

## بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس گیاهان نعناع فلفلی، پونه کوهی و زیره سیاه بر برخی باکتری‌های جدا شده از مواد غذایی

مهرداد عطایی کچویی

گروه گیاهان دارویی، دانشکده غذا و دارو، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.

نویسنده مسئول: Mehrad.ataie@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۳۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۹/۲

### چکیده

نیاز به جایگزینی نگهدارنده‌های سنتتیک با یک منبع طبیعی سبب شده تا کارخانجات تولید مواد غذایی از گیاهان دارویی به عنوان نگهدارنده استفاده کنند. مطالعه حاضر به منظور ارزیابی اثرات ضد میکروبی اسانس استخراج شده از پونه کوهی، نعناع فلفلی و زیره سیاه روی باکتری‌های *اشریشیا کلای*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تیفی* موربوم جدا شده از مواد غذایی انجام شد. پس از تهیه گیاهان دارویی، اسانس‌گیری با استفاده از دستگاه کلونجر انجام و اثرات ضد میکروبی اسانس‌ها بر روی سوش‌های *اشریشیا کلای*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تیفی* موربوم جداسازی شده از شیر خام و گوشت، ارزیابی شد. قطر هاله عدم رشد هر یک از اسانس‌ها با استفاده از روش انتشار دیسکی ساده در محیط مولر هینتون آگار تعیین شد. سوش‌های باکتریایی جدا شده از گوشت مقاومت آنتی بیوتیکی بیشتری نسبت به اسانس‌های تست شده داشتند اما الگوی اثر بخشی اسانس‌ها روی سوش‌های جدا شده از هر دو منبع یکسان بود. اسانس استخراج شده از گیاه پونه کوهی بیشترین اثر ضد میکروبی را روی *استافیلوکوکوس اورئوس* و کمترین را روی *اشریشیا کلای*، نعناع فلفلی بیشترین اثر ضد میکروبی را روی *اشریشیا کلای* و کمترین را روی *استافیلوکوکوس اورئوس* و زیره سیاه بیشترین اثرات ضد میکروبی خود را روی *استافیلوکوکوس اورئوس* و کمترین را روی *سالمونلا تیفی* موربوم داشت. با توجه به اثرات ضد باکتریایی اسانس‌های ذکر شده، امکان کاربرد آنها به عنوان نگهدارنده ضد میکروبی در گوشت و فراورده‌های آن و همچنین فراورده‌های لبنی وجود دارد.

**واژگان کلیدی:** پونه کوهی، نعناع فلفلی، زیره سیاه، اثرات ضد میکروبی، باکتری‌های غذازا.

### مقدمه

کنند (Daferera and Cowan, 2001; Omidbaigi, 2007; Tepe et al., 2004).

پونه کوهی<sup>۱</sup>، نعناع فلفلی<sup>۲</sup> و زیره سیاه<sup>۳</sup> از جمله مهم ترین و فراوان‌ترین گیاهان دارویی بومی ایران هستند. پونه کوهی گیاهی پایا و همیشه سبز است که علاوه بر دارا بودن اثرات درمانی خاص، به عنوان ادویه طعم دهنده نیز کاربرد دارد. ترکیب اصلی اسانس این گیاه شامل فنل‌هایی مانند کارواکرول و تیمول است که اثرات ضد میکروبی بسیار بارزی را از خود بروز می‌دهند (Fournomiti et al., 2015). برگ، گل و ساقه گونه‌های پونه در چای‌های گیاهی یا بعنوان

استفاده از گیاهان دارویی و معطر در درمان بیماری‌ها در سال‌های اخیر افزایش چشمگیری پیدا کرده است. وجود سابقه تاریخی غنی در ایران در رابطه با گیاهان دارویی و طب سنتی سبب گرایش اکثریت آحاد جامعه به استفاده از گیاهان دارویی شده است (Daferera and Cowan, 2001). از طرفی تجویز بی‌رویه آنتی بیوتیک‌ها برای درمان بیماری‌های انسانی و دامی سبب بروز مقاومت در اکثر سویه‌های باکتریایی شده است. علاوه بر این، روند استفاده از نگهدارنده‌ها در مواد غذایی و آگاهی مردم از اثرات سوء این ترکیبات سبب شده است تا کارخانجات تولید و بسته بندی مواد غذایی گرایش جدی به استفاده از گیاهان دارویی و معطر برای افزایش مدت زمان نگهداری مواد غذایی

- 1- *Oganum vulgare*
- 2- *Mentha piperita*
- 3- *Carum carvi*

فلفلی، خوراکی بودن آنها و افزایش شیوع سوش‌های مقاوم باکتری‌های *اشریشیاکلاسی*، *سالمونلا تیپ‌موریوم* و *استافیلوکوکوس اورئوس* خصوصا در مواد غذایی با منشا دامی ( Kluytmans, 2010; McLaughlin et al., 2013; Momtaz et al., 2006; al., 2006)، مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس استخراج شده از گیاهان زیره سیاه، پونه کوهی و نعنای فلفلی بر روی باکتری‌های بیماری‌زای *اشریشیاکلاسی*، *سالمونلا تیپ‌موریوم* و *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از گوشت و شیر انجام شد.

