

اثر آنتی‌باکتریایی اسانس‌های آویشن، مرزه، رزماری، نعناع و پونه بر روی پنج باکتری گرم مثبت در مقایسه با سه آنتی‌بیوتیک

فاطمه اخوان^۱، سعید تهموزی دیده بان^۲، محمد حجتی^۳

۱- نویسنده مسئول: دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران (اهواز)، اهواز، ایران
پست الکترونیکی: Fatemeh_akhavan_2015@yahoo.com

۲- استادیار سابق گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، اهواز، ایران

۳- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۸/۱۰/۹

تاریخ پذیرش: ۹۹/۲/۴

چکیده

سابقه و هدف: به دلیل نیاز روزافزون به آگاهی بیش‌تر در مورد اثرات بازدارندگی گیاهان، با توجه به نوع جغرافیا و تأثیر آب و هوا بر روی آن‌ها، اثرات ضدباکتریایی اسانس چند گیاه از خانواده لamiaceae بر روی پنج باکتری گرم مثبت در مقایسه با سه آنتی‌بیوتیک بررسی شد.

مواد و روش‌ها: روش دیسک دیفیوژن با اندازه‌گیری قطر هاله بازدارنده در حجم ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میکرولیتر از اسانس‌های آویشن، مرزه، رزماری، پونه و نعناع با سه بار تکرار در مقایسه با سه آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین و کلرامفنیکل، تتراسایکلین بر روی *باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *انتروکوکوس فکالیس*، *انتروکوکوس فاسیوم* و *لیستریامونوسیتوزنز* استفاده شد. ترکیبات شیمیایی اسانس‌ها با استفاده از روش گاز-کروماتوگرافی توسط شرکت فروشنده آنالیز شد ($p < 0.05$).

یافته‌ها: اثر بازدارندگی اسانس‌ها، با افزایش مقدار آنها به شکل معنی‌داری افزایش یافت و باعث افزایش قطر هاله عدم رشد شد. آویشن و مرزه کاهش معنی‌داری روی رشد باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها داشتند. پونه و نعناع و رزماری در مقایسه با اسانس‌ها، قطر هاله عدم رشد کوچک‌تر و در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌ها، در ۲۰ میکرولیتر اختلاف معنی‌داری نداشتند.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد آویشن و مرزه اثر بازدارندگی زیادی روی سرعت رشد باکتری‌های مواد غذایی دارند. مقدار ۲۰ میکرولیتر از آنها با بیشترین اثر بازدارندگی، ماندگاری مواد غذایی را بالا می‌برد. در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌ها و اسانس‌ها، مرزه بیشترین اثر بازدارندگی بر روی *انتروکوکوس* و آویشن، بر روی *باسیلوس سرئوس*، *لیستریامونوسیتوزنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان دادند.

واژگان کلیدی: آنتی‌بیوتیک، اسانس، باکتری گرم مثبت، ضد باکتری

• مقدمه

روند روبه رشد جمعیت جهان تأمین غذا را به عنوان یکی از مهمترین مسائل روز دنیا مطرح کرده است (۱). در این بین، ایمنی مواد غذایی از نظر بقا و رشد میکروارگانیسم‌ها، یک مشکل جهانی شناخته شده است (۲) در میان راهبردهای متعدد برای افزایش ماندگاری غذا، نگهدارنده‌های شیمیایی در مقایسه با سایر تکنیک‌ها، بیش‌تر مورد استفاده قرار می‌گیرند (۳). استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی در مواد غذایی به ویژه آنتی‌بیوتیک‌ها، مورد پسند بسیاری از مصرف‌کننده‌ها نیست و منجر به افزایش فشار بر صنایع غذایی برای روی آوردن به جایگزین‌های طبیعی جهت حفظ یا افزایش

طول عمر مواد غذایی گشته است. یک راه برای حل این مشکل، استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی همچون عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی برای جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌ها است (۴) این عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی استخراج شده فعالیت ضد میکروبی بالایی نسبت به ترکیبات اصلی مخلوط شده دارند (۵، ۶) و با مکانیسم متفاوتی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها بر باکتری‌ها اثر می‌کنند و به عنوان نگهدارنده طبیعی جایگزین مهمی برای نگهدارنده‌های مصنوعی محسوب می‌گردند (۷). اسانس‌های گیاهی دارای اثر ضد میکروبی، ضد اکسیداسیونی و ضد سرطانی بوده و قادر هستند رشد باکتری

باسیلوس سرئوس (ATCC 14579) به صورت لیوفیلیزه از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری شدند.

