مطالعه اثرات ضدمیکروبی اسانس دارچین و زیره سبز بر ساختار سلولی باکتری باسیلوس سرئوس با استفاده از میکروسکوپ الکترونی گذاره

مجید قلیزاده[1]، زهره مشاک[2]*، ایرج پوستی[3]، بیژن مرادی[4]، بهروز مرادی[5]

۱- دانش‌آموخته دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج
۲- استادیار، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج
۳- مدیر گروه بخش علوم تشریحی دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی، تهران
٤- کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، زنجان
٥- کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج
*آدرس مکاتبه: کرج، بلوار موذن، دانشگاه آزاد اسلامی کرج، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت مواد غذایی
تلفن: ٤١٨٢٥٤٣ (٠٢٦١)
پست الکترونیک: zohreh_mashak@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۹/۵/۹ **تاریخ تصویب:** ۸۹/۷/۱٤

چکیده

مقدمه: باسیلوس سرئوس باکتری بیماری‌زای غذازاد مولد اسپور است که در اغلب فرآورده‌های غذایی مانند گوشت، سبزیجات، سوپ، برنج، شیر و سایر فرآورده‌های لبنی تحت شرایط مناسب می‌تواند تکثیر و تولید توکسین نماید. بین ۱ الی ۲۰ درصد تمامی موارد شیوع مسمومیت‌های غذایی در جهان به دلیل باسیلوس سرئوس بوده است. امروزه توجه و علاقه فزاینده‌ای به استفاده از اسانس‌های گیاهی به عنوان نگه‌دارنده‌های طبیعی برای غذا وجود دارد. اسانس دارچین و زیره سبز از این دسته افزودنی‌های ضدمیکروبی طبیعی است و تاکنون مکانیسم مهار رشد چندین باکتری بیماری‌زا در سطح سلولی توسط اسانس‌های مزبور با استفاده از میکروسکپ الکترونی در مقالات مختلف گزارش شده است.

هدف: هدف از این تحقیق ارزیابی اثر ضدمیکروبی اسانس دارچین و زیره سبز در سطح ساختار سلولی باکتری باسیلوس سرئوس با استفاده از میکروسکوپ الکترونی گذاره بود.

روش بررسی: اسانس دارچین و زیره سبز به وسیله روش تقطیر با بخار آب استخراج شد و به کمک دستگاه رنگ‌نگار گازی متصل به طیف‌نگار جرمی مورد تحلیل قرار گرفت. سپس تاثیر غلظت ٤٥٠ میکرولیتر بر لیتر هر یک از دو اسانس بر باکتری باسیلوس سرئوس در مقایسه با گروه کنترل جهت کار با میکروسکپ الکترونی گذاره آماده شد. پس از طی مراحل مختلف مقاطع حاصله توسط میکروسکپ الکترونی عکس گرفته شد و تفسیر شد.

نتایج: در گروه کنترل (فاقد اسانس) باکتری‌های باسیلوس سرئوس دارای دیواره عرضی طبیعی در حین تقسیم سلولی طبیعی و متقارن بوده، استحکام غشای سلولی همچنین غشای فسفولیپیدی دولایه، پپتیدوگلیکان و مزوزوم طبیعی بود که همگی دلالت بر سالم بودن باکتری می‌کنند. در حالی که در گروه‌های تیمار علاوه‌بر تقسیم سلولی غیرطبیعی، پارگی غشای سلولی، خالی شدن سلول باکتری از محتویات سیتوپلاسمی و بدشکلی سلول‌ها، در تیمار اسانس دارچین از بین رفتن غشای فسفولیپیدی دو لایه و لایه پپتیدوگلیکان و لذا عدم یکپارچگی غشای سلولی و در تیمار اسانس زیره سبز انعقاد اجزای سیتوپلاسمی به صورت مواد متراکم داخل سلولی در نزدیکی پوشش غشایی از اختصاصات تاثیر باکتریوسیدال هر یک از دو اسانس مزبور بود.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این پژوهش نشانگر وجود مکانیسم‌های متفاوت تأثیر دو اسانس دارچین و زیره سبز بر مهار رشد باکتری باسیلوس سرئوس با استفاده از میکروسکوپ الکترونی گذاره بود.

گل‌واژگان: اسانس دارچین، اسانس زیره سبز، باکتری باسیلوس سرئوس، میکروسکوپ الکترونی گذاره

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-12]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.39.6.1]

مقدمه

افزایش جمعیت شهرنشین، کاربرد تکنولوژی‌های نوین در عرصه تولید مواد غذایی، مهاجرت‌ها و جابه‌جایی بین‌المللی جمعیت به همراه تجارت بین‌المللی غذا خطر بروز بیماری‌های منتقله از راه مواد غذایی را بیش از پیش مطرح ساخته است، گیاه دارچین بومی چین، هند، سریلانکا و مالزی بوده که به عنوان تسکین‌دهنده درد، کنترل‌کننده قند خون، کاهش‌دهنده چربی خون و ... می‌باشد. زیره سبز نیز معمولاً در ایران، ترکیه، هند و چین می‌روید و در ایران محل اصلی رویش آن در اطراف تبریز، کرمان، خراسان، تهران، سمنان و دامغان و... می‌باشد. میوه این گیاه که اصطلاحاً دانه زیره سبز نامیده می‌شود، حاوی اسانس زیادی بوده و به عنوان یک داروی محرک و ضدفخ، کاهش‌دهنده چربی و کنترل‌کننده دیابت عمدتاً به کار برده می‌شود. از هر دو گیاه به عنوان ادویه‌جات، طعم و مزه‌دهنده غذا استفاده می‌شود [۲،٤].

باسیلوس سرئوس باکتری اسپوردار بیماری‌زای غذازادی می‌باشد که اغلب در فرآورده‌های غذایی نظیر گوشت، سبزیجات، برنج، سوپ، شیر و فرآورده‌های لبنی، تحت شرایط مناسب می‌تواند رشد و تولید توکسین نماید. علایم بالینی مسمومیت حاصله از توکسین‌های این باکتری به دو فرم استفراغی و اسهالی ایجاد می‌شود. ۱ الی ۲۰ درصد موارد شیوع مسمومیت‌های غذایی در جهان به دلیل باسیلوس سرئوس می‌باشد. بر طبق گزارشات علمی مختلف تعداد $۱۰^{۸}$- $۱۰^{۵}$ از این باکتری قادر به ایجاد بیماری در انسان می‌باشد [۵].

تاکنون مطالعات بسیاری بر روی اثرات ضدمیکروبی اسانس‌های مختلف در محیط کشت آزمایشگاهی و مدل غذایی از جمله زیره سبز و دارچین صورت پذیرفته است که همگی بر خاصیت ضدمیکروبی اجزای مختلف آنها تأکید نموده‌اند [۲].

در مطالعات جداگانه به عمل آمده مهار رشد باکتری باسیلوس سرئوس در سوپ تجاری توسط اسانس دارچین و اسانس زیره سبز در دمای ۱۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد در طی ۲۱ روز با غلظت ٤۵۰ میکرولیتر بر لیتر در مقایسه با غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ میکرولیتر بر لیتر مشاهده شد [٦،۷].

