

اثر ضدبacterیایی اسانس سیر بر تعدادی از ریزاندامگان بیماری‌زای غذازاد، تعیین ترکیبات شیمیایی و فعالیت آنتیاکسیدانی آن

امیرحسین انصاری‌پور^۱، محمد امین مهرنیا^{۲*}، محمد نوشاد^۲، حسن بروزگر^۳،
بهروز علیزاده بهبهانی^۲

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاٹانی، ایران
- ۲- استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاٹانی، ایران
- ۳- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاٹانی، ایران
(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۲/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۳/۱۹)

چکیده

در این پژوهش، اثر ضدبacterیایی اسانس سیر با روش‌های انتشار در آگار به کمک دیسک، رقیق‌سازی در مایع (حداقل غلظت بازدارندگی) و حداقل غلظت کشتندگی بر تعدادی از ریزاندامگان بیماری‌زای غذازاد (سودوموناس آئروژینوزا، اشرشیا کلی، لیستریا اینوکوا و استافیلکوکوس اورئوس) در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. ترکیبات شیمیایی اسانس سیر با دستگاه کروماتوگرافی گازی شناسایی شد. فعالیت آنتیاکسیدانی، فنل کل و فلاونوئید، به ترتیب با روش‌های کاهش ظرفیت رادیکالی، فولین - سیکالت و رنگ سنجی آلومینیوم تری‌کلرید تعیین گردید. نتایج نشان داد که حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس سیر برای سودوموناس آئروژینوزا، اشرشیا کلی، استافیلکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا به ترتیب ۳۲، ۱۲۸، ۱۲۸ و ۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. با افزایش غلظت اسانس سیر قطر هاله عدم رشد افزایش یافت. بیشترین هاله عدم رشد با قطر $31/70 \pm 0/55$ میلی‌متر مربوط به استافیلکوکوس اورئوس بود. نتایج نشان داد که باکتری‌های گرم منفی اشرشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا مقاوم ترین باکتری‌ها در برابر اسانس سیر بودند. نتایج حاصل از شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس سیر نشان داد که، دی آلیل دی سولفید با $40/3$ درصد بیشترین ترکیب بود. میزان فنول کل، فلاونوئید و فعالیت آنتیاکسیدانی اسانس سیر به ترتیب برابر با $0/53$ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم، $0/24$ میلی‌گرم کوثرسیتین در گرم و 80 درصد بود. نتایج این پژوهش نشان داد که گیاه سیر می‌تواند به عنوان یک منبع بالقوه جهت تولید ترکیبات دارویی و نگهدارنده طبیعی در محصولات غذایی مورد استفاده قرار گیرد.

کلید واژگان: اسانس سیر، فنول کل، کاهش ظرفیت رادیکالی، هاله عدم رشد.

*مسئول مکاتبات: Mehrnia@asnrukh.ac.ir

می‌شوند. سودوموناس آئروژنوزا^۸ باکتری گرم منفی و بیماری‌زا بوده و عامل بیماری‌هایی مثل عفونت زخم، ذات الـریه، عفونت معده و سیستم تنفسی می‌شود به گونه‌ای که اگر به موقع این عفونت‌ها درمان نشوند، منجر به مرگ خواهد شد. استافیلوكوکوس اورئوس^۹، باکتری گرم مثبت و بیماری‌زا می‌باشد. به دلیل اینکه این باکتری به مرور زمان نسبت به آنتی بیوتیک‌ها مقاوم گردیده است، لذا کشف راه‌های جدید برای مقابله با این باکتری بسیار حائز اهمیت است [۱۰-۱۲]. لیستریا مونوستیوژنر^{۱۰}، باکتری گرم مثبت است که می‌تواند غلظت ۱۰ درصد نمک و خشکی را تحمل کند و منابع آب و غذا بهترین مکان‌ها برای رشد و تکثیر این باکتری می‌باشند. این باکتری می‌تواند بیماری‌های خطرناکی مثل سپتی سمی^{۱۱}، آنسفالیت^{۱۲} و سقط جنین را ایجاد کند [۱۳-۱۵].

تاکنون مطالعات اندکی در مورد شناسایی ترکیبات شیمیایی و اثر ضد میکروبی اسانس سیر در جهان و به ویژه ایران انجام شده است. اکثر پژوهش‌های صورت گرفته، اثر ضد میکروبی عصاره سیر را مورد بررسی قرار داده‌اند و پژوهش‌های بسیار اندکی در مورد اثر ضد میکروبی اسانس سیر انجام شده است. لذا هدف از این پژوهش، شناسایی ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس روغنی سیر با دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی، تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنول کل، فلاونونئید و ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی اسانس به روش‌های انتشار در آگار به کمک دیسک (دیسک دیفیوژن)، رقیق سازی در مایع (حداقل غلظت بازدارندگی) و حداقل غلظت کشندگی اشرشیا کلی، لیستریا اینوکوا و استافیلوكوکوس اورئوس، بر تعدادی از ریزاندامگان بیماری‌زایی (سودوموناس آئروژنوزا، اشرشیا کلی، لیستریا اینوکوا و استافیلوكوکوس اورئوس) در شرایط آزمایشگاهی بود.

۲- مواد و روش‌ها

این پژوهش تجربی از آبان ماه ۱۳۹۷ تا اسفندماه ۱۳۹۷، در آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی و شیمی گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شد.

۱- مقدمه

به دلیل افزایش بیماری‌های عفونی و مقاومتی که میکروگانیسم‌های بیماری‌زا نسبت به داروهای شیمیایی به مرور زمان از خود نشان داده‌اند و از سویی دیگر با توجه به عوارض جانبی و هزینه‌های درمانی بالایی که داروهای شیمیایی و سنتزی به جوامع بشری تحمیل می‌کنند، در دهه‌های اخیر استفاده از گیاهان دارویی با منشا طبیعی رایج شده است [۱ و ۲]. امروزه بیماری‌هایی که از طریق غذا به انسان منتقل می‌شود یک معضل اساسی را ایجاد کرده و از طرفی عوارض نگهدارنده‌ها سنتزی که به غذا اضافه می‌شوند، باعث بدینی انسان‌ها نسبت به این نگهدارنده‌ها شده است. لذا محققین بسیاری را وادار به پژوهش‌های متوالی برای جایگزینی این نگهدارنده‌ها با ترکیبات گیاهی و طبیعی که همان نتایج، اما دارای عوارض جانبی کمتری‌هستند، کرده است. از این ترکیبات می‌توان به اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی اشاره کرد که این اسانس‌ها، ترکیباتی فرار و معطر هستند و دارای اثر ضد میکروبی مناسبی می‌باشند [۳].

