

خصوصیات فیتوشیمیایی و تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی اسانس پونه کوهی بر علیه استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت

سمیرا حسینی^{۱*}، محمد محسن زاده^۲، امیرسالاری^۳

۱- دانشجو، گروه بهداشت مواد غذایی و آبریان، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران yekta3m@gmail.com

۲- دانشیار، گروه بهداشت مواد غذایی و آبریان، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران mohsenzadeh@um.ac.ir

۳- استادیار، گروه بهداشت مواد غذایی و آبریان، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران salaria@um.ac.ir

چکیده

با توجه به اثرات نامطلوب مواد نگهدارنده شیمیایی، تمایل مصرف کنندگان مواد غذایی بر این است که استفاده از مواد شیمیایی را به حداقل رسانده و مواد طبیعی جایگزین را جایگزین کنند. اسانس پونه کوهی دارای خواص ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی و ضد قارچی می باشد. هدف از این مطالعه، تعیین خصوصیات فیتوشیمیایی و حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی اسانس گیاه پونه کوهی علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت می باشد. پس از تهیه اسانس پونه کوهی، اثر این اسانس در غلظت های ۱۶۰۰۰-۱۲۵ با روش میکروبراث دایلووشن علیه باکتری مذکور، بررسی شد. نتایج حاکی از آن بود که حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد، ۱۰۰۰ $\mu\text{g/ml}$ و حداقل غلظت کشندگی ۲۰۰۰ $\mu\text{g/ml}$ می باشد. نتایج به دست آمده نشان داد که اسانس پونه کوهی دارای خواص ضد میکروبی خوبی علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس می باشد و جایگزین مناسبی برای نگهدارنده های شیمیایی جهت حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری مواد غذایی می باشد.

واژه های کلیدی: پونه کوهی، اسانس گیاهی، غلظت مهارکنندگی، غلظت کشندگی، استافیلوکوکوس اورئوس

مقدمه

مسمومیت ها و بیماری های منتقل شونده از مواد غذایی یکی از مشکلات مهم جوامع به حساب آمده به طوری که حدوداً ۷۰ درصد بیماری های عفونی از طریق مواد غذایی ناسالم به انسان ها منتقل می شود [۱]. طبق گزارشات سازمان بهداشت جهانی (WHO) بیماری های ناشی از مصرف غذا و آب آلوده، باعث مرگ و میر سالانه ۲/۲ میلیون نفر در جهان می شود که ۱/۹ میلیون نفر را کودکان تشکیل می دهند [۲]. مصرف غذاهای حاوی مقدار زیادی از پاتوژن های تولید کننده توکسین، علت مسمومیت های غذایی در انسان ها می باشد که یکی از مهم ترین این عوامل، باکتری ها هستند. با وجود بالا رفتن سطح بهداشتی جوامع، در سال های اخیر شاهد افزایش بیماری های غذازاد بوده که این خود باعث ضررهای جانی و مالی زیادی شده است [۳].

با توجه به این مطالب، در حال حاضر تولید ماده غذایی با قابلیت نگهداری طولانی مدت و مقاوم نسبت به ارگانیسیم ها، مورد توجه تولیدکنندگان مواد غذایی قرار گرفته است. زیرا بجز تامین سلامت جامعه، فاسد شدن ماده غذایی باعث ضرر اقتصادی تولید کننده ها نیز می شود. برای تحقق این هدف، نگهدارنده های متنوعی جهت جلوگیری از رشد میکروارگانیسیم های بیماری زا به مواد غذایی افزوده می شود تا مدت نگهداری افزایش یابد. برای کنترل میکروارگانیسیم های بیماری زا در مواد غذایی، از

