

Original Article

Assessment of the Antibacterial Effects of Cinnamon Essential Oil and Its Nanoemulsion on Some Normal Flora Bacteria in the Skin, Gills, and Rearing Water of Rainbow Trout

Roya Soltaninejad^{1,2}, Ashraf Kariminik^{1*}

1. Department of Microbiology, Ke.C., Islamic Azad University, Kerman, Iran

2. Food and Drug Administration, Kerman Branch, University of Medical Sciences Campus, Kerman, Iran

Submitted: 2025.05.31

Accepted: 2025.08.13

Revised: 2025.08.13

Published: 2026.03.20

* Corresponding author: kariminik@iau.ac.ir

Abstract

Introduction: Considering the role of normal flora bacteria in the high perishability of rainbow trout, natural antimicrobial agents have attracted attention as alternatives to synthetic preservatives. **Objectives:** This study aimed to investigate the antibacterial effects of cinnamon essential oil and its nanoemulsion on some bacteria isolated from the skin and gills of the fish. **Methods:** Cinnamon oil was extracted using steam distillation, and its components were identified using GC/MS. The nanoemulsion of the oil was prepared using homogenization. The antibacterial effects of the essential oil and its nanoemulsion on *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas putida*, and *Escherichia coli* were evaluated using the microdilution method. Microbial counts of skin, gill, and pond water samples were conducted before and after treatment with the oil and nanoemulsion, and the data were analyzed using SPSS software. **Results:** Cinnamaldehyde (82.15%) and eugenol (4.59%) were identified as the main components of the oil. The evaluation of antibacterial activity showed that the cinnamon nanoemulsion was more effective than the essential oil and salt. The minimum inhibitory and bactericidal concentrations of the cinnamon nanoemulsion and oil were respectively: for *Aeromonas hydrophila*: 3.12 and 6.25 µg/mL, for *Pseudomonas putida*: 25 and 25 µg/mL, and for *Escherichia coli*: 6.25 and 12.5 µg/mL. The highest microbial load reduction was observed with the cinnamon nanoemulsion, showing a 26.4%, 14.3%, and 9.7% reduction in water, skin, and gills of the fish, respectively. **Conclusion:** Compared to the essential oil and salt, the cinnamon nanoemulsion demonstrated greater effectiveness in reducing the microbial load of water, skin, and gills of the fish. This superiority could be attributed to the increased stability and bioavailability of the active components of cinnamon in nanoemulsion form. Accordingly, the use of cinnamon nanoemulsion as a natural and efficient solution appears to be a promising approach for improving hygiene and controlling microbial contamination in aquaculture.

Keywords: Rainbow trout, cinnamon, essential oil, nanoemulsion, microbial flora



Authors retain the copyright and full publishing rights.

Published by [Razi Vaccine & Serum Research Institute](#) This article is an open access article licensed under the [Creative Commons Attribution 4.0 International \(CC BY 4.0\)](#)

بررسی اثرات ضدباکتریایی اسانس و نانوامولسیون دارچین بر برخی از باکتری‌های فلور طبیعی پوست، آبشش و آب پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

رویا سلطانی نژاد^{۱،۲}، اشرف کریمی نیک^{۱*}

۱. گروه میکروبیولوژی، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران
 ۲. سازمان غذا و دارو، واحد کرمان، پردیس دانشگاه علوم پزشکی، کرمان، ایران



تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۲۲
 تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۵/۲۲ تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۱/۰۱

* نویسنده مسئول: kariminik@iaau.ac.ir

چکیده:

مقدمه: با توجه به نقش باکتری‌های فلور طبیعی در فسادپذیری بالای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، عوامل ضد میکروبی طبیعی به‌عنوان جایگزینی برای مواد نگهدارنده مصنوعی مورد توجه قرار گرفته‌اند. این مطالعه با هدف بررسی اثرات ضدباکتریایی اسانس دارچین و نانوامولسیون آن بر برخی از باکتری‌های جدا شده از پوست و آبشش ماهی انجام شد. **روش کار:** اسانس دارچین به روش تقطیر با بخار آب استخراج و ترکیبات آن با دستگاه GC/MS شناسایی شد. نانوامولسیون اسانس دارچین با روش هموژنیزاسیون تهیه گردید. اثرات ضدباکتریایی اسانس و نانوامولسیون بر باکتری‌های *Aeromonas hydrophila*، *Pseudomonas putida* و *Escherichia coli* به روش میکرودیلوژن ارزیابی شد. شمارش میکروبی نمونه‌های پوست، آبشش و آب استخر قبل و بعد از تیمار با اسانس و نانوامولسیون انجام گردید و داده‌ها با نرم‌افزار SPSS تحلیل شدند. **نتایج:** سینامیک آلدئید با ۸۲/۱۵ درصد و اوژنول با ۴/۵۹ درصد، به‌عنوان ترکیبات اصلی اسانس شناسایی گردیدند. بررسی فعالیت ضدباکتریایی نشان دهنده اثربخشی بهتر نانوامولسیون دارچین نسبت به اسانس و نمک بود. حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی نانوامولسیون دارچین و اسانس به ترتیب برای *Aeromonas hydrophila*: ۳/۱۲، *Pseudomonas putida*: ۲۵،۲۵ و *Escherichia coli*: ۶/۲۵ و ۱۲/۵ میکروگرم بر میلی لیتر بود. بیشترین میزان کاهش بار میکروبی مربوط به نانوامولسیون دارچین بود و کاهش ۲۶/۴، ۱۴/۳ و ۹/۷ درصدی به ترتیب در آب، پوست و آبشش ماهی مشاهده شد. **نتیجه گیری:** نانوامولسیون دارچین در مقایسه با اسانس و نمک، عملکرد مؤثرتری در کاهش بار میکروبی آب، پوست و آبشش ماهی از خود نشان داد. این برتری می‌تواند ناشی از افزایش پایداری و دسترسی زیستی ترکیبات فعال دارچین در قالب نانوامولسیون باشد. بر این اساس، استفاده از نانوامولسیون دارچین به‌عنوان یک راهکار طبیعی و کارآمد، گزینه‌ای مناسب برای بهبود بهداشت و کنترل آلودگی‌های میکروبی در صنعت پرورش آبزیان به شمار می‌رود.

کلمات کلیدی: قزل‌آلای رنگین‌کمان، دارچین، اسانس، نانوامولسیون، فلور میکروبی

مقدمه

بیماری‌های باکتریایی در آبی‌پروری آثار اقتصادی و اجتماعی مهمی در بسیاری از کشورها دارند. به‌کارگیری روش‌های بهداشتی در آبی‌پروری از جمله قرنطینه، بهینه‌سازی کیفیت آب، استفاده از خوراک با کیفیت، اصلاح نژاد مقاوم به بیماری و اجرای برنامه‌های واکسیناسیون، استفاده از ترکیبات طبیعی با خاصیت ضد میکروبی در مبارزه با بیماری‌های ماهی بوده‌اند (۱). گوشت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به دلیل محتوای بالای پروتئین‌های عضلانی با ارزش بیولوژیکی بالا، رطوبت زیاد و pH نسبتاً خنثی، محیط مناسبی برای رشد میکروارگانیسم‌ها بوده و به‌سرعت دچار فساد می‌شود. باکتری‌های غالب در فساد ماهی از جنس‌های *Pseudomonas*، *Aeromonas*، *Shewanella* و ... می‌باشند (۲). این باکتری‌ها می‌توانند ترکیباتی مانند: تری‌متیل‌آمین، سولفید هیدروژن و سایر ترکیبات بدبو تولید کنند (۳). ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌عنوان یکی از ارزشمندترین منابع پروتئین حیوانی در رژیم غذایی انسان مطرح بوده و حاوی ترکیبات مغذی منحصربه‌فردی همچون اسیدهای چرب امگا-۳، پروتئین‌های با ارزش بیولوژیکی بالا و انواع ویتامین‌های ضروری برای بدن می‌باشد. یکی از دلایل مهم فساد در ماهی قزل‌آلای، تکثیر میکروارگانیسم‌ها به ویژه باکتری‌های موجود در فلور طبیعی بدن ماهی می‌باشد (۵). این باکتری‌ها پس از صید، در صورت رعایت نکردن اصول بهداشتی و به کار نگرفتن روش‌های صحیح نگهداری، به سرعت در بافت‌های ماهی افزایش یافته و موجب تخریب و افت کیفیت محصول می‌گردند. حتی در دمای یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد)، سرعت فساد میکروبی و تغییرات نامطلوب بافتی به میزان قابل توجهی بالا بوده و در گونه‌های حساسی مانند قزل‌آلای رنگین‌کمان، این روند با شدت بیشتری اتفاق می‌افتد. برای جلوگیری از فساد ماهی و افزایش طول عمر آن، از روش‌های ترکیبی استفاده می‌شود این روش‌ها شامل: نگهداری در دمای پایین (یخچال یا فریزر) به منظور کاهش فعالیت میکروارگانیسم‌ها، استفاده از بسته‌بندی خلأ برای محدود کردن دسترسی اکسیژن و کاهش اکسیداسیون و کاربرد پوشش‌های حاوی مواد ضد میکروبی طبیعی مانند: پلی‌ساکاریدها (ژلاتین، کیتوزان، نشاسته)،

