ارزیابی اثر اسانس علف لیمو (*Cymbopogon citratus*) بر میکروارگانیسم‌های آلوده کننده غذا

فاطمه حق شناس[1] و نازنین خاکی پور*[2]

۱. گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران.
۲. گروه کشاورزی و منابع طبیعی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران.

***نویسنده مسئول:** *nazanin_kh_43713@yahoo.com*

تاریخ دریافت:۱۴۰۰/۰۲/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۰۶

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی خاصیت ضدباکتریایی اسانس علف لیمو (*Cymbopogon citratus*)علیه باکتری های پاتوژن می-باشد. بدین منظور خاصیت ضد باکتریایی اسانس از طریق حداقل غلظت بازداری (MIC) و هدف از این مطالعه بررسی خاصیت ضد باکتریایی اسانس علف لیمو (*Cymbopogon citratus*)حداقل غلظت کشندگی (MBC) علیه ۵ باکتری پاتوژن و عامل فساد مواد غذایی باکتری گرم مثبت شامل *باسیلوس سرئوس* و*کلستریدیوم بوتولینوم* و گرم منفی شامل *اشریشیاکلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* و شیگلا تعیین شد. نتایج نشان داد بالاترینMIC و MBC علیه باکتری گرم منفی شیگلا مشاهده شد (MBC: ۶۵۸/۳۳ppm،MIC:۵۶۶/۶۶ppm). کمترین مقادیر MIC و MBC علیه باکتری *کلستریدیوم بوتولینوم* مشاهده شد (MIC:۲۵۸/۳۳ppm، MBC: ۴۰۸/۰۸ppm). همچنین فعالیت ضدباکتریایی غلظت‌های مختلف (ppm ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰) اسانس از طریق قطر هاله عدم رشد نیز تعیین و با آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین مقایسه شد. قطر هاله عدم رشد غلظت‌های مختلف اسانس مربوط به *باسیلوس سرئوس* ۱۰/۲۹ تا ۲۴/۸۳ میلی‌متر،*کلستریدیوم بوتولینوم* ۹/۶۵ تا ۲۸/۷۲ میلی‌متر،*اشریشیاکلای* ۸/۲۵ تا ۱۹/۵۸ میلی‌متر، *سودوموناس آئروژینوزا* ۶/۴۱ تا ۱۸/۱۵ میلی‌متر و شیگلا ۵/۴۱ تا ۱۶/۴۱ میلی‌متر بوده است و در مجموع غلظت‌های ppm ۷۵۰ و ۱۰۰۰اسانس خاصیت ضدمیکروبی بالاتری در مقایسه با آنتی بیوتیک تتراسایکلین داشتند. براساس نتایج این مطالعه، اسانس علف لیمو اثر ضدمیکروبی قابل قبولی دارد و می‌تواند دریافتن داروی مناسب در این زمینه سودمند باشد.

کلید واژه ها: اسانس، علف لیمو، باکتری، تتراسایکلین.

مقدمه

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 است، بلکه بی‌توجهی یا کم توجهی به آن می‌تواند صدمات جبران ناپذیری به جامعه وارد کند. باکتری‌ها فراوان‌ترین دسته میکروارگانیسم‌ها هستند که از طریق مصرف غذای آلوده سبب عفونت در انسان‌ها می‌شوند. بسیاری از باکتری‌های بیماری‌زای مواد غذایی قادرند به سطوح مواد بچسبند و حتی بعد از ضدعفونی کردن از بین نروند. آلودگی باکتریایی موجود در محیط زیست، می‌تواند به طور مستقیم با سطح یا به طور غیرمستقیم به وسیله ناقلین محصولات غذایی منتقل شوند (Norhana et al., 2010). امروزه عوامل ضدمیکروبی مختلفی شامل محافظت‌کننده‌های غذایی، مواد شیمیایی سنتزی و اسیدهای آلی برای جلوگیری از آلودگی موادغذایی به عوامل بیماری‌زا و طولانی‌کردن زمان مصرف غذاها استفاده می‌شود (Kim et al., 2014). در هرحال، به دلیل اثرات نامطلوب آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی از جمله

