

ISSN: 3041-9638

<https://jrpsm.asnrkh.ac.ir/>

Open Access

Research Article

Identification of chemical compounds and comparison of antibacterial activities of clove essential oil (*Syzygium aromaticum*) with nisin

M. A. Najafi¹ , Sh. Shabani² and J. Farmani³¹ Department of Food Science and Technology, Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.² Department of Food Science and Technology, Rudaki Institute of Higher Education, Tonekabon, Iran.³ Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Engineering, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran.

Received: 28 Apr 2026

Accepted: 14 Aug 2026

Published: 08 Sep 2026

Corresponding**Author:**

Mohammad Ali Najafi

Email:

najafi413@yahoo.com

Keywords:Bacteriocin,
Antibacterial, Plant,
Natural preservative**Citation:**

M. A. Najafi., Sh. Shabani., J. Farmani (2026). Identification of chemical compounds and comparison of antibacterial activities of clove essential oil (*Syzygium aromaticum*) with nisin. *Journal of Research in Plant Metabolites*, 4(2), 1-8. **Doi:**10.22034/jrpsm.2026.579834.1110

Extended Abstract

Background and Objectives: One of the important and global challenges of public health is foodborne diseases, which impose huge economic losses on the economy of societies. Among them, pathogenic bacteria play an important role. The negative effects of chemical preservatives on human health and the increasing resistance of many microbes to common antimicrobial agents have necessitated the identification of safe and effective alternatives. Today, the use of low-risk preservatives such as plant essential oils and bacteriocins has received attention. The antimicrobial effects of essential oils depend on the type and amount of their constituent components. The amount of these compounds is affected by factors such as plant type, species, soil composition, plant organ, age, climatic conditions of the growing region, essential oil extraction method, and harvest date. Clove is a plant belonging to the Myrtaceae family and is known by the scientific name *Syzygium aromaticum*. The chemical components of clove essential oil, especially eugenol, have a high contribution to its antimicrobial properties. Nisin is an antimicrobial peptide produced by *Lactococcus lactis*. It is the only bacteriocin that has received permission for use as a preservative for food from FAO and WHO. The aim of this study was to identify the chemical components of commercial Iranian clove bud essential oil (distilled with water) and compare its antimicrobial properties with nisin on controlling the growth of some of the most important foodborne disease-causing bacteria in order to identify the most effective antimicrobial compound agent.

Materials and Methods: In this study, dried clove buds were obtained from a local market (Zabol, Iran). Essential oil extraction was performed using a Clevenger apparatus (water distillation) under controlled temperature. After extraction, the type and amount of chemical compounds of clove essential oil were identified using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). In this study, six bacterial strains include *Listeria monocytogenes* NCTC 11994, *Staphylococcus aureus* Bristol A9596, *Bacillus cereus* ATCC 9634, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, and *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 were purchased in lyophilized form from the Microbial Collection of the Scientific and Industrial Research Organization of Iran. The strains were activated under controlled conditions using Tryptone Soya Broth (TSB) and Tryptone Soya Agar (TSA) media. Next, the antibacterial effects of the obtained essential oil and nisin were evaluated by agar diffusion methods against target strains with a population of 10⁶ CFU/ml and the results were reported in terms of mm of inhibitory zone. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of the antimicrobial agents were determined by microdilution and 96-well plates containing TSB media. The prepared dilutions of the essential oil ranged from 0.3 to 40 mg/ml and nisin ranged from 4.8 to 0.1023 µg/ml. The obtained data were analyzed using SAS version 9.1 software and the means were compared by Duncan's multiple range test at the 5% level.

Results: GC-MS analysis of clove essential oil showed that 93.66% of the total components, including 17 different components, were identified. The most important compounds identified were eugenol (54.27%), trans-β-caryophyllene (21.13%), and eugenol acetate (11.18%). The antibacterial activity of clove essential oil and nisin by agar diffusion method showed a significant effect on the growth of all strains ($p < 0.05$). The highest and lowest growth inhibitory effects of clove essential oil were recorded against gram-negative strains *Escherichia coli* (29.6 mm) and *Salmonella typhimurium* (11.2 mm), respectively. Nisin showed the highest effect on the growth inhibition of gram-positive strains compared to gram-negative strains ($p < 0.05$). The highest nisin growth inhibition zone was determined against *Listeria monocytogenes* (14.3 mm) and the lowest value was determined for the gram-negative strain *Salmonella typhimurium* (8.6 mm) ($p < 0.05$). The antibacterial agents studied in this study showed different effects on MIC and MBC values. The highest MIC and MBC values were obtained from the effect of clove essential oil on *Salmonella typhimurium* strain with values of 2500 and 5000 µg/ml, respectively, and the lowest values were obtained against *Escherichia coli* strain with values of 156 and 156 µg/ml. The lowest nisin MIC value was recorded at a concentration of 63 µg/ml against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Pseudomonas aerogenesa* strains, which indicated the greater sensitivity of these strains.

Conclusion: Nisin and clove essential oil showed significant growth inhibitory effects. The results of the microdilution antibacterial test showed that nisin was more effective compared to clove essential oil ($p < 0.05$). Clove essential oil was able to effectively control the growth of *Escherichia coli* strain. The results of this study showed that despite the difference in the amounts of the constituent components of clove essential oil compared to other published scientific reports, it can be considered as an alternative to chemical preservatives. In this regard, it is necessary to pay attention to the target strain and the concentration of the antibacterial agent. However, the final confirmation of the use of the studied compounds requires clinical and applied research in food.





