مطالعه ترکیب و آثار ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی آویشن کرمانی، آویشن شیرازی، رزماری و دارچین

منوچهر مومنی[1*]، رضا شرافتی چالشتری[2]، مهدی رئیسی[3]، مهسا انصاری[4]، فاطمه حیدری‌نژاد چهارمحالی[5]، فرهنگ تیرگیر[6]

۱. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

۲. مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیمارهای متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۳. گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۴. مدیریت شیلات، سازمان جهاد کشاورزی استان چارمحال و بختیاری، شهرکرد، ایران. باشگاه پژوهشگران جوان، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۵. کارشناسی ژنتیک، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۶- گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

[*]نویسنده مسئول: *momeniman@yahoo.com*

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۷/۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۸

چکیده

آئروموناس هیدروفیلا از عوامل مهم ایجاد بیماری در آبزیان و همچنین قابل انتقال به انسان می‌باشند. این پاتوژن به طور گسترده در آب و همچنین در دستگاه گوارش ماهیان وجود دارد لذا احتمال آلودگی فراورده‌های دریائی به آن زیاد است. امروزه تحقیقات گسترده‌ای در رابطه با استفاده از ترکیبات ضد میکروبی طبیعی جهت مقابله با عوامل بیماری زا با منشاء غذایی انجام شده است و مشخص شده است که این ترکیبات جایگزین مناسبی برای ترکیبات ضد میکروبی شیمیایی هستند. اسانس طبیعی آویشن کرمانی، شیرازی، دارچین و رزماری به دلیل دارا بودن ترکیبات پلی فنلی، دارای خواص ضدمیکروبی مناسبی هستند. در این مطالعه پس از تهیه اسانس این گیاهان، مواد موثره تشکیل دهنده گیاهان با استفاده از دستگاه کرماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی، مورد شناسایی قرار گرفت. سپس حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس‌ها بر علیه باکتری آئروموناس هیدروفیلا با روش میکرو دایلوشن تعیین شد. بر اساس نتایج، کمترین و بیشترین غظت مهار کنندگی از رشد و همچنین حداقل میزان کشندگی در خصوص اسانس آویشن کرمانی و آویشن شیرازی مشاهده شد. نتایج همچنین نشان داد با افزایش غلظت اسانس، میزان قطر هاله رشد افزایش پیدا کرد به طوری که در غلظت ۱۵۰۰ میکروگرم در میلی لیتر اسانس آویشن کرمانی قطر هاله عدم رشد برابر ۰/۵۷±۲۴/۳۳میلی متر بود. یافته‌های این مطالعه حاکی از اثر ضدمیکروبی ترکیبات استفاده شده دارد. با توجه به محدودیت‌های روز افزون در خصوص مصرف داروهای شیمیائی و آنتی بیوتیک‌ها، استفاده از این ترکیبات طبیعی می‌تواند جنبه پیشگیرانه داشته باشد.

کلیدواژه‌ها: آئروموناس هیدروفیلا، ضد باکتری، اسانس‌های گیاهی

مقدمه

باکتری *آئروموناس هیدروفیلا* یک باکتری باسیلی شکل گرم منفی، متحرک و بی‌هوازی اختیاری است (Kiasalari et al., 2011; و هادی و همکاران، ۱۳۹۱). این باکتری یکی از عوامل فرصت طلب مهم موجود در آب و همچنین فلور طبیعی بسیاری از آبزیان است. این باکتری در شرایط محیطی مناسب

و یا وجود مشکلات ایمنی، علاوه بر ماهی، در انسان نیز قادر به ایجاد مشکلات گوارشی است (Hao et al., 1998). باکتری مذکور از طریق مصرف مواد غذائی آلوده شامل آبزیان، سبزیجات، گوشت سفید و قرمز به انسان منتقل می‌شود (Hanninen, 1993). در این میان بنظر می‌رسد انتقال این باکتری از فرآورده‌های آبزی شایع تر است و در کنار برخی عوامل بیماری‌زای دیگر همانند باکتری‌های جنس ویبریو و لیستریا در زمره عوامل منتقله از ماهی به حساب می‌آید (Raissy, 2012, 2017; Helmi et al., 2020; Pirali Khairabadi et al., 2020).

استفاده از ترکیبات گیاهی و مشتقات آنها به منظور مهار رشد باکتری‌های بیماری‌زا در سال‌های اخیر مورد توجه واقع شده است. این امر بدلیل نگرانی‌های فراوانی که از مقاومت‌های ضد میکروبی رو به گسترش که در رابطه با آنتی بیوتیک‌های رایج دیده می‌شود، امری طبیعی است. اسانس های گیاهی، مایعات روغنی فراری هستند که دارای خواص ضد میکروبی بوده و تا کنون مطالعات متعددی برای استفاده از آنها جهت کنترل رشد باکتری های بیماری‌زای منتقله از غذا و باکتری های مولد فساد ارایه شده است (Hao et al.,1998; Palmer et al., 2001). این خواص عمدتا مربوط به دامنه‌ای از مواد موثره آلکالوئیدی آنها می‌باشد که در مقادیر مختلف در گیاهان یافت می‌شوند. از طرف دیگر، بدلیل اینکه این ترکیبات در بسیاری از مواد غذایی جهت ایجاد طعم مطبوع به کار برده می شوند، وجود همزمان خواص ضدمیکروبی آنها می تواند استفاده از آنها را بدین منظور ترغیب نماید. اداره دارو و غذای کشور امریکا نیز استفاده از اسانس های روغنی را به عنوان افزودنی های غذایی که عموماً بی خطر هستند به رسمیت شناخته است (Kiasalari et al., 2011; Hao et al., 1998).