جهش‌زایی، ایجاد مسمومیت و سرطان‌زایی مصرف کنندگان این ترکیبات، نگرانی وجود دارد و لذا نیاز به مواد ایمن‌تر برای جلوگیری و کنترل ریزسازواره‌های (مانند انگل‌ها، ویروس‌ها وتک‌یاخته ها) بیماری‌زای مواد غذایی احساس می‌گردد (Shan et al., 2007). افزایش مقاومت برخی میکروب‌های بیماری‌زای مواد غذایی در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها از دیگر دغدغه‌ها می‌باشد (Meng et al., 2007). در این میان مشخص شده است که بسیاری از ترکیبات طبیعی موجود درگیاهان دارویی دارای خواص ضدمیکروبی بوده و به عنوان یک عامل ضدمیکروبی می‌تواند برعلیه پاتوژن‌های غذایی به‌کار برده شود. از جمله این گیاهان می‌توان به آویشن (*Thymus vulgris* L.)، اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*)، بابونه (*Matricariarecutita* L.)، رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) و مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) اشاره کرد (جلالی و همکاران، ۱۳۸۵). ترکیب، ساختار و گروه‌های عاملی آن‌ها نقش مهمی در فعالیت ضدمیکروبی ایفا می‌کنند و معمولاً ترکیباتی که دارای گروه‌های فنولی هستند، تأثیر بیشتری دارند (Hosseini et al., 2008). تخریب دیواره سلولی، آسیب به غشای سیتوپلاسمی و پروتئین های غشاء، نشت محتویات درون سلولی، انعقاد سیتوپلاسم و تخلیه انرژی می‌تواند علت مرگ سلول میکروارگانیسم باشد (Negi, 2012). یکی از گیاهانی که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی است و ترکیب‌های فنلی و فلانوئیدی در آن موجود می‌باشد، گیاه علف لیمو است. گیاه علف لیمو (Lemon grass) با نام علمی *Cymbopogon citratts* متعلق به خانواده Poaceae است که به‌طور گسترده ای در مناطق حاره و نیمه حاره دنیا پراکنده است. درکوبا جوشانده برگ‌ها دارای خواص ضدفشارخون، ضدسرفه و ضدبیماری‌های روماتیسمی هستند. در برزیل، مردم از این گیاه برای درمان ناراحتی‌های عصبی و گوارشی استفاده می‌کنند و در آنگولا، نیجریه و هند از این گیاه برای انواع بیماری‌های مختلف استفاده می‌شود (Carbajal et al., 1989). گیاه علف لیمو گیاهی علفی و چندساله است. از بخش‌های هوایی این گیاه در درمان بیماری‌های متعددی ازجمله اختلالات گوارشی، اختلالات قاعدگی، بیماری‌های التهابی، دیابت، بیماری‌های عصبی، تب و بیماری‌های عروقی به طور سنتی استفاده می‌شده‌است. سیترال مهمترین ترکیب موجود در اسانس علف لیمو می‌باشد که مسئول ایجاد بویی شبیه لیمو در این گیاه می‌باشد. اثرات فارماکولوژیک مختلفی شامل اثرات ضدالتهاب، آنتی‌اکسیدان، ضدسرطان، ضدجهش و ضدمیکروبی از این گیاه گزارش شده است (حسینیان و همکاران، ۱۳۹۷). تحقیقات متعددی به بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره و اسانس های مختلف گیاهی پرداخته‌اند. کریمی و همکاران (۱۳۹۶) به بررسی اثر اسانس علف لیمو بر زمان ماندگاری و ویژگی‌های کیفی گوشت گوساله چرخ‌کرده طی نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس پرداختند. در نهایت با در نظر گرفتن مجموع نتایج تغییرات فیزیکوشیمیایی، میکروبی و کیفی گوشت گوساله در طی دوره نگهداری و همچنین نظرات ارزیاب‌ها تیمار حاوی ۵۰۰ ppm اسانس علف لیمو در هر کیلوگرم گوشت چرخ‌کرده گوساله به عنوان تیمار برتر جهت استفاده در گوشت گوساله انتخاب گردید. پرتوی و همکاران (۱۳۹۶) به بررسی اثر اسانس مرزنجوش و علف لیمو به صورت جداگانه و ترکیبی بر ضدباکتری‌های گرم منفی پرداختند. نتایج نشان داد که اثر ترکیبی اسانس علف لیمو و مرزنجوش برروی *سالمونلاتیفیموریوم* سینرژیست می‌باشد. همچنین با گذشت زمان اثر ضدمیکروبی اسانس‌ها افزایش می‌یابد. بر اساس نتایج این مطالعه، اسانس علف لیمو و مرزنجوش اثر ضدمیکروبی قابل قبولی دارد و می‌تواند به عنوان جایگزین مناسب ترکیبات ضدمیکروبی رایج مطرح باشد. اما هدف از این تحقیق، بررسی قطر هاله عدم رشد عصاره علف لیمو و آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین علیه میکروارگانیسم‌های آلوده کننده غذا (*کلیستریدیوم بوتولینیوم، اشرشیاکلای، باسیلوس سرئوس، سودوموناس، شیگلا*)، بررسی مقادیر MIC (حداقل غلظت بازداری) و MBC (حداقل غلظت کشندگی) عصاره علف لیمو و آنتی بیوتیک تتراسایکلین

علیه میکروارگانیسم‌های آلوده کننده غذا (*کلیستریدیوم بوتولینیوم، اشرشیاکلای، باسیلوس سرئوس، سودوموناس، شیگلا*) و بررسی مقایسه‌ای خاصیت ضدمیکروبی عصاره علف لیمو با آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین می‌باشد.

مواد و روش کار

مطالعه مزبور در آزمایشگاه میکروبیولوژی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر در بهار و تابستان سال ۱۳۹۸ انجام گرفته است. اسانس علف لیمو به صورت آماده از شرکت باریج اسانس (ساری) با کد ۱۲۲۰۰۷ خریداری گردید (یزدانی و همکاران، ۱۳۸۲).

ترکیبات تشکیل دهنده علف لیمو شامل سیترال، سیترونلال و ژرانیل‌استات که بالاترین میزان ترکیبات پلی‌فنولی متعلق به سیترالو پس از آن سیترونلال و د-لیمونن می‌باشد که این ترکیبات دارای خاصیت ضد-میکروبی می‌باشند (کریمی و همکاران، ۱۳۹۶). باکتری-های مورد استفاده در این تحقیق عبارتند از: *کلستریدیوم* PTCC:۱۷۶۶، *اشریشیاکلای* PTCC:۱۳۹۹، *باسیلوس سرئوس* PTCC:۱۰۱۵، *سودوموناس آئروژینوزا* ۱۵۵۸ :PTCCو *شیگلا* PTCC:۱۱۸۸ که از مرکز تحقیقات و پژوهش علمی صنعتی ایران تهیه شدند. دیسک تتراسایکلین (TC۳۰) ازشرکت پادتن طب خریداری شد. سویه استاندارد و لیوفیلیزه باکتری‌ها از سازمان پژوهش-های علمی و صنعتی ایران تهیه و تا زمان انجام آزمایشات در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. پس از تهیه کلنی خالص از ویال‌ها، از این کلنی برای تهیه سوسپانسیون‌های استاندارد استفاده گردید. برای تهیه سوسپانسیون میکروبی استاندرد از کلنی‌های رشد یافته ۲۴ ساعته بر روی محیط نوترینت آگار استفاده گردید. سوسپانسیون حاصل برای مطابقت با نیم مک فارلند توسط اسپکتوفتومتر در طول ۶۲۵ نانومتر سنجیده شد. بدین ترتیب در هربار انجام آزمایش (تعیین لگاریتم درصد احتمال رشد)، با مشخص شدن جذب نوری که معادل تقریبا 10^8 logcfu/g باکتری در هر میلی‌لیتر بود، لوله کووت حاوی تقریبا 10^8 log cfu/g باکتری در میلی‌لیتر مشخص گردید به میزان 10^6 cfu/ml از (*کلیستریدیومبوتولینیوم، اشریشیاکلای، باسیلوسسرئوس، سودوموناس، شیگلا*) به محیط مولر هیلتون آگار جهت تشخیص باقیمانده آنتی باکتریال تلقیح شدند (Grisi and Lira,2005). باکتری‌های موردمطالعه غلظت تقریبی 10^8 cfu/g به میزان ۰/۲ میلی‌لیتر به هریک از لوله‌های آزمایش افزوده شد. در مرحله بعد محلول‌های عصاره بااستفاده از Tween 80 (مرک آلمان) و آب‌مقطر به نحوی تهیه شد که بار یختن مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر از هرکدام از محلول‌ها درون لوله آزمایش‌های حاوی محیط کشت BHI، MRSو SS آگار باکتری‌های موردآزمایش (*کلیستریدیومبوتولینیوم، اشریشیاکلای، باسیلوسسرئوس، سودوموناس، شیگلا*)ساخته شد. سپس لوله‌های آزمایش در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سلسیوس برای باکتری‌ها گرمخانه-گذاری و پس از ۲۴ ساعت پائین‌ترین غلظتی که در آن هیچ کدورتی مشاهده نگردید، به عنوانMIC درنظرگرفته‌شد. پس ازتعیینMIC جهت تعیین MBC درشرایط کاملا استریل از محتویات ارلن‌هایی که پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری هنوز شفاف بودند و کدورتی در آن‌ها مشاهده نشده باشد، به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر در پتری‌دیش‌های حاوی محیط کشت مناسب هرگونه باکتری کشت سطحی داده شد. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای مناسب رشد و عدم رشد باکتری‌ها بررسی و اولین غلظتی که در آن رشد مشاهده نگردید، به عنوان MBC درنظرگرفته شد (Shahnazi et al., 2007). قبل از شروع کار و انجام آزمون بر روی اسانس جهت تسهیل روش و بدست آوردن محدوده ضد-باکتریایی عصاره، کشت اولیه (Preculture) انجام شد. در این مطالعه از دیسک استاندارد تتراسایکلین به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. برای بررسی انتشار دیسک ابتدا از کشت ۲۴ ساعته سوسپانسیون باکتری‌ها که در هر میلی‌لیتر حاوی CFU $10^8 \times 1/5$ بود، استاندارد محلول ۰/۵ مکفارلند تهیه شد. جهت تهیه دیسک‌های مورد آزمایش، هردیسک با µL ۱۵ ازعصاره با غلظت‌های مختلف اشباع گردید. در این آزمایشات از محیط کشت

