بررسی اثر ضدباکتریایی روغن کرچک روی برخی از بیماری‌زاهای غذایی با تکیه بر ارزیابی مقایسه‌ای ترکیبات

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

۱- دانش آموخته، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران
۲- استادیار، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران
۳- دانشیار، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران
*نویسنده مسئول مکاتبات: eng.s.hatami@gmail.com

(دریافت مقاله: ۹۳/۶/۱۶ پذیرش نهایی: ۹۴/۱۱/۱۱)

چکیده

ترکیبات مشتق‌شده از گیاهان، طی قرن‌ها به‌دلیل داشتن فعالیت ضدمیکروبی، استفاده‌های دارویی داشته‌اند. در این پژوهش اثر ضدباکتریایی روغن کرچک دو واریته اصفهان و مشهد روی *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا کولای* و *لیستریا اینوکوآ* مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور از روش انتشار دیسک و کمترین غلظت بازدارندگی (MIC) و کشندگی (MBC) به‌روش براث میکرودایلوشن استفاده شد. روغن کرچک توسط دستگاه سوکسله با حلال نرمال هگزان استخراج و به‌وسیله دستگاه GC/MS مورد تحلیل قرار گرفت. براساس رقت‌های تهیه شده، MIC روغن‌های کرچک روی باکتری‌های مورد آزمایش بین ۲۵-۱۲/۵٪ بود، به‌غیر از روغن کرچک واریته اصفهان که روی *اشریشیا کولای* بین ۱۲/۵-۶/۲۵٪ برآورد شد. در آزمون MBC، هر دو واریته در غلظت ۱۰۰٪ موجب غیرفعال شدن باکتری‌ها شدند. بر مبنای تجزیه و تحلیل GC/MS، بیشترین مقدار اولئیک اسید مربوط به روغن کرچک واریته اصفهان بود. هم‌چنین ریسینویئک اسید به مقدار ۱/۳۰۷٪، جنتیسیک اسید ۰/۵۹۷٪ و پالمیتیک اسید ۱/۹۴۹٪، که در روغن کرچک واریته اصفهان موجود، اما روغن کرچک واریته مشهد فاقد این ترکیبات بود. بر اساس نتایج مطالعه، روغن هر دو واریته کرچک بیشترین اثر ضدباکتریایی را روی *اشریشیا کولای* داشتند، اما در مجموع خاصیت ضدباکتریایی واریته اصفهان در مقایسه با واریته مشهد قوی‌تر برآورد شد. به‌نظر می‌رسد، وجود ترکیبات فنلی، کامفوری و اسیدهای چرب غیراشباع از مهم‌ترین عوامل بازدارندگی بیشتر روغن کرچک واریته اصفهان روی *اشریشیا کولای* می‌باشد. با توجه به خاصیت ضدمیکروبی روغن کرچک، می‌توان از این ترکیب به‌عنوان یک نگه‌دارنده و آنتی‌بیوتیک طبیعی در صنایع غذایی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: روغن کرچک، حداقل غلظت بازدارندگی، حداقل غلظت کشندگی، انتشار دیسک

مقدمه

روغن‌ها و چربی‌ها به‌صورت گسترده و به‌عنوان ماده خام در غذاها، محصولات آرایشی و بهداشتی، صنایع داروسازی، تولید صابون و محصولات دیگر به کار می‌روند. روغن‌های دارای خواص آنتی‌باکتریال، در حوزه نگه‌داری و فرایند مواد غذایی، برای درمان جراحت‌ها، فرمولاسیون کرم‌ها و لوسیون‌ها جهت درمان بیماری‌های پوستی مفید می‌باشند. روغن‌های گیاهی در عین مایع بودن از مقاومت بیشتری برخوردار بوده و نسبت به اکسیداسیون پایدار هستند (Bauchart, 1993). مزیت استفاده از روغن‌های گیاهی حاوی اسید اولئیک بالا در صنایع بهداشتی و آرایشی به‌علت این است که نسبت به حرارت پایدارتر بوده و کمتر حالت روغن و چربی به دنبال استعمال حس می‌شود (Manpree *et al*., 2012). هم‌چنین این روغن‌ها به‌علت داشتن مواد فعال فنولی، آلکالوئیدی و اسیدهای چرب غیراشباع دارای خواص آنتی‌باکتریایی بالا هستند و در صنایع داروسازی و به‌عنوان نگه‌دارنده طبیعی در صنایع غذایی مورد اسقبال زیادی قرار گرفته است.

روغن کرچک خوراکی در صنایع غذایی، در افزودنی‌های مواد غذایی، طعم‌دهنده‌ها، به‌عنوان یک مهارکننده غالب و در بسته‌بندی‌ها استفاده می‌شود. در هند، پاکستان، نپال و بنگلادش، کرچک، برنج، گندم و حبوبات را از پوسیدن حفظ و متوقف می‌کند که می‌تواند به‌عنوان یک روغن ارزان قیمت و حاوی اسید اولئیک بالا، رقیب خوبی برای روغن زیتون و .. در صنعت باشد (Jitendra and Ashish Kumar, 2012).

