مطالعه اثر ضد باکتریایی اسانس پوست دارچین (*Cinnamomum zeylanicum*) در شرایط آزمایشگاهی در برابر پنج باکتری عامل فساد غذایی

سید مهدی اجاق[۱]، مسعود رضائی[۲]*، سید هادی رضوی[۳]، سید محمد هاشم حسینی[۴]

۱- استادیار گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی گرگان
۲- دانشیار دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
۳- دانشیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران
۴-دانشجوی دکتری گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

(تاریخ دریافت: ۸۸/۷/۱۷ تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۰/۱۲)

چکیده

ترکیب شیمیایی اسانس پوست دارچین (*Cinnamomum zeylanicum* Nees) مورد استفاده در صنایع غذایی با استفاده از دستگاه GC–MS ارزیابی شد و ۲۱ ترکیب شناسایی شدند. سینامالدهید[۱] با ۶۰/۴۱ درصد بیشترین مقدار را به خود اختصاص داده بود و پس از آن لینالول[۲] (۶/۴۶ درصد)، ارتومتوکسی سینامیک آلدهید[۳] (۳/۶۳ درصد)، بتا کاریوفیلن[۴] (۳/۵ درصد)، ۸-۱ سینئول[۵] (۳/۳۲) ، اوجنول[۶] (۳/۱۹ درصد) و ترکیبات دیگر قرار داشتند. فعالیت آنتی‌باکتریایی (حداقل غلظت بازداری و کشندگی) اسانس پوست دارچین در مقابل ۵ باکتری بیماری‌زا و فسادزا در مواد غذایی شامل *Listeria monocytogenes*، *Escherichia coli*، *Pseudomonas fluorescens*، *Lactobacillus plantarum* و *Lactobacillus sakei* ارزیابی شدند. حداقل غلظت بازداری اسانس دارچین در مقابل *L. sakei* ۲۵۰ µg/ml و برای سایر باکتری‌ها برابر ۵۰۰ µg/ml مشاهده شد. حداقل غلظت کشندگی برای *L. sakei* و *Ps . fluorescens* برابر ۱۰۰۰ µg/ml و برای سایر باکتری‌ها بالاتر از ۱۵۰۰ µg/ml بودند.

کلید واژگان : اسانس پوست دارچین، *Cinnamomum zeylanicum*، فعالیت آنتی‌باکتریایی، باکتری های بیماری‌زا

*مسئول مکاتبات: Rezai_ma@modares.ac.ir

1. E-cinnamaldehyde
2. Linalool
3. Ortho methoxy cinnamic aldehyde
4. β-caryophyllene
5. 1,8-cineole
6.Eugenol

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

۱- مقدمه

در سال‌های اخیر، موارد زیادی از فساد مواد غذایی و بیماری‌های با منشا غذایی ناشی از رشد ریزسازواره ها(میکروارگانیسم ها) در سراسر جهان گزارش شده است [۱و۲]. تلاش‌های زیادی مانند استفاده از مواد شیمیایی سنتزی جهت کنترل رشد میکروبی و کاهش شیوع مسمومیت‌های غذایی و فساد صورت پذیرفته است. در هرحال، به دلیل اثرات سوء این ترکیبات مصرف کنندگان نگران بوده و لذا نیاز به مواد ایمن‌تر برای جلوگیری و کنترل ریزسازواره های بیماری زای مواد غذایی وجود دارد [۲]. افزایش مقاومت برخی میکروب‌های بیماری‌زای مواد غذایی در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها از دیگر دغدغه ها می باشد [۳]. لذا گرایش زیادی جهت استفاده از انواع جدید ترکیبات ضد میکروبی طبیعی مانند عصاره ی ادویه ها و گیاهان برای نگهداری مواد غذایی وجود دارد. تعدادی از ادویه ها و ترکیبات گیاهی که امروزه استفاده می شوند به دلیل فعالیت ضد میکروبی و اثرات دارویی و نیز کیفیت عطر و طعم ارزشمند هستند. ترکیب عصاره های بیشتر گونه‌های گیاهی در سال‌های اخیر شناسایی شده و تلاش برای شناسایی اجزای زیست فعال آن ها برای مقاصد دارویی مختلف و عمل‌آوری مواد غذایی شتاب گرفته است. فعالیت‌های ضدمیکروبی عصاره های گیاهی، اساس کاربردهای مختلفی مانند نگهداری مواد غذایی خام و فرآوری شده، کاربردهای داروسازی، طب سنتی و درمان طبیعی را تشکیل می دهند اما مقایسه ی نتایج گزارش شده در این مطالعات معمولاً به دلیل تعداد کم نمونه‌های آزمایش شده، روش‌های متفاوت آزمایش و نژاد باکتریایی متنوع و منابع نمونه‌های ضد میکروبی مشکل است[۴، ۵ و ۶]. *Cinnamomum zeylanicum* که به عنوان دارچین[1] شناخته می شود گیاه بومی سریلانکا[2] است [۷]. اسانس دارچین توسط محققین زیادی به عنوان منبع مناسب از ترکیبات ضد قارچی و باکتریایی شناخته شده است [۱۰-۷].