دارچین (*Cinnamomum verum*) نیز گیاهی همیشه سبز متعلق به تیره برگ بو بوده که عمدتاً بومی کشورهای سریلانکا، هند و چین می باشد (Chen et al., 1998). در طب سنتی از این گیاه در درمان نفخ، تب و لرز، سرفه، سردرد، دندان درد، سرما خوردگی و آنفولانزا، روماتیسم و التهاب مفاصل استفاده شده است (Chen et al., 1998; Ghahreman, 1986). اسانس روغنی این گیاه دارای خاصیت ضدمیکروبی قوی بوده و به عنوان چاشنی و طعم دهنده در غذاها استفاده می شود (Geoffrey et al., 2009). یکی از مهمترین اجزای تشکیل دهنده این گیاه سینامالدهاید است (Ghahreman, 1986). این ترکیب از طریق اتصال گروه کربونیلی به پروتئین باکتری‌ها و ممانعت از دکربوکسیلاسیون اسیدهای آمینه، خاصیت ضدمیکروبی خود را اعمال می نماید (Akhondzadeh et al., 2007; Chang et al 1995; Jay et al., 2000). آماندین و همکارانش در سال ۲۰۱۷ اثر آنتی میکروبی دارچین را بر روی میکروارگانیسم های پاتوژن نشان دادند (Brochot et al., 2017).

رزماری (*Rosmarinus officinalis*) متعلق به خانواده نعناعیان است. رزماری دارای ترکیبات مختلف فنلی بوده و اثر آن بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بارها گزارش شده است (Campo et al., 2000; Tavassoli et al., 2011). این گیاه حاوی اسانس، اولئورزین و تانن است. اسانس رزماری شامل ۱ و ۸ سینئول، پینن، کامفر، استات بورنیل،D - لیمونن، بورنئول، میرسن، ترپینئول، کامفن، ، لینالول کاریوفیلن و رزمارن است . دیگر مواد موجود در این گیاه اسید آمیرین، اپی - αکارنوزیک، کارنوزول، کریپتوتانشینون، اپی رزمانول، ایزورزمانول، نپی ترین، رمادیال و اسید رزمارینیک هستند .به طوری که برگها حاوی ۰/۵درصد روغن فرار هستند (Matkowski, 2008: Geoffrey et al., 2009).

آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) یکی از گیاهان خانواده نعناعیان می باشد که بومی ایران، پاکستان و افغانستان است .از این گیاه در طب سنتی به عنوان آنتی سپتیک، ضد التهاب و ضد اسپاسمیاد شده است و به عنوان طعم دهنده در مواد غذایی کاربرد فراوانی دارد. این گیاهو همچنین مشتقات آن اثرات ضد میکروبی اثبات شده‌ای دارند بطور عمده به ترکیباتی همانند تیمول و کارواکرول نسبت داده می‌شود (Burt,2004).

آویشن کرمانی (*Thymus carmanicus*) گیاهی با پراکندگی محدود است که در نواحی مرتفع مرکزی کشور یافت می‌شود (اصفهانیان و همکاران، ۱۳۹۷). اسانس آویشن

دارای خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی بسیار قوی است. مطالعه صفائی و همکاران (۱۳۹۲) نشان داد که اسانس این گیاه در مراحل مختلف رویشی مقادیر بالائی کارواکرول در محدوده ۷۶ تا ۸۸ درصد دارد. آثار ضد میکروبی کارواکرول بر عوامل پاتوژن قبلا مورد اشاره قرار گرفته است (اصفهانیان و همکاران، ۱۳۹۷).

هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر ممانعت از رشد اسانس های آویشن کرمانی، آویشن شیرازی،دارچین و روزماری بر باکتری آئروموناس هیدروفیلا جدا شده از فراورده های آبزی بود.

روش کار

تهیه اسانس

بمنظور تهیه اسانس آویشن شیرازی، آویشن کرمانی، دارچین و رزماری، مقدار ۱۰۰ گرم از گیاه (پس از شناسائی دقیق) خشک شد و با استفاده از آسیاب برقی خرد گردید. سپس گیاه پودر شده به داخل بالن دستگاه کلوونجر وارد شد و به آن ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد، سپس جریان آب سرد مبرد برقرار شد و بالن روی هیتر برقی قرار گرفت. نسبت اسانس به وزن خشک گیاه w/w۰/۵ درصد اندازه‌گیری گردید. در ادامه، اسانس توسط سولفات سدیم بدون آب، آب گیری و در شیشه های دربسته در یخچال بمنظور استفاده نگهداری شد (Soltan et al., 2012).

آنالیز اسانس‌ها

جهت آنالیز و شناسایی ترکیبات اسانس‌ها از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (Aglient Technologies) ساخت کشور آمریکا استفاده شد. بمنظور تشخیص ترکیبات تشکیل دهنده، اسانس‌ها در شرایط مشابه و یکسان به دستگاه تزریق گردید. پس از انجام تزریقات و به دست آوردن کروماتوگرام، شناسایی و تعیین مقدار هریک از ترکیبات با استفاده از طیف جرمی آن ها انجام شد .تعیین نوع ماده ورودی به طیف سنج جرمی بر اساس داده‌های کتابخانه ای وایلی و همچنین مطابق استاندارد ملی ایران با شماره ۵۶۹۳ تعیین گردید (Soltan et al.,2012).

تهیه و آماده‌سازی باکتری

در این مطالعه از باکتری آئروموناس هیدروفیلا که قبلا از فراورده‌های دریائی جدا شده بود، استفاده شد. در ابتدا باکتری لیوفیلیزه در ۲۰ میلی لیتر محیط کشت LB در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید . سپس به محیط کشت جامد منتقل و گرم‌خانه گذاری شد . جهت تهیه سوسپانسیون میکروبی، تعدادی کلنی از کشت ۲۴ ساعته باکتری به لوله‌های حاوی آب مقطر استریل منتقل گردید. بمنظور تنظیم تعداد باکتری در هر میلی لیترآب مقطر از دستگاه اسپکتروفتومتر و کدورت برابر با ۰/۵ مک فارلند استفاده گردید. میزان جذب نوری برابر با ۰/۰۸ تا ۰/۱۳۳در طول موج ۶۰۰ نانومتر و تعداد تقریبی باکتری معادل $۱/۵\times ۱۰^{۸}$ در هر میلی لیتر به دست آمد (Mahasneh et al., 1999).

