

بررسی اثرات ضد میکروبی و روش‌های تعیین حداقل غلظت بازدارندگی اسانس‌های گیاهی بر باکتری‌های پاتوژن

مریم شهنیا^۱، رامین خاکسار^۲

۱- کمیته تحقیقات دانشجویان، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. پست الکترونیکی: r.khaksar@sbm.ac.ir

چکیده

بیماری‌های ناشی از مصرف مواد غذایی آلوده به باکتری‌های پاتوژن از موارد مهم مرتبط با سلامت عمومی می باشد. جهت کاهش زیان‌های اقتصادی و خطرات جانی ناشی از عوامل بیماری زای میکروبی استفاده از مواد طبیعی به عنوان ترکیبات ضد میکروبی روشی موثر برای کنترل حضور باکتری‌های بیماری زا و نیز افزایش ماندگاری غذاهای فراوری شده به نظر می رسد. در میان این ترکیبات عصاره‌های به دست آمده از گیاهان دارویی دارای خواص ضد میکروبی بوده و به عنوان منبع مواد ضد میکروبی در مقابل پاتوژن‌های بیماری زا عمل می کنند. این گیاهان اثرات بازدارندگی در مقابل باکتری‌های بیماری زا نشان می دهند. با در نظر گرفتن اثرات ضد میکروبی موثر اسانس‌های گیاهی، آن‌ها قابل استفاده به عنوان جایگزین مواد شیمیایی ضد میکروبی در صنایع غذایی می باشند. با توجه به مقادیر بسیار کم مورد استفاده از اسانس‌ها جهت مهار رشد باکتری ها، به احتمال زیاد اثرات نامطلوب محسوسی بر خواص ارگانولپتیک مواد غذایی ایجاد نخواهد شد. در این مطالعه کلیاتی از اسانس‌های گیاهی، روش‌های مختلف تعیین کمترین غلظت باز دارندگی از رشد و نحوه عملکرد اسانس‌ها مورد بحث قرار گرفته است.

واژگان کلیدی: ضد میکروبی، اسانس گیاهی، کمترین غلظت بازدارندگی

مقدمه

غذاهای فاسد شده علاوه بر آسیب به سلامت مصرف کننده، به تولید کننده نیز از لحاظ اقتصادی ضرر می‌رساند. از آنجا که مصرف‌کنندگان به ایمنی مواد غذایی که حاوی نگهدارنده‌های سنتزی بوده، اطمینان ندارند به مصرف مواد غذایی طبیعی که از محصولات طبیعی به عنوان نگهدارنده (جایگزین نگهدارنده‌های شیمیایی) استفاده شده گرایش پیدا کردند (۱). از جمله ترکیبات طبیعی که می‌توانند به عنوان نگهدارنده در مواد غذایی به کار روند اسانس‌های گیاهی هستند. عصاره و اسانس‌های گیاهی بدست آمده از گیاهان معطر دارای خاصیت ضد باکتریایی، ضدقارچی، ضد اکسایشی و ضد سرطانی بوده و قادر هستند رشد پاتوژن‌ها و تولید سم توسط ریزسازواره‌ها را کنترل کنند (۲).

در قرن حاضر، حفظ ایمنی ماده غذایی و کیفیت آن در دوره ماندگاری امری است که نه تنها توجه متخصصین صنعت غذا و مسئولین سلامت کشورها را به خود جلب کرده، بلکه بی‌توجهی یا کم‌توجهی به آن می‌تواند صدمات جبران ناپذیری به جامعه وارد کند. امروزه بیماری‌های ناشی از مصرف غذاهای آلوده در همه جای دنیا حتی در کشورهای پیشرفته‌ای چون آمریکا هم یک مشکل اساسی به شمار می‌رود. طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی (WHO) بیماری‌های ناشی از مصرف غذا و آب آلوده، سالانه جان ۲/۲ میلیون نفر در جهان را می‌گیرد که ۱/۹ میلیون نفر از این قربانیان را کودکان تشکیل می‌دهند (۱). با توجه به این گزارش‌ها و لزوم تأمین امنیت غذایی جامعه، تولید مواد غذایی سالم، ایمن و با کیفیت یکی از اهداف مهم تولید کنندگان مواد غذایی به شمار می‌رود.