Matan و همکاران (۲۰۰۶) نشان داده اند که ترکیب اسانس دارچین قادر است که از رشد میکروارگانیزم‌های اصلی فاسد کننده ی غذاهای با رطوبت متوسط پیشگیری کند [۱۱]. بررسی خواص ضد باکتریایی ۲۸ اسانس در برابر ۴ باکتری بیماری زا (*E. coli* O157:H7، *L. monocytogenes*، *Staphylococcus aureus* و *Salmonella typhimurium*) نشان داده است که غالب این اسانس‌ها فعالیت ضدباکتریایی دارند [۹].

گوشت محیطی غنی از مواد مغذی و ایده‌آل برای رشد و تکثیر بیشتر میکروب‌های بیماری زا و عامل فساد است. *Listeria monocytogenes* بیماری زای مقاوم به دماهای پایین است سلامت گوشت و فرآورده‌های گوشتی را که در دمای یخچال نگهداری می شوند را به مخاطره می اندازد. *E. coli O157:H7* از خطرهای دیگر است که سلامتی مصرف کننده موادغذایی را تهدید می کند. بیشتر بیماری‌های شایعی که توسط *E. coli O157:H7* ایجاد شده در نتیجه مصرف غذاهایی با منشا گوشتی بوده است. علاوه بر بیماری زا ها، ریزسازواره های عامل فساد نیز می توانند به آسانی بر روی فرآورده‌های گوشتی تازه و پیش پخته و فرآورده‌های گوشتی تکه تکه شده رشد کنند [۱۲].

عامل اصلی فساد در فرآورده های گوشتی تازه در طی نگهداری گونه‌های *Pseudomonas* هستند [۱۲]. *P. fragi* و *P. fluorescens* به دلیل تولید پروتئازها و لیپازهای خارج سلولی در دماهای پائین موجب فساد کیفی فرآورده‌های گوشتی می گردند [۱۳]. باکتری‌های اسید لاکتیک[3] به عنوان جمعیت غالب عامل فساد سوسیس‌ها و کالباس های امولسیونی بسته بندی شده تحت شرایط خلا و گوشت‌های فرآوری شده دیگر که در دمای یخچال نگه داری می شوند شناخته شده‌اند [۱۴ و ۱۵]. در نتیجه فعالیت باکتری‌های اسید لاکتیک، بو و طعم نامطلوب ترشیدگی، خروج ترکیبات شیری رنگ، متورم شدن بسته ها و یا رنگ متمایل به سبز ممکن است مشاهده گردد [۱۲].

1. Cinnamon
2. Seri Lanka

3. Lactic acid bacteria

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

لذا به عنوان اولین گام، ضروری است که تاثیر عوامل ضدباکتریایی، به ویژه اسانس‌ها بر روی ریزسازواره های طبیعی گوشت مشخص گردد. بنابراین هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی کارایی اسانس دارچین (بررسی حداقل غلظت بازداری و کشندگی اسانس) بر روی ۵ باکتری بیماری‌زا و فسادزای مواد غذایی (*E. coli*، *L.monocytogenes*، *Ps. fluorescens*، *L. plantarum* و *L. sakei*) در شرایط آزمایشگاهی بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱ تهیه ی اسانس

اسانس پوست دارچین با مشخصات موجود در جدول ۱ به سفارش گروه شیلات دانشگاه تربیت مدرس از شرکت زردبند (استخراج و فرآوری کننده ی مواد موثره گیاهان دارویی) به روش استخراج صنعتی تقطیر با بخار آب[1] تهیه شد و در ظرف درب دار تیره رنگ دور از نور و در یخچال نگهداری شد. پارامترهای رنگ و ظاهر به صورت چشمی، بو به روش حسی، وزن مخصوص از طریق اندازه گیری وزن حجم مشخصی از اسانس، اندیس شکست با دستگاه رفراکتومتر[2] و چرخش نوری با دستگاه پولاری متر[3] اندازه گیری شدند.

جدول ۱ مشخصات اسانس پوست دارچین[4]

پارامتر	نتیجه
رنگ	زرد
وضعیت ظاهری	مایع
بو	خاص دارچین(Characreristic)
وزن مخصوص(g/cm^3)	۱/۰۲۹
اندیس شکست	۱/۵۹۵
چرخش نوری	-۰/۲

1. Steam distilation
2. Refractometer
3. Polarimeter
4. Cinnamon bark oils

۲-۲ شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس

شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس دارچین با دستگاه GC/MS انجام پذیرفت. مشخصات و تنظیمات دمایی دستگاه به صورت زیر بود:

برای آنالیز نمونه ی اسانس پوست دارچین از دستگاه گازکروماتوگراف متصل شده با طیف سنج جرمی[5] مدل، Trace مجهز به ستون کاپیلاری DB-5 به طول ۶۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر استفاده شد(شیماتزو، ژاپن)[6]. دمای آون از ۶۰ درجه سانتیگراد تا ۲۵۰ درجه سانتیگراد با سرعت ۵ درجه سانتیگراد بر دقیقه افزایش یافت و به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۵۰ درجه سانتیگراد نگه داشته شد. از گاز حامل هلیوم با سرعت جریان ۱/۱ میلی لیتر بر دقیقه استفاده شد و از انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت استفاده گردید. نسبت Split ۱ به ۵۰ و حجم تزریق یک میکرولیتر بود.

