



ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس زنیان بر تعدادی از سویه های میکروبی استاندارد شاخص عفونت و مسمومیت غذایی: مطالعه در شرایط برون تنی

بهروز علیزاده بهبهانی^{۱*}، فخری شهیدی^۲

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

۲- استاد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	اسانس روغنی زنیان بعد از خشک شدن گیاه در سایه، به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر استخراج شد. فعالیت ضد میکروبی اسانس توسط روش انتشار دیسک و چاهک با تهیه رقت های متوالی بررسی شد. به منظور کنترل و استاندارد بودن روش، از سویه های استاندارد میکروبی استفاده شد. نتایج نشان داد که قطر هاله عدم رشد در دو روش دیسک دیفیوژن آگار و چاهک آگار با افزایش غلظت اسانس افزایش پیدا کرد. کم ترین قطر هاله عدم رشد میکروبی در غلظت های مختلف اسانس زنیان مربوط به باکتری گرم منفی <i>سودوموناس ائروژینوزا</i> بود. نتایج آزمون های دیسک و چاهک آگار نشان داد که غلظت های مختلف اسانس زنیان بر باکتری های گرم مثبت نسبت به باکتری های گرم منفی دارای اثر بیشتری بود. بیشترین هاله بازدارندگی در غلظت های مختلف اسانس زنیان مربوط به باکتری گرم مثبت <i>استافیلوکوکوس اورئوس</i> بود. نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس زنیان برای سویه های <i>استافیلوکوکوس اورئوس</i> ، <i>استرپتوکوکوس پیوژنز</i> ، <i>باسیلوس سوبتلیس</i> ، <i>باسیلوس سرئوس</i> ، <i>اشرشیا کلی</i> ، <i>سودوموناس ائروژینوزا</i> و <i>کاندیدا آلبیکنس</i> به ترتیب ۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۸ و ۱ میلی گرم بر میلی لیتر بود. حداقل غلظت کشندگی برای سویه های مذکور به ترتیب ۱، ۲، ۴، ۸ و ۱ میلی گرم بر میلی لیتر بود.
تاریخ دریافت: ۹۹/۰۲/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۴/۲۸	
کلمات کلیدی: زنیان، قطر هاله عدم رشد، باکتری های گرم مثبت و گرم منفی، مقاومت آنتی بیوتیکی.	
DOI: 10.52547/fsct.18.02.04	
* مسئول مکاتبات: B.alizadeh@asnrukh.ac.ir	

۱- مقدمه

قرن‌های متمادی است که بشر از گیاهان دارویی به دلیل دارا بودن ترکیبات با ارزش و مفید برای درمان بیماری‌های عفونی استفاده می‌کند. کتب و آثار قدیمی کشف شده از بشر اولیه نشان می‌دهد که قدمت استفاده از گیاهان همزمان با پیدایش بشر بر کره‌ی خاکی بوده و استفاده از گیاهان برای درمان به آغاز و پیدایش انسان برمی‌گردد. دلیل این امر را مورخان پیدایش بیماری‌های مختلف همزمان با خلق انسان می‌دانند. اسناد به جا مانده از بشر در طول تاریخ نشان دهنده استفاده از گیاهان درمانی ارزشمند در علوم طب و داروسازی است [۱]. شواهد کشف شده از بناهای تاریخی و کتب قدیمی باقی‌مانده از سالیان بسیار دور نشان دهنده ارتباط انسان با جستجوی مواد دارویی و درمانی از طبیعت برای ادامه زندگی می‌باشد. اطلاعات به دست آمده در زمینه مصرف گیاهان دارویی در نتیجه مقابله بشر در برابر با بیماری‌های مختلف به دست آمده است. پژوهشگران مختلف همراه درمان را در استفاده از بخش‌های مختلف گیاه همانند برگ، ساقه، ریشه، دانه و ... ذکر کرده‌اند. امروزه نیز پزشکی مدرن از طیف گسترده‌ای از داروها با منبع گیاهی که تعدادی زیادی از آنها توسط تمدن قدیمی کشف و شناخته شده‌اند استفاده می‌کنند و همچنان پژوهش‌ها در این زمینه ادامه دارد [۲].