### مواد و روش کار

تهیه گیاهان و اسانس‌گیری

مطالعه توصیفی-مقطعی حاضر در طول تابستان سال ۱۳۹۴ در مرکز تحقیقات بهداشت مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد انجام شد. گیاهان پونه کوهی، زیره سیاه و نعنای فلفلی از عطاری‌های موجود در شهر اصفهان تهیه، در سایه خشک و آماده اسانس‌گیری شدند. عمل اسانس‌گیری با استفاده از روش تقطیر با آب و به کارگیری دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت انجام شد. اسانس‌های بدست آمده با استفاده از سولفات سدیم خشک و وزن آنها اندازه‌گیری شد (Bernath, 2000).

جمع‌آوری نمونه و جداسازی باکتری

نمونه‌های مواد غذایی مطالعه شده در بررسی حاضر شامل گوشت و شیر خام بودند. نمونه‌ها از مراکز فروش و سوپر مارکت‌های موجود در سطح شهر اصفهان خریداری و در اسرع وقت در دمای ۴ درجه سانتیگراد به آزمایشگاه انتقال داده شد. نمونه‌های مواد غذایی جمع‌آوری شده از نظر ظاهری و خواص ارگانولپتیکی طبیعی بودند. به منظور جداسازی باکتری‌های *اشریشیاکلاسی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تیپ‌موریوم* از روش کشت میکروبی استفاده شد. به منظور جداسازی *اشریشیاکلاسی* ابتدا از نمونه‌ها برای کشت در محیط نوترینت براس (مرک، آلمان)، استفاده

افزودنی در مخلوط‌های ادویه‌های تجارتهای برای طعم دادن به غذاها استفاده می‌شود. این گیاه در طب سنتی برای درمان تهوع، التهاب مجاری تنفسی، نفخ و بی‌اشتهایی بکار گرفته می‌شود (Grondona et al., 2014; Fournomiti et al., 2015). نعنای فلفلی گیاهی چند ساله و علفی با کرک‌های پراکنده و ریشه کوتاه است. ساقه این گیاه چهارگوش به رنگ قرمز مایل به بنفش که برگ‌های بیضی شکلی به صورت متقابل روی آن قرار می‌گیرند. گل‌های آن به رنگ بنفش هستند و میوه‌اش کپسولی به رنگ قرمز است که دارای بذرهایی بدون توان رویشی می‌باشد. از هزاران سال قبل تا کنون از گونه‌های مختلف نعنای به عنوان ادویه و دارو استفاده می‌شود. نعنای فلفلی حاوی مانتول و تانن است که ترکیباتی آنتی‌اکسیدان و بعضا ضد میکروبی هستند (Mikaili et al., 2013; Mimica-Dukić et al., 2003). نعنای فلفلی برای تقویت معده، روده و دستگاه گوارش مفید است و اثرات ضد نفخ، یرقان و ضد سنگ صفراوی دارد (Mikaili et al., 2013; Mimica-Dukić et al., 2003). همچنین استنشاق بوی نعنای فلفلی، برای رفع سرماخوردگی و عفونت‌های گلو بسیار مفید است (Mikaili et al., 2013; Mimica-Dukić et al., 2003). زیره سیاه یا زیره کوهی گیاهی دارویی با ساقه‌هایی صاف و میان تهی و ارتفاع ۶۰ سانتی متر است که برگ‌هایش تقسیم شانه‌ای و زاویه بدون دم‌برگ دارند. از زیره سیاه در طب سنتی در موارد گرفتگی عضلات، باد شکن، اشتها آور، افزایش ترشح شیر، خلط آور، طعم دهنده در صنایع غذایی و تقویت کننده معده استفاده می‌شود (Johri, 2011; Iacobellis et al., 2005). ترکیبات موثره موجود در این گیاه مانند لیمونین، فلاوونوئیدها، کومین آلدئید و ... آنتی‌اکسیدان، ضد سرطان، ضد میکروب و ضد التهاب هستند (Johri, 2011; Iacobellis et al., 2005). با توجه به اثرات ضد میکروبی بالای گیاهان زیره سیاه، پونه کوهی و نعنای

درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شدند. متعاقباً کلنی‌های باکتریایی به شکل خطی در محیط سالمونلا-شیگلا آگار (مرک، آلمان) کشت داده شدند و پس از ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، پرگنه‌های بی‌رنگ با مرکز سیاه به عنوان مشکوک به سالمونلا در نظر گرفته و با تست‌های بیوشیمیایی مورد ارزیابی قرار گرفتند. به موازات کشت کلنی‌ها در محیط سالمونلا-شیگلا آگار، کلنی‌ها همچنین در محیط بریلیانت گرین آگار (مرک، آلمان) نیز کشت و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شدند و پرگنه‌های زرد با مرکز سیاه برای انجام تست‌های تکمیلی مورد استفاده قرار گرفتند. تمامی پرگنه‌های انتخاب شده با استفاده از تست‌های IMViC، TSI، LIA و اوره‌آز مورد ارزیابی قرار گرفتند. در نهایت سوسپانسیون باکتریایی در محیط مولر هینتون براث (مرک، آلمان) تهیه و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری شد. گرم‌خانه‌گذاری تا زمانی ادامه یافت که کدورت ایجاد شده در اثر رشد باکتری‌ها با استاندارد ۰/۵ مک فارلند مشابه گردد (Davis, 1990).