شاخص بازداری طیف‌های حاصل از اسانس با استفاده از زمان بازداری نرمال آلکان‌های تزریق شده (C_6-C_{24}) به دستگاه در شرایط مشابه با اسانس محاسبه گردید. شناسایی ترکیبات با استفاده از پارامترهای مختلف از قبیل زمان مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه ی این طیف‌ها با ترکیب‌های استاندارد و اطلاعات موجود در کتابخانه رایانه دستگاه GC-MS صورت گرفت. درصد نسبی هر کدام از ترکیبات تشکیل دهنده اسانس با توجه به سطح زیر منحنی آن در کروماتوگرام GC به روش نرمال کردن سطح به دست آمد [۱۶]. کروماتوگرام نمونه ی اسانس دارچین و جدول آنالیز اسانس به ترتیب در شکل ۱ و جدول ۲ مشاهده می شود.

۲-۳- باکتری‌های مورد بررسی

باکتری های مورد استفاده در این تحقیق *L. monocytogenes* PTCC1163، *E. coli* PTCC1399، *L. plantarum* PTCC1058، *L. sakei* PTCC1272 و *Ps. fluorescens* بودند. چهار باکتری اول از مرکز پژوهش های علمی و صنعتی ایران و باکتری

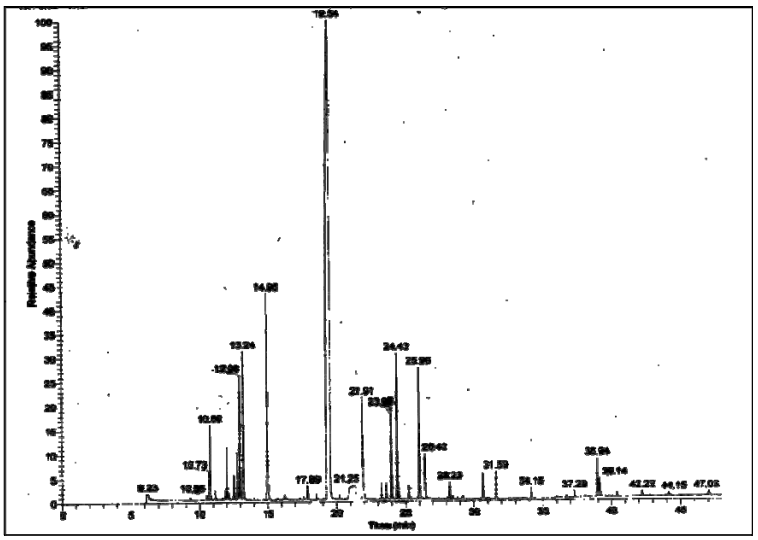
5. Thermoquest-Finnigan
6. Shimadzu, Japan

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

دیگر از دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس تهیه گردیدند. برای فعال‌سازی سویه‌های میکروبی آمپول‌های منجمد شده تحت خلاء (لیوفیلیزه) حاوی میکروارگانیسم‌ها طبق دستورالعمل ، از محل مورد نظر تحت شرایط استریل باز شده و از آن کشت مادر و سپس کشت ذخیره تهیه شده و در مراحل بعدی از کشت ذخیره استفاده شد. به منظور حفظ قابلیت زیستی باکتری‌ها، هر بیست روز کشت مجدد آن ها صورت گرفت.

۲-۴ تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC[1]) و حداقل غلظت کشندگی (MBC[2]) اسانس دارچین در مقابل باکتری‌های مورد مطالعه

