Original Article

Iranian Journal of Medical Microbiology

Iran J Med Microbiol: Volume 9, Number 2 (05-2015)

Journal homepage: www.ijmm.ir

The Effect of using microwave pretreatment in drying roots nutmeg on antimicrobial properties against pathogenic bacteria and spoilage molds

Mohamad Javad Akbarian Mymand[1], Samaneh Faraji Kafshgari[1], Ehsan Mahmodi[1], Mehdi Vatankhah[2]

1. Department of Food Science and Technology, Agricultural Sciences and Natural Resource university of Gorgan, Gorgan, Iran.
2. Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University of Sabzevar, Sabzevar.Iran

Article Information

Article history:
Received: 2014/07/02
Accepted: 2015/02/02
Available online:2015/06/10

Article Subject:
Antimocrobial Substance

IJMM 1394; 9(2): 47-55

Corresponding author at:

Samaneh Faraji Kafshgari

Department of Food Science and Technology, Agricultural Sciences and Natural Resource university of Gorgan, Gorgan, Iran.

Email:
samanefaraji_90@yahoo.com

Abstract

Background and Aim: Plants produce a diverse range of bioactive molecules, making them rich source of different types of medicines. Combinational technology is method which combination two or more technology (Conventional or advanced) to transfer heat and humidity. The purpose of this study was to investigate the effect of microwave pretreatment in drying roots nutmeg on Antimicrobial activity in the against disease bacteria and spoilage mold.

Materials and Methods: In this study, two methods, oven and microwave oven with pre-treatment has been used for drying the roots nutmeg and antibacterial effects of extracts produced by both methods against pathogenic bacteria and spoilage mold was studied by disk diffusion method and dilution in the wells.

Results: The results of the comparison and analysis of data showed that the methods of drying of the Hindi roots nutmeg was significant at the 99% level ($p<0.01$). Also the results showed that extract of roots nutmeg had the most antimicrobial effect on *Salmonella enterica* among the bacteria studied and *Trichoderma viride* among spoilage molds studied in this research.

Conclusions: The results showed that extracts of roots nutmeg avoid the growth of spoilage mold and pathogenic bacteria. Also, The results showed that using of microwave pretreatment in drying of Hindi roots nutmeg, increase antimicrobial properties.

Key Words: Roots nutmeg, Antimicrobial property, Microwave pretreatment, Disk diffusion, Dilution in the well.

Copyright © 2015 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Akbarian Meymand M, Faraji kafshgari S, Mahmodi E, Vatankhah M. The Effect of using microwave pretreatment in drying roots nutmeg on antimicrobial properties against pathogenic bacteria and spoilage molds. Iran J Med Microbiol. 2015; 9 (2) :47-55

مقاله پژوهشی

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۹ – شماره ۲ – تابستان ۱۳۹۴

Journal homepage: www.ijmm.ir

تاثیر استفاده از پیش تیمار مایکروویو در خشک کردن ریشه جوز هندی بر خاصیت ضدمیکروبی آن در مقابله با باکتری‌های بیماری‌زا و کپک‌های عامل فساد

محمدجواد اکبریان میمند[۱]، سمانه فرجی کفشگری[۱]، احسان محمودی[۱]، مهدی وطن‌خواه[۲]

۱. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۲. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار، سبزوار، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله

دریافت:۱۳۹۳/۰۴/۱۱

پذیرش:۱۳۹۳/۱۱/۱۳

انتشار آنلاین:۱۳۹۴/۰۳/۲۰

موضوع:

مواد ضد میکروبی

IJMM 1394; 9(2): 47-55

نویسنده مسئول:

سمانه فرجی کفشگری

گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

تلفن: ۰۹۱۳۳۹۲۶۱۷۱

پست الکترونیک:

samanefaraji_90@yahoo.com

چکیده

زمینه و اهداف: گیاهان انواع مختلفی از مواد زیست فعال تولید می‌کنند که آن‌ها را یک منبع غنی از ترکیبات دارویی می‌سازد. تکنولوژی ترکیبی روشی است که در آن از ترکیب دو یا چند تکنولوژی متداول یا پیشرفته به صورت همزمان یا متوالی برای انتقال حرارت و رطوبت استفاده می‌شود. هدف از این پژوهش بررسی تاثیر استفاده از پیش تیمار مایکروویو در خشک کردن ریشه جوز هندی بر خاصیت ضدمیکروبی آن در مقابله با باکتری‌های بیماری‌زا و کپک‌های عامل فساد بود.

مواد و روش کار: در این پژوهش از دو روش آون و آون به همراه پیش تیمار مایکروویو جهت خشک کردن ریشه جوز هندی استفاده شده و اثر خاصیت ضدمیکروبی عصاره تولیدی با هر دو روش علیه باکتری‌های بیماری‌زا و کپک‌های عامل فساد با دو روش دیسک انتشاری و رقت‌سازی در چاهک مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج مقایسه میانگین و آنالیز داده‌های نوع روش خشک کردن ریشه جوز هندی نشان داد که اثر نوع روش خشک کردن در سطح ۹۹ درصد معنی‌دار بود ($P<۰/۰۱$). همچنین نتایج حاصل نشان داد که عصاره ریشه جوز هندی در میان باکتری‌های مورد مطالعه، بیشترین اثر ضد میکروبی را بر *سالمونلا انتریکا* و در میان قارچ‌های موررد مطالعه، بیشترین تاثیر را بر *تریکودرما ویریده* داشت.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که عصاره ریشه جوز هندی از رشد کپک‌های عامل فساد و باکتری‌های بیماری‌زای مواد غذایی جلوگیری نمود، همچنین نتایج نشان داد که استفاده از پیش تیمار مایکروویو در خشک کردن ریشه جوز سبب افزایش خواص ضد میکروبی آن شد.