مولر هیلتون آگار حاوی سوسپانسیون میکروبی استفاده گردید. بعد از ریختن محیط حاوی میکروب بر روی لایه زیرین و خشک کردن محیط در انکوباتور، دیسک‌های تهیه شده در فاصله مناسب از یکدیگر کاشته شدند. محیط‌های کشت باکتری‌ها برای مدت ۲۴ ساعت درگرمخانه ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری شد. درادامه قطر هاله‌های عدم رشد توسط کولیس (کالیبره‌شده) اندازه‌گیری شد (Bagheri et al., 2016). جهت قضاوت در مورد قطر هاله عدم رشد و میزان تأثیر اسانس، از استاندارد قدرت تأثیر اسانس استفاده شد. در این استاندارد در صورتی که قطر هاله اگر کمتر از ۱۲ بود باکتری مقاوم به اسانس گزارش گردید و اگر بیشتر از ۱۳ بود حساس به اسانس گزارش گردید و اگر بین (۱۲ – ۱۳) بود حدواسط گزارش شد، در صورتیکه قطر هاله بزرگتر از ۲۰ میلی‌متر باشد به عنوان بسیار فعال در نظر گرفته شد (Faik Ahmetet al., 2008). درصدهای مورد بررسی (اسانس و آنتی بیوتیک تتراسایکلین) در این پژوهش از مروری بر مطالعات گذشته که در این زمینه به مطالعه پرداختند، استفاده شده است. در مجموع مطالعه حاضر شامل ۶ تیمار در ۳ تکرار می‌باشد. تیمار ۱: آنتی بیوتیک تتراسایکلین، تیمار ۲: اسانس با غلظت ppm۱۰۰، تیمار ۳: اسانس با غلظت ppm۲۵۰، تیمار ۴: اسانس با غلظت ppm۵۰۰، تیمار ۵: اسانس با غلظتppm۷۵۰، تیمار ۶: اسانس با غلظت ppm ۱۰۰۰. تجزیه و تحلیل داده‌ها، با توجه به نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس، بااستفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه (One-WayANOVA) استفاده شد. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون دانکندر سطح ۵ درصد استفاده شد. تمام داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیارگزارش شد و ارزیابی‌ها در ۳تکرار صورت پذیرفت. ازنرم افزار (SPSS version 18) برای آنالیز داده‌ها و Excel برای رسم نمودارها استفاده گردید.

نتایج

نتایج مربوط به حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس علف لیمو، علیه باکتری‌های پاتوژن در جدول ۱آمده است. با توجه به نتایج، بالاترین MIC و MBC علیه باکتری گرم منفی *شیگلا* مشاهده شد (MIC:۵۶۶/۶۶ppm، ۶۵۸/۳۳ppm :MBC)($p<۰/۰۵$). کمترین مقادیر MIC و MBCعلیه باکتری *کلستریدیوم بوتولینوم* مشاهده شد (MIC:۲۵۸/۳۳ppm، ۴۰۸/۰۸ppm :MBC)($p<۰/۰۵$) و مقادیر MIC برای این باکتری اختلاف معنی داری با مقادیر MIC باکتری *باسیلوس سرئوس*نداشت($p>۰/۰۵$).

قطر هاله میزان عدم رشد اسانس

باسیلوس سرئوس

نتایج مربوط به قطر هاله عدم رشد اسانس علف لیمو و آنتی بیوتیک تتراسایکلین، علیه باکتری پاتوژن *باسیلوس سرئوس* (گرم مثبت)در جدول ۲ آمده است. با توجه به نتایج، با افزایش غلظت اسانس میزان فعالیت ضدمیکروبی افزایش یافت ($p<۰/۰۵$) و غلظت‌های ppm ۷۵۰ و ۱۰۰۰اسانس خاصیت ضدمیکروبی بالاتری در مقایسه با آنتی بیوتیک تتراسایکلین داشتند($p<۰/۰۵$).

کلستریدیوم بوتولینوم

نتایج مربوط به قطر هاله عدم رشد اسانس علف لیمو و آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین، علیه باکتری پاتوژن *کلستریدیوم بوتولینوم*(گرم مثبت)در جدول ۲ آمده است. با توجه به نتایج، با افزایش غلظت اسانس میزان فعالیت ضدمیکروبی افزایش یافت ($p<۰/۰۵$) و غلظت‌های ppm ۷۵۰ و ۱۰۰۰اسانس خاصیت ضدمیکروبی بالاتری در مقایسه با آنتی بیوتیک تتراسایکلین داشتند ($p<۰/۰۵$).

اشیرشیا کلای

نتایج مربوط به قطر هاله عدم رشد اسانس علف لیمو و آنتی بیوتیک تتراسایکلین، علیه باکتری پاتوژن *اشیرشیا کلای* (گرم منفی) در جدول ۲ آمده است. با توجه به نتایج، با افزایش غلظت اسانس، میزان فعالیت ضدمیکروبی افزایش یافت ($p<۰/۰۵$) و در غلظت ppm ۱۰۰۰اسانس خاصیت ضدمیکروبی بالاتری در مقایسه با آنتی بیوتیک تتراسایکلین داشت ($p<۰/۰۵$).

