ارزیابی اثر ضد میکروبی فیلم‌های تهیه شده از کیتوزان حاوی اسانس اسطوخودوس بر روی برخی از باکتری‌های غذازاد

زهره مشاک[1*]، سمیرا فیاض فر [2]، نرجس چراغی[3]

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

۲. دانشجوی دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۳. دانشجوی دکتری تخصصی بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

***نویسنده مسئول:** *zohreh_mashak@yahoo.com*

تاریخ دریافت: ۱۳۹٤/۰۸/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۲/۱۵

چکیده

امروزه استفاده از فیلم‌های حاوی ترکیبات ضد میکروبی طبیعی به منظور بسته بندی مواد غذایی افزایش پیدا کرده است. مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرضد میکروبی فیلم‌های کیتوزان حاوی اسانس اسطوخودوس بر روی برخی از باکتری‌های بیماری‌زای غذازاد (*لیستریا مونوسیتوژنز*، *باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس ارئوس*، *ویبریو پاراهمولیتیکوس*، و *اشریشیا کلی* O157:H7) انجام پذیرفت. به این منظور دیسک‌های کروی از فیلم‌های کیتوزان حاوی غلظت‌های مختلف اسانس اسطوخودوس بر روی کشت‌های باکتری‌های مذکور قرار داده شد. نتایج این مطالعه نشانگر اثر ضد میکروبی فیلم‌های کیتوزان حاوی اسانس بر میکروارگانیسمهای مورد آزمایش بود ($p<۰/۰۵$) و فیلم‌های کیتوزان حاوی ۴ درصد اسانس بر تمام میکروارگانیسم‌ها موثر بود. بیشترین و کمترین اثر ضد میکروبی فیلم‌های مذکور بر علیه ویبریو پاراهمولیتیکوس و اشریشیاکلی مشاهده شد. شفافیت فیلم‌ها نیز با افزایش غلظت کیتوزان کاهش یافت. این نتایج نشان داد که فیلم‌های کیتوزان حاوی اسانس اسطوخودوس می‌تواند بعنوان یک بسته بندی ضد میکروبی در مواد غذایی بکار رود.

واژگان کلیدی: باکتریهای پاتوژن غذازاد، کیتوزان، اسانس اسطوخودوس.

مقدمه

از آنجایی که استفاده از پلاستیک‌ها در مواد بسته بندی در سراسر جهان رایج می‌باشد و با توجه به عدم تجزیه طبیعی آنها، مشکلات زیست محیطی فراوانی در طبیعت ایجاد می‌گردد. همچنین هر ساله میزان بالایی از مواد غذایی مختلف دچار فساد میکروبی یا شیمیایی شده و از بین می‌روند. در سال‌های اخیر استفاده از ترکیبات طبیعی بعنوان پایه بسته بندی‌های مواد غذایی رواج یافته است که نه تنها برای طبیعت و مصرف کنندگان بی‌ضرر است بلکه در صورت استفاده از ترکیبات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی مختلف مثل اسیدهای آلی، آنزیم‌ها و مواد ضد میکروبی طبیعی نظیر اسانس‌های روغنی در آن‌ها عمر نگهداری مواد غذایی را نیز افزایش می‌دهند. (Nettels, 2006; Mehdizadeh et al., 2012; khanjari et al., 2013). این بسته‌بندی‌های ضد میکروبی از طریق کاهش، مهار یا به تاخیر انداختن رشد میکروارگانیسم‌ها سبب افزایش زمان نگهداری و ایمنی مواد غذایی می‌شود (Mihajilov-Krstev et al., 2010). اسانس‌ها ترکیبات ضد میکروبی طبیعی هستند که در تحقیقات مختلف در ترکیب با مواد بسته‌بندی قرار گرفته و در نتیجه فیلم تولیدی موجب کاهش بار میکروبی و افزایش ماندگاری مواد غذایی می‌شود (Oussalah et al., 2006). کیتوزان پلی ساکاریدی خطی و دارای بار الکتریکی مثبت بوده که می‌تواند از کیتین

سخت پوستان بدست آید. این ماده توانایی ایجاد شبکه ژلی خوبی دارد همچنین در برخی مطالعات اثرات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی بیان شده است (Moosavi-Hosseini et al., 2009; Nasab et al., 2013).