کلمات کلیدی : ریشه جوز هندی، خاصیت ضد میکروبی، پیش‌تیمار مایکروویو، دیسک انتشاری، رقت‌سازی در چاهک

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

مقدمه

گیاهان انواع مختلفی از مواد زیست فعال تولید می‌کنند که می‌توان آن‌ها را به‌عنوان یک منبع غنی از مواد دارویی معرفی کرد (۱). مطالعات انجام شده در دنیا حاکی از آن است که عصاره بسیاری از گیاهان توانایی مهار رشد میکروارگانیسم‌ها را دارند و به این لحاظ گیاهان به‌عنوان ترکیبات ضد میکروبی کاربردهای زیادی پیدا کردند (۲). معمولاً در استخراج عصاره گیاهان، ابتدا گیاه مورد نظر خشک و سپس به وسیله حلال مورد نظر عصاره-گیری می‌شود. یکی از مهمترین روش‌های متداول در فرآیند خشک کردن گرمادهی می‌باشد. از مهمترین معایب خشک کردن با جریان هوای داغ (روش جابجایی)، پائین بودن بازده انرژی و

طولانی بودن زمان خشک کردن است که معمولاً موجب هدر رفتن برخی از ترکیبات ضد میکروبی گیاه طی فرآیند خشک کردن می‌شود. همچنین استفاده از روش‌های معمول خشک کردن گیاهان نیز می‌تواند درصد و نوع ترکیبات شیمیایی موجود در آن را تغییر دهد (۳).

تکنولوژی ترکیبی روشی است که در آن از ترکیب دو یا چند تکنولوژی متداول یا پیشرفته به صورت همزمان یا متوالی جهت انتقال حرارت و رطوبت استفاده می‌شود. مایکروویو کاربرد زیادی در علوم زیستی دارد که می‌تواند به صورت ترکیبی با سایر روش‌های خشک کردن استفاده شود که علت آن را می‌توان به انتقال سریع حرارت، تاثیرات مثبت آن در استخراج، عفونت‌زدایی، پردازش بافت و ... مربوط دانست. کاهش زمان برای انجام آزمون، افزایش سرعت و کمترین میزان تخریب در نمونه از مزیت‌های اصلی مایکروویو می‌باشند. هم‌چنین یکی دیگر از مزیت‌های مایکروویو این است که در هنگام استفاده از مایکروویو بر میزان دما و اثرات آن روی محصول کنترل وجود دارد (۴).

خشک کردن ترکیبی به کمک مایکروویو (MW) یک روش خشک کردن سریع محسوب می‌شود که می‌تواند برای خشک کردن قسمت‌های مختلف گیاهان به‌کار برود. از این رو خشک کردن ترکیبی باعث افزایش بازده عصاره با مقادیر بالاتری از ترکیبات اکسیژنه می‌شود، و اجازه می‌دهد تا در هزینه، زمان، انرژی و مواد گیاهی صرفه‌جویی قابل‌توجهی به عمل آید. در واقع استفاده از پیش تیمار مایکروویو به فن‌آوری سبز معروف است (۵).

مطالعات انجام شده نشان دادند که استفاده از پیش‌تیمار مایکروویو سبب کمترین آسیب به ترکیبات موجود در عصاره گیاهان می‌شود (۶، ۷، ۸). Gabriel و همکاران (۱۹۹۸) در طی پژوهشی که گیاه رزماری را با پیش تیمار مایکروویو خشک کردند، به این نتیجه رسیدند که عصاره این گیاه طی مرحله خشک کردن با پیش تیمار مایکروویو، تا حد زیادی از اندام گیاه خارج می‌شود (۹).

براساس نتایج مطالعات انجام شده استفاده از پیش تیمار مایکروویو موجب حفظ کیفیت محصول شده و می‌تواند ساختار، رنگ و بافت نمونه نهایی را متعادل کند. هم‌چنین زمان فرایند را کاهش داده و کمترین آسیب بافتی را به بار می‌آورد.

اگرچه مطالعات زیادی در مورد استفاده از مایکروویو در خشک کردن و استخراج ترکیبات گیاهان صورت گرفته، اما مطالعات اندکی در مورد بررسی اثر ضد میکروبی عصاره گیاه خشک شده به‌وسیله پیش‌تیمار مایکروویو صورت گرفته است. از طرفی در مورد بررسی اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی ریشه جوز هندی علیه باکتری‌ها و قارچ‌های عامل فساد نیز پژوهشی صورت نگرفته است. هدف از این تحقیق بررسی اثر ضد میکروبی عصاره ریشه جوز هندی که به دو روش متداول (آون) و ترکیبی (آون- مایکروویو) خشک گردیده‌اند، بود.

مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده در این پژوهش شامل: اتانول ۸۰ درصد، محیط کشت مولر هینتون براث (Brith Muller – Hinton)، مولر هینتون آگار (Muller – Hinton Agar) و پوتیتو دکستروز آگار (PDA Agar) بودند.

باکتری‌هایی که در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفتند شامل: *باسیلوس‌سرئوس (ATCC 1178)* ، *استافیلوکوکوس-اورئوس (PTCC 1112)*، *اشریشیاکلی (PTCC 1330)* و *سالمونلاانتریکا (PTCC 1639)*، و قارچ‌هایی که در این پژوهش استفاده شدند شامل: *آسپرژیلوس نایجر (ATCC 5012)*، *آسپرژیلوس اوریزا (ATCC 5163)* و *تریکودرما ویریده (ATCC5257)* *بودند* که از مرکز منطقه‌ای کلکسیون قارچ و باکتری ایران- تهران خریداری شدند.

روش‌های خشک کردن ریشه جوز هندی

ریشه‌های جوز در اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۲ از گلخانه گروه باغبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تهیه و به دو روش خشک کردن با آون و خشک کردن با آون به همراه پیش تیمار مایکروویو خشک گردیدند.

آون (ساخت آلمان، شرکت ممرت، مدل یو اف ای ۵۰۰) جزء خشک‌کن‌های غیر مداوم محسوب می‌شود که برای عملیات کوچک و آزمایشگاهی طراحی شده است که شامل اتاقکی است که به‌وسیله یک المنت گرم می‌شود. در برخی از موارد جهت خشک شدن بهتر از فن استفاده می‌شود تا هوا را به بیرون مکش کند. جهت خشک کردن ریشه‌های جوز هندی توسط آون، ابتدا ریشه‌های جوز به‌صورت یک لایه نازک روی سینی‌های مخصوص

قرار گرفته و سپس در آون با دمای ۳۵ °c قرار داده شدند و خشک کردن برگ‌ها تا رسیدن به یک وزن ثابت ادامه یافت (۱۰).

در روش ترکیبی آون به همراه پیش تیمار مایکروویو، ابتدا نمونه‌ها به‌وسیله مایکروویو خانگی (سامسونگ مدل سی اف ۳۱۱۰ ان-۵) و سپس با آون با دمای ۳۵ °c خشک شدند. نحوه خشک کردن با مایکروویو به این صورت بود که به ازای هر ۱۰۰g برگ، ۲ min تیمار با مایکروویو با شدت ۳۶۰ Hz انجام گرفت (۱۱).