با توجه به اثرات مضر نگه‌دارنده‌های شیمیایی، مصرف‌کنندگان و تولیدکنندگان مواد غذایی، خواهان استفاده از نگه‌دارنده‌های طبیعی نظیر اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی می‌باشند که علاوه بر افزایش زمان ماندگاری غذا از اثرات نامطلوب نگه‌دارنده‌های شیمیایی در امان باشند (Kushwah and Sing, 2012).

بیشتر پژوهش ها وتحقیقاتی که تا به حال روی روغن ها از جمله کرچک و زیتون انجام شده روی فعالیت آنتی اکسیدانی آنها بوده، وتحقیقات بسیار اندکی در زمینه فعالیت ضد باکتریایی این روغنها انجام شده است.

مامو و همکاران (۲۰۱۲) اثر ضدباکتریایی اسانس دانه کرچک روی ۲۰ میکروارگانیسم گرم مثبت و منفی و ٦ گونه قارچ را بررسی و به این نتیجه رسیدند که حداقل غلظت بازدارندگی اسانس کرچک روی باکتری‌ها بین (۱۲/۵–٦/۲۵) میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و روی قارچ‌های مورد مطالعه (۲۵–۱۲/۵) میلی‌گرم بر میلی لیتر می‌باشد (Momoh *et al*., 2012). طبق پژوهش‌های زارایی و همکاران (۲۰۱۲)، حداقل غلظت بازدارندگی روغن دانه کرچک واریته نیجریه روی *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سوبتیلیس* و *سودوموناس ائروژینوزا* بین (۳۰۰–۱۲۰) میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد (Zarai *et al*., 2012).

بی‌تردید شرایط اقلیمی و آب و هوایی بر چگونگی رشد گیاه کرچک و به‌دنبال آن میزان ترکیبات مختلف گیاه تاثیرپذیر می‌باشد (Oqunniyi, 2006). هم‌چنین بکارگیری جذب نوری برای تعیین اثرات بازدارندگی و کشندگی روغن کرچک به همراه عدم وجود اطلاعات در خصوص اثرات بازدارندگی روغن کرچک واریته (اصفهان و مشهد) روی برخی باکتری‌ها مانند *لیستریاینوکوآ* از جنبه‌های نوآورانه این تحقیق می‌باشد.

بر این اساس در این پژوهش از دو نوع واریته روغن کرچک با دو شرایط آب و هوایی متفاوت استفاده و ترکیبات آنها توسط دستگاه GC/MS آنالیز شد. هدف از انجام این پژوهش بررسی آنالیز ترکیب شیمیایی و خواص ضدباکتریایی روغن کرچک (واریته اصفهان و مشهد) روی پاتوژن‌های شاخص غذایی و مقایسه روغن‌های مورد آزمون با آنتی‌بیوتیک‌های (اریترومایسین، جنتامایسین و کلرامفنیکل) است.

مواد و روش‌ها

تهیه دانه کرچک دو واریته

دانه کرچک مشهد از استان خراسان رضوی شهر مشهد با کد هرباریوم ۱۲۹۱۵ و دانه کرچک اصفهان از استان اصفهان بخش بن رود رودشت شرقی روستای کفران با کد هرباریوم ۱۲۹۱٦ در فصل پاییز جمع‌آوری شد. اصالت دانه‌ها به همراه نام علمی آنها توسط پژوهشکده گیاه‌شناسی دانشگاه فردوسی مشهد مورد تایید قرار گرفت.

استخراج روغن دانه کرچک

ابتدا۵۰۰ گرم از دانه کرچک دو واریته جداگانه با آسیاب پودر و با حلال نرمال هگزان ۹۸ درصد به مدت ٤ ساعت توسط ابزار سوکسله استخراج گردید. روغن استخراج شده در بشرهای استریل ریخته شد سپس در کپسول چینی قرار گرفت تا کاملاً حلال از روغن جدا شد (Momoh *et al*., 2012).