جهت تعیین حداقل غلظت بازداری از محیط کشت‌های Brain Heart Infusion (تهیه شده از شرکت مرک آلمان)استفاده شد سپس از باکتری‌های مورد مطالعه غلظت تقریبی 10^7 cfu/ml (از طریق رسم منحنی cfu در مقابل دانسیته نوری (OD)) به میزان ۰/۲ میلی‌لیتر به هر یک از ارلن‌ها افزوده شد. در مرحله بعد محلول‌های اسانس دارچین با استفاده از Tween 80 (مرک) و آب مقطر به نحوی تهیه شدند که با ریختن مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر از هرکدام از محلول‌ها درون ارلن‌های حاوی محیط کشت مایع و باکتری‌های مورد آزمایش به ترتیب غلظت‌های ۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ پی‌پی‌ام ساخته شود. غلظت های بالاتر از۱۵۰۰ پی‌پی‌ام به دلیل عدم انحلال پذیری اسانس دارچین در Tween 80 و آب مقطر مطالعه نگردید. سپس ارلن‌ها در انکوباتور شیکردار در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد برای *L. sakei* و ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای سایر باکتری‌ها و دور ۱۴۰ دور در دقیقه گرمخانه‌گذاری شد. پس از ۲۴ ساعت پائین‌ترین غلظتی که در آن هیچ کدورتی مشاهده نگردید به عنوان MIC در نظر گرفته شد. در واقع کدر شدن محیط داخل ارلن ها نشان دهنده رشد باکتری‌ها بوده و اولین ارلنی که در آن کدورت مشاهده نگردید و کاملا شفاف بود به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) در نظر گرفته شد. در صورتی که در سطح غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام کدورتی مشاهده نمی‌شد این آزمایش مجددا در سطوح غلظتی پائین‌تر شامل ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام تکرار شد تا سطح دقیق MIC تعیین گردد. پس از تعیین MIC جهت تعیین MBC در شرایط کاملا استریل از محتویات ارلن‌هایی که پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری هنوز شفاف بودند و کدورتی در آنها مشاهده نشده بود به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر در پتری دیش های حاوی محیط کشت مناسب هر گونه باکتری کشت سطحی داده شد. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای مناسب رشد و عدم رشد باکتری‌ها بررسی شد. اولین غلظتی که در آن رشد مشاهده نگردید به عنوان MBC در نظر گرفته شد [۱۷ و ۱۸].



شکل ۱ کروماتوگرام حاصل از آنالیز GC-MS اسانس دارچین مورد استفاده در تحقیق حاضر

۳- نتایج و بحث

در جدول شماره ۲ ترکیبات تشکیل دهنده اسانس دارچین، شاخص بازداری و درصد سطح زیر پیک آنها مشاهده می‌شود.

1. Minimu inhibitory concentration
2. Minimum bactericidal concentration

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

جدول ۲ ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس پوست دارچین

شماره پیک (ردیف)	زمان پیک (دقیقه)	نام ترکیب	شاخص بازداری	مقدار (درصد)
۱	۱۰/۸	α-pinene	۹۳۶	۲/۱۸
۲	۱۱/۱۸	camphene	۹۵۰	۰/۱۴
۳	۱۲/۰۲	myrcene	۹۸۲	۱/۰۳
۴	۱۲/۵۴	α- phellandrene	۱۰۰۱	۰/۵۴
۵	۱۲/۷۸	δ-3-carene	۱۰۱۰	۰/۹۴
۶	۱۲/۹۶	p-cymene	۱۰۱۶	۲/۸۵
۷	۱۳/۲۴	1,8-cineole	۱۰۲۶	۳/۳۲
۸	۱۴/۹۵	linalool	۱۰۸۶	۶/۴۶
۹	۱۷/۸۹	Z-Cinnamaldehede	۱۱۸۸	۰/۲۹
۱۰	۱۹/۵۴	E-Cinnamaldehyde	۱۲۴۷	۶۰/۴۱
۱۱	۲۱/۳۳	Hexagerman	۱۳۱۲	۰/۴۸
۱۲	۲۱/۹۱	Eugenol	۱۳۳۴	۳/۱۹
۱۳	۲۳/۲۸	α-copaene	۱۳۸۶	۰/۳۴
۱۴	۲۳/۶۲	Coumarine	۱۳۹۸	۰/۴
۱۵	۲۳/۹۸	E-cynnamyl acetate	۱۴۱۳	۲/۰۱
۱۶	۲۴/۴۳	β-caryophyllene	۱۴۳۱	۳/۵
۱۷	۲۵/۲۵	A- α-humulene	۱۴۶۳	۰/۲۷
۱۸	۲۵/۹۹	Ortho methoxy cinnamic aldehyde	۱۴۹۲	۳/۶۳
۱۹	۲۸/۲۲	Caryophyllene oxide	۱۵۸۵	۰/۳۴
۲۰	۳۱/۵۹	Benzyl benzoate	۱۷۳۶	۰/۶
۲۱	۳۸/۹۴	Equilin	۲۰۴۹	۰/۹۱
۲۲		شناخته نشده		۶/۱۷

جدول ۳ حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس دارچین علیه باکتری‌های مورد استفاده در این تحقیق

باکتری	*L. monocytogenes*	*E. coli*	*Ps. fluorescens*	*L. plantarum*	*L. sakei*
حداقل غلظت بازدارندگی(µg/ml)	۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰	۲۵۰
حداقل غلظت کشندگی(µg/ml)	۱۵۰۰ <	۱۵۰۰ <	۱۰۰۰	۱۵۰۰ <	۱۰۰۰

بر اساس کروماتوگرام نشان داده شده در شکل ۱، تعداد ۲۱ ترکیب در اسانس دارچین شناسایی شد که در این میان سینامالدهید با ۶۰/۴۱ درصد (زمان خروج پیک ۱۹/۵۴دقیقه) بیشترین ترکیب شناسایی شده بوده و پس از آن لینالول (۶/۴۶ درصد)، ارتومتوکسی سینامیک آلدهید[1]

