Journal of Fisheries Science and Technology. 2018;7(1):49-55

Quantitative and Qualitative Evaluation of Antibacterial Activity of Cinnamon Essential Oil and ZnO Nanoparticles against *Listeria monocytogenes*

ARTICLE INFO

Article Type
Original Research

Authors
Abdollahzadeh E.[1] *PhD*,
Ojagh S.M.* *PhD*,
Hosseini H.[2] *PhD*,
Ghaemi E.A.[3] *PhD*,
Irajian Gh.[3] *PhD*

How to cite this article
Abdollahzadeh E, Ojagh S M, Hosseini H, Ghaemi E A, Irajian Gh. Quantitative and Qualitative Evaluation of Antibacterial Activity of Cinnamon Essential Oil and ZnO Nanoparticles against *Listeria monocytogenes*. Journal of Fisheries Science and Technology. 2018;7(1):49-55.

*Seafood Products Processing Department, Fisheries and Environmental Science Faculty, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
[1]Seafood Products Processing Department, Fisheries and Environmental Science Faculty, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
[2]"National Nutrition & Food Technology Research Institute" and "Food Science & Technology Department, Nutrition & Food Technology Faculty", Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3]Microbiology Department, Medicine Faculty, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

Correspondence
Address: Golestan, Gorgan, Basij Sq, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Postal Code: 4913815739
Phone: +98 (17) 32427040
Fax: +98 (17) 32424155
mahdi_ojagh@yahoo.com

Article History
Received: June 16, 2016
Accepted: September 26, 2017
ePublished: March 20, 2018

ABSTRACT

Aims Essential oils are a complex of volatile compounds obtained from different parts of plants. Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) essential oil (EO) is known as a suitable source of antibacterial compounds. The aim of present study was to investigate the antibacterial activity of cinnamon EO and ZnO nanoparticles (NPs) against 2 strains of *Listeria monocytogenes*.

Materials & Methods In this experimental study, 2 strains of L. monocytogenes (a standard strain and a fish isolated strain) were used. The antibacterial activity of cinnamon EO and ZnO NPs was assessed by well diffusion test. The minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC) of cinnamon EO and ZnO NPs were also determined using broth macrodilution method. Moreover, the antibacterial properties of cinnamon EO and ZnO NPs were investigated in a liquid medium. The data were analyzed by SPSS 19 software, using one-way ANOVA and Tukey's post hoc tests.

Findings The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of cinnamon EO were 16µl/ml and 64µl/ml, respectively. Furthermore, the MIC and MBC of ZnO NPs were 12.5mg/ml and 25mg/ml, respectively. The bacterial population significantly decreased with increasing the ZnO NPs and the cinnamon EO concentrations ($p<0.05$) and during cold storage, there were significant differences between the 2 strains.

Conclusion Cinnamon essential oil and ZnO nanoparticles have strong antimicrobial effects against L. monocytogenes, so that the cinnamon essential oil shows bacteriostatic effects on Listeria, but ZnO nanoparticles show bactericidal effect.

Keywords Nanoparticles; Antimicrobial Activity; Zinc Oxide; Cinnamon

CITATION LINKS

[1] Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications ... [2] Antimicrobial effects and determination of ... [3] Investigation of antibacterial activity cinnamon bark essential oil ... [4] Antibacterial activity of plant essential oils and extracts: The role of thyme essential oil, nisin, and their combination ... [5] Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four ... [6] Fungicidal activity of essential oils of Cinnamomum ... [7] Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon ... [8] Physical and antibacterial properties of alginate films containing cinnamon bark oil and ... [9] Physical and antimicrobial properties of chitosan films incorporated with lauric arginate, cinnamon oil ... [10] Genome analysis of Listeria monocytogenes sequence type 8 strains ... [11] A review of Listeria monocytogenes: An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology ... [12] Antimicrobial activity of some plant essential oils against listeria ... [13] Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions ... [14] Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against ... [15] Correlation between defects in capped ZnO nanoparticles and their antibacterial ... [16] Antimicrobial activities of ZnO ... [17] Chitosan/poly (vinyl alcohol) films containing ZnO nanoparticles and ... [18] Preparation, characterization, and antimicrobial activity of gelatin/ZnO nanocomposite ... [19] Prevalence and molecular characterization of Listeria spp. and Listeria monocytogenes isolated from fish, shrimp ... [20] Multivariate analysis reveals differences in biofilm formation capacity among ... [21] Intramacrophage antimicrobial effect of silver... [22] Improved method for the determination ... [23] Antimicrobial properties of lauric ... [24] Antimicrobial activity of vanillin ... [25] Antibacterial activity and mechanism of ... [26] Mechanisms of bactericidal action of ... [27] The antimicrobial activity of ZnO nanoparticles ... [28] Toxicity mechanism of titanium ... [29] Antibacterial activity and mechanism of ... [30] Growth and stress resistance variation ... [31] Strain specificity in antimicrobial ...

Copyright© 2018, TMU Press. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-13]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.7.1.5.0]

ارزیابی کمّی و کیفی فعالیت ضدباکتریایی اسانس دارچین و نانوذرات اکسید روی علیه *لیستریا مونوسیتوژنز*

اسماعیل عبداله‌زاده PhD
گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
سیدمهدی اجاق* PhD
گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
هدایت حسینی PhD
"انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور" و "گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی"، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
عزت‌الله قائمی PhD
گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران
غلامرضا ایراجیان PhD
گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