اسطوخودوس با نام علمی (*Lavandula stoechas*) گیاهی از خانواده *Lamiaceae* است و بومی حوزه مدیترانه می‌باشد و در سرتاسر جنوب قاره اروپا پراکنده است. اسانس اسطوخودوس که جزو اسانس‌های با بوی مطبوع طبقه بندی می‌شود از تقطیر گل و سرشاخه-های گلدار این گیاه بدست می‌آید. در مطالعات مختلف در آن ترکیباتی نظیر اسید بوتیریک، اسید پروپیونیک و اسید والریک، لینالول آزاد و ژرامبول بیان شده است (Zohra and Atik, 2011; Behbahani, et al., 2013). هدف از این پژوهش ابتدا بررسی امکان تولید فیلم خوراکی از کیتوزان حاوی اسانس اسطوخودوس و سپس بررسی خواص ضد میکروبی آن علیه برخی باکتری‌های بیماری‌زای غذازاد شامل *اشریشیا کلی* O157:H7، *باسیلوس سرئوس*، *لیستریامونوسیتوژنز*، *استافیلوکوکوسارئوس* و *ویبریو پاراهمولتیکوس* بود.

مواد و روش کار

تهیه اسانس اسطوخودوس

اسانس اسطوخودوس از شرکت باریج اسانس خریداری شد. همچنین آنالیز ترکیبات آن توسط دستگاه گاز کروماتوگراف مجهز به طیف سنجی جرمی (Thermo Quest / Finnigan,UK)، صورت گرفت.

تهیه فیلم از کیتوزان حاوی اسانس اسطوخودوس

برای تولید فیلم حاوی اسانس اسطوخودوس بر پایه‌ی کیتوزان، مقدار ۲ گرم پودر کیتوزان با وزن مولکولی بالا (سیگما آلدریچ) را در اسید استیک ۱ درصد حل نموده سپس به مدت ۲۴ ساعت بر روی همزن مغناطیسی در دمای اتاق هم زده شد سپس گلیسرول (۰/۵ میلی‌لیتر به ازای گرم کیتوزان) به عنوان پلاستیسایزر و ۰/۲۵ درصد tween80 به عنوان امولسیفایر به این محلول اضافه شد سپس ۳۰ دقیقه در دمای اتاق بر روی هم زن مغناطیسی مخلوط گردید. سپس با استفاده از سود، pH محلول را به ۵/۸ رسانیده، پس از افزودن غلظت‌های مورد نظر اسانس اسطوخودوس (۰،۱، ۲، ۳ و ۴ درصدV/V)، محلول با استفاده از هموژنایزر با دور ۲۱۶۰۰ rpm به مدت یک دقیقه هموژن گردید. سپس ۴۰ میلی لیتر از محلول فیلم حاوی اسانس اسطوخودوس در زیر هود لامینار داخل پلیت‌های شیشه‌ای به آرامی ریخته شد و به مدت ۳۶ ساعت در دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد خشک گردید. فیلم‌های آماده شده، ۴۸ ساعت پیش از آزمون در دسیکاتور حاوی برمید سدیم (دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۲±۵۰ درصد) ذخیره گردیدند (Zivanovic et al., 2005).

رنگ سنجی

جهت تعیین رنگ نمونه‌ها از یک رنگ سنج (Minolta CR 300 Series, Minolta Camera Co., Ltd., Osaka, Japan) استفاده شد. قبل از اندازه گیری رنگ فیلم‌ها، دستگاه با استفاده از یک صفحه سفید استاندارد تنظیم شد و پارامترهای استاندارد دستگاه به صورت L^*=۹۳/۴۹، a^*=-۰/۲۵ و b^*= -۰/۰۹ تعیین گردید.

پارامترهایی که دستگاه می‌خواند عبارتند از: وضوح یا L (سفید =۱۰۰ و سیاه =۰)، a (سبز= ۸۰- تا قرمز =۱۰۰) و b (آبی = ۸۰- تا زرد = ۷۰). در مورد هر نمونه حداقل ۳ نقطه مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

اندازه گیری ضخامت فیلم‌ها

با میکرومتر دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ میلی‌متر در حداقل ۱۰ نقطه تصادفی اندازه‌گیری شد.

