دراسة أولية لتحديد الأثر التثبيطي لبعض الزيوت العطرية في بعض البكتيريا الممرضة

A Preliminary Study to Determine the Inhibitory Effect of some Essential Oils Towards some Pathogenic Bacteria

د.عهد أبو يونس(1) م.راما عتمة(1) أ.د.صياح أبو غرة(1)

A. ABOU YOUNES(1) S. ABOU GHORRA (1) R. UTMA (1)

(1) قسم علوم الأغذية، كلية الهندسة الزراعية، جامعة دمشق، سورية.

(1) Food Science Department, Faculty of Agriculture, Damascus University, Syria.

الملخص

هدف البحث الذي جرى في مخابر كلية الزراعة جامعة دمشق / سورية، إلى التعرف على مقدرة بعض الزيوت العطرية (زيت القرفة، وزيت القرنفل، وزيت الزنجبيل، وزيت الليمون، وزيت الزعتر وزيت أكليل الجبل) والمستخدمة كمعززات نكهة في القضاء على نمو بكتيريا *Listeria monocytogenes* ATCC 98 A6، *Salmonella typhi* O9، *Escherichia coli* O157:H7، *Bacillus subtilis*، و*Pseudomonas spp.* و*Staphylococcus aureus*، باستخدام تقانة حفر الآغار وإضافة الزيت العطري ضمن هذه الحفر بمقدار 70 ميكرولتر، وتم التعبير عن مقدرة الزيت في تثبيط نمو البكتيريا بوساطة قياس نصف قطر الهالة المتكونة حول منطقة إضافة الزيت العطري.لاحظت الدراسة أن تفاوت مقدرة الزيوت العطرية على منع تواجد البكتيريا الممرضة، اختلف باختلاف نوعية الزيت العطري، ونوع البكتيريا المدروسة. كما أظهرت الدراسة أن أكثر الزيوت مقدرةً على منع نمو البكتيريا كان زيت الليمون حيث استطاع منع نمو وتواجد جميع البكتيريا المدروسة، تلاه زيت القرفة والقرنفل وزيت الزعتر، كما وجدت الدراسة أن بكتيريا *Pseudomonas* استطاعت مقاومة الاثر التثبيطي لكل من زيت أكليل الجبل وزيت الزنجبيل.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا الممرضة، الزيوت العطرية، الاثر التثبيطي.

Abstract

This study was carried out in the Agriculture Faculty laboratories, Damascus University /syria, to investigate the antimicrobial activity of some essential oil , (Cinnamon oil , Clove oil , Ginger oil , Lemon oil , Thyme oil , and Rosemary oil) which also use as flavor enhancer , against *Listeria monocytogenes* ATCC 98 A6 ,*Salmonella typhi* O9 ,*Escherichia coli* O157:H7, *Pseudomonas spp* by using. *Staphylococcus aureus* ،*Bacillus subtilis* agar well technique, and add 70 µl of essential oil, then the zones of inhibitions was measured. The results showed variation in the antimicrobial properties of essential oils according to the type of it and to the studied bacteria. This study showed that ability Lemon oil to inhibit all studied bacteria followed by Cinnamon oil, Clove oil, and Thyme oil. On the other hand, *Pseudomonas* has resistance against Ginger oil and Rosemary oil.

Key Words: Bacteria foodborne, Essential oils, Inhibition.

©2022 The Arab Center for the Studies of Arid Zones and Dry Lands, All rights reserved. **ISSN: 2305-5243; AIF-23 (p: 213 - 220)**