چکیده
اهداف: اسانس‌های گیاهی، کمپلکسی از ترکیبات فرار به‌دست‌آمده از بخش‌های مختلف گیاهان هستند. اسانس دارچین (Cinnamomum zeylanicum) به‌عنوان منبع مناسب برای ترکیبات ضدباکتریایی شناخته شده است. هدف مطالعه حاضر بررسی فعالیت ضدباکتریایی اسانس دارچین و نانوذرات اکسید روی علیه دو سویه *لیستریا مونوسیتوژنز* بود.
مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، دو سویه باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* (سویه استاندارد و سویه جداسازی‌شده از ماهی) مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت ضدمیکروبی اسانس دارچین و نانوذرات اکسید روی با روش چاهک ارزیابی شد. همچنین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس دارچین و نانوذرات اکسید روی با استفاده از روش ماکرودایلوشن تعیین شد. علاوه بر این، خصوصیات ضدباکتریایی اسانس دارچین و نانوذرات اکسید روی در یک محیط مایع بررسی شد. داده‌ها به‌کمک نرم‌افزار SPSS 19 و توسط آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی تحلیل شدند.
یافته‌ها: میزان MIC و MBC اسانس دارچین به‌ترتیب ۱۶ و بیش از ۶۴میکرولیتربرمیلی‌لیتر گزارش شد. همچنین مقادیر MIC و MBC برای نانوذرات اکسید روی به‌ترتیب ۱۲/۵ و ۲۵میلی‌گرم‌برمیلی‌لیتر محاسبه شد. با افزایش غلظت نانومواد و اسانس، جمعیت باکتری‌ها کاهش یافت ($p<0/05$) و در خلال دوره نگهداری در دمای سرد اختلافات قابل توجهی بین دو سویه مشاهده شد.
نتیجه‌گیری: اسانس دارچین و نانوذرات اکسید روی، اثرات ضدمیکروبی قوی علیه *لیستریا مونوسیتوژنز* دارند، به‌طوری که اسانس دارچین روی لیستریا اثر باکتریواستاتیک، اما نانوذرات اکسید روی اثر باکتریوسایدی نشان می‌دهند.
کلیدواژه‌ها: نانوذرات، فعالیت ضدمیکروبی، اکسید روی، دارچین

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۳/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۷/۴
*نویسنده مسئول: mahdi_ojagh@yahoo.com

مقدمه

اسانس‌های گیاهی، کمپلکسی از ترکیبات فرّار گیاهان بوده که توسط روش‌های فیزیکی از همه گیاه یا بخش‌هایی از گیاه به دست می‌آیند[1, 2]. دارچین (*Cinnamomum zeylanicum*) یک گیاه بومی سریلانکا است که اسانس آن توسط محققان زیادی به‌عنوان منبع مناسب ترکیبات ضدقارچی و ضدباکتریایی شناخته شده است[3-6]. در سال‌های اخیر نیز قابلیت ضدباکتریایی اسانس دارچین در فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر و پوشش‌های خوراکی مورد توجه قرار گرفته است[7-9]. *اجاق* و همکاران[7] عنوان کردند که پوشش‌دهی نمونه‌های ماهی با کیتوزان و اسانس دارچین موجب افزایش کیفیت و بهبود عمر نگهداری در خلال نگهداری در دمای یخچال می‌شود.

امروزه با مشخص‌شدن نقش با اهمیت باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* در ایجاد عفونت‌های غذایی، تلاش‌های زیادی برای کنترل این پاتوژن با ترکیبات گیاهی صورت گرفته است. *لیستریا مونوسیتوژنز* یک باکتری گرم‌مثبت هوازی تا بی‌هوازی اختیاری، میله‌ای شکل، پاتوژن درون‌سلولی، فرصت‌طلب و عامل عمده عفونت‌های انسانی ناشی از غذا در سراسر جهان است. این باکتری در نوزادان، افراد سالخورده، افراد دارای نقص سیستم ایمنی و زنان باردار بیماری لیستریوزیس ایجاد کرده[10] و طیف وسیعی از محصولات غذایی گوشتی و غیرگوشتی را آلوده می‌کند[11].

اورلی و همکاران[12] فعالیت ضدمیکروبی ۳۲ اسانس رایج در صنعت غذا را علیه ۴ سویه مختلف *لیستریا مونوسیتوژنز* بررسی کردند. از بین اسانس‌های مورد مطالعه دارچین، میخک، آویشن، فلفل و پونه کوهی خاصیت ضدلیستریایی داشتند. همچنین میزان فعالیت ضدلیستریایی این اسانس‌ها به‌صورت کلی وابسته به سویه اعلام شد. با این وجود تحقیقات در خصوص نقش تاثیر سویه‌های مختلف *لیستریا مونوسیتوژنز* بر میزان فعالیت ضدباکتریایی اسانس دارچین بسیار محدود است.

امروزه نانوذرات اکسیدهای فلزی یک گروه مهم نانومواد هستند که به‌طور فزآینده‌ای در موارد متعدد تحقیقاتی استفاده می‌شوند. اکسیدهای فلزی با قابلیت یونی بالا نه‌تنها از نظر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی مورد توجه هستند بلکه خصوصیات ضدمیکروبی مطلوبی نیز دارند[13] در تحقیق *جونز* و همکاران[13] نقش نانوذرات اکسید روی (ZnO NPs) علیه استافیلوکوکوس در مقایسه با پنج نانوترکیب فلزی دیگر مقایسه شد، نتایج نشان داد نانوذرات اکسید روی، فعالیت ضدباکتریایی قوی‌تری نسبت به سایر نانومواد دارد. همچنین این محققان فعالیت ضدمیکروبی نانوذرات اکسید روی را به حضور نور و اندازه نانومواد ارتباط دادند. محققان مکانیزم فعالیت ضدمیکروبی نانوذرات اکسید روی را به پراکسیداسیون لیپید و استرس‌های اکسیداتیو نسبت می‌دهند [14, 15]. علاوه بر تحقیقات در محیط آزمایشگاهی، فعالیت ضدمیکروبی نانوذرات اکسید روی در پوشش‌های پلاستیکی[16]، پلی‌اتیلین/کیتوزان[17] و ژلاتینی[18] نیز علیه پاتوژن‌های مختلف اثبات شده است، اما مطالعه‌ای در خصوص بررسی فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات اکسید روی بر سویه‌های مختلف *لیستریا مونوسیتوژنز* در دسترس نیست. اهمیت بررسی نقش سویه به‌دلیل آن است که اغلب مواد غذایی با سویه‌های مختلفی از یک گونه باکتری آلوده می‌شوند و بررسی سویه‌های مختلف یک باکتری می‌تواند فعالیت ضدباکتریایی ترکیبات مختلف را به واقعیت نزدیکتر کند.