#### ارزیابی اثرات ضد میکروبی اسانس‌ها

به منظور ارزیابی اثرات ضد میکروبی هر یک از اسانس‌های پونه کوهی، نعنای فلفلی و زیره سیاه بر روی باکتری‌های *اشریشیا کلائی*، *سالمونلا تیفی* موربوم و *استافیلوکوکوس اورئوس*، از روش انتشار دیسکی ساده استفاده شد. قطر هاله عدم رشد اطراف هر یک از باکتری‌ها با کولیس (بر حسب میلی‌متر) اندازه‌گیری و نتایج آن ثبت گردید. ابتدا هر یک از باکتری‌های جداسازی شده بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) کشت داده شدند (با استفاده از غلظت ۰/۵ مک فارلند آنها) و در هر پلیت باکتریولوژیک از محیط مولر هینتون آگار، ۴ دیسک آنتی بیوتیکی خام که قبلاً به دی متیل سولفوکساید (مرک، آلمان) آغشته شده بودند، گذاشته شد. سپس بر روی هر یک از

نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری شدند. سپس با استفاده از آنس استریل از کلنی‌های رشد کرده در محیط نوترینت براس برداشت کرده و به محیط مک‌کانکی آگار (مرک، آلمان) انتقال داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری شد. سپس از کلنی‌های تیپیک رشد کرده در محیط مک‌کانکی آگار که دارای خصوصیات ظاهری *اشریشیا کلائی* بودند (کلنی‌های لاکتوز مثبت صورتی رنگ)، با آنس استریل برداشت کرده و به محیط EMB agar (مرک، آلمان) انتقال داده شد. کلنی‌های سبز متالیک رشد کرده در محیط EMB agar به عنوان باکتری *اشریشیا کلائی* تیپیک مورد پذیرش قرار گرفتند و با تست‌های بیوشیمیایی TSI، IMViC و تولید سولفید هیدروژن مورد ارزیابی قرار گرفتند (Dehkordi et al., 2014). به منظور جداسازی *استافیلوکوکوس اورئوس*، ابتدا نمونه‌ها در محیط کشت Tryptic Soy Broth (مرک، آلمان) غنی شده با ۱۰ درصد نمک کشت داده و به مدت ۱۸ ساعت در گرم خانه ۳۷ درجه سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری شد. سپس کلنی‌های رشد یافته در محیط Tryptic Soy Broth به محیط بردپارکر آگار (مرک، آلمان) غنی شده با امولسیون تلوریت-زرده تخم مرغ انتقال داده و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شد. کلنی‌های سیاه رنگ با هاله رسوبی در اطراف، به عنوان کلنی‌های تیپیک برای *استافیلوکوکوس اورئوس* در نظر گرفته شد و با تست‌های بیوشیمیایی کاتالاز، کوواگولاز، اکسیداز، اوره‌آز، فسفاتاز و تخمیز مانیتول مورد ارزیابی قرار گرفت (Di Giannatale et al., 2011). به منظور جداسازی *سالمونلا تیفی* موربوم، نمونه‌ها به محیط پیش غنی کننده لاکتوز براث (مرک، آلمان) انتقال داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری گردید. سپس کلنی‌های رشد کرده به محیط سلنیت سیستین (مرک، آلمان) انتقال داده و در دمای ۴۳

رشد باکتری‌های جدا شده از گوشت و شیر را برای هر یک از اسانس‌های گیاهان دارویی نمایش می‌دهد. بر اساس نتایج بدست آمده از این تحقیق سوش‌های باکتریایی جدا شده از گوشت مقاومت بیشتری نسبت به تمام اسانس‌های تست شده داشتند اما الگوی اثر بخشی اسانس‌ها بر روی سوش‌های جدا شده از هر دو منبع یکسان بود. نتایج نشان داد که اسانس استخراج شده از گیاه پونه کوهی بیشترین اثر ضد میکروبی خود را روی *استافیلوکوکوس اورئوس* و کمترین اثر ضد میکروبی خود را روی *اشریشیا کلای* داشت که رنج ۷/۶ تا ۱۲/۳ میلی متر را در گوشت و ۶/۲ تا ۱۰/۱ میلی متر را در شیر به خود اختصاص داد. در رابطه با نعناع فلفلی، اسانس استخراج شده از این گیاه بیشترین خاصیت ضد میکروبی خود را روی *اشریشیا کلای* و کمترین خاصیت ضد میکروبی را روی *استافیلوکوکوس اورئوس* داشت که رنج ۱/۸ تا ۸/۲ میلی متر را برای گوشت و ۱/۱ تا ۶/۸ میلی متر را برای شیر به خود اختصاص داد. در نهایت اسانس استخراج شده از زیره سیاه بیشترین اثرات ضد میکروبی خود را روی *استافیلوکوکوس اورئوس* و کمترین اثرات را روی *سالمونلا تیفی موریوم* داشت که رنج ۸/۲ تا ۱۴/۹ میلی متر را برای گوشت و ۷/۷ تا ۱۲/۲ میلی متر را برای شیر به خود اختصاص داد.