المقدمة

ازدادت خلال السنوات الأخيرة حالات التسممات الغذائية الناتجة عن ارتفاع تعداد البكتيريا الممرضة في الأغذية (Pirbalouti وزملاؤه ، 2010)، وسعت الدراسات لخفض هذه الحالات باستخدام مواد آمنة وغير كيميائية لما لهذه الأخيرة من آثار سلبية في صحة الإنسان (Smith-Palmer وزملاؤه، 1998). وقد استُخدمت الزيوت العطرية خلال فترات طويلة لأغراض كثيرة منها إعطاء نكهات مطلوبة ومختلفة للأغذية ولاسيما في الحلويات (Kotzekidou وزملاؤه،2007)، إضافةً إلى استخدامات طبية عدة (Hammer وزملاؤه ،1999)، واستخدمها البعض على نطاق واسع منذ زمن طويل في حفظ الغذاء الخام أو المصنع (*Reynolds* و Thorsness ،1996؛Lis-Balchin وDeans،1997)، حيث تمتلك هذه الزيوت طيفاً واسعاً من النشاط المضاد لنمو البكتيريا موجبة الغرام وسالبة الغرام التي يمكن أن توجد في الأغذية (Conner، 1993)، وقامت أكثر الدراسات بتطبيق الأثر التثبيطي في البكتيريا الممرضة التي ارتبطت مع حالات وبائية انتشرت في مناطق مختلفة من العالم مثل بكتيريا *Salmonella* spp. و *Escherichia coli* O157:H7 و*Listeria monocytogenes* (Burt، 2004)، ويمكن تلخيص آلية تأثير الزيت العطري في البكتيريا من خلال تسرب المركبات الفينولية الموجودة في الزيوت إلى داخل الخلية البكتيرية بحيث تثبط عمل الأنزيمات (Randhir وزملاؤه، 2004)، كما ان الاختلافات في القدرة التثبيطية يعود إلى الاختلافات بين نوعية الزيوت فيما بينها وطريقة الاستخلاص (سواء أكان الاستخلاص بالمذيبات أو بالتقطير)، إضافةً للنوعية الميكروبية المدروسة (سواء أكانت موجبة الغرام أو سالبة الغرام)، وطرائق مقاومتها، وسرعة نموها وغزارته (Lee وزملاؤه، 2008).

دلت الدراسات على أن زيت القرفة يمتلك تأثيراً فعالاً مضاداً للبكتيريا مثل بكتيريا *Salmonella* spp و*Staph. aureus* (Smith-Palmer وزملاؤه،1998) ، وذلك لاحتوائه على مركب الدهيد القرفة (Cinnamaldehyde) ومركب Eugenol اللذين يُعّدان من أهم المركبات المضادة للبكتيريا (Bullerman وزملاؤه،1977) ، وأوضح Tassou وزملاؤه (1995) أن زيت القرفة الطيار يصبح أكثر ألفة للدهون مع انخفاض الحموضة، وينحل بشكل أفضل في غشاء الخلية مما يرفع من قدرته التثبيطية لنمو الأحياء الدقيقة. كما أثبت Ceylan وزملاؤه (2000) أن بكتيريا *E.coli* O157:H7 كانت غير نشطة في عصير التفاح المدعم بالقرفة والمحفوظ على الدرجة 8ْم و25ْم. وقد عُرف التأثير المثبط لزيت القرنفل في الأحياء الدقيقة منذ فترة طويلة كتأثيره في بكتيريا *Bacillus* spp. و*Salmonella* spp. كما أوضح Burt (2004)، كما أكدت عدة دراسات على قدرة زيت القرنفل على تثبيط بكتيريا *L. monocytogenes* و *E. coli*، فضلاً عن امتلاك هذا الزيت كفاءة تثبيطية ضد*B. subtilis* و*L. innocu* (Juvanوزملاؤه، 1994؛ Blaszyk وHolley، 1998؛ Roller وBoard، 2003؛ Alexander وRichard ، 2004). وبالرغم من استخدامه في الاغذية بتراكيز منخفضة إلا أن له تأثير كبير في بعض البكتيريا مثل *S. typhi* و*E.coli* و *Staph. aureus* حسب Deans وزملائه (1992) ، وحتيت وزملائه (2013)، ويعود الاثر التثبيطي لزيت القرنفل إلى وجود المركبات الفينولية المعروفة بفاعليتها تجاه البكتيريا الممرضة (Bhattacharrya وزملاؤه، 2011؛Alma وزملاؤه، 2007).

