مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصاره اتانولی تاتوره بر تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زای عامل عفونت و مسمومیت غذایی در شرایط برون‌تنی

محمد نوشاد[۱*]، بهروز علیزاده بهبهانی[۱]

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

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۴/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۵/۳۱

کلمات کلیدی:

تاتوره؛

عصاره اتانولی؛

بیماری‌های ناشی از غذا؛

فعالیت ضدمیکروبی؛

نگهدارنده طبیعی.

DOI: 10.22034/FSCT.20.142. 161

DOR:20.1001.1.20088787.1402.20.142.10.0

* مسئول مکاتبات:

Noshad@asnrukh.ac.ir

چکیده

تاتوره به عنوان یک داروی ارزشمند در بسیاری از بیماری‌ها از جمله التهاب، زخم‌ها، تب و دندان درد به خوبی شناخته شده است و عصاره آن دارای فعالیت ضدمیکروبی قابل‌توجهی می‌باشد؛ بنابراین، این مطالعه با هدف استخراج عصاره اتانولی برگ تاتوره و بررسی فعالیت ضدمیکروبی آن صورت گرفت. در این مطالعه، عصاره تاتوره با استفاده از روش ماسراسیون استخراج گردید. روش‌های ضدمیکروبی دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی جهت تعیین فعالیت ضد باکتریایی عصاره اتانولی برگ تاتوره در برابر باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی موریوم*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* استفاده گردید. فعالیت ضدمیکروبی عصاره وابسته به غلظت بود و بالاترین قطر هاله عدم رشد در غلظت ۶۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره مشاهده گردید. مطابق آزمون‌های دیسک دیفیوژن آگار و چاهک آگار، باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تیفی‌موریوم* به ترتیب بالاترین و کمترین قطر هاله عدم رشد را به خود اختصاص دادند. حداقل غلظت مهارکنندگی برای باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی موریوم*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* به ترتیب برابر با ۱۶، ۱۶، ۸ و ۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بدست آمد و مقادیر حداقل غلظت کشندگی برای این باکتری‌ها به ترتیب ۲۵۶، ۲۵۶، ۶۴ و ۱۲۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. بطور کلی، باکتری‌های گرم مثبت نسبت به انواع گرم منفی در برابر عصاره حساس‌تر بودند. عصاره اتانولی برگ تاتوره را می‌توان بعنوان عامل ضد میکروب طبیعی جهت جلوگیری از رشد باکتری‌های پاتوژن و درمان بیماری‌های مرتبط استفاده نمود.

۱- مقدمه

محصولات غذایی ممکن است در مراحل مختلف در طول تولید، فرآوری، توزیع، آماده‌سازی و/یا مصرف نهایی آلوده شوند. خطر آلوده شدن غذا تا حد زیادی به وضعیت سلامتی تولیدکنندگان غذا، بهداشت شخصی، دانش و عملکرد آنها در مورد بهداشت مواد غذایی بستگی دارد [۱]. طبق تعریف سازمان جهانی بهداشت، بیماری‌های منتقله از طریق غذا یا ناشی از مواد غذایی[1] به بیماری‌هایی با ماهیت عفونی یا سمی گفته می‌شود که در اثر مصرف غذا یا آب ایجاد می‌شود [۲, ۳]. مسمومیت، عفونت و عفونت‌های سمی سه نوع بیماری منتقله از طریق غذا هستند [۴]. بیماری‌های با منشأ حیوانی می‌توانند از طریق تماس مستقیم، تماس غیرمستقیم محیطی و/یا از طریق مصرف غذا بین انسان و حیوان منتقل شوند. حدود ۶۰ درصد از بیماری‌های انسانی از حیوانات منشأ می‌گیرند و تقریباً ۷۵ درصد از بیماری‌های عفونی نوظهور انسان از حیوانات مهره‌دار به انسان منتقل می‌شوند [۵].

پاتوژن های منتقله از غذا میکروارگانیسم‌ها (به عنوان مثال، باکتری‌ها، ویروس‌ها و قارچ‌ها) و همچنین تعدادی انگل هستند و عامل اصلی فساد مواد غذایی و بیماری‌های منتقله از طریق غذا هستند. میکروب‌های منتقله از غذا مشکلات عمده‌ای هستند که بر ایمنی مواد غذایی تأثیر می‌گذارند و پس از مصرف محصولات حیوانی آلوده به میکروارگانیسم‌ها یا سموم آنها باعث عفونت‌های انسانی می‌شوند [۶-۸]. در سال‌های اخیر، پاتوژن‌های منتقله از غذا به یک مشکل مهم بهداشت عمومی در سراسر جهان تبدیل شده‌اند و تأثیر آن‌ها بر سلامت و اقتصاد شناخته شده است. بر اساس گزارش‌های مختلف، سالانه تعداد زیادی از مردم در سراسر جهان از بیماری‌های منتقله از طریق غذا رنج می‌برند و حدود ۶۰۰ میلیون نفر (۱۰ نفر در جهان) به دلیل مصرف مواد غذایی آلوده بیمار می‌شوند [۹].

