

مطالعه اثرات همزمان اسید لاکتیک و کلرور سدیم روی فعالیت ضد باکتریایی اسانس های زیره و شوید در شرایط آزمایشگاهی

یاسر شیری^۱* مسلم نیریز نقدهی^۱

۱- گروه میکروبیولوژی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران

*نشانی برای مکاتبه: Shiri_yaser@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: استفاده از اسانس بعضی از گیاهان در صنایع غذایی به دلیل دارا بودن خصوصیات ضد میکروبی، ضد اکسیدانی و طعم دهنده گی رو به گسترش می باشد. در سال های اخیر، افزایش اثرات ضد میکروبی اسانس های مختلف با سایر عوامل ضد میکروبی مورد توجه محققین قرار گرفته است. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر همزمان اسید لاکتیک و کلرور سدیم بر فعالیت ضد میکروبی اسانس های زیره و شوید می باشد.

روش کار: در تحقیق حاضر، ترکیبات تشکیل دهنده اسانس های شوید و زیره، و نیز اثرات ضد باکتریایی آن ها به صورت جداگانه و در شرایط حضور غلظت های مختلف کلرور سدیم و اسید لاکتیک (۰/۵، ۱، ۲ و ۴ درصد) روی باکتری های اشریشیاکلی O157 و استافیلوکوکوس اورئوس مورد مطالعه قرار گرفتند. تجزیه ترکیبات تشکیل دهنده اسانس های شوید و زیره به روش GC/MS و آزمایش های حساسیت ضد میکروبی به روش های انتشار دیسک انجام گردید.

نتایج: آزمایش های حساسیت ضد میکروبی نشان داد که اسانس های شوید و زیره به تنهایی دارای اثرات ضد باکتریایی بوده و اثرات ضد باکتریایی آن ها روی استافیلوکوکوس اورئوس (MIC: 5 mg/ml) بیشتر از اشریشیاکلی (MIC: 10 mg/ml) O157 بود. همچنین اثرات ضد باکتریایی اسانس های شوید و زیره با افزایش غلظت های کلرور سدیم به ویژه در غلظت های برابر یا بزرگتر از یک درصد به صورت معنی داری افزایش یافته بود.

نتیجه گیری: اسانس های شوید و زیره به تنهایی دارای اثرات ضد باکتریایی بوده و اثرات ضد باکتریایی آن ها در حضور غلظت یک درصد و بالاتر کلرور سدیم و نیز در حضور غلظت ۰/۵ درصد اسید لاکتیک به صورت قابل توجهی افزایش می یابد.

واژگان کلیدی: ترکیبات شیمیایی، اثرات ضد باکتریایی، اسانس شوید، اسانس زیره، کلرور سدیم، اسید لاکتیک

مقدمه

گیاهان دارویی به طور سنتی در سراسر جهان به عنوان دارو برای درمان بیماری های مختلف از جمله آسم، علائم گوارشی، اختلالات پوستی، مشکلات تنفسی، ادراری، بیماری های کبدی و قلبی و عروقی استفاده می شود (۱). این گیاهان مجموعه متنوعی از ترکیبات فعال بیولوژیکی را سنتز می کنند (۲) که برای بقا و شکوفایی آنها در محیط طبیعی، از جمله عملکردهای محافظتی با توجه به تنش های غیرزیستی ناشی از دما، وضعیت آب، تامین مواد مغذی معدنی و آفات حشرات مهم می باشد (۳).

برای مقابله با کمبود ترکیبات ضد باکتری جدید و افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی، گیاهان می توانند یک راه حل بالقوه باشند. در واقع، گیاهان به مجموعه ای از مکانیسم های دفاعی مؤثر، مانند تولید متابولیت های ثانویه، برای مبارزه با آفات و عوامل بیماری زا قبل از اینکه بتوانند آسیب جدی وارد کنند، مجهز هستند. گیاهان و سایر موجودات بیش از ۳۵۰ میلیون سال است که با هم تکامل یافته اند (۴). بیش از ۱۳۴۰ گیاه با فعالیت ضد میکروبی مشخص وجود دارد و بیش از ۳۰۰۰۰ ترکیب ضد میکروبی از گیاهان جداسازی شده اند (۵).

دیلاپیول بالا (۵۲درصد) اما کاروون کمتری (۲۱درصد) را دارد (۱۲، ۱۳). با توجه به ظهور مقاومت های باکتریایی جدید و کمبود آنتی بیوتیک های موثر نیاز به بررسی اثرات گیاهان بر روی باکتری های مقاوم می باشد. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات اسید لاکتیک و کلرور سدیم بر فعالیت های ضد میکروبی اسانس های زیر و شوید بر روی باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و اشیریشیا کلی O157H7 در محیط های آزمایشگاهی می باشد.

روش کار

نمونه گیاهی و استخراج اسانس اسانس گیاهان زیره (*Cuminum cyminum L.*) و شوید (*Anethum graveolens L.*) از شرکت باریج اسانس کاشان تهیه گردیدند و تا زمان آزمایش ضد باکتریایی در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. سویه های میکروبی سویه های استاندارد اشیریشیا کلی O157 (ATCC 2950) و استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 29213) از کلکسیون بخش کنترل کیفی مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه جهت ارزیابی اثر آنتی باکتریال اسانس های شوید و زیره تهیه شدند. سویه های مورد مطالعه با استفاده از محیط کشت های افتراقی، انتخابی و اختصاصی و با استفاده از تست های بیوشیمیایی تایید هویت شدند. تجزیه ترکیبات شیمیایی اسانس های مورد آزمایش به روش GC/MS: تجزیه ترکیبات شیمیایی اسانس های شوید و زیره در مرکز زیست فناوری دانشگاه ارومیه انجام گردید. روغن اساسی به طور پیوسته در یک کروماتوگرافی گازی که با طیف سنجی جرمی ترکیب شده است تزریق می شود. که به ۳۰ m ID 0.25 mm × ، ستون های مویی سیلیکای ذوب شده مجهز می باشد که به طور شیمیایی با فاز ثابت ۰.۲۵ m DB1-MS پیوند دارد. دمای تزریق ۲۶۰ درجه سانتی گراد می باشد. سرعت جریان پاکسازی دیواره ها ۲۰ ml/min می باشد. پاکسازی بعد از ۶۰ ثانیه فعال می شود. سرعت جریان گاز در ستون ها ۱ ml/min است. دمای اولیه ستون ها به مدت ۲ دقیقه در ۷۰ درجه سانتی گراد نگه داشته می شود. سپس دما تا ۱۸۰ درجه سانتی گراد در سرعت ۳ C/min افزایش پیدا می کند و حدود ۱۵ ثانیه حفظ می شود و در نهایت تا ۲۵۰ درجه سانتی گراد در سرعت ۱۰ C/min افزایش پیدا می کند. دمای منابع یونی ۲۹۰ C می باشد. هلیوم گاز حامل ۱ ml/min با حجم تزریق ۱/۱ است. یونیازسیون با یک پروتو الکترونی eV70 در جریان mA0/2 انجام می شود. توده

