مطالعه اثر غلظت‌های مختلف اسانس سیر بر روی منحنی رشد و میزان توکسین TDH تولیدی توسط ویبریو پاراهمولیتیکوس

افشین آخوندزاده بستی[1*]، زهره مشاک[2]، علی خنجری[3]، محمد عادل رضایی[4]، فاطمه محمدخان[5]، علی طاهری میرقائد[6]، پیمان فقیه فرد[7]، نسرین طیار هشتچین[8]

۱- استاد، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۲- استادیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران
۳- استادیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
٤- دانش‌آموخته دکتری عمومی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، کرج، ایران
٥- دانشجو دکتری عمومی دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
٦- استادیار، گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۷- مربی، دانشگاه علوم انتظامی، تهران، ایران
۸- کارشناس، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
*آدرس مکاتبه :تهران، خیابان آزادی، خیابان دکتر قریب، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، کدپستی: ٦٣١١١ - ١٤١٩٩
تلفن: ٦١١١٧٠٤٤ (٠٢١)، نمابر: ٦٦٩٣٣٢٢٢ (٠٢١)
پست الکترونیک : aakhond@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ٩٢/١٠/١٦ **تاریخ تصویب:** ٩٣/٢/٢

چکیده

مقدمه: گاستروانتریت حاد ناشی از باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس در انسان، متعاقب مصرف غذاهای دریایی خام یا نیمه پخته آلوده به این باکتری ایجاد می‌شود. بیماری‌زایی ویبریو پاراهمولیتیکوس با توانایی تولید نوعی توکسین به نام TDH رابطه مستقیم دارد.

هدف: هدف از این مطالعه بررسی اثر اسانس سیر بر حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)، حداقل غلظت کشندگی (MBC)، نمودار رشد و میزان تولید توکسین TDH باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس بود.

روش بررسی: اثر ۵ غلظت اسانس سیر (صفر، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵، ۰/۰۳ و ۰/۰٤٥ درصد) بر MIC، MBC، نمودار رشد باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس و میزان توکسین تولیدی در محیط کشت آبگوشت قلب و مغز مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: میزان حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس سیر ۰/۰۳ درصد به دست آمد. تیتر توکسین تولیدی در دمای ۳۵ درجه در حالت صفر و ۰/۰۰۵ درصد اسانس سیر برابر $\frac{1}{256}$ بود، در حالی که این میزان در شرایط مشابه در حالت ۰/۰۱۵ درصد اسانس برابر $\frac{1}{64}$ بود. غلظت‌های ۰/۰۰۵ و ۰/۰۱۵ درصد اسانس سیر باعث کاهش سرعت رشد باکتری به طور معنی داری ($p<$ ۰/۰۵) نسبت به گروه کنترل شد.

نتیجه‌گیری: اسانس سیر باعث ممانعت از رشد باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس می‌شود. همچنین بر سرعت رشد باکتری و تولید توکسین TDH هم اثر کاهشی دارد. پیشنهاد می‌شود این مطالعه در مدل غذایی نیز مورد بررسی قرار گیرد تا در صورت مثبت بودن اثرات آن بتوان از این ترکیب به عنوان نگهدارنده مناسب جهت پیشگیری از بیماری‌زایی ویبریو پاراهمولیتیکوس استفاده کرد.

گل‌واژگان: اسانس سیر، ویبریو پاراهمولیتیکوس، TDH

مقدمه

اسانس‌ها مایعات فرار و معطری هستند که از گیاهان استخراج می‌شوند. علاقه به اسانس‌ها و کاربرد آنها در صنعت نگهداری مواد غذایی در سال‌های اخیر با توجه به درک مردم از آثار منفی نگهدارنده‌های مصنوعی، به طور فزاینده‌ای تقویت شده است. به علاوه بیماری‌های غذازاد یک مشکل عمومی در امر سلامت در سراسر جهان هستند، لذا به کارگیری استراتژی‌های نگهداری مؤثرتر در صنعت مواد غذایی امری ضروری به نظر می‌رسد. خواص ضد باکتریایی اسانس‌ها و ترکیبات آنها به طور گسترده‌ای مورد تحقیق و بررسی قرار گرفته و مستند شده است [۱].

