بررسی خاصیت ضدمیکروبی اسانس بذرهای شوید (*Anethum graveolens*) و گشنیز (*Coriangrum sativum*) برروی *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیاکلی O157:H7*، *سالمونلا تیفی موریوم* با استفاده از آزمایش حساسیت رقت در محیط مایع

عاطفه برومند[1]، منوچهر حامدی[2]، زهرا امام جمعه[3*]، سیدهادی رضوی[4]، محمد تقی گلمکانی[5]

چکیده:

در این تحقیق اثر ضدمیکروبی اسانس حاصل از بذرهای شوید و گشنیز برروی سه میکرو ارگانیسم بیماری زای غذایی یعنی *استافیلوکوکوس اورئوس*(*PTCC 1431*) ، *اشرشیاکلی* (*O157:H7 (ATCC 35218*) و *سالمونلا تیفی موریوم*(*14028 ATCC*) بررسی شد و میزان کمترین غلظت بازدارنده (MIC) و کمترین غلظت کشنده (MBC) این اسانس‌ها نیز تعیین گردید. برای این منظور ۶ سطح غلظت از هر اسانس شامل ۲۵۰ppm,۴۰۰۰،۲۰۰۰،۱۰۰۰،۵۰۰،۱۲۵انتخاب گردید. جهت کشت میکروبی از آزمایش حساسیت رقت در محیط مایع و محیطهای کشت مولر هینتون آگار و براث استفاده شد. نتایج نشان داد که *استافیلوکوکوس اورئوس* حساسترین و *سالمونلا تیفی موریوم* مقاوم ترین باکتری به هر دو اسانس بودند. اسانس بذر گشنیز نسبت به اسانس بذر شوید بازدارندگی بیشتری بر باکتری‌های گرم منفی داشت. اسانس بذر گشنیز دارای MIC و MBC برابر با ۱۰۰۰ ppm و اسانس بذر شوید دارای کمترین غلظت بازدارنده (MIC) معادل ۵۰۰ ppm وکمترین غلظت باکتری کشی (MBC) برابر با ۱۰۰۰ ppm در مقابل باکتری *استافیلو کوکوس اورئوس* بود. در مورد *سالمونلا* اسانس‌ها در هیچ یک از غلطت‌ها اثر بازدارندگی نشان ندارند.

کلمات کلیدی: آزمایش حساسیت رقت در محیط مایع ، MIC ، MBC، اسانس بذر شوید، اسانس بذر گشنیز

مقدمه

بسیاری از فراورده‌های غذایی به صورت طبیعی فاسد شدنی هستند، بنابراین جهت ماندگاری طولانی، در طی آماده سازی، انبارداری و توزیع احتیاج به محافظت از فساد دارند. بسیاری از مواد شیمیایی مجاز غذایی در طی فرآوری مواد غذایی به منظور افزایش زمان ماندگاری به غذا افزوده می‌شوند(۴،۵،۷،۱۱). این مواد می‌توانند از طریق پایداری شیمیایی و به وسیله مهار رشد میکروبی باعث افزایش عمر نگهداری مواد غذایی شوند. لازم به ذکر است که در حال

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشگاه تهران
۲. استاد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشگاه تهران
۳. دانشیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشگاه تهران
۴. دانشیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشگاه تهران
۵. دانشجوی دکتری گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشگاه تهران
*. مسئول مکاتبات: Email:Emamj@ut.ac.ir

حاضر مصرف کننده‌گان یافته تر در رابطه با استفاده از افزودنی‌های شیمیایی سنتزی آگاهی و نگرانی بیشتری دارند. بنابراین مواد غذایی فرایند شده با نگهدارنده‌های طبیعی روز به روز بیشتر مورد توجه قرار می‌گیرند. روغن‌های اسانسی گیاهی ، همچنین ترکیبات مشابه در دود چوب دارای فعالیت ضد میکروبی طبیعی برروی تعداد زیادی از باکتریهای مولد فساد و بیماریزا هستند، بیشتر این ترکیبات در حضور گروههای فعال فنولیک در ساختارشان مشترک می باشند. در حقیقت آنها به علت داشتن مقادیر زیادی از ترکیبات فرار آروماتیک که برخی از آنها از عوامل مهم ایجاد کننده‌ی طعم در غذا به شمار می روند مورد توجه هستند. این ترکیبات فرار دارای خاصیت ضد اکسایشی و ضد میکروبی ذاتی بوده و نقش مهمی در سیستم دفاعی گیاهان در مقابل بیماری‌ها در اثر میکروارگانیسم‌ها ایفا می‌کنند. بنابراین، این ترکیبات می توانند به صورت یک جز عملگر، یک طعم دهنده و نیز به عنوان نگهدارنده در ماده غذایی عمل نمایند(۵،۷،۸،۹،۱۰).