آنالیز روغن‌های مورد آزمون با استفاده از دستگاه‌های GC و GC/MS

ترکیب‌های موجود در روغن‌ها با استفاده از دستگاه‌های گاز کروماتوگراف (GC) و گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) با گاز کروماتوگراف مدل (Agilent Technologies 7890A) و کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی با مدل (Agilent Technologies 5975 C inert MSD) مجهز به ستون (HP-5 5% phenyl methyl silox 325c°) دمای آون ٦۰ تا ۲۹۰ درجه سلسیوس با دامنه ۵ درجه سلسیوس بر دقیقه و دمای تزریق۲۸۰ درجه سلسیوس، نسبت اختلاط ۱ به ۲۰، نوع تزریق اسپلیت با گاز حامل هلیم با سرعت ۳ میلی‌لیتر بر دقیقه شناسایی شدند. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص‌های بازداری آنها با تزریق هیدروکربن‌های نرمال (C7-C25) تحت شرایط یکسان با تزریق روغن‌ها صورت گرفت و با مقادیری که در منابع مختلف منتشر گردیده بود مقایسه شد. علاوه بر اندیس‌های بازداری کوانس، زمان بازداری ترکیب‌ها نیز مورد توجه قرارگرفت و بررسی طیف‌های جرمی نیز جهت شناسایی ترکیب‌ها انجام گرفت و شناسایی‌های صورت گرفته با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه Database/ Wiley7n.1 در کامپیوتر GC/MS تأئید گردید. درصد نسبی هر کدام از ترکیب‌های تشکیل‌دهنده روغن‌ها با توجه به سطح زیر منحنی آن در طیف کروماتوگرام به‌دست آمد (Zarai *et al*., 2012).

میکروارگانیسم‌های مورد آزمون

در این پژوهش از میکروارگانیسم‌های پاتوژن، *لیستریا اینوکوآ* (ATCC 33090)، *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 25923) و *اشریشیاکلی* (ATCC25922) از بخش باکتری‌شناسی دانشکده کشاورزی، علوم و صنایع غذایی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه گردید.

فعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها

ابتدا کشت‌های نگه‌داری شده در ۸۰- درجه سلسیوس به محیط آبگوشت BHI منتقل و به مدت ۱۸-۱۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری گردید. سپس در محیط کشت شیب‌دار مجددا تلقیح و جهت استفاده در طول آزمایش در یخچال ٤ درجه سلسیوس نگه‌داری شد. برای تهیه میزان تلقیح باکتری‌ها از روش سنجش نوری با استفاده از اسپکتروفتومتر استفاده شد. یک لوپ از سویه میکروبی مورد نظر تحت شرایط استریل به ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل جهت تهیه سوسپانسیون منتقل، سپس تا هنگام برابر شدن دانسیته نوری آن با محلول استاندارد ۰/۵ مک فارلند توسط آب مقطر استریل رقیق شد (Akhondzadeh *et al*., 2003).

تعیین کمترین غلظت بازدارندگی

حداقل غلظت بازدارندگی براساس روش میکروبراث دایلوشن تعیین گردید. روغن‌ها در دامنه غلظت سریالی ۱۰۰ تا ۰/۱۹۵ درصد مورد آزمون قرار گرفتند. به منظور اختلاط کامل روغن و محیط کشت مولرهینتون براث (مرک آلمان)، ۰/۵ درصد وزنی توین ۸۰ (مرک آلمان) به روغن اضافه و توسط دستگاه اولتراتوراکس مدل T25 basic LKA به‌مدت ٦ دقیقه به‌طور کامل همگن شد. به هر یک از چاهک‌های میکروپلیت ۹٦ خانه‌ای به‌غیر از چاهک شماره ۱۲ که کنترل منفی است، ۰/۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی با شمارش cfu/ml $۱/۵ \times ۱۰^{۸}$ اضافه و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به‌مدت یک شبانه روز گرمخانه‌گذاری گردید و سپس کدورت آن توسط دستگاه الایزاریدر ELX808 در طول موج ٦۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. به‌منظور آماده‌سازی نمونه شاهد (به‌منظور حذف میزان جذب سایر ترکیبات به‌جز تعداد میکروارگانیسم‌ها و هم‌چنین محاسبه محدوده MIC روش ذکر شده بالا به جز افزودن میکروارگانیسم‌ها به‌طور دقیق در دو تکرار انجام شد. برای تعیین MIC به آن ۵۰ میکرولیتر معرف TTC با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در هر چاهک اضافه و سپس به‌مدت ۳ ساعت دوباره درون انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد. یک غلظت بالاتر از آخرین غلظتی که رنگ قرمز تترازولیوم به خود گرفته بود به‌عنوان MIC عصاره در نظر گرفته شد (Hatami *et al*., 2014).

تعیین کمترین غلظت کشندگی

برای تعیین کمترین غلظت کشندگی، از غلظت‌های فاقد کدورت در آزمون MIC، بروی محیط کشت نوترینت آگار عمل کشت صورت گرفته و اولین غلظتی که در آن رشد باکتری مشاهده نشود به‌عنوان MBC تعیین می‌گردد. بدین منظور ۱۰ میکرولیتر از غلظت‌های فاقد کدورت میکروپلیت انتخاب و به پلیت‌های حاوی محیط کشت نوترنیت آگار در شرایط استریل منتقل شد. پلیت‌ها به طور وارونه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به‌مدت یک شبانه روز تحت گرمخانه‌گذاری قرار گرفته و پلیتی که در آن هیچ میکروارگانیسمی رشد نکرد به‌عنوان MBC تعیین شد (Moreire *et al*., 2005).