روش انتشار در حفره آگار

در ابتدا سوسپانسیون میکروبی را به طور یکنواخت در تمام سطح پلیت آگار پخش شد بطوری‌که سطح محیط کاملا پوشیده شد. سپس، یک سوراخ با قطر ۶ تا ۴ میلی متر در شرایط استریل با پانچ استریل ایجاد شد و مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از اسانس داخل حفره وارد شد. سپس، پلیت آگار تحت شرایط مناسب بسته به نوع میکروارگانیسم مورد آزمایش، گرم‌خانه گذاری شد. عامل ضد میکروبی در محیط آگار پخش شده و مانع از رشد سویه میکروبی مورد آزمایش می‌شود (Vanden et al ., 1991; Sindambiwe et al., 1999; Soltan et al., 2012).

حداقل غلظت ممانعت از رشد

تعیین حداقل غلظت ممانعت از رشد در میکروپلیت ۹۶ خانه استریل و با روش براث میکرودایلوشن انجام شد. ابتدا از محیط کشت مولرهینتون براث و در مورد ارزیابی پاتوژ نهای گیاهی از نوترینت براث استفاده شد. در ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مایع داخل هر یک از چاهک‌ها ریخته شد. سپس به اولین چاهک ردیف اول ۱۰۰ میکرولیتر از اسانس مورد مطالعه اضافه گردید و پس از چند بار پیپت کردن از چاهک دوم به سوم و به همین ترتیب تا چاهک ۱۱ رقیق شد. در آخر به همه چاهک‌ها میزان ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی معادل ۱×۱۰^{۸} ml/cfu اضافه شد البته چاهک

شماره ۱۱ هر ردیف به عنوان کنترل منفی فاقد باکتری بود تا آلودگی احتمالی سبب بروز خطا نشود و چاهک شماره ۱۲ هر ردیف به عنوان کنترل مثبت استفاده شد تا از شرایط مناسب کشت و رشد طبیعی باکتری اطمینان حاصل شود. بعد از تلقیح باکتری، میکروپلیت بر روی دستگاه چرخاننده قرار گرفت و ۱۶ تا ۱۸ساعت انکوباسیون در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد اعمال شد. بعد از اتمام انکوباسیون، کدورت یا عدم کدورت در چاهک به صورت چشمی مشاهده و جذب نوری توسط دستگاه قرائت الایزا (STAT FAX) در طول موج ۶۳۰ نانومتر برآورد گردید. در نهایت بمنظور تعیین حداقل غلظت ممانعت از رشد از کمترین غلظتی که در آن کدورتی مشاهده نگردید استفاده شد (Vanden et al., 1991; Sindambiwe et al., 1999; Khosravi et al., 2004).

حداقل غلظت کشندگی

بمنظور سنجش حداقل غلظت کشندگی، از چاهک‌های فاقد کدورت ارزیابی حداقل بازدارندگی، مقدار ۱۰ میکرولیتر در شرایط استریل برداشته شد و بر روی محیط آگار مغذی کشت داده شد. پس از گرم‌خانه گذاری ۲۴ ساعته در دمای ۲۸درجه سانتی گراد، کمترین رقتی که منجر به حذف۹۹/۹ باکتری‌ها را حذف نماید، به عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته شد. آزمایشات سه بار تکرار شد و نتایج به صورت میانگین ارائه گردید (Sindambiwe,et al., 1999: Khosravi,et al.,2004:).

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمون‌های میکروبی در سه تکرار انجام شدند. نتایج با استفاده از نرم افزار spss نسخه ۱۴ به‌صورت میانگین و انحراف معیار گزارش شدند. همچنین میانگین‌ها با استفاده از آزمون ANOVA و آزمون LSD مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج

ترکیب اسانس‌های مورد استفاده مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد (جداول ۴-۱). مقدار این ترکیبات به ترتیب معادل آثار ضدمیکروبی چهار اسانس گیاهی شامل آویشن کرمانی، آویشن شیرازی، رزماری و دارچین بر باکتری آئروموناس هیدروفیلا جدا شده از فراورده‌های دریائی سنجیده شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت اسانس، پاسخ ضدمیکروبی نیز افزایش یافت. بطوری‌که بالاترین پاسخ در غلظت ۱۵۰۰ میکروگرم در میلی لیتر مشاهده گردید. بهترین پاسخ در آزمون چاهک مربوط به آویشن کرمانی و سپس آویشن شیرازی بود و پس از آن دارچین و رزماری در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. حدقل غلظت ممانعت از رشد نیز در مورد اسانس‌ها محاسبه گردید. مقادیر برای اسانس‌های آویشن کرمانی، آویشن شیرازی، رزماری و دارچین ۵۰۰، ۱۵۰۰ و ۷۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بود.

جدول۱- مواد موثره موجود در اسانس آویشن کرمانی

شماره	نام ترکیب	درصد	زمان بازداری
۱	Tricyclene	۰/٦٥	۷/۸۷
۲	α-Pinene	۱۲/۳	۸/۱٤
۳	Camphene	۹/۲	۸/۱٥
٤	Verbenene	۰/٥٥	۸/٥۸
٥	Octen-3-ol	۲/٥۸	۸/۸٤
٦	3-Octanone	۰/۹۹	۹/۰٥
۷	Myrcene	۰/۹۱	۹/۱۸
۸	α-Phellandrene	۱/۸۷	۹/٦٥
۹	α-Terpinene	۰/٤۹	۹/۹۲
۱۰	β-Cymene	۱/۰۱	۱۰/۱۰
۱۱	Limonene	۸/۱	۱۰/۲۳