1. Ortho methoxy cinnamic

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

(۳/۶۳ درصد)، بتا کاریوفیلن (۳/۵ درصد)، ۸-۱ سینئول (۳/۳۲ درصد)، اوجنول (۳/۱۹ درصد)، p – سیمن[1] (۲/۸۵ درصد)، α- پینن[2] (۲/۱۸ درصد)،E - سینامیل استات[3] (۲/۰۱ درصد)، میرسن[4] (۱/۰۳ درصد) و ترکیبات دیگر قرار داشتند. در جدول شماره ۳ نتایج MIC برای ۵ باکتری مورد بررسی در تحقیق حاضر مشاهده می شود. ۳ گونه از ۵ باکتری مورد مطالعه شامل *L. monocytogenes* ،*L. plantarum* و *L. sakei* گرم مثبت و دو گونه دیگر گرم منفی بودند. مقدار MIC اسانس دارچین در مقابل *L. sakei* ۲۵۰ µg/ml و برای سایر باکتری‌ها برابر µg/ml ۵۰۰ مشاهده شد. مقادیر MBC برای *L. sakei* و *Ps . fluorescens* برابر µg/ml ۱۰۰۰ و برای سایر باکتری‌ها بالاتر از µg/ml ۱۵۰۰ به دست آمد(جدول ۳).

Bullerman و همکاران گزارش نمودند که دارچین حاوی سینامالدهید به عنوان ترکیب اصلی می باشد که ٪۷۵-۶۵ اسانس را تشکیل می‌دهد و این ترکیب مسئول اثر آنتی‌باکتریایی می باشد [۱۹]. پاره‌ای دیگر از مطالعات نشان داده‌اند اسانس دارچین که در میان فعال‌ترین اسانس‌ها قرار دارد حاوی مقادیر بالایی از سینامالدهید و اوجنول می‌باشد. مشخص شده که اسانس پوست دارچین[5] حاوی ۸۰-۶۰ درصد سینامالدهید و نیز حدود ۲ درصد اوجنول بوده و اسانس برگ‌های آن از اوجنول (۷۵-۷۰ درصد) غنی می باشند [۲]. مشابه تحقیق حاضر، در مطالعه Ouattara و همکاران [۱۹] که فعالیت ضد باکتریایی چند اسانس را بررسی نمودند نیز، تفاوتی در میزان حساسیت باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت پس از ۲۴ ساعت قرارگیری در معرض اسانس‌ها مشاهده نشد. از طرفی گزارشات متعدد بیان نموده‌اند که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی در برابر ترکیبات ضد باکتریایی حساس‌تر هستند و این حساسیت بالای باکتری‌های گرم مثبت به دلیل عدم وجود دیواره سلولی لیپوپلی‌ساکاریدی است که این دیواره در باکتری‌های گرم منفی ممکن است از ورود ترکیبات فعال به غشای سیتوپلاسمی جلوگیری به عمل آورد[۱۶]. مقاومت باکتری‌های گرم منفی در برابر مواد ضد باکتریایی با سطح هیدروفیلی غشای خارجی باکتری‌ها که غنی از مولکول‌های لیپوپلی‌ساکارید است و یک حائل در برابر نفوذ مولکول‌های آنتی‌بیوتیکی مختلف ایجاد می کند و نیز با آنزیم‌های فضای پری‌پلاسمی (که قادر به شکستن مولکول‌های وارد شده از خارج هستند) نیز در ارتباط می باشد. باکتری‌های گرم مثبت چنین غشای خارجی در ساختار دیواره سلولی ندارند. برخی از آنتی‌بیوتیک می‌توانند به آسانی دیواره سلول باکتریای و غشای سیتوپلاسمی را تخریب نموده و منجر به خروج سیتوپلاسم آن گردند (۲ و ۴). به هر حال مقاومت بالای باکتری‌های گرم منفی ممکن است یک قاعده ی کلی نباشد چرا که مطالعاتی نیز وجود دارد که به مقاومت مشابه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و حتی مقاومت بالاتر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی اشاره نموده‌اند. به عنوان مثال در مطالعه Ouattara و همکاران [۱۹] *Brochothrix thermosphact* (گرم مثبت) مقاومتی مانند *Serratia liqefaciens* (گرم منفی) نشان داد. در مطالعه‌ای که فعالیت آنتی‌باکتریایی چندین عصاره ی گیاهان دارویی و ادویه ها را در شرایط آزمایشگاهی[6] بررسی نمودند [۴]، مشاهده شد که به طور کلی باکتری‌های گرم مثبت در برابر عصاره های مورد مطالعه در آن آزمایش نسبت به باکتری‌های گرم منفی حساس‌تر بودند، با این وجود نتایج اثر ۳ عصاره ی *Eugenia caryophylata* Thunb، *Prunella vulgaris* و *Terminalia bellirica* Roxb بر باکتری‌های مورد مطالعه آن تحقیق متفاوت بود. اگر چه *Staphylococcus aureus* (باکتری گرم مثبت) نسبت به باکتری *E. coli* (گرم منفی) به این ۳ عصاره ی حساس‌تر بود، اما فعالیت بازدارندگی این ۳ عصاره ی در مقابل *Salmonella anatum* (گرم منفی) بیشتر از *Bacillus cereus* و *listeria momocytogenes*

