



بررسی خاصیت ضد باکتری اسانس روغنی دانه‌های زیره سیاه پرتودیده با تابش گاما

مرضیه سیحون، رسا رجایی*، سیده لیلا حسینی، سارا شیخ نصیری، مونا سرابی
پژوهشکده‌ی کاربرد پرتوها، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران، صندوق پستی: ۳۴۸۶-۱۳۶۵، تهران - ایران

چکیده: خاصیت ضد باکتری اسانس روغنی استخراج شده از دانه‌های زیره سیاه پرتودیده با تابش گاما با روش‌های انتشار از دیسک و تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC)، مورد بررسی قرار گرفت. دانه‌های زیره سیاه در سیستم گاماسل ۲۲۰ با منبع کبالت ^{60}Co در دزهای صفر، ۱۰ و ۲۵ کیلوگری پرتودهی شدند. سپس اسانس روغنی نمونه‌ها با روش کلونجر استخراج و میزان خاصیت ضد باکتری آن‌ها با روش انتشار از دیسک بر روی چهار گونه باکتری اشیریشیا کلی (ATCC 25922)، سودوموناس آئروژنز (ATCC 27853)، باسیلوس سوبتیلیس (ATCC 6633) و استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 29213) در دو محیط کشت PCA و MHA بررسی شد. سپس قطر هاله‌های عدم رشد آن‌ها مورد مطالعه قرار گرفت. هم‌چنین اثر ضد باکتری اسانس روغنی با آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین، کلرامفنیکل و جنتامایسین در شرایط مشابه مقایسه شد. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) روغن‌ها نیز بر روی سوسپانسیون باکتری‌های مذکور تعیین شد. نتایج به دست آمده، خاصیت ضد باکتری اسانس روغنی استخراج شده از دانه‌های زیره سیاه پرتودیده را نشان داد. به علاوه، مشخص شد که باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به اسانس روغنی حساسیت بیشتری در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی اشیریشیا کلی و سودوموناس آئروژنز دارند. نتایج هم‌چنین نشان داد که خاصیت ضد باکتری اسانس روغنی به دست آمده از دانه‌های زیره سیاه پرتودیده با دز ۲۵ کیلوگری کاهش ناچیزی داشته است.

کلیدواژه‌ها: پرتو گاما، زیره سیاه، اسانس روغنی، خاصیت ضد باکتری

Investigation of Antibacterial Activity of Essential Oil of Gamma Irradiated Caraway Seeds (*Carum carvi* L.)

M. Sayhoon, R. Rajaie*, S.L. Hosseini, S. Sheikh Nasiri, M. Sarabi

Radiation Application Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, AEOI, P.O.Box: 11365-3486, Tehran - Iran

Abstract: The antibacterial activity of essential oil extracted from gamma irradiated caraway seeds was studied by using of disk diffusion method and Minimal inhibitory concentration and Minimal bactericidal concentration. Caraway seeds were irradiated at the dosages of 0, 10 and 25 kilogray by a ^{60}Co source of Gammacell system 220. The essential oil samples were extracted using Clevenger method and their antibacterial activities were studied by the use of disk diffusion method on four species of bacteria, namely: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) and *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) on the PCA and MHA culture media. Afterward, the diameters of the inhibition zones were studied. In addition, the antibacterial activity of the essential oil was compared with antibiotics such as ciprofloxacin, chloramphenicol and gentamicin on these bacteria in similar conditions. Minimal inhibitory concentration and Minimal bactericidal concentration of essential oil were also determined on these bacterial suspensions. The results showed that the antibacterial activity of the extracted essential oil from the irradiated caraway seeds. In addition, the Gram positive bacteria of *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* were found to have more sensitivity with respect to the Gram negative *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. The results also showed that the antibacterial activity of essential oil extracted from the gamma irradiated with 25 kilogray caraway seeds decreased slightly.