دسترسی رایگان

مقاله پژوهشی

شماره شاپا: ۳۰۴۱-۹۶۳۸

شناسایی ترکیبات شیمیایی و مقایسه خواص ضدباکتریایی اسانس

میخک (*Syzygium aromaticum*) با نیسین

محمد علی نجفی^۱، شیما شعبانی^۲ و جمشید فرمانی^۳

^۱ گروه علوم و صنایع غذایی، کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

^۲ گروه علوم و صنایع غذایی، موسسه آموزش عالی رودکی، تنکابن، ایران.

^۳ گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۶/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۵/۲۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۲/۰۸

نویسنده مسئول:

محمد علی نجفی

ایمیل:

najafi413@yahoo.com

واژه‌های کلیدی:

باکتریوسین، ضدباکتری، گیاه، نگهدارنده طبیعی.

چکیده

سابقه و هدف: از چالش‌های مهم و جهانی بهداشت عمومی، بیماری‌های ناشی از مصرف خوراکی‌هاست که زبان‌های اقتصادی هنگفتی را به اقتصاد جوامع تحمیل می‌نماید. در این بین باکتری‌های بیماری‌زا نقش مهمی دارند. اثرات منفی نگهدارنده‌های شیمیایی بر سلامت انسان و مقاومت روزافزون بسیاری از میکروب‌ها در برابر عوامل ضد میکروبی رایج، لزوم شناسایی جایگزین‌های ایمن و مؤثر را موجب شده است. امروزه بکارگیری نگهدارنده‌های کم خطر مانند اسانس‌های گیاهی و باکتریوسین‌ها مورد توجه قرار گرفته‌اند. اثرات ضد میکروبی اسانس‌ها تابع نوع و مقدار اجزاء سازنده آنها قرار دارد. مقدار این ترکیبات تحت تاثیر عواملی مانند نوع گیاه، گونه، ترکیب خاک، اندام گیاه، سن، شرایط آب و هوایی منطقه رشد، روش اسانس گیری و تاریخ برداشت قرار دارد. میخک، گیاهی متعلق به خانواده میرتاسه (Myrtaceae) بوده و با نام علمی *Syzygium aromaticum* شناخته می‌شود. اجزای شیمیایی اسانس میخک، به‌ویژه اوژنول، سهم بالایی در خواص ضد میکروبی آن دارند. نیسین پپتید ضد میکروبی است که توسط *Lactococcus lactis* تولید می‌شود. این ماده تنها باکتریوسینی است که مجوز استفاده خوراکی به‌عنوان نگهدارنده را از FAO و WHO دریافت کرده است. هدف از این پژوهش، شناسایی اجزای شیمیایی سازنده اسانس میخک تجاری ایران (تقطیر با آب) و مقایسه خواص ضد میکروبی آن با نیسین بر کنترل رشد برخی از مهم‌ترین باکتری‌های مولد بیمارهای غذایی بود تا مؤثرترین ترکیب ضد میکروب معرفی گردد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش، جوانه‌های میخک خشک شده از بازار محلی (زابل، ایران) تهیه گردید. اسانس گیری به کمک دستگاه کلونجر (تقطیر با آب) تحت دمای کنترل شده انجام شد. پس از آب گیری، نوع و مقدار ترکیبات شیمیایی اسانس میخک به کمک کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC-MS) شناسایی شدند. در این پژوهش شش سویه باکتریایی شامل لیستریا منوسیتوزنز NCTC 11994، استافیلوکوکوس اورئوس Bristol A9596، باسیلوس سرئوس ATCC 9634، اشریشیا کلی ATCC 25922، پseudomonas آئروژینوزا ATCC 27853 و سالمونلا تیفی موریوم ATCC 14028 بصورت لیوفلیزه از کلکسیون میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری گردیدند. فعال سازی سویه‌ها تحت شرایط کنترل شده و با استفاده از محیط کشت‌های تریپتون سوی مایع (TSB) و تریپتون سوی آگار (TSA) صورت پذیرفت. در ادامه، اثرات ضدباکتریایی اسانس و نیسین به روش‌های انتشار در آگار در برابر سویه‌های هدف با جمعیت 10^6 CFU/ml ارزیابی و نتایج برحسب میلی متر هاله بازدارنده گزارش گردید. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عوامل ضد میکروبی به روش میکرودايلوشن و پلیت ۹۶ خانه حاوی محیط کشت TSB تعیین شد. رقت‌های تهیه شده اسانس از ۰/۳ تا ۴۰۰۰ $\mu\text{g/ml}$ و نیسین از ۴/۸ تا ۱۰۲۳۰ $\mu\text{g/ml}$ متغیر بود. تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست‌آمده با بهره‌گیری از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام و مقایسه میانگین توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد صورت پذیرفت.

یافته‌ها: تجزیه و تحلیل نتایج آزمون GC-MS ترکیبات اسانس میخک نشان داد در مجموع ۹۳/۶۶٪ کل اجزاء سازنده، شامل ۱۷ جزء مختلف شناسایی گردیدند. مهمترین ترکیبات شناسایی شده شامل اوژنول (۵۴/۲۷٪)، ترنس-بتا-کارپوفلن (۲/۱۳٪) و اوژنول استات (۱۱/۱۸٪) بود. ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی اسانس میخک و نیسین به روش انتشار در آگار اثر معناداری بر مهار رشد تمامی سویه‌های ثبت نمود ($p < 0.05$). بیشترین و کمترین اثر مهارکنندگی رشد باکتریایی اسانس میخک بترتیب در برابر سویه‌های گرم منفی /اشریشیاکلی (۲۹/۶ mm) و سالمونلا تیفی موریوم (mm) ثبت شد. نیسین بیشترین تاثیرگذاری را بر مهار رشد سویه‌های گرم مثبت در مقایسه با گرم منفی نشان داد ($p < 0.05$). بیشترین هاله بازدارندگی رشد نیسین در برابر سویه لیستریا منوسیتوزنز (۱۴/۳ mm) و کمترین مقدار برای سویه گرم منفی سالمونلا تیفی موریوم (۸/۶ mm) تعیین گردید ($p < 0.05$). عوامل ضدباکتریایی مورد بررسی در این پژوهش تاثیرات متفاوتی را بر مقادیر MIC و MBC نشان دادند. بیشترین مقادیر MIC و MBC از تاثیر اسانس میخک بر سویه سالمونلا تیفی موریوم به ترتیب با مقادیر ۲۵۰ $\mu\text{g/ml}$ و ۵۰۰۰ $\mu\text{g/ml}$ ، و کمترین مقادیر نیز در برابر سویه اشریشیاکلی با مقادیر ۱۵۶ $\mu\text{g/ml}$ و ۱۵۶ $\mu\text{g/ml}$ بدست آمد. کمترین مقدار MIC نیسین با غلظت ۶۳ $\mu\text{g/ml}$ در برابر بر سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس و پseudomonas آئروژینوز ثبت گردید که نشان دهنده حساسیت بیشتر این سویه‌ها بود.