متابولیت‌های ثانویه در واقع به صورت پیش سازهای غیر فعال ذخیره شده در بافت‌های گیاهی تولید می‌شوند و سپس در پاسخ به استرس‌های محیطی آزاد می‌گردند. مواد پیش ساز در بافت‌های گیاهی شامل ترکیبات فنلی، فلاوونول‌ها و فلاوونوئیدها، گلیکوزیدها، آلکالوئیدها و پلی استیلن می باشند(۷،۱۰،۱۱). این ترکیبات اخیرا بعلت اثر ممانعت کنندگی و کشندگی میکروارگانیسم‌های پاتوژن مورد توجه قرار گرفته اند(۱۰).

فعالیت ضد میکروبی روغن‌های اساسی در واقع به گروهی از ترپنوئیدهای کوچک و ترکیبات فنولیک (تیمول، کارواکرول، اوژنول)نسبت داده می‌شود. با این که روغن‌های اساسی جزو مواد ایمن و مجاز (GRAS) برای استفاده در مواد غذایی محسوب می‌شوند، مصرف آنها معمولاً از نظر ارگانولپتیکی محدودیت ایجاد می‌کند به همین دلیل تعیین کمترین غلظت بازدارنده‌ی (MIC)[1] رشد باکتری‌های پاتوژن که تاثیری بر کیفیت حسی غذا نداشته باشد ضروری است. MIC کمترین غلظت از ماده ضد میکروبی است که دارای اثر بازدارندگی بر رشد یک میکروارگانیسم خاص باشد، بدین معنی که میکروارگانیسم در محیط حضور دارد اما قادر به تکثیر نیست .کاهش تعداد میکروارگانیسم در این شرایط به علت اثر کشندگی اسانس نبوده بلکه به سبب رسیدن میکروارگانیسم به فاز مرگ است و چون دیگر تکثیر پیدا نمی‌کند بنابراین تعداد آن کاهش می‌یابد.

MBC کمترین غلظت از ماده ضد میکروبی است که سبب مرگ میکروارگانیسم می‌شود به این ترتیب هیچ میکروارگانیسم زنده ای نباید در محیط حاوی غلظت MBC حضور داشته باشد (۱،۲،۶،۷،۸،۱۰،۱۲).لازم به ذکر است که استفاده از اسانس‌های روغنی گیاهی در نگهداری مواد غذایی کوچکترین مسئله‌ای از لحاظ بهداشتی- سلامتی برای مصرف کننده ایجاد نمی‌کند(۱،۹،۱۲).

هدف از انجام این پژوهش بررسی خاصیت ضد میکروبی اسانس دانه‌های شوید و گشنیز، و تعیین میزان کمترین غلظت بازدارنده(MIC) و کمترین غلظت کشنده (MBC)[2] برروی سه باکتری بیماری زای مواد غذایی به نام‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیاکلی 0157:H7* و *سالمونلا تیفی موریوم* بوده است.

مواد و روش‌ها

مواد

اسانس بذرهای شوید و گشنیز با درجه خلوص ۶۰ درصد از شرکت گیاه اسانس (شرکت تولید کننده‌ی اسانس‌های گیاهی)خریداری شد.

1 . Minimum Inhibitory Concentration
2 . Minimum Bactericidal Concentration

سویه‌های میکروبی *سالمونلا تیفی موریوم* (*ATCC 14028*) و *اشرشیاکلی* *O157:H7* (*ATCC 35218*) از دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و *استافیلوکوکوس اورئوس* (*PTCC 1431*) از سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران تهیه گردیدند.

جهت انجام آزمایش‌ها از محیط کشت جامد مولر هینتون آگار[1] و مایع مولر هینتون براث[2] ساخت شرکت MAST انگلستان استفاده شد.

جهت تهیه کشت تازه و فعال سازی سویه‌های میکروبی از محیط‌های کشت مک کانگی آگار (ساخت شرکت مرک آلمان) برای *اشرشیاکلی* *O157:H7*، برین‌هارت آگار (BHA) (ساخت شرکت مرک آلمان) *برای سالمونلا تیفی موریوم* و نوترینت آگار(ساخت شرکت مرک آلمان) برای *استافیلوکوکوس اورئوس* استفاده گردید.

