مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی اثر آنتی باکتریالی اسانس گیاه کاکوتی کوهی منطقه خراسان شمالی روی باکتری گرم منفی *سالمونلا تیفی موریوم* در محیط in vitro

عباس بایگان[1]، شیلا صفاییان[2*]، رضا شاهین فر [3 و 4]، ژاله خوشخو[2]

۱- دانش آموخته دکترای تخصصی، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۳- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

٤- استادیار مرکز رشد فناوری سلامت ابن سینا، پژوهشگاه ابن سینا، جهاد دانشگاهی، تهران، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱٤۰۱ /۰۲/۳۱

تاریخ پذیرش: ۱٤۰۱/۰۵/۰۹

کلمات کلیدی:

آنتی باکتریال،

اسانس،

کاکوتی،

سالمونلا تیفی موریوم، سالمونلوزیس،

زئونوز.

DOI: 10.22034/FSCT.19.130.355

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.27.6

* مسئول مکاتبات:

iranianresearch20@gmail.com

چکیده

امروزه بیماری های مشترک بین انسان و دام (زئونوز) وکنترل بیماری ها و مسمومیت های ناشی از غذای با منشاء دام از اهمیت بالایی برخوردار است. با توجه به اهمیت گوشت در انتقال باکتری های بیماری زا مثل *سالمونلا*، در این تحقیق کنترل و کاهش بار میکروبی این باکتری با استفاده از اسانس گیاه کاکوتی منطقه خراسان شمالی در محیط in vitro بررسی شد. گیاه کاکوتی کوهی از کوه های شهرستان بجنورد در استان خراسان شمالی تهیه و اسانس آن با استفاده از دستگاه کلونجر صنعتی استخراج شد. ترکیبات اسانس با آنالیز شیمیایی و با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی GC/MS به دست آمد. نتایج آنالیز نشان داد که اسانس کاکوتی کوهی حاوی ۲٤ ترکیب شیمیایی است و بیشترین ترکیب به ترتیب پولگون (۳۳/۱۰ ٪)، کارواکرول (۱۰/٦۰ ٪)، پیپریتنون (۹/۳۳ ٪)، اکالیپتول (۸/۰۱ ٪)، γ- ترپینئول (۵/٤٦ ٪)، ال- منتون (٤/۷۹ ٪) بود. اثرات آنتی باکتریالی اسانس کاکوتی کوهی روی باکتری گرم منفی *سالمونلا تیفی موریوم* با انجام آزمون های تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) به روش رقت لوله ای انجام شد. نتیجه آزمایشات نشان داد که اسانس گیاه کاکوتی کوهی اثر ضد باکتریایی داشته و می تواند رشد باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* را مهار کند و به عنوان نگه دارنده طبیعی به مواد غذایی اضافه شود. حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) اسانس کاکوتی کوهی برای باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* معادل ۱۲۵ µL/L و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس کاکوتی کوهی برای باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* معادل ۲۵۰ µL/L به دست آمد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-27]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.27.6]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.355]

۱- مقدمه

مطالعات اپیدمیولوژی نشان داده که غذاهای با منشاء حیوانی مخزن عمده بیماری هایی هستند که توسط غذا منتقل می شوند. از بین باکتری های بیماری زا، گونه های *سالمونلا*[1]، *لیستریا*[2] و *یرسینیا*[3] در محدوده گونانی از مواد غذایی شامل: گوشت، فراورده های گوشتی، لبنیات و سبزیجات شایع ترند. تحقیقات نشان می دهد امروزه در سراسر جهان میلیون ها نفر به بیماری های قابل انتقال از طریق غذا و آب مبتلا هستند. متاسفانه این مساله در کشورهای در حال توسعه و در میان افرادی که به ضعف سیستم ایمنی و یا سوء تغذیه مبتلا هستند در حال افزایش است. پیدایش پاتوژن های منتقل شده از غذا و اثرات مخرب آن بر روی سلامت عمومی جامعه یکی از مهم ترین چالش های امروز بشری در سیستم مراقبت بهداشت جهانی می باشد [۱].

منبع اصلی آلودگی ها، دام زنده می باشد و آلودگی در لاشه می تواند در اثر بیماری های میکروبی دام هنگام کشتار و یا در اثر عدم رعایت موازین بهداشتی در طول زنجیره کشتار ایجاد شده باشد. پشم و پوست، بخش های مرطوب مجاری طبیعی بدن از قبیل پوزه، دهان، پلک چشم، سوراخ گوش، مقعد، بخش خارجی دستگاه تناسلی، و در دام های ماده محل خروج شیر از پستان، همگی آلوده و حاوی انواع مختلف میکروارگانیسم های عامل عفونت ها و مسمومیت های غذایی می باشند [۲].

۲- سابقه استفاده از گیاهان دارویی و اسانس ها

به طور تقریبی حدود ۵۰۰ هزار گونه گیاهی در جهان شناسایی‌شده است که از آن میان کمتر از هزار گونه به عنوان گیاه دارویی نام‌گذاری شده است. در حال حاضر حدود یک سوم تا نیمی از فراورده های دارویی در کشور آمریکا دارای منشأ گیاهی می باشد. بررسی تاریخچه استفاده از گیاه‌درمانی از زمان های گذشته تا اواسط قرن بیستم، نشان‌دهنده افت مصرف گیاهان دارویی تا دهه ۱۹۴۰ و افزایش مجدد استفاده از آن ها تا دهه ۱۹۸۰ می باشد [۳].

یکی از راه های کنترل بهداشت مواد غذایی و افزایش ماندگاری محصولات غذایی، استفاده از اسانس های گیاهی و طبیعی است که با افزایش غلظت اسانس، لگاریتم تعداد میکروارگانیسم ها در مواد غذایی کاهش می یابد. در سال های اخیر عصاره ها و اسانس های مختلف گیاهان، به عنوان نگه دارنده طبیعی در محصولات مختلف غذایی استفاده می شوند که اسانس ها به دلیل داشتن ترکیبات طبیعی و خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی، برای مصرف کننده ها بیشتر قابل قبول هستند [٤].

سرزمین ایران کشوری ممتاز و با رتبه بالا ازنظر غنای گیاهی و تنوع زیستی و دارای ۱۱ اقلیم از ۱۳ اقلیم شناخته‌شده جهانی است. بر اساس نظر گیاه‌شناسان و پژوهشگران، تعداد گونه‌های گیاهی ایران در حدود ۸۰۰۰ گونه است که ازنظر تنوع گونه‌ای حداقل دو برابر قاره اروپاست. تحقیقات نشان داده است که بیش از ۲۳۰۰ گونه از گیاهان کشور دارای خواص دارویی، عطری، ادویه‌ای و آرایشی و بهداشتی هستند. به‌علاوه ۱۷۲۸ گونه از این گیاهان به گیاهان بومی ایران می‌باشند، که منحصراً در سرزمین ایران می رویند و به عنوان یک ظرفیت انحصاری در کشور محسوب می‌شوند. افزودن ترکیبات طبیعی به عنوان عامل آنتی‌اکسیدان و ضد میکروب می‌تواند سبب افزایش ماندگاری غذاها از طریق محافظت از غذا در مقابل تهاجم میکروبی و اکسیداسیون شود. از طرفی آنتی‌اکسیدآن های طبیعی موجود در غذا می‌تواند به بدن انسان منتقل گردد و مهار گونه‌های فعال اکسیژن را در بدن سبب شود [۵].

تاکنون حدود ۳۰۰۰ نوع اسانس شناخته‌شده اند که ۳۰ نوع از نظر تجاری اهمیت دارند و عمدتاً به‌منظور عطرو طعم بخشیدن به غذاها استفاده می‌شوند. مهم‌ترین گیاهان دارویی حاوی اسانس، متعلق به خانواده‌های: نعناع، سداب، گشنیز، کاسنی، کاج، سرو و تعداد کمی از سایر گیاهان می‌باشند [٦].

سابقه استعمال اسانس ها به دوران باستان بازمی گردد، مصریان ٤۵۰۰ سال پیش از میلاد از عصاره گیاهان معطر مانند گل رز، برگ درخت سدر و موارد مشابه دیگر برای مصارف آرایشی و طبی و مناسک مذهبی و آئین‌ها استفاده می کردند. اسناد به دست آمده نشان می دهد که مصریان ٤ قرن پیش از میلاد برای مومیایی کردن فراعنه از این اسانس‌ها استفاده می کردند. مومیاگران بعد از

1. Salmonella
2. Listeria
3. Yersinia

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-27]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.27.6]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.355]

خارج نمودن احشاء بدن، شکم اجساد را از اسانس‌های سیر، دارچین و مواد معطر دیگر پرمی کردند. در کشور چین استفاده از گیاهان دارویی و مواد طبیعی قدمت چند هزارساله دارد و از مواد روغنی در گیاه‌درمانی و مراسم مذهبی و سنتی استفاده می کردند. در دوران حکومت بابل نیز اثر نگه دارندگی ادویه و گیاهان معطر شناخته‌شده بود. تولید اسانس‌های روغنی به روش تقطیر به عنوان یک روش مرسوم در بیش از ۲۰۰۰ سال قبل، اولین بار توسط مصری‌ها، هندی‌ها و ایرانی‌ها استفاده می شد [۷].

