ارزیابی خصوصیات ضد میکروبی عصاره میخک، عصاره دارچین و اسید استیک بر علیه *سالمونلا انتریتیدیس* و *شیگلا فلکسنری* و تعیین اثرات سینرژیستی آن

عاطفه بزرگی[1*]، مهدی شریفی سلطانی[2]

۱.گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، بابل، ایران

۲. دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد چالوس، چالوس، ایران

چکیده

سابقه و هدف: استفاده از گیاهان دارویی از زمان‌های گذشته برای درمان انواع بیماری‌های گوناگون مورد توجه بوده است که از این بین، بیماری‌های عفونی اهمیت والایی داشته‌اند. هدف از این مطالعه بررسی خصوصیات ضدمیکروبی عصاره گیاهان دارچین و میخک و عصاره اسید استیک بر دو نوع از میکروارگانیسم‌های عفونی انسان شامل *سالمونلا انتریتیدیس* و *شیگلا فلکسنری* بوده است.

مواد و روش‌ها: عصاره میخک، عصاره دارچین و اسید استیک با درصد غلظت‌های مختلف تهیه و در ۱۸ گروه تیمار مختلف بررسی شدند. خصوصیات ضد میکروبی در هر یک از این گروه‌های تیمار بر علیه *سالمونلا انتریتیدیس* و *شیگلا فلکسنری* مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته‌ها: عصاره دارچین در غلظت ۳۹/۰۶ میلی‌گرم در میلی لیتر و ۳۰/۴۲ میلی‌گرم در میلی لیتر به ترتیب باعث مهار رشد *سالمونلا انتریتیدیس* و *شیگلا فلکسنری* شد. عصاره میخک در غلظت ۱۵/۲۱ میلی‌گرم در میلی لیتر و ۷/۶۱ میلی‌گرم در میلی لیتر به ترتیب باعث مهار رشد *سالمونلا انتریتیدیس* و *شیگلا فلکسنری* شد. اسید استیک در غلظت ۳/۸۲ میلی‌گرم در میلی لیتر و ۱/۷۱ میلی‌گرم در میلی لیتر به ترتیب باعث مهار رشد *سالمونلا انتریتیدیس* و *شیگلا فلکسنری* شد. نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از مطالعه نشان داد که خصوصیت ضد میکروبی به ترتیب برتری برای اسید استیک، عصاره میخک و عصاره دارچین بر علیه *سالمونلا انتریتیدیس* و *شیگلا فلکسنری* بوده است. همچنین مشخص شد که استفاده توامان از این سه ماده ضد میکروب در همه موارد باعث افزایش قدرت ضد میکروبی نشده و در برخی موارد اثرات افزایشی و یا آنتاگونیستی را نشان داده است. با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان با توجه به ماهیت غذا بهترین نوع ترکیب را با حداکثر کارایی در نظر گرفت.

کلمات کلیدی: *سالمونلا انتریتیدیس*، *شیگلا فلکسنری*، دارچین، میخک، اسید استیک

Evaluation of antimicrobial properties of clove extract, cinnamon extract and acetic acid against *Salmonella enteritidis* and *Shigella flexneri* and determining its synergistic effects

Atefeh Bozorgi[1*], Mehdi Sharifi Soltani[2]

1. Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Babol Branch, Babol, Iran.

2. Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Chalus branch, Chalus, Iran

Introduction: The medicinal plants to treat various diseases has been of interest since the past, among which infectious diseases have been of great importance. The purpose of this study was to investigate the antimicrobial properties of clove plant extract and cinnamon extract and acetic acid on two types of human infectious microorganisms, including *Salmonella enteritidis* and *Shigella flexneri.*

Methods: clove extract, cinnamon extract and acetic acid were prepared with different concentration percentages and were evaluated in 18 different treatment groups. Antimicrobial properties studied in these treatment groups against *Salmonella enteritidis* and *Shigella flexneri.*
Results: Cinnamon extract at 39.06 mg/ml and 30.42 mg/ml inhibited the growth of *Salmonella enteritidis* and *Shigella flexneri*, respectively. Clove extract at a concentration of 15.21 mg/ml and 7.61 mg/ml inhibited the growth of *Salmonella enteritidis* and *Shigella flexneri*, respectively. Acetic acid at a concentration of 3.82 mg/ml and 1.71 mg/ml inhibited the growth of *Salmonella enteritidis* and *Shigella flexneri*, respectively.

Conclusion: The results of the study showed that acetic acid, clove extract and cinnamon extract were superior against *Salmonella enteritidis* and *Shigella flexneri* respectively. It was also found that the combined use of these three antimicrobial substances did not increase the antimicrobial power in all cases and showed additive or antagonistic effects in some cases. According to the results of this research, the best type of combination with maximum efficiency can be considered according to the nature of the food.