نگهدارنده‌های شیمیایی استفاده می‌شد اما امروزه به دلیل بالا رفتن سطح آگاهی مردم و نگرانی آنها بخاطر ضررهای نگهدارنده‌های شیمیایی و همینطور به دلیل به اثبات رسیدن سمیت، سرطان زایی و سایر اثرات نامطلوب مواد شیمیایی نگهدارنده و به علاوه از طرفی بروز مقاومت‌های باکتریایی ناشی از تجویز بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان بیماری‌های دامی و انسانی، تمایل مصرف‌کنندگان و در نتیجه تولیدکنندگان مواد غذایی بر این است که استفاده از مواد شیمیایی تا حد امکان به حداقل برسد [۴،۵]. به همین دلیل استفاده از مواد طبیعی، بجای مواد شیمیایی از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد. بدون شک استفاده از عصاره و اسانس گیاهان، جایگزین بسیار مناسبی می‌تواند باشد [۶]. نقش اسانس‌های گیاهی به‌عنوان عوامل ضد باکتری‌های بیماری‌زا و مولد فساد نیز مورد مطالعه محققین قرار گرفته است [۷،۸].

نتایج مطالعات حاکی از آن است که عصاره برخی گیاهان دارای اثرات ضد باکتریایی از طریق مهار رشد میکروارگانیسم‌ها می‌باشند به همین دلیل در موارد مختلف از جمله صنایع غذایی و علوم پزشکی کارایی دارند.

برای عصاره‌های گیاهی بدست آمده از گیاهان معطر، خاصیت‌های ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد اکسایشی و ضد سرطانی شناخته‌اند. اسانس‌های گیاهی ترکیباتی معطر، آب‌گریز، تغلیظ شده و فرار هستند که از قسمت‌های مختلف گیاه از جمله برگ، گل، میوه، جوانه و شاخه‌های گیاهان گرفته شده‌اند [۹].

در اغلب موارد اثر اسانس‌های گیاهی بر ساختار دیواره سلولی تایید شده است [۱۰]. خاصیت آب‌گریزی اسانس‌ها باعث نفوذ در لپید غشای سلولی و در نتیجه افزایش نفوذپذیری آن‌ها می‌گردد که منجر به اختلال در تمامی فعالیت‌های حیاتی وابسته به غشای سلولی شده و در نتیجه باعث مرگ سلول خواهد شد [۱۰،۱۱].

از روش‌های متداول تولید اسانس‌ها، روش تقطیر است. گفته می‌شود که روش اسانس‌گیری به وسیله دی‌اکسید کربن مایع با فشار بالا و دمای پایین، روش خوبی است چون مواد ارگانولپتیک طبیعی بیشتری تولید می‌کند و دارای فعالیت ضد میکروبی بیشتری در مقایسه با روش تقطیر می‌باشد اما بسیار پرهزینه است [۲]. یکی از این اسانس‌ها، اسانس پونه کوهی است. گیاهان متعلق به جنس *origanum*، از نظر ترکیبات معطر غنی بوده و از قرن‌ها پیش به‌عنوان ادویه مورد استفاده قرار می‌گرفتند. در کشور ما دو گونه *O. vulgare* (بومی) و *O. majorana* (کشت‌شده) رشد می‌کنند [۱۲،۱۳].

O. vulgare که نام دیگر آن *Oregano* می‌باشد در فارسی به پونه کوهی شناخته شده است. اسانس پونه کوهی (OEO) به علت خواص ضد میکروبی و همچنین آنتی‌اکسیدان و ضد قارچ آن شناخته شده است [۱۴]. ترکیبات اصلی پونه کوهی، کارواکرول (۵۵-۸۵ درصد) و تیمول (۵-۱۰ درصد) بوده و به علت ساختار فنلی دارای قوی‌ترین فعالیت ضد میکروبی می‌باشد. مطالعات نشان داده است که کارواکرول و تیمول سلول‌های باکتری را از طریق تغییر نفوذپذیری غشاء سلولی (که باعث نشت کاتیون‌های ضروری می‌شود) می‌کشند [۱۵،۱۶]. فعالیت ضد میکروبی اسانس پونه کوهی به روش‌های مختلفی نشان داده شده است. فعالیت آن بسته به روش تست، منبع اسانس پونه و نمونه‌های باکتریایی مورد آزمایش قرار گرفته، متفاوت است [۱۴]. گیاه پونه کوهی به صورت وحشی در مناطق مرطوب مانند حاشیه رودخانه‌ها می‌روید. این گیاه در طب سنتی برای رفع اختلالات گوارشی، استفراغ، تهوع، نفخ، بی‌اشتهایی و همینطور درمان برونشیت به کار گرفته می‌شود [۱۷].

باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* یک باکتری گرم مثبت، کوکسی شکل و کاتالاز مثبت است. این باکتری یکی از عوامل پیش‌رو در ایجاد عفونت‌های باکتریایی در کشورهای در حال توسعه بوده و مسئول ایجاد طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها در انسان و حیوان می‌باشد. *استافیلوکوکوس اورئوس* یکی از عوامل ایجادکننده مسمومیت غذایی در انسان است که با تولید انتروتوکسین در انواع مختلف مواد غذایی، به ویژه مواد غذایی با منشا دامی و غذاهایی که فرایند حرارتی مناسبی را نمی‌گذرانند، موجب مسمومیت غذایی می‌گردد. انواع مختلف مواد غذایی از جمله گوشت و فرآورده‌های گوشتی، گوشت پرندگان، ماهی و شیر و فرآورده‌های آن، می‌توانند موجب حفظ این باکتری شوند [۱۸]. از جمله خصوصیات ویژه این باکتری، قدرت رشد در حضور ۷-۱۰ درصد نمک طعام، رشد در فعالیت آبی ۰/۸۶ و در محدوده pH معادل ۴-۹/۸ است [۱۹].

بیماری‌زایی این باکتری در بحث مسمومیت‌های غذایی به واسطه انتروتوکسین‌های تولید شده توسط آن می‌باشد. علائم مسمومیت بعد از بلع ۲۰ نانوگرم تا کمتر از ۱ میکروگرم انتروتوکسین ایجاد می‌شود. بروز علائم مسمومیت و شدت آن

به مواردی چون حساسیت میزبان و مقدار دوز مصرفی انتروتوکسین بستگی دارد [۲۰]. تفاوت استاف با بسیاری از باکتری های دیگر در زمینه ایجاد مسمومیت در این است که یک غذا حتی در صورتی که عاری از باکتری های استاف اورئوس باشد نیز می تواند منجر به بروز مسمومیت استافی گردد. یکی از علت های این موضوع در مقاومت بالای توکسین های استاف در برابر گرما می باشد. بروز مسمومیت استافیلوکوکوسی در اثر مصرف غذاهای مانده خصوصا گوشت، غذاهای دریایی، پنیر و غذاهای حاوی تخم مرغ شایع می باشد. در روند بیماری زایی، انتروتوکسین های وارد شده به معده با اتصال به گیرنده هایی موسوم به emesis receptor ها منجر به ایجاد تهوع و استفراغ میگردند. نشانه های مسمومیت ۱ تا ۶ ساعت بعد از مصرف غذای حاوی انتروتوکسین بروز می یابد که شامل کرامپ های شدید عضلانی، تهوع، استفراغ و اسهال می باشد و عمدتاً ۲۴ ساعت بیشتر دوام نداشته و از بین می روند [۲۱]. در مسمومیت شدید با انتروتوکسین مواردی از مرگ و میر در اطفال گزارش شده است. گزارشات حاکی از آن است که مسمومیت غذایی استافیلوکوکوسی سومین علت مسمومیت های غذایی در سراسر جهان می باشد [۲۲].