تهیه عصاره

جهت تهیه عصاره ریشه جوز هندی، ابتدا ریشه‌های جوز به وسیله آسیاب برقی (ساخت ایران، شرکت توس شکن خراسان، مدل تی ۳۸۰۰) پودر شدند. جهت تهیه عصاره اتانولی، از حلال اتانول ۸۰٪ (حجمی : حجمی) و جهت تهیه عصاره از مایکروویو استفاده شد. در این روش ۵ g نمونه با حلال اتانول ۸۰٪ با نسبت نمونه به حلال (۱:۱۵) مخلوط گردید. سپس مخلوط حاصل با امواج مایکروویو (توان ۱۰۰ w) به‌مدت ۵ min اشعه دهی شد. عصاره‌های حاصل توسط کاغذ صافی معمولی از مواد گیاهی جدا شدند، سپس توسط تبخیرکننده چرخشی تحت خلا (ساخت آلمان، شرکت آی کا ای، مدل آر وی ۰۵بیسیک) در دمای ۴۰°c تغلیظ و در نهایت توسط خشک‌کن انجمادی (ساخت کره جنوبی، شرکت اپران، مدل اف دی بی ۵۵۰۳) در دمای ۵۰°c- به پودر تبدیل شدند (۱۲).

آماده سازی سویه‌های میکروبی

سویه‌های باکتریایی مورد بررسی یک روز قبل با استفاده از محیط کشت پلیت کانت آگار فعال شدند. به این صورت که با لوپ استریل از کشت قبلی مقداری برداشته و روی محیط کشت از قبل آماده شده به حالت خطی کشت داده شد. سپس محیط‌ها به‌حالت وارونه در انکوباتور با دمای ۳۷ °c قرار داده شدند (۱۳).

تهیه محلول مک‌فارلند

در این تحقیق از محلول مک فارلند ۰/۵ و ۱ استفاده شد که به‌ترتیب معادل غلظت‌های $1/5 \times 10^8$ cfu/m و 3×10^8 می‌باشند. جهت تهیه محلول مک فارلند ۰/۵ ابتدا ۹/۹۵ mm اسید سولفوریک ۱٪ را با ۰/۰۵ mm کلرید باریم ۱٪ مخلوط و با ورتکس هم‌زده شد (۱۳). جهت تهیه محلول مک فارلند ۱ ابتدا ۹/۹ ml اسیدسولفوریک ۱٪ را با ۰/۱ ml کلرید باریم ۱٪ مخلوط نموده و خوب با ورتکس هم زده شد.

بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره ریشه جوز هندی به روش دیسک دیفیوژون (Diffusion Disk Method)

ابتدا عصاره پودر شده را با دی متیل سولفوکساید (DMSO) رقیق کرده و غلظت‌های ۲۵ mg/ml، ۵۰، ۱۰۰و۲۰۰ از عصاره تهیه شد. سپس جهت تهیه دیسک‌های حاوی عصاره، از دیسک‌های بلانک ساخت پادتن طب (۶ mm) استفاده شد. بدین ترتیب که ۱۰µl از غلظت‌های مختلف روی دیسک‌های جداگانه ریخته و بعد از ۱± ۳ دقیقه پس از جذب کامل، دیسک‌ها جهت دیسک‌گذاری آماده شدند (۱۴).

از باکتری‌های (*باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا کلی* و *سالمونلا*انتریکا) سوسپانسیون میکروبی معادل مک فارلند ۰/۵ به غلظت $1/5 \times 10^8$ cfu/ml تهیه شد. سپس با ۱۰۰ µl از سوسپانسیون تهیه شده بر سطح محیط مولر هینتون آگار کشت یکنواخت انجام شد. سپس دیسک‌های بلانک حاوی غلظت‌های مختلف عصاره ریشه جوز با فاصله معین از یکدیگر، از لبه پلیت روی سطح محیط کشت قرار داده شدند. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ °c گرم‌خانه‌گذاری شدند. سپس قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک به‌وسیله خط‌کش میلی-متری مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش از دیسک‌های حاوی دی متیل سولفوکساید (رقیق کننده عصاره) به‌عنوان کنترل منفی و از دیسک‌های حاوی آنتی‌بیوتیک جنتامایسین به-عنوان کنترل مثبت استفاده شد که غلظت آن ۰/۵ mg/mlبود (۱۵).

جهت تعیین قدرت ضد قارچی عصاره ریشه جوز هندی به روش دیسک دیفوزیون، ابتدا قارچ‌های مورد آزمایش شامل *آسپرژیلوس نایجر*، *آسپرژیلوس اوریزا* و *تریکودرما ویریده* در محیط کشت پوتیتو دکستروز آگار (PDA Agar) به‌مدت ۴ روز در دمای ۲۷ °c قبل از آزمایش کشت داده شدند. یک میلی لیتر از رقت‌های تهیه شده عصاره (۲۵ mg/ml، ۵۰، ۱۰۰و۲۰۰) با ml ۸ از محیط کشت پوتیتو دکستروز آگار مخلوط شده و سپس درون پتری‌دیش ریخته شدند. در نهایت دیسک میسیلیومی از اسپورها (قطر ۵ ml) روی مرکز پلیت محیط کشت پوتیتو

دکستروز آگار قرار گرفت (جهت تهیه دیسک‌های میسلیومی با قطر ml ۵ از لوله‌های استریل با قطر ml ۵ استفاده گردید). همه پلیت‌ها به مدت ۴ روز در انکوباتور ۲۷ °c قرار گرفتند. در نمونه کنترل مثبت به جای عصاره از ضد قارچ و در کنترل منفی از دی متیل سولفوکساید استفاده شد (۱۰). از فرمول زیر برای محاسبه درصد ممانعت کنندگی استفاده شد.

رابطه (۱)

$$\text{درصد ممانعت کنندگی} = \frac{\text{قطر هاله} - \text{قطر کنترل منفی}}{\text{قطر کنترل منفی}} \times 100$$

بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره ریشه جوز هندی به روش رقت‌سازی در چاهک (Micro Broth Dilution)

از محیط کشت باکتری مقداری با لوپ استریل برداشته و درون لوله آزمایش حاوی ml ۵-۴ آب مقطر ریخته شد. آنقدر باکتری به لوله آزمایش حاوی آب مقطر اضافه شد تا کدورت محلول باکتری و مک فارلند یکی شد (این رقت $۱۰^{۸}$ × ۳ بود). در لوله دیگری ml ۱ از محلول باکتری را با ml ۲ آب مقطر مخلوط کرده تا رقت $۱۰^{۸}$حاصل شد. از این محلول دو بار عمل رقیق سازی انجام گرفت تا رقت یعنی سوسپانسیون میکروبی به رقت مورد نظر یعنی cfu/ml $۱۰^{۶}$ رسید (۱۳).

