اثر اسانس گیاه آویشن شیرازی بر روی میزان رشد استافیلوکوکوس ارئوس در سوپ تجارتی

افشین آخوندزاده[۱]، علی میثاقی[۲]، میرحسن موسوی[۳*]، تقی زهرایی صالحی[٤]، گیتی کریم[٥]

۱- دانشیار، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
۲- استادیار، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
۳- دستیار، بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز
٤- استاد، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
٥- استاد، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
*آدرس مکاتبه: دانشگاه تبریز، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی
صندوق‌پستی: ٥١٦٦٦١٤٧٧٩، تلفن: ٣٣٩٢٣٧٧ (٠٤١١)، نمابر: ٣٣٥٧٨٣٤ (٠٤١١)
پست الکترونیک: moosavy@tabrizu.ac.ir

تاریخ دریافت: ٨٤/١٢/١٩ **تاریخ تصویب:** ٨٥/١٠/٢٠

چکیده

مقدمه: حدود ۳۰ درصد مردم در کشورهای صنعتی حداقل یک‌بار در سال به بیماری‌هایی که از طریق مواد غذایی انتقال می‌یابد مبتلا می‌شوند. بنابراین برای کاهش یا حذف عوامل میکروبی بیماری‌زا و فساد مواد غذایی به روش‌های جدید نیاز است. یکی از این روش‌ها استفاده از اسانس‌های گیاهی به عنوان افزودنی‌های ضدمیکروبی در مواد غذایی است، اما برای کاربردی کردن مصرف اسانس‌های گیاهی به عنوان نگهدارنده در مواد غذایی، بررسی اثرات ضدمیکروبی آن‌ها به تنهایی و توام با عوامل دیگر موثر در رشد میکروارگانیسم‌های مهم مواد غذایی در مدل‌های آزمایشگاهی و غذایی ضروری است.

هدف: هدف از این تحقیق، بررسی اثر اسانس گیاه آویشن شیرازی بر روی رشد باکتری استافیلوکوکوس ارئوس در سوپ جو تجارتی در حضور غلظت‌های مختلف (۰، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ درصد) اسانس آویشن شیرازی در درجات حرارت ۸ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد در مدت ۲۱ روز بود.

نتایج: تاثیر مقادیر مختلف اسانس بر میزان رشد باکتری از نظر آماری (آنالیز واریانس) معنی‌دار ($p < ۰/۰۱$) بود و ضریب همبستگی غلظت اسانس آویشن شیرازی با لگاریتم تعداد باکتری مورد بررسی ۰/۵۸۸ - بود (با افزایش غلظت اسانس میزان رشد باکتری کاهش یافت). اثر مدت نگهداری برروی رشد باکتری نیز از نظر آماری (آنالیز واریانس) معنی‌دار ($p < ۰/۰۵$) بود. ضریب همبستگی مدت نگهداری با لگاریتم تعداد باکتری برابر با ۰/۲۰۰ - بود که نشان می‌دهد با افزایش مدت نگهداری میزان رشد باکتری کاهش می‌یابد. همچنین ضریب همبستگی دمای نگهداری با لگاریتم تعداد باکتری برابر با ۰/٤٤٩ بود. به عبارت دیگر با کاهش دمای نگهداری، رشد باکتری هم کاهش می‌یابد و تاثیر دمای نگهداری بر روی رشد باکتری و اثر تداخلی آن با غلظت‌های مختلف اسانس از نظرآماری (آنالیز واریانس) نیز معنی‌دار ($p < ۰/۰۱$) بود.

نتیجه‌گیری: نتایج حاکی از آن است که اسانس گیاه آویشن شیرازی می‌تواند به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در برخی از مواد غذایی مدنظر قرار گیرد.