دیسک‌های خام آنتی‌بیوتیکی، ۵۰ میکرولیتر از اسانس گیاهان دارویی مورد مطالعه (عمل ریختن اسانس بر روی دیسک‌های خام آنتی‌بیوتیکی را ۳ مرتبه تکرار کردیم) ریخته و پلیت‌ها به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری شدند. سپس قطر هاله عدم رشد با استفاده از پروتوکول ارائه شده توسط انستیتو استاندارد آزمایشگاهی و بالینی (CLSI, 2012) اندازه‌گیری و ارزیابی شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تمامی آزمایشات در ۳ تکرار انجام پذیرفت. نتایج حاصل از فعالیت ضد میکروبی اسانس‌های استخراج شده با استفاده از نرم افزار SPSS شماره ۱۸ و تست آنالیز واریانس مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. در نهایت  $P < 0.05$  به عنوان حد معناداری در نظر گرفته شد.

### نتایج

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میزان شیوع سوش‌های *اشریشیا کلای*، *سالمونلا تیفی موریوم* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه‌های شیر و گوشت خام به ترتیب ۱۱ و ۸/۵ درصد، ۵ و ۲ درصد و ۱۶ و ۱۰ درصد بود. قطر هاله عدم رشد هر یک از سوش‌ها با توجه به منبع جداسازی به شکل جداگانه بررسی شد. جدول ۱ و ۲ به ترتیب نتایج مربوط به قطر هاله عدم

جدول ۱- قطر هاله عدم رشد اسانس‌های پونه کوهی، نعناع فلفلی و زیره سیاه بر روی باکتری‌های *اشریشیا کلای*، *سالمونلا تیفی موریوم* و

*استافیلوکوکوس اورئوس* جداسازی شده از گوشت

قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)			سوش‌های باکتریایی
زیره سیاه	نعناع فلفلی	پونه کوهی	<i>اشریشیا کلای</i>
۱۰/۱ ± ۱/۲۴ <sup>a</sup>	۸/۰ ± ۲/۹۱ <sup>a</sup>	۷/۰ ± ۶/۸۲ <sup>a</sup>	
۸/۰ ± ۲/۹۱ <sup>a</sup>	۷/۰ ± ۵/۸۴ <sup>a</sup>	۱۰/۱ ± ۰/۱۴ <sup>b</sup>	
۱۴/۱ ± ۹/۵۶ <sup>b</sup>	۱/۰ ± ۸/۲۲ <sup>b</sup>	۱۲/۱ ± ۳/۴۵ <sup>b</sup>	<i>سالمونلا تیفی موریوم</i>
			<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنادار آماری در حد  $P < 0.05$  می‌باشند.

جدول ۲- قطر هاله عدم رشد اسانس‌های پونه کوهی، نعنای فلفلی و زیره سیاه بر روی باکتری‌های *اشریشیاکلای*، *سالمونلا تیفی* موربوم و *استافیلوکوکوس اورئوس* جداسازی شده از شیر

قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)			سوش‌های باکتریایی
زیره سیاه	نعناع فلفلی	پونه کوهی	<i>اشریشیاکلای</i>
۸/۰ ± ۴/۹۷ <sup>a</sup>	۶/۰ ± ۸/۸۶ <sup>a</sup>	۶/۰ ± ۲/۷۱ <sup>a</sup>	<i>سالمونلا تیفی</i> موربوم
۷/۰ ± ۷/۸۳ <sup>a</sup>	۶/۰ ± ۱/۷۷ <sup>a</sup>	۸/۰ ± ۷/۹۳ <sup>b</sup>	<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>
۱۲/۱ ± ۲/۳۱ <sup>b</sup>	۱/۰ ± ۱/۱۶ <sup>b</sup>	۱۰/۱ ± ۱/۲۸ <sup>c</sup>	

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنادار آماری در حد  $P < 0.05$  می‌باشند.