در هند باستان، گیاهان معطر و خوشبو در زندگی روزمره و مراسم مذهبی به خصوص از عطر گل‌های رز و یاسمن و بخور صندل در معابد و مکان های مقدس استفاده می کردند. در قرن نهم عرب‌ها با اصلاح روش های اسانس گیری، روش جدا نمودن اسانس‌ها را از منابع طبیعی بهبود دادند، شواهد نشان می دهد که اولین اسانس‌های روغنی به وسیله یک شیمیدان اسپانیایی به نام *آرنولد ویلانوا* در اواخر قرن سیزدهم تهیه شد که به آب‌های معطر با خاصیت درمانی معروف بود. از اواخر قرن نوزدهم آزمایش‌ها خاصی درزمینه بررسی ویژگی‌های ضد میکروبی بعضی گیاهان معطر و اجزا آن ها به ثبت رسیده است [۸]. در یونان و روم قدیم این نیز از این روغن‌ها برای معطر ساختن بدن و تسکین درد و ماساژ درمانی و حمام درمانی استفاده می شده است. به‌هرحال در قرون ۱۹ و ۲۰ استفاده از خواص طعم و بوی اسانس‌ها بر مصارف پزشکی آن ها ارجحیت یافت [۵].

۳- شناخت گیاه کاکوتی[4]

گیاه کاکوتی متعلق به خانواده نعناییان و دارای گونه های دارویی و معطر بسیار ارزشمندی است. تاکنون بالغ بر ۲۵ گونه از این جنس در ایران، ترکیه، روسیه، ترکمنستان، افغانستان، پاکستان، ماورای قفقاز و سیبری شناسایی شده است. این گیاه به حالت وحشی در شمال، مرکز، شمال غرب، جنوب و شمال شرق ایران پراکنش دارد و به نام‌های کاکوتی کوهی، مشک طرامشک، آویشن برگ باریک، کاکوتی ایرانی، دسرسان شرقی، صعتر،آنخ و کهلانه شناخته می‌شود [۹].

4. *Ziziphora clinopodioides*

گیاه کاکوتی با نام علمی *Ziziphora clinopodioides* از تیره *Ziziphora* و جزو خانواده *Lamiaceae* است. جنس *Ziziphora* در ایران شامل چهار گونه *Z. persica*، *Z. tenuior L.*، *Z. capitata L.* و *Z. clinopodioides L.* است که بومی ایران بوده و در مناطق مختلف ایران گسترده هستند [۱۰]. در ایران *Ziziphora clinopodioides* با نام محلی " کاکوتی کوهی" شناخته می شود و گیاهی است چند ساله با بوته های ساقه دار کوتاه بین ۵ تا ۱۶ سانتی متر و برگ های نازک و تیز که در مناطق مختلف ایران می روید [۱۱].

از گونه‌های مختلف این جنس تاکنون در مطالعات متعدد به عنوان اشتها آور، ضد نفخ، ضد حشرات، طعم دهنده، ضد اسپاسم در ناراحتی‌های گوارشی، ضد اسهال، عامل ضد قارچی، عامل ضد باکتری قوی و افزایش جذب غذا مورد استفاده قرار گرفته است [۱۲]. رویشگاه‌های طبیعی این گیاه اغلب شامل مناطق استپی، دامنه‌های سنگلاخی و حاشیه مزارع کشاورزی در حدفاصل ارتفاع ۴۵۰ تا ۳۰۰۰ متر از سطح دریا است [۱۳]. بسته به نوع خاک، مرحله رشد، زمان برداشت و عوامل متعدد دیگر نظیر شرایط آب و هوا و غیره میزان بازدهی اسانس و میزان ترکیبات شیمیایی آن متفاوت خواهد بود [۱۰].

در طب سنتی ایرانی، از خواص درمانی کاکوتی برای درمان بیماری های زیادی مانند آنفولانزا، التیام زخم ها و اثرات ترمیمی، درمان بیماری های گوارشی و سایر اثرات آن مانند خواص ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد ویروسی استفاده شده است [۱۴]. مصرف سنتی گیاه کاکوتی در مناطق مختلف ایران به صورت پودر بوده و در بسیاری از محصولات غذایی مانند گوشت، محصولات لبنی به ویژه ماست و دوغ برای افزایش عطر و طعم استفاده می شود [۱۵]. در پاکستان از اسانس گیاه کاکوتی برای درمان تب تیفوئید استفاده می شود [۱۶].

۴- سالمونلوزیس[5]

باکتری *سالمونلا* از خطرناک ترین عوامل بیماری ناشی از غذا بوده است که دارای گسترش جغرافیایی وسیعی است و قادر به ایجاد عفونت در طیف وسیعی از موجودات زنده از جمله انسان،

5. Salmonellosis

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-27]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.27.6]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.355]

حیوانات و طیور می باشد. سالمونلوز از جمله بیماری های زئونوز[6] (بیماری مشترک بین انسان و حیوان) است که از طریق مواد غذایی با منشاء دامی به انسان منتقل می شود و توسط گونه های مختلف جنس سالمونلا ایجاد می شود [۱۱].

سالمونلا یک باکتری باسیل از خانواده انتروباکتریاسه است. این باکتری گرم منفی، فاقد اسپور و میله ای شکل و توسط فلاژل های اطرافی حرکت می کند. بر اساس آخرین طبقه بندی انجام شده اعضای جنس سالمونلا، به دو گونه *سالمونلا انتریکا*[7] و *سالمونلا بونگوری*[8] تقسیم می شوند. *سالمونلا انتریکا* بر اساس ویژگی های بیوشیمیایی و همولوژی DNA شامل ۷ زیرگونه است که هر کدام دارای سروتیپ های مختلفی هستند. بیشتر این سروتیپ ها برای انسان و حیوان بیماری زا هستند و عموما انتقال آنها از طریق آب و غذا صورت می گیرد. سروتیپ های *سالمونلا انتریتیدیس*[9] و *سالمونلا تیفی موریوم*[10] در مقام اول عفونت های غذایی قرار دارند و دارای شیوع گسترده ای در آسیا می باشند. *سالمونلا تیفی موریوم* از جمله گونه هایی است که علاوه بر دارا بودن میزبان های زیاد، دارای مقاومت محیطی بالا می باشد، لذا قدرت تکثیر و زنده ماندن به مدت طولانی در محیط و نمونه های غذایی را دارد.

سالمونلوزیس در سال ۱۹۸٤ میلادی توسط سازمان بهداشت جهانی[11] به عنوان عامل تهدید کننده جدید و جدی جهت سلامت عمومی اعلام شد. این باکتری با بیش از ۲۵۰۰ سروتیپ، جزء دومین موارد از بیماری های ناشی از مصرف مواد غذایی آلوده در آمریکا می باشد [۱]. افزایش شیوع سالمونلوزیس در کشورهای مختلف موید همین مساله است به طوری که در آلمان در فاصله بین سال های ۱۹۸۵ تا ۱۹۹۰ تقریبا سالمونلوزیس به میزان ۳ برابر رشد کرده و علت آن را افزایش بیش از حد در شیوع سروتیپ انتریتیدیس می دانند که در حقیقت یک اپیدمیولوژیک جهانی است [۱۷].

نظر به پژوهش ها و اطلاعات آماری موجود، مهم ترین منابع آلودگی مواد غذایی با منشاء سالمونلوزیس شامل گوشت مرغ، گوشت گاو، تخم مرغ، ماهی و شیر و محصولات لبنی می باشد [۱۸]. بیماری های مهم ناشی از سالمونلا شامل تب روده ای به دو فرم تیفوئید[12] (حصبه) و پاراتیفوئید[13] (شبه حصبه)، باکتریمی[14] همراه با زخم های موضعی است [۱۹].

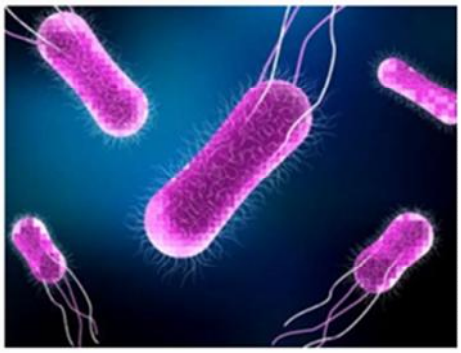

Fig 1 *Salmonella* Bacteria.

۵- سابقه مطالعات روی *سالمونلا*

اولین گزارش مربوط به شیوع مسمومیت غذایی ناشی از *سالمونلا* توسط *گارنر* در سال ۱۸۸۸ در آلمان گزارش شد. *سالمونلا* در انسان بیماری های مختلف مانند تب روده، حصبه و شبه حصبه، عفونت خون و مسمومیت های غذایی را ایجاد می کند که گوشت و شیر خام از مهم ترین منابع آلودگی انسان به *سالمونلا* می باشند. این باکتری باعث بروز تقریبا ۲۵ میلیون عفونت و حدود ۲۰۰/۰۰۰ مرگ در سطح جهان می شود. با توجه به میزان مرگ و میر بالا، این مساله به عنوان خطر جدی در حوزه صنایع غذایی می باشد. در مطالعه ای که *تاج بخش و همکاران* بر روی گوشت مرغ انجام دادند، نشان داد ۲۸ درصد از نمونه های گوشت مرغ، آلودگی سالمونلایی داشته که از این تعداد ۵۰ درصد آن را *سالمونلا تیفی موریوم* تشکیل داده است [۱].

شایگان نیا و همکاران در تحقیق خود نشان دادند که ۱/٦٦ درصد از نمونه های شیر خام گاو، گوسفند، شتر، بز و فراورده های لبنی آزمایش شده از نظر سالمونلا مثبت بودند و شیر خام گوسفند بیشترین میزان شیوع گونه های سالمونلا یعنی ۷/۵ درصد آلوده بود [۲۰].

