بررسی فعالیت ضدمیکروبی اسانس رازیانه بر تعدادی از ریزاندامگان عامل عفونت و مسمومیت غذایی و برهمکنش آن با آنتی‌بیوتیک کانامایسین

بهروز علیزاده بهبهانی[1*]، محمد نوشاد[1]، فرشته فلاح[2]

۱- استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
۲- دانشجوی دکتری، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۵/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۷/۲۰)

چکیده

اخیرا، استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی و سنتزی برای کنترل رشد ریزاندامگان بیماری‌زا به طور چشم‌گیری کاهش یافته است. امروزه، اسانس‌های روغنی به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در نظر گرفته می‌شوند. رازیانه یکی از گیاهان دارویی معطر می‌باشد که می‌توان از آن به عنوان یک نگهدارنده طبیعی استفاده کرد. در این پژوهش، برای بررسی فعالیت ضدمیکروبی اسانس رازیانه بر تعدادی از ریزاندامگان عامل عفونت و مسمومیت غذایی (*اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *کاندیدا آلبیکنس*) از روش‌های دیسک دیفیوژن آگار (کربی-بوئر)، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی استفاده شد. برهمکنش اسانس رازیانه با آنتی‌بیوتیک کانامایسین نیز بررسی شد. نتایج آزمون‌های دیسک دیفیوژن آگار و چاهک آگار نشان داد که حساسترین باکتری با بیشترین قطر هاله عدم رشد نسبت به سایر ریزاندامگان بیماری‌زا، *استافیلوکوکوس اورئوس* بود. برهمکنش اسانس رازیانه با آنتی-بیوتیک کانامایسین برای باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کلی* به صورت اثر سینرژیستی مشاهده شد. حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس رازیانه برای *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیا کلی* و *کاندیدا آلبیکنس* به ترتیب ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. به طور کلی می‌توان بیان کرد که اسانس رازیانه در شرایط برون تنی به خوبی توانست از رشد *اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *کاندیدا آلبیکنس* جلوگیری نماید.

کلید واژگان: اسانس رازیانه، آنتی‌بیوتیک کانامایسین، شرایط برون تنی، نگهدارنده‌های سنتزی.

*مسئول مکاتبات: B.alizadeh@asnrukh.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]

۱- مقدمه

ایمنی و سلامت محصولات غذایی و همچنین افزایش عمرانبارمانی آن‌ها از گذشته تاکنون یکی از دغدغه‌های مهم جوامع انسانی بوده است. در طول سالیان اخیر وقوع بیمارهای ناشی از عفونت و مسمومیت غذایی نه تنها در کشورهای فقیر و توسعه نیافته، بلکه در کشورهای پیشرفته و توسعه یافته نیز با وجود استانداردهای بهداشتی بالا رو به فزونی نهاده است. آمار دقیقی جهت تعیین تعداد افرادی که سالیانه از بیماری‌های ناشی از مواد غذایی آلوده به ریزاندامگان بیماری‌زا رنج می‌برند وجود ندارد، زیرا گزارش‌های اعلام نشده متعددی در این زمینه وجود دارد که ثبت نمی‌گردند [۱].

جهت افزایش عمرانبارمانی محصولات غذایی، امروزه از نگهدارنده‌های مجاز استفاده می‌شود. با پیشرفت علوم مختلف و افزایش اطلاعات مصرف‌کنندگان درباره عوارض جانبی و نامطلوب نگهدارنده‌های شیمیایی بر سلامت انسان، امروزه تمایل زیادی به استفاده از مواد نگهدارنده طبیعی (با کم‌ترین اثر جانبی) از جمله عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی افزایش یافته است. پژوهش‌های متعددی نشان داده است که اسانس‌ها و ترکیبات آن‌ها دارای طیف گسترده‌ای از فعالیت ضدمیکروبی هستند [۲ و ۳].

اسانس‌ها کمپلکس پیچیده‌ای از ترکیبات فرار بوده که شامل ۶۰ و یا حتی تعداد بیشتری ترکیبات مجزا می‌باشند [٤]. مکانیسم اصلی تشکیل اسانس‌های گیاهی به طور کامل و دقیق مشخص نشده است، ولی به طور کلی این ترکیبات، بقایای ناشی از فرآیندهای اصلی سوخت و ساز گیاهان، به ویژه هنگامی که تحت تاثیر تنش هستند. اسانس‌ها از نظر شیمیایی همگن نبوده و به حالت‌های مختلفی مشاهده می‌شوند [۵].