Key words: *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, cinnamon, cloves, acetic acid

مقدمه

علـم شناسـائی و اسـتفاده از گـیاهان دارویـی قدمت طولانی دارد و استفاده از این گیاهان از اصلی‌ترین راهکارهای درمان بیماری‌ها، زخم‌ها و آسیب‌های گوناگون وارده به بدن انسان بوده است. با توجه به پیشرفت سریع و روزافزون علم و تکنولوژی ترکیبات شیمیایی جایگزین این داروهای گیاهی شدند اما امروزه بسیاری از دانشـمندان به استفاده مجدد از داروهای گیاهـی روی آورده‌انـد. در حال حاضر بررسی اثـرات ضـد میکروبـی، ضد سـرطانی و ضد قارچی گیاهان منشأ بسیاری از پژوهش‌ها بوده است (۱) *سالمونلا* باکتری میله‌ای شکل، گرم منفی، بی هوازی اختیاری و فاقد اسپور از خانواده آنتروباکتریاسه است که از نظر اندازه متفاوت است (۲). این باکتری مسبب ایجاد بیماری سالمونلوز می‌باشد که یکی از بیماری‌های عمده حاصل از مواد غذایی است و منجر به نگرانی‌هایی در سطح بهداشت عمومی است (۳). از بین سروتیپ‌های مختلف *سالمونلا*، سروتیپ‌های *سالمونلا اینتریتیدس* و *سالمونلا تیفی موریوم* در مقام اول مسمومیت-های غذایی قرار دارند (۴). *شیگلاها*، باسیل‌های گرم منفی، غیر هاگدار و غیر متحرک از خانواده آنتروباکتریاسه هستند که از نظر ژنتیکی و فنوتیپی قرابت نزدیکی با *اشرشیا کولای* و گونه‌های جنس *سالمونلا* دارند (۵). شیگلا فقط در انسان و نخستین‌سانان بیماریزا بوده اما در سایر جانوران بیماریزایی ندارد. این باکتری موجب اسهال خونی در انسان می‌شود (۶). میخک با نام علمی *سیزگیوم آروماتیکوم* یکی از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی جهان است که همچنان در صنعت پزشکی و دارویی کاربرد دارد که در حال حاضر در کشورهای هند، اندونزی، ماداگاسکار، زنگبار، پاکستان، ویتنام و سریلانکا برداشت می‌شود(۲۹،۳۶و۷). ماده موثره اسانس میخک، اوژنول است که به دلیل خصوصیات ضد میکروبی نمایانگر این ویژگی در اسانس و عصاره میخک می‌باشد(۸). در تحقیق Mounika و همکاران که در سال ۲۰۲۰ انجام شد خصوصیات ضد میکروبی اسانس میخک در شرایط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفت. در این تحقیق مشخص شد که غلظت ۱۵ و ۱۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس میخک باعث مهار رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کولای* شده است (۹). در پژوهش دیگری که در سال ۲۰۱۹ بر روی خصوصیات ضد میکروبی اسانس میخک هندی انجام شد، تایید گردید که اسانس میخک بر علیه *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا کولای*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *سالمونلا تیفیموریوم* خاصیت ضد میکروبی دارد ولی این خصوصیت در غلظت‌های مختلف اسانس متفاوت است (۱۰). دارچین با نام علمی *سینامونیوم کاسیا* به عنوان گیاه دارویی و ادویه‌ای بوده است که کاربردهای فراوانی در آشپزی و شیرینی‌پزی دارد و در هندوستان و چین می‌روید (۳۰). اسانس دارچین در بسته‌بندی مواد غذایی مورد استفاده بوده است و نشانگر خصوصیات ضد میکروبی می‌باشد(۱۱). در پژوهشی عصاره روغنی دارچین با غلظت ۰/۴٪ علیه *سالمونلا انتریتیدیس* استفاده شد و حاکی از کاهش فعالیت میکروبی علیه این باکتری بوده است (۱۲). در پژوهش‌های متعددی ذکر شده که عصاره روغنی گیاهان میخک و دارچین دارای اثرات ضد میکروبی علیه پاتوژن‌های غذازاد (Food-Borne) می‌باشد (۱۶-۱۳، ۷) همچنین در پژوهشی در سال ۲۰۲۱ نشان داده

نویسنده مسئول: استادیار ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل

آدرس الکترونیک :
soso_dp@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۰۲/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۲۲

شد که عصاره روغنی میخک و دارچین منجر به کاهش کلونیزه شدن باکتری *سالمونلا* می‌شود(۱۷). در پژوهش دیگری که به صورت درون تنی علیه پاتوژن‌های غذایی به واسطه حضور میخک و دارچین انجام گرفت نشان از عملکرد موثر این دو گیاه دارویی علیه فعالیت میکروبی بوده است(۱۸). استیک اسید جز اسیدهای کربوکسیلیک می‌باشد و در نامگذاری آیوپاک به اتانوئیک اسید معروف است و دارای فرمول شیمیایی CH3COOH می‌باشد (۱۹). این اسید در صنعت غذا، تحت کد افزودنی E260 به عنوان تنظیم اسیدیته و به عنوان چاشنی استفاده می‌شود(۲۰). اسید استیک به عنوان یک ماده افزودنی در مواد غذایی نظیر سس کچاپ، سرکه، سس سالاد، میوه های کنسرو شده، انواع سس، مایونز، خردل و غذاهای دریایی استفاده می‌شود. این اسید به طور گسترده در سایر مواد غذایی مانند لبنیات، شیر و پنیر، مرغ و گوشت به کار می رود(۲۱). در پژوهشی که بر روی خصوصیات ضد میکروبی اسید استیک انجام گرفت، مشخص شد که باکتری‌های *باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *شیگلا دیزانتریه* و *سالمونلا تیفی* به استفاده از اسید استیک حساس بودند و این اسید نمایانگر اثرات ضد میکروبی بر این باکتری‌ها بوده است(۲۲). در پژوهشی دیگر مشخص گردید استیک اسید در مقایسه با سیتریک اسید و لاکتیک اسید، بیشترین فعالیت ضد میکروبی را علیه گونه‌های *شیگلا سونی*، *شیگلا بویدی*، *شیگلا فلکسنری* و *شیگلا دیسنتریا* دارد که در این مطالعه از غلظت ۰/۵٪ از استیک اسید استفاده شد (۲۳). همچنین در مطالعه دیگری میزان ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از استیک اسید به تنهایی و یا همراه با مالیک اسید علیه *سالمونلا* استفاده شد و نشان داد بیشترین فعالیت میکروبی مربوط به زمانی است که استیک اسید همراه با مالیک اسید استفاده شده است (۲۴). در مطالعه Cosansu و همکاران، سینه و ران مرغ آغشته به *سالمونلا انتریدیتیس* ($4-5\log (MPN)/cm^2$) شده و سپس در استیک اسید ۱ و ۲٪ غوطه ور شد و کاهش بار آلودگی میکروبی را نشان داد (۲۵). در این پژوهش ما به بررسی و تعیین خصوصیات ضد میکروبی عصاره دارچین، عصاره میخک و استیک اسید برعلیه *سالمونلا انتریتیدیس* و *شیگلا فلکسنری* پرداخته و ارزیابی خصوصیات سینرژیستی ضد میکروبی استفاده توامان عصاره میخک، عصاره دارچین و اسید استیک را بر ضد *سالمونلا انتریتیدیس* و *شیگلا فلکسنری* بررسی کردیم.