ترکیبات گیاهی (عصاره سیر، آویشن، دارچین) و اسانس‌ها و نانومولسیون‌ها با خاصیت ضد میکروبی می‌باشند (۶،۷). با توجه به افزایش مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های رایج و نگرانی‌های زیست‌محیطی و سلامتی ناشی از مصرف آن‌ها، استفاده از ترکیبات طبیعی مانند اسانس‌های گیاهی (به‌ویژه دارچین) و فرمولاسیون‌های نانویی می‌تواند یک راه‌حل ایمن و مؤثر باشد. دارچین به دلیل خواص ضد اکسیدانی و ضد میکروبی، پیشینه طولانی در افزایش ماندگاری مواد غذایی دارد (۱). با وجود این، چالش اصلی در استفاده از اسانس‌های طبیعی مانند دارچین، توزیع یکنواخت و نگهداری مؤثر آن‌ها در بسته‌بندی‌های غذایی است. در این زمینه، استفاده از نانومولسیون‌ها می‌تواند به‌عنوان یک راهکار مؤثر مطرح شود (۸). این مطالعه نه تنها یک راه‌حل طبیعی و کم‌خطر برای کنترل باکتری‌های بیماری‌زا در ماهی‌ها ارائه می‌دهد، بلکه با استفاده از فناوری نانو، اثربخشی آن را افزایش داده و گامی مؤثر در جهت کاهش مصرف آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی و حفظ محیط زیست است. هدف این مطالعه، مقایسه اسانس دارچین با فرم نانومولسیون آن بوده است که نشان دهنده توانمندی فناوری نانو در اثربخشی ترکیبات طبیعی از طریق افزایش پایداری، نفوذپذیری و بهبود سطح تماس با باکتری‌ها می‌باشد. از این رو در این تحقیق، اثرات ضد میکروبی اسانس و نانومولسیون دارچین بر برخی از باکتری‌های فلور طبیعی پوست، آبشش و آب پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

برای این تحقیق کد اخلاق با شناسه:

IR.IAU.KERMAN.REC.1400.021 اخذ شده است.

استخراج اسانس دارچین و شناسایی ترکیبات آن

۱۰۰ گرم از پوست دارچین با ۹۰۰ میلی لیتر آب مقطر استریل در بالن مخلوط گردید استخراج اسانس از پوست درخت دارچین (*Cinnamomum zeylanicum*) به روش تقطیر با بخار آب با دستگاه کلونجر، طی مدت زمان ۵ ساعت انجام شد (۹). اسانس به دست آمده توسط سولفات سدیم انیدرید آب گیری و در ظروف شیشه‌ای تیره با روپوش پارافیلیم و ورقه آلومینیمی در دمای ۴ درجه سانتیگراد تا

تهیه نانوامولسیون، ابتدا فاز آبی (حاوی آب دیونیزه) و فاز روغنی (حاوی ترکیبات لیپوفیلیک) به نسبت وزنی مشخص مخلوط شدند. سپس، تویین ۸۰ به سیستم اضافه گردید و مخلوط اولیه با استفاده از همزن مغناطیسی به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط هموژن شد. در مرحله بعد، مخلوط پیش‌امولسیون با عبور از هموژنایزر فشار بالا در فشار ۱۰۰۰ بار و به مدت ۳ چرخه، به نانوامولسیون پایدار تبدیل گردید تا اندازه قطرات فاز روغنی به مقیاس نانو (کمتر از ۱۰۰ نانومتر) کاهش یابد (۹).

جداسازی و شناسایی باکتری‌های فلور پوست ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

از پوست ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با نام علمی *Oncorhynchus mykiss* نمونه‌گیری شد. نمونه‌ها در محیط ترانسپورت و در شرایط استریل به آزمایشگاه منتقل شدند. غنی‌سازی اولیه در محیط کشت مایع تریپتیکاز سوی برات انجام گرفت. سپس از هر نمونه بر روی محیط کشت‌های بلاد آگار و مکانکی کشت داده شد. از کلنی‌های بدست آمده، رنگ‌آمیزی گرم و آزمون‌های شاخص بیوشیمیایی مانند: آزمایش‌های کاتالاز، اکسیداز و تخمیر قند، سیمون سترات، اوره از، حرکت، ایندول، متیل رد و وژرپرکوتر، انجام شد (۱۰).

شناسایی مولکولی باکتری‌ها

باکتری‌های *Pseudomonas*، *Aeromonas hydrophila*، *putida* و *Escherichia coli* که با انجام تست‌های بیوشیمیایی مورد تایید اولیه قرار گرفتند، از نظر مولکولی و واکنش زنجیره پلیمرز (پی سی ار)، ارزیابی شدند. از هر باکتری، کشت مایع ۲۴ ساعته در محیط لوریا برات تهیه شد. جهت استخراج DNA از کیت استخراج DNA شرکت سیناژن استفاده گردید. برای ارزیابی کیفیت DNA، از دستگاه اسپکتروفتومتر نانودراب استفاده شد. جذب نوری در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر به‌منظور بررسی مقدار DNA و آلودگی پروتئینی و تعیین خلوص نمونه‌ها سنجیده شد. لیست پرایمرهای مورد استفاده در جدول (۱)، ذکر شده است. مخلوط واکنش پی سی ار در حجم کل

زمان تزریق به دستگاه نگهداری شد. جداسازی، اندازه‌گیری و شناسایی ترکیبات اسانس دارچین توسط کروماتوگراف گازی Shimadzu 15A مجهز به ستون DB-5 به طول ۵۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فیلم نازک ۰/۲۵ میکرومتر انجام گرفت. جداسازی ترکیبات در ستون موئین سیلیکای گداخته از نوع (5-% Methylpo-Phenyl BP-X5) lysiloxan با ابعاد قطر داخلی ۰/۲۲ میلی‌متر، ضخامت فیلم نازک ۰/۲۵ میکرومتر و طول ۳۰ متر انجام شد. دمای اولیه ۶۰ به مدت ۳ دقیقه نگه داشته شد و تا دمای ۲۲۰ درجه سانتیگراد با سرعت ۵ درجه در هر دقیقه افزایش یافت و در دمای ۲۲۰ درجه به مدت ۵ دقیقه متوقف شد. دمای محفظه تزریق ۲۵۰، آشکارساز از نوع FID با دمای ۲۷۰ درجه سانتیگراد و گاز هلیوم با سرعت با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه تنظیم شد. در ادامه، دستگاه GC/MS مدل Hewlett-Packard ۶۸۹۰ متصل به طیف‌سنج جرمی HP ۵۹۷۳، ستون HP-5 MS به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۵ میلی‌متر، ضخامت فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. دمای اولیه ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه نگه داشته شد و تا دمای ۲۴۰ درجه سانتیگراد با سرعت ۵ درجه در هر دقیقه افزایش یافت. دمای محفظه تزریق ۲۵۰ درجه سانتیگراد، آشکارساز از نوع FID با دمای ۲۷۰ درجه سانتیگراد و گاز هلیوم با سرعت با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه تنظیم شد. شرایط طیف‌سنجی جرمی، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون‌ولت و محدوده جرمی ۴۰ تا ۲۴۰ بود. اسانس با هگزان رقیق شد و به دستگاه‌های GC و GC/MS تزریق گردید. محاسبه شاخص بازداری (RI^1): با استفاده از زمان‌های بازداری آلکان‌های نرمال (C۷-C۲۰) در شرایط یکسان با نمونه محاسبه شد. مقایسه طیف‌های جرمی با بانک اطلاعاتی Wiley L.۲۷۵ انجام شد. درصد ترکیب‌ها بر اساس مساحت زیر پیک در کروماتوگرام GC تعیین گردید (۹).

