

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- مربی پژوهشی، گروه پژوهشی کیفیت و ایمنی مواد غذایی، جهاددانشگاهی واحد مشهد

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

۳- مربی پژوهشی، گروه پژوهشی فرآوری مواد غذایی، جهاددانشگاهی واحد مشهد

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

تلفن: ۸۷۹۱۰۰۰ (۰۵۱۱)، نمابر: ۸۷۹۵۵۳۰ (۰۵۱۱)

پست الکترونیک: mehraban@acecr.ac.ir

تاریخ تصویب: ۸۵/۱۰/۲۵

تاریخ دریافت: ۸۴/۱۱/۲۶

چکیده

مقدمه: کاکوتی کوهی گیاهی متعلق به خانواده نعنائیان 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 میکروب‌کشی (MBC) آن تعیین گردید.

روش بررسی: اثر مهارکنندگی و باکتری‌کشی اسانس کاکوتی کوهی بر شش باکتری گرم منفی (انتروباکتر آئروژنز، اشرشیاکلی، کلبسیلا نومونیا، سالمونلا انتریتیدیس، سودوموناس آئروژینوزا و شیگلا دیزنتری) و سه باکتری گرم مثبت (باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسایتوژنز) 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 نوترینت آگار صفر بود به عنوان حداقل غلظت میکروب‌کشی (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 میکروب‌کشی این اسانس برای باکتری‌های گرم منفی انتروباکتر آئروژنز، اشرشیاکلی، کلبسیلا نومونیا و سالمونلا انتریتیدیس به ترتیب ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۲۵ و ۲۵۰ $\mu\text{g/l}$ بود. حداقل غلظت مهارکنندگی برای باکتری‌های گرم مثبت لیستریا مونوسایتوژنز و استافیلوکوکوس اورئوس ۱۲۵ $\mu\text{g/l}$ و برای باسیلوس سرئوس ۱۰۰۰ $\mu\text{g/l}$ بود.

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

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



مقدمه

بررسی اورلی و همکاران (۱۹۹۲) نشان داد اسانس مرزنجوش و آویشن بر چهار سویه لیستریا مونوسایتوزنز^۱ اثر ضد میکروبی دارد [۱۲]. در پژوهش دیگری اثر ضد میکروبی اسانس آویشن بر استافیلوکوکوس اورئوس^۲ و اشرشیاکلی بررسی شد و مشخص گردید که اسانس آویشن در رقت $\frac{1}{16}$ از رشد اشرشیاکلی و در رقت $\frac{1}{8}$ از رشد استافیلوکوکوس اورئوس جلوگیری می‌کند [۱۳]. اسمیت پالمر و همکاران (۲۰۰۱) اثر اسانس آویشن را بر لیستریا مونوسایتوزنز و سالمونلا انتريتيدیس^۳ بررسی کردند و نشان دادند اسانس آویشن از رشد این باکتری‌ها در پتیر کم چرب جلوگیری می‌کند [۱۴]. والرو و سالمرون (۲۰۰۳) مشاهده نمودند اسانس نعناع در غلظت $0.5 \mu\text{g/ml}$ ، اسانس مریم گلی در غلظت $0.35 \mu\text{g/ml}$ و اسانس آویشن در غلظت $0.25 \mu\text{g/ml}$ می‌توانند رشد باسیلوس سرئوس^۴ را مهار کنند [۱۵]. بررسی‌های سوکمن و همکاران (۲۰۰۴) نشان داد اسانس آویشن می‌تواند از رشد کلبسیلا نومونیا^۵، سالمونلا انتريتيدیس، استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سابتلیس^۶ و انتروکوکوس فکالیس^۷ 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 استافیلوکوکوس اورئوس و کلبسیلا نومونیا، *Salvia multicaulis* از رشد استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، اشرشیاکلی و کلبسیلا نومونیا و *Salvia tomentosa* از رشد استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، انتروباکتر آئروژنز^۸ و کلبسیلا نومونیا جلوگیری می‌کنند ولی اسانس سه گونه فوق اثری بر سودوموناس آئروژینوزا^۹ 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

گیاه کاکوتی کوهی^۱ متعلق به جنس زیزیفورا و تیره نعنائیان^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 عفونی‌کننده برای رفع سرماخوردگی به کار می‌رود [۱]. اجزای کاکوتی کوهی فعالیت ضدتوموری دارد و رشد نوعی از تومورهای بدخیم^۸ را تا ۳۲/۶ درصد و غدد سرطانی^۹ را تا ۴۷/۵ درصد کاهش می‌دهد [۸]. عنصر اصلی اسانس در تعدادی از گیاهان خانواده نعنائیان از جمله کاکوتی، پولگون است [۹، ۱۰، ۱۱]. پولگون دارای خاصیت بارز ضدباکتری و ضدقارچی بوده و به ویژه روی سوش‌های مختلف سالمونلا موثر است [۶]. پولگون قادر است از رشد کاندیدا آلیکانس^{۱۰} و سالمونلا تیفی موریوم^{۱۱} جلوگیری نماید و اثر آن بر کاندیدا آلیکانس دو برابر نیستاتین^{۱۲} است [۱۱].