جدول ۲- مواد موثره موجود در اسانس دارچین

شماره	نام ترکیب	درصد	زمان بازداری
۱	1,8-cineole	۰/۶	۱۱/۶۸
۲	linalool (4.08%)	۴/۰۸	۱۳/۵۴
۳	cinnamaldehyde (79.73%)	۷۹/۷۳	۱۵/۶۸
۴	eugenol(2.37	۲/۳۷	۲۰/۹۰
۵	trans-caryophyllene (2.05%	۲/۰۵	۲۰/۷۱
۶	Cinnamaldehyde-p-methoxy(2.66%)	۲/۶۶	۲۳/۰۲
۷	caryophyllene oxide	۳/۲	۲۳/۳۳

۱۲	1,8-Cineole	۱۲/۰۲	۱۰/۳٦
۱۳	(E)-β-Ocimene	۰/۷٥	۱۰/۸٥
۱٤	n. i.	۰/۱۷	۱۱/۱۱
۱٥	Linalool	۱/۰٤	۱۱/٦٦
۱٦	n. i.	۰/۳۲	۱۲/۳۷
۱۷	Camphore	۷/۱۲	۱۳/۰۸
۱۸	Borneol	٦/۱	۱۳/٥۱
۱۹	Terpinen-4-ol	۱/۳	۱۳/٥٦
۲۰	α-Terpineol	۳/۷۱	۱۳/۹۳
۲۱	n. i.	۲/۱۷	۱٤/۱۷
۲۲	Verbenone	٥/۲	۱٤/٥۳
۲۳	Linalyl acetate	۲/۷٦	۱٥/۱٥
۲٤	n. i.	۱/۱	۱٥/٦٦
۲٥	Bornyl acetate	٦/۱۷	۱٥/۹۱
۲٦	n. i.	۱/۱	۱٦/۷۹
۲۷	(E)-Caryophyllene	۲/۹۳	۱۸/۱۸
۲۸	Neryl acetate	۰/۲۱	۱۸/۹۲
۲۹	4-terpineol	۲/۸۷	۱۹/۱۳
۳۰	α-Humulene	۰/۱٥	۱۹/٤٥
۳۱	n. i.	۱/۲	۱۹/۸۹

جدول ۳- مواد موثره موجود در اسانس رزماری

شماره	نام ترکیب	درصد	زمان بازداری
۱	Tricyclene	۰/۶۵	۷/۸۶
۲	α-Pinene	۱۱/۰۵	۸/۱۴
۳	Camphene	۹/۲	۸/۱۵
۴	Verbenene	۰/۵۵	۸/۵۸
۵	Octen-3-ol	۳/۲۱	۸/۸۴
۶	3-Octanone	۲/۸۹	۹/۰۵
۷	Myrcene	۰/۹۱	۹/۱۸
۸	α-Phellandrene	۱/۸۷	۹/۶۵
۹	α-Terpinene	۰/۴۹	۹/۹۲
۱۰	β-Cymene	۱/۰۱	۱۰/۱۰
۱۱	Limonene	۹/۱	۱۰/۲۳
۱۲	1,8-Cineole	۱۲/۰۲	۱۰/۳۶
۱۳	(E)-β-Ocimene	۰/۷۵	۱۰/۸۵
۱۴	n. i.	۰/۱۷	۱۱/۱۱
۱۵	Linalool	۱/۰۴	۱۱/۵۶
۱۶	n. i.	۰/۳۲	۱۲/۳۷
۱۷	Camphore	۷/۱۲	۱۳/۰۸
۱۸	Borneol	۴/۹	۱۳/۵۱

جدول ۴- مواد موثره موجود در اسانس آویشن شیرازی

ردیف	نام ترکیب	درصد	زمان بازداری
۱	α – Thujene	۰/۱۸	۱۶/۸۲
۲	α – Pinene	۳/۸۰	۱۷/۲۹
۳	Camphene	۰/۲۰	۱۸/۱۱
۴	β - Pinene	۰/۴۸	۱۹/۶۸
۵	3-octanone	۰/۷۱	۲۰/۰۶
۶	β -myrecene	۱/۰۸	۲۰/۳۳
۷	3-octanol	۰/۱۹	۲۰/۵۵
۸	α -terpinene	۰/۴۴	۲۱/۸۵
۹	P- Cymene	۲۰/۳۴	۲۲/۴۸
۱۰	Limonene	۰/۹۹	۲۲/۶۱
۱۱	1,8-cineole	۱	۲۲/۷۵
۱۲	γ- Terpinene	۰/۲۶	۲۴/۱۱
۱۳	Trans-sabinene	۰/۲۱	۲۵/۷۴
۱۴	Linalool	۱۰/۰۹	۲۶/۳۹
۱۵	Borneol	۰/۲۱	۲۹/۸۸
۱۶	4-trpineol	۰/۶۸	۳۰/۴۲
۱۷	α -terpineol	۰/۶۵	۳۱/۲۴
۱۸	Thymol methyl	۱/۴۱	۳۳/۰۴
۱۹	Carvacrol methyl	۲۶/۰۸	۳۵/۹۸

۱۹	Terpinen-4-ol	۱/۳	۱۳/۵۶
۲۰	α-Terpineol	۳/۷۸	۱۳/۹۳
۲۱	n. i.	۲/۱۷	۱۴/۱۷
۲۲	Verbenone	۵/۱۲	۱۴/۵۳
۲۳	Linalyl acetate	۲/۷۶	۱۵/۱۵
۲۴	n. i.	۱/۱	۱۵/۶۶
۲۵	Bornyl acetate	۷/۲۸	۱۵/۹۱
۲۶	n. i.	۱/۱	۱۶/۷۹
۲۷	(E)-Caryophyllene	۲/۹۳	۱۸/۱۸
۲۸	Neryl acetate	۰/۲۱	۱۸/۹۲
۲۹	4-terpineol	۱/۰۱	۱۹/۱۳
۳۰	α-Humulene	۰/۱۵	۱۹/۴۵
۳۱	n. i.	۱/۲	۱۹/۸۹
۲۰	Thymol	۱۷/۲۳	۳۵/۹۸
۲۱	Carvacrol	۲۶/۰۸	۳۶/۶۲
۲۲	β -caryophyllene	۴/۲۷	۴۲/۰۱
۲۳	Aromadendrene	۱/۳۶	۴۲/۳۰
۲۴	Alpha-humulene	۰/۲۳	۴۳/۴۰
۲۵	Allo	۰/۱۳	۴۳/۷۲
۲۶	Ledene	۰/۵۸	۴۵/۰۹
۲۷	Spatulenol	۰/۶۴	۴۸/۵۳
۲۸	Caryophyllene	۱/۶۴	۴۸/۸۲