نتیجه گیری: نیسین و اسانس میخک تاثیرات مهارکنندگی رشد قابل توجهی را نشان دادند. نتایج آزمون ضدباکتریایی میکرودايلوشن نشان داد نیسین در مقایسه با اسانس میخک مؤثرتر است ($p < 0.05$). اسانس میخک بخوبی توانست رشد سویه اشریشیاکلی را کنترل نماید. نتایج این پژوهش نشان داد علیرغم تفاوت در مقادیر ترکیبات سازنده اسانس میخک در مقایسه با سایر گزارشات علمی منتشر شده، می‌تواند به عنوان جایگزین نگهدارنده‌های شیمیایی مورد توجه قرار گیرد. در این خصوص ضروریست به سویه هدف و غلظت عامل ضدباکتریایی توجه گردد، باین وجود، تأیید نهایی بکارگیری ترکیبات مورد بررسی، نیازمند انجام پژوهش‌های بالینی و کاربردی در مواد غذایی است.

نحوه استناد:

نجفی، م.، ع. شعبانی، ش.، فرمانی، ج. (۱۴۰۵). شناسایی ترکیبات شیمیایی و مقایسه خواص ضدباکتریایی اسانس میخک (*Syzygium aromaticum*) با نیسین. مجله پژوهش در متابولیت‌های گیاهی، دوره ۴، شماره ۲، صفحات: ۸-۱.
Doi: 10.22034/jrpsm.2026.579834.1110

مقدمه

بیماری‌های ناشی از مصرف مواد غذایی آلوده از چالش‌های مهم جهانی در زمینه بهداشت عمومی محسوب می‌شوند که علاوه بر به خطر انداختن سلامت مصرف‌کنندگان، زیان‌های اقتصادی قابل توجهی را به صنایع غذایی و درمانی تحمیل می‌کنند. آمارهای جهانی، شیوع بالای این گروه از بیماری‌ها را نشان می‌دهد بطوری‌که تنها در کشور آمریکا جمعیت بیماران سالانه به حدود ۴۸ میلیون نفر رسیده است (Shahbazi and Shavis, 2019). در این بین باکتری‌های بیماری‌زا سهم قابل توجهی را بخود اختصاص داده‌اند. تاکنون سویه‌های بیماری‌زای مانند *اشریشیا کلی*، *لیستریا مونوسیتوزنز*، *باسیلوس سرئوس*، *سالمونلا تیفی موریوم*، *پسودوموناس آئروژنوزا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به تکرار از مواد غذایی جداسازی شده‌اند (Najafi et al., 2023; Shahbazi and Shavis, 2019). اثرات مهارکنندگی نگهدارنده‌های شیمیایی بر رشد میکروب‌های مولد فساد غذایی و قیمت ارزان موجب گسترش مصرف آنها در صنایع غذایی شده است. پیشرفت‌های علمی اخیر اثرات سوء افزودنی‌های شیمیایی بر سلامت انسان را ثابت نموده است. در کنار این عوامل مقاومت روزافزون بسیاری از میکروب‌ها در برابر ترکیبات ضد میکروبی رایج، مطالعاتی را با هدف شناسایی جایگزین‌های ایمن و مؤثر برای کنترل رشد باکتری‌های مقاوم برانگیخته و از این رو یافتن نگهدارنده‌های طبیعی و ایمن به‌عنوان جایگزین مطمئن به یک ضرورت تبدیل شده است (Firouzi et al., 2020; Dashtisarmadi et al., 2024). از جمله ترکیباتی که امروزه به عنوان مهارکننده رشد میکروب‌ها مورد توجه قرار گرفته‌اند می‌توان به اسانس‌های گیاهی و متابولیت‌های میکروبی مانند باکتریوسین‌ها اشاره نمود. اسانس‌ها از سابقه طولانی در طب سنتی و طعم دهنده‌گی مواد غذایی برخوردار هستند. این ترکیبات حاصل متابولیت‌های ثانویه گیاهی بوده و به دلیل زیست تخریب پذیری فاقد اثرات جانبی بر محیط زیست هستند (Kor et al., 2026). بررسی منابع علمی گذشته نشان می‌دهد اثرات ضد میکروبی اسانس‌ها عمدتاً به وجود مشتقات فنیل پاراپنوتید و پروپنوتید ارتباط دارد که باعث اثرات مهارکنندگی رشد و کشندگی بر روی سویه‌های مشخص میکروبی می‌گردد (Nada et al., 2022). مقادیر ترکیبات سازنده اسانس‌ها از عوامل مختلفی مانند نوع گیاه، نژاد، شرایط پرورش گیاه (داشت، کاشت و برداشت)، بخش گیاهی اسانس‌گیری شده، سن، شرایط جغرافیایی و نیز روش اسانس‌گیری تأثیر می‌پذیرند (Dashtisarmadi et al., 2024; Haro-González et al., 2021). میخک، گیاهی متعلق به خانواده میرتاسه (Myrtaceae) بوده که با نام علمی *Syzygium aromaticum* شناخته می‌شود. این گیاه درختی تاجی کشیده می‌تواند تا ارتفاع ۸ الی ۱۰