تحقیقات انجام شده

در پژوهشی اثر عصاره های پونه کوهی و جوز هندی بر رشد و بقای استافیلوکوکوس اورئوس در شرایط محیط کشت آبگوشت و جوجه کباب آماده پخت مورد مطالعه قرار گرفت. در این مطالعه اسانس ها به میزان ۱، ۲، ۳ میکرو لیتر در گرم به نمونه های جوجه کباب اضافه شدند. بعد از اضافه کردن باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، نمونه ها در دماهای ۳، ۸، و ۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. تعداد باکتری نمونه ها در زمان های صفر، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت شمارش گردید. نتایج نشان داد که فعالیت ضد باکتریایی پونه کوهی در محیط کشت آبگوشت مؤثرتر از جوز هندی می باشد. نتایج حاصل از بررسی اثر اسانس های مورد مطالعه در نمونه های جوجه کباب، بیانگر عدم وجود اثر معنی دار ضد باکتریایی پونه کوهی و جوز هندی در جوجه کباب بود. بنابراین نتایج مثبت اثر ضد میکروبی اسانس ها در محیط کشت آبگوشت قابل تعمیم به مواد غذایی نمی باشد [۲۳].

در پژوهش مقایسه ای دیگری، اثرات اسانس پونه کوهی، رزماری و آویشن علیه استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا منوسیتوژنز بر گوشت قلقلی گاو بررسی شد. به صورت اختصاصی نیز اثرات اسانس پونه کوهی و اجزای مؤثره آن یعنی کارواکرول و تیمول بر روی تشکیل بیوفیلم های سویه های مختلفی از باکتری های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و استافیلوکوکوس اورئوس نیز بررسی شد. نتایج حاصل از پژوهش نشان دهنده این موضوع بود که اثر مهارتی اسانس پونه کوهی، کارواکرول و تیمول بر تشکیل بیوفیلم ها در باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس، به ترتیب ۴۶/۷٪، ۲۸/۳٪ و ۳۰/۱٪ می باشد. همچنین اثر مهارتی اسانس ها به ترتیب بر تشکیل بیوفیلم های باکتری های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس به ترتیب ۵۸/۹٪، ۵۷/۱٪ و ۵۴/۴٪ می باشد. علت اثر مهارتی کمتر اسانس پونه کوهی را می توان در این دانست که کارواکرول و تیمول تنها بخش اندکی از پونه کوهی را تشکیل می دهند. به علاوه این دو ماده مؤثره در کنار یکدیگر اثر سینرژیستی را دارا نمی باشند [۲۴].

در مطالعه ای اثرات ضد میکروبی اسانس پونه کوهی علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بررسی شد. در این مطالعه تجربی ترکیب های شیمیایی اسانس پونه کوهی و فعالیت ضد باکتریایی آن (تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده رشد) علیه استافیلوکوکوس اورئوس به روش میکرودایلوشن و تغییرات مورفولوژی و ساختمان غشای سلولی این باکتری ارزیابی گردید. حداقل غلظت ممانعت از رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در محدوده ۷۵ تا ۱۲۰۰ میکروگرم در میلی لیتر قرار داشت. این مطالعه نشان داد اسانس پونه کوهی از توان ضد میکروبی بسیار بالایی برخوردار است. بنابراین می توان از آن در ترکیب با سایر نگهدارنده ها جهت محافظت مواد غذایی در مقابل میکروارگانیسم های عامل عفونت و مسمومیت بهره جست [۲۵].

در مطالعه ای اثر عصاره مرزه، چای کوهی و پونه بر روی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم و حساس به متی سیلین مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه توصیفی-تحلیلی، میزان MIC (حداقل غلظت ممانعت کننده رشد) و MBC (حداقل غلظت کشندگی) به روش میکروبراث دایلوژن تعیین گردید. کمترین میزان MIC مربوط به عصاره مرزه بود. عصاره چای با MIC معادل ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر بالاترین میزان MIC را در مقابل استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی سیلین و عصاره پونه با MIC معادل ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر بالاترین میزان MIC را در مقابل نوع مقاوم به متی سیلین دارد [۲۶].

در پژوهشی ترکیب شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی اسانس پونه و اثر مهارى آن بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* در سوسیس بررسی شد. در این مطالعه حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس علیه این باکتری به ترتیب ۳۱/۲۶ و ۱۲۵ میکروگرم در میلی لیتر گزارش شد [۲۷].