از عصاره دو محلول ذخیره ppm ۴۰۰۰۰ و ۳۰۰۰۰ تهیه گردید. شیوه آماده‌سازی آن به این صورت بود که به ترتیب به ۰/۲ و g ۰/۱۵عصاره پودر شده، µl ۳۰۰ دی متیل سولفوکساید، µl ۴۵۱۸ محیط کشت مولر هینتون براث اضافه و با یکدیگر مخلوط و استریل شدند. برای استریل کردن از صافی میلی‌پور ۰/۲۲ استفاده شد. از عصاره صاف شده cc ۲ برداشته و درون یک شیشه استریل با cc ۲ محیط کشت مخلوط گردید. این عمل ادامه یافت تا غلظت‌ها نصف شدند.

غلظت‌های عصاره شامل ۴۰۰۰۰، ۳۰۰۰۰، ۲۰۰۰۰، ۱۵۰۰۰، ۱۰۰۰۰، ۷۵۰۰، ۵۰۰۰، ۳۷۵۰، ۲۵۰۰، ۱۸۷۵ و ۱۲۵۰ ppm بودند. پس از پر کردن چاهک‌های میکروپلیت، پلیت‌ها به مدت ۲۴-۲۲ ساعت در دمای ۳۷ °c قرار گرفتند.

جهت تعیین کمترین غلظت بازدارندگی (MIC) اولین خانه‌ای که در آن کدورتی دیده نشد به‌عنوان حداقل غلظت بازدارندگی تعیین شد. به‌عبارت دیگر، رقیق‌ترین غلظتی که مقدار عددی جذب آن، نصف یا کمتر از متوسط سه چاهک آخر (متوسط چاهک‌های ۱۲، ۲۴ و ۳۶) که فقط حاوی محیط کشت و باکتری بود، بود (۱۶)

جهت تعیین کمترین غلظت کشندگی (MBC) از خانه‌هایی که در آنها کدروتی مشاهده نشد، µl ۵ برداشته و روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت نقطه‌ای داده شد و در دمای ۳۷ °c به‌مدت ۲۴ ساعت نگهداری گردید. اولین غلظتی که در آن هیچ رشدی مشاهده نگردید، به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته شد (۱۶).

برای تعیین کمترین غلظت بازدارندگی و کمترین غلظت کشندگی قارچ‌ها، ابتدا با استفاده از محلول نمکی پلی‌سوربات، سوسپانسیون هاگ قارچ تهیه گردید. سوسپانسیون حاصل را با استفاده از صافی غشایی غیر جاذب سترون (Whathman) صاف نموده و تعداد هاگ‌های آن، با استفاده از لام شمارش سلول‌های خونی شمارش گردید که تعداد هاگ‌ها به $۱۰^{۷}$ × ۱ در هر میلی-لیتر رسید. غلظت‌های عصاره شامل ۴۰۰۰۰، ۳۰۰۰۰، ۲۰۰۰۰، ۱۵۰۰۰، ۱۰۰۰۰، ۷۵۰۰، ۵۰۰۰، ۳۷۵۰، ۲۵۰۰، ۱۸۷۵ و ۱۲۵۰ ppm بود.

پس از پر کردن چاهک‌های میکروپلیت، پلیت‌ها به مدت ۲۴-۲۲ ساعت در دمای ۳۷ °c قرار گرفتند. سپس کمترین غلظت بازدارندگی و کمترین غلظت کشندگی قارچ‌ها تعیین گردید (۱۷).

طرح آماری

این مطالعه به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در سه تکرار روی باکتری‌ها و قارچ‌های مورد آزمون انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹ و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۹۹٪ انجام شد. همچنین شکل‌های مربوط به روابط بین متغیرهای مورد بررسی با استفاده از نرم افزار Excell تهیه شدند.

یافته‌ها

نتایج حاصل از بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره ریشه جوز خشک شده به‌وسیله آون بر باکتری‌های مورد مطالعه در جدول ۱

آورده شده است. نتایج آنالیز واریانس و مقایسه میانگین نشان داد که اثر این غلظت‌ها روی مهار رشد باکتری‌ها در سطح احتمال ۹۹ درصد معنی‌دار شد ($p<۰/۰۱$). با توجه به جدول ۱، با افزایش غلظت عصاره، قطر هاله عدم رشد نیز افزایش یافت. همان‌طورکه در این جدول مشاهده می‌شود، بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به *استافیلوکوکوس اورئوس* در غلظت ppm ۲۰۰ و به میزان ppm ۲۲ و ۲۷ به ترتیب مربوط به عصاره‌های خشک شده به‌روش آون و آون- مایکروویو بود. نتایج این آزمون نشان‌دهنده آن است که ریشه جوز بیشترین تأثیر را روی باکتری *سالمونلاانتریکا* در غلظت ppm ۲۵ با قطر هاله عدم رشد به میزان mm ۶ و ۸، به ترتیب مربوط به عصاره‌های خشک شده به‌روش آون و آون- مایکروویو داشته است.

عصاره تولیدی به روش خشک کردن ترکیبی باعث مهار بیشتر باکتری‌ها نسبت به عصاره تولیدی به روش خشک کردن با آون شد. نتایج مقایسه میانگین و آنالیز داده‌های نوع روش خشک کردن ریشه جوز و بررسی اثر ضد میکروبی آن‌ها نشان داد که اثر نوع روش خشک کردن در سطح ۹۹٪ معنی‌دار بوده است ($P<۰/۰۱$)

.