تحقیق حاضر با هدف ارزیابی کمّی و کیفی فعالیت ضدباکتریایی اسانس دارچین و نانوذرات اکسید روی، علیه دو سویه مختلف *لیستریا مونوسیتوژنز* انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، دو سویه از باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* به کار رفت. *سویه* اول استاندارد *PTCC1162* از بانک میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران خریداری شد و سویه دوم از مطالعه *عبدالله‌زاده* و همکاران[19] (جداسازی‌شده از ماهی قزل‌آلا) به دست آمد.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-13]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.7.1.5.0]

برای جداسازی *لیستریا مونوسیتوژنز* از ماهی، ۲۵گرم گوشت ماهی هموژن‌شده به محیط TSB (تریپتیک‌سوی‌براث؛ شرکت لیوفیلکم؛ ایتالیا) حاوی مخمر انتقال یافت و سپس یک ماه در دمای یخچال انکوبه شد. به‌صورت هفته‌ای ۰/۱میلی‌لیتر از محیط غنی‌سازی اولیه به محیط اختصاصی آکسفورد لیستریا آگار انتقال داده شد. کلنی‌هایی که هاله سیاه داشتند به‌عنوان کلنی‌های مشکوک لیستریا جدا شده و پس از انجام آزمون‌های تاییدی رنگ‌آمیزی گرم، آزمون حرکت، آزمون CAMP، کاتالاز و مشاهدات میکروسکوپی به‌عنوان ایزوله *لیستریا مونوسیتوژنز* در نظر گرفته شدند. سویه‌های جداسازی‌شده با کمک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و از طریق بررسی وجود ژن *لیستریولایزین O* تایید شدند. برای نگهداری طولانی‌مدت از محیط ۳۰% گلیسرول در TSB استفاده شد. به‌منظور احیا، سویه باکتریایی به ۱۵میلی‌لیتر TSB تلقیح و در دمای ۳۷ C به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد[20].

بررسی خواص ضدمیکروبی اسانس دارچین و نانوذرات اکسید روی: بررسی اولیه قدرت ضدلیستریایی اسانس دارچین (زردبند؛ ایران) و نانوذرات اکسید، روی ۱۰ تا ۳۰نانومتر با خلوص ۹۹%، (US Research Nanomaterials؛ ایالات متحده) با روش چاهک انجام شد. برای این منظور، پس از آماده‌سازی محلول تلقیح (10^{8}-10^{7} CFU/mL)، پاتوژن با کمک سواپ استریل به‌صورت سطحی و چمنی روی سطح محیط کشت مولر هینتون آگار (لیوفیلکم؛ ایتالیا) کشت داده شد. سپس چاهک‌هایی با قطر ۰/۸سانتی‌متر حفر (با فواصل ۲/۵سانتی‌متری) و ته چاهک‌ها با کمک چند قطره محیط کشت مایع مولر هینتون آگار بسته شد. به هر چاهک ۵۰میکرولیتر مواد ضدمیکروبی تلقیح شد. سپس پلیت‌ها ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷°C گرمخانه‌گذاری شدند. پس از گرمخانه‌گذاری قطر هاله‌های تشکیل شده که نمایانگر قدرت مهارکنندگی عامل ضدباکتریایی بود، اندازه‌گیری و کلیه آزمایشات با ۳ تکرار انجام شد.

تعیین حداقل غلظت مهاری و کُشندگی نانوذرات اکسید روی: میزان یک‌گرم نانوذرات اکسید روی، در ۱۰میلی‌لیتر آب مقطر استریل حل شد تا غلظت ذخیره ۱۰۰میلی‌گرم بر میلی‌لیتر حاصل شود[14]. اندازه‌گیری فعالیت مهاری نانوذرات اکسید روی به روش ماکرودایلوشن انجام شد. برای این منظور یک سی‌سی، محیط TSB در سه سری ۹تایی لوله آزمایش استریل شد. سپس با کمک جذب نوری باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* استاندارد در سرم فیزیولوژی به غلظت 10^{8}CFU/mL آماده‌سازی و با دوبار انتقال متوالی یک سی‌سی از مایع مذکور به ۹سی‌سی محیط TSB استریل، نهایتاً غلظت 10^{6}CFU/mL از باکتری در محیط کشت TSB حاصل شد. در ادامه میزان یک میلی‌لیتر از محلول استوک اکسید روی، به لوله اول از سری ۹تایی لوله آزمایش حاوی یک سی‌سی TSB اضافه شد. بدین‌ترتیب در لوله اول غلظت ۵۰میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نانومواد وجود داشت. سپس به‌صورت سریالی از لوله اول که حاوی ۲سی‌سی محیط TSB بود، یک سی‌سی به‌صورت سریالی به لوله‌های بعدی منتقل و از لوله نهم، یک سی‌سی بیرون ریخته شد. سپس با افزودن یک سی‌سی باکتری لیستریای آماده‌سازی‌شده در محیط TSB به لوله‌ها، غلظت نانومواد نصف شد (لوله اول حاوی ۲۵ و لوله نهم حاوی ۰/۰۹میلی‌گرم بر میلی‌لیتر). با این روش در هر لوله $0/5\times10^{6}$CFU/mL باکتری وجود داشت. سری‌های ۹تایی آماده‌سازی شده در کنار نمونه‌های کنترل‌مثبت و کنترل‌منفی در دمای بهینه رشد *لیستریا مونوسیتوژنز* (۳۷°C) ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. کلیه آزمایش‌ها در سه تکرار صورت گرفت. پس از گرمخانه‌گذاری کمترین رقت نانومواد که در آن کدورتی مشاهده نشد (در مقایسه با نمونه‌های کنترل) به‌عنوان MIC (حداقل غلظت بازدارندگی) منظور شد. برای محاسبه میزان MBC (حداقل غلظت کُشندگی) از کلیه لوله‌هایی که در آن کدورتی مشاهده نشد، ۱۰۰میکرولیتر به پلیت‌های حاوی محیط مولر هینتون آگار منتقل و ۲۴ ساعت در دمای مشابه گرمخانه‌گذاری شدند. غلظت معادل پلیت‌هایی که در آن هیچ گونه رشدی مشاهده نشد به‌عنوان MBC گزارش شد[21].