مواد و روش ها

فعال سازی باکتری‌های *سالمونلا انتریتیدیس* و *شیگلا فلکسنری*

باکتری *سالمونلا انتریتیدیس* (ATCC ۱۳۰۷۶) و باکتری *شیگلا فلکسنری* (ATCC۱۲۰۲۲) پس از تهیه از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی شهریار کرج، به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشگاه بابل منتقل شد و برای دو مرتبه متوالی در محیط نوترینت براث کشت داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند تا فعال شوند. تیمارهای مورد مطالعه بر اساس جدول ۱ تهیه شد که ترکیبی از عصاره میخک، عصاره دارچین و اسید استیک بوده است (جدول ۱).

جدول ۱. تیمارهای مطالعه

تیمار	میخک٪	دارچین٪	اسید استیک٪
۱	۱۰۰	۰	۰
۲	۸۰	۲۰	۰
۳	۶۰	۴۰	۰
۴	۶۰	۲۰	۲۰
۵	۴۰	۴۰	۲۰
۶	۵۰	۵۰	۰
۷	۰	۱۰۰	۰
۸	۲۰	۸۰	۰
۹	۴۰	۶۰	۰
۱۰	۲۰	۶۰	۲۰
۱۱	۰	۰	۱۰۰
۱۲	۰	۲۰	۸۰
۱۳	۲۰	۰	۸۰
۱۴	۲۰	۲۰	۶۰
۱۵	۰	۴۰	۶۰
۱۶	۴۰	۰	۶۰
۱۷	۵۰	۰	۵۰
۱۸	۰	۵۰	۵۰

آزمون حداقل غلظت ممانعت از رشد باکتری (MIC)

برای تعیین حداقل غلظت متابولیت که باعث مهار رشد باکتری شده بود به روش ۱۱ لوله عمل شد. برای این کار ابتدا سوسپانسیون میکروبی از باکتری *سالمونلا انتریتیدیس* با غلظت معادل کدورت نیم مک فارلند تهیه شد. ۱۱لوله آزمایش تهیه شد که هر لوله حاوی ۱ میلی‌لیتر محیط کشت تریپتیک سوی براث بوده است. سپس لوله‌ها شماره گذاری شدند و به هر لوله ۱۰ لاندا از سوسپانسیون نیم مک فارلند *سالمونلا انتریتیدیس* اضافه شد. پس از مخلوط کردن محتویات لوله اول، مقدار ۱ میلی‌لیتر از این لوله به لوله دوم منتقل شد و این کار تا لوله ۱۱ ادامه یافت. لوله شماره ۱۱ در حکم شاهد بود و به آن استوک تیمار اضافه نشد. در انتها لوله‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت

انکوبه شدند. لوله ای که در آن کدورت ناشی از رشد دیده نشد به عنوان غلظت ممانعت از رشد در نظر گرفته شد. این عمل برای باکتری *شیگلا فلکسنری* نیز به طور جداگانه انجام گرفت.

تعیین اثرات برهمکنشی

برای تعیین برهمکنش ضد میکروبی با استفاده از روابط ۱ و ۲ مقدار FIC هر ماده جداگانه محاسبه شد.

رابطه :۱

FIC A: MIC of A in combination/MIC of A alone.

رابطه :۲

FIC A: MIC of A in combination/MIC of A alone.

و در ادامه برای تعیین شاخص FIC از رابطه ۳ استفاده شد.

رابطه :۳

FIC Index: FIC A + FIC B.

یا

FIC Index: FIC A + FIC B + FIC C.

تفسیر نتایج طبق جدول ۲ عمل شد (۳۷).

جدول ۲ تفسیر نتایج شاخص FIC

مقدار شاخص FIC	تفسیر
کمتر از ۰/۵	اثرسینرژیستی
۰/۵ تا ۵	اثر افزایشی
بیش از ۴	اثر آنتاگونیستی

آنالیز آماری

در این مطالعه تمامی آزمون‌ها با ۳ تکرار انجام شدند و میانگین نتایج به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS ورژن ۲۰ و آزمون واریانس یک طرفه و تست دانکن با سطح اطمینان ۹۵ درصد ارائه شده و نمودارها با استفاده از نرم افزار اکسل ۲۰۱۶ طراحی شدند.