هر چند استفاده از داروهای شیمیایی با تمام فواید و کارایی که دارد، اثرات جانبی نامطلوب فراوانی را نیز به همراه داشته و کمتر ماده خالص شیمیایی وجود دارد که حاوی اثر سوء نباشد. در مقابل مضرات ترکیبات و داروهای شیمیایی، اجزای مؤثر موجود در گیاهان دارویی به دلیل همراه بودن با سایر مواد، از یک حالت تعادل بیولوژیکی برخوردار بوده و در بدن انباشته نمی‌شوند. از این رو گیاهان دارویی، اثرات جانبی ایجاد نکرده و از این رو برتری قابل قبولی نسبت به داروهای سنتزی و شیمیایی دارا می‌باشند [۳].

گیاهان دارویی دارای ترکیبات و اجزای زیاد و ارزشمندی از مولکول‌های ناشناخته و جدیدی با پتانسیل ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. مطابق با تعریف سازمان بهداشت جهانی، گیاهی به عنوان گیاه دارویی در نظر گرفته می‌شود که یک یا چند بخش آن حاوی اجزایی باشد که بتوان از آنها در اهداف درمانی

استفاده کرده و یا به عنوان پیش‌ساز داروهای شیمیایی به صورت نیمه‌سنتزی در گیاه حضور داشته باشد. طبق آمار سازمان جهانی بهداشت تقریباً ۸۰ درصد از مردم در سرتاسر جهان برای مراقبت‌های بهداشتی اولیه از طب سنتی بهره می‌برند. قسمت‌های مختلف گیاهان دارویی شامل برگ، ریشه، ساقه، پوست درخت، گل، میوه، ساقه زیرزمینی و دانه می‌باشد که در درمان و کنترل بیماری‌های مختلف مؤثر بوده و حاوی ترکیباتی می‌باشند که از لحاظ پزشکی فعال می‌باشند [۴].

اسانس‌ها و عصاره‌های به دست آمده از گیاهان دارویی دارای ترکیبات زیست فعال می‌باشند که می‌توان از آنها به عنوان منبع مواد ضد باکتریایی و ضد قارچی در مقابل طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌های عامل عفونت و مسمومیت عمل نمایند. با در نظر گرفتن پتانسیل ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی مؤثر در اسانس‌های گیاهی، می‌توان از آنها به عنوان جایگزین مواد شیمیایی در صنایع غذایی و داروسازی بهره برد [۵].

زنیان با نام *Carum copticum* از نظر گیاه شناسی، گیاهی است یکساله، علفی و متعلق به خانواده Umbellifers می‌باشد. این گیاه در ایران، مصر و هندوستان به صورت خودرو رشد می‌کند. در طب سنتی از عصاره زنیان در التیام درد استفاده می‌شود. اهمیت استفاده از گیاه زنیان به دلیل ترکیبات ارزشمند موجود در اسانس آن می‌باشد. طبق مطالعات پیشین اجزای اصلی تشکیل دهنده اسانس شامل: تیمول، ترپینن، گروه پینن، گروه سیمین و میرسن می‌باشد [۶ و ۷].

هدف از این پژوهش ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس زنیان بر تعدادی از باکتری‌های استاندارد شاخص عفونت و مسمومیت غذایی در شرایط برون‌تنی بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- جمع آوری گیاه و استخراج اسانس

گیاه زنیان در ابتدای دوره رویشی جمع آوری شد، سپس این گیاه با همکاری هرباریوم و آزمایشگاه سیستماتیک گیاهی پژوهشگاه علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد شناسایی و تایید گونه گردید. زنیان جمع آوری شده برای استخراج اسانس و سایر آزمون‌های ضد میکروبی به آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی صنعتی