گل واژگان: اسانس آویشن شیرازی، استافیلوکوکوس ارئوس، نگهدارنده طبیعی

www.SID.ir

مقدمه

اسانس‌های گیاهی[1] از مهمترین نگهدارنده‌های طبیعی محسوب می‌شوند. این مواد از اندام‌های مختلف گیاهان نظیر دانه، ریشه، جوانه، پوست، شاخه، برگ، غنچه و گل به دست می‌آیند. اسانس‌های گیاهی را روغن‌های اتری یا فرار نیز می‌گویند. روش تقطیر با بخار داغ[2] معمول‌ترین روش تجارتی جهت تهیه این اسانس‌ها است [۱]. حدود ۳۰۰ نوع اسانس گیاهی شناخته شده وجود دارد که تقریباً ۳۰ نوع از آن‌ها اهمیت تجارتی دارند، و عمدتاً به منظور ایجاد عطر و طعم در مواد غذایی استفاده می‌شوند [۱]. مشخص شده که این مواد دارای نقش ضدمیکروبی هستند. به طور عمده ترکیبات فنلی مسؤول خواص ضدمیکروبی اسانس‌ها هستند [۱] بنابراین هر چه مقادیر مواد فنولیک در اسانس بالاتر باشد، خواص ضدمیکروبی آن‌ها بالاترخواهد بود. این مواد شامل کارواکرول[3]، اوژنول[4] و تیمول[5] هستند [۲،۱]. اسانس‌ها می‌توانند بیش از ٦۰ نوع ترکیب داشته باشند. ترکیبات اصلی ممکن است تا ۸۵ درصد اسانس را تشکیل دهند. نتیجه بعضی از بررسی‌ها نشانگر این موضوع است که اثرات آنتی‌باکتریال اسانس‌ها به صورت کامل نسبت به اثرات تک تک اجزاء بیشتر است [۱]. ترکیب اسانس‌های به دست آمده از یک گونه خاص گیاهی بر اساس جغرافیای منطقه، فصل برداشت، سن گیاه، عملیات کشاورزی، فاصله بین گیاهان کاشته شده و مرحله‌ی رشد متفاوت است. برای مثال اسانس به دست آمده ازگیاه جوان به مراتب بیشتر از گیاه مسن است. همچنین بررسی‌ها نشان می‌دهد که در آویشن حداکثر میزان تیمول در شروع گل‌دهی، در گیاهانی بود که با فاصله‌ی ٤۵ سانتی‌متری از یکدیگر کشت شده بودند. به طور کلی اسانس در گیاه در طی گل‌دهی و یا بلافاصله پس از گل‌دهی دارای قوی‌ترین فعالیت ضدمیکروبی است.

ترکیب اسانس به دست آمده از بخش‌های مختلف یک گیاه خاص نیز می‌تواند به طور قابل ملاحظه‌ای متفاوت باشد [۱،۳،٤،۵].

گیاه آویشن شیرازی می‌تواند به عنوان طعم‌دهنده و نگهدارنده در مواد غذایی استفاده شود. برای کاربردی کردن مصرف اسانس‌های گیاهی به عنوان نگهدارنده در مواد غذایی، بررسی اثرات ضدمیکروبی آن‌ها به تنهایی و توام با عوامل دیگر موثر (مانند درجه حرارت نگهداری، pH و غیره) در رشد پاتوژن‌های منتقله از مواد غذایی[1] و میگروارگانیسم‌های عامل فساد مواد غذایی در مدل‌های آزمایشگاهی و مدل‌های غذایی ضروری است [٦،۷].

استافیلوکوکوس ارئوس، یک باکتری گرم مثبت، کاتالاز مثبت و دارای متابولیسم کربوهیدراتی اکسیداتیداتیو - فرمانتاتیو است [۸،۹]. التهاب معده‌ای – روده‌ای استافیلوکوکی به علت مصرف ماده غذایی که حاوی یک یا چند نوع آنتروتوکسین است ایجاد می‌گردد [۱۰]. مسمومیت غذایی استافیلوکوکی از مهم‌ترین مسمومیت غذایی به شمار می‌آید به گونه‌ای‌که ازمجموع حدود ۲٤ میلیون مورد مسمومیت غذایی گزارش شده در کشور ایالات متحده امریکا ۸/۹ میلیون مورد آن مربوط به استافیلوکوکوس ارئوس بوده که بیش از یک سوم موارد کل مسمومیت‌های غذایی دراین کشور است [۹،۱۱]. برای تولید توکسین در مواد غذایی به 10^6 CFU/ g باکتری نیاز است [۱۲].

