مقاله تحقیقی

مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل
سال ۱۳۹۸، دوره ۲۱، صفحه ۲۹۸-۲۹۳

مقایسه اثرات هیدروسل استخراجی از زردچوبه (Curcuma longa) و دارچین (Cinnamomum verum) بر بیوفیلم استافیلوکوکی

زهره دیدار (PhD)[۱*]، علی محمدی ثانی (PhD)[۲]

۱- گروه صنایع غذایی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران
۲- گروه صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران

دریافت: ۹۷/۱۰/۶، اصلاح: ۹۸/۲/۲۴، پذیرش: ۹۸/۳/۲۱

خلاصه

سابقه و هدف: بیوفیلم باکتری‌ها بخصوص باکتری‌های پاتوژن، بدلیل مقاومت بالایی که نسبت به ترکیبات ضدعفونی‌کننده دارند، ایمنی غذایی را به خطر می‌اندازند؛ استفاده از محصولات گیاهی عصاره، اسانس و هیدروسل بخش آبی باقیمانده در طی استخراج اسانس‌های گیاهی از جمله روش‌های مبارزه با بیوفیلم‌های میکروبی است. لذا در این مطالعه اثر ضد بیوفیلمی هیدروسل زردچوبه و دارچین مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی با استفاده از روش تقطیر با بخار آب، هیدروسل دو گیاه زردچوبه و دارچین استخراج شد و پس از جداسازی بخش روغنی اسانس، غلظت‌های ۱۰، ۳۰ و ۵۰ درصد جهت بررسی اثرات ضد بیوفیلمی مورد استفاده قرار گرفت. اثر ضد بیوفیلمی در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC 1112)، *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* (PTCC 1440) و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* (PTCC 1435) با استفاده از دستگاه الایزا ریدر انجام شد. میزان کارایی هر دو هیدروسل در حذف کردن بیوفیلم‌های باکتریایی تشکیل شده بر روی سطوح مختلف (شیشه، استیل و پلی وینیل کلراید) با استفاده از روش کشت میکروبی صورت پذیرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد میزان دانسیته نوری در مورد نمونه کنترل باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اپیدرمیدیس* و *ساپروفیتیکوس* به ترتیب ۰/۰۳±۰/۲۵۴، ۰/۰۱۹±۰/۱۳۸ و۰/۰۱۷± ۰/۱۴۶ بود، که بعد از مواجهه با هیدروسل دارچین با غلظت ۵۰ درصد به ترتیب به مقادیر ۰/۰۱۱±۰/۰۷۲، ۰/۰۲۱±۰/۰۹۶ و ۰/۰۱±۰/۰۶۴ و با هیدروسل زردچوبه با غلظت ۵۰ درصد نیز به ترتیب به مقادیر ۰/۰۲±۰/۰۷۴، ۰/۰۲۱±۰/۰۹۸ و ۰/۰۱۱±۰/۰۵۷ رسید. بررسی کارایی هیدروسل در حذف بیوفیلم‌های تشکیل شده نشان داد که بیشترین کاهش در مورد بیوفیلم *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* تشکیل شده بر روی سطوح شیشه و استیل بود که در مواجهه با هیدروسل با غلظت ۵۰ درصد، لگاریتم جمعیت از ۴ به ۱ رسید ($p\leq ۰/۰۵$).

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که هیدروسل استخراجی دارچین و زردچوبه در جلوگیری از تشکیل بیوفیلم باکتری‌های استافیلوکوکی و نیز حذف کردن بیوفیلم تشکیل شده، مؤثر هستند.

واژه های کلیدی: دارچین، زردچوبه، بیوفیلم، *استافیلوکوکوس*.