گیاهان دارویی

گیاهان دارویی مخازن غنی از متابولیت‌های ثانویه و در واقع منابع موثره اساسی بسیاری از مواد دارویی می‌باشند. که یک یا برخی از اندام‌های آنها حاوی ماده‌ی مؤثره است. این ماده که کمتر از ۱٪ وزن خشک گیاه را تشکیل می‌دهد، دارای خواص دارویی مؤثر بر موجودات زنده است. معلوم نیست دقیقاً از چه زمانی گیاهان به عنوان دارو مورد استفاده انسان قرار گرفته‌اند. مسلماً اطلاعات مربوط به اثرات و خواص گیاهان دارویی از زمان‌های بسیار دور به دست آمده و سرانجام در اختیار نسل‌های معاصر قرار گرفته است (۲). این تلاش‌ها تا به امروز هم ادامه یافته و در حال حاضر هم با سرعت هرچه بیشتر پیش می‌رود (۱، ۲).

اسانس‌های گیاهی

اسانس‌های گیاهی، مخلوط‌های کمپلکسی از ترکیبات فرار تولید شده توسط ارگانسیم‌های زنده بوده که توسط روش‌های فیزیکی چون عصاره‌گیری و تقطیر از همه گیاه، یا بخش‌هایی از گیاه بدست می‌آیند. اسانس‌های گیاهی ترکیبات معطر، آب‌گریز، تغلیظ شده و فراری هستند که در سلول‌ها و کرک‌های ترش‌هی منفرد یا مجتمع، غده‌های ترش‌هی، مجاری ترش‌هی در قسمت‌های سطحی و درونی اندام‌های مختلف از جمله: برگ، گل، میوه، جوانه و شاخه‌های گیاهان وجود دارند (۲).

دلیل اصلی تشکیل اسانس‌ها به خوبی مشخص نیست، ولی این ترکیبات به طور کلی بازمانده‌های ناشی از فرایندهای اصلی متابولیسم گیاهان به ویژه تحت تاثیر تنش‌ها می‌باشند که از نظر شیمیایی همگن نبوده و به صورت‌های مختلف اغلب با منشا ترپنی مشاهده می‌شوند (۲).

خواص ضد میکروبی اسانس‌ها سال‌هاست شناخته شده است. در کنار خاصیت ضد میکروبی، اسانس‌ها دارای اثرات ضد قارچی، ضد ویروسی، ضد انگلی و... نیز می‌باشند. با وجود شناخت این اثرات در سال‌های قبل، روند "مصرف کنندگی" سبز منجر به تمایل بیشتر برای شناخت علمی این مواد شده است (۱).

استخراج و نگهداری اسانس‌ها

روش‌های مختلفی برای تهیه اسانس‌های گیاهی اسانس‌های روغنی مورد استفاده قرار می‌گیرد. متداول‌ترین روش تولید اسانس‌ها در صنعت روش تقطیر است. اسانس‌گیری به وسیله دی‌اکسیدکربن مایع تحت درجه

حرارت پایین و فشار بالا تولید مواد ارگانولپتیک طبیعی بیشتری می‌کند اما بسیار پرهزینه‌تر است. تفاوت در خواص ارگانولپتیک نشان دهنده تفاوت در ترکیب روغن به دست آمده به وسیله اسانس‌گیری با روش‌های مختلف می‌باشد که می‌تواند خواص ضد میکروبی آن را نیز تحت تاثیر قرار دهد. مشخص شده اسانس‌های استخراج شده به وسیله دی‌اکسید کربن فعالیت ضد میکروبی بیشتری نسبت به اسانس‌های به دست آمده از روش تقطیر دارند (۱).