تهیه نانوامولسیون اسانس دارچین

برای تهیه نانوامولسیون، از روش هموژنیزاسیون با استفاده از تویین ۸۰ به عنوان سورفکتانت بهره گرفته شد. برای

۳۰ ثانیه. اتصال پرایمر ۵۸ درجه سانتیگراد به مدت ۶۰ ثانیه، پلیمریزاسیون ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه و پلیمریزاسیون نهایی ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. محصول پی سی ار با استفاده از تکنیک الکتروفورز در ژل آگارز مورد بررسی قرار گرفت (۱۱-۱۳).

بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس دارچین و

۲۰ میکرولیتر شامل: مسترمیکس، ۱۰ میکرولیتر، هر یک از پرایمرهای فوروارد و ریورس، ۱ میکرولیتر، DNA، ۴ میکرولیتر و آب دیونیزه استریل ۴ میکرولیتر تهیه گردید. برنامه سیکل دمایی به صورت طی مراحل دناتوراسیون اولیه: ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه. سیکل‌های پی سی ار (۳۵ چرخه)، دناتوراسیون، ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت

جدول ۱: توالی و مشخصات پرایمرهای مورد استفاده

طول توالی (bp)	توالی پرایمر	باکتری
464	5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3' 5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3'	<i>Pseudomonas putida</i>
599	5'-TCATGGCTCAGATTGAACGCT-3' 5'-CGGGGCTTTCACATCTAACTTATC-3'	<i>Aeromonas hydrophila</i>
200	5'-GCGGACGGGTGAGTAATGT-3' 5'-TCATCCTCTCAGACCAGCTA-3'	<i>Escherichia coli</i>

۳۰ درجه سانتیگراد، مورد ارزیابی قرار گرفت. عدم رشد کامل به عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته شد (۱۴).

شمارش میکروبی آب، پوست و آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پیش و پس از تیمار با اسانس دارچین و نانوامولسیون آن

در بررسی حاضر، از چهار عدد وان‌های فایبرگلاس حاوی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان، پیش از تیمار و پس از تیمار، نمونه برداری گردیده و شمارش میکروبی انجام شد. هر وان حاوی ده عدد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بود. ماهی‌های مورد استفاده دارای میانگین طول $31 \pm 1/5$ سانتی‌متر و میانگین وزن $275/5 \pm 12/25$ گرم بودند (جدول ۲). در ابتدا نمونه‌برداری به صورت کنترل شده انجام شد و در ادامه، این فرآیند در سه مرحله با فاصله زمانی یک‌هفته‌ای از وان‌های سالن پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تکرار گردید. در زمان برداشت نمونه، دمای آب مخازن در بازه ۸ تا ۱۵ درجه سانتی‌گراد، ارتفاع آب ۳۰ سانتی‌متر و حجم هر وان برابر با ۱۲۰۰ لیتر بود. در این مطالعه، چهار تیمار مورد بررسی

نانواسانس دارچین

برای تعیین فعالیت ضد میکروبی اسانس دارچین و نانواسانس دارچین بر سه باکتری *Aeromonas hydrophila*، *Escherichia coli* و *Pseudomonas putida* تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از روش میکرودیلوژن با استفاده از پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای پلی‌استیرن استفاده شد (۱۴). غلظت‌های $0/39$ ، $0/78$ ، $1/56$ ، $3/12$ ، $6/25$ ، $12/5$ و 25 از اسانس دارچین و نانواسانس دارچین تهیه شده و سپس مقدار ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی معادل $0/5$ مک فارلند به محتوای هر چاهک میکروپلیت اضافه شد و به طور کامل با مایع داخل چاهک مخلوط شد. سپس میکروپلیت‌ها، به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد انکوبه گردیده و خوانش با استفاده از میکروپلیت ریدر انجام و MIC تعیین شد. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC)، نیز از چاهک‌های قبل و بعد از میزان MIC، کشت خطی بر روی محیط مولر هینتون آگار انجام شد و رشد باکتری‌ها پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته در دمای

وان، پوست و آبشش ماهی‌ها پیش و پس از تیمار، انجام شد. جهت تعیین درصد مهار رشد باکتری‌ها از فرمول (۱)، استفاده گردید (۱۵).

قرار گرفت که شامل: وان حاوی نانوامولسیون دارچین، وان حاوی اسانس دارچین، وان حاوی نمک با ۲۵ppm به مدت

۱۵ دقیقه، و وان بدون تیمار به‌عنوان گروه شاهد بودند. نمونه گیری و شمارش باکتری‌ها به روش پورپلیت، از آب

فرمول (۱):

بررسی آماری

$$\text{درصد مهار رشد} = \left(\frac{\text{جذب نوری تیمار} - \text{جذب نوری شاهد}}{\text{جذب نوری شاهد}} \right) \times 100$$

جدول ۲: مشخصات ظاهری و ویژگی‌های ماهی‌های مورد بررسی

مشخصات	تیمار	(نانوامولسیون دارچین)	(اسانس دارچین)	(شاهد)	نمک
طول ماهی (سانتی‌متر)	۳۰/۰ ± ۱/۵	۳۲/۵ ± ۱/۲	۲۸/۰ ± ۱/۳	۳۱/۰ ± ۱/۰	
وزن ماهی (گرم)	۲۵۰ ± ۱۵	۲۷۵ ± ۱۰	۲۴۰ ± ۱۲	۲۶۵ ± ۱۲	
pH آب	۷/۵ ± ۰/۱	۷/۶ ± ۰/۱	۷/۴ ± ۰/۱	۷/۵ ± ۰/۲	
دمای آب (°C)	۱۵/۰ ± ۰/۵	۱۵/۵ ± ۰/۴	۱۴/۵ ± ۰/۵	۱۵/۲ ± ۰/۳	
اکسیژن آبی (mg / L)	۸/۰ ± ۰/۳	۸/۵ ± ۰/۲	۷/۸ ± ۰/۳	۸/۲ ± ۰/۲	

نتایج

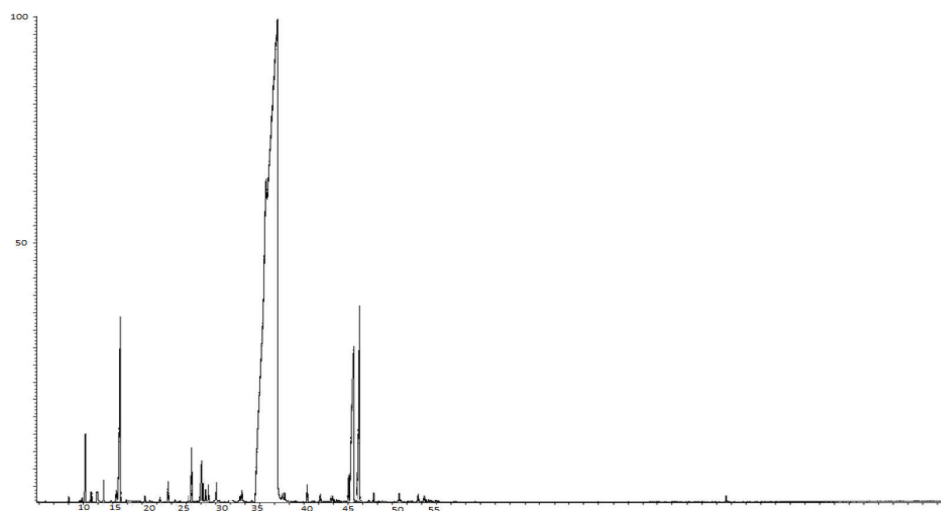
ترکیبات متشکله اسانس دارچین

براساس نتایج به دست آمده از آنالیز اسانس دارچین، ترکیبات مختلفی به دست آمد که مقادیر آن‌ها و زمان بازداری آن‌ها در جدول (۳) و همچنین کروماتوگرام GC/MS اسانس دارچین در شکل (۱)، نشان داده شده است. براین اساس اسانس دارچین دارای ۱۴ ترکیب مختلف بود که بیشترین ترکیبات تشکیل دهنده آن به ترتیب شامل: سینامیک آلدئید (۸۲/۱۵۷ درصد)، اوژنول (۴/۵۹۸ درصد)، پی-کامفن (۳/۰۵۶ درصد) و کامفن (۲/۵۲۱ درصد) شناسایی گردیدند.