اعمال ضد میکروبی و سایر کاربردهای پزشکی اسانس سیر تاکنون در بسیاری از موارد مورد تأیید قرار گرفته است [۳، ۲]. این اعمال با حضور سولفیدها در اسانس سیر در ارتباط می‌باشند [٤، ۳].

در میان فرآورده‌های مختلف سیر، اسانس سیر دارای عملکرد ضد میکروبی قوی‌تری است به طوری که نسبت به پودر سیر و سیر تازه به ترتیب ۲۰۰ و ۹۰۰ برابر اثرات ضدمیکروبی قوی‌تری دارد [٦، ۵]. به علاوه استفاده از اسانس و عصاره سیر در صنایع غذایی از سوی مؤسسه غذا و داروی ایالات متحده ایمن معرفی شده است [۵].

گاستروانتریت حاد ناشی از باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس در انسان، متعاقب مصرف غذاهای دریایی خام یا نیمه پخته آلوده به این باکتری ایجاد می‌شود [۷]. حضور این باکتری در آب‌های ساحلی شمالی و جنوبی ایران و محصولات غذایی صید شده نیز گزارش شده است [۹، ۸]. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که بیماری‌زایی ویبریو پاراهمولیتیکوس با توانایی تولید نوعی همولیزین به نام TDH رابطه مستقیم دارد به طوری که تقریباً ۱۰۰ درصد سویه‌های بالینی واجد این عامل حدت می‌باشند. پایداری حرارتی TDH به گونه‌ای است که حتی پس از حرارت دادن غذا هم می‌تواند در آن باقی بماند [۱۰].

این مطالعه جهت بررسی اثر اسانس سیر بر حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)، حداقل غلظت کشندگی (MBC)، نمودار رشد و میزان تولید توکسین TDH باکتری ویبریوپاراهمولیتیکوس صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

طرح کلی

اثرات اسانس سیر شامل غلظت‌های صفر، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵، ۰/۰۳ و ۰/۰٤۵ درصد در درجه حرارت نگهداری ۳۵ درجه سانتی‌گراد بر باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس در محیط کشت آبگوشت قلب و مغز مطالعه شد. پس از تعیین MIC و MBC، بررسی اثر غلظت‌های تحت بازدارنده اسانس بر منحنی رشد باکتری و عمل اندازه‌گیری توکسین صورت گرفت.

تهیه اسانس و آنالیز آن

سیر تازه از شهر همدان خریداری شده و اسانس، از حبه‌های له شده سیر به روش تقطیر با بخار با سیستم کلونجر تهیه شد. سپس آنالیز ترکیبات شیمیایی آن توسط دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف نگار جرمی (GC/MS) صورت گرفت.

دستگاه GC/MS از نوع Thermoquest Trace GC 2000 FINNIGAN (انگلستان) بوده و ویژگی‌های آن عبارت بود از: ستون موئینه DB5 به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر، با برنامه دمایی ۵۰ تا ۲٦۵ درجه سانتی‌گراد و همراه با افزایش تدریجی ۲/۵ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه و نگهداری ستون در ۲٦۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه. دمای اتاقک تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت جریان گاز هلیم ۱/۵ میلی‌لیتر بر دقیقه بود. همچنین، طیف‌سنجی جرمی به روش یونیزاسیون الکترونی (EI) با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و دمای منبع یونیزاسیون ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد.

باکتری مورد مطالعه

باکتری لیوفیلیزه ویبریو پاراهمولیتیکوس ATCC43996 در محیط آبگوشت قلب و مغز در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ٦ ساعت ۲ مرتبه به طور متوالی کشت داده شد، سپس از کشت دوم به نسبت ۵ به ۱ با گلیسیرین استریل مخلوط و در حجم‌های ۵۰۰ میکرولیتری در میکروتیوب‌های اپندورف در ۲۰- سانتی‌گراد نگهداری شد. جهت انجام هر آزمایش از این کشت‌های نگهداری شده در ۲۰- سانتی‌گراد استفاده شد [۲۱].