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 پلیت‌های حاوی محیط کشت مولرهینتون آگار (مرک المان) عمل کشت انجام شد. دیسک‌های کاغذی

با قطر ٦ میلی‌متر ساخت شرکت سیگما حاوی ۱۰۰ میکرولیتر از روغن‌های مورد مطالعه روی پلیت‌ها منتقل و به مدت ٢٤ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری گردید. پس از گرمخانه‌گذاری، قطرهاله مهار رشد مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (Manik *et al.*, 2013).

تعیین قطر هاله آنتی‌بیوتیک (کنترل مثبت)

دیسک‌های آنتی‌بیوتیک (جنتامایسین، اریترومایسین و کلرامفنیکل) به‌ترتیب حاوی ۱۰، ۱۵ و ۳۰ میکروگرم آنتی‌بیوتیک از لابراتوار پژوهشی و تولیدی رشد ایران تهیه گردید. پس از انتقال باکتری‌ها در پلیت های حاوی محیط کشت مولرهینتون آگار، آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین روی *لیستریاایتوکوآ*، جنتامایسین روی *استافیلوکوکوس اورئوس*، و کلرامفنیکل روی *اشرشیاکلی* به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. هم‌چنین اثر بازدارندگی این آنتی‌بیوتیک‌ها با روغن‌های مورد آزمون مورد مقایسه قرار گرفت (Momoh *et al.*, 2012).

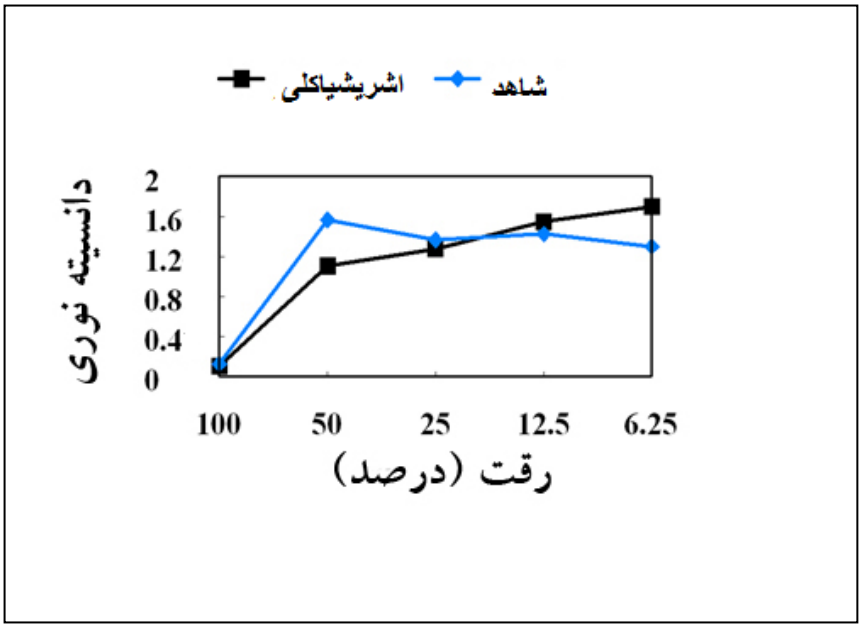
این مطالعه نیاز به آنالیز آماری مشخص ندارد، بلکه از طریق مقایسه کدورت کشت‌های انجام شده محدوده اثر ضد باکتریایی روغن بر باکتری‌ها تعیین می‌شود.

یافته‌ها

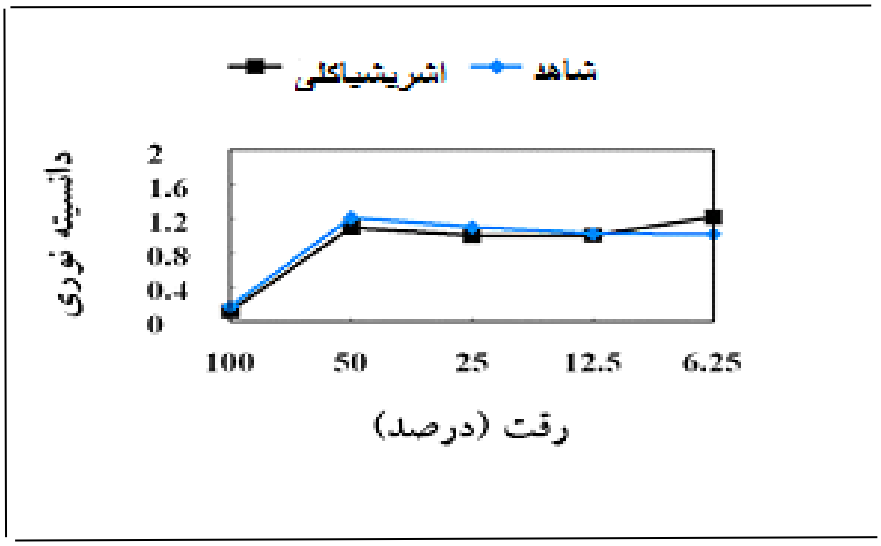
بعد از سه بار تکرار هر آزمون، از نتایج، میانگین و انحراف معیار گرفته، سپس گراف‌های تعیین محدوده MIC توسط نرم‌افزار اسلاید رایت رسم گردید. گراف‌های رسم‌شده، بر اساس محل تلاقی نمودار کدورت مربوط به تیمار (میکروارگانیسم، روغن و محیط کشت) با نمودار کدورت مربوط به شاهد (روغن و محیط کشت) محدوده اثر ضدباکتریایی روغن‌های مورد نظر را مشخص می‌کنند.