جدول ۱: قطر هاله عدم رشد باکتری‌ها در غلظت‌های مختلف عصاره ریشه جوز هندی بر حسب (mm)

	غلظت عصاره بر حسب (mg/ml) روش آون				غلظت عصاره بر حسب (mg/ml) روش ترکیبی			
باکتری	۲۵	۵۰	۱۰۰	۲۰۰	۲۵	۵۰	۱۰۰	۲۰۰
سالمونلاانتریکا	۶Dd	۸Dc	۱۰Cb	۱۴Da	۸Cd	۱۰Dc	۱۴Db	۱۶Da
باسیلوس سرئوس	۱۰Bd	۱۲Bc	۱۴Bb	۲۰Ba	۱۴Bd	۱۵Bc	۱۶Bb	۲۲Ba
اشریشیا کلی	۷Cd	۹Cc	۱۲Cb	۱۵Ca	۹Dd	۱۱Cc	۱۵Cb	۱۷Ca
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۲Ac	۱۴Ac	۱۸Ab	۲۲Da	۱۵Ad	۱۸Ac	۲۰Ab	۲۷Aa

حروف بزرگ برای نشان دادن اختلاف معنی‌دار در ستون‌ها و حروف کوچک برای نشان دادن اختلاف معنی‌دار در ردیف‌ها می‌باشد.

حروف غیرمشابه نشان‌گر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۹ درصد می‌باشد.

جدول ۲: درصد ممانعت کنندگی عصاره ریشه جوز هندی بر قارچ‌های مورد مطالعه

	غلظت عصاره بر حسب (mg/ml) روش آون				غلظت عصاره بر حسب (mg/ml) روش ترکیبی			
قارچ		۲۵	۵۰	۱۰۰	۲۰۰	۲۵	۵۰	۱۰۰	۲۰۰
آسپرژیلوس نایجر	۵۹Bd	۶۳Bc	۶۹Bb	۷۳Ba	۶۲Bd	۶۷Bc	۷۰Bb	۷۶Ba	۵۹Bd
آسپرژیلوس اوریزا	۵۲Bd	۵۸Bc	۶۱Bb	۶۵Ba	۵۵Cd	۶۱Cc	۶۵Cb	۷۰Ca	۵۲Bd
تریکودرما ویریده	۷۶Bd	۸۰Bc	۸۶Bb	۹۲Ba	۸۰Ad	۸۴Ac	۸۹Ab	۹۶Aa	۷۶Bd

حروف بزرگ برای نشان دادن اختلاف معنی‌دار در ستون‌ها و حروف کوچک برای نشان دادن اختلاف معنی‌دار در ردیف‌ها می‌باشد.

حروف غیرمشابه نشان‌گر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۹٪ می‌باشد.

نتایج حاصل از بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره ریشه جوز خشک شده به‌وسیله آون و ترکیبی بر قارچ‌های مورد مطالعه (*تریکودرما ویریده، آسپرژیلوس نایجر و آسپرژیلوس اوریزا*) در جدول ۱ آورده شده است. نتایج حاصل نشان داد که بیشترین درصد بازدارندگی مربوط به غلظت ۲۰۰ppm و روی کپک *تریکودرما ویریده* به میزان ۹۲ و ۹۶٪ به‌ترتیب مربوط به عصاره-های خشک شده به روش آون و آون- مایکروویو بود و کمترین درصد بازدارندگی مربوط به غلظت ppm ۲۵ و روی کپک *آسپرژیلوس اوریزا* به میزان ۵۲ و ۵۵٪ به ترتیب مربوط به عصاره‌های خشک شده به روش آون و آون- مایکروویو بود. همان‌طورکه از جدول ۱ مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت عصاره، درصد بازدارندگی افزایش یافت. نتایج مقایسه میانگین و آنالیز داده‌های بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره ریشه جوز هندی بر قارچ‌های مورد مطالعه نشان داد که اثر نوع روش خشک کردن در سطح ۹۹ درصد معنی‌دار بوده است ($P<۰/۰۱$).

عصاره تولیدی به روش خشک کردن ترکیبی باعث مهار بیشتر باکتری‌ها نسبت به عصاره تولیدی به روش خشک کردن

با آون شد. نتایج مقایسه میانگین و آنالیز داده‌های نوع روش خشک کردن ریشه جوز و بررسی اثر ضد میکروبی آن‌ها نشان داد که اثر نوع روش خشک کردن در سطح ۹۹ درصد معنی‌دار بود ($P<۰/۰۱$).

در جدول ۳ نتایج آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره اتانولی ریشه جوز که به دو روش آون و آون- مایکرویو خشک شده‌اند بر باکتری‌های مورد نظر آورده شده است. همان‌طور که نتایج نشان داد کمترین MIC در عصاره‌های تولیدی ریشه جوز هندی (به دو روش آون و آون- مایکرویو) *مربوط به سالمونلا انتریکا* به‌ترتیب به میزان ۵۰۰۰ ppm و ۲۵۰۰ بود و بیشترین MIC عصاره *مربوط به استافیلوکوکوس اورئوس* به میزان ۲۰۰۰۰ ppm و ۱۵۰۰۰به-ترتیب مربوط به عصاره‌های خشک شده به روش آون و آون- مایکروویو بود. حساسیت باکتری‌های گرم منفی به عصاره‌ها بیشتر از باکتری‌های گرم مثبت بود. نتایج مقایسه میانگین و آنالیز داده‌های تعیین حداقل غلظت بازدارندگی نشان داد که اثر نوع روش خشک کردن ریشه جوز هندی در سطح ۹۹٪ بر تعیین کمترین غلظت بازدارندگی معنی‌دار بود ($P<۰/۰۱$). همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، کمترین غلظت بازدارندگی مربوط به روش آون- مایکروویو نسبت به روش آون کمتر بود، در واقع این نشان دهنده این است که عصاره جوز هندی که به‌وسیله روش آون مایکروویو خشک شده دارای اثر بازدارندگی بالاتری بود.

کمترین غلظت یک ترکیب ضد میکروبی که میکروارگانیسم‌ها را از بین می‌برد حداقل غلظت کشندگی می-باشد که در آزمون، اولین رقتی است که در پلیت مربوط به آن رشدی مشاهده نشود. در جدول ۳ نتایج آزمون تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره اتانولی ریشه جوز هندی که به دو روش آون و آون- مایکروویو خشک شده‌اند روی ۴ سویه باکتری مورد نظر ثبت گردیده است. نتایج نشان داد و کمترین MBC در عصاره‌های تولیدی ریشه جوز هندی (به دو روش آون و آون- مایکروویو) *روی سالمونلا انتریکا* به‌ترتیب ۵۰۰۰ ppm و ۳۷۵۰ بود. و بیشترین MBC عصاره *مربوط به استافیلوکوکوس اورئوس* به میزان ۳۰۰۰۰ ppm و ۱۵۰۰۰ به‌ترتیب مربوط به عصاره‌های خشک شده به‌روش آون و آون- مایکروویو بود.