داده‌های این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۲۳) مورد تحلیل قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین‌های بین گروه‌های مختلف از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) استفاده شد. در مواردی که تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها مشاهده گردید ($P < 0/05$)، از آزمون تعقیبی توکی (Tukey's post-hoc) برای شناسایی دقیق‌تر محل تفاوت‌ها استفاده شد. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار (Mean \pm SD) گزارش شده‌اند و سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

جدول ۳: ترکیبات تشکیل دهنده اسانس دارچین

ردیف	نام ترکیب	درصد	زمان پیک (دقیقه)	ضریب بازداری
۱	α -Pipene	۱/۱۴۸	۱۰/۵۲۳	۹۹۴/۶
۲	Acetophenone	۰/۲۳۸	۱۱/۲۳۷	۱۰۱۵/۱
۳	α -Phellandrene	۰/۴۵۸	۱۲/۸۵۶	۱۰۶۲/۳
۴	D-Limonene	۰/۶۶۴	۱۳/۲۵۱	۱۰۷۳/۸
۵	<i>p</i> -Cineole	۳/۰۵۶	۱۶/۱۴۸	۱۱۶۳/۲
۶	Humulene	۱/۰۲۳	۲۲/۶۴۷	۱۳۹۲/۳
۷	Hydrocinnamic aldehyde	۱/۴۵۹	۲۶/۳۶۴	۱۵۴۲/۰
۸	α -Terpineol	۱/۴۸۹	۲۸/۵۹۸	۱۶۳۸/۴
۹	n-Hexadecanoic acid	۰/۶۵۸	۲۹/۳۵۶	۱۶۷۲/۷
۱۰	Benzyl Benzoate	۰/۳۶۶	۳۰/۵۷۹	۱۷۲۸/۷
۱۱	Cinnamic aldehyde	۸۲/۱۵۷	۳۶/۳۴۷	۱۹۴۶/۶
۱۲	Pentacosane	۰/۱۶۵	۴۰/۲۳۷	۲۰۹۱/۹
۱۳	Camphène	۲/۵۲۱	۴۵/۲۸۹	۲۲۸۰/۶
۱۴	Eugénol	۴/۵۹۸	۴۶/۰۵۹	۲۳۰۹/۴

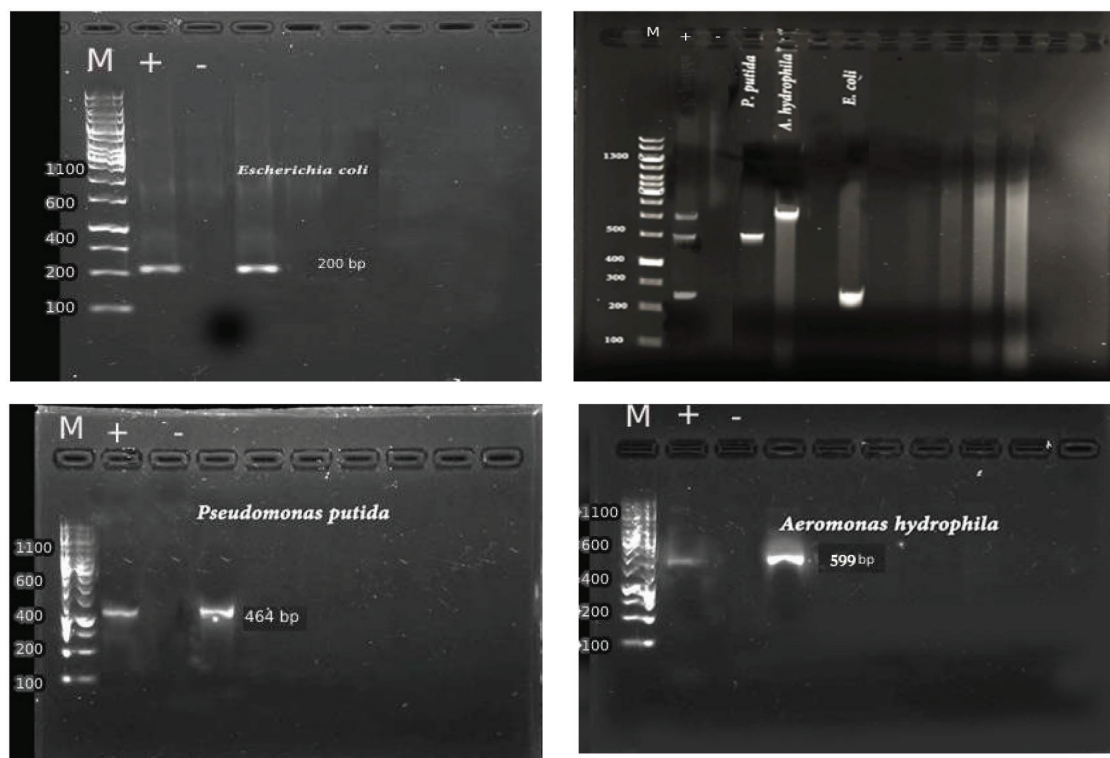


شکل ۱: کروماتوگرام GC/MS اسانس دارچین

بررسی مولکولی باکتری‌های شناسایی شده

در مطالعه حاضر، بررسی مولکولی باکتری‌های شناسایی شده با استفاده از آزمون پی سی ار ساده و چندگانه انجام شد. در

شکل (۲)، نتایج الکتروفورز محصول پی سی ار سه باکتری منتخب نشان داده شده است.



شکل ۲: الکتروفورز ژل آگارز محصول پی سی ار سه باکتری *P. putida* (bp 464)، *A. hydrophila* (bp 599) و *E. coli* (bp 200).

نتایج اثرات بازدارندگی از رشد نانوامولسیون و اسانس دارچین بر سه باکتری

بر اساس داده‌های جدول (۴)، بررسی اثر نانوامولسیون و اسانس دارچین بر کنترل رشد باکتری *Aeromonas hydrophila* نشان داد که هر دو ترکیب دارای فعالیت مهارتی قابل توجهی هستند. در غلظت‌های بالای نانوامولسیون دارچین (مانند ۲۵ و ۵/۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، درصد مهارت رشد از ۹۹ درصد فراتر رفت که بیانگر اثر بسیار قوی این ترکیب بر باکتری مورد مطالعه است. با کاهش غلظت نانوامولسیون،

میزان مهارت نیز به‌طور قابل توجهی کاهش یافت، به طوری که در غلظت ۰/۳۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر، درصد مهارت به حدود ۴۴/۹۵- درصد رسید که نشان‌دهنده عدم اثر مثبت در این سطح غلظت است. این نتایج حاکی از آن است که غلظت‌های پایین‌تر از یک حد مشخص، برای مهارت مؤثر رشد باکتری کافی نیستند. در مورد اسانس دارچین نیز الگوی مشابهی مشاهده شد؛ به طوری که در غلظت‌های بالا، میزان مهارت به ۹۹/۴۹ درصد رسید، اما با کاهش غلظت، اثر آن نیز افت کرده و در غلظت ۰/۳۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر، درصد مهارت به ۶۵- درصد کاهش یافت.

جدول ۴: اثرات ضدباکتریایی (درصد مهار رشد) نانومولسیون و اسانس دارچین بر *Aeromonas hydrophila*

اسانس دارچین		نانومولسیون دارچین		غلظت ($\mu\text{g/ml}$)
درصد مهار رشد	جذب نوری	درصد مهار رشد	جذب نوری	
۹۹/۴۹	۰/۰۲۵	۹۹/۷۵	۰/۰۱۲	۲۵
۹۸/۸۷	۰/۰۵۵	۹۹/۵۱	۰/۰۲۴	۱۲/۵
۹۸/۱۶	۰/۰۹	۹۸/۴۸	۰/۰۷۴	۶/۲۵
۶۵/۰۶	۱/۷۰	۹۸/۱۲	۰/۰۹۲	۳/۱۲
۴۶/۶۴	۲/۶۰	۶۲/۶۶	۱/۸۲	۱/۵۶
۱۳/۷۷	۴/۲۰	۲۶/۳۱	۳/۵۹	۰/۷۸
-۶۵	۸/۰۱	-۴۴.۹۵	۷/۰۵	۰/۳۹

باکتری است. اسانس دارچین نیز در همین غلظت میزان مهار ۹۷/۳۸ درصد را ثبت کرد. در غلظت‌های پایین‌تر (۰/۷۸ و ۰/۳۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، اثر مهاری قابل توجهی مشاهده نشد و حتی در برخی موارد درصدهای منفی مهار گزارش گردید. این نتایج نشان می‌دهد که برای دستیابی به اثرات ضدباکتریایی مؤثر، استفاده از غلظت‌های بالاتر ضروری است.