نتایج

نتایج آزمون میکروبی MIC

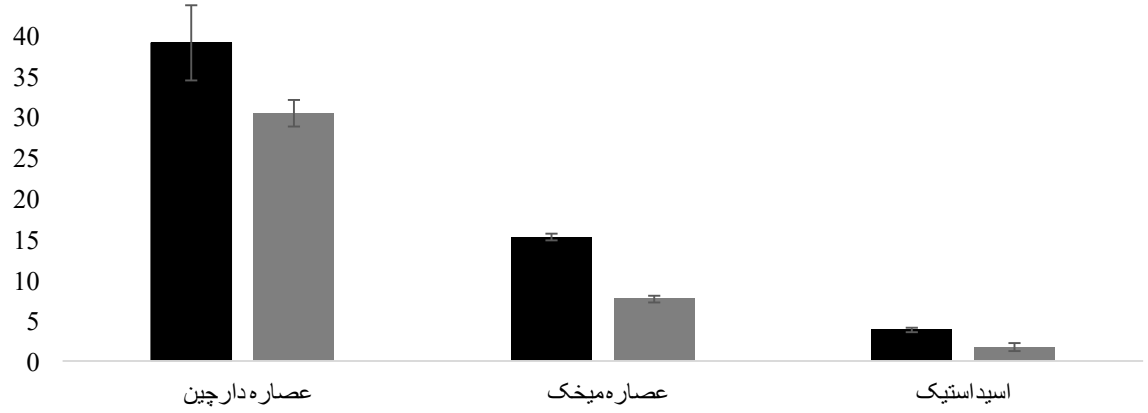
طبق نتایج به دست آمده میزان MIC برای باکتری‌های *شیگلا فلکسنری* و *سالمونلا انتریتیدیس* در جدول ۳ آورده شده است.

جدول ۳. نتایج آزمون میکروبی MIC

	MIC	
تیمار	*سالمونلا انتریتیدیس*	*شیگلا فلکسنری*
عصاره دارچین	۳۹/۰۶ ± ۴/۶۲ ^{Cb}	۳۰/۴۲ ± ۱/۶۲ ^{Ca}
عصاره میخک	۱۵/۲۱ ±۰/۴۱ ^{Bb}	۷/۶۱ ± ۰/۴۱ ^{Ba}
اسید استیک	۳/۸۲ ± ۰/۲۷ ^{Ab}	۱/۷۱ ± ۰/۴۹ ^{Aa}

حروف بزرگ لاتین به معنی اختلاف معنی دار در هر ستون است.
حروف کوچک لاتین به معنی اختلاف معنی دار در هر سطر است.

بر اساس نتایج مقاومت *سالمونلا انتریتیدیس* نسبت به اسید استیک کمتر بود و بعد آن به عصاره میخک و دارچین حساسیت داشت. همچنین در مورد *شیگلا فلکسنری* نیز بیشترین میزان حساسیت به ترتیب مربوط به اسید استیک، عصاره میخک و عصاره دارچین بود. به علاوه نتایج حاکی از آن بود که *شیگلا فلکسنری* نسبت به *سالمونلا انتریتیدیس* حساسیت بیشتری به عصاره دارچین، عصاره میخک و اسید استیک داشته است (نمودار ۱).



نمودار۱. میزان MIC برای باکتریهای مورد مطالعه .

نتایج آزمون میکروبی *سالمونلا انتریتیدیس*

نتایج آزمون‌ها در جدول ۴ آورده شده است.

جدول ۴. نتایج آزمون حداقل غلظت ممانعت از رشد میکروبی *سالمونلا انتریتیدیس*

تیمار	میخک٪	دارچین٪	اسید استیک٪	MIC SD	MIC Mean
۱	۱۰۰	۰	۰	۰/۴۱	۱۵/۲۱
۲	۸۰	۲۰	۰	۱/۸۱	۲۷/۳۴
۳	۶۰	۴۰	۰	۱/۶	۳۰/۴۴
۴	۶۰	۲۰	۲۰	۰/۱۵	۷/۷۳
۵	۴۰	۴۰	۲۰	۰/۰۹	۷/۸۶
۶	۵۰	۵۰	۰	۰/۳۴	۷/۹۸
۷	۰	۱۰۰	۰	۴/۶۲	۳۹/۰۶
۸	۲۰	۸۰	۰	۱/۷۸	۱۹/۵۳
۹	۴۰	۶۰	۰	۰/۸۱	۱۵/۲۱
۱۰	۲۰	۶۰	۲۰	۱/۹	۱۱/۷۱
۱۱	۰	۰	۱۰۰	۰/۱۵	۳/۸۲

۱۲	۰	۲۰	۸۰	۰/۲۷	۲/۴۳
۱۳	۲۰	۰	۸۰	۰/۰۷	۱/۱۹
۱۴	۲۰	۲۰	۶۰	۰/۱۷	۴/۰۵
۱۵	۰	۴۰	۶۰	۰/۲۴	۳/۹
۱۶	۴۰	۰	۶۰	۰/۱۷	۳/۷۵
۱۷	۵۰	۰	۵۰	۰/۱۲	۵/۴۵
۱۸	۰	۵۰	۵۰	۰/۱۱	۵/۶۲

نتایج آزمون میکروبی *شیگلا فلکسنری*

نتایج آزمونها در جدول ۵ آورده شده است.