۲-۴- روش چاهک آگار

در روش چاهک در آگار ابتدا غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۲، ۴ و ۸ میلی گرم بر میلی لیتر از اسانس زیناساخته شد. غلظت‌های ساخته شده از فیلتر سرسرنگی جهت استریل شدن عبور داده شده و در ظروف تمیز استریل ریخته شد. در ادامه، با استفاده از سمپلر ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون نیممکفارلند در سه نقطه از سطح محیط کشت مولر هیتون آگار و سابروز دکستروز آگار به ترتیب برای باکتری‌ها و قارچ ریخته و توسط اسپریدر L شکل بر سطح محیط کشت پخش گردید. تعداد پنج چاهک با قطر شش میلی متر به وسیله انتهای پست پاستور در سطح محیط کشت ایجاد شد. داخل چاهک‌ها با سمپلر ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های تهیه شده ریخته شد. پس از گرمخانه گذاری محیط کشت حاوی باکتری و قارچ به ترتیب در دمای ۳۷ و ۲۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ و ۷۲ ساعت، هاله بازدارندگی یا عدم رشد در محیط اطراف چاهک‌ها با در نظر گرفتن قطر چاهک توسط خط‌کش اندازه گیری و به صورت میلی متر گزارش شد [۱۱].

۲-۵- رقیق سازی در چاهک (میکروداپلوشن

براث)

غلظت‌های متوالی ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸ و ۲۵۶ میلی گرم بر میلی لیتر از محلول مادر که حاوی غلظت ۵۱۲ میلی گرم بر میلی لیتر بود تهیه شد. برای بررسی حداقل غلظت مهارکنندگی از روش رقیق سازی در چاهک (میکروبراث داپلوشن) استفاده شد. به هر خانه از پلیت چاهک ۹۶ خانه‌ای، ۲۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف اسانس زینانو ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی (معادل نیم مک فارلند) اضافه شد. پس از انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت برای باکتری‌ها و ۲۷ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت برای قارچ، ۲۰ میکرولیتر معرف تری فنیل تترازولیوم کلراید پنج درصد، به هر خانه افزوده شد. خانه‌هایی که در آن میکروارگانیزم بتواند رشد کند، تغییر رنگ قرمز تیره یا ارغوانی در آن قابل مشاهده است. اولین خانه‌ای که در آن رشد میکروبی روی نداده و تغییر رنگ مشاهده نشد غلظت آن خانه به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی رشد ثبت شد [۱۲].

و فناوری‌های نوین، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد انتقال یافت. مقدار ۵۰ گرم از زینان همراه با ۷۵۰ میلی لیتر آب مقطر به دستگاه کلونجر شیشه‌ای ساخت شرکت آداک که اساس کار آن تقطیر آبی است منتقل و به مدت ۳ ساعت با سرعت تقطیر یک میلیلیتر در دقیقه عمل اسانس گیری انجام پذیرفت [۸].

۲-۲- تهیه سوسپانسیون میکروبی استاندارد

۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش، تلقیح از کشت ذخیره *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853، *Bacillus cereus*، *Escherichia coli* ATCC 25922، *Bacillus subtilis* ATCC 23857، ATCC 14579، *Staphylococcus aureus* ATCC 25923، *Candida albicans* ATCC 5027، *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 (سویه‌های باکتری) و سابروز دکستروز آگار (سویه قارچ) انجام شد. سوسپانسیون غلیظ میکروبی با استفاده از محلول رینگر، پس از رشد باکتری بر سطح محیط کشت شیب دار آگار تهیه گردید. کدورت سوسپانسیون حاصل توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر اندازه گیری شد و تا برابر شدن کدورت محلول با کدورت استاندارد ۰/۵ مک فارلند، توسط محلول رینگر رقیق گردید [۹].

۲-۳- روش دیسک دیفیوژن آگار

در روش دیسک دیفیوژن ابتدا غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۲، ۴ و ۸ میلی گرم بر میلی لیتر از اسانس زینان ساخته شد. غلظت‌های ساخته شده از فیلتر سرسرنگی جهت استریل شدن عبور داده شده و در ظروف تمیز استریل ریخته شد. در ادامه، با استفاده از سمپلر ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون نیممکفارلند در سه نقطه از سطح محیط کشت مولر هیتون آگار و سابروز دکستروز آگار به ترتیب برای باکتری‌ها و قارچ ریخته و توسط اسپریدر L شکل بر سطح محیط کشت پخش گردید. برای بررسی اثر ضد میکروبی، دیسک‌های کاغذی بلانک (ساخت پادتن طب) با فاصله معین از یکدیگر و از لبه پلیت روی آگار قرار داده شدند. ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های اسانس زینان روی دیسک‌ها اضافه شد. سپس محیط کشت حاوی باکتری و قارچ به ترتیب در دمای ۳۷ و ۲۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ و ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری شدند. با اندازه گیری قطر هاله‌های تشکیل شده در اطراف دیسک‌ها، نتایج مورد بررسی قرار گرفت [۱۰].