روش انجام کار

پس از تهیه اسانس پونه کوهی، برای شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس از دستگاه GC-MS استفاده شد. باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC ۲۵۹۲۳) نیز از کلکسیون میکروبی آزمایشگاه گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه گردید. سویه روی ظرف پتری حاوی آگار مغذی کشت داده شد و بعد از گذراندن ۲۴ ساعت دوره انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، از پرگنه های تازه رشد کرده برداشت کرده و سوسپانسیونی معادل نیم مک فارلند (1.5×10^8 CFU/ml) تهیه گردید.

از روش میکروبراث دایلوژن و با استفاده از میکروپلیت های ۹۶ خانه ای الیزا برای تعیین حداقل غلظت ممانعت کنندگی رشد (MIC) استفاده شد. ابتدا غلظتی معادل نیم مک فارلند، از باکتری تهیه شد و سپس تا غلظت 10^6 CFU/ml رقیق گردید. اسانس پونه کوهی در محدوده غلظتی ۱۲۵-۱۶۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر تهیه و در میکروپلیت های ۹۶ خانه ای به این صورت اضافه شد: ۱۶۰ میکرولیتر از محیط BHI broth، ۲۰ میکرولیتر اسانس، ۲۰ میکرولیتر باکتری. آزمایش در ۳ تکرار انجام شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری صورت گرفت و حداقل غلظت مهارکنندگی رشد و حداقل غلظت مهارکنندگی با روش چشمی و بررسی کدورت و حداقل غلظت کشندگی با کشت در محیط BHI agar تعیین گردید.

تجزیه و تحلیل داده ها

نتیجه تجزیه ترکیب شیمیایی اسانس پونه کوهی با دستگاه GC/MS نشان داد که بیشترین ترکیبات اسانس مذکور را گاما ترپنین (۱۲،۶٪) و کارواکرول (۱۲،۵٪) تشکیل داده است.

نتایج حاصل از آزمایشات ضد میکروبی جهت تعیین MIC و MBC اسانس پونه کوهی بر علیه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داد که حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد معادل ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر و حداقل غلظت کشندگی آن ۲۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر می باشد.

نتیجه گیری

امروزه افزایش مقاومت دارویی میکروارگانیسم ها، ناکارآمدی داروهای شیمیایی معمول برای درمان بیماری های عفونی، تمایل تولید کننده های مواد غذایی جهت افزایش ماندگاری و همینطور بالا رفتن سطح آگاهی مردم و آشنایی آن ها با ضررهای ننگه دارنده های شیمیایی، موجب شده تا تحقیقات گسترده ای درباره اثرات ضد میکروبی اسانس های گیاهی بر روی باکتری های منتقله از مواد غذایی صورت پذیرد. مطالعات درباره اسانس پونه کوهی نشان داده است که این اسانس دارای خواص ضد میکروبی و همچنین آنتی اکسیدان و ضد قارچی می باشد [۲۸]. طبق تحقیقات مختلف، در ترکیب شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی اسانس، تفاوت هایی مشاهده می شود که علت آن تفاوت در فصل برداشت گیاه، استفاده از قسمت های مختلف گیاه برای تهیه اسانس و روش استخراج اسانس می باشد [۲]. با توجه به تعداد ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس گیاهان، در مورد اثر ضد باکتریایی اسانس ها، نمی توان مکانیسم واحدی را عنوان کرد. به طور کلی خاصیت آبگریزی اسانس ها باعث می شود تا به لپیدهای غشای سلول باکتری و میتوکندری های آن نفوذ کرده و با اختلال در ساختار غشا، موجب نشت یون های ضروری و سایر محتویات سلولی گردد. گرچه خروج مقدار کمی از این مواد برای سلول قابل تحمل است اما افزایش نفوذپذیری و در نتیجه نشت بیشتر کاتیون های ضروری و خروج بیشتر محتویات سلولی باعث مرگ سلول خواهد شد. گفته شده که هر