باکتری‌های *اشریشیا کلی* O157:H7 (وروتوکسین زا)، *باسیلوس سرئوس* (ATCC ۱۱۷۷۸)، *لیستریا مونوسیتوژنز* (ATCC ۱۹۱۱۸)، *استافیلوکوکوس ارئوس* (ATCC ۶۵۲۳۸) و *ویبریو پاراهمولتیکوس* (ATCC ۴۳۹۹۶) ازگروه میکروب شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تأمین گردید.

برای تهیه میزان دز تلقیح باکتری‌های مورد مطالعه، هر کدام از میکروارگانیسم‌های ذخیره شده در ۲۰- درجه سانتی‌گراد داخل میکرواپندورف را به محیط آبگوشت قلب و مغز منتقل نموده و دوبار متوالی به مدت ۲±۱۸ ساعت در ۲±۳۵ درجه سانتیگراد گرمخانه‌گذاری شدند. پس از آن لوله‌های کووت حاوی ۴ میلی لیتر آبگوشت قلب و مغز استریل تهیه شد. سپس مقدارهای مختلفی از کشت ۱۸ ساعته دوم را به لوله های کووت اضافه نموده و جذب نوری آن را با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Milton Ray Company, USA)، که قبلا با کووتی حاوی آبگوشت قلب و مغز کالیبره شده بود، در طول موج ۶۰۰ نانومتر قرائت گردید. زمانی که جذب نوری لوله کووت معادل ۰/۱ بود از محتویات لوله‌های کووت رقت‌های مختلف تهیه شده و کشت در پلیت جهت شمارش باکتری ها صورت گرفت. در پایان میزان باکتری در جذب نوری ۰/۱ در طول موج ۶۰۰ نانومتر در لوله‌های کووت حاوی باکتری‌های مورد مطالعه محاسبه گردید (چراغی و همکاران ۱۳۹۲)

تعیین فعالیت ضد میکروبی فیلم ها

فعالیت ضدمیکروبی فیلم ها به روش Disk Diffusion Assay تعیین گردید، بدین صورت که محیط مولر هینتون با ۱۰۰ میکرولیتر کشت باکتری که حاوی ۱×۱۰^{۷} باکتری در هر میلی لیتر می‌باشد، تلقیح گردید. سپس دیسک‌هایی از فیلم کیتوزان حاوی غلظت های مورد نظر از اسانس اسطخودوس که به قطر ۹ میلی‌متر پانچ شده بودند بر روی پلیت قرار داده شد و پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند. پس از اتمام زمان گرمخانه گذاری، ناحیه ممانعت از رشد به صورت هاله شفاف اطراف فیلم مشاهده گردید و قطر این ناحیه در اطراف فیلم بر اساس میلی‌متر گزارش شد.

نتایج

اجزای مختلف اسانس اسطوخودوس توسط دستگاه رنگ‌نگار گازی متصل به طیف‌سنج جرمی در جدول ۱ نشان داده شده است. بر این اساس بیشترین جزء اسانس را ۱،۸سینئول با ۴۹/۱۶درصد تشکیل می‌دهد. پس از آن بورنئول با ۱۰/۷۵درصد، کامفور با ۸/۹۴درصد و لینالول ال با۳/۹۵درصد و آلفاپینن با ۳/۲ درصد بیشترین مقدار را بین اجزای اسانس دارا هستند.