تهیه میزان تلقیح باکتری

ابتدا کشت نگهداری شده در ۲۰- درجه سانتی‌گراد را به لوله درپیچ‌دار استریل حاوی آبگوشت قلب و مغز منتقل و آن را در ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ٦ ساعت گرمخانه‌گذاری نموده سپس کشت دومی از این آبگوشت ٦ساعت اول بر روی آبگوشت قلب و مغز دیگر تهیه و به مدت ٦ ساعت در ۳۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. مقادیر مختلفی از این کشت دوم به لوله‌های کووت حاوی ٤ میلی‌لیتر آبگوشت قلب و مغز منتقل شد تا جایی که لوله کووت جذب نوری ۰/۱ را در طول موج ٦۰۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر نشان داد. از این لوله کووت بر روی محیط آگار قلب و مغز کشت داده شد تا میزان باکتری‌ها در هر میلی‌لیتر از آبگوشت قلب و مغز کووت مورد نظر به دست آید که این میزان برابر $۱۰^{٦}$ × ٤/۹ باکتری در هر میلی‌لیتر بود. سپس میزان ۲۰٤ میکرولیتر از این سوسپانسیون را در داخل لوله‌های ۱۰ میلی‌لیتری که حاوی آبگوشت قلب و مغز، ۵ درصد دی‌متیل سولفوکساید و غلظت‌های مورد نظر اسانس بودند تلقیح شد (غلظت نهایی باکتری ۱×۱۰^{۵} cfu/ml).

حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC) و حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC)

لوله‌های حاوی اسانس و باکتری به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند و MIC بر حسب کدورت یا عدم کدورت لوله‌ها تعیین شد. برای تعیین حداقل غلظت‌کشندگی اسانس‌ها از تمامی لوله‌هایی که در آنها عدم رشد مشاهده شده بود، کشت باکتریایی بر روی آگار صورت گرفت و محیط‌های کشت تلقیح شده به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. غلظتی از اسانس که در پلیت آن رشد باکتری مشاهده نشد به عنوان MBC در نظر گرفته شد.

بررسی اثر اسانس روی نمودار رشد باکتری

در این مرحله اثر غلظت‌های تحت بازدارنده اسانس روی رشد باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس در طی ۲٤ ساعت مورد ارزیابی قرار گرفت. غلظت‌های مورد استفاده اسانس سیر عبارت بودند از: صفر، ۰/۰۰۵ و ۰/۰۱۵ درصد. لوله‌های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون محیط کشت، اسانس و باکتری (۱×۱۰^{۵} cfu/ml) تهیه شد. لوله‌ها در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند و در ساعت‌های صفر، ۱، ۲، ۳، ٤، ٦، ۸ و ۲٤ رقت‌های مختلفی از هر لوله در زمان‌های فوق تهیه شد و در پلیت‌های حاوی آگار قلب و مغز کشت داده شد و بعد از گرمخانه‌گذاری به مدت ۲٤ ساعت در ۳۵ درجه سانتی‌گراد، شمارش تعداد کلونی انجام شد و تعداد باکتری‌ها در ساعات مورد نظر محاسبه شد.

نحوه تعیین تولید و میزان توکسین توسط کیت

تعیین میزان توکسین طبق روش انجام شده توسط چراغی و همکاران بدین صورت انجام گرفت که بعد از ایجاد کدورت در لوله‌ها، میزان ۰/۵ میلی‌لیتر از محتویات داخل لوله‌ها را برداشت کرده و با روش رقت‌سازی و کشت بر روی محیط آگار قلب و مغز تعداد باکتری در هر میلی‌لیتر از آبگوشت قلب و مغز بدست آمد. سپس با استفاده از سانتریفوژ ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد، لوله فالکون محتوی باقی آبگوشت قلب و مغز سانتریفوژ گردید. پس از این مرحله مقدار ۲۵ میکرولیتر رقیق کننده را در دو ردیف داخل ۸ چاهک میکروپلیت ۹٦ خانه ای ریخته و به داخل چاهک اول از هر ردیف نیز رقیق کننده اضافه نکردیم. مقدار ۲۵ میکرولیتر از مایع رویی حاصل از سانتریفوژ باکتری به داخل چاهک اول از هر ردیف ریخته و در مرحله بعد مقدار ۲۵ میکرولیتر از مایع رویی حاصل از سانتریفوژ باکتری را به داخل چاهک دوم از ردیف اول ریخته، سپس با روش رقت‌سازی دوتایی و انتقال آن به چاهک‌های بعدی آن را رقیق نمودیم. مشابه همین عمل هم در مورد ردیف دوم صورت پذیرفت. سپس مقدار ۲۵ میکرولیتر از محلول Sensitize latex را به چاهک‌های ردیف اول اضافه نموده و بعد از آن مقدار ۲۵ میکرولیتر از محلول Control latex به چاهک‌های ردیف دوم اضافه شد. در مرحله بعد مقدار ۲۵ میکرولیتر توکسین خالص را به همراه ۲۵ میکرولیتر محلول Sensitize