روش‌ها:

تهیه کشت تازه (در فاز لگاریتمی) از میکروارگانیسم‌ها

هر یک از سویه‌های باکتریایی روز قبل از انجام تست MIC و MBC برروی محیط کشت‌های مذکور کشت سطحی داده شدند، تا میکروارگانیسم‌ها پس از یک شب اینکوباسیون در هنگام تهیه سوسپانسیون میکروبی در فاز لگاریتمی قرار داشته باشند.

تهیه امولسیونی آبی اسانس‌ها

غلظت‌های مختلف اسانس با امولسیون کردن مقدار معین(برای به دست آوردن رقت‌های ذکر شده) هر یک از آنها با آب و به کمک توئین ۸۰ به میزان ۳۰ درصد وزن اسانس با استفاده از یک میکسرهموژنایزر-IKA T25) digital ultra turax) به مدت یک دقیقه در پانزده هزار دور در دقیقه تهیه شد.

تهیه سوسپانسیون ۱مک فارلند[3]

سوسپانسیون استاندارد۱ مک فارلند با استفاده از اضافه کردن ml ۱/۰از محلول آبی٪ ۱/۱۷۵ کلرور باریم به طور آهسته و همراه با همزنی مداوم به ml۹/۹ اسید سولفوریک ۱٪ تهیه گردید(۱).

کدورت ایجاد شده توسط این سوسپانسیون دانسیته سلولی تقریباً معادل با ۳×۱۰^{۸} سلول بر میلی‌لیتر ایجاد می‌کند ، سپس کدورت آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (CECIL 2502-Instruments Cambridge England Serial No. 125-624) در طول موج nm ۶۲۵ اندازه گیری شد.

تهیه سوسپانسیون میکروبی

یک لوپ پر از هر سویه‌ی میکروبی تحت شرایط استریل (بین دو شعله وجود) به ۲۵ میلی لیتر محیط کشت مولرهینتون براث جهت تهیه سوسپانسیون غلیظ میکروبی اضافه گردید. سپس تا هنگام برابر شدن دانسیته نوری (OD)[4] آن با محلول ۱ مک فارلند توسط محیط کشت مایع (MHB) رقیق شد. برای بدست آوردن مقدار ۱×۱۰^{۶} میگروارگانیسم بر میلی‌لیتر تحت شرایط استریل به نسبت ۱:۵۰۰ با محیط کشت MHB مخلوط شد(۲).

ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس‌ها با استفاده از روش آزمایش رقت در محیط مایع[5]

شش سطح غلظت از هر اسانس شامل ppm

1 . Mueller- Hinton Agar
2 . Mueller- Hinton Broth
3 . MC Farland
4 . Optical Density (OD)
5 . Broth Dilution Susceptibility test

۴۰۰۰،۲۰۰۰،۱۰۰۰،۵۰۰،۲۵۰،۱۲۵تهیه شد برای انجام آزمایش‌ها از روش آزمون حساسیت رقت مایع استفاده گردید. یک میلی لیتر از مایع تلقیح استاندارد که روش تهیه آن در بخش قبل ذکر شد (حاوی ۱×۱۰^{۶} ریززنده در هر میلی لیتر) به ۶ لوله آزمایش درب دار حاوی حجم برابر(یک میلی لیتر) از رقت‌های تهیه شده از اسانس‌های گیاهی اضافه گردید.

یک لوله آزمایش فاقد ماده ضد میکروبی نیز به عنوان کنترل رشد(کنترل مثبت)در نظر گرفته شد، بنابراین کنترل دارای یک میلی لیتر سوسپانسیون میکروبی و یک میلی لیتر آب مقطر می‌باشد. افزودن سوسپانسیون میکروبی به رقت‌های اسانس‌های گیاهی باعث رقیق شدن سوسپانسیون میکروبی و غلظت ماده ضد میکروبی خواهد شد، که این موارد طی آماده سازی نمونه‌ها در نظر گرفته شده است. برای تهیه هر یک از رقت‌های ماده ضد میکروبی نیز یک کنترل منفی حاوی تمامی اجزا به جز سوسپانسیون میکروبی رشد در نظر گرفته شد، پس از انجام این مراحل از لوله کنترل فاقد ماده ضد میکروبی(کنترل) ۰/۵ml به یک لوله آزمایشی دیگر برده و سپس ۰/۵ml محیط کشت براث به آن اضافه گردید و ۰/۰۰۱ ml از این مخلوط با استفاده از یک اتوسمپلر فوراً روی سطح پلیت حاوی MHA کشت داده شد تا پس از یک شب گرمخانه گذاری تعداد کلونی‌های رشد کرده شمارش شوند.تعداد کلونی‌های پدیدار شده باید در حدود ۲۵۰ تا ۳۰۰ عدد باشد(۲). این عملیات برای هر یک از اسانس‌ها و سه میکروارگانیسم مورد نظر در سه تکرار به طور جداگانه انجام شد.