تعیین حداقل غلظت مهاری و کُشندگی اسانس دارچین: برای محاسبه میزان MIC و MBC اسانس دارچین از روش مشابه ماکرودایلوشن استفاده شد، اما به‌منظور افزایش حلالیت اسانس در محیط کشت از میزان اندکی آگار (در ۱۰۰سی‌سی TSB ۰/۱۵گرم آگار) که محیط کشت را منعقد نکند، اضافه شد[22]. لوله اول سری ۹تایی معادل با بیشترین غلظت اسانس قابل حل معادل با غلظت نهایی ۶۴میکرولیتر بر میلی‌لیتر و لوله آخر غلظتی معادل با ۰/۲۵میکرولیتر بر میلی‌لیتر تنظیم و کلیه آزمایشات در سه تکرار انجام شد.

بررسی خواص ضدمیکروبی اسانس دارچین در مدل مایع: برای تهیه مایع تلقیح دو سویه *لیستریا مونوسیتوژنز* (یک سویه استاندارد و یک سویه جداسازی‌شده از ماهی) به محیط TSB تلقیح و در دمای ۳۷°C انکوبه شد. سپس محیط کشت حاوی باکتری ۵دقیقه در دور ۶۰۰۰rpm سانتریفیوژ و مایع رویی (سوپرناتانت) با سرم فیزیولوژی جایگزین شد. برای جداسازی کامل محیط کشت از باکتری‌ها، محلول حاصل دوباره ۵دقیقه سانتریفیوژ شد. تعداد باکتری‌ها در مایع زیرین با روش کدورت‌سنجی در طول موج ۶۰۰نانومتر به دست آمد. جذب نوری ۰/۱-۰/۰۸ معادل 10^{8}CFU/mL باکتری در نظر گرفته شد که این میزان نیز با کشت سطحی مورد تایید قرار گرفت[4]. از این مایع برای تلقیح به مدل‌ها استفاده شد.

به محیط‌های TSB، ۰/۱% آگار- آگار خالص (لیوفیلکم؛ ایتالیا) اضافه و سپس در لوله‌هایی با درب پیچ‌دار استریل و به‌عنوان مدل مایع مورد استفاده شد. غلظت‌های صفر، ۰/۸، ۱/۶ و ۲/۴% (غلظت‌ها براساس میزان MIC محاسبه‌شده، تنظیم شد) اسانس دارچین در شرایط استریل به مدل‌های مایع افزوده شد[1] و سپس ۶log CFU/mL از دو سویه *لیستریا مونوسیتوژنز* به هر لوله به‌صورت مجزا تلقیح شد. برای هر تیمار نیز دو تکرار در نظر گرفته شد و کلیه نمونه‌ها در دمای ۸°C، ۱۶ روز انکوبه شدند.

بررسی خواص ضدمیکروبی نانوذرات اکسید روی در مدل مایع: غلظت‌های صفر تا ۱۵میلی‌گرم‌برمیلی‌لیتر نانوذرات اکسید روی، در مدل‌های مایع (TBS±آگار ۱%) تهیه و با تلقیح ۶لوگ باکتریایی به هر میلی‌لیتر از محیط‌ها، مدل‌های مایع آماده شدند. سپس کلیه تیمارها در دمای ۸°C به مدت ۱۶ روز نگهداری شدند.

شمارش باکتریایی: به‌منظور شمارش باکتری‌ها در طول دوره نگهداری مدل‌های مختلف، ۱۰۰میکرولیتر از هر تیمار در ۹/۹میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل، هموژن شد. پس از تهیه رقت‌های سریالی ۰/۱میلی‌لیتر از هر رقت به‌صورت کشت آمیخته در محیط‌های مولر هینتون آگار و TSB حاوی ۱/۳% آگار کشت داده شد. پلیت‌ها در دمای ۳۷°C به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند.

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با کمک نرم‌افزار SPSS 19 (IBM, Armonk, NY؛ ایالات متحده) انجام شد. نرمال‌بودن داده‌ها و معنی‌داری اختلافات بین میانگین‌ها به ترتیب با آزمون های

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-13]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.7.1.5.0]

کولموگروف- اسمیروف و آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ مورد ارزیابی قرار گرفت[23].

یافته‌ها

میانگین قطر خالص در اسانس دارچین و نانوذرات اکسید روی، بر سویه استاندارد *لیستریا مونوسیتوژنز* به ترتیب ۵/۳۳±۲/۸۸ و ۴/۶۶±۲/۰۸میلی‌متر به دست آمد. این ترکیبات دارای فعالیت ضدلیستریایی قوی بودند.

اسانس دارچین در غلظت ۱۶میکرولیتر بر میلی‌لیتر و نانوذرات اکسید روی در غلظت ۱۲/۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر رشد لیستریا را مهار کردند. میزان MBC برای نانوذرات اکسید روی، در حد ۲۵میلی‌گرم و برای اسانس دارچین بیش از ۶۴میکرولیتر بر میلی‌لیتر محاسبه شد.

بین جمعیت دو سویه *لیستریا مونوسیتوژنز* تلقیح‌شده به ۱۴ تیمار مختلف اسانس دارچین و نانوذرات اکسید روی در محیط براث مایع TSB طی ۱۶ روز نگهداری در دمای ۸°C تفاوت معنی دار مشاهده شد ($F=۶۴/۹۹$؛ $p=۰/۰۰۰۱$).

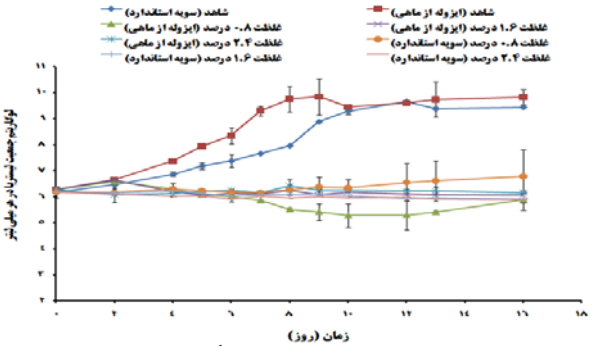
میانگین شمارش جمعیت *لیستریا مونوسیتوژنز* در تیمارهای مختلف به ۸ گروه متمایز تفکیک شد (جدول ۱).