نتایج مقایسه میانگین و آنالیز داده‌های تعیین حداقل غلظت کشندگی نشان داد که اثر نوع روش خشک کردن ریشه جوز هندی در سطح ۹۹ درصد بر روی حداقل غلظت کشندگی معنی‌دار بود ($P<۰/۰۱$).

در جدول ۴ نتایج آزمون تعیین حداقل غلظت بازدارندگی عصاره اتانولی ریشه جوز هندی که به دو روش آون و ترکیبی خشک شده‌اند، روی قارچ‌های مورد مورد نظر ثبت گردیده است. نتایج نشان داد و کمترین MIC در عصاره‌های تولیدی ریشه جوز هندی (به دو روش آون و آون- مایکروویو) *روی سالمونلا انتریکا* به‌ترتیب ۵۰۰۰ ppm و ۳۷۵۰ بود. و بیشترین MIC عصاره *مربوط به استافیلوکوکوس اورئوس* به میزان ۳۰۰۰۰ ppm و ۱۵۰۰۰ به‌ترتیب مربوط به عصاره‌های خشک شده به‌روش آون و آون- مایکروویو بود

نتایج مقایسه میانگین و آنالیز داده‌های تعیین حداقل غلظت بازدارندگی نشان داد که اثر نوع روش خشک کردن ریشه جوز هندی در سطح ۹۹٪ بر روی حداقل غلظت بازدارندگی قارچ‌ها معنی‌دار بوده است ($P<۰/۰۱$).

در جدول ۴ نتایج آزمون تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره اتانولی ریشه جوز هندی که به دو روش آون و آون- مایکروویو خشک شده‌اند روی قارچ‌های مورد نظر ثبت گردیده است. نتایج نشان داد که کمترین MBC در عصاره‌های تولیدی ریشه جوز هندی (به دو روش آون و آون- مایکروویو) روی *تریکودرما ویریده* به ترتیب ۱۵۰۰۰ ppm و ۷۵۰۰ بود و بیشترین MBC عصاره *مربوط به آسپرژیلوس اوریزا* به میزان ۳۰۰۰۰ ppm و ۲۰۰۰۰ به ترتیب مربوط به عصاره‌های خشک شده به‌روش آون و آون- مایکروویو بود. نتایج مقایسه میانگین و آنالیز داده‌های تعیین حداقل غلظت کشندگی نشان داد که اثر نوع روش خشک کردن ریشه جوز هندی در سطح ۹۹٪ بر روی حداقل غلظت کشندگی قارچ‌ها معنی‌دار بوده است ($P<۰/۰۱$).

جدول ۳: نتایج تعیین کمترین غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی روی سویه‌های مورد مطالعه

	حداقل غلظت بازدارندگی		حداقل غلظت کشندگی	
	روش آون	روش ترکیبی	روش آون	روش ترکیبی
باسیلوس سرئوس	۱۰۰۰۰ Ba	۷۵۰۰ Bb	۲۰۰۰۰ Ba	۱۰۰۰۰ Bb
استافیلوکوکوس اورئوس	۲۰۰۰۰ Aa	۱۵۰۰۰ Ab	۳۰۰۰۰ Aa	۱۵۰۰۰ Ab
اشریشیا کلی	۷۵۰۰ Ca	۳۷۵۰ Cb	۱۰۰۰۰ Ca	۷۵۰۰ Cb
سالمونلا انتریکا	۵۰۰۰ Da	۲۵۰۰ Db	۵۰۰۰ Da	۳۷۵۰ Db

*حروف بزرگ برای نشان دادن اختلاف معنی‌دار در ستون‌ها و حروف کوچک برای نشان دادن اختلاف معنی‌دار در ردیف‌ها می‌باشد.

*حروف غیرمشابه نشان‌گر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۹٪ می‌باشد.

جدول ۴: نتایج حداقل غلظت بازدارندگی روی قارچ‌های مورد مطالعه

	حداقل غلظت بازدارندگی		حداقل غلظت کشندگی	
	روش آون	روش ترکیبی	روش آون	روش ترکیبی
آسپرژیلوس نایجر	۲۰۰۰۰ Ba	۱۵۰۰۰ Bb	۳۰۰۰۰ Ba	۱۵۰۰۰ Bb
آسپرژیلوس اوریزا	۳۰۰۰۰ Aa	۲۰۰۰۰ Ab	۴۰۰۰۰ Aa	۳۰۰۰۰ Ab
تریکودرما ویریده	۱۵۰۰۰ Ca	۷۵۰۰ Cb	۲۰۰۰۰ Ca	۱۰۰۰۰ Cb

*حروف بزرگ برای نشان دادن اختلاف معنی‌دار در ستون‌ها و حروف کوچک برای نشان دادن اختلاف معنی‌دار در ردیف‌ها می‌باشد.

*حروف غیرمشابه نشان‌گر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۹٪می‌باشد.

بحث

نتایج آماری حاصل از بررسی خواص ضد باکتریایی عصاره ریشه جوز هندی نشان داد که اثر ضد میکروبی عصاره ریشه‌های جوزی که به وسیله روش ترکیبی آون – مایکروویو خشک شده‌اند، بیشتر بود. نتایج حاصل نشان داد اشعه مایکروویو به‌صورت معنی‌داری نسبت به حالت استفاده از آون به تنهایی، سبب افزایش خواص ضد باکتریایی شد که علت آن را می‌توان افزایش بازده عصاره با مقادیر بالاتری از ترکیبات اکسیژنه و ترکیبات پلی‌فنولیک هنگام خشک شدن ریشه‌ها به‌وسیله پیش‌تیمار ماکروویو و هم‌چنین استخراج بیشتر عصاره از اندام گیاه دانست (۳). استفاده از پیش تیمار مایکروویو یک پتانسیل فراهم می‌کند تا افزایش فشار به سیستم بافت گیاه را تحریک کند. استفاده از مایکروویو سبب افزایش بازده استخراج و افزایش ضریب انتقال جرم می‌شود؛ زیرا دیواره سلول‌ها نابود می‌شوند همچنین خلل و فرج دائمی ایجاد می‌شود که سبب افزایش میزان تراوش عصاره می‌شود (۱۸). نتایج حاصل از آزمایش Uquiche و همکارانش (۲۰۰۸) نشان داد که استفاده از امواج مایکروویو به هنگام خشک کردن گیاه، بر کمیت (راندمان استخراج) و کیفیت (مقدار ترکیبات اکسیژن دار) عصاره افزود. خواص ضد میکروبی عصاره گیاهان مربوط به ترکیبات اصلی عصاره گیاه به‌خصوص ترکیبات اکسیژنه و ترکیبات پلی‌فنولیک می‌باشد (۱۹). نتایج حاصل از آزمایش Cowan و همکارانش (۱۹۹۹) بیان‌گر این بود که بین ترکیبات پلی‌فنولیک با اثر ضد میکروبی گیاهان ارتباط مستقیم وجود داشت (۲۰). بنابراین استفاده از پیش‌تیمار مایکروویو سبب افزایش ترکیبات و میزان عصاره به‌خصوص ترکیبات اکسیژنه و ترکیبات پلی‌فنولیک که دارای خاصیت ضد میکروبی می‌باشند می‌شود و در نتیجه خاصیت ضد میکروبی عصاره را افزایش می‌دهند.