1. *P*-cymene
2. α-pinene
3. E-cynnamyl acetate
4. myrcene
5. *Cinnamomum zeylanicum*

6. in vitro

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

(گرم مثبت) بود. این محققین دلیل این امر را به وجود احتمالی مقداری ترکیبات ضد باکتری های گرم منفی خاص در این ۳ عصاره نسبت دادند. در مطالعه‌ای دیگر در بین ۳ باکتری گرم مثبت مورد مطالعه *S. aureus* حساس‌ترین باکتری به عصاره ی خالص *Cinnamomum burmannii* بود، پس از آن *B. cereus* قرار داشت. در مقابل *L. monocytogenesis* مقاوم ترین بود [۲]. نتایج مشابه توسط Kim و همکاران گزارش شده است (۱۷). این محققین مشاهده نمودند که *L. monocytogenesis* (گرم مثبت) به اثرات بازدارنده ترکیبات اسانس نسبت به باکتری‌های گرم منفی آزمایش شده تحت همان شرایط مثل *Salmonella typhimurium*، *E coli O157:H7*، *E. coli* و *Vibrio vulnificus* مقاوم‌تر است. در مطالعه حاضر نیز *Listeria monocytogene*s تقریباً مقاومتی مانند باکتری‌های گرم منفی نشان داد. متفاوت بودن مقاومت باکتری‌های گرم مثبت در برابر اثرات بازدارندگی اسانس‌ها احتمالاً به دلیل تفاوت بین سویه های مختلف می‌باشد. این فرضیه توسط Sivropoulou و همکاران بر روی دو سویه *Staphylococcus aureus* در حضور کارواکرول و تیمول تایید شده است [۲۰]. علاوه بر تفاوت‌های ساختاری، تفاوت‌های متابولیسمی نیز ممکن است در حساسیت یا مقاومت باکتری‌ها در برابر اسانس‌ها موثر باشد. در میان باکتری‌های گرم مثبت که عموماً حساس هستند باکتری‌های اسید لاکتیکی دارای بالاترین مقاومت می‌باشند. توانائی این باکتری‌ها در تولید آدنوزین تری فسفات (ATP) بوسیله فسفوریلاسیون سوبسترا احتمالاً علت این مقاومت می‌باشد. تفاوت میزان ATP در *L.monocytogenes* و *L. sakei* بعد از قرارگیری در معرض اوجنول یا سینامالدئید این فرضیه را قوت بخشیده است. مقاومت بالاتر باکتری‌های اسید لاکتیکی همچنین ممکن است به علت توانائی بالاتر آن ها در مواجهه با شرایط تنش اسمزی و نیز واکنش موثرتر در مقابل خروج یون کلسیم (ایجاد شده توسط بسیاری از ترکیبات ضدمیکروبی) باشد [۲۱]

فعالیت ضد باکتریایی ادویه جات را به صورت قوی، متوسط و ضعیف طبقه بندی نموده اند [۱۹]. بر طبق این رتبه‌بندی چندین مطالعه نشان داده‌اند که دارچین، میخک، فلفل[1]، آویشن، مرزنگوش و رزماری اثرات آنتی‌باکتریایی قوی داشته و اثرات بازدارندگی قوی در برابر باکتری‌های بیماری زا و فسادزا نشان داده‌اند [۱۹]. در تطابق با این یافته‌ها اسانس دارچین در این مطالعه اثرات بازدارندگی مناسبی در برابر چند باکتری فسادزا و بیماریزای گوشت نشان داد. در مطالعه Ouattara و همکاران [۱۹] نیز اثرات ضد باکتریایی بالای اسانس دارچین بر روی چند باکتری گرم مثبت و منفی تایید شده‌اند. فعالیت‌های ضد باکتریایی اسانس‌ها را به ترکیبات فرار نسبت داده‌اند[۲]. در مطالعه حاضر ۶۰/۴۱ درصد E–سینامالدهید و ۳/۱۹ درصد اوجنول مشاهده شد. همچنین سینامیک آلدهید به میزان ۳/۶۳ درصد مشاهده گردید. نتایج مطالعه Shan و همکاران بر روی باکتری های *S. aureus*، *E coli*، *B. cereus*، *L. monocytogenesis* و *S. anatum* نشان داد، E–سینامالدهید خواص ضد باکتریایی قوی با طیف وسیعی از اثرات بازدارندگی در برابر ۵ باکتری آزمایش شده دارد [۲]. مطالعه Ouattara و همکاران [۱۹] نشان داد در اسانس‌هایی که اثرات بازدارندگی کمی داشتند، سینامالدهید و اوجنول نیز وجود نداشته و یا به میزان کمی وجود داشته است لذا عنوان کردند حضور سینامالدهید و اوجنول می‌تواند به طور مستقیم با خواص ضد باکتریایی مرتبط باشد. روش فعالیت اسانس‌ها در جلوگیری از فعالیت ریزسازواره ها متفاوت است. متداول‌ترین ترکیباتی که در اثر بادارندگی دخالت دارند ترکیبات فنولی اسانس‌ها هستند. ترکیبات فنولی آروماتیک مانند تیمول و کارواکرول در مرزنگوش و آویشن، اوجنول در میخک و دارچین و سینامیک آلدهید در دارچین شناسایی شده‌اند. این ترکیبات غشای دو لایه فسفولیپیدی سلول را حساس نموده و موجب افزایش نفوذپذیری و نشت اجزای ضروری داخل سلولی (مانند آهن، ATP، اسیدهای نوکلئیک و اسیدهای