مقدمه

استفاده بی رویه از آنتی بیوتیک‌ها و ترکیبات ضد میکروبی سبب بروز مقاومت میکروبی گردیده است. میزان مقاومت میکروارگانیسم‌ها در شرایط تشکیل بیوفیلم افزایش پیدا می‌کند. این امر سبب افزایش توجه محققان به بررسی ترکیبات ضد میکروبی جدید با عوارض جانبی کم شده است. عصاره‌های و اسانس‌های گیاهی از جمله این ترکیبات هستند (۱). باکتری‌های بیماری‌زایی مانند *اشرشیاکلی*، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *سالمونلا تیفی موریوم*، *کمپیلوباکتر ژژونی* و *یرسینیا انتروکولیتیا* می‌توانند به آسانی بیوفیلم تولید کنند یا قسمتی از یک جمعیت بیوفیلم را تشکیل دهند، که ضدعفونی کردن و تمیز کردن سطوح را دشوار می‌کند (۲). برخی تحقیقات به اثر ضد بیوفیلمی هیدروسل‌های گیاهی متمرکز شده است. هیدروسل محصول جانبی استخراج اسانس‌های گیاهی است. برای جداسازی هیدروسل از اسانس گیاهی، مایع حاصل از تقطیر گیاه در قیف جداکننده ریخته می شود؛ این مایع به دو قسمت زیرین و بالایی تقسیم می‌گردد که بخش روغنی بالایی اسانس و بخش مایع باقیمانده زیرین، هیدروسل نامیده می‌شود. هیدروسل محصول جانبی در تهیه اسانس‌های گیاهی حاوی ترکیبات زیست فعال هستند. Cid-Pérez و همکاران اثرات ضدمیکروبی، آنتی اکسیدانی پونه کوهی مکزیکی (*Poliomintha longiflora*) را گزارش کرده‌اند (۳). Acheampong و همکاران اثرات ضد میکروبی هیدروسل گیاه علف لیمو (*Cymbopogon nardus*)، ریحان میخکی (*Ocimum gratissimum*) و هیدروسل پوست پرتغال بر روی *اشرشیاکلی*، *باسیلوس سوبتلیس* و *انتروکوکوس فکالیس* را گزارش نموده‌اند (۴). اثر ضدمیکروبی قوی هیدروسل استخراجی گیاه *Nepeta nepetella* در برابر *کلبسیلا پنومونی*، *انتروکوکوس فکالیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سوبتلییس*، *لیستریا مونوسیتوژنز* گزارش شده است. مطابق این تحقیق باکتری‌های

▣ این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ۱۳۹۷،۰۱۲ دانشگاه آزاد اسلامی نیشابور می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر زهره دیدار
آدرس: نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی واحد نیشابور، دانشکده علوم پایه، گروه صنایع غذایی. تلفن: ۰۵۱-۴۲۶۲۱۹۰۵
E-mail: z_didar57@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1398.21.1.45.0]
[DOI: 10.22088/jbums.21.1.293]

گرم مثبت حساسیت بیشتری نسبت به باکتری‌های گرم منفی نشان دادند و *باسیلوس سرئوس* بیشترین حساسیت را نشان داده است (۵). اثرات ضد کپکی (۶) و ضد ویروسی (۷) هیدروسل‌های مختلف گیاهی نیز گزارش شده است. تحقیقاتی در خصوص اثرات ضد بیوفیلمی هیدروسل‌های گیاهی نیز انجام شده است از جمله Karampoula و همکاران گزارش نموده اند هیدروسل گیاه *Thymbra capitata* اثر ضد بیوفیلمی بر روی *سالمونلا تیفی موریوم* داشته و سبب کاهش بیش از ۷/۵ لگاریتم در تشکیل بیوفیلم این میکروارگانیسم می‌گردد (۵). تاکنون بررسی در خصوص اثرات هیدروسل زردچوبه و دارچین بر روی بیوفیلم‌های استافیلوکوکی انجام نشده است. هدف از این تحقیق بررسی اثر هیدروسل استخراجی زردچوبه (*Curcuma longa*) و دارچین (*Cinnamomum verum*) در برابر تشکیل بیوفیلم *استافیلوکوکوس اورئوس* (*PTCC 1112*)، *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* (*PTCC 1440*)، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*(PTCC 1435) همچنین بررسی اثر این دو نوع هیدروسل در حذف کردن بیوفیلم تشکیل شده بر روی سطوح مختلف (شیشه، پلی وینیل کلراید و استیل ضد زنگ) است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی در آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی نیشابور با کد اخلاق IR.IAU.NEYSHABUR.REC.۱۳۹۷.۰۱۲ انجام گردید. دارچین (*Cinnamomum verum*) و زردچوبه (*Curcuma longa*) از بازار محلی تهیه شد و جهت استخراج هیدروسل: ۱۰۰ گرم از هر کدام آسیاب شده و در فلاسک ۲ لیتری دارای ۱ لیتر آب (۱:۱۰ وزنی/حجمی) برای مدت ۲ ساعت توسط دستگاه کلونجر حرارت داده شده و عمل تقطیر با بخار انجام شد. پس از خاتمه، اسانس روغنی توسط قیف جداکننده از بخش هیدروسل جداسازی گردید و هیدروسل حاصله در بطری استریل در دمای ۴ ^{o}C تا زمان استفاده، قرار داده شد (۸). استرلیزاسیون هیدروسل با استفاده از فیلتر غشایی با اندازه منافذ ۰/۴۵ میکرومتر انجام شد و هیدروسل حاصله به عنوان غلظت ۱۰ درصد در نظر گرفته شد (۹). جهت تغلیظ هیدروسل و تهیه غلظت‌های مختلف هیدروسل از آون استفاده شد. سویه‌های میکروبی *استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1112)*، *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس (PTCC 1440)*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس PTCC (1435)* به صورت لیوفیلیزه از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید. ویال باکتریایی در شرایط استریل، شکسته شده و به محیط براث مناسب (تریپتوز سوی براث در مورد *استافیلوکوکوس اورئوس* و نوترینت براث در مورد *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*) منتقل گردید و برای مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷^{o}C، گرمخانه گذاری شد. سلول‌های میکروبی توسط سانتریفوژ مدل ALC4232 با دور ۴۰۰۰rpm جدا شدند. توسط روش مک فارلند جمعیت باکتریایی تعیین شد و رقیق سازی تا رسیدن به جمعیت حدود $۱۰^{۶}$ کلنی در هر میلی لیتر صورت گرفت (۱۰).