بیماری‌های منتقله از طریق غذا مشکلات عمده سلامتی در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه هستند، اما کشورهای در حال توسعه از بیشترین سهم از بار بیماری‌های منتقله از طریق غذا رنج می‌برند. طبق گزارش سازمان جهانی بهداشت، سالانه ۳۰ درصد جمعیت در کشورهای توسعه یافته از بیماری‌های منتقله از طریق غذا رنج می‌برند و در کشورهای در حال توسعه سالانه تا ۲ میلیون مرگ و میر تخمین زده می‌شود [۱۰].

در میان باکتری‌هایی که باعث مسمومیت‌های غذایی می‌شوند، برخی از آنها از نظر فراوانی و/یا شدت بیماری اهمیت ویژه‌ای دارند. باکتری‌ها سمومی تولید می‌کنند که باعث مسمومیت ناشی از غذا می‌شوند و در نتیجه علائمی از اختلالات گوارشی تا فلج و مرگ را در بر می‌گیرند. گزارش شده است که باکتری‌های گرم منفی تقریباً ۶۹ درصد از موارد بیماری‌های ناشی از غذا را تشکیل می‌دهند [۱۱]. اگرچه ۳۱ پاتوژن وجود دارد که به عنوان عامل بیماری‌های منتقله از طریق غذا شناسایی شده‌اند، پاتوژن های باکتریایی از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس*، گونه‌های *سالمونلا*، گونه‌های *کمپیلوباکتر*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *اشرشیا کلی* از علل شایع بیماری‌های منتقله از طریق غذا و مرگ و میر در جهان هستند [۱۲-۱۵].

علاقه فزاینده‌ای به استفاده از نگهدارنده های طبیعی مواد غذایی با خواص ضد میکروبی وجود دارد. این ضد میکروبی‌های طبیعی اغلب در مقایسه با ضد میکروبی‌های مصنوعی که معمولاً توسط مصرف‌کنندگان پذیرفته شده‌اند و اثربخشی آنها در برابر عوامل بیماری‌زا ثابت شده، ایمن در نظر گرفته می‌شوند. عصاره‌ها و اسانس‌های مشتق شده از گیاهان از جمله نگهدارنده‌های طبیعی هستند و به طور کلی توسط FDA به عنوان ایمن شناخته شده‌اند و به دلیل مخلوط پیچیده‌ای از ترکیبات زیست فعال، دارای خواص ضد میکروبی هستند. به همین دلیل، آنها به طور گسترده‌ای به

1 -Food-borne diseases

عنوان نگهدارنده‌های طبیعی در صنایع غذایی استفاده می‌شوند [۳, ۷, ۱۳, ۱۶].

جنس داتورا- *Datura* (خانواده *Solanaceae*) از گونه‌های مهم دارویی از جمله *D. stramonium*، *D. ferox*، *D. innoxia* و *D. metel* تشکیل شده است. این گونه‌ها از زمان‌های بسیار قدیم برای اهداف دارویی و تفریحی مورد استفاده قرار می‌گرفتند. گونه‌های داتورا چندین کاربرد سنتی و دارویی دارند، به‌عنوان مثال، ضد آسم، بی‌حس‌کننده، آرام‌بخش، ضد هموروئید، خلط‌آور، آرام‌بخش و ضد تومور. تاتوره (*D. stramonium* Linn). رایج‌ترین گونه از جنس داتورا بومی آسیا است اما به وفور در مناطق گرمسیری، نیمه گرمسیری و معتدل در سراسر جهان یافت می‌شود. تاتوره به عنوان یک داروی ارزشمند در بسیاری از بیماری‌ها از جمله التهاب، آرتریت روماتوئید، زخم‌ها، نقرس، آسم و برونشیت، تب و دندان درد به خوبی شناخته شده است [۱۷]. عصاره و اسانس گیاه تاتوره دارای فعالیت ضدمیکروبی قابل‌توجهی می‌باشد [۱۸, ۱۹]؛ بنابراین، هدف از این مطالعه، استخراج عصاره اتانولی تاتوره و بررسی فعالیت ضدمیکروبی آن بر علیه باکتری‌های پاتوژن *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی موریوم*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* بود.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- جمع آوری گیاه تاتوره و آماده سازی عصاره