جدول ۱) مقایسه میانگین جمعیت باقی‌مانده دو سویه *لیستریا مونوسیتوژنز* تلقیح‌شده به ۱۴ تیمار با غلظت‌های مختلف اسانس دارچین و نانوذرات اکسید روی طی ۱۶ روز نگهداری در دمای ۸°C در مدل TSB

ردیف	تیمار	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸
۱	ZnO ۱۵mg/ml سویه استاندارد	۴/۷۶							
۲	ZnO ۱۰mg/ml سویه استاندارد		۵/۴۰						
۳	ZnO ۵mg/ml سویه استاندارد		۵/۴۹	۵/۴۹					
۴	ZnO ۱۵mg/ml ایزوله از ماهی		۵/۵۸	۵/۵۸	۵/۵۸				
۵	ZnO ۱۰mg/ml ایزوله از ماهی		۵/۶۴	۵/۶۴	۵/۶۴	۵/۶۴			
۶	ZnO ۵mg/ml ایزوله از ماهی		۵/۶۷	۵/۶۷	۵/۶۷	۵/۶۷			
۷	۰/۸% اسانس دارچین، ایزوله از ماهی		۵/۸۲	۵/۸۲	۵/۸۲	۵/۸۲	۵/۸۲		
۸	۲/۴% اسانس، سویه استاندارد		۵/۹۹	۵/۹۹	۵/۹۹	۵/۹۹	۵/۹۹		
۹	۱/۶% اسانس، سویه استاندارد			۶/۰۶	۶/۰۶	۶/۰۶	۶/۰۶		
۱۰	۱/۶% اسانس، ایزوله‌شده از ماهی				۶/۱۷	۶/۱۷	۶/۱۷		
۱۱	۲/۴% اسانس، ایزوله‌شده از ماهی					۶/۲۱	۶/۲۱		
۱۲	۰/۸% اسانس، سویه استاندارد						۶/۳۴		
۱۳	تیمار شاهد سویه استاندارد							۸/۰۳	
۱۴	تیمار شاهد سویه ایزوله‌شده از ماهی	۸/۶۷							

(پس‌آزمون آنوا میانگین جمعیت باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* در تیمارهای مختلف را به ۸ گروه متمایز تقسیم کرد)

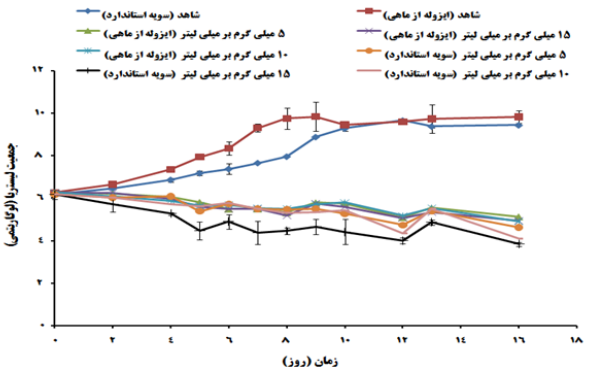
میانگین جمعیت تیمار شاهد سویه ایزوله‌شده از ماهی به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد برای سویه استاندارد بود ($p<۰/۰۵$). بیشترین اختلاف بین جمعیت دو سویه در روزهای ششم و هشتم نگهداری مشاهده شد (نمودار ۱).



نمودار ۱) جمعیت دوسویه *لیستریا مونوسیتوژنز* نگهداری‌شده در محیط براث مایع طی ۱۶ روز نگهداری در دمای ۸°C در غلظت‌های صفر، ۰/۸، ۱/۶ و ۲/۴% اسانس دارچین

اسانس دارچین در غلظت‌های ۰/۸ تا ۲/۴% (حجمی/حجمی) فعالیت باکتریواستاتیک علیه دو سویه *لیستریا مونوسیتوژنز* داشت (نمودار ۱). به‌طوری که جمعیت باکتری لیستریا در تیمارهای حاوی اسانس در طول ۱۶ روز نگهداری در حد تلقیح اولیه (۶لوگ باکتریایی) ثابت باقی ماند. به‌طور تقریبی میانگین جمعیت دو سویه در تیمارهای حاوی اسانس در حد ۵/۸ تا CFU/mL ۶/۳log نوسان داشت که از لحاظ آماری این اختلاف معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$). در حالی که میانگین جمعیت دو سویه باکتریایی در تیمارهای حاوی اسانس به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه‌های شاهد دو سویه بود ($p<۰/۰۵$).

نانوذرات اکسید روی در غلظت‌های ۵ تا ۱۵میلی‌گرم در میلی‌لیتر فعالیت باکتری‌کُشی علیه دو سویه *لیستریا مونوسیتوژنز* داشت (نمودار ۲). میانگین جمعیت دو سویه در تیمارهای حاوی نانوذرات به میزان ۴/۷ تا ۵/۶CFU/mL log کاهش یافت. اگر چه میانگین جمعیت سویه استاندارد در دو غلظت ۵ و ۱۰میلی‌گرم در میلی‌لیتر کمتر از تیمارهای مشابه با سویه ایزوله‌شده از ماهی بود، اما این اختلافات از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$). نکته قابل توجه آنکه تیمار حاوی ۱۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تاثیر معنی‌دار و بیشتری علیه سویه استاندارد نسبت به سویه جداسازی‌شده از ماهی داشت ($p<۰/۰۵$) که نشان‌دهنده فعالیت ضدباکتریایی متفاوت نانوذرات بر سویه‌های مختلف این باکتری است.



نمودار ۲) جمعیت دوسویه *لیستریا مونوسیتوژنز* نگهداری‌شده در محیط براث مایع در حضور غلظت‌های صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نانوذرات اکسید روی طی ۱۶ روز نگهداری در دمای ۸°C

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-13]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.7.1.5.0]

بحث

تحقیق حاضر با هدف ارزیابی کمّی و کیفی فعالیت ضدباکتریایی اسانس دارچین و نانوذرات اکسید روی علیه دو سویه مختلف *لیستریا مونوسیتوژنز* در محیط مایع انجام شد.