بررسی اثر هیدروسل‌ها در جلوگیری از تشکیل بیوفیلم توسط گونه‌های استافیلوکوکوس: جهت بررسی تشکیل بیوفیلم، از محیط‌های براث گرمخانه گذاری شده به میزان ۲۰۰ میکرولیتر به میکروپلیت ۹۶ چاهک از جنس پلی استایرن منتقل شد. به منظور بررسی اثر هیدروسل‌های گیاهی در تشکیل بیوفیلم میکروبی، غلظت‌های مختلف هیدروسل استخراجی دارچین و زردچوبه (۵۰، ۳۰، ۱۰ درصد) نیز به میزان ۲۰۰ میکرولیتر به هر یک از چاهک‌های میکروپلیت حاوی میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه اضافه شد و در دمای ۳۷ ^{o}C به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری گردید. چاهک‌های حاوی محیط کشت براث استریل به تنهایی به عنوان شاهد استفاده شد.

پس از گرمخانه گذاری، محیط کشت براث تخلیه شد و هر یک از چاهک‌ها سه مرتبه با ۲۰۰ میکرولیتر بافر فسفات حاوی نمک (pH=۷/۴) شستشو گردید تا سلول‌های آزاد خارج شوند و به صورت معکوس قرار داده شد تا خشک گردد. سپس توسط اتانل ۹۵٪ لایه بیوفیلم تثبیت گردید و توسط ۱۰۰ میکرولیتر کریستال ویوله ۱٪ به مدت ۵ دقیقه رنگ آمیزی شد. باقیمانده رنگ توسط آب مقطر استریل سه مرتبه شستشو گردید و میکروپلیت به مدت ۳۰ دقیقه خشک گردید سپس دانسیته نوری در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط الایزا ریدر (مدل AWARNESS) در هر چاهک قرائت شد. میزان تشکیل بیوفیلم بدین صورت دسته بندی گردید. دانسیته نوری بیشتر از ۱ نشان دهنده تشکیل بیوفیلم به میزان زیاد؛ دانسیته نوری بین ۰/۱ و ۱ نشان دهنده تشکیل بیوفیلم به میزان متوسط و دانسیته نوری کمتر از ۰/۱ نشان دهنده عدم تشکیل بیوفیلم (۱۱).

بررسی اثر هیدروسل‌ها بر حذف کردن بیوفیلم تشکیل شده توسط گونه‌های *استافیلوکوکوس* بر روی سطوح مختلف (شیشه، استیل ضد زنگ، پلی وینیل کلراید). جهت بررسی تشکیل بیوفیلم بر روی شیشه، استیل ضد زنگ و پلی وینیل کلراید، ابتدا قطعات ۱/۵ cm^2 از این جنس‌ها با قرار گرفتن در اتانل ۷۰٪ به مدت ۳۰ دقیقه استریل شده و سپس توسط آب مقطر استریل شستشو شدند. سپس داخل دستگاه اولتراسونیک مارک Eurosonic برای مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شدند و مجدد با آب مقطر استریل شستشو شده و خشک شدند. سپس میزان ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی بر روی هر یک قرار داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷^{o}C گرمخانه گذاری شدند.