## بحث

آسان‌تر بودن دفع آنتی‌بیوتیک‌ها در شیر نسبت به گوشت است (Aliali et al., 2004). از طرفی عدم رعایت اصول بهداشتی در سالن‌های شیردوشی، استفاده از ظروف غیر بهداشتی و آلوده برای انتقال شیر و عدم رعایت بهداشت فردی توسط کارکنان سالن‌های شیر دوشی دلایل دیگری برای انتقال سوش‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک باکتری‌ها به شیر و افزایش میزان مقاومت سوش‌های جدا شده از آن در برابر اسانس‌های پونه کوهی، زیره سیاه و نعنای فلفلی بود. در سال‌های اخیر توجه زیادی به تأثیر عصاره‌های معطر و اسانس‌های گیاهی و یا مواد مؤثره این اسانس‌ها روی پاتوژن‌ها و میکروارگانیسم‌های عامل فساد مواد غذایی شده است. امروزه در خصوص اثرات بازدارندگی آنتی‌بیوتیک‌های طبیعی و اسانس‌های گیاهی مطالعات زیادی صورت می‌گیرد که نشان‌دهنده تلاش در خصوص حذف نگهدارنده‌های شیمیایی و به‌کارگیری نگهدارنده‌های طبیعی است (Daferera and Cowan, 2001; Omidbaigi, 2007; Tepe et al., 2004). بر طبق نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر، نعنای فلفلی کمترین اثرات ضد میکروبی و زیره سیاه بیشترین اثرات ضد میکروبی را از خود نشان دادند. اثرات ضد میکروبی پونه کوهی نسبت به دو گونه دیگر حد واسط بود. بیشترین اثرات ضد میکروبی را برای *استافیلوکوکوس اورئوس* زیره سیاه، *سالمونلا تیفی* موربوم پونه کوهی و *اشریشیاکلای* زیره سیاه داشتند. مطالعات کم و بیش

نتایج بررسی حاضر نشان داد که گیاهان پونه کوهی، زیره سیاه و نعنای فلفلی از ظرفیت ضد میکروبی خوبی علیه باکتری‌های *اشریشیاکلای*، *سالمونلا تیفی* موربوم و *استافیلوکوکوس اورئوس* برخوردار هستند. نتایج برگرفته از هاله عدم رشد باکتریایی نشان داد که سوش‌های باکتریایی جدا شده از شیر مقاومت بیشتری نسبت به سوش‌های باکتریایی جدا شده از گوشت داشتند. دلیل بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سوش‌های *اشریشیاکلای*، *سالمونلا تیفی* موربوم و *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از شیر خام و گوشت احتمالاً تجویز بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها در عرصه دامپزشکی است. از طرفی امکان انتقال سوش‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک باکتری‌های *اشریشیاکلای*، *سالمونلا تیفی* موربوم و *استافیلوکوکوس اورئوس* از افراد آلوده‌ای که به‌نحوی با گوشت و شیر در تماس هستند (در کشتارگاه‌ها، قصابی‌ها، در زمان معاینه و بازرسی گوشت و حتی حمل و نقل و توزیع آن و همچنین در سالن‌های شیر دوشی) به این دو منبع غذایی وجود دارد (Marshal et al., 2011). بنابراین تجویز بی‌رویه و خودسرانه آنتی‌بیوتیک‌ها در انسان نیز می‌تواند سبب ایجاد سوش‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و در اثر عدم توجه صحیح به اصول بهداشت فردی، انتقال آنها به گوشت و شیر گردد. دلیل بالاتر بودن میزان مقاومت سوش‌های *اشریشیاکلای*، *سالمونلا تیفی* موربوم و *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از شیر نسبت به گوشت احتمالاً

نسبت به باکتری‌های گرم منفی دارد. به نظر می‌رسد که خاصیت آنتی‌باکتریال اجزاء اصلی اسانس‌ها به خاصیت هیدروفوبیک آنها و دیواره غشاء پلاسمایی میکروب بستگی دارد. افزایش مقدار برخی یون‌های ویژه بر روی یا داخل غشاء پلاسمایی تاثیر وسیعی روی نیروی محرکه پروتون‌ها، میزان ATP داخل سلولی و فعالیت کلی سلول‌های میکروبی (شامل کنترل فشار تورم سلول‌های زنده، انتقال مواد حل‌شونده و تنظیم متابولیسم) دارد. در مطالعه الوندی و همکاران (۱۳۸۹) (الوندی و همکاران، ۱۳۸۹) که به منظور ارزیابی خواص ضد میکروبی نعناع فلفلی انجام پذیرفت، نتایج نشان داد که اسانس گیاه نعناع فلفلی تا غلظت ۳۰۰ قسمت در میلیون روی /شیریشیاکلای، تا غلظت ۱۵۰ قسمت در میلیون روی /استافیلوکوکوس اورئوس و تا غلظت ۲۵۰ قسمت در میلیون روی /سالمونلا تیفی اثر بازدارندگی داشت. به عبارت دیگر غلظت‌های کمتر از موارد یاد شده روی باکتری‌های ذکر شده، موثر نبود. مطالعات کم و بیش پراکنده‌ای نیز بر روی اثرات ضد میکروبی زیره سیاه انجام شده است. در مطالعه‌ای که توسط سلیمانی و همکاران (۱۳۸۹) (سلیمانی و همکاران، ۱۳۸۹) انجام پذیرفت، نتایج نشان داد که بیشترین میزان هاله عدم رشد باکتری‌ها مربوط به باسیلوس سرئوس با قطر ۴۵ میلی متر، باسیلوس سوبتیلیس ۲۱ میلی متر، استافیلوکوکوس اورئوس ۲۰ میلی متر، شیگلا فلکسنری ۱۸ میلی متر، اشیریشیا کلی ۱۶ میلی متر و سالمونلا تیفی موربوم ۸ میلی متر، بود. نام بردگان نشان دادند که دلیل اصلی خواص ضد باکتریایی اسانس زیره، حضور کومین آلدئید در آن است. به نظر می‌رسد که کومین آلدئید، آلفا پینن و سایرین از جمله ترکیبات با خاصیت ضد باکتریایی در اسانس زیره سیاه هستند (Jacobellis et al., 2005). اثرات ضد باکتریایی قابل توجه اسانس زیره سیاه روی /شیریشیاکلای (Bonyadian and Karim, 2003; Mekawey et al., 2009)، سالمونلا تیفی موربوم