بررسی خاصیت ضدباکتری اسانس‌ها: اثرات ضد میکروبی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن بررسی شد. برای خارج نمودن سوش‌ها از حالت لیوفیلیزه، ۵/۰ سی سی از محیط کشت برین هارت اینفوژن براث (مرک، آلمان) به درون لوله حاوی سوش به مقدار ۲ میلی‌لیتر ریخته و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. سپس بر روی محیط کشت تریپتیکاز سوی آگار پاساژ داده و با استفاده از سرم فیزیولوژی استریل کدورت سازی شد و با محلول استاندارد نیم مک فارلند (غلظت سوسپانسیون میکروبی با لوله شماره نیم مک فارلند به تعداد تقریبی $10^8 \times 1/5$ cfu/ml تعیین شد) مورد مقایسه چشمی قرار گرفت. سوآپ استریل آغشته به سوسپانسیون میکروبی شد و بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار به صورت شطرنجی کشت گردید. دیسک خام بر روی محیط قرار گرفته و با استفاده از سمپلر مقادیر مورد نظر هر اسانس بر روی دیسک‌ها به طور جداگانه ریخته شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت دماگذاری گردید. دیسک‌های آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین، کلرامفنیکل و پنی سیلین (مقدار ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر) مورد بررسی قرار گرفتند. قطر هاله ی عدم رشد با استفاده از خط کش مدرج اندازه‌گیری شد (جدول ۲-). این آزمایش با ۳ بار تکرار صورت گرفت و نتایج با استفاده از نرم‌افزار Excell و SPSS آنالیز آماری شد ($p < 0.05$).

• یافته‌ها

ترکیب شیمیایی اسانس‌ها با استفاده در دستگاه GC: در جدول ۱، آنالیز اسانس‌ها و ترکیبات شیمیایی آنها توسط دستگاه GC نشان داده شده است.

تأثیر استفاده از اسانس آویشن بر روی باکتری‌های گرم مثبت: اثر بازدارندگی اسانس‌ها و آنتی‌بیوتیک‌ها بر روی میزان رشد باکتری‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است. آویشن اثر بازدارندگی بیشتری بر روی *انتروکوکوس فکالیس* در همه مقادیر نشان داد. *انتروکوکوس فکالیس*، *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب، مقاومت کمتری را در مقابل آویشن داشتند (نمودار ۱).

های پاتوژن و تولید سم آنها را کنترل کنند (۸) و به دلیل ارا بودن ترکیبات فنلی مانند کاروارول، اوژنول و تیمول دارای خاصیت ضدباکتری هستند (۹) و در واقع استفاده از آنها در صنایع غذایی، به دلیل فعالیتشان و نیز بخاطر زمینه سینرژیستی در زمانی که در ترکیب با آنتی‌بیوتیک‌های متداول مصرف شده و اجازه کاهش دوز مصرفی را می‌دهند، می‌تواند مفید باشد (۱۰). بنابراین، استفاده از این ترکیب‌ها، جایگزین خوبی برای کنترل باکتری‌های غذایی و دیگر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، به شمار می‌رود (۱۴-۱۱) و منجر به مقاومت بیشتر باکتری‌ها به فعالیت مکانیسم نمی‌شود (۱۵-۱۶). یکی از مهمترین خانواده گیاهی لامیاسه به شکل لابیست است که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفته است. بیشتر لامیاسه‌ها، ترین و انواع دیگر ترکیباتی را تولید می‌کنند که در غده اپیدرمال برگ‌ها، ساقه‌ها و اندام‌های تولید نسل ذخیره شده است (۱۷). از میان این ترکیبات، تیمول و کارواکرول در نسبت‌های مختلف در اسانس‌های تولید شده، توسط گیاهان از خانواده لامیاسه وجود دارند (۱۸)، بنابراین، دارای ویژگی‌های ضد میکروبی متعددی هستند. هدف از این مطالعه، تعیین میزان بازدارندگی چند اسانس تجاری از گیاهان آسیایی در برابر باکتری‌های مرتبط با مواد غذایی در حجم بالا، در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های مصنوعی رایج بود. بنابراین در این مطالعه، خصوصیات ضدباکتریایی مقادیر مختلف از اسانس چند گیاه خانواده لامیاسه مورد بررسی قرار گرفت.