نصرتی و همکاران سروتیپ های مختلف از *سالمونلا تیفی موریوم*، *تیفی* و *انتریتیدیس* در مواد غذایی را مورد بررسی قرار

6. Zoonosis
7. Salmonella enterica
8. Salmonella bongori
9. Salmonella enteritidis
10. Salmonella typhimurium
11. World Health Organization (WHO)

12. Typhoid
13. Paratyphoid
14. Bacteremia

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-27]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.27.6]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.355]

دادند. نتایج شیوع آلودگی باکتریایی را در ۲۴/۷ درصد از نمونه های گوشت گاو، گوشت مرغ، تخم مرغ، شیر و سس مایونز نشان داد [۱۸].

در مطالعه *اشراقی و همکاران* که در آن ۱۹۵۰ کودک مبتلا به اسهال مورد بررسی قرارگرفتند، ۱۴۶ مورد یعنی ۷/۵ درصد از آن ها مبتلا به پاتوژن های باکتریایی بودند که در این میان ۲۶ مورد یعنی ۱۷/۸ درصد از آنها آلوده به سویه های مختلف سالمونلا بودند. در میان سویه های مختلف، بیشترین میزان آلودگی مربوط به *سالمونلا انتریتیدیس* با ۵۴ درصد گزارش شده است. دلیل این امر شاید آندمیک بودن این نوع سالمونلا در ایران و ابتلا اکثر افراد جامعه در سنین پایین به این نوع می باشد. به نظر می رسد علت شیوع آن استفاده از مواد اولیه فاقد کد بهداشتی و استفاده غذاهای خام و نپخته مثل کباب، همبرگر، تخم مرغ و فراورده های آن باشد [۱۷].

۶- مکانیسم اثر آنتی میکروبی اسانس ها

استفاده از نگه دارنده های ضد میکروبی در بسیاری از محصولات غذایی به منظور جلوگیری از آلودگی ماده غذایی پس از تولید بسیار رایج است و باعث افزایش زمان ماندگاری و حفظ کیفیت غذا می‌شود [۲۱]. اسانس ها، ترکیبات فرار، چربی دوست و معطر هستند که از گیاهان استخراج شده و معمولا به عنوان طعم دهنده های خوراکی استفاده می شوند. در کنار این ترکیبات طبیعی، ترکیبات آروماتیک مشابه آنها از سنتز شیمیایی به دست می آیند ولی توجه پژوهشگران و مصرف کننده ها به اسانس ها و روغن های گیاهی و طبیعی بیشتر است. اسانس ها ترکیباتی هستند که به نور، اکسیژن، رطوبت و حرارت بسیار حساس هستند و لذا استخراج، نگه داری و انجام فرایند های غذایی آنها نیاز به شرایط خاص دارد [۲۲].

نکته مهم در استفاده از اسانس ها، محافظت آن ها از تبخیر و تخریب می باشد که در زمان مناسب اسانس بتواند رها شده و عملکرد خود را نشان دهد. اسانس های طبیعی معمولا قیمت بالایی داشته و حمل و نقل و نگه داری آنها به صورت مایع مقرون به صرفه نیست و لذا از روش های مختلف انکپسولاسیون برای محافظت و افزایش پایداری، سهولت در نگه داری و حمل و نقل استفاده می شود [۲۳].

میکروارگانیسم‌ها، ارگانیسم‌های تک‌سلولی هستند که به گروه‌های اصلی مختلفی تقسیم می‌شوند و در میان آن ها باکتری‌ها و قارچ‌های تک‌سلولی قرار دارند. سه لایه، سیتوپلاسم باکتری‌های گرم منفی را پوشش داده است که مجموع غشاء سیتوپلاسمی، لایه پپتیدوگلیکان و لایه بیرونی به همراه پری پلاسم سلول دارای پوشش گرم منفی نامیده می‌شود. باکتری‌های گرم مثبت فاقد غشاء بیرونی هستند و دیواره سلولی در بیرونی‌ترین قسمت سلول واقع شده است و مشابه باکتری‌های گرم منفی شامل پپتیدوگلیکان هستند [۲۴].

اثرات ضد باکتریایی اسانس‌ها به دلیل اختلال در غشای خارجی و نفوذپذیری آن، در باکتری‌های گرم منفی ایجاد می‌شود و اثرات ضد باکتریایی آن، توسط پژوهشگران گزارش‌شده است. در مطالعات متعدد دیگر نیز اثرات اسانس‌های گیاهی برافزایش ماندگاری مواد غذایی مختلف ارزیابی‌شده است [۲۵]. اسانس‌ها دارای اثرات ضدمیکروبی هستند. این مواد حاوی ترکیبات مختلفی هستند که بین آن ها ترکیبات فنلی به دلیل دارا بودن گروه هیدرو کسید، بیشترین اثرات ضد میکروبی را دارا می‌باشند [۲۶].

ترکیبات شیمیایی اسانس‌ها برحسب اینکه از مناطق مختلف جغرافیایی و یا مراحل مختلف برداشت به دست آمده باشند، می‌تواند متفاوت باشند. شاید علت تفاوت اثرات اسانس‌ها بین گرم مثبت‌ها و گرم منفی‌ها همین تغییرات در ترکیب شیمیایی یک نوع اسانس باشد. درهرصورت در بین گرم منفی‌ها، سودوموناس ها کم ترین حساسیت را به اثر ضد میکروبی اسانس‌ها دارا می‌باشند [۵].

به طورکلی میزان بازدارندگی اسانس‌ها را می‌توان به حضور یک حلقه آروماتیک متصل به یک گروه قطبی نسبت داد [۷]. عمل اسانس‌های روغنی به غلظت آن ها وابسته است، غلظت‌های پایین از عمل آنزیم‌های مربوط به تولید انرژی ممانعت می کنند درحالی‌که مقادیر بالای اسانس موجب رسوب پروتئین‌ها می گردد. با این وجود این مطلب نامشخص است که آیا تخریب دیواره سلولی مربوط به مقدار ترکیبات ضد میکروبی است که سلول در معرض آن ها قرار می‌گیرد و یا تأثیر اسانس‌ها، در ابتدا موجب یک تخریب کوچک می گردد و سپس تخریب دیواره

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-27]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.27.6]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.355]

سلولی ایجاد می‌شود [۲۷]. با توجه به وجود تعداد زیادی از گروه‌های ترکیبات شیمیایی در اسانس‌ها به نظر می‌رسد که فعالیت ضد باکتریایی آن ها به یک مکانیسم معین محدود نمی شود، بلکه چندین هدف عمده در سلول وجود دارد. محل عمل ترکیبات اسانس در سلول باکتری در شکل ۲ نشان داده شده است که عبارتند از: دیواره سلولی، غشاء سیتوپلاسمی، پروتئین‌های غشاء سیتوپلاسمی، انعقاد و کوآگوله شدن محتویات سیتوپلاسم، نشت اجزا سیتوپلاسمی: متابولیت ها و یون‌ها.

یکی از خواص مهم اسانس‌ها خاصیت آب‌گریزی آن ها می باشد که آن ها را قادر می سازد دیواره سلولی باکتری‌ها یا دیواره میتوکندری ها را تجزیه کنند و باعث تخریب سلولی و نفوذپذیری بیشتر سلول‌ها شود. نشت یون‌ها و دیگر محتویات سلولی نیز می‌تواند اتفاق بیفتد و کم شدن زیاد محتویات سلول باکتری و یا خروج مواد حساس و یون‌ها منجر به مرگ باکتری خواهد شد [۵]. اسانس‌ها همچنین روی پروتئین‌های موجود در غشاء سیتوپلاسمی اثرمی گذارند. آنزیم‌ها در غشای سیتوپلاسمی جای گرفته‌اند و به وسیله مولکول‌های چربی در مرز غشاء وارد شده‌اند. دو مکانیسم ممکن پیشنهاد شده است که به وسیله آن هیدروکربن‌های حلقوی می‌توانند عمل کنند. مولکول‌های هیدروکربن چربی‌دوست می‌توانند در یک‌لایه بدون چربی تجمع یابند و واکنش چربی- پروتئین را از شکل طبیعی خارج کنند سپس واکنش مستقیم ترکیبات چربی‌دوست با قسمت‌های آب گریز پروتئین‌ها ممکن می گردد [۲۸].

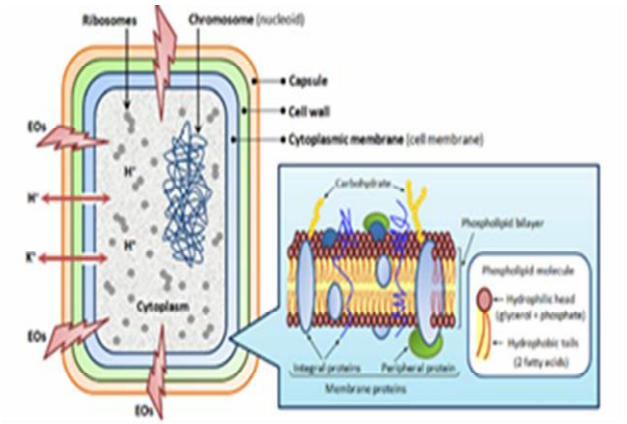

Fig 2 Mechanism of Effect of Essential Oil on Bacterial Cell Wall.