پس از یک شب گرمخانه گذاری در ۳۷ °C از هر یک از لوله‌های آزمایش کشت سطحی برروی محیط کشت جامد مولر هنیتون آگار انجام گرفت و سپس پلیت‌ها جهت مشاهده رشد یا عدم رشد میکروراگانیسم‌ها یک شب گرمخانه گذاری شدند(۲).

نتایج و بحث

پس از مشاهده پلیت‌های کشت داده شده از محتویات لوله‌های حاوی رقت‌های مختلف دو نوع اسانس نتایج زیر بدست آمد.

جدول۱*- اثر رقت‌های مختلف اسانس بذر گشنیز بر رشد میکرو ارگانیسم‌ها

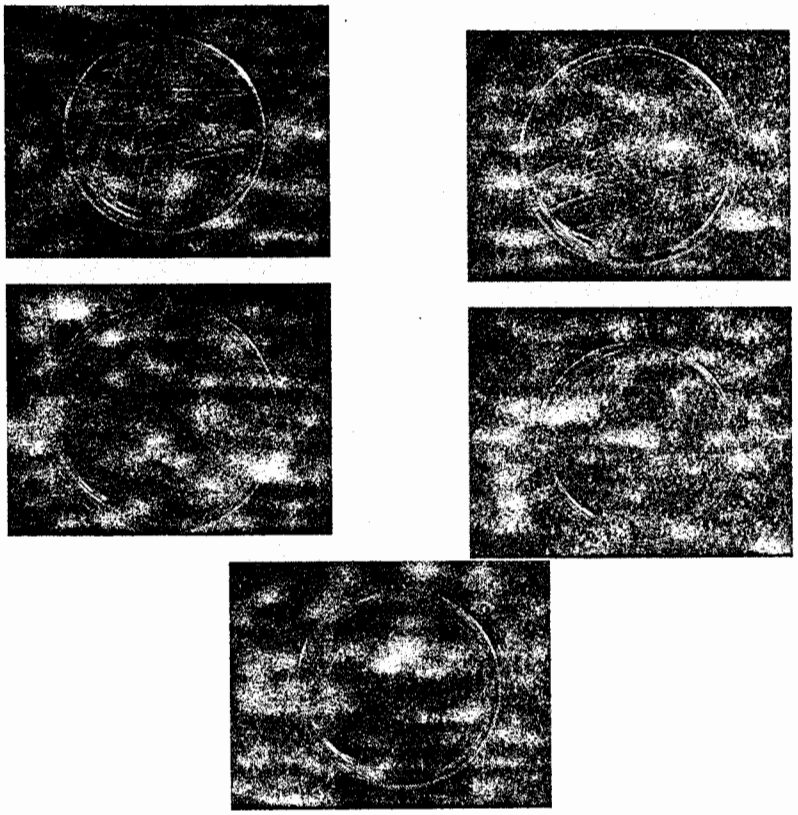
	رقت‌های اسانس بذرگشنیز بر حسب ppm					
نوع میکروارگانیسم	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۲۰۰۰	۴۰۰۰
استافیلوکوکوس اورئوس	++	++	+	-	-	-
اشرشیاکلی O157:H7	++	++	+	مشاهده۱۰ تا ۲ کلونی	-	-
سالمونلا تیفی موریوم	++	++	++	++	++	+