هم‌چنین نتایج آماری حاصل از غربال‌گری خواص ضد میکروبی عصاره ریشه جوز خشک شده نشان داد که بیشترین قطر هاله عدم رشد باکتری مربوط به *استافیلوکوکوس اورئوس* با قطر ۲۲ mm و ۲۷ به‌ترتیب مربوط به عصاره ریشه جوز خشک شده به‌وسیله آون و ترکیبی و کمترین قطر هاله مربوط به *سالمونلا*انتریکا با قطر ۶ mm و ۸ به‌ترتیب مربوط به عصاره ریشه جوز خشک شده به‌وسیله آون و ترکیبی بود. نتایج مقایسه میانگین و آنالیز داده بر روی هر دو نوع عصاره ریشه جوز نشان داد که اثر هر دو نوع عصاره برروی باکتری‌ها در سطح ۹۹٪ معنی‌دار بود ($P<۰/۰۱$) که بیشترین اثر را روی باکتری‌های گرم منفی داشت. Gupta و همکاران (۲۰۱۱) به بررسی اثرات ضد میکروبی جوز هندی بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا*

کلی و *باسیلوس سرئوس* و قارچ‌های *آسپرژیلوس نایجر* و آسپرژیلوس *فلاویوس* و *آسپرژیلوس فومگاتیس* پرداختند و نتایج تحقیق آن‌ها نشان داد که عصاره جوز بیشترین تاثیر را بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *آسپرژیلوس نیجر* داشت (۲۱). Ameen (۲۰۱۱) به بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره‌های آبی و الکلی جوز هندی بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* پرداخت که نتایج حاصل نشان داد که عصاره الکلی دارای اثر بیشتری بوده که بیشترین تاثیر را بر *استافیلوکوکوس اورئوس* داشت (۲۲). یکی از ویژگی‌های مهم عصاره‌های گیاهی با خاصیت آب‌گریزی آن‌ها مرتبط است که آن‌ها را قادر می‌سازد تا با پیوند روی لایه لیپیدی غشاء سلولی باکتری‌ها و میتوکندری آن‌ها، موجب پاره شدن غشاء سلولی و خروج مولکول‌ها و یون-های مهم باکتری به خارج از سلول و در نهایت مرگ باکتری می-گردد (۲۳). نتایج بررسی اثر عصاره ریشه جوز بر روی کپک‌های مولد فساد مواد غذایی (*تریکودرما ویریده*، *آسپرژیلوس نایجر* و *آسپرژیلوس اوریزا*) نشان داد که بیشترین درصد بازدارندگی مربوط به غلظت ppm ۲۰۰ و مربوط به *تریکودرما ویریده* به میزان ۹۵ و ۹۷ ٪ به‌ترتیب به عصاره‌های خشک شده به‌روش آون و آون- مایکروویو مربوط بود. نتایج حاصل نشان داد اشعه مایکروویو به‌صورت معنی‌داری نسبت به حالت استفاده از آون به تنهایی، سبب افزایش خواص ضد قارچی شد ($P<۰/۰۱$). همچنین نتایج مقایسه میانگین و آنالیز داده بر روی هر دو نوع عصاره ریشه جوز نشان داد که اثر هر دو نوع عصاره برروی قارچ‌ها در سطح ۹۹ درصد معنی‌دار بود ($P<۰/۰۱$).

در این پژوهش همچنین حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی عصاره ریشه جوز هندی به روش رقت‌سازی در چاهک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی سویه‌های باکتریایی مورد آزمون نشان داد که بیشترین غلظت مورد نیاز برای مهار رشد و مرگ باکتری‌ها، مربوط به *استافیلوکوکوس اورئوس با* ppm ۵۰۰۰ و ۲۵۰۰ به‌ترتیب مربوط به عصاره ریشه جوز خشک شده به‌وسیله آون و ترکیبی بود و کمترین آن مربوط به *سالمونلا*انتریکا به میزان ppm ۵۰۰۰ و ۲۵۰۰ بود و بیشترین MIC عصاره *به استافیلوکوکوس اورئوس* به میزان ppm ۲۰۰۰۰ و ۱۵۰۰۰ به ترتیب به عصاره‌های خشک شده به‌روش آون و آون- مایکروویو مربوط بود. Joshi و همکارش عصاره چند گیاه را مورد ارزیابی قرار داده و اثر باز دارندگی آن‌ها را بر۶ باکتری گرم منفی و ۸ باکتری گرم مثبت سنجیدند. نتایج کار آن‌ها نشان داد که ترکیبات موثر بر مهار کنندگی مربوط به ترکیباتی از قبیل کامفور و بتا-کاریوفیلن می‌باشد و این ترکیبات اثر باز دارندگی قابل توجهی بر باکتری‌های مورد آزمون داشتند (۲۴).

نتایج حداقل غلظت بازدارندگی وکشندگی عصاره ریشه جوز هندی بر روی قارچ‌ها نشان داد که بیشترین غلظت مورد نیاز برای مهار رشد و مرگ قارچ‌ها، مربوط به *تریکودرما ویریده* و کمترین آن مربوط به *آسپرژیلوس نایجر* بود. Motaleb-nejad و همکارانش (۲۰۰۵) اعلام کردند عصاره‌های گیاهی به‌دلیل دارا بودن مقادیر زیادی تیمول و کارواکرول فعالیت ضد قارچی بالایی دارند (۲۵). Lopez و همکارانش (۲۰۰۵) نشان دادند که علت اثر ضد قارچی عصاره‌های گیاهی مربئط به فلاونوئیدهاست (۲۶). Gupta و همکاران (۲۰۱۱) نیز به بررسی اثرات ضد میکروبی جوز هندی بر قارچ‌های *آسپرژیلوس نایجر* و آسپرژیلوس *فلاویوس* و *آسپرژیلوس فومگاتیس* پرداختند و نتایج تحقیق آن‌ها نشان داد که عصاره جوز بیشترین تاثیر را بر *آسپرژیلوس نایجر* داشت (۲۱).