جدول ۵ نتایج آزمون حداقل غلظت ممانعت از رشد میکروبی *شیگلا فلکسنری*

تیمار	میخک٪	دارچین٪	اسید استیک٪	MIC SD	Mean
۱	۱۰۰	۰	۰	۰/۴۱	۷/۶۱
۲	۸۰	۲۰	۰	۳/۷۱	۱۱/۵۱
۳	۶۰	۴۰	۰	۱/۶۲	۳۰/۴۲
۴	۶۰	۲۰	۲۰	۰/۲۱	۷/۶۱
۵	۴۰	۴۰	۲۰	۰/۱۹	۷/۹۱
۶	۵۰	۵۰	۰	۰/۷۹	۱۶/۳۱
۷	۰	۱۰۰	۰	۱/۶۲	۳۰/۴۲
۸	۲۰	۸۰	۰	۷/۴۳	۲۶/۵۳
۹	۴۰	۶۰	۰	۷/۶۱	۱۹/۸۷
۱۰	۲۰	۶۰	۲۰	۰/۳۴	۷/۹۸
۱۱	۰	۰	۱۰۰	۰/۴۹	۱/۷۱
۱۲	۰	۲۰	۸۰	۰/۳۷	۳/۳

۱۳	۲۰	۰	۸۰	۰/۰۸	۱/۹۹
۱۴	۲۰	۲۰	۶۰	۰/۱۵	۳/۸۲
۱۵	۰	۴۰	۶۰	۰/۲۷	۲/۴۳
۱۶	۴۰	۰	۶۰	۰/۰۵	۱/۹۷
۱۷	۵۰	۰	۵۰	۰/۰۷	۱/۹۱
۱۸	۰	۵۰	۵۰	۰/۳۲	۲/۳۶

تعیین برهمکنش ضد میکروبی

نتایج برهمکنش ضد میکروبی *سالمونلا انتریتیدیس*

نتایج آنالیز داده‌ها برای تعیین برهمکنش ضد میکروبی باکتری *سالمونلا انتریتیدیس* در جدول ۶ نشان داده شده است که در همه موارد تیمارها برهمکنش ضد میکروبی به صورت افزایشی بوده است بجز تیمار شماره ۱۰ که آنتاگونیست بوده است.

جدول ۶ نتایج برهمکنش ضد میکروبی *سالمونلا انتریتیدیس*

برهمکنش ضد میکروبی	FICindex	اسیدFIC	دارچینFIC	میخکFIC	تیمار
افزایشی	۲/۴۸	-	۰/۶۹	۱/۷۹	۱
افزایشی	۲/۷۷	-	۰/۷۷	۲	۲
افزایشی	۲/۷۱	۲/۰۲	۰/۱۹	۰/۵	۳
افزایشی	۲/۷۶	۲/۰۵	۰/۲	۰/۵۱	۴
افزایشی	۰/۷۲	-	۰/۲	۰/۵۲	۵
افزایشی	۱/۷۸	-	۰/۵	۱/۲۸	۶

افزایشی	۱/۸۳	-	۰/۳۸	۱	۷
آنتاگوتیست	۴/۱۱	۳/۰۶	۰/۲۹	۰/۷۶	۸
افزایشی	۰/۶۹	۰/۶۳	۰/۰۶	-	۹
افزایشی	۰/۳۸	۰/۳۱	-	۰/۰۷	۱۰
افزایشی	۱/۴۲	۱/۰۶	۰/۱	۰/۲۶	۱۱
افزایشی	۱/۱۱	۱/۰۲	۰/۰۹	-	۱۲
افزایشی	۱/۲۲	۰/۹۸	-	۰/۲۴	۱۳
افزایشی	۱/۷۱	۱/۴۲	-	۰/۳۵	۱۴
افزایشی	۱/۶۱	۱/۴۷	۰/۱۴	-	۱۵

نتایج برهمکنش ضد میکروبی *شیگلا فلکسنری*

نتایج آنالیز داده‌ها برای تعیین برهمکنش ضد میکروبی باکتری *شیگلا فلکسنری* در جدول ۷ نشان داده شده است و حاکی از آن بوده است که در تیمارهای شماره ۳، ۴، ۵، ۸ و ۱۰ برهمکنش ضد میکروبی به صورت آنتاگونیست بوده است و در سایر تیمارها به صورت افزایشی بوده است.

جدول ۷ نتایج برهمکنش ضد میکروبی باکتری *شیگلا فلکسنری*

برهمکنش ضد میکروبی	FICindex	اسیدFIC	دارچینFIC	میخکFIC	تیمار
افزایشی	۱/۸۸	–	۰.۳۷	۱/۵۱	۱
آنتاگوتیست	۴/۹۹	–	۱	۳/۹۹	۲
آنتاگوتیست	۵/۷	۴/۴۵	۰/۲۵	۱	۳
آنتاگوتیست	۵/۹۱	۴/۶۲	۰/۲۶	۱/۰۳	۴
افزایشی	۲/۶۷	–	۰/۵۳	۲/۲۴	۵
آنتاگوتیست	۴/۳۵	–	۰/۸۷	۳/۴۸	۶
افزایشی	۳/۲۶	–	۰/۶۵	۲/۶۱	۷
آنتاگوتیست	۵/۹۶	۴/۶۶	۰/۲۶	۱/۰۴	۸

افزایشی	۲/۰۲	۱/۹۲	۰/۱	–	۹
افزایشی	۱/۴۲	۱/۱۶	–	۰/۲۶	۱۰
افزایشی	۲/۸۵	۲/۲۳	۰/۱۲	۰/۵	۱۱
افزایشی	۱/۵	۱/۴۲	۰/۰۸	–	۱۲
افزایشی	۱/۴	۱/۱۵	–	۰/۲۵	۱۳
افزایشی	۱/۳۶	۱/۱۱	–	۰/۲۵	۱۴
افزایشی	۱/۴۵	۱/۳۸	۰/۰۷	–	۱۵