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی حاصل از GC/MS اسانس اسطوخودوس

ترکیبات شیمیایی	درصد	شاخص بازدارندگی
Alpha Thujene	۰/۳	۷/۳۸
Alpha-Pinen	۳/۲	۷/۶۳
Camphene	۰/۸	۸/۰۹
Sabinene	۰/۹	۸/۸۵
Beta.-Pinene	۲/۶۳	۹/۰۱
Beta.-Myrcene	۱/۸۷	۹/۳۸
Alpha.Phellandrene	۰/۴	۹/۹۲
DELTA.3-Carene	۲/۷۳	۱۰/۱۴
1,8-Cineole	۴۹/۱۶	۱۱/۱۸
Ocimene<(E)-B->	۰/۴۹	۱۱/۵۱
Gamma.-Terpinene	۰/۳۲	۱۱/۹۵
Alpha.-Terpinolene	۰/۵	۱۳/۱۱
Linalool L	۳/۹۵	۱۳/۶۹

Camphor	۸/۹۴	۱۵/۶۳
Borneol	۱۰/۷۵	۱۶/۶۶
Terpinen-4-ol	۱/۰۴	۱۶/۹۷
Cryptone	۱/۳	۱۷/۳۴
Alpha.Terpineol	۱/۱۶	۱۷/۵۶
Isophorone<4-methylene>	۰/۴۹	۱۸/۲۷
Unknown	۰/۹۹	۱۹/۰۱
Cumin aldehyde	۰/۳۸	۱۹/۵۶
Linalool acetate	۰/۵	۲۰/۰۹
Thuganol acetate<iso-3->	۰/۲۳	۲۱/۴۲
Trans-Caryophyllene	۰/۹۳	۲۷/۰۳
Trans-.beta.-Farnesene	۰/۳	۲۸/۴۰
Gamma.-Cadinene	۰/۵۸	۳۰/۷۹
Caryophyllene oxide	۰/۳۳	۳۳/۴۵
Cubenol<1,10-di-epi>	۰/۵۳	۳۵/۶۳
	۹۵/۷	جمع

نتایج این مطالعه نشان داد که بیشترین هاله عدم رشد فیلم‌های کیتوزان حاوی اسانس اسطوخودوس در رابطه با *ویبریو پاراهمولیتیکوس* بود، در حالی‌که کمترین هاله عدم رشد اطراف فیلم‌ها مربوط به *اشریشیاکلی* O157:H7 می‌باشد. همچنین با افزایش غلظت اسانس به کار رفته در فیلم‌های کیتوزان میزان قطر هاله عدم رشد در رابطه با تمام باکتری‌های مورد مطالعه بصورت معنا داری ($p< ۰/۰۵$) افزایش یافت. میانگین و انحراف معیار قطر هاله عدم رشد اطراف فیلم‌های کیتوزان حاوی غلظت‌های مختلف اسانس اسطوخودوس در رابطه با باکتری‌های مورد مطالعه در جدول ۲ نمایش داده شده است.

جدول۲- میانگین ± انحراف معیار قطر هاله عدم رشد باکتری‌های مورد مطالعه اطراف فیلم‌های کیتوزان حاوی غلظت‌های مختلف اسانس اسطوخودوس (میلی متر)

نام باکتری	کنترل	٪ ۱	٪ ۲	٪ ۳	٪ ۴
E.coli $O_{157}:H_7$	۰^{a*}	۰^{aA}	۰^{aA}	۰^{aA}	۱۲/۱۰ ± ۰/۲۱^{Ba}
Listeria monocytogenes	۰^{a}	۱۱/۱۰ ± ۰/۳۷^{bB}	۱۲/۶۳ ± ۰/۲۲^{cB}	۱۴/۶۷ ± ۰/۲۳^{dB}	۱۶/۰۶ ± ۰/۳۵^{Eb}
Staphylococcus aureus	۰^{a}	۱۱/۶۳ ± ۰/۰۹^{bB}	۱۲/۶۳ ± ۰/۲۴^{beB}	۱۳/۳۰ ± ۰/۱۳^{cefC}	۱۳/۹۰ ± ۰/۴۰^{dfC}
Vibrio parahaemolyticus	۱۰/۶۶ ± ۰/۵۷^{a}	۱۴/۵۷ ± ۰/۱۴^{bC}	۱۴/۶۷ ± ۰/۱۲^{bC}	۱۶/۵۰± ۰/۱۵^{cD}	۱۸/۷۷± ۰/۲۴^{dD}

*حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در نتایج ردیف‌های جدول می‌باشد. حروف بزرگ غیر مشابه بیانگر تفاوت معنی دار در نتایج در ستون‌های جدول می‌باشد.