در این مطالعه نیز به منظور بررسی تغییرات ساختاری باکتری و توجیه مکانیسم عمل ضدباکتریایی، غلظت ٤۵۰ میکرولیتر بر لیتر هر یک از دو اسانس دارچین و زیره سبز به طور جداگانه بر روی باکتری باسیلوس سرئوس ATCC11778 از میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM) استفاده شده است.

در سالیان اخیر به نحوه عمل ضدباکتریایی ترکیبات اسانس‌های گیاهی بر روی مورفولوژی سلولی باکتری‌های غذازاد با استفاده از میکروسکپ الکترونی گذاره یا نگاره توجه خاصی می‌شود. به طوری که در مطالعات متعدد از جمله موسوی و همکاران (۲۰۰۸) و بوهدید (Bouhdid S) و همکاران (۲۰۱۰) تاثیر اسانس‌های مختلف بر روی ساختار سلولی باکتری‌ها بررسی شده است [۹، ۸، ۳].

مواد و روش‌ها

تهیه اسانس: برای تهیه اسانس‌های مورد نظر گیاه زیره سبز در فصل تابستان از شهر تبریز و گیاه دارچین به صورت پوست‌های خشک شده از شهر تریوندروم (Trivandrum) واقع در جنوب غربی هندوستان تهیه شد و مورد تایید گیاه‌شناسان پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی قرار گرفت. اسانس گیاه به روش تقطیر با بخار داغ (Steam distillation) با استفاده از دستگاه کلونجر نوع آپاراتوس (Clevenger-type apparatus) تهیه شد.

شناسایی اجزای اسانس‌ها: برای بررسی ترکیبات سازنده اسانس‌ها، آنالیز به وسیله دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف نگار جرمی (Chromatography/ Mass Spectrophotometer (GC/MS)) انجام شد. برای این منظور از دستگاه ترموکوئست فینیگان (Thermoquest Finnigan) ساخت کشور امریکا، با ستون مویینه به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر، با برنامه دمایی ۲٦۵ – ۵۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش تدریجی ۲/۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه و نگهداری ستون در ۲٦۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه مورد استفاده قرار گرفت. دمای اتاقک تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و گاز

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.39.6.1]

حامل هلیم بود که با سرعت ۱/۵ میلی‌متر بر دقیقه از لوله عبور می‌کرد. همچنین ظرفیت الکتریکی شناساگر IE ۷۰ الکترون ولت و دمای منبع یونیزاسیون آن ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود.

بدین‌منظور ابتدا ۱ میکرولیتر از اسانس با سرنگ مخصوص، به اتاقک تزریق دستگاه منتقل شد. اسانس تزریق شده تحت تاثیر دمای تزریق کننده تبخیر و وارد ستون شد. مواد مختلف موجود در اسانس بر اساس قطبیت، وزن مولکولی، نقطه جوش و طبق برنامه دمایی داده شده به ستون و با فشاری که گاز حامل دارد در طول ستون جلو رفته، در زمان‌های مختلف از ستون خارج و منجر به اختلاف ولتاژی شد که به صورت پیک در صفحه مانیتور نمایان شد. در مجموع، پیک‌های کنار هم یک کروماتوگرام تشکیل داد که محور عمودی آن نشانگر اختلاف ولتاژ بر اساس میلی‌ولت و محور افقی آن زمان بر اساس دقیقه بود. در مرحله بعد نرمال آلکان اسانس به دستگاه تزریق شد و کروماتوگرام استاندارد به دست آمد. سپس اندیس کواتس (Kovats index) برای هر یک از مواد جدا شده بر اساس زمان استخراج محاسبه شد. به کمک اطلاعات کتابخانه‌ای وایلی (Wiley) و با مراجعه با رفرنس‌های موجود در ارتباط با اجزای تشکیل‌دهنده اسانس‌ها و تطابق تصاویر طیف‌سنجی نتایج حاصل تفسیر و اجزای تشکیل‌دهنده اسانس مشخص شد.

ارگانیسم مورد مطالعه: باکتری مورد مطالعه باسیلوس سرئوس ATCC11778 بود که از گنجینه میکروبی گروه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شد. باکتری لیوفیلیزه دو مرتبه به طور متوالی در محیط آبگوشت BHI (Brain Heart Infusion Broth) (مرک (Merk)، آلمان) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت کشت داده شد. سپس کشت دوم به میزان پنج به یک با گلیسیرین (Glycerin) استریل مخلوط و در قسمت‌های مساوی در لوله‌های میکروسانتریفیوژ اپندورف (Ependorph micro-centerphuge) استریل در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در طی تحقیق از لوله‌های فوق استفاده شد.

تهیه محیط آبگوشت با رشد اپتیمم باکتری، افزودن اسانس و گرم‌خانه‌گذاری: دو بار کشت باکتری مورد آزمایش، با انتقال باکتری از لوله میکروسانتریفیوژ اپندرف به محیط آبگوشت BHI و گرم‌خانه‌گذاری در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت صورت گرفت. مقادیر مساوی از کشت دوم به داخل ٦ لوله آزمایش استریل درپوش‌دار برده شد. به دو لوله اول (تیمار دارچین) مقدار ٤٥٠ میکرولیتر بر لیتر اسانس دارچین و ۵ درصد DMSO (Dimethyl sulfoxide)، به لوله سوم و چهارم (تیمار زیره سبز) به مقدار ٤٥٠ میکرولیتر بر لیتر اسانس زیره سبز و ۵ درصد DMSO و به لوله‌های بعدی (گروه کنترل) تنها ۵ درصد DMSO اضافه شد. بعد از گرم‌خانه‌گذاری لوله‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت، مراحل آماده‌سازی نمونه‌ها جهت کار با میکروسکپ الکترونی انجام گرفت [۹، ۳].

مراحل کار با میکروسکپ الکترونی گذاره (TEM): بعد از مرحله گرم‌خانه‌گذاری لوله‌ها، سانتریفیوژ آنها با دور ۱۵۰۰ گرم به مدت ٤ دقیقه انجام گرفت و مایع رویی دور ریخته شد، سپس میزان ۰/۵ میلی‌لیتر از هر یک از لوله‌ها را به یک لوله میکروسانتریفیوژ اپندورف وارد نموده و با افزودن ۱ میلی‌لیتر محلول گلوتارآلدئید (Gloteraldehid) ۲/۵ درصد به مدت ۲ ساعت در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد ثبوت اولیه نمونه‌ها انجام شد. جهت خارج نمودن محلول گلوتارآلدئید، در نمونه‌ها سه بار عمل شستشو توسط بافر فسفات ۰/۱ مولار صورت گرفت. ثبوت ثانویه نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت در محلول تترواکسید اسمیوم ^{4}۱ درصد صورت گرفت. در این مرحله مجدداً نمونه‌ها مانند مرحله قبل شستشو شدند. جهت آب‌گیری، از غلظت‌های رو به افزایش استون در طی ۸ مرحله استفاده شد. سپس نمونه‌های آبگیری شده به تدریج و در سه مرحله توسط مونومرهای پلاستیکی مایع (رزین‌های اپوکسی) جایگزین شدند. نمونه‌ها جداگانه درون قالب مخصوص قرار داده شده و تا نیمه از رزین مخصوص قالب‌گیری پر شدند. بعد از آن برای پلیمریزاسیون رزین، قالب‌ها به مدت ٢٤ ساعت در آون با دمای ٦٠ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. عمل تهیه برش‌های نیمه نازک توسط دستگاه اولترا میکروتوم مدل لیکا اولتراکات (Leica Ultrcut UCT) UCT انجام گرفت.