پراکنده‌ای در این زمینه انجام پذیرفته است. نتایج مطالعه‌ای که بر روی عصاره متانولی و روغن پونه کوهی انجام گرفت، حاکی از آن بود که عصاره متانولی بر روی تعدادی از باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت اثرات ممانعت‌کنندگی رشد دارد که با نتایج ما همخوانی دارد (Chitsaz, 2006). نتایج حاصل از مطالعه پیشین نشان داد که فعالیت ضد میکروبی اسانس پونه کوهی مانع از رشد فرم رویشی باکتری‌های باسیلوس سرئوس و باسیلوس سوبتیلیس در سوپ جو تجارته می‌شود (پژوهی المونی و همکاران، ۱۳۹۱). با این وجود، مطالعه مشکلی باف و همکاران (۱۳۸۹) (مشکی باف و همکاران، ۱۳۸۹) نشان داد که عصاره هیدروالکلی پونه کوهی هیچ گونه اثرات ضد باکتریایی بر روی /شیریشیا-کلای و استافیلوکوکوس اورئوس از خود نشان نداد که با نتایج ما مغایرت داشت. دلیل اختلاف در نتایج بدست آمده از مطالعه ما و بررسی‌های سایر محققان را می‌توان ناشی از وجود اختلاف در گیاهان هر منطقه دانست، زیرا یک گیاه در مناطق مختلف می‌تواند ترکیبات و خواص متفاوتی را از خود به نمایش بگذارد. همچنین نوع و نحوه تهیه عصاره نقش حائز اهمیتی در نتایج بدست آمده در مطالعات مختلف دارد. همچنین فاکتورهایی نظیر دما، pH، غلظت نمک، نوع ارگانسیم و میزان ارگانسیم تلقیح شده، فعالیت ضد میکروبی اسانس را تحت تأثیر قرار می‌دهند. اثرات ضد میکروبی بالای اسانس گیاه نعناع فلفلی در مطالعات مختلف بر روی /شیریشیاکلای (Dorman and Deans, 2000)، استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اینترمدیس (Tassou et al., 2000)، /شیریشیاکلای O157:H7 (Moreira et al., 2005) و سالمونلا تیفی (Tassou et al., 2000) به اثبات رسیده است. Sivropoulou و همکاران در سال ۱۹۹۵ (Sivropoulou et al., 1995) و همچنین Iscan و همکاران در سال ۲۰۰۰ (Iscan et al., 2000) نشان دادند که اسانس نعناع تاثیر ضد میکروبی بیشتری روی باکتری‌های گرم مثبت

## منابع

۱. پژوهی المونی، محمد رضا، تاجیک، حسین، آخوندزاده، افشین، گندمی نصر آبادی، حسن و احسانی، علی. (۱۳۹۱). مطالعه ترکیب شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی اسانس‌های پونه کوهی (*Mentha longifolia* L.) و زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) در سوپ. فصلنامه علوم و صنایع غذایی. ۳۶ (۹): ۳۳-۴۵.
۲. مشکى باف، محمد حسن، عبداللهی، عباس، فصیحی رامندی، مهدی، عدنانی ساداتی، سید جعفر، مروج، علی وحامی، شیوا. (۱۳۸۹). اثرات ضد باکتریایی عصاره هیدروالکی پونه کوهی، مروه تلخ، زرشک وحشی، چای کوهی. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی سمنان. ۱۱ (۴): ۲۴۵-۲۴۰.
۳. الوندی، رضا، شریفان، انوشه و آقازادمشگی، مه زاد. (۱۳۸۹). بررسی ترکیب شیمیایی و اثر ضد میکروبی اسانس گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita*). پاتوبیولوژی مقایسه ای. ۴ (۷): ۳۶۴-۳۵۵.
۴. سلیمانی، ندا، ستاری، مرتضی، سپهری سرشت، سعید، دانشمندی، سعید و درخشان، صفورا. (۱۳۸۹). ارزیابی اثرات متقابل دارویی و فعالیت ضد باکتریایی اسانس زیره سیاه (*Bunium persicum*) بر ضد تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی. مجله میکروبی شناسی پزشکی ایران. ۴ (۱ و ۲): ۳۴-۲۶.
5. Alali, W.Q., Sargeant, J.M., Nagaraja, T.G., and DeBey, B.M. 2004. Effect of antibiotics in milk replacer on fecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in calves. *J Anim Sci.* 82: 2148-2152.
6. Bernath, J. 2000. Medicinal and aromatic plants. *Flav Frag J.* 4: 85-89.
7. Bonyadian, M., and Karim, G. 2003. Study of the effects of some volatile oil of herbs Pennyroyal, Peppermint, Tarragon, Caraway seed and Thyme against *E. coli* and *S. aureus* in broth media. *J Vet Med Tehran Uni.* 57: 81- 83.
- (Mekawey et al., 2009)، استفیلوکوکوس اورئوس (Bonyadian and Karim, 2003) و هلیکوباکتر پیلوری (Ranjbaran et al., 2005) نیز به اثبات رسیده است. در مطالعه ای دیگر ( Momtaz et al., 2013) اثر ضد باکتریایی زیره سیاه بر روی سوش-های استاندارد استفیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلای، سالمونلا تیفی و شیگلا دیساتتیه به اثبات رسید. نام بردگان حضور کومین آلدئید، آلفا پینن و ساینن را دلیل اصلی اثرات ضد میکروبی اسانس زیره سیاه دانستند.

## نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان داد که سوش‌های اشریشیا-کلای، سالمونلا تیفی موربوم و استفیلوکوکوس اورئوس جدا شده از گوشت و شیر خام دارای مقاومت ضد میکروبی کمی نسبت به اسانس ۳ گیاه پونه کوهی، نعناع فلفلی و زیره سیاه بودند. پونه کوهی بیشترین اثرات ضد باکتریایی را روی استفیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا تیفی موربوم، نعناع فلفلی روی اشریشیاکلای و در نهایت زیره سیاه روی استفیلوکوکوس اورئوس، داشتند. اگرچه امکان کاربرد آنها به عنوان نگهدارنده ضد میکروبی در گوشت و فراورده‌های آن و همچنین در فراورده‌های لبنی نیاز بررسی بیشتری دارد. افزایش بهداشت عمومی و فردی، دقت در تجویز آنتی بیوتیک-ها، توجه به اصول HACCP و مکانیزه کردن روند شیردوشی و کشتار دام‌ها می تواند از میزان آلودگی شیر و گوشت به سوش‌های مقاوم به آنتی بیوتیک اشریشیا کلای، سالمونلا تیفی موربوم و استفیلوکوکوس اورئوس بکاهد.

## تشکر و قدردانی

نویسنده مطالعه حاضر از زحمات آقایان دکتر فرهاد صفرپور دهکردی، مهندس منوچهر مومنی و پرسنل زحمتکش مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و معطر دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد کمال تشکر و قدردانی را دارند.

8. Chitsaz, M. 2006. Invitro Evaluation of Antibacterial Effect of *Stachys schtschegleevii*. *Med Daneshvar*. 67: 12-19.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2012. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty-second informational supplement M100-S21, Wayne Pa.
10. Davis, B.I., 1990. The importance of the geometric mean MIC. *J Antimicrob Chemother*. 25: 471-472.
11. Daferera, D., and Cowan, M.M. 2001. Plant products as antimicrobial agents. *J Ethnopharmacol*. 74: 221-226.
12. Dehkordi, F.S., Yazdani, F., Mozafari, J., and Valizadeh, Y. 2014. Virulence factors, serogroups and antimicrobial resistance properties of *Escherichia coli* strains in fermented dairy products. *BMC Res Notes*. 7: 1-8.
13. Di Giannatale E, Prencipe V, Tonelli A, Marfoglia C, and Migliorati G. 2011. Characterisation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from food for human consumption. *Vet Ital*. 47: 165-173.
14. Dorman, H.J., and Deans, S.G. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activities of plant volatile oils. *J Appl Microbiol*. 88: 308-316.
15. Fournomiti, M., Kimbaris, A., Mantzourani, I., Plessas, S., Theodoridou, I., Papaemmanouil, V., Kapsiotis, I., Panopoulou, M., Stavropoulou, E., Bezirtzoglou, E.E., and Alexopoulos, A. 2015. Antimicrobial activity of essential oils of cultivated oregano (*Origanum vulgare*), sage (*Salvia officinalis*), and thyme (*Thymus vulgaris*) against clinical isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, and *Klebsiella pneumoniae*. *Microb Ecol Health Dis*. 26: 23289.
16. Grondona, E., Gatti, G., López, A.G., Sánchez, L.R., Rivero, V., Pessah, O., Zunino, M.P., and Ponce, A.A. 2014. Bio-efficacy of the essential oil of oregano (*Origanum vulgare* Lamiaceae. Ssp. *Hirtum*). *Plant Foods Hum Nutr*. 69: 351-357.
17. Iacobellis, N.S., Lo Cantore, P., Capasso, F., and Senatore, F. 2005. Antibacterial activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. essential oils. *J Agric Food Chem*. 53: 57-61.
18. Iscan, G., Kirimer, N., Kurkcoglu, M., Husnu Canbaser, K., and Demirci, F. 2002. Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. *J Agric Food Chem*. 50: 3943-3946.
19. Johri, R.K. 2011. *Cuminum cyminum* and *Carum carvi*: An update. *Pharmacogn Rev*. 5: 63-72.
20. Kluytmans, J.A. 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in food products: cause for concern or case for complacency. *Clin Microbiol Infect*. 16: 11-15.
21. Marshall, B.M., and Levy, S.B. 2011. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. *Clin Microbiol Rev*. 24: 718-733.
22. McLaughlin, J.B., Castrodale, L.J., Gardner, M.J., Ahmed, R., and Gessner, B.D. 2006. Outbreak of multidrug-resistant *Salmonella typhimurium* associated with ground beef served at a school potluck. *J Food Prot*. 69: 666-670.
23. Mekawey, A.A.I., Mokhtar, M.M., and Farrag, R.M. 2009. Antitumor and antibacterial activities of [1-(2- Ethyl, 6-Heptyl) Phenol] from *Cuminum Cyminum* seeds. *J App Sci Res*. 5: 1881-1888.
24. Mikaili, P., Mojaverrostami, S., Moloudizargari, M., and Aghajanshakeri, S. 2013. Pharmacological and therapeutic effects of *Mentha Longifolia* L. and its main constituent, menthol. *Anc Sci Life*. 33: 131-128.
25. Mimica-Dukić, N., Bozin, B., Soković, M., Mihajlović, B., and Matavulj, M. 2003. Antimicrobial and antioxidant activities of three *Mentha* species essential oils. *Planta Med*. 69: 413-419.
26. Momtaz, H., Safarpour Dehkordi, F., Rahimi, E., Ezadi, H., and Arab, R. 2013. Incidence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serogroups in ruminant's meat. *Meat Sci*. 95: 381-388.



