

مطالعه اثر ضد میکروبی روغن فرار کاکوتی کوهی بر باکتری‌های مولد فساد و بیماری‌زای مواد غذایی

معصومه مهربان سنگ‌آتش^{۱*}، رضا کاراژیان^۲، شهرام بیرقی طوسی^۳

۱- مری پژوهشی، گروه پژوهشی کیفیت و ایمنی مواد غذایی، جهاد دانشگاهی واحد مشهد

۲- کارشناس ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، جهاد دانشگاهی واحد مشهد

۳- مری پژوهشی، گروه پژوهشی فرآوری مواد غذایی، جهاد دانشگاهی واحد مشهد

* آدرس مکاتبه: مشهد، میدان آزادی، جهاد دانشگاهی واحد مشهد، صندوق پستی: ۹۱۷۷۵ - ۱۳۷۶

تلفن: ۰۵۱۱ (۸۷۹۱۰۰)، نمبر: ۰۵۱۱ (۸۷۹۵۵۳۰)

پست الکترونیک: mehraban@acecr.ac.ir

تاریخ تصویب: ۸۵/۱۰/۲۵

تاریخ دریافت: ۸۴/۱۱/۲۶

چکیده

مقدمه: کاکوتی کوهی گیاهی متعلق به خانواده نعناعیان است که در اکثر مناطق ایران می‌روید. این گیاه در ماست و سایر فرآورده‌های لبنی به عنوان افزودنی استفاده می‌شود، اما تحقیقات اندکی در زمینه فعالیت ضد میکروبی گیاه کاکوتی کوهی بر باکتری‌های مولد فساد و بیماری‌زای مواد غذایی وجود دارد.

هدف: در این پژوهش اثر ضد میکروبی اسانس کاکوتی کوهی بر باکتری‌های مولد فساد و بیماری‌زای مواد غذایی بررسی شد و حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و میکروب کشی (MBC) آن تعیین گردید.

روش بررسی: اثر مهارکنندگی و باکتری کشی اسانس کاکوتی کوهی بر شش باکتری گرم منفی (انتروباکتر آئروژن، اشرشیاکلی، کلبسیلا نومونیا، سالمونلا انتریتیدیس، سودوموناس آئروژینوزا و شیگلا دیزنتری) و سه باکتری گرم مثبت (باسیلوس سرئوس، استافیلکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسایتوژن) آزمایش شد. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) به روش رقت لوله‌ای تعیین شد و حداقل غلظتی که کدورتی در آن مشاهده نشد و تعداد کلونی در آن پس از کشت در محیط نوتربینت آگار صفر بود به عنوان حداقل غلظت میکروب کشی (MBC) برای هر باکتری در نظر گرفته شد.

نتایج: رشد همه باکتری‌های مورد آزمایش به جز سودوموناس آئروژینوزا و شیگلا دیزنتری بوسیله اسانس کاکوتی کوهی مهار شد. حداقل غلظت مهارکنندگی و میکروب کشی این اسانس برای باکتری‌های گرم منفی انتروباکتر آئروژن، اشرشیاکلی، کلبسیلا نومونیا و سالمونلا انتریتیدیس به ترتیب $250\text{ }\mu\text{g}/\text{l}$ ، $500\text{ }\mu\text{g}/\text{l}$ و $125\text{ }\mu\text{g}/\text{l}$ بود. حداقل غلظت مهارکنندگی برای باکتری‌های گرم مثبت لیستریا مونوسایتوژن و استافیلکوکوس اورئوس $1000\text{ }\mu\text{g}/\text{l}$ و برای باسیلوس سرئوس $125\text{ }\mu\text{g}/\text{l}$ بود.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که اسانس کاکوتی کوهی بر باکتری‌های مولد فساد و بیماری‌زای مواد غذایی اثر مهاری و کشنده‌گی دارد. طبق نتایج این بررسی اسانس کاکوتی کوهی به عنوان یک ترکیب نگهدارنده و طعم‌دهنده طبیعی در فرآورده‌های غذایی قابل استفاده است.