بحث

افزایش نگرانی مردم و مراجع بهداشتی از نگهدارنده‌های شیمیایی باعث شد تا صنعت غذا به دنبال جایگزین‌های طبیعی آن برود. استفاده از اسانس و عصاره گیاهی در غذا ایراداتی دارد که مهمترین آن احتمال واکنش با ترکیبات اصلی موجود در غذا اعم از اسید، نمک، چربی و پروتئین مواد غذایی می‌باشد (۱). با توجه به این مهم که باکتری‌هایی اعم از *سالمونلا انتریدیتیس* و *شیگلا فلکسنری* از عمده باکتری-های مسمویت‌زا در مواد غذایی بوده و می‌توانند اثرات جبران ناپذیری را در فرد درگیر ایجاد کند، این پژوهش در راستای حذف و کاهش فعالیت این دو باکتری در صنعت مواد غذایی کوشیده است. از بین گیاهان دارویی مختلف دارچین و میخک را به علت دارا بودن محتوای ضدمیکروبی گوناگون مورد بررسی قرار گرفتند. دارچین دارای مواد ضد میکروب متعددی است که از آن جمله می‌توان به آلدئید سینامیک، فنل‌ها، مخصوصا اوژنول همراه با فلاندرن، سافرول و به مقدار کمتر فورفورول اشاره کرد (۱۶و۲۶). میخک نیز ترکیباتی دارد که مسئول خصوصیت ضد میکروبی هستند مانند اوژنول، اوژنول استات و هپتاکوزان (۱۶). در این تحقیق استفاده توامان و تکی عصاره آبی میخک و دارچین در مجاورت اسید استیک که یک اسید آلی می‌باشد ارزیابی شده است. در تحقیق حاضر عصاره دارچین در غلظت ۳۹/۰۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و ۳۰/۴۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به ترتیب باعث مهار رشد *سالمونلا انتریتیدیس* و *شیگلا فلکسنری* شد. قبلا نیز تحقیقات نشان داده شد که دارچین دارای خصوصیات ضد میکروبی است. در تحقیق اجاق و همکاران در سال ۱۳۹۱ اثر ضد باکتریایی اسانس پوست دارچین در شرایط آزمایشگاهی ارزیابی شد و مشخص شد که حداقل غلظت بازداری اسانس دارچین در مقابل باکتری‌های گرم منفی ۵۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بوده است (۳۱). در تحقیق عبداله زاده و همکاران در سال ۱۳۹۶، فعالیت ضد باکتریایی اسانس دارچین علیه *لیستریا مونوسیتوژنز* مطالعه شد که نتایج اثر ضد میکروبی آن را نشان داد (۳۲). خصوصیات ضد میکروبی اسانس و عصاره دارچین در پژوهش‌های متعددی بررسی شد و در همه موارد نتایج همراستا با نتایج تحقیق حاضر بوده است (۳۳). عصاره میخک در غلظت ۱۵/۲۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و ۷/۶۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به ترتیب باعث مهار

رشد *سالمونلا انتریتیدیس* و *شیگلا فلکسنری* شد. در همین راستا نتایج تحقیق Hu و همکاران حاکی از آن بود که خصوصیات ضد میکروبی اسانس میخک را نشان داد و می‌توان به عنوان ماده ضد میکروب در غذا استفاده کرد که به وسیله آن عمر ماندگاری محصول را افزایش داد (۲۷). مشابه همن ادعا در تحقیق دیگری نیز ذکر شد. در این تحقیق اسانس میخک بر علیه باکتری‌های گرم منفی مورد مطالعه قرار گرفت و مشخص شد که تقریبا تامی باکتری‌های مورد مطالعه به اسانس میخک حساس هستند (۲۸). اسید استیک در غلظت ۳/۸۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و ۱/۷۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به ترتیب باعث مهار رشد *سالمونلا انتریتیدیس* و *شیگلا فلکسنری* شد. در مطالعه‌ایی مشخص شده بود که باکتری‌های *باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *شیگلا دیزانتریه* و *سالمونلا تیفی* به اسانس گیاهان دارویی حساس هستند ولی استفاده از اسید استیک باعث تقویت اثرات ضد میکروبی اسانس شده بود(۲۲). نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که عصاره دارچین، عصاره میخک و اسید استیک بر روی باکتری‌های *سالمونلا انتریتیدیس* و *شیگلا فلکسنری* اثر ضد میکروبی دارند که این خصوصیت ضد میکروبی به ترتیب برای اسید استیک، عصاره میخک و عصاره دارچین بوده است. همچنین مشخص شد که استفاده توامان از این سه ماده ضد میکروب همیشه باعث افزایش قدرت ضد میکروبی نشده و در برخی موارد اثرات افزایشی و در برخی دیگر اثرات آنتاگونیستی داشته است. برای مثال در تیمار شماره ۱۰ (۲۰٪ عصاره میخک، ۶۰ ٪ عصاره دارچین و ۲۰٪ اسید استیک) برای *سالمونلا انتریتیدیس* حالت آنتاگونیستی داشت و تیمارهای شماره ۳ (۶۰ ٪ عصاره میخک و ۴۰ ٪ عصاره دارچین)، تیمار شماره ۴ (۶۰ ٪ عصاره میخک، ۲۰ ٪ عصاره دارچین و ۲۰ ٪ اسید استیک)، تیمار شماره ۵ (۴۰ ٪ عصاره میخک، ۴۰ ٪ عصاره دارچین و ۲۰ ٪ اسید استیک)، تیمار شماره ۸ (۲۰٪ عصاره میخک و ۸۰ ٪ عصاره دارچین) و تیمار شماره ۱۰ (۲ ٪ عصاره میخک و ۶۰ ٪ عصاره دارچین و ۲۰ ٪ اسید استیک) برای *شیگلا فلکسنری* حالت آنتاگونیستی داشتند. بنابر نتایج این پژوهش می‌توان بهترین نوع ترکیب را با حداکثر کارایی با توجه به ماهیت ماده غذایی در نظر گرفت. در مجموع با استناد به نتایج به دست آمده از این تحقیق می توان در آینده خصوصیات ضد میکروبی و برهم کنش ضد میکروبی سایر اسیدهای آلی و خصوصیات ضد میکروبی و برهم کنش ضد میکروبی ترکیبات ضد میکروب طبیعی بر سایر میکروب‌های مهم در صنعت غذا و خصوصیات ضد میکروبی و برهم کنش ضد میکروبی ترکیبات طبیعی با نگه-دارنده‌های شیمیایی را مورد مطالعه قرار داد تا بتوان بهترین روش‌ها و ماده‌های موثر در کاهش بار میکروبی غذا را بدست آورد.