جدول ۵- قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی متر) و حداقل غلظت ممانعت از رشد و بازدارندگی (بر حسب میکروگرم در میلی لیتر) آئروموناس هیدروفیلا نسبت اسانس های مختلف به روش چاهک دیفیوژن

نوع اسانس	غلظت اسانس (میکروگرم در میلی‌لیتر) ۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰	۷۵۰	۱۵۰۰	MIC	MBC
آویشن شیرازی	۹/۳۳±۰/۵۷^{a}	۱۲±۰/۰۰^{a}	۱۵±۱^{a}	۱۸±۱^{a}	۲۱±۱^{a}	۱۵۰۰	-
آویشن کرمانی	۱۳±۰/۰۰^{b}	۱۴/۶۶±۰/۵۷^{b}	۱۷/۳۳±۰/۵۷^{b}	۲۰/۶۶±۰/۵۷^{b}	۲۴/۳۳±۰/۵۷^{b}	۵۰۰	۷۵۰
رزماری	۷/۶۶±۰/۵۷^{a}	۹/۶۶±۰/۵۷^{c}	۱۲±۰/۰۰^{b}	۱۴/۶۶±۰/۵۷^{c}	۱۷/۳۳±۰/۵۷^{c}	۷۵۰	۱۵۰۰
دارچین	۸/۳۳±۰/۵۷^{a}	۱۰/۳۳±۰/۵۷^{c}	۱۳±۱^{b}	۱۶/۶۶±۰/۵۷^{d}	۱۹/۷۳±۱/۷۳^{d}	۷۵۰	۱۵۰۰

حروف نامتشابه (a، b، c و d) در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد (p<۰/۰۵)

بحث

افزایش عفونت‌ها و مسمومیت‌ها بواسطه عدم رعایت شرایط بهداشتی و مصرف خام مواد غذایی به همراه مشکلات اقتصادی و اجتماعی حاصل از آن سبب افزایش مطالعات مختلف در زمینه تولید غذای سالم شده است (شرافتی چالشتری و همکاران، ۱۳۹۹). فراورده‌های غذایی دریایی از منابع مهم تغذیه ای در سبد غذایی خانوارها می باشند. *آئروموناس هیدروفیلا* از باکتری های فلور روده‌ای ماهیان است که می‌تواند در صورت آلودگی ماده غذایی به آن در انسان سبب گاستروانتریت شود. باکتری‌های جنس آئروموناس به واسطه تولید سمومی مانند انتروتوکسین، همولیزین (آئرولیزین)، لیپاز و پروتئاز سبب بروز بیماری می‌گردند (آقابابایی و همکاران، ۱۴۰۰).

با توجه به افزایش روز افزون مقاومت‌های آنتی بیوتیکی در جنس‌های مختلف باکتری، امروزه رویکرد محققین به سمت شناسایی ترکیبات جایگزین با قدرت تاثیر مشابه با آنتی بیوتیک‌ها می‌باشد. یکی از مهمترین ترکیباتی که محققین بسیاری بر روی آن‌ها بررسی می‌کنند، اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی است (Mulatet al., 2019: Sharafati Chaleshtori et al., 2015).

در مطالعه حاضر به ترتیب پایین‌ترین و بیشترین غظت مهار کنندگی از رشد و همچنین حداقل میزان کشندگی برای اسانس آویشن کرمانی و آویشن شیرازی بود. همچنین

مشاهده شد با افزایش غلظت اسانس میزان قطر هاله رشد افزایش پیدا کرد به‌طوری‌که در غلظت ۱۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر اسانس آویشن کرمانی قطر هاله رشد برابر ۰/۵۷±۲۴/۳۳ میلی‌متر بود.

در مطالعه آقابابایی و همکاران (۱۴۰۰)، بیشترین ترکیبات موجود در اسانس آویشن شیرازی کارواکرول ۴۴/۳۶، تیمول ۳۰/۱۴ و گاماترپینن ۸/۳۱ درصد و برای اسانس کاکوتی پولگون ۴۸/۱۹ درصد گزارش شدند. همچنین میزان MIC و MBC برای باکتری *آئروموناس هیدروفیلا* نسبت به اسانس آویشن شیرازی برابر ۴ و ۴ میلی گرم در میلی لیتر و برای اسانس کاکوتی ۴ و ۸ میلی گرم در میلی لیتر بودند.

در مطالعه ای در سال ۲۰۱۹، اثر اسانس های مختلف بر روی باکتری‌های جدا شده از آبزیان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آنها نشان داد که میزان MIC و MBC برای باکتری *آئروموناس هیدروفیلا* نسبت به اسانس خارخاسک ۶/۴< و ۶/۴< میلی‌گرم در میلی لیتر ، اسانس آویشن باغی ۳/۲ و ۳/۲ میلی گرم در میلی لیتر، اسانس بابونه ۶/۴ و ۶/۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، اسانس گونه ۱/۶ و ۳/۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و اسانس به لیمو ۰/۲ و ۰/۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بودند (Bandeira Junior et al., 2019).