Keywords: Gamma Irradiation, Caraway, Essential Oil, Antibacterial Activity

*email: rrajaie@aeoi.org.ir

۱. مقدمه

خواص درمانی عصاره‌ها و اسانس‌های روغنی گیاهان مختلف از زمان‌های قدیم شناخته شده است. در همین راستا مطالعه‌های زیادی بر روی خواص ضد میکروبی اسانس‌های روغنی گیاهان مختلف انجام گرفته است. تأثیر کشندگی یا بازدارندگی اسانس‌های روغنی روی باکتری‌ها و قارچ‌ها پیش‌تر گزارش شده است [۱، ۲]. زیره سیاه^(۱) با نام علمی *Carum carvi L.* یکی از گیاهانی است که از دیرباز مصرف غذایی و دارویی بسیار زیادی داشته است؛ برای مثال از دانه‌ی زیره سیاه به عنوان طعم دهنده‌ی نان، پنیر، شیرینی‌ها، محصولات گوشتی، سس‌ها و نوشابه‌ها استفاده می‌شود. اسانس روغنی این گیاه معطر در وسایل آرایشی، بهداشتی، خمیر دندان، آدامس و داروسازی نیز به کار می‌رود. مطالعه‌های مختلف نشان می‌دهند که زیره سیاه دارای خواص عمل کردی و دارویی فراوانی نظیر ضد انقباض، ضد نفخ، خلط‌آور، ضد اسپاسم، اشتها آور، ضد سرطان، آنتی‌اکسیدان، ضد میکروب و ضد جهش‌زایی است [۳].

بر اساس گزارش‌های منابع مختلف کشاورزی در سراسر جهان، گیاهان دارویی از جمله زیره سیاه در معرض انواع مختلف آلودگی‌های میکروبی و قارچی از جمله کپک مولد افلاتوکسین B_۱ قرار دارند. امروزه پرتودهی مواد غذایی خشک به خصوص گیاهان دارویی، بسیار رایج است. زیرا پرتودهی، با کاهش تعداد ریزجانداران بیماری‌زا و مخرب باعث افزایش کیفیت بهداشتی و انبارمانی آن می‌شود [۴].

در این مقاله، تغییرات احتمالی خاصیت ضد باکتری اسانس روغنی دانه‌های زیره سیاه قبل و بعد از پرتودهی با پرتو گاما مورد بررسی قرار گرفته است.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲ تهیه‌ی نمونه

نمونه‌ی زیره سیاه به صورت فله‌ای از بازار تهران خریداری شد.

۲.۲ آماده‌سازی و پرتودهی نمونه‌ها

نمونه‌های زیره در بسته‌های ۱۰ گرمی تحت شرایط استریل در ظروف پلاستیکی و با پرتو گاما در دستگاه گاماسل^(۲) مدل ۲۲۰ در دزهای ۱۰ و ۲۵ کیلوگری پرتودهی شدند. در شرایط مشابه یک نمونه‌ی بدون پرتودهی، نشان‌دهنده‌ی آلودگی اولیه، به عنوان شاهد (دز صفر) در نظر گرفته شد.

تأثیر پرتو گاما بر آلودگی میکروبی دانه‌های زیره سیاه پیش از این مورد بررسی قرار گرفته و نتایج به دست آمده در مرجع [۵] داده شده است.

۳.۲ محیط‌های کشت

از محیط‌های کشت آبگوشت برین - هارت^(۳) (BHB)، آگار پلیت کانت^(۴) (PCA) و آگار مولر - هیتون^(۵) (MHA) استفاده شد.

۴.۲ گونه‌های باکتری

اشرشیا کلی (ATCC 25922)، سودوموناس آئروژنز (ATCC 27853)، باسیلوس سوبتیلیس (ATCC 6633) و استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 29213) در محیط کشت آگار پلیت کانت، در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت رشد داده شده، و برای تهیه‌ی سوسپانسیون باکتری‌ها به آبگوشت برین - هارت منتقل شدند. غلظت سوسپانسیون‌ها بر اساس استاندارد مک فارلند و با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نوری آمرشام (مدل Novaspec III)، در طول موج ۶۰۰ نانومتر برابر ۰٫۵ (حدود 10^8 cfu/ml)^(۶) به دست آمد.