روش‌های آزمایشگاهی برای تعیین فعالیت ضد باکتریایی اسانس‌ها

سنجش فعالیت ضد میکروبی می‌تواند به روش‌های انتشار، ترقیق و ... صورت گیرد البته به نظر می‌رسد روش استاندارد برای سنجش فعالیت ضد میکروبی بر علیه میکروارگانیسم‌های مرتبط با غذا ارائه نشده است (۱). با توجه به این که نتیجه یک آزمایش می‌تواند توسط فاکتورهای مختلفی مانند روش استخراج اسانس از گیاه، حجم تلقیح، فاز رشدی، محیط مورد استفاده برای رشد، pH محیط، مدت زمان انکوباسیون و دمای انکوباسیون تحت تاثیر قرار گیرد لذا مقایسه اطلاعات منتشر شده پیچیده و مشکل است. حداقل غلظت ممانعت کننده (MIC) توسط اکثر محققین به عنوان معیاری برای تعیین فعالیت ضد میکروبی اسانس‌ها ذکر شده است. تعیین MIC در مقالات منتشر شده متفاوت است و این مسئله از موانع دیگر مقایسه مطالعات می‌باشد.

روش‌های مورد استفاده برای آزمایش بر روی فعالیت آنتی باکتریال اسانس‌ها بشرح زیر است . روش‌هایی که با هدف غربالگری فعالیت آنتی باکتریال اسانس انجام می‌شود که شامل:

روش دیسک دیفیوژن

در این روش Disk diffusion یک دیسک کاغذی در اسانس خیسانده می‌شود و روی پلیت آگاری که با باکتری تلقیح شده است قرار داده می‌شود. این روش عموماً برای یک بررسی مقدماتی جهت اندازه‌گیری فعالیت آنتی باکتریال قبل از انجام مطالعات دقیق‌تر صورت می‌گیرد. فاکتورهایی مثل میزان یا حجم اسانس قرار داده شده روی دیسک کاغذی، ضخامت لایه آگار، و این که آیا حلالی استفاده شده است یا خیر، در بین مطالعات مختلف متفاوت است. این بدان معنی است که این روش برای انتخاب بین اسانس‌ها

مفید است ولی برای مقایسه اطلاعات منتشر شده در مطالعات مختلف مناسب نیست (۱، ۲).

روش چاهک های آگار

در روش Agar Well، اسانس در داخل گوده‌ای روی آگار قرار داده می‌شود. این تست را می‌توان به عنوان یک تست غربالگر وقتی تعداد زیادی اسانس و یا تعداد زیادی از باکتری‌های جدا شده مورد غربالگری قرار می‌گیرد استفاده کرد (۱، ۲).

روش هایی که با تعیین قدرت ضد میکروبی اسانس اسانس انجام می‌شود:

رقیق کردن بر روی آگار

برای بررسی قدرت فعالیت ضد باکتریایی می‌توان اسانس را در آگار رقیق کرد و قدرت فعالیت آنها را تعیین نمود. در مطالعات منتشر شده از روش رقیق سازی در آگار، حلال‌های مختلفی برای حل کردن اسانس‌ها در محیط کشت و حجم‌های مختلف تلقیح استفاده شده‌است که گاهی به صورت خطی و گاهی به صورت نقطه‌ای بوده است. با وجود این تفاوت‌ها، MIC تعیین شده به روش Agar dilution تقریباً مشابه بوده‌است (۱، ۲).

رقیق کردن در برات

در مطالعات رقیق‌سازی در برات تکنیک‌های مختلفی استفاده شده است که مهمترین آنها Optical density (OD) یا همان اندازه‌گیری کدورت و نیز شمارش کلنی‌ها به وسیله روش Viable count یا شمارش سلولهای زنده است. روش OD دارای مزیت و قابلیت اتوماتیک کردن است و برای روش دوم کار بیشتری لازم است. سایر روش‌ها مثل Conductance/Conductivity کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱).

