

## ویژگی های فیتوشیمی و اثر ضد میکروبی اسانس کاکوتی کوهی و اسانس بذر گشنیز و ترکیب آن‌ها بر تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زای منتقله از غذا

سارا عباس‌زاده<sup>۱</sup>، مینا کارگزار<sup>۲\*</sup>، حسن گندمی نصرآبادی<sup>۳</sup>

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

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

۳. دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

\* نویسنده مسئول مکاتبات: mina\_kargozari@ut.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۵/۳/۱۶ پذیرش نهایی: ۹۷/۶/۱۱)

### چکیده

اسانس‌های گیاهی و اجزای تشکیل دهنده آن‌ها دارای اثرات شناخته شده ضدباکتریایی می‌باشند. در این پژوهش ترکیبات عمده اسانس بذر گشنیز (*Coriandrum Sativum*) و سرشاخه‌های هوایی کاکوتی کوهی (*Ziziphora clinopodioides*) با استفاده از سیستم GC-MS شناسایی شده و سپس اثر غلظت‌های مختلف آن‌ها به صورت تنها و توأم باهم جهت تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) به روش ریزرقت مایع (Micro-dilution broth) در مورد باکتری‌های بیماری‌زای غذایی *اشریشیا کولای* O157:H7، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سالمونلا تیفی موریوم*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *باسیلوس سرئوس* بررسی گردید. نتایج مشخص کرد که بیش‌ترین ترکیبات اسانس بذر گشنیز (CEO) را لینالوئول L،  $\gamma$ -تریپنین،  $\alpha$ -پینن، ژرانیول استات، سایمن و در مورد اسانس کاکوتی کوهی (ZEO)، تیمول،  $\alpha$ -تریپنتول، کارواکرول، لینالوئول L و  $\gamma$ -تریپنین تشکیل داده‌اند. بر اساس نتایج تعیین MIC و MBC، *باسیلوس سرئوس* حساس‌ترین گونه (MIC معادل ۵۰۰ ppm و MBC معادل ۱۰۰۰ ppm) و *سالمونلا تیفی موریوم* مقاوم‌ترین گونه (MIC معادل ۲۰۰۰ ppm و MBC معادل ۵۰۰۰ ppm) در برابر CEO بودند. ZEO نیز اثر ضد میکروبی بیشتری نسبت به باکتری‌های گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *باسیلوس سرئوس* (MIC معادل ۵۰۰ ppm) در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی *اشریشیا کولای* O157:H7 و *سالمونلا تیفی موریوم* (MIC معادل ۱۰۰۰ ppm) نشان داد. بررسی نتایج اثر ترکیبی اسانس‌های مذکور نشان داد که آن‌ها توانستند به صورت سینرژیستی (MIC معادل ۲۵۰+۱۲۵ ppm و ۱۲۵+۲۵۰ ppm) رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* را مهار نمایند. به طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد CEO و ZEO به خصوص هنگامی که به صورت ترکیبی استفاده شوند، در برابر رشد باکتری‌هایی نظیر *استافیلوکوکوس اورئوس* که یکی از پاتوژن‌های مهم به‌شمار می‌رود و به‌طور فزاینده‌ای نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف مقاومت نشان می‌دهد، بسیار اثربخش خواهد بود.

واژه‌های کلیدی: فیتوشیمی، کاکوتی کوهی، گشنیز، باکتری‌های بیماری‌زا

## مقدمه

سیستم‌های آنزیمی و غیر فعال‌سازی و تخریب ماده ژنتیکی تحقق می‌یابد (Atarés and Chiralt, 2016).

گیاه کاکوتی کوهی با نام علمی *Ziziphora clinopodioides* متعلق به جنس زیزیفورا و تیره نعناعیان (*Labiatae/Lamiaceae*) می‌باشد. این گیاه دارای گونه‌های داروئی و معطره بسیار ارزشمندی است که تاکنون بالغ بر ۲۵ گونه از این جنس در جهان و ۴ گونه یک ساله و چند ساله در ایران گزارش شده است. کاکوتی در معالجه امراض معده و به‌عنوان ضد عفونی کننده برای رفع سرماخوردگی استفاده می‌شود (Batooli et al., 2012). ترکیبات کاکوتی کوهی فعالیت آنتی‌توموری دارد و رشد نوعی از تومورهای بدخیم را تا ۳۲/۶ درصد و غدد سرطانی را تا ۴۷/۵ درصد کاهش می‌دهد (Chachoyan and Oganessian, 1996).

گشنیز با نام علمی *Coriandrum Sativum* گیاه علفی یک‌ساله متعلق به خانواده چتریان (*Apiaceae*) است که دارای خواص متعدد داروئی می‌باشد. مصرف گشنیز در درمان بیماری‌های عفونی مختلف مانند تب تیفوئید توصیه شده است (Laribi et al., 2015).

کاربرد صنعتی اسانس‌های گیاهی بنا به دلایل مختلفی همچون حلالیت پائین آن‌ها در آب، فراریت بالا، بوی قوی و قابلیت ناکافی در تأثیر مستقیم روی ریزسازواره‌ها با محدودیت‌هایی مواجه شده است (Gharibzahedi and Mohammadnabi, 2017).

بنابراین به هنگام به‌کارگیری اسانس‌های روغنی در صنایع غذایی، استفاده از تکنولوژی ترکیبی (Hurdle technology) نظیر کاربرد توأم اسانس‌های روغنی و اشعه‌دهی و یا بسته‌بندی Modified Atmosphere Packaging (MAP) با هدف دستیابی هم‌زمان به

اسانس‌های روغنی (Essential Oils) جزء ترکیبات Generally Recognized As Safe (GRAS) بوده و توجه بسیاری را در عرصه صنعت غذا به خود جلب کرده‌اند. این موضوع به دلیل وضعیت نسبتاً ایمن آن‌ها، پذیرش گسترده آن‌ها توسط مصرف‌کنندگان و امکان بهره‌برداری از آن‌ها به‌عنوان عوامل فراسودمند چندمنظوره می‌باشد (Smaoui et al., 2016). خواص ضدباکتریایی، ضدویروسی، ضدقارچی، آنتی‌اکسیدانی و ویژگی‌های ضدتولید سم (Antitoxigenic) این ترکیبات در فراورده‌های غذایی ثابت شده است (Kakaei and Shahbazi, 2016; Gharibzahedi and Mohammadnabi, 2017).