امروزه مواد ضد میکروبی فراوانی در بسته بندی های مواد غذایی استفاده می‌شوند که هریک از این مواد، ویژگی‌های و مکانیسم اثر خاص خود رادارند. این مواد برحسب عواملی چون نوع ماده غذایی، نوع میکروارگانیسم‌های موجود و سرعت رشد آن‌ها، فعالیت و گستردگی اثر ضد میکروبی، ترکیب شیمیایی ماده ضد میکروبی و عوامل دیگر انتخاب شده و به کار می‌روند. باید توجه داشت که بهتر است در صورت امکان برای مبارزه با میکروارگانیسم‌ها شرایط رشد آن‌ها را در ماده غذایی محدود کنیم و یا حداقل از مواد ضد میکروبی طبیعی استفاده نماییم. استفاده از مواد ضد میکروبی در بسته بندی محصولات گوشتی بسیار مهم و مؤثرتر از روش اسپری کردن این مواد روی سطح گوشت و یا غوطه‌ور کردن گوشت در این مواد می‌باشد. چون مواد ضد میکروبی به تدریج در بسته بندی آزاد شده و به قسمت‌های مختلف گوشت و عمق آن می‌رود و اثر خودش را می‌گذارد ولی در روش‌های قبل عمدتاً فقط سطح گوشت ضد عفونی می‌شود [۲۲].

۷- مواد و روش ها

۷-۱- تهیه گیاه

۷ گیاه کاکوتی در اوایل فصل تابستان تهیه و برای شناسایی به پژوهشکده گیاهان دارویی ارسال شد. برای بهبود رنگ برگ‌ها و حفظ ترکیبات فرار، نمونه های جمع آوری شده در سایه خشک و برگ ها از ساقه ها جدا شد [۹].

۷-۲- استخراج اسانس

استخراج اسانس از برگ های خشک گیاه به روش تقطیر و با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۳ تا ٤ ساعت انجام شد [۲۹]. پس از جدا سازی اسانس، برای جذب آب و رطوبت باقی‌مانده، بر روی اسانس به دست آمده چند گرم سولفات سدیم بدون آب اضافه شد و سپس در ظرف شیشه ای تیره و استریل شده ریخته و درب آن محکم بسته شد و در دمای ٤ درجه سانتی گراد نگه داری شد. آنالیز و شناسایی ترکیبات اسانس کاکوتی، با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف نگار جرمی انجام شد.

۷-۳- تهیه باکتری

باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* با کد ATCC 10708 از "مرکز

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-27]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.27.6]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.355]

ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران" به صورت کشت فعال پلیت کانت آگار[۱۵] (PCA) تهیه و در یخچال نگه داری شد.

Fig 3 Leaves of *Ziiziphora clinopodioides*.

Fig 4 Extraction of *Ziiziphora clinopodioides* essential oil.

۷-٤- کشت تازه باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* در محیط MHB[۱۶]

برای تهیه کشت تازه باکتری که میکرواورگانیسم ها در فاز فعال خود هستند، ۱۵ cc محیط کشت مولر هینتون براث (MHB) داخل ارلن تهیه و درب آن با پنبه و فویل بسته و اتوکلاو شد. سپس محیط کشت و یک لوله اتوکلاو شده به زیر هود لامینار منتقل و سطح هود با الکل ۷۰ ٪ استریل شد. نمونه اصلی باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* را از یخچال خارج کرده و به زیر هود منتقل شد. پس از خنک شدن محیط کشت آن را داخل یک لوله استریل ریخته و یک لوپ روی شعله کاملا سرخ شد. پس از میکروب کشی و خنک شدن لوپ، درب محیط کشت اصلی باکتری در کنار شعله باز شد و یک لوپ از کلنی های باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* برداشته و داخل لوله آزمایش حل شد. درب لوله آزمایش با پنبه و فویل بسته شد و روی شیکر افقی هایدولف به مدت ۵ دقیقه کاملا همزده شد. سپس لوله آزمایش در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه به مدت ۲٤ ساعت نگه داری شد.

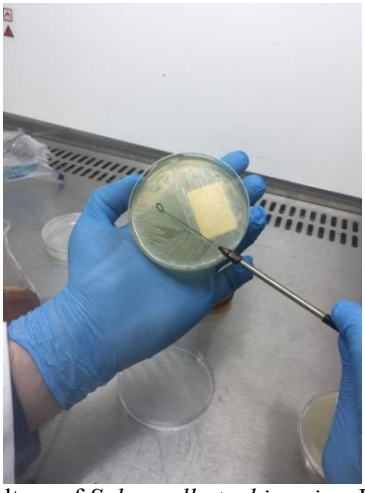

Fig 5 Culture of *Salmonella typhimurium* Bacteria.

۷-۵- تهیه سوسپانسیون میکروبی ۰/۵ مک فارلند

۵ سوسپانسیون میکروبی ۰/۵ مک فارلند از کشت تازه و ۲٤ ساعته باکتری تهیه شد [۳۰]. نمونه کشت تازه باکتری و محیط کشت مایع MHB اتوکلاو شده به زیر هود لامینار منتقل شد. روی لوله استریل شده نام باکتری و تاریخ تهیه ۰/۵ مک فارلند درج شد. با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل RAY LEIGH میزان جذب نمونه از محیط کشت مایع خوانده شد. طبق استاندارد میزان جذب محلول ۰/۵ مک فارلند باید بین ۰/۰۸ تا ۰/۱۳ باشد. به عبارت دیگر این سوسپانسیون حاوی $۱۰^{۸}$ × ۱/۵ CFU/ml است. برای این کار ابتدا شیشه های سل ۱ cm کووت دستگاه اسپکتروفوتومتر با آب مقطر شسته شد. سپس دستگاه در طول موج ٦۲۵ nm تنظیم شد. سپس داخل هر دو شیشه از محیط کشت استریل شده ریخته و دستگاه کالیبره شد. سپس سل شماره ۱ را تخلیه کرده و از نمونه محیط کشت مایع داخل آن ریخته شد. میزان جذب نمونه در این حالت خوانده شد. اگر میزان جذب کدورت بالاتر از رنج استاندارد باشد باید از محیط کشت مایع استریل شده به نمونه اضافه کرد تا رقیق شود و

15 Plate Count Agar (PCA)
16 Muller Hinton Broth

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-27]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.27.6]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.355]

اگر میزان کدورت کم تر از ۰/۵ مک فارلند باشد، باید مقداری دیگر از کشت تازه در آن حل شده و مجددا میزان جذب خوانده شود تا به محدوده استاندارد برسد [۳۱].

برای شمارش بهتر باکتری باید تعداد باکتری را کاهش داد. ابتدا ۳ لوله آزمایش که قبلا درب بندی و اتوکلاو شده است را به زیر هود منتقل می کنیم. در داخل هر کدام از این لوله ها با استفاده از سمپلر، مقدار ۱۰۰۰ میکرولیتر (۱ cc) از محیط کشت مایع مولر هینتون براث ریخته شد. در لوله اول، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر (۰/۱ cc) از ۰/۵ مک فارلند باکتری سالمونلا ریخته و خوب همزده شد تا در واقع ۱۰ برابر رقیق شده و حاوی $۱/۵ \times ۱۰^{۷}$ CFU/ml باشد. در ادامه مقدار ۱۰۰ میکرولیتر (۰/۱ cc) از لوله شماره ۱ به لوله شماره ۲ منتقل و خوب همزده شد تا در واقع ۱۰ برابر رقیق شده و حاوی $۱/۵ \times ۱۰^{۶}$ CFU/ml باشد. سپس مقدار ۱۰۰ میکرولیتر (۰/۱ cc) از لوله شماره ۲ به لوله شماره ۳ منتقل و خوب همزده شد تا در واقع ۱۰ برابر رقیق شده و حاوی $۱/۵ \times ۱۰^{۵}$ CFU/ml باشد. این لوله آماده برای تلقیح می باشد.

۷-۶- آزمون های تعیین MIC[17] و MBC[18] به روش رقت لوله ای[19]

به منظور ارزیابی اثرات ضد میکروبی اسانس ها می توان از روش های مختلفی مانند روش رقیق سازی، روش کدورت سنجی ، روش انتشار، روش پاسخ متابولیکی، روش وزنی استفاده کرد. در همه این روش ها اصول کار مشترک بوده و عبارت است از سنجیدن غلظت معینی از یک عصاره یا اسانس گیاه در راستای مهار رشد یا نابود کردن باکتری های مورد آزمایش. از بین این روش ها، معمولاروش رقیق سازی و انتشار برای ارزیابی اثرات آنتی میکروبیال اسانس ها انتخاب می شود.

برای این کار ابتدا ۲۰ cc محیط کشت مایع MHB داخل ارلن تهیه شد. سپس ۱۲ لوله آزمایش را با پنبه و فویل درب بندی کرده و به همراه محیط کشت، اتوکلاو شد. به تعداد کافی سر سمپلر با حجم ۱۰۰۰ میکرولیتر (۱ cc) و ۱۰۰ میکرو لیتر (۰/۱ cc) داخل کیسه نایلون قرار داده و اتوکلاو شد. پس از استریل شدن محیط کشت و لوله ها به زیر هود لامینار منتقل شد. اسانس مایع کاکوتی از یخچال به زیر هود منتقل شد. لوله ها به ترتیب از شماره ۱ تا ۱۲ شماره گذاری و تاریخ روی آن درج شد. با استفاده از سمپلر، مقدار ۱۰۰۰ میکرولیتر (۱ cc) از محیط کشت مایع به همه لوله های ۱ تا ۱۲ اضافه شد. در ابتدا همه لوله ها حاوی ۱۰۰۰ میکرولیتر (۱ cc) از محیط کشت مایع بودند.