• مواد و روش‌ها

اسانس‌ها: اسانس‌ها از خانواده ی لامیاسه به ترتیب: آویشن، مرزه، رزماری، نعنای و پونه و از شرکت باریج اسانس کاشان تهیه شدند. ترکیبات اصلی آنها با استفاده از گازکروماتوگرافی مدل Agilent 6890A حاوی ستون HP-5MS (طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میکرومتر و ضخامت فاز ثابت ۰/۲۵ میکرومتر) متصل به طیف سنج جرمی مدل Agilent 5975 انجام پذیرفت. دستگاه گازکروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی شناسایی گردید.

باکتری‌های مورد مطالعه: در این تحقیق باکتری‌های گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 25923)، *انتروکوکوس فاسیوم* (ATCC 10541)، *انتروکوکوس فکالیس* (ATCC 47077)، *لیستریا مونوسیتوژنز* (ATCC 19115) و

جدول ۱. فهرست اسانس‌های گیاهی مورد استفاده و ترکیبات اصلی تشکیل دهنده آنها

نام عمومی	نام علمی	ترکیبات اصلی	میزان (%w/w)
آویشن	<i>Zataria Multiflora</i>	تیمول	۲۸/۲۹
		کارواکرول + تیمول	۵۶/۰۳
رزماری	<i>Rosmarinus officinalis L</i>	آلفا پینن	۲۳/۶۷
		بتا پینن	۱/۱۴
		بورنئول	۶/۵۰
		p-سیمن	۱/۴۷
		لیمونن	۴/۲۸
		کامفور	۷/۶۸
		سینئول	۱۱/۰۴
مرزه	<i>Satureja Hortensis</i>	کارواکرول	۵۰/۴۶
پونه	<i>Mentha pulegium L</i>	پالگئون	۴۴/۶
نعناع	<i>Mentha viridis L</i>	سینئول	۰/۳
		لیمونین	۲۳/۰۷
		منتول	۴/۴۵
		کارئون	۵۲/۸۳
		پالگئون	۲/۴

تأثیر استفاده از اسانس مرزه و میزان بازدارندگی آن بر باکتری‌های گرم مثبت: حجم ۲۰ میکرولیتر مرزه، کمترین اثر بازدارندگی را باسیلوس سرئوس در مقایسه با سایر باکتریها داشت (جدول ۲). مرزه بر روی *انتروکوکوس فاسیوم* در همه مقادیر بیشترین بازدارندگی و در نتیجه قطر هاله عدم رشد بزرگتری را تشکیل داد (نمودار ۱).

میزان اثر بازدارندگی اسانس رزماری بر باکتری‌های گرم مثبت و قطر هاله ی عدم رشد تشکیل شده: رزماری، قطر هاله عدم رشد کوچکتری را در مقایسه با آویشن و مرزه بر روی *لیستریا مونوسیتوژنز*، *باسیلوس سرئوس* و *انتروکوکوس فکالیس* تشکیل داد. ۲۰ میکرولیتر از رزماری، درمقایسه با اثر بازدارندگی آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و پنی‌سیلین تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۲).

تأثیر استفاده از اسانس پونه و نعناع علیه باکتری‌های گرم مثبت و قطر هاله ی عدم رشد تشکیل شده: نتایج نشان داد، پونه و نعناع اثر بازدارندگی کمتری نسبت به سایر اسانس‌ها بر روی باکتری‌ها داشتند. ۲۰ میکرولیتر از آنها اثر بازدارندگی بیشتری را نسبت به مقادیر پایین‌تر نشان دادند.