latex در چاهک جداگانه‌ای به عنوان شاهد مثبت ریخته شد. سپس این میکرو پلیت را در ظرف در بسته‌ای که در کف آن آب وجود داشت، قرار داده و در ظرف را بسته و به مدت ۱۸ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد. آگلوتینه شدن در هر چاهک نشانه وجود توکسین در آن چاهک است و با توجه به مکان چاهک مورد نظر رقت توکسین را طبق پروتکل شرکت سازنده کیت (DENKA seiken, Japan) محاسبه شد [۲۱].

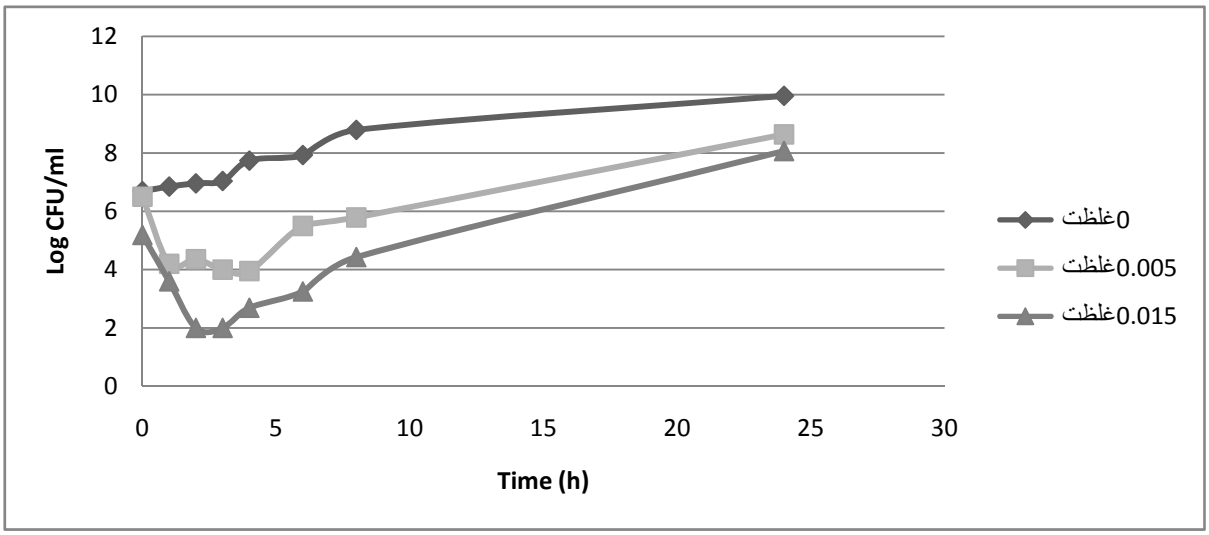
تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16 صورت گرفت. جهت مقایسه داده‌ها از تست آنالیز واریانس (ANOVA) یک طرفه همراه Tukey استفاده شد و اختلاف میانگین داده‌ها در سطح $p< ۰/۰۵$ درصد از لحاظ آماری معنی‌دار تلقی شد.

نتایج

اجزای مختلف اسانس سیر توسط دستگاه رنگ‌نگار گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC-MS) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. بر این اساس بیشترین جزء اسانس را دی آلیل تری سولفید با ۲۳/۱۲٪ درصد تشکیل می‌داد. همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که غلظت ۰/۰۳ درصد و بالاتر از آن توانایی جلوگیری از رشد ویبریوپاراهمولیتیکوس را داشت، به طوری که هیچ کدام از لوله‌ها کدورت رشدی نشان ندادند (حداقل غلظت ممانعت کنندگی). درحالی که تمام لوله‌ها در غلظت‌های صفر، ۰/۰۰۵ و ۰/۰۱۵ درصد به ترتیب کدر شدند که نشان‌دهنده رشد باکتری می‌باشد. حداقل غلظت باکتری‌کشی هم پس از مشاهده عدم رشد باکتری روی محیط آگار، ۰/۰۳ درصد به دست آمد.

