مجله میکروب شناسی مواد غذائی

بررسی خواص آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی اسانس جعفری بر روی تعدادی از باکتریهای عامل فساد و بیماریزای غذایی

رضا شرافتی چالشتری[1*]، محمود رفیعیان کوپائی[2]، علی شرافتی چالشتری[2]، الهام صالحی[3]

1. مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان.
2. مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.
3. دانش آموخته دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

*نویسنده مسئول: sharafati33@yahoo.com

چکیده

در این مطالعه میزان ترکیبات فنلی و اثر آنتی اکسیدانی اسانس جعفری شناسایی و اثر ضد باکتریایی آن در برابر هفت باکتری عامل فساد و بیماریزای منتقله از غذا در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. در این مطالعه تجربی، پس از تهیه اسانس جعفری، میزان ترکیبات فنلی کل به روش رنگ سنجی فولین سیوکالتیو و ظرفیت آنتی اکسیدانی اسانس نیز به روش رنگ زدایی بتاکاروتن اندازهگیری شد. اثرات ضد میکروبی آن به صورت حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد و حداقل غلظت کشندگی باکتری با استفاده از روش میکرودایلوشن، علیه باکتریهای *آلکالیژنز فکالیس، سراتیا مارسسنس، پرووویدنسیا رتگری، کلبسیلا اکسیتوکا، استافیلوکوکوس ارئوس، شیگلا دیسانتری* و *لیستریا مونوسیتوژنز* انجام شد. نتایج نشان داد که میزان فنل کل 0/45 ±8/18 میلیگرم در گرم، معادل اسید گالیک و ظرفیت آنتی اکسیدانی آن برابر 1/52 ±45 درصد بود. همچنین اسانس جعفری دارای اثر ضد میکروبی بر روی باکتریهای مذکور بوده و میزان حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد باکتری بین 1/562 و 12/5 و حداقل غلظت کشندگی باکتری بین 3/125 و 25 میلیگرم در میلیلیتر بود. بنابراین اسانس جعفری به دلیل داشتن مواد موثره ای نظیر ترکیبات فنلی دارای خاصیت آنتی اکسیدانی و اثر ضد میکروبی بوده و میتوان آن را به عنوان یک ماده نگهدارنده در صنایع غذائی پیشنهاد داد.

واژگان کلیدی: آنتی اکسیدان، ضد باکتریایی، جعفری، فساد مواد غذایی

مقدمه

اسانسهاي گیاهی و ترکیبات تشکیل دهنده آنها بیشتر ترکیبات فنلی هستند که داراي اثرات شناخته شده ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی میباشند که برخی از آن-ها از عوامل مهم ایجاد کننده طعم در غذا نیز به شمار میروند. بنابراین، این ترکیبات میتوانند به صورت یك جزء عملگر، طعم دهنده و همچنین نگهدارنده در مواد غذایي بکار برده شوند. سازمان غذا و دارو امریکا (FDA)[1] نیز استفاده از اسانسهاي روغني را به عنوان افزودنیهاي غذایي (GRAS)[2] به رسمیت شناخته است (Mashak et al., 2012). جعفری گیاهی دو ساله از تیره چتریان است که در صنایع غذائی، داروئی، عطرسازی و آرایشی استفاده می-شود. جوشانده این گیاه در درمان ادم بافتها، خیز عمومی بدن، سنگ کلیه (به عنوان یک ترکیب مدر)،