۲-۶- تعیین حداقل غلظت کشندگی

از خانه تعیین شده به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی به سمت غلظت‌های بالاتر به میزان ۱۰۰ میکرولیتر بر پلیت‌های حاوی محیط کشت مول رهیتون آگار برای باکتری‌ها و به محیط کشت سابرود دکستروز آگار برای قارچ کشت داده شد و سپس محیط‌های کشت گرمخانه گذاری شدند. اولین پلیتی که فاقد کلنی بود، غلظت آن پلیت به عنوان حداقل غلظت کشندگی اسانس زنیان برای میکروارگانیزم شاخص در نظر گرفته شد [۱۳].

۲-۷- آنالیز آماری

میانگین‌های به دست آمده برای آنالیزهای آماری استفاده شد. معنی دار بودن نتایج آنالیز واریانس در سطح پنج درصد و آزمون دانکن انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با کمک نرم افزار SPSS (Version 18.0, SPSS Inc., Chicago, USA) انجام پذیرفت.

۳- نتایج و بحث

محاسبه راندمان اسانس زنیان نشان داد که بعد از طی سه ساعت از ۵۰ گرم پودر گیاه زنیان مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر اسانس به دست آمد. بر این اساس راندمان حجمی- وزنی اسانس زنیان برابر با ۱ درصد بود. با توجه به نوع واریته، شرایط آب و هوایی، مرحله رشد یا زمان جمع آوری گیاه و رویشگاه، ترکیبات تشکیل دهنده اسانس و میزان بازدهی آن متفاوت است. این نکته از آن جهت حائز اهمیت می‌باشد که ترکیبات شناسایی شده در گیاهان در مناطق مختلف با یکدیگر متفاوت می‌باشند. ترکیبات موجود در اسانس گیاهان ناشی از تفاوت‌های اکولوژیکی مانند؛ طول و عرض جغرافیایی، ارتفاع، دما، رطوبت، اقلیم و خاک، مسیرهای متابولیکی و بیوسنتز مواد مؤثره در این گیاهان می‌باشد و در نتیجه متابولیت‌های ثانویه متنوعی تحت شرایط محیطی متفاوت بیوسنتز می‌شود. استفاده صحیح از گیاهان دارویی، مستلزم اطلاعات دقیق علمی و شناخت ترکیبات شیمیایی موجود در آن‌ها است، زیرا وجود ترکیبات شیمیایی است که باعث اثر درمانی در گیاه می‌گردد [۱۴].

نتایج حاصل از بررسی اثر ضد میکروبی اسانس زنیان به منظور بررسی تعیین قطر هاله بازدارندگی یا عدم رشد به روش دیسک

دیفیوژن آگار در شکل ۱، نشان داده شده است. نتایج حاصل از بررسی اثر ضد میکروبی اسانس زنیان به روش دیسک دیفیوژن نشان داد که اسانس زنیان در غلظت‌های کم، تاثیری بر باکتری گرم منفی *Sordomonas aurorinosa* و *Aerobacter* نداشت. نتایج نشان داد که بیشترین قطر هاله عدم رشد روی باکتری‌های گرم مثبت *Staphylococcus aureus* بود، به طوری که در غلظت ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر قطر هاله عدم رشد باکتری *Staphylococcus aureus* ۱۴/۴ میلی‌متر بود. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت اسانس زنیان، قطر هاله عدم رشد برای میکروارگانیزم‌های مورد مطالعه افزایش یافت. اسانس زنیان بر باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و مخمر موثر بود، اما میزان اثر بخشی آن بسته به نوع میکروارگانیزم (گرم مثبت، گرم منفی و مخمر) متفاوت بود. بر اساس پژوهش‌های انجام شده باکتری‌های گرم مثبت نسبت به اسانس‌های گیاهی از باکتری‌های گرم منفی حساس‌تر هستند. دلیل این امر وجود غشاهای خارجی احاطه کننده دیواره سلولی در باکتری‌های گرم منفی این باکتری‌ها در برابر اثر ضدباکتریایی اسانس‌ها حساسیت کمتری از خود نشان می‌دهند (دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی پیچیده‌تر از دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت است). این غشاء خارجی انتشار مواد آبریز از میان این لایه پوشاننده لیپو پلی ساکارییدی را محدود می‌کند [۱۵ و ۱۶].

