



شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس پیاز و بررسی فعالیت ضد میکروبی آن بر استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا اینوکوا، اشرشیا کلی، سالمونلا تیفی، سودوموناس ائروژینوزا و کاندیدا آلبیکنس

غلامرضا بخشی خانیکی^۱، بهزاد ناصحی^{۲*}، محمدعلی ابراهیمی^۳، ندا موحدی صابر^۴، بهروز عزیزاده بهبهانی^۵

۱- استاد، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه پیام نور واحد تهران شرق، ایران.

۲- دانشیار گروه مهندسی و فناوری کشاورزی، دانشگاه پیام نور، ایران.

۳- استاد، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه پیام نور، واحد تهران شرق، ایران.

۴- دانش آموخته رشته زیست فناوری، دانشگاه پیام نور، واحد تهران شرق، ایران.

۵- استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۲۴

کلمات کلیدی:

اسانس پیاز،

حداقل غلظت مهارکنندگی،

رقت سازی در چاهک،

کروماتوگرافی گازی.

DOI: 10.52547/fsct.19.123.225

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.123.30.5

* مسئول مکاتبات:

Nasehi.b@pnum.ac.ir

جهت کاهش زیان های اقتصادی و خطرات جانی ناشی از عوامل بیماری زای میکروبی، استفاده از مواد طبیعی به عنوان ترکیبات ضد میکروبی روشی موثر برای کنترل حضور باکتری های بیماری زا به نظر می رسد. در این پژوهش، ابتدا ترکیبات شیمیایی اسانس پیاز با دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی تعیین گردید. از روش های انتشار در آگار و چاهک آگار جهت بررسی قطر هاله عدم رشد، روش رقت سازی در چاهک (میکروبراث دایلوشن) جهت اندازه گیری حداقل غلظت مهارکننده رشد و همچنین رقت سازی در پورپلیت برای حداقل غلظت کشندگی استفاده شد. در مجموع ۲۰ ماده فرار شیمیایی (تقریباً ۱۰۰ درصد ترکیبات اسانس پیاز) شناسایی شد. ترکیبات Trisulfide dipropyl، n-Decane، Disulfide dipropyl و Furfuryl methyl sulfide به ترتیب با ۲۰/۶۷، ۱۶/۱۸، ۱۳/۵۱ و ۱۰/۲۳ درصد اجزای اصلی تشکیل دهنده اسانس پیاز بودند. نتایج آزمون چاهک آگار نشان داد که اسانس پیاز بیشترین و کمترین تاثیر را به ترتیب بر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس با قطر ۱۵ میلی متر و باکتری گرم منفی سودوموناس ائروژینوزا با قطر ۱۰ میلی متر داشت. نتایج آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد اسانس پیاز برای استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا اینوکوا، اشرشیا کلی، سالمونلا تیفی، سودوموناس ائروژینوزا و کاندیدا آلبیکنس به ترتیب ۵۱۲، ۵۱۲، ۵۱۲، ۵۱۲، ۵۱۲ و ۱۰۲۴ میلی گرم بر میلی لیتر بود. به طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که اثر ضد میکروبی اسانس پیاز تا حدودی بسته به نوع میکروارگانیسم می تواند متفاوت باشد.

۱- مقدمه

بیماری‌های عفونی به عنوان یک تهدید مهم برای سلامت جوامع انسانی به شمار می‌روند. با کشف آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی، مرگ ناشی از بیماری‌های عفونی به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت، اما متأسفانه استفاده بی‌رویه و غیراصولی از آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی و مقاومت ناشی از آن‌ها باعث بازگشت این بیماری‌ها شده است. با توجه به افزایش مقاومت میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در برابر آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی، جهان نیاز مبرمی به تغییر الگوی مصرف و کشف منابع جدید با کمترین اثر جانبی برای سلامت انسان‌ها دارد [۱ و ۲].