در جدول ۳ اطلاعات مربوط به ضخامت فیلم‌های تولیدی و فاکتورهای رنگ نشان داده شده است. در رابطه با فاکتورهای رنگ فیلم‌های مورد مطالعه نتایج نشان داد با افزایش میزان اسانس (غلظت اسانس) رنگ فیلم‌ها بصورت معنی‌داری ($p <۰/۰۵$) تیره تر می‌گردد. همچنین در رابطه با فاکتور a بصورت معنی داری رنگ فیلم‌ها به سمت قرمز شدن سوق می‌یابد. در رابطه با فاکتور b هر چند روند منظم نیست لیکن میزان زردی در مقایسه با فیلم بدون اسانس بصورت معنی داری بالاتر است.

جدول ۳- ضخامت فیلم‌های تولیدی (میکرومتر) و فاکتورهای رنگ

فیلم	ضخامت(µm)	فاکتورهای رنگ		
		B	a	L
کیتوزان	۱۸۰/۹۷ ± ۰/۴۱	۶۱/۶۷ ± ۰/۱۷	۱۸/۵۷ ± ۰/۰۸	۶۱/۷۰ ± ۰/۰۳
کیتوزان حاوی ۱ درصد اسانس اسطوخودوس	۱۸۲/۷۰ ± ۰/۱۱	۶۲/۵۳ ± ۰/۲۷	۳۰/۱۵ ± ۰/۰۶	۵۳/۱۰ ± ۰/۰۴
کیتوزان حاوی ۲ درصد اسانس اسطوخودوس	۱۸۳/۰۷ ± ۰/۰۹	۶۳/۶۸ ± ۰/۰۵	۳۱/۲۵ ± ۰/۰۵	۵۱/۵۶ ± ۰/۰۸
کیتوزان حاوی ۳ درصد اسانس اسطوخودوس	۱۸۳/۵۰ ± ۰/۰۶	۶۴/۲۵ ± ۰/۰۳	۳۳/۱۶ ± ۰/۰۳	۴۹/۸۴ ± ۰/۰۵
کیتوزان حاوی ۴ درصد اسانس اسطوخودوس	۱۸۳/۷۰ ± ۰/۱۱	۶۵/۴۱ ± ۰/۱۱	۳۴/۷۸ ± ۰/۰۶	۴۸/۱۳ ± ۰/۰۳

بحث

اساس برخی از بسته‌بندی‌های فعال، استفاده از فیلم‌ها به همراه مواد ضد میکروبی است که موجب محدود کردن یا کاهش رشد میکروارگانیسم‌ها در سطح مواد غذایی می‌شود. بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از عوامل ضد میکروبی به همراه فیلم های خوراکی سبب کاهش سطوح ارگانیسم‌های بیماریزای غذا زاد می‌شوند. (Zivanovic et al., 2005).

نتایج این مطالعه نشان داد که قطر هاله عدم رشد اطراف باکتری‌ها بصورت معنی داری ($p< ۰/۰۵$) با افزایش غلظت اسانس افزایش می‌یابد. تحقیقات رودریگرز و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که فیلم‌های کیتوزان توانایی ایجاد هاله عدم رشد اطراف باکتری‌های *سالمونلا انتریتیکا* و *استافیلوکوکوس ارئوس* را نداشت (Rodríguez-Núñez et al., 2012). که با نتایج مطالعه ما در رابطه با استافیلوکوکوس ارئوس همخوانی داشت. از دلایل تفاوت اثرات ضد میکروبی فیلم های کیتوزان در مطالعات مختلف می توان به تفاوت در وزن مولکولی، درجه داستیلاسیون و سایر خصوصیات کیتوزان های مورد مطالعه اشاره نمود. نتایج مطالعه Zohra و Atik (۲۰۱۱) بر روی اثر ضد میکروبی اسانس اسطخودوس به روش انتشار دیسک نشان داد که این اسانس در غلظت 3µl/disc توانایی ایجاد هاله عدم رشد اطراف باکتری‌های *E. coli* ATCC25922 (با قطر ۱/۴۹ mm ± ۸/۱۹) ، *S. aureus* ATCC25923 (با قطر ۱/۶۷ mm ± ۵/۹۰) و همچنین *P. aeruginosa* ATCC27853 (با قطر ۰/۳۲ mm ±۰/۵۲) می گردد (Zohra And Atik, 2011) که نشان از اثر ضد میکروبی اسانس اسطوخودوس دارد که با نتایج بدست آمده در این مطالعه تا حدودی مشابهت داشت.