بررسی کیفی اثرات ضدمیکروبی اسانس دارچین و نانوذرات اکسید روی نشان داد که این دو ترکیب فعالیت ضدباکتریایی مطلوبی علیه *لیستریا مونوسیتوژنز* دارند. به‌منظور بررسی نقش نوع سویه بر فعالیت ضدلیستریایی اسانس دارچین و نانوذرات اکسید روی از دو سویه مختلف *لیستریا مونوسیتوژنز* (سویه استاندارد و سویه ایزوله‌شده از ماهی) استفاده شد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد، افزودن اسانس دارچین به محیط براث مایع در غلظت‌های ۰/۸، ۱/۶ و ۲/۴% صرفاً فعالیت باکتریواستاتیک داشته و در این تیمارها جمعیت نهایی *لیستریا مونوسیتوژنز* نسبت به روز اول آزمایش در حد ثابتی باقی ماند. یافته‌های تحقیق حاضر با نتایج *کاوا رودا* و همکاران مطابقت داشت[24]. مهم‌ترین ترکیبات ضدمیکروب در اسانس دارچین سینامیک‌آلدئید و اجنول هستند[7]. نتایج مطالعه *اجاق* و همکاران[7] نشان داد که سینامیک‌آلدئید ترکیب غالب اسانس دارچین است. در مطالعه حاضر هر چند حضور اسانس مانع رشد باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* شد اما جمعیت پاتوژن در طول دوره آزمایش تغییرات کاهشی قابل ملاحظه‌ای نداشت.

اخیراً مکانیزم عمل اسانس دارچین علیه باکتری‌های گرم‌منفی و گرم‌مثبت بیشتر مطالعه شده است. در مطالعه *ژنگ* و همکاران[25] مشخص شد اسانس دارچین علاوه بر ایجاد تغییرات مورفولوژیک سلول‌ها در ساعات اولیه، موجب خروج الکترولیت‌های کوچک از سلول شده که خود موجب افزایش سریع هدایت الکتریکی در نمونه‌ها می‌شود.

در تحقیق *گیل* و *هالی*[26] مکانیزم فعالیت ضدمیکروبی دو ترکیب سینامیک‌آلدئید و اجنول به‌عنوان اجزای اصلی اسانس دارچین بررسی شدند، طبق یافته‌ها غلظت ۵میلی‌مولار اجنول و ۳۰میلی‌مولار سینامیک‌آلدئید در محیط براث خواص باکتریوسیدال علیه *لیستریا مونوسیتوژنز* دارد. همچنین غلظت ۶میلی‌مولار اجنول علیه *لاکتوباسیلوس ساکی* نیز فعالیت کُشندگی دارد. نتایج این مطالعه نشان داد که سطح ۴۰میلی‌مولار سینامیک‌آلدئید موجب کاهش سریع میزان ATP سلولی (*لیستریا مونوسیتوژنز*) می‌شود، اما غلظت ۵میلی‌مولار اجنول اثری روی ATP سلول ندارد. این محققان مکانیزم احتمالی مهار تولید انرژی را به مهار جذب گلوکز یا مصرف گلوکز و اثرات روی نفوذپذیری غشا اعلام کردند.

با تبدیل واحد تقریبی غلظت‌های درصدی اسانس دارچین به واحد میکرولیتر بر میلی‌لیتر تیمارهای صفر، ۰/۸، ۱/۶ و ۲/۴% به ترتیب معادل صفر، ۸، ۱۶ و ۲۴میکرولیتر بر میلی‌لیتر هستند. با مقایسه میزان MIC حاصله اسانس دارچین (۱۶میکرولیتر بر میلی‌لیتر) با روند مهاری جمعیت *لیستریا مونوسیتوژنز* در تیمار ۱/۶% می‌توان اذعان نمود نتایج این دو آزمایش در تطابق نسبی هستند.

استفاده از نانوذرات اکسید روی در غلظت‌های ۱۰ و ۱۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، جمعیت اولیه *لیستریا مونوسیتوژنز* را به میزان ۲لوگ باکتریایی در محیط براث مایع (پس از ۱۶ روز) کاهش داد. همچنین مقایسه میزان MIC نانوذرات اکسید روی (۱۲/۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با روند جمعیت *لیستریا مونوسیتوژنز* تلقیح‌شده در براث مایع در تیمار ۱۰ و ۱۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر طی ۱۶ روز نشان‌دهنده تطابق آزمایش MIC با آزمایش در محیط مایع است. بنابراین استفاده از غلظت‌های ۱۰ تا ۱۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از نانوذرات اکسید روی می‌تواند رشد جمعیت *لیستریا مونوسیتوژنز* را در دامنه دمایی بین ۸-۳۷°C در ماتریکس‌های غنی از مواد غذایی مهار کند. هر چند مکانیزم عمل ضدلیستریایی نانوذرات اکسید روی به‌خوبی مشخص نشده است اما تحقیقات دلیل فعالیت ضدمیکروبی این ترکیب را به چندین پدیده ارتباط می‌دهند که شامل فعل و انفعالات فیزیکی نانوذرات اکسید روی با غشای سلولی، پراکسیداسیون لیپید و استرس اکسیداتیو هستند[14, 15].

در مطالعه *سرور* و همکاران[27] مکانیزم عمل نانوذرات اکسید روی، علیه *ویبریو کلرا* بررسی شد، نتایج نشان داد فعل و انفعالات نانوذرات اکسید ساختار سلولی باکتری را تغییر شکل داده و سیالیت غشا را افزایش می‌دهد. همچنین اکسید روی، ROS (گونه‌های فعال اکسیژن) تولید کرده که خود موجب تخریب DNA باکتری می‌شود. بنابراین مکانیزم فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات اکسید روی علیه *ویبریو کلرا* به‌دلیل تولید ROS و تخریب غشای باکتریایی نسبت داده شده است. *ونکاتاسوبو* و همکاران[28] فعالیت ضدمیکروبی نانوذرات اکسیدتیتانیوم (TiO_2) و اکسید روی را علیه پاتوژن‌های غذایی (*سالمونلا تیفی*، *کلبسیلا پنومونی* و *شیگلا فلکسنری*) بررسی کردند، طبق یافته‌ها هر دو نانوذرات فلزی، رشد *سالمونلا*، *کلبسیلا* و *شیگلا* را مهار می‌کنند. در این تحقیق مکانیزم عمل این نانوذرات علیه *سالمونلا* و *کلبسیلا* به تولید ROS ارتباط داده شد، اما مکانیزم عمل این نانوذرات علیه شیگلا نامشخص باقی ماند.