۵.۲ استخراج اسانس روغنی از نمونه‌ها

اسانس زیره سیاه به وسیله‌ی دستگاه کلونجر^(۷) استخراج شد. برای این منظور، ۶۰ گرم از دانه‌های پودر شده (شاهد و پرتو دیده) به طور جداگانه، با افزودن ۷۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۹۰ دقیقه در یک بالن یک لیتری جوشانده و سپس در قسمت نزولی دستگاه فاز روغنی جدا شد [۶]. سپس اسانس هر نمونه به طریقی که آلودگی ثانویه پیدا نکند، جمع‌آوری و در دمای ۱۸- درجه‌ی سانتی‌گراد برای انجام آزمایش‌های بعدی نگهداری شد. پیش از هر آزمایش دمای نمونه تدریجاً به دمای محیط رسانده شد.

۶.۲ روش انتشار از دیسک

برای تعیین خاصیت ضد باکتری اسانس روغنی از روش انتشار از دیسک^(۸) استفاده شد. ۰٫۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری موردنظر بر روی سطح محیط‌های کشت PCA و MHA ریخته، سپس با استفاده از سواب استریل به صورت یکنواخت کشت داده شد [۷]. ۱۰ میکرولیتر از هر نمونه‌ی اسانس روغنی استخراج



خلاصه در جدول‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است. جدول ۱. الف، قطر هاله‌های عدم رشد دیسک‌هایی را که به اسانس‌های روغنی آغشته و در دو محیط کشت PCA و MHA با ریزجانداران مذکور تلقیح شده بودند، نشان می‌دهد. اسانس‌های روغنی استخراج شده از نمونه‌ی شاهد (صفر کیلوگری) و پرتودیده‌ی زیره‌ی سیاه در مقابل تمامی باکتری‌های مورد آزمایش خاصیت ضد باکتری از خود نشان دادند. از مقایسه‌ی قطر عدم رشد دیسک‌های آغشته به روغن به دست آمده از دانه‌های پرتودیده‌ی زیره‌ی سیاه در مقابل شاهد آن، یک کاهش جزئی مشاهده می‌شود که معنی‌دار نیست ($P > 0.05$).

هم‌زمان قطر هاله‌های عدم رشد دیسک‌های آنتی‌بیوتیک‌دار، با باکتری‌های مذکور مورد مطالعه قرار گرفتند (جدول ۱.ب). در مقایسه، باسیلوس سوبتیلیس از حساسیت و سودوموناس آئروژنز از مقاومت بیش‌تری در مقابل اسانس‌های روغنی نسبت به دو باکتری دیگر برخوردار بودند.

جدول ۱. اندازه‌ی قطر (میلی‌متر) هاله‌های عدم رشد در روش انتشار از دیسک در نمونه‌ی زیره سیاه

محیط کشت	دز (kGy)			ریزجاندار
	۲۵	۱۰	صفر (شاهد)	
	P value	P value	-	
PCA	۱۰,۴۹±۰,۲۳	۱۰,۵۴±۰,۲۴	۱۰,۹۴±۰,۲۳	اشریشیاکلی (ATCC 25922)
MHA	۰,۱۹۵	۰,۲۴۳	-	
PCA	۹,۷۰±۰,۴۳	۹,۳۶±۰,۲۰	۱۰,۱۳±۰,۱۸	سودوموناس آئروژنز (ATCC 27853)
MHA	۰,۳۴۳	۰,۱۱۸	-	
PCA	۹,۱۱±۰,۳۷	۹,۰۱±۰,۴۳	۹,۲۳±۰,۴۳	باسیلوس سوبتیلیس (ATCC 6633)
MHA	۰,۸۴۲	۰,۷۰۶	-	
PCA	۱۵,۳۷±۰,۵۱	۱۶,۴۴±۰,۴۰	۱۶,۶۷±۰,۴۵	استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 29213)
MHA	۰,۱۸۴	۰,۱۳۴	-	
PCA	۱۰,۰۶±۰,۱۶	۹,۸۳±۰,۲۳	۱۰,۱۳±۰,۱۴	
MHA	۰,۷۹۹	۰,۲۶۲	-	
PCA	۱۰,۳۵±۰,۷۳	۱۰,۷۰±۰,۹۵	۱۱,۴۵±۱,۰۰	
MHA	۰,۴۲۷	۰,۵۸۳	-	