متری رشد نماید. جوانه میخک غنی از اسانس بوده و مقدار آن به حدود ۱۵ تا ۲۰ درصد وزن خشک می‌رسد (Michel et al., 2021). بررسی منابع علمی گذشته اثرات بی‌حس‌کننده، ضد التهابی، حشره‌کشی، ضد دیابتی، ضد توموری و تسکین دهنده درد دندان را نشان می‌دهد. همچنین گزارشات متفاوتی از اثرات ضد میکروبی اسانس جوانه میخک در دسترس است (Nada et al., 2025; Wadi et al., 2025). نیسین پپتید ضد میکروبی است که توسط باکتری *Lactococcus lactis* تولید می‌شود، این ماده تنها باکتریوسین کلاس I است که مجوز استفاده خوراکی به‌عنوان نگهدارنده زیستی را از سازمان‌های بین‌المللی مانند FAO و WHO دریافت کرده است (Alhaithloul et al., 2020). نیسین از ۳۴ اسیدآمینه و پنج حلقه (متیل)-لانتیونین تشکیل شده و از فعالیت ضد میکروبی گسترده‌ای در برابر باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و قارچ‌ها برخوردار است. از آنجا که این ماده به آسانی توسط آنزیم‌های پروتئولیتیک پستانداران تجزیه می‌شود، خطری برای سلامت انسان ندارد (Alhaithloul et al., 2020; Bennett et al., 2021). هدف از این پژوهش، شناسایی و تعیین مقادیر اجزای شیمیایی سازنده اسانس (تقطیر آبی) جوانه میخک تجاری ایران و مقایسه خواص ضد میکروبی آن با نیسین بر کنترل رشد برخی از مهم‌ترین باکتری‌های مولد بیماری غذایی بود تا مؤثرترین ترکیب ضد میکروب معرفی گردد.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد اولیه: جوانه‌های میخک خشک شده از بازار محلی (زابل، ایران)، تمامی محیط‌های کشت و ترکیبات شیمیایی از شرکت مرک (دارمشتات، آلمان) و باکتریوسین نیسین از شرکت سیگما-آلدریج (دورست، انگلستان) به‌صورت بسته‌بندی شده خریداری گردیدند. سویه‌های باکتریایی مورد استفاده نیز از کلکسیون میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران به‌صورت لیوفلیزه سفارش داده شدند.

استخراج اسانس و آنالیز GC-MS: نمونه گیاهی تهیه شده پس از تأیید گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه زابل به آزمایشگاه منتقل، و به کمک حلال آب و دستگاه کلونجر تحت دمای کنترل شده، اسانس‌گیری شدند. با هدف تعیین نوع و مقادیر اجزاء شیمیایی اسانس، از دستگاه GC-MS شامل بخش‌های کروماتوگرافی گازی مدل Agilent 7890A (آمریکا)، ستون DB-5 (طول ۳۰ m متر و قطر داخلی ۲۵۰ μm) و طیف‌سنج جرمی مدل Agilent 5975C با انرژی یونیزاسیون حدود ۷۰ eV استفاده گردید. انتقال اسانس به داخل ستون توسط گاز هلیوم با سرعت ۱/۱-۰/۹ ml/min و تحت دمای ۳۰ تا ۲۵۰°C صورت پذیرفت. اجزاء سازنده از مقایسه

ساعت تحت شرایط ذکر شده گرمخانه گذاری شده و در انتها مقدار کدورت هر خانه به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر (سسیل، انگلستان) در طول موج ۶۲۰ نانومتر تعیین گردید. غلظت MIC به عنوان کمترین غلظت اسانس و یا نیسین متوقف کننده رشد، و MBC به عنوان کمترین غلظت موثر بر مرگ ۹۹/۹ سویه هدف ثبت شد. جهت اطمینان بیشتر، از خانه‌های منتخب نمونه برداری و کشت تأییدیه در پلیت TSA انجام شد (Saravani pak *et al.*, 2021).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: تجزیه و تحلیل داده‌های این پژوهش با بهره‌گیری از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام و مقایسه میانگین توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن، در سطح ۵ درصد انجام شد. تمامی آزمون در سه تکرار انجام شدند.

نتایج و بحث

آنالیز GC-MS: در این پژوهش نتایج حاصل از شناسایی نوع و مقدار اجزاء شیمیایی شناسایی شده اسانس میخک و مقایسه آن با گزارش باراک^۴ و همکاران (۲۰۲۵) در خصوص اجزاء شیمیایی اسانس میخک کشور ترکیه، در جدول ۱ آورده شده است.