در بررسی سنچولی (۱۳۹۵)، اثر انوعی از اسانس‌ها بر روی باکتری‌های بیماری‌زای ماهیان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اسانس میخک هندی در مقایسه با اسانس‌های دیگر قوی تر و دارای قدرت مهار کنندگی بالاتری بود و میزان حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت باکتری کشی بر هر سه باکتری (*استرپتوکوکوس اینیایی*، *آئروموناس هیدروفیلا* و *یرسینیا راکری*) به ترتیب ۱/۵۶ و ۳/۲۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به دست آمد. اسانس رزماری دارای قدرت کمتری در مقایسه با اسانس‌های دیگر بوده و میزان حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت باکتری کشی بر هر سه باکتری مورد مطالعه به ترتیب ۶/۲۵ و ۱۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بدست آمد. باکتری گرم مثبت *استرپتوکوکوس اینیایی* در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی *آئروموناس هیدروفیلا* و *یرسینیا راکری* حساسیت بیشتری نسبت به اسانس‌های مورد مطالعه داشت. بیشترین مقاومت را باکتری *آئروموناس هیدروفیلا* به اسانس نعناع نشان داد.

بررسی‌ها نشان داده‌اند که باکتری‌های گرم منفی نسبت به گرم مثبت‌ها حساسیت بیشتری نسبت به اسانس‌ها داشته و این هم به علت اثرات ترکیبات موجود در اسانس بر روی نفوذ پذیری لایه خارجی گرم منفی‌ها بوده است. مطالعات قبلی نشان داده اند که فعالیت ضد باکتریایی اسانس‌ها مربوط به ترکیبات مونوترپنی آنهاست، به طوری که سبب مهار تنفس سلولی و مهار انتقال یونها به باکتری‌ها می شود. همچنین وجود ترکیبات سسکوئی‌ترپن‌ها که دارای نقش دفاعی در گیاهان هستند نیز می‌توانند فعالیت ضد باکتریایی داشته باشند. اثر ضد میکربی آنها احتمالاً ناشی از ترکیب پروتئین-های خارج سلولی و یا تشکیل کمپلکس با دیواره سلولی و یا ایجاد اختلال در غشاء سلول میکروارگانیسم‌ها است (Chouhanet al., 2017: Sharafati Chaleshtori et al., 2010). در بررسی‌ها نشان داده اند که استفاده از ۱و ۸ سینئول به همراه لیمونن و یا آلفا پینن و لیمونن دارای اثر سینرژیستی و وجود کارواکول به همراه میرسین، کارواکل به همراه ائوژنول دارای اثرات آنتاگونیستی بر روی خواص ضد باکتریایی و مخمری است (Tserennadmid et al., 2011).

تفاوت‌هایی که در میزان ترکیبات، خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی اسانس‌ها در بررسی‌های محققان مشاهده می‌شود که می‌تواند در اثر وجود ترکیبات متفاوت در اسانس‌ها باشد که تحت تاثیر فاکتورهایی همچون موقعیت جغرافیایی، دما، مرحله رشد گیاه، زمان برداشت گیاه، فاکتور زمین و به طور کلی فاکتورهای محیطی و ژنتیکی گیاه باشد. همچنین نوع دستگاه‌های آنالیز کننده و تکنیک های های مورد استفاده در روش های گاز کروماتوگرافی نیز تفاوت‌هایی را در میزان ترکیبات مختلف در انواع اسانس‌ها نشان می‌دهد (Huang et al., 2015).

نتایج این مطالعه نشان داد که اسانس‌های مذکور منابعی با محتوی ترکیبات ضدباکتریایی می‌باشند که می‌توانند جهت مهار رشد باکتری *آئروموناس هیدروفیلا* در شرایط

آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گیرند. پیشنهاد می‌گردد مطالعات آینده، نحوه تاثیر این اسانس ها بر فاکتورهای حدت این باکتری و یا بیان ژن‌های مقاومت آنتی بیوتیکی و یا توکسین‌های آن صورت پذیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان کمال تشکر و قدردانی را از مرکز تحقیقات تغذیه و بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد بعمل می‌آورند.

منابع

۱. اصفهانیان، مرضیه و کریمیان، علی اکبر و شهبازی، عاطفه،۱۳۹۷،بررسی خصوصیات گونه دارویی آویشن کرمانی (Thymus carmanicus) و عوامل موثر بر بازده اسانس گیاه،دومین کنفرانس بین المللی گیاهان دارویی،کشاورزی ارگانیک، مواد طبیعی و دارویی،مشهد.

۲. آقابابایی مرضیه، کاظمینی حمید رضا، شاهوی محمدحسن. ۱۴۰۰. مطالعه ترکیب شیمیایی اسانس گیاه آویشن شیرازی و کاکوتی در پوشش خوراکی نانوامولسیون کیتوزان برروی رشد باکتری آئروموناس هیدروفیلا تلقیح شده در فیله ماهی سالمون. علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران. ۱۶ (۲) :۱۰۹- ۹۹.

۳. سنچولی، نرگس. ۱۳۹۵. بررسی اثرات ضد باکتریایی اسانس های گیاهی بر برخی باکتری های پاتوژن ماهی در محیط آزمایشگاهی. میکروبیولوژی دامپزشکی (پژوهشنامه دامپزشکی گرمسار). ۱۲: ۱-۱۰. شرافتی چالشتری، ر.، و مزروعی آرانی، ن.، و علیزاده، ا.، و اعتمادی، ع. ۱۳۹۹. بررسی میزان شیوع و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از گلاب و عرقیات گیاهی در کاشان. میکروب شناسی مواد غذایی. ۷: ۱۰-۱۷.

٤. صفایی، لیلا.، و شریفی عاشورآبادی، ابراهیم.، و زینلی، حسین.، و افیونی، داوود.، و میرزا، مهدی. (۱۳۹۲). بررسی عملکرد, میزان و ترکیب های اصلی اسانس آویشن کرمانی (*Thymus caramanicus* Jalas) در زمان های مختلف برداشت. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲: ۳۲۴-۳۱۳.