سپس برش‌های نیمه نازکی با رنگ متیلن برای مطالعه با

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-12]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.39.6.1]

میکروسکپ نوری و تشخیص جایگاه موردنظر آماده شد و توسط اولترامیکروتوم برش‌هایی به ضخامت ۵۰ نانومتر به جایگاه موردنظر زده شد و بر روی گریدهای ۲۰۰ مش منتقل شد. برای رنگ‌آمیزی برش‌های فوق نازک از استات یورانیل (Acetate Yoranil) و سیترات سرب استفاده شد.

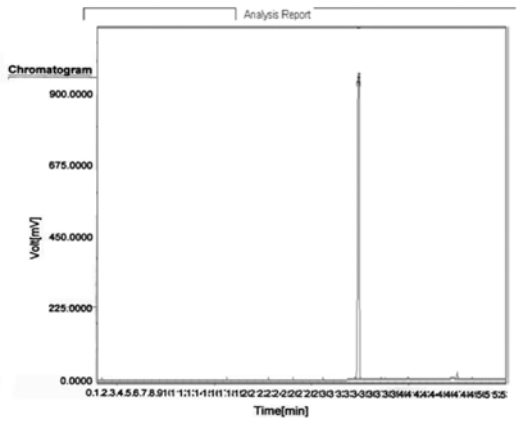
پس از مشاهده گریدها با میکروسکپ الکترونی گذاره مدل کارل زیس (Carl Zeiss) EM900 ساخت کشور آلمان، با استفاده از دوربین نواحی مورد نظر عکس‌برداری شد.

نتایج

الف- تجزیه و تحلیل اجزای اسانس دارچین و زیره سبز: درصد اجزای تشکیل‌دهنده هر دو اسانس با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی - طیف نگار جرمی به دست آمد. بازدهی پوست خشک شده درخت دارچین، در تهیه اسانس برابر با ٤/٦ درصد (وزنی/ حجمی) بود. در این روش ۸ نوع ترکیب مختلف شناسایی شدند که ۹۱/۹ درصد از اسانس فوق را تشکیل می‌دهند. عمده‌ترین ترکیب موجود، سینامالدهاید (Cinnamon Aldehyde) به میزان ۷۹/۱۰ درصد و سایر ترکیبات مهم شامل سینامیل استات (Cinnamil Acetate) (۵/۲۳ درصد)، اوژنول (Eugenol) (٤/۲۷ درصد) و کاریوپیلن (Caryophyllene) (۳/۳ درصد) بود (جدول و نمودار شماره ۱).

جدول شماره ۱- نتایج آنالیز اسانس دارچین مورد بررسی با استفاده از GC/MS

ردیف	نام ترکیب	درصد
۱	آلدهاید سینامون	۷۹/۱۰
۲	استات سینامیل	۵/۲۳
۳	اوژنول	٤/۲۷
٤	کاریوپیلن	۳/۲٦
۵	لینالول	۲/٦٤
٦	ترپینئول آلفا	۰/۷۰
۷	کومارین	۰/٦۹
۸	۸ و ۱- سینئول	۰/٦۰
	مجموع	**۹٦/۹۰**



نمودار شماره ۱- رنگ‌نگار گازی هر یک از اجزای تجزیه شده اسانس دارچین (mV) در طی زمان تحلیل به کمک GC/MS (min)

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.39.6.1]

بازدهی دانه‌های نمونه گیاه زیره سبز نیز، در تهیه اسانس برابر با ۳/۵ درصد (وزنی/حجمی) بود. بر اساس نتایج ۱۳ نوع ترکیب مختلف شناسایی شدند که ۹۷/۹۳ درصد از اسانس فوق را تشکیل می‌دهند. عمده‌ترین ترکیب موجود، کومین آلدهید (Cuminaldehyde) به میزان ۲۸/۹۶ درصد و سایر ترکیبات مهم شامل بتا ترپینیل بوتانوات (Beta-terpinyl butanoate) (۲۲/۱۷)، بتاپینن (Beta-pinene) (۱٤/۹۳ درصد) و پاراسیمن (Para-cymene) (۹/٤۰ درصد) بود (جدول و نمودار شماره ۲).

با استفاده از میکروسکپ الکترونی گذاره (a: مزوزوم، b: غشای دو لایه فسفولیپیدی، c: لایه پپتیدوگلیکان)

ب- بررسی تاثیر اسانس دارچین و زیره سبز بر ساختار سلولی باکتری باسیلوس سرئوس در مقایسه با گروه کنترل با استفاده از میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM): در تصویر شماره ۱ – الف (گروه کنترل) باکتری‌ها اکثراً در مرحله تقسیم سلولی بوده که این تقسیم طبیعی و متقارن می‌باشد. وضعیت غشا سلولی، استحکام و یکپارچگی غشا، محتوی سیتوپلاسمی و شکل سلولی همگی نیز طبیعی می‌باشند. در تصویر شماره ۱ – ب مورفولوژی سلول‌ها طبیعی بوده و استحکام و یکپارچگی غشا سلولی، محتویات سیتوپلاسمی، طبیعی بودن دیواره عرضی باکتری در حین تقسیم دال بر سالم بودن باکتری‌ها می‌نماید. در تصویر شماره ۱ – ج طبیعی بودن غشای فسفولیپیدی دولایه، لایه پپتیدوگلیکان و مزوزوم موجود در طی مراحل اولیه ایجاد دیواره عرضی باکتری آورده شده است.

باکتریایی بدون محتویات سلولی، f: تقسیم سلولی نامتقارن، g: محل بیرون ریختن محتویات سیتوپلاسمی)

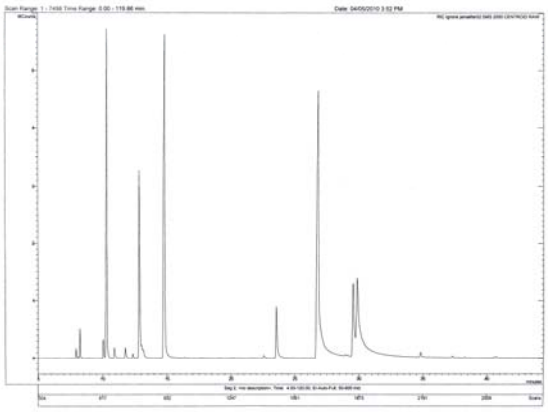
در تصویر شماره ۲ – الف a و b باکتری‌ها دفرمه شده، تقسیم سلولی غیرطبیعی بوده و مراحل اولیه اسپورسازی غیرطبیعی، دیواره سلولی باکتری‌ها پاره و نشت محتویات سیتوپلاسمی مشهود می‌باشد.

در تصویر شماره ۲ – ب پیوستگی و یکنواختی دیواره سلولی در بعضی از نقاط از بین رفته، سوراخ (Hole) در دیواره سلولی ایجاد شده، محتویات سلولی در نتیجه پارگی دیواره سلول از آن خارج شده، نتیجتاً سلول‌های خالی از محتویات سیتوپلاسمی به چشم می‌خورد. در تصویر شماره ۲ – ج علاوه بر دفرمه شدن سلول‌ها و بیرون ریختن محتویات سیتوپلاسمی، تقسیم سلولی به صورت نامتقارن و حتی تکه‌های جدا شده از غشای سیتوپلاسمی در سطح مقطع مشاهده می‌شود.