با توجه به موقعیت جغرافیایی، شرایط اقلیمی، نوع خاک، میزان آب‌دهی، ارتفاع از سطح دریا و .... ساختار شیمیایی اسانس‌ها می‌تواند متفاوت باشد. علاوه بر موارد ذکر شده فصل نمونه‌گیری از گیاه (نمونه‌گیری پیش یا پس از گلدهی) و حتی ساعتی از شبانه‌روز که در آن گیاه چیده شده است می‌تواند بر ساختار شیمیایی اسانس‌ها موثر باشد. یکی از مهم‌ترین عامل موثر بر ساختار شیمیایی اسانس‌های گیاهی، ساختار ژنتیکی گیاه است. بدین صورت که یک گونه گیاهی در شرایط مختلف محیطی توانایی تولید اسانس‌هایی با ترکیبات مؤثر و فعالیت دارویی مختلف را دارد. بنابراین می‌توان این گونه بیان نمود که گوناگونی در ساختار شیمیایی منجر به ایجاد تنوع در ویژگی‌های اسانس شده است [٦ و ۷].

رازیانه (بادیانه) یا بادیان سبز گیاهی است گلدار از راسته آپیالس[1]، تیره چتریان و سرده رازیانه‌ها می‌باشد. رازیانه گیاهی دو یا چند ساله علفی است که ارتفاع آن تا ۲ متر نیز می‌رسد. تمامی قسمت‌های این گیاه معطر بوده و قسمت مورد استفاده آن معمولا دانه‌های کوچک یا میوه است. از دانه رازیانه در صنایع غذایی به عنوان طعم دهنده در شکلات استفاده می‌شود. در طب سنتی از رازیانه به عنوان ضد نفخ، آنتی‌سپتیک، خلط آور و ضد اسپاسم استفاده می‌گردد [۸ و ۹].

تاکنون اثر ضدمیکروبی عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی به روش‌های متفاوتی مورد آزمون قرار گرفته است. از آنجا که اسانس‌ها می‌توانند ویژگی‌های حسی مواد غذایی را تحت تاثیر قرار بدهند، تعیین دقیق حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی آن‌ها به منظور به حداقل رساندن آن‌ها در مواد غذایی (تاثیر کم‌تر بر ویژگی‌های حسی) و همچنین از بین بردن ریزاندامگان عامل عفونت و مسمومیت غذایی مورد توجه می‌باشد. با توجه به مطالب ذکر شده فوق، در این پژوهش اثر ضدمیکروبی اسانس رازیانه با روش‌های چاهک آگار، دیسک دیفیوژن آگار (کربی-بوئر)، تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و تعیین حداقل غلظت کشندگی بر *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیا کلی* و *کاندیدا آلبیکنس* در شرایط برون‌تنی مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین برهمکنش اسانس رازیانه با آنتی‌بیوتیک کانامایسین نیز بررسی شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه رازیانه و استخراج اسانس آن

رازیانه از عطاری در شهر اهواز (خوزستان) خریداری شد و پس از تایید اسم علمی (*Foeniculum vulgare*)، عمل اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب انجام شد. به طور خلاصه ۵۰

1. Apiales

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]

گرم از گیاه رازیانه که توسط آسیاب آزمایشگاهی پودر شده بود و از الک آزمایشگاهی عبور کرده بود (یکنواختی و هم اندازه شدن سایز ذرات) به ۷۵۰ میلی‌لیتر از آب مقطر در دستگاه کلونجر اضافه شد. عمل اسانس‌گیری ۳ ساعت طول کشید. در انتها اسانس به دست آمده جهت انجام آزمون‌های میکروبی در ظروف تیره رنگ در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد درون یخچال نگهداری شد [۱۰].