سیر با نام علمی *Allium sativum* متعلق به خانواده Amaryllidaceae است. در طب سنتی از این گیاه جهت درمان بیماری‌های عفونی استفاده می‌شود. دست نوشته‌ها و کتب قدیمی بهجا مانده از مردمان سرزمین ایران چنین نشان می‌دهد که این گیاه در درمان بیماری‌های بسیاری از جمله بیماری‌های قلبی، کلسترول خون، ورم مفاصل، تب، سرفه و سردرد استفاده می‌شده است [۴]. در سیر ترکیبات گوگردی وجود دارد که مهمترین جزء آن آلیسین^۱ نام دارد، این ترکیب ریزاندامگان بیماری‌زا را تحت تاثیر قرار داده و باعث درمان بیماری‌ها می‌شود [۵-۷]. پژوهش‌های مختلف نشان می‌دهد که گروهیدر آلیسین وجود دارد تحت عنوان تیوسولفونات^۲ که این گروه به پروتئین متصل شده و باعث انهاشم آنزیم‌های ریزاندامگان می‌شود [۸]. آرورا و کاوری^۳ (۱۹۹۹)، گزارش دادند که اسانس سیر بیشتر بر باکتری‌های گرم مثبت اثر ضد میکروبی دارد [۹].

اشرشیا کلی^۴ باکتری میله‌ای شکل و گرم منفی از خانواده انتروباکتریا سه^۵ است. اکثر سویه‌های این باکتری باعث ایجاد عفونت‌هایی همانند، عفونت ادراری، منثربیت^۶ و پریتونیت^۷

1. Allicin

2. Thiosulfinate

3. Arora & Kaury

4. *Escherichia coli*

5. Enterobacteriaceae

6. Meningitis

7. Peritonitis

8. *Pseudomonas aeruginosa*

9. *Staphylococcus aureus*

10. *Listeria monocytogenes*

11. Septicemia

12. Encephalitis

فعالیت ضدمیکروبی انسانس سیر بر تعدادی از ریزاندامگان بیماری‌زا در شرایط آزمایشگاهی استفاده شد. در زیر به طور خلاصه روش‌های ضدمیکروبی آورده شده است.

۱-۴-۲- انتشار در آگار به کمک دیسک (دیسک دیفیوژن)

در این روش ابتدا محیط کشت مولر هیتون آگار تهیه، با اتوکلاو استریل و به پتری دیش‌ها منتقل شد. با استفاده از فیلتر سر سرنگی (قطر ۲۲/۰ میکرون)، ۳ گرم انسانس سیر استریل شد و غلظت‌های ۳۲/۵، ۳۲/۰، ۱۵۰، ۷۵ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر تهیه گردید. دیسک‌های بلانک^{۱۸} به مدت ۲۰ دقیقه درون غلظت‌های مختلف انسانس سیر خیسانده شد. از سوسپانسیون‌های میکروبی که استاندارد بودن آن‌ها با محلول نیم مکفارلن‌تاپیدشده بود، ۲۰ میکرولیتر برداشته و به صورت چمنی کشت گردید. درون هر پتری دیش دو دیسک با غلظت متفاوت با فاصله از یکدیگر گذاشته و با استفاده از پنس استریل در محل مناسب (فاصله از دیواره پتری دیش) ثابت شد. برای باکتری‌های اشرشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا از دیسک آنتی-بیوتیک نالدیکسیک اسید^{۱۹} و برای باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا از دیسک آنتی بیوتیک جنتامایسین^{۲۰} که در مرکز پلیت قرار گیرد استفاده شد. ظرف‌های کشت شده حاوی هر یک از دیسک‌های آغشته به انسانس سیر جهت مرحله پیش انتشار به یخچال منتقل گردید (به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد). در نهایت ظرف‌های کشت شده در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه-گذاری شدند. پس از طی ۲۴ ساعت از زمان گرمخانه-گذاری هاله عدم رشد میکروبی اطراف دیسک‌ها، با خطکش اندازه‌گیری شد [۱۷ و ۱۸].

۱-۴-۲- حداقل غلظت بازدارندگی^{۲۱}

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) مطابق با روش علیزاده بهبهانی و ایمانی فولادی (۲۰۱۸)، انجام پذیرفت. به طور خلاصه ابتدا غلظت‌های مختلف (۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۱۲۸ و ۰/۲۵۶ میلی‌گرم بر میلی لیتر) انسانس سیر از محلول مادر با غلظت ۰/۱۲ میلی‌گرم بر میلی لیتر تهیه شد. درون هر یک از چاهک‌های میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای ۱۰۰ میکرولیتر ماده ضدمیکروب (انسانس سیر) و ۱۰ میکرولیتر از هر یک از سویه‌های میکروبی بیماری‌زا (مطابق با استاندارد نیم مکفارلن‌تاپید).

۱-۲- تهیه مواد شیمیایی و محیط‌های کشت

میکروبی

مواد شیمیایی شامل دی متیل سولفوكساید^{۲۲} (مرک آلمان)، تؤین ۸۰ درصد (سامچون کره)، تری فنیل ترازوکلراید (سیگما آلداریچ)، گالیک اسید (سیگما آلداریچ)، ۲ و ۷۰ دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل^{۲۳} (سیگما آلداریچ)، الكل درصد (مرک آلمان) بود. دیسک‌های آنتی بیوتیک جنتامایسین و نالدیکسیک اسید (پادتن طب)، پلیت ۹۶ خانه، محیط‌های کشت میکروبی مولر هیتون آگار^{۲۴} و مولر هیتون براث^{۲۵} (مرک آلمان) نیز تهیه شد.

۲-۲- تهیه انسانس سیر

سیر در سال ۱۳۹۷، از بازار محلی همدان خریداری شد. بعد از تایید اسم علمی آن توسط گیاهشناسان با استفاده از کلیدهای شناسایی، میزان ۵۰ گرم از جهه‌های خرد شده سیر با ۶۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید و با استفاده از دستگاه کلونجر^{۲۶} به روش تقطیر با بخار آب عمل انسانس‌گیری انجام شد. مدت زمان عمل انسانس‌گیری ۳ ساعت به طول انجامید. در انتهای شیر دستگاه بازگردید و انسانس سیر جمع آوری شد [۱۶].

۳-۲- تهیه ریزاندامگان بیماری‌زا

از ۴ سویه میکروبی استاندارد سودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی و لیستریا اینوکوا موجود در آزمایشگاه میکروبیولوژی گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان استفاده شد. لیستریا مونوسیتوژنیکاتری بسیار خطرناک و بیماری‌زا است، اما لیستریا اینوکوا به غیر از عدم بیماری‌زا و مناسب بودن برای انجام امور آزمایشی، ویژگی هایی شبیه به لیستریا مونوسیتوژنیک دارد و به همین دلیل در این پژوهش از لیستریا اینوکوا استفاده شد [۱۰].