٥. فرزانه، هادی.، محدث، قاسمی.، محمد، فائزی.، خسرو، عیسی زاده.، سمیه، حقیقی کارسیدانی.، و حسین، خارا. (۱۳۹۱) شناسایی باکتری آئروموناس هیدروفیلا جدا شده از ماهیان فیتوفاگ پرورشی به روش مولکولی . دومین کنگره ملی علوم آزمایشگاهی دامپزشکی . دانشگاه سمنان ۲۳-۲۲ آذر

6. Akhondzadeh Basti, A., Misaghi, A., and Khaschabi, D. 2007. Growth response and modeling of the effects of Zataria multiflora Boiss. Essential oil, pH and temperature on Salmonella typhimurium and Staphylococcus aureus. LWT Food Sc. Tech. 40: 973 - 81.
7. Bandeira Junior, G., Souza, C. d. F., Baldissera, M. D., Descovi, S. N., Silveira, B. P. d., Tasca, C., and Baldisserotto, B. 2019. Plant essential oils against bacteria isolated from fish: an in vitro screening and in vivo efficacy of Lippia origanoides. Ciência Rural, 49: 6-10
8. Brochot, A., Guilbot, A., Haddioui, L., and Roques, C. 2017. Antibacterial, antifungal, and antiviral effects of three essential oil blends, MicrobiologyOpen. 6(4), e00459.
9. Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. Int J Food Microbiol. 94(3): 223-53.
10. Campo, J.D., and Amiot. M.J. 2000. Antimicrobial effect of rosemary extracts. J Food Prot. 63(10): 1359-68.
11. Chang, H.W. 1995. Antibacterial effect of spices and vegetables. Food Industries (ROC). 27: 53 -61.
12. Chen, C.P. 1998. Development and Characterization of the Natural Antimicrobials. M.Sc. Thesis, National Pingtung University of Science and Technology. Pingtung, Taiwan. pp: 76 - 103.
13. Chouhan, S., Sharma, K., and Guleria, S. 2017. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils-Present Status and Future Perspectives. Med 4(3), 58. doi: 10.3390/medicines4030058
14. Geoffrey, A., McKay, S.B., Francis, F., Arhin, T., Adam, K., and Belley, G. 2009.

15. Ghahreman, A. 1986. Flora of Iran. Research Institute of Forests and Rangelands. Iran. pp: 102 -5.
16. Hanninen, M.L. 1993. Occurrence of Aeromonas spp. in samples of ground meat and chicken. Int. J. Food Microbiol. 18: 339- 342.
17. Hao, Y.Y., Brackett, R.E., and Doyle, M.P. 1998. Efficacy of plant extracts in inhibiting Aeromonas hydrophila and Listeria monocytogenes in refrigerated cooked poultry. Food Microbiol. 15: 367 - 78.
18. Helmi, A. M., Mukti, A. T., Soegianto, A., Mahardika, K., Mastuti, I., Effendi, M. H., and Plumeriastuti, H. 2020. A Review of Bacterial Zoonoses and Antimicrobial Resistant (AMR) on Grouper fish (Epinepholus sp.). Sys Rev Pharm. 11 (9): 79, 88.
19. Huang, H.-C., Ho, Y.-C ,.Lim, J.-M., Chang, T.-Y., Ho, C.-L., and Chang, T.-M. 2015. Investigation of the anti-melanogenic and antioxidant characteristics of Eucalyptus camaldulensis flower essential oil and determination of its chemical composition. Intl J Mol Sci, 16(5), 10470-10490 .
20. Jalali, M., Abedi, D., Ghassemi Dehkordi, N., and Chaharmahali, A. 2007. Evaluation of antibacterial activity of ethanol extracts of some medicinal plants against Listeria monocytogenes. J Shahrekord Uni Med Sci. 8(3): 25-33.
21. Jay, M.J., Modern Food Microbiology. 6nd ed. An Aspen Publication. USA. 2000, pp: 441-456.
22. Kazem Alvandi, R., Sharifan, A., and Aghazadeh Meshghi, M. 2011. Study of chemical composition and antimicrobial activity of peppermint essential oil. J Comp Pathobiol. 7(4): 355-64.
23. Kiasalari, Z., Khalili, M., and Ahmadi, P.2011. Effect of Alcoholic Extract of Berberis Vulgaris Fruit on Acute and Chronic Inflammation in Male Rats. J Babol Univ of Med Sci. 13:28-35.
24. Khosravi, A., and Malekan, M.A. 2004. Determination of Alcoholic and aqueous extract of Lavender Astvkas on Staphylococcus aureus and other Gram-negative bacteria. J Qazvin Univ Med Sci. 29: 3-9.
25. Mahasneh, M. A. E. L., and Oqlah, A.A. 1999.Antimicrobial activity of herbal plants used in the traditional medicine of Jordan. J Ethnopharmacol. 64:271-276.
26. Mashreghi, M., and Momtazi, F. 2012. Comparison of the antibacterial effects of various concentrations of alcoholic extracts of Rosmarinus officinalis, Hypericum perforatum and Carthamus tinctorius on the growth phases of Esherichia coli O157. J Rafsanjan Univ Med Sci. 11(2): 103-14.
27. Mahboubi, M., and Feizabadi, M. 2009. The antimicrobial activity of Thyme, Sweet Marjoram, Savory and Eucalyptus oils on Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Aspergillus niger and Aspergillus flavus. J Med Plants. 2(30): 137-44.
28. Minnunni, M., Wolleb U, Mueller O, Pfeifer A, Aeschbacher HU. Natural antioxidants as inhibitors of oxygen species induced mutagenicity. Mutat Res. 1992; 269(2): 193-200.
29. Mulat, M., Pandita, A., and Khan, F. 2019. Medicinal plant compounds for combating the multi-drug resistant pathogenic bacteria: a review. Curr Pharmac Biotechnol, 20(3), 183-196 .
30. Palmer, S., Stewart, J., and Fyfe, L. 2001. The potential application of Plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. Food Microbiol. 18: 463 - 70.
31. Pirali Khairabadi, E., Sedigheh Mousavi, S., Momtaz, H., Nikokhah, F., Hosseini Shekarabi, S., Raissy, M. 2020. Prevalence and phylogenetic analysis of Listeria monocytogenes isolated from the fillets of two farmed fish in Shahrekord in 2018. J Food Microbiol, 7(4), 81-93.
32. Raissy, M. 2017. Bacterial zoonotic diseases from fish: a review. J Food Microbiol. 4(2), 15-27.