سپس قطعات استیل ضد زنگ، شیشه و پلی وینیل کلراید حاوی بیوفیلم توسط آب نمک استریل ۰/۸۵ درصد شستشو شدند و در داخل لوله‌های حاوی هیدروسل استخراجی از دارچین و یا زردچوبه قرار گرفتند و با سرعت ۹۰ دور در دقیقه برای مدت ۳۰ دقیقه هم‌زده شدند. پس از انجام سایر مراحل شستشو، بر روی محیط کشت مناسب منتقل شده (تریپتوز سوی آگار در مورد *استافیلوکوکوس اورئوس* و نوترینت آگار در مورد *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *ساپروفیتیکوس*) و در دمای ۳۷ ^{o}C به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شدند و سپس شمارش سلولی صورت گرفت (۱۲). اثر انواع مختلف هیدروسل و نیز غلظت‌های مختلف هیدروسل بر میزان تشکیل بیوفیلم و نیز میزان حذف کردن بیوفیلم باکتریهای مورد بررسی به صورت میانگین و خطای استاندارد میانگین (Mean±SD) ثبت شد. محاسبات آماری توسط نرم افزار SPSS۱۴ و با تست ANOVA انجام شد و $p\leq۰/۰۵$ معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها

نتایج مطالعه نشان داد که *استافیلوکوکوس اورئوس*، *ساپروفیتیکوس* و *اپیدرمیدیس* توانایی تشکیل بیوفیلم را داشته و با قرارگرفتن در معرض هیدروسل-های دارچین و زردچوبه، این ویژگی به میزان قابل توجهی کاهش یافت ($p<۰/۰۵$)

[DOR: 20.1001.1.15614107.1398.21.1.45.0]
[DOI: 10.22088/jbums.21.1.293]

(جدول ۱) و هیدروسل‌های مورد مطالعه در غلظت‌های بالاتر اثر بیشتری در جلوگیری از تشکیل بیوفیلم‌های باکتریایی داشتند و بیشترین اثر گذاری مربوط به غلظت ۵۰ درصد بود ($p<۰/۰۵$) (جدول۱).

بررسی‌ها نشان داد هیدروسل‌های دارچین و زردچوبه توانایی حذف کردن بیوفیلم‌های تشکیل شده از *استافیلوکوکوس اورئوس*، *ساپروفیتیکوس* و *اپیدرمیدیس* بر روی سطوح مختلف شیشه، استیل ضد زنگ و پلی وینیل کلراید را دارند ($p<۰/۰۵$)(شکل۱). در بین استافیلوکوکوس‌های مورد بررسی، بیوفیلم حاصل از *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاومت بیشتری در برابر هیدروسل‌ها نشان داد و میزان حذف شدن بیوفیلم این گونه باکتریایی در برابر هر دو هیدروسل ناچیز است ولی بیوفیلم *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* حساسیت زیادی نسبت به هیدروسل‌های مورد بررسی نشان داده است به طوری که در مواجهه با غلظت ۵۰ درصد از هیدروسل زردچوبه و دارچین، لگاریتم جمعیت این گونه باکتریایی به ترتیب به ۱ و ۱/۳ در مورد استیل و شیشه رسیده است (جدول۲).

در میان بیوفیلم تشکیل شده بر روی سطوح مختلف (استیل ضد زنگ، شیشه و پلاستیک) بیشترین کاهش در بیوفیلم تشکیل شده بر روی استیل و شیشه مشاهده گردید.