جدول۲*- اثر رقت‌های مختلف اسانس بذر شوید بر رمی رشد میکروارگانیسم‌ها

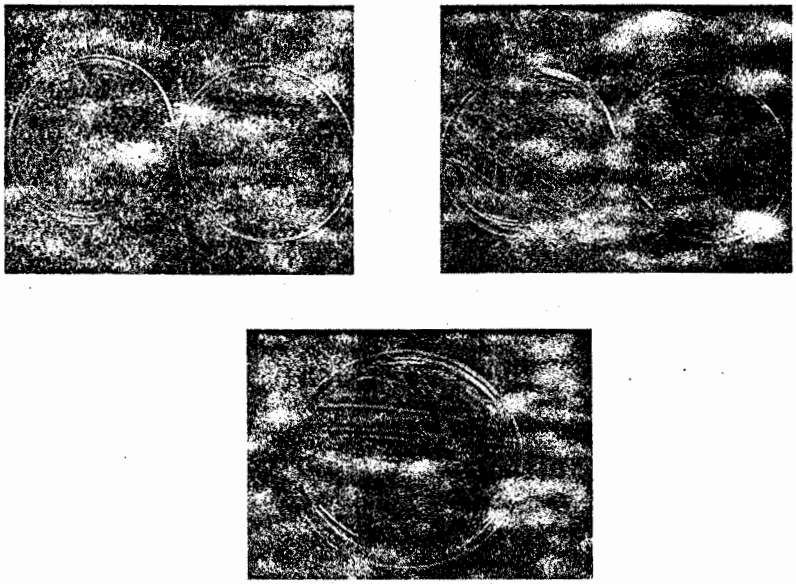
	رقت‌های اسانس بذر شوید بر حسب ppm					
نوع میکروارگانیسم	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۲۰۰۰	۴۰۰۰
استافیلوکوکوس اورئوس	++	+	مشاهده۱۰ تا ۲ کلونی	-	-	-
اشرشیاکلی O157:H7	++	++	+	++	+	+
سالمونلاتیفی موریوم	++	++	++	++	++	++

*در جدول‌های ۱ و ۲، ++ نشان دهنده رشد زیاد میکروارگانیسم،+ نشان دهنده رشد کم میکروارگانیسم،- نشاندهنده عدم رشد می باشد. نتایج عنوان شده حاصل سه تکرار است.

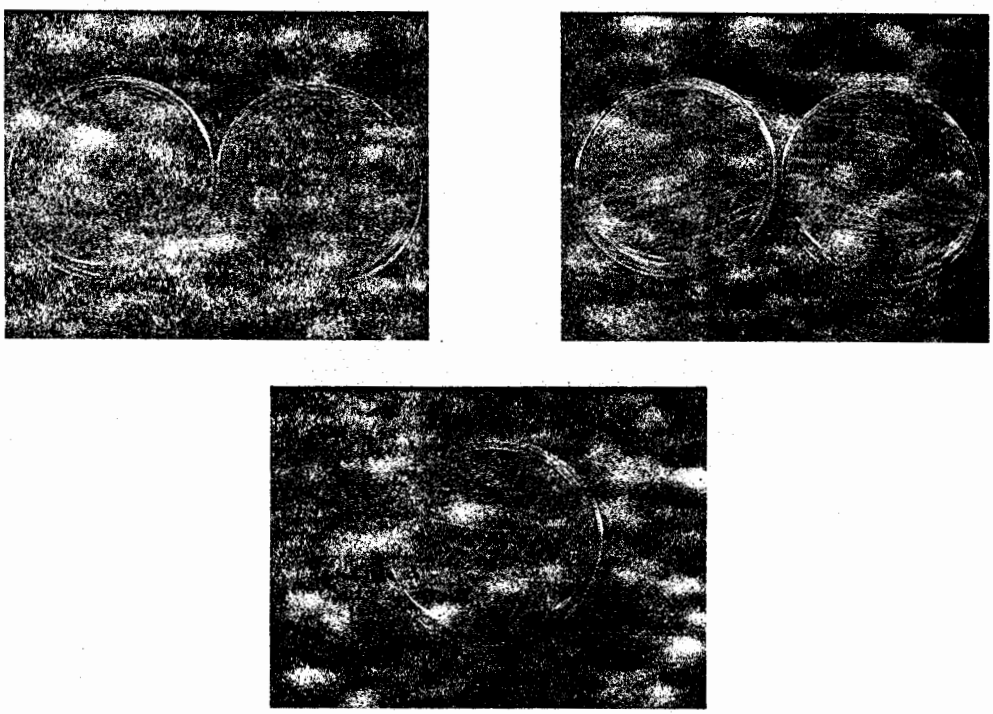
در هیچ یک از پلیت‌هایی که از محتویات لوله‌های کنترل فاقد رشد بر روی سطح آن کشت شده بود هیچ کلونی مشاهده نگردید.این مسئله در واقع شرایط ایزوله آزمون را تایید می‌کرد. همانطور که از جدول ۱ و ۲، برداشت می‌شود اثر بازدارندگی و کشندگی اسانس‌ها بر میکروارگانیسم‌های مختلف متفاوت است. با استفاده از این روش اگر تعداد کلونی‌های رشد کرده بر روی سطح پلیت‌ها کمتر از ۱۰ تا ۱۵ عدد باشد اسانس در آن غلظت بر روی میکروارگانیسم اثر بازدارندگی داشته است. تعداد بیشتر کلونی نشان دهنده عدم بازدارندگی است.در غلظت کشنده هیچ میکروارگانیسمی نباید بر روی سطح پلیت رشد کرده باشد. بر طبق نتایج به دست آمده *استافیلوکوکوس اورئوس* در هر دو آزمون حساس ترین میکروارگانیسم به اسانس‌های شوید و گشنیز می‌باشد. همانطور که مشاهده می‌گردد غلظت ppm ۵۰۰ اسانس بذر شوید اثر بازدارندگی و غلظت ppm ۱۰۰۰ آن اثر کشندگی برای *استافیلوکوکوس اورئوس* دارد(جدول ۲) همچنین غلظت ppm ۱۰۰۰اسانس دانه گشنیز اثر کشندگی بر *استافیلوکوکوس اورئوس* دارد (جدول ۱). در واقع با توجه به روش آزمون و انتخاب سطح غلظت‌ها اثر بازدارندگی و کشندگی اسانس دانه گشنیز برروی *استافیلوکوکوس اورئوس* بر هم منطبق شده است، این نشان می‌دهد که به احتمال زیاد MBC وMIC این اسانس بر *استافیلوکوکوس اروئوس* به هم نزدیک است یا این که تحت شرایط آزمایش از یکدیگر قابل تفکیک نیستند. همچنین نتایج نشان می دهند که اسانس بذر گشنیز در مقایسه با اسانس بذر شوید تاثیر بیشتری بر باکتری‌های گرم منفی دارد چرا که اسانس بذر شوید نتوانسته است تاثیری بر روی باکتری‌های گرم منفی بگذارد.