۴-۲- ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی انسانس سیر

در شرایط آزمایشگاهی

در این پژوهش از ۳ روش ضدمیکروبی شامل انتشار در آگار به کمک دیسک (دیسک دیفیوژن)، حداقل غلظت بازدارندگی (رقیق سازی در مایع) و حداقل غلظت کشنندگی جهت ارزیابی

13. Dimethyl sulfoxide

14. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

15. Mueller hinton agar

16. Mueller hinton broth

17. Kelevenger

18. Blank disk

19. Nalidixic acid

20. Gentamicin

21. Minimum inhibitory concentration

میلی لیتر DPPH مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شد. در نهایت میزان جذب با اسپکتروفوتومتر^{۲۶} اندازه‌گیری شد.[۲۱]

۷-۲- فنول^{۲۷} کل

اندازه‌گیری فنول با استفاده از روش فولین - سیکالتو^{۲۸} انجام شد. در این روش ۲/۵ میلی لیتر واکنشگر فولین - سیکالتو رقیق شده با آب (نسبت ۱:۱۰)، ۱ میلی لیتر اسانس سیر اضافه شد و به مدت ۲/۵ دقیقه در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد. بعد از اضافه کردن ۲ میلی لیتر کربنات سدیم محلول را به مدت ۱ ساعت در محل تاریک قرار داده شد. در نهایت میزان جذب در طول موج ۷۲۵ نانومتر اندازه‌گیری گردید [۲۲].

۸- ترکیبات فلاونوئیدی

برای اندازه‌گیری ترکیبات فلاونوئیدی اسانس سیر از روش زیشن و همکاران^{۲۹}(۱۹۹۹)، با کمی تغییر استفاده شد. طبق این روش ۱/۲۵ میلی لیتر آب مقطر با ۱ میلی لیتر اسانس سیر ترکیب شد. محلول نیتریت سدیم به مقدار ۷۵ میکرولیتر به آن اضافه گردید. پس از گذشت ۶ دقیقه، آلومینیوم تری‌کلرید به محلول اضافه شد و ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. در نهایت ۱ میلی لیتر سود ۱ مولار به آن اضافه شد و در طول موج ۵۱۰ نانومتر جذب آن اندازه‌گیری شد [۲۳].

۹- آنالیز آماری

تمامی آزمون‌ها در سه مرتبه تکرار شد، از میانگین‌های به دست آمده برای آنالیزهای آماری استفاده گردید. داده‌های حاصل با نرم‌افزار SPSS^{۳۰} نسخه ۱۸ و آزمون دانکن (جهت مقایسه میانگین‌ها) در سطح معنی‌داری ۵٪ تجزیه و تحلیل شد.

۳- نتایج و بحث

نتایج بررسی فعالیت ضدمیکروبی اسانس سیر به روش انتشار در آگار به کمک دیسک (کربی-بوئر) بر سودوموناس ائرودئنوز، اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینکوادر جدول ۱، آورده شده است. نتایج این آزمون نشان داد که، قطر هاله عدم رشد مشاهده شده در اطراف دیسک برای باکتری‌های گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا

ریخته شد. بعد از عمل گرمانه گذاری میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای (۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد) به تمامی چاهک‌ها ۱۰ میکروپلیت از محلول ۵ درصد تری فنیل ترازوپلیوم کلراید^{۲۲} اضافه شد و دوباره عمل گرمانه گذاری به مدت ۱۵ دقیقه انجام پذیرفت. اولین چاهکی که در آن تغییر رنگ ارغوانی یا صورتی مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی اسانس سیر ثبت گردید [۱۹].

۴-۳- حداقل غلظت کشندگی^{۲۳}

با استفاده از نتایج مشاهده شده در آزمون MIC، ۱۰۰ میکروپلیتاز خانه‌های که در آن تغییر رنگ مشاهده نشد، توسط سمپلر برداشته و در محیط مولر هیتون آکار کشت داده شد. عمل گرمانه گذاری مطابق با آزمون‌های قبلی در دما و زمان مشخص انجام گردید. اولین پلیتی که در آن هیچ کلتی یا پرگنه مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی اسانس سیر گزارش گردید [۲۰].

۵- شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس سیر با دستگاه کروماتوگرافی گازی

Az دستگاه کروماتوگرافی گازی (مدل Agilent Technologies 7890، آمریکا) و کروماتوگرافی گازی متصل Agilent Technologies 5975C به طیف سنج جرمی (مدل ۰/۱ میکروپلیت از اسانس سیر به سیر استفاده شد. به طور خلاصه ۰/۱ میکروپلیت از اسانس سیر به دستگاه GC/MS^{۲۴} تزریق شد. دمای ستون، با سرعت ۳ درجه سانتی گراد در دقیقه، از ۴۵ درجه سانتی گراد به ۲۱۰ درجه سانتی گراد افزایش یافت. اجزای اسانس سیر در مقایسه با طیف‌های جرمی استاندارد موجود در کتابخانه الکترونیک ویلی موجود در نرم‌افزار و مقایسه با اعداد استاندارد موجود در مراجع شناسایی گردید [۱۰ و ۱۱].

۶- تعیین قدرت آنتی‌اکسیدانی اسانس سیر

برای انجام این آزمون از روش کاهش ظرفیت رادیکالی استفاده شد. این روش به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها و اسانس‌ها استفاده می‌شود. اساس این روش از دست دادن هیدروژن در عصاره یا شفاف شدن محلول DPPH^{۲۵} و یا کاهش میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر است. برای انجام این آزمون ابتدا ۳ میلی لیتر از اسانس سیر با ۱

26. Spectrophotometr

27. Phenol

28. Folin-Ciocalteu

29. Zhishen

30. Statistical Package for the Social Sciences

22. Triphenyltetrazolium chloride

23. Minimum bactericidal concentration

24. Gas chromatography-mass spectrometry

25. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

نمایی از قطر هاله عدم رشد اسانس سیر (مریبوط به غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بر سویه لیستریا اینوکوا نشان داده شده است.

نتایج حداقل غلظت بازدارندگی از رشد اسانس سیر بر باکتری‌های سودوموناس ائروژینوزا، اشرشیا کلی، استافیلوكوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا در جدول ۲، نشان داده است. نتایج نشان داد که باکتری‌های گرم منفی اشرشیا کلی و سودوموناس ائروژینوزا مقاوم‌ترین باکتری‌ها در برابر اسانس سیر بودند. حساس‌ترین سویه میکروبی نسبت به اسانس سیر باکتری استافیلوكوکوس اورئوس بود. نتایج نشان داد که حداقل غلظت بازدارندگی اسانس سیر بر سویه‌های سودوموناس ائروژینوزا، اشرشیا کلی، استافیلوكوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا به ترتیب ۱۲۸، ۳۲ و ۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. نتایج حداقل غلظت کشنده‌گی اسانس سیر بر ریزاندامگان بیماریزا مورد بررسی در پژوهش حاضر در جدول ۲، نشان داده شده است. نتایج نشان داد که حداقل غلظت کشنده‌گی اسانس سیر در تمامی باکتری‌ها مورد بررسی بزرگ‌تر از حداقل غلظت بازدارندگی بود.