درمان صحیح، به موقع و درست با آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی گام مهمی در بهبود بیماری‌های عفونی به حساب می‌آید. پیدایش مقاومت در باکتری‌های بیماری‌زا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی از مشکلات درمانی در جهان می‌باشد. این مسئله به ویژه در کشورهایی که در آن‌ها مصرف آنتی‌بیوتیک بدون تجویز پزشک و غیراصولی است بیشتر قابل توجه می‌باشد. پژوهش‌های بسیاری در جهان انجام پذیرفته است که نتایج این مطالعه‌ها مویده آن است که روند مقاومت آنتی‌بیوتیکی در اکثر نقاط دنیا به صورت جدی افزایش یافته است [۳ و ۴]. طبق پژوهش‌های اخیر افزایش روزافزون مقاومت دارویی به آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی و حساسیت به ترکیبات شیمیایی ضد میکروبی از جمله دلایل رویکرد محققین برای یافتن ترکیبات ضد میکروبی با منشأ گیاهی و دارای اثر جانبی کم برای سلامت انسان‌ها می‌باشد. از این رو ترکیبات ضد میکروبی بر پایه گیاهی می‌توانند در کنترل بیماری‌های انسانی نقش با ارزشی ایفا نمایند [۵ و ۶].

گیاهان دارویی منابعی غنی از متابولیت‌های ثانویه و در واقع منابع مؤثره اساسی بسیاری از مواد دارویی بوده که یک یا برخی از اندام‌های آن‌ها حاوی ماده‌ی اساسی است. این ماده که معمولاً کم‌تر از ۱ درصد وزن خشک گیاه را تشکیل می‌دهد، دارای فواید دارویی مناسب بر موجودات زنده است. زمان دقیق استفاده از گیاهان دارویی به عنوان دارو توسط انسان‌ها معلوم نیست ولی اطلاعات مربوط به فواید و خواص گیاهان دارویی از زمان‌های بسیار دور به دست آمده و سرانجام در اختیار نسل‌های معاصر قرار گرفته است [۷].

پیاز با نام علمی *Allium cepa* گیاهی از سرده سیر در زیر تیره پیازیان از تیره نرگسیان است. پیاز از

خانواده آلیاسه می‌باشد و از نظر گیاه‌شناسی گیاهی است دو ساله با رشد بوته‌ای ضعیف است. فلات ایران به عنوان بخشی از آسیای مرکزی، مرکز تنوع و اهلی شدن پیاز خوراکی است. پیاز از نظر ترکیبات شیمیایی حاوی فلاونوئیدها و آلکیل سیستین سولفوکسیاد بوده که این ترکیبات اهمیت ویژه‌ای در تغذیه و سلامت دارند. ترکیب آلکیل سیستین سولفوکسیاد از مهم‌ترین پیش‌ساز مواد طعم‌دار است. پیاز دارای ترکیبات گوگردی، قند، کلسیم، املاح سدیم و پتاسیم، ید، سیلیس، آهن، فسفر و انواع مختلفی از ویتامین‌های (A, B و C) می‌باشد. اسانس پیاز در اثر پختن از بین می‌رود. پیاز خام فعالیت معده را تشدید می‌کند و باعث افزایش ترشح اسید کلریدریک می‌شود. ترکیبات موجود در پیاز حاوی اثرات ضد سرطان، ضد لخته شدن خون، آنتی‌هیستامینی و ضد میکروبی می‌باشد [۸ و ۹].

هدف از این پژوهش، شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس پیاز و ارزیابی فعالیت ضد میکروبی آن بر استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی، سودوموناس اثرورژینوزا، سالمونلا تیفی، لیستریا اینوکوا و کاندیدا آلبیکنس در شرایط برون‌تنی بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد شیمیایی و محیط‌های کشت

میکروبی

معرف تری فنل تترازولیوم کلراید (سیگما آلدریج، آمریکا)، دیسک‌های بلانک پادتن طب (ایران) و محیط‌های کشت مولر هیتون آگار، مولر هیتون برات، سابروز دکستروز آگار، سابروز دکستروز برات (مرک، آلمان) تهیه شدند.

۲-۲- شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس پیاز با

دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به

طیف‌سنج جرمی

از تزریق ۲ میکرولیتر اسانس پیاز به دستگاه کروماتوگرافی گازی (Agilent Technologies 7890 A) با ستونی به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر (Agilent Technologies Inc., HP-5) متصل به طیف نگار جرمی (Agilent MS) متصل به طیف نگار جرمی (Agilent

Technologies 5975) جهت شناسایی ترکیبات اسانس پیاز استفاده شد [۱۰].