تعیین محدوده کمترین غلظت بازدارندگی (MIC) روغن‌های دانه کرچک دو واریته به روش براث میکرودایلوشن

بر اساس تجزیه و تحلیل نمودارهای رسم‌شده، محدوده کمترین غلظت بازدارندگی روغن‌های دو واریته دانه کرچک روی پاتوژن‌های مورد آزمون بین ۲۵-۱۲/۵ درصد بود که در نمودار (۱)، نمونه‌ای از نمودارهای رسم شده آورده شده است البته لازم به ذکر است که محدوده کمترین غلظت بازدارندگی روغن کرچک واریته اصفهان روی *اشریشیا کلی* ۱۲/۵-٦/۲۵ درصد بود.



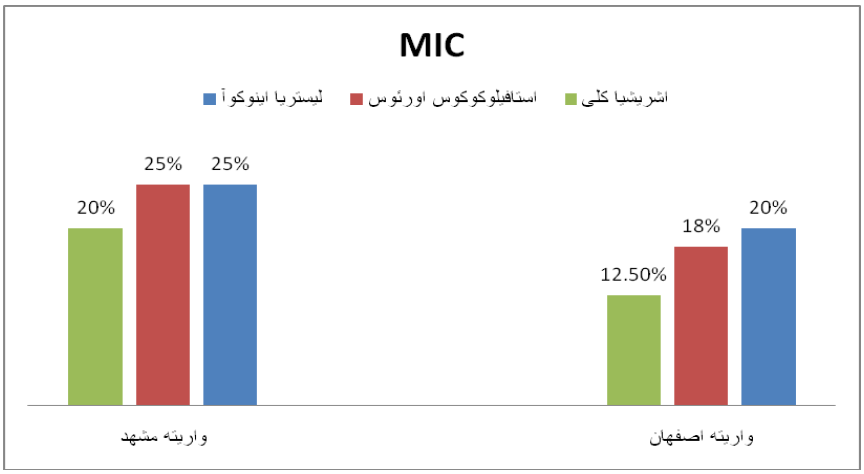
نمودار (۱)– محدوده کمترین غلظت بازدارندگی روغن کرچک واریته مشهد روی *اشریشیاکلی*



نمودار (۲)– محدوده کمترین غلظت بازدارندگی روغن کرچک واریته اصفهان روی *اشریشیاکلی*

بر اساس نتایج تعیین حداقل غلظت بازدارندگی به روش افزودن معرف (TTC)، حداقل غلظت بازدارندگی روغن دانه کرچک واریته مشهد و اصفهان روی *لیستریا اینوکوآ*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* ۲۵ درصد بود. به غیر از روغن کرچک واریته اصفهان روی *اشرشیاکلی* که ۱۲/۵درصد مشاهده شد. به این ترتیب نتایج محدوده حداقل غلظت بازدارندگی به‌روش جذب نوری و رسم گراف بسیار دقیق‌تر از نتایج افزودن

معرف می‌باشد. بر این اساس روغن‌های دو واریته دانه کرچک خاصیت بازدارندگی روی پاتوژن‌های مورد آزمون داشتند اما روغن کرچک واریته اصفهان خاصیت ضدباکتریایی قوی‌تری روی باکتری گرم منفی *اشریشیاکلی* از خود نشان داد (نمودار ۳).



نمودار (۳)- مقایسه اثر ضد باکتریایی روغن‌های دانه کرچک روی باکتری‌های مورد آزمون به روش افزودن معرف

طبق سه تکرار انجام شده آزمایش، قدرت کشندگی روغن‌های کرچک روی پاتوژن‌های مورد آزمون فقط در غلظت ۱۰۰درصد مشاهده شد.

طبق جداول (۱) و (۲) بیشترین قطر هاله مهار رشد در دو غلظت ۱۰۰ و ۵۰ درصد مربوط به روغن کرچک واریته مشهد روی *لیستریا اینوکوآ* بود.