بر اساس نتایج ارائه‌شده در جدول (۵)، آزمایش مهار رشد باکتری *Escherichia coli* با استفاده از نانومولسیون و اسانس دارچین در غلظت‌های مختلف نشان داد که هر دو ترکیب اثر قابل توجهی بر این باکتری دارند. در غلظت ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، نانومولسیون دارچین توانست ۹۹/۶۶ درصد رشد باکتری را مهار کند که بیانگر کارایی بسیار بالای آن در جلوگیری از تکثیر

جدول ۵- اثرات ضدباکتریایی (درصد مهار رشد) نانومولسیون و اسانس دارچین بر *Escherichia coli*

اسانس دارچین		نانومولسیون دارچین		غلظت ($\mu\text{g/ml}$)
درصد مهار رشد	جذب نوری	درصد مهار رشد	جذب نوری	
۹۷/۳۱	۰/۱۴	۹۹/۶۶	۰/۰۱۸	۲۵
۹۵/۸۱	۰/۲۲۳	۹۹/۳۴	۰/۰۳۵	۱۲/۵
۸۶/۰۶	۰/۷۴۳	۹۸/۷۰	۰/۰۶۹	۶/۲۵
۵۱/۴۱	۲/۵۹	۷۴/۴۸	۱/۳۶	۳/۱۲
۳/۷۷	۵/۱۳	۴۹/۷۷	۲/۶۸	۱/۵۶
-۳۹/۵۳	۷/۴۴	۰/۷۷	۵/۲۹	۰/۷۸
-۵۲/۰۲	۸/۱۱	-۱۵/۹۳	۶/۱۸	۰/۳۹

شد. این یافته‌ها بیانگر کارایی بالای این ترکیبات در مهار رشد باکتری در غلظت‌های بالا است. با کاهش غلظت، میزان مهار نیز به صورت تدریجی کاهش یافت؛ به گونه‌ای که در غلظت‌های پایین‌تر (مانند ۰/۳۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، درصد مهار به مقادیر منفی رسید. این امر نشان می‌دهد که در غلظت‌های بسیار پایین، ممکن است اثر مهاری قابل ملاحظه‌ای مشاهده نشود یا حتی اثرات منفی بر رشد باکتری بروز کند.

بر اساس داده‌های ارائه شده در جدول (۶)، نانوامولسیون و اسانس دارچین اثر مهاری قابل توجهی بر رشد باکتری *Pseudomonas putida* نشان دادند، هرچند میزان این اثر در مقایسه با سایر باکتری‌های مورد بررسی در این مطالعه نسبتاً کمتر بود. در بیشترین غلظت آزمون‌شده (۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، میزان مهار رشد به حداکثر مقدار خود رسید و به ترتیب برابر با ۹۹/۸۰ درصد برای نانوامولسیون و ۸۷/۳۳ درصد برای اسانس دارچین ثبت

جدول ۶- اثرات ضدباکتریایی (درصد مهار رشد) نانوامولسیون و اسانس دارچین بر *Pseudomonas putida*

اسانس دارچین		نانوامولسیون دارچین		غلظت (μg/ml)
درصد مهار رشد	جذب نوری	درصد مهار رشد	جذب نوری	
۸۷/۳۳	۰/۸۸	۹۹/۸۰	۰/۰۱۴	۲۵
۸۵/۱۲	۱/۰۳۳	۹۹/۱۲	۰/۰۶۱	۱۲/۵
۷۶/۲۴	۱/۶۵	۹۹/۰۶	۰/۰۷۴	۶/۲۵
۳۹/۹۷	۴/۱۸	۸۴/۹۱	۱/۰۵	۳/۱۲
۲۲/۹۴	۵/۳۵	۷۰/۱۴	۲/۰۷	۱/۵۶
۲/۵۳	۶/۷۷	۴۱/۱۱	۴/۰۸	۰/۷۸
-۱۲/۴۳	۷/۸۱	۱۵/۴۶	۸/۰۲	۰/۳۹

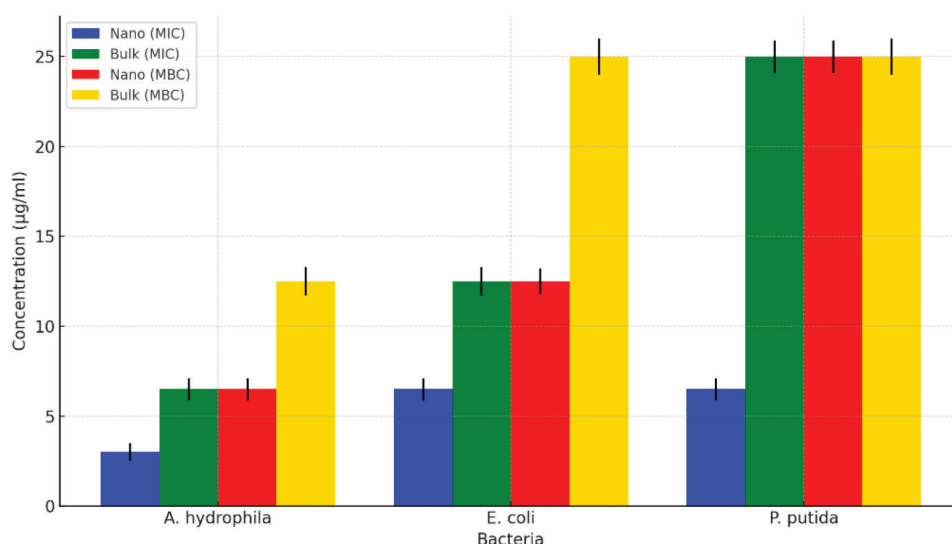
به دیواره سلولی باکتری و گسترش سطح تماس بین باکتری و ترکیبات فعال، موجب تقویت اثر مهاری می‌شود. به‌طور مشخص، در مورد *Aeromonas hydrophila* نانوامولسیون دارچین در هر دو شاخص بازدارندگی و کشندگی حدود سه برابر اثربخش‌تر از اسانس خالص عمل کرد. گونه *Escherichia coli* در مقایسه با سایر باکتری‌ها مقاومت بیشتری نشان داد، با این حال، نانوامولسیون همچنان برتری معناداری در مهار رشد آن داشت. در خصوص *Pseudomonas putida* نیز نانوامولسیون دارچین حدود دو برابر قدرت بیشتری در نابودی باکتری نسبت به اسانس خالص نشان داد.

نتایج حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی اسانس و نانوامولسیون اسانس دارچین

بر اساس داده‌های جدول (۷) و شکل (۳)، مقادیر حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس دارچین و نانوامولسیون آن در برابر سه گونه باکتری مورد بررسی، مقایسه گردید. نتایج نشان داد که نانوامولسیون در تمامی موارد، فعالیت ضدباکتریایی بالاتری نسبت به اسانس خالص دارچین از خود بروز داد. کاهش چشمگیر مقادیر MIC و MBC در نانوامولسیون احتمالاً ناشی از اندازه نانومتری ذرات است که با افزایش نفوذپذیری

جدول ۷- حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس دارچین و نانومولسیون آن بر سه باکتری

<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	پارامتر
۶/۲۵	۶/۲۵	۳/۱۲	MIC (μg/ml) نانومولسیون دارچین
۲۵	۱۲/۵	۶/۲۵	MIC (μg/ml) اسانس دارچین
۲۵	۱۲/۵	۶/۲۵	MBC (μg/ml) نانومولسیون دارچین
۲۵	۲۵	۱۲/۵	MBC (μg/ml) اسانس دارچین



شکل ۳- حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس و نانومولسیون دارچین

کاهش ۱۴/۱ درصدی در مقایسه با شاهد ایجاد کرد که از نظر اثر ضد میکروبی قوی‌تر از نمک، اما ضعیف‌تر از نانومولسیون عمل کرد. استفاده از نمک تنها موجب کاهش ۲ درصدی بار میکروبی شد و کمترین اثر مهاری را در میان تیمارها داشت. گروه شاهد، بالاترین میزان بار میکروبی را نشان داد و به عنوان مبنای مقایسه در این ارزیابی مورد استفاده قرار گرفت. در نمونه‌های پوست ماهی، نانومولسیون دارچین موجب کاهش ۱۴/۳ درصدی، اسانس دارچین کاهش ۹/۵ درصدی و نمک کاهش ۲/۴ درصدی بار میکروبی نسبت به شاهد شد. در نمونه‌های آبشش، کاهش بار میکروبی به ترتیب برابر با ۹/۷ درصد برای نانومولسیون دارچین، ۶/۵

ارزیابی مقایسه‌ای اثر نانومولسیون دارچین، اسانس دارچین و نمک بر کاهش بار میکروبی آب وان و فلور میکروبی پوست و آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

بر اساس داده‌های جدول (۸)، مقایسه شمارش میکروبی آب وان و فلور میکروبی ماهی (پوست و آبشش) تحت تیمار با نانومولسیون دارچین، اسانس دارچین، نمک و نمونه شاهد (بدون تیمار) انجام شد. در نمونه‌های آب وان، نانومولسیون دارچین کمترین بار میکروبی را نشان داد که معادل کاهش ۲۶/۴ درصدی نسبت به گروه شاهد بود. اسانس دارچین نیز

پوست ماهی، اثربخشی بیشتری نسبت به نانوامولسیون داشت. نمک کمترین اثر مهاری را در تمام نمونه‌ها داشت که بیانگر محدودیت آن در کنترل رشد میکروارگانیسم‌ها است. نمونه شاهد (بدون تیمار) همواره بالاترین بار میکروبی را در تمامی گروه‌ها نشان داد که این امر، اثربخشی مثبت تیمارهای آزمایش شده را تأیید می‌کند.