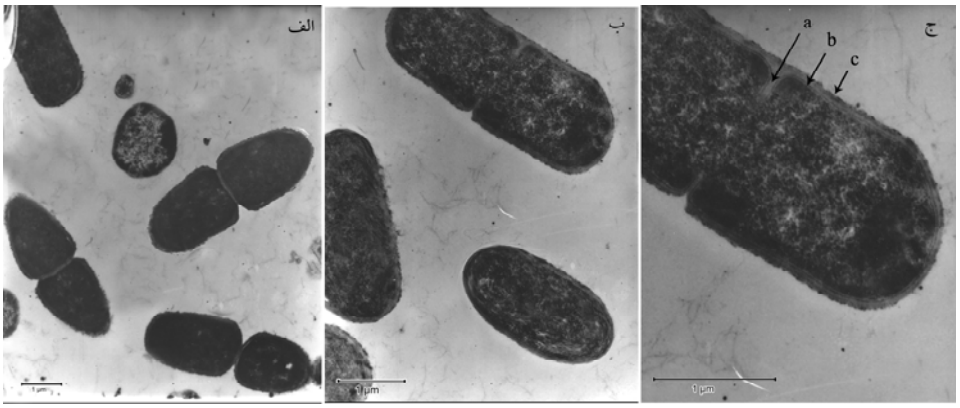
جدول شماره ۲- نتایج آنالیز اسانس زیره سبز مورد بررسی با استفاده از GC/MS

ردیف	نام ترکیب	درصد
۱	آلفا توجن	۰/٤۲
۲	آلفا پینن	۰/۹٤
۳	سابینن	۰/۹٦
٤	بتا پینن	۱٤/۹۳
٥	میرسن	۰/٥۷
٦	آلفا فلاندرن	۰/٥٦
۷	پارا سیمن	۹/٤۰
۸	بتا فلاندرن	۰/٦۱
۹	بتا ترپینیل بوتانوات	۲۲/۱۷
۱۰	گاما ترپینن	۳/٦۰
۱۱	کومین آلدهید	۲۸/۹٦
۱۲	۱و۳ سیکلو هگزادین	۸/٥۱
۱۳	۱و۲ اتان دیول	٦/۳۰
	مجموع	۹۷/۹۳

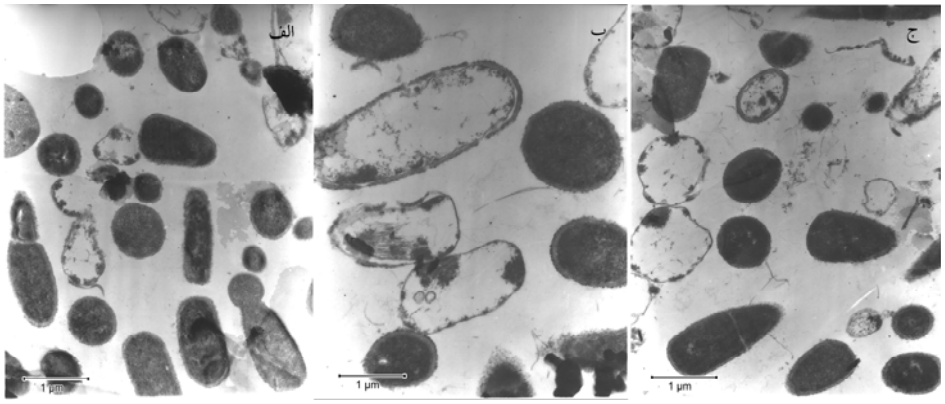
[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-12]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.39.6.1]



نمودار شماره ۲ـ رنگ‌نگار گازی هر یک از اجزای تجزیه شده اسانس زیره سبز به کمک GC/MS (min)



تصویر شماره ۱- بررسی ساختار سلولی باکتری‌های باسیلوس سرئوس در محیط BHI حاوی DMSO و فاقد اسانس (گروه کنترل) با استفاده از میکروسکپ الکترونی گذاره (a: مزوزوم، b: غشای دو لایه فسفولیپیدی، c: لایه پپتیدوگلیکان)



تصویر شماره ۲- بررسی ساختار سلولی باکتری‌های باسیلوس سرئوس در محیط BHI حاوی DMSO و اسانس دارچین (تیمار دارچین) با استفاده از میکروسکپ الکترونی گذاره (a: مراحل اولیه اسپورسازی غیرطبیعی، b: پارگی دیواره سلولی و خالی شدن محتویات سلولی، c: از بین رفتن پیوستگی و یکنواختی دیواره سلولی، d: ایجاد سوراخ در دیواره سلولی، e: سلول باکتریایی بدون محتویات سلولی، f: تقسیم سلولی نامتقارن، g: محل بیرون ریختن محتویات سیتوپلاسمی)

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.39.6.1]

بحث

الف) تجزیه و تحلیل اسانس دارچین و زیره سبز و تاثیر ضدباکتریایی آنها: حدود ۳۰ درصد مردم در کشورهای صنعتی حداقل یک بار در سال به بیماری‌های منتقل شده از مواد غذایی مبتلا می‌شوند. بنابراین برای کاهش یا حذف عوامل میکروبی بیماری‌زا و مولد فساد مواد غذایی به روش‌های جدید موردنیاز است. یکی از این روش‌ها استفاده از نگه‌دارنده‌های طبیعی مشتق از منابع گیاهی، حیوانی و میکروبی است؛ که علاوه بر بالا بردن زمان ماندگاری غذا، می‌توان از اثرات مضر نگهدارنده‌های شیمیایی غذا نیز مصون ماند [۲،٤].

یکی از ترکیبات طبیعی، اسانس‌های گیاهی هستند که مطالعات فراوانی توسط محققین روی اثرات ضدمیکروبی و نگه‌دارندگی آنها انجام گرفته است [۱۰، ۲].

اسانس‌های گیاهی مورد آزمایش در این بررسی به ترتیب اسانس دارچین (سینامون زیلانیکوم *Cinnamon zeylanicum*) و اسانس زیره سبز (کومینوم سیمونوم (*Cuminum cyminum*)) می‌باشد. امروزه استفاده از این مواد جایگزین طبیعی جهت بالا بردن طول دوره نگهداری مواد غذایی توصیه می‌شود. دارچین یک ماده طعم‌دهنده بوده که به میزان زیادی در انواع غذاهای ایرانی استفاده می‌شود. در جدول تجزیه و تحلیل ترکیبات اسانس دارچین ۷۹/۱۰ درصد مربوط به سینامون آلدهاید می‌باشد که میزان و خصوصیت ضدمیکروبی آن با تحقیقات پیشین هم‌خوانی دارد [۱۵- ۱۱].

در مطالعه چانگ (۲۰۰۱) نیز بیان شد که از میان اجزای اسانس دارچین، سینامالدهاید قوی‌ترین فعالیت ضدباکتریایی را دارد که عمدتاً به علت وجود حلقه بنزیلی و یک پیوند دوگانه متصل به آن می‌باشد. به همین دلیل بین مشتقات مختلف سینامون آلدهاید، اثر سینامالدهاید> اسید سینامیک> الکل سینامیل> استات سینامیل می‌باشد. به نظر می‌رسد که گروه آلدهایدی دارای بیشترین خاصیت ضدباکتریایی باشد. بر اساس ارزیابی خاصیت ضدباکتریایی در این اجزا نظیر سینامالدهاید، ۳- فنیل پروپیونالدهاید، بنزآلدهاید و ٤-هیدروکسی بنزآلدهاید هر چه تعداد پیوندهای دوگانه، گروه‌های هیدروکسیلی و طول زنجیره هیدروکربنی در خارج از حلقه بنزنی بیشتر باشد، فعالیت ضدباکتریایی اسانس بیشتر می‌شود [۱۱].

