 53-64.

[16] Christy Jeyaseelan, EP., 2012, Jushothan in vitro control of *staphylococcus aureus* (NC6571) and *Escherichia coli* (ATCC25922) by *Ricinus communis L. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.*Vol. 12, no. 4, pp. 717-720.

[17] Kalemba, D.,Kunika, A., 2003, Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *JournalofMedical Chemestry.*Vol. 10, pp. 813-29.

[1Zarai, Z., kadri, A., 2012, Essetial oil of the leaves of *Ricinus communis* in vitro cytotoxicity and antimicrobial properties. *Journal of lipids in health and disease.*Vol. 1, pp. 2-7.

[19] Hussain, AL., Anwer, F.,Shahid, M., Ashraf, M., Przybylski, R., 2010, Chemical composition, anticoidant and antimicrobial activities of essential oil of spearmint (*Menthaspicata L,)* from Pakistan. *Journal Essential Oil Resistance.* Vol. 22, pp.78-84.

[20] Darmanin, S.,Wismaver, PS., Camillerri Podesta, MT., micallef, MJ., Buhagiar, JA., 2009, An extract from *Ricinus communis L*, leaves possesses cytotoxic properties and induces apoptosis in Skmel- 28 human melanoma cells. *Nat Prod Res*. Vol. 23, no. 6, pp.561-571.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-19]

Evaluation and comparison of the antibacterial effects of seed aqueous extract from *Ricinus communis L* (two varieties) on food borne Pathogens

Hatami, S. [1] *, Yavarmanesh, M. [2], MohammadiSani, A.[3]

1. Department of Food Science & Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran.
2. Ferdowsi University of Mashhad, Faculty of Agriculture, Department of Food science and Technology, Mashhad, Iran.
3. Department of Food Science & Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran.

(Received: 91/8/16 Accepted: 92/3/8)

The aim of this study was to evaluate antibacterial activity of aqueous extract of castor seeds (two varieties, Mashhad and Isfahan) on *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Escherichia coli* ATCC25922 and *Listeria innocua* ATCC33090 as food borne pathogens. The sensitivity of the microorganisms was evaluated using disc diffusion, minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). According to disc diffusion method the most resistance was observed by gram positive bacteria (*Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus*) where as, the most sensitivity was observed by *Escherichia coli.*In disc diffusion method as a positive control Erythromycin, Gentamicin and chloramphenicol were used on *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in which deterrence diameters were 13mm, 22mm, 30mm, respectively. The experiments of MIC, MBC were performed in triplicate. According dilutions which were prepared in MIC experiment the ranges of aqueous extract of castor from Mashhad on *Listeria innocua* and *Staphylococcus aureus* was between 40 to 160 mg/ml. This range for *Escherichia coli* was less than 40 mg/ml. But for aqueous extract in castor seeds from Isfahan was between 20 to 40 mg/ml on *Listeria innocua*, between 40 to 80 on *Staphylococcus aureus* and between 20 to 80 mg/ml on *Escherichia coli*. Also MBC test were measured around 160 mg/ml in castor seeds of Mashhad and Isfahan. The both of aqueous extract of castor seeds from Mashhad and Isfahan had strong antibacterial activity and aqueous extract from Isfahan had more inhibitory effect than the aqueous extract of Mashhad.

Keywords: Aqueous Extract of *Ricinus Communis L*, Minimum Inhibitory Concentration, Minimum Bactericidal Concentration, Disc diffusion

* Corresponding Author E-Mail Address: eng.s.hatami@gmail.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-19]