گل واژگان: اسانس کاکوتی کوهی، باکتری‌های مولد فساد و بیماری‌زای مواد غذایی، اثر ضد میکروبی، MBC MIC



مقدمه

بررسی اولی و همکاران (۱۹۹۲) نشان داد اسانس مرزنجوش و آویشن بر چهار سویه لیستریا مونوسایتیوژن^۱ اثر ضد میکروبی دارد [۱۲]. در پژوهش دیگری اثر ضد میکروبی اسانس آویشن بر استافیلوكوکوس اورئوس^۲ و اشرشیاکلی^۳ بررسی شد و مشخص گردید که اسانس آویشن در رقت $\frac{1}{16}$ از رشد اشرشیاکلی و در رقت $\frac{1}{8}$ از رشد استافیلوكوکوس اورئوس جلوگیری می‌کند [۱۳]. اسمیت پالمر و همکاران (۲۰۰۱) اثر اسانس آویشن را بر لیستریا مونوسایتیوژن و سالمونلا انتریتیدیس^۴ بررسی کردند و نشان دادند اسانس آویشن از رشد این باکتری‌ها در پنیر کم چرب جلوگیری می‌کند [۱۴]. والرو و سالمرون (۲۰۰۳) مشاهده نمودند اسانس نعناع در غلظت $0/5 \mu\text{g}/\text{ml}$ ، اسانس مریم گلی در غلظت $0/25 \mu\text{g}/\text{ml}$ و اسانس آویشن در غلظت $0/35 \mu\text{g}/\text{ml}$ می‌توانند رشد باسیلوس سرئوس^۵ را مهار کنند [۱۵]. بررسی‌های سوکمن و همکاران (۲۰۰۴) نشان داد اسانس آویشن می‌تواند از رشد کلبسیلا نومونیا^۶، سالمونلا انتریتیدیس، استافیلوكوکوس اورئوس، باسیلوس سابتلیس^۷ و انتروکوکوس فکالیس^۸ جلوگیری کند [۱۶]. تپه و همکاران (۲۰۰۴، ۲۰۰۵) اثر ضد میکروبی اسانس گونه‌های مختلف مریم گلی را بررسی کرده‌اند، نتایج آن‌ها نشان داد که *Salvia cryptantha* از رشد استافیلوكوکوس اورئوس و *Salvia multicaulis* از رشد استافیلوكوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، کلبسیلا نومونیا و باسیلوس سرتئوس، *Salvia tomentosa* از رشد استافیلوكوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، انتروباکتر آثروژن^۹ و کلبسیلا نومونیا جلوگیری می‌کنند ولی اسانس سه گونه فوق اثری بر سودوموناس آثروژینوزا^{۱۰} نداشتند [۱۷، ۱۸، ۱۹].

هدف از این پژوهش بررسی اثر اسانس گیاه کاکوتی کوهی بر باکتری‌های مولد فساد و بیماری‌زای مواد غذایی و تعیین حداقل

^۱ *Listeria monocytogenes*
^۲ *Staphylococcus aureus*
^۳ *Salmonella enteritidis*
^۴ *Bacillus cereus*
^۵ *Klebsiella pneumoniae*
^۶ *Bacillus subtilis*
^۷ *Enterobacter faecalis*
^۸ *Enterobacter aerogenes*
^۹ *Pseudomonas aeruginosa*

^{۱۰} *Candida albicans*
^{۱۱} *Salmonella typhimurium*
^{۱۲} Nistatine

گیاه کاکوتی کوهی^۱ متعلق به جنس زیزیفورا و تیره نعناعیان^۲ است [۱]. در ایران ۴۹ جنس از تیره نعناع با چند صد گونه در مناطق مختلف پراکنده است. از جنس‌های مهم این تیره، نعناع^۳، آویشن کوهی^۴، اسطوخودوس^۵، مرزنجوش^۶ و کاکوتی^۷ را می‌توان نام برد [۲]. پراکنش جغرافیایی کاکوتی کوهی در جهان در شبه جزیره بالکان شرقی، جنوب غربی آسیا و آسیای مرکزی تا کوه‌های پامیرآلای و هیمالیا (ایران، عراق و بخش‌های مرکزی و شرقی ترکیه) و آفریقا است [۳، ۴].