سلطاندلال و همکاران (۱۳۹۰) اثرات ضدمیکروبی اسانس رزماری برروی سویه‌های استافیلوکوکوس ارئوس به روش انتشار دیسک مطالعه نمودند و دریافتند که اسانس فوق دارای اثر ضد باکتریایی بر علیه سویه های باکتری های مذکور می باشد همچنین قطرهاله عدم رشد پیرامون سویه‌های *استافیلوکوکوس ارئوس* درحدود۲۰میلیمتر بدست آمد (SoltanDallal et al., 2011). تحقیقات Pranto و همکاران (۲۰۰۵) نشان داد که فیلم‌های کیتوزان حاوی مقادیر مختلف اسانس سیر (۱۰۰-۴۰۰ میکرولیتر/ گرم) بر *استافیلوکوکوس ارئوس* و *باسیلوس سرئوس* و *لیستریا مونوسیتوژنز* موثر می‌باشد در حالی که بر *سالمونلا تیفی موریوم* تاثیری ندارد (Pranoto et al, 2005). مطالعه مهدیزاده و همکاران (۲۰۱۲) بر روی اثر فیلم های کیتوزان- نشاسته حاوی درصد های مختلف اسانس آویشن کوهی (*Thymus kotschyanus*) نشان داد که بیشترین اثر

ضد میکروبی فیلم‌های مذکور روی *لیستریا مونوسیتوژنز* و کمترین اثر ضد میکروبی روی *سالمونلا انتریتیدیس* وجود دارد. همچنین در مطالعه آنها با افزایش غلظت اسانس از شفافیت فیلم های تولیدی کاسته شد که با نتایج مطالعه حاضر تطابق دارد (Mehdizadeh et al., 2012).

مطالعه بهبهانی و همکاران بر روی اسانس اسطوخودوس و رزماری به روش انتشار دیسک نشان داد که اسانس اسطوخودوس بر روی رشد *استافیلوکوکوس ارئوس* PTCC1337 نسبت به *اشریشیا کولی* PTCC1330 موثرتر است و این نتایج نشان داد که اسطخودوس بیشترین تاثیر را روی باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس ارئوس* دارد (Behbahani et al., 2013).

نتیجه گیری

بطور معمول حساسیت باکتری‌های گرم مثبت به اسانس‌های روغنی بیش از باکتری‌های گرم منفی است. از علل حساسیت کمتر باکتری‌های گرم منفی می توان به وجود غشا خارجی اطراف دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی اشاره نمود. با این حال در این مطالعه قطر هاله عدم رشد اطراف باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس بصورت معنی داری بیشتر از سایر میکروارگانیسم‌ها بود که از دلایل آن می توان به حساسیت بالاتر این باکتری به مواد ضد میکروبی اشاره نمود که فیلم کیتوزان به تنهایی هم توانسته بود تولید هاله عدم رشد نماید. همچنین جهت ایجاد هاله عدم رشد نیاز به استفاده از غلظت های بالای اسانس اسطوخودوس در فیلم می-باشد که با توجه به عدم صرفه اقتصادی توصیه می-گردد از مواد ضد میکروبی دیگر به همراه اسانس مذکور در ساختار این فیلم‌ها به کار برده شود.