در این تحقیق، اثرات اسانس آویشن شیرازی، درجه حرارت و مدت زمان نگهداری بر روی رشد استافیلوکوکوس ارئوس در سوپ جو تجارتی در حضور غلظت‌های مختلف (۰، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ درصد) اسانس آویشن شیرازی در طی ۲۱ روز نگهداری در درجات حرارت ۸ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد بررسی شد.

مواد و روش‌ها

طرح بررسی

بررسی اثر اسانس آویشن شیرازی بر روی رشد استافیلوکوکوس ارئوس در سوپ جو تجارتی در حضور غلظت‌های مختلف (۰، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ درصد) اسانس آویشن شیرازی (این غلظت‌ها بر اساس آزمایش‌های قبلی اثر بازدارندگی اسانس بر روی باکتری مورد نظر در مدل

[1] Essential oils (Eos)
[2] Steam distilation
[3] Carvacrol
[4] Eugenol
[5] Thymol

[1] Foodborne Pathogens

Archive of SID
www.SID.ir

آزمایشگاهی آبگوشت قلب و مغز و آزمایشات ارگانولپتیکی به دست آمد) [۱۳]. در درجات حرارت ۸ درجه سانتی‌گراد (درجه حرارت یخچالی نامطلوب) و ۲۵ درجه سانتی‌گراد (درجه حرارت محیطی) در مدت ۲۱ روز انجام شد.

تهیه و ترکیب اسانس

گیاه آویشن شیرازی در فصل تابستان از استان فارس جمع‌آوری گردید و توسط پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی نام علمی آن تایید شد. اسانس از سرشاخه‌های گیاه به روش تقطیر با بخار داغ تهیه و توسط دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف نگار جرمی[1] (GC-MS) آنالیز گردید. دستگاه GC-MS مورد استفاده از نوع Thermoquest Finnigan با ستون مویینه به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر با برنامه دمایی ۵۰ تا ۲۶۵ درجه سانتی‌گراد با افزایش تدریجی ۲/۵ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه و نگهداری ستون در ۲۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه بود. دمای محفظه تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد، سرعت گاز هلیم ۱/۵ میلی‌لیتر در دقیقه، انرژی یونیزاسیون شناساگر EI ۷۰ الکترون ولت و دمای منبع یونیزاسیون ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود.

ارگانیسم مورد بررسی

باکتری مورد استفاده در این بررسی استافیلوکوکوس ارئوس ATCC 25923 بود که کشت لیوفیلیزه آن بعد از انتقال به محیط آبگوشت قلب و مغز در ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت دو مرتبه به طور متوالی گرمخانه گذاری شد.

سپس کشت ۱۸ ساعته دوم به نسبت پنج به یک با گلیسرین استریل مخلوط و در قسمت‌های مساوی داخل میکروتیوب‌های اپندورف استریل در ۲۰ - درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

تهیه میزان تلقیح باکتریایی

برای تعیین میزان تلقیح باکتری مورد بررسی، کشت منجمد داخل میکروتیوب اپندورف را به محیط آبگوشت قلب و مغز منتقل نموده و دو مرتبه به طور متوالی در ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت گرمخانه گذاری شد. از کشت ۱۸ ساعته دوم، مقادیر مختلفی به لوله‌های کووت[1] حاوی ۵ میلی‌لیتر محیط آبگوشت قلب و مغز استریل اضافه شد و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر[2] جذب نوری آن‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر تعیین گردید. همزمان با عمل فوق با نمونه برداری از محتویات لوله‌های کووت شمارش باکتریایی انجام گرفت و در نهایت لوله کووت که تقریبا حاوی 10^3 باکتری در هر میلی‌لیتر بود مشخص شد. در طول انجام بررسی با استفاده ازمشخصات جذب نوری لوله کووت مذکور و انجام محاسبات ریاضی، دوز تلقیح در هر بار تلقیح به سوبسترا تعیین می‌شد [۱۳،۱۴].