يمتلك زيت الزنجبيل المقدرة على منع نمو ونشاط البكتيريا الممرضة المدروسة، ففي دراسة قام بها Onyeagloa وزملاؤه (2004) وجد أن القدرة المضادة لبكتيريا زيت الزنجبيل كانت إيجابية وذلك على النوعين *S. typhi* و *E.coli*، وقد تغير التجاوب تبعاً للنوع البكتيري المدروس، ونوعية مستخلص الزنجبيل، فالمستخلص بوساطة الإيتانول كان أقل قدرة على تثبيط الـ *E.coli* من تثبيط بكتيريا *S.typhi*. وفي دراسة أخرى قام بها Nelson وزملاؤه (2007) تبين أن زيت الزنجبيل يتمتع بفعالية عالية ضد البكتيريا سالبة الغرام ولا سيما تجاه النوعين *S. typhi* و*E.coli*. لكنه غير فعال تجاه البكتيريا موجبة الغرام مثل *B. subtilis*. أما زيت الليمون _ وعلى الرغم من إضافته لتدعيم النكهة في بعض الأغذية بكميات قليلة _ فإن دوره في منع تواجد ونمو البكتيريا الممرضة ذُكر في العديد من الدراسات. حيث قام العالم Kotzekidou وزملاؤه (2007) بدراسة تأثر نمو ونشاط بكتيريا *E. coli* O157:H7، و*S. enteritidis*، و*S. typhimurium*، و*Staph. aureus*، فوجدوا أن زيت الليمون كان قادراً على منع نمو بكتيريا *E.coli* O157:H7 بهالة قطرها 10 ملم. وترجع المقدرة التثبيطية لزيت الزعتر العطري لاحتوائه على مواد فينولية أهمها Carvacrol وThymol التي يعزى إليها المفعول الطبي إضافة لمواد راتنجية وفلافونات (Zheng و Wang ،2001).

يستخدم أكليل الجبل سواء أكان على شكل مغلي نباتي، أو مستخلص الزيت العطري كمقو ومنبه وقابض ومضاد للاكتئاب، ومسكن، حيث يحتوي زيته على الفلافونات، إضافة إلى مشتقات حمض الكافيئنك (Thomson، 2000)، ويمتلك زيت

أكليل الجبل القدرة على منع نمو ونشاط البكتيريا الممرضة في الأطباق وضمن المادة الغذائية (Tantaoui- Elaraki وBeraoud، 1994؛ ياسين وزملاؤه، 2012). وأكد Kamal وزملاؤه (2008) في دراستهم على أن زيت أكليل الجبل يمتلك القدرة على منع نمو كل من *E.coli*، *B. cereus* و *Staph. aureus*. كما درس Erdogrul (2002) تأثير زيت أكليل الجبل في كل من بكتيريا *B. subtilis*، و*Staph. aureus*، و*E.coli* و*L. monocytogenes* حيث منع الزيت نمو البكتيريا الممرضة.

هدف البحث إلى دراسة التأثير المثبط لبعض زيوت النباتات الطبيعية _ المستعملة كمواد مضافة للأغذية من أجل إكسابها نكهة مميزة في مجموعة من الأحياء الدقيقة الممرضة التي ممكن أن توجد في المواد الغذائية، بغية استخدامها في منع وجود الأنواع الممرضة في الأغذية.

مواد البحث وطرائقه

تم الاستعانة ببكتيريا *L. monocytogenes* ATCC 98 A6، و*S.typhi* O9، و*E.coli* O157:H7، و*B.subtilis* ، و.spp *Pseudomonas* و*Staph. aureus* كسلالات منمطة في قسم علوم الأغذية، في كلية الزراعة بجامعة دمشق/ سورية -حيث تم تنميط هذه السلالات لصالح القسم بالتعاون مع وزارة الصحة في دمشق والهيئة العامة للطاقة الذرية- وذلك لدراسة الأثر التثبيطي لبعض الزيوت العطرية المستخدمة في الصناعات الغذائية كزيت الفرقة، وزيت الفرنفل، وزيت الزنجبيل، وزيت الزعتر، وزيت الليمون وزيت أكليل الجبل، حيث استخدمت بيئة Nutrient agar لزراعة وتنمية بكتيريا *B. subtilis* و *Pseudomonas* وبيئة PALCAM لتنمية بكتيريا *L. monocytogenes* ATCC 98 A6 وبيئة Bard Parker لتنمية *Staph. aureus*، وبيئة V.R.B agar لتنمية *E. coli* O157:H7، إضافة لاستخدام بيئة Salmonella – Shigela Agar لتنمية *S. typhi* O9.