جدول ۲. میانگین قطر هاله عدم رشد* (میلی‌متر) باکتری‌های مورد مطالعه در مقادیر مختلف اسانس‌ها در مقایسه با آنتی‌بیوتیک

اسانس‌ها	باسیلوس سرئوس	لیستریا مونوسیتوژنز	انتروکوکوس فاسیوم	انتروکوکوس فکالیس	استافیلوکوکوس اورئوس
آویشن ^{a**}	۳۵/۱۶۵±۰/۰۱	۵۳/۵±۰/۱۹	۵۱/۳۳±۰/۰۱	۲۸/۵±۰/۱۶	۴۸/۶۶۵±۰/۰۷
آویشن ^b	۴۵/۳۳۵±۰/۰۷	۶۰±۰/۰۷	۵۹/۳۳۵±۰/۰۰۷	۳۹/۳۳۵±۰/۲۹	۶۲±۰/۰۷
آویشن ^c	۵۷/۵±۰/۰۱۹	۷۰/۸۳۵±۰/۰۱	۷۴/۵±۰/۰۱	۴۶/۸۳±۰/۱۸	۶۹±۰/۰۴
رزماری ^a	۱۸/۸۳۵±۰/۰۱	۱۴/۱۶۵±۰/۰۱	۲۱/۶۷	۱۵/۱۶۵±۰/۰۱	۲۶/۸۳۵±۰/۰۱
رزماری ^b	۲۲/۵±۰/۰۱	۱۹/۵±۰/۰۱	۳۶/۳۳	۲۳/۳۳۵±۰/۰۷	۳۴/۵±۰/۰۱
رزماری ^c	۲۶±۰/۲	۲۵/۹۱۵±۰/۱	۴۵/۴۷۵±۰/۰۵	۳۱/۸۳۵±۰/۰۱	۴۱/۳۳۵±۰/۰۷
مرزه ^a	۳۴/۶۶۵±۰/۰۷	۴۳/۱۶۵±۰/۰۱	۵۲/۱۵±۰/۰۱	۳۱±۰/۰۷	۴۶/۵±۰/۰۱
مرزه ^b	۳۹/۸۳±۰/۱	۵۶±۰/۰۲	۶۲/۳۳۵±۰/۰۷	۳۸/۳۳±۰/۰۳	۵۲/۴۶±۰/۰۲
مرزه ^c	۵۴/۸۳±۰/۱	۷۰/۵±۰/۰۱	۷۱/۵±۰/۰۱	۵۷/۵±۰/۱۶	۶۸±۰/۰۵
پونه ^a	۱۷/۶۶۵±۰/۰۷	۲۲/۵±۰/۰۱	۱۴±۰/۰۲	۶/۵±۰/۰۱	۱۸±۰/۰۱
پونه ^b	۱۹/۵±۰/۱	۲۶±۰/۰۱	۱۷±۰/۰۳	۱۱/۸۳۵±۰/۰۱	۲۰/۶۷±۰/۰۱
پونه ^c	۲۲/۱۷±۰/۱	۲۷/۳۳۵±۰/۰۷	۱۹/۱۶۵±۰/۰۱۸	۱۲/۶۶۵±۰/۰۷	۲۳/۳۳۵±۰/۰۷
نعناع ^a	۱۸/۳۳۵±۰/۰۷	۱۲/۵±۰/۰۱	۹/۱۷±۰/۱	۱۰±۰/۰۱	۶/۸۳۵±۰/۰۱
نعناع ^b	۲۳/۵±۰/۰۱	۱۷/۶۷±۰/۰۱	۱۳/۶۷±۰/۰۱	۱۴/۳۳±۰/۰۲	۱۰/۱۶۵±۰/۱
نعناع ^c	۲۴/۸۳۵±۰/۰۱	۲۰/۵±۰/۰۱	۲۱±۰/۰۴	۱۸/۳۳۵±۰/۰۷	۱۴/۶۶۵±۰/۰۷
کلرامفنیکل	۲۸/۸۳۵±۰/۰۱	۲۳/۶۶۵±۰/۲	۲۳/۳۳	۲۵/۱۶۵±۰/۰۱	۲۳/۱۶۵±۰/۰۱
پنی‌سیلین	۰	۵۰/۵±۰/۱	۲۴/۳۳۵±۰/۰۰۷	۲۵/۶۶۵±۰/۰۷	۳۹/۳۳۵±۰/۰۷
تتراسایکلین	۲۳	۳۸/۶۶۵±۰/۲	۲۸	۱۵/۱۶۵±۰/۰۱	۳۸

*در این تحقیق مقدار p کمتر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد.