Reference

1. Pradhan S, Huidrom P. Antimicrobial properties and phytochemical analysis of some medicinal plants: A review. Inter J Sci Res. 2024;13(1):508-11.
2. Lee KM, Runyon M, Herrman TJ, Phillips R, Hsieh J. Review of Salmonella detection and identification methods: Aspects of rapid emergency response and food safety. Food Control. 2015;47:264-76.
3. Johnson R, Mylona E, Frankel G. Typhoidal Salmonella: Distinctive virulence factors and pathogenesis. Cellular Microbiol. 2018;20(9):e12939.
4. Kenney LJ. The role of acid stress in Salmonella pathogenesis. Curr Opin Microbiol. 2019;47:45-51.
5. Lampel KA, Formal SB, Maurelli AT. A brief history of Shigella. EcoSal Plus. 2018;8(1):14-7.
6. Schnupf P, Sansonetti PJ. Shigella pathogenesis: New insights through advanced methodologies. Microbiol Spectrum. 2019;7(2):7-2.
7. Maggini V, Semenzato G, Gallo E, Nunziata A, Fani R, Firenzuoli F. Antimicrobial activity of Syzygium aromaticum essential oil in human health treatment. Molecules. 2024;29(5):999.

8. Marchese A, Barbieri R, Coppo E, Orhan IE, Daglia M, Nabavi SF, Ajami M. Antimicrobial activity of eugenol and essential oils containing eugenol: A mechanistic viewpoint. Crit Rev Microbiol. 2017;43(6):668-83.
9. Mounika AMA, Sushma MSM, Sidde LSL, Malathi SMS, Rajani KRK. In vitro evaluation of antimicrobial activity of clove buds (Euginea aromatica). Inter J Indigenous Herbs Drugs. 2020;25-33.
10. Radünz M, da Trindade MLM, Camargo TM, Radünz AL, Borges CD, Gandra EA, Helbig E. Antimicrobial and antioxidant activity of unencapsulated and encapsulated clove (Syzygium aromaticum, L.) essential oil. Food Chem. 2019;276:180-6.
11. Matan N, Rimkeeree H, Mawson AJ, Chompreeda P, Haruthaithanasan V, Parker M. Antimicrobial activity of cinnamon and clove oils under modified atmosphere conditions. Int J Food Microbiol. 2006;107(2):180-5.
12. Tsai HC, Sheng L, Zhu MJ. Antimicrobial efficacy of cinnamon oil against Salmonella in almond-based matrices. Food Control. 2017;80:170-5.
13. Al Bayati MHM, Cengiz MF, Kitiş YE, Çınar O. Comparison of antimicrobial activities of oregano, lavender, sage, anise and clove extracts obtained by supercritical fluid carbon dioxide extraction and essential oils obtained by hydrodistillation. J Essen Oil Res. 2024;1-13.
14. Burin RCK, Silva JA, Nero LA. Influence of lactic acid and acetic acid on Salmonella spp. growth and expression of acid tolerance-related genes. Food Res Inter. 2014;64:726-32.
15. Iseppi R, Truzzi E, Sabia C, Messi P. Efficacy and synergistic potential of cinnamon (Cinnamomum zeylanicum) and clove (Syzygium aromaticum L. Merr. & Perry) essential oils to control food-borne pathogens in fresh-cut fruits. Antibiotics. 2024;13(4):319.
16. Kaur M, Sharma S, Kalia A, Sandhu N. Essential oils and their blends: mechanism of antibacterial activity and antibiofilm potential on food-grade maize starch packaging films. Inter Microbiol. 2024;1-18.
17. Lang M, Montjarret A, Duteil E, Bedoux G. Cinnamomum cassia and Syzygium aromaticum essential oils reduce the colonization of Salmonella Typhimurium in an in vivo infection model using Caenorhabditis elegans. Molecules. 2021;26(18):5598.
18. Banik A, Abony M, Zerin T, Datta S. Antibacterial activity of Allium sativum, Syzygium aromaticum, and Cinnamomum zeylanicum against food borne pathogens in vitro. IOSR J Pharm Biol Sci. 2018;13:68-73.
19. Wang B, Shao Y, Chen F. Overview on mechanisms of acetic acid resistance in acetic acid bacteria. World J Microbiol Biotechnol. 2015;31(2):255-63.
20. Gomes RJ, de Fatima Borges M, de Freitas Rosa M, Castro-Gómez RJH, Spinosa WA. Acetic acid bacteria in the food industry: systematics, characteristics and applications. Food Technol Biotech. 2018;56(2):139-41.
21. Matsushita K, Toyama H, Tonouchi N, Okamoto-Kainuma A. Acetic acid bacteria. Ecol Physiol. 2016;22-5.
22. Hashemi SMB, Jafarpour D, Gholamhosseinpour A. Antimicrobial activity of Carum copticum and Satureja khuzestanica essential oils and acetic acid in vapor phase at different relative humidities and temperatures in peanuts. J Food Processing Preserv. 2022;46(2):e16269.
23. In YW, Kim JJ, Kim HJ, Oh SW. Antimicrobial activities of acetic acid, citric acid and lactic acid against Shigella species. J Food Safety. 2013;33(1):79-85.
24. Olaimat AN, Al-Holy MA, Abu Ghoush MH, Al-Nabulsi AA, Qatatsheh AA, Shahbaz HM, Holley RA. The use of malic and acetic acids in washing solution to control Salmonella spp. on chicken breast. J Food Sci. 2018;83(8):2197-2203.