۲-۲- تهیه و فعال‌سازی سویه‌های میکروبی

از سویه‌های میکروبی استاندارد *اشرشیا کلی* ATCC ۲۵۹۲۲، *استافیلوکوکوس اورئوس* PTCC ۱۳۳۷ و *کاندیدا آلبیکنس* PTCC ۵۰۲۷ که به صورت لیوفیلیزه در گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان نگهداری می‌شد استفاده گردید. برای فعال‌سازی هر یک از سویه‌های میکروبی بعد از خارج کردن سویه‌ها از فریز، به کمک نوک سرسمپلر استریل مقداری از هر سویه میکروبی به محیط کشت نوترینت براث (سویه باکتریایی) و سابروز دکستروز براث (سویه قارچی) در شرایط استریل و زیر هود آزمایشگاهی منتقل شد. پس از گرمخانه‌گذاری به مدت ٢٤ و ٧٢ ساعت به ترتیب برای هر یک از سویه‌های باکتریایی و قارچی کشت خطی در محیط آگار انجام شد. ۲ مرتبه عمل کشت خطی انجام پذیرفت تا کشت خالص از هر سویه میکروبی به دست آید. پس از فعال‌سازی ریزاندامگان، مطابق با استاندارد نیم مک‌فارلند از سویه‌های میکروبی سوسپانسیون تهیه شد [۱۱].

۲-۳- بررسی فعالیت ضدمیکروبی اسانس رازیانه به روش چاهک آگار

روش چاهک آگار مطابق با مطالعه علیزاده بهبهانی و همکاران (۲۰۱۹)، با کمی اصلاحات انجام گرفت. در این روش اسانس رازیانه به صورت مستقیم با ریزاندامگان عامل عفونت و مسمومیت غذایی قرار می‌گیرد. ابتدا حجم مشخصی از محیط کشت مولر هینتون آگار (۲۰ میلی‌لیتر) برای سویه‌های باکتریایی و سابروز دکستروز آگار برای سویه قارچی در ظروف میکروبی توزیع شد. پس از سرد شدن و بسته شدن محیط کشت، به وسیله ژل پانچر چاهک‌هایی به قطر ٦ میلی‌متر درون محیط کشت ایجاد شده و سپس اسانس استریل رازیانه به میزان ۲۰ میکرولیتر درون هر یک از چاهک‌ها ریخته می شود. لازم به ذکر می‌باشد که از سوسپانسیون استاندارد میکروبی مطابق با نیم مک‌فارلند استفاده شد، همچنین یک قطر آگار مذاب ته هر یک از چاهک‌های ایجاده شده در سطح پتری دیش‌ها جهت مسدود کردن چاهک‌ها ریخته شد. در این روش اسانس رازیانه به آرامی طی زمان گرمخانه گذاری (٢٤ و ٧٢ ساعت در دمای ۳۷ و ۲۷ درجه سانتی‌گراد) به درون محیط کشت نفوذ کرده و باعث از بین رفتن باکتری‌ها و سویه قارچی در شعاع انتشار گردیده و در نهایت ایجاد هاله عدم رشد میکروبی می‌نماید. هاله عدم رشد میکروبی ایجاد شده اطراف چاهک‌ها توسط خط‌کش (بر حسب میلی‌متر) اندازه‌گیری شد [۱۲].

۲-٤- بررسی فعالیت ضدمیکروبی اسانس رازیانه به روش دیسک دیفیوژن آگار

در روش دیسک دیفیوژن آگار نیز همانند روش چاهک آگار محیط‌های کشت میکروبی آماده شد. در این روش از دیسک‌های کاغذی بلانک با قطر ٦ میلی‌متر به جای چاهک استفاده شد. میزان ۲۰ میکرولیتر از اسانس رازیانه که توسط فیلتر سرسرنگی ۰/٤٥ میکرونی استریل شده بود به آرامی و با دقت بر سطح دیسک‌های کاغذی که بر سطح محیط کشت حاوی سوسپانسیون استاندارد از هر سویه میکروبی بودند ریخته شد. بعد از گذشت ٢٤ و ٧٢ ساعت عمل گرمخانه‌گذاری برای هر یک از سویه‌های باکتریایی و قارچی، و نفوذ ماده ضدمیکروب به درون محیط کشت میکروبی قطر هاله عدم رشد مشاهده شده بر سطح محیط کشت توسط خط‌کش (بر حسب میلی‌متر) اندازه‌گیری شد [۱۳].