در مطالعه اخیر *ونگ* و همکاران[29] با هدف بررسی فعالیت ضدباکتریایی نانوکامپوزیت‌های Ag/ZnO علیه *استرپتوکوکوس موتانس* مشخص شد فعالیت ضدمیکروبی نانوذرات به‌واسطه اختلال در عملکرد غشای سلولی و اکسیداسیون ماکرومولکول‌های زیستی است.

بنابراین از مجموع مطالعات یادشده می‌توان گفت دو عامل تغییر/تخریب غشای سلولی و همچنین استرس‌های ناشی از تولید گونه‌های فعال اکسیژن نقش بسیار مهمی را در مکانیزم فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات اکسید روی ایفا می‌کنند.

در تحقیق حاضر در خصوص بررسی نقش دو سویه مختلف *لیستریا مونوسیتوژنز* در فعالیت ضدمیکروبی ترکیبات به‌کاررفته نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین جمعیت دو سویه *لیستریا مونوسیتوژنز* تلقیح‌شده به تیمارهای مختلف اسانس دارچین و نانوذرات اکسید روی در محیط براث مایع TSB طی ۱۶ روز نگهداری در دمای ۸°C وجود داشت ($p<0/05$). مقایسه روند رشد دو سویه مختلف *لیستریا مونوسیتوژنز* در تیمارهای شاهد (بدون نگهدارنده) نشان داد که سویه *لیستریا مونوسیتوژنز* ایزوله‌شده از ماهی به‌طور معنی‌داری پتانسیل رشد بیشتری در محیط براث مایع نسبت به سویه استاندارد دارد. همچنین نتایج نشان داد که میزان حساسیت سویه استاندارد به نانوذرات اکسید روی نسبت به سویه ایزوله‌شده از ماهی بیشتر بود. یک دلیل برای توجیه این پدیده، تفاوت در ذخایر ژنتیک دودمان‌های (رده سلولی) مختلف لیستریا و متابولیزم متفاوت سویه‌هاست[30].

در زمینه بررسی نقش سویه‌های مختلف یک گونه باکتری در میزان فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات اکسید روی، مطالعه‌ای در دسترس نیست. در مطالعه *روپورالیا* و همکاران[31] اثر ضدمیکروبی نانوذرات نقره و مس علیه باکتری‌های *اشریشیا کلی* (چهار سویه)، *باسیلوس سابتیلیس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بررسی و نتایج نشان داد که تفاوت‌های بین سویه‌ای موجب تغییرات قابل توجه در میزان

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-13]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.7.1.5.0]

فعالیت ضدباکتریایی (MIC و MBC) نانومواد می‌شود. از این رو نتایج این محققان با تحقیق حاضر مطابقت دارد.

مطالعه حاضر نشان‌دهنده نقش با اهمیت تاثیر نوع سویه *لیستریا مونوسیتوژنز* در مطالعات بررسی خصوصیات ضدمیکروبی آنتی‌میکروب‌های طبیعی و سنتتیک بود. از این حیث استفاده از سویه‌های مختلف به‌صورت همزمان در مایع تلقیح یا بررسی مجزای سویه‌های مختلف یک پاتوژن می‌تواند نتایج تحقیقات اثر بخشی اسانس‌ها و نانوذرات را به واقعیت نزدیک‌تر کند. بنابراین پیشنهاد می‌شود پیش از استفاده صنعتی از نانوذرات اکسید روی اختلافات بین سویه‌ای مورد مطالعه قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

اسانس دارچین و نانوذرات اکسید روی، اثرات ضدمیکروبی قوی علیه *لیستریا مونوسیتوژنز* دارند، به‌طوری که اسانس دارچین روی لیستریا اثر باکتریواستاتیک اما نانوذرات اکسید روی، اثر باکتریوسایدی نشان می‌دهند.

تشکر و قدردانی: مقاله حاضر نتیجه پایان‌نامه دکتری نویسنده اول بوده و توسط دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان و دانشگاه علوم پزشکی ایران حمایت شده است.

تاییدیه‌اخلاقی: موردی از سوی نویسندگان بیان نشده است.

تعارض منافع: تعارض منافعی وجود ندارد.

سهم نویسندگان: اسماعیل عبداله‌زاده (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی /تحلیلگر آماری (۵۰%)؛ سیدمهدی اجاق (نویسنده دوم)، روش‌شناس/نگارنده بحث (۲۵%)؛ هدایت حسینی (نویسنده سوم)، پژوهشگر کمکی (۱۵%)؛ عزت‌الله قائمی (نویسنده چهارم)، پژوهشگر کمکی (۵%)؛ غلامرضا ایراجیان (نویسنده پنجم)، پژوهشگر کمکی (۵%)

منابع مالی: این پژوهش با استفاده از گرنت پایان‌نامه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شده است.

منابع

1- Burt S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. Int J Food Microbiol. 2004;94(3):223-53.

2- Shahnia M, Khaksar R. Antimicrobial effects and determination of minimum inhibitory concentration (MIC) methods of essential oils against pathogenic bacteria. Iran J Nutr Sci Food Technol. 2013;7(5):949-54.

3- Ojagh SM, Rezaei M, Razavi SH, Hosseini SMH. Investigation of antibacterial activity cinnamon bark essential oil (Cinnamomum zeylanicum) in vitro antibacterial activity against five food spoilage bacteria. Iran J Food Sci Technol. 2012;9(35):67-76. [Persian]

4- Abdollahzadeh E, Rezaei M, Hosseini H. Antibacterial activity of plant essential oils and extracts: The role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control Listeria monocytogenes inoculated in minced fish meat. Food Control. 2014;35(1):177-83.