فیتوشیمی، شاخه‌ای از علم شیمی است که موضوع آن، مطالعه ترکیبات شیمیایی گیاهان است. از جمله این ترکیبات، متابولیت‌های ثانویه گیاهی است. شواهد فیتوشیمیایی از جمله شواهد و صفات مورد استفاده در طبقه‌بندی‌های فیلوژنتیکی هستند، به‌گونه‌ای که در گونه‌های دارای قرابت و خویشاوندی با یکدیگر، ترکیبات مشابهی یافت می‌شود اما همیشه نیز این گونه نیست (Mahdavi et al., 2013). ترکیبات شیمیایی اسانس‌های گیاهی معمولاً شامل ترین‌ها (مانند ترپین، *p*-سایمن، لیمونن و سابینن) و ترپنوئیدها (مانند تیمول، کارواکرول و لینالوئول) و در مورد برخی از آن‌ها شامل فنیل پروپانوئیدهای آروماتیک (مانند اوژنول و سینامالدهید) می‌باشد (Burt, 2004). در غالب موارد خاصیت ضد میکروبی اسانس‌های روغنی از طریق سازوکارهای مختلف از قبیل تخریب غشای دولایه فسفولیپیدی دیواره سلولی، ایجاد اختلال در عملکرد

علمی آن توسط پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی دانشگاه تهران تأیید شد. بذر تازه گیاه گشنیز در تیرماه از مغازه عطاری واقع در تهران خریداری شد. اسانس گیری از بذر گشنیز و از سرشاخه های هوایی گیاه کاکوتی در آزمایشگاه گروه بهداشت مواد غذایی دانشگاه تهران به روش تقطیر با بخار داغ توسط دستگاه کلونجر (Germany, Schatt Duran) انجام شد (Dadalioglu and Evrendilek, 2004).

باکتری های استاندارد / ستافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 25922)، / شریشیا کولای (ATCC O157:H7) (35218)، سالمونلا تیفی موریوم (phage type III)، لیستریا مونوسایتوزنز (ATCC 19118) و باسیلوس سرئوس (ATCC 11778) از پژوهشکده بیوتکنولوژی، مرکز کلکسیون قارچ ها و باکتری های صنعتی و عفونی ایران به صورت لیوفیلیزه تهیه شدند.

- آنالیز کروماتوگرافی گازی-اسپکترومتری جرمی (GC-MS) اسانس های گیاهی تهیه شده

آنالیز GC-MS اسانس های روغنی مربوط به بذر گشنیز و گیاه کاکوتی کوهی با استفاده از یک سیستم GC-MS ترموکویست Finningan (مجهز به یک ستون کپیلاری ۵% HP-5MS ۳۰ m × ۰/۲۵ mm × ۰/۲۵ ضخامت فیلم) انجام شد. هلیوم با نرخ جریان ۱/۲ ml/min به عنوان گاز حامل به کار گرفته شد. برنامه دمایی آون دستگاه GC به این صورت تعریف شد: ۳ دقیقه دمای ثابت در ۵۰ درجه سلسیوس، تغییرات ۲/۵ درجه سلسیوس در دقیقه تا رسیدن به دمای ۲۶۵ درجه سلسیوس و اعمال دمای ثابت به مدت ۶ دقیقه بود. انرژی یونیزاسیون الکترونی (EI) ۷۰eV با محدوده اسکن ۳۰-۵۵۰ amu مورد استفاده قرار گرفت. حجم

امنیت میکروبی و کیفیت مناسب حسی توصیه شده است (Ayari et al., 2016; Mastromatteo et al., 2009). فن آوری های نوین همانند انکپسولاسیون اسانس های روغنی در نانوامولسیون ها نیز به منظور غلبه بر ضعف های کاربردی اشاره شده به ویژه تأثیرات سوء ارگانولپتیک، به کار گرفته می شوند (Gharibzahedi and Mohammadnabi, 2017). در رابطه با کاربرد ترکیبی اسانس های گیاهی، میان کنش ترکیبات ضد میکروبی ممکن است از نوع سینرژیستی (هم افزایی)، افزایشی، بی اثر و یا آنتاگونیستی (هم ستیزی) باشد. بنابراین کشف چگونگی این تأثیرات متقابل به هنگام استفاده هم زمان دو یا چند ترکیب نگهدارنده جالب توجه است تا بتوان به تأثیر سینرژیستی مطمئن و مناسبی از اسانس های طبیعی دست یافت. با توجه به ویژگی های ذکر شده برای گیاهان منتخب در این مطالعه و اثرات متنوع آنها، ارزان بودن و قابل دسترس بودن آنها در نقاط مختلف ایران، هدف این تحقیق، بررسی خاصیت ضد میکروبی اسانس بذر گشنیز و اسانس کاکوتی کوهی و هم چنین اثر ترکیبی آنها بر تعدادی از باکتری های گرم منفی و گرم مثبت در محیط آزمایشگاهی بود. کاهش میزان غلظت مورد نیاز این دو ترکیب می تواند نهایتاً استفاده عملی و مقرون به صرفه آنها را در صنعت غذا به همراه داشته باشد.

## مواد و روش ها

### - تهیه اسانس گیاهی و سویه های باکتری

گیاه کاکوتی کوهی از مناطق کوهستانی مارمیشو واقع در شهرستان ارومیه در فصل اواخر اردیبهشت و اوایل خرداد ماه پس از گل دهی جمع آوری شد و نام

$7 \times 10^7$ ،  $8 \times 10^6$  و  $6 \times 10^7$  CFU/ml محاسبه گردید. با مشخص شدن این اعداد هر گاه که سوسپانسیون باکتریایی با جذب نوری ۰/۱ تهیه گردد، تعداد باکتری در آن معادل عدد محاسبه شده بوده و می‌توان از این سوسپانسیون غلظت‌های دل‌خواه را تهیه نمود. در هر مورد تعداد دقیق باکتری تلقیح شده از طریق کشت هم‌زمان باکتری و شمارش تعداد کلونی محاسبه گردید (Rahman and Kang, 2009).

#### – تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از رشد و حداقل غلظت باکتری‌کشی

جهت تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (Minimum Inhibitory Concentration) به‌روش ریز رقت مایع از پلیت‌های میکروتیتر ۹۶ خانه با چاهک ته‌گرد و با حجم ۳۰۰ میکرولیتر (Sarsted, Inc., USA) استفاده شد. غلظت‌های اسانس بذر گشنیز (صفر (کنترل)، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۳۰۰۰ و ppm ۴۰۰۰) و اسانس کاکوتی (صفر (کنترل)، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۳۰۰۰ و ppm ۴۰۰۰) در محیط آبگوشت BHI (Merck, Germany) حاوی ۱۰ درصد DMSO (Merck, Germany) تهیه گردیدند. صد میکرولیتر از غلظت‌های مختلف ZEO و CEO به هر چاهک انتقال داده شد و ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تک تک باکتری‌های مورد مطالعه نیز اضافه شد، غلظت نهایی باکتری در هر چاهک  $5 \times 10^5$  CFU/ml بود که با تهیه رقت‌های متوالی از سوسپانسیون هر باکتری و کشت در پلیت و شمارش تعداد کلونی تأیید گردید. در هر صفحه پلیت یک چاهک بدون تلقیح باکتریایی به‌عنوان کنترل منفی و یک چاهک با تلقیح از کلونی تازه باکتری مورد نظر به‌عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد.