تخمین زده شده است که ۱۴ تا ۲۸ درصد از گونه های گیاهی عالی دارویی هستند و ۷۴ درصد از ترکیبات زیست فعال مشتق شده از گیاهان بر اساس کاربردهای قومی پزشکی کشف شده اند (۶). استفاده گسترده، نامناسب، نامنظم و بی رویه از آنتی بیوتیک ها منجر به ظهور مقاومت ضد میکروبی شده است و بسیاری از داروهای موجود در حال حاضر را بی اثر می کند (۷). این روند نوظهور نگران کننده است و توسط سازمان بهداشت جهانی به عنوان فوری ترین مسئله بیان شده است که علم پزشکی با آن مواجه می باشد (۸). آنتی بیوتیک های سنتتیک (Synthetic) در دهه های گذشته هر چند توانسته اند نقش مهمی را در درمان بیماری های عفونی ایفا نمایند، اما پیدایش مقاومت دارویی در برابر اغلب آنتی بیوتیک ها و بروز عوارض جانبی جدی به دنبال مصرف برخی از آنها انگیزه زیادی را برای جستجو و ارائه ترکیبات ضد میکروبی جدید به ویژه با منشاء گیاهی فراهم آورده است. خواص ضد میکروبی گیاهان از دیر باز مورد توجه بوده و گذشتگان بدون اطلاع از وجود میکروب ها و تنها از طریق تجربه های بالینی از این گیاهان در درمان بیماری های عفونی استفاده می کردند. با این حال امروزه مطالعه بر روی گیاهان مورد استفاده در طب سنتی با هدف رسیدن به ترکیبات جدید در اولویت قرار گرفته اند (۹). زیره از جمله گیاهانی است که در طب سنتی اثرات مختلف دارویی داشته و در طب مدرن نیز مورد توجه است. زیره گیاهی دو ساله ، به ارتفاع ۳۰ تا ۶۰ سانتی متر است. ریشه ای راست، دوکی شکل، گوشت دار و برگ هایی با بریدگی های نازک، نخی شکل و به رنگ سبز روشن دارد. گل های آن کوچک، سفید یا صورتی و مجتمع به صورت چتر مرکب است. زیره دارای ۸ درصد تانن، مادهی روغنی به رنگ سبز و به مقدار ۷ تا ۱۵ درصد، موم، موسیلاژ، مواد رزینی، مواد قندی مختلف، و ۳/۵ تا ۹ درصد اسانس است. از سوختن آن، ۶ تا ۹ درصد خاکستر بر جای می ماند. اسانس و عصاره زیره، از میوه گیاه به وسیله تقطیر با بخار آب بدست می آید (۱۰، ۱۱).
شوید هضم را بهبود می بخشد. نام شوید از کلمه نوس کهن گرفته شده است که به معنی تسکین دادن می باشد. در هندوستان از آن برای درمان اختلالات معده استفاده می کنند. اجزای اصلی شوید عبارتند از : لیمونین (۳۰ تا ۴۰ درصد)، فلاندرین (۱۰ تا ۲۰ درصد)، میریستیسین، دیلاپیول و دیگر مونوترپن ها تشکیل شده است. اسانس شوید دارای ترانس دی هیدروکاروون (۱۶/۶ درصد)، لیمونن (۶درصد)، دی هیدروکاروون (۱۷درصد) و آلفاپینن (۱درصد) می باشد که

گرم از اسانس های مورد مطالعه به لوله های آزمایش محتوی ۱ میلی لیتر از محلول ۱۰ درصد دی متیل سولفوکساید افزوده شد و با استفاده از شیکر لوله آزمایش تا ایجاد یک سوسپانسیون شیری رنگ تکان داده شدند. در مرحله بعدی از محلولهای اسانس ها، رقت های دو برابر تا ۷ رقت یعنی از ۱۰۰۰۰۰ تا $\mu\text{g/ml } 25/781$ در لوله های آزمایش محتوی آبگوشت مغذی تهیه شدند.

آزمایش تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس های شوید و زیره حداقل غلظت مهارکنندگی از نظر تعریف عبارتست از پایین ترین غلظت یک ماده ضد میکروب که موجب کاهش ۹۰ درصد تلقیح اولیه گردد. همچنین حداقل غلظت کشندگی عبارتست از پایین ترین غلظت ماده ضد میکروب که موجب کاهش ۹۹/۹ درصد تلقیح اولیه گردد. برای تعیین MIC و MBC از روش Broth Microdilution MIC testing استفاده شد. در این روش از پانل پلی استیرین سترون حاوی ۹۶ چاهک استفاده میگردد. برای تنظیم میزان تلقیح باکتریایی ابتدا با استفاده از روش استاندارد ۰/۵ مک فارلند تعداد $108 \times 5/1 \text{ CFU/ml}$ از باکتریهای مورد مطالعه بدست آمد سپس برای رسیدن به تلقیح باکتریایی $106 \times 5 \text{ CFU/ml}$ به میزان یک بیستم رقیق شدند. در مرحله بعد، رقت های دو برابر تا ۷ رقت از محلولهای اصلی اسانس های شوید و زیره در لوله های محتوی آبگوشت مغذی تهیه شدند (100 mg/ml تا $0/08$). برای تعیین MIC و MBC، ابتدا به میزان ۱۶۰ میکرولیتر از محیط آگار آبگوشت مغذی (BHIA-مرک آلمان)، سپس میزان ۲۰ میکرولیتر از غلظتهای تهیه شده اسانس شوید و یا اسانس زیره و در نهایت به میزان ۲۰ میکرولیتر از تلقیح باکتریایی به چاهک های میکروپلیت افزوده شدند. بدین ترتیب حجم محتویات در چاهک ها به ۲۰۰ میکرولیتر و با توجه به ایجاد رقت ۰/۱ در چاهک ها غلظت مواد در چاهک ها ۱۰ برابر رقیق شده و تعداد تقریبی باکتریها در چاهک ها هم به $105 \times 5 \text{ CFU/ml}$ رسید. برای کنترل مثبت (سترونی)، ۲۰۰ میکرولیتر آبگوشت مغذی و نیز ۱۸۰ میکرولیتر آبگوشت مغذی و ۲۰ میکرولیتر از حلالهای اتانول ۹۶ درصد و محلول ۱۰ درصد دی متیل سولفوکساید و برای کنترل منفی (رشد باکتریها)، ۱۸۰ میکرولیتر آبگوشت مغذی همراه با ۲۰ میکرولیتر از تلقیح های باکتریایی به چاهک ها افزوده شدند. میکروپلیت پس از درپوش گذاری به مدت ۲۰ ثانیه در سرعت 300 rpm در دستگاه ترموشیکر میکروپلیت تکان داده شده سپس به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند. پس از ۲۴