مشاهده اثرات فیزیکی ناشی از فعالیت آنتی‌باکتریال اسانس

استفاده از میکروسکوپ الکترونی

آسیب های وارده به دیواره سلولهای باکتری و از دست رفتن محتویات سلولی را می‌توان به وسیله میکروسکوپ الکترونی بررسی کرد (۱).

تا اوایل دهه ۱۹۹۰ مطالعات معدودی در مورد فعالیت اسانس‌ها در مواد غذایی منتشر شده بود از آن زمان به بعد مطالعات بسیاری در این خصوص انجام شده است. با وجود آن که اثر آنتی‌باکتریال اسانس‌ها در سیستم‌های

آزمایشگاهی به خوبی مشخص شده است، ولی بطور کلی مقادیر بالاتری از اسانس‌ها برای ایجاد اثری مشابه در غذا مورد نیاز است. برای مثال برای شیر کم چربی ۲ برابر، برای سوسیس جگر ۱۰ برابر، برای سوپ ۵۰ برابر و برای پنیر نرم ۱۰۰-۲۵ برابر اسانس مورد نیاز است. این مسئله به دلیل واکنش های متقابل بین ترکیبات فنلی و ماتریکس ماده غذایی است. البته استثناء هم وجود دارد مثلاً در آئروموناتس هیدروفیلا مقادیر بالاتر اسانس جهت مهار این باکتری در گوشت خوک پخته شده در مقایسه با محیط آزمایشگاهی مورد نیاز نبود (۱).

به طور کلی حساسیت باکتریها به اثر آنتی میکروبی اسانس‌ها با کاهش pH مواد غذایی کاهش میزان اکسیژن موجود در بسته بندی و کاهش درجه حرارت نگهداری افزایش می‌یابد. در pH پایین خاصیت هیدروفوبی سیتی اسانس افزایش یافته و اسانس را قادر می‌سازد تا براحتی در لایه لیپیدی غشاء سلولی باکتری هدف حل گردد. لذا ممکن است سطوح بالای چربی در ماده غذایی باکتری را از اثر اسانس محافظت نماید. ساختمان فیزیکی ماده غذایی نیز می‌تواند سبب محدود شدن فعالیت آنتی میکروبیال اسانس شود. برای مثال ماتریکس ژلاتینی در ماده غذایی سبب محدود کردن انتشار اسانس در داخل ماده غذایی خواهد شد (۱).

مکانیسم عمل آنتی باکتریال اسانس‌ها

با توجه به تعداد ترکیبات شیمیایی در اسانس گیاهان، نمی‌توان مکانیسم واحدی برای اثرات ضد باکتریایی آنها در نظر گرفت بلکه آنها هدف‌های متعددی را در سلول خواهند داشت. بعضی از این اهداف و مکانیسم‌ها در شکل ۱-۲ آمده است. این مکانیسم‌ها جداگانه عمل نمی‌کنند، بلکه بعضی از آنها توسط سایرین تحت تأثیر قرار می‌گیرند (۱).

از ویژگی‌های مهم اسانس‌ها و اجزاء تشکیل دهنده آنها خاصیت آبریزی آنها می‌باشد که موجب نفوذ این مواد به لیپیدهای غشاء سلول باکتری و میتوکندری‌ها می‌شود و سبب اختلال در ساختمان‌های آنها و ایجاد نفوذپذیری بیشتر می‌گردد. این مسئله موجب خروج و نشت یون‌ها و دیگر محتویات سلولی می‌شود. اگرچه خروج مقادیر محدود این مواد برای باکتری قابل تحمل است ولی در قابلیت زیستی آن اثر گذاشته و خروج مقادیر وسیع محتویات

پی سیمن

پی سیمن پیش ساز بیولوژیکی کارواکرول است. این ماده هیدروفوبیک بوده و بیشتر و وسیع تر از کارواکرول سبب اتساع غشاء سیتوپلاسمی می شود. هنگامی که به تنهایی بکار می رود تاثیر آنتی باکتریال خوبی ندارد اما وقتی با کارواکرول ترکیب شود می تواند بصورت سینرژیسم عمل نماید که این مسئله در برنج بر علیه باسیلوس سرئوس ثابت شده است. این ماده در باسیلوس سرئوس سبب اتصال به لایه مضاعف لیپیدی شده و عبور کارواکرول از عرض غشاء را تسهیل می کند (۱).