(اینکوکوا) بزرگ‌تر از باکتری‌های گرم منفی (سودوموناس ائروژینوزا و اشرشیا کلی) بود. بیشترین و کم‌ترین قطر هاله بازدارندگی در غلظت مساوی برای استافیلوكوکوس اورئوس و اشرشیا کلی مشاهده شد (جدول ۱). به طور کلی نتایج نشان داد که با افزایش غلظت اسانس سیر قطر هاله عدم رشد افزایش یافت. نتایج آزمون آماری و مقایسه دوتایی میان غلظت‌های مختلف اسانس سیر بر باکتری‌های گرم منفی نشان داد که میان غلظت‌های ۳۷/۵ و ۷۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای میان غلظت‌های ۱۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای اشرشیا کلی اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد مشاهده نگردید، هر چند در سایر غلظت‌ها اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. مقایسه دوتایی میان غلظت‌های مختلف اسانس سیر بر سویه‌های گرم مثبت (استافیلوكوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا) نشان داد که در سطح معنی‌داری ۵ درصد میان تمامی غلظت‌ها (۳۷/۵، ۷۵ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. با افزایش غلظت اسانس سیر قطر هاله عدم رشد افزایش یافت. بیشترین هاله عدم رشد با قطر ۳۱/۷۰ در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مریبوط به باکتری استافیلوكوکوس اورئوس بود. در شکل ۱،

Table 1 Mean inhibition zone diameters (mm) of *Allium sativum* essential oil on some food-borne pathogens by disk diffusion agar (DDA) method

| Concentration Microorganisms | 300 mg/ml | 150 mg/ml | 75 mg/ml | 37.5mg/ml |
|---------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 27.90 ± 0.50 ^c | 24.20±0.45 ^b | 20.80 ± 0.75 ^a | 19.50± 0.68 ^a |
| <i>Escherichia coli</i> | 26.80 ± 0.85 ^c | 24.10± 0.70 ^b | 23.00± 0.40 ^b | 16.10± 0.35 ^a |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 31.70 ± 0.55 ^d | 28.80± 0.95 ^c | 26.00± 0.64 ^c | 20.20 ±0.58 ^a |
| <i>Listeria innocua</i> | 28.10 ± 0.40 ^d | 24.30 ± 0.47 ^c | 21.90 ± 0.83 ^c | 17.60±0.66 ^a |

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

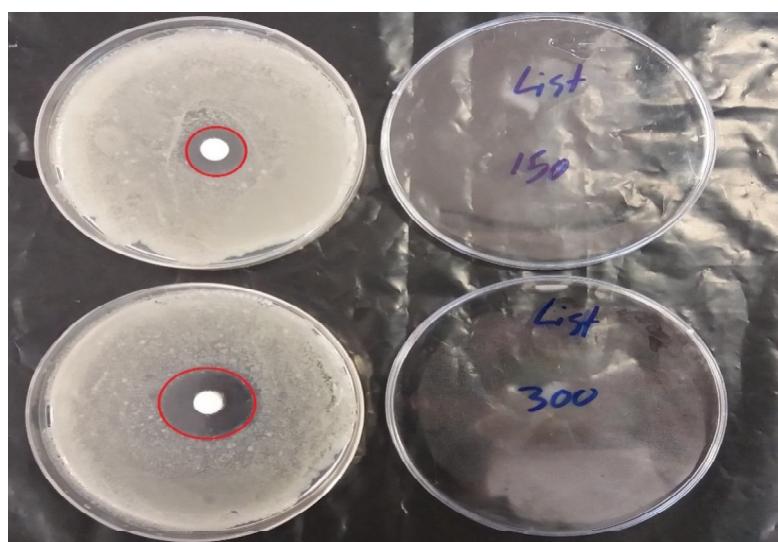


Fig 1 The inhibition zonediameter (mm) of *Allium sativum* essential oil on *Listeria innocua* (at concentration 150 and 300 mg/ml).

Table 2 Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of the *Allium sativum* essential oil on some food-borne pathogens

| Microorganisms | MIC | MBC |
|-------------------------------|-----|------|
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 128 | ≥512 |
| <i>Escherichia coli</i> | 128 | ≥512 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 32 | ≥512 |
| <i>Listeria innocua</i> | 64 | ≥512 |

جایگزین مناسب این داروها انجام شده است. روز به روز پژوهش‌های انجام شده در این زمینه افزایش یافته و پژوهشگران زیادی در صدد پیدا کردن ترکیباتی با حداقل عوارض و حداقل توان مبارزه جهت از بین میکرووارگانیسم‌های بیماری‌زا هستند [۱۰ و ۱۱].

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیشترین مقاومت در برابر اسانس سیر مربوط به باکتری گرم منفی اشرشیا کلی بود. باکتری استافافیلوکوکوس اورئوس بیشترین حساسیت را در برابر اسانس سیر از خود نشان داد. به طور کلی باکتری‌های گرم مثبت (استافافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا) نسبت به باکتری‌های گرم منفی (اشرشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا) حساس‌تر بودند. میرزایی و همکاران (۱۳۹۲)، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشنندگی عصاره آلیسین (ترکیب اصلی سیر)، نانوذرات نقره و ترکیب آن‌ها را بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا در شرایط آزمایشگاهی و مدل حیوانی مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشنندگی آلیسین، به ترتیب $2/38$ و $4/77$ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. به طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که آلیسین، نانوذرات نقره و ترکیب آن‌ها اثر ضد میکروبی خوبی در هر دو شرایط آزمایشگاهی و مدل حیوانی بر سودوموناس آئروژینوزا (عامل عفونت) داشت.

[۲۴]

نتایج آنالیز کروماتوگرافی گازی اسانس سیر در جدول ۳، آورده شده است. بر اساس نتایج کروماتوگرافی گازی، ۹ ترکیب در اسانس سیر شناسایی شد (شکل ۲). به طور کلی این ترکیبات شناسایی شده $94/54$ ٪ از کل اجزای اسانس را تشکیل دادند. ترکیب دی آلیل دی سولفید^{۳۱} با $40/3$ درصد بیشترین ترکیب اسانس سیر بود. سایر ترکیبات شناسایی شده شامل تریاستین^{۳۲} $22/41$ ٪، تری سولفید دی-پروپنیل^{۳۳} $36/36$ ٪، هگزادکانوئیک اسید^{۳۴} $3/24$ ٪، ترا سولفید دی-پروپنیل^{۳۵} $30/2$ ٪، تری سولفید متیل-۲-پروپنیل^{۳۶} $2/52$ ٪، ان- هگزا دکانوئیک اسید^{۳۷} $2/33$ ٪، او-بنزن دی کربوکسیلیک اسید^{۳۸} $2/05$ ٪ و متیل استئارات^{۳۹} $1/31$ ٪ بود. ترکیبات فنولی اسانس سیر با استفاده از معرف فولین- سیکالتور مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان جذب اسانس سیر با جذب اسید گالیک مقایسه شد و نتایج نشان داد، میزان فنول کل اسانس سیر برابر با $0/53$ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم اسانس بود. مقدار ترکیبات فلاونوئیدی اسانس سیر به روش رنگ‌سنجدی آلمونیوم تری‌کلرید اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد میزان فلاونوئید کل اسانس سیر برابر با $0/24$ میلی‌گرم کوئرستین در گرم اسانس بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس سیر بر اساس درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH برابر با 80 درصد بود.