تزریق هم  $1 \mu\text{l}$  (با نسبت اسپلیت ۱:۲۰) بود. آنالیز اسانس‌های روغنی با استفاده از یک دستگاه GC-MS ترموکویست Finningan با استفاده از همان ستون کیپلاری و شرایط آنالیتیکال توضیح داده شده انجام شد. ترکیبات اسانس‌های روغنی توسط مقایسه اندیس بازداری (RT) و طیف جذبی با Wiley/NBS (Standard Mass Spectral fragmentation pattern) و NIST (National Institute of Standards and Technology) شناسایی شدند. درصد هر ترکیب از طریق مساحت پیک‌های GC-MS محاسبه شده توسط کامپیوتر تعیین شد (Kakaei and Shahbazi, 2016).

#### – تهیه میزان تلقیح باکتری

برای تهیه دوز تلقیح به‌روش جذب نوری از باکتری‌های نگهداری شده روی محیط کشت شیب‌دار به محیط آبگوشت BHI (Merck, Germany) انتقال داده و به‌مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد. پس از انجام کشت مجدد ۱۸ ساعته، با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Unico, USA) جذب نوری سوسپانسیون باکتریایی در ۶۰۰ نانومتر، روی عدد ۰/۱ تنظیم شد. سپس رقت‌های متوالی تا  $10^{-6}$  تهیه گردید و از طریق انتقال ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت به پلیت‌های حاوی آگار BHI از رقت‌های تهیه شده کشت داده شد. پلیت‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند و پس از این مدت تعداد باکتری‌ها شمارش شد. کل آزمایش‌ها ۲ مرتبه تکرار شده و میانگین تعداد باکتری‌های اشریشیا کلی، سالمونلا تیفی موربوم، لیستریا مونوسیتوژنز، باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس با جذب نوری ۰/۱ به‌ترتیب  $1 \times 10^8$ ،  $2 \times 10^8$ ،

گشیش (۰، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ ppm) و در هر ردیف آن غلظت‌های ثابت اسانس کاکوتی کوهی (۰، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ ppm) ریخته شد. سوسپانسیون هر یک از باکتری‌های مورد مطالعه مطابق روش گفته شده در بالا اضافه گردید و غلظت‌هایی که در آن کدورت باکتریایی مشاهده نشد به عنوان MIC ترکیبی در نظر گرفته شد. ارزیابی میان‌کنش دو اسانس از طریق رسم نمودار ایزوبلوگرام با استفاده از مقادیر مختلف MIC صورت گرفت. جهت ارزیابی نوع میان‌کنش یا اثر ترکیبی ZEO و CEO شاخص Fractional inhibitory (FIC index) (concentration) از رابطه زیر محاسبه شد:

$$\text{رابطه شماره (۱)} \quad \text{FIC} = \frac{\text{MIC اسانس بذر گشیش در حالت ترکیبی}}{\text{MIC اسانس کاکوتی در حالت ترکیبی}} + \frac{\text{MIC اسانس بذر گشیش به تنهایی}}{\text{MIC اسانس کاکوتی به تنهایی}}$$

مقایسه معنی‌داری اختلاف میانگین‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نمودارهای مربوطه نیز به وسیله نرم‌افزار Microsoft Excel 2013 رسم شد.

#### یافته‌ها

- فیتوشیمی اسانس‌های گیاهی استفاده شده  
نتایج آنالیز فیتوشیمی اسانس بذر گشیش و کاکوتی کوهی مورد استفاده در این مطالعه با استفاده از دستگاه GC-MS در جدول (۱) نشان داده شده است.

میکروپلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند و بعد از اتمام گرمخانه‌گذاری، کدورت یا عدم کدورت در چاهک‌ها به صورت چشمی مشاهده شد (Mohajerfar *et al.*, 2013). برای تعیین حداقل غلظت باکتری‌کشی (Minimum Bactericidal Concentration) اسانس کاکوتی کوهی و بذر گشیش، از تمامی چاهک‌هایی که در آن کدورتی مشاهده نشده بود مقداری برداشت شد و جهت تعیین MBC در محیط کشت آگار مغذی (Merck, Germany) کشت سطحی داده شد. غلظتی از اسانس که در کشت مربوط به آن اثری از رشد باکتری مشاهده نشد MBC تلقی گردید (Tabatabaei Yazdi *et al.*, 2016). به منظور تعیین غلظت ترکیبی اسانس‌ها در ستون‌های میکروپلیت‌های ۹۶ خانه اسانس بذر

در رابطه فوق، در صورتی که مقدار شاخص FIC مربوط به ترکیبات ضد میکروبی کوچکتر از یک باشد، میان‌کنش ترکیبات ضد میکروبی از نوع سینرژیستی، اگر برابر یک باشد اثر ترکیبی از نوع افزایشی و در صورتی که بزرگتر از یک باشد، میان‌کنش ترکیبات از نوع بی‌اثر و یا آنتاگونیستی (Antagonistic) خواهد بود (Pajouhi *et al.*, 2010).

#### - ارزیابی آماری

میانگین نتایج حاصل از ۳ تکرار در هر گروه با استفاده از نرم‌افزار SPSS18 و روش آنالیز واریانس یک طرفه با سطح اطمینان ۹۵٪ به روش دانکن برای