گیاهان تیره نعناع از زمان‌های گذشته در طب سنتی استفاده می‌شده‌اند و به طور معمول در درمان عفونت‌های دستگاه گوارش یا دل درد کاربرد داشته‌اند. امروزه از گیاهان تیره نعناع به صورت ادویه و چاشنی در رستوران‌ها و منازل همراه با غذا استفاده می‌شود [۵].

در بسیاری از مناطق ایران از گیاه کاکوتی کوهی به عنوان چاشنی به همراه ماست و سایر فرآورده‌های لبنی استفاده می‌شود [۶]. همچنین در معالجه امراض معده [۷] و به عنوان ضد عفونی کننده برای رفع سرماخوردگی به کار می‌رود [۱]. اجزای کاکوتی کوهی فعالیت ضد توموری دارد و رشد نوعی از تومورهای بدخیم^۸ را تا ۳۲/۶ درصد و غدد سلطانی^۹ را تا ۴۷/۵ درصد کاهش می‌دهد [۸]. عنصر اصلی اسانس در تعدادی از گیاهان خانواده نعناعیان از جمله کاکوتی، پولگون است [۹، ۱۰]. پولگون دارای خاصیت باز ضد باکتری و ضد قارچی بود و به ویژه روی سوش‌های مختلف سالمونلا موثر است [۶]. پولگون قادر است از رشد کاندیدا آلیکانس^{۱۱} و سالمونلا تیفی موریوم^{۱۲} جلوگیری نماید و اثر آن بر کاندیدا آلیکانس دو برابر نیستاین^{۱۳} است [۱۱].

تاکنون بررسی‌های زیادی در خصوص اثرات ضد میکروبی گیاهان متعلق به تیره نعناعیان انجام شده است.

داده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در گرمخانه نگهداری شد. رقتی که شمارش تعداد کلونی‌ها در آن صفر بود به عنوان حداقل غلظت میکروب‌کشی برای هر باکتری تعیین گردید [۱۳].

نتایج

در این پژوهش اثر میکروب‌کشی و مهارکنندگی اسانس کاکوتی کوهی بر باکتری‌های مولد فساد و بیماری‌زای موادغذایی شامل انتروباکتر آئروژن، اشرشیاکلی، کلبسیلا نومونیا، سودوموناس آئروژینوزا، سالمونلا انتریتیدیس، شیگلا دیزنتری، باسیلوس سرئوس، لیستریا مونوسایتوژن و استافیلوکوکوس اورئوس بررسی شد. نتایج حاصل از شمارش تعداد کلنی‌ها در غلظت‌های مختلف اسانس در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

نتایج نشان داد که حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) اسانس کاکوتی کوهی برای باکتری‌های گرم منفی انتروباکتر آئروژن و سالمونلا انتریتیدیس $1\text{ }\mu\text{g}/\text{l}$ ، اشرشیاکلی $1\text{ }\mu\text{g}/\text{l}$ و کلبسیلا نومونیا $1\text{ }\mu\text{g}/\text{l}$ بود و حداقل غلظت میکروب‌کشی (MBC) این اسانس برای باکتری‌های فوق‌الذکر با حداقل غلظت مهارکنندگی آن برابر بود. اسانس کاکوتی کوهی تاثیری بر باکتری‌های گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا و شیگلا دیزنتری نداشت. حساس‌ترین باکتری گرم منفی در مقابل اسانس کاکوتی کوهی کلبسیلا نومونیا بود.

حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس کاکوتی کوهی برای باکتری‌های گرم مثبت لیستریا مونوسایتوژن و استافیلوکوکوس اورئوس $1\text{ }\mu\text{g}/\text{l}$ و برای باسیلوس سرئوس $1\text{ }\mu\text{g}/\text{l}$ به دست آمد. حداقل غلظت میکروب‌کشی اسانس کاکوتی کوهی برای لیستریا مونوسایتوژن با حداقل غلظت مهارکنندگی آن برابر بود ولی برای استافیلوکوکوس اورئوس معادل $1\text{ }\mu\text{g}/\text{l}$ است و روی باسیلوس سرئوس در دامنه غلظت مورد بررسی فقط اثر مهارکنندگی داشت. لیستریا مونوسایتوژن حساس‌ترین باکتری گرم مثبت در مقابل اسانس کاکوتی کوهی بود.

غلظت مهارکنندگی و میکروب‌کشی آن برای استفاده در مواد غذایی است.

مواد و روش‌ها

اسانس کاکوتی کوهی: اسانس کاکوتی کوهی به سفارش گروه پژوهشی صنایع غذایی در شرکت تک عصاره به روش تقطیر با بخار به مدت ۳ ساعت تهیه گردید و تا زمان مصرف در ظروف شیشه‌ای تیره در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [۲۴].

سویه‌های میکروبی: سویه‌های میکروبی (به صورت آمپول‌های لیوفیلیزه) از کلکسیون باکتری‌ها و قارچ‌ها، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، انتروباکتر آئروژن، شیگلا دیزنتری^۱، سودوموناس آئروژینوزا، لیستریا مونوسایتوژن، باسیلوس سرئوس و کلبسیلا نومونیا) و موسسه سرم‌سازی رازی (سالمونلا انتریتیدیس) خریداری گردید.

بررسی اثر ضدمیکروبی: به منظور بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره کاکوتی کوهی و تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و میکروب‌کشی آن از روش رقت لوله‌ای و محیط کشت مولرهیتون مایع^۲ استفاده گردید [۲۰، ۲۱].

محیط کشت مولرهیتون مایع با غلظت‌های $1\text{ }\mu\text{g}/\text{l}$ ، $2\text{ }\mu\text{g}/\text{l}$ ، $5\text{ }\mu\text{g}/\text{l}$ ، $10\text{ }\mu\text{g}/\text{l}$ ، $20\text{ }\mu\text{g}/\text{l}$ و $40\text{ }\mu\text{g}/\text{l}$ میکروگرم بر لیتر از اسانس در لوله‌های درپیچ دار در سه تکرار آماده شد [۲۱، ۲۲] و برای رسیدن غلظت نهایی میکروارگانیزم‌ها به $5 \times 10^5 \text{ cfu/ml}$ ، به هر لوله از سوسپانسیون میکروبی $0/5$ مکفارلنند اضافه شد [۲۰]. لوله‌ها در دمای ۳۷ - ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸-۲۴ ساعت در گرمخانه نگهداری شدند. پایین‌ترین غلظتی که هیچ‌گونه کلورتی در آن مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)^۳ تعیین گردید. برای مشخص کردن حداقل غلظت کشنده (MBC)^۴ از کلیه رقت‌هایی که کلورتی در آن‌ها مشاهده نشد در محیط نوترینت آگار، کشت سطحی

¹ *Shigella dysentriae*

² Muller Hinton Broth

³ Minimum Inhibitory Concentration

⁴ Minimum Bactericidal Concentration



جدول شماره ۱- میانگین تعداد کلیهای باکتری‌های مولد فساد و بیماری‌زای مواد غذایی (cfu/ml) در غلظت‌های مختلف اسانس کاکوتی کوهی