مخمرها جز دسته قارچ‌ها می‌باشند و از نظر نیاز به اکسیژن جز دسته هوازی هستند. از آنجایی که *Candida albicans* به دلیل هوازی بودن در سطح محیط کشت سابرود دکستروز آگار لذا به صورت مستقیم بخار اسانس را جذب کرده و رشد آن در سطح پتری دیش محدود و کنترل می‌گردد. این در حالی است که اثر ضد میکروبی بر باکتری‌ها گرم مثبت و گرم منفی وابسته به تجمع بخار اسانس درون محیط کشت است که عوامل دیگری همچون نوع محیط کشت، pH، غلظت و قطر نیز بر آن موثر می‌باشد [۱۴]. معمولاً نمی‌توان خواص ضد میکروبی گیاهان را مربوط به یک نوع متابولیت ثانویه دانست، بلکه به همکاری ترکیبات موجود در گیاه نسبت داده می‌شود. ترکیبات فیتوشیمیایی با اثر ضد میکروبی به چند گروه تقسیم می‌شوند که ترکیبات فنلی و پلی فنول‌ها شامل: فنل‌های ساده و اسید فنولیک، کینون‌ها، فلاونوئیدها و تانن‌ها می‌باشند [۱۴]. از آنجا که اسانس زنیان حاوی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی است بنابراین بخشی از فعالیت ضد میکروبی این گیاه را می‌توان به این ترکیبات نسبت داد.

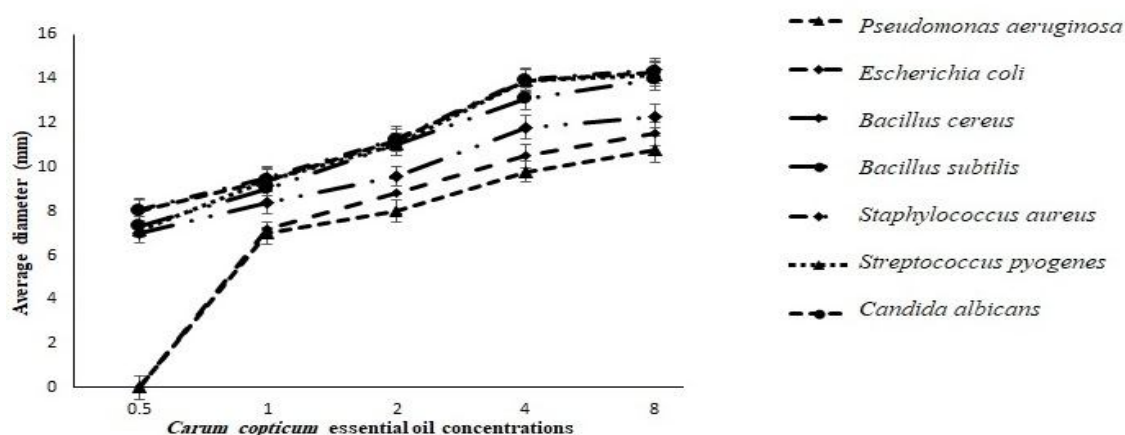


Fig 1 Mean inhibition zone diameter (mm) of *Carum copticum* essential oil on pathogenic microorganisms (disc diffusion agar)