در رابطه با منحنی رشد، همان‌گونه که در نمودار شماره ۱ مشخص است غلظت‌های ۰/۰۰۵ درصد و ۰/۰۱۵ درصد اسانس سیر باعث کاهش سرعت رشد باکتری به طور معنی‌دار ($p< ۰/۰۵$) نسبت به گروه کنترل شده به طوری که در ساعت ٤ گرمخانه‌گذاری لگاریتم تعداد باکتری در این دو غلظت به ترتیب ۳/۹۵ و ۲/٦۹ بوده در حالی که در گروه کنترل لگاریتم تعداد باکتری در این ساعت ۷/۷٤ می‌باشد.

همچنین بر اساس نتایج این مطالعه نشان داده شد که غلظت‌های مختلف اسانس سیر اثر معنی‌داری بر روی میزان تیتر توکسین تولیدی ویبریو پاراهمولیتیکوس داشتند، به طوری که میزان تیتر توکسین تولیدی در دمای ۳۵ درجه در حالت صفر و ۰/۰۰۵ درصد اسانس سیر برابر $\frac{1}{256}$ بود، در حالی که این میزان در شرایط مشابه در حالت ۰/۰۱۵ درصد اسانس برابر $\frac{1}{64}$ بود.



نمودار شماره ۱ – منحنی رشد باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس در حضور غلظت‌های مختلف اسانس سیر

بحث

مطالعات بسیاری در مورد خواص ضد باکتریایی سیر انجام شده که نتایج این مطالعات نیز مشابه نتایج این مطالعه تأثیر اسانس سیر را بر روی برخی از باکتری‌های بیماری‌زای غذازاد نشان داده است، اما مطالعات کمی بر روی اثر اسانس‌ها بر تولید توکسین ویبریو پاراهمولیتیکوس صورت گرفته بنابراین این تحقیق به منظور افزایش آگاهی در رابطه با اثرات اسانس‌ها بر روی تولید توکسین باکتری‌ها صورت گرفت. برخی از این مطالعات در ادامه ذکر می‌شود.

آواتو (Avato) و همکاران (۲۰۰۰)، اثرات عصاره روغنی سیر حاوی دی آلیل دی سولفید و دی آلیل تری سولفید را بر روی تعدادی از مخمرها، باکتری‌های گرم مثبت وتعدادی از باکتری‌های گرم منفی بررسی کردند. مشخص شد که اثرات ضد باکتریایی سیر با افزایش مقادیر دی آلیل دی سولفید رابطه‌ی مستقیمی دارد [۱۱].

لوشنر (Leuschner) و همکاران (۲۰۰۲)، گزارش کردند که محیط‌های براث که به آنها سیر و میخک اضافه شود (۰/۲۵ تا ۱ میلی‌لیتر در صد میلی‌لیتر) اثرات باکتریواستاتیکی و باکتری کشی بر ضدسالمونلا انتریکا و اشریشیا کلی (O_{157}) نشان می‌دهند [۱۲].

راتاناچایکونسوپون (Rattanachaikunsopon) و فومخاکورن (Phumkhachorn) (۲۰۰۹) فعالیت ضدمیکروبی اسانس روغنی گیاه Elephant garlic را بر علیه ویبریو کلرا در محیط آزمایشگاهی و مدل غذایی مورد بررسی قرار دادند. در محیط آزمایشگاهی اثر کشندگی بر سویه‌های مختلف ویبریو کلرا تأیید شد و میزان MIC آن ۳/۱۳ تا ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود و همچنین تعداد باکتری‌ها را در مدل غذایی (سوسیس) کاهش داد [۱۳].

بنکبلیا (Benkeblia) و همکاران (۲۰۰۳) دریافتند که عصاره سیر از عصاره پیاز اثر ضد میکروبی قوی‌تری دارد و می‌توان از آن به عنوان یک افزودنی در مواد غذایی استفاده کرد [۱٤].