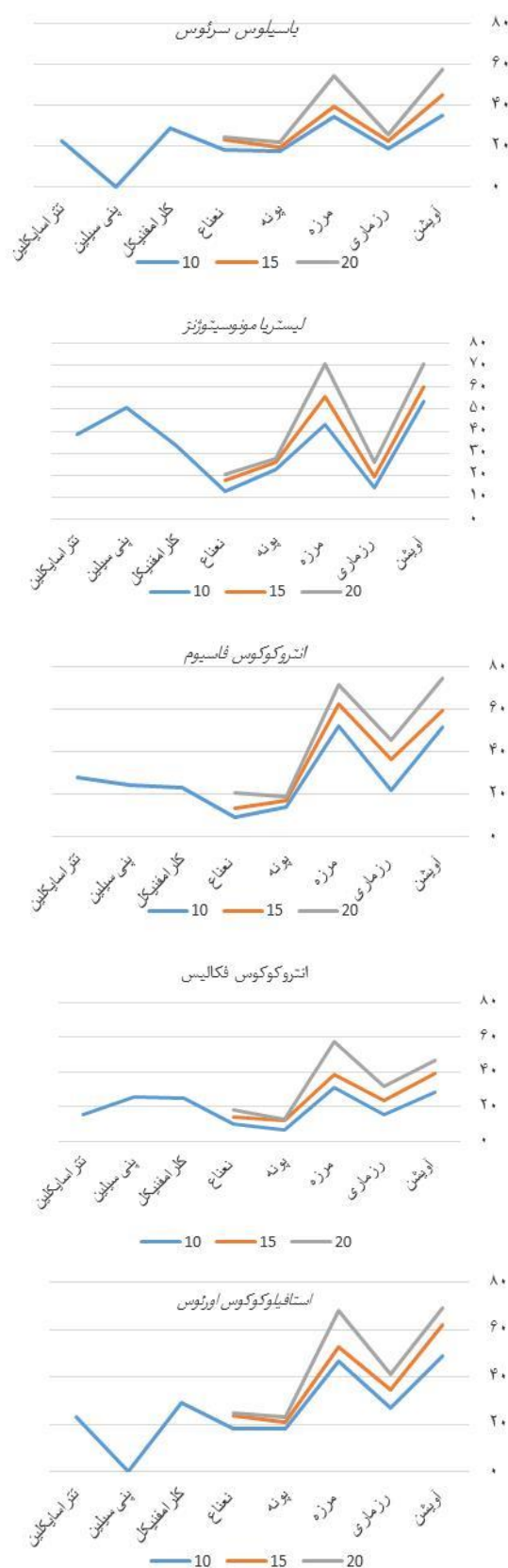
**حروف کوچک به ترتیب a، b و c حجم اسانس مورد استفاده به ترتیب ۰/۱، ۰/۵ و ۲۰ میکرولیتر می‌باشد.