[1] Food and Drug Administration
[2] Generally Recognized As Safe

اختلالات دستگاه گوارش، نفخ، زردی، بیماری‌های کبد و طحال، تنگی نفس، قطع قاعدگی ناشی از ضعف در زنان جوان و بیماری‌های جلدی بکار می‌رود. از برگهای جعفری به عنوان یک فاکتور کاهش دهنده قند خون در بیماران دیابتی استفاده می‌شود. همچنین از آن در درمان فشار خون، التهاب مفاصل و سل استفاده می‌کنند. ترکیبات برگ گیاه افزایش دهنده ظرفیت احیا در پلاسما و کاهنده استرس اکسیداتیو بوده و همچنین خواص ضد میکربی و آنتی اکسیدانی آن شناخته شده است (Lopez et al., 1999; Ozsoy-Sacan et al., 2006). خواص درمانی جعفری مربوط به ترکیبات فلاونوئیدی، آپیئین، لوتئولین، گلیکوزیدها، آپیژنین، کاروتنوئیدها، اسید آسکوربیک، توکوفرول، آپیول، میریستیسین، کومارینها، برگاپتن، ایمپراتورین، فتالیدها، فرانوکوکومارینها و سسکوئی ترپنها می‌باشد (Nitz & Drawert. 1991; Ozsoy-Sacan et al., 2006). در سالهای اخیر، حضور میکروارگانیسمها و به ویژه باکتریهای عامل فساد مواد غذایی و بیماریزای منتقله از غذا اهمیت فراواني را از نظر بهداشت عمومي و کنترل کیفیت مواد غذایي به خود معطوف کرده است (Gandomi Nasr Abadi et al., 2012a). میکروارگانیسمهاي بیماریزاي منتقله از مواد غذایي و شیوع بیماریهای ناشی از آنها، هر ساله خسارات مالي و جاني فراواني در جهان به دنبال دارند. علاوه بر این فساد مواد غذایي در اثر رشد میکروارگانیسمها همچنان به عنوان یك معضل در صنعت غذایي به شمار میرود (Gandomi Nasr Abadi et al., 2012b). در سالهای اخیر تلاشهاي زیادي مانند استفاده از مواد شیمیایي سنتزي جهت کنترل رشد میکروبي و کاهش شیوع مسمومیتهاي غذایي و فساد آنها صورت گرفته است (Ojagh et al., 2012). با این حال افزایش سطح آگاهي و نگرانیهاي عمومي در خصوص عوارض نگهدارنده-هاي شیمیایي، تمایل به استفاده از فراوردههای عاری از نگهدارندههای سنتتیک را افزایش داده است. بنابراین هدف از انجام این مطالعه، بررسی خواص آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی اسانس جعفری بر روی تعدادی از باکتریهای عامل فساد و بیماری-زای منتقله از غذا بود.

مواد و روش کار

تهیه اسانس و سوش های باکتریایی

این مطالعه به صورت تجربی آزمایشگاهی در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام گرفت. جهت انجام این مطالعه از سویههای استاندارد *آلکالیژنز فکالیس* (PTCC1624)، *سراتیا مارسسنس* (PTCC1621)، *کلبسیلا اکسیتوکا* (PTCC1402)، *پروویدنسیا رتگری* (PTCC1512)، *استافیلوکوکوس ارئوس* (PTCC1189)، *شیگلا دیسانتری* (PTCC1188) و *لیستریا مونوسیتوژنز* (PTCC1163) تهیه شده از سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران استفاده شد. براي این منظور از کشت 24 ساعته باکتري بر روي محیط بلاد آگار، سوسپانسوني با کدورت معادل لوله 0/5 مک فارلند در نرمال سالین تهیه شد. در این شرایط تعداد باکتریها حدود $1/5\times10^8$ CFU/ml می-

باشد. از این سوسپانسون در مراحل بعدی آزمایش استفاده شد (Adiguzel et al., 2007). برای تهیه اسانس گیاهی، برگهای گیاه جعفری از یکی از مراکز فروش در شهرکرد تهیه شد و پس از شناسایی و تائید در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد در مراحل بعدی مورد استفاده قرار گرفت. سپس برگها در سایه خشک و آسیاب شدند. اسانس توسط دستگاه کلونجر تهیه شد، بطوریکه در هر بار اسانس گیری، 100 گرم گیاه خرد شده به همراه یک لیتر آب در دستگاه ریخته شد و اسانس گیری در مدت سه ساعت انجام گرفت. اسانس تهیه شده در یخچال در دمای 4 تا 6 درجه سلسیوس و درون شیشههای تیره رنگ نگهداری گردید. سپس غلظتهای مختلف اسانس گیاهی (0/39-200 میلیگرم در میلی لیتر) توسط حلال مناسب که خاصیت ضد میکروبی نداشته باشد مانند (DMSO)[1] تهیه شد (Adiguzel et al., 2007).

