

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

امیرحسین انصاری پور^۱، محمد امین مهرنیا^{۲*}، محمد نوشاد^۲، حسن برزگر^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، ملاثانی، ایران

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

۳- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۲/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۳/۱۹)

چکیده

در این پژوهش، اثر ضدباکتریایی اسانس سیر با روش‌های انتشار در آگار به کمک دیسک، رقیق‌سازی در مایع (حداقل غلظت بازدارندگی) و حداقل غلظت کشندگی بر تعدادی از ریزاندامگان بیماری‌زای غذازاد (سودوموناس *اثرورژینوزا*، *اشرشیا کلی*، *لیستریا اینوکوا* و *استافیلوکوکوس 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 - سیکالتو و رنگ سنجی آلومینیوم تری‌کلرید تعیین گردید. نتایج نشان داد که حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس سیر برای *سودوموناس اثرورژینوزا*، *اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا اینوکوا* به ترتیب ۱۲۸، ۱۲۸، ۳۲ 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 ± 0.55 میلی‌متر مربوط به *استافیلوکوکوس اورئوس* بود. نتایج نشان داد که باکتری‌های گرم منفی *اشرشیا کلی* و *سودوموناس اثرورژینوزا* مقاوم‌ترین باکتری‌ها در برابر اسانس سیر بودند. نتایج حاصل از شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس سیر نشان داد که، دی‌آلیل دی‌سولفید با ۴۰/۳ درصد بیشترین ترکیب بود. میزان فنول کل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس سیر به ترتیب برابر با ۰/۵۳ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم، ۰/۲۴ میلی‌گرم کوئرستین در گرم و ۸۰ 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.

۱- مقدمه

به دلیل افزایش بیماری‌های عفونی و مقاومتی که میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا نسبت به داروهای شیمیایی به مرور زمان از خود نشان داده‌اند و از سوی 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 بدبینی 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 کمتری هستند، 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 گرویدر آلیسین وجود دارد تحت عنوان تیوسولفونات^۲ که این گروه به پروتئین متصل شده و باعث انهدام 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 انتروباکتریاسه^۵ است. اکثر سویه‌های این باکتری باعث ایجاد عفونت‌هایی همانند، عفونت ادراری، مننژیت^۶ و پریتونیت^۷

می‌شوند. سودوموناس آئروژینوزا^۸ باکتری گرم منفی و بیماری‌زا بوده و عامل بیماری‌هایی مثل عفونت زخم، ذات الریه، عفونت معده و سیستم تنفسی می‌شود به گونه‌ای که اگر به موقع این عفونت‌ها درمان نشوند، منجر به مرگ خواهند شد. استافیلوکوکوس 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 مونوسیژنوزا^{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، فلاوونوئید و ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی اسانس به روش‌های انتشار در آگار به کمک دیسک (دیسک دیفیوژن)، رقیق سازی در مایع (حداقل غلظت بازدارندگی) و حداقل غلظت کشندگی بر تعدادی از ریزاندامگان بیماری‌زای (سودوموناس آئروژینوزا، اشرشیا کلی، لیستریا اینوکوا و استافیلوکوکوس 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.

8. *Pseudomonas aeruginosa*
9. *Staphylococcus aureus*
10. *Listeria monocytogenes*
11. Septicemia
12. Encephalitis