سودوموناس آئروژینوزا

نتایج مربوط به قطر هاله عدم رشد اسانس علف لیمو و آنتی بیوتیک تتراسایکلین، علیه باکتری پاتوژن *سودوموناس آئروژینوزا* (گرم منفی) در جدول ۲ آمده است. با توجه به نتایج، با افزایش غلظت اسانس میزان فعالیت ضدمیکروبی افزایش یافت ($p<۰/۰۵$) و در غلظت ppm ۱۰۰۰اسانس خاصیت ضدمیکروبی بالاتری در مقایسه با آنتی بیوتیک تتراسایکلین داشت ($p<۰/۰۵$) و در غلظت ppm ۷۵۰اسانس خاصیت ضدمیکروبی اسانس اختلاف معنی داری با آنتی بیوتیک تتراسایکلین نداشت ($p>۰/۰۵$).

شیگلا

نتایج مربوط به قطر هاله عدم رشد اسانس علف لیمو و آنتی بیوتیک تتراسایکلین، علیه باکتری پاتوژن*شیگلا* (گرم منفی)در نمودار ۵ و جدول ۲ آمده است. با توجه به نتایج، با افزایش غلظت اسانسمیزان فعالیت ضد-میکروبیافزایش یافت ($p<۰/۰۵$) و در غلظت ppm ۱۰۰۰ عصاره خاصیت ضدمیکروبی بالاتری در مقایسه با آنتی بیوتیک تتراسایکلین داشت ($p<۰/۰۵$).

جدول ۱- مقادیر حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس بر حسب ppm

	باسیلوس سرئوس (+)	*کلستریدیوم بوتولینوم*(+)	اشیرشیا کلای (-)	سودوموناس آئروژینوزا(-)	شیگلا (-)
MIC	۲۸۳/۱۴±۳۳/۴۳^{d}	۲۵۸/۱۴±۳۳/۴۳^{d}	۴۳۳/۱۴±۳۳/۴۳^{c}	۵۰۸/۱۴±۳۳/۴۳^{b}	۵۶۶/۱۴±۶۶/۴۳^{a}
MBC	۴۵۸/۱۴±۳۳/۴۳^{d}	۴۰۸/۱۴±۰۸/۴۳^{e}	۵۵۸/۱۴±۰۸/۴۳^{e}	۶۱۶/۱۴±۶۶/۴۳^{b}	۶۵۸/۱۴±۳۳/۴۳^{a}

۱) همه اعداد بر حسب میانگین ± انحراف از معیار بیان شده اند

۲) اعداد در یک ردیف با حروف متفاوت اختلاف معنی دار دارند (a, b, c,..)

جدول ۲- قطر هاله عدم رشداسانس و آنتی بیوتیک علیه باکتری‌های پاتوژن بر حسب میلی‌متر

تیمار	*باسیلوس سرئوس* (+)	*کلستریدیوم بوتولینوم*(+)	*اشیرشیا کلای* (-)	*سودوموناس آئروژینوزا*(-)	*شیگلا*(-)
اسانسppm ۱۰۰	۱۰/۰±۲۴/۷۳^{f}	۹/۰±۵۶/۴۳^{f}	۸/۰±۲۵/۲۹^{f}	۶/۰±۴۱/۱۶^{e}	۵/۰±۴۱/۱۶^{f}
اسانسppm ۲۵۰	۱۲/۰±۰۲/۲۳^{e}	۱۲/۰±۲۵/۲۰^{e}	۹/۰±۴۰/۱۷^{e}	۸/۰±۲۹/۲۳^{d}	۹/۰±۰۰/۸۰^{e}
اسانسppm ۵۰۰	۱۶/۰±۸۲/۲۵^{d}	۱۸/۰±۱۲/۴۹^{d}	۱۳/۰±۸۴/۲۶^{d}	۱۱/۰±۷۵/۲۴^{c}	۱۰/۰±۱۲/۲۰۲۶^{d}
اسانسppm ۷۵۰	۱۹/۰±۷۸/۲۲^{b}	۲۴/۰±۱۵/۶۹^{b}	۱۶/۰±۷۴/۴۳^{c}	۱۵/۰±۲۵/۶۹^{b}	۱۲/۰±۹۳/۳۶^{c}
اسانسppm ۱۰۰۰	۲۴/۸۳±۰/۴۲^{a}	۲۸/۷۲±۰/۲۵^{a}	۱۹/۵۸±۰/۳۹^{a}	۱۸/۱۵±۰/۷۲^{a}	۱۶/۴۱±۰/۱۶^{a}
تتراسایکلین	۲۱/۸۳±۰/۷۷^{c}	۲۱/۱۰±۰/۷۷^{c}	۱۷/۸۲±۰/۲۴^{b}	۱۵/۴۸±۰/۰۵^{b}	۱۴/۲۰±۰/۰۸^{b}

۱) همه اعداد بر حسب میانگین ± انحراف از معیار بیان شده اند

۲) اعداد در یک ستون با حروف متفاوت اختلاف معنی دار دارند (a, b, c,..)

بحث

مطالعات متعددی در ارتباط با تعیین عوامل ضدمیکروب طبیعی از جمله نایسین، لیزوزیم، مونلورین، لاکتوفرین و اسانس گیاهان متعدد روی اجرام میکروبی انجام شده است. با توجه به اینکه عوامل ضدمیکروب هر کدام دارای اثرات متفاوتی روی میکروارگانیسم‌ها می‌باشند، لذا در این مطالعه به بررسی تأثیراسانس علف لیمو بر باکتری-های پاتوژن گرم مثبت نظیر *باسیلوس*

*سرئوس*و*کلستریدیوم بوتولینوم* و گرم منفی نظیر *اشریشیاکلای* و *سودوموناس آئروژینوزا* و *شیگلا* پرداخته شد. نتایج مربوط به مطالعه حاضر نشان داد اسانس علف لیمو علیه تمامی میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه خاصیت ضدمیکروبی داشت و با توجه به نتایج بالاترینMIC و MBCعلیه باکتری گرم منفی *شیگلا* مشاهده شد(MIC:۵۶۶/۶۶ppm،۶۵۸/۳۳ppm :MBC). کمترین مقادیر MIC و MBCعلیه باکتری *کلستریدیوم بوتولینوم*مشاهده شد.