تعیین میزان فنل کل

میزان ترکیبات فنلی کل براساس روش رنگ سنجی فولین-سیوکالتیو و بر حسب اسید گالیک اندازهگیری شد. رسم منحنی استاندارد محلول-های استاندارد با غلظتهای 12/5، 25، 50، 62/5، 100 و 125 میلیگرم در لیتر از اسید گالیک در محلول 60% متانول تهیه شد. آنگاه از هرکدام 0/1 میلی لیتر به لوله آزمایش منتقل گردید و به آنها 0/5 میلیلیتر از محلول 10% واکنشگر فولین-سیوکالتیو و پس از 3 الی 8 دقیقه به آن 0/4 میلیلیتر از محلول کربنات سدیم 5/7% اضافه گردید، سپس لولهها به مدت 30 دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری و پس از آن میزان جذب به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج 765 نانومتر و در سه تکرار اندازه-گیری و بر اساس این یافتهها نمودار استاندارد رسم گردید. سپس 0/01 تا 0/02 گرم (50 میکرولیتر) از اسانس را در متانول 60% حل کرده و به حجم 10 میلی لیتر رسانیده و بر اساس روش فولین-سیوکالتیو میزان فنل کل تعیین شد، با این تفاوت که به جای محلول استاندارد، 0/1 میلی لیتر از محلول اسانس اضافه شد. آنگاه میزان جذب

[1] Dimethyl Sulfoxide

خوانده شده را در رابطه به‌دست آمده از نمودار استاندارد قرار داده و به این ترتیب مقدار فنل کل برحسب میلیگرم در گرم اسانس بدست آمد (Sharafati Chaleshtori et al., 2011).

تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی به روش بتا کاروتن

برای انجام آزمایش ابتدا یک محلول پایه از بتا کاروتن-لینولئیک اسید تهیه گردید به این صورت که، 0/5 میلیگرم بتاکاروتن در 1 میلیلیتر کلروفرم حل شد، سپس 25 میکرولیتر لینولئیک اسید و 200 میلیگرم توئین 40 به آن اضافه گردید و کاملاً مخلوط شد. سپس با تبخیر در خلأ کلروفرم تبخیر و 100 میلیلیتر آب مقطر اشباع شده از اکسیژن (30 دقیقه تحت فشار 100 میلیلیتر در دقیقه) همراه با تکان شدید به آن اضافه شد. 2/5 میلی لیتر از محلول تهیه شده فوق به لوله آزمایش منتقل و 350 میکرولیتر از اسانس به لوله آزمایش اضافه گردید. تمامی این مراحل در مورد بوتیلیتد هیدروکسی تولوئن به عنوان شاهد مثبت و بلانک (فقط حاوی 350 میکرولیتر اتانول) انجام شد. بعد از 48 ساعت گرمخانه گذاری در دمای اتاق جذب نوری نمونه ها در 490 نانومتر خوانده شد و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی، از مقایسه جذب نوری نمونهها با زمان صفر و از روی میزان پایداری رنگ زرد بتا کاروتن به درصد مورد سنجش قرار گرفت (Kamkar et al., 2010). تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی و حداقل میزان کشندگی، با استفاده از روش میکرودایلوشن اندازهگیری گردید. به این صورت که برای هر تست 10 چاهک از پلیت الایزا انتخاب نموده ابتدا به هر کدام 95 میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث اضافه

نمونه، سپس 5 میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی معادل لوله 0/5 مک فارلند به همه چاهکها اضافه شد و به هر کدام از چاهکها 100 میکرولیتر از رقت-های متوالی اسانس معادل 0/39 تا 200 میلیگرم در میلیلیتر اضافه گردید. چاهک شماره 9 صرفا حاوی 195 میکرولیتر محیط کشت به اضافه 5 میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی بدون اسانس، به عنوان کنترل منفی و چاهک شماره 10 حاوی 200 میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث به‌عنوان کنترل مثبت (استریلیتی) در نظر گرفته شد. حجم نهايي در تمامي چاهك ها 200 میکرولیتر بود. پس از مخلوط کردن نمونهها توسط شیکر (20 ثانیه، 300 دور در دقیقه) آنها را به مدت 24- 18 ساعت در انکوباتور 37 درجه قرار داده وسپس چاهکها به صورت چشمي از نظر ایجاد یا عدم ایجاد کدورت بررسي شدند. بهمنظور تأیید، به میزان 10 میکرولیتر از اولین چاهك شفاف، همراه با يك چاهك شفاف و كدر مجاور آن برداشت نموده و پس از رقت سازي، به صورت سطحي در آگار مغذي كشت داده شدند (Sharafati Chaleshtori et al., 2011). کلیه آزمایشها در سه تکرار انجام پذیرفت و نتایج به-دست آمده بر اساس آمار توصیفی با استفاده از میانگین و انحراف معیار بیان شد.