غلظت اسانس (µg/l)									گونه باکتری
۴۰۰۰	۲۰۰۰	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۶۰			
۰	۰	۰	۰	[*] ۰	[*] ۰	$8/7 \times 10^{-7}$	$5/2 \times 10^{-9}$	انترباکتر آئروژنر	
۰	۰	۰	[*] ۰	$2/5 \times 10^{-7}$	$8/5 \times 10^{-7}$	$1/22 \times 10^{-10}$		اشرشیا کلی	
۰	۰	۰	۰	۰	[*] ۰	$9/5 \times 10^{-9}$		کلبیسیلانومونیا	
$1/4 \times 10^{-7}$	$1/61 \times 10^{-7}$	$2/2 \times 10^{-7}$	$2/95 \times 10^{-7}$	$3/4 \times 10^{-7}$	$2/26 \times 10^{-8}$	1×10^{-10}		سودوموناس آئروژینوزا	
۰	۰	۰	۰	[*] ۰	2×10^{-6}	5×10^{-9}		سامونولا انتریتیدیس	
3×10^{-6}	4×10^{-6}	$4/5 \times 10^{-6}$	$1/79 \times 10^{-7}$	$7/7 \times 10^{-7}$	1×10^{-8}	$7/9 \times 10^{-9}$		شیگلا دیزتری	
5×10^{-3}	$7/7 \times 10^{-3}$	$8/2 \times 10^{-3}$	5×10^{-7}	7×10^{-7}	4×10^{-8}	$1/1 \times 10^{-10}$		باسیلوس سرثوس	
۰	۰	۰	۰	۰	[*] ۰	$1/14 \times 10^{-9}$		لیستریا مونوسایتوژنر	
۰	۰	۰	۰	6×10^{-2}	6×10^{-4}	$4/1 \times 10^{-9}$		استافیلوکوکوس اورئوس	

* حداقل غلظت مهارکنندگی با حداقل غلظت میکروب‌کشی برابر است که علت آن ممکن است وسیع بودن محدوده آزمایش باشد

نتایج این پژوهش نشان داد اسانس کاکوتی کوهی بر

باکتری‌های گرم مثبت مورد آزمایش شامل باسیلوس سرثوس، لیستریا مونوسایتوژنر و استافیلوکوکوس اورئوس اثر ضدمیکروبی دارد. در تحقیق کیوانس و آکگول (۱۹۸۶) نیز اثر ضدمیکروبی اسانس کاکوتی بومی ترکیه بر باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سابتیلیس مشاهده شد [۲۳]. نتایج حاصل از تحقیقات صالحی و همکاران (۲۰۰۵) نیز نشان داد اسانس کاکوتی کوهی می‌تواند از رشد باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس سابتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس جلوگیری کند [۲۴].

تپه و همکاران (۲۰۰۵) نیز نشان دادند اسانس گیاه سیکلوتربیکوم اوریگانوفولیوم^۱ که پولگون جزء اصلی آن است دارای اثر ضدمیکروبی بوده و می‌تواند رشد باکتری‌های اشرشیاکلی، کلبیسیلانومونیا، انترباکتر آئروژنر، باسیلوس سرثوس و استافیلوکوکوس اورئوس را مهار کند و بر سودوموناس آئروژینوزا اثری ندارد [۲۵].

دورو و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند جزء اصلی اسانس گیاه میکرومیریا سیلیسیکا^۲ را پولگون تشکیل می‌دهد و اسانس

بحث

در این پژوهش اسانس کاکوتی کوهی بر باکتری‌های مولد فساد و بیماری‌زای مورد آزمایش (بجز سودوموناس آئروژینوزا و شیگلا دیزتری) دارای اثر ضدمیکروبی بود (جدول شماره ۱).

مشاهدات نشان داد که اسانس کاکوتی کوهی بر باکتری‌های گرم منفی شامل انترباکتر آئروژنر، اشرشیاکلی، کلبیسیلانومونیا، سالمونولا انتریتیدیس اثر مهارکنندگی و میکروب‌کشی دارد ولی بر سودوموناس آئروژینوزا و شیگلا دیزتری اثری ندارد. کیوانس و آکگول (۱۹۸۶) در بررسی‌ای که روی اثر ضدمیکروبی اسانس کاکوتی بومی ترکیه انجام دادند به نتایجی مشابه دست یافتند. نتایج بررسی آنها نشان داد اسانس کاکوتی می‌تواند از رشد باکتری‌های گرم منفی اشرشیاکلی و انترباکتر آئروژنر جلوگیری نماید و اثری بر سودوموناس آئروژینوزا ندارد [۲۳].