سینامالدهید

سینامالدهید در غلظت مشابه کارواکرول و تیمول قادر است از رشد/شرشیاکلی و سالمونلا تیفی موریوم ممانعت نماید. اما این ماده موجب متلاشی شدن غشاء خارجی یا تخلیه کردن ATP داخل سلولی نمی گردد. خاصیت بازدارندگی سینامالدهید احتمالاً از طریق اتصال گروه کربونیک آن به پروتئین ها و جلوگیری از نقش آمینواسید دکربوکسیلاز می باشد. در مورد اسانس های با ساختار آلدهیدی بازدارندگی از رشد میکروارگانیسم ها به طور عمده به دلیل واکنش های آلدهیدها با گروه های SH- موثر در رشد قارچ ها می باشد (۱).

ترپنین

در بعضی مطالعات گاماترپنین اثر آنتاگونیستی علیه سالمونلا تیفی موریوم نداشته در حالی که آلفاترپنین از رشد یازده گونه از باکتری ها جلوگیری می کند (۱).

حساسیت ارگانیسم های گرم مثبت و گرم منفی به اسانس

اغلب مطالعات انجام شده در خصوص اثر اسانس های روغنی بر روی ارگانیسم های عامل فساد و پاتوژنهای غذازاد نشان می دهند که اثر اسانس های گیاهی بر روی باکتری های گرم مثبت قدری بیشتر از تاثیر آنها بر روی باکتری های گرم منفی است. به عبارت دیگر گرم مثبت ها نسبت به اثر آنتی باکتریال اسانس ها حساس ترند. علت حساسیت کمتر گرم منفی ها شاید به علت وجود غشاء خارجی در باکتری های گرم منفی باشد که سبب محدود شدن انتشار اجزاء هیدروفوبیک اسانس به لایه لیپولی ساکارید می شود (۱).

با این حال همه مطالعات انجام شده بر روی فعالیت آنتی باکتریال اسانس های روغنی نشانگر حساسیت بیشتر در گرم

سلولی یا خروج یونها و ملکول های حیاتی موجب مرگ سلول خواهد شد (۱).

به طور کلی هر چه مقادیر مواد فنولیک در اسانس بالاتر باشد، خواص آنتی باکتریال آنها علیه پاتوژنهای غذایی بیشتر خواهد بود. این ترکیبات شامل کارواکرول، اوژنول و تیمول می باشند. احتمالاً مکانیسم اثر این ترکیبات هم مانند سایر ترکیبات فنولی شامل موارد زیر می باشد: اختلال در غشاء سیتوپلاسمی، بر هم زدن نیروی حرکت پروتونی و جریان الکتریکی، انعقاد محتویات سلولی (۲۰۱).

ساختار شیمیایی یک اسانس هم بر مکانیسم آن اثر می گذارد. اهمیت حضور گروه هیدروکسیل در ترکیب فنولی مانند کارواکرول و تیمول تأیید شده است. موقعیت نسبی گروه هیدروکسیل در حلقه فنولیک چندان تأثیری در میزان اثر آنتی باکتریال آن ندارد (۱).