(MIC:۲۵۸/۳۳ppm،MBC: ۴۰۸/۰۸ppm) و مقادیر MIC برای این باکتری اختلاف معنی داری با مقادیر MIC باکتری *باسیلوس سرئوس*نداشت. در مورد نحوه عمل عصاره‌های گیاهی در مرگ باکتری‌های بیماری زا چنین اظهارنظر شده است که یکی از ویژگی‌های مهم این مواد و ترکیب‌های آن خاصیت آب‌گریزی است که سبب می‌شود در بخش‌های لیپیدی دیواره سلولی و میتوکندریایی باکتری توزیع شده و موجب تغییر و تخریب ساختمان و نفوذ پذیری بیشتر آنها گردد. به دنبال آن بخش زیادی از یون‌ها و دیگر محتویات حیاتی سلول به بیرون تراوش می نماید که در نهایت به مرگ باکتری منجر می‌شود (Brusa et al., 2013). همچنین این ترکیبات قادر به ایجاد اختلال در عملکرد و آنزیم‌های متصل به غشاء سلولی بوده که نهایتا منجر به ایجاد نقص در سنتز بسیاری از ترکیبات پلی ساکاریدی دیواره سلولی و ممانعت از رشد سلول و مورفوژنز آن خواهد شد (Quires et al., 2015). همچنین با توجه به نتایج باکتری گرم مثبت *کلستریدیوم بوتولینوم* پایین ترین مقاومت را در بین باکتری‌های پاتوژن دارا بود و باکتری گرم منفی *شیگلا* مقاومترین باکتری پاتوژن بود. گزارشات متعدد بیان نموده‌اند که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی دربرابر ترکیبات ضدباکتریایی حساس‌تر هستند و این حساسیت بالای باکتری‌های گرم مثبت به دلیل عدم وجود دیواره سلولی لیپوپلی-ساکاریدی است که این دیواره در باکتری‌های گرم منفی ممکن است از ورود ترکیبات فعال به غشای سیتوپلاسمی جلوگیری به عمل آورد (Bozin et al., 2007). مقاومت باکتری‌های گرم منفی در برابر مواد ضدباکتریایی با سطح هیدروفیلی غشای خارجی باکتری‌ها که غنی از مولکول-های لیپوپلی‌ساکارید است و یک حائل در برابر نفوذ مولکول‌های آنتی‌بیوتیکی مختلف ایجادمی‌کند و نیز با آنزیم‌های فضای پریپلاسمی که قادر به شکستن مولکول-های وارد شده از خارج هستند، نیز در ارتباط می‌باشد. باکتری‌های گرم مثبت چنین غشای خارجی درساختار دیواره سلولی ندارند. برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها می توانند به‌آسانی دیواره سلول باکتریای و غشای سیتوپلاسمی را تخریب نموده و منجر به خروج سیتوپلاسم آن گردند (Shan et al., 2007). اوانشیا و همکاران (۲۰۱۲) مقادیر MIC و MBC اسانس علف لیمو را علیه باکتری-های پاتوژن گرم مثبت و منفی را ما بین ppm -۳۸۰ ۱۴۰ اعلام نمودند. همچنین آنها گزارش کردند، اثرضد-میکروبی اسانس بر روی باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از گرم منفی بود. در مجموع آنها اعلام نمودند خاصیت ضد-میکروبی علیه باکتری‌های گرم مثبت بالاتر از باکتری‌های گرم منفی می باشد. مقادیر MIC و MBC در مطالعه آنها بالاتر از مطالعه حاضر می‌باشد. در مجموع مقادیر خاصیت ضدمیکروبی در مطالعات متفاوت تفاوت‌هایی وجود دارد، به طور کلی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس-های گیاهی بر حسب منطقه جغرافیایی رویش، زمان برداشت گیاه، شرایط محیطی و فصلی، روش خشک کردن و استخراج عصاره، عصاره‌گیری از اندام‌های مختلف و درنهایت تفاوت ژنتیکی گیاه می‌تواند تغییر کند (Burt et al., 2004؛Mahdavi et al., 2018). عوامل ضد-میکروبی به طور اساسی درکاهش بیماری‌های عفونی نقش مهمی را ایفا می‌کنند.

با این حال به همان اندازه که پاتوژن‌های مقاوم توسعه و گسترش پیدا می‌کنند، اثرضدمیکروب‌ها کاهش می‌یابد.

بنابراین استراتژی جایگزین ضدمیکروبی ضروری و موردنیاز است و این وضعیت منجر به ارزیابی مجدد به استفاده درمانی از تیمارهای قدیمی مانندگیاهان و محصولات بر پایه تولید گیاهی از جمله عصاره‌ها و اسانس شده است (Joseph, 2011). معتمدی و همکاران (۲۰۱۱) به بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره هیدروالکلی گیاه گزنه پرداختند. مطابق نتایج آن‌ها عصاره هیدرو-الکلی در برابر باکتری‌ها (*S.aureus*و *E.coli*) خاصیت ضدباکتریایی داشت (Motamedi et al., 2011). احمد فرهان وهمکاران (۲۰۱۲) به مطالعه اثر عصاره آبی برگ گیاه گزنه برروی رشد برخی از میگروارگانیسم بیماری‌زا پرداختند. مطابق نتایج آنها غلظت ۰/۵ mg/ml عصاره گزنه خاصیت بازدارندگی در برابر رشد باکتری‌های استافیلوکوکوس، اشیرشیا کلی و *Proteusmirabilis* داشت (Ahmed Farhanet al., 2012). آکسو و اوزر (۲۰۱۳) تأثیرغلظت‌های مختلف (ppm ۰، ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰) عصاره آبی مرزه کوهی (*Satureja hortensis* L.) بر افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت گوشت گاو در دمای ۴ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت را بررسی نمودند. در مجموع آنها گزارش کردند، غلظتppm ۵۰۰ مرزه سبب افزایش عمر ماندگاری گوشت تا ۷۲ ساعت می‌شود (Aksu and Ozer, 2013). نواک و همکاران (۲۰۱۶) در بررسی اثرات عصاره پلی‌فنلی برگ‌های گیلاس و انگورفرنگی سیاه به عنوان نگهدارنده طبیعی در محصولات گوشتی به نتایج مشابهی دست یافتند. آنها دریافتند که استفاده از ترکیبات آنتی اکسیدانی در محصولات گوشتی به دلیل دارا بودن محصولات پلی فنولی به کاهش فلور میکروبی و حفظ pH و همچنین ممانعت از ترشیدگی گوشت طی دوره نگه داری فرآورده گوشتی کمک می نماید (Nowak et al., 2016). باقری و همکاران (۲۰۱۶) به بررسی غلظت‌های مختلف عصاره رازیانه (۰/۳ و ۰/۵ درصد) به عنوان یک نگهدارنده طبیعی برروی تغییرات شیمیایی و میکروبی و همچنین رفتار باکتری*سودوموناسآئروژینوزا* تلقیح شده در گوشت چرخ شده ماهی کیلکا پرداختند. آنها اعلام نمودند با عصاره رازیانه علیه باکتری*سودوموناس آئروژینوزا* دارای خاصیت ضدباکتریایی، ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد و با افزایش غلظت اسانس رازیانه این خواص افزایش می‌یابد(Bagheri et al., 2016). تاریگ وهمکاران (۲۰۱۸) به بررسی عصاره کاسنی در نگهداری گوشت گاو چرخ شده در شرایط سرد پرداختند. آن‌ها اعلام نمودند عصاره کاسنی توانست رشد باکتری-های *استافیلوکوکوس* و *اشرشیاکلای* را کاهش دهد و همچنین در غلظت ۲/۵ ppm فساد اکسیداسیونی را نیز کاهش داد. در مجموع آنها اعلام نمودند استفاده از عصاره کاسنی سبب افزایش عمر ماندگاری گوشت می شود (Tarig et al., 2018).