۲-۳- تهیه سوسپانسیون میکروبی و روش‌های

ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس پیاز

برای تهیه سوسپانسیون میکروبی از کشت تازه سویه‌های باکتریایی (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923، *Escherichia coli* ATCC 1707، *Pseudomonas aeruginosa* PTCC 25922، *Listeria innocua* ATCC 25922، *Salmonella typhi* PTCC 1609، *Candida albicans* PTCC 5027) استفاده شد. برای تهیه سوسپانسیون باکتریایی و قارچی به ترتیب ۲۴ و ۷۲ ساعت قبل از انجام آزمون‌های ضد میکروبی، از کشت ذخیره به محیط کشت مولر هیتون آگار و سابروز دکستروز آگار تلقیح شده در دماهای ۳۷ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. پس از گذشت زمان گرم‌خانه‌گذاری سطح محیط کشت با محلول رینگر استریل شسته شده و سوسپانسیون میکروبی با محلول رینگر رقیق گردید تا زمانی که میزان جذب سوسپانسیون در طول موج ۶۲۰ برابر با میزان جذب محلول استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند گردد [۱۱ و ۱۲]. از روش‌های دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی به منظور بررسی اثر ضد میکروبی اسانس پیاز استفاده شد.

۲-۴- دیسک دیفیوژن آگار

سازمان غذا و دارو روش دیسک دیفیوژن آگار را به عنوان روشی استاندارد برای آزمایشگاه‌های تشخیص بالینی ثبت نموده است. روش انتشار در دیسک به احتمال زیاد پرکاربردترین روش سنجش فعالیت ضد میکروبی در مطالعه‌های بررسی اسانس و عصاره‌های گیاهی می‌باشد. در این روش ابتدا پتری‌دیش با ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت استریل مولر هیتون آگار (سویه‌هایی باکتری) و سابروز دکستروز آگار (سویه قارچ) پر شد. سویه‌های بیماری‌زای مورد بررسی در این پژوهش در غلظت استاندارد که معادل نیم مک‌فارلند بود به صورت چمنی بر سطح محیط‌های کشت میکروبی پخش گردید. دیسک‌های کاغذی حاوی ۱۰ میکرولیتر از اسانس پیاز بر سطح محیط کشت‌های میکروبی به کمک پنس استریل قرار داده شد. سویه‌های باکتریایی و قارچی به ترتیب ۲۴ و ۷۲ ساعت در دماهای ۳۷ و ۲۵ درجه

سانتی‌گراد انکوبه گردید. پس از طی این زمان، هاله شفاف ایجاد شده در اطراف دیسک نشانگر عدم رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در حضور اسانس پیاز می‌باشد. هاله شفاف ایجاد شده در اطراف دیسک‌ها توسط خط‌کش اندازه‌گیری و به صورت میلی‌متری گزارش شد. قابل ذکر است که اثر ضد میکروبی اسانس پیاز روی هر سویه میکروبی در سه تکرار انجام شد [۱۳ و ۱۴].

۲-۵- چاهک آگار

در روش چاهک، در مناطقی از محیط کشت مولر هیتون آگار برای سویه‌های باکتری و از محیط کشت سابروز دکستروز آگار برای سویه قارچ، چاهک‌هایی با قطر ۶ میلی‌متر به وسیله انتهای پی‌پت پاستور ایجاد شد. داخل هر چاهک با سمپلر ۲۰ میکرولیتر اسانس پیاز ریخته شد. یک چاهک نیز به عنوان نمونه کنترل فاقد اسانس پیاز نیز در نظر گرفته شد. محیط کشت حاوی باکتری و قارچ به ترتیب در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت و ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت گرم‌خانه‌گذاری گردید. پس از طی زمان انکوباسیون میزان مناطق مهاری مورد ارزیابی قرار گرفت و قطر هاله عدم رشد با خط‌کش بر اساس میلی‌متر ثبت شد [۱۵ و ۱۶].

۲-۶- تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس

پیاز

تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا با چاهک ۹۶ خانه‌ای و با استفاده از معرف تری فنیل تترازولیوم کلراید یا همان روش میکرودیالوژن براث تعیین شد. در این روش غلظت‌های متوالی از اسانس پیاز با رقیق‌سازی در محیط کشت میکروبی (مولر هیتون براث و سابروز دکستروز براث) تهیه شد. درون هر یک از چاهک‌ها میزان ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف اسانس و ۱۰ میکرولیتر از سویه استاندارد میکروبی که معادل نیم مک‌فارلند بود تلقیح شد. چاهک ۹۶ خانه‌ای حاوی باکتری و قارچ به طور جداگانه به ترتیب در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت و ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت گرم‌خانه‌گذاری گردید. پس از طی زمان انکوباسیون برای سویه‌های باکتریایی محلول ۵ درصد از معرف تری فنیل تترازولیوم کلراید به میزان ۱۰ میکرولیتر اضافه شده و مجدداً به مدت ۱۵ دقیقه گرم‌خانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام شد. اولین غلظتی که در آن رشد باکتری روی

تکرار آزمایش بودند، از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA استفاده شد.