مکانیسم اثر بعضی از اجزاء مهم در اسانس ها

کارواکرول و تیمول

مکانیسم اثر کارواکرول و تیمول به عنوان ترکیبات اصلی اسانس آویشن و پونه بسیار مورد توجه محققین قرار گرفته است. کارواکرول و تیمول از نظر ساختمانی بسیار به یکدیگر شبیه هستند تفاوت آنها در موقعیت گروه هیدروکسیل در حلقه فنلی است که در تیمول در موقعیت متا قرار دارد. این دو ترکیب قادرند که غشاء خارجی باکتری های گرم منفی را متلاشی کرده و سبب خارج شدن لیپو پلی ساکاریدها و افزایش نفوذپذیری غشاء سیتوپلاسمی شوند. کارواکرول علاوه بر ممانعت از رشد سلولهای رویای باکتری ها، همچنین قادر به ممانعت از تولید توکسین توسط باکتری نیز می باشد. در مطالعه آلتی و همکاران در سال ۲۰۰۱ مشخص شد که کارواکرول قادر است از تولید توکسین ایجاد کننده اسهال توسط باسیلوس سرئوس ممانعت نماید. دو نظریه در این خصوص مطرح است یکی اینکه به علت تداخل کارواکرول با تولید ATP ممکن است ATP کافی برای خارج کردن توکسین از سلول که یک روند فعال و وابسته به انرژی می باشد مهیا نباشد و دیگر اینکه با پایین آمدن میزان رشد اختصاصی احتمالاً سلول تمام انرژی خود را صرف زنده ماندن خود می کند (۱).

اسانس‌های استفاده شده در پزشکی نیز خواص اسپاسمولیتیک یا اسپاسموژنیک نشان می‌دهند. لذا پیشنهاد می‌شود قبل از اقدام به مصرف گسترده و یا استفاده از غلظت‌های بالای این مواد در مواد غذایی مطالعات سلامت بیشتری انجام گیرد (۱).

اثرات ارگانولپتیک ناشی از استفاده اسانس‌ها و اجزاء آنها در مواد غذایی

در استفاده از اسانس‌های گیاهی به عنوان مواد ضد باکتریایی در مواد غذایی، اثرات ارگانولپتیک آنها نیز باید مورد توجه قرار گیرد. بررسی‌ها نشان می‌دهند که طعم فیله‌های گوشت گوساله که با ۰/۸٪ اسانس پونه کوهی تیمار شده بودند پس از نگهداری در دمای ۵ °C و پختن طعم قابل قبولی داشت. و یا غلظت ۰/۰۵٪ اسانس پونه کوهی در فیله ماهی کاد ایجاد طعم مشخص ولی مطلوب می‌کند که بتدریج طی نگهداری در ۲ °C کاهش می‌یابد. اگرچه بسیاری از اسانس‌ها و مواد موثره آنها به عنوان GRAS پذیرفته شده‌اند اما به علت طعمی که به مواد غذایی می‌بخشند استفاده از آنها محدود و در برخی موارد قابل پذیرش نمی‌باشد. با اینحال برای اینکه بتوان از اثرات مفید این مواد استفاده نمود محققان روش‌هایی را جهت کاهش اثرات ارگانولپتیک اسانس‌ها و اجزاء متشکله آنها پیشنهاد کرده‌اند که به شرح زیر است.

۱. استفاده از یک اسانس گیاهی به عنوان طعم دهنده و در عین حال نگهدارنده ماده غذایی در پنیرها و بسیاری از مواد غذایی که از قبل هم بصورت معطر تهیه و مصرف می‌شدند.
۲. استفاده از اسانس در فرآورده‌هایی که خود دارای طعم قوی هستند ضمن ایجاد اثر مناسب سبب پوشیده شدن عطر و طعم اسانس می‌گردد.
۳. استفاده از برخی اجزاء متشکله اسانس که دارای بیشترین اثر ممانعت‌کنندگی هستند به جای استفاده از اسانس کامل تا ضمن حفظ اثر آنتی باکتریال تغییرات ارگانولپتیک به حداقل برسد. گرچه به نظر می‌رسد که فعالیت آنتی باکتریال اسانس متأثر از اثر متقابل همه اجزاء آن است.
۴. استفاده از خواص سینرژیسم بین اسانس‌ها و یا اجزاء مختلف اسانس‌ها یا بین اسانس و یک ماده آنتی باکتریال.
۵. بررسی و مطالعه بر روی عوامل پخش‌کننده اسانس‌ها در ماده غذایی تا با پخش شدن کاملتر اسانس میزان مصرف اسانس کاهش یابد.