سلام و همکاران (Sallam) (۲۰۰٤) تأثیر ضد باکتریایی سیر را بر روی کالباس مرغ بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که اضافه کردن سیر تأثیر بالقوه مفیدی در نگهداری فرآورده‌های گوشتی دارد [۱۵].

پاندیر (Pundir) و همکاران (۲۰۱۰) نیز فعالیت ضدمیکروبی سیر را بر علیه چندین باکتری بررسی کردند و دریافتند که از این ترکیبات طبیعی ضد میکروبی، به عنوان یک افزودنی جهت افزایش زمان ماندگاری فرآورده‌های غذایی می‌توان استفاده نمود [۱٦].

ندوروزتووا (Nedorostova) و همکاران (۲۰۰۹) اثر مهاری اسانس سیر را بر روی باکتری‌های غذازاد بررسی کردند. اسانس سیر بعد از Armoracia rusticana بهترین نتیجه را کسب نمود [۱۷].

وودهاکول (Vuddhakul) و همکاران (۲۰۰۷) فعالیت ضد باکتریایی عصاره تازه گالانگال، سیر و لیمو را با غلظت ۱۰ µl/disc بر سویه پاندمیک ویبریو پاراهمولیتیکوس با استفاده از تکنیک Disc Diffusion مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که این عصاره‌ها سبب جلوگیری از رشد ویبریو پاراهمولیتیکوس می‌شوند [۱۸].

کاوالیتو (Cavallito) و همکاران (۱۹٤٤) دریافتند که عصاره سیر با رقت ۱ در ۱۲۵۰۰۰ از رشد استافیلوکوکوس، استرپتوکوکوس، ویبریو کلرا و باسیلوس (تیفوسوس، دیزانتریه و انتریتیدیس) ممانعت می‌کند [۱۹].

تاکنون مطالعات زیادی جهت بررسی اثر ترکیبات مختلف بر توکسین‌زایی ویبریو پاراهمولیتیکوس انجام نگرفته است. استونساواپاک در سال ۲۰۰۰ نشان داد که میزان تولید TDH توسط ویبریو پاراهمولیتیکوس در درجه حرارت‌های مختلف متفاوت است به طوری که بیشترین میزان آن در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد و کم‌ترین میزان تولید در دمای ٤ و ٤۲ درجه سانتی‌گراد بود [۲۰].

چراغی و همکاران (۱۳۹۲) تولید توکسین TDH را در حضور ۵ غلظت اسانس آویشن شیرازی و ۳ سطح pH حاصل از اسید استیک و ۳ درجه حرارت نگهداری در محیط کشت آبگوشت قلب و مغز مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که اسانس آویشن شیرازی به همراه pH ها و دماهای مختلف نگهداری، بر میزان تولید توکسین همولیزین مستقیم مقاوم به حرارت (TDH) توسط باکتری اثر کاهشی دارند. در مطالعه

آنها تیتر توکسین تولیدی در pH معادل ۷/۵ و دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد در حالت صفر و ۰/۰۰۵ درصد اسانس آویشن شیرازی برابر با $\frac{1}{256}$ و در حالت ۰/۰۱۵ درصد اسانس برابر $\frac{1}{32}$ بود [۲۱].

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر حداقل غلظت بازدارندگی اسانس سیر ۰/۰۳ درصد به دست آمد. غلظت‌های ۰/۰۰۵ و ۰/۰۱۵ درصد اسانس باعث کاهش سرعت رشد باکتری نسبت به گروه کنترل شدند. تیتر توکسین تولیدی هم در غلظت‌های صفر و ۰/۰۰۵ درصد اسانس سیر برابر ۱/۲۵٦ و در حضور غلظت ۰/۰۱۵ درصد اسانس سیر برابر ۱/٦٤ بود. بنابراین با توجه به اثرات اسانس سیر بر روی رشد و تولید توکسین باکتری ویبریوپاراهمولیتیکوس پیشنهاد می‌شود این مطالعه در مدل غذایی نیز مورد بررسی قرار گیرد تا در صورت مثبت بودن اثرات آن بتوان از این ترکیب به عنوان یک نگهدارنده مناسب علیه باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس استفاده کرد.

منابع

1. Hyldgaard M, Mygind T and Meyer RL. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Front Microbiol*. 2012; 3: 1 - 24.