های زمانی در TI C جمع آوری می شوند که ولتاژ تسریع بعد از یک تأخیر ۱۹۰ ثانیه ای فعال می شود. تمام داده ها توسط Xcalibur (Thermofinigan USA) پردازش می شوند. شاخص بازداری برای هر یک از ترکیبات با استفاده از مقایسه زمان بازداری آن در مقابل زمان بازداری مجموعه های alkane محاسبه می شود (C8-C40)، مقادیر شاخص بازداری مطابق با (۸۰۰ تا ۴۰۰۰) می باشد. تمام مواد با استفاده از مقایسه هر دو طیف با آنهایی که در کتابخانه ها وجود دارند از جمله NIST, Wiley و کتابخانه های داخلی طیف های جمع آوری شده، به دست می آیند (۱۴).

تعیین فعالیت ضد باکتریایی اسانس روی سویه های مورد آزمایش به روش چاهک گذاری برای آماده سازی، ابتدا گرانول باکتریها در محیط آگار آبگوشت منتشر قلب و مغز (BHIA-مرک آلمان) کشت داده شدند سپس به محیط آگار منتشر قلب و مغز (BHIA-مرک آلمان) منتقل و در شرایط یخچالی نگهداری شدند. لازم به ذکر است که باکتریها برای حفظ قابلیت زیستی در فواصل دو هفته تجدید کشت شدند. آزمایش انتشار دیسک یک آزمایش مقدماتی برای تعیین وجود یا عدم وجود فعالیت ضد میکروبی یک ماده می باشد. برای انجام این آزمایش، ابتدا کشت ۲۴ ساعته از باکتری های مورد مطالعه در محیط آگار آبگوشت منتشر قلب و مغز (BHIA-مرک آلمان) تهیه شد. سپس این باکتری ها به محیط آگار منتشر قلب و مغز (BHIA-مرک آلمان) منتقل شدند و ۲۴ ساعت گرم خانه گذاری شدند. برای انجام این آزمایش کلنی های تکی از این محیط کشت برداشته شده و در محلول نرمال سالین با استفاده از دستگاه شیکر میکرو پلیت حل شدند سپس کدورت کشت باکتری ها با استاندارد ۰/۵ مک فارلند و از OD برای خواندن، مقایسه و تنظیم گردید به طوری که تعداد $108 \times \text{CFU/ml}$ از باکتری ها به دست آمد. سپس با استفاده از سوپ سترون روی آگار مولر هینتون کشت داده شدند. در مرحله بعد، از محلول های اصلی اسانس زیره و شوید مقدار ۲۵ میکرولیتر روی دیسک های استاندارد سترون (۶ mm) افزوده شد سپس دیسک ها روی آگار مولر هینتون گذاشته شده و در ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شدند. بعد از ۲۴ ساعت، قطر هاله عدم رشد تشکیل شده در اطراف دیسک ها در زیر نور مشاهده و با استفاده از کولیس اندازه گیری و به صورت میلی متر گزارش شدند (۱۵).

تهیه غلظت های مورد آزمایش اسانس ها برای حل نمودن اسانس های شوید و زیره از محلول ۱۰ درصد دی متیل سولفوکساید استفاده شد، به این صورت که ابتدا به میزان ۰/۱

باکتری به چاهک‌ها ریخته شدند که در مجموع حجم چاهک‌ها به ۲۰۰ میکرولیتر رسید. که طبق روش اشاره شده در بالا مورد بررسی قرار گرفت (۱۷).

تعیین MIC و MBC اسانس های شوید و زیره روی باکتری های اشیریشیا کلی O157 و استافیلوکوکوس اورئوس در حضور غلظت های یکسان اسید لاکتیک و کلرور سدیم: میزان ۸۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف لاکتیک اسید، ۲۰ میکرولیتر از رفتهای مختلف اسانس و ۲۰ میکرولیتر باکتری به چاهک‌ها ریخته شدند که در مجموع حجم چاهک‌ها به ۲۰۰ میکرولیتر رسید. که طبق روش اشاره شده در بالا مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز آماری نتایج: آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شدند. تجزیه آماری نتایج با نرم افزار Spss نسخه ی ۱۶ انجام گردید. جهت تعیین وجود اختلاف معنی دار بین گروه های مورد مطالعه از آزمون تجزیه واریانس (ANOVA) با سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. همچنین جهت مقایسه گروه های مورد بررسی با یکدیگر از آزمون تکمیلی Post Hoc و آزمون دانکن استفاده گردید

نتایج

نتایج تجزیه اسانس‌های مورد آزمایش با روش GC/MS نتایج تجزیه اسانس شوید نشان داد که کاروون (۳۶/۶۷ درصد)، آلفا فلاندرن (۲۴/۶۲ درصد) و آپپول (۱۶/۷۱ درصد) عمده ترکیبات متشکله اسانس شوید می باشند. در جدول ۱ سایر ترکیبات تشکیل دهنده اسانس شوید همراه با سایر خصوصیات نشان داده شده است. همچنین نتایج تجزیه اسانس زیره نشان داد که پی منتا تری ان (۲۱/۶۱ درصد)، گاما ترپینن (۲۶/۲۸ درصد)، کومین آلدهید (۲۴/۵۴ درصد) و ۲ کارن ۱۰ آل (۱۷/۹۸ درصد) عمده ترکیبات متشکله اسانس زیره می باشند. در جدول ۲ سایر ترکیبات تشکیل دهنده اسانس زیره همراه با سایر خصوصیات نشان داده شده است.

ساعت، میکروپولیت ها از گرمخانه خارج شده و چاهک ها به صورت چشمی از نظر ایجاد یا عدم ایجاد کدورت مورد بررسی قرار گرفته و اولین چاهک شفاف MIC و دومین چاهک شفاف MBC در نظر گرفته شدند. سپس برای تایید، به میزان ۱۰ میکرولیتر از اولین چاهک شفاف، همراه با یک چاهک شفاف و کدر مجاور آن برداشته و به صورت سطحی در آگار مغذی کشت داده شدند (۱۶).