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از دستگاه GC-MS وجود ترکیباتی متنوعی را در اسانس میخک نشان داد. در این پژوهش ۱۷ جزء شیمیایی متفاوت اسانس جوانه میخک و در مجموع ۹۳/۶۶٪ کل ترکیبات شناسایی شدند. مهمترین ترکیبات با سهم بالای ۵ درصد به ترتیب به اوزنول (۵۴/۲۷٪)، ترنس-بتا-کارپوفلن (۲۱/۱۳٪) و اوزنول استات (۱۱/۱۸٪) اختصاص داشت. گزارش باراک و همکاران (۲۰۲۵) نشان می‌دهد آنان ۱۰ جزء شیمیایی متفاوت با سهم ۹۹/۰۵٪ از کل اجزاء سازنده را شناسایی نموده‌اند. در گزارش آنان بیشترین سهم به ترتیب به اجزاء اوزنول (۷۲٪)، استیل اوزنول (۱۱٪) و بتا-کارپوفلن (۸/۵٪) تعلق داشت. مقایسه نتایج دو پژوهش شباهت‌ها و تفاوت‌هایی بارزی را در نوع و مقدار اجزاء شیمیایی شناسایی شده نشان می‌دهد. در هر دو گزارش بیشترین مقدار جزء شیمیایی به اوزنول اختصاص داشت هرچند در مقدار با یکدیگر تفاوت داشتند. این تفاوت‌ها احتمالاً در ارتباط با عوامل تاثیرگذاری مانند گونه، ترکیب خاک، سن گیاه، شرایط آب و هوایی منطقه رشد، مدیریت مزرعه و نیز روش اسانس گیری و تاریخ برداشت بوده است (Dashtisarmadi *et al.*, 2024; Haro-González *et al.*, 2021).

نتایج بدست آمده با طیف‌های جرمی آلکان‌های ۷ تا ۲۲ کربنه ترکیبات استاندارد و نیز فرهنگ ترکیبات طبیعی شناسایی شدند (Carvalho *et al.*, 2018).

تکثیر سویه‌های باکتریایی: جهت فعال سازی سویه‌های هدف شامل لیستریامنوسیتوزنز NCTC 11994، استافیلوکوکوس/اورئوس Bristol A9596، باسیلوس سرئوس ATCC 9634، شریشیا کلی ATCC 25922، پseudomonas آئروژینوزا ATCC 27853 و سالمونلا تیفی‌موریوم ATCC 14028، بسته شیشه‌ای لیوفلیزه تحت شرایط استریل شکسته و پاز انتقال به محیط کشت تریپتوسوی مایع (TSB^۲)، برای مدت یک شبانه روز گرمخانه گذاری (پارس آزما، ایران) شدند. دمای گرم‌خانه برای باسیلوس سرئوس ۳۰ °C و برای سایر سویه‌ها ۳۷ °C بود. از تکنیک کشت خطی بر روی محیط کشت تریپتوسوی آگار (TSA^۳) جهت تهیه کلنی خالص استفاده شد. سپس از هر سویه یک کلنی خالص را انتخاب نموده و به محیط کشت TSB منتقل گردید. گرمخانه گذاری تحت شرایط کنترل شده و برای ۲۴ h ادامه یافت. برای آزمون میکروبی از هر سوسپانسیون میکروبی، رقتی با جمعیت ۱۰^۶ CFU/ml به روش نیم مک فارلند تهیه شد (Carvalho *et al.*, 2018).

آزمون ضد میکروبی به روش سنجش انتشار در آگار: مقدار ml ۱ از سوسپانسیون ۰/۵ مک فارلند هر سویه، به طور جداگانه، با ml ۱۵ محیط کشت نوترینت آگار مذاب به خوبی مخلوط گردید. سپس در هر پلیت سه حفره با قطر ۶ mm ایجاد و به هر کدام مقدار ۱۵۰ μl اسانس میخک (۲۰ درصد) و یا نیسین اضافه و با محیط کشت نوترینت آگار (۰/۷۵ w/v) پر گردید. محلول نیسین به کمک حلال دی‌متیل سولفوکسید (۱۰ درصد) و فیلتر سرنگی (۰/۲ μm) آماده شد. در این آزمون کنترل منفی محلول Tween 80 با غلظت v/v ۰/۵٪ در نظر گرفته شد. پلیت‌های تهیه شده مطابق بخش قبل، گرم‌خانه‌گذاری و اثر ضدباکتریایی با اندازه‌گیری هاله عدم رشد باکتری تعیین برحسب mm گزارش گردید (Bennett *et al.*, 2021).

آزمون تعیین MIC و MBC به روش میکرودایلوشن: مقادیر MIC و MBC اسانس میخک و نیسین در برابر سویه‌های هدف (۱۰^۶ CFU/ml) به کمک آزمون میکرودایلوشن و پلیت ۹۶ خلنه تعیین شد. رقت‌های تهیه شده اسانس از ۳۰۰ تا ۴۰۰۰۰ μg/ml و نیسین از ۴/۸ تا ۱۰۲۳/۰ μg/ml متغیر بود. در این آزمون کنترل‌های منفی (خلنه حاوی محیط کشت TSB بدون باکتری) و مثبت (خلنه حاوی محیط کشت + سویه هدف و بدون عامل ضدباکتریایی) در نظر گرفته شدند. پلیت‌های آماده شده به مدت ۴۸

^۴ Barak

^۲ Tryptic Soy Broth

^۳ Tryptic Soy Agar

جدول ۱- مقایسه نوع و مقدار اجزاء سازنده اسانس میخک در نمونه هدف (T1) و گزارش باراک و همکاران (۲۰۱۷) (T2).

Table 1- Comparison of the type and amount of clove essential oil components in the target sample (T1) and the report of Barak et al. (2017) (T2).

Balak et al. (2017) (12).