27. Moreira, M.R., Ponce, A.G., Dell vella, C.E., and Roura, S.I. 2005. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT Food Sci Tech.* 38: 565-570.
28. Omidbaigi, R. 2007. *Production and Processing of Medicinal Plants.* Mashhad.
29. Ranjbaran, P., Sadeghian, S., Shirazi, M.H., Sarraf-Nejad, A., Fazeli, M.R., Amin, G.H. 2005. Antibacterial effects of Cinnamon verum, Bunium persicum, Foeniculum vulgare and Anethum graveolens extracts on *Helicobacter pylori* via disk diffusion and flow cytometry. *J Hamedan Univ Medl Sci.* 33: 42- 47.
30. Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T., Arsenakis, M., Papaniko laou, E., and Nikolaou, C. 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oil concentration. *J Agric Food Chem.* 44: 1202-1205.
31. Syed, M., and Hanif, M. 1985. Antimicrobial activity of the essential oil of the umbelliferae family part 1. *Cuminum cyminum*, *Coriandrum sativum*, *Foeniculum vulgare* and *Bunium persicum* oils. *Pak J Scient Indust Res.* 55: 116-120.
32. Tassou, C., Koutsoumaris, K., Nychas, G.J.E. 2000. Inhibition of *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus Aureus* in nutrient broth by mint essential oil. *Food Res Int.* 33: 273-280.
33. Tepe, B., Donmaz, E., Unlu, M., Candan, F., and Vadar-Unlu, G. 2004. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* and *Salvia multicaulis*. *Food Chem.* 84:519-525.

## Study the antimicrobial effects of the essential oils of *Origanum vulgare*, *Mentha piperita* and *Carum carvi* on the bacteria isolates from food stuffs

**Mehrdad Ataie Kachouei**

Department of Medicinal Plants, College of Food and Drug, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.

**Corresponding author:** [Mehrad.ataie@gmail.com](mailto:Mehrad.ataie@gmail.com)

Received: 2015.11.23

Accepted: 2016.01.20

### Abstract

The need to replace synthetic preservatives with a natural resource has caused the food manufacturers to use from the medicinal plants as a reservoir. The present study was carried out to evaluate the antimicrobial effects of essential oils extracted from *Origanum vulgare*, *Mentha piperita* and *Carum carvi* on the *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhimurium* isolated from food products. After preparation of medicinal plants, essence extraction was done using the Clevenger device and antimicrobial effects of essences were evaluated on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhimurium* isolated from raw milk and meat. Diameter of inhibition zone each essence was determined using the simple disk diffusion method on Mueller-Hinton agar. Bacterial isolates of meat were more resistant to all tested essences but the pattern of the effectiveness of essential oils on isolated strains was similar in both sources. Essential oil extracted from *Origanum vulgare* had the highest antimicrobial effect on *S. aureus* and the lowest on *E. coli*, *Mentha piperita* had the highest antimicrobial effect on *E. coli* and the lowest on *S. aureus* and *Carum carvi* had the highest antimicrobial effect on *S. aureus* and the lowest on *S. typhimurium*. According to the antibacterial effects of the mentioned essential oils, the possibility of their application as an antimicrobial preservative in meat and its products and also dairy products dairy is existing.

**Keywords:** *Origanum vulgare*, *Mentha piperita*, *Carum carvi*, Antimicrobial effects, Foodborne bacteria.