امروزه به دلیل مقاومت میکرووارگانیسم‌های بیماری‌زا در برابر داروها و آنتی‌بیوتیک‌ها، مطالعات بسیاری به منظور پیدا کردن

31. Diallyl disulphide

32. Triacein

33. Trisulphide,methyl 2-propenyl

34. Hexadecanoic acid

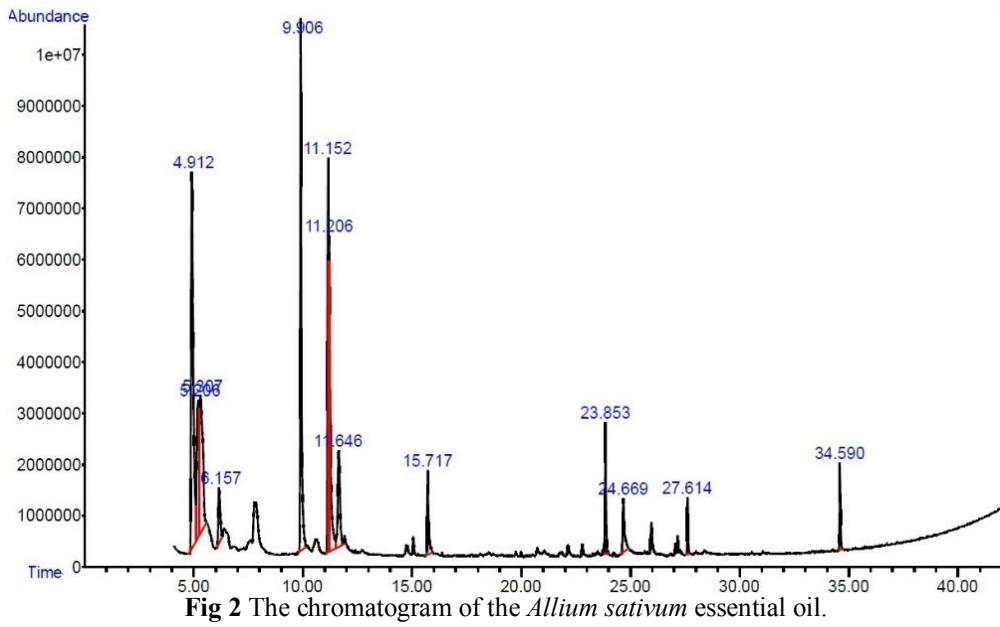
35. Tetra sulfide,di 2-propenyl

36. Trisulfide,di 2-propenyl

37. N-hexadecanoic acid

38. 1,2-benzen dicarboxylic acid

39. Methyl stearate

Fig 2 The chromatogram of the *Allium sativum* essential oil.Table 3 Chemical compositions of the *Allium sativum* essential oil

| No. | Compound | % |
|--------------|-------------------------------|--------------|
| 1 | Diallyl disulphide | 40.30 |
| 2 | Trisulfide, methyl 2-propenyl | 2.52 |
| 3 | Trisulfide, di-2-propenyl | 16.36 |
| 4 | Triacetin | 23.41 |
| 5 | Tetrasulfide, di-2-propenyl | 3.02 |
| 6 | Hexadecanoic acid | 3.24 |
| 7 | n-Hexadecanoic acid | 2.33 |
| 8 | Methyl stearate | 1.31 |
| 9 | 1,2-Benzenedicarboxylic acid | 2.05 |
| Total | | 94.54 |

کمک دیسک در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این پژوهشگران نشان داد که قطر هاله عدم رشد عصاره سیر بر سویه های مورد بررسی در مقایسه با آنتی بیوتیک های اگراسیلین، کواموسی کلاو و سفتی زوکسیم تقریباً برابر بود [۲۶]. نتایج این پژوهشگران با یافته های مطالعه ای حاضر همخوانی داشت. خدایی مطلق (۱۳۹۲)، اثر ضد میکروبی سیر و رزماری جمع آوری شده در ارک را به روش های کربی - بوئر، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشنندگی بر باکتر- های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی و استرپتوکوکوس آگالاكتیف در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که گیاه سیر و رزماری در غلظت های ۱۰، ۳۰ و ۵۰ درصد دارای فعالیت ضد میکروبی می باشد [۲۷]. نتایج مطالعه ما نشان داد که اسانس سیر دارای قطر هاله بزرگتری بر باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا

نتایج مطالعه ما نشان داد که اسانس سیر دارای اثر ضد میکروبی کمتری نسبت به عصاره سیر می باشد و در غلظت های بالاتر اثر مهارکنندگی و کشنندگی برای اسانس سیر مشاهده شد. قانعیان و همکاران (۱۳۹۴)، اثر ضد میکروبی و سمیت آلیسین (ترکیب اصلی سیر)، را بر میکروارگانیسم های اشرشیا کلی، سودوموناس ائرورینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس، کاندیدا آلبیکنس و آسپرژیلوس نایجر به روش رقیق سازی بدر مایع بررسی کردند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که محلول (عصاره) آلیسین بر تمامی میکروارگانیسم های بیماری زا اثر ضد میکروبی داشته و سمیت آلیسین وابسته به غلظت و زمان می باشد [۲۵]. نتایج این مطالعه با یافته های پژوهش حاضر مطابقت داشت. در مطالعه ای یوسفوند و همکاران (۱۳۹۷)، اثر ضد میکروبی عصاره سیر بر استافیلوکوکوس اورئوس، شیگلا دیسانتری و استرپتوکوکوس پنومونیه به روش انتشار در آگار به

پژوهش پتانسیل زتا و اندازه ذرات امولسیون تهیه شده با استفاده از تجزیه کننده ذرات مورد بررسی قرار گرفت. اثر ضدمیکروبی نانوامولسیون سیر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بیشتر از شرشیا کلی بود. همچنین فعالیت ضدمیکروبی روغن سیر به صورت معمولی بیشتر از روغن سیر به شکل نانوامولسیون بود [۳۲]. یافته‌های این پژوهشگران با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت.

کیمباریسو همکاران⁴¹ (۲۰۰۶)، استخراج ترکیبات حساس سیر را با استفاده از دو روش تقطیر و اولتراسوند مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج این محققین نشان دادکه، بیشترین اثر ضدمیکروبی عصاره سیر مربوط به ترکیب دی آلیل تیوسولفینات است [۳۳]. اسدی و همکاران (۱۳۹۴)، بهینه‌سازی استخراج ترکیبات فنولیک از عصاره سیر را به دو روش غرقابی و فراصوت مورد بررسی قرار دادند. مقایسه این دو روش نشان داد که ترکیبات فنولی استخراج شده به روش‌های فراصوت و غرقابی به ترتیب ۱۷/۴۲ و ۱۲/۲۸ میلی گرم معادل اسید گالیک به گرم نمونه خشک بود [۳۴]. نتایج این پژوهشگران با یافته‌های مطالعه حاضر تا حدودی متفاوت بود که دلیل این امر را می‌توان به تفاوت میان عصاره و اسانس مرتبه دانست. نوتیلا⁴² و همکاران (۲۰۰۲)، فعالیت آنتی اکسیدانی پیاز و سیر را از طریق مهار لپید پراکسیداسیون و کاهش ظرفیت رادیکالی اندازه‌گیری کردند. نتایج این مطالعه نشان داد که بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی به ترتیب شامل تکه‌های پیاز، سیر و پیاز قرمز بود [۳۵]. بوزینو همکاران⁴³ (۲۰۰۸)، فعالیت آنتی اکسیدانی، فنل کل و فلاونوئید عصاره سیر را اندازه‌گیری کردند. در این پژوهش از دانه‌های سیر بالغ با استفاده از چهار سیستم مدلی مختلف استفاده شد. برای اندازه‌گیری اثر آنتی اکسیدانی از روش‌های کاهش ظرفیت رادیکالی و پراکسیداسیون چربی استفاده شد. نتایج این پژوهشگران نشان داد که، فعالیت آنتی اکسیدانی ۱/۰۳ تا ۷/۰۱ میلی گرم بر میلی لیتر بود. مقدار ترکیبات فنلی بین ۰/۰۵ تا ۰/۹۸ میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره خشک و همچنین مقدار ترکیبات فلاونوئید ۶/۱۶ تا ۶/۹۹ کوئرستین⁴⁴ در گرم عصاره خشک بود. مقدار ترکیبات فنولی، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی در این مطالعه با یافته‌های پژوهش حاضر همخوانی داشت [۳۶].