جدول ۱. میزان دانسیته نوری در طول موج ۵۷۰ نانومتر

استافیلوکوکوس اورئوس		*استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*		*استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس*	
به تنهایی	۰/۲۵۴±۰/۰۳^{a}	به تنهایی	۰/۱۳۸±۰/۰۱۹^{a}	به تنهایی	۰/۱۴۶±۰/۰۱۷^{a}
هیدروسل دارچین (۱۰٪)	۰/۱۵۷±۰/۰۲۷^{b}	هیدروسل دارچین (۱۰٪)	۰/۱۱۱±۰/۰۱۴^{ab}	هیدروسل دارچین (۱۰٪)	۰/۱۳۹±۰/۰۱۹^{ab}
هیدروسل دارچین (۳۰٪)	۰/۱۴۸±۰/۰۲۱^{b}	هیدروسل دارچین (۳۰٪)	۰/۱۰۸±۰/۰۱۳^{ab}	هیدروسل دارچین (۳۰٪)	۰/۱۳۴±۰/۰۲۰^{ab}
هیدروسل دارچین (۵۰٪)	۰/۰۷۲±۰/۰۱۱^{c}	هیدروسل دارچین (۵۰٪)	۰/۰۹۶±۰/۰۲۱^{b}	هیدروسل دارچین (۵۰٪)	۰/۰۶۴±۰/۰۱۰^{c}
هیدروسل زردچوبه (۱۰٪)	۰/۱۵۴±۰/۰۱^{b}	هیدروسل زردچوبه (۱۰٪)	۰/۱۲۱±۰/۰۱۸^{ab}	هیدروسل زردچوبه (۱۰٪)	۰/۱۱۹±۰/۰۱۰^{ab}
هیدروسل زردچوبه (۳۰٪)	۰/۱۴۴±۰/۰۲۴^{b}	هیدروسل زردچوبه (۳۰٪)	۰/۱۱۲±۰/۰۱۳^{ab}	هیدروسل زردچوبه (۳۰٪)	۰/۱۱۴±۰/۰۱۶^{b}
هیدروسل زردچوبه (۵۰٪)	۰/۰۷۴±۰/۰۲^{c}	هیدروسل زردچوبه (۵۰٪)	۰/۰۹۸±۰/۰۲۱^{b}	هیدروسل زردچوبه (۵۰٪)	۰/۰۵۷±۰/۰۱۱^{c}

اعداد با حروف مختلف در هر ستون، نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح $p<۰/۰۵$ هستند (اعداد بیشتر از ۱ نشان دهنده تشکیل زیاد بیوفیلم؛ اعداد بین ۰/۱ تا ۱ نشان دهنده تشکیل متوسط بیوفیلم ؛ اعداد کمتر از ۰/۱ نشان دهنده عدم تشکیل بیوفیلم) می باشند.

جدول ۲. اثر غلظت‌های مختلف هیدروسل دارچین و زردچوبه بر لگاریتم جمعیت باکتریایی بیوفیلم‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* بر روی جنس‌های مختلف سطوح

نوع هیدروسل	غلظت	استیل			شیشه			پلی وینیل کلراید		
		استافیلوکوکوس اورئوس	*استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*	*استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس*	*استافیلوکوکوس اورئوس*	*استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*	*استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس*	*استافیلوکوکوس اورئوس*	*استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*	*استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس*
دارچین	٪۱۰	۳/۹۶^{a}	۲/۹^{i}	۱/۷۶^{o}	۳/۹۳^{abc}	۳/۶^{de}	۱/۷۶^{o}	۳/۹۳^{abc}	۳/۹۴^{ab}	۳^{hi}
	٪۳۰	۳/۸^{bc}	۲/۷^{jk}	۱/۵۶^{p}	۳/۸^{bc}	۳/۴^{f}	۱/۵۶^{p}	۳/۸^{bc}	۳/۶۵^{d}	۲/۶^{kh}
	٪۵۰	۳/۷۹^{c}	۲/۵^{h}	۱/۳^{q}	۳/۷۹^{c}	۳/۱۶^{g}	۱/۳^{q}	۳/۷۹^{c}	۳/۵۶^{de}	۲/۳^{l}
زردچوبه	٪۱۰	۳/۹۷^{a}	۲/۳^{l}	۱/۶^{p}	۳/۹۳^{abc}	۳/۵^{ef}	۱/۶^{p}	۳/۹۳^{abc}	۳/۹۳^{abc}	۲/۷۶^{j}
	٪۳۰	۳/۹۳^{abc}	۲/۲^{lm}	۱/۴^{q}	۳/۸^{bc}	۳/۱^{gh}	۱/۴^{q}	۳/۸^{bc}	۳/۶^{de}	۲/۱^{mn}
	٪۵۰	۳/۸^{bc}	۲/۱^{mn}	۱^{r}	۳/۷۹^{c}	۲/۹^{i}	۱^{r}	۳/۷۹^{c}	۳/۵^{ef}	۲^{n}

(حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار با آزمون دانکن (۵٪) است).