منابع

1. Behbahani, B.A., Tabatabaei-Yazdi, F., Shahidi, F., and Mortazavi, A. 2013. Antimicrobial effects of *Lavandula stoechas L*. and *Rosmarinus officinalis*L.extracts on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus.* Sci J Microbiol. 2: 15-22.
2. Cheraghi, N., Akhondzadeh Basti, A., Khanjari, A., Esmaeili, H., Noori, N., Mohamadi Nasrabadi, H., and Amani, Z. 2013. Effects of *Zataria multiflora* Boiss. Essential Oil and Acetic Acid on Thermostable Direct Haemolysin production of *Vibrio parahaemolyticus***.** JMP. 2: 78-84
3. Hosseini, S.M.H., Razavi, S.H., and Mousavi, S.M.A. 2009. Studies on physical, mechanical, antibacterial and microstructural properties of chitosan edible films containing *thyme* and cinnamon essential oils. J Food Process Pres. 1: 47-68.
4. Mehdizadeh, T., Tajik, H., Razavi Rohani, S.M., Oromiehie, A.R. 2012. Antibacterial, antioxidant and optical properties of edible starch-chitosan composite film containing *Thymus kotschyanus* essential oil. VRF. 3: 167 – 173.
5. Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., and Lacroix, M. 2006. Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. Meat Sci. 73: 236-44.
6. Moosavi-Nasab, S., Moosavi-Nasab M., Mesbahi Gh.Jamalian, J., and Maghsoudlou, Y. 2013. Ice-glazing of Frozen Shrimp Using Chitosan Hydrocolloid for Improving Its Qualitative Properties. EJFPP. 5: 1-17.
7. Pranoto, Y., Rakshit, S.K., Salokhe, V.M. 2005. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. LWT- Food Sci Technol. 38: 859–865
8. Rapper, S.D., Kamatou, G., Viljoen, A., and Vuuren, S.V. 2013. The invitro Antimicrobial Activity of *Lavandulaangustifolia*Essential Oil in Combination with Other Aroma-Therapeutic Oils. J Evid Based Complementary Altern Med. 10:1-10

9. Rodríguez-Núñez, J.R., López-Cervantes, J., Sánchez-Machado, D.I., Ramírez-Wong, B., Torres-Chavez, P., and Cortez-Rocha, M.O. 2012. Antimicrobial activity of chitosan-based films against *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus.* Int J Food Sci Technol. 47: 2127–2133.
10. SoltanDallal, M., GhorbanzadeMashkani, M., Yazdi, M., Agha Amiri, S., Mobasseri, G., and AbediMohtasab, T. 2011. Antibacterial effects of *Rosmarinus officinalis* on Methicillin -resistant *Staphylococcus aureus* isolated from patients and foods. SJKU. 16: 73-80
11. Zivanovic, S., Chi, S., and Draughon, F. 2005. Antimicrobial Activity of ChitosanFilms Enriched with Essential Oils. J Food Sci. 70: 45-90.
12. Zohra, M and Atik, F. 2011. Antibacterial activity of essential oils from Cistus *Ladaniferus* L. and *Lavandula stoechas* L. Pharm Tech. 3: 484-487.

Antimicrobial effect of Chitosan film incorporated with *Lavandula stoechas* on some food-borne bacteria

Mashak Z[1*], Fayazfar S[2], Cheraghi N[3]

1. Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University of Karaj, Karaj, Iran.

2. Studenet of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

3. Ph.D Student of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

[*]**Corresponding author:** *zohreh_mashak@yahoo.com*

Received: 2015.11.02 Accepted: 2016.05.04

Abstract

Nowadays, application of antimicrobial films for food packaging have been increased. The present study was carried out in order to investigate the antimicrobial activity of chitosan films containing 1–4% (v⁄v) *Lavandula stoechas* essential oil (EO) on some food-borne pathogenic bacteria (*Listeria monocytogenes, Bacillus cereus, Vibrio parahaemolyticus, Staphylococcus aureus and Escherichia coli* O157:H7). Circular discs of chitosan films containing different concentration of *Lavandula stoechas* essential oil were placed on bacterial lawn. The result of this study showed Incorporation of chitosan film with EO showed significant antimicrobial effects ($P < 0.05$). Chitosan films incorporated with 4% v⁄v of EO inhibited the growth of all tested pathogenic bacteria. Maximum and minimum antimicrobial effect of chitosan films containing *Lavandula stoechas* essential oil was achived for *Vibrio parahaemolyticus* and *Escherichia coli* O157:H7 Transparency of film was reduced by increasing of EO. These results showed that Chitosan films containing *Lavandula stoechas* EO can be used for packaging foods.

Keywords: Foodborne pathogenic bacteria, Chitosan, *Lavandula stoechas* essential oil.