شکل۱- مشاهده ی اثر ضد میکروبی اسانس بذر شوید برروی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*.



شکل۲- مشاهده ی اثر ضد میکروبی اسانس بذر شوید برروی باکتری *اشریشیا کلی O157:H7*.



شکل۳- مشاهده ی اثر ضد میکروبی اسانس بذر شوید برروی باکتری *سالمونلا تیفی موریوم*.

اساله[1] و همکاران (۲۰۰۶) اثرات بازدارندگی تعدادی از روغن‌های اساسی گیاهی بر رشد چهارمیکروارگانیسم پاتوژن غذایی شامل *اشرشیاکلی O157: HV*، *سالمونلاتیم موریوم*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا مونوسیتوژنز* را مورد بررسی قرار دادند. در این پژوهش MIC و بیشترین غلظت قابل تحمل[2] (MTC) برای هر پاتوژن و روغن اساسی گیاهی مورد نظر ارزیابی شد. نتایج نشان داد که فعالترین روغن‌های اساسی در مقابل این باکتریها *Cinnamomus*

1. Aussalah

2. Maximal tolerated concentration

cassia , *Carydothymus eapitatus* , *Satureja Montana*, *Origanum heracleoticom* و *Cinnamomum verum* بودند. این اسانس‌ها (vol/vol) MIC ≤0.05% برای همه باکتریهای مورد آزمون نشان دادند. در مورد MTC به استثنای *سالمونلاتیفی موریوم* و *لستیریا مونو سیتوژنز* که به ترتیب در حضور *Cinnamomus verum* و *Cinmamomus cassia* MTC= 0.025% vol/vol نشان دادند بقیه اسانس‌ها و باکتریها دارای (vol/vol) 0.3% ≤MTC بودند (۱).

سارتوراتر[1] و همکاران در سال 2004 اثر ضد میکروبی Thymus vulgaris و Origanum vulgare، Ocimum gratissimum, O.basilicum,O.applii و Aloysia triphylla را بر روی انتروکوکوس فاسیوم[2]، سالمونلا کلراسوسیس[3]، کاندیدا آلبیکنس[4] و استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی قرار دادند. بیشتر اسانس‌های مورد استفاده در مقابل هر دو باکتری موثر بودند. O.basilicum و Aloysia triphylla اثر بازدارندگی متوسط در مقابل استافیلوکوکوس اورئوس نشان دارند. در حالیکه تنها O.applii و A. triphylla قادر بودند رشد کاندیدا آلبیکنس را کنترل کنند(13).

بوت و رندرون (۲۰۰۳) کیفیت خواص ضد میکروبی ۵ نوع روغن اساسی گیاهی را بر روی *Non toxigenic E. coli 0157:H7* در حضور و عدم حضور پایدار کننده و امولسیفایر و در سه دمای مختلف بررسی نمودند. آنها ابتدا ۵ روغن اساسی گیاهی را با استفاده از روش ارزیابی انتشار دیسک[5] بررسی کردند و سپس قوی ترین و فعال ترین اسانس را جهت مطالعات بیشتر در روش وقت کم کالریمتری انتخاب نمودند. اورگانو (*Origanum vulgre*)، آویشن (*Thymus vulgaris, Llightandred varieties*) قوی ترین خواص بازدارندگی و باکتری کشی را از خود نشان دادند و بعد از آنها درخت غار[6] (*Pimentar acemosa*) و جوانه‌ی میخک[7] و *Eugenia caryophyllata* قرار داشتند. ارگانو به طور کامل اشرشیاکلی O157:H7 را در سه دمای 37°C ,20 ,10 و در غلظت ۶۲۵ µl/l از بین می‌برد. (۳).