• بحث

در مقایسه اثر بازدارندگی آنتی‌بیوتیک‌ها و اسانس‌ها بر روی باکتری‌ها، اسانس‌های مرزه و آویشن، قطر هاله‌ی عدم رشد بزرگتری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها بر روی باکتری‌ها تشکیل دادند و با افزایش مقدار اسانس، میزان بازدارندگی بیشتری داشتند. نتایج نشان داد بیشترین و کمترین اثر بازدارندگی بر روی *انتروکوکوس فکالیس* به ترتیب مربوط به مرزه و پونه بود و در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌ها، پونه اثر بازدارندگی کمتری نشان داد. اثر بازدارندگی پنی سیلین و کلرامفنیکل بر روی *انتروکوکوس فکالیس* نسبت به تتراسایکلین بیشتر بود. همچنین، *انتروکوکوس فاسیوم* نسبت به تتراسایکلین حساسیت بیشتری در مقایسه با کلرامفنیکل و پنی سیلین داشت. بیشترین اثر بازدارندگی بر روی *لیستریا مونوسیتوژنز* مربوط به اسانس آویشن و مرزه بود، نعنای کمترین اثر بازدارندگی در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌ها در هر سه مقدار از خود نشان داد، بیشترین اثر بازدارندگی پنی سیلین بر روی *لیستریا مونوسیتوژنز* بود و نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها بیشترین اثر بازدارندگی را داشت. میزان اثر بازدارندگی آویشن و پونه بر روی *باسیلوس سرئوس* به ترتیب بیشترین و کمترین میزان بود. در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌ها، پنی سیلین هیچ اثر بازدارندگی بر روی *باسیلوس سرئوس* نداشت. در بررسی اثر بازدارندگی بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس*، بیشترین و کمترین اثر بازدارندگی به ترتیب مربوط به آویشن و نعنای بود.

طبق بررسی‌های Teixeira و همکاران در سال ۲۰۱۳ (۱۹)، ۲۰ میکرولیتر از پونه، رزماری و آویشن به ترتیب برای *لیستریا مونوسیتوژنز* ۸، ۲۰ و ۴۵ میلی متر بودند در نتیجه آویشن منجر به بازدارندگی بیشتری نسبت به پونه و رزماری شده بود، و قطر هاله‌ی عدم رشد بزرگتری تشکیل داد، درحالی که مقادیر قطر هاله‌ی عدم رشد پونه و رزماری نیز در این تحقیق از مقادیر ذکر شده در مطالعه Teixeira بیشتر بود. همچنین قطر هاله‌ی عدم رشد پونه از رزماری در مقدار ۲۰ میکرولیتر کمتر بوده است که با نتایج حاصل از بررسی‌های اثر ضدباکتریایی پونه و رزماری Teixeira مطابقت نداشت.

نتایج نشان داد بیشترین تأثیر را اسانس‌های آویشن و مرزه بر روی باکتری‌های مورد نظر داشته‌اند به طوری که در کمترین مقدار خود نیز بیشترین تأثیر را در مقایسه با هر یک از آنتی‌بیوتیک‌های مورد نظر داشته‌اند. رزماری به طور میانگین در مقدار ۲۰ میکرولیتر از خود نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها بر روی هر سه باکتری مورد نظر بیشترین تأثیر را از خود نشان داد. نعنای و پونه در بیشترین مقدار تأثیر



نمودار ۱. نمودار قطر هاله‌ی عدم رشد (میلی‌متر) اسانس‌ها در سه حجم ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میکرولیتر در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌ها بر روی باکتری‌ها

ولگاریس، آویشن ولگاریس، دارچین واریوم بر ضد گرم (-) تأثیرگذارتر بودند. در مقایسه این نتایج بر روی استافیلوکوکوس/اورئوس و یکی از زیرگونه‌های انتروکوکوس نشان داد که آویشن در مقادیر یکسان نسبت به پونه بر روی باکتری‌های مورد نظر به ترتیب قطر هاله ی عدم رشد ۲۸/۲ و ۱۵/۶ و پونه ۲۷/۵ و ۷/۸ میلی متر تشکیل داد و پونه اثر بازدارندگی کمتری داشت. نتیجه بدست آمده با نتایج این تحقیق شباهت داشت و اثر بازدارندگی پونه نسبت به آویشن بر روی استافیلوکوکوس/اورئوس و انتروکوکوس کمتر بود.