گیاه تاتوره از زیستگاه‌های طبیعی خود در مناطق مختلف جمع‌آوری شد. شناسایی و تأیید جنس و گونه نمونه‌های گیاهی انجام شد. برگ جمع‌آوری شده با آب شستشو داده شد تا هرگونه کثیفی و آلاینده مانند حشرات، میکروب و خاک که می‌توانست بر نتایج تأثیر بگذارد از بین برود و سپس در دمای اتاق کاملاً خشک شد. بخش خشک شده با استفاده از آسیاب به پودر تبدیل گردید. نمونه‌های پودر شده توزین شده و تا شروع استخراج در ظروف دربسته نگهداری شدند. عصاره‌گیری با استفاده از روش خیساندن سرد انجام گرفت که در آن ۲۰۰ گرم نمونه گیاهی پودر شده در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد در یک فلاسک خیسانده شد تا عصاره هیدروالکلی خام بدست آید. مخلوط در شیکر با سرعت ۱۶۰ دور در دقیقه به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت و سپس از طریق کاغذ صافی فیلتر شد. عصاره با استفاده از یک اواپراتور چرخشی برای حذف اتانول تغلیظ گردید. در نهایت، عصاره تغلیظ شده در یک ظرف در بسته در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری گردید [۱۸].

۲-۲- آماده سازی سویه های میکروبی

فعالیت ضدمیکروبی عصاره اتانولی تاتوره در برابر باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی موریوم*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* بررسی گردید.

سویه‌های باکتریایی از گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان تهیه شدند. کشت باکتریایی لیوفیلیزه شده در شرایط استریل باز شد و در مولر هینتون براث به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد مجدداً کشت داده شدند. به منظور تهیه سوسپانسیون میکروبی تازه، کشت استوک در آگار مغذی کشت اسلنت داده شد، سپس با محلول رینگر استریل شسته شد و سوسپانسیون میکروبی غلیظ تهیه گردید. این سوسپانسیون برای تنظیم کدورت سوسپانسیون آزمایشی مورد استفاده قرار گرفت. کدورت در ۶۳۰ نانومتر هر نمونه با استفاده از اسپکتروفتومتر تنظیم شد. کدورت سوسپانسیون میکروبی بر اساس ۰/۵ مک فارلند یا $۱/۵ \times ۱۰^{۸}$ CFU/ml تهیه گردید [۲۰].

۲-۳- فعالیت ضدمیکروبی عصاره تاتوره

آزمون‌های ضدمیکروبی دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی برای بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره اتانولی تاتوره انجام شدند. در

آزمون دیسک دیفیوژن آگار، غلظت‌های ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره در حلال مناسب تهیه شد. سپس دیسک‌های بلانک به مدت ۱۵ دقیقه در محلول‌های عصاره غوطه‌ور شدند تا کاملاً آغشته شوند. در نهایت، دیسک‌هایی که قبلاً در غلظت‌های معینی از عصاره غوطه‌ور شده بودند، روی سطح محیط کشت ثابت شدند. پس از آن، پتری دیش‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت برای باکتری‌ها قرار داده شدند. اثر ضد میکروبی بر حسب قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها تعیین شد [۲۱].

در روش چاهک آگار، ۵ چاهک با استفاده از پیپت پاستور بر روی سطح محیط کشت مولر هینتون آگار ایجاد گردید و ۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتریایی روی محیط کشت پخش شد. غلظت‌های ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره تهیه گردید. در مرحله بعد، ۲۰ میکرولیتر از هر غلظت داخل چاهک ریخته شد و پس از گرمخانه گذاری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری و بعنوان فعالیت ضدمیکروبی عصاره اتانولی تاتوره گزارش گردید [۱۳].

حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره در برابر سویه‌های باکتریایی با استفاده از روش میکرودایلوشن ارزیابی شد. غلظت نهایی عصاره در پلیت ۹۶ خانه‌ای ۴-۵۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. سپس پلیت ۹۶ خانه‌ای در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری گردید. پس از گرمخانه گذاری، ۲۰ میکرولیتر ۲،۳،۵-تری‌فنیل‌تترازولیوم کلرید ۵ درصد به هر چاهک اضافه شد. اولین غلظت که در آن رنگ قرمز مشاهده نشد، به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره در نظر گرفته شد [۳, ۲۲].

حداقل غلظت کشندگی عصاره با استفاده از روش پورپلیت تعیین گردید. به طور خلاصه، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول درون چاهک‌های عاری از رنگ قرمز [آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی رشد] بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد. اولین غلظتی که سبب جلوگیری از رشد باکتری گردید، به عنوان حداقل غلظت کشندگی عصاره گزارش شد [۲۲, ۲۳].

۴-۲- آنالیز آماری

تمام آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد. برای تجزیه‌وتحلیل داده‌های به دست آمده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۶) استفاده شد. داده‌ها ابتدا با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه ارزیابی شدند و از آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای تشخیص تفاوت‌های معنی‌دار ($p < 0.05$) استفاده گردید.