1. Allicin
2. Thiosulfinate
3. Arora & Kaur
4. *Echerichia coli*
5. Enterobacteriaceae
6. Meningitis
7. Peritonitis

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

۲-۴-۱- 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 ۰/۲۲ میکرون)، ۳ گرم اسانس سیر استریل شد و غلظت‌های ۳۲/۵، ۱۵۰، ۷۵ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه گردید. دیسک‌های بلانک^{۱۸} به مدت ۲۰ دقیقه درون غلظت‌های مختلف اسانس سیر خیسانده شد. از سوسپانسیون‌های میکروبی که استاندارد بودن آن‌ها با محلول نیم مک‌فارلند تایید شده 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 باکتری-های اشرشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا از دیسک آنتی-بیوتیک نالیدیکسید اسید^{۱۹} و برای باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا از دیسک آنتی بیوتیک جنتامایسین^{۲۰} که در مرکز پلیت قرار می‌گیرد استفاده شد. ظرف‌های کشت شده حاوی هر یک از دیسک‌های آغشته به اسانس 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 گرمخانه‌گذاری شدند. پس از طی ۲۴ ساعت از زمان گرمخانه‌گذاری هاله عدم رشد میکروبی اطراف دیسک‌ها، با خط‌کش اندازه‌گیری شد [۱۷ و ۱۸].

۲-۴-۲- 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 (۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸ و ۲۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) اسانس سیر از محلول مادر با غلظت ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. درون هر یک از چاهک‌های میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای ۱۰۰ میکرولیتر ماده ضد میکروب (اسانس سیر) و ۱۰ میکرولیتر از هر یک از سویه‌های میکروبی بیماری‌زا (مطابق با استاندارد نیم مک‌فارلند)

۲-۱- تهیه مواد شیمیایی و محیط‌های کشت میکروبی

مواد شیمیایی شامل دی متیل سولفوکساید^{۱۳} (مرک آلمان)، توئین ۸۰ درصد (سامچون کره)، تری فنیل تترازولیوم کلراید (سیگما آلداریچ)، گالیک اسید (سیگما آلداریچ)، ۲ و ۲ دی فنیل -۱- پیکریل هیدرازیل^{۱۴} (سیگما آلداریچ)، الکل ۷۰ درصد (مرک آلمان) بود. دیسک‌های آنتی بیوتیک جنتامایسین و نالیدیکسید اسید (پادتن طب)، پلیت ۹۶ خانه، محیط‌های کشت میکروبی مولر هیتون آگار^{۱۵} و مولر هیتون برات^{۱۶} (مرک آلمان) نیز تهیه شد.

۲-۲- تهیه اسانس 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 حبه‌های خرد شده سیر با ۶۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید و با استفاده از دستگاه کلونجر^{۱۷} به روش تقطیر با بخار آب عمل اسانس‌گیری انجام شد. مدت زمان عمل اسانس‌گیری ۳ ساعت به طول انجامید. در انتها شیر دستگاه بازگردید و اسانس سیر جمع آوری شد [۱۶].

۲-۳- 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 مونوسیتوژنز باکتری بسیار خطرناک و بیماری‌زا است، اما لیستریا اینوکوا به غیر از عدم بیماری‌زایی و مناسب بودن برای انجام امور آزمایشی، ویژگی‌هایی شبیه به لیستریا مونوسیتوژنز دارد و به همین دلیل در این پژوهش از لیستریا اینوکوا استفاده شد [۱۰].

۲-۴-۲- ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس سیر در شرایط آزمایشگاهی

در این پژوهش از ۳ روش ضد میکروبی شامل انتشار در آگار به کمک دیسک (دیسک دیفیوژن)، حداقل غلظت بازدارندگی (رقیق سازی در مایع) و حداقل غلظت کشندگی 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

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

۲-۷- فنول^{۲۷} کل

اندازه‌گیری فنول با استفاده از روش فولین - سیکالتو^{۲۸} انجام شد. در این روش ۲/۵ میلی‌لیتر واکنشگر فولین - سیکالتو رقیق شده با آب (نسبت ۱:۱۰)، ۱ میلی‌لیتر اسانس سیر اضافه شد و به مدت ۲/۵ دقیقه در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد. بعد از اضافه کردن ۲ میلی‌لیتر 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].

۲-۸- 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 میلی‌لیتر آب مقطر با ۱ میلی‌لیتر اسانس سیر ترکیب شد. محلول نیتريت سدیم به مقدار ۷۵ میکرولیتر به آن اضافه گردید. پس از گذشت ۶ دقیقه، آلومنیوم تری‌کلرید به محلول اضافه شد و ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. در نهایت ۱ میلی‌لیتر سود ۱ مولار به آن اضافه شد و در طول موج ۵۱۰ نانومتر جذب آن اندازه‌گیری شد [۲۳].