نداده و رنگ قرمز تشکیل نشد به عنوان حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد گزارش گردید. تمامی آزمایش‌ها در سه تکرار انجام پذیرفت [۱۵ و ۱۷].

۳- نتایج و بحث

۳-۱- شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس پیاز

نتایج آنالیز اسانس پیاز به وسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی در جدول ۱، آورده شده است. نتایج نشان داد در مجموع ۲۰ ماده فرار شیمیایی تقریباً ۱۰۰ درصد ترکیبات اسانس پیاز را تشکیل داده‌اند. ترکیبات Trisulfide dipropyl, dipropyl n-Decane. Disulfide و Furfuryl methyl sulfide به ترتیب با ۱۶/۱۸، ۱۳/۵۱ و ۱۰/۲۳ درصد اجزای اصلی تشکیل دهنده اسانس پیاز بودند. مقایسه نتایج مطالعه حاضر با پژوهش Liguori و همکاران (۲۰۱۷) تا حدودی مطابقت داشت [۱۹]. اختلاف مشاهده شده بین نوع و درصد ترکیبات شناسایی شده را می‌توان به اختلاف میان نوع واریته، محل کشت، شرایط آب و هوایی، زمان برداشت و ... مرتبط دانست [۲۰]. نتایج این پژوهش نشان داد که ترکیبات سولفیدی بخش اصلی اسانس پیاز را تشکیل می‌دهند.

۲-۷- تعیین حداقل غلظت کشندگی

بعد از تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی برای سویه‌های باکتری و قارچ، از چاهک حداقل غلظت مهارکنندگی به سمت غلظت‌های بالاتر میزان ۱۰۰ میکرولیتر توسط سمپلر برداشته و بر سطح محیط‌های کشت میکروبی (مولر هیتتون آگار برای سویه‌های باکتری و سابروز دکستروز آگار برای سویه قارچ) پخش گردید. پتری دیش‌های حاوی باکتری و قارچ به طور جداگانه به ترتیب در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت و ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت گرم‌خانه‌گذاری گردید. پس از طی زمان انکوباسیون رشد کلنی بر سطح محیط کشت توسط چشم مورد ارزیابی قرار گرفت. اولین پتری دیش که در آن کلنی مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی اسانس پیاز گزارش شد [۱۵ و ۱۸].

۲-۸- آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ صورت گرفت. جهت مقایسه میانگین (شامل سه بار

Table 1 Chemical constituents of *Allium cepa* essential oil

No.	Compounds	Retention time (min)	%
1	Methyl propyl disulfide	10.43	2.44
2	Furfuryl methyl sulfide	14.48	10.23
3	n-Decane	14.69	13.51
4	3-(Methylthio) propanoic acid methyl ester	16.33	4.06
5	Diallyl disulphide	20.58	1.1
6	Undecane	22.45	1.90
7	Disulfide, dipropyl	22.96	16.18
8	1-norvaline, N-propargyloxycarbonyl-, nonyl ester	26.45	3.36
9	Dodecane	31.1	7.02
10	Allyl trisulfide	39.45	0.92
11	Tridecane	39.87	1.84
12	Trisulfide, dipropyl	41.75	20.67
13	Furfuryl disulfide	46.24	0.79
14	Naphtho[2,3-b]thiophene-4,9-dione	47.20	1.06
15	Tetradecane	48.40	1.81
16	Sulfaguanidine	61.11	6.74
17	β -monoolein	114.06	1.65
18	Glycerol 1-palmitate	115.16	1.39
19	Isopropyl linoleate	116.36	0.49
20	n-propyl 11-octadecenoate	116.54	2.81