به لوله شماره ۱ مقدار ۱۰۰۰ میکرولیتر (۱ cc) از اسانس کاکوتی اضافه شد. درب لوله را با پنبه بسته و آن را روی شیکر افقی قرار داده و به مدت ۵ دقیقه خوب مخلوط شد. مجددا لوله شماره ۱ را به زیر هود منتقل کرده و مقدار ۱۰۰۰ میکرولیتر (۱ cc) از مخلوط آن به لوله شماره ۲ منتقل شد. به همین ترتیب لوله شماره ۲ آماده شد و تا لوله ۹ به همین روش رقیق سازی اسانس انجام شد. از لوله شماره ۹ مقدار ۱۰۰۰ میکرولیتر (۱ cc) برداشته و دور ریخته شد. تمام لوله ها حاوی ۱ cc محلول بوده با این تفاوت که یک شیب غلظت از لوله ۱ به لوله ۹ ایجاد شده که رقت اسانس در آن ها رو به کاهش است و هر لوله حاوی نصف لوله قبلی از اسانس است.

پس از این مرحله از نمونه سوسپانسون باکتری رقیق شده باکتری که حاوی $۱/۵ \times ۱۰^{۵}$ CFU/ml است به لوله های ۱ تا ۹ مقدار ۱۰۰ µL از باکتری با استفاده از اتو سمپلر تلقیح شد.کنترل مثبت: لوله شماره ۱۰ حاوی ۱۰۰۰ میکرولیتر (۱ cc) محیط کشت و ۱۰۰۰ میکرولیتر (۱ cc) اسانس است. کنترل منفی: لوله شماره ۱۱ حاوی ۱۰۰۰ میکرولیتر (۱ cc) محیط کشت و ۱۰۰ میکرولیتر (۰/۱ cc) باکتری است. شاهد: لوله شماره ۱۲ فقط حاوی ۱۰۰۰ میکرولیتر (۱ cc) محیط کشت MHB است.

در پایان ۱۲ لوله درب بندی و در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲٤ ساعت قرار گرفت. پس از ۲٤ ساعت نمونه ها از انکوباتور خارج و به زیر هود لامینار منتقل شد. اولین رقتی که در آن کدورت مشاهده نشد و شفاف بود به عنوان MIC تعیین شد. از رقت هایی که کدورت نداشتند و شفاف بودند کشت سطحی باکتری روی محیط MHB با لوله پاستور انجام شد و در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه به مدت ۲٤ ساعت قرار گرفت. پس از ۲٤ ساعت کم ترین رقتی که هیچ کلنی رشد نکرد به عنوان MBC تعیین شد. آزمون های میکروبی با ۳ بار تکرار انجام شد [۳۲].

17 Minimum Inhibitory Concentration (MIC)
18 Minimum Bactericidal Concentration (MBC)
19 Tube dilution

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-27]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.27.6]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.355]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-27]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.27.6]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.355]

۷-۷- کشت اسانس کاکوتی

برای اطمینان از این که خود اسانس کاکوتی فاقد هرگونه باکتری است، از نمونه اسانس هم در محیط جامد PCA کشت سطحی به روش ذکر شده و با ۳ بار تکرار انجام شد شد. پس از مدت ۷۲ ساعت محیط کشت از انکوباتور خارج شد و هیچ باکتری در آن مشاهده نشد که نشان داد اسانس عاری از هر نوع باکتری است.

۸- نتایج

نتایج آنالیز GC/MS اسانس کاکوتی در شکل ۸ و جدول ۱ گزارش شده است. نتایج کشت باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* در حضور غلظت های مختلف از اسانس کاکوتی در جدول ۲ نشان داده شده است.

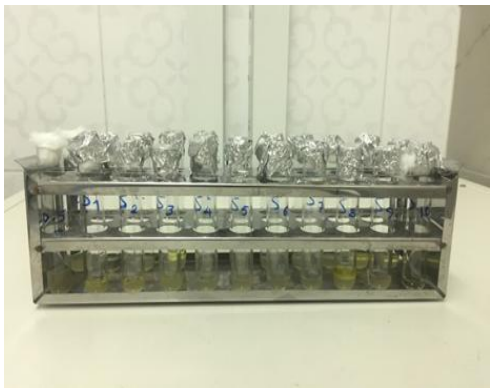

Fig 6 Tube Dilution Test for *Ziziphora clinopodioides* essential oil.

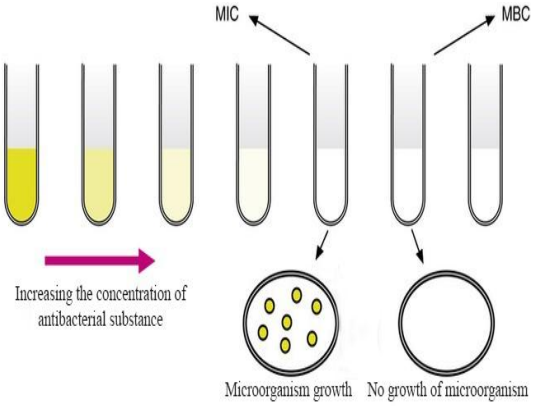

Fig 7 Determination of MIC and MBC.

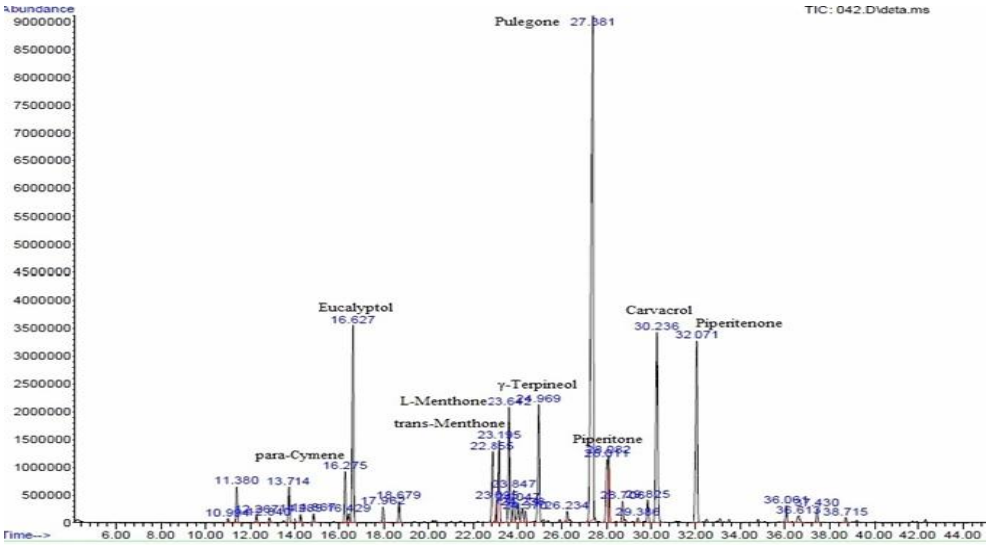

Fig 8 GC/MS analysis of Ziziphora clinopodioides essential oil.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-27]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.27.6]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.355]

Table 1 Chemical composition of *Ziziphora clinopodioides* essential oil by GC/MS analysis.

No.	Retention time (RT)	%	Components	Kovats index (KI)	Type
1	11.00	0.15	α-Thujene	928	MH
2	11.38	1.34	α-Pinene	935	MH
3	12.27	0.29	Camphene	953	MH
4	13.71	1.40	β-Pinene	982	MH
5	14.28	0.30	Myrcene	993	MH
6	14.87	0.34	3-Octanol	1004	Other
7	16.27	2.05	para-Cymene	1032	MH
8	16.43	0.37	Limonene	1035	MH
9	16.63	8.01	Eucalyptol	1038	MO
10	17.96	0.61	γ-Terpinene	1064	MH
11	18.68	0.86	p-Mentha-3,8-diene	1078	MH
12	23.19	3.45	tranc-Menthone	1168	MO
13	23.65	4.79	L- Menthone	1178	MO
14	23.85	1.39	neo-Menthol	1182	MO
15	24.05	0.95	Borneol	1186	MO
16	24.24	0.88	Isopulegone	1190	MO
17	24.37	0.47	Terpinen-4-ol	1192	MO
18	24.97	5.46	γ-Terpineol	1205	MO
19	27.38	33.10	Pulegone	1255	MO
20	28.08	2.52	Piperitone	1270	MO
21	29.82	1.02	Thymol	1307	MO
22	30.24	10.60	Carvacrol	1317	MO
23	32.07	9.33	Piperitenone	1358	MO
24	38.72	0.21	β-Bisabolene	1515	SH
		89.89	Total Identified		

MH: Monoterpene Hydrocarbons, MO: Oxygenated Monoterpenes, SH: Sesquiterpene Hydrocarbons

Table 2 Results of MIC and MBC tests of *Ziziphora clinopodioides* essential oil on *Salmonella typhimurium*.