موزا[8] و همکاران (۲۰۰۵) فعالیت ضدمیکروبی روغن اساسی حاصل از *Origanum vulgrel* را برروی انواعی از مخمرهای فاسد کننده مواد غذایی مورد بررسی قرار دادند. فعالیت ضد مخمری به وسیله تعیین MTC با استفاده از روش *Solid Medium Diffusion* و *Micro Plat Bioassay* مورد مطالعه قرار گرفت. این روغن اساسی سبب بازدارندگی موثر بروی رشد مخمرها مورد آزمایش با MTC در دانه ۲۰ , ۰/۶ µl/ml به ترتیب با استفاده از روشهای *Solid Medium Diffusion* و *Micro Plate Bioassay* بود(۱۴).همانطور که مشاهده می گردد نتایج مختلف ممکن است با استفاده از اسانس‌ها و روش‌های مختلف به دست آید.

اثر مواد ضد میکروبی در غلظت کشنده ممکن است مستقیماً بر غشاً (نفوذپذیری و ساختار غشاً)یا بر متابولیسم سلول باشد. در مورد اثر اسانس‌های مورد مطالعه بر *اشرشیاکلی O157:H7* نیز بر طبق نتایج حاصل اسانس بذر گشنیز در غلظت هزارppm ۱۰۰۰ اثر بازدارندگی (MIC) و در غلظت ودر ppm ۲۰۰۰ اثر کشندگی (MBC) داشته است اما در مورد اسانس شوید هیچ یک از غلظت‌ها نتوانستند اثر کشندگی یا حتی بازدارندگی ایجاد نمایند. در مورد *سالمونلا تیفی موریوم* نیز هیچکدام از اسانس‌ها در

1 . Sartoratto
2 . Enterococcus Faecium
3 . S.chalerasuis
4 . Candida albicans
5 . Disc diffusion assay
6 . Bay
7 . Clove
8 . Souza

هیچ رقتی اثر بازدارندگی یا کشندگی نشان ندارند.

نتایج بدست آمده حاکی از آن است که *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به دو میکروارگانیسم بیماری زای غذایی دیگر یعنی سالمونلا تیفی مورینوم و *اشرشیاکلی* O157:H7 به اسانس گیاهی مورد استفاده در این پژوهش بسیار حساس تر است. *استافیلوکوکوس اورئوس* یک باکتری گرم مثبت است حال آن که دو باکتری دیگر از دسته باکتریهای گرم منفی می‌باشند.در بین دو باکتری گرم منفی مورد بررسی در این مطالعه *سالمونلا تیفی موریم* به طور کلی در مورد هر دو اسانس مقاومت بیشتری از خود نشان داد همانطور که در شکل ۳ مشاهده می گردد اسانس بذر شوید حتی نتوانسته سبب کاهش رشد *سالمونلا تیفی موریوم* شود. به نظر می‌رسد که علت مقاومت بیشتر باکتریهای گرم منفی به روغن‌های اساسی احتمالاً پیچیدگی بیشتر غشای مضاعف سلولی این ارگانیسم‌ها در مقایسه با غشای یگانه گلیکوپروتئینی/اسید تکوئیک[1] باکتری‌های گرم مثبت باشد. همچنین به نظر می‌رسد مقاومت سلولهای میکروبی بستگی به سرعت و میزان حل شدن مواد ضد میکروبی در بخش لیپیدی غشایر سلولی دارد. اگرچه این مسئله نمی‌تواند توضیح کاملی برای شرح اختلاف در حساسیت باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی باشد به همین علت اختلاف در آبگریزی سطح سلول نیز بعنوان یک عامل موثر پیشنهاد گردیده است (۸،۱۰).

نتایج بدست آمده از این پژوهش نشان می‌دهد که *استافیلوکوکوس اورئوس* حساس ترین ارگانیسم و *سالمونلا تیفی موریوم* مقاوم ترین میکروارگانیسم به اسانس بذر شوید و گشنیز هستند. عدم اثر بازدارندگی این اسانس‌ها بر این باکتری می‌تواند مربوط به کیفیت نامطلوب اسانس تهیه شده از شرکت گیاه اسانس باشد.