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

¹ *Ziziphora clinopodioides* L.

² Labiatae or Lamiaceae

³ *Mentha*

⁴ *Thymus*

⁵ *Lavandula*

⁶ *Origanum*

⁷ *Ziziphora*

⁸ Sarcoma 180

⁹ Carcinoma

¹⁰ *Candida albicans*

¹¹ *Salmonella typhimurium*

¹² Nistatine

¹ *Listeria monocytogenes*

² *Staphylococcus aureus*

³ *Salmonella enteritidis*

⁴ *Bacillus cereus*

⁵ *Klebsiella pneumoniae*

⁶ *Bacillus subtilis*

⁷ *Enterobacter faecalis*

⁸ *Enterobacter aerogenes*

⁹ *Pseudomonas aeruginosa*



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 آئروژنز، شینگلا دیزنتری^۱، سودوموناس آئروژینوزا، لیستریا مونوسایتوزنز، باسیلوس سرئوس و کلبسیلا نومونیا) و موسسه سرم‌سازی رازی (سالمونلا انتریتیدیس) خریداری گردید.

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

محیط کشت مولر هینتون مایع با غلظت‌های ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میکروگرم بر لیتر از اسانس در لوله‌های در پیچ دار در سه تکرار آماده شد [۲۱، ۲۲] و برای رسیدن غلظت نهایی میکروارگانیسم‌ها به 5×10^6 cfu/ml، به هر لوله از سوسپانسیون میکروبی ۰/۵ مک‌فارلند اضافه شد [۲۰]. لوله‌ها در دمای ۳۷ - ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸-۲۴ ساعت در گرم‌خانه نگهداری شدند. پایین‌ترین غلظتی که هیچ‌گونه کدورتی در آن مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)^۳ تعیین گردید. برای مشخص کردن حداقل غلظت کشندگی (MBC)^۴ از کلیه رقت‌هایی که کدورتی در آن‌ها مشاهده نشد در محیط نوترینت آگار، کشت سطحی

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 مواد غذایی شامل انتروباکتر آئروژنز، اشرشیاکلی، کلبسیلا نومونیا، سودوموناس آئروژینوزا، سالمونلا انتریتیدیس، شینگلا دیزنتری، باسیلوس سرئوس، لیستریا مونوسایتوزنز 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 آئروژنز و سالمونلا انتریتیدیس $250 \mu\text{g/l}$ ، اشرشیاکلی $500 \mu\text{g/l}$ و کلبسیلا نومونیا $125 \mu\text{g/l}$ بود و حداقل غلظت میکروب‌کشی (MBC) این اسانس برای باکتری‌های فوق‌الذکر با حداقل غلظت مهارکنندگی آن برابر بود. اسانس کاکوتی کوهی تأثیری بر باکتری‌های گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا و شینگلا 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 مونوسایتوزنز و استافیلوکوکوس اورئوس $125 \mu\text{g/l}$ و برای باسیلوس سرئوس $1000 \mu\text{g/l}$ به دست آمد. حداقل غلظت میکروب‌کشی اسانس کاکوتی کوهی برای لیستریا مونوسایتوزنز با حداقل غلظت مهارکنندگی آن برابر بود ولی برای استافیلوکوکوس اورئوس معادل $500 \mu\text{g/l}$ است و روی باسیلوس سرئوس در دامنه غلظت مورد بررسی فقط اثر مهارکنندگی داشت. لیستریا مونوسایتوزنز حساس‌ترین باکتری گرم مثبت در مقابل اسانس کاکوتی کوهی بود.

¹ *Shigella dysenteriae* ² Muller Hinton Broth

³ Minimum Inhibitory Concentration

⁴ Minimum Bactericidal Concentration



جدول شماره ۱- میانگین تعداد کلنی های باکتری های مولد فساد و بیماری زای مواد غذایی (cfu/ml) در غلظت های مختلف اسانس کاکوتی کوهی

غلظت اسانس (µg/l)							گونه باکتری
۴۰۰۰	۲۰۰۰	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۰	
.	.	.	.	*	$8/7 \times 10^7$	$5/2 \times 10^9$	انتروباکتر آئروژنز
.	.	.	*	$2/5 \times 10^7$	$8/5 \times 10^7$	$1/22 \times 10^{10}$	اشرشیا کلی
.	.	.	.	.	*	$9/5 \times 10^9$	کلبسیلا نومونیا
$1/4 \times 10^7$	$1/61 \times 10^7$	$2/2 \times 10^7$	$2/95 \times 10^7$	$3/4 \times 10^7$	$2/26 \times 10^8$	1×10^{10}	سودوموناس آئروژینوزا
.	.	.	.	*	3×10^6	5×10^9	سالمونلا انتریتیدیس
3×10^6	4×10^6	$4/5 \times 10^6$	$1/79 \times 10^7$	$6/7 \times 10^7$	1×10^8	$7/9 \times 10^9$	شیگلا دیزنتری
5×10^3	$6/7 \times 10^3$	$8/2 \times 10^3$	5×10^7	7×10^7	4×10^8	$1/1 \times 10^{10}$	باسیلوس سرئوس
.	.	.	.	.	*	$1/14 \times 10^9$	لیستریا مونوسایتوژنز
.	.	.	.	6×10^2	6×10^4	$4/1 \times 10^9$	استافیلوکوکوس اورئوس

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

بحث

در این پژوهش اسانس کاکوتی کوهی بر باکتری های مولد فساد و بیماری زای مورد آزمایش (بجز سودوموناس آئروژینوزا و شیگلا دیزنتری) دارای اثر ضد میکروبی بود (جدول شماره ۱).