نتایج فوق با نتایج حاصل از تحقیقات صالحی و همکاران (۲۰۰۵) روی اثر ضدمیکروبی اسانس کاکوتی کوهی هم خوانی دارد. بررسی‌های آنها نشان داد اسانس کاکوتی کوهی می‌تواند از رشد باکتری‌های گرم منفی اشرشیاکلی و کلبیسیلانومونیا جلوگیری کند. همچنین عدم فعالیت ضدمیکروبی اسانس کاکوتی کوهی در مقابل سودوموناس آئروژینوزا در بررسی آنها مشاهده شد [۲۴].

¹Cyclotrichium origanifolium

²Micromeria ciliicica



از آنجا که سازمان بهداشت جهانی برای کم کردن امراض قلبی توجه خاصی به کاهش مصرف نمک در سراسر دنیا نشان داده است با کاهش میزان مصرف نمک در غذاهای فرآیند شده موضوع استفاده از سایر افزودنی‌ها جهت نگهداری غذاها به وجود می‌آید که این مسئله نقطه عطفی برای روش‌های جدید ایمن سازی غذا به وسیله راههای طبیعی یا «سیز» است که یکی از آن‌ها استفاده از انسان‌های گیاهی به عنوان افزودنی‌های ضدبacterیایی است [۲۰، ۱۴]. بنابراین با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان استفاده از انسان‌کاکتوی کوهی را به عنوان یک ترکیب نگهدارنده و طعم‌دهنده طبیعی در فرآورده‌های غذایی پیشنهاد نمود.

این گیاه بر باکتری‌های انتروباکتر آئروژنر، اشرشیاکلی، سالمونلا تیفی موریوم، باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس اثر ضدبacterیوی دارد. برخلاف نتایج سایر بررسی‌ها، آن‌ها مشاهده نمودند انسان‌س این گیاه قادر به مهار رشد سودوموناس آئروژینوزا است [۲۶].

اکثر این تحقیقات نشان می‌دهد که حساسیت باکتری‌های گرم منفی در مقابل ترکیبات ضدبacterیوی در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت کمتر است که ممکن است به خاطر وجود غشای خارجی در ساختمان دیواره سلولی‌شان باشد. همچنین در میان باکتری‌های گرم منفی سودوموناس‌ها به ویژه سودوموناس آئروژینوزا کمترین حساسیت را در مقابل انسان‌های گیاهی دارد [۲۰].

منابع

1. Mozaffarian VA. Dictionary of Iranian Plant Names. Farhang Moaser, Tehran. 1998; p: 22.
2. Zargari A. Iranian Medicinal Plants, Tehran University Press, Tehran. Vol. 4. 1995; pp: 103-105.
3. Jamzad Z. Thyme. Iran Peik Press. 1994; pp: 103- 105.
4. Baser KHC, Sezik E, Tumen G. Composition of The Essential Oil of *Ziziphora clinopodioides* Lam. *Journal of Essential Oil Research* 1991; 3: 237-239.
5. Mehrabian S, Mollabashi Z, Majd A. Evaluation Antimicrobial Effects of Tree Species of Lamiaceae (*Ziziphora*, Sage and Mint) on Fifteen Species of Food Spoilage and Tract Pathogenic bacteria. *Journal of Science* 1996; 8 (1): 1-11.
6. Sajadi SE, Ghasemi Dehkordi N, Baloochi M. Volatile Constituents of *Ziziphora clinopodioides* Lam. *Journal of Pajohesh va Sazandeghi* 2003; 8: 1-9.
7. Babakhanloo P, Mirza M, Sefidkan F, Barazandeh MM, Asgari F. Chemical Components of Essential Oil of *Ziziphora clinopodioides*. *Medical Plants Research Journal* 1998; 2: 103-114.
8. Chachoyan AA, Oganesyan GB. Antitumor Activity of Some Spices of the Family Lamiaceae. *Rastitelnye Resursy* 1996; 32: 59-64.
9. Babakhanloo P, Mirza M, Sefidkan F, Barazandeh MM, Asgari F. Chemical Components of Essential Oil of *Ziziphora tenuir*. *Medical Plants Research Journal* 1998; 2: 115-120.
10. kguel A, Pooter HD, Buyck LD. The Essential oil of *Calamintha nepeta Subsp. glandulosa* and *Ziziphora clinopodioides* from Turkey. *Journal of Essential oil Research* 1991; 3: 7-10.
11. Duru ME, Ozturk M, Ceylan O. The Constituents of Essential Oil and in vitro Antimicrobial Activity of *Micromeria ciliica* from Turkey. *Journal of Ethnopharmacology* 2003; 94: 43-48.
12. Aureli P, Costantini A, Zolea S. Antimicrobial Activity of Some Plant Essential Oils Aganist *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection* 1992; 55: 344-348.
13. Rezai MB, Rasooli I. Chemical components and Biological activity of Essential Oils of *Thymus*