ردیف	T1		T2			
	ترکیب شیمیایی	RI	%	ترکیب شیمیایی	RI	%
	Chemical composition			Chemical composition		
1	Furfural	841	0.38	α -Pinene	928	0.7
2	α -Cubebene	1249	0.19	D-Limonene	1030	0.46
3	Eugenol	1353	54.27	Estragole	1202	0.9
4	Trans- β -Caryophyllene	1401	21.13	(E)-Cinnamaldehyde	1275	1.2
5	β -Duprezianene	1415	0.03	Eugenol	1374	72
6	α -Guaiene	1419	0.01	β -Caryophyllene	1425	8.5
7	(Z)- β -Farnesene	1443	0.16	Humulene	1458	3.2
8	α -Himachalene	1451	0.19	Calemenene	1527	0.5
9	Murolene	1471	1.49	Acetyl eugenol	1535	11
10	Germacrene D	1495	0.25	Caryophyllene	1587	0.6
11	Eugenol acetate	1503	11.18	-	-	-
12	β -Sesquiphellandrene	1513	0.92	-	-	-
13	σ -cadinene	1547	3.11	-	-	-
14	Humulene oxide	1553	0.02	-	-	-
15	10-epi- α -cubebol	1561	0.01	-	-	-
16	Isolongifolanone	1595	0.03	-	-	-
17	Davanol acetate	1648	0.02	-	-	-
	جمع			جمع		
	Total		93.66	Total		99.06

RI : Retention Index.

نخست به وجود مقادیر بالای ترکیبات فنلیک به‌ویژه اوژنول و اوژنول استات مربوط می‌شود (Maha et al., 2025; Kor et al., 2026). در مجموع سویه‌های گرم منفی در مقایسه با انواع گرم مثبت نسبت به اسانس‌ها حساسیت کمتری دارند که به تفاوت ویژگی‌های دیواره سلولی آنها باز می‌گردد. اجزاء لیپوپلی‌ساکاریدی دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی باعث افزایش مقاومت سلولی و کاهش نفوذپذیری ترکیبات اسانس می‌شود. اما این لایه نمی‌تواند مانع ورود اجزاء آب دوست و کوچک ملکول اسانس‌ها گردد. در مقابل لایه پتیدوگلیکانی دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت از مقاومت کمتری در برابر نفوذ عوامل ضدباکتریایی موجود در اسانس‌ها برخوردارست. ماهیت چربی دوستی ترکیبات شیمیایی اسانس می‌تواند موجب برهم ریختن نظم ساختمانی اجزاء سازنده غشا سلولی (فسفولیپیدی، پلی‌ساکاریدی و اسیدهای چرب) شود که در نتیجه مقدار نفوذپذیری غشاء سلولی افزایش می‌یابد. گزارش شده اوژنول با تجزیه غشاء سلولی و ایجاد منافذ سلولی اثر کنترلی بر رشد باکتری‌ها دارد. اخلاص در فعالیتهای حیاتی غشاء سلولی با تراوش ترکیبات درون سلولی به خارج و در نهایت اخلاص در فعالیتهای سلول و مرگ آن همراه است. با این حال هیچ قانون کلی برپایه مقاومت بیشتر باکتری‌های منفی در قیاس با گرم مثبت وجود نداشته و با واقعیت نتایج بدست آمده تطبیق ندارد (Dashtisarmadi et al., 2024; Khwaza & Aderibigbe., 2025; Freitas et al., 2025).

فعالیت ضدباکتریایی اسانس میخک و نیسین به روش انتشار در آگار: نتایج حاصل از ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی اسانس میخک و نیسین به روش انتشار در آگار و بر علیه سویه‌های گرم مثبت (لیستریا منوسیتوزنز، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس) و گرم منفی (سالمونلا تیفی موریوم، پseudomonas آئروژنز و اشریشیاکلی) در جدول ۲ آورده شده است. ترکیبات ضدباکتریایی مورد بررسی (اسانس میخک و نیسین) اثر معناداری بر مهار رشد سویه‌های هدف داشتند ($p < 0.05$). در تمامی موارد اسانس میخک (در غلظت ۲۰٪) در مقایسه با نیسین اثر نیرومندتری را بر مهار رشد سویه‌های هدف نشان داد ($p < 0.05$). بیشترین و کمترین اثر مهارکنندگی رشد اسانس میخک بترتیب در برابر سویه‌های گرم منفی اشریشیاکلی (۲۹/۶ mm) و سالمونلا تیفی موریوم (۱۱/۲ mm) ثبت شد. در منابع علمی گذشته نتایج مشابهی از تاثیر اسانس میخک بر مهار رشد سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا منوسیتوزنز، سالمونلا تیفی و کلبسیلا پنومونیه (Maha et al., 2025) همچنین سویه‌های pseudomonas آئروژنز و باسیلوس سرئوس (Vafaei malekabadi et al., 2021) منتشر شده که با نتایج بدست آمده از این پژوهش هم سو است. اثر بازدارندگی اسانس بر رشد میکروبها به دو عامل مهم اجزاء شیمیایی اسانس (بلحاظ نوع و مقدار) و وضعیت حیاتی میکروارگانیسم نسبت داده شده است. خواص ضد میکروبی اجزای شیمیایی اسانس میخک، در درجه

جدول ۲- اثر ضدباکتریایی اسانس میخک و نیسین (mm) بر سویه‌های هدف به روش سنجش انتشار در آگار
Table 2- Antibacterial effect of clove essential oil and nisin (mm) on target strains by agar diffusion assay

Tween 80	بازدارندگی نیسین (mm) Inhibition zone of nisin (mm)	بازدارندگی اسانس میخک (mm) Inhibition zone of clove essential oil (mm)	میکروارگانیسم Microorganism	
NE	14.3 ± 0.2 A,c	19.3 ± 0.1 C,a	لیستریا مونوسیتوژنز <i>Listeria monocytogenes</i>	گرم مثبت Gram positive
NE	11.1 ± 0.4 B,d	26.3 ± 0.1 B,a	استافیلوکوکوس اورئوس <i>Staphylococcus aureus</i>	
NE	12.9 ± 0.2 B,d	25.8 ± 0.2 B,b	باسیلوس سرئوس <i>Bacillus cereus</i>	
NE	8.6 ± 0.1 D,c	11.2 ± 0.3 E,b	سالمونلا تیفی‌موریم <i>Salmonella Typhimurium</i>	گرم منفی Gram negative
NE	10.0 ± 0.1 C,d	14.5 ± 0.2 D,b	پسودوموناس آئروژنز <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
NE	9.2 ± 0.3 D,b	26.6 ± 0.2 A,a	اشریشیا کلی <i>Escherichia coli</i>	

حروف بزرگ و کوچک یکسان بترتیب در هر ستون و ردیف نشان دهنده عدم تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد است. NE: عدم تاثیر گذاری. داده‌ها بصورت میانگین ± احراف معیار آورده شده‌اند.