کلی بود. علت این امر را محققین بسیاری به اختلاف جنس، گونه، مکان رشد گیاه، زمان جمع آوری گیاه، نوع خاک، شرایط آب و هوایی و ... مرتبط دانسته‌اند [۱۰ و ۱۱]. بنکلیا⁴⁵ (۲۰۰۴)، اثر ضدمیکروبی اسانس سیر را به روش دیسک دیفیوژن بر استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی قرار داد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت اسانس سیر، قطر هاله عدم رشد میکروبی مشاهده شده بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس افزایش یافت [۲۸]. نتایج این مطالعه با یافته‌های پژوهش حاضر کاملاً منطبق بود. در مطالعه حاضر، نیز با افزایش غلظت اسانس سیر قطر هاله عدم رشد برای تمامی ریزاندامگان بیماری‌زا افزایش یافت. از نظر تئوری قطر هاله عدم رشد عکس العملی از غلظت ماده موثره در اسانس یا ماده ضدمیکروب می‌باشد. به طوری که قطر هاله عدم رشد برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس - ترین باکتری در برابر اسانس سیر) در غلظت ۳۷/۵ میلی گرم بر میلی لیتر تا ۳۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر از ۲۰/۲۰ میلی متر به ۳۱/۷۰ میلی متر افزایش یافت. مولانا و شاهنده (۱۳۸۲)، اثر ضدمیکروبی سیر تازه و عصاره آن را بر سودوموناس آنروژینوزا به روش‌های چاهک آگار و رقت لوله‌ای مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان دادکه در حالت جامد سیر دارای اثر ضدمیکروبی بوده و عصاره کلروفرمی سیر نیز توانست هاله عدم رشدی مشابه ای دیسک جتامايسین ایجاد نماید [۲۹]. شاپوری و همکاران (۱۳۸۳)، اثر ضدمیکروبی عصاره سیر را بر باکتری‌های بروسلا ابوروس و بروسلا ملی‌تنیس به روش‌های چاهک آگار و رقت در لوله مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که حداقل غلظت مهارکننده‌گی و حداقل غلظت کشنده‌گی عصاره سیر برای هر دو سویه بیماری‌زا به ترتیب برابر با ۱۲۸ و ۲۱۸ میکروگرم بر میلی لیتر بود [۳۰]. حسن زاده و همکاران (۱۳۹۷)، اثر ضدمیکروبی و ویژگی‌های شیمیابی نانوامولسیون عصاره سیر تهیه شده به روش حمام اولتراسوند را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج این مطالعه بیانگر اثر ضدمیکروبی ضعیف نانوامولسیون‌ها بود. نتایج بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره سیر به روش ارزیابی مهار رادیکال‌های آزاد نشان داد که عصاره سیر دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی می‌باشد [۳۱]. حسن و همکاران (۲۰۱۹)، فعالیت ضدمیکروبی نانوامولسیون‌های سیر را مورد ارزیابی قرار دادند. در این

41. Kimbaris

42. Notilla

43. Bozin

44. Quercetin

40. Benkeblia

بررسی اثر ضدغفارنی کنندگی^{۵۰} اسانس‌هاس گیاهی در برابر موریانه ژاپنی پرداختند. در این پژوهش از ۲۹ اسانس‌های گیاهی استفاده شد. نتایج نشان داد که در بین اسانس‌های گیاهی، اسانس سیر و جوانه گندم ۱۰۰ درصد دارای اثر کشنده‌گی بودند. نتایج کروماتوگرافی گازی سیر نیز نشان داد که سه ترکیب اصلی آن شامل دی‌آلیل دی‌سولفید (۵۹/۷٪)، دی‌آلیل سولفید (۲۱/۳٪) و دی‌آلیل تری‌سولفید (۱۰/۹٪) بود^[۴۱]. نتایج این مطالعه با پژوهش حاضر همخوانی داشت. رحمن (۲۰۰۷)، به بررسی شیمی آلیسین و ثبات در حین پردازش و ذخیره سازی آن در شرایط آزمایشگاهی و در بدن انسانی پرداخت. نتایج حاصل نشان داد که آلیسین از ترکیبات اورگانوسولفور مهم در سیر می‌باشد^[۴۲]. شاید بتوان بخشی از فعالیت ضدمیکروبی اسانس سیر را به این ترکیب مرتبط دانست. بورلین قاسو همکاران^{۵۱} (۲۰۱۴)، به بررسی آلیسین و فعالیت‌های شیمیایی و بیولوژیکی آن پرداختند. در این پژوهش نشان داده شد، آلیسین موجود در سیر دارای ترکیب دفاعی با فعالیت‌های بیولوژیکی بسیار زیادی می‌باشد. در واقع آلیسین از تجزیه اسید آمینه آلیین^{۵۲} توسط آنزیم آلیناز به دست می‌آید. بنا به دوز مصرفی، آلیسین می‌تواند بر میکرواورگانیسم‌های بیماری‌زا (باکتری یا قارچ) اثرگذار باشد^[۴۳].