۲-۵- تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس رازیانه به روش رقیق‌سازی در مایع

برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از رشد ریزاندامگان عامل عفونت و مسمومیت غذایی توسط اسانس رازیانه از میکروپلیت ۹٦ خانه‌ای و معرف تری فنیل تترازولیلیوم کلرید استفاده شد. به طور خلاصه در این روش ابتدا یک محلول مادر از اسانس استریل رازیانه با غلظت ٤۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. از محلول مادر غلظت‌های متوالی تهیه شد. درون هر یک از

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]

خانه‌های میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای میزان ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف اسانس و ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی استاندارد ریخته شد. سپس درب میکروپلیت روی آن قرار گرفت و هر یک از میکروپلیت‌ها در دمای مناسب با رشد سویه‌های میکروبی قرار گرفتند. پس از گذشت زمان گرمخامه-گذاری از محلول ۵ درصد معرف به میزان ۱۰ میکرولیتر به هر یک از خانه‌ها اضافه شد و ظهور رنگ قرمز یا ارغوانی نشان دهنده رشد سویه میکروبی بود. اولین خانه‌ای که در آن تغییر رنگ قرمز یا ارغوانی مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی از رشد میکروبی در نظر گرفته شد [۱۴].

۲-۶- تعیین حداقل غلظت کشندگی اسانس رازیانه

برای تعیین حداقل غلظت کشندگی اسانس رازیانه از روش یگانگی و همکاران (۲۰۱۸)، استفاده شد. در این روش از خانه-های که در آن تغییر رنگ مشاهده نشد بر محیط کشت‌های مناسب رشد سویه‌های باکتریایی و قارچی کشت انجام گردید. پس از عمل گرمخانه‌گذاری و گذشت ۲۴ و ۷۲ ساعت به ترتیب برای سویه‌های باکتری و قارچی، اولین پتری‌دیشی که در آن کلنی مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته شد [۱۵].

۲-۷- بررسی برهمکنش اسانس رازیانه در ترکیب با آنتی‌بیوتیک کانامایسین

برای این منظور از روش کربی-بوئر (دیسک گذاری) استفاده شد. در این روش اثر ترکیبی (برهمکنش) اسانس رازیانه با آنتی-بیوتیک کانامایسین منطبق با روش دانشمندی و همکاران (۱۳۸۹)، انجام شد [۱۶]. بعد از تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس رازیانه برای هر یک از ریزاندامگان عامل عفونت و مسمومیت غذایی، از غلظت تحت مهاری (۱/۲ حداقل غلظت مهارکنندگی) استفاده شد. غلظت تحت مهاری به محیط کشت میکروبی اضافه شده و با رعایت فواصل منظم از لبه پلیت، دیسک آنتی بیوتیک کانامایسین و کنترل (دیسک بلانک) بر سطح محیط کشت حاوی هر یک از ریزاندامگان بیماری‌زا قرار گرفت. انکوباسیون هر یک از محیط‌های کشت میکروبی مطابق با روش دیسک دیفیوژن آگار انجام شد. در نهایت قطر هاله عدم رشد میکروبی توسط خط‌کش اندازه‌گیری شده و بر حسب میلی‌متر گزارش گردید [۱۶].

۲-۸- آنالیز آماری

داده‌های حاصل، به روش آنالیز واریانس یک طرفه، با استفاده از SPSS (Version18.0, SPSS Inc., Chicago, USA) مورد آنالیز قرار گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از روش چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ استفاده شد. تمامی آزمون‌ها در ۳ مرتبه تکرار گردید.

۳- نتایج و بحث

نتایج حاصل از بررسی اثر ضدمیکروبی اسانس رازیانه به روش-های دیسک دیفیوژن آگار و برهمکنش آن با آنتی‌بیوتیک کانامایسین در جدول ۱، آورده شده است. نتایج نشان داد که اسانس رازیانه به خوبی توانست از رشد ریزاندامگان بیماری‌زا جلوگیری به عمل آورد. قطر هاله عدم رشد مشاهده شده در روش دیسک دیفیوژن آگار برای *اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *کاندیدا آلبیکنس* به ترتیب ۱۴/۲۰، ۱۸/۹۰ و ۱۶/۷۰ میلی‌متر بود. نتایج حاصل از اثر آنتی‌بیوتیک کانامایسین نیز برای باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب ۱۱/۲۰ و ۹/۴۰ میلی‌متر بود. شایان ذکر می‌باشد که اثر آنتی-بیوتیک کانامایسین برای سویه قارچی انجام نشد. نتایج حاصل از برهمکنش اسانس رازیانه با آنتی‌بیوتیک کانامایسین نشان داد که در حالت ترکیبی قطر هاله عدم رشد برای باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب ۱۶/۳۰ و ۲۰/۸۰ میلی-متر بود. با توجه به نتایج به دست آمده در حالت ترکیبی اسانس رازیانه و آنتی‌بیوتیک کانامایسین حالت سینرژیستی مشاهده شد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]