جدول (۱) - ترکیبات شیمیایی اسانس کاکوتی کوهی و بذر گشنیز شناسایی شده توسط GC-MS

اسانس بذر گشنیز				اسانس کاکوتی کوهی			
زمان بازداری (دقیقه)	درصد	نام ترکیب	شماره	زمان بازداری (دقیقه)	درصد	نام ترکیب	شماره
۶/۴۴	۷/۴۴	$\alpha$ -Pinene	۱	۶/۱۹	۰/۲۵	$\alpha$ -Thujene	۱
۶/۹۱	۰/۱۱	Camphene	۲	۶/۴۲	۱/۳۸	$\alpha$ -Pinene	۲
۷/۸۱	۰/۲۲	Sabinene	۳	۶/۹۱	۰/۴۴	Camphene	۳
۷/۹۱	۰/۷۲	$\beta$ -Pinene	۴	۷/۹۱	۰/۱۴	$\beta$ -Pinene	۴
۸/۴۹	۰/۳۶	$\beta$ -Myrcene	۵	۸/۴۹	۰/۶۳	$\beta$ -Myrcene	۵
۸/۹۴	۰/۱۰	Octanal	۶	۸/۹۹	۰/۱۱	$\alpha$ -Phellandrene	۶
۹/۸۳	۲/۵۷	Cymene	۷	۹/۵۰	۰/۸۵	$\alpha$ -Terpinene	۷
۹/۹۹	۰/۲۷	$\Delta$ -Limonene	۸	۹/۸۷	۳/۰۲	Cymene	۸
۱۱/۳۴	۷/۸۳	$\gamma$ -Terpinene	۹	۱۰/۱۰	۲/۵۶	1,8-Cineole	۹
۱۱/۶۸	۰/۰۵	<i>trans</i> -Sabinene hydrate	۱۰	۱۰/۸۷	۰/۳۰	Trans- $\beta$ -Ocimene	۱۰
۱۱/۹۱	۰/۱۸	<i>cis</i> -Linalool oxide	۱۱	۱۱/۳۵	۴/۱۰	$\gamma$ -Terpinene	۱۱
۱۲/۱۳۵	۰/۲۳	1-Octanol	۱۲	۱۱/۶۸	۰/۳۲	<i>cis</i> -Sabinene hydrate	۱۲
۱۳/۷۲	۶۵/۰۴	Linalool L	۱۳	۱۱/۹۰	۰/۴۸	<i>cis</i> -Linalool oxide	۱۳
۱۵/۱۱	۰/۲۹	(+)-Camphor	۱۴	۱۲/۵۹	۰/۵۸	<i>trans</i> -Linalool oxide	۱۴
۱۵/۵۹	۰/۳۱	Citronella	۱۵	۱۳/۳۱	۴/۱۲	Linalool L	۱۵
۱۶/۱۳	۰/۱۴	Borneol L	۱۶	۱۵/۰۵	۰/۹۵	Camphor	۱۶
۱۶/۶۵	۰/۲۱	Terpinen-4-ol	۱۷	۱۶/۱۶	۲/۶۵	Borneol L	۱۷
۱۸/۰۰	۰/۸۶	Decanal	۱۸	۱۶/۶۷	۱/۲۴	Terpinen-4-ol	۱۸
۱۹/۲۴	۰/۳۰	$\beta$ -Citronellol	۱۹	۱۷/۴۵	۷/۳۱	$\alpha$ -Terpineol	۱۹
۲۰/۶۳	۰/۶۶	Geraniol	۲۰	۱۹/۶۰	۰/۳۷	Citronellol	۲۰
۲۰/۹۰	۰/۹۰	( <i>E</i> )-2-Decenal	۲۱	۱۹/۹۸	۰/۵۹	Carvacrol Methyl Ether	۲۱
۲۱/۵۳	۰/۱۳	Cyclodecane	۲۲	۲۰/۲۰	۰/۱۲	Z-Citral	۲۲
۲۳/۰۸	۰/۱۶	Undecanal	۲۳	۲۰/۶۳	۰/۳۳	Linalyl acetate	۲۳
۲۵/۵۴	۰/۱۹	Neryl acetate	۲۴	۲۱/۱۳	۲/۴۷	Geraniol	۲۴
۲۶/۳۸	۴/۷۸	Geraniol acetate	۲۵	۲۱/۷۲	۰/۱۶	3,7-Dimethyl-2,6-octadienal	۲۵
۲۷/۲۶	۰/۲۲	Tridecanal	۲۶	۲۲/۲۹	۰/۳۸	Bornyl acetate	۲۶
۲۷/۵۵	۰/۱۱	<i>trans</i> -caryophyllene	۲۷	۲۳/۲۳	۴۱/۷۰	Thymol	۲۷
۲۹/۳۵	۲/۲۸	3-dodecen-1-al	۲۸	۲۳/۴۷	۵/۳۹	Carvacrol	۲۸
۳۵/۶۳	۱/۲۳	$\beta$ -Tumerone	۲۹	۲۵/۱۱	۰/۴۵	(+)-2-Carene	۲۹
۳۶/۶۶	۰/۳۷	$\alpha$ -Tumerone	۳۰	۲۵/۳۶	۰/۱۲	Eugenol	۳۰

ادامه جدول (۱) - ترکیبات شیمیایی اسانس کاکوتی کوهی و بذر گشنیز شناسایی شده توسط GC-MS

اسانس بذر گشنیز				اسانس کاکوتی کوهی			
شماره	نام ترکیب	درصد	زمان بازداری (دقیقه)	شماره	نام ترکیب	درصد	زمان بازداری (دقیقه)
				۳۱	Piperitenone oxide	۰/۲۷	۲۵/۶۶
				۳۲	Copaene	۰/۰۹	۲۵/۹۴
				۳۳	Geranyl acetate	۱/۶۰	۲۶/۴۰
				۳۴	trans-Caryophyllene	۲/۰۴	۲۷/۶۰
				۳۵	Germacrene	۰/۱۲	۲۷/۹۴
				۳۶	(+)-Aromadendrene	۰/۱۴	۲۸/۲۹
				۳۷	$\gamma$ -Muuroleone	۰/۴۴	۲۹/۶۸
				۳۸	Germacrene	۰/۷۰	۲۹/۸۱
				۳۹	$\gamma$ -Muuroleone	۰/۴۳	۳۰/۲۹
				۴۰	$\gamma$ -Cadinene	۰/۵۹	۳۰/۹۵
				۴۱	$\Delta$ -Cadinene	۰/۸۷	۳۱/۲۶
				۴۲	cis- $\alpha$ -Bisabolene	۰/۸۷	۳۱/۹۰
				۴۳	Valencene	۰/۱۶	۳۲/۱۴
				۴۴	cis-Geraniol	۰/۱۷	۳۲/۴۷
				۴۵	Nerolidol	۱/۲۸	۳۲/۶۲
				۴۶	(+)- Spathulenol	۰/۱۱	۳۳/۰۴
				۴۷	Caryophyllene oxide	۰/۸۸	۳۳/۱۵
				۴۸	Geranyl propionate	۰/۰۸	۳۳/۷۶
				۴۹	$\alpha$ -Cadinol	۰/۶۱	۳۴/۹۵
				۵۰	Caryophyllenol-II	۰/۱۹	۳۵/۸۵
				مجموع		۹۸/۱۵	۹۸/۲۷

ترکیبات غالب به صورت پررنگ نمایش داده شده‌اند.

کاکوتی کوهی بر علیه تعدادی از بیماری‌های منتقله از غذا مشهود است.