(ب) دیسک حاوی آنتی‌بیوتیک

محیط کشت	آنتی‌بیوتیک			ریزجاندار
	جنتامایسین	کلرامفنیکل	سیپروفلوکساسین	
PCA	۱۴,۸۰±۰,۲۵	۳۰,۰۳±۰,۸۸	۳۴,۵۰±۰,۱۰	اشریشیاکلی (ATCC 25922)
PCA	بدون هاله	بدون هاله	۲۸,۸۳±۲,۹۰	سودوموناس آئروژنز (ATCC 27853)
PCA	۱۷,۶۰±۰,۳۵	۲۹,۳۰±۰,۶۵	۳۱,۵۰±۲,۳۰	باسیلوس سوبتیلیس (ATCC 6633)
PCA	۱۴,۵۰±۰,۲۸	۲۴,۰۰±۰,۶۳	۱۵,۱۰±۰,۵۳	استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 29213)

شده، به دیسک‌های استریل (شرکت پادتن، ایران) به قطر ۶,۴ میلی‌متر اضافه شد. دیسک‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در محیط استریل میکروفلوو خشک و سپس بر روی محیط‌های کشت تلقیح شده قرار گرفتند. هم‌چنین در شرایط مشابه، برای مقایسه‌ی خاصیت ضد باکتری اسانس روغنی با آنتی‌بیوتیک‌ها، از محلول‌های سیپروفلوکساسین ۰,۳٪، کلرامفنیکل ۰,۵٪ و جنتامایسین ۰,۳٪، به دیسک‌های استریل تلقیح و بر روی محیط کشت PCA جای‌گزين شدند. تمامی پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری و به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت بررسی شده سپس اندازه‌ی قطر هاله‌های عدم رشد با استفاده از کولیس اندازه‌گیری شد [۸].

۲.۲ تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی

حداقل غلظت مهارکنندگی^(۹) (MIC) و حداقل غلظت کشندگی^(۱۰) (MBC) براساس روش کار بیلی-اسکات [۹] و هم‌چنین NCCLS M2-A7 (سال ۲۰۰۰) [۱۰] انجام شد. حداقل غلظت مهارکنندگی به معنی کم‌ترین غلظتی از روغن است که از رشد قابل رویت در محیط کشت مایع ممانعت به عمل می‌آورد. تمامی آزمایش‌های این مجموعه در محیط کشت مایع BHB انجام شد. برای تعیین آن، به هر یک از لوله‌های استریل آزمایش، میزان مشخصی از اسانس روغنی (بسته به نوع ریزجاندار، از ۱ تا ۱۱۰۰ میکرولیتر)، ۱ میلی‌لیتر از BHB و ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری با غلظت مذکور اضافه شد. هم‌چنین دو لوله‌ی آزمایش از مواد فوق یکی بدون سوسپانسیون باکتری و دیگری بدون اسانس روغنی به عنوان نمونه‌ی کنترل تهیه شد. تمامی لوله‌های آزمایش در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری و پس از گذشت ۲۴ ساعت از نظر رشد و کدورت از شاهد تا بالاترین غلظت بررسی شدند [۱۰]. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی، پایین‌ترین غلظت روغن که برای آن هیچ‌گونه رشدی در پلیت مشاهده نمی‌شد در نظر گرفته شد. بدین منظور تمامی لوله‌های آزمایش MIC در محیط کشت PCA کشت داده و پس از نگه‌داری در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت، پلیت‌ها از نظر وجود کلنی بررسی و به اولین پلیت بدون رشد، حداقل غلظت کشندگی (MBC) اطلاق شد.