۲-۹- آنالیز آماری

تمامی آزمون‌ها در سه مرتبه تکرار شد، از میانگین‌های به‌دست‌آمده 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 ضد میکروبی اسانس سیر به روش انتشار در آگار به کمک دیسک (کری-بوئر) بر سودوموناس ائروژینوزا، اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوادر 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 گرمخانه گذاری میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای (۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد) به تمامی چاهک‌ها ۱۰ میکرولیتر از محلول ۵ درصد تری فنیل تترازولیوم کلراید^{۲۲} اضافه شد و دوباره عمل گرمخانه‌گذاری 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].

۲-۳-۴- حداقل غلظت کشندگی^{۲۳}

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

۲-۵- شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس سیر با

دستگاه کروماتوگرافی گازی

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

۲-۶- 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 میلی‌لیتر 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 (مربوط 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 باکتری-های سودوموناس ائروژینوزا، اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا در جدول ۲، نشان داده شده 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 استافیلوکوکوس اورئوس بود. نتایج نشان داد که حداقل غلظت بازدارندگی اسانس سیر برای سویه‌های سودوموناس ائروژینوزا، اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا به ترتیب ۱۲۸، ۱۲۸، ۳۲ و ۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. نتایج حداقل غلظت کشندگی اسانس سیر بر ریزاندامگان بیماریزا مورد بررسی در پژوهش حاضر در جدول ۲، نشان داده شده است. نتایج نشان داد که حداقل غلظت کشندگی اسانس سیر در تمامی باکتری‌ها مورد بررسی بزرگتر از حداقل غلظت بازدارندگی بود.

اینوکوا) بزرگتر از باکتری‌های گرم منفی (سودوموناس ائروژینوزا و اشرشیا کلی) بود. بیشترین و کم‌ترین قطر هاله بازدارندگی در غلظت مساوی برای استافیلوکوکوس 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 باکتری سودوموناس ائروژینوزا و همچنین غلظت‌های ۷۵ و 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 (استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا) نشان داد که در سطح معنی داری ۵ درصد میان تمامی غلظت‌ها (۳۷/۵، ۷۵، ۱۵۰ 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 مربوط به باکتری استافیلوکوکوس 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

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

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

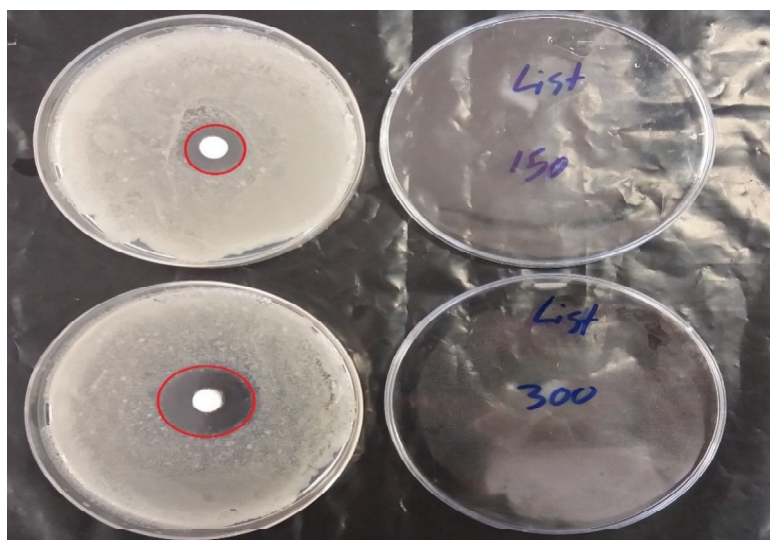


Fig 1 The inhibition zonediameter (mm) of *Allium sativum* essential oil on *Listeria innocua* (at concentration 150 and 300 mg/ml).