میکروبی مورد بررسی (اسانس میخک و نیسین) در برابر سویه‌های هدف را نشان می‌دهد. عوامل ضدباکتریایی مورد بررسی در این پژوهش تاثیرات متفاوتی را بر مقادیر MIC و MBC نشان دادند. بیشترین مقادیر MIC و MBC از تأثیر اسانس میخک بر سویه سالمونلا تیفی‌موریم به ترتیب با مقادیر ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰ µg/ml و کمترین میزان در برابر سویه اشریشیا کلی با مقدار ۱۵۶ µg/ml ثبت شد.

کمترین مقدار MIC نیسین با غلظت ۶۳ µg/ml بر علیه سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس و پسودوموناس آئروژنز بدست آمد که نشان دهنده حساسیت بیشتر این سویه‌ها بود. نتایج نشان دادند شدت تأثیرگذاری تحت تأثیر نوع، و غلظت عامل ضد میکروبی و سویه باکتریایی قرار دارد.

ارزیابی خواص ضدباکتریایی نیسین نشان داد سویه‌های گرم مثبت از حساسیت بالاتری برخوردارند ($p < 0.05$). بنابر نتیجه بدست آمده بیشترین هاله بازدارندگی رشد نیسین برای سویه لیستریا مونوسیتوژنز (۱۴/۳ mm) و کمترین مقدار در برابر سویه گرم منفی سالمونلا تیفی‌موریم (۸/۶ mm) اختصاص داشت ($p < 0.05$). این نتایج با گزارشات پیشین درخصوص حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت در برابر نیسین مطابقت دارد (Li et al., 2025; Huang et al., 2025). در توضیح این رخداد گزارش شده نیسین ابتدا با مسدود کردن سنتز پپتیدوگلیکان رشد باکتری را متوقف نموده و در ادامه با ایجاد منافذی در غشای سلولی باعث تجزیه سلول می‌شود (Chen et al., 2025).

مقادیر MIC و MBC اسانس میخک و نیسین: جدول ۳
داده‌های حاصل از تعیین مقادیر MIC و MBC ترکیبات ضد

جدول ۳- تعیین مقادیر MIC و MBC اسانس میخک و نیسین (µg/ml) در برابر سویه‌های هدف به روش میکرودیلولشن
Table 3- Determination MIC and MBC values of clove essential oil and nisin (µg/ml) against target strains by microdilution method

عامل ضدباکتریایی Antibacterial agent		MIC/MBC	میکروارگانیسم Microorganism	
نیسین (µg/ml) Nisin (µg/ml)	اسانس میخک (µg/ml) Clove essential oil (µg/ml)			
125	625	MIC	لیستریا مونوسیتوژنز <i>Listeria monocytogenes</i>	گرم مثبت Gram positive
250	625	MBC	استافیلوکوکوس اورئوس <i>Staphylococcus aureus</i>	
63	313	MIC	باسیلوس سرئوس <i>Bacillus cereus</i>	
125	313	MBC	سالمونلا تیفی‌موریم <i>Salmonella Typhimurium</i>	
63	313	MIC	پسودوموناس آئروژنز <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
63	625	MBC	اشریشیا کلی <i>Escherichia coli</i>	
125	2500	MIC		گرم منفی Gram negative
250	5000	MBC		
63	1250	MIC		
125	2500	MBC		
125	156	MIC		
125	156	MBC		

نتیجه گیری

اشرشیاکلی اختصاص داشت. نیسین و اسانس میخک تأثیرات مهارکنندگی رشد قابل توجهی را بروز دادند که نشان می‌دهد از قابلیت مناسبی جهت جایگزینی با نگهدارنده‌های شیمیایی برخوردار هستند. در این خصوص ضروریست به نوع سویه میکروبی و غلظت اسانس میخک و یا نیسین توجه داشت. باین‌وجود، تأیید نهایی بکارگیری ترکیبات مورد بررسی، نیازمند انجام پژوهش‌های بالینی و کاربردی در مواد غذایی است.

اسانس‌ها با دارا بودن اثرات ضد میکروبی قوی و درعین حال سازگاری قابل توجه با بدن انسان و محیط زیست، از پتانسیل مناسبی جهت ارتقاء سلامت جامعه برخوردارند. در این پژوهش ترکیبات شیمیایی سازنده اسانس میخک شناسایی و خواص ضدباکتریایی آن در قیاس با نیسین در برابر برخی سویه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. کمترین غلظت مهارکنندگی رشد به اسانس میخک در برابر سویه