2. Yoshida H, Katsuzaki H, Ohta R, Ishikawa K, Fukuda H, Fujino T and Suzuki A. An organosulfur compound isolated from oil-macerated garlic extract, and its antimicrobial effect. *Bioscibiotech Bioch*. 1999; 69 (3): 588 - 90.

3. Liu CT, Chen HW, Sheen LY, Kung YL, Chen PC and Lii CK. Effect of garlic oil on hepatic arachidonic acid content and immune response in rats. *J Agr. Food Chem*. 1998; 46 (11): 4642 - 7.

4. Agarwal KC. Therapeutic actions of garlic constituents. *Med. Res. Rev*. 1996; 16 (1): 111 - 24.

5. Helou L and Harris IM. Garlic. In T. S. Tracy, & R. L. Kingston (Eds.), Herbal products; toxicology and clinical pharmacology (2nd ed). Totowa, New Jersey: Human Press. 2007, pp: 123 - 49.

6. Raghavan S. Handbook of spices seasonings, and flavorings (2nd ed). NW: CRC Press. 2006, 113 - 8.

7. Zhang L and Orth K. Virulence determinants for *Vibrio parahaemolyticus* infection. *Curr. Opin. Microbiol*. 2013; 16 (1): 70 - 7.

8. Amirmozafari N and Forohesh H. Occurrence of Pathogenic Vibrios in Coastal Areas of Golestan Province in Iran. *Arch. Razi Inst*. 2005; 60: 33 - 44.

9. Soltani M, Kakoolaki S and Kisami M. Isolation and identification of dominant Vibrio species in farmed prawn of Heleh station, Bushehr. *J. Facul. Vet. Med.* 2000; 55 (2): 29 - 32.

10. Jay J M, Loessner M J and Golden D A. *Modern Food Microbiol*. Springer. 2005, p: 659.

11. Avato P, Tursi F, Vitali C, Miccolis V and Candido V. Allylsulfide constituents of garlic volatile oil as antimicrobial agents. *Phytomedicine* 2000; 7 (3): 239 - 43.

12. Leuschner R G and Zamparini J. Effects of spices on growth and survival of *Escherichia coli 0157* and *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in broth model systems and mayonnaise. *Food Control* 2002; 13 (6): 399 - 404.

13. Rattanachaikunsopon P and Phumkhachorn P. Antimicrobial activity of elephant garlic oil against *Vibrio cholerae* in vitro and in a food model. *Biosci. Biotech. Biochem*. 2009; 73 (7): 1623 - 7.

14. Benkeblia N. Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions *Allium cepa* and garlic *Allium sativum*. *LWT-Food Sci. Technol*. 2004; 37 (2): 263 - 8.

15. Sallam K I, Ishioroshi M and Samejima K. Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage. *LWT-Food Sci. Technol*. 2004; 37 (8): 849 - 55.

16. Pundir R K, Jain P and Sharma C. Antimicrobial activity of ethanolic extracts of *Syzygium aromaticum* and *Allium sativum* against food associated bacteria and fungi. *Ethnobotanical. Leaflets* 2010; 3: 144 – 51.

17. Nedorostova L, Kloucek P, Kokoska L, Stolcova M and Pulkrabek J. Antimicrobial properties of selected essential oils in vapour phase against foodborne bacteria. *Food Control* 2009; 20 (2): 157 - 60.

18. Vuddhakul V, Hayeebilan F and Subhadrasakul S. Inhibitory activity of Thai condiments on pandemic strain of *Vibrio parahaemolyticus*. *Food Microbiol*. 2007; 24: 413 - 8.

19. Cavallito C J and Bailey J H. Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. I. Isolation, physical properties and antibacterial action. *J. Am. Chem. Soc*. 1944; 66 (11): 1950 - 1.

20. Stonsaovapak S. Effects of Temperature and Cell Number on the Production of Hemolysin by *Vibrio parahaemolyticus. Kasetsart J*. 2000; 248: 70 - 7.

21. Cheraghi N, Akhondzadeh Basti A, Khanjari A, Esmaeili H, Noori, N, Mohamadi Nasrabadi H, Amani Z. Effects of *Zataria multiflora* Boiss. Essential Oil and Acetic Acid on Thermostable Direct Haemolysin production of *Vibrio parahaemolyticus*. *J. Med. Plants* 2013; 46: 78 - 84.