Table 1 The mean inhibition zone diameter (mm) of Fennel essential oil (FEO) and the effects of its interaction with Kanamycin antibiotic on some pathogenic microorganisms causing infection and food poisoning

Antimicrobial substance **Microorganism**	FEO	Kan	In (Kan + FEO)
Escherichia coli	14.20 ±0.36[a]	11.20 ±0.25[b]	16.30 ±0.55[c] (Syn)
Staphylococcus aureus	18.90 ±0.51[a]	9.40 ±0.50[b]	20.80 ±0.40[c] (Syn)
Candida albicans	16.70 ±0.28[a]	-	-

(-): It was not done.
Values are expressed as mean ±standard deviations, n = 3; different letters (a, b and c) in each row show significant difference at $P \leq 0.05$.
Fennel essential oil: FEO, Kan: Kanamycin, In: Interaction, Syn: Synergy.

نتایج حاصل از بررسی اثر ضدمیکروبی اسانس رازیانه به روش چاهک آگار در جدول ۲، آورده شده است. نتایج نشان داد که قطر هاله عدم رشد میکروبی در این روش برای هر یک از سویه-های بیماری‌زا بزرگتر از روش دیسک دیفیوژن آگار بود. میانگین قطر هاله عدم رشد میکروبی برای سویه‌های *اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *کاندیدا آلبیکنس* به ترتیب ۱۶/۱۰، ۲۱/۰۰ و ۱۸/۸۰ میلی‌متر بود.

نتایج حاصل از تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و تعیین حداقل غلظت کشندگی اسانس رازیانه بر ریزاندامگان بیماری‌زا در جدول ۲، آورده شده است. نتایج نشان داد که حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس رازیانه برای سویه‌های *اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *کاندیدا آلبیکنس* به ترتیب ۱۰۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. نتایج حاصل از حداقل غلظت کشندگی برای سویه‌های *اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *کاندیدا آلبیکنس* به ترتیب ۲۰۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. به طور کلی حداقل غلظت کشندگی اسانس رازیانه برای تمامی سویه‌های بیماری‌زا بیشتر از حداقل غلظت مهارکنندگی بود.

Table 2 The well diffusion agar (WDA), minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal/fungicidal concentration (MBC/MFC) of the Fennel essential oil (FEO) on some pathogenic microorganisms causing infection and food poisoning

Microorganism	WDA (mm)	MIC (mg/mL)	MBC/MFC (mg/mL)
Escherichia coli	16.10 ±0.21	100	200
Staphylococcus aureus	21.00 ±0.49	25	50
Candida albicans	18.80 ±0.15	50	100

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که در تمامی روش‌های ضدمیکروبی انجام شده برای باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس*، باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* حساس‌تر از باکتری گرم منفی *اشرشیا کلی* بود و در غلظت برابر دارای قطر هاله عدم رشد بزرگتری بود. پژوهشگران زیادی نیز مطلب فوق را تایید نموده و علت این امر را این گونه توجیه نموده‌اند که باکتری‌های گرم منفی همانند *اشرشیا کلی* در ساختار خود حاوی یک غشای خارجی محکمی بوده که بسیار پیچیده است. پژوهش‌های مختلف نشان داده که این غشای خارجی غنی از لیپو پلی‌ساکارید است. با توجه به ماهیت غشای خارجی در باکتری‌های گرم منفی انتشار ترکیبات هیدروفوبی به -داخل محدود شده و اثر ماده ضدمیکروب (اسانس) کم‌تر مشاهده می‌شود. اما در باکتری‌های گرم مثبتی مانند *استافیلوکوکوس اورئوس* غشاء خارجی وجود نداشته و در عوض ساختار باکتری

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]