ناظمی و همکاران (۱۳۹۵) خواص ضدباکتری عصاره های آبی و متانولی خیار دریایی را علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *باسیلوس سرئوس*، *سالمونلاتیفی* و *اشرشیاکلای* با استفاده از روش رقت در لوله به منظور تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج آزمایش نشان داد که تنها عصاره متانولی نسبت به باکتری‌های مورد آزمایش، به جز *سودوموناس*، اثر مهارکنندگی دارد. اثر کشندگی عصاره متانولی فقط علیه باکتری‌های*استافیلوکوکوساورئوس*، *سالمونلاتیفی* مشاهده شد. البته این اثر بسیار کمتر از اثر کشندگی آنتی بیوتیک‌های تتراسایکلین و آمپی‌سیلین بوده است. یکی دیگر از روش‌های تعیین خاصیت ضد-باکتریایی، بررسی قطر هاله عدم رشد باکتری‌ها می‌باشد. در این مطالعه غلظت‌های مختلف اسانس علیه باکتری-های مذکور بررسی شد. همچنین حد مورد تایید قطر هاله عدم رشد ۱۲ در نظر گرفته شد. به طور مثال برای اسانس اگر قطر بدست آمده کمتر از ۱۲ بود، باکتری مقاوم به اسانس گزارش می‌شود و اگر بیشتر از ۱۳ بود

حساس به اسانس گزارش می‌شود و اگر بین ۱۲ تا ۱۳ بود، حدواسط گزارش می‌شود. بر این اساس باکتری *باسیلوس سرئوس و کلستریدیوم بوتولینوم* به غلظت‌های بالاتر از ۲۵۰ ppm اسانس حساس بود و باکتری *کلستریدیوم بوتولینوم* و باکتری *اشریشیاکلای* به غلظت ۵۰۰ ppm اسانس حساس و *سودوموناس آئروژینوزا* به غلظت ۷۵۰ ppm اسانس حساس و *شیگلا* به غلظت ۱۰۰۰ ppm اسانس حساس بود. نتایج مربوط به قطر هاله عدم رشد اسانس علف لیمو و آنتی بیوتیک تتراسایکلین علیه باکتری‌های پاتوژن نشان داد که با افزایش غلظت، میزان فعالیت ضدمیکروبی افزایش یافت. مطالعات متعددی گزارش شده است که اثر ضدمیکروبی نگهدارنده‌های طبیعی وابسته به میزان غلظت‌شان است (Burt et al., 2004; Jalali et al., 2015) که مطالعه حاضر نیز موید این مسئله است و غلظت‌های ۷۵۰ ppm و ۱۰۰۰اسانس خاصیت ضدمیکروبی بالاتری در مقایسه با آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین داشتند. ترکیبات شیمیایی موجود در بخش‌های هوایی گیاه علف لیمو، شامل اسانس‌ها، تری ترپن‌ها و پلی فنول‌ها می‌باشد. اسانس به دست آمده از ریشه‌های علف لیمو شامل ده ترکیب است که از میان آنها longifolene بیشترین میزان یعنی حدود ۵۶ درصد می‌باشد. اسانس به دست آمده از بخش-های هوایی علف لیمو، کاملا متفاوت بوده و حاوی ۱۲ ترکیب می باشد که مهمترین آن‌ها سیترال با مقدار تقریبی ۸۸ درصد می‌باشد. سایر ترکیبات شامل ژرانیول، سیترونلول، سیترونلال، لینالول، المول، سینئول، لیمونن، کاروفیلن، متیل‌هپتنون، بتامیرسن، ژرانیل‌استات و ژرانیل‌فرمات می‌باشد (حسینیان و همکاران، ۱۳۹۷). یکی از دلایل تأثیرات ضدمیکروبی اسانس مربوط به تغییرات غشاء سلولی در اثر نفوذ ترکیبات سیترال، سیترونلال و ژرانیل استات و عدم تعادل الکتریکی غشاء سلولی و نشت ترکیبات درون سلولی به خارج سلول و نهایتا مرگ سلولی است و با افزایش میزان غلظت اسانس علف لیمو، میزان ترکیبات سیترال، سیترونلال و ژرانیل-استات به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد که باعث افزایش معنی‌دار خاصیت ضدمیکروبی می‌شود (کریمی و همکاران، ۱۳۹۶). مطالعه شهنیا و خاکسار (۱۳۹۱) در بررسی اثرات ضدمیکروبی و روش‌های تعیین حداقل غلظت بازدارندگی اسانس‌های گیاهی بر باکتری‌های پاتوژن نشان داد که اسانس علف لیمو برروی رشد باکتری *اشریشیاکلای* تأثیر منفی داشته و سبب شد تا تعداد باکتری به طور معنی‌داری کمتر از نمونه کنترل گردد و با افزایش غلظت اسانس، تعداد باکتری *اشریشیاکلای* در مقایسه با نمونه کنترل کاهش بیشتری را نشان داد و بیشترین میزان کاهش مربوط به تیمار حاوی ۱۰۰۰ ppm بود. با افزایش میزان غلظت اسانس علف لیمو، میزان جمعیت *اشریشیاکلای* به طور معنی‌داری با کاهش مواجه بود. پرتوی و همکاران (۱۳۹۶) به بررسی اثر اسانس مرزنجوش و علف لیمو به صورت انفرادی و ترکیبی بر ضدباکتری‌های گرم منفی پرداختند. نتایج نشان داد که اثر ترکیبی اسانس علف لیمو و مرزنجوش بر روی *سالمونلاتیفی موریوم* سینرژیست می‌باشد. در مجموع بر اساس نتایج این مطالعه، اسانس علف لیمو و مرزنجوش اثر ضدمیکروبی قابل قبولی دارد و می‌تواند به عنوان جایگزین مناسب ترکیبات ضدمیکروبی رایج مطرح باشد. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق و وجود محدودیت‌های تحقیق نظیر هزینه‌های بالای آزمایشگاه و موادمصرفی موردنیاز، همچنین بعد مسافت آزمایشگاه مرجع و محدودیت‌های زمانی موجود، موارد زیر پیشنهاد می‌گردد:۱-بررسی استخراج اسانس به کمک سایر روش‌های مدرن نظیر اولتراسوند، فوق بحرانی و ماکروویو و مقایسه خاصیت ضدباکتریایی آنها با هم ۲-بررسی نقش ضدباکتریایی اسانس علف لیمو بر باکتری‌های مذکور در مواد غذایی ۳-بررسی استفاده از اسانس نانوکپسوله علف لیمو به منظور افزایش فعالیت ضدباکتریایی ۴- نتایج حاصل از