1. Pimento

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

آمینه) می شوند [۲، ۴، ۱۷ و ۲۰] و یا به سیستم آنزیمی باکتری‌ها آسیب می زنند[۲۰ و ۲۲]. اسانس‌های حاوی کارواکرول، اوجنول و تیمول رفتار ضد باکتریایی بالایی دارند [۱۷]. Suresh و همکاران مشاهده نمودند اوجنول اثرات ضد باکتریایی بالاتری در مقابل *Escherichia coli*، *Entrobacter sakazakii* و *Klebsiells pneumoniae* در مقایسه با چند آنتی‌بیوتیک مانند آمپی‌سیلین، اریترومایسین و سولفامتازول داشت [۲۳]. در میان ترکیبات غیر فنولی اسانس‌ها، نشان داده شده که سینامالدهید دارای خواص ضد باکتریایی می باشد و احتمالاً از طریق اتصال گروه کربنیل با پروتئین ها عمل می کند و جلوی فعالیت آمینو اسید دکربوکسیلاز را می گیرد [۱۹ و ۲۰]. مشاهده شده که ترکیب آلیل‌هیدروکسی‌سینامات[1] که کاملا مشابه با سینامالدهید است قادر به مهار *P. fluorescens* از طریق کاهش محتوای انرژی سلولی آن می باشد [۱۹].

در مطالعه ی حاضر اثرات بازدارندگی اسانس پوست دارچین بر باکتری‌های بیماری زا و فسادزای گوشت تحت شرایط ویژه و کنترل شده بررسی گردید. نتایج این تحقیق نشان داد اسانس دارچین و ترکیبات ضد باکتریایی اصلی آن پتانسیل بالایی جهت استفاده به عنوان نگهدارنده طبیعی مواد غذایی دارند. اگر چه اسانس دارچین فعالیت ضد باکتریایی قوی در برابر باکتری‌های بیماری زا و فسادزای گوشت نشان داد، تعمیم این نتایج به سیستم‌های گوشتی باید همراه با احتیاط باشد. باکتری‌های موجود در گوشت ممکن است به طور محکم به سطح گوشت بچسبند و در نتیجه منجر به کاهش اثر اسانس شوند. ترکیبات پروتئینی و چربی گوشت نیز ممکن است با اجزای فعال ترکیبات ضد باکتریایی همانطور که توسط Devlieghere و همکاران گزارش شده، برهم کنش دهند [۲۴]. از طرفی اثری که دارچین ممکن است بر عطر و طعم فرآورده گوشتی داشته باشد را نیز باید با انجام آزمون های حسی مورد توجه قرار داد. لذا با در نظر داشتن همه‌ی این نکات شاید بتوان از اسانس دارچین در ترکیب با فیلم‌ها و پوشش‌هایی که جهت نگهداری فرآورده‌های گوشتی استفاده می شوند در افزایش مدت ماندگاری بهره برد. لذاپیشنهاد می گردد آزمایش های بعدی جهت بررسی اثر این اسانس به تنهایی و یا در ترکیب با سایر پوشش‌ها بر ریز سازواره های طبیعی گوشت ماهی، مرغ و ... و اثر آن در افزایش ماندگاری این محصولات صورت پذیرد.

1. allylhydroxycinnamates

۴- منابع

[1] Mead, P.S., Slutsker, L., Dietz, V., McCaig, L. F., Bresee, J. S., Shapiro, C., Griffin, P. M. and Tauxe, R. V. (1999). Food-related illness and death in the United States. Emerging Infect. Dis.5, 607 - 625.

[2] Shan, B., Cai, Y. Brooks, J. D. and Corke, H. (2007). Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (*Cinnamomum burmannii*): activity against foodborne pathogenic bacteria. J. Agric. Food Chem., 55 (14): 5484 – 5490.

[3] Meng, J.H., Zhao, S.H., Doyle, M.P. and Joseph, S.W. (1998). Antibiotic resistance of *Escherichia coli* O157: H7 and O157: NM isolated from animals, food, and humans. Journal of Food Protection, 61: 1511 - 1514.

[4] Shan, B., Cai, Y., Brooks, J. D. and Corke, H. (2007). The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. International Journal of Food Microbiology, 117: 112 – 119.

[5] Lis-Balchin, M. and Deans, S.G. (1997). Bioactivity of selected plant essential oils against *Listeria monocytogenes*. Journal of Applied Microbiology, 82: 759 - 762.