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 حداکثر توان مبارزه جهت از بین میکروارگانیسم‌های 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 *استافیلوکوکوس اورئوس* بیشترین حساسیت را در برابر اسانس سیر از خود نشان داد. به طور کلی باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس 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 کشندگی 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 کشندگی آلیسین، به ترتیب ۲/۳۸ و ۴/۷۷ 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 ۹۴/۵۴٪ از کل اجزای اسانس را تشکیل دادند. ترکیب دی آلیل دی سولفید^{۳۱} با ۴۰/۳ درصد بیشترین ترکیب اسانس سیر بود. سایر ترکیبات شناسایی شده شامل تریاستین^{۳۲} ۲۳/۴۱٪، تری سولفید دی ۲-پروپنیل^{۳۳} ۳۶/۱۶٪، هگزادکانوئیک اسید^{۳۴} ۳/۲۴٪، تترا سولفید دی ۲-پروپنیل^{۳۵} ۳/۰۲٪، تری سولفید متیل ۲-پروپنیل^{۳۶} ۲/۵۲٪، ان-هگزادکانوئیک اسید^{۳۷} ۲/۳۳٪، ۱-و ۲-بنزن دی کربوکسیلیک اسید^{۳۸} ۲/۰۵٪ و متیل استئارات^{۳۹} ۱/۳۱٪ بود. ترکیبات فنولی اسانس سیر با استفاده از معرف فولین-سیکالتو 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 ۰/۵۳ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم اسانس بود. مقدار ترکیبات فلاونوئیدی اسانس سیر به روش رنگ‌سنجی آلومنیوم تری‌کلرید اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد میزان فلاونوئید کل اسانس سیر برابر با ۰/۲۴ میلی‌گرم کوئرستین در گرم اسانس بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس سیر بر اساس درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH برابر با ۸۰ درصد بود.

امروزه به دلیل مقاومت میکروارگانیسم‌های 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

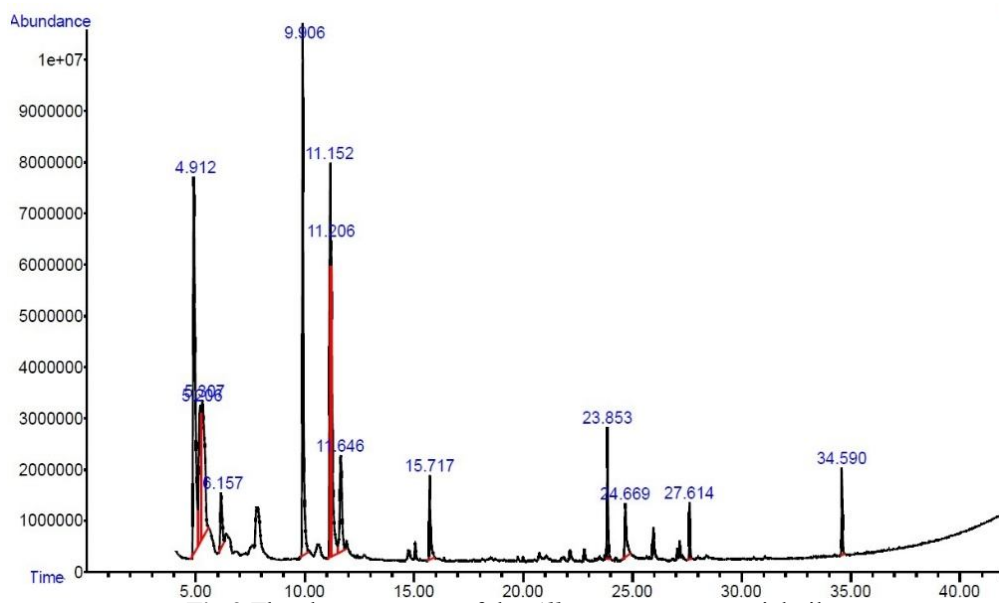


Fig 2 The chromatogram of the *Allium sativum* essential oil.