استخدم في البحث زيوت عطرية متحصل عليها من دراسات سابقة بطريقة اعتمدت في القسم باستخدام جهاز الاستخلاص للزيوت الطيارة منخفض الكثافة، واستُخدمت الزيوت في هذه الدراسة بعد تمديدها بمحلول مؤلف من 5 مل من دي متيل سيلفوكسيد DMSO و300 ميكرولتر من توين 80، بعدها تم أخذ 0.5 مل من محلول التمديد واضيف لها 160 ميكرولتر من الزيت العطري، واستخدم المزيج المتحصل عليه بالدراسة حسب توصيات ياسين وزملاؤه (2012)؛ Daud وزملاؤه (2013).

دُرس التأثير التثبيطي للزيوت العطرية المستخدمة في هذا البحث في بعض البكتيريا الممرضة المتواجدة في الأغذية حسب Pirbalouti وزملائه عام (2010)، باستخدام حفر أُحدثت بالآغار المزروع بالبكتيريا الممرضة بوساطة قطنة معقمة والزراعة على الآغار وذلك ضمن جو معقم، بعدها جرى عمل الحفر بوساطة ثاقب معقم، ثم سُكب الزيت العطري ضمن الحفر بمقدار 70 ميكرومتر من كل نوع من الزيوت المختبرة ،بعدها وضعت الأطباق ضمن البراد لمدة ساعتين بهدف تشريب الزيت العطري للآغار، ثم حُضنت الأطباق على درجة حرارة تناسب النوع البكتيري لمدة 48 ساعة، واستخدم مكرران لكل نوع بكتيري وزيت عطري.

التحليل الاحصائي حللت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج SPSS 17، لحساب أقل فرق معنوي (LSD) باستخدام تحليل التباين Tow way ANOVA، وذلك باستخدام عاملين ومكررين، عند مستوى المعنوية 0.05، حيث العامل الأول نوع الزيت العطري (زيت القرفة، وزيت القرنفل، وزيت الزنجبيل، وزيت الليمون، وزيت الزعتر، وزيت أكليل الجبل)، والعامل الثاني تمثل النوع البكتيري (*B. subtilis*، و*L. monocytogenes*، و*S.typhi*، و*E.coli*، و*Pseudomonas*، و*Staph. aureus*).

النتائج والمناقشة

تم التعبير عن تأثير الزيت العطري المدروس (زيت القرفة، وزيت الفرنفل، وزيت الليمون، وزيت الزنجبيل، وزيت الزعتر وزيت أكليل الجبل) في نمو ونشاط البكتيريا الممرضة المدروسة (*L.monocytogenes* ATCC 98 A6، و*S.typhi* O9، و*E.coli* O157:H7، و*B. subtilis*، و*Pseudomonas* و*Staph. aureus*) وذلك بدراسة الهالة المتكونة حول موضع الزيت على الطبق البتري وقد تم قياس نصف قطر الهالة بالسنتيمتر الجدول (1).

يلاحظ من الجدول 1 أن زيت القرفة امتلك قدرة على منع نمو ونشاط البكتيريا الممرضة المدروسة، وسجل أقل تأثير في نمو بكتيريا *Pseudomonas* حيث بلغ نصف قطر الهالة 1.2 سم، في حين أن أعلى مقدرة على منع النمو سجلت في طبق بكتيريا *Staph. aureus* (نصف قطر هالة 2.3 سم) ، وهذا يتوافق مع دراسات Smith-Palmer وزملائه (1998)، كما استطاع زيت القرفة منع نمو بكتيريا *E.coli* O157:H7، وهذا يتوافق مع نتائج Ceylan وزملائه (2000).