- بررسی تأثیر CEO و ZEO و اثر توأم آن‌ها بر پاتوژن‌های غذایی

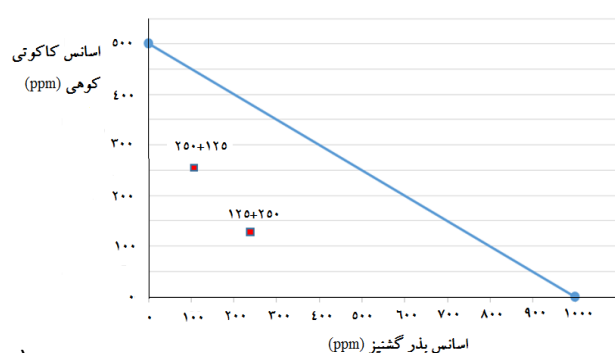
همان‌طور که در جدول (۲) مشخص شده، اثر ضد میکروبی روغن اسانسی بذر گشنیز و اسانس

جدول (۲) - MIC (ppm) و MBC (ppm) اسانس کاکوتی کوهی و اسانس بذر گشنیز به صورت مجزا و ترکیبی

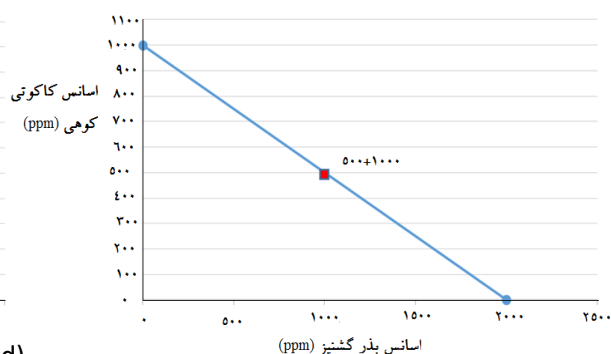
گونه‌های باکتری	MIC (ZEO)	MBC (CEO)	MIC (ZEO)	MBC (ZEO)	MIC (ZEO+CEO)	اندیس FIC	اثر ترکیبی
اشریشیا کولای (ATCC 35218) O157:H7	۲۰۰۰	۳۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۵۰۰+۱۰۰۰	۱	افزایشی
استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 25922)	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۲۵۰+۱۲۵ و ۱۲۵+۲۵۰	۰/۵۶	سینرژیستی
سالمونلا تیفی موریوم (phage type III)	۲۰۰۰	۵۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۵۰۰+۱۰۰۰	۱	افزایشی
لیستریا مونوسایتوژنز (ATCC 19118)	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۲۵۰+۵۰۰	۱	افزایشی
باسیلوس سرئوس (ATCC 11778)	۵۰۰	۱۰۰۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۲۵۰+۲۵۰	۱	افزایشی

نوع اثر ترکیبی اسانس‌ها از طریق محاسبه شاخص FIC بررسی شد (جدول ۲). هم‌چنین نوع اثر ترکیبی از طریق رسم نمودارهای ایزوبلوگرام مشخص گردید (نمودار ۱).

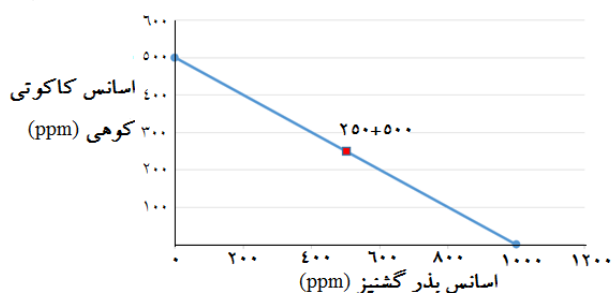
a)



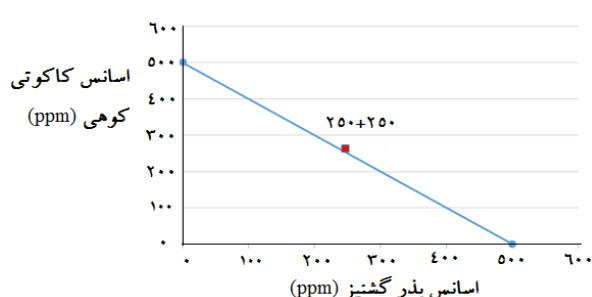
b)



c)



d)



نمودار (۱) - ایزوبلوگرام مربوط به اثر ترکیبی اسانس‌های کاکوتی کوهی و بذر گشنیز علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس (a)، اشریشیا کولای و سالمونلا تیفی موریوم (b)، لیستریا مونوسایتوژنز (c) و باسیلوس سرئوس (d).



## بحث و نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که بیشترین ترکیبات اسانس بذر گشنیز را لینالوئول L (۶۵/۰۴)،  $\gamma$ -تریپنین (۷/۸۳)،  $\alpha$ -پینن (۷/۴۴)، ژرانیول استات (۴/۷۸) و سایمن (۲/۵۷) تشکیل داده است. طبق یافته‌های یک پژوهش، ترکیب غالب اسانس گشنیز لینالوئول (۶۸ درصد) گزارش شده که با نتیجه تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد (Bakkali et al., 2008). هم‌چنین طبق یافته‌های یک مطالعه دیگر اسانس بذر گشنیز حاوی ۳۵ ترکیب بوده که مهم‌ترین آن‌ها لینالوئول (۳۷/۷ درصد)، ژرانیول استات (۱۷/۶ درصد) و  $\gamma$ -تریپنین (۱۴/۴ درصد) بود و روغن اسانسی برگ گشنیز عمدتاً حاوی اسیدهای آروماتیک (شامل ترکیب اصلی ۲-دکانوئیک اسید) (۳۰/۸ درصد) بوده است (Bhuiyan et al., 2009). در حالی‌که در مطالعه سایر محققین، D-کارون (۳۴/۵۰ درصد) و لیمونن (۲۰/۷۰ درصد) ترکیبات عمده اسانس بذر گشنیز جمع‌آوری شده از استان گرگان را تشکیل می‌دهد (Ghaderi et al., 2012). در مطالعه‌ای دیگر روی اسانس بذر گشنیز چنین یافت شد که ترکیب عمده گشنیز  $\alpha$ -پینن است که خواص ضد میکروبی دارد (Broomand et al., 2009) که این نتایج با نتایج مطالعه حاضر تطابق ندارد.

هم‌چنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد که در مورد اسانس کاکوتی کوهی، تیمول (۴۱/۷۰)،  $\alpha$ -تریپینئول (۷/۳۱)، کارواکرول (۵/۳۹)، لینالوئول L (۴/۱۲) و  $\gamma$ -تریپنین (۴/۱۰) ترکیبات اصلی در پروفیل ترکیبات شیمیایی بودند. نتایج مطالعه‌ای نشان داد که به ترتیب کارواکرول، تیمول،  $p$ -سایمن و  $\gamma$ -تریپنین ترکیبات شیمیایی اصلی *Ziziphora clinopodioides* جمع‌آوری

شده از منطقه گیلان غرب استان کرمانشاه بوده‌اند که با نتایج پژوهش حاضر مشابه است (Kakaei and Shahbazi, 2016). با این حال عنصر اصلی در تعدادی از گیاهان خانواده نعناعیان از جمله کاکوتی، پولگون (*Pulegone*) معرفی شده است که این موضوع با نتایج ما هم‌خوانی ندارد. پولگون با فرمول بسته  $C_{10}H_{16}O$  یک مونوترپن اکسیژن‌دار حلقوی و نوعی ترکیب کتونی است (Smith-Palmer et al., 2001; Ozturk and Ercisli, 2007). گیاهان خانواده نعناعیان انعطاف اکولوژیکی بسیار زیادی نسبت به اقلیم متنوع دارند و تغییرپذیری ترکیبات شیمیایی گونه‌های یکسان گیاهی را می‌توان علاوه بر سن گیاه، به اکوتایپ (Ecotype) و سایر عوامل محیطی نسبت داد (Shahbazi et al., 2016). عوامل محیطی سبب تغییراتی در رشد گیاهان دارویی و نیز کمیت و کیفیت مواد موثره آن‌ها نظیر آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها، اسانس‌ها و امثال آن‌ها می‌گردد (Mahdavi et al., 2013).