بحث و نتیجه گیری

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، هر سه باکتری مورد بررسی (*استافیلوکوکوس اورئوس*، *اپیدرمیدیس* و *ساپروفیتیکوس*) توانایی تشکیل بیوفیلم به میزان متوسط را دارا بودند که در مواجهه با هیدروسل‌های گیاهی (زردچوبه و دارچین) میزان تشکیل بیوفیلم توسط این گونه‌های باکتریایی کاهش یافت. تحقیقات مختلف وجود ترکیبات زیست فعال در هیدروسل‌های گیاه را تأیید نموده اند. از جمله مهم‌ترین این ترکیبات، آلدهید ها و الکل ها هستند (۱۳) که عامل ضد میکروبی در هیدروسل‌های گیاهی می‌باشند. در آنالیز ترکیبات تشکیل دهنده هیدروسل دارچین وجود انواع هیدروکربن‌ها، آلدهیدها و اسیدها مشخص گردیده است و از جمله ترکیبات شاخص در هیدروسل دارچین ترکیبی به نام سینامیک اسید متیل استر است. سایر ترکیبات بیواکتیو در هیدروسل دارچین شامل ولگارول، امرسول، اسید اولئیک و متیل پالمیتات می‌باشند (۱۴). اثرات ضد میکروبی و خاصیت ضد ویروسی و آنتی اکسیدانی سینامیک اسید و مشتقات آن توسط Sova و همکاران گزارش گردیده است (۱۵). خواص ضد بیوفیلمی گونه‌های مختلف گیاهی در سایر تحقیقات گزارش شده است؛ Mohammadi و همکاران اثر عصاره گیاه

[DOR: 20.1001.1.15614107.1398.21.1.45.0]
[DOI: 10.22088/jbums.21.1.293]

زنیان را بر بیوفیلم های گونه‌های مختلف باکتریایی بررسی نموده و گزارش کرده‌اند. عصاره این گیاه سبب کاهش ۹۸٪ در تشکیل بیوفیلم *استیتوباکتر بومانی* و ۱۹٪ در مورد *کلبسیلا پنومانی* شده است (۱). تفاوت در میزان کارایی عصاره‌های مختلف گیاهی بر روی بیوفیلم‌های میکروبی بستگی به نوع میکروارگانیسم، میزان مقاومت میکروبی در برابر عصاره‌های گیاهی و نیز بستگی به نوع ترکیبات زیست فعال تشکیل دهنده عصاره‌های گیاهی دارد. نتایج بررسی میزان کارایی هیدروسل استخراجی دارچین و زردچوبه در حذف کردن بیوفیلم‌های باکتریایی تشکیل شده بر روی سطوح با جنس‌های مختلف (استیل ضد زنگ، شیشه، پلی وینیل کلراید) مشخص گردید هر دو هیدروسل گیاهی مورد مطالعه در حذف کردن بیوفیلم‌های تشکیل شده باکتریایی موثر هستند و این اثر با افزایش غلظت هیدروسل، افزایش پیدا نمود. بیوفیلم حاصل از گونه‌های مختلف باکتری‌های مورد مطالعه، حساسیت متفاوتی در برابر هیدروسل‌های گیاهی نشان دادند به طوری که بیشترین حساسیت مربوط به *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* و کمترین حساسیت مربوط به *استافیلوکوکوس اورئوس* بود. نوع جنس سطح نیز در میزان کارایی هیدروسل در حذف کردن بیوفیلم باکتریایی اثر گذار است به طوری که حذف بیوفیلم باکتریایی بر روی جنس پلی وینیل کلراید در مواجهه با هیدروسل‌های گیاهی کمترین میزان و بر روی استیل ضد زنگ و شیشه بیشترین میزان را نشان داد. علت این امر، تفاوت در میزان زبری سطحی سه جنس مورد بررسی است. هر قدر میزان زبری سطح بیشتر باشد، سبب به تله افتادن تعداد بیشتری میکروارگانیسم در آن می‌شود و در نتیجه کارایی تمیز کردن را کاهش می‌دهد (۲). حذف شدن بیوفیلم‌های تشکیل شده توسط عصاره های گیاهی توسط سایر پژوهشگران نیز گزارش شده است از جمله Abeysundara و همکاران با بررسی اثر عصاره گرمک بر بیوفیلم‌های *سالمونلا* بر روی سطوح لاستیکی، استیل ضد زنگ، پلی اتیلن با وزن مولکولی بالا و پلی اورتان، گزارش نمودند نوع سطح تشکیل بیوفیلم بر میزان کارایی عصاره گیاهی مؤثر است به طوری که اثر عصاره گیاهی بر روی بیوفیلم تشکیل شده در جنس لاستیک نسبت به استیل ضد زنگ، پلی اتیلن و پلی اورتان کمترین میزان بوده است (۱۶). طبق نتایج این تحقیق، هیدروسل‌های دارچین و زردچوبه هم در جلوگیری از تشکیل بیوفیلم‌های باکتریایی استافیلوکوکی و هم در حذف بیوفیلم‌های تشکیل شده استافیلوکوکی بر روی سطوح شیشه، استیل و پلی وینیل کلراید، اثر گذار هستند و غلظت ۵۰ درصد بیشترین تأثیر گذاری را نشان داد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد نیشابور و کارشناسان آزمایشگاه صنایع غذایی و میکروبیولوژی جهت فراهم نمودن امکانات مناسب برای انجام این تحقیق ، تشکر و قدردانی می‌گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1398.21.1.45.0]
[DOI: 10.22088/jbums.21.1.293]