[6] Smith-Palmer, A., Stewart, J. and Fyfe, L. (1998). Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. Letters in Applied Microbiology, 26: 118-122.

[7] Ranasinghe, L., Jayawardena, B. and Abeywickrama, K. (2002). Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr et L.M.Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

banana. Letters in Applied Microbiology, 35: 208-211.

[8] Alzoreky, N.S. and Nakahara, K.(2003) Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. International Journal of Food Microbiology, 80:223 - 230.

[9] Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., & Lacroix, M. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Food Control, 18: 414 - 420.

[10] Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Molecular Aspects of Medicine, 27: 1 - 93.

[11] Matan, N., Rimkeeree, H., Mawson, A. J., Chompreeda, P., Haruthaithanasan, V., and Parker, M. (2006). Antimicrobial activity of cinnamon and clove oils under modified atmosphere conditions. International Journal of Food Microbiology, 107: 180 - 185.

[12] Zhang, H., Kong, B., Xiong, Y. L. and Sun, X. (2008). Antimicrobial activities of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4°C. Meat Science, in press.

[13] Lebert, I., Begot, C., and Lebert, A. (1998). Growth of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas fragi* in a meat medium as affected by pH (5.8–7.0), water activity (0.97–1.00) and temperature (7–25°C). International Journal of Food Microbiology, 39: 53 - 60.

[14] Sakala, R. M., Kato, Y., Hayashidani, H., Murakami, M., Kaneuchi, C., and Ogawa, M. (2002). *Lactobacillus fuchuensis* sp. nov., isolated from vacuum-packaged refrigerated beef. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 52: 1151 - 1154.

[15] Samelis, J., Kakouri, A., and Rementzis, J. (2000). Selective effect of the product type and the packaging conditions on the species of lactic acid bacteria dominating the spoilage microbial association of cooked meats at 4 °C. Food Microbiology, 17, 329 - 340.

[16] 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. J. Agric. Food Chem, 55: 7879 – 7885.

[17] kim, j.m., marshall, m. r. and wei, c. i. (1995). Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 43:2839 – 2845.

[18] Shahnazi, S., Khalili Sigaroudi, F., Ajni, Y., Yazdani, D., Ahvazi,M. and taghizad, F. (2007). Investigation of chemical composiotion and antimicrobial properties *Thymus trautvetteri* essential oil. Journal of Medicinal plants, 23:80 – 88.

[19] Ouattara, B., Simard, R.E., Holley, R.A., Piette, G.J.-P., Be´gin, A., (1997). Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. International Journal of Food Microbiology, 37: 155 - 162.

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

[21] Holley, R. A. and Patel, D. (2005). Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials (Review). Food Microbiology, 22: 273 - 292.

[22] Wendakoon, C.N. and Sakaguchi, M. (1995). Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. Journal of Food Protection, 58 (3): 280 - 283.

[23] Suresh, P., Ingle, V. K. and Vijayalakshmi, V. (1992). Antibacterial activity of Eugenol in compoarision with other antibiotics. J. food Sci. Thechnol, 29:254 - 256.

[24] Devlieghere, F., Vermeulen, A. and Debevere J.(2004). Chitosan: Antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables, Food Microbiology, 21: 703 - 714.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

Investigation of antibacterial activity cinnamon bark essential oil (*Cinnamomum zeylanicum*) in vitro antibacterial activity against five food spoilage bacteria

Ojagh, S. M. [1], Rezaei, M.[2]*, Razavi, S. H. [3], Hosseini, S. M. H.[4]

1- Ph. D. Student, Dept. of Fisheries, Faculty of Marin Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
2- Associate prof., Dept. of Fisheries, Faculty of Marin Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
3- Associate prof., Dept. of Food Science and Engineering, Collage of Agriculture, University of Tehran
4- Ph. D. Student, Dept. of Food Science and Engineering, Collage of Agriculture, University of Tehran
(Received: 88/7/17 Accepted:88/10/12)

The chemical composition of the essential oil of *Cinnamomum zeylanicum* (Nees) that has been used in food indusries were analysed by GC–MS and 21 components were detected. The major component characterized in the essential oil was E-cinnamaldehyde (60.41%). The other components were linalool (6.46%), Ortho methoxy cinnamic aldehyde (3.63%), βcaryophyllene (3.5%), 1, 8-cineole (3.32%), Eugenol (3.19%) and etc. The antimicrobial activity including minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of cinnamon essential oil were evaluated against five food born pathogenic and spoilage bacteria including *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus sakei*. The MICs of cinnamon essential oil against *L. sakei* and the other bacteria were observed 250 and 500 µg/ml respectively. The MBC of cinnamon essential oil against *Pseudomonas fluorescens* and *Lactobacillus sakei* was 1000 µg/ml. The MBCs for the other bacteria were more than 1500 µg/ml.

Key words: Cinnamon bark essential oil, *Cinnamomum zeylanicum*, Antibacterial activity, Pathogenic bacteria

*Corresponding Author E-Mail address: Rezai_ma@modares.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]