۳. یافته‌ها و بحث

اندازه‌گیری کیفی (قطر هاله‌ی عدم رشد) و کمی (حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی) در نتیجه‌ی خاصیت ضد باکتری اسانس‌های روغنی زیره‌ی سیاه بر روی چهار گونه به طور

جدول ۲. MIC و MBC ($\mu\text{l/ml}$) اسانس‌های روغنی در نمونه‌ی زیره سیاه

دز (kGy)						ریزجاندار
۲۵		۱۰		صفر (شاهد)		
MBC P value	MIC P value	MBC P value	MIC P value	MBC -	MIC -	
۳۴±۲,۳۰	۳۴±۰,۲۸	۳۴±۲,۹۰	۳۴±۱,۸۰	۳۵±۱,۱۰	۳۵±۱,۱۰	اشرشیاکلی (ATCC 25922)
۰,۸۰۴	۰,۵۹۹	۰,۸۴۲	۰,۷۲۴	-	-	
۱۰۵۰±۸۷	۱۰۵۰±۲۹	۱۰۲۰±۳۵	۱۰۲۰±۱۷	۱۰۰۰±۵۸	۱۰۰۰±۲۹	سودوموناس آئروژنز (ATCC 27853)
۰,۵۵۲	۰,۳۹۵	۰,۸۱۰	۰,۷۲۷	-	-	
۱۰±۲۰	۹±۰,۵۷	۱۰±۱,۷۰	۹±۰,۷۶	۱۰±۰,۲۸	۹±۰,۲۸	باسیلوس سوبتیلیس (ATCC 6633)
۱,۰۰۰	۱,۰۰۰	۱,۰۰۰	۱,۰۰۰	-	-	
۱۵±۰,۶۶	۱۴±۰,۶۶	۱۵±۲,۱۰	۱۴±۲,۲۰	۱۷±۱,۴۰	۱۶±۰,۲۸	استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 29213)
۰,۴۰۱	۰,۴۱۰	۰,۴۰۱	۰,۴۱۰	-	-	

روغن‌ها عامل مؤثری برای کنترل باکتری‌های بیماری‌زا هستند [۱۳]. سازوکارهایی که به وسیله‌ی آن اسانس‌های روغنی می‌تواند مانع از رشد میکروب شود دلایل مختلفی دارد: آب‌گریزی که بر اساس آن در چربی دو لایه‌ای غشای سلولی نفوذ و در نتیجه در سلول زنده رخ می‌کند [۱۴] و یا وجود اثر هم‌افزایی بین ترکیب‌ها و دیگر اجزای تشکیل‌دهنده‌ی روغن که درجه‌های گوناگونی از خواص ضد میکروبی را باعث می‌شود [۱۱].

۴. نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج به دست آمده خاصیت ضد میکروبی اسانس‌های روغنی زیره سیاه حتی در دز ۲۵ کیلوگری حفظ شده است. به علاوه حساسیت بیش‌تر باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژنز نسبت به اسانس‌های روغنی گرفته شده از دانه‌های پرتودیده‌ی زیره سیاه هم‌چنان وجود دارد.

تشکر و قدردانی

از کلیه‌ی همکاران گرامی پژوهشکده‌ی کاربرد پرتوها، سرکار خانم‌ها دکتر فائزه فاطمی، رامسینا بت‌عیشو، رویا رفیعی و جناب آقای امیر شامی که ما را در انجام این پروژه یاری رساندند کمال تشکر و سپاسگزاری را داریم.

از جدول ۱ و مقایسه‌ی میزان قطر هاله‌های عدم رشد باکتری‌های مختلف، در کل می‌توان نتیجه گرفت که محیط‌های PCA و MHA هر دو برای روش انتشار از دیسک و وضوح قطر هاله‌ها مناسب هستند.

همان‌طور که جدول ۲ نشان می‌دهد، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس‌های روغنی زیره سیاه، از ۹ تا ۱۰۵۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر تغییر می‌کند. از مقایسه‌ی جدول‌های ۱ و ۲ می‌توان نتیجه گرفت که میزان بزرگی قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری در روش پخش صفحه‌ای همیشه پایین‌ترین ارزش MIC و MBC نیست. در واقع اندازه‌ی قطر هاله‌های عدم رشد تحت تأثیر انحلال‌پذیری و حرکت روغن در محیط قرار می‌گیرد [۱۱].