۳- نتایج و بحث

نتایج اثر ضد باکتریایی عصاره اتانولی تاتوره در برابر باکتری‌های پاتوژن بر پایه روش دیسک دیفیوژن آگار در جدول ۱ گزارش شده است. افزایش غلظت عصاره سبب افزایش معنی‌دار قطر هاله عدم رشد گردید. در مورد باکتری *اشرشیا کلی*، اختلاف معناداری بین قطر هاله عدم رشد در غلظت‌های مختلف عصاره مشاهده گردید. بین غلظت‌های ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره، تفاوت معنی‌داری بین قطر هاله عدم رشد در مورد باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* مشاهده نشد؛ اما بین غلظت‌های ۴۵ و ۶۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر با هم و در مقایسه با غلظت‌های ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تفاوت معنی‌داری وجود داشت. در ارتباط با *استافیلوکوکوس اورئوس*، بین قطر هاله عدم رشد تمامی غلظت‌ها اختلاف معناداری مشاهده گردید. نتایج قطر هاله عدم در مورد باکتری *باسیلوس سرئوس* مشابه باکتری *سالمونلا تیفی‌موریوم* بود.

در حضور تمامی غلظت‌های عصاره مورد مطالعه، باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تیفی‌موریوم* به ترتیب بالاترین و کمترین قطر هاله عدم رشد را به خود

اختصاص دادند. علاوه بر این، قطر هاله عدم رشد در مورد باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس*) بزرگ‌تر از باکتری‌های گرم منفی (*سالمونلا تیفی‌موریوم* و *اشرشیا کلی*) بود که بیانگر حساسیت بالاتر این سویه‌های باکتریایی در برابر عصاره اتانولی تاتوره می‌باشد.

Table 1- Antimicrobial activity of *Datura stramonium* ethanolic extract based on agar disk diffusion method (mm)

Concentration / Microorganism	15 mg/ml	30 mg/ml	45 mg/ml	60 mg/ml
Escherichia coli	7.00 ±0.14^{d}	9.10 ±0.21^{c}	11.30 ±0.27^{b}	14.20 ±0.31^{a}
Salmonella typhimurium	6.60 ±0.45^{c}	7.40 ±0.47^{c}	9.80 ±0.26^{b}	12.00 ±0.17^{a}
Staphylococcus aureus	8.20 ±0.33^{d}	10.40 ±0.30^{c}	13.30 ±0.24^{b}	16.40 ±0.28^{a}
Bacillus cereus	7.50 ±0.24^{c}	8.00 ±0.36^{c}	11.50 ±0.13^{b}	14.30 ±0.16^{a}

Values are expressed as mean ±standard deviations, $n = 3$; different letters (a, b, c and d) in each row show significant difference at $p \leq 0.05$.

جدول ۲، نتایج اثر ضدمیکروبی عصاره اتانولی تاتوره بر اساس روش چاهک آگار را نشان می‌دهد. در ارتباط با باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی موریوم* و *استافیلوکوکوس اورئوس*، اختلاف معنی‌داری بین قطر هاله عدم رشد در تمامی غلظت‌های مورد مطالعه مشاهده شد و افزایش غلظت عصاره سبب افزایش معنادار قطر هاله عدم رشد گردید. غلظت‌های ۳۰ و ۴۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره سبب تغییر معنی‌داری در قطر هاله عدم رشد در باکتری *باسیلوس سرئوس* نگردید، اما قطر هاله عدم رشد در حضور غلظت ۶۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره بطور معنی‌داری بزرگ‌تر از قطر هاله عدم رشد در حضور غلظت‌های ۴۵، ۳۰ و ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره بود. لازم به ذکر است که بالاترین و کمترین قطر هاله عدم رشد به ترتیب مربوط به سویه‌های باکتریایی *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تیفی‌موریوم* بود و باکتری‌های گرم مثبت نسبت به انواع گرم منفی در برابر عصاره اتانولی تاتوره حساسیت بالاتری نشان دادند. علاوه بر این، در غلظت ثابت عصاره، قطر هاله عدم رشد در روش چاهک آگار بزرگ‌تر از روش دیسک دیفیوژن آگار بود.