References

1. Aussalah, 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 oureus and Listeria monocyto genes. *J. Food Control*, **18(5):** 414-420.
2. Barnon, E.J., Fineg Old, S.M. (1990).Method fir Testing Antimicrobial Effectiveness. In: *Diagnostic Microbiology*, 8 th ed. The Mosby Company. pp, 172-184
3. Burt, S. A. and Reinders, R.D. (2003). Antibacterial activity of selected plant essential oil against *Escherichia coli* 0175:H7. letter in applied microbiology, 36:162-167.
4. Davidson, P.M and Harrison, M.A. (2002). Resistance and adaptation to food antimicrobials, sanitizers and other process control. *J. Food Technology*, 59(11):69-78
5. Delaquis, P.J. and Mazza,G. (1995). Antimicrobial properties of isothiocyanates in food preservation. *J. Food Technology*, **49(11)**:73-84
6. Fazeli, M.R., Amin, GH.R. Ahmadian Ahari, M.M. and Jamalifar, H. (2005). Antimicrobial activities of Iranian sumac and (Zataria Multiflora) against some food-born bacteria. *J. Food Control*, **18(6):**646-649
7. Han, G.H. (2000). Antimicrobial food packaging .J. Food Technology, 54(3):56-65
8. Holley, R.A., and Patel, D. (2005). Improvement in shelf life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials, *J. Food Microbiology*, **22(4):**273-292
9. Kim, J., Marshal, M.R. and Wei, C. (1995). Antibacterial activity of some essential oil components against five food born pathogens. *J. Agri. Food Chem*, **43**:2839-2845
10. Lanciotti, R., Gianatti, A., patrignani, F., belletti, N., Guerzoni, M.E. and Gardini, F. (2004). Use of natural aroma compounds to improve shelf life and safety of minimally processed fruits. *J. food Science*

1 . Techoeic acid

& Technology, **15(4)**: 201-208

11. Leitner, L. (2000). Basic aspect of food preservation by hurdle technology. *International Journal* of *Food Microbiology*, **55**:18-186
12. Oonmrtta- aree, J., Suzuki,T., Gasaluck, P.and Eumkeb,G.(2005). Antimicrobial properties and action of galangal(Alpina galangal Linn.) on *Staphylococcus aureus*. J.*LWT*, **39(10)**:1214-1220
13. Sartonatto, A., Machado, A. L., Delarmelina, C., Figueira, G. M., Duarte, M.C. T. and Rehder, V. L. G. (2004). Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazilian J. of Microbiology*, **35(4)**: 256-280.
14. Souza, E. L., Stamford, T. L. M., Lima, R. O. and Trajano, V.N. (2007). Effectiveness of origanum vulgare L. essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeasts. *J. Food Control*. **18(5)** :409-413.

Investigation on the antimicrobial effects of essential oils from dill and coriander seeds on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli O157:H7* and *Salmonella typhimuruim*

A.Broomand[1], M.Hamedi[2], Z.EmamD-jomeh[*3], S.H.Razavi[4], M.T.Gholmakani[5]

In this study the antimicrobial effects of essential oils from dill and coriander seeds on *staphylococcus aureus*, *Escherichia coli O157:H7* and *salmonella typhimuruim* were investigated and the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of each essential oil were determinate. For this purpose 5 concentration of each essential oils (125, 250, 500, 1000, 2000 and 4000 ppm) were chosen. For microbial count, Broth Dilution Test with Mueller Hinton Agar and Broth were used. Results showed that *Staphylococcus aureus* had more susceptibility and *Salmonella typhimuruim* was the resistant one. Our results also showed that essential oil from coriander seed had more antimicrobial effect on the gram-negative bacteria. The essential oil from coriander seed had MIC and MBC equal to 1000ppm and the essential oil from dill seed had MIC equal to 500ppm and MBC equal to 1000 ppm against *Staphylococcus aureus*.

Keyword: Broth Dilution Test, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli O157:H7*, *Salmonella typhimuruim*, essential oils, dill seed, coriander seed

*. Corresponding author: emamj@um.ac.ir
1. Msc. Student of Dept. of Food Science and Technology. University of Tehran.
2. Professor, of Dept. of Food Science and Technology. University of Tehran.
3. Associate Professor, of Dept. of Food Science and Technology. University of Tehran
4. Associate Professor, of Dept. of Food Science and Technology. University of Tehran
5. Phd Student of Dept. of Food Science and Technology. University of Tehran