حالت بیشتر از روش دیسک دیفیوژن بود. به نظر می‌رسد حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به اسانس زنیان مربوط به تفاوت در ساختار دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی باشد. باکتری‌های گرم مثبت در دیواره سلولی خود دارای ترکیب موکوپپتیدی به نام مورن بوده، در حالی که باکتری‌های گرم منفی تنها لایه نازکی از موکوپپتید مورن دارند و قسمت اعظمی از ساختار دیواره در آن‌ها لیپوپروتئین و لیپوپلی ساکارید است. در نتیجه مقاومت بیشتر باکتری‌های گرم منفی را می‌توان به حضور غشا فسفولیپیدی خارجی که تقریباً نسبت به ترکیبات چربی دوست غیر قابل نفوذ است نسبت داد [۱۴].

نتایج حاصل از بررسی اثر ضد میکروبی اسانس زنیان به روش چاهک در آگار در شکل ۲، نشان داده شده است. این نتایج نشانگر این است که اسانس زنیان در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر باکتری‌های گرم منفی *سودوموناس اتروژینوزا* موثر نبوده و نتوانسته‌اند عدم رشد ایجاد نمایند. بررسی نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که فعالیت ضد میکروبی اسانس زنیان وابسته به غلظت می‌باشد، به نحوی که با افزایش غلظت اسانس قطر حاله بازدارندگی به طور معنی‌داری افزایش یافت. به طور کلی مقایسه نتایج بین دو روش دیسک دیفیوژن و چاهک در آگار نشان داد که با توجه به اینکه در روش چاهک در آگار اسانس زنیان به طور مستقیم با میکروارگانیسم‌های در تماس می‌باشد [۱۱]، در نتیجه فعالیت ضد میکروبی اسانس زنیان در این

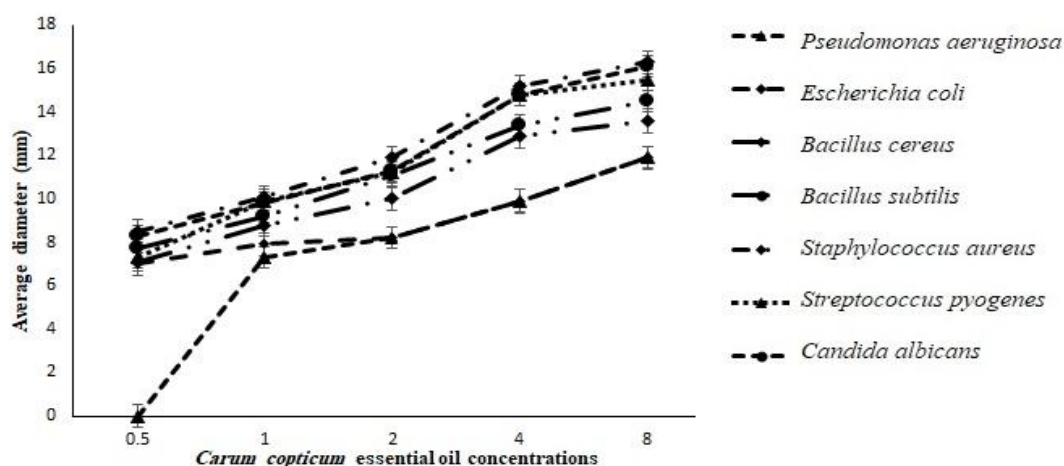


Fig 2 Mean inhibition zone diameter (mm) of *Carum copticum* essential oil on pathogenic microorganisms (well diffusion agar)

۴- نتیجه گیری

نتایج این پژوهش آزمایشگاهی نشان داد که اسانس زنیان دارای فعالیت ضد میکروبی بر سویه‌های استاندارد عامل عفونت و مسمومیت غذایی در شرایط آزمایشگاهی بود. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت اسانس زنیان قطر هاله عدم رشد به طور معنی‌داری افزایش یافت. نتایج نشان داد که اثر اسانس زنیان بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی بود. پیشنهاد می‌شود با توجه به پتانسیل بالای ضد میکروبی اسانس و استفاده سنتی از این گیاه در مواد غذایی و همچنین طب سنتی مطالعات تکمیلی‌تری در زمینه استفاده از اسانس این گیاه در ماده غذایی و مدل‌های حیوانی صورت گیرد.