توسط یک دیواره پپتدوگلیکان ضخیم و غیر متراکم احاطه شده است. با توجه به ساختار باکتری گرم مثبت، به نظر می‌آید این باکتری‌ها مقاومت لازم در برابر مولکول‌های ضدمیکروبی کوچک را نداشته و باعث، تسهیل دسترسی ترکیبات اسانس به غشاء سلول باکتری می‌گردد. علاوه بر تفاوتی که در ساختار باکتری-های گرم مثبت با باکتری‌های گرم منفی مشاهده می‌شود، این احتمال وجود دارد که باکتری‌های گرم مثبت نفوذ ترکیبات هیدروفوبی اسانس‌ها را به دلیل وجود پایانه لیپوفیلیک موجود در لیپوتیکوئیک اسید موجود در غشاء ممبرانی افزایش دهند. پژوهش‌های متعددی نیز بیان کرده‌اند که اجزای زیست فعال موجود در اسانس‌های روغنی، ممکن است به سطح سلول باکتری متصل گردیده و پس از آن به لایه‌های فسفولیپید غشای سلولی نفوذ کنند. در اثر این عمل یکپارچگی ساختار غشاء سلولی از طریق انباشت این ترکیبات مختل گردیده که این امر می‌تواند با تاثیر بر متابولیسم سلول، باعث مرگ سلول و یا باعث اختلال در سیستم آنزیمی باکتری گردد [۱۷-۲۱]. نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های این پژوهشگران همخوانی داشت.

شفقت و همکاران (۱۳۹٤)، فعالیت فیتوشیمیایی و اثر ضدمیکروبی اسانس رازیانه را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* در برابر اسانس رازیانه حساس‌تر از باکتری گرم منفی *اشرشیا کلی* بود. این پژوهشگران همچنین گزارش کردند که حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس رازیانه برای باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب ۳/۷۵ و ۱/۸۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. مقایسه نتایج این پژوهشگران با یافته های مطالعه حاضر نشان می‌دهد که هرچند در هر دو پژوهش باکتری *اشرشیا کلی* مقاوم تر از *استافیلوکوکوس اورئوس* بود اما میزان حداقل غلظت مهارکنندگی به دست آمده در مطالعه حاضر بیشتر از پژوهش شفقت و همکاران بود [۲۲]. شاید بتوان دلیل این امر را ناشی از تفاوت شرایط آب و هوا، خاک، روش اسانس‌گیری، زمان چینش گیاه و ... مرتبط دانست [۷ و ۲۱].

حیدری سورشجانی و همکاران (۱۳۹۷)، اثر ضدمیکروبی اسانس رازیانه و زنیان را بر باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *کلستریدیوم اسپوروژنز* با روش های دیسک دیفیوژن، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که اسانس رازیانه بر دو باکتری گرم مثبت و گرم منفی اثر گذار بوده و از رشد آن‌ها در شرایط برون‌تنی جلوگیری کرد [۸].

میگوئل و همکاران (۲۰۱۰)، اثر ضدمیکروبی، ترکیبات شیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس رازیانه را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که اسانس رازیانه از رشد سویه-های بیماری‌زا جلوگیری کرد. این پژوهشگران علت مهار رشد میکروبی را به ترکیبات موجود در اسانس رازیانه همانند استراگول، فنچون و لیمونن مرتبط دانستند [۲۳].

انور و همکاران (۲۰۰۹)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره و اسانس رازیانه پاکستان را مورد بررسی قرار دادند. این پژوهشگران اثر ضدمیکروبی رازیانه را به روش‌های دیسک دیفیوژن و رقیق‌سازی در مایع (تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی) بر باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *باسیلوس سوبتلیس* و ۳ سویه قارچی بیماری‌زا تعیین کردند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که قطر هاله عدم رشد میکروبی برای سویه‌های *اشرشیا کلی* و *باسیلوس سوبتلیس* به ترتیب ۱٤ و ۲۹ میلی‌متر بود [۲٤]. مقایسه نتایج این پژوهشگران با یافته‌های مطالعه حاضر درباره اثر ضدمیکروبی اسانس رازیانه بر باکتری *اشرشیا کلی* به روش دیسک دیفیوژن شبیه بود. در مطالعه حاضر میزان قطر هاله مشاهده شده به روش دیسک دیفیوژن برابر با ۱٤/۲۰ میلی‌متر بود.