نتایج MIC و MBC در مورد CEO در بازه ppm ۵۰۰-۵۰۰۰ قرار داشت که در مطالعات سایر محققین نیز مقادیر مشابه گزارش شده است (Fernandes et al., 2016; Silva and Domingues, 2017). رشد تمامی سویه‌های مورد مطالعه توسط CEO در مقادیر مختلف مهار شدند. باسیلوس سرئوس حساس‌ترین سرووار (MIC معادل ۵۰۰ ppm و MBC معادل ۱۰۰۰ ppm) و سالمونلا تیغی‌موریوم مقاوم‌ترین سرووار در برابر CEO بود که MIC معادل ۲۰۰۰ ppm و MBC معادل ppm ۵۰۰۰ نشان داد. گزارشات فراوانی مبنی بر تأثیر ضدباکتریایی اسانس بذر گشنیز وجود دارد و در برخی از این مطالعات چنین بیان شده است که باکتری‌های

مقادیر MIC و MBC در مورد *اشریشیا کولای* O157:H7 و *سالمونلا تیفی* موربیوم یکسان بوده و بیان‌گر خاصیت باکتری‌کشی ZEO در مورد این باکتری‌ها بود. نتایج یک مطالعه نشان داد که عصاره کاکوتی کوهی مانع از رشد باکتری‌های گرم منفی *کلبسیلا نومونیه* و *اشریشیا کولای* O157:H7 گردیده؛ در حالی که این عصاره در مقابل باکتری گرم منفی دیگر *سودوموناس آئروژینوزا* فعالیت ضدباکتریایی نشان نداد (Salehi et al., 2005). چنین گزارش شده که باکتری مذکور به طور کلی در برابر اثر مهارکنندگی اسانس‌های گیاهی مقاومت نشان می‌دهد (Raut and Karuppaiyil, 2014). نتایج حاصل از پژوهشی دیگر در رابطه با اثر ضد میکروبی اسانس کاکوتی بر باکتری‌های گرم مثبت نشان داد که از میان باکتری‌های گرم مثبت مورد آزمایش، *لیستریا مونوسایتوژنز* بیشترین حساسیت (MIC معادل 0/5 µg/ml) و *باسیلوس سرئوس* کم‌ترین حساسیت (MIC معادل 1 µg/ml) نسبت به اسانس کاکوتی را دارا بوده است (Soltaninezhad et al., 2009) که البته در مطالعه حاضر هر دو باکتری با MIC برابر 0/5 µg/ml به یک میزان حساسیت نسبت به ZEO را از خود نشان دادند. عواملی همچون برهم‌کنش‌های میان ترکیبات اسانس‌های گیاهی با اسیدهای چرب، فسفولیپیدها و پلی‌ساکاریدهای غشای سلولی، موجب نفوذپذیری غشاهای باکتریایی شده و در نتیجه افت یون‌ها و محتویات سلولی منجر به مرگ باکتری می‌شود. هم‌چنین دناتورده شدن پروتئین‌های سیتوپلاسمی و غیرفعال شدن آنزیم‌های سلولی، سایر مواردی هستند که مرگ باکتری‌ها را در پی خواهند داشت (Raut and Karuppaiyil, 2014). با توجه به

گرم مثبت حساسیت بیشتری نسبت به CEO دارند که این موضوع با نتایج ما سازگار بود (Goncharenko and Timoshchenko, 2014). علت حساسیت کمتر باکتری‌های گرم منفی می‌تواند به دلیل وجود غشای خارجی در باکتری‌های گرم منفی باشد که سبب محدود شدن انتشار اجزای آبگریز اسانس به لایه لیپوبیلی ساکارید می‌شود. یافته‌های مطالعه‌ای چنین نشان داده که CEO تأثیر بیشتری بر علیه باکتری‌های گرم مثبت و گونه‌هایی از باکتری گرم منفی *Xanthomonas* نشان داد و فعالیت اندکی بر علیه جدایه‌های *سودوموناس* داشت (Astrup and Brand-Miller, 2012). برخلاف این نتایج، در یک مطالعه نشان داده شده که CEO بر باکتری‌های گرم منفی تأثیرگذار بوده اما هیچ تأثیری بر باکتری گرم مثبت *لاکتوباسیلوس پلانتروم* نداشت (Wang et al., 2016). هم‌چنین مساوی بودن مقادیر MIC و MBC در مورد *لیستریا مونوسایتوژنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس* نشانگر ماهیت باکتری‌کشی CEO در مورد این باکتری‌ها بود (MIC و MBC معادل 1000 ppm). باور بر این است که فعالیت ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی مبتنی بر اجزای ترکیبی عمده آن‌ها و غلظت این ترکیبات می‌باشد. با این حال ترکیبات کم‌مقدار نیز می‌توانند در فعالیت ضد میکروبی اسانس‌های روغنی نقش داشته باشند (Silva and Domingues, 2017).

در تحقیق حاضر ZEO اثرات مهارکنندگی بیشتری نسبت به CEO در برابر باکتری‌های مورد بررسی به استثنای *باسیلوس سرئوس* نشان داد که در مورد باکتری مذکور ZEO و CEO تأثیرات مهارکنندگی و باکتری‌کشی یکسانی بروز دادند ( $p < 0/05$ ). هم‌چنین

می باشد زیرا باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* یکی از پاتوژهای مهم در بیمارستان و جامعه به شمار رفته و نسبت به آنتی بیوتیک های مختلف مقاومت نشان می دهد (Schaffer and Lee, 2008). همان طور که در نمودارهای (۱) مشخص است نقطه مربوط به MIC ترکیبی اسانس ها در مورد باکتری های مورد اشریشیا کولای O157:H7، سالمونلا تیفی موریوم، لیستریا مونوسایتوژنز و باسیلوس سرئوس روی خط تراز واقع شده که بیان کننده اثر افزایشی است. در مورد *استافیلوکوکوس اورئوس* نقطه مربوط به MIC پایین تر از خط تراز بوده و در صورتی که این نقطه پایین تر باشد نوع اثر سینرژیستی را نشان می دهد. طبق یافته های یک پژوهش، تأثیر سینرژیستی ترکیب اسانس های دو گیاه *Myrtus communis* و *Thymus vulgaris* بر *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کولای* با اندیس های FIC به ترتیب برابر با ۰/۳۷۵ و ۰/۵۱۲، سینرژیستی و نسبتاً سینرژیستی گزارش شد (Sadiki et al., 2014).