No. of Tube	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Ratio	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	Positive control	Negative control	Control sample
Essential oil (%)	50	25	12.5	6.25	3.125	1.562	0.781	0.390	0.195	-	-	-
Concentration (mL/cc)	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.0312	0.0156	0.0078	0.0039	0.0019	-	-	-
Concentration (μL/L)	500	250	125	62.5	31.25	15.62	7.81	3.9	1.95	-	-	-
Turbidity	Clear	Clear	Clear	Turbid	Turbid	Turbid	Turbid	Turbid	Turbid	Clear	Turbid	Clear

۹- بحث

مطالعات مختلفی روی ترکیبات موجود در اسانس کاکوتی انجام شده است و ترکیبات اصلی و فنلی آن پولگون، ۱،۸-سینئول، تیمول، کارواکرول، لیمونن، نئومنتول، ٤-ترپینئول، ۱-ترپینئول، نئومنتیل استات و پیپریتنون شناسایی شده است [۱۷ و۱۸]. در تحقیق دیگری مهم‌ترین ترکیبات شناخته‌شده اسانس گونه‌های مختلف گیاه کاکوتی، پولگون، منتوفوران و ترانس ایزوپولگون بیان شده‌اند. ترکیب عمده اسانس کاکوتی پولگون می باشد، این ماده یک کتون می باشد که جزء مونوترپن ها است. ترپن ها قادر هستند که به غشای سلولی صدمه بزنند و در ساختار لیپید دیواره سلولی باکتری‌ها نفوذ کنند که این امر منجر به دناتوراسیون پروتئین‌ها و از هم پاشیدن ساختار سلولی و تراوش سیتوپلاسم و در نهایت مرگ سلول می‌شود [۸].

نتایج آنالیز این تحقیق نشان داد ٢٤ ترکیب شیمیایی در اسانس

کاکوتی کوهی مربوط به خراسان شمالی شناسایی شد که بیشترین ترکیب اسانس به ترتیب پولگون (۳۳/۱۰ ٪)، کارواکرول (۱۰/۶۰ ٪)، پیپریتنون (۹/۳۳ ٪)، اکالیپتول (۸/۰۱ ٪)، γ- ترپینئول (۵/۴۶ ٪)، ال- منتون (۴/۷۹ ٪) بود که با نتایج سایر تحقیقات انجام شده مطابقت داشت.

لوله های رقت شماره ۱ تا ۳ شفاف و لوله های رقت شماره ٤ تا ۹ کدر بودند. لوله رقت شماره ۱۰ (کنترل مثبت) که شامل محیط کشت و اسانس بود شفاف بود. در کشت جامد کنترل مثبت، نباید هیچ باکتری رشد می کرد که نتایج آزمایش هم تایید شد. لوله رقت شماره ۱۱ (کنترل منفی) که شامل محیط کشت و باکتری بود، فاقد اسانس و کدر بود. لوله رقت شماره ۱۲ (شاهد) فقط شامل محیط کشت اتوکلاو شده بود و شفاف بود. در کشت جامد نباید هیچ باکتری رشد می کرد که نتایج آزمایش هم تایید شد. نتایج نشان می دهد که اسانس قادر است باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* را مهار کند و لذا اسانس کاکوتی کوهی خاصیت آنتی باکتریالی روی این باکتری گرم منفی دارد.

کریم و همکاران در سال ۲۰۱۶ نشان دادند افزایش غلظت اسانس، تعداد لگاریتمی میکروب ها را در ماده غذایی کاهش می دهد [۳۳]. *هولم*، اثر ترکیبات ضد میکروبی اسانس‌ها را بر روی میکروارگانیسم‌های فاسد کننده غذاهای دریایی مطالعه نموده و دریافت که مدت ماندگاری از ۱۱ روز به ۲۱ روز افزایش یافت [۳٤]. همچنین نتایج مطالعه *کای و همکاران* نشان داد که با استفاده از اسانس نعناع، زیره و میخک در فیله ماهی *Sciaenops ocellatus* نگه داری شده در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد، می‌توان تعداد باکتری‌های مزوفیل و سایکروتروف را به صورت معنی دار کاهش داد [۳۵].

محمود و همکاران اثر ترکیبات تشکیل‌دهنده ی اسانس های مختلف را (آلیل ایزوتیوسیانات، کارواکرول، سینامالدهید، سیترال، کومین آلدهید، یوژنول، ایزویوژنول، لینالول و تیمول) بر رشد میکروب ها در فیله های ماهی کپور معمولی نگه داری شده در دمای ٤ درجه ی سانتی‌گراد مورد بررسی قرار دادند و بیان داشتند که تیمار با تیمول ۰/۵ درصد و کارواکرول ۰/۵ درصد، سبب کاهش 10 log CFU/g در شمارش باکتری‌های مزوفیل می‌شود [۱٤].

چیت ساز و همکاران، ترکیب اسانس و اثر ضد باکتریایی عصاره هیدرو الکلی و اسانس کاکوتی بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی، کلبسیلا نومونیه، سالمونلا تیفی موریوم و سودوموناس ائروژینوزا را مطالعه کردند و نشان دادند برخلاف عصاره، اسانس این گیاه موجب توقف رشد همه باکتری‌ها شد. آویشن باریک اثر ضد باکتریایی علیه انواع باکتری‌های گرم مثبت و منفی دارد و می‌توان در صنایع دارویی و غذایی از آن استفاده نمود [۱٦].

مهرابیان و همکاران، اثر اسانس‌های سه گونه از گیاهان تیره نعناعیان (کاکوتی، مریم‌گلی و نعناع) را بر باکتری‌های عامل فساد و بیماری‌زای مواد غذایی شامل *باسیلوس سرئوس*، *آنتروباکتر آئروژینز*، *اشرشیا کولی* O127:B8، *اشرشیا کولی* O125:B15، *اشرشیا کولی* O111:B4، *سالمونلا پاراتیفی* نوع A، *سالمونلا پاراتیفی* نوع B، *سالمونلا پاراتیفی*، *شیگلا دیزنتری*، *شیگلا سونئی*، *شیگلا فلکسنری*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *کلبسیلا نومونیا* و *پروتئوس میرابیلیس* بررسی کردند. نتایج نشان داد که اسانس‌های مذکور دارای خاصیت ضد میکروبی هستند. اسانس مریم‌گلی و کاکوتی در مقایسه با اسانس نعناع اثر ضد میکروبی بیشتری نشان دادند [۳٦].

شافعی و همکاران، در بررسی شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس کاکوتی و بررسی اثر ضد میکروبی آن بر روی مخمر *کلویورومایسس مارکسیانوس* نشان دادند که گیاه کاکوتی دارای اثر بازدارندگی روی مخمر *کلویورومایسس مارکسیانوس* است [۳۷].

مینوئیان و خسروی اثرات اسانس‌های گیاهی بر دو گونه‌ی مهم آسپرژیلوس را بررسی کرده و نشان دادند که اسانس کاکوتی دارای عملکرد مناسب ضد قارچی علیه *آسپرژیلوس فومیگاتوس* و *آسپرژیلوس فلاووس* است [۳۸].

۹-۱- تعیین MIC و MBC اسانس کاکوتی کوهی روی باکتری *سالمونلا تیفی موریوم*

لوله های ۱ تا ۳ از نظر کدورت سنجی شفاف بودند و لوله شماره ۳ حداقل غلظتی است که شفاف بوده و به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس کاکوتی (MIC) برای باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* معرفی شد. از نمونه لوله های ۱ تا ۳ که شفاف بودند کشت جامد داده شد. کشت لوله شماره ۲ حداقل

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-27]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.27.6]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.355]

غلظتی است که در آن هیچ باکتری رشد نکرد و به عنوان حداقل غلظت کشندگی اسانس کاکوتی(MBC) برای باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* معرفی شد. با توجه به نتایج به دست آمده در جدول ۲ میزان حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس کاکوتی برای باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* معادل ۱۲۵ µL/L و حداقل غلظت کشندگی اسانس کاکوتی کوهی برای باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* معادل ۲۵۰ µL/L تعیین شد.

مهربان و همکاران خواص ضدمیکروبی عصاره کاکوتی کوهی را بر باکتری‌های مولد فساد و بیماری‌زای مواد غذایی به روش رقت لوله‌ای مورد آزمایش قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که حداقل غلظت مهارکنندگی(MIC) و حداقل غلظت میکروب کشی (MBC) عصاره کاکوتی کوهی برای باکتری‌های گرم منفی ۲۰۰۰ – ۱۰۰۰ µg/L و برای باکتری‌های گرم مثبت ۴۰۰۰ – ۱۰۰۰ µg/L بود و نشان دادند که عصاره کاکوتی کوهی هم می‌تواند همانند اسانس از رشد باکتری‌های مولد فساد و بیماری‌زای مواد غذایی جلوگیری نماید. بنابراین می‌توان استفاده از آن را به عنوان یک ترکیب نگه دارنده و طعم‌دهنده طبیعی در فراورده های غذایی پیشنهاد نمود. عصاره کاکوتی کوهی بر باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت مورد آزمایش شامل *آنتروباکتر آئروژنز*، *اشرشیا کلی*، *کلبسیلا نومونیه*، *سالمونلا انتریتیدیس*، *شیگلا دیزنتری*، *باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا مونوسایتوژنز* دارای اثر مهارکنندگی و میکروب‌کشی بود ولی بر *سودوموناس آئروژینوزا* اثری نداشت [۳۹].

اغلب مطالعات نشان می دهدکه اثر اسانس‌ها روی باکتری‌های گرم مثبت قدری بیشتر از تأثیر آن ها روی باکتری‌های گرم منفی است. شاید علت حساسیت کم تر گرم منفی‌ها به اثرات ضد باکتریایی اسانس‌ها به خاطر غشاء خارجی موجود در دیواره سلولی گرم منفی‌ها باشد که سبب محدود کردن انتشار اجزا هیدروفوبیک اسانس‌ها به درون سلول باکتریایی می گردد. البته گاهی موارد استثنایی نیز مشاهده‌شده که حساسیت گرم مثبت‌ها بیشتر نبوده است. مثلاً *آئروموناس هیدروفیلا* حساسیت زیادی به اسانس‌ها نشان می دهد. البته هر جزء از اجزای اسانس‌ها درجات متفاوتی از فعالیت را علیه باکتری های گرم مثبت یا گرم منفی نشان می دهد.