Comparison of the Effects of Hydrosol Extracted from Turmeric (*Curcuma longa*) and Cinnamon (*Cinnamomum verum*) on *staphylococcal* biofilm

Z. Didar (PhD) *[1], A. Mohamadi Sani (PhD)[2]

1.Department of Food Science, Neyshabur Branch, Islamic Azad University, Neyshabur, I.R.Iran

2.Department of Food Science, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 21; 2019; PP: 293-98

Received: Dec 27th 2018, Revised: May 14th 2019, Accepted: June 11th 2019.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: The biofilm of bacteria, especially pathogenic bacteria, endanger food safety due to their high resistance to disinfectants; use of herbal extracts, essential oils and hydrosol (aqueous residual from extraction of essential oils) is one of the ways to combat the resistance microbial biofilms. Therefore, the effect of hydrosol extracted from turmeric (*Curcuma longa*) and cinnamon (*Cinnamomum verum*) on *staphylococcal* biofilm was investigated in this study.

METHODS: In this experimental study, the hydrosol of turmeric and cinnamon was extracted using steam distillation method. After separation of essential oil, 10, 30 and 50% concentrations were used to investigate the anti-biofilm effects. Anti-biofilm effect against *Staphylococcus aureus* (PTCC 1112), *Staphylococcus saprophyticus* (PTCC 1440) and *Staphylococcus epidermidis* (PTCC 1435) was evaluated using ELISA reader. The efficacy of both hydrosols in removing bacterial biofilms formed on different surfaces (glass, steel and polyvinyl chloride) was determined by microbiological culture method.

FINDINGS: The results showed that optical density in control samples of *Staphylococcus aureus*, *epidermidis* and *saprophyticus* was 0.254 ± 0.03, 0.138 ± 0.019, and 0.146 ± 0.017, respectively, but after exposure to 50% cinnamon hydrosol reached to 0.072 ± 0.011, 0.096 ± 0.021, and 0.064 ± 0.01, and after exposure to 50% turmeric hydrosol reached to 0.074 ± 0.02, 0.098 ± 0.021, and 0.057 ± 0.011, respectively. Investigation of the efficiency of hydrosol in removal of formed biofilms showed that the highest decrease was in the case of *Staphylococcus saprophyticus* biofilm formed on glass and steel surfaces, and the logarithm of bacterial population declined from 4 to 1 in the presence of 50% hydrosol ($p \leq 0.05$).

CONCLUSION: The results of this study showed that the hydrosol extracted from cinnamon and turmeric is effective in preventing biofilm formation of *staphylococcal* bacteria and eliminating the formed biofilm.

KEY WORDS: *Cinnamon, Turmeric, Biofilm, Staphylococcus.*

Please cite this article as follows:

Didar Z, Mohamadi Sani A. Comparison of the Effects of Hydrosol Extracted from Turmeric (Curcuma longa) and Cinnamon (Cinnamomum verum) on staphylococcal biofilm. J Babol Univ Med Sci. 2019;21: 293-98.

***Corresonding Author: Z. Didar (PhD)**

Address: Department of Food Science, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Neyshabur Branch, Neyshabur, I.R.Iran

Tel: +98 51 42621905

E-mail: z_didar57@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1398.21.1.45.0]

[DOI: 10.22088/jbums.21.1.293]

References

1.Mohammadi M, Masoumipour F, Hassanshahian M, Jafarinasab T. Study the antibacterial and antibiofilm activity of Carum copticum against antibiotic-resistant bacteria in planktonic and biofilm forms. Microb Pathog. 2019; 129: 99–105.