نتایج

میزان ترکیبات فنلی برحسب میلیگرم در گرم معادل اسید گالیک و ظرفیت آنتی اکسیدانی اسانس جعفری در جدول شماره 1 بیان شده است. نتایج نشان میدهد که میزان خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس کمتر از آنتی اکسیدان استاندارد بوتیلیتد هیدروکسی تولوئن است. همچنین نتایج نشان داد که اسانس جعفری دارای اثر ضد میکروبی بوده و مقادیر حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد باکتری و حداقل غلظت کشندگی باکتری آنها در جدول شماره 2 بیان شده است. بر اساس نتایج دامنه حداقل غلظت مهار کنندگی در محدوده 1/56-12/5 میلیگرم در میلیلیتر و حداقل میزان کشندگی در محدوده 3/12-25 میلیگرم در میلی لیتر قرار دارد. کمترین میزان حداقل ممانعت کنندگی از رشد برای باکتریهای گرم منفی *آلکالیژنز فکالیس*، *سراتیا مارسسنس* و *شیگلا دیسانتری* به ترتیب برابر با 1/562، 3/125 و 1/562 میلی گرم در میلیلیتر مشاهده شد و کمترین میزان حداقل کشندگی نیز برای سه باکتری مذکور بود و به ترتیب برابر با 3/125، 6/25 و 3/125 میلیگرم در میلیلیتر مشاهده گردید. نتایج نشان داد که باکتریهای گرم مثبت *استافیلوکوکوس ارئوس* و *لیستریا مونوسیتوژنز* نسبت به باکتریهای گرم منفی به اسانس جعفری مقاوم-تر بودند بهطوریکه بیشترین میزان حداقل ممانعت از رشد برای هر دو باکتری غلظت یکسان 12/5 میلیگرم در میلیلیتر و میزان حداقل میزان کشندگی نیز با غلظت یکسان 25 میلیگرم در میلیلیتر مشاهده گردید.

جدول 1- ظرفیت آنتی اکسیدانی برحسب درصد و میزان ترکیبات فنلی اسانس جعفری برحسب میلی‌گرم درگرم اسیدگالیک

		ظرفیت آنتی اکسیدانی	میزان ترکیبات فنلی
اسانس جعفری		45±1/52	8/18±0/45
بوتیلی‌تد تولوئن	هیدروکسی	90/6±3/30	-

جدول 2- مقادیر حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد باکتری و حداقل غلظت کشندگی باکتری اسانس جعفری بر تعدادی از باکتریهای عامل فساد و بیماریزای غذایی بر حسب میلی گرم درمیلیلیتر

باکتری	حداقل غلظت ممانعت از رشد	حداقل غلظت کشندگی باکتری
آلکالیژنز فکالیس	1/562	3/125
سراتیا مارسسنس	3/125	6/25
کلبسیلا اکسیتوکا	12/5	25
پروویدنسیا رتگری	6/25	12/5
استافیلوکوکوس ارئوس	12/5	25
شیگلا دیسانتری	1/562	3/125
لیستریا مونوسیتوژنز	12/5	25