تعیین MIC و MBC اسانس های شوید و زیره روی باکتری های اشیریشیا کلی O157 و استافیلوکوکوس اورئوس در حضور غلظت های ۰/۵، ۲، ۱ و ۴ لاکتیک اسید: برای تهیه غلظت های مختلف لاکتیک اسید ابتدا محیط آگار آبگوشت مغذی (BHIA- مرک آلمان) تهیه و استریل شد سپس جهت تهیه غلظت نیم درصد، میزان ۵/0 ml از محلول لاکتیک اسید به ۵/99 ml آبگوشت مغذی استریل اضافه شد. به همین ترتیب برای تهیه غلظتهای یک درصد، 1 ml اسید به ۱۹۹ ml محیط کشت و برای دو درصد، 2 ml اسید به ۹۸ ml محیط برای چهار درصد 4 ml به ۹۶ ml محیط آبگوشت مغذی اضافه شد (حجمی حجمی). pH هر یک از محلول ها به وسیله pH متر الکتریکی اندازه گیری شد. سپس به میزان ۱۶۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف لاکتیک اسید، ۲۰ میکرولیتر از رقت های مختلف اسانس و ۲۰ میکرولیتر باکتری به چاهک‌ها ریخته شدند که در مجموع حجم چاهک‌ها به ۲۰۰ میکرولیتر رسید. که طبق روش اشاره شده در بالا مورد بررسی قرار گرفت (۱۷).

تعیین MIC و MBC اسانس های شوید و زیره روی باکتری های اشیریشیا کلی O157 و استافیلوکوکوس اورئوس در حضور غلظت های ۰/۵، ۲، ۱ و ۴ درصد کلرور سدیم: برای تهیه غلظت های مختلف کلرور سدیم مورد آزمایش، ابتدا مقادیر نیم، یک، دو و چهار گرم از کلرور سدیم با ترازوی دیجیتالی توزین شده و در ۱۰۰ میلی لیتر از محلول آماده شده آبگوشت مغذی حل گشته (وزنی حجمی) سپس در اتوکلاو استریل گردیدند. سپس به میزان ۱۶۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف کلرید سدیم، ۲۰ میکرولیتر از از رقت های مختلف اسانس و ۲۰ میکرولیتر

جدول ۱: ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس شوید (*Anethum graveolens* L)

ردیف	ترکیب شیمیایی	فرمول شیمیایی	وزن مولکولی ^۱ (MW)	عدد کاس ^۲ (CAS no)	زمان بازداری ^۳ (RT)	اندیس بازداری کوتس تخمینی ^۴	اندیس بازداری کوتس ^۵	درصد (%)
۱	Sylvestrene	C ₁₀ H ₁₆	۱۳۶	۴-۲۷-۱۴۶۱	۹/۳۸	۱۰۱۸	۱۰۲۷	۹/۳۸
۲	α-Phellandrene	C ₁₀ H ₁₆	۱۳۶	۲-۸۳-۹۹	۹/۵	۹۶۹	۱۰۰۵	۲۴/۶۲
۳	E-Dihydrocarvone	C ₁₀ H ₁₆ O	۱۵۲	۹-۰۴-۵۹۴۸	۱۱/۳۸	۱۱۷۹	۱۲۰۰	۷/۵۶
۴	Carvone	C ₁₀ H ₁₄ O	۱۵۰	۰-۴۹-۹۹	۱۱/۸۴	۱۱۹۰	۱۲۴۲	۳۶/۶۷
۵	Estragole	C ₁₀ H ₁₂ O	۱۴۸	۰-۶۷-۱۴۶	۱۲/۱۱	۱۱۹۰	۱۱۹۵	۴/۸
۶	Apiol	C ₁₂ H ₁₄ O	۲۲۲	۸-۸۰-۵۲۳	۱۵/۱۹	۱۷۰۵	۱۶۸۰	۱۶/۷۱
درصد کل ترکیبات شناسایی شده								۹۹/۷۴

1: Molecular weight ، ۲: Chemical abstract service registry number ، ۳: Retention time (GC/MS) ، ۴: Estimated kovats retention

index ، ۵: Kovats retention index* ، اندیس بازداری کوتس با استفاده از ستون DB-5 تعیین شد.

جدول ۲: ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس زیره (*Cuminum cyminum* L)

ردیف	ترکیب شیمیایی	فرمول شیمیایی	وزن مولکولی ۱ (MW)	عدد کاس ۲ (CAS no)	زمان بازداری ۳ (RT)	اندیس بازداری کواتس ۴ تخمینی	اندیس بازداری کواتس ۵	درصد (%)
۱	α -Pinene	C ₁₀ H ₁₆	۱۳۶	۸-۵۶-۸۰	۸/۶۸	۹۴۸	۹۳۹	۰/۲
۲	β -Pinene	C ₁₀ H ₁₆	۱۳۶	۳-۹۱-۱۲۷	۹/۰۷	۹۴۳	۹۸۰	۱/۷۲
۳	p-Mentha-1,3,8-triene	C ₁₀ H ₁₄	۱۳۴	۵-۵۹-۲۱۱۹۵	۹/۴۶	۱۱۳۶	۱۱۱۱	۲۶/۶۱
۴	γ -Terpinene	C ₁₀ H ₁₆	۱۳۶	۴-۸۵-۹۹	۹/۷۴	۹۹۸	۱۰۶۲	۲۶/۲۸
۵	α -Terpinolene	C ₁₀ H ₁₆	۱۳۶	۹-۶۲-۵۸۶	۱۰/۰۴	۱۰۵۲	۱۰۸۸	۰/۴
۶	E,Z-allocimene	C ₁₀ H ₁₆	۱۳۶	۰-۵۶-۷۲۱۶	۱۰/۳۴	۹۹۳	۱۱۲۹	۰/۱۸
۷	Cuminaldehyde	C ₁₀ H ₁₂ O	۱۴۸	۲-۰۳-۱۲۲	۱۱/۷	۱۲۳۰	۱۲۳۹	۲۴/۵۴
۸	2-carene-10-al	C ₁₀ H ₁₄ O	۱۵۰	-	۱۲/۱۵	۱۱۳۶	۱۲۸۹	۱۷/۹۸
۹	Myristicin	C ₁₁ H ₁₂ O ₃	۱۹۲	۰-۹۱-۶۰۷	۱۴/۲	۱۵۱۶	۱۵۲۰	۰/۷۶
۱۰	Apiol	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	۲۲۲	۸-۸۰-۵۲۳	۱۵	۱۷۰۵	۱۶۸۰	۰/۵۸
درصد کل ترکیبات شناسایی شده								
۹۹/۲۵								

۱: Molecular weight ، ۲: Chemical abstract service registry number ، ۳: Retention time (GC/MS) ، ۴:

۵: Estimated kovats retention index ، *Kovats retention index ، اندیس بازداری کواتس با استفاده از ستون DB-5 تعیین

شد.