الجدول (1) تأثير الزيوت المستخدمة في نمو ونشاط البكتيريا المدروسة باستخدام الحفر على الآغار

البكتيريا	زيت القرفة	زيت القرنفل	زيت الزنجبيل	زيت الليمون	زيت الزعتر	زيت أكليل الجبل
B. subtilis	1.5 ^{b}	2.5 ^{a}	2.5 ^{b}	1.6 ^{e}	2.1^{c}	1.5 ^{e}
L. monocytogenes ATCC 98 A6	1.5 ^{b}	2.5 ^{a}	2.7 ^{a}	1.5 ^{e}	1.9 ^{d}	2.4^{c}
S.typhi O9	1.3 ^{c}	2.1 ^{b}	1.4 ^{e}	2.5^{d}	2.8 ^{a}	2.2 ^{d}
E. coli O157:H7	1.3 ^{c}	2.5 ^{a}	1.7 ^{d}	4.2 ^{a}	1.7 ^{e}	3.1 ^{a}
Pseudomonas	1.2 ^{d}	1.8 ^{c}	-	3.5 ^{b}	2.5 ^{b}	-
Staph. aureus	2.3 ^{a}	1.7 ^{d}	1.8 ^{c}	2.2 ^{c}	2.2^{c}	2.5 ^{b}

حيث أن : الإشارة (-):تدل على عدم وجود هالة (لا يوجد أثر تثبيطي).
الحرف ضمن العمود يعبر عن الفروق لنوع الزيت الواحد باختلاف أنواع البكتيريا المدروسة.
الارقام ذات الأحرف المتشابهة لايوجد فيما بينها فروق عند مستوى معنوية 0.05.

يُظهر الجدول 1 أثر زيت القرنفل في نمو ونشاط كل من البكتيريا *B. subtilis*، و *L. monocytogenes* ATCC 98 A6 و*E. coli* O157:H7 فقد تساوى نصف قطر الهالة فيما بينها، (2.5 سم) وبشكل اقل للبكتيريا *S.typhi* O9 (2.1 سم)، ويتوافق الأثر التثبيطي في الدراسة مع ما أورده Burt (2004) في دراسته حول تأثير زيت القرنفل في نمو بكتيريا *Bacillus spp.* و*Salmonella spp.* حيث منع وجودها في أطباق البيئات الصلبة، وتتوافق هذه النتائج مع دراسات سابقة حول مقدرة هذا الزيت في تثبيط نمو كل من بكتيريا *L. monocytogenes* و *E. coli*و *B. subtilis* (Deans وزملاؤه عام 1992 ؛ Juvanوزملاؤه، 1994؛ Blaszyk و Holley، 1998؛ Rollerو Board، 2003؛ Alexander وRichard، 2004؛ Bhattacharrya وزملاؤه، 2011؛ حتيت وزملاؤه، 2013).

يلاحظ من الجدول 1 امتلاك زيت الزنجبيل القدرة على منع نمو ونشاط البكتيريا الممرضة المدروسة عدا بكتيريا *Pseudomonas*. وتتوافق هذه الدراسة من حيث تثبيط نمو بكتيريا *S. typhi* و*E. coli* مع ما وجده Onyeagloa وزملاؤه (2004) ، وربما تعود مقاومة بكتيريا *Pseudomonas* لكونها سلالة مقاومة ولامتلاكها مورثة مسؤولة عن إنتاج مادة بروتينية تعزز الجدار الخلوي للبكتيريا فتمنع الأثر التثبيطي للزيوت العطرية بحسب (Pattnaik وزملاؤه، 1995؛ Kavanaugh وRibbeck، 2012). وتأتي مقدرة زيت الزنجبيل في الدراسة على منع نمو بكتيريا *B. subtilis* بما لا يتوافق مع دراسة Nelson وزملائه (2007) وربما يعزى ذلك إلى كون المواد الموجودة في زيت الزنجبيل المستخلص محلياً ذات تراكيز مرتفعة (Lawrence وPalombo ، 2009؛ Debbarma وزملاؤه، 2012) وهذا مايتوافق مع نتائج الدراسة الحالية من حيث قدرة زيت الزنجبيل في منع نمو بكتيريا *B. subtilis*.

يُلاحظ الجدول 1 امتلاك زيت الليمون القدرة العالية في تثبيط البكتيريا الممرضة المدروسة، حيث سجل أعلى نصف قطر هالة لبكتيريا *E.coli* O157:H7 بلغ 4.2 سم، وسجل أقل نصف قطر هالة عند بكتيريا *L. monocytogenes* ATCC 98 A6 حيث بلغ 1.5 سم. وهذا يتوافق مع دراسات سابقة حول الأثر التثبيطي لزيت الليمون حيث أكد Kotzekidou

وزملاؤه (2007) مقدرة الزيت على منع وجود *E. coli* O157:H7، و*Staph. aureus*، حيث وجدوا أن قطر الهالة في تجربة منع نمو بكتيريا *E.coli* O157:H7 بلغ 10 ملم.