آماده سازی سوبسترا

هر بسته سوپ جو تجارتی (pH=5.6) در یک لیتر آب مقطر حل گردید و اجازه داده شد به مدت بیست دقیقه در حرارت لازم بجوشد. در مرحله بعد سوپ به دست آمده در ظروف شیشه‌ای در پیچ‌دار حاوی مگنت (در هر یک به میزان ۴۰ میلی‌لیتر) پخش گردید و در اتوکلاو (۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه) استریل شد پس از استریل شدن شیشه‌های حاوی سوپ، غلظت‌های مورد نظر اسانس آویشن شیرازی به آن‌ها اضافه گردید.

تلقیح باکتری به سوبسترا

برای تلقیح باکتری به سوبسترا ابتدا باکتری که در میکروتیوب اپندرف در ۲۰ - درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شد به محیط آبگوشت قلب و مغز منتقل و در ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت نگهداری شد. گرمخانه‌گذاری با شرایط فوق مجدداً از کشت ۱۸ ساعته اول به عمل آمد. سپس با استفاده از مشخصات جذب نوری لوله کووت که مشخص کننده حدود 10^5 باکتری در هر میلی‌لیتر بود و انجام

[1] Gas Chromatography- Mass Spectrometry

[1] Cuvett

[2] Milton Roy Company, USA

Archive of SID
www.SID.ir

محاسبات ریاضی مقدار معینی از محتویات لوله کووت را برداشت نموده و به سوبسترا تلقیح می‌شد تا 10^3 باکتری در هر میلی‌لیتر سوبسترا به دست آید.

ارزیابی رشد باکتری

حالت‌های مختلف مورد بررسی در دو درجه حرارت ۸ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۱ روز نگهداری شدند و در طی این مدت رشد باکتری (زمان رسیدن تعداد باکتری تلقیح شده از[1] 10^3 CFU/ml به 10^6 CFU/ml) ۱۱ بار در روزهای ۱،۲،۳،۴،۵،۶،۹،۱۲،۱۵،۱۸ و ۲۱ از تمام حالت‌ها در شرایط استریل نمونه‌برداری انجام گرفت [۱۵] و با استفاده از لوله‌های رقت حاوی ۹ میلی‌لیتر آب پپتونه (یک در هزار) استریل سریال‌های رقت ۱۰ تایی تهیه گردید و در محیط آگار قلب و مغز به روش سطحی[2] کشت داده شد. شمارش باکتریایی پس از گرمخانه گذاری پلیت‌ها در ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انجام می‌گرفت و نتایج در فرم‌های مربوط ثبت می‌شد.

آنالیز آماری

اثر غلظت‌های مختلف اسانس، درجات حرارت نگهداری و اثرات تداخلی آن‌ها بر روی لگاریتم تعداد باکتری از آزمون آنالیز واریانس و با کمک برنامه آماری (SPSS 12.0 for Windows, SPSS) و ضریب همبستگی آن‌ها با لگاریتم تعداد باکتری نیز با کمک برنامه مذکور ارزیابی شد.

نتایج

جدول شماره ۱ نتیجه آنالیز ترکیبات اسانس آویشن شیرازی مورد استفاده در این بررسی را با استفاده از GC-MS نشان می‌دهد. همان‌گونه که درجدول مشخص است، کارواکرول با ۷۱/۱۲ درصد بیشترین ترکیب موجود در اسانس است.