مهاری اسانس های شوید و زیره روی باکتری های گرم مثبت بیشتر از باکتری های گرم منفی می باشد. همچنین بین قطر منطقه ی مهاری ایجاد شده بوسیله ی اسانس های شوید و زیره روی استافیلوکوکوس اورئوس و اشیشیاکلی O157 اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). در جدول ۳ نتایج آزمایش انتشار دیسک نشان داده شده است.

نتایج آزمایش های حساسیت ضد میکروبی میانگین قطر منطقه مهاری اسانس های شوید و زیره بزرگتر از ۱/۵ برابر قطر دیسک های بلانک مورد استفاده بود؛ پس می توان اظهار داشت که اسانس های شوید و زیره دارای اثرات مهاری روی باکتری های مورد آزمایش هستند. همچنین میانگین قطر منطقه مهاری اسانس های شوید و زیره روی استافیلوکوکوس اورئوس بزرگتر از اشیشیاکلی O157 بود؛ پس می توان اظهار داشت اثرات

جدول ۳: مقایسه میانگین قطر منطقه مهاری (mm) اسانس های شوید و زیره روی باکتری های اشیشیاکلی O157 و استافیلوکوکوس اورئوس

استافیلوکوکوس اورئوس		اشیشیاکلی O157		اسانس
میانگین \pm انحراف معیار	تکرار	میانگین \pm انحراف معیار	تکرار	
	۲۰		۱۵	
	۱۹		۱۶	
	۱۸		۱۵	
	۱۸		۱۵	
	۱۷		۱۵	
	۱۶		۱۴	
۰/۰۷۰		۰/۲۳۰		مقدار p

حروف انگلیسی مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار می باشد ($p > 0.05$).

استافیلوکوکوس اورئوس، از ۵ به ۱/۲۵ mg/ml کاهش یافت. از سوی دیگر، نتایج تعیین MIC و MBC اسانس زیره در حضور غلظت های مختلف کلرور سدیم نشان داد که با افزایش غلظت کلرور سدیم از صفر به ۴ درصد، MIC اسانس زیره در مورد اشیشیاکلی O157، از ۱۰ به ۱/۲۵ mg/ml و در مورد استافیلوکوکوس اورئوس، از ۵ به ۰/۶۲ mg/ml کاهش یافت. پس می توان اظهار داشت با افزایش غلظت های کلرور سدیم بویژه در غلظت های برابر یا بیشتر از یک درصد، MIC و MBC اسانس های شوید و زیره روی باکتری های مورد مطالعه به صورت معنی داری کاهش می یابد. علاوه بر این، اثرات ضد باکتریایی اسانس زیره با افزایش غلظت کلرور سدیم در مقایسه با اسانس شوید بیشتر افزایش یافت. در جداول ۴ و ۵ آورده شده است که، MIC و MBC اسانس های شوید و زیره روی باکتری های مورد مطالعه در شرایط حضور غلظت های مختلف کلرور سدیم مقایسه گردیده است.

نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس های شوید و زیره در حضور غلظت های مختلف کلرور سدیم روی باکتری های مورد مطالعه: نتایج تعیین MIC و MBC نشان داد که اسانس های شوید و زیره دارای اثرات ضد باکتریایی روی باکتری های مورد مطالعه می باشند؛ بطوریکه MIC اسانس های شوید و زیره روی باکتری های اشیشیاکلی O157 و استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب ۱۰ و ۵ mg/ml بدست آمد که می توان اظهار داشت که اثرات ضد باکتریایی اسانس های شوید و زیره روی باکتری های گرم مثبت بیشتر از باکتری های گرم منفی می باشد.

همچنین نتایج تعیین MIC و MBC اسانس شوید در حضور غلظت های مختلف کلرور سدیم نشان داد که با افزایش غلظت کلرور سدیم از صفر به ۴ درصد، MIC اسانس شوید در مورد اشیشیاکلی O157، از ۱۰ به ۲/۵ mg/ml و در مورد

نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس های شوید و زیره در حضور غلظت های یکسان کلرور سدیم و اسیدلاکتیک به صورت توأم روی باکتری های مورد مطالعه:

نتایج تعیین MIC و MBC اسانس های شوید و زیره در حضور غلظت های یکسان کلرور سدیم و اسیدلاکتیک به صورت همزمان نشان داد که در غلظت ۰/۵ درصد کلرور سدیم و اسیدلاکتیک، MIC اسانس های شوید و زیره در مورد *اشریشیاکلی O157*، از ۱۰ به $0.08 \text{ mg/ml} \leq$ و در مورد *استافیلوکوکوس اورئوس*، از ۵ به $0.08 \text{ mg/ml} \leq$ کاهش یافت؛ همچنین این نتیجه در غلظت های ۱، ۲ و ۴ درصد کلرور سدیم و اسیدلاکتیک نیز بدست آمد. پس می توان اظهار داشت در غلظت ۰/۵ درصد کلرور سدیم و اسیدلاکتیک، MIC و MBC اسانس های شوید و زیره روی باکتری های مورد مطالعه به صورت معنی داری کاهش می یابد. در جداول آورده شده MIC و MBC اسانس های شوید و زیره روی باکتری های مورد مطالعه در شرایط حضور غلظت های یکسان کلرور سدیم و اسیدلاکتیک مقایسه شده است.

نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس های شوید و زیره در حضور غلظت های مختلف اسیدلاکتیک روی باکتری های مورد مطالعه:

نتایج تعیین MIC و MBC اسانس های شوید و زیره در حضور غلظت های مختلف اسیدلاکتیک نشان داد که در غلظت ۰/۵ درصد اسیدلاکتیک، MIC اسانس های شوید و زیره در مورد *اشریشیاکلی O157*، از ۱۰ به $0.08 \text{ mg/ml} \leq$ و در مورد *استافیلوکوکوس اورئوس*، از ۵ به $0.08 \text{ mg/ml} \leq$ کاهش یافت؛ همچنین این نتیجه در غلظت های ۱، ۲ و ۴ درصد اسیدلاکتیک نیز بدست آمد. پس می توان اظهار داشت در غلظت ۰/۵ درصد اسیدلاکتیک، MIC و MBC اسانس های شوید و زیره روی باکتری های مورد مطالعه به صورت معنی داری کاهش می یابد. مقایسه MIC و MBC اسانس های شوید و زیره روی باکتری های مورد مطالعه در شرایط حضور غلظت های مختلف اسیدلاکتیک در جداول ... نشان داده شده است.