x-prolock and *Mentha longifolia*. *Daneshvar* 2000; 8 (31): 1-8.

14.Smith-Palmer A, Stewart J, Fufe L. The Potential Application of Plant Essential oils as Natural Food Preservatives in Soft Cheese. *Food Microbiology* 2001; 18: 463 - 470.

15.Valero M, Salmeron MC. Antimicrobial Activity of 11 Essential oils Against *Bacillus cereus* in Tyndallized Carrot Broth. *International Jounal of Food Microbiology* 2003; 85:73-81.

16.Sokmen A, Gulluce M, Akpulat HA, Daferera D, Tepe B, Polissiou M, Sokmen M, Sahin F. The in vitro Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Essential oils and methanol Extracts of Endemic *Thymus Spathulifolius*. *Food Control* 2004; 15: 627 - 634.

17.Tepe B, Daferera D, Sokmen M, Polissiou M, Sokmen A. The in vitro Antioxidant and Antimicrobial Activities of The Essential oil and various Extracts of *Origanum syriacum L. Var bevanii*. *Journal of the Science of food and Agriculture* 2004; 84: 1389-1396.

18.Tepe B, Daferera D, Sokmen A, Sokmen M, Polissiou, M. Antimicreibial and Antioxidant Activities of The Essential oil and Various Extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry* 2005; 90: 333-340.

19.Tepe B, Donmez E, Vnlu M, Candan F, Daferera D, Vnlu GV, Polissiou M, Sokmen, A. Antimicrobial and Antioxidant Activities of The Essential oil and Various Extracts of *Salvia Cryptantha* and *Salvia multicaulis*. *Food Chemistry* 2004; 84: 519-525.

20. Burt S. Essential oils: Their Antibacterial Properties and Potentiona Applications in Foods, a Review. *Internationa Journal of Food Micorbiology* 2004; 94: 223-253.

21. Mahon CR, Manuselis G. Diagnostic Microbiology. WB Saunders Company, London. 1995; pp: 58-96.

22. Inouya S, Takizawa T, Yamaguchi, H. Antibacterial Activity of Essential Oils and Their Major Constituents Against Respiratory Tract Pathogens by Gaseous Contact. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2001; 47: 565-573.

23. Kivanc M, Akguel A. Antimicrobial Activities of Essential Oils from Turkish Spices and Citrus. *Flavoar and Fragnance Jounral* 1986; 1 (4/5): 175-179.

24.Salehi P, Sonboli A, Eftekhar F, Nejad-Ebrahimi S, Yousefzadi M.Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of *Ziziphora clinopodioides subsp. rigida* (BOISS.) RECH. f. from Iran. *Biol Pharm Bull.* 2005; 28: 1892-6.

25.Tepe B, Sokmen M, Sokmen A, Daferera D, Polissiou M. Antimicrobial and antioxidative activity of the essential oil and various extracts of *Cyclotrichium origanifolium* (Labill.) Manden. and Scheng. *Journal of Food Engineering* 2005; 69 (3): 335-342.

26.Duru ME, Ozturk M, Ugur A, Ceylan O. The constituents of essential oil and in vitro antimicrobial activity of *Micromeria cilicica* from Turkey. *Journal of Ethnopharmacology* 2004; 94: 43-48.