والرو و همکاران (۲۰۰٦) تاثیر سینرژیک اسانس‌های کارواکرول، تیمول و سینمالدهاید و همچنین دمای پایین را بر روی مهار رشد باکتری باسیلوس سرئوس در محیط آبگوشت بررسی کردند و هرنانذز (Hernandez Herrero LA) و همکاران (۲۰۰۸) نیز فعالیت اسپورکشی اسانس روغنی دارچین را بر علیه اسپور باکتری باسیلوس سرئوس در شرایط مشابهی مورد بررسی قرار دادند [۱۷، ۱٦].

براساس مقاله مشاک و همکاران (۲۰۱۰)، کاربرد اسانس دارچین می‌تواند در غلظت‌های بالاتر از ۳۰۰ میکرولیتر بر لیتر به عنوان یک نگه‌دارنده مناسب علیه باکتری باسیلوس سرئوس در مدل غذایی سوپ تجاری مورد استفاده قرار گیرد [۷].

زیره سبز نیز یک گیاه علفی یکساله با ساقه نازک منشعب از خانواده چتریان (*Umbelliferae*) می‌باشد و کشور ایران بزرگ‌ترین تولیدکننده زیره به میزان ۱۲۰۰۰ تن در سال می‌باشد [۱۸]. محل رویش آن در ایران در بسیاری از نقاط نظیر خراسان، صالح‌آباد تهران، تبریز و ... می‌باشد. علاوه بر طعم و آروما در طب به عنوان محرک و قابض و کاهش‌دهندهٔ چربی خون و کنترل کنندهٔ دیابت به کار برده می‌شود. همچنین به خواص ضداکسیدانی و ضدالتهابی و ضدسرطانی و ضدجهش‌زا بودن آن نیز در مطالعات پیشین اشاره شده است. بیشترین ترکیبات اسانس غیر از کومین آلدهید (۲٦/۹٦ درصد)، ترپینل بوتانات (۲۲/۱۷ درصد)، بتا پینن (۱٤/۹۳ درصد) و پارایمن (۹/٤۰ درصد) می‌باشد. مشابه این نتایج در مطالعات دیگر، نظیر مطالعه هایلاوی و همکاران (۲۰۱۰) که ترکیبات اسانس روغنی زیره سبز به روش GC/MS مورد ارزیابی قرار گرفت و میزان اجزای موجود در آن نظیر کومین آلدهید ۳۹/٤۸ درصد، تیمول بتاپینن ۱۱/۱۳ درصد و پاراسیمن ۱۱/۸۲ درصد و کارون ۱۰ ال ۷/۹۳ درصد بود، گزارش شده است [۹،۱۹].

در مقاله لاکوبلیس و همکاران (۲۰۰۵) فعالیت ضدباکتریایی اسانس روغنی زیره سبز به کومین آلدهید (۲۵/۲۰ درصد)، بتا پینن (۱۰/٤۰ درصد)، آلفا پینن (۰/٦۰ درصد) و ساپینن (۰/۷۰ درصد) نسبت داده شد [۲۰].

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-12]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.39.6.1]

اندک تفاوت مشاهده شده در نتایج میزان درصد اجزای متشکله این اسانس در مطالعه کنونی با مطالعات به عمل آمده قبلی می‌تواند تحت تاثیر فصل برداشت، سن گیاه، منطقه جغرافیایی رشد و ... باشد [۲].

در مطالعهٔ اوزکان و ارکمن (۲۰۰۱) نیز خاصیت ضدباکتریایی اسانس روغنی زیرهٔ سبز را بر روی *E. coli* O157:H7 تاحدودی متأثر از مواد فنولی موجود در اسانس مزبور ذکر نمودند [۲۱].

در مطالعهٔ مرادی و همکاران (۲۰۰۹) کاربرد غلظت ٤٥٠ میکرولیتر بر لیتر اسانس زیره سبز در دمای ۱۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد سبب کاهش چشمگیر تعداد باکتری باسیلوس سرئوس در مدل غذایی در مقایسه با سایر غلظت‌ها یعنی صفر، ۵۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ شده بود [٦].

ج) بررسی تاثیر اسانس دارچین و زیره سبز بر ساختار سلولی باکتری باسیلوس سرئوس با استفاده از میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM): با آن که اثرات ضدمیکروبی اسانس‌های روغنی بر روی پاتوژن‌های مولد بیماری‌های منتقله از راه مواد غذایی در محیط کشت و مدل غذایی به اثبات رسیده است ولی مکانیسم و جزئیات آنها هنوز نامشخص می‌باشد. لذا جهت شناخت مکانیسم ضدمیکروبی اسانس‌ها بر ساختار سلولی این گونه باکتری‌ها از روش‌های مختلفی از جمله میکروسکپ الکترونی استفاده می‌شود. به طوری که موسوی و بستی (۲۰۰۸) در مطالعات خود با میکروسکوپ الکترونی گذاره تاثیر اسانس آویشن شیرازی بر روی سالمونلا تایفی‌موریوم را به صورت افزایش نفوذپذیری غشاء سلولی و نشت اجزا درون سلولی به خارج آن و در باکتری استافیلوکوکوس آرئوس به صورت پارگی دیواره نشان دادند. محققین مذبور این تغییرات مورفولوژیکی مهم از جمله پارگی غشاء سلولی را که منجر به خالی شدن محتویات آن و بدشکلی سلول‌ها (Deformity) می‌شود ناشی از میزان بالای کارواکرول موجود در اسانس آویشن شیرازی و تاثیر طبیعت لیپوفیلیک اسانس مذبور ذکر کرده‌اند [۳].

در مطالعه بارت (Burt) و رینـدرس (Reinders) (۲۰۰۳) تأثیر مهاری ترکیبات فنولیک اسانس‌های روغنی پونه کوهی و آویشن بر روی تغییرات اسیدهای چرب و فسفولیپید موجود در غشاء سلولی باسیلوس سرئوس و اشریشیا کولی گزارش شده است. در مطالعه فوق از پایدارکننده یا تثبیت‌کننده‌هایی (Stabilizer) نظیر DMSO، اتانول، توین ۲۰ و توین ۸۰ به منظور نشان دادن بهتر خاصیت ضدمیکروبی اسانس‌های روغنی استفاده شده بود. در مطالعه‌ی حاضر نیز از DMSO نظیر تحقیقات پیشین استفاده شده است. به نظر می‌رسد که پایدارکننده‌های فوق سبب کندی جداسازی اسانس‌های روغنی از فاز آبی شده و لذا در حمایت از عمل ضدباکتریایی اسانس روغنی نقش دارند [۲۲].

در مطالعه دی پاسکا (Di Pasqua) و همکاران (۲۰۰٦) نیز با افزودن تیمول، کارواکرول، لیموزین و سینامالدهید (دارچین) و اوژنول در محیط کشت باکتری‌های *E. coli* O157:H7، استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا انتریکا تغییر در ترکیبات زنجیره‌ای اسیدهای چرب موجود در غشا مشاهده شد [۲۳].