مثبت‌ها نمی‌باشد. برای مثال *آئروموناس هیدروفیلا* که یک باکتری گرم منفی است یکی از حساس‌ترین گونه‌های باکتریایی نسبت به اثرات اسانس‌ها می‌باشد. در بین گرم منفی‌ها، *سودوموناس*‌ها به ویژه *سودوموناس آئروجنس* کمترین حساسیت را نسبت به اثر اسانس‌ها دارا می‌باشند (۱).

اثر سینرژیسم و آنتاگونیسم بین اجزاء تشکیل دهنده اسانس‌های روغنی و مواد و روش‌های مورد استفاده برای نگهداری مواد غذایی

مواردی از سینرژیست‌های قوی در استفاده از اسانس‌های روغنی پیشنهاد شده است که شامل pH پایین، aw پایین، شلاته‌کننده‌ها، فشار اکسیژن پایین، حرارت معتدل و فشار بالا می‌باشد. البته همه این‌ها در مواد غذایی مورد تحقیق قرار نگرفته‌اند. نشان داده شده است که کلرید سدیم تحت شرایط مختلف با اسانس‌ها و یا اجزاء آنها حالت سینرژیسم یا آنتاگونیسم نشان می‌دهد. سینرژیسم بین کلرید سدیم و اسانس نعنا بر علیه *سالمونلا/تریتیدیس* و *لیستریا مونو سایتوزس* نشان داده شده است. ترکیب اسانس پونه کوهی و کلرید سدیم بر روی قارچهای غذازاد اثر سینرژیستی نشان داد. ترکیب ۲-۳٪ کلرید سدیم و ۰/۵٪ پودر میخک حاوی میکروارگانیزم بر روی *انتروباکتر آئروجنس* در ماهی اثر سینرژیستی نشان داد و مانع تولید هیستامین گردید. اوژنول به علت افزایش نفوذپذیری سلولی بعد از اثر نمک روی آنزیم‌های داخل سلولی موجب ممانعت از رشد می‌گردد (۱). اثر آنتاگونیستی کلرید سدیم با کارواکرول و پی سیمن علیه *باسیلوس سرئوس* در برنج دیده شده که با وجود سینرژیسم اثر کارواکرول و *p-Cymene*، نمک باعث کاهش اثر گردیده است.

تیمول و کارواکرول با فشار هیدرواستاتیک بالا دارای اثر سینرژیستی هستند. فشار بالا سبب آسیب رسیدن به غشاء سلولی شده و به عملکرد اسانس کمک می‌کند.

جنبه‌های قانونی استفاده از اسانس‌ها و اجزاء آن در مواد غذایی

علی‌رغم همه مطالعات که موجب شده تعدادی از اسانس‌ها به عنوان طعم‌دهنده تأیید شوند ولی برخی مطالعات نشانگر ایجاد تحریک و سمیت آنها می‌باشد، که علت آن شاید قابلیت حل کردن چربی غشاء باشد. برخی از اسانس‌ها و اجزاء آنها سبب درماتیت آلرژیک تماسی در افرادی که غالباً با این مواد سروکار دارند، می‌شوند. برخی

پژوهشگرانی چون Paster و همکاران در سال ۱۹۹۰، محمود در سال ۱۹۹۴، سلیمان و بداعی در سال ۲۰۰۲، Velluti و همکاران در سال ۲۰۰۳، Nielsen و ریوز نیز در سال ۲۰۰۰، Kim و همکاران در سال ۲۰۰۴، شهینا و همکاران در سال ۲۰۱۲، نتایج موفقیت آمیزی در رابطه با اثر ضد میکروبی اسانس‌ها به دست آوردند (۱۴-۸).

۶. توجه به پتانسیل کاربردی اسانس‌ها. برای مثال شاید نیاز نباشد اسانس را مستقیماً به ماده غذایی افزود مثل شستشوی کاهوی آلوده با محلول حاوی اسانس ریحان که نتیجه بهتری نسبت به شستشوی کاهو با محلول کلرین نشان داده است.