جدول ۴ مقایسه میانگین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس شوید (*Anethum graveolens* L.) در حضور غلظت‌های مختلف کلرور سدیم و اسیدلاکتیک روی باکتری های مورد مطالعه (mg/ml)

استافیلوکوکوس اورئوس		اشربیشیاکلی O157		ترکیبات مورد مطالعه	ردیف
MBC	MIC	MBC	MIC		
۱۰ ^d	۵ ^d	>۱۰ ^d	۱۰ ^d	اسانس شوید	۱
۱۰ ^d	۵ ^d	>۱۰ ^d	۱۰ ^d	اسانس شوید + نیم درصد کلرور سدیم	۲
۵ ^c	۲/۵ ^c	۱۰ ^c	۵ ^c	اسانس شوید + یک درصد کلرور سدیم	۳
۵ ^c	۲/۵ ^c	۱۰ ^c	۵ ^c	اسانس شوید + دو درصد کلرور سدیم	۴
۲/۵ ^b	۱/۲۵ ^b	۵ ^b	۲/۵ ^b	اسانس شوید + چهار درصد کلرور سدیم	۵
≤ ۰/۱۶ ^a	≤ ۰/۰۸ ^a	≤ ۰/۱۶ ^a	≤ ۰/۰۸ ^a	اسانس شوید + نیم درصد اسیدلاکتیک	۶
≤ ۰/۱۶ ^a	≤ ۰/۰۸ ^a	≤ ۰/۱۶ ^a	≤ ۰/۰۸ ^a	اسانس شوید + یک درصد اسیدلاکتیک	۷
≤ ۰/۱۶ ^a	≤ ۰/۰۸ ^a	≤ ۰/۱۶ ^a	≤ ۰/۰۸ ^a	اسانس شوید + دو درصد اسیدلاکتیک	۸
≤ ۰/۱۶ ^a	≤ ۰/۰۸ ^a	≤ ۰/۱۶ ^a	≤ ۰/۰۸ ^a	اسانس شوید + چهار درصد اسیدلاکتیک	۹
≤ ۰/۱۶ ^a	≤ ۰/۰۸ ^a	≤ ۰/۱۶ ^a	≤ ۰/۰۸ ^a	اسانس شوید + نیم درصد کلرور سدیم + نیم درصد اسیدلاکتیک	۱۰
≤ ۰/۱۶ ^a	≤ ۰/۰۸ ^a	≤ ۰/۱۶ ^a	≤ ۰/۰۸ ^a	اسانس شوید + یک درصد کلرور سدیم + یک درصد اسیدلاکتیک	۱۱
≤ ۰/۱۶ ^a	≤ ۰/۰۸ ^a	≤ ۰/۱۶ ^a	≤ ۰/۰۸ ^a	اسانس شوید + دو درصد کلرور سدیم + دو درصد اسیدلاکتیک	۱۲
≤ ۰/۱۶ ^a	≤ ۰/۰۸ ^a	≤ ۰/۱۶ ^a	≤ ۰/۰۸ ^a	اسانس شوید + چهار درصد کلرور سدیم + چهار درصد اسیدلاکتیک	۱۳
۰/۰۰۰*	۰/۰۰۰*	۰/۰۰۰*	۰/۰۰۰*	مقدار p	

حروف انگلیسی مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار می باشد (>۰/۰۵).
علامت ستاره نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین گروه های مورد مطالعه می باشد (<۰۰۰۵).

جدول ۵: مقایسه میانگین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس زیره (*Cuminum cyminum*L.) در حضور غلظت‌های مختلف کلرور سدیم و اسیدلاکتیک روی باکتری های مورد مطالعه (mg/ml)

ردیف	ترکیبات مورد مطالعه	اشریشیاکلی 0157		استافیلوکوکوس اورئوس	
		MBC	MIC	MBC	MIC
۱	اسانس زیره	$>10^e$	10^e	10^e	5^d
۲	اسانس زیره + نیم درصد کلرور سدیم	$>10^e$	10^e	10^e	5^d
۳	اسانس زیره + یک درصد کلرور سدیم	10^d	5^d	5^d	$2/5^c$
۴	اسانس زیره + دو درصد کلرور سدیم	5^c	$2/5^c$	$2/5^c$	$1/25^b$
۵	اسانس زیره + چهار درصد کلرور سدیم	$2,5^b$	$1/25^b$	$1/25^b$	$0,62^{ab}$
۶	اسانس زیره + نیم درصد اسیدلاکتیک	$\leq 0,16^a$	$\leq 0,08^a$	$\leq 0,16^a$	$\leq 0,08^a$
۷	اسانس زیره + یک درصد اسیدلاکتیک	$\leq 0,16^a$	$\leq 0,08^a$	$\leq 0,16^a$	$\leq 0,08^a$
۸	اسانس زیره + دو درصد اسیدلاکتیک	$\leq 0,16^a$	$\leq 0,08^a$	$\leq 0,16^a$	$\leq 0,08^a$
۹	اسانس زیره + چهار درصد اسیدلاکتیک	$\leq 0,16^a$	$\leq 0,08^a$	$\leq 0,16^a$	$\leq 0,08^a$
۱۰	اسانس زیره + نیم درصد کلرور سدیم + نیم درصد اسیدلاکتیک	$\leq 0,16^a$	$\leq 0,08^a$	$\leq 0,16^a$	$\leq 0,08^a$
۱۱	اسانس زیره + یک درصد کلرور سدیم + یک درصد اسیدلاکتیک	$\leq 0,16^a$	$\leq 0,08^a$	$\leq 0,16^a$	$\leq 0,08^a$
۱۲	اسانس زیره + دو درصد کلرور سدیم + دو درصد اسیدلاکتیک	$\leq 0,16^a$	$\leq 0,08^a$	$\leq 0,16^a$	$\leq 0,08^a$
۱۳	اسانس زیره + چهار درصد کلرور سدیم + چهار درصد اسیدلاکتیک	$\leq 0,16^a$	$\leq 0,08^a$	$\leq 0,16^a$	$\leq 0,08^a$
	مقدار p	$0,000^*$	$0,000^*$	$0,000^*$	$0,000^*$

حروف انگلیسی مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار می باشد ($>0,05$).

علامت ستاره نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین گروه های مورد مطالعه می باشد ($<0,005$).