ترکیبات شیمیایی اسانس‌های به دست آمده از یک‌گونه گیاهی خاص برحسب اینکه از مناطق مختلف جغرافیایی و یا مراحل مختلف برداشت به دست آمده باشند، می‌تواند متفاوت باشند. برخی مطالعات حساسیت بیشتر باکتری های گرم مثبت را در مقابل اسانس ها و عصاره های گیاهی به اثبات رسانده اند. در هر صورت در بین گرم منفی‌ها، سودوموناس ها کمترین حساسیت را به اثر ضد میکروبی اسانس‌ها دارا می‌باشند [۵]. ممکن است اسانس یا عصاره یک گیاه بر روی یک میکرواورگانیسم اثر قابل توجهی داشته ولی بر یک میکرواورگانیسم دیگر اثر کم تر داشته باشد [۴۰].

حساسیت باکتری های گرم مثبت به برهمکنش مستقیم اجزای آب گریز اسانس ها با دیواره سلولی مربوط می شود [۴۱]. دیواره سلولی باکتری های گرم مثبت از یک لایه ضخیم از پپتیدوگلیکان ها (۹۰–۹۵٪)، اسید تیکوئیک و پروتئین ها ساخته شده است. به دلیل ماهیت آب گریز بخش های اصلی اسانس ها، به راحتی می توانند از آن عبور کنند. از سوی دیگر، باکتری های گرم منفی ساختار پیچیده تری دارند که شامل تک لایه ای از پپتیدوگلیکان ها می شود که توسط یک لایه بیرونی شامل پروتئین ها و لیپوپلی ساکاریدها[20] احاطه شده است. این غشای سلول خارجی باردار است و ماهیت آب دوستی دارد و بنابراین انتشار ترکیب آب گریز از طریق LPS محدود می شود [۴۲]. بنابراین، به دلیل تغییرات ساختاری در لایه‌های بیرونی باکتری‌ها، باکتری‌های گرم مثبت می‌توانند به راحتی توسط EOs مهار شوند تا باکتری‌های گرم منفی [۴۳].

pH ماتریکس غذا بر فعالیت EOs تأثیر می گذارد و آب گریزی برخی از EOs در pH پایین افزایش می یابد. بنابراین، EOs می‌توانند راحت‌تر به بخش لیپیدی غشای باکتریایی نفوذ کنند و از این رو فعالیت‌های ضد میکروبی را افزایش دهند [۴۴].

Table 3 Determination of MIC and MBC.

	MIC	MBC
Concentration	125 µL/L	250 µL/L

20. Lipopolysaccharides (LPS)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-27]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.27.6]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.355]

۱۰- نتیجه گیری

اسانس گیاه کاکوتی کوهی منطقه خراسان شمالی با استفاده از دستگاه کلونجر استخراج شد. ترکیبات اسانس با آنالیز شیمیایی و با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی MS/GC به دست آمد. نتایج آنالیز نشان داد که اسانس کاکوتی کوهی حاوی ۲٤ ترکیب شیمیایی است و بیشترین ترکیب موجود در اسانس کاکوتی کوهی به ترتیب پولگون (۳۳/۱۰ ٪)، کارواکرول (۱۰/٦۰ ٪)، پیپریتنون (۹/۳۳ ٪)، اکالیپتول (۸/۰۱ ٪)، γ-ترپینئول (٥/٤٦ ٪)، ال-منتون (٤/۷۹ ٪) بود. بیشترین ترکیب شیمیایی کاکوتی کوهی وماده موثره این اسانس، پولگون[21] با ۳۳/۱۰ ٪ شناسایی شد [٤٥]. حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس کاکوتی کوهی روی باکتری گرم منفی *سالمونلا تیفی موریوم* به روش رقت لوله ای در محیط in vitro انجام شد. نتیجه آزمایشات نشان داد که اسانس گیاه کاکوتی کوهی اثر ضد باکتریایی داشته و می تواند رشد باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* را مهار کند و به عنوان نگه دارنده طبیعی به مواد غذایی اضافه شود. حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) اسانس کاکوتی کوهی برای باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* معادل ۱۲۵ µL/L و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس کاکوتی کوهی برای باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* معادل ۲۵۰ µL/L به دست آمد.

۱۱- منابع

[1] Zahedi, M., Rahimi, E., Zahedi, M., Momtaz, H., Shojaii, H., (2017), Prevalence of *Salmonella enteritidis* and *S. typhimurium* in marketed meat in Shahrekord in 2014, *J. Shahrekord Univ. Med. Sci*., 19 (2):88-97, URL: http://78.39.35.44/article-1-2899-fa.html.

[2] Shekarforoush, S.S., Kiaie, S.M.M., Karim, G., Razavi Rohani, S.M., Rokni, N., Abbasvali, M., (2012), Study on the overview on foodborne bacteria in food with animal origin in Iran; Part two, *Journal of Food Hygiene*, 3(1):1-14.

[3] Entezari, M., Hashemi. M., Ashki, M., Ebrahimian, S., Bayat, M., Azizisaraji. A.R., (2009), Studying the Effect EchinophoraPlatyloba Extract on Bactira (Staphilococusaureusand Pseudomonas aeroginosa) and Fungi Candidiaalbicans, Aspergilusflavusand Aspergilusniger) In Vitro, *World Journal of Medical Sciences*, 4(2):89-92.

[4] Baygan, A., Safaeian, Sh., Shahinfar, R., Khoshkhoo, Zh., (2022), Encapsulation of Essential Oil of *Ziziphoria clinopodioides* Using Maltodextrin and Gum Arabic by Spray Drying Method, *Iranian Journal of Food Science and Technology,*18(120):263-281, https://doi.org/10.52547/fsct.18.120.21.

[5] Burt, S., (2004), Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review, *Int. J. Food Microbiol*., 94(3):223-53.

[6] Ebrahimzadeh, H., Yamani, Y., Sefidkon, F., Chaloosi, M., Pourmortazavi, S.M., (2003), Chemical composition of the essential oil and supercritical CO2 extracts of Zatariamultiflora Boiss, *Food Chemistry,* 83:357-361.

[7] Farag, R.S., Ali, M.N., Taha, SH., (1990), Use of som essential oils as natural preservative butter, *J. Am. Chem. Soc*., 66:800-4.

[8] Oussalah, M., Cailletm S., Lacroix, M., (2006), Mechanism of action of Spanish oregano, Chinese cinnamon, and savory oils against cell membrane and walls of *Escherichia coli O157:H7* and *Listeria monocytogenes*, *Journal of Food Protection*, 69(5):1046-55.

[9] Shahinfar, R., (2018), The Effect of Ziziphora clinopodioides essential oil Nisin (microencapsulated and non microencapsulated) and their Combination on Shelf Life Extension of Fish Burger, PhD Thesis, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, IRAN.

[10] Batooli, H., Akhbari, M., Hosseinizadeh, S.M.J., (2012), Effect Of Different Distillation Methods On Quantity And Quality Of Essential Oil Of Two *Ziziphora L*. Species, *Journal of Herbal Drugs,*3(3):135-145.

[11] Abdimoghadam, Z., Shamloo, E., Mortazavian, A.M., Atefi, M., (2015), Frequency of Listeria Species in Raw Milk and Traditional Dairy Products in Isfahan, Iran,

[21] Pulegone

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-27]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.27.6]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.355]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-27]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.27.6]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.355]

Products, *Iran. J. Med. Microbiol*., 8 (1):54-61, URL: http://ijmm.ir/article-1-235-fa.html.

[21] Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., Hosseini, S. M. H., (2010). Effect of chitosan coatings enriched with cinnamonoil on the quality of refrigerated rainbow trout, *Food Chemistry*, 120 (1): 193-198, https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.006.

[22] Yegan Mohammadi, M., , Khanjari, A., Akhondzadeh Basti, A., Bokaie, S., , Cheraghi, N., Fayazfar, S., , Shoja Gharebagh, S., , Ghadami, F., (2017), Evaluation of the antimicrobial effect of chitosan and whey proteins isolate films containing free and nanoliposomal garlic essential oils against *Listeria monocytegenes*, *E.coli O157:H7* and *Staphylococcus aureus*, *Iranian Journal of Medical Microbiology*, 10 (5): 45-51.

[23] Packiyasothy, E.V., Kyle, S., (2002), Antimicrobial properties of some herb essential oils, *Food Australia*, 54(9):384-7.

[24] Richard, M., Rotem, R., Raquel F., (2008), Bacterial Membranes as Predictors of Antimicrobial Potency, *J. Am. Chem. Soc*., 130(43):14346-52.

[25] Hadad Khodaparast, M.H., Mehraban Sangatash, M., Karazhyan, R., Habibi Najafi, M.B., Beiraghi Toosi, Sh., (2007), Effect of Essential Oil and Extract of Ziziphora clinopodioides on Yoghurt Starter Culture Activity, *World Applied Sciences Journal*, 2(3):194-7.

[26] Shele, LA., (1984), Antimicrobial effects of spices, *Journal of food safety*, 6(1):29-44.

[27] Lambert, R.J.W., Coote, P.J., Nychas, G.J.E., (2001), A Study of The Minimum Inhibitory Concentration and Mode of Action of Oregano Essential Oil, Thyme and Carvacrol, Jounal of Applied Microbiology, 91(3):453-62.