هم‌چنین از جدول ۲ می‌توان نتیجه‌گیری کرد که باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژنز حساسیت بیش‌تری نسبت به اسانس‌های روغنی دارند. مقاومت بیش‌تر باکتری‌های گرم منفی به اسانس‌های روغنی به دلیل آب دوست بودن غشای خارجی آن‌ها است که می‌تواند مانع از نفوذ ترکیبات آب‌گریز به داخل غشای سلول شود [۱۱]. این یافته در گزارشی از محسن‌زاده (۲۰۰۷)، در ارتباط با خاصیت ضد میکروبی اسانس‌های روغنی در مقابل اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس، مورد تأیید قرار گرفته است [۱۲]. هم‌چنین یاکوبلیس و همکاران (۲۰۰۵) اظهار کردند که این



پی‌نوشت‌ها:

۱. Caraway
۲. Gammacell
۳. Brain-Heart Broth
۴. Plate Count Agar
۵. Mueller-Hinton Agar
۶. Colony Forming Unit
۷. Clevenger Apparatus
۸. Disc Diffusion Method
۹. Minimal Inhibitory Concentration
۱۰. Minimal Bactericidal Concentration

مرجع‌ها:

1. I. Rasooli, L. Gachkar, D. Yadegarinia, M. B. Rezaei, M. Taghizadeh, M. H. Fakoor, A. M. Allameh, Relation of Antioxidative property and Free Radical Scavenging Capacity to the Antimicrobial Characteristics of Essential Oils from *Mentha spicata* L. and *Chenopodium ambrosioides* L. Iranian Journal of Medical And Aromatic Plants, 23(4) (2007) 492-503.
2. I. Rasooli, D. Yadegarinia, L. Gachkar, M. B. Rezaei, M. H. Fakoor, A. M. Allameh, Inhibition of Fungus Aflatoxin Production of *Aspergillus parasiticus* by Essential Oils, Journal of Research and Development (Watershed Management), 3(81) (2008) 146.
3. C. C. C. R. De Carvalho, M. M. R. Da Fonseca, Carvone: why and how should one bother to produce this terpene, Food Chemistry, 95 (2006) 413-422.
4. S. N. Mahindru, Food preservation and irradiation, 1st Ed. Saujana, New Delhi (2005) 231.
5. A. Dadkhah, H. Khalafi, R. Rajaei, A. Allameh, M. Seyhoon, Study of the effects of Gamma-Irradiation on Microbial Load and Efficient Extracts of Caraway Seeds, J. of Nuclear Sci. and Tech., 49 (2005) 27-34.
6. D. Pearson, The chemical analysis of foods, 9th Ed. Churchill Livingstone, London (1976) 290-292.
7. D. Yadegarinia, L. Gachkar, M. B. Rezaei, M. Taghizadeh, S. Alipoor, I. Rasooli, Biochemical activities of Iranian *mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. Essential Oils, Phytochemistry 67 (2006) 1249-1255.
8. G. Singh, I. P. S. Kapoor, S. K. Pandey, U. K. Singh, R. K. Singh, Studies on Essential Oil: Part 10; Antibacterial Activity of Volatile Oil of Some Spices, Phytother. Res. 16 (2002) 680-682.
9. E. J. Baron and S. M. Finegold, Bailey and Scott, Diagnostic microbiology, 8th Ed. Mosby (1990) 171-179.
10. NCCLS M2-A7, Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved, Standard-Seventh Edition (2000).
11. S. Bouhdid, S. N. Skali, M. Idaomar, A. Zhiri, D. Baudoux, M. Amensour, J. Abrini, Antibacterial and antioxidant activities of *Origanum compactum* essential oil, African Journal of Biotechnology 7(10) (2008) 1563-1570.
12. M. Mohsenzadeh, Evaluation of antibacterial activity of selected Iranian essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in nutrient broth medium, Pakistan Journal of Biological Science, 10(20) (2007) 3693-3697.
13. N. S. Iacobellis, P. Lo Cantore, F. Capasso, F. Senatore, Antibacterial activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. essential oils, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(1) (2005) 57-61.
14. S. Burt, Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review, International Journal of Food Microbiology, 94(3) (2004) 223-253.