درصد برای اسانس دارچین و ۱/۶ درصد برای نمک ثبت گردید. بر این اساس، می‌توان نتیجه گرفت که نانوامولسیون دارچین بیشترین اثر ضد میکروبی را در آب وان نشان داد، در حالی که در برخی موارد، اسانس دارچین در کاهش بار میکروبی پوست و آبشش عملکرد بهتری داشت. به طور کلی، اسانس دارچین اثر ضد میکروبی متوسطی از خود نشان داد و در

جدول ۸- مقایسه شمارش میکروبی آب وان و فلور ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت تیمار با نانوامولسیون دارچین، اسانس دارچین، نمک و فاقد تیمار (میانگین \pm انحراف معیار (SD) و خطای استاندارد (SE) برای هر تیمار).

تیمار	نانوامولسیون دارچین	اسانس دارچین	نمک	شاهد (بدون تیمار)
آب	$1/2 \times 10^2 \pm 8/66$ (۵/۰۰) ۲۶/۴ درصد کاهش	$1/4 \times 10^2 \pm 10/00$ (۵/۷۷) ۱۴/۱ درصد کاهش	$1/6 \times 10^2 \pm 12/91$ (۷/۴۵) ۲/۰ درصد کاهش	$1/63 \times 10^2 \pm 15/28$ (۸/۸۰)
پوست	$1/8 \times 10^2 \pm 10/00$ (۵/۷۷) ۱۴/۳ درصد کاهش	$1/9 \times 10^2 \pm 8/66$ (۵/۰۰) ۹/۵ درصد کاهش	$2/05 \times 10^2 \pm 7/64$ (۴/۴۱) ۲/۴ درصد کاهش	$2/10 \times 10^2 \pm 10/00$ (۵/۷۷)
آبشش	$2/8 \times 10^2 \pm 12/91$ (۷/۴۵) ۹/۷ درصد کاهش	$2/9 \times 10^2 \pm 10/00$ (۵/۷۷) ۶/۵ درصد کاهش	$3/05 \times 10^2 \pm 7/64$ (۴/۴۱) ۱/۶ درصد کاهش	$3/10 \times 10^2 \pm 12/91$ (۷/۴۵)

بحث

فساد میکروبی و آلودگی‌های باکتریایی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، یکی از چالش‌های اصلی صنعت آبزی پروری محسوب می‌شود، چرا که نه تنها باعث کاهش کیفیت و ارزش غذایی محصول نهایی می‌شود، بلکه ماندگاری ماهی را نیز به شدت کاهش داده و خطر انتقال بیماری‌های مشترک بین انسان و دام را افزایش می‌دهد (۴). باکتری‌های فلور طبیعی ماهی و عوامل بیماری‌زای فرصت‌طلب مانند *Aeromonas hydrophila* و *Pseudomonas spp* از مهم‌ترین عوامل فساد و آلودگی در مزارع پرورش قزل‌آلا هستند (۴). استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی برای کنترل این آلودگی‌ها نه تنها منجر به بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی شده، بلکه باقیمانده‌های دارویی در گوشت ماهی می‌توانند تهدیدی جدی برای سلامت مصرف‌کنندگان باشند. از این

رو، جایگزینی این ترکیبات مصنوعی با مواد طبیعی و ایمن مانند اسانس‌های گیاهی به‌ویژه اسانس دارچین با خواص ضدباکتریایی قوی هستند، می‌تواند راهکار مناسبی برای کنترل پایدار آلودگی‌های میکروبی باشد (۸). در تحقیق حاضر، بیشترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس دارچین به ترتیب شامل: سینامیک آلدهید (۸۲/۱۵۷ درصد)، اوژنول (۴/۵۹۸ درصد)، پی - سینئول (۳/۰۵۶ درصد) و کامفن (۲/۵۲۱ درصد) بودند. ترکیب سینامیک آلدهید به عنوان جزء اصلی اسانس دارچین تأیید شده که مسئول رایحه و خواص ضد میکروبی این اسانس است. در پژوهش والی زاده و همکاران (۲۰۱۵)، سینامیک آلدهید و اوژنول به عنوان اجزای اصلی اسانس دارچین معرفی شدند که با پژوهش حاضر مطابقت دارد (۱۶). در مطالعه دیگری، مقدار سینامیک آلدهید را به عنوان ترکیب غالب اسانس دارچین ۸۵ درصد گزارش کردند که با مقدار ۸۲/۱۵۷٪ در مطالعه حاضر کاملاً

اسانس‌های سنتی که به صورت مایع و در اندازه‌های بزرگ‌تر هستند، قوی‌تر باشد. این سطح تماس بیشتر می‌تواند به جذب سریع‌تر مولکول‌های فعال دارچین به سطح سلول‌های باکتریایی و ایجاد اثرات ضدباکتریایی مؤثرتر کمک کند. از آنجا که نانومولسیون‌ها معمولاً قابلیت نفوذ بالاتری دارند، مواد فعال موجود در نانومولسیون می‌توانند به راحتی به داخل سلول‌های باکتری نفوذ کنند و به بخش‌های حساس سلول آسیب برسانند. نانومولسیون‌ها به طور معمول باعث حل شدن بهتر ترکیبات فعال در مایعات می‌شوند. این ویژگی به نانومولسیون‌ها اجازه می‌دهد که ترکیبات فعال دارچین مانند سینامالدئید و ترکیبات فنولی دیگر را به صورت مؤثرتر و با غلظت بالاتری در اختیار باکتری‌ها قرار دهند. این امر باعث می‌شود که اثر ضدباکتریایی آن‌ها به‌طور قابل توجهی بیشتر از اسانس‌های معمولی باشد (۲۰، ۲۱). کوزیانگ و همکاران (۲۰۲۱)، بررسی تأثیر نانومولسیون اسانس دارچین بر فیله ماهی آسیایی در دمای یخچال بررسی کردند. کاهش 10^5 تا $10^8 \log CFU/g$ در شمارش *Escherichia coli* و سایر باکتری‌ها در مقایسه با نمونه کنترل مشاهده شد. در تحقیق ایشان، نانومولسیون عملکرد بهتری نسبت به اسانس خالص و هیپوکلریت سدیم داشت (۲۲). نانوکپسول‌ها به طور مؤثری باعث افزایش پایداری ترکیبات فعال در اسانس دارچین شدند. اسانس دارچین به تنهایی و همچنین به صورت نانوکپسوله‌شده، اثرات ضد میکروبی قابل توجهی در برابر باکتری‌های مورد آزمایش داشت. اما نانوکپسول‌های اسانس دارچین نسبت به اسانس غیر نانوکپسوله‌شده، فعالیت ضد میکروبی بهتری نشان دادند که نتایج تحقیق ایشان با تحقیق حاضر همخوانی دارد. نانوکپسوله کردن اسانس دارچین موجب بهبود قابلیت نگهداری ترکیبات فعال اسانس، می‌شود که اثرات ضد میکروبی اصلی آن را فراهم می‌کند. در پژوهش والی زاده و همکاران (۲۰۱۸)، مقایسه‌ای بین اثرات ضد میکروبی اسانس خام و نانومولسیون دارچین انجام شد. اسانس دارچین، فعالیت ضد میکروبی قابل توجهی در برابر باکتری‌ها از جمله *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* نشان داد. در این فرم، ترکیبات فعال اسانس دارچین مانند سینامیک آلدئید و سایر ترکیبات فرار مستقیماً با باکتری‌ها در تماس هستند، اما به دلیل نبود یک سیستم انتقال مناسب و عدم پایداری طولانی‌مدت،