۲۹. زرین‌کمر ف. بررسی آناتومی تیره میخک (Caryophyllaceae) در ارسباران، شمال غرب ایران. مجله گیاه‌شناسی ایران. ۱۳۸۰؛ ۹(۱):۹۳-۱۰۲.

۳۰. محمدی‌فر ش. خاستگاه، تاریخچه و مسیر تجارت دارچین. تاریخ علم. ۱۳۹۰؛ ۹(۹):۳۷-۵۱.

۳۱. اجاق س، رضایی م، رضوی س، حسینی س. مطالعه اثر ضد باکتریایی اسانس پوست دارچین (Cinnamomumzeylanicum)در شرایط آزمایشگاهی در برابر پنج باکتری عامل فساد غذایی. علوم و صنایع غذایی ایران. ۱۳۹۱؛ ۹(۳۵):۶۷-۷۶.

۳۲. عبدالله‌زاده ا، اجاق س، حسینی ه، قائمی ع، ایراجیان غ. ارزیابی کمی و کیفی فعالیت ضدباکتریایی اسانس دارچین و نانوذرات اکسید روی علیه لیستریا مونوسیتوژنز. علوم و فنون شیلات. ۱۳۹۶؛ ۷(۱):۴۹-۵۵.

۳۳. شفقی‌اصل س، نوری‌زاده ع، قاسمی‌گرمی ک، مالوفی ن. مقایسه تاثیر عصاره‌های آبی و الکلی دارچین و زردچوبه بر رشد هلیکوباکتر پیلوری در شرایط آزمایشگاهی. دانشگاه علوم پزشکی سبزوار. ۱۳۸۴؛ ۱۲(۳):۱۷-۲۱.

۳۴. مشاک ز، مرادی ب، مرادی ب. اثر ترکیبی اسانس دارچین و آویشن شیرازی بر رشد Bacillus cereus در یک مدل غذایی. گیاهان دارویی. ۱۳۹۱؛ ۱۱(۴۲):۶۲-۷۳.

۳۵. نوشیروانی ن، قنبرزاده ب، رضایی‌مکرم ر، هاشمی م. خواص ضد میکروبی، ضد اکسایشی و فیزیکی فیلم‌های بر پایه کیتوزان-کربوکسی‌متیل‌سلولز–اسیداولئیک حاوی اسانس دارچین. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران. ۱۳۹۷؛ ۱۳(۱):۵۲-۴۱.

۳۶. بندیان ل، مقدم م، بحرینی م. بررسی اثر ضدباکتریایی و خاصیت سینرژیستی عصاره اتانولی آویشن شیرازی (Zatariamultiflora)، مریم گلی بنفش (Froriepia subpinnata) و اناریجه (Salvia verticillata) بر باکتری‌های عامل پوسیدگی سبزیجات. میکروب‌شناسی مواد غذایی. ۱۴۰۰؛ ۸(۱):۴۵-۵۷.

۳۷. بصیری اصفهانی ش، بیدی ب، اسدی م، رحیمی‌نژادرنجبر م. بررسی آرایه‌شناسی جنس Acanthophyllum از تیره میخک در ایران. مجله گیاه‌شناسی ایران. ۱۳۹۰؛ ۱۷(۱):۲۴-۳۹

25. Cosansu S, Ayhan K. Effects of lactic and acetic acid on survival of Salmonella enteritidis during refrigerated and frozen storage of chicken meats. Food Bioprocess Technol. 2012;5:372-7.
26. Banik A, Abony M, Zerin T, Datta S. Antibacterial activity of Allium sativum, Syzygium aromaticum, and Cinnamomum zeylanicum against food borne pathogens in vitro. IOSR J Pharm Biol Sci. 2018;13:68-73.
27. Hu Q, Zhou M, Wei S. Progress on the antimicrobial activity research of clove oil and eugenol in the food antisepsis field. J Food Sci. 2018;83(6):1476-83.
28. Kammon A, Almaeyoufi A, Asheg A. In vitro antimicrobial activity of clove oil against gram-negative bacteria isolated from chickens. Appro Poult Dairy & Vet Sci. 2018;6(2):33-5.