این تحقیق می‌تواند عملا توسط سازمان‌های مسئول در سلامت غذایی جامعه مورد استفاده قرار گیرد.

نتیجه گیری کلی

موادغذایی مستعد آلودگی میکروبی و شیمیایی است. بنابراین استفاده از نگهدارنده‌هایی با خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی ضروری می‌باشد. استفاده از عصاره‌های گیاهی با خواص ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی در انواع مواد غذایی تازه، منجمد و عمل‌آوری‌شده، ضمن کنترل عوامل پاتوژن و جلوگیری از فساد میکروبی و شیمیایی باعث بهبود خصوصیات ارگانولپتیک و افزایش ماندگاری محصول می‌گردد و این امکان را به تولیدکنندگان می‌دهد تا غذاهای سالم‌تر و با مقبولیت بالا تولید کنند. در این مطالعه خاصیت ضدمیکروبی اسانس علف لیمو علیه باکتری‌های پاتوژن بررسی شد، با این هدف که اسانس علف لیمو سبب نابو دی باکتری‌های پاتوژن شوند و خاصیت ضدمیکروبی بالاتری از آنتی-بیوتیک تتراسایکلین داشته باشند. در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که اسانس علف لیمو دارای اثر ضد-میکروبی قابل ملاحظه ای، به خصوص بر باکتری‌های گرم مثبت می‌باشد و می‌تواند به عنوان یک منبع ضد-میکروب طبیعی باشد. بنابراین جداسازی ترکیبات مؤثره، خالص سازی، بررسی اثرات ضدمیکروبی آنها برای تهیه‌ی فرمولاسیون‌های غذایی و دارویی پیشنهاد می‌شود.

منابع

1. Ahmed Farhan S., Faraj M., Al-Shemari H., and Jassim A. 2012. Study of Some *Urtica dioica* L. Leaves Components and Effect of Their Extracts on Growth of Pathogenic Bacteria and Identify of Some Flavonoids by HPLC. Al- Mustansiriya J Sci. 23(3):79-86.
2. Aksu M.I., and Ozer H. 2013. Effects of lyophilized water extract of *Satureja hortensis* on the shelf life and quality properties of ground beef, J. Food Process. Preserv. 37(5):777-783.
3. Amini E. 2013. Identification of Bacillus cereus bacteria by PCR-based method and using gold nanoparticles, master's thesis, Department of Biology, Zabul University.
4. Bagheri R., Izadi Amoli R., Tabari Shahndash N., and Shahosseini S.R. 2016. Comparing the effect of encapsulated and unencapsulated fennel extracts on the shelf life of minced common kilka (Clupeonella cultriventris caspia) and Pseudomonas aeruginosa inoculated in the mince. Food Sci and Nutr. 4(2):216–222.
5. Burt S. 2004. Essential oils: their antibacterial propertied and potential application in foods-a review. Inter. Food Mashin. 94(3):223-253.
6. Carbajal D., Casaco A., Arruzazabala L., Gonzalez R., and Tolon Z. 2001. Pharmacological study of Cymbopogon citratus leaves. J Ethnopharmacol. 25(1):103-107.
7. Eric A, Johnson. 2001. Clostridium botulinum and its neuro toxins: a metabolic and cellular perspective. Toxicon.
8. Ewansiha J., U Garba S., AI Mawak J.D., and Oyewole O.AI. 2012. Antimicrobial Activity of Cymhopogon citratus (Lemongrass) and Its Phytochemical Properties. Front Sci. 2(6):214–220.
9. Faik Ahmet A., Sema H.A., Sengul A.K., Jiri G., Katerina V., and Jitka U. 2008. Phenolic acid contents of kale (*Brassica oleraceae* L. var. acephala DC) extracts and their antioxidant and antibacterial activities. Food Chem. 107:19-25.
10. Grisi T.C., and Lira K. 2005. Action nisin and high ph on growth Staphylococcus aureus and Salmonella in pure culture and the meat ofland crab. Brazil J Microb. 36:151-156.
11. Hosseini M.H., Razavi S., and Mousavi M.A. 2008. Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, ciove and cinnamon essential oils. Journal Food Process. Preserv: In Press.