هم راستا است (۱۷). هانگ و همکاران (۲۰۱۹)، نیز سینامیک آلدئید را ترکیب غالب اسانس دارچین معرفی نمودند (۱۸). شواهد حاصل از بررسی‌ها حاکی از آن است که اوژنول و سینامیک آلدئید با ایجاد اثرات هم‌افزایی، مهار قابل توجهی بر رشد *Escherichia coli* دارند (۱۹). تغییرات جزئی در درصد ترکیبات اسانس را می‌توان به عواملی نظیر روش استخراج، شرایط محیطی آزمایش، گونه دارچین مصرفی و شرایط اقلیمی محل رویش گیاه نسبت داد. تحلیل نتایج مقایسه میانگین بار میکروبی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و آب استخر، پیش و پس از تیمار با نانومولسیون دارچین، اسانس دارچین و نمک، نشان داد که نانومولسیون دارچین در غلظت ۲۵ ppm مؤثرترین تیمار ضد میکروبی بوده و در هر سه بخش مورد بررسی (آب استخر، پوست و آبشش) بیشترین کاهش بار میکروبی را ایجاد کرده است؛ به‌گونه‌ای که کاهش $2.6/4\%$ در آب استخر، $1.4/3\%$ در پوست و $9/7\%$ در آبشش مؤید اثربخشی بالای این ترکیب است. اسانس دارچین نیز عملکرد ضد میکروبی قابل قبولی از خود نشان داد، اما اثر آن نسبت به نانومولسیون دارچین کمتر بود؛ به‌طوری که میزان کاهش بار میکروبی در بخش‌های مختلف بین $6/5\%$ تا $14/1\%$ متغیر بود. در مقابل، نمک کمترین تأثیر را داشته و تنها موجب کاهش جزئی در بار میکروبی شد (در حدود $1/6\%$ تا $2/4\%$). بر این اساس، نانومولسیون دارچین به‌عنوان یک تیمار نوین، از پتانسیل بالایی در کاهش بار میکروبی آب وان برخوردار است، در حالی که اسانس دارچین ممکن است گزینه مناسب‌تری برای کاهش آلودگی سطحی پوست ماهی باشد. با توجه به اثر محدود نمک، استفاده از آن به‌تنهایی برای کنترل میکروبی توصیه نمی‌شود. نانومولسیون‌ها به دلیل ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاص خود در مقایسه با اسانس‌های سنتی معمولاً اثربخشی بیشتری در برابر باکتری‌ها دارند. نانومولسیون‌ها ذراتی با اندازه میکروسکوپی یا نانو دارند که ویژگی‌های خاصی به آن‌ها می‌دهد. از دلایل اثربخشی بیشتر نانومولسیون دارچین می‌توان به افزایش سطح تماس، نفوذ بهتر به سلول‌های باکتریایی، محلول‌سازی بهتر مواد فعال و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نانوذرات اشاره کرد. نانومولسیون‌ها به دلیل مقیاس نانو، سطح تماس بیشتری با باکتری‌ها دارند. این ویژگی باعث می‌شود که اثر ضدباکتریایی آن‌ها در مقایسه با

اثر ضد میکروبی آن محدود بوده و در مدت زمان طولانی‌تر کاهش یافت. نانومولسیون‌ها به دلیل اندازه ذرات کوچک‌تر و سطح تماس بیشتر با پاتوژن‌ها، می‌توانند ترکیبات فعال موجود در اسانس دارچین را به شکل مؤثرتری به سطح باکتری‌ها منتقل کرده و به این ترتیب اثر ضد میکروبی بهتری ایجاد کنند. نانومولسیون‌ها به دلیل ساختار پایدارتر و توزیع یکنواخت‌تر ترکیبات فعال، می‌توانند پایداری بیشتری نسبت به اسانس خام داشته باشند، که این ویژگی به حفظ اثرات ضد میکروبی در طول زمان کمک می‌کند. ترکیبات فعال در نانومولسیون دارچین مانند سینامیک آلدئید می‌توانند به غشای لیپیدی سلول‌های باکتریایی آسیب برسانند و آسیب به غشا باعث نشت مواد درون سلولی و تغییر در فعالیت‌های متابولیک باکتری‌ها و عدم تعادل یونی، نشت پروتئین‌ها و مرگ سلول‌های باکتریایی شود. از سوی دیگر، ترکیبات فنولی موجود در دارچین به‌ویژه سینامیک آلدئید و اسید سینامیک خواص آنتی‌اکسیدانی داشته که موجب تولید رادیکال‌های آزاد در محیط سلولی باکتری می‌شوند. رادیکال‌های آزاد به ساختارهای مختلف سلول باکتری از جمله DNA، پروتئین‌ها و لیپیدها آسیب رسانده و باعث اختلال در عملکردهای سلولی و مرگ باکتری‌ها می‌شوند (۲۳، ۲۴). باندریا و همکاران (۲۰۲۲)، کاربردهای اسانس دارچین را در آبی‌پروری بررسی نموده و بیان کردند که اسانس دارچین به‌ویژه علیه باکتری‌های بیماری‌زای رایج در آبی‌پروری مانند *Aeromonas hydrophila* و *Vibrio spp* و *Pseudomonas* مؤثر است (۲۵). نتایج این پژوهش هم راستا با تحقیق حاضر، کاهش معنادار بار باکتریایی در آب استخرها و بافت‌های ماهی (پوست، آبشش، و روده) را نشان داد. در پژوهش مشابهی، کاربرد اسانس‌های گیاهی به عنوان جایگزین پایدار برای کنترل انگل‌ها و باکتری‌ها در آبی‌پروری پرداخته شده است. اثرات ضد انگلی اسانس‌های گیاهی اوکالیپتوس، سیر، و میخک علیه انگل‌های رایج آبی‌پروری و ضد باکتریایی علیه باکتری‌های بیماری‌زای آبیان مانند *Aeromonas hydrophila*، *Vibrio parahaemolyticus* مشخص گردید (۲۶). در پژوهش دیگری فعالیت ضد میکروبی سه اسانس گیاهی را بر باکتری‌های بیماری‌زای شایع در تیلاپیا شامل *Streptococcus*، *Aeromonas hydrophila*

اثر ضد میکروبی آن محدود بوده و در مدت زمان طولانی‌تر کاهش یافت. نانومولسیون‌ها به دلیل اندازه ذرات کوچک‌تر و سطح تماس بیشتر با پاتوژن‌ها، می‌توانند ترکیبات فعال موجود در اسانس دارچین را به شکل مؤثرتری به سطح باکتری‌ها منتقل کرده و به این ترتیب اثر ضد میکروبی بهتری ایجاد کنند. نانومولسیون‌ها به دلیل ساختار پایدارتر و توزیع یکنواخت‌تر ترکیبات فعال، می‌توانند پایداری بیشتری نسبت به اسانس خام داشته باشند، که این ویژگی به حفظ اثرات ضد میکروبی در طول زمان کمک می‌کند. ترکیبات فعال در نانومولسیون دارچین مانند سینامیک آلدئید می‌توانند به غشای لیپیدی سلول‌های باکتریایی آسیب برسانند و آسیب به غشا باعث نشت مواد درون سلولی و تغییر در فعالیت‌های متابولیک باکتری‌ها و عدم تعادل یونی، نشت پروتئین‌ها و مرگ سلول‌های باکتریایی شود. از سوی دیگر، ترکیبات فنولی موجود در دارچین به‌ویژه سینامیک آلدئید و اسید سینامیک خواص آنتی‌اکسیدانی داشته که موجب تولید رادیکال‌های آزاد در محیط سلولی باکتری می‌شوند. رادیکال‌های آزاد به ساختارهای مختلف سلول باکتری از جمله DNA، پروتئین‌ها و لیپیدها آسیب رسانده و باعث اختلال در عملکردهای سلولی و مرگ باکتری‌ها می‌شوند (۲۳، ۲۴). باندریا و همکاران (۲۰۲۲)، کاربردهای اسانس دارچین را در آبی‌پروری بررسی نموده و بیان کردند که اسانس دارچین به‌ویژه علیه باکتری‌های بیماری‌زای رایج در آبی‌پروری مانند *Aeromonas hydrophila* و *Vibrio spp* و *Pseudomonas* مؤثر است (۲۵). نتایج این پژوهش هم راستا با تحقیق حاضر، کاهش معنادار بار باکتریایی در آب استخرها و بافت‌های ماهی (پوست، آبشش، و روده) را نشان داد. در پژوهش مشابهی، کاربرد اسانس‌های گیاهی به عنوان جایگزین پایدار برای کنترل انگل‌ها و باکتری‌ها در آبی‌پروری پرداخته شده است. اثرات ضد انگلی اسانس‌های گیاهی اوکالیپتوس، سیر، و میخک علیه انگل‌های رایج آبی‌پروری و ضد باکتریایی علیه باکتری‌های بیماری‌زای آبیان مانند *Aeromonas hydrophila*، *Vibrio parahaemolyticus* مشخص گردید (۲۶). در پژوهش دیگری فعالیت ضد میکروبی سه اسانس گیاهی را بر باکتری‌های بیماری‌زای شایع در تیلاپیا شامل *Streptococcus*، *Aeromonas hydrophila*

نتیجه‌گیری کلی

نانومولسیون دارچین با غلظت ۲۵ ppm نسبت به اسانس دارچین و نمک با همان غلظت، عملکرد به‌متراب بهتری در کاهش بار میکروبی آب وان و فلور ماهی (پوست و آبشش) نشان داده است. این نشان می‌دهد که فرمولاسیون نانومولسیون باعث افزایش دسترسی زیستی و پایداری ترکیبات فعال دارچین شده و اثربخشی ضد میکروبی آن را به‌طور قابل توجهی افزایش داده است. بنابراین، استفاده از نانومولسیون دارچین می‌تواند به عنوان یک گزینه مؤثر و نوین در بهبود بهداشت و ایمنی محصولات آبی‌پرورش پیشنهاد گردد.