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که استفاده از پیش تیمار مایکروویو در خشک کردن ریشه‌های جوز هندی می‌تواند سبب افزایش خاصیت ضد میکروبی عصاره آن شود، همچنین نتایج نشان داد که عصاره ریشه جوز هندی دارای اثر ضد باکتریایی و ضد قارچی است که بیشترین اثر را بر باکتری *سالمونلا انتریکا و کپک تریکودرما* داشت. بنابراین با توجه به اثر ضد میکروبی و ضد قارچی ریشه جوز هندی، می‌توان استفاده از آن را به‌عنوان یک ترکیب نگه‌دارنده در فرآورده‌های غذایی پیشنهاد نمود.

تقدیر و تشکر

از کلیه کسانی که در این تحقیق ما را یاری نمودند تقدیر و تشکر به عمل می‌آوریم

تعارض منافع:

بین نویسندگان و مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران هیچ گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

References

1. Sukanya SL, J Sudisha P, Hariprasad SR, Niranjana HS. Antimicrobial activity of leaf extracts of Indian medicinal plants against clinical and phytopathogenic bacteria. J Biotech. 2009;8(23): 6677-6682.

2. Tripathi NK, Shukla AK. Use of some essential oils as post-harvest botanical fungicides in the management of grey mould of grapes caused by Botrytis cinerea. World J Microbiol Biotechnol, 2008; 24: 39–46.

3. Azadmard S, Habibi F, Hesari J, Nemati M, Fathi B. Effect of pretreatment with microwaves on oxidative stability and nutraceuticals content of oil from rapeseed. Food Chem . 2010; 121: 1211–1215.

4. Wang J, Xiong YS, Yu Y. Microwave drying characteristics of potato and the effect of different microwave powers on the dried quality of potato. European Food Research and Technology. 2004; 219(5): 500-506.

5. Bhattacharjee MK, Sugawara K, Ayandeji OT. Microwave sterilization of growth medium alleviates inhibition of Aggregatibacter actinomycetemcomitans by Maillard reaction products. J. Microbiol Meth, 2009; 78(2):227-230.

6. Li H, Chen B, Nie N, Yao S. Solvent effects on focused microwave assisted extraction of polyphenolic acids from Eucommia ulmodies. Phytochem anal. 2004; 15: 306–312.

7. Chemat S, Ait-Amar H , Lagha A, Esveld DC, Microwave-assisted extraction kinetics of terpenes from caraway seeds. Chem Engi Proc. 2005; 44: 1320–1326.

8. Duvernay WH, Assad JM, Sabliov CM, Lima M, Xu Z. Microwave Extraction of Antioxidant Components from Rice Bran. Pharmaceutical Eng. 2005; 25: 1–5.

9. Gabriel C, Gabriel S, Grant EH, Halstead BSJ, Mingos DMP. Dielectric parameters relevant to microwave dielectric heating. Chem Soc Rev.1998; 27:213-223.

10. Omidbeygi M, Barzegar M. Chemicalcomposition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from Bidenspilosa Linn varRadiata, Food Control; 2007. (Persian)

11. Mujumdar AS. Handbook of Industrial Drying. London: LLC ; 2006.

12. Mirzapour M, Hamedi M, Rahimipanah M. Sunflower oil stabilization by persian walnut leaves extract during oven storage test. Food Sci Tech Res. 2010; 16: 443-446.

13. Mahon CR, Manuselis G. Diagnostic Microbiology. W. B. Saunders. Company, London 1995; PP: 58-9.

14. Mashhadian NV, Rakhshandeh H. Antibacterial and antifungal effects of Nigella sativa extracts againsts. aureus, P. aeroginosa and C. albicans. Pakistan J Med Sci.2005; 21(1): 47-52.

15. Androw JM. BSAC Standardized disc susceptibility testing method. J Antimicro Chem. 2001; 7(5): 48-57.

16. National committee for clinical laboratory standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically .5th ed . Pennsylvania: Wayne; 2000.

17. Tripathi NK, Shukla AK. Use of some essential oils as post-harvest botanical fungicides in the management of grey mould of grapes caused by Botrytis cinerea. World J Microbiol Biotechnol, 2008; 24: 39–46.

18. Sasaki K, Honda W, Miyake Y. Evaluation of high-temperature and short-time sterilization of injection ampoules by microwave heating. PDA J Pharm Sci Technol, 1998; 52(1):5-12.

19. Uquiche E, Jerez M, Ortiz J. Effect of pretreatment with microwaves on mechanical extraction yield and quality of vegetable oil from Chilean hazelnuts (Gevuina avellana Mol). Inno Food Sci Eme Tech. 2008; 9: 495–500.

20. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev. 1999; 12(4): 564-82.

21. Gupta A D, Bansal VK, Babu V, Maithil N. Chemistry, antioxidant and antimicrobial potential of nutmeg (Myristica fragrans Houtt). J Gen Eng Biotech . 2011; 11,25–31.

22. Ameen S. Antimicrobial Activity of Nutmeg Extracts Againts Staphylociccus Aureus and Eshershia coli. J Biosci Bioeng. 2011; 94 (4): 315-320.

23. Talei Gh, Mishkat MH, Mousavi SZ. Effect of antibacterial Shahtrh, Ben Fry, Sheng, hedge pomegranate and thyme species native Lorestan. Journal of Gorgan University of Medical Sciences. 2008; 10: 31-35. (Persian)

24. Joshi B, Lekhak S. Antibacterialproperty of different medicinal plants. J Sci Eng Tech. 2009; 5 (1) :143-150.

25. Motaleb-nejad M, Jafari S, Mirzaii M. Study of the relation of dentistry and mouth contamination with Candida albicans. J Iranian Islamic Community of Dentists. 2005; 18(1): 37-42.(Persian)

26. Lopez P, Sanches C , Batlle R, Nerin C. Solid and vapor phase antimicrobial activities of six essentioal oils: susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. J Agric Food Chem. 2005; 24;53(17): 6939-46