به طور کلی فعالیت مهارکنندگی اسانس دارچین بر روی باکتری‌های نام‌برده به صورت صدمه به غشاهای سلولی و نشت کاتیون پتاسیم از غشاء باکتری‌های تیمار شده گزارش شده و چون یون پتاسیم مهم‌ترین کاتیون داخل سلولی همه ارگانیسم‌های زنده محسوب می‌شود و برای انجام بسیاری از وظایف سلول‌های باکتریایی مهم می‌باشد، لذا اتلاف یون پتاسیم در سراسر غشای سلولی را مسبب صدمات بعدی به غشا و از بین بردن سد قابلیت نفوذ سلولی ذکر نموده‌اند. در مطالعه کنونی نیز وجود سوراخ‌هایی در دیوارهٔ غشای باکتری متأثر از اسانس روغنی دارچین به چشم می‌خورد. به نظر می‌رسد تخریب ایفلاکس (Efflux) پمپ یون پتاسیم و نقص فعالیت آنزیمی سبب مهار تنفسی در باکتری‌های مذبور شده باشد. همچنین اسانس‌های مورد استفاده در این مطالعه به طور مؤثری بر روی عدم یکپارچگی غشاء باکتری‌ها و تخلیه محتویات سلولی نقش داشتند. لمبرت (Lambert RJW) و همکاران (۲۰۰۱) عقیده دارند که اسانس‌های روغنی با غشاء سیتوپلاسمی باکتری‌ها واکنش نشان داده و با اختلال و تخریب آن سبب نشت یون‌های اساسی و نتیجتاً مرگ باکتری می‌شود

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.39.6.1]

[۲٤، ۸].

همچنین در مطالعات میکروسکوپ الکترونی کارسون (Carson CF) و همکاران (۲۰۰۲) و دینیر (Denyer SP) و هوگو (Hugo WB) (۱۹۹۱) از تخلیه محتویات سیتوپلاسمی به عنوان یک صدمه‌ی مهم و غیرقابل برگشت یاد شده است [۲٦، ۲۵].

در این مطالعه نیز تغییرات موجود در شکل، تقسیم سلولی غیرطبیعی، عدم انسجام و یکپارچگی دیوارهٔ سلولی، تخلیه محتویات سیتوپلاسمی و غیره توسط هر یک از دو اسانس دارچین و زیره سبز کاملاً مشهود می‌باشد.

به نظر می‌رسد که در مطالعات مختلف تغییرات میکروسکوپی به دست آمده بسیار متفاوت و بسته به اسانس به کار برده شده و باکتری مورد نظر دارد. به عنوان مثال در مطالعه اوسالا و همکاران (۲۰۰٦) که بر روی مکانیسم عمل سه اسانس روغنی دارچین چینی، پونه کوهی (*Corydothymus capitatus*) و اسانس مرزه کوهی (*Satureja Montana*) با حداقل غلظت بازدارنده (MIC) آنها بر روی اشریشیا کولای O157:H7 و لیستریا منوسایتوژنز و با استفاده از میکروسکوپ الکترونی صورت پذیرفت، وضعیت غشاء و دیواره سلولی باکتری‌ها و نشت محتویات سلولی بررسی شد که پونه کوهی و همچنین دارچین چینی تغییرات بیشتری را در نفوذپذیری غشای سیتوپلاسمی لیستریا مونوسایتوژنز در مقایسه با اشریشیاکولای با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نشان دادند [۲۷].

در مطالعه رایور (Rhayour) و همکاران (۲۰۰۳) که از اسانس‌های روغنی مشابه و با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) صورت پذیرفت، اثرات باکتری‌کشی ترکیبات فنولیک بر روی باکتری اشریشیاکولای و باسیلوس سوبتیلیس به صورت صدمات مشخص در دیواره سلولی نظیر فرو رفتگی پوشش (Envelope) غشایی در باکتری اشریشیاکولای و در باسیلوس سوبتیلیس به صورت بدشکل بودن سلول‌ها (دفرمه شدن) مشاهده شد و علت متفاوت بودن تغییرات ایجاد شده در ساختمان دو باکتری به متفاوت بودن گرم مثبت و گرم منفی بودن آنها نسبت داده شد [۲۸].

در مطالعه حاضر که اثر ضدباکتریایی غلظت ٤۵۰ میکرولیتر بر لیتر اسانس دارچین و زیره سبز بر روی رشد و ساختار سلولی باکتری باسیلوس سرئوس با استفاده از میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM) انجام شد، در گروه کنترل باکتری‌ها دارای تقسیم سلولی طبیعی و متقارن بوده، غشاء سلولی از استحکام و یکپارچگی خاص خود برخوردار بوده، غشاء فسفولیپیدی دو لایه، لایه‌ی پپتیدوگلیکان و مزوزوم طبیعی می‌باشد. همچنین محتویات سیتوپلاسمی و دیواره عرضی طبیعی باکتری در حین تقسیم سلولی دلالت بر سالم بودن باکتری می کند (تصاویر شماره ۱- الف، ب و ج).

در حالی که در گروه تیمار (حاوی اسانس دارچین) در مقطع میکروسکوپ الکترونی سلول‌های باسیلوس سرئوس در محیط BHI حاوی DMSO، سلول‌های باکتریایی دفرمه شده، تقسیم سلولی نامتقارن بوده و مراحل اولیه اسپورسازی غیرطبیعی، صدمات وارده به دیواره سلولی باکتری‌ها به صورت عدم یکنواختی و پیوستگی دیواره سلولی، وجود سوراخ (Hole) در آن، پارگی دیواره سلول به صورت کامل و یا چسبیده به سیتوپلاسم، نشت محتویات سیتوپلاسمی و نتیجتاً خالی شدن سلول‌ها و همچنین وجود تکه‌هایی از دیواره سلولی به چشم می‌خورد. لذا تاثیر ضدباکتریایی اسانس دارچین بر روی باکتری باسیلوس سرئوس مشهود می‌باشد (تصاویر شماره ۲- الف، ب و ج).

گوئینوایسیو (Guinoiseau E) و همکاران (۲۰۱۰) غشاء پلاسمایی باکتری‌ها را اولین محل عمل توکسیک اسانس‌های روغنی خصوصا در ارتباط با خاصیت هیدروفوبیسیتی اجزا ترپنوئیدی آن‌ها ذکر نموده که سبب تفکیک غشاء دو لایه‌ای فسفولیپیدی باکتریایی، تخریب غشا و بالاخره تخلیه محتوای باکتری‌ها می‌گردد [۲۹]. در تایید نظر محققین قبلی چنین بر می‌آید که اسانس دارچین از طریق تغییر در مکانیسم‌هایی نظیر قابلیت نفوذ انتخابی غشاء سلولی، مهار فعالیت تنفسی، از دست دادن فعالیت‌های آنزیمی و اساسی دیگر سبب تغییر در غشاء باکتری باسیلوس سرئوس و لذا منجر به مرگ آن شده است [۲۹، ۸].

قابل ذکر آن که تغییر شکل (دفرمه شدن) سلول‌ها در هر دو گروه تیمار به نظر می‌رسد به علت از دست رفتن استحکام دیوارهٔ سلولی و از هم‌گسیختگی غشاء سلولی باشد.