Table 2- Antimicrobial activity of *Datura stramonium* ethanolic extract based on agar well diffusion method (mm)

Concentration / Microorganism	15 mg/ml	30 mg/ml	45 mg/ml	60 mg/ml
Escherichia coli	7.30 ±0.20^{d}	9.90 ±0.18^{c}	12.00 ±0.34^{b}	14.50 ±0.27^{a}
Salmonella typhimurium	7.30 ±0.16^{d}	9.50 ±0.32^{c}	11.70 ±0.43^{b}	13.90 ±0.36^{a}
Staphylococcus aureus	8.80 ±0.29^{d}	11.00 ±0.40^{c}	14.20 ±0.18^{b}	17.10 ±0.38^{a}
Bacillus cereus	8.20 ±0.27^{c}	10.90 ±0.54^{b}	11.60 ±0.48^{b}	15.00 ±0.43^{a}

Values are expressed as mean ±standard deviations, $n = 3$; different letters (a, b, c and d) in each row show significant difference at $p \leq 0.05$.

نتایج آزمون‌های حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی عصاره اتانولی تاتوره در برابر سویه‌های باکتریایی در جدول ۳ ارائه شده است. حداقل غلظت مهارکنندگی برای باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی‌موریوم*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* به ترتیب برابر با ۱۶، ۱۶، ۸ و ۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بدست آمد که حساسیت بالاتر باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با سویه‌های گرم منفی را بازگو می‌کند. مقادیر حداقل غلظت کشندگی برای این باکتری‌ها به ترتیب ۲۵۶، ۲۵۶، ۶۴ و ۱۲۸

میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. مطابق نتایج، باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* حساس‌ترین سویه باکتریایی در برابر عصاره اتانولی تاتوره بود.

Table 3- Antimicrobial activity of *Datura stramonium* ethanolic extract based on minimum inhibitory/bactericidal concentration method (mg/mL)

Microorganism	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)
Escherichia coli	16	256
Salmonella typhimurium	16	256
Staphylococcus aureus	8	64
Bacillus cereus	8	128

گیاهان دارویی حاوی متابولیت‌های مختلفی هستند که فعالیت ضد میکروبی را در شرایط برون‌تنی و درون تنی نشان می‌دهند [۲۱, ۲۲, ۲۴]. نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره اتانولی تاتوره دارای اثر ضدمیکروبی بیشتری در برابر باکتری‌های گرم مثبت است که در راستای یافته‌های سایر پژوهشگران می‌باشد [۷, ۲۳]. این حالت عمدتاً به دلیل وجود یک لایه موکوپپتید منفرد در غشاء سلولی آنها است که آنها را نسبت به عوامل ضد میکروبی حساس‌تر می‌کند. در مقابل، غشاء سلولی باکتری‌های گرم منفی حاوی یک لایه لیپوپلی‌ساکارید و فسفولیپید پیچیده‌تر با سرعت انتشار پایین‌تر نسبت به ترکیبات ضد میکروبی آبگریز می‌باشد [۱۴, ۱۵]. علاوه بر این، فعالیت ضد باکتریایی یا ناحیه بازدارندگی بیشتر در روش چاهک آگار در مقایسه با روش دیسک دیفیوژن آگار مشاهده گردید. در واقع، گونه‌های باکتریایی در روش چاهک آگار در تماس مستقیم با عصاره هستند، اما سرعت انتشار عامل ضد میکروبی از سطوح دیسک به محیط، اثر بازدارندگی آن را در آزمایش دیسک دیفیوژن آگار تعیین می‌کند [۲۰]. فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌های متانولی بخش‌های هوایی دو گونه *D. innoxia* و *D. stramonium* (تاتوره) توسط افتخار و همکاران (۲۰۰۵) بر اساس روش دیسک دیفیوژن آگار مورد بررسی قرار گرفت. عصاره *D. innoxia* فعالیت ضد باکتریایی را بیشتر در برابر *باسیلوس سوبتیلیس*، *انتروکوکوس فکالیس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داد. فعالیت وابسته به غلظت بود و بالاترین میزان در ۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر مشاهده گردید. تاتوره فعالیت ضد باکتریایی جزئی در برابر باکتری‌های گرم مثبت در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر داشت و غلظت‌های پایین‌تر مؤثر نبود. هر دو عصاره گیاهی فعالیت کمی (یا بدون اثر) علیه *اشرشیا کلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* داشتند. هنگامی که نتایج با فعالیت ضد باکتریایی آمپی‌سیلین مقایسه شد، عصاره‌های گیاهی فعالیت ضد باکتریایی برابر یا بهتری را نشان دادند [۲۵]. اثر ضدمیکروبی عصاره متانولی دانه تاتوره در مطالعه‌ای دیگر نشان داده شده است. حداکثر میانگین قطر هاله عدم رشد (۱۷/۶۷ میلی‌متر) در بالاترین غلظت عصاره دانه‌های تاتوره در برابر *شیگلا فلکسنری* و به دنبال آن ۱۵/۳۳ میلی‌متر در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی موریوم* بود، در حالی که کمترین ناحیه بازدارندگی (۱۴/۳۳ میلی‌متر) در برابر *سودوموناس آئروژینوزا* ثبت شد [۱۸]. در پژوهش وازا و همکاران