چه مواد فنولیک در اسانس بیشتر باشد، اثرات ضد باکتریایی بالاتری دارد. کارواکرول و تیمول هم از این ترکیبات فنولی بوده و دو ترکیب اصلی اسانس پونه کوهی را تشکیل می دهند [۲،۹]. این دو ترکیب از نظر ساختمانی بسیار به یکدیگر شبیه اند و توانایی از بین بردن غشای خارجی باکتری های گرم منفی را دارا می باشند. طبق مطالعه آلتی و همکاران، تداخل کارواکرول و ATP باعث می شود تا انرژی لازم جهت خروج توکسین از سلول وجود نداشته و مانع از توکسین زایی سلول باکتری می شود [۲]. فیروزی و همکاران، اثر عصاره های پونه کوهی و جوز هندی را بر رشد و بقای *استافیلوکوکوس اورئوس* بررسی کردند. نتایج نشان داد که فعالیت ضد باکتریایی پونه کوهی بیشتر از جوز هندی می باشد. در مطالعه ای که توسط گولوسه و همکاران در سال ۲۰۰۷ روی پونه کوهی صورت گرفت، مشاهده شد که اثر ضد میکروبی اسانس پونه بیشتر از عصاره آن می باشد [۲۹]. مطالعه مهرداد عطایی کچویی در سال ۱۳۹۴ نشان داد که اسانس استخراج شده از گیاه پونه کوهی بیشترین اثر ضد میکروبی را روی *استافیلوکوکوس اورئوس* و کمترین اثر را روی *اشریشیا کلی* دارد. پارسایی مهر و همکاران اثر اسانس آویشن را که از لحاظ ترکیبات شبیه به پونه می باشد، بر روی تولید انتروتوکسین باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بررسی کردند که در غلظت ۰/۱۵ درصد اثر مهارتی معناداری را روی تولید انتروتوکسین مشاهده کردند. در مطالعه گیل و همکاران نشان داده اند که پونه کوهی بر باکتری های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* اثر مهارتی دارد که با مطالعه حاضر، همخوانی دارد. با توجه به ویژگی های مفید این گیاه و اثرات ضد میکروبی آن، طبق نتایج به دست آمده و تحقیقات مشابه، می توان بیان کرد که گیاه پونه کوهی جایگزین مناسبی برای نگهدارنده های شیمیایی جهت حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری مواد غذایی می باشد.

مراجع

- [1] Pilling V, Brannon L. Food safety training requirements and food handlers knowledge and behaviors. *Food Protection Trends*. 2008; 28(4): 192-200.
- [2] BURT, S. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods – A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253.
- [3] Brul, S. and Coote, P. 1999. Preservative agents in foods: Mode of action and microbial resistance mechanisms. *International Journal of Food Microbiology*. 50: 1-17.
- [4] Roller S. The quest for natural antimicrobials as novel means of food preservation: status report on European research project. *Int Biodeter Biodegr* 1995; 36:333-45.
- [5] Daferera, D., and Cowan, M.M. 2001. Plant products as antimicrobial agents. *J Ethnopharmacol*. 74: 221-226.
- [6] محمد جلالی دغ، نصراله قاسمی دهکردی، امیر چهارمحالی. بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی تعدادی از گیاهان دارویی علیه باکتری لیستریا مونوسیتوزنز. *مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد*. ۱۳۸۵؛ ۸(۳): ۲۵-۳۳.
- [7] Alzoreky N, Nakahara K. Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *International journal of food microbiology*. 2003;80(3):223-30.
- [8] Packiyasothy E, Kyle S. Antimicrobial properties of some herb essential oils. *Food Australia*. 2002;54(9):384-7.
- [9] Tajkarim MM, Ibrahim SA, Cliver DO. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control* 2010; 21, 1199-18.
- [10] Knobloch K, Pauli A, Iberl B. Antibacterial activity and antifungal properties of essential oil components. *J Essent Oils Res* 1988; 1: 119-28.
- [11] Palmer AS, Steward J, Fyfe L. The potential application of plant essential oils as natural preservatives in soft cheese. *Food Microbiology* 2001; 18: 463-70.
- [12] Barazandeh M. Essential oil composition of *Origanum majorana* L. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*. 2001;13(2):76-7.
- [13] Mozaffarian V. A dictionary of Iranian plant names: Latin, English, Persian: *Farhang Mo'aser*; 1996.
- [14] Mellencamp MA, Koppien-Fox J, Lamb R, Dvorak R. Antibacterial and antioxidant activity of oregano essential oil. 2011.
- [15] Ben Arfa A, Combes S, Preziosi-Belloy L, Gontard N, Chalier P. Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. *Letters in applied microbiology*. 2006;43(2):149-54.