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 سویه‌های مورد بررسی در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های اگزاسیلین، کواموسی کلاو و سفتری‌زوکسیم تقریباً برابر بود [۲۶]. نتایج این پژوهشگران با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر همخوانی داشت. خدایی مطلق (۱۳۹۲)، اثر ضد میکروبی سیر و رزماری جمع آوری شده در اراک را به روش‌های کربی-بوئر، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی بر باکتر-های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی و استرپتوکوکوس آگالکتیه در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهشگر نشان داد که گیاه سیر و رزماری در غلظت‌های ۱۰، ۳۰ و ۵۰ درصد دارای فعالیت ضد میکروبی می‌باشد [۲۷]. نتایج مطالعه ما نشان داد که اسانس سیر دارای قطر هاله بزرگتری بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا

نتایج مطالعه ما نشان داد که اسانس سیر دارای اثر ضد میکروبی کمتری نسبت به عصاره سیر می‌باشد و در غلظت‌های بالاتر اثر مهارکنندگی و کشندگی برای اسانس سیر مشاهده شد. قانعیان و همکاران (۱۳۹۴)، اثر ضد میکروبی و سمیت آلیسین (ترکیب اصلی سیر)، را بر میکروارگانیسم‌های اشرشیا کلی، سودوموناس اثرورژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس، کاندیدا آلبیکنس و آسپرژیلوس نایجر به روش رقیق‌سازیدر مایع بررسی کردند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که محلول (عصاره) آلیسین بر تمامی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا اثر ضد میکروبی داشته و سمیت آلیسین وابسته به غلظت و زمان می‌باشد [۲۵]. نتایج این مطالعه با یافته‌های پژوهش حاضر مطابقت داشت. در مطالعه‌ی 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 ضد میکروبی نانوامولسیون سیر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بیشتر از *شرشیا کلی* بود. همچنین فعالیت ضد میکروبی روغن سیر به صورت معمولی بیشتر از روغن سیر به شکل نانوامولسیون بود [۳۲]. یافته‌های این پژوهشگران با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت.

کیمباریسو همکاران^{۴۱} (۲۰۰۶)، استخراج ترکیبات حساس سیر را با استفاده از دو روش تقطیر و اولتراسوند مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج این محققین نشان داد که، بیشترین اثر ضد میکروبی 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 مرتبط دانست. نوتیلا^{۴۲} و همکاران (۲۰۰۲)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی پیاز و سیر را از طریق مهار لیپید پراکسیداسیون و کاهش ظرفیت رادیکالی اندازه‌گیری کردند. نتایج این مطالعه نشان داد که بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به ترتیب شامل تکه‌های پیاز، سیر و پیاز قرمز بود [۳۵]. بوزینو همکاران^{۴۳} (۲۰۰۸)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، 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 آنتی‌اکسیدانی از روش‌های کاهش ظرفیت رادیکالی و پراکسیداسیون چربی استفاده شد. نتایج این پژوهشگران نشان داد که، فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۱/۰۳ تا ۶/۰۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. مقدار ترکیبات فنلی بین ۰/۰۵ تا ۰/۹۸ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره خشک و همچنین مقدار ترکیبات فلاونوئید ۶/۱۶ تا ۶/۹۹ کوئرستین^{۴۴} در گرم عصاره خشک بود. مقدار ترکیبات فنولی، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی 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 [۱۱ و ۱۰]. بنکبلیا^{۴۰} (۲۰۰۴)، اثر ضد میکروبی 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 ضد میکروب می‌باشد. به طوری که قطر هاله عدم رشد برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (حساس - ترین باکتری در برابر اسانس سیر) در غلظت ۳۷/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تا ۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از ۲۰/۲۰ میلی‌متر به ۳۱/۷۰ میلی‌متر افزایش یافت. مولانا و شاهنده (۱۳۸۲)، اثر ضد میکروبی سیر تازه و عصاره آن را بر *سودوموناس آئروژینوزا* به روش‌های چاهک آگار و رقت لوله‌ای مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که در حالت جامد سیر دارای اثر ضد میکروبی بوده و عصاره کلروفومی سیر نیز توانست هاله عدم رشدی مشابه ای دیسک جنتامایسین ایجاد نماید [۲۹]. شاپوری و همکاران (۱۳۸۳)، اثر ضد میکروبی عصاره سیر را بر باکتری‌های *بروسلا ابورتوس* و *بروسلا ملی‌تنیس* به روش‌های چاهک آگار و رقت در لوله مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره سیر برای هر دو سویه بیماری‌زا به ترتیب برابر با ۱۲۸ و ۲۱۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود [۳۰]. حسن زاده و همکاران (۱۳۹۷)، اثر ضد میکروبی و ویژگی‌های شیمیایی نانوامولسیون عصاره سیر تهیه شده به روش حمام اولتراسوند را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج این مطالعه بیانگر اثر ضد میکروبی ضعیف نانوامولسیون‌ها بود. نتایج بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره سیر به روش ارزیابی مهار رادیکال‌های آزاد نشان داد که عصاره سیر دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشد [۳۱]. حسن و همکاران (۲۰۱۹)، فعالیت ضد میکروبی نانوامولسیون‌های سیر را مورد ارزیابی قرار دادند. در این