(۲۰۱۵)، عصاره متانولی دانه‌های تاتوره بالاترین ناحیه مهار (۲۰ میلی‌متر) را در برابر باکتری *اشرشیا کلی* نشان داد، به دنبال آن *استافیلوکوکوس اورئوس* (۱۷/۵۰ میلی‌متر) و *سودوموناس آئروژینوزا* (۱۶ میلی‌متر) قرار گرفت [۲۶]. مطالعه دیگری گزارش داد که عصاره متانولی میوه تاتوره رشد *اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و سویه‌های قارچی *آسپرژیلوس فلاووس*، *آسپرژیلوس نایجر*، *فوزاریوم کلموروم* و *ریزوپوس استولونیفر* را مهار می‌کند [۲۷]. از سوی دیگر، مطالعه‌ای که توسط جولیوس و همکاران [۲۰۱۸] انجام شد، خواص ضد باکتریایی ضعیف عصاره متانولی دانه تاتوره را در برابر باکتری *اشرشیا کلی*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* با مناطق بازدارندگی ۷، ۶ و ۵ میلی‌متر در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نشان داد [۲۸]. فعالیت ضدمیکروبی عصاره تاتوره ممکن است ناشی از ترکیبات اصلی جدا شده از تاتوره مانند آلکالوئیدهای تروپان، آتروپین و اسکوپولامین باشد [۲۹]. تفاوت در نتایج این مطالعه با یافته‌های سایر محققین می‌تواند به این دلیل باشد که کیفیت و کمیت عصاره عمدتاً به واریته، مرحله رشد، آب و هوا، محل رشد و زمان جمع‌آوری گیاه و شرایط استخراج بستگی دارد [۳۰-۳۴]. به طور کلی، عصاره اتانولی تاتوره دارای فعالیت ضد میکروبی عالی است که باعث می‌شود از آن به عنوان یک منبع طبیعی از عوامل نگهدارنده در محصولات غذایی مختلف برای مهار رشد میکروبی و در نتیجه بهبود ماندگاری و کیفیت آن‌ها استفاده گردد.

۴- نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره اتانولی برگ تاتوره دارای فعالیت ضد باکتریایی وابسته به غلظت و نوع باکتری می‌باشد و در نتیجه پتانسیل زیادی برای توسعه به عنوان عامل ضد باکتری برای درمان عفونت‌های باکتریایی دارد. فعالیت ضد میکروبی نشان‌داده شده توسط عصاره گیاهی تاتوره در برابر ارگانیسم‌های آزمایشی بیماری‌زای مورد استفاده در این مطالعه نیز می‌تواند به عنوان مدرکی برای ارائه حمایت علمی جهت ادامه استفاده سنتی از این گیاه دارویی توسط جوامع محلی در کشور در درمان بیماری‌های مختلف ناشی از باکتری‌های بیماربزا در نظر گرفته شود. بااین‌حال، مطالعات بیشتری برای کشف مکانیسم فعالیت ضدمیکروبی عصاره اتانولی تاتوره و افزایش کاربرد آن در بسیاری از محصولات غذایی مورد نیاز است.

۵- تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

۶- منابع

[1] Aklilu A, Kahase D, Dessalegn M, Tarekegn N, Gebremichael S, Zenebe S, et al. Prevalence of intestinal parasites, salmonella and shigella among apparently health food handlers of Addis Ababa University student's cafeteria, Addis Ababa, Ethiopia. BMC research notes. 2015;8(1):1-6.

[2] Kadariya J, Smith TC, Thapaliya D. Staphylococcus aureus and staphylococcal food-borne disease: an ongoing challenge in public health. BioMed research international. 2014;2014.

[3] Alizadeh Behbahani B, Falah F, Vasiee A, Tabatabaee Yazdi F. Control of microbial growth and lipid oxidation in beef using a Lepidium perfoliatum seed mucilage edible coating incorporated with chicory essential oil. Food Science & Nutrition. 2021;9(5):2458-67.

[4] Dhama K, Rajagunalan S, Chakraborty S, Verma A, Kumar A, Tiwari R, et al. Food-borne pathogens of animal origin-diagnosis, prevention, control and their zoonotic significance: a review. Pakistan journal of biological sciences: PJBS. 2013;16(20):1076-85.

[5] Bidaisee S, Macpherson CN. Zoonoses and one health: a review of the literature. Journal of parasitology research. 2014;2014.

[6] Heredia N, García S. Animals as sources of food-borne pathogens: A review. Animal nutrition. 2018;4(3):250-5.

[7] Barzegar H, Behbahani BA, Mehrnia MA. Quality retention and shelf life extension of fresh beef using Lepidium sativum seed mucilage-based edible coating containing Heracleum lasiopetalum essential oil: an experimental and modeling study. Food Science and Biotechnology. 2020;29(5):717-28.