بحث

دارد(۱۳). زیره دارای ۸ درصد تانن، ماده‌ی روغنی به رنگ سبز و به مقدار ۷ تا ۱۵ درصد، موم، موسیلاژ، مواد رزینی، مواد قندی مختلف، و ۳/۵ تا ۹ درصد اسانس است. اسانس زیره شامل نوعی ترپن بنام کارون(لیمونن راست) دی هیدروکاروتول و دو نوع ستن، یکی کاروون راست و دیگری هیدروون است(۱۱). در بسیاری از مطالعات انجام شده اثرات ضد میکروبی شوید و زیره در انواع باکتری های گرم مثبت و منفی به خوبی شناخته شده است(۱۳).

نتایج تعیین MIC و MBC اسانس‌های شوید و زیره در حضور غلظت‌های مختلف اسیدلاکتیک نشان داد که در غلظت ۰/۵ درصد اسیدلاکتیک، MIC اسانس‌های شوید و زیره در مورد *اشریشیا کلی* O157، از ۱۰ به $0.8 \text{ mg/ml} \leq$ و در مورد *استافیلوکوکوس اورئوس*، از ۵ به $0.8 \text{ mg/ml} \leq$ کاهش یافت که نشان دهنده اثرات خوب اسید لاکتیک بر ارگانسیم ها می باشد.

مطالعه تاجیک و همکاران که در شرایط آزمایشگاهی مونولورین و اسید لاکتیک را روی *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از گوشت گاو را بررسی کرده بودند نتایج نشان داد که حداقل غلظت مهار کننده مونولورین در محیط اسیدی همراه با اسید لاکتیک در محیط کشت نوترین برات تعداد کلنی ها به کمترین میزان خود رسید و رابطه معنی داری در این مطالعه مشاهده شد. در مطالعه حاضر در غلظت ۰/۵ درصد از اسید لاکتیک به همراه اسانس های زیره و شوید در *اشریشیا کلی* O157 از ۱۰ به ۰/۸ و در *استافیلوکوکوس اورئوس* از ۵ به ۰/۸ رسید که نشان از اثرات مطلوب این ترکیبات بر روی ارگانسیم های انتخابی می باشد که هر دو مطالعه بیشتر در یک راستا بوده و تطابق معنی داری را داشتند(۲۰).

لاکتیک اسید روی اکثر میکروارگانسیم ها اثرات آنتی میکروبیال خوبی را نشان می دهد. این فعالیت ضد میکروبی بر پایه توانایی لاکتیک اسید در کاهش pH محیط است. بنابراین در غذاهای تخمیر شده لاکتیک اسید در ترکیب با دیگر فاکتورهای ضد میکروبی مانند باکتریوسین های تولید شده بوسیله باکتری های لاکتیک اسید میکروارگانسیم های رقابت کننده را محدود می کند(۲۱).

نتایج تعیین MIC و MBC اسانس‌های شوید و زیره در حضور غلظت‌های یکسان کلرور سدیم و اسیدلاکتیک به صورت توأم نشان داد که در غلظت ۰/۵ درصد کلرور سدیم و

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اسانس های شوید و زیره اثر ضد میکروبی قوی روی *استافیلوکوکوس اورئوس* دارد و اثر مطلوبی را روی *اشریشیا کلی* O 157 را نشان نداد و همچنین غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) شوید و زیر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* به خوبی مشاهده شد.

در مطالعه صادقی و همکاران با بررسی اثر اسانس زیر سبز و پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، نتایج این بررسی نشان داد که اسانس زیر سبز و پروبیوتیک در دو غلظت ۰/۰۳ و ۰/۰۱۵ اثر بهاری بیشتری روی *استافیلوکوکوس اورئوس* دارد و رابطه معنی داری بین اسانس و پروبیوتیک با اثرات سینرژیستی مشاهده شد. در مطالعه حاضر اثرات بهاری اسانس هاس شوید و زیره بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* به خوبی مشاهده شد ولی اثرات این دو اسانس روی باکتری *اشریشیا کلی* O 157 مطلوب گزارش نشد و رابطه معنی داری بین این دو ترکیب با باکتری های گرم مثبت و گرم منفی ملاحظه نشد. در هر دو مطالعه از باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* به عنوان باکتری مورد مطالعه و اسانس زیره استفاده کردند که ارتباط مستقیمی بین اثرات و ترکیبات مورد استفاده در هر دو مطالعه مشاهده گردید(۱۸).

پژوهش های داداش پور و همکاران که به بررسی تاثیرات ضد میکروبی و خواص آنتی اکسیدانی و سمیت سلولی اسانس شوید پرداخته بودند نتایج آنتی باکتریال اسانس شوید نشان داد که تاثیر مطلوبی روی باکتری های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* دارد که میزان MIC و MBC در *استافیلوکوکوس اورئوس* ۱۰/۵ و در *اشریشیا کلی* ۱۰/۱۰ مشاهده شد. در مطالعه حاضر نتایج میزان MIC و MBC در *استافیلوکوکوس اورئوس* ۱۰/۵ و در *اشریشیا کلی* O157 ۱۰/۱۰ ملاحظه گردید که نتیجه این مطالعه مشابه با نتیجه حاصل از کار ما بوده است (۱۹).

اجزای اصلی شوید عبارتند از : لیمونین (۳۰ تا ۴۰ درصد)، فلاندرین(۱۰ تا ۲۰درصد)، میریستیسین، دیلاپیول و دیگر مونوترپن ها تشکیل شده است. اسانس شوید دارای ترانس دی هیدروکاروون (۱۶/۶ درصد)، لیمونن (۶درصد)، دی هیدروکاروون (۱۷درصد) و آلفاپینن (۱درصد) می باشد که دیلاپیول بالا (۵۲درصد) اما کاروون کمتری (۲۱درصد) را

نتیجه گیری

می توان نتیجه گیری نمود که اسانس های شوید و زیره به تنهایی دارای اثرات ضد باکتریایی بوده و اثرات ضد باکتریایی آنها در حضور غلظت یک درصد و بالاتر کلرور سدیم و نیز در حضور غلظت ۰/۵ درصد اسید لاکتیک به صورت قابل توجهی افزایش می یابد. می توان اظهار کرد که نتایج تحقیق حاضر در خصوص ترکیبات متشکله اصلی اسانس های شوید و زیره، خصوصیات ضد میکروبی و نیز افزایش معنی دار اثرات ضد میکروبی اسانس های شوید و زیره در حضور کلرور سدیم و اسید لاکتیک مطابق با نتایج تحقیقات فوق الذکر می باشد. بنابراین پیشنهاد می گردد جهت بالا بردن اثرات ضد میکروبی اسانس های شوید و زیره در سیستم های غذایی مختلف از غلظت یک درصد و بالاتر کلرور سدیم و نیز غلظت ۰/۵ درصد اسید لاکتیک استفاده گردد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر بخشی از پایان نامه یاسر شیری به کد ۱۰۰۲۰۱۳۹۰۵۱۳۳۰ از دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه بوده و تمام هزینه های این مطالعه بصورت شخصی تامین شده است و از تمام کسانی که در نگارش مقاله یاری نمودند قدردانی می گردد.