۴- نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد اسانس سیر دارای فعالیت ضدمیکروبی بر تمامی ریزاندامگان بیماری‌زا داشت. هر چند که فعالیت ضدباکتریایی اسانس سیر بر باکتری‌های گرم مثبت به مراتب بیشتر از باکتری‌های گرم منفی بود. نتایج آزمون‌های شیمیایی (فنول کل، فلاونوئید و پتансیل آنتی‌اکسیدانی) اسانس سیر نشان داد که گیاه سیر می‌تواند به عنوان یک منع بالقوه جهت تولید ترکیبات دارویی و نگهدارنده‌های غذایی مورد استفاده قرار گیرد، البته لازم است در ادامه آزمون‌های مختلفی در مدل‌های حیوانی و انسانی انجام پذیرد. طبق آزمون شناسایی ترکیبات شیمیایی توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به

کاپاسو^{۴۴} (۲۰۱۳)، به فعالیت آنتی‌اکسیدانی و درمانی عصاره سیر را مورد بررسی قرار داد، نتایج این پژوهشگر نشان داد که، سیر غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بوده و این ترکیبات بر رادیکال‌های آزاد اثر گذاشته و مانع آسیب آن‌ها به غشا یا DNA شدند. همچنین ترکیبات اورگانوسولفوری موجود در سیر به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کرده و مانع از فعالیت رادیکال‌های آزاد شدند^[۴۵]. رامیو همکاران^{۴۶} (۲۰۱۰)، ویژگی‌های شیمیایی، آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌ویروسی اسانس هفت گیاه (پیاز، سیر، گشنیز، جعفری، ریحان و زیره) را مورد بررسی قرار دادند. فعالیت ضدویروسی این اسانس‌ها از طریق آزمون^{۴۷} CPE سنجیده شد. در این آزمایش EC₅₀ معادل ۳۲۰ و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن برابر ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود^[۴۸]. خانم و همکاران^{۴۸} (۲۰۰۴)، به بررسی ویژگی ضدسرطانی سیر پرداختند. در این پژوهش شیمی سیر، متابولیسم، خواص ضدانعقادی، مکانیسم اثر قبل از سرطان‌زایی و غذاهای عملگرا بر پایه سیر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از N-acetyl-allylmercaptan diallyldisulfide S-allylcysteine diallylsulfone diallylsulfoxide diallylsulfide و diallyl methyl sulfide^{۴۹} بود. نتایج این محققین اثبات نمود که، سیر اثر ضدسرطانی خود را از طریق تخریب رادیکال‌های آزاد و افزایش فعالیت آنزیم‌هایی مثل کاتالاز و گلوتاتیون اس‌ترانسفراز ایجاد می‌کند^[۴۹].

قنبri و همکاران (۱۳۹۲)، ترکیبات شیمیایی روغن اسانس سیر را به روش کروماتوگرافی گازی مورد شناسایی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که بیشترین ترکیب شیمیایی موجود در اسانس سیر دی‌آلیل دی‌سولفید (۲۵/۵۰٪) بود^[۴۰]. نتایج این پژوهش با مطالعه ما همخوانی داشت، اما درصد ترکیب شناسایی شده در مطالعه حاضر بیشتر از پژوهش قنبri و همکاران بود. دلیل این امر را می‌توان به تفاوت‌های اکولوژیکی گیاه مرتبط دانست^[۱۰ و ۱۱]. پارک و Shin^{۴۹} (۲۰۰۵)، به

45. Capasso

46. Ramy

47. Cytopathicity

48. Khanum

49. Park & Shin

50. fumigant
51. Borlin ghaus
52. Alliin

- [8] Bakri I, Douglas C. Inhibitory effect of garlic extract on oral bacteria. *Archives of Oral Biology*. 2005;50(7):645-51.
- [9] Arora DS, Kaur J. Antimicrobial activity of spices. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 1999;12(3):257-62.
- [10] 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 Vitro. *Qom University of Medical Sciences Journal*. 2019;13(2):57-69. [full text in Persian]
- [11] Noshad M, Alizadeh behbahani B. 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*. 2019;26(6):122-32. [full text in Persian]
- [12] Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Shahidi F, Mohebbi M. Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic *Avicennia marina* extracts on *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes* and *Pseudomonas aeruginosa*" in vitro". *Iranian South Medical Journal*. 2014;17(5):879-88. [full text in Persian]
- [13] Razavilar V, Genigeorgis C. Prediction of *Listeria* spp. Growth as affected by various levels of chemicals, pH, temperature and storage time in model broth, *Food Microbiology*. 1998; 40,149-157.
- [14] Millet I, Saubusse M, Didienne R, Tessier L, Montel MC. Control of *Listeria monocytogenes* in raw milk cheeses. *Food Microbiology*. 2006;108(1): 105-114.
- [15] Palmer AS, Steward J, Fyfe L. The potential application of plant essential oils as natural preservatives in soft cheese. *Food Microbiology*. 2001;18, 463-470.
- [16] Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Fakhri S, Mortazavi SA, Mohebbi M. Investigation of Chemical Compounds and Antibacterial Activity of Tarragon (*Artemisia dracunculus*) Essential Oil on Some Pathogenic Bacteria In Vitro. *Qom University of Medical Sciences Journal*. 2017;11(9):42-51. [full text in Persian]
- [17] Tabatabaei Yazdi F, Nooshkam M, Shahidi F, Asadi A, Alizadeh Behbahani B. Evaluation of antimicrobial activity and antioxidant potential of chitosan Maillard-

طیف سنج جرمی، ترکیب دی آلیل دی سولفید با ۴۰/۳ درصد بیشترین ترکیب اسانس سیر بود.

۵- تشکر و قدردانی

نویسنده‌گان مقاله بر خود لازم می‌دانند که از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دليل مساعدت‌های مالی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

۶- منابع

- [1] ShahidiF, Tabatabaei YazdiF, Roshanak S, Alizadeh BehbahaniB, VasieeA, Norouz N.Evaluation of antimicrobial activity of *Taraxacumpseudocalocephalum* leaves extract on a number of pathogenic microorganisms and comparison with common therapeutic antibiotics *in vitro*. *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine*. 2019;23(83):37-46.[full text in Persian]
- [2] Kokoska L, Polesny Z, Rada V, Nepovim A, Vanek T. Screening of some Siberian medicinal plants for antimicrobial activity. *Journal of Ethanopharmacology*. 2002; 82(1):51-53.
- [3] Hyldgaard M, Mygind T, Meyer RL. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology*. 2012; 3(12): 1-24.
- [4] Haciseferoğulları H, Özcan M, Demir F, Çalışır S. Some nutritional and technological properties of garlic (*Allium sativum* L.). *Journal of Food Engineering*. 2005;68(4):463-9.
- [5] Soltani M, laripoor M, akhavansepahi A, piralihamedani M. the study Effect of allicin garlic on levels of nitric oxide production in macrophages against *Candida albicans*. *Journal of Medicinal Plants*. 2008; 1(29): 164-70. [full text in Persian]
- [6] Arzanlou M, Bohlooli S. Introducing of green garlic plant as a new source of allicin. *Food chemistry*. 2010;120(1):179-83.
- [7] Kemper KJ. Garlic (*Allium sativum*). The Longwood Herbal Task Force and the Center for Holistic Pediatric Education and Research. 2000; (4):1-49.