[8] Kiarsi Z ,Hojjati M, Behbahani BA, Noshad M. In vitro antimicrobial effects of Myristica fragrans essential oil on foodborne pathogens and its influence on beef quality during refrigerated storage. Journal of Food Safety. 2020;40(3):e12782.

[9] Guerra MMM, de Almeida AM, Willingham AL. An overview of food safety and bacterial foodborne zoonoses in food production animals in the Caribbean region. Tropical animal health and production. 2016;48(6):1095-108.

[10] Abunna F, Abriham T, Gizaw F, Beyene T, Feyisa A, Ayana D ,et al. Staphylococcus: isolation, identification and antimicrobial resistance in dairy cattle farms, municipal abattoir and personnel in and around Asella, Ethiopia. Journal of Veterinary Science & Technology. 2016;7(6):1-7.

[11] Kebede T, Afera B, Taddele H, Bsrat A. Assessment of bacteriological quality of sold meat in the butcher shops of Adigrat, Tigray, Ethiopia. Applied Journal of Hygiene. 2014;3(3):38-44.

[12] Hemalata V, Virupakshaiah D. Isolation and identification of food borne pathogens from spoiled food samples. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 2016;5(6):1017-25.

[13] Alizadeh Behbahani B, Shahidi F. Melissa officinalis essential oil: Chemical compositions, antioxidant potential, total phenolic content and antimicrobial activity. Nutrition and Food Sciences Research. 2019;6(1):17-25.

[14] Yazdi FT, Behbahani BA. Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic Teucrium polium L. extracts on gram positive and gram negative bacteria "in vitro". Archives of Advances in Biosciences. 2013;4(4):56-62.

[15] Yeganegi M, Yazdi FT, Mortazavi SA, Asili J, Behbahani BA, Beigbabaei A. Equisetum telmateia extracts: Chemical compositions, antioxidant activity and antimicrobial effect on the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection. Microbial pathogenesis. 2018;116:62-7.

[16] Tanavar, H., Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B., & Mehrnia, M. A. (2021). Investigation of the chemical properties of Mentha pulegium essential oil and its application in Ocimum basilicum seed mucilage edible coating for extending the quality and shelf life of veal stored in refrigerator (4° C). Food Science & Nutrition, 9(10), 5600-5615.

[17] Nasir B, Khan AU, Baig MW, Althobaiti YS, Faheem M, Haq I-U. Datura stramonium Leaf Extract Exhibits Anti-inflammatory Activity in CCL4-Induced Hepatic Injury Model by Modulating Oxidative Stress Markers and iNOS/Nrf2 Expression. BioMed Research International. 2022;2022.

[18] Arage M, Eguale T, Giday M. Evaluation of Antibacterial Activity and Acute Toxicity of Methanol Extracts of Artemisia absinthium, Datura stramonium, and Solanum anguivi. Infection and Drug Resistance. 2022;15:1267-76.

[19] Musinguzi A, Mwasiagi J, Nzila C, Nibikora I. Antibacterial efficacy of the aqueous and ethanolic extracted dyes from Datura stramonium, Racinus communis, and Galinsoga parviflora plant leaves. Advances in Phytochemistry, Textile and Renewable Energy Research for Industrial Growth: CRC Press; 2022. p. 94-102.

[20] Yazdi, F. T., Alizadeh Behbahani B, Vasiee, A., Mortazavi, S. A., & Yazdi, F. T. (2015). An investigation on the effect of alcoholic and aqueous extracts of Dorema aucheri (Bilhar) on some pathogenic bacteria in vitro. Archives of Advances in Biosciences, 6(1): 58-64

[21] Alizadeh Behbahani B, Yazdi FT, Mortazavi A, Zendeboodi F, Gholian MM & Vasiee, A. Effect of aqueous and ethanolic extract of Eucalyptus camaldulensis L on food infection and intoxication microorganisms "in vitro". Archives of Advances in Biosciences. 2013;4(3): 89-99.

[22] Alizadeh Behbahani B, Shahidi F, Yazdi FT, Mohebbi M. Antifungal effect of aqueous and ethanolic mangrove plant extract on

pathogenic fungus" in vitro". International Journal of Agronomy and Plant Production. 2013;4(7):1652-8.

[23] Alizadeh Behbahani B Yazdi, F. T., Mortazavi, A., Gholian, M. M., Zendeboodi, F., & Vasiee, A. (2014). Antimicrobial effect of Carboxy Methyl Cellulose (CMC) containing aqueous and ethanolic Eucalyptus camaldulensis L. leaves extract against Streptococcus pyogenes, Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus epidermidis. Archives of Advances in Biosciences, *5*(2): 59-69.