پیشنهاد می‌شود، اسانس‌های آویشن و مرزه به عنوان عامل طبیعی نگهدارنده با مزیت اثر بازدارندگی بالا و داشتن صرفه اقتصادی، در اشل تجاری استفاده شود. رزماری به دلیل پایین‌تر بودن اثر بازدارندگی نسبت به آویشن و مرزه کمتر پیشنهاد می‌گردد. لازم به ذکر است از آنجا که اسانس‌ها به عنوان نگهدارنده در مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند بهتر است که میزان تأثیرگذاری آن‌ها در ماتریکس غذایی نیز مورد بحث و بررسی قرار گیرند و از نظر میزان قدرت بازدارندگی و نیز از لحاظ عطر و طعم مطلوب در ماتریکس غذایی مورد بررسی قرار گیرند.

کمترین اثر را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها از خود نشان دادند و فقط پونه در مقدار ۲۰ میکرولیتر، بر روی استافیلوکوکوس/اورئوس، اثر بازدارندگی بدون تفاوت معنی داری با کلرامفنیکل داشت. Dorman و Deans در سال ۲۰۰۰ (۲۰) به بررسی خواص ضد میکروبی روغن‌های ضروری انتخاب شده در فاز بخار در برابر باکتری‌های ناشی از مواد غذایی پرداختند. نتایج، اثر ضدباکتریایی دو اسانس آویشن و پونه بر روی استافیلوکوکوس/اورئوس و انتروکوکوس فکالیس را نشان داد، اثر بازدارندگی آویشن و پونه به ترتیب بر روی انتروکوکوس فکالیس $0.8 \pm 41/8$ و $0.8 \pm 17/9$ میلی‌متر بود در صورتی که بر روی استافیلوکوکوس/اورئوس بیش از ۹۰ و $0.5 \pm 17/6$ میلی‌متر بودند. می‌توان نتیجه گرفت، آویشن بیشترین تأثیر را بر روی دو باکتری مذکور داشته است و با نتیجه حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. Hersch-Martinez و همکاران (۲۰۰۵) (۲۱) نشان دادند که باکتری‌های موردنظر نسبت به آنتی‌بیوتیک انتخابی مقاومت نشان دادند و دارچین واریوم و پونه ولگاریس بیشترین دامنه بازدارندگی را داشتند. دارچین واریوم، آویشن ولگاریس و پونه ولگاریس به ترتیب، مؤثرترین روغن‌های اساسی بر ضد گرم (+) بودند در حالی که پونه

• References

- Gostave B, kanovas et al. food Un-heated preservation way., translated by mortazavi, a., motamedzadegan a., ziaolhagh, h. mashhad ferdowsi university., 2006; p. 387. [In Persian].
- Dobre A, Gagi V, Petru s N. Antibacterial activity of essential oils against food-borne bacteria evaluated by two pre;iminary methods. Rmanian Biotechnological letters, 2011; 6: 40-44.
- Alboofetileh M, Rezaei M, Hosseini H, Abdollahi M. Antimicrobial activity of alginate/clay nanocomposite films enriched with essential oils against three common foodborne pathogens. Food Control 2014; 36:1-7.
- Kwon J.A, Yu B.C, Park H.D. Bacteriocidal effects and inhibition of cell separation of cinnamic aldehyde on bacillus cereus, Letters in applied microbiology 2003; 37 : 61-65.
- Burt S. Essential oils: Their antimicrobial properties and potential applications in foods- a review. International Journal of Food Microbiology, 2004; 94:223-253.
- Gutierrez J, Barry-Ryan C, Bourke P. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. Int. J. Food Microbiol 2008; 124: 91-97.
- Eloff J.N. It is possible to use herbarium specimens to screen for antibacterial components in some plants. Journal of Ethnopharmacology, 1999; 67(3): 355-360.
- Tajkarim MM, Ibrahim SA, Cliver DO. Antimicrobial herb and spice compounds in food. Food Control 2010; 21, 1199-18.
- Alboofetileh M, Rezaei M, Hosseini H, Abdollahi M. Efficacy of activated alginate-based nanocomposite films to control Listeria monocytogenes and spoilage flora in rainbow trout slice. J Food Sci The 2016; 53(1): 521-530.
- Farag R.S, Daw Z.Y, Hewedi F.M, El-Baroty G.S.A. Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. Journal of Food Protection 1989; 52 (9):665- 667.
- Bassole N.I.H, Juliani H.R. Essential oils Combination and Their Antimicrobial Properties, A-review. Journal of Molecules 2012; 17: 3989-4006.
- Helander I.M, Alakomi H.-L, Latva-Kala K, Mattila-Sandholm T, Pol I, Smid E.J, Gorris L.G.M, Von Wright A. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. Journal of Agricultural and Food Chemistry 1998;46: 3590-3595.
- Delaquis P.J, Stanich K, Girard B, Mazza G. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. Int. Journal of Food Microbiol 2002; 74:101-109.
- Karatzas A.K, Kets E.P.W, Smid E.J, Bennik, M.H.J. The combined action of carvacrol and high hydrostatic pressure on Listeria monocytogenes. J. Appl. Microbiol 2001; 90:463-469.