بحث

باکتری‌ها از مهمترین عوامل عفونتها و مسمومی‌تهای ناشی از مواد غذایی می‌باشند. مسمومی‌تهای مواد غذایی به طریق مستقیم و غیر مستقیم در اقتصاد ملی تاثیر گذار می‌باشند (Razavilar, 2002). به همین منظور در این تحقیق، اثر آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس جعفری بر رشد چندین باکتری عامل فساد و بیماریزای منتقله از غذا مورد بررسی قرار گرفت. مطالعات قبلی نشان دادند که عصاره آبی و متانولی برگ و ساقه جعفری حاوی ترکیبات فنلی زیادی است و این میزان در برگ و عصاره متانولی برابر 9/6±152 میلی‌گرم در گرم و به طور محسوسی از ساقه آن بیشتر بود (Wong et al., 2006). همچنین بیشترین ترکیبات شناسایی شده در آنها نیز فلاونوئیدها بودند (Justesen & Knuthsen, 2001). بنابراین با توجه به محتوی بالای ترکیبات فنلی، عصاره متانولی برگ جعفری بالاترین خاصیت مهار کنندگی رادیکالهای آزاد را در روش Wong et al. (2006) نسبت به سایر گیاهان و نوع عصاره از خود نشان داد به‌طوریکه در این روش رنگ ارغوانی حاصل از رادیکالهای آزاد Wong et al. (2006) توسط آنتی اکسیدانها کاهش یافته و به رنگ زرد، متمایل شد. در مطالعه حاضر نیز وجود ترکیبات فنلی در اسانس جعفری و اثر آنتی اکسیدانی آن به روش رنگ زدایی بتاکاروتن نیز به اثبات رسید که میزان آنها در جدول 1 ذکر شده است. تحقیقات نشان دادهاند که اسانسها می‌توانند شامل بیش از 60 جزء باشند، که جزء اصلي گاهي تا 85 درصد اسانس را شامل میشود در حالیکه سایر ترکیبات در مقادیر اندك وجود دارند (Hsieh et al., 2001). گیاه جعفري داراي مقادیر زیادي ترکیبات سسکوئي ترپن است که داراي خصوصیات ضد دردی میباشد. همچنین وجود ترکیباتي از جمله فلاونوئیدها، تانین و ترپنوئیدها در گیاه جعفري گزارش شده است (Hmamouchi et al., 1999). ترکیبات فنلی به خصوص فلاونوئیدها با به‌دام انداختن رادیکالهای آزاد و کاهش استرس اکسیداتیو و همچنین مهار ماکرومولکولهای اکسیداسیون، خواص آنتی اکسیدانی قوی از خود نشان داده و خطر

بیماری‌های دژنراتیو را کم می‌کنند (Silva et al., 2004). در مطالعه‌ای اثر ضد باکتریایی بالاتر عصاره متانولی برگ جعفری نسبت به عصاره آبی آن، که سبب صدمه سلولی به سلولهای *باسیلوس سوبتیلیس* و *اشریشیا کلی* شده بود نشان داده شد. اثرات ضد باکتری‌های گرم منفی مانند *اشریشیا*، *اروینیا* و گرم مثبت مانند *لیستریا* و *میکروکوکوس* در برگ جعفری را مربوط به حضور ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی همانند فوروکوماری‌نها، فورانوکوماری‌نها می‌دانند (Manderfield et al.,1997). در بررسی‌های دیگری اثرات ضد باکتریایی و خواص آنتی اکسیدانی عصارهها و اسانس قسمتهای مختلف گیاهی جعفری را علیه باکتری‌های گوناگون نشان دادهاند (Nakhaei Moghaddam. 2010; Wong et al., 2006). در این تحقیق نیز اثر ضد باکتریایی اسانس جعفری نشان داده شد و مشخص گردید که باکترهای گرم منفی نسبت به گرم مثبتها حساستر بودند. مطالعات گذشته نشان دادهاند که باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتریهای گرم مثبت، مقاومت بیشتری نسبت به اثرات ضد باکتریایی اسانسها نشان میدهند و این به علت وجود ساختار دیواره سلولی آب دوست همانند لیپو پلی ساکاریدباکتری‌های گرم منفی است که سبب محدود شدن انتشار ترکیبات آب گریز اسانسها در آن میشود (Amensour et al., 2010; Sulaimain et al., 2011). از طرفی گزارشات دیگری نشان داده اند که باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتریهای گرم مثبت، حساسیت بیشتری نسبت به اسانسها داشته و این هم به علت اثرات ترکیبات موجود در اسانس