مشاهدات نشان داد که اسانس کاکوتی کوهی بر باکتری های گرم منفی شامل انتروباکتر آئروژنز، اشرشیاکلی، کلبسیلا نومونیا، سالمونلا انتریتیدیس اثر مهارکنندگی و میکروب کشی دارد ولی بر سودوموناس آئروژینوزا و شیگلا دیزنتری اثری ندارد. کیوانس و آنگول (۱۹۸۶) در بررسی ای که روی اثر ضد میکروبی اسانس کاکوتی بومی ترکیه انجام دادند به نتایجی مشابه دست یافتند. نتایج بررسی آن ها نشان داد اسانس کاکوتی می تواند از رشد باکتری های گرم منفی اشرشیاکلی و انتروباکتر آئروژنز جلوگیری نماید و اثری بر سودوموناس آئروژینوزا ندارد [۲۳].

نتایج فوق با نتایج حاصل از تحقیقات صالحی و همکاران (۲۰۰۵) روی اثر ضد میکروبی اسانس کاکوتی کوهی هم خوانی دارد. بررسی های آن ها نشان داد اسانس کاکوتی کوهی می تواند از رشد باکتری های گرم منفی اشرشیاکلی و کلبسیلا نومونیا جلوگیری کند. هم چنین عدم فعالیت ضد میکروبی اسانس کاکوتی کوهی در مقابل سودوموناس آئروژینوزا در بررسی آن ها مشاهده شد [۲۴].

نتایج این پژوهش نشان داد اسانس کاکوتی کوهی بر باکتری های گرم مثبت مورد آزمایش شامل باسیلوس سرئوس، لیستریا مونوسایتوژنز و استافیلوکوکوس اورئوس اثر ضد میکروبی دارد. در تحقیق کیوانس و آنگول (۱۹۸۶) نیز اثر ضد میکروبی اسانس کاکوتی بومی ترکیه بر باکتری های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سابتلیس مشاهده شد [۲۳]. نتایج حاصل از تحقیقات صالحی و همکاران (۲۰۰۵) نیز نشان داد اسانس کاکوتی کوهی می تواند از رشد باکتری های گرم مثبت باسیلوس سابتلیس و استافیلوکوکوس اورئوس جلوگیری کند [۲۴].

تپه و همکاران (۲۰۰۵) نیز نشان دادند اسانس گیاه سیکلوتریکوم اوریکانیفولیوم^۱ که پولگون جزء اصلی آن است دارای اثر ضد میکروبی بوده و می تواند رشد باکتری های اشرشیاکلی، کلبسیلا نومونیا، انتروباکتر آئروژنز، باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس را مهار کند و بر سودوموناس آئروژینوزا اثری ندارد [۲۵].

دورو و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند جزء اصلی اسانس گیاه میکرومریا سیلیسیکا^۲ را پولگون تشکیل می دهد و اسانس

^۱Cyclotrichium origanifolium^۲Micromeria cilicica

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 مسأله نقطه عطفی برای روش‌های جدید ایمن سازی غذا به وسیله راه‌های طبیعی یا «سبز» است که یکی از آن‌ها استفاده از اسانس‌های گیاهی به عنوان افزودنی‌های ضدباکتریایی است [۱۴،۲۰]. بنابراین با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان استفاده از اسانس کاکوتی‌کوهی را به عنوان یک ترکیب نگهدارنده و طعم‌دهنده طبیعی در فرآورده‌های غذایی پیشنهاد نمود.

این گیاه بر باکتری‌های انتروباکتر آئروژنز، اشرشیاکلی، سالمونلا تیفی موریوم، باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس اثر ضد میکروبی دارد. بر خلاف نتایج سایر بررسی‌ها، آن‌ها مشاهده نمودند اسانس این گیاه قادر به مهار رشد سودوموناس آئروژینوزا است [۲۶].

اکثر این تحقیقات نشان می‌دهد که حساسیت باکتری‌های گرم منفی در مقابل ترکیبات ضد میکروبی 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 اسانس‌های 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 Pajooresh 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, Oganessian 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 nepta* 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 cilicica* from Turkey. *Journal of Ethnopharmacology* 2003; 94: 43-48.
12. Aureli P, Costantini A, Zolea S. Antimicrobial Activity of Some Plant Essential Oils Against *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 Journal 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. Antimicrobial 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 Journal* 1986; 1 (4/5): 175-179.

24. Salehi P, Sonboli A, Eftekhari 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 organifolium* (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.