در گروه تیمار حاوی اسانس زیره سبز نیز مقاطع

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-12]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.39.6.1]

میکروسکوپ الکترونی سلول‌های باسیلوس سرئوس در محیط BHI حاوی DMSO علاوه بر دفرمه شدن سلول‌های باکتریایی تقسیم سلولی نامتقارن، غیرطبیعی بودن اسپورسازی در مراحل اولیه، پارگی دیوارهٔ سلولی به صورت کامل و یا چسبیده به سیتوپلاسم، نشت محتویات سیتوپلاسمی به خارج از سلول، طویل شدن سلول‌های باکتریایی و تراکم اجزای سیتوپلاسم به صورت منعقد شده به چشم می‌خورد. در بررسی‌های درخشان و همکاران (۲۰۰۸) که بر روی تأثیر ضدباکتریایی اسانس روغنی زیره سبز بر روی مورفولوژی و وضعیت کپسول و فعالیت اوره‌آز در باکتری کلبسیلا نمونیا صورت پذیرفت نتایج حاصل از مطالعات میکروسکوپ الکترونی گذاره نشانگر تغییرات مورفولوژیکی خاصی در سلول باکتری نظیر طویل شدن آنها بود که مشابه این تغییرات در تیمار اسانس زیره سبز بر روی باکتری باسیلوس سرئوس نیز مشاهده شد. همچنین محققین مذکور اثرگذاری جزء لیپوفیلیک اسانس زیره سبز را بر روی قسمت‌های لیپیدی موجود در غشاء سلولی باکتری از طریق آنزیم‌ها، حاملین (Carrier) و کانال‌های یونی و گیرنده‌های آن‌ها ذکر نمودند. در این مطالعه به نظر می‌رسد تغییر در نفوذپذیری (Permeability) غشای سلولی و یا به علت وجود مکانیسم‌های غیرمستقیم دخیل با فعالیت‌های آنزیمی مرتبط با تقسیم سلولی و یا ترکیبی از هر دو عامل ذکر شده علت ایجاد حالت فوق باشد [۹].

در مطالعات اسکاندامیس (Skandamis P) و همکاران (۲۰۰۵) نیز در مشاهدات میکروسکوپ الکترونی که بر روی کاربرد پونه‌ی کوهی بر روی اشریشیا کولای انجام گرفته بود، تراکم مواد داخل سلولی را به صورت انعقاد (Coagulation) اجزای سیتوپلاسمی و همچنین خشن و نامنظم بودن ساختمان غشایی سلول باکتری گزارش نمودند. در این مطالعه نیز اسانس روغنی زیره سبز برخلاف اسانس دارچین به طور مشخص قادر به ایجاد انعقاد اجزای سیتوپلاسمی و مواد متراکم داخل سلولی در نزدیک پوشش غشایی باکتری بود. به نظر می‌رسد علت مواد منعقد شده موجود در سلول، رسوب پروتئین‌های غیرطبیعی و یا غشاء دناتوره شده باشد [۳۰].

بر طبق مطالعات مختلف اسانس‌های روغنی حاوی ترپن‌ها (Terpens) (نظیر اسانس دارچین و زیره سبز به کار برده شده در این بررسی) با خاصیت هیدروفوبیسیتی خود قادر به نفوذ و یا تخریب ساختمان‌های حاوی چربی بوده و سبب تجمع در غشای سلولی، از دست رفتن اتصالات غشایی و یک‌پارچگی آن و همچنین تخریب نیروی محرکه پروتونی (Proton motive force) می‌شوند [۲۹، ۱۲].

به نظر می‌رسد که جایگاه اصلی اسانس‌ها غشای سلول، اندامک‌های سلولی و دیواره سلول باشد. ولی احتمالاً یک مکانیسم اختصاصی جهت توجیه فعالیت ضدباکتریایی اسانس‌های روغنی متفاوت در یک نوع باکتری و بالعکس موجود نمی‌باشد و علاوه‌بر میزان آب‌گریزی مواد موجود در غشاء سلولی که قابلیت نفوذ آن را تحت تاثیر اسانس‌های روغنی مشخص می‌نمایند، ترکیبات دیگر موجود در غشاء سلول باکتریایی باسیلوس سرئوس را نیز نباید نادیده انگاشت. در خاتمه به نظر می‌رسد که قابلیت فیزیکی فعال اسانس‌های روغنی دارچین و زیره سبز بر روی غشای دولایه‌ای فسفولیپیدی باسیلوس سرئوس از طریق اختلال در حمل تبادلات غشایی صورت می‌گیرد. البته اسانس‌های روغنی فوق برای مهار رشد این باکتری پاتوژن می‌توانند در آن واحد با چندین مکانیسم مختلف سلول باکتریایی را مورد هدف قرار بدهند [۲۹، ۲۷].

منابع

1. Akhondzadeh Basti A, Misaghi A and Khaschabi D. Growth response and modeling of the effects of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil, pH and temperature on *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. *LWT- Science and Technology* 2007; 40: 973 - 81.

2. Burt S. Essential oils: their antibacterial

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.39.6.1]

properties and potential application in foods-a review, *Int. J. Food Microbiol.* 2004; 94 (3): 223 - 53.

3. Moosavy M, Basti AA, Misaghi A, Salehi TZ, Abbasifar R, Ebrahimzadeh Mousavi HA, Alipour M, Razavi NE, Gandomi H, Noori N. Effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil and nisin on *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in a food model system and on the bacterial cell membranes, *Food Research Int.* 2008; 41 (10): 1050 - 7.

4. Cowan MM. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol. Rev*. 1999; 12 (4): 564 - 82.

5. Kramer JM and Gilbert RJ. *Bacillus cereus* and other Bacillus species, Doyle MP (ed.), Foodborne bacterial pathogens, Marcel Dekker Inc. New York. 1989, pp: 21 - 70.

6. Moradi B, Mashak Z, Akhondzadeh Basti A, Moradi B, Barin A. Study of the effect of *Cuminum cyminum* L. essential oil on the growth of *Bacillus cereus* in a food model system, *J. Medicinal Plants* 2009; No of acceptance: F/1774/40.

7. Mashak Z, Moradi B, Moradi B. 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. Medicinal Plants* 2010; No of acceptance: F/1732/40.

8. Bouhdid S, Abrini J, Amensour M, Zhiri A, Espuny MJ and Manresa A. Functional and ultrastructural changes in *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* cells induced by *Cinnamomum verum* essential oil. *J. Appl. Microbiol.* 2010; DOI: 10.1111/j.1365-2672.04740.x.

9. Derakhshan S, Sattari M, Bigdeli M. Effect of subinhibitory concentrations of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seed essential oil and alcoholic extract on the morphology, capsule expression and urease activity of *Klebsiella pneumoniae*, *Int. J. Antimicrob. Agents* 2008; 32: 432 - 6.

10. Moreira MR, Ponce AG, Del Valle CE and Roura SI. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen, *LWT - Food Sc. Tech.* 2005; 38: 565 - 70.

11. Chang ST, Chen PF and Chang SC. Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*, *J. Ethnopharma*. 2001; 77 (1): 123 - 7.