يظهر الجدول1 قدرة زيت الزعتر على منع نمو ونشاط البكتيريا الممرضة المدروسة، حيث استطاع منع نمو *S.typhi* O9 بنصف قطر هالة بلغ 2.8 سم، وكانت أكثر البكتيريا مقاومة لزيت الزعتر هي *E.coli* O157:H7 بنصف قطر هالة لم يتعدَ 1.7 سم.

كما يُلاحظ أن زيت أكليل الجبل استطاع منع نمو البكتيريا المدروسة في البحث عدا بكتيريا *Pseudomonas* حيث لم يلاحظ أي تأثير يذكر في نموها وربما يعود سبب مقاومة *Pseudomonas* لزيت أكليل الجبل لكون تركيز المواد الفعالة غير كافٍ ناتج عن سوء وطول فترة التخزين بحسب (Prabuseenivasan وزملاؤه، 2006)، وسجلت أعلى مقدرة تثبيطية في طبق *E.coli* O157:H7 (3.1 سم)، وكانت أكثر البكتيريا مقاومةً للفعل التثبيطي للزيت *B. subtilis* حيث لم يتعدَ الفعل التثبيطي والمعبر عنه بنصف قطر بلغ الهالة 1.5 سم. وهذا يتوافق مع نتائج (Tantaoui- Elaraki وBeraoud،1994؛Erdogrul ،2002؛ Kamal وزملاؤه، 2008؛ ياسين وزملاؤه، 2012).

الجدول (2) نتائج تحليل التباين لتأثير الزيوت العطرية المدروسة في نمو ونشاط البكتيريا المدروسة

مصادر التباين	درجة الحرية	مجموع مربع الانحرافات	متوسط مجموع مربع الانحرافات	Fم
النوع البكتيري	5	4.1374	0.8275	10.32
نوع الزيت	5	8.7924	1.7585	30.37
التفاعل	25	36.0418	1.4417	64.53
الخطأ التجريبي	35	0.9537	0.0272	52.91

أظهرت الدراسة الإحصائية ان هناك فروقاً ذو دلالة إحصائية بين أنواع البكتيريا المستخدمة في الدراسة، حيث بلغت قيمة اقل فرق معنوي 1.8 (عند مستوى دلالة 0.05)، ووجدت الدراسة الإحصائية أن أكثر البكتيريا حساسية للزيوت العطرية على اختلافها هي بكتيريا *Staph. aureus*، أما أكثر البكتيريا مقاومة كانت بكتيريا *Pseudomonas*. كما وجدت الدراسة الإحصائية فروقاً ذات دلالة إحصائية حيث بلغت قيمة اقل فرق معنوي 2.1 (عند مستوى الدلالة 0.05)، ووجدت الدراسة الإحصائية أن أكثر الزيوت فعالية هو زيت الليمون، تلاه زيت الزعتر، وإن أقل الزيوت فعالية في الدراسة كان زيت الزنجبيل.

المقترحات

1 – اختلفت الأثر التثبيطي في الدراسة حسب نوعية الزيت العطري المستخدم، ونوع البكتيريا الممرضة المدروسة.

2 – كان التأثير التثبيطي لزيت الليمون هو الأكبر مقارنةً مع الزيوت الأخرى، من حيث نصف قطر الهالة المتشكلة.

3 – لم يظهر أي أثر تثبيطي لكل من زيت أكليل الجبل وزيت الزنجبيل في بكتيريا *Pseudomonas*.

4 – امتلكت الزيوت كافة أثراً ثبيطياً في كل من *Staph. aureus* و *L. monocytogenes* و *S. typhi* و*E. coli* و*B.subtilis*.