جدول (۱)- اثر نوع روغن برمیانگین قطر هاله مهار رشد بر حسب میلی‌متر در غلظت ۱۰۰ درصد

روغن کرچک واریته	*لیستریا اینوکوا*	*استافیلوکوکوس اورئوس*	*اشرشیاکلی*
اصفهان	۱۰mean±SD	۷/۵mean±SD	۷mean±SD
مشهد	۱۱mean±SD	۸ mean±SD	۹mean±SD

جدول (۲)- اثر نوع روغن بر قطر هاله مهار رشد در غلظت ۵۰ درصد

روغن کرچک واریته	***لیستریا اینوکوا***	***استافیلوکوکوس اورئوس***	***اشرشیاکلی***
اصفهان	۷ mean±SD	۷/۵ mean±SD	۷/۵mean±SD
مشهد	۱۰mean±SD	۷/۵ mean±SD	۷ mean±SD

نتایج مربوط به تاثیر سه آنتی‌بیوتیک مورد مطالعه روی سویه‌های میکروبی مورد آزمون در جدول (۳) آورده شده است.

جدول (۳)- اثر نوع آنتی‌بیوتیک روی قطر هاله مهار رشد (میلی‌متر)

آنتی بیوتیک	*لیستریا اینوکوآ*	*استافیلوکوکوس اورئوس*	*اشرشیاکلی*
اریترومایسین(۱۵µg)	۱۲	-	-
جنتامایسین (۱۰µg)	-	۲۲	-
کلرامفنیکل (۳۰µg)	-	-	۳۰

با توجه به جدول ۳ بیشترین قطر هاله مربوط به آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل روی *اشرشیاکلی* با قطر هاله ۳۰mm و کمترین قطر هاله با ۱۲ mm مربوط به آنتی‌بیوتیک اریترومایسین روی *لیستریااینوکوآ* می‌باشد.

نتایج شناسایی وآنالیز ترکیبات روغن‌های دانه دو واریته کرچک توسط دستگاه GC/MS

جدول (٤)- مهمترین ترکیبات موجود در روغن کرچک واریته اصفهان

ردیف	نام ترکیب	شکل ملکولی	ترکیب اصلی	تاثیرات	درصد
۱	اولئیک اسید	C18H34O2	اسید چرب غیر اشباع	ضد مخمر-ضد قارچ ضد سرطان-	۳٦/٥٨۳
۲	۱-سیانو،٤ - (٥-هگزنیل) بنزن	C13H15N		ضد سرطان	۱۲/٤۳
۳	لینولئک اسید	C18H32O2	اسید چرب غیر اشباع	ضد مخمر-ضد قارچ ضد سرطان-ضد باکتری	۹/٤۸۹
٤	٥-اتیل٤، ٦-دی متیل-۲-	C9H14N2O		ضد باکتری-ضد قارچ	۹/۰۰٦
٥	لینولئک اسید متیل استر	C19H34O2	استر	ضد باکتری	۲/۰٥۹
٦	پالمتیک اسید	C16H32O2	اسید چرب	آنتی اکسیدان	۱/۹٤۹
۷	ریسینوئیک اسید	C18H34O3	اسید چرب	ضد باکتری	۱/۳۰۷
۸	جنتیستیک اسید	C14H24O4SI2	اسید چرب		۰/٥۹۷

جدول (۵)- مهمترین ترکیبات موجود در روغن کرچک واریته مشهد

ردیف	نام ترکیب	شکل ملکولی	ترکیب اصلی	تاثیرات	میزان درصد
۱	اولئیک اسید	C18H34O2	اسید چرب غیر اشباع	ضد مخمر-ضد قارچ ضد سرطان-ضد باکتری	۲۰
۲	۵-اتیل٦،٤-دی متیل-۲-	C9H14N2O		ضد باکتری-ضد قارچ	۱۳/۸۱
۳	۹-اکتادسنوال	C18H34O	ترکیبات الدئیدی	ضد باکتری	۱۰/۳۳۳
٤	لینولئیک اسید	C18H32O2	اسید چرب غیر اشباع	ضد باکتری	۸/۹۰
۵	استر ریسونئیک اسید	C19H36O3	استر	ضد باکتری	٤/۲۹

بحث و نتیجه‌گیری

در این تحقیق روغن کرچک واریته ایران (اصفهان- مشهد) خاصیت بازدارندگی روی سه پاتوژن (*لیستریاایتوکوآ*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی*) ازخود نشان داد ولی روغن کرچک واریته اصفهان بازدارندگی بیشتری روی این سه پاتوژن مخصوصا روی *اشریشیاکلی* داشت. روغن دو واریته در غلظت ۱۰۰ درصد خاصیت کشندگی روی پاتوژن های مورد آزمون داشتند ودرآزمون انتشار دیسک روغن کرچک واریته مشهد با آنتی بیوتیک اریترومایسین توانست برابری کند.