٤- نتیجه‌گیری

در یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان بیان کرد که اسانس رازیانه در شرایط برون تنی به خوبی توانست از رشد *اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *کاندیدا آلبیکنس* جلوگیری نماید. قطر هاله عدم رشد مشاهده شده در روش‌های دیسک دیفیوژن آگار و چاهک آگار برای باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* بزرگتر از باکتری گرم منفی *اشرشیا کلی* بود. نتایج نشان داد که در حالت ترکیبی اسانس زنیان با آنتی‌بیوتیک کانامایسین برای باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* حالت سینرژیستی مشاهده شد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]

۵- تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند که از بنیاد ملی نخبگان و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان جهت حمایت‌های مادی و معنوی در اجرای طرح پژوهشی مربوط به جذب هیات علمی (جایزهٔ دکتر کاظمی آشتیانی) صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

۶- منابع

[1] Raissy, M., Khamesipour, F., Rahimi, E. and Khodadoostan, A. 2014. Occurrence of Vibrio spp., Aeromonas hydrophila, Escherichia coli and Campylobacter spp. in crayfish (Astacus leptodactylus) from Iran. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, *13*(4), 944-954.

[2] Chaleshtori, R. S., Rokni, N., Razavilar, V. and Kopaei, M. R. 2013. The evaluation of the antibacterial and antioxidant activity of Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) essential oil and its chemical composition. *Jundishapur Journal of Microbiology*, *6*(9): 1-5.

[3] Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils–a review. *Food and Chemical Toxicology*, *46*(2), 446-475.

[4] Saddi, M., Sanna, A., Cottiglia, F., Chisu, L., Casu, L., Bonsignore, L. and De Logu, A. 2007. Antiherpevirus activity of Artemisia arborescens essential oil and inhibition of lateral diffusion in Vero cells. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, *6*(1), 1-7.

[5] Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A. and Cliver, D. O. 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, *21*(9), 1199-1218.

[6] Andrade, E. H. A., Alves, C. N., Guimarães, E. F., Carreira, L. M. M. and Maia, J. G. S. 2011. Variability in essential oil composition of Piper dilatatum LC Rich. *Biochemical Systematics and Ecology*, *39*(4-6), 669-675.

[7] Alizadeh Behbahani, B., Shahidi, F., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., & Mohebbi, M. (2017). Antioxidant activity and antimicrobial effect of tarragon (Artemisia dracunculus) extract and chemical composition of its essential oil. *Journal of Food Measurement and Characterization, 11*(2), 847-863.

[8] Heidari Soureshjani, M., Khomeiri, M., Maghsoudlou, Y., Yousefi, H., Rafieian, M., Kashiri, M. (2018). The combined effect of Carum copticum (Ajwain) and Foeniculum vulgare (Fennel) essential oils on Escherichia coli and Clostridium sporogenes using checkerboard assay. Applied Microbiology In Food Industries, 4(2), 44-56. [Full text in Persian].

[9] Naeini, A., Khosravi, A., Tajbakhsh, H., Ghazanfari, T., & Yaraei, R. (2009). Anticandida and immunomodulatory effects of Foeniculum vulgare mill in vitro. *Daneshvar Medicine, 16*(82), 7-20. [Full text in Persian].

[10] Noshad, M., & Alizadeh Behbahani, B. (2019). Identification of Chemical Compounds, Antioxidant Activity, and Antimicrobial Effect of Elettaria cardamomum Essential Oil on a Number of Pathogenic Microorganisms in Vitro. *Qom Univ Med Sci J, 13*(2), 57-69. [Full text in Persian].

[11] Tabatabai Yazdi, F., Falah, F., Alizadeh Behbahani, B., Vasiee, A., & Mortazavi, S. A. (2019). Identification of Chemical Compounds, Antioxidant Potential, Phenolic Content and Evaluation of Inhibitory and Bactericidal/Fungicidal Effects of Ginger Essential Oil on Some Pathogenic Microorganisms in Vitro. *Qom Univ Med Sci J, 13*(3), 50-62. [Full text in Persian].

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

[13] Noshad, M., & Alizadeh behbahani, B. (2019). Investigation of Phytochemical Compounds, antioxidant Potential and the Antimicrobial Effect of Bergamot Essential Oil on some Pathogenic Strains Causing Infection Invitro. *Journal of Ilam University of Medical Sciences, 26*(6), 122-132. [Full text in Persian].