41. Kimbaris
42. Notilla
43. Bozin
44. Quercetin

40. Benkeblia

بررسی اثر ضدعفونی‌کنندگی^{۵۰} اسانس‌ها س گیاهی در برابر موریانه ژاپنی پرداختند. در این پژوهش از ۲۹ اسانس‌های گیاهی استفاده شد. نتایج نشان داد که در بین این اسانس‌های گیاهی، اسانس سیر و جوانه گندم ۱۰۰ درصد دارای اثر کشندگی بودند. نتایج کروماتوگرافی گازی سیر نیز نشان داد که سه ترکیب اصلی آن شامل دی آلیل دی سولفید (۵۹/۷٪)، دی آلیل سولفید (۲۱/۳٪) و دی آلیل تری سولفید (۱۰/۹٪) بود [۴۱]. نتایج این مطالعه با پژوهش حاضر همخوانی داشت.

رحمان (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 ضد میکروبی اسانس سیر را به این ترکیب مرتبط دانست. بولین 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 ترکیبی 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 ضد میکروبی 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 پتانسیل آنتی‌اکسیدانی) اسانس سیر نشان داد که گیاه سیر می‌تواند به عنوان یک منبع 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^{۴۵} (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 [۳۷]. 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 ضد ویروسی این اسانس‌ها از طریق آزمون CPE^{۴۷} سنجیده شد. در این آزمایش EC₅₀ معادل ۳۲۰ و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن برابر ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود [۳۸]. خانم و همکاران^{۴۸} (۲۰۰۴)، به بررسی ویژگی ضد-سرطانی 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 این پژوهش‌ها نشان داد که سیر شامل ترکیبات *N-acetyl-allylmercaptan diallyldisulfide S-allylcysteine diallyl sulfone diallylsulfoxide diallylsulfide* و *allyl methyl sulfide* بود. نتایج این محققین اثبات نمود که، سیر اثر ضدسرطانی خود را از طریق تخریب رادیکال‌های آزاد و افزایش فعالیت آنزیم‌هایی مثل کاتالاز و گلوکاتایون اس ترانسفراز ایجاد می‌کند [۳۹].

قنبری 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 قنبری و همکاران بود. دلیل این امر را می‌توان به تفاوت‌های اکولوژیکی گیاه مرتبط دانست [۱۰ و ۱۱]. پارک و شین^{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 In vitro. *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, Didiene 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

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

۶- منابع

- [1] Shahidi F, Tabatabaei Yazdi F, Roshanak S, Alizadeh Behbahani B, Vasiee A, 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, Akhavansepehi 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 Cellularand 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 activityof 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 chloroformic 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 Lasioptalum* 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, Samojlik I, Goran A, Igc 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, Total phenol, Reducing radical capacity, Inhibition zone diameter.

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