بر اساس تحقیقات، طبق تحلیل GC/MS ترکیبات اصلی روغن دانه کرچک حاوی اسیدهای چرب غیراشباع اسید اولئیک اسید، لینولئیک اسید، پالمیتیک اسید، ریسونئیک اسید می‌باشد که همگی دارای اثر ضدباکتری، ضدقارچی و ضدسرطانی می‌باشند (Kalemba&Kunica, 2003). عصاره‌ها و روغن‌های حاصل از یک گونه گیاهی براساس جغرافیایی منطقه، فصل برداشت، مرحله رشد و... می‌تواند دارای ترکیبات متفاوت باشد (Lord *et al.*, 2003). در مطالعات حاتمی و همکاران (۲۰۱٤) عصاره آبی واریته اصفهان خاصیت بازدارندگی بیشتری روی باکتری *اشرشیاکلی* از عصاره آبی واریته مشهد داشت، آنها وجود ترکیبات اسیدهای چرب غیراشباع از جمله اسید رسیسنولیک و هم‌چنین ترکیبات آلکالوئیدی و فنلی بیشتری را در عصاره آبی کرچک واریته اصفهان نسبت دادند (Hatami *et al.*, 2014).

در پژوهش حاضر با توجه به نتایج جداول (٤) و (۵) GC/MS روغن کرچک واریته اصفهان حاوی اولئیک اسید، لینولیئک اسید، پالمیتیک اسید و ریسینوئیک اسید به‌ترتیب به میزان ۳٦/۵۸۳، ۹/٤۸۹، ۱/۹٤۹ و ۱/۳۰۷ درصد و ترکیبات روغن کرچک واریته مشهد اولئیک اسید به میزان ۲۰، لینولئیک اسید ۸/۹، ۹-اکتادسنوال ۱۰/۳۳ و استرهای ریسینوئیک اسید ٤/۲۹ درصد بود. این ترکیبات دارای اثرات ضدباکتری، ضدقارچ و ضدسرطان می‌باشند در واقع عملکرد بازدارندگی آن‌ها روی فعالیت پلیمرازی در میکروارگانیسم‌ها است

(Grossman *et al*., 2001). هم‌چنین ترکیباتی مانند پالمیتیک اسید به‌عنوان یک آنزیم لیپاز می‌تواند بر روی دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی که غشاء خارجی آن شامل لایه لیپوپلی ساکارید است مؤثر بوده و از این طریق دیواره سلولی را تخریب و مانع از تکثیر باکتری گرم منفی شوند (Mary Kenza and yasmin, 2011; Grossman *et al*., 2001) ترکیبات ریسینوئیکی و ریسینوئیک اسید نیز با مهار سنتز موکوپپتید دیواره سلولی میکروارگانیسم‌های گرم منفی، باعث از بین رفتن دیواره سلولی می‌شود (Oqunniyi, 2006).

طبق نتایج GC/MS، ترکیبات ذکرشده در روغن کرچک واریته اصفهان بیشتر از روغن کرچک واریته مشهد بود. این پدیده می‌تواند تاثیر بازدارندگی بیشتر روغن دانه کرچک واریته اصفهان را روی باکتری *اشرشیاکلی* در این مطالعه توجیه نماید. محصولات زمین‌های کشاورزی اصفهان به‌دلیل وجود آب‌های زاینده رود و شرایط اقلیمی خاص بسیار غنی و ارزشمند می‌باشند. نتیجه کلی اینکه می‌توان از روغن کرچک واریته اصفهان در صنایع داروسازی و هم‌چنین به عنوان یک نگه‌دارنده قوی در صنایع غذایی استفاده کرد. روغن کرچک واریته اصفهان حاوی اسید اولئیک بالایی است که می‌تواند یک جایگزین ارزان قیمت و عالی در نرم کننده‌ها و لوسیون‌ها در صنایع آرایشی به جای روغن‌های گران‌قیمت از جمله زیتون باشد.

منابع

- Akhondzadeh, A., Razavi, V., Misaghi, A., Abbasifar, R., Radmehr, B. and Khalighi, F. (2003). Effect of thyme essential oils on *Salmonella Typhimurium* in brain and heart broth. Journal of Medicinal plant, 8: 84-91.
- Bauchart, D. (1993). Lipid absorption and transport in ruminant, Journal of Dairy Science. 76: 3864-3881.
- Christy Jeyaseelan, E.P. and Justin Jashothan, P.T. (2012). Jushothan in vitro control of *staphylococcus aureus* (NC6571) and *Escherichia coli* (ATCC25922) by *Ricinus communis* L. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 12(4): 717-720.
- Grossman, S., Berman, M., Varshavsky, L. and Gottlieb, H.E. (2001). The antioxidant activity of aqueous *Spinacia oleracea* L. extract Chemical identification of active fractions. Journal of Phytochemistry, 58(4): 143-152.
- Hatami, S., Yavarmanesh, M. and Mohamadisani, A. (2014). Evaluation and comparison of the antibacterial effects of seed aqueous extract from *Ricinuscommunis* (two varieties) on food borne Pathogens. Journal of Food Sciences, 46(12): 89-96.
- Hussain, A.L., Anwer, F., Shahid, M., Ashraf, M. and Przybylski, R. (2010). Chemical composition, anticoidant and antimicrobial activities of essential oil of spearmint (*Menthaspicata* L*)* from Pakistan. Journal Essential Oil Resistance, 22: 78-84.
- Jitendra, J. and Ashish kumar, G. (2012). *Ricinus communis* L: A phytopharmacological review. International of pharmaceutical sciences, 4 (4): 24-29.
- Kalemba, D. and Kunika, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Journal of Medical Chemestry, 10: 813-29.
- Kushwah, P. and Sing, K.P. (2012). Antimicrobial Activities of *Ricinus communis* Againts some Human pathogens. Journal of Medical Plant, 3(7): 209-210.