- [26] Yousefvand E, Safinejad K, Mohammad Asghari H. Comparing Antibacterial effects of Garlic with Antibiotics by *Staphylococcus Aureus* Resistant to Methicillin, *Streptococcus Pneumoniae* and *Shigella Dysenteriae* Bacteria. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*. 2018;8(30):53-60. [Full Text in Persia]
- [27] Khodaei M. Antibacterial Effect of *Allium sativum* and *Rosmarinus officinalis* Essential Oil on Major Mastitis Pathogens in Dairy Cattle. *Journal of Cell & Tissue*. 2014;5(1):79-88. [Full Text in Persia]
- [28] Benkeblia N. Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). *LWT - Food Science and Technology*. 2004; 37: 263–268.
- [29] Molana Z, Shahandeh Z. Effect of Garlic (*Allium Sativum*) and Garlic extract on growth inhibition of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Babol University of Medical Sciences*. 2003;5(3):57-62. [Full Text in Persia]
- [30] Shapoury R, Sattari M, Mohammad Hassan Z. Study effect of garlic choloroformic extract (Allicin) on physiology and morphology of brucella. *Journal of Medicinal Plants*. 2004;2(10):15-22.[Full Text in Persia]
- [31] Hassanzadeh H, Alizadeh M, Rezazad BM. Nano-encapsulation of garlic extract by water-in-oil emulsion: physicochemical and antimicrobial characteristics. *Food Science and Technology*. 2019; 15 (84) :337-347. [Full Text in Persia]
- [32] Hassan KA, Mujtaba MA. Antibacterial efficacy of garlic oil nano-emulsion. 2019. *AIMS Agriculture and Food*, 4(1): 194–205.
- [33] Kimbaris AC, Siatis NG, Daferera DJ, Tarantilis PA, Pappas CS, Polissiou MG. Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*). *Ultrasonics sonochemistry*. 2006; 13(1):54-60.
- [34] Maleki Asadi R, Arianfar A, Yeganezad, Optimization of extraction of phenolic compounds from garlic extracts with ultrasonic by response surface method (RSM), 23rd National congress of food science and technology, Islamic Azad University Quchan
- based conjugates in vitro. *Journal of Applied Microbiology in Food Industry*. 2018; 4(3): 1-15. [full text in Persian]
- [18] 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.
- [19] Alizadeh Behbahani B, Imani Fooladi AA. Evaluation of phytochemical analysis and antimicrobial activities *Allium* essential oil against the growth of some microbial pathogens. *Microbial Pathogenesis*. 2018; 114:299-303.
- [20] Tabatabaei Yazdi F, Tanhaeian A, Azghandi M, Vasiee A, Alizadeh Behbahani B, Mortazavi SA, et al. Heterologous expression of Thrombocidin-1 in *Pichia pastoris*: Evaluation of its antibacterial and antioxidant activity. *Microbial Pathogenesis*. 2019; 127:91-6.
- [21] Shen S, Chen D, Li X, Li T, Yuan M, Zhou Y, Ding C. Optimization of extraction process and antioxidant activity of poly saccharides from of *paris polyphylla*. *Carbohydrate Polymers*. 2014; 104: 80-86.
- [22] Barzegar H, Mohammad Amin MehrniaMA, Alizadeh BehbahaniB. Determination of the chemical composition, antioxidant activity and the antimicrobial effect of *Heracleum Lasiopetalum* infection and food poisoning microorganisms. *Journal of Applied Microbiology in Food Industry*. 2019; 4(4): Accepted. [full text in Persian]
- [23] Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*. 1999; 64: 555-559.
- [24] Mirzaei F, Salouti M, Shapouri R, Alizadeh H. Antibacterial Effect of Allicin, Silver Nano Particles, and Their Combination against Skin Infection due to *Pseudomonas aeruginosa* in Animal Model. *Journal of Fasa University of Medical Sciences*. 2014;4(3):311-7. [Full Text in Persia]
- [25] Ghaneian M, Ehrampoush M, Jebali A, Mozaffary S, Hekmatimoghaddam S, Fallahzadeh H. The study of the stability, toxicity and antimicrobial effect of allicin solution. *Tolooebehdasht*. 2016;14(5):141-50. [Full Text in Persia]

- [40] Ghanbari M, Gourchi T, Ebrahimi M. Determination of Chemical Composition of Essential Oils of Garlic and Clove by Gas Chromatography Comparison of their antimicrobial activity with silver nanoparticles and antibiotics. Scientific Journal Management System. 2014;1(4):65-80.[Full Text in Persia]
- [41] Park I-K, Shin S-C. Fumigant activity of plant essential oils and components from garlic (*Allium sativum*) and clove bud (*Eugenia caryophyllata*) oils against the Japanese termite (*Reticulitermes speratus Kolbe*). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2005;53(11):4388-92.
- [42] Rahman MS. Allicin and other functional active components in garlic: health benefits and bioavailability. International Journal of Food Properties. 2007;10(2):245-68.
- [43] Borlinghaus J, Albrecht F, Gruhlke M, Nwachukwu I, Slusarenko A. Allicin: chemistry and biological properties. Molecules. 2014;19(8):12591-618.
- https://www.civilica.com/Paper-NCFOODI23-NCFOODI23_094.html
- [35] Nuutila AM, Puupponen-Pimiä R, Aarni M, Oksman-Caldentey K-M. Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity. Food Chemistry. 2003;81(4):485-93.
- [36] Bozin B, Mimica-Dukic N, Samoilik I, Goran A, Igic R. Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum L.*, Alliaceae). Food Chemistry. 2008;111(4):925-9.
- [37] Capasso A. Antioxidant action and therapeutic efficacy of *Allium sativum L.* Molecules. 2013;18(1):690-700.
- [38] Romeilah RM, Fayed SA, Mahmoud GI. Chemical compositions, antiviral and antioxidant activities of seven essential oils. Journal of Applied Sciences Research. 2010; 6(1):50-62.
- [39] Khanum F, Anilakumar K, Viswanathan K. Anticarcinogenic properties of garlic: a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2004; 44(6):479-88.

Antimicrobial effect of garlic essential oil on a number of foodborne pathogens and determination of its chemical composition and antioxidant activity

Ansaripour, A.¹, Mehrnia, M. A.^{2*}, Noshad, M.², Barzegar, H.³,
Alizadeh Behbahani, B.²

1. M. Sc Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
2. 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
3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

(Received: 2019/05/15 Accepted: 2019/06/09)

In this study, Antibacterial activity of garlic essential oil used by disk diffusion method, micro-dilution broth (minimum inhibitory concentration) and minimum bactericidal concentration (MBC) on a number of pathogenic strains (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Listeria innocua* and *Staphylococcus aureus*) was studied *in vitro*. Chemical compounds of garlic essential oil were identified by gas chromatography. The antioxidant activity, total phenol and flavonoid were determined using radical reduction capacity, Folin-Ciocalteu and aluminum trichloride colorimetric, respectively. The results showed that the minimum inhibitory concentration of garlic essential oil was 128, 128, 32 and 64 mg/ml for *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria innocua* respectively. By increasing the concentration of essential oil, the diameter of the inhibition zone increased. The highest inhibition zone with 31.70 ± 0.55 mm diameter was due to *Staphylococcus aureus*. The results showed that gram-negative bacteria of *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* were the most resistant to garlic essential oil. The results of identification of the chemical compounds of garlic essential oil showed that the combination of di-allyl disulfide was 40.3% higher. Total phenol, flavonoids and antioxidant activity of garlic essential oil was 0.33 mg gallic acid in gram, 0.24 mg quercetin in grams and 80% respectively. The results of this study showed that garlic can be used as a potential source for the production of pharmaceutical compounds.

Keywords: Garlic essential oil, Totalphenol, Reducing radical capacity, Inhibition zone diameter.

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