2.Didar Z. Novel hygienic issues in food industry. Islamic Azad Univ Pub; 2018.p.5-8. [In Persian]

3.Cid-Pérez TS, Ávila-Sosa R, Ochoa-Velasco CE, Rivera-Chavira BE, Nevárez-Moorillón GV. Antioxidant and antimicrobial activity of Mexican Oregano (Poliomintha longiflora) Essential Oil, Hydrosol and Extracts from Waste Solid Residues. Plants (Basel). 2019; 8(1): pii: E22.

4.Acheampong A, Borquaye LS, Acquaah SO, Osei-Owusu J, Tuani GK. Antimicrobial Activities of Some Leaves and Fruit Peels Hydrosols. Int J Chem Biomol Sci. 2015; 1(3): 158-62.

5.Karampoula F, Giaouris E, Deschamps J, Doulgeraki AI, Nychas GJ, Dubois-Brissonnet F. Hydrosol of *Thymbra capitata* is a highly efficient biocide against Salmonella enterica Serovar Typhimurium Biofilms. Appl Environ Microbiol. 2016; 82(17):5309-19.

6.Belabbes R, Dib MEA, Djabou N, Ilias F, Tabti B, Costa J, et al. Chemical variability, antioxidant and antifungal activities of essential oils and hydrosol extract of *Calendula arvensis L*. from western Algeria. Chem Biodiversity. 2017; 14(5).

7.Kaewprom K, Chen YH, Lin CF, Ming-Tang Chiou MT, Chao-Nan Lin CN. Antiviral activity of *Thymus vulgaris* and *Nepeta cataria* hydrosols against porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Thai J Vet Med. 2017; 47(1): 25-33.

8.Ozturk I, Tornuk F, Sagdic O, Kisi O. Application of non-linear models to predict inhibition effects of various plant hydrosols on *listeria monocytogenes* inoculated on fresh-cut apples. Foodborne Pathog Dis. 2012; 9(7): 607-16.

9.Wojcik- Stopczynska B, Jakowienko P, Wysocka G. The estimation of antifungal activity of essential oil and hydrosol obtained from wrinkled-leaf mint (*Mentha crispa L.*). Herba Pol. 2012; 58(1): 5-15.

10.Yolmeh M, Habibi-Najafi M B, Najafzadeh M. Study the effects of ultraviolet radiation on the growth of *Escherichia coli* and *Bacillus cereus* isolated from raw milk and raw rice. Iran Food Sci Technol Res J. 2015;11(4): 319-24. [In Persian]

11.Noumi E, Snoussi M, Merghni A, Nazzaro F, Quind G, Akdamar G, et al. Phytochemical composition, anti-biofilm and anti-quorum sensing potential of fruit, stem and leaves of *Salvadora persica L*. methanolic extracts. Microb Pathog. 2017;109: 169-176.

12.de Oliveira AM, Férnandes MS, de Abreu Filho BA, Gomes RG, Rosangela Bergamasco R. Inhibition and removal of staphylococcal biofilms using *Moringa oleifera Lam*. aqueous and saline extracts. J Environ Chem Eng. 2018; 6(2): 2011-16.

13.Hamdi A, Majouli K, Vander Heyden Y, Flamini G, Marzouk Z. Phytotoxic activities of essential oils and hydrosols ofHaplophyllumtuberculatum. Indust Crops Prod. 2017; 97: 440-47.

14.Didar Z. The Study of Antimicrobial and Anti-Enzymatic Activity (Potato PolyPhenol Oxidase) of *Cinnamomum Verum* Hydrosol: A Laboratory Study. J Rafsanjan Univ Med Sci. 2019; 18(1): 3-16. [In Persian]

15.Sova M. Antioxidant and Antimicrobial activities of cinnamic acid derivatives. Mini Rev Med Chem 2012; 12(8):749-67.

16.De Abrew Abeysundara P, Dhowlaghar N, Nannapaneni R, Schilling MW, Mahmoud B, Sharma CS, et al. *Salmonella enterica* growth and biofilm formation in flesh and peel cantaloupe extracts on four food-contact surfaces. Int J Food Microbiol. 2018; 280: 17–26.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1398.21.1.45.0]
[DOI: 10.22088/jbums.21.1.293]