۳-۱- فعالیت ضد میکروبی اسانس پیاز

نتایج فعالیت ضد میکروبی اسانس پیاز به روش‌های دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی در جدول ۲، آورده شده است. نتایج نشان داد که در روش دیسک دیفیوژن، اسانس پیاز بیشترین تاثیر را بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تیفی* با قطر هاله عدم رشد ۱۱ میلی‌متر داشت. کم‌ترین قطر هاله عدم رشد در روش دیسک دیفیوژن مربوط به مخمر *کاندیدا آلبیکنس* بود. نتایج آزمون چاهک آگار نشان داد که اسانس پیاز بیشترین و کم‌ترین تاثیر را به ترتیب بر باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* با قطر ۱۵ میلی‌متر و باکتری گرم منفی *سودوموناس ائروژینوزا* با قطر ۱۰ میلی‌متر داشت. مقایسه نتایج میان روش‌های دیسک دیفیوژن آگار و چاهک آگار نشان داد که در روش چاهک آگار قطر هاله عدم رشد به طور معنی‌داری نسبت به روش دیسک دیفیوژن آگار بزرگتر است. دلیل این امر را می‌توان به تفاوت روش انجام کار مرتبط دانست. در روش دیسک دیفیوژن آگار لازم است ماده ضد میکروب (اسانس پیاز) از دیسک کاغذی به سطح محیط کشت منتشر شده و اثر خود را بر سویه‌های بیماری‌زا نشان دهد در حالی که در روش چاهک آگار دیسک کاغذی حذف شده و اسانس به طور مستقیم با سویه‌های بیماری‌زا در تماس است. نتایج به دست آمده میان اختلاف قطر هاله عدم رشد مشاهده در مطالعه حاضر با سایر پژوهش‌ها مطابقت داشت. شکل ۱، نمایی از حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس پیاز بر سویه‌های بیماری‌زا را نشان داده است. نتایج آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد اسانس پیاز برای *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا اینوکوا*، *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی*، *سودوموناس ائروژینوزا* و *کاندیدا آلبیکنس* به ترتیب ۵۱۲، ۵۱۲، ۵۱۲ و ۱۰۲۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

نتایج آزمون حداقل غلظت کشندگی اسانس پیاز برای *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا اینوکوا*، *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی* و *سودوموناس ائروژینوزا* بزرگتر از ۲۰۴۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت کشندگی برای سویه قارچی ۲۰۴۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. بکالی و همکاران (۲۰۰۸)، گزارش کردند فعالیت ضد میکروبی اسانس‌ها وابسته به یک مکانیسم نیست و بلکه مکانیسم‌های متنوع در سطح مولکولی در این موضوع نقش ایفا می‌کنند. یکی از راه‌های ممکن، آسیب رساندن غیرقابل برگشت به غشای سلول باکتری است که باعث نشت مواد سیئوپلاسمی، یون‌ها و ایجاد کمبود سوسترهای انرژی مانند گلوکز شود که در نهایت منجر به لیز شدن باکتری و مرگ آن می‌شود. یکره احتمالی دیگر، مهار تولید آمیلاز و پروتئاز است که باعث توقف تولید سم و جریان الکترون می‌شود که در این حالت سلول منعقد گشته و می‌میرد. فعالیت ضد قارچی مشابه فعالیت ضد باکتریایی است، اما دو پدیده دیگر در مهار فعالیت مخمر قابل بیان است که شامل ایجاد pH در هر دو سوی غشا پلاسمایی و دیگری مهار تولید انرژی مشابه آنچه در فعالیت ضد باکتریایی رخ می‌دهد [۲۱]. بنکلیا (۲۰۰۴)، فعالیت ضد میکروبی روغن‌های اسانس پیاز و سیر در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم را مورد بررسی قرار داد. این بررسی بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا* و سه نوع قارچ صورت گرفت. نتایج این پژوهش اثر ضد میکروبی را تایید نمود [۲۲]. به طور کلی باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی از حساسیت بیشتری نسبت به اسانس پیاز برخوردار بودند. دلیل این امر را می‌توان به تفاوت دیواره سلولی میان باکتری‌های گرم مثبت با باکتری‌های گرم منفی مرتبط دانست [۲۰].