به طور کلی نتایج این مطالعه بیانگر اثر ضد میکروبی اسانس های بذر گشنیز و کاکوتی کوهی بر باکتری های مورد اشریشیا کولای O157:H7، سالمونلا تیفی موریوم، لیستریا مونوسایتوژنز و باسیلوس سرئوس و *استافیلوکوکوس اورئوس* بوده است. نتایج بررسی های انجام شده در محیط های کشت آزمایشگاهی و به روش ریز رقت مایع، نشان دهنده اثرات سینرژیستی استفاده توأم از اسانس های بذر گشنیز و کاکوتی در مورد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و اثرات افزایشی در رابطه با سایر باکتری های مورد آزمایش بود. با توجه به تأکید سازمان بهداشت جهانی بر استفاده از مواد نگهدارنده طبیعی در مواد غذایی و نتایج حاصل از این

این که طیف گسترده باکتری ها، ساختارهای غشایی و سیتوپلاسمی متفاوتی دارند، تأثیرات اسانس های گیاهی بر باکتری های گوناگون متفاوت خواهد بود. به طور کلی در این تحقیق نتایج حاکی از آن بود که در شرایط آزمایشگاهی، اسانس کاکوتی کوهی و اسانس بذر گشنیز اثرات آنتی باکتریال بیشتری در برابر باکتری های گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس* و *لیستریا مونوسایتوژنز* نسبت به باکتری های گرم منفی *اشریشیا کولای* O157:H7 و *سالمونلا تیفی موریوم* نشان دادند (جدول ۱) به طور مشابهی نتایج تحقیقی نشان داد که عصاره برگ گواوا (*Psidium guajava* L.) تأثیر مهارکنندگی روی باکتری های گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* داشت در حالی که دو باکتری گرم منفی *سالمونلا انتریدیس* و *اشریشیا کولای* نسبت به این عصاره گیاهی مقاومت نشان دادند (Biswas et al., 2013). یافته های مطالعه ای نشان داد که *استافیلوکوکوس اورئوس* به دلیل دارا بودن دیواره سلولی یک لایه، در مقایسه با میکروارگانیزم هایی چون *اشریشیا کلائی* و *سالمونلا تیفی موریوم* در مقابل ترکیبات مختلف حساس تر است (Oussalah et al., 2007).

در پژوهش حاضر میزان اندیس FIC ترکیب دو اسانس مورد آزمایش در مورد باکتری های *اشریشیا کولای* O157:H7، *سالمونلا تیفی موریوم*، *لیستریا مونوسایتوژنز* و *باسیلوس سرئوس* برابر با ۱ محاسبه گردید که نشانگر اثر افزایشی و برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* برابر ۰/۵۶ محاسبه شد که نشانگر اثر سینرژیستی اسانس های مورد آزمایش می باشد (نمودار ۱). این نتیجه بسیار حائز اهمیت

پژوهش می‌توان انجام مطالعات تکمیلی در جهت استفاده از اسانس کاکوتی کوهی و اسانس بذر گشنیز را به‌عنوان ترکیبات نگهدارنده طبیعی در فرآورده‌های غذایی پیشنهاد نمود.

تعارض منافع  
نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافی برای اعلام ندارند.

## منابع

- Astrup, A. and Brand-Miller, J. (2012). Diet composition and obesity. *The Lancet*, 379(9821): 1100-1101.
- Atarés, L. and Chiralt, A. (2016). Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. *Trends in Food Science and Technology*, 48: 51-62.
- Ayari, S., Han, J., Vu, K.D. and Lacroix, M. (2016). Effects of gamma radiation, individually and in combination with bioactive agents, on microbiological and physicochemical properties of ground beef. *Food Control*, 64: 173-180.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2): 446-475.
- Batooli, H., Akhbari, M., and 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): 135-146. [In Persian]
- Biswas, B., Rogers, K., McLaughlin, F., Daniels, D., and Yadav, A. (2013). Antimicrobial activities of leaf extracts of guava (*Psidium guajava* L.) on two gram-negative and gram-positive bacteria. *International journal of microbiology*, DOI: org/10.1155/2013/746165.
- Bhuiyan, M.N. I., Begum, J. and Sultana, M. (2009). Chemical composition of leaf and seed essential oil of *Coriandrum sativum* L. from Bangladesh. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 4: 150-153.
- Broomand, A., Hamedi, M., Emamjomeh, Z., Razavi, S.H., and Gholmakani, M.T. (2009). Investigation on the antimicrobial effects of essential oils from dill and coriander seeds on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella* Typhimurium. *Food Science and Technology Research Journal*, 4(1): 59-68. [In Persian]
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3): 223-253.
- Chachoyan A.A. and Oganesyanyan G.B. (1996). Antitumor activity of some spices of the family Lamiaceae. *Rastitelnye Resursy*, 32(4): 59-64.
- Dadalioglu, I. and Evrendilek, G.A. (2004). Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.), and fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26): 8255-8260.
- Fernandes, R., Do Rosario, V. A., Mocellin, M.C., Kuntz, M.G. and Trindade, E.B. (2016). Effects of inulin-type fructans, galacto-oligosaccharides and related synbiotics on inflammatory markers in adult patients with overweight or obesity: A systematic review. *Clinical Nutrition*, DOI:org/10.1016/j.clnu.2016.10.003.
- Ghaderi S., Falahati-HosseinAbad, A., Sarailoo, M.H., and Ghanbari, V. (2012). Investigation of the components and antibacterial effects of three plant's essential oil *Coriandrum sativum*, *Achillea*