التوصيات

تقترح الدراسة متابعة العمل على الزيوت كل على حدة لمعرفة الكمية المطلوبة تثبيط نمو البكتيريا الممرضة ومنع وجودها في الأغذية، والتي يمكن على اساسها استخدام هذه الزيوت في حفظ الاغذية إضافة إلى دورها في إضافة وتعزيز نكهة الأغذية، كذلك إجراء التجارب لتحديد المواد الفعالة في الزيوت العطرية المستخدمة في الدراسة.

المراجع

- **حتيت، رشيد، حمادي ،كاظم ، و محمد محسن، توفيق**. 2013. عزل وتنقية وتشخيص مركب اليوجنول من الزيت الطيار لنبات القرنفل ودراسة فعاليته الضد بكتيرية. مجلة أبحاث البصرة. 39 : 139-152.
- **ياسين، نور، اسماعيل ، محمد ظاهر، و شماع، عصام**. 2012. تحديد التركيز المثبط الادنى للزيت العطري لنبات أكليل الجبل الدستوري على نمو فطر الرشاشية الفلافية. المجلة العربية للعلوم الصحية 4 (8): 49-55.
- **Alexander, O., and A. Richard**. 2004. Mechanism of Bactericidal action of cinnam aldehyde against *Listeria monocytogenes* and of Eugenal against *L. monocytogenes* and *Lactobacillus*. Appl. Environ. Microbial. 70 (10): 5750-5755.
- **Alma, M. H., Ertas, M. and H. Kollmannsberger**. 2007. Chemical com position and content of essential oil from the Bud of cultivated Turkish clove (*Syzygium aromaticum* L.). Bio. Resources, 2 (2): 265 – 269.
- **Bhattacharyya, P.N. and D.K., Jha**. 2011. Optimization of cultural conditions affecting growth and improved bioactive metabolite production by a subsurface *aspergillus* strain tsf 146, International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology ,2:133-143
- **Blaszyk, M. and R.A. Holley**. 1998. Interaction of monrolaurin Eugenol and sodium citrate on growth of common meat spoilage and pathogenic organism. Int. J. food Microbial 39: 175-183
- **Bullerman, L.B., Y.,Lien, and S.A., Seier**. 1977. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils, cinnamic aldehyde and eugenol. Journal of Food Science 42,1107–1109
- **Burt, S.** 2004 "Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods—a review' International Journal of Food Microbiology, 94: 223–253.
- **Ceylan, E., J.R., Sabah, and D.Y.C., Fung**. 2000. Effect of cinnamon on *Escherichia coli* O157:H7 in apple juice. In: Proceedings of the Food Safety Consortium Annual Meeting 1999. The Food Safety Consortium, Afton:152–160.
- **Conner, D. E**. 1993 'Naturally occurring compounds' In P. M. Davidson, and A. L. Branen (Eds.), Antimicrobials in foods (pp. 441–468). New York: Marcel Dekker
- **Daud, F.S., G., Pande, M., Joshi, R., Pathak, and S., Wankhede**. 2013. A Study of Antibacterial Effect of Some Selected Essential Oils and Medicinal Herbs Against Acne Causing Bacteria. International Journal of Pharmaceutical Science Invention. 2 (1): 27- 34.
- **Deans, S. G., K. P., Svoboda, M., Gandidza, and E. X., Brechany**. 1992. Essential oil profiles of several temperate and tropical aromatic plants: their antimicrobial and antioxidant activities. Acta. Hortic., 306: 229 - 232.
- **Debbarma J., P., Kishore, B., Nayak, N., KAnnuchamy, and V., Gudipati**. 2012. antibacterial activity of ginger, eucalyptus and sweet orange peel essential oils on fish-borne bacteria. journal of food processing and preservation. 37 (5): 1022- 1030.
- **Erdogul, O.** 2002. Antibacterial Activities of some plant esctracts used in folk medicine. Pharmaceutical Biology. 40(4):269-273.
- **Hammer, K.A., C.F., Carson, and T.V., Riley**. 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. Journal of Applied Microbiology. 86: 985–990

