

مقایسه اثرات هیدروسل استخراجی از زردچوبه (*Curcuma longa*) و دارچین (*Cinnamomum verum*) بر بیوفیلیم استافیلوکوکیزهره دیدار (PhD)*، علی محمدی ثانی (PhD)^۲۱- 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: بیوفیلیم 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 بیوفیلیم‌های میکروبی است. لذا در این مطالعه اثر ضد بیوفیلیمی 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 بیوفیلیمی مورد استفاده قرار گرفت. اثر ضد بیوفیلیمی 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 بیوفیلیم‌های 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 0.254 ± 0.03 ، 0.19 ± 0.01 و 0.138 ± 0.01 و 0.146 ± 0.01 بود، که بعد از مواجهه با هیدروسل دارچین با غلظت ۵۰ درصد به ترتیب به مقادیر 0.072 ± 0.01 ، 0.021 ± 0.01 و 0.064 ± 0.01 و با هیدروسل زردچوبه با غلظت ۵۰ درصد نیز به ترتیب به مقادیر 0.074 ± 0.02 ، 0.021 ± 0.01 و 0.057 ± 0.01 رسید. بررسی کارایی هیدروسل در حذف بیوفیلیم‌های تشکیل شده نشان داد که بیشترین کاهش در مورد بیوفیلیم *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 ($P \leq 0.05$).

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

واژه های کلیدی: دارچین، زردچوبه، بیوفیلیم، استافیلوکوکوس.

مقدمه

استفاده بی‌رویه از آنتی بیوتیک‌ها و ترکیبات ضد میکروبی سبب بروز مقاومت میکروبی گردیده است. میزان مقاومت میکروارگانیسم‌ها در شرایط تشکیل بیوفیلیم 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*، *موربوم*، *کمپیلوباکتر ژرونی* و *یرسینیا انترکولیتیا* می‌توانند به آسانی بیوفیلیم تولید کنند یا قسمتی از یک جمعیت بیوفیلیم را تشکیل دهند، که ضدعفونی کردن و تمیز کردن سطوح را دشوار می‌کند (۲). برخی تحقیقات به اثر ضد بیوفیلیمی 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 می‌شود؛ 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 ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی پونه کوهی مکزیک (*Polioanthus*) *longiflora* را گزارش کرده‌اند (۳). Acheampong و همکاران اثرات ضد میکروبی هیدروسل گیاه علف لیمو (*Cymbopogon nardus*)، ریحان میخکی (*Ocimum gratissimum*) و هیدروسل پوست پرتقال بر روی *اشرشیاکلی*، *باسیلوس سوبتیلیس* و *انتروکوکوس فکالیس* را گزارش نموده‌اند (۴). اثر ضد میکروبی قوی هیدروسل استخراجی گیاه *Nepeta nepetella* در برابر *کلبسیلا پنومونی*، *انتروکوکوس فکالیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سوبتیلیس*، *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

غلظت‌های مختلف هیدروسل استخراجی دارچین و زردچوبه (۵۰، ۳۰، ۱۰ درصد) نیز به میزان ۲۰۰ میکرولیتر به هر یک از چاهک‌های میکروپلیت حاوی میکروارگانیزم‌های مورد مطالعه اضافه شد و در دمای 37°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 ($\text{pH}=7.4$) 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 الیزا ریدر (مدل AWARENESS) 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 $1 \times 5 \text{ cm}^2$ 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 37°C گرمخانه گذاری شدند.

سپس قطعات استیل ضد زنگ، شیشه و پلی وینیل کلراید حاوی بیوفیلم توسط آب نمک استریل 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 *سپروفتیکوس*) و در دمای 37°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 ($\text{Mean} \pm \text{SD}$) ثبت شد. محاسبات آماری توسط نرم افزار SPSS ۱۴ و با تست ANOVA انجام شد و $p \leq 0.05$ معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها

نتایج مطالعه نشان داد که *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سپروفتیکوس* و *اپیدرمیدیس* توانایی تشکیل بیوفیلم را داشته و با قرارگرفتن در معرض هیدروسل‌های دارچین و زردچوبه، این ویژگی به میزان قابل توجهی کاهش یافت ($p < 0.05$)