بر روی نفوذ پذیری لایه خارجی باکتریهای گرم منفی بوده است (Pripdeevech et al., 2011). مطالعات قبلی نشان دادهاند که فعالیت ضد باکتریایی اسانسها مربوط به ترکیبات مونوترپنی آنها است، بهطوریکه سبب مهار تنفس سلولی و مهار انتقال آنها به باکتریها میشود. همچنین وجود ترکیبات سسکوئی ترپن که دارای نقش دفاعی در گیاهان هستند نیز میتوانند فعالیت ضد باکتریایی داشته باشند. اثر ضد میکروبی آنها احتمالاً ناشی از ترکیب پروتئین-های خارج سلولی و یا تشکیل کمپلکس با دیواره سلولی و یا ایجاد اختلال در غشاء سلول میکروارگانیسمها است (Deba et al., 2008, Tsuchiya et al., 1996). نتایج این تحقیق نشان داد که اسانس جعفری از ویژگیهای آنتی اکسیدانی و ضد باکتریائی در شرایط آزمایشگاهی برخوردار بود و این یافتهها می-تواند زمینه تحقیقات بیشتری را در آینده برای شناسایی، تعیین مقدار و تخلیص ترکیبات مؤثره آنها را فراهم کند تا بهعنوان مواد نگهدارنده طبیعی در صنایع غذائی و داروهای ضد باکتریایی برای پیشگیری و کنترل بیماریهای عفونی از جمله عفونتهای گوارشی مورد استفاده قرار گیرند.

تقدیر و تشکر

از معاونت محترم پژوهشی و مرکز تحقیقات گیاهان داروئی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد جهت تأمین هزینه و امکانات و کارکنان مرکز تحقیقات گیاهان داروئی به دلیل همکاری در اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی به عمل می آید.

Reference

1. Adiguzel, A., Ozer, H., Kilic, H., and Cetin, B. 2007. Screening of Antimicrobial activity of essential oil and methanol extract of Satureja hortensis on foodborne bacteria and fungi. Czech J Food Sci. 25: 81-89.
2. Amensour, M., Bouhdid, S., Fernandez-Lopez, J., Idaomar, M., Senhajin, S., and Abrini, J. 2010. Antibacterial activity of extracts of Myrtus communis against food-borne pathogenic and Spoilage bacteria. Int J Food Prop. 13: 1215-24.
3. Deba, F., Xuan, T.D., Yasuda, M., and Tawata, S. 2008. Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from Bidens pilosa Linn. var. Radiata. Food Control. 19: 346-352.
4. Gandomi Nasr Abadi, H., Abbaszadeh, S.,Tayyar Hashtjin, N., and Yamrali, I. 2012a. Study of chemical composition of essential oil of afsantine (*artemisia absinthium*) and inhibitory effects of the essential oil and its aqueous and alcoholic extracts on some food borne bacterial pathogens. J Med Plants. 11: 120-127. (In Farsi).
5. Gandomi Nasr Abadi, H., Azami Sarokelaei, L., Misaghi, A., Abbaszadeh, S., Shariatifar, N., and Tayyar Hashtjin, N. 2012b. Antibacterial effect of aqueous and alcoholic extracts from petal of saffron (*Crocus sativus* l.) on some food borne bacterial pathogens. J Med Plants. 11:189-196. (In Farsi).
6. Hmamouchi, M. 1999. Les plantes medicinales et aromatiques marocaines. Rabat. 92:174.
7. Hsieh, P.C., Mau, J.L., and Huang, S.H. 2001. Antimicrobial effect of various combinations of plant extracts. Food Microbiol. 200: 35 - 43.
8. Justesen, U., and Knuthsen, P. 2001. Composition of flavonoids in fresh herbs and calculation of flavonoid intake by use of herbs in traditional Danish dishes. Food Chem. 73: 245–250.
9. Kamkar, A., Monfared, M., Jebelli Javan, A., Asadi, F., and Akhondzadeh, A. 2010. Antioxidative effects of liquid and organic extracts from Iranian nettle (Urtica dioica L.). As J Food Ag Ind. 3: 491-497.
10. Lopez, M.G., Sanchez-Mendoza, I.R., and Ochoa-Alejo, N. 1999. Comparative study of volatile components and fatty acids of plants and in vitro cultures of parsley *Petroselinum crispum* (Mill) nym ex hill. J Agric Food Chem. 47: 3292-3296.
11. Manderfield, M.M., Schafer, H.W., Davidson, P.M., and Zottola, E.A. 1997. Isolation and identification of antimicrobial furocoumarins from parsley. J Food Protect. 60: 72-77.
12. Mashak, Z., Moradi, B., and Moradi, B. 2012. The combined effect of zataria multiflora boiss. and *Cinnamomum zeylanicum* nees. Essential oil on the growth of bacillus cereus in a food model system. J Med Plants. 11: 62-73. (In Farsi).
13. Nakhaei Moghaddam, M. 2010. In vitro anti-bacterial activity of methanolic extract of *Apium petroselinum* L. seed against clinical isolates of Helicobacter pylori. Daneshvar Medicine. 17: 63-70. (In Farsi).
14. , S, and Drawert, F. 1991. The chemical composition of parsley root and seed extracts. Chem Microbiol Technol Lenensm. 13: 179-82.

15. Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H., and Hosseini, S.M.H. 2012. Investigation of antibacterial activity cinnamon bark essential oil (*Cinnamomum zeylanicum*) in vitro antibacterial activity against five food spoilage bacteria. J Food Sci Technol. 35: 67-76. (In Farsi).
16. Ozsoy-Sacan, O., Yanardag, R., Orak, H., Ozgey, Y., Yarat, A., and Tunali, T. 2006. Effects of parsley (*Petroselinum crispum*) extract versus glibornuride on the liver of streptozotocin-induced diabetic rats. J Ethnopharmacol. 104: 175-81.
17. Pripdeevech, P., Chumpolsri, W., Suttiarporn, P., and Wongpornchai, S. 2010. The chemical composition and antioxidant activities of basil from Thailand using retention indices and comprehensive two-dimensional gas chromatography. J Serb Chem Soc. 75: 1503-1513.
18. Razavilar, V. 2002. Pathogenic microorganisms in foods and epidemiology of food poisoning. Tehran University Pub. Tehran, 84-90 p.
19. Sharafati Chaleshtori, R., Sharafati Chaleshtori, F., and Rafieian kopaei M. 2011. Biological characterization of Iranian walnut (Juglans regia) leaves. Turk J Biol. 35: 635-639.
20. Silva, B.M., Andrade, P.B., Valentão, P., Ferreres, F., Seabra, R.M., and Ferreira, M.A. 2004. Quince (Cydonia oblonga Miller) fruit (pulp, peel, and seed) and jam: antioxidant activity. J AgricFood Chem. 52: 4705-4712.
21. Sulaimain, S., Ibrahim, D., Kassim, J., and Sheh-Hong, L. 2011. Antimicrobial and antioxidant activities of condensed tannin from *Rhizophora apiculata* barks. J Chem Pharm Res. 3. 436-444.
22. Tsuchiya, H.M., Sato, M., Miyazaki, T., Fujiwara, S., Tanigaki, S., Ohyama, M., Tanaka, T., and Iinuma, M. 1996. Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant Staphylococcus aureus. J Ethnopharmacol. 50: 27-34.
23. Wong, P.Y.Y., and Kitts, D.D. 2006. Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (*Petroselinum crispum*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. Food Chem. 97: 505-515.

Comment[1z]: دو ستون مساوی شوند.

Evaluation of the antioxidant and antibacterial effects of Apium petroselinum essential oil on food spoilage and pathogenic bacteria

Sharafati Chaleshtori R[1], Rafieian-kopaei M[2], Sharafati-Chaleshtori A[2], Salehi E[3]

1. Research Center for Biochemistry and Nutrition in Metabolic Diseases, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran.
2. Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.
3. Graduated From Veterinary Medicine, Faculty of Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

[*]**Corresponding author:** *sharafati33@yahoo.com*

Abstract

In this study, the total phenols and antioxidant activities of *Apium petroselinum* essential oil (APEO) were determined and its antibacterial effects on seven food spoilage and pathogenic bacteria studied in vitro. Having extracted the essential oil, the total phenols were determined colorimetrically and the antioxidant activities evaluated by bleaching of β-Carotene. Its antibacterial effects in the form of the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC) were determined by Micro Dilution method against Alcaligenes faecalis, Providensia rettgeri, Serratia marcesens, Klebsiella oxitoka, Staphylococcus aureus, *Shigella dysenteriae* and *Listeria monocytogenes*. The results revealed that the amount of total phenols was 8.18±0.45 mg/g equivalent with Gallic acid and the antioxidant activities were 45±1.52 %. In addition, the APEO had antimicrobial effects on the above bacteria. The minimum inhibitory concentration (MIC) was between 1.562 and 12.5 and the minimum bactericidal concentration (MBC) was between 3.125 and 25 mg/ml. Therefore, APEO, because of having phenolic contents, enjoys antioxidant activities and antibacterial effects recommending as a suitable preservative in food industries.

Keywords: antioxidant, antibacterial, Apium petroselinum, food spoilage.