[28] Moreau, D.L., Rosenberg, M., (1998), Porosity of whey protein-based microcapsules containing nhydrous milk fat measured by gas displacement pycnometry, *Journal of Food Science*, 63(5):819-23.

[29] Gavahian, M., Farahnaky, A., Javidnia, K., Majzoobi, M., (2012), Comparison of Ohmic-assisted hydrodistillation with traditional hydrodistillation for the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris L*., *Innov. Food Sci. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 10(3):101-107.

[12] Meral, G.E., Konyalioglu, S., Ozturk, B., (2002), Essential oil composition and antioxidant activity of endemic *Ziziphora taurica subsp cleonioides*, *Fitoterapia*, 73:716-718.

[13] Jamzad, Z., (2009), Thymus and Saureja species of Iran, Publishing of Research Institute of Forests and Rangelands, 171.

[14] Mahmoud, B.S., Yamazaki, K., Miyashita, K., Il-Shik, S., Dong-Suk, C., Suzuki, T., (2004), Bacterial microflora of carp (Cyprinus carpio) and its shelf-life extension by essential oil compounds, *Food Microbiology*, 21(6):657-666, https://doi.org/10.1016/j.fm.2004.03.001.

[15] Sardashti, A. R., Valizadeh J., Aldhami, Y., (2012), Chemical composition of the essential eil from Ziziphora clinopodioids Lam, from Iran by means of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), *Journal of Horticulture and Forestry*, 4(10):169-171.

[16] Chitsaz, M., Pargar, A., Naseri, M., Kamalinejad, M., Bazargan, M., Mansori, S., Ansari, F., (2007), Combination of essential oil and antibacterial effects of hydroalcoholic extract and essential oil of *Ziziphoria clinopodioides L.* on selected bacteria, *Bimonthly Daneshvar Medicine*, 14(68):15-22.

[17] Eshraghi, S., Soltan Dalall, M.M., Fardsanei, F., Zahraii Salehi, T., Ranjbar, R., Nikmanesh, B., Aminharati, F., Abdosamadi, Z., Akbari, A., (2010), Salmonella enteritidis and antibiotic resistance patterns: a study on 1950 children with diarrhea, *Tehran University Medical Journal*, 67(12):876-882.

[18] Nosrati, Sh., Sabokbar, A., Dezfolian, M., Tabaraei, B., Falah, F., (2012), Prevalence of *Salmonella typhimurium*, *typhi* and *enteritidis* serotypes in materials food in Mofid hospital, *Quarterly Pajouhsh Dar Pezeshki*, 36(1):43-48.

[19] Mirshekar, M., Badiri, P., (2016), Medical Microbiology, Sobhan Publications.

[20] Shaigan Nia, S., Rostami, F., Safarpour dehkordi, F., Rahimi, E., Yahaghi, E., Khodaverdi Darian, E. Bagherimoghadam, M., (2014), Isolation and Evaluation Virulence Factors of *Salmonella typhimurium* and *Salmonella enteritidis* in Milk and Dairy

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-27]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.27.6]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.355]

15(3): 396-404.

[39] Mehraban Sangatash, M., Karazhyan, R., Beiraghi Toosi, Sh., (2007), Study of antimicrobial effect of volatile mountain Kakoti oil on food spoilage and pathogenic bacteria, *Journal of Medicinal Plants*, 6(23): 46-51.

[40] Falahi, J., Ebadi, M.T., Rezvani Moghadam, P., Hedayati, M., Tarighi S., (2010), Evaluation of Essential Oil Of Six Medicinal Plant On Controlling Of Salmonella Bacteria In Comparison With Streptomycin, *Scientific - Research Iranian Veterinary Journal, 6(1),26:*25-33.

[41] Sokovicx, M., Glamočlija, J., Marin, P.D., Brkić, D., Van Griensven, L.J.L.D., (2010), Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model, *Molecules,* 15:7532–46, https://doi.org/10.3390/molecules15117532.

[42] Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., (2013), Coppola R, De Feo V. Effect of essential oils on pathogenic bacteria, *Pharmaceuticals*, 6:1451–74, https://doi.org/10.3390/ph6121451.

[43] Calo, J.R., Crandall, P.G., O'Bryan, C.A., Ricke, S.C., (2015), Essential oils as antimicrobials in food systems - a review, *Food Control*, 54:111–9, https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.12.040

[44] Giarratana, F., Muscolino, D., Ragonese, C., Beninati, C., Sciarrone, D., Ziino, G., et al., (2016), Antimicrobial activity of combined thyme and rosemary essential oils against *Listeria monocytogens* in Italian mortadella packaged in modified atmosphere: thyme and rosemary EOs vs *L. monocytogenes, J. Essen. Oil Res*., 28:467–74, https://doi.org/10.1080/10412905.2016.1165744

[45] Baygan, A., Safaeian, Sh., Shahinfar, R., Khoshkhoo, Zh., (2023), Comparing antibacterial properties of *Ziziphora clinopodioides* essential oil in free and encapsulated states in minced beef contaminated with *Salmonella typhimurium, Iranian Journal of Chemistry & Chemical Engineering,* Vol. 42, https://doi.org/10.30492/IJCCE.2022.540597.4970.

Emerg. Technol., 14: 85-91.

[30] Ghoshoonizade, R., Hoseini, E., Mahasty, P., Shabani, Sh., (2015), The Antimicrobial Effect of nisin, Against Staphylococcus aureus in Minced Sheep during Refrigerated Storage, *Journal of Food Microbiology*, 2(1): 69-77.

[31] https://file.qums.ac.ir/repository/vct/azmayeshgah

[32] Mortazavi, S.H., Azadmard Damirchi, S., Sowti, M., Mahmudi, R., Safaeean, F., Moradi Azad, S., (2014), Antimicrobial Effects of ethanolic extract of the hull and the core of Pistacia Khinjuk stocks, *Innovative Food Technologies*, 1(4): 81-88, https://doi.org/10.22104/JIFT.2014.46.

[33] Karim, G., Aghazadeh meshgi, M., Karimi Ababil, R., Bokaie, S., (2016), Antimicrobial Effect of Mentha spicata and Mentha pulegium Essential Oils in Two Storage Temperatures on the Survival of Debaryomyces hansenii in Iranian Doogh, *Applied Food Biotechnology*, 3(2): 99-104, https://doi.org/10.22037/afb.v3i2.10886.

[34] Mejlholm O., (2007), Microbial Changes and Safety of Lightly Preserved Seafood, Danish Institute for Fisheries Research, Department of Seafood Research, Technical University of Denmark.

[35] Cai, L., Cao, A, Li, Y., Song, Z., Leng, L., Li, J., (2015), The effects of essential oil treatment on the biogenic amines inhibition and quality preservation of red drum (Sciaenops ocellatus) fillets, *Food Control*, 56:1-8, https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.03.009

[36] Mehrabian, S., Molabashi, Z., Majd, A., (1996), Investigation of antimicrobial effect of three species of mint plants (kakoti, sage and mint) on 15 strains of intestinal pathogenic bacteria and food poisoning, *Journal of Science (Kharazmi University)*, 8(1-4), 1-11.

[37] Shafei, M., Sharifan, A., Aghazade Meshki, M., (2012), Composition of Essential Oil of *Ziziphora clinopodioides* and Its Antimicrobial Activity on *Kluyveromyces marxianus*, *Food Technology & Nutrition*, 9(1), 101-107.

[38] Minooeian Haghighi, M.H., Khosravi, A., (2014), Effects of anti-aflatoxin of essential oils of Cuminum cyminum, Ziziphora clinopodioiedes and Nigella sativa, *Koomesh*,

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Evaluation of antibacterial effect of *Ziziphora clinopodioides* essential oil in North Khorasan region on gram-negative bacteria *Salmonella typhimurium* in vitro

Baygan, A. [1], Safaeian, Sh, [1*]. Shahinfar, R. [1,2], Khoshkhoo, Zh. [1]

1. Department of Food Science and Technology, Faculty of Biological Sciences, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Avicenna Health Incubator Center, Avicenna Research Institute, Tehran, Iran

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2022/ 05/ 21
Accepted 2022/ 07/ 31

Keywords:

Antibacterial, Essential oil, *Ziziphora clinopodioides*, *Salmonella typhimurium*, Salmonellosis, Zoonosis.

DOI: 10.22034/FSCT.19.130.355
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.27.6

*Corresponding Author E-Mail:
iranianresearch20@gmail.com

ABSTRACT

In recent years, the attention of researchers to common diseases between humans and animals (zoonosis), control of diseases and food poisoning of animal origin has been very high. Due to the importance of meat in the transmission of pathogenic bacteria such as *Salmonella*, in this study, the control and reduction of microbial load of this dangerous bacterium was studied using *Ziziphora clinopodioides* essential oil (ZEO) in vitro. First, the *Ziziphora clinopodioides* plant was prepared and its essential oil was extracted using an industrial clevenger apparatus. Essential oil compositions were obtained by chemical analysis using GC/MS. The results of the chemical analysis showed that Pulegone is the most abundant compound in ZEO. Antibacterial effects of ZEO on *Salmonella typhimurium* and Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) were determined by tube dilution method. Experimental results show that ZEO has an antimicrobial effect on *Salmonella typhimurium* and can be added to food as a natural preservative. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of ZEO for *Salmonella typhimurium* was 125 µL/L and the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of ZEO for *Salmonella typhimurium* was 250 µL/L.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-27]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.27.6]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.355]