۵- تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از "بنیاد ملی نخبگان" جهت حمایت‌های مادی و معنوی در اجرای طرح پژوهشی دوره پس‌دکتری (جایزه شهید چمران) صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

۶- منابع

- [1] Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 1999;12(4):564-82.
- [2] Petrovska BB. Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy Reviews*. 2012;6(11):1-5.
- [3] Khodaei Motlagh, M., Kazemi, M., Ghasemi, H. A., Farahani, K., Hossein, A., Yahyaei, M., Taddei, S. Antibacterial effect of medicinal plant essence (*Thymus vulgaris*) on major bacterial mastitis pathogen in vitro. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*. 2014;2(2): 286-94.
- [4] Doughari JH. Phytochemicals: extraction methods, basic structures and mode of action as potential chemotherapeutic agents: INTECH Open Access Publisher Rijeka, Croatia; 2012.
- [5] Negi, P. S. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. *International*

نتایج مربوط به حداقل غلظت مهارکنندگی به روش های میکرودابیلوشن برات در جدول ۱، آورده شده است. همانطور که مشاهده می شود دامنه حداقل غلظت بازدارندگی رشد اسانس زنیان بر میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه بین ۰/۵ تا ۸ میلی گرم بر میلی لیتر و بسته به نوع میکروارگانیسم متفاوت بود. نتایج نشان داد باکتری گرم منفی *سودوموناس ائروژینوزا* با حداقل غلظت مهارکنندگی برابر با ۸ میلی گرم بر میلی لیتر بیشترین مقاومت و باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* با غلظت ۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر کم ترین مقاومت را در برابر اسانس زنیان از خود نشان دادند. نتایج مربوط به حداقل غلظت کشندگی اسانس زنیان در در جدول ۱، آورده شده است.

Table 1 Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal/fungicidal concentration (MBC/MFC) of the *Carum copticum* essential oil on pathogenic microorganisms

Microorganism	MIC (mg/mL)	MBC/MFC (mg/mL)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	8
<i>Escherichia coli</i>	4	4
<i>Bacillus cereus</i>	2	4
<i>Bacillus subtilis</i>	2	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.5	1
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	2
<i>Candida albicans</i>	1	1

حداقل غلظت کشندگی تکمیل کننده آزمون تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد می باشد. نتایج نشان داد که حداقل غلظت کشندگی تمامی میکروارگانیسم ها برابر و یا بیشتر از حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد می باشد. دامنه حداقل غلظت کشندگی رشد اسانس زنیان بر میکروارگانیسم ها مورد مطالعه، بین ۱ تا ۸ میلی گرم بر میلی لیتر بود و بسته به نوع میکروارگانیسم متفاوت بود. نتایج نشان داد باکتری گرم منفی *سودوموناس ائروژینوزا* با حداقل غلظت مهارکنندگی برابر با ۸ میلی گرم بر میلی لیتر بیشترین مقاومت را در برابر اسانس زنیان از خود نشان داد، در حالی که باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و مخمر *کاندیدا آلبیکانس* با غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر کم ترین مقاومت را در برابر اسانس زنیان از خود نشان داد.