- millefolium, *Anethum graveolens* in vitro, Journal of Shahrekord University of Medical Sciences, 14(5): 74-82. [In Persian]
- Gharibzahedi, S. M.T. and Mohammadnabi, S. (2017). Effect of novel bioactive edible coatings based on jujube gum and nettle oil-loaded nanoemulsions on the shelf-life of Beluga sturgeon fillets. International Journal of Biological Macromolecules, 95: 769-777.
  - Goncharenko, A. and Timoshchenko, A. (2014). Evaluation of the grain antioxidant activity of winter rye varieties. Russian Agricultural Sciences, 40(5): 303-308.
  - Kakaei, S. and Shahbazi, Y. (2016). Effect of chitosan-gelatin film incorporated with ethanolic red grape seed extract and *Ziziphora clinopodioides* essential oil on survival of *Listeria monocytogenes* and chemical, microbial and sensory properties of minced trout fillet. LWT-Food Science and Technology, 72: 432-438.
  - Laribi, B., Kouki, K., M'hamdi, M. and Bettaieb, T. (2015). Coriander (*Coriandrum sativum* L.) and its bioactive constituents. Fitoterapia, 103: 9-26.
  - Mahdavi, S.Kh., Asghari, P., Mazandarani, M., Hosseini, S.A., and Human, B. (2013). Evaluation of hypericin in *Hypericum perforatum* L. (Case study: Golestan National Park and Ramian). Eco-phytochemical Journal of Medical Plants, 2: 71-84. [In Persian]
  - Mastromatteo, M., Lucera, A., Sinigaglia, M. and Corbo, M.R. (2009). Combined effects of thymol, carvacrol and temperature on the quality of non conventional poultry patties. Meat science, 83(2): 246-254.
  - Mohajerfar, T., Hosseinzadeh, A., Akhondzadeh-Basti, A., Khanjari, A., Misaghi, and Gandomi Nasrabadi, H. (2013). Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) of *Zataria multiflora* boiss. essential oil and lysozim on *L. monocytogenes*. Journal of Medicinal Plants, 4(44): 70-78. [In Persian]
  - Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L. and Lacroix, M. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E. coli O157: H7, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes. Food control, 18(5): 414-420.
  - Ozturk, S. and Ercisli, S. (2007). Antibacterial activity and chemical constitutions of *Ziziphora clinopodioides*. Food control, 18: 535-540.
  - Pajouhi, M.R., Taajik, H., Akhondzadeh, A., Gandomi Nasrabadi, H., Ehsani, A., and Shokouhi Sabet Jalali, F. (2010). Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of oregano (*Mentha longifolia* L.) and cumin seeds (*Cuminum cyminum* L.) alone and in combination with nisin. Urmia University of Medical Science, 21(4): 324-331. [In Persian]
  - Rahman, A., and Kang, S. C., (2009). In vitro control of food-borne and food spoilage bacteria by essential oil and ethanol extracts of *Lonicera Japonica* Thunb. Food Chemistry, 116(3): 670-675.
  - Raut, J.S., and Karuppayil, S.M. (2014). A status review on the medicinal properties of essential oils. Industrial Crops and Products, 62: 250-264.
  - Sadiki, A.Y., Balouri, M., Barkai, H., Maataoui, H., Koraiichi, S.I., and Elabed, S. (2014). Synergistic antibacterial effect of *Myrtus communis* and *Thymus vulgaris* essential oils fractional inhibitory concentration index. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 6: 121-124.
  - Salehi, P., Sonboli, A., Eftekhari, F., Nejad-Ebrahimi, S. and Yousefzadi, M. (2005). Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of *Ziziphora clinopodioides* subsp. rigida (Boiss.) RECH. f. from Iran. Biological and pharmaceutical bulletin, 28: 1892-1896.
  - Schaffer, A.C. and Lee, J.C. (2008). Vaccination and passive immunisation against Staphylococcus aureus. International journal of antimicrobial agents, 32: S71-S78.
  - Shahbazi, Y., Shavisi, N. and Mohebi, E. (2016). Potential application of *Ziziphora clinopodioides* essential oil and nisin as natural preservatives against *Bacillus cereus* and *Escherichia coli* O157: H7 in commercial barley soup. Journal of Food Safety, 36(4): 435-441.

- 
- Silva, F. and Domingues, F.C. (2017). Antimicrobial activity of coriander oil and its effectiveness as food preservative. *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(1): 35-47.
  - Smaoui, S., Hsouna, A.B., Lahmar, A., Ennouri, K., Mtibaa-Chakchouk, A., Sellem, I., *et al.* (2016). Bio-preservative effect of the essential oil of the endemic *Mentha piperita* used alone and in combination with BacTN635 in stored minced beef meat. *Meat science*, 117: 196-204.
  - Smith-Palmer, A., Stewart, J. and Fyfe, L. (2001). The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiology*, 18(4): 463-470.
  - Soltaninezhad, S.H., Mokhtari, T. and Rahbarian, P. (2009). Antibacterial activity of the essential oil and methanolic extract of *Ziziphora clinopodioides* on some pathogenic bacteria. *Microbial Biotechnology*, 2(5): 1-6. [In Persian]
  - Tabatabaei Yazdi, F., Alizadeh Behbahani, B. Vasiee, A.R., Mortazavi, S.A., and Moradi, S. (2016). Investigation of the extracts antibacterial effect of *Hibiscus Sabdariffa* against strains of antibiotic resistance on pathogenic bacteria "in vitro", *Iranian Journal of Food Science and Industry*, 13(55): 23-31. [In Persian]
  - Wang, Y., Xia, Y., Zhang, P., Ye, L., Wu, L. and He, S. (2017). Physical Characterization and Pork Packaging Application of Chitosan Films Incorporated with Combined Essential Oils of Cinnamon and Ginger. *Food and Bioprocess Technology*, 10(3): 503-511.



## Phytochemical characteristics and antimicrobial effect of *Ziziphora clinopodioides* and *Coriandrum Sativum* seed essential oils and their combination on some food borne pathogenic bacteria

Abbaszadeh, S.<sup>1</sup>, Kargozari, M.<sup>2\*</sup>, Gandomi Nasrabadi, H.<sup>3</sup>

1. MSc Graduate of Food Science and Technology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

3. Associate Professor, Department of Food Hygiene, University of Tehran, Tehran, Iran

\*Corresponding Author: mina\_kargozari@ut.ac.ir

(Received: 2016/6/5 Accepted: 2018/9/2)

### Abstract

Essential oils and their components have known to possess antibacterial effects. In this study the major components of essential oils of *Coriandrum sativum* seeds and aerial parts of *Ziziphora clinopodioides* were identified by means of GC-MS and the effect of different concentrations of them alone and in combination were then investigated in vitro to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) against some foodborne pathogenic bacteria including *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* Typhimurium, *Listeria monocytogenes* and *Bacillus cereus* using broth microdilution method. The most principle compounds composing Coriander seed essential oil (CEO) were Linalool L,  $\gamma$ -Terpinene,  $\alpha$ -Pinene, Geraniol acetate, and cymene. Thymol,  $\alpha$ -Terpineol, Carvacrol, Linalool L and  $\gamma$ -Terpinene were the main chemical compounds found in *Ziziphora* essential oil (ZEO). Considering the results of MIC and MBC, *B. cereus* was the most sensitive (MIC 500 ppm, MBC 1000ppm) and *S. Typhimurium* was the most resistant species (MIC 2000ppm and MBC 5000ppm) against CEO. ZEO also showed more antimicrobial effect against Gram-positive bacteria *S. aureus*, *L. monocytogenes* and *B. cereus* (MIC 500 ppm) compared to Gram-negative bacteria of *E. coli* O157: H7 and *S. Typhimurium* (MIC 1000 ppm). Combination effect of the aforementioned EOs indicated that ZEO+CEO could synergistically suppress the growth of *S. aureus* (MIC 125+250 ppm, 250+125 ppm). The results of this study showed that *Ziziphora* and Coriander EOs, when used in combination, are more effective against Gram-positive bacterial growth especially against *S. aureus* which is an important bacterial pathogen in the community and has become increasingly resistant to multiple antibiotics.

**Conflict of interest:** None declared.

**Keywords:** Phytochemistry, *Ziziphora*, Coriander, Pathogenic bacteria