12. Hosseinian S., Irji Marshak M., Dehghani A., and Zafarnolou Y. 2017. Lemongrass and its pharmacological effects, the second international conference on medicinal plants, organic agriculture, natural and medicinal substances, Mashhad. https://civilica.com/doc/879031.
13. Jalali M., Abedi D., Ghasemi Dehkordi N., and Chaharmahali A. 2015. Investigating the antimicrobial effects of hydroalcoholic extracts of a number of medicinal plants against Listeria monocytogenes bacteria.J. Shahrekord Uni. Med. Sci. 8(3):25-33.
14. Jalali M., Ariiai P., and Fattahi E. 2015. Effect of alginate/carboxyl methyl cellulose composite coating incorporated with clove essential oil on the quality of silver carp fillet and Escherichia coli O157:H7 inhibition during refrigerated storage. J. Food Sci Technol. DOI 10.1007/s13197-015-2060- 14.
15. Joseph G., and Louis P. 2011. Language and Molecular Chirality. I. Background and Dissymmetry. Chirality 23:1−16.
16. Karimi M., Hashemi Rawan M., and Lavasani Sh. 2016. Investigating the effect of lemon grass essential oil on shelf life and quality characteristics of ground beef during storage at 4 degrees Celsius. J. Food Microb. 5(2):35-51.
17. Kim J., Choi I., Shin W.K., and Kim Y. 2014. Effects of HPMC (Hydroxypropylmethylcellulose) on oil uptake and texture ofgluten-free soy donut. LWT-Food Sci.Tech. 58:1-8.
18. Mahdavi V., Hosseini E., and Sharifian A. 2018. Effect of edible chitosan film enriched with anise (*Pimpinella anisum* L.) essential oil on shelf life and quality of the chicken burger. Food sci Nutr. Meng J., Zhao S.H., Doyle M., and Joseph S.W. 2007. Antibiotic resistance of Escherichia coli O157: H7 and O157: NM isolated from animals, food, and humans. Food Protect. 61:1511-1514. Motamedi H., Vafaei M., Seyyednejad M., and Bakhtiari A. 2011.
19. The First International and 4th National Congress on health Education and Promotion, ID:2583.
20. Nazimi M., MoradiY., Ghazi M., Lakzaei F., and Karimpour M. 2016. Investigating the antibacterial activity of methanolic and aqueous extracts of the body wall of sea cucumber Holothuria leucospilota on some human pathogenic bacteria.Sci.J. Hamedan Uni. Med. Sci. Health Ser. 23:1.
21. Negi P.S. 2012. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. Int. J. Food Microb. 156(1):7-17.
22. Norhana M. N W Poole S., Deeth H.C., and Dykes G. A. 2010. Prevalence, persistence and control of Salmonella and Listeria in shrimp and shrimp products: A review. Food Control. 21:343–361.
23. Nowak A., Marshall M., and Wei C. 2016. Polyphenolic extracts of cherry (*Prunus cerasus* L.) and blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) leaves as natural preservatives in meat products. Food Microbiol. 59:142-149.
24. Pertovi R., Talebi F., and Sharifzadeh A. 2017. Investigating the effect of marjoram and lemon grass essential oil individually and in combination on Gram-negative bacteria, the second national conference on new achievements in food industry and healthy nutrition. Tehran. Alborz Province Agricultural Engineers and Natural Resources Mobilization Organization.
25. Quirós P., Martínez-Castillo A., and Muniesa M. 2015. Improving detection of Shiga toxin-producing Escherichia coli by molecular methods by reducing the interference of free Shiga toxin-encoding bacteriophages. Appl Environ Microbiol. 81(1):415-21.
26. Shahnazi S., Khalili Sigaroudi F., Ajni Y., Yazdani D., Ahvazi M., and taghizad F. 2007. Investigation of chemical composition and antimicrobial properties Thymus trautvetteri essential oil. J Medicin Plants. 23:80–88.

27. Shahnia M., and Khaksar R. 2011. Investigating the antimicrobial effects and methods of determining the minimum inhibitory concentration of plant essential oils on pathogenic bacteria, Iranian J. Nutri. Sci. Food Ind. 7(5):949-955.
28. Shan B., Cai Y., Brooks J., Dand Corke H. 2007. Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (*Cinnamomum burmannii*): activity against foodborne pathogenic bacteria. Food Chem. 55(14):5484–5490.
29. Tarig M., Saida A., Elgasim A., Hager H.A.B., Eltiliba Alaa El-Din A., Bekhitb Fahad Y., Al-Juhaimic and Isam Mohamed Ahmed A. 2018. Antioxidant and antimicrobial potentials of Damsissa (*Ambrosia maritima*) leaf powder extract added to minced beef during cold storage. J Food. 16(1):642-649.
30. Ud-Din A., and Vahid S. Re. 2014. ationship among Shigella spp. and enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) and their differentiation. Brazil J Microb. 45(4):1131-1138.
31. Yang S.C., Hung C.F., Aljuffali I., and FangJ.Y. 2015. The roles of the vitulence factorIpaBShigella spp. in the escape from immune cells and invasion of epithelial cells. Microbiol Res. 181:43-51.
32. Yazdani D., Rezazadeh Sh., and Shahabi N. 2003. Identification and introduction of volatile oil components of lemongrass plant planted in northern Iran.J. Med. Plants. 9:69-74.
33. Zanelli G., and De Luca A. 2016. Gastroenteritis and Intractable Diarrhea in Newborns. Springer Int. Publishing Switzerland, 1-9.
34. Zhang H., Kong B., Xiong Y., and Sun X. 2009. Antimicrobial activity of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4oC. Meat Sci. 81, pp 686-69.

Evaluation of the effect of lemongrass (Cymbopogon citratus) essence on food infectious microorganisms

Haghshenas F[1] and Khakipour N[*2]

1. Department of Food Science, Savadkooh branch, Islamic Azad University, Savadkooh, Iran.
2. Department of Agriculture, Savadkooh branch, Islamic Azad University, Savadkooh, Iran.

[*] **Corresponding author:** *nazanin_kh_43713@yahoo.com*

Received: 10 May 2021 Accepted: 28 September 2021

Abstract

The aim of this study was to evaluate the antibacterial properties of lemongrass essence (*Cymbopogon citratus*) against pathogenic bacteria. For this purpose, the antimicrobial activity of the essence was determined by minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) against five pathogenic bacteria and food contamination factors such as gram-positive bacteria such as *Bacillus cereus* and *Clostridium botulinum* and gram- negative bacteria such as *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* and *Shigella*. The results showed that the highest MIC and MBC were observed against *Shigella* Gram-negative bacteria (MIC 566.66 ppm, MBC: 658.33). The lowest MIC and MBC values were observed against *Clostridium botulinum* (MIC 258.33 ppm, MBC: 408.08). Antibacterial activity of different concentrations (100, 250, 500, 750 and 1000 ppm) of the essence was also determined by the diameter of the inhibition zone and compared with the antibiotic tetracycline. The diameter of the growth inhibition zone of different concentrations of *Bacillus cereus* essence is 10.29-24.83 mm, *Clostridium botulinum* is 9.65-28.72 mm, *Escherichia coli* is 8.25-19.58 mm, *Pseudomonas aeruginosa* 6.41-18.15 mm and 5.41-16.41 mm respectively. In total, concentrations of 750 and 1000 ppm had the highest antimicrobial activity compared to antibiotic tetracycline. Based on the results of this study, lemongrass essence has an acceptable antimicrobial effect and can be used as an alternative to common antimicrobial compounds.

Keywords: Essence, Lemongrass, Bacteria, Tetracycline.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.
Copyright © 2022 Shahrekord Branch, Islamic Azad University.