- Vitro. Qom University of Medical Sciences Journal. 2019; 13 (2) :57-69
- [12] Sureshjani MH, Yazdi FT, Mortazavi SA, Behbahani BA, Shahidi F. Antimicrobial effects of *Kelussiaodoratissima* extracts against food borne and food spoilage bacteria" in vitro. Journal of Paramedical Sciences. 2014;5(2):115-20.
- [13] Alghooneh A, Behbahani BA, Noorbakhsh H, Yazdi FT. Application of intelligent modeling to predict the population dynamics of *Pseudomonas aeruginosa* in Frankfurter sausage containing *Saturejabachtiarica* extracts. Microbial pathogenesis. 2015; 85:58-65.
- [14] Behbahani BA, Shahidi F, Yazdi FT, Mortazavi SA, Mohebbi M. Antioxidant activity and antimicrobial effect of tarragon (*Artemisia dracunculus*) extract and chemical composition of its essential oil. Journal of Food Measurement and Characterization. 2017;11(2):847-63.
- [15] 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.
- [16] Alizadeh Behbahani B, Falah F, Lavi Arab F, Vasiee M, Tabatabaei Yazdi F. Chemical Composition and Antioxidant, Antimicrobial, and Antiproliferative Activities of *Cinnamomum zeylanicum* Bark Essential Oil. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2020;2020: 1-8.
- Journal of Food Microbiology. 2012; 156(1): 7-17.
- [6] Thangam C, Dhananjayan R. Antiinflammatory potential of the seeds of *Carum copticum* Linn. Indian Journal of Pharmacology. 2003;35(6):388-91.
- [7] Goudarzi GR, Saharkhiz M, Sattari M, Zomorodian K. Antibacterial activity and chemical composition of *Ajowan* (*Carum copticum* Benth. & Hook) essential oil. 2011; 13: 203-8.
- [8] Talebpour Z, Najafi S, Sonboli A, Firozy M, Khosroshahi M. Comparison of chemical compositions of the *Tanacetum sonbolii* essential oils using head space sorptive extraction and hydrodistillation methods. Journal of Medicinal Plants. 2013; 4 (48) :150-9. [Full text in Persian].
- [9] Tabatabaei Yazdi F, Behbahani BA, Mortazavi A. Investigating the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of the *Lavandula stoechas* L. and *Rosmarinus officinalis* L. extracts on pathogen bacterias "in vitro". Journal of Paramedical Sciences (JPS). 2014;5(2):91-101.
- [10] Alizadeh Behbahani B, Imani Fooladi AA. Development of a novel edible coating made by Balangu seed mucilage and Feverfew essential oil and investigation of its effect on the shelf life of beef slices during refrigerated storage through intelligent modeling. Journal of food safety. 2018;38(3):e12443.
- [11] Noshad M, Alizadeh Behbahani B. Identification of Chemical Compounds, Antioxidant Activity, and Antimicrobial Effect of *Elettaria cardamomum* Essential Oil on a Number of Pathogenic Microorganisms in



Scientific Research

Evaluation of the antimicrobial effect of *Carum copticum* essential oil on some standard microbial strains, indices of infection and food poisoning: an *in vitro* study

Alizadeh Behbahani, B. ^{1*}, Shahidi, 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. Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p>Article History:</p> <p>Received 14 May 2020 Accepted 18 July 2020</p> <p>Keywords:</p> <p><i>Carum copticum</i>, Inhibition zone diameter, Gram-positive and Gram-negative bacteria, Antibiotic resistance.</p> <p>DOI: 10.52547/fst.18.02.04</p> <p>*Corresponding Author E-Mail: B.alizadeh@asnrukh.ac.ir</p>	<p><i>Carum copticum</i> Essential oil (CCEO) after drying in the shade, to hydro-distillation by a Clevenger apparatus was extracted. The antimicrobial activity of CCEO were evaluated dilution preparation by disc diffusion method and well diffusion agar. In order to standardize the method of standard microorganism (ATCC) were used. The results showed that the inhibition zone diameter increased in the two methods of diffusion disk agar and well diffusion agar by increasing the essential oil concentration. The smallest inhibition zone diameter against different CCEO concentrations belonged to Gram-negative bacteria (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>). The results of WAD and DDA demonstrated that Gram-positive bacteria were more sensitive to TPEO than the Gram-negative ones. The most inhibition zone diameter against different CCEO concentrations belonged to Gram-positive bacteria (<i>Staphylococcus aureus</i>). The minimum inhibitory concentration (MIC) of CCEO for <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Streptococcus pyogenes</i>, <i>Bacillus subtilis</i>, <i>Bacillus cereus</i>, <i>Escherichia coli</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> and <i>Candida albicans</i> was 0.5, 1, 2, 2, 4, 8 and 1 mg/ml respectively. The minimum bactericidal/fungicidal concentration (MBC/MFC) for microorganisms was 1, 2, 2, 4, 4, 8 and 1 mg/ml respectively.</p>