Table 2. *In vitro* antimicrobial activity of *Allium cepa* essential oil

Microbial strains	Antimicrobial assays			
	Disc diffusion agar (mm)	Well diffusion agar (mm)	MIC (mg/mL)	MBC/MFC (mg/mL)
<i>Staphylococcus aureus</i>	11.00 ± 0.60	15.00 ± 0.50	512	>2048
<i>Listeria innocua</i>	8.50 ± 0.45	11.00 ± 0.45	512	>2048
<i>Escherichia coli</i>	10.50 ± 0.50	14.00 ± 0.55	512	>2048
<i>Salmonella typhi</i>	11.00 ± 0.60	12.00 ± 0.55	512	>2048
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10.00 ± 0.50	10.00 ± 0.50	512	>2048
<i>Candida albicans</i>	8.00 ± 0.24	11.00 ± 0.55	1024	2048

Values are expressed as mean ± standard deviations, $n = 3$

- Journal of Arak University of Medical Sciences. 2014;17(3):35-46.
- [2] Gadyari F, Sattari M, Boroumand MA, Yaghoubi R, Sepehriseresht S, Purgholi L. Detection of Staphylococcus aureus Entrotoxins A to D in clinical strains isolated from burned patients of Tehran Motahari Hospital. Iranian Journal of Medical Microbiology. 2011;5(1):20-7.
- [3] Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases: 2-volume set: Elsevier Health Sciences; 2014; P.179-296.
- [4] Alizadeh Behbahani B, Shahidi F, Yazdi FT, Mohebbi M. Antifungal effect of aqueous and ethanolic mangrove plant extract on pathogenic fungus" in vitro". International Journal of Agronomy and Plant Production. 2013;4(7):1652-8.
- [5] Tajkarimi M, Ibrahim SA, Cliver D. Antimicrobial herb and spice compounds in food. Food control. 2010;21(9):1199-218.
- [6] Alizadeh Behbahani B, Noshad M, Falah F. Study of chemical structure, antimicrobial, cytotoxic and mechanism of action of Syzygium aromaticum essential oil on foodborne pathogens. Potravinarstvo. 2019;13(1): 875-83.
- [7] Burt RS. Structural holes and good ideas. American journal of sociology. 2004;110(2):349-99.
- [8] Briggs W, Goldman I. Variation in economically and ecologically important traits in onion plant organs during reproductive development. Plant, Cell & Environment. 2002;25(8):1031-7.
- [9] Griffiths G, Trueman L, Crowther T, Thomas B, Smith B. Onions—a global benefit to health. Phytotherapy research. 2002;16(7):603-15.
- [10] Kiarsi Z, Hojjati M, Alizadeh Behbahani B, Noshad M. In vitro antimicrobial effects of Myristica fragrans essential oil on foodborne pathogens and its influence on beef quality during refrigerated storage. Journal of Food Safety. 2020;40(3):e12782.
- [11] Yeganegi M, Yazdi FT, Mortazavi SA, Asili J, Alizadeh Behbahani B, Beigbabaei A. Equisetum telmateia extracts: Chemical compositions, antioxidant activity and antimicrobial effect on the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection. Microbial Pathogenesis. 2018;116:62-7.



Fig 1 Minimum inhibitory concentration of the *Allium cepa* essential oil by microdilution broth method.

۴- نتیجه گیری نهایی

در سال‌های اخیر عواملی همانند بیماری‌های ناشی از مصرف مواد غذایی آلوده، افزایش مقاومت میکروبی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها و پذیرش طب سنتی در خدمات درمانی سبب شده‌اند تا به جایبه کارگریاز آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی، استفاده از ترکیباتی با منشأ گیاهی به عنوان عوامل ضد میکروبی و جایگزین نگهدارنده‌های شیمیایی مورد توجه قرار گیرند. در این پژوهش اسانس پیاز مورد بررسی قرار گرفت. به طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش تجربی نشان داد که اثر ضد میکروبی اسانس پیاز تا حدودی بسته به نوع میکروارگانیسم می‌تواند متفاوت باشد، به طوری که باکتری‌های گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا) در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی (سالمونلا تیفی، سودوموناس آئروژینوزا و اشرشیاکلی) از حساسیت بیشتری برخوردار بودند. پیشنهاد می‌شود در ادامه، پژوهش‌های متعددی در زمینه استفاده از اسانس پیاز بر سایر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و همچنین برهمکنش این اسانس با تعدادی از آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی انجام گردد، تا بتوان دوز مناسب و کاربردی اسانس پیاز مشخص شده و از آن در صنعت غذا و داروسازی بهره گرفت.

۵- منابع

- [1] Tabatabaei Yazdi F, Alizadeh Behbahani B, Heidari Sureshjani M. The comparison of antimicrobial effects of Chevil (*Ferulago angulata*) extract with a variety of common therapeutic antibiotics in vitro.