۷. استفاده از اسانس یا اجزاء آن در یک سیستم چند مانعی همراه با تکنیک‌های نگهدارنده دیگر مثل ترکیب با دمای پایین، pH پایین، نمک و غیره (۷-۳، ۱).

References

- 1- BURT, S. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253.
- 2- Tajkarim MM, Ibrahim SA, Cliver DO. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control* 2010; 21, 1199-18.
- 3- Lambert RJW, Skandamis, PN, Coote, PJ, Nychas, GJE. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology* 2001; 91, 453-62.
- 4- Valero M, Salmeron MC. Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth. *International Journal of Food Microbiology* 2003; 85, 73-81.
- 5- Varel VH. Carvacrol and thymol reduce swine waste odor and pathogens: Stability of oils. *Current microbiology* 2002; 44, 38-43.
- 6- Nazer A, Kobilinsky A, Tholozan JL, Dubois-brissonnet F. Combinations of food antimicrobials at low levels to inhibit the growth of *Salmonella* sv. Typhimurium: a synergistic effect? *Food Microbiology* 2005; 22, 391-398.
- 7- Smith-palmer A, Stewart J, Fyfe L. The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiology* 2001; 18, 463-470
- 8- Soliman , Badeaa R. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. *Food and Chemical Toxicology* 2002; 40, 1669-1675.
- 9- Velluti A, Sanchis V, Ramos A, Egido J, Marin S. Inhibitory effect of cinnamon, clove, lemongrass, oregano and palmarose essential oils on growth and fumonisin B1 production by *Fusarium proliferatum* in maize grain. *International journal of food microbiology* 2003; 89, 145-154.
- 10- Nielsen PV, Rios R. Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. *International Journal of Food Microbiology* 2000; 60, 219-229.
- 11- Paster N, Juven B, Shaaya E, Menasherov M, Nitzan R, Weisslowicz H, Ravid U. Inhibitory effect of oregano and thyme essential oils on moulds and foodborne bacteria. *Letters in Applied Microbiology* 1990; 11, 33-37.
- 12- Kim HO, Park SW, Park HD. Inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 by cinnamic aldehyde purified from *Cinnamomum cassia* shoot. *Food Microbiology* 2004; 21, 105-110.
- 13- Mahmoud ALE. Antifungal action and antiaflatoxigenic properties of some essential oil constituents. *Letters in Applied Microbiology* 1994; 19, 110-113.
- 14- Shahnian M, Schaffner DW, Khanlarkhani A, Shahraz F, Radmehr B, Khaksar R. Modeling the Growth of *Escherichia coli* under the Effects of *Carum copticum* Essential Oil, pH, Temperature and NaCl Using Response Surface Methodology. *Journal of Food Safety* 2012; 32, 415-425.

Antimicrobial effects and determination of minimum inhibitory concentration (MIC) methods of essential oils against pathogenic bacteria

Shahnia M¹, Khaksar R^{*2}

- 1- Students' Research Committee, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 2- * Corresponding author: Associate prof, Dept. of Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Email: r.khaksar@sbm.ac.ir

Abstract

Food borne illness resulting from consumption of food contaminated with pathogenic bacteria has been of vital concern to public health. Consumers are also concerned about the safety of foods containing synthetic preservatives. To reduce health hazards and economic losses due to food borne microorganisms, the use of natural products as antibacterial compounds seems to be an interesting way to control the presence of pathogenic bacteria and to extend the shelf life of processed food. Among these compounds extracts from spices, medicinal plants and herbs have been shown possess antimicrobial activities and could serve as a source of antimicrobial agents against food pathogens. edible plants can be a potential source for inhibitory substances for some foodborne pathogens. Owing to the strong antibacterial activity of the essential oils they can be used as effective alternatives for food preservation. With regards to the low amount of the essential oil used for growth inhibition, probably it will not exhibit undesirable effects on organoleptic properties of foods. In the present study the principles of the essential oils, different methods of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and mode of action of the essential oils are discussed.

Keyword: Antimicrobial, Essential oil, Minimum inhibitory concentration