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 موربوم* داشته و سبب کاهش بیش از ۷/۵ لگاریتم در تشکیل بیوفیلم این میکروارگانیزم می‌گردد (۵). تاکنون بررسی در خصوص اثرات هیدروسل زردچوبه و دارچین بر روی بیوفیلم‌های *استافیلوکوکوس* 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 سپروفتیکوس* (PTCC 1440)، *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 4°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 آن استفاده شد. سوبه‌های میکروبی *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC 1112)، *استافیلوکوکوس سپروفتیکوس* (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 سپروفتیکوس* و *اپیدرمیدیس*) منتقل گردید و برای مدت ۲۴ ساعت در دمای 37°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 10^6 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،

حذف شدن بیوفیلیم این گونه باکتریایی در برابر هر دو هیدروسول ناچیز است ولی بیوفیلیم/استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس حساسیت زیادی نسبت به هیدروسول‌های مورد بررسی نشان داده است به طوری که در مواجهه با غلظت ۵۰ درصد از هیدروسول زردچوبه و دارچین، لگاریتم جمعیت این گونه باکتریایی به ترتیب به ۱ و ۱/۳ در مورد استیل و شیشه رسیده است (جدول ۲).

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

(جدول ۱) و هیدروسول‌های مورد مطالعه در غلظت‌های بالاتر اثر بیشتری در جلوگیری از تشکیل بیوفیلیم‌های باکتریایی داشتند و بیشترین اثر گذاری مربوط به غلظت ۵۰ درصد بود ($P < 0.05$) (جدول ۱).

بررسی‌ها نشان داد هیدروسول‌های دارچین و زردچوبه توانایی حذف کردن بیوفیلیم‌های تشکیل شده از/استافیلوکوکوس/اورئوس، ساپروفیتیکوس و اپیدرمیدیس بر روی سطوح مختلف شیشه، استیل ضد زنگ و پلی وینیل کلراید را دارند ($P < 0.05$) (شکل ۱). در بین استافیلوکوکوس‌های مورد بررسی، بیوفیلیم حاصل از/استافیلوکوکوس/اورئوس مقاومت بیشتری در برابر هیدروسول‌ها نشان داد و میزان

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
هیدروسول دارچین (٪۱۰)	۰/۱۵۷±۰/۰۲۷ ^b	هیدروسول دارچین (٪۱۰)	۰/۱۱۱±۰/۰۱۴ ^{ab}	هیدروسول دارچین (٪۱۰)	۰/۱۳۹±۰/۰۱۹ ^{ab}
هیدروسول دارچین (٪۳۰)	۰/۱۴۸±۰/۰۲۱ ^b	هیدروسول دارچین (٪۳۰)	۰/۱۰۸±۰/۰۱۳ ^{ab}	هیدروسول دارچین (٪۳۰)	۰/۱۳۴±۰/۰۲۰ ^{ab}
هیدروسول دارچین (٪۵۰)	۰/۰۷۲±۰/۰۱۱ ^c	هیدروسول دارچین (٪۵۰)	۰/۰۹۶±۰/۰۲۱ ^b	هیدروسول دارچین (٪۵۰)	۰/۰۶۴±۰/۰۱۰ ^c
هیدروسول زردچوبه (٪۱۰)	۰/۱۵۴±۰/۰۱ ^b	هیدروسول زردچوبه (٪۱۰)	۰/۱۲۱±۰/۰۱۸ ^{ab}	هیدروسول زردچوبه (٪۱۰)	۰/۱۱۹±۰/۰۱۰ ^{ab}
هیدروسول زردچوبه (٪۳۰)	۰/۱۴۴±۰/۰۲۳ ^b	هیدروسول زردچوبه (٪۳۰)	۰/۱۱۲±۰/۰۱۳ ^{ab}	هیدروسول زردچوبه (٪۳۰)	۰/۱۱۴±۰/۰۱۶ ^b
هیدروسول زردچوبه (٪۵۰)	۰/۰۷۴±۰/۰۰۳ ^c	هیدروسول زردچوبه (٪۵۰)	۰/۰۹۸±۰/۰۲۱ ^b	هیدروسول زردچوبه (٪۵۰)	۰/۰۵۷±۰/۰۱۱ ^c

اعداد با حروف مختلف در هر ستون، نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح $P < 0.05$ هستند (اعداد بیشتر از ۱ نشان دهنده تشکیل زیاد بیوفیلیم؛ اعداد بین ۰/۱ تا ۱ نشان دهنده تشکیل متوسط بیوفیلیم؛ اعداد کمتر از ۰/۱ نشان دهنده عدم تشکیل بیوفیلیم) می باشند.