- [17] Falah F, Shirani K, Vasiee A, Yazdi FT, Alizadeh Behbahani B. In vitro screening of phytochemicals, antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activity of *Echinopssetifer* extract. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2021;35:102102.
- [18] Alghooneh A, Alizadeh Behbahani B, 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.
- [19] Liguori L, Califano R, Albanese D, Raimo F, Crescitelli A, Di Matteo M. Chemical composition and antioxidant properties of five white onion (*Allium cepa* L.) landraces. *Journal of Food Quality*. 2017;2017: 6873651.
- [20] Alizadeh Behbahani B, 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.
- [21] Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils—a review. *Food and Chemical Toxicology*. 2008;46(2):446-75.
- [22] Benkeblia N. Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). *LWT-Food Science and Technology*. 2004;37(2):263-8.
- [12] Alizadeh Behbahani B, Fooladi AAI. Antibacterial activities, phytochemical analysis and chemical composition Makhleseh extracts against the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection. *Microbial Pathogenesis*. 2018;114:204-8.
- [13] Tabatabaei Yazdi F, Alizadeh Behbahani B. Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic *Teucrium polium* L. extracts on gram positive and gram negative bacteria “in vitro”. *Archives of Advances in Biosciences*. 2013;4(4): 56-62.
- [14] Majdi B, Mehrnia MA, Barzegar H, Alizadeh Behbahani B. Determination of the structure, chemical composition, antioxidant activity and the cytotoxic effect of Turmeric essential oil. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 2021;17(2):261-71.
- [15] Mehrnia MA, Alizadeh Behbahani B, Barzegar H, Tanavar H. *Sclerorhachisplatyrachis* essential oil: Antioxidant power, total phenolic and flavonoid content and its antimicrobial activity on some Gram-positive and Gram-negative bacteria “in vitro”. *Food Science and Technology*. 2021;18(112):189-98.
- [16] Rahmati-Joneidabad M, Alizadeh Behbahani B, Noshad M. Antifungal effect of *Saturejakhuzestanica* essential oil on *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, and *Rhizopus stolonifer* causing strawberry's rot and mold. *Food Science and Technology*. 2021;18(115):171-80.



Identification of chemical compounds of *Allium cepa* essential oil and evaluation of its antimicrobial activity on *Staphylococcus aureus*, *Listeria innocua*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*

Bakhshi-Khaniki, Gh.¹, Nasehi, B.^{2*}, Ebrahimi, M. A.³, Movahedi Saber, N.⁴, Alizadeh Behbahani, B.⁵

1. Department of Agricultural Biotechnology, Payame Noor University (PNU), Iran.
2. Department of Agricultural Engineering and Technology, Payame Noor University (PNU), Iran.
3. Department of Agricultural Biotechnology, Payame Noor University (PNU), Iran.
4. M.Sc. graduate, Department of Agricultural Biotechnology, Payame Noor University (PNU), Iran.
5. 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.

ABSTRACT

In order to reduce the economic losses and life risks caused by microbial pathogens, the use of natural substances as antimicrobial compounds seems to be an effective way to control the presence of pathogenic bacteria. In this study, the chemical composition of onion essential oil was determined by gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS). The methods in disk diffusion agar (DDA) and well diffusion agar (WDA) was used to investigate the inhibition zone diameter, micro-dilution broth was used to measure the minimum inhibitory concentration (MIC) and pour-plate technique was also used for minimum bactericidal/fungicidal (MBC/MFC) concentration. A total of 20 chemical volatiles (approximately 100% of onion essential oil compounds) were identified. The compounds Trisulfide dipropyl, Disulfide dipropyl, n-Decane and Furfuryl methyl sulfide with 20.67, 16.18, 13.51 and 10.23% of the main constituents of onion essential oil, respectively. The results of WDA showed that onion essential oil had the most and the least effect on Gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus* with a diameter of 15 mm and Gram-negative bacteria *Pseudomonas aeruginosa* with a diameter of 10 mm, respectively. The results of MIC onion essential oil for *Staphylococcus aureus*, *Listeria innocua*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans* 512, 512, 512, 512, 512 and 1024 mg/mL, respectively. In general, the results of this study showed that the antimicrobial effect of onion essential oil can be somewhat different depending on the type of microorganism.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2022/ 01/ 15
Accepted 2022/ 02/ 13

Keywords:

Onion essential oil,
Minimum inhibitory concentration,
Micro-dilution broth,
Gas chromatography.

DOI: 10.52547/fsct.19.123.225

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.123.30.5

*Corresponding Author E-Mail:
Nasehi.b@pnum.ac.ir