- **Juvan, B., J.I. Kanner, F. Schved, and A. Weisslowic**. 1994. Factors that interact with the antibiotic of thyme essential oil and its active constituent. Appl. Bacterial. 76: 626-631.
- **Kamal, A., H., Hensel, A., Smania, and S., Machado de Souza**. 2008. Rosemary (Rosmarinus officinalis) a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide cienc. Tecnol. Liment. 28(2): 45-56
- **Kavanaugh, N.L. and K., Ribbeck**. 2012. Selected Antimicrobial Essential Oils Eradicate *Pseudomonas* spp. and *Staphylococcus aureus* Biofilms. Appl. Environ. Microbiol. 78: 40-57.
- **Kotzekidou P., P., Giannakidis, and A., Boulamatsis**. 2007. Antimicrobial activity of some plant extracts and essential oils against foodborne pathogens in vitro and on the fate of inoculated pathogens in chocolate. Society of Food Science and Technology. 119-127
- **Lawrence, H. A. and E.A., Palombo** . 2009. Activity of essential oils against *Bacillus subtilis* spores. Journal Microbiol Biotechnol.19(12):1590-1595.
- **Lee, J., J., Lim, S.,Sim, and D., Park**. 2008. Antibacteril effects of S- tulipalin B. isolated from Spiraea thunbergii Sieb on Escherichia coli a major food borne pathogenic microorganism. J. Med Plants. Res. 2(3):59-65.
- **Lis-Balchin, M., and S.G., Deans**. 1997. Bioactivity of selected plant essential oils against *Listeria monocytogenes*. Journal of Applied Microbiology. 82: 759-762.
- **Nelson C. Azu, Reginald A. Onyeagba.** 2007. Antimicrobial Properties of Extracts of *Allium cepa* (Onions) And *Zingiber officinale* (Ginger) On *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* And *Bacillus subtilis*. The Internet Journal of Tropical Medicine. 3 (2): 247 – 254
- **Onyeagloa, R.A., O.C., Ugbogu, C.U., Okeke, and O. Iroakasi**. 2004.Studies on the antimicrobial effects of garlic (*Allium satium Linn*), ginger (Zingiber officinale Roscoe) and lime (*Oaurantifolia Linn*). African j. of Biotech., 3(10):552-554.
- **Pattnaik, S., C., Ratt, and VR., Subramanyam**. 1995. Characterization of resistance to essential oils in a strain of *Pseudomonas aeruginosa* (VR-6). Display Settings. 81: 29-31.
- **Pirbalouti, A. G., P., Jahanbazi, S., Enteshari, F., Malekpoor, and B., Hamedi**. 2010 Antimicrobial Activity of Some Iranian Medicinal Plants. Arch. Biol. Sci., 62 (3): 633-642.
- **Prabuseenivasan, S., M., Jayakumar, and S., Ignacimth**. 2006. In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. BMC Comlementy and alternative Med. 6:39-52.
- **Randhir, R., Y.T., Lin, and K.Shetty**. 2004. Phenolics their antioxidant and antibacterial activity in dark germinated fenugreek sprouts in respone to peptide and phytochemical elicitors. Asia Pac. J. clin. Nutr. 13 (3): 295-307.
- ***Reynolds*, J. G., and C. B. Thorsness**. 1996. Mild Upgrading of Heavy *Oil* from the San Joaquin a Response to the Clean Air Act, ChemTech 26(6): 56-61
- **Roller, S. and G. Board**. 2003. Naturally occurring anti-microbial system. P.262-240. In: Russell, N. and Gouble, G. Food preservation .2nd Kluasex Academic New York.
- **Smith-Palmer, A., J., Stewart, and L., Fyfe**. 1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. Letters in Applied Microbiology, 26: 118–122.

- **Tantaoui- Elaraki, A., Beraoud, L**. 1994. Inhibition of growth and aflatoxin production in Aspergillus parasiticus by essential oils of selected plant materials. J. Environ Pathol Toxical Oncol. 13(1):76-72.
- **Tassou, C.C., E.H., Drosinos, and G.J.E., Nychas**. 1995. Effects of essential oil from mint (*Mentha piperita*) on *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes* in model food systems at 4° and 10°C. Journal of Applied Bacteriology. 78: 593–600.
- **Thomson, C.** 2000. PDR for herbal medicinr Second Eddition, the information standard for complimentary medicine. 645-646.
- **Zheng, W. and S.Y., Wang**. 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs, J. Agric Food chem., 49(11):5165-5170.

N° Ref: 515