منابع

- Alhathloul, H.A., Soliman, M. H., Ameta, K. L., El-Esawi, M. A., & Elkelish, A. (2020). Changes in ecophysiology, osmolytes, and secondary metabolites of the medicinal plants of *Mentha piperita* and *Catharanthus roseus* subjected to drought and heat stress. *Biomolecules*, 10, 43-64.
- Barak, T. H., Gültekin, E., Senturk, T. B., & Ozdemir, K. (2025). Evaluation of commercial *Syzygium aromaticum* L. (clove) essential oil samples from market in accordance with the European Pharmacopoeia 10.0 criteria. *Journal of Research in Pharmacy*, 28 (4), 1088-1098.
- Bennett, S., Said, L. B., Lacasse, P., Malouin, F., & Fliss I. (2021). Susceptibility to Nisin, Bactofencin, Pediocin and Reuterin of Multidrug Resistant *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae* and *Streptococcus uberis* Causing Bovine Mastitis. *Antibiotics*, 10, 1-12.
- Carvalho, M., Albano, H., & Teixeira, P. (2018). In Vitro Antimicrobial Activities of Various Essential Oils Against Pathogenic and Spoilage Microorganisms. *Journal of Food Quality and Hazards Control*, 5, 41-48.
- Chen, X., Bai, H., Mo, W., Zheng, X., Chen, H., Yin, Y., & et al. (2025). Lactic Acid Bacteria Bacteriocins: Safe and Effective Antimicrobial Agents. *Int J Mol Sci*, 26 (9), 4124.
- Dashtisarmadi, K., Najafi, M. A., Miri, M., & Najafi, Q. S. (2024). Antimicrobial properties of basil (*Ocimum basilicum* L.) and sage (*Salvia officinalis* L.) separately and in combination on inhibiting the growth of some food spoilage bacteria. *Journal of Research in Plant Metabolites*, 2 (2), 59-72. [In Persian]
- Freitas, V. D. d., Coelho, E. L. J., Moreira, J. M. A. R., Dutra, V., Sousa, V. R. F., & Almeida, A. d. B. P. F. d. (2025). Antibacterial Activity of Clove Essential Oil (*Syzygium aromaticum*) Against Oxacillin-Resistant *Staphylococcus pseudintermedius* Isolated from Dogs with Otitis Externa. *Pathogens*, 14, 709.
- Firouzi, A.F., Baghaeifar, S., Taheri, E., Farhodi, S. J. M., Safi, M., Seyyed, S. N., & et al. (2020). Enhanced anticancer potency of doxorubicin in combination with curcumin in gastric adenocarcinoma. *J Biochem Mol Toxicol*, e22486.
- Haro-González, J. N., Castillo-Herrera, G. A., Martínez-Velázquez, M., & Espinosa-Andrews, H. (2021). Clove Essential Oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, Chemical Composition, Food Applications, and Essential Bioactivity for Human Health. *Molecules*, 26, 6387.
- Huang, M., Li, F., He, W., & Zhong, Q. (2025). Synergistic antibacterial activities of nisin with tea polyphenol, and rhamnolipid against *Bacillus cereus* and the applications in pasteurized milk and cooked rice. *Food Bioscience*, 71, 107110.
- Kor, N., Alinaghizadeh, M. M., Heydari, F., Molaei, R., Hajipour, P., Azizi, S., & Sakhaee, E. (2026). The Antibacterial and Wound-Healing Effects of Clove (*Syzygium aromaticum*) Essential Oil on Burn Wounds Contaminated with *Pseudomonas aeruginosa* in Rats. *Veterinary and Comparative Biomedical Research*, 3 (1), 1 – 11.
- Li, L. Q., Yu, Y. B., Zhang, S. Y., Liu, Z. C., Pan, L. Y., Liang, T. X., & et al. (2025). Antibacterial Stability of Novel Nisin/Carboxylic Curdlan Complexes. *Foods*, 14 (23), 4007.
- Maha, M. B., Hanaa, M. H., Maha O. A. O., Waled, M. A., Salma, M. G., Sameh, A. K., & et al. (2025). Effects of clove (*Syzygium aromaticum*) extract on antibacterial activity, phytochemical properties, and storage quality of flavored milk beverages. *Journal of Dairy Science*, 108, 4, 3300-3313.
- Michel, I., Lobietti, M., Danthu, P., Penot, E., Velonjara, F., Jahiel, M., & Michels, T. (2021). Agroforestry innovation by smallholders facing uncertainty: The case of clove-based cropping systems in Madagascar. *European Journal of Agronom*, 123, 126218.
- Nada, H. G., Mohsen, R., Zaki, E. M., & Aly, A. A. (2022). Evaluation of chemical composition, antioxidant, antibiofilm and antibacterial potency of essential oil extracted from gamma irradiated clove (*Eugenia caryophyllata*). *Food Meas. Charact*, 16, 673–686.
- Najafi, M. A., Ayinechi, A., Bahmani, Z. A., & Najafi, Q.A. (2023). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of basil (*Ocimum basilicum* L.), rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and cumin (*Cuminum cyminum* L.) in comparison with nisin. *New Findings in Veterinary Medicine*, 6, 2, 98-107. [In Persian].
- Saravani Pak, E., Najafi, M. A., Tavakoli, M., & Soltani Tehrani, N. (2021). Evaluation antimicrobial effects of new edible film from Persian gum incorporated with Saffron extract and nisin, on chicken fillets under chilled conditions. *New Findings in Veterinary Microbiology*, 4, 23-36. [In Persian].
- Shahbazi, Y., & Shavis, N. (2019) Antimicrobial effects of *Mentha spicata* essential oil and methanolic carrot extract against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* fish soup. *Pharm Biomed Res*, 2019; 5(1): 32-38.
- Vafaei Malekabadi, A., Karimi .E., & Eskouian .E. (2021). Comparison of antioxidant, antibacterial, and cytotoxic effects of clove essence and clove essence

nanoemulsion. *Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences*, 29 (3), 26-37. [In Persian].

Wadi, M. A. (2025). Evaluation of antibacterial activity and chemical analysis of clove aqueous extract (*Syzygium aromaticum*). *BMC Complement Med Ther*, 21, 25, 146.⁵