Time-kill kinetics of oritavancin and comparator agents against Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium. J Antimicrob Chemother. 63:1191-1199.

33. Raissy, M., Moumeni, M., Ansari, M. and Rahimi, E. 2012. Occurrence of Vibrio spp. In lobster and crab from the Persian Gulf. J. Food Saf. 32 (2), 198-203.
34. Sharafati-Chaleshtori, R., Sharafati-Chaleshtori, F., Rafieian-kopaei, M., Drees, F., and Ashrafi, K. 2010. Comparison of the antibacterial effect of ethanolic walnut (juglans regia) leaf extract with chlorhexidine mouth rinse on Streptococcus mutans and sanguinis. J Islamic Dentl Assoc Iran, 22(4), 211-217.
35. Sharafati Chaleshtori, R., Rafieian-Kopaei, M., and Salehi, E. 2015. Bioactivity of Apium petroselinum and Portulaca oleracea essential oils as natural preservatives. Jundishapur J Microbiol, 8 (3). e20128.
36. Sindambiwe, J.B., Calomme, M., Cos, P., Totte, J., Pieters, L., and Vlietinck, A., 1999. Screening of seven selected Rwandan medicinal plants for antimicrobial and antiviral activities. J Ethnopharmacology. 65(1): 71-77.
37. Smid, E.J., and Gorris, L.G.M. 1999. Natural antimicrobials for food preservation. In: Rahman MS. Handbook of Food Preservation. Marcel Dekker Inc. New York. pp: 285 - 308.
38. Soltan Dallal, M., Bayat, M., Yazdi, M., Aghaamiri, S., Ghorbanzadeh Meshkani, M., Abedi Mohtasab. T., and et al. 2012. Antimicrobial effect of Zataria multiflora on antibiotic-resistant Staphylococcus aureus strains isolated from food.Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences. 17(2): 21-9.
39. Tavassoli, S., Mousavi, S.M., Emam-Djomeh, Z. 2011. Comparative study of the antimicrobial activity of Rosmarinus officinalis L. Essential Oil and Methanolic Extract. Middle-East J Sci Res. 9(4): 467-71.
40. Tserennadmid, R., Takó, M., Galgóczy, L., Papp, T., Pesti, M., Vágvölgyi, C., and et al. 2011. Anti yeast activities of some essential oils in growth medium, fruit juices and milk. Intl J Food Microbiol, 144(3), 480-48.
41. Vanden, D.A., and Vlietinck, A.J., 1991. In: Dey PM, Harborne JB. (Eds.), Methods in plant biochemistry: screening methods for antibacterial and antiviral agents from higherplants. London, Academic Press. 47-69.
42. Wijesekera, R.O.B., Jayewardene, A.L., and Rajapakse, L. S. 2006. Volatile constituents of leaf, stem and root oils of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*). J. Sc. Food and Agric. 25 (10): 1211 - 20.
43. Yang S.m, Tsai, K.d., Wong, H.Y, Liu, Y.H, Chen, T.W, Cherng, J., and et al. 2016. Molecular mechanism of Cinnamomum verum component cuminaldehyde inhibits cell growth and induces cell death in human lung squamous cell carcinoma NCI-H520 cells in vitro and in vivo. J Cancer. 7(3), 251.

Study of the composition and the antimicrobial effects of *Thymus carmanicus, Zataria multiflora, Cinnamomum verum, Rosmarinus officinalis* essential oils

Momeni M[1]*, Sharafati Chaleshtori R[2], Raissy M[3], Ansari M[4], Heydarinejad F[5], Tirgir F[6]

1. Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
2. Research Center for Biochemistry and Nutrition in Metabolic Diseases, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
3. Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
4. Department of Fisheries, Agricultural Jahad, Shahrekord, Iran. Young Researchers Club, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
5. Bachelor of Genetics, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
6. Department of Chemistry, Faculty of Basic sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

***Corresponding author:** *momeniman@yahoo.com*

Received: September 29, 2021 Accepted: December 28, 2021

Abstract

Aeromonas hydrophila is an important pathogenic agent in aquatics and zoonotic in humans. This pathogenic agent can extensively be found in water and also is a part of fishes' digestive system microflora. Extensive researches have been carried out on the antimicrobial effects of natural compounds against food-borne pathogens, indicating that these products can substitute antibiotics. Essential oils of *Thymus carmanicus*, *Zataria multiflora*, *Cinnamomum verum*, *Rosmarinus officinalis* have antimicrobial effects due to their phenolic compounds. In this study, the bioactive compounds were detected using Gas Chromatography equipped with the mass spectrometer. Then minimum inhibitory concentrations and minimum bactericidal concentrations of the essential oils against *A. hydrophila* were calculated. According to the results, the lowest and the highest MIC and the minimum MBC were observed in *T. carmanicus* and *Z. multiflora*, respectively. The result indicated that the inhibition zone diameter increased with the increase of essential oil concentration. The inhibition zone, in the concentration of 1500 ug mL^{-1} *T. carmanicus* was 24.33±0.57 mm. The findings of this study showed the antimicrobial resistance of these compounds. Considering the increasing limitations against chemicals and antibiotics, such compounds could be recommended for prevention of bacterial contamination.

Keywords: *Aeromonas hydrophila*, antibacterial, essential oils.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited

Copyright © 2021 Shahrekord Branch, Islamic Azad University.