5- Oussalah M, Caillet S, Saucier L, Lacroix M. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E. coli O157: H7, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes. Food Control. 2007;18(5):414-20.

6- Ranasinghe L, Jayawardena B, Abeywickrama K. Fungicidal activity of essential oils of Cinnamomum zeylanicum (L.) and Syzygium aromaticum (L.) Merr et LM Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. Lett Appl Microbiol. 2002;35(3):208-11.

7- Ojagh SM, Rezaei M, Razavi SH, Hosseini SMH. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chem. 2010;120(1):193-8.

8- Zhang Y, Ma Q, Critzer F, Davidson PM, Zhong Q. Physical and antibacterial properties of alginate films containing cinnamon bark oil and soybean oil. LWT Food Sci Technol. 2015;64(1):423-30.

9- Ma Q, Zhang Y, Zhong Q. Physical and antimicrobial properties of chitosan films incorporated with lauric arginate, cinnamon oil, and ethylenediaminetetraacetate. LWT Food Sci Technol. 2016;65:173-9.

10- Fagerlund A, Langsrud S, Schirmer BC, Møretrø T, Heir E. Genome analysis of Listeria monocytogenes sequence type 8 strains persisting in salmon and poultry processing environments and comparison with related strains. PLoS One. 2016;11(3):e0151117.

11- Buchanan RL, Gorris LGM, Hayman MM, Jackson TC, Whiting RC. A review of Listeria monocytogenes: An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. Food Control. 2017;75:1-13.

12- Aureli P, Costantini A, Zolea S. Antimicrobial activity of some plant essential oils against listeria monocytogenes. J Food Prot. 1992;55(5):344-8.

13- Jones N, Ray B, Ranjit KT, Manna AC. Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms. FEMS Microbiol Lett. 2008;279(1):71-6.

14- Xie Y, He Y, Irwin PL, Jin T, Shi X. Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against Campylobacter jejuni. Appl Environ Microbiol. 2011;77(7):2325-31.

15- Dutta RK, Nenavathu BP, Gangishetty MK. Correlation between defects in capped ZnO nanoparticles and their antibacterial activity. J Photochem Photobiol B. 2013;126:105-11.

16- Li X, Xing Y, Jiang Y, Ding Y, Li W. Antimicrobial activities of ZnO powder-coated PVC film to inactivate food pathogens. Int J Food Sci Technol. 2009;44(11):2161-8.

17- Vicentini DS, Smania A, Laranjeira MCM. Chitosan/poly (vinyl alcohol) films containing ZnO nanoparticles and plasticizers. Mater Sci Eng. 2010;30(4):503-8.

18- Shankar Sh, Teng X, Li G, Rhim JW. Preparation, characterization, and antimicrobial activity of gelatin/ZnO nanocomposite films. Food Hydrocoll. 2015;45:264-71.

19- Abdollahzadeh E, Ojagh SM, Hosseini H, Irajian Gh, Ghaemi EA. Prevalence and molecular characterization of Listeria spp. and Listeria monocytogenes isolated from fish, shrimp, and cooked ready-to-eat (RTE) aquatic products in Iran. LWT Food Sci Technol. 2016;73:205-11.

20- Valderrama WB, Ostiguy N, Cutter CN. Multivariate analysis reveals differences in biofilm formation capacity among Listeria monocytogenes lineages. Biofouling. 2014;30(10):1199-209.

21- Alizadeh H, Salouti M, Shapouri R. Intramacrophage antimicrobial effect of silver nanoparticles against Brucella melitensis 16M. Scientia Iranica. 2013;20(3):1035-8.

22- Remmal A, Bouchikhi T, Rhayour K, Ettayebi M,

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-13]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.7.1.5.0]

27- Sarwar S, Chakraborti S, Bera S, Sheikh IA, Hoque KM, Chakrabarti P. The antimicrobial activity of ZnO nanoparticles against Vibrio cholerae: Variation in response depends on biotype. Nanomedicine. 2016;12(6):1499-509.
28- Venkatasubbu GD, Baskar R, Anusuya T, Seshan CA, Chelliah R. Toxicity mechanism of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles against food pathogens. Colloids Surf B Biointerfaces. 2016;148:600-6.
29- Wang Sh, Wu J, Yang H, Liu X, Huang Q, Lu Zh. Antibacterial activity and mechanism of Ag/ZnO nanocomposite against anaerobic oral pathogen Streptococcus mutans. J Mater Sci Mater Med. 2017;28(1):23.
30- Lianou A, Stopforth JD, Yoon Y, Wiedmann M, Sofos JN. Growth and stress resistance variation in culture broth among Listeria monocytogenes strains of various serotypes and origins. J Food Prot. 2006;69(11):2640-7.
31- Ruparelia JP, Chatterjee AK, Duttagupta SP, Mukherji S. Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. Acta Biomater. 2008;4(3):707-16.
Tantaoui-Elaraki A. Improved method for the determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. J Essent Oil Res. 1993;5(2):179-84.
23- Ma Q, Davidson PM, Zhong Q. Antimicrobial properties of lauric arginate alone or in combination with essential oils in tryptic soy broth and 2% reduced fat milk. Int J Food Microbiol. 2013;166(1):77-84.
24- Cava-Roda RM, Taboada-Rodríguez A, Valverde-Franco MT, Marín-Iniesta F. Antimicrobial activity of vanillin and mixtures with cinnamon and clove essential oils in controlling listeria monocytogenes and escherichia coli O157:H7 in Milk. Food Bioprocess Technol. 2012;5(6):2120-31.
25- Zhang Y, Liu X, Wang Y, Jiang P, Quek SY. Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil against Escherichia coli and Staphylococcus aureus. Food Control. 2016;59:282-9.
26- Gill AO, Holley RA. Mechanisms of bactericidal action of cinnamaldehyde against Listeria monocytogenes and of eugenol against L. monocytogenes and Lactobacillus sakei. Appl Environ Microbiol. 2004;70(10):5750-5.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-13]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.7.1.5.0]