جدول ۲. اثر غلظت‌های مختلف هیدروسول دارچین و زردچوبه بر لگاریتم جمعیت باکتریایی بیوفیلیم‌های/استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس بر روی جنس‌های مختلف سطوح

نوع هیدروسول	غلظت	استیل			شیشه			پلی وینیل کلراید		
		اورئوس	اپیدرمیدیس	ساپروفیتیکوس	اورئوس	اپیدرمیدیس	ساپروفیتیکوس	اورئوس	اپیدرمیدیس	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}	۲/۱ ^{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

هیدروسول دارچین وجود انواع هیدروکربن‌ها، آلدئیدها و اسیدها مشخص گردیده است و از جمله ترکیبات شاخص در هیدروسول دارچین ترکیبی به نام سینامیک اسید متیل استر است. سایر ترکیبات بیواکتیو در هیدروسول 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 بیوفیلیمی گونه‌های مختلف گیاهی در سایر تحقیقات گزارش شده است؛ Mohammadi و همکاران اثر عصاره گیاه

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، هر سه باکتری مورد بررسی (استافیلوکوکوس/اورئوس، اپیدرمیدیس و ساپروفیتیکوس) توانایی تشکیل بیوفیلیم به میزان متوسط را دارا بودند که در مواجهه با هیدروسول‌های گیاهی (زردچوبه و دارچین) میزان تشکیل بیوفیلیم توسط این گونه‌های باکتریایی کاهش یافت. تحقیقات مختلف وجود ترکیبات زیست فعال در هیدروسول‌های گیاه را تأیید نموده اند. از جمله مهم‌ترین این ترکیبات، آلدئیدها و الکل‌ها هستند (۱۳) که عامل ضد میکروبی در هیدروسول‌های گیاهی می‌باشند. در آنالیز ترکیبات تشکیل دهنده

زنبان را بر بیوفیلیم های گونه های مختلف باکتریایی بررسی نموده و گزارش کرده اند. عصاره این گیاه سبب کاهش ۹۸٪ در تشکیل بیوفیلیم/سینتوباکتر بومانی و ۱۹٪ در مورد کلبسیلا پنومانی شده است (۱). تفاوت در میزان کارایی عصاره های مختلف گیاهی بر روی بیوفیلیم های میکروبی بستگی به نوع میکروارگانیسم، میزان مقاومت میکروبی در برابر عصاره های گیاهی و نیز بستگی به نوع ترکیبات زیست فعال تشکیل دهنده عصاره های گیاهی دارد. نتایج بررسی میزان کارایی هیدروسل استخراجی دارچین و زردچوبه در حذف کردن بیوفیلیم های باکتریایی تشکیل شده بر روی سطوح با جنس های مختلف (استیل ضد زنگ، شیشه، پلی وینیل کلراید) مشخص گردید هر دو هیدروسل گیاهی مورد مطالعه در حذف کردن بیوفیلیم های تشکیل شده باکتریایی موثر هستند و این اثر با افزایش غلظت هیدروسل، افزایش پیدا نمود. بیوفیلیم حاصل از گونه های مختلف باکتری های مورد مطالعه، حساسیت متفاوتی در برابر هیدروسل های 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 بیوفیلیم باکتریایی اثر گذار است به طوری که حذف بیوفیلیم باکتریایی بر روی جنس پلی وینیل کلراید در مواجهه با هیدروسل های 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 می شود و در نتیجه کارایی تمیز کردن را کاهش می دهد (۲). حذف شدن بیوفیلیم های تشکیل شده توسط عصاره های گیاهی توسط سایر پژوهشگران نیز گزارش شده است از جمله Abeyesundara و همکاران با بررسی اثر عصاره گرمک بر بیوفیلیم های *سالمونلا* بر روی سطوح لاستیکی، استیل ضد زنگ، پلی اتیلن با وزن مولکولی بالا و پلی اورتان، گزارش نمودند نوع سطح تشکیل بیوفیلیم بر میزان کارایی عصاره گیاهی مؤثر است به طوری که اثر عصاره گیاهی بر روی بیوفیلیم تشکیل شده در جنس لاستیک نسبت به استیل ضد زنگ، پلی اتیلن و پلی اورتان کمترین میزان بوده است (۱۶). طبق نتایج این تحقیق، هیدروسل های دارچین و زردچوبه هم در جلوگیری از تشکیل بیوفیلیم های باکتریایی *استافیلوکوک* و هم در حذف بیوفیلیم های تشکیل شده *استافیلوکوک* 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 می گردد.

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.

***Corresponding 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

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, Acquah 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 *Thymra 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, Fernandes 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 of *Haplophyllum tuberculatum*. *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 Abeyesundara 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.