15. Dobre a a, gaguie v, petru n. antibacterial activity of essential oils against food-borne bacteria evaluated by two preliminary methods. *Romanian biotechnological letters* 2011; 16(6).
16. Aboulhosseini tabari m, yussefi m a, ghasemi f, ghias tabari r, haji esmaeili r, yousefi behzadi m. comparison of antibacterial effect eucalyptus essence, mint essence and combination of them on staphylococcus aureus and escherchia coli isolates. *Am j middle-east of scientific research* 2012; 4:536-540.[In Persian]
17. Abbasgholizadeh n, etehad g h , arab r, nemati a, barak m, pirzadeh a, zareie m. antibacterial effects of zataria multiflora boiss (shiraz oregano essence) on enterobacteriaceae species. *research journal of biological sciences* 2008; 3(3):345-347.[In Persian]
18. Sivasothy Y, Keng Chong b W, Hamid b A, Eldeen I M, Fariz sulaiman S, Awang K . Essential oils of Zingiber officinale var. rubrum Theilade and their antibacterial activities. *Food chemistry Journal* 2011; 124 :514-517
19. Teixeira B, Marques A, Ramos C, Neng N R, Nogueira J M.F, Alexandre Saraiva J, Leonor Nunes M. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils, *Industrial Crop and products* 2012; 43: 587-595.
20. Dorman H.J.D, Deans S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology* 2000; 88: 308– 316.
21. Hersch-Martinez P, Leaños-Miranda B.E, Solorzano-Santos F. Antibacterial effects of commercial essential oils over locally prevalent pathogenic strains in Mexico. *Fitoterapia*, 2005; 76, 453–457.

Antibacterial Effects of Thyme, Savory, Rosemary, Mint and Peppermint Essential Oils on Five Gram-positive Bacteria in Comparison with Effects of Three Antibiotics on the Bacteria

Akhavan F^{*1}, Tahmuzi Didehban S², Hojjati M³

1- *Corresponding author: MSc Graduated, Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran. Email: Fatemeh_akhavan_2015@yahoo.com

2- Former Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran

3- Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran

Received 30 Dec, 2019

Accepted 23 Apr, 2020

Background and Objectives: To investigate antibacterial activity of various volumes of five natural Lamiaceae plant essential oils on five Gram-positive bacteria, compared to those of three antibiotics on these bacteria.

Materials & Methods: In this study, disk diffusion method was used and inhibition zone diameters of 10, 15 and 20 microliters of thyme, savory, rosemary, pennyroyal and spearmint essential oils against *Bacillus cereus* and *Enterococcus faecium*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis* were recorded. Chemical compositions of the essential oils were analyzed using gas chromatography.

Results: Inhibitory effects of the essential oils increased significantly with increasing their volumes, enhancing the bacterial growth inhibition zone. Thyme and savory significantly decreased the bacterial growth, compared antibiotics. Rosemary, mint and peppermint included smaller diameters of growth inhibition zones, compared to essential oils, with no significant differences at 20 µl, compared to antibiotics.

Conclusion: Results have shown that thyme and savory include great inhibitory effects on growth rates of food bacteria. In fact, 20 microliters of these herbals increase the shelf life of foods with great inhibitory effects. Comparison of the effects of antibiotics and essential oils has demonstrated that savory includes the greatest inhibitory effect on *Enterococcus* and thyme on *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*.

Keywords: Antibacterial, Antibiotics, Essential oil, Gram-positive bacteria