[14] Alizadeh Behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., Falah, F., Vasiee, A., & Mortazavi, A. (2019). Antimicrobial effect of Citrus aurantium essential oil on some food-borne pathogens and its determination of chemical

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]

compounds, total phenol content, total flavonoids content and antioxidant potential. *Food Science and Technology, 16*(87), 275-288. [Full text in Persian].

[15] Yeganegi, M., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., Asili, J., Alizadeh Behbahani, B., & Beigbabaei, A. (2018). Equisetum telmateia extracts: Chemical compositions, antioxidant activity and antimicrobial effect on the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection. *Microbial Pathogenesis, 116*, 62-67.

[16] Daneshmandi, S., Soleimani, N., Pourfathollah, A. A., & Sattari, M. 2010. Evaluation of the drug synergistic and antibacterial effects of cuminum cyminum essential oil. Journal of Arak University of Medical Sciences. 13(2): 75-82. [Full text in Persian].

[17] Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I. and Jovin, E. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (Rosmarinus officinalis L. and Salvia officinalis L., Lamiaceae) essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*(19), 7879-7885.

[18] Chouhan, S., Sharma, K., & Guleria, S. (2017). Antimicrobial activity of some essential oils—present status and future perspectives. *Medicines, 4*(58), 1-21.

[19] Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology, 94*(3), 223-253.

[20] Sandri, I. G., Zacaria, J., Fracaro, F., Delamare, A. P. L. and Echeverrigaray, S. 2007. Antimicrobial activity of the essential oils of Brazilian species of the genus Cunila against foodborne pathogens and spoiling bacteria. *Food Chemistry*, *103*(3), 823-828.

[21] Alizadeh Behbahani, B., Yazdi, F. T., Vasiee, A., & Mortazavi, S. A. (2018). Oliveria decumbens essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some clinical and standard strains causing infection. *Microbial Pathogenesis, 114*, 449-452.

[22] Shafeghat, M., Najafi, S., Razavi zadeh, R. (2015). Phytochemical and antibacterial properties of the essential oils of medical plant Ajowan (*Carum copticum* L.) by micro dilution method. *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine, 20(68),* 43-47. [Full text in Persian].

[23] Miguel, M. G., Cruz, C., Faleiro, L., Simões, M. T., Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., & Pedro, L. G. (2010). Foeniculum vulgare essential oils: chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities. *Natural product communications, 5*(2), 319-328.

[24] Anwar, F., Ali, M., Hussain, A. I., & Shahid, M. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (Foeniculum vulgare Mill.) seeds from Pakistan. *Flavour and Fragrance Journal, 24*(4), 170-176.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]

Investigation of antimicrobial activity of Fennel essential oil on some pathogenic microorganisms causing infection and food poisoning and its interaction with kanamycin antibiotic

Alizadeh Behbahani, B. [1*], Noshad, M. [1], Falah, F. [2]

1. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
2. Ph.D student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

(Received: 2019/08/14 Accepted:2019/10/12)

Recently, the use of chemical and synthetic preservatives for the control of microbial pathogenesis growth has been remarkably decreased. Today, essential oils (EOs) have been considered to be natural preservatives. Fennel is among the aromatic medicinal plant that can be used as a natural preservative. In this study, to investigate the antimicrobial activity of fennel essential oil on some pathogenic microorganisms causing infection and food poisoning (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*) were used disk diffusion agar (Kirby-Bauer), well diffusion agar, minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal/fungicidal concentration methods. The interaction of fennel essential oil (FEO) with kanamycin antibiotic was investigated. The results disc diffusion agar and well diffusion agar antimicrobial assays showed that *S. aureus* was the most sensitive bacteria with the highest inhibition zone compared to the other microorganisms. The effects of interaction of FEO with kanamycin antibiotic on *E. coli*, *S. aureus* showed synergistic status. In general, FEO was able to prevent the growth of *E. coli*, *S. aureus* and *C. albicans* "*in vitro*".

Keywords: Fennel essential oil, Kanamycin antibiotic, *In vitro*, Synthetic preservatives.

* Corresponding Author E-mail Address: B.alizadeh@asnrukh.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]