اسید لاکتیک، MIC اسانس های شوید و زیره در مورد /شیریشیا کلی O157، از ۱۰ به $0.8 \leq \text{mg/ml}$ و در مورد /استافیلوکوکوس اورئوس، از ۵ به $0.8 \leq \text{mg/ml}$ کاهش یافت. اسید لاکتیک و کلرور سدیم هر دو نتایج یکسانی را نشان دادند.

Samehima و همکاران در مطالعه خود کیفیت میکروبیولوژیکی و شیمیایی گوشت چرخ کرده تیمار شده با سدیم لاکتات و سدیم کلراید در طول ذخیره سازی در سرما را بررسی کردند. نتایج نشان داد که اضافه کردن سدیم لاکتات به تنهایی یا در ترکیب با سدیم کلراید به شکل معنی داری تکثیر بخش هوازی پلید، بخش سایکوتروفیک، باکتری لاکتیک اسید و انتروباکتریا سه را به تاخیر می اندازد. سدیم لاکتات به تنهایی یا در ترکیب با سدیم کلراید می تواند به طور موفقیت آمیزی برای کاهش رشد میکروبی، حفظ کیفیت شیمیایی و افزایش ماندگاری گوشت چرخ شده در طول ذخیره سازی در سرما به کار برده شود. در مطالعه حاضر در غلظت ۰/۵ درصد از سدیم کلرور به همراه اسانس های زیره و شوید در /شیریشیا کلی O157 از ۱۰ به ۰/۸ و در /استافیلوکوکوس اورئوس از ۵ به ۰/۸ رسید که نشان دهنده اثرات مطلوب این ترکیبات بر روی ارگانیسیم های انتخابی می باشد (۲۲).

REFERENCE

1. Tian X-R, Feng J-T, Ma Z-Q, Xie N, Zhang J, Zhang X, et al. Three new glycosides from the whole plant of Clematis lasiandra Maxim and their cytotoxicity. *Phytochemistry Letters*. 2014;10:168-72.
2. Cushnie TT, Cushnie B, Lamb AJ. Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International journal of antimicrobial agents*. 2014;44(5):377-86.
3. Vardhini BV, Anjum NA. Brassinosteroids make plant life easier under abiotic stresses mainly by modulating major components of antioxidant defense system. *Frontiers in Environmental Science*. 2015;2:67.
4. Clarke JT, Warnock RC, Donoghue PC. Establishing a time-scale for plant evolution. *New Phytologist*. 2011;192(1):266-301.
5. Tajkarimi M, Ibrahim SA, Cliver D. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food control*. 2010;21(9):1199-218.
6. Pandey A, Kumar S. Perspective on plant products as antimicrobial agents: A review. *Pharmacologia*. 2013;4(7):469-80.

7. Baym M, Stone LK, Kishony R. Multidrug evolutionary strategies to reverse antibiotic resistance. *Science*. 2016;351(6268):aad3292.
8. Vaou N, Stavropoulou E, Voidarou C, Tsigalou C, Bezirtzoglou E. Towards advances in medicinal plant antimicrobial activity: A review study on challenges and future perspectives. *Microorganisms*. 2021;9(10):2041.
9. Han S-y, Li P-p. Progress of research in antitumor mechanisms with Chinese medicine. *Chinese journal of integrative medicine*. 2009;15(4):316-20.
10. Khorramdel S, Rezvani Moghaddam P, Asadi GA, Mirshekari A. Effect of additive intercropping series of cumin (*Cuminum cyminum* L.) with saffron (*Crocus sativus* L.) on their yield and yield components. *Journal of Saffron Research*. 2016;4(1):53-71.
11. Johri R. *Cuminum cyminum* and *Carum carvi*: An update. *Pharmacognosy reviews*. 2011;5(9):63.
12. Jana S, Shekhawat G. *Anethum graveolens*: An Indian traditional medicinal herb and spice. *Pharmacognosy reviews*. 2010;4(8):179.
13. Hälvä S, Craker L, Simon J, Charles D. Growth and essential oil in dill, *Anethum graveolens* L., in response to temperature and photoperiod. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*. 1993;1(3):47-56.
14. Derakhshan S, Sattari M, Bigdeli M, Zarei Eskikand N. Antibacterial activity of essential oils from *Artemisia* and *Cumin* plants against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae*. *Journal of Inflammatory Diseases*. 2011;15(1):6-14.
15. Roomiani L, Soltani M, Basti AA. Effect of *Rosmarinus officinalis* essential oil and nisin on probability of growth of *Streptococcus iniae* in BHI broth. *IRANIAN JOURNAL OF MEDICAL MICROBIOLOGY*, [online]. 2016;10(1):35-43.
16. Alamhulu M, Nazeri S. Investigation of antibacterial and antioxidant activities of alcoholic extracts of flower and root of *Dendrostellera lesserti* on some human pathogenic bacteria. *Avicenna Journal of Clinical Medicine*. 2015;21(4):277-85.
17. Enayati S, Javanshir Khoei A, Rafiee G, Pourbagher H, Moradinasab A. Effects salinity on growth, chlorophyll and β -carotene concentration in *Dunaliella* sp. isolated from Chabahar Gulf. 2018.
18. Sadeghi E, Basti A, Misaghi A, Salehi TZ, Osgoii SB. Evaluation of effects of *Cuminum cyminum* and probiotic on *Staphylococcus aureus* in feta cheese. *Journal of Medicinal Plants*. 2010;9(34).
19. Dadashpour M, Rasooli I, Sefidkon F, Taghizadeh M, Darvish Alipour A, Staneh S. Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic properties of essential oil of *Anethum graveolens* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*. 2013;29(1):63-73.
20. Tajik H, Razavi Rouhani SM, Shokoohi Sabet Jalali F, Bayani A. Laboratory assessment of inhibitory properties of monolaurin against *Staphylococcus aureus* in beef. *Iranian Journal of Medical Microbiology*. 2009;3(2):27-33.
21. Naidu A. *Natural food antimicrobial systems*: CRC press; 2000.
22. Sallam KI, Samejima K. Microbiological and chemical quality of ground beef treated with sodium lactate and sodium chloride during refrigerated storage. *LWT-Food Science and Technology*. 2004;37(8):865-71.