- Lord, M.J., Jollife, N.A., Marsden, C.J., Pateman, C.S., Smith, D.C., Spooner, R.A., *et al*. (2003). Ricin Mechanisms of cytotoxity. Journal of EthropharmacolToxicol Rev, 22(1): 53-64.
- Manik, SH., Mohd Igbal, M., Mohd Yousf, M., Abrar, H., Showkat, H., Sumeerah, N., *et al*. (2013). Antimicrobial potential of various extracts of *Ricinus communis* l. Journal of product Plant Resour, 3(2): 72-75.
- Manpreet, R., Hitesh, D., Bharat, P. and SHivani, SH. (2012). *Ricinus communis* l- A Review. International Journal of tech research CODEN (usa): IJPRIF, 4(4): 1706-1711.
- Mary Kenza, V. and Syhed Yasmin, S. (2011). Phytochemical screening and antibacterial activity on *Ricinus communis* l. Plant Sciences Feed, 1(9): 167-173.
- Momoh, A.O., Oladunmoye, M.K. And Adebolu, TT. (2012). Evaluation of the antimicrobial and phytochemical properties of oil from Castor seeds (*Ricinus communis* l), Bulletin of Environment. Pharmacology and Life Sciences, 1(10): 21-27.
- Moreire, MR., Ponce, AG. and Roura, S.I. (2005). Inhibitory parameters of essential oil to reduce a food born pathogen. Food Science and Technology (LWT), 38: 565-570.
- Nasirpour, M., Yavarmanesh, M. and Mohamadisani, A. (2014). Antibacterial effect of agueous extract of *Artemisia aucheri*, *Artemisia sieberi* and *Hyssopus officinalis* L. on the food borne pathogenic bacteria, Journal of food sciences, 46(12): 73-84.
- Ogunniyi, DS. (2006). Castor oil: A vital industrial raw material. Journal of bioresource technol, 97: 1086-1091.
- San kar, G., Ramamoorthy, K., Sakkaravarthi, K. and Elavarsi, A. (2010). Romamoortny Antibactrial activity oh herbal extract on Patnogens isolated from the swollen hind gutof*p, Monodon* (fabricus). In Food and Chemical Toxicology, 1(3): 17-22.
- Zarai, Z., kadri, A., Chobba, IB., Ben Mansour, R., Bekir, A. and Gharsallah, N. (2012). Essetial oil of the leaves of *Ricinus communis* in vitro cytotoxicity and antimicrobial properties. Journal of Lipids in Health and Disease, 1: 2-7.

Antibacterial effects of castor oil on foodborne pathogens: comparative evaluation of the components

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

1-Former MSc Student, Young Researchers and Elite Club, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran
2- Assistand Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
3-Associate Professor, Young Researchers and Elite Club, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran
[*]Corresponding author email: eng.s.hatami@gmail.com
(Received: 2014/9/7 Accepted: 2016/1/31)

Abstract

For centuries, antimicrobial compounds derived from plants, have been used for medicinal treatment. The aim of this study was to evaluate the antibacterial activity of castor seed oil extracted from Mashhad and Isfahan varieties on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Listeria inocula*. The sensitivity of the indicator bacteria was evaluated using disc diffusion technique and minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were tested by broth micro-dilution assays. Oil from castor seeds was extract by Soxhlet method and the extracted oils were analyzed by a gas chromatograph connected to a mass spectrometer (GC/MS). According to the results of various dilutions of the extracts, MIC for castor oils ranged 12.5-25%, except for the Isfahan variety that was estimated at 6.25-12.5% for *E. coli*. The two varieties of castor oils showed the MBC activity on the indicator organisms at the original (100%) concentration. Based on GC/MS data, ricinoleic acid (1.307%), genetistic acid (0.597%) and palmitic acid (1.947%) were detected in oil extracted from Isfahan variety; meanwhile these compounds did not found in Mashhad variety. According to the results, the two castor varieties had antibacterial impact on *E. coli*. In addition, the overall antimicrobial activity of Isfahan variety was higher than Mashhad type. It seems that the presence of phenolic compounds as well as camphoric and unsaturated fatty acids is the major reason for the higher antibacterial effect of Isfahan variety on *E. coli*. Considering the inhibitory impact of castor oil, it can be used as a natural preservative in food industry.

Key words: Oil castor from *Ricinus Communis L*, Minimum Inhibitory Concentration, Minimum Bactericidal Concentration, Disc diffusion