- [16] Chitsaz M. [Invitro evaluation of antibacterial effect of stachys schtschegleevii]. *Daneshvar Med J* 2006; 14: 1-8.(Persian)
- [17] Moreno L, Bell R, Primo E, Esplugues J . Pharmacological properties of the methanol extract from *Mentha suaveolens* Ehrh. *Phytotherap Res* 2002; 16:10–13.
- [17] Razavilar V. Pathogenic bacteria in food and epidemiology of food poisoning. first ed: Tehran publisher; 1999.
- [19] Jay JM, Loessner M, Golden D. *Modern food microbiology* 7 th. New York, NY: Springer Since+ Business Media, LLC; 2005.
- [20] Normanno, G., La salandra, G., Dambrosio, A., Quaglia, N.C., Corrente, M., and Parici, A. 2007. Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. *Int J Food microbiol.* 3: 290-296.
- [21] Le Loir, Y., Baron, F., and Gautier, M. 2003. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Gen Mol Res.* 2: 63-76.
- [22] Balaban, N., and Rasooly, A. 2005. Staphylococcal enterotoxins. *Int J Food Microbial.* 61: 1-10.
- [23] سید شهرام شکر فروش، رویا فیروزی، خاطره کفشدوزان. ۱۳۹۳. بررسی اثر ضد میکروبی اسانس های پونه کوهی و جوز هندی همراه با ترکیب امولسیون کننده/پایدار کننده در جوجه کباب آماده پخت (انگلیسی). *Iranian Journal of Veterinary Research* 2. 159-163.
- [24] Pesavento G, Calonico C, Bilia AR, Barnabei M, Calesini F, Addona R, Mencarelli L, Carmagnini L, Di Martino MC, Nostro AL. Antibacterial activity of *Oregano*, *Rosmarinus* and *Thymus* essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in beef meatballs. *Food Control.* 2015 Aug 1; 54:188-99.
- [25] Mahmodi R, Tajik H, Farshid A, Ehsani A, Zaree P, Moradi M. Phytochemical Properties of *Mentha longifolia* L. Essential Oil and its Antimicrobial Effects on *Staphylococcus Aureus*. *Armaghane danesh.* 2011; 16 (5) :400-412
- [26] Irvani M, Maghsoudi R, Kamali P. The effects of extract of *Satureja hortensis*, *Stachys lavandulifolia* Vahl, and *Mentha pullegium* on methicillin resistant and methicillin susceptible *Staphylococcus aureus* bacteria. *J Shahrekord Univ Med Sci.* 2016; 17 (6) :32-40
- [27] Gholami Pornaki, P., Aghazadeh, M., Sadeghi, M. Evaluation of chemical composition and in-vitro antibacterial activity of oregano (*Mentha pulegium*) growing wild in maku and its inhibitory effect on *Staphylococcus aureus* in sausage. *Veterinary Researches & Biological Products*, 2017; 30(4): 69-77.
- [28] Mellencamp MA, Koppien-Fox J, Lamb R, Dvorak R. Antibacterial and antioxidant activity of oregano essential oil. 2011.
- [29] Gulluce, M., Sahin, F., Sokmen, M., Ozer, H., Daferera, D., Sokme, A., Polissiou, M., Adiguzel, A. and Ozkan, H. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. *Food Chemistry.* 103: 1449-1456.