12. Jrimand K and Rezaei MB. Plant essential oils research center in Iran, Academic Press. Iran. 2001, pp: 119 - 28.

13. Ooi LS, Li Y, Kam SL, Wang H, Wong EY and Ooi VE. Antimicrobial activities of cinnamon oil and cinnamaldehyde from the Chinese medicinal herb *Cinnamomum cassia* Blume. *Am. J. Chin. Med*., 2006; 34 (3): 511 - 22.

14. Gill AO and Holley RA. Inhibition of membrane bound ATPases of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* by plant oil aromatics. *Int. J. Food Microbiol.* 2006; 111: 170 - 4.

15. Park IK, Lee HS, Lee SG, Park JD and Ahn YJ, Insecticidal and fumigant activities of *Cinnamomum cassia* barkderived materials against *Mechoris ursulus* (Coleoptera: Attelabidae), *J. Agri. Food Chem.* 2000; 48: 2528 - 31.

16. Valero M and Giner MJ. Effect of antimicrobial components of essential oils on growth of *Bacillus cereus* INRA L2104 in and the sensory qualities of carrot broth, *Int. J. Food Microbiol.* 2006; 106 (1): 90 - 4.

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.39.6.1]

17. Hernandez-Herreroa LA, Ginera MJ and Valero M. Effective chemical control of psychrotrophic *Bacillus cereus* EPSO-35AS and INRA TZ415 spore outgrowth in carrot broth, *Food Microbiol*. 2008; 25 (5): 714 - 21.

18. Peter KV. Handbook of herbs and spices.2001; Vol 1. Cambridge, U.K.; Woodhead Publishing Ltd. 165 p.

19. Hajlaoui H, Mighri H, Noumi E, Snoussi M, Trabelsi N and Bakhrouf RKA. Chemical composition and biological activities of Tunisian *Cuminum cyminum* L. A high effectiveness against Vibrio spp. Strains, *Food Chem. Toxicol.* 2010; DIO: 10.1016/j.fct.05.044.

20. Lacobrbellis NS, Cantore PL, Capasso F, Senatore F, Antibacterial activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. essential Oils, *J. Agric. Food Chem.* 205; 53: 57 - 61.

21. Ozcan M and Erkmen O. Antimicrobial activity of the essential oils of Turkish plant spices, *Euro. Food Res. Tech*. 2001; 212: 658 – 60.

22. Burt SA and Reinders RD. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7, *Lett. Appl. Microbiol*. 2003; 36: 162 - 7.

23. Di Pasqua R, Betts G, Hoskins N, Edwards M, Ercolini D and Mauriello G. Memberane toxicity of antmicrobial compounds from essential oils, *J. Agrric. Food Chem*. 2007; 55: 4863 - 70.

24. Lambert RJW, Skandamis PN, Coote P, Nychas GJE. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol, and carvacrol, *J. Appl. Microbiol*. 2001; 91: 453 – 62.

25. Carson CF, Mee BJ and Riley TV. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined par time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy, *Antimicrob. Agents Chemother*. 2002; 46: 1914 – 20.

26. Denyer SP, Hugo WB. Biocide-induced damage to the bacterial cytoplasmic membrane. In: Denyer SP, Hugo WB (eds), Mechanisms of action of chemical biocides: their study and exploitation, Blackwell Scientific Publications. Oxford. UK. 1991, pp: 171 – 87.

27. Oussalah M, Caillet S, Saucier L and Lacroix M. Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. *Meat Sci*. 2006; 73: 236 – 44.

28. Rhayour K, Bouchiki T, Tantaoui-Elaraki A, Sendide K and Remmal A. The mechanism of bactericidal action of oregano and clove essential oils and of their phenolic major components on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*, *J. Essential Oil Res*. 2003; 15: 356 - 62.

29. Guinoiseau E, Luciani A, Rossi PG, Quilichini Y, Ternengo S, Bradesi P and Berti L. Cellular effects induced by *Inula graveolens* and *Santolina corsica* essential oils on *Staphylococcus aureus*, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*. 2010; DOI: 10.1007/s10096-010-0943-x.

30. Skandamis P, Tsingarida E and Nychas GJE. The effect of oregano essential oil on survival/ death of *Salmonella thyphimurium* in meat stored at 5ºC under aerobic, VP/MAP conditions, *Food Microbiol*. 2002; 19: 379 - 85.

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.39.6.1]

The Study of Antibacterial Effects of *Cinnamomum zeylanicum* Nees. and *Cuminum cyminum* L. Essential oil on Morphology of *Bacillus cereus* with Use of Transmission of Electron Microscopy (TEM)

Gholizadeh M (DVM)[1], Mashak Z (Ph.D.)[2*], Poosti I (Ph.D.)[3], Moradi B (M.Sc.)[4], Moradi B (M.Sc.)[5]

1- Department of Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Karaj Branch, Karaj, Iran
2- Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Karaj Branch, Karaj, Iran
3- Department of Anatomy, Factually of specialized veterinary medicine, Islamic Azad University, Science and research campus, Tehran, Iran
4- Department of Microbiology, Faculty of Science, Islamic Azad University, Zanjan Branch, Zanjan, Iran
5- Department of Microbiology, Faculty of Science, Islamic Azad University, Karaj Branch, Karaj, Iran
*Corresponding author: Department of Food Hygiene, Islamic Azad University, Karaj Branch, Karaj, Iran; Tel: +98-261-4182543
E-mail: zohreh_mashak@yahoo.com

Abstract

Background: ***Bacillus cereus*** **is a spore-forming food-borne pathogen often associated with food products such as meat, vegetables, soup, rice, and milk and other dairy products. 1 - 20 % of total outbreaks of food intoxication in the world are caused by** ***Bacillus cereus*****. There is an increasing interest in the use of plant-derived antimicrobial compounds as natural preservatives for foods. Such as** ***Cinnamomum zeylanicum*** **Nees. and** ***Cuminum cyminum*** **L. essential oils that growth inhibition mechanism of several pathogen's morphology by them have been reported in various articles by electronic microscopy.**

Objective: The objective of this survey was evaluation of antibacterial effects of ***Cinnamomum zeylanicum*** **Nees. and** ***Cuminum cyminum*** **L. essential oils on** ***Bacillus cereus*** **morphology with use TEM.**

Methods: The essential oils of ***Cinnamomum zeylanicum*** **Nees. and** ***Cuminum cyminum*** **plants were obtained by steam-distillation and analyzed by GC/MS. Then effect of concentration of these essential oils (450 µl/l) on morphology of** ***Bacillus cereus*** **was evaluated with TEM after processing and photographs explanation.**

Results: with use of two treatments (*Cinnamomum zeylanicum*** Nees. and** ***Cuminum cyminum*** **L. essential oils) observed abnormality bacterial division, cell deformity and depletion of cell content, release of cytoplasmic constituent. In treatment by** ***Cinnamomum zeylanicum*** **Nees. essentialoil, destruction of bilayer phospholipids membrane and glycopeptides of cell wall and unintegrity was detected. But in** ***Cuminum cyminum*** **L. essential oil treatment observed cytoplasmic coagulation near the envelope of bacterial cell.**

Conclusion: The results showed the different mechanism inhibitory effects of the ***Cinnamomum zeylanicum*** **Nees. and** ***Cuminum cyminum*** **L. essential oils on morphology of** ***Bacillus cereus*** **with TEM.**

Keywords: ***Cinnamomum zeylanicum*** **Nees.,** ***Cuminum cyminum*** **L., essential oils,** ***Bacillus cereus*****, Transmission electron microscopy**

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.39.6.1]