سپاسگزاری

این مقاله با همکاری مرکز تحقیقات ایمن سازی مواد غذایی و کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان انجام شده است. بدینوسیله نویسندگان از همه افرادی که یاری نموده‌اند سپاسگزاری می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌نمایند که در این پژوهش هیچ‌گونه تعارض منافی ندارند.

منابع مورد استفاده

1. Pathirana H, Wimalasena S, De Silva B, Hos-sain S, Heo G. Antibacterial activity of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) essential oil and cinnamaldehyde against fish pathogenic bacteria isolated from cultured olive flounder *Paralichthys olivaceus*. Indian J. Fish. 2019;66(2):86-92.
2. Bahurmiz OM, Ahmad R, Ismail N, Adzitey F, Sulaiman S-F. Antimicrobial activity of selected essential oils on *Pseudomonas* species associated with spoilage of fish with emphasis on cinnamon essential oil. J. Aquat. Food Prod. Technol. 2020;29(8):789-800.
3. Serio A, Fusella GC, López CC, Sacchetti G, Paparella A. A survey on bacteria isolated as hydrogen sulfide-producers from marine fish. Food Control. 2014;39:111-8.
4. Du G, Gai Y, Zhou H, Fu S, Zhang D. Assessment of spoilage microbiota of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during storage by 16S rDNA sequencing. J. Food Qual. 2022;2022(1):5367984.
5. Alak G, Kara A, Akköse A, Gelen SU, Tanas ŞT, Uçar A, et al. Effect of climate change on fillet quality and shelf-life of *Oncorhynchus mykiss* under controlled conditions. J. Sci. Food Agric. 2024;104(3):1511-20.
6. Zhu Y, Wang W, Li M, Zhang J, Ji L, Zhao Z, et al. Microbial diversity of meat products under spoilage and its controlling approaches. Front. Nutr. 2022;9:1078201.
7. Hanan E, Dar AH, Shams R, Goksen G. New insights into essential oil nano emulsions loaded natural biopolymers recent development, formulation, characterization and packaging applications: A comprehensive review. Int. J. Biol. Macromol. 2024;135751.
8. Arul Raj JS, Aliyas S, Poomany Arul Soundara Rajan YA, Murugan K, Karuppiah P, Arumugam N, et al. Spontaneous nanoemulsification of cinnamon essential oil: Formulation, characterization, and antibacterial and antibiofilm activity against fish spoilage caused by *Serratia rubidaea* BFMO8. Biotechnol. Appl. Biochem. 2024;71(3):512-24.
9. Rossi LE, Júlio AA, Vanetti MC, de Alencar ER, de Oliveira JM, Dutra JP, Machado SG. Cinnamon essential oil and nanoemulsions for inhibiting *Pseudomonas paracarnis* and pigment production in fresh cheese. Food Bioproc. Tech. 202;18(6):5479-96.
10. Aksoy A, Sezer Ç, Atasever M, Çetinkaya A, Gulbaz G. Determination of microbiological quality and histamine levels in rainbow trouts (*Oncorhynchus mykiss*). J. Hellenic Vet. Med. Soc. 2021; 72(4): 3321-3328.
11. Chen J-Q, Healey S, Regan P, Laksanalamai P, Hu Z. PCR-based methodologies for detection and characterization of *Listeria monocytogenes* and *Listeria ivanovii* in foods and environmental sources. Food Sci Hum Well. 2017;6(2):39-59.
12. Mehrotra M, Wang G, Johnson WM. Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, and methicillin resistance. J. Clin. Microbiol. 2000;38(3):1032-5.
13. Li X, Luo Q, Yu X, Zhang Y, Cao X, Li D. Diversity of virulence genes in multidrug resistant *Escherichia coli* from a hospital in western China. Infect Drug Resist. 2019:3817-26.
14. Hayouni EA, Bouix M, Abedrabba M, Le-

- veau J-Y, Hamdi M. Mechanism of action of *Melaleuca armillaris* (Sol. Ex Gaertu) Sm. essential oil on six LAB strains as assessed by multiparametric flow cytometry and automated microtiter-based assay. *Food Chem.* 2008;111(3):707-18.
15. Asgharpour F, Moghadamnia AA, Zabihi E, Kazemi S, Ebrahimzadeh Namvar A, Gholinia H, Motallebnejad M, Nouri HR. Iranian propolis efficiently inhibits growth of oral streptococci and cancer cell lines. *BMC Complement Altern Med.* 2019;19(1):266.
16. Valizadeh A, Shirzad M, Esmaeili F, Amani A. Increased antibacterial activity of cinnamon oil microemulsion in comparison with cinnamon oil bulk and nanoemulsion. *Nanomed Res J.* 2018;3(1):37-43.
17. Kamaliroosta L, Gharachorloo M, Kamaliroosta Z, Alimohammad Zadeh K. Extraction of cinnamon essential oil and identification of its chemical compounds. *J. Med. Plants Res.* 609-614 :(4)6;2012.
18. Huang Z, Jia S, Zhang L, Liu X, Luo Y. Inhibitory effects and membrane damage caused to fish spoilage bacteria by cinnamon bark (*Cinnamomum tamala*) oil. *LWT.* 2019;112:108195.
19. Pei Rs, Zhou F, Ji Bp, Xu J. Evaluation of combined antibacterial effects of eugenol, cinnamaldehyde, thymol, and carvacrol against *E. coli* with an improved method. *J. Food Sci.* 2009;74(7):M379-M83.
20. Pathania R, Kaushik R, Khan MA. Essential oil nanoemulsions and their antimicrobial and food applications. *Curr. Res. Nutr. Food Sci.* 2018;6(3):626-43.
21. Brito GS, Dutra RP, Pereira ALF, Ferreira AGN, Neto MS, Holanda CA, et al. Nanoemulsions of essential oils against multi-resistant microorganisms: An integrative review. *Microb. Pathog.* 2024:106837.
22. Chuesiang P, Sanguandeeikul R, Siripatrawan U. Enhancing effect of nanoemulsion on antimicrobial activity of cinnamon essential oil against foodborne pathogens in refrigerated Asian seabass (*Lates calcarife*) fillets. *Food Control.* 2021;122:107782.
23. Zhao D, Ma Y, Wang W, Xiang Q. Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil nanoemulsion against *Pseudomonas deceptionensis* CM2. *Heliyon.* 2023;9.
24. Vasconcelos N, Croda J, Simionatto S. Antibacterial mechanisms of cinnamon and its constituents: A review. *Microb. Pathog.* 2018;120:198-203.
25. Bandeira Junior G, Bianchini AE, de Freitas Souza C, Descovi SN, da Silva Fernandes L, de Lima Silva L, et al. The use of cinnamon essential oils in aquaculture: antibacterial, anesthetic, growth-promoting, and antioxidant effects. *Fishes.* 2022;7(3):133.
26. Dawood MA, El Basuini MF, Zaineldin AI, Yilmaz S, Hasan MT, Ahmadifar E, et al. Antiparasitic and antibacterial functionality of essential oils: An alternative approach for sustainable aquaculture. *Pathogens.* 2021;10(2):185.
27. Terrazas-Pineda KA, Alamilla-Beltrán L, Acero-Ortega CA, Damas-Espinoza JA, Calderón-Domínguez G, Mora-Escobedo R, et al. Antimicrobial activity of Cinnamon, tea tree, and Thyme essential oils against pathogenic bacteria isolated from Tilapia (*Oreochromis* spp.) in aquaculture farms. *Molecules.* 2025;30(13):2799.