[24] Noshad M, Alizadeh behbahani B. Evaluation of the effect of aqueous and ethanolic extraction methods on the antioxidant and antimicrobial characteristics of Lippia citriodora extract. Journal of food science and technology(Iran). 2021;18(118):273-83.

[25] Eftekhar F, Yousefzadi M, Tafakori V. Antimicrobial activity of Datura innoxia and Datura stramonium. Fitoterapia. 2005;76(1):118-20.

[26] Waza SA ,Anthony P, Dar S. Phytochemical analysis, antioxidant and antimicrobial activities of methanolic extract of Datura Stramonium seeds. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 2015;6(7):3021.

[27] Sharma RA, Sharma P, Yadav A. Antimicrobial screening of sequential extracts of Datura stramonium L. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2013;5(2):401-4.

[28] Julius O, Oluwasusi V, Ibyemi M. Antibacterial and Phytochemical Screening of Crude Extracts of Leaves and Seeds of Datura stramonium. South Asian Journal of Research in Microbiology. 2018;2(1):1-7.

[29] Gaire BP, Subedi L. A review on the pharmacological and toxicological aspects of Datura stramonium L. Journal of integrative medicine. 2013;11(2):73-9.

[30] Noshad M, Alizadeh Behbahani B, Jooyandeh H, Rahmati-Joneidabad M, Hemmati Kaykha ME, Ghodsi Sheikhjan M. Utilization of Plantago major seed mucilage containing Citrus limon essential oil as an edible coating to improve shelf-life of buffalo meat under refrigeration conditions. Food Science & Nutrition. 2021;9(3):1625-39.

[31] Sureshjani MH, Yazdi FT, Mortazavi SA, Behbahani BA, Shahidi F. Antimicrobial effects of Kelussia odoratissima extracts against food borne and food spoilage bacteria" in vitro. Journal of Paramedical Sciences. 2014;5(2):115-20.

[32] Falah F, Shirani K, Vasiee A, Yazdi FT, Behbahani BA. In vitro screening of phytochemicals, antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activity of Echinops setifer extract. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2021;35:102102.

[33] Heydari S, Jooyandeh H, Alizadeh Behbahani B, Noshad M. The impact of Qodume Shirazi seed mucilage-based edible coating containing lavender essential oil on the quality enhancement and shelf life improvement of fresh ostrich meat: An experimental and modeling study. Food Science & Nutrition. 2020;8(12):6497-512.

[34] Jalil Sarghaleh S, Alizadeh Behbahani B, Hojjati M, Vasiee A, Noshad M. Evaluation of the constituent compounds, antioxidant, anticancer and antimicrobial potential of Prangos ferulacea plant extract and its effect on Listeria monocytogenes virulence genes expression. Frontiers in Microbiology.14:1202228.

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Antimicrobial activity of *Datura stramonium* ethanolic extract on some pathogenic bacteria causing infection and food poisoning *in vitro*

Mohammad Noshad[*1], Behrooz Alizadeh Behbahani[1]

1- Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

ABSTRACT

Datura stramonium is well known as a valuable drug in many diseases including inflammation, wounds, fever and toothache, and its extract has significant antimicrobial activity. Therefore, this study was performed to isolate the ethanolic extract of *D. stramonium* leaves and to investigate its antimicrobial activity. In this study, *D. stramonium* extract was obtained using the maceration method. Antimicrobial methods of disk diffusion agar, well diffusion agar, minimum inhibitory concentration, and minimum bactericidal concentration were used to determine the antibacterial activity of ethanolic extract of *D. stramonium* leaves against *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus cereus*. The antimicrobial activity of the extract was concentration dependent and the highest diameter of growth inhibition zone was observed at a concentration of 60 mg/ml of the extract. According to disk diffusion agar and well diffusion agar tests, *S. aureus* and *S. typhimurium* had the highest and lowest diameter of growth inhibition zones, respectively. The minimum inhibitory concentrations for *E. coli*, *S. typhimurium*, *S. aureus* and *B. cereus* were 16, 16, 8 and 8 mg/ml, respectively, and the minimum bactericidal concentrations for these bacteria were 256, 256, 64, and 128 mg/ml, respectively. In general, Gram-positive bacteria were more sensitive to the extract than Gram-negative types. Ethanolic extract of *D. stramonium* leaves can be used as a natural antimicrobial agent to prevent the growth of pathogenic bacteria and treat related diseases.

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 2023/7/15
Accepted: 2023/8/22

Keywords:

Datura stramonium;

Ethanolic extract;

Foodborne diseases;

Antimicrobial activity;

Natural preservative.

DOI: 10.22034/FSCT.20.142.161
DOR:20.1001.1.20088787.1402.20.142.10.0

*Corresponding Author E-Mail:
Noshad@asnrukh.ac.ir