تاثیرمقادیر مختلف اسانس بر میزان رشد باکتری از نظر آماری (آنالیز واریانس) معنی‌دار ($p <$ ۰/۰۱) و ضریب همبستگی غلظت اسانس آویشن شیرازی با لگاریتم تعداد باکتری مورد بررسی ۰/۵۸۸ - بود (با افزایش غلظت اسانس میزان رشد باکتری کاهش یافت). اثر مدت نگهداری بر روی رشد باکتری نیز از نظر آماری (آنالیز واریانس) معنی‌دار ($p <$ ۰/۰۵) بود و ضریب همبستگی مدت نگهداری با لگاریتم تعداد باکتری برابر با ۰/۲۰۰ - بود که نشان می‌دهد با افزایش مدت نگهداری میزان رشد باکتری کاهش می‌یابد. همچنین ضریب همبستگی دمای نگهداری با لگاریتم تعداد باکتری برابر با ۰/۴۴۹ بود. به عبارت دیگر با کاهش دمای نگهداری، رشد باکتری هم کاهش می‌یابد و تاثیر دمای نگهداری برروی رشد باکتری و اثر تداخلی آن با غلظت‌های مختلف اسانس از نظر آماری (آنالیز واریانس) نیز معنی‌دار ($p <$ ۰/۰۱) بود.

بحث

اگر چه هزاران سال است که اثر بازدارندگی ادویه‌جات، عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی شناخته شده است اما در سال‌های اخیر توجه زیادی به تاثیر عصاره‌های معطر و اسانس‌های گیاهی و یا مواد موثره این اسانس‌ها بر روی پاتوژن‌ها و میکروارگانیسم عامل فساد مواد غذایی شده است [۱۶،۱۷،۱۸].

بررسی اثر این مواد بر روی پاتوژن‌های منتقله از راه مواد غذایی مهمی نظیر سالمونلا انتریتیدس [۶،۱۹،۲۰،۲۱]، اشریشیاکولای [۲۰،۲۲]، شیگلا [۲،۲۳]، باسیلوس سرئوس [۱۸،۲۴،۲۵]، استافیلوکوکوس ارئوس [۲۰،۲۱،۲۳،۲۶،۲۷] و لیستریا مونوسیتوژنز [۴،۲۸] نشان دهنده تلاش محققان برای جایگزین کردن نگهدارنده‌های طبیعی مشتق ازمنابع گیاهی، حیوانی و میکروبی به جای نگهدارنده‌های شیمیایی است.

در این مطالعه میزان رشد استافیلوکوکوس ارئوس در سوپ تجارتی متاثر از غلظت‌های مختلف (۰، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ درصد) آویشن شیرازی در درجات حرارت ۸ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد بررسی شد. بر اساس نتایج این بررسی اثر بازدارندگی اسانس با کاهش درجه حرارت نیز به طور معنی‌دار ($p <$ ۰/۰۱) افزایش پیدا کرد. این موضوع با یافته‌های بسیاری از محققین همخوانی دارد [۸،۲۹،۳۰].

[1] Colony forming unit per gram
[2] Surface plate

Archive of SID
www.SID.ir

جدول شماره ۱- نتایج آنالیز اسانس آویشن شیرازی مورد بررسی با استفاده از GC/MS

نام ترکیب	اندیس بازدارنده	در صد
Thujene	۹۳۰	۰/۱۹
Alpha-Pinene	۹۳۷	٤/۲٦
Beta-Pinene	۹۷٦	۰/٤۳
Beta-myrcene	۹۸٥	۰/۸٥
Eucaliptol	۱۰۲٤	۳/۳۷
Gama-Terprinene	۱۰٥٥	۷/۳٤
Linalool	۱۰۹۰	۰/٦۸
Thymol methyl ether	۱۲۳٦	۰/٤۷
Carvacrol methyl ether	۱۲٤۳	۰/٤٦
Carvacrol	۱۲۹۹	۷۱/۱۲
Trans-Caryophyllen	۱٤۱۸	۰/٤۱
Globulol	۱٥۸۲	۲/۳۲
جمع	_	۹۱/۹۰

جدول شماره ۲- لگاریتم ($\log_{10}$) تعداد باکتری *استافیلوکوکوس ارئوس* در سوپ جو تجارتی متاثر از غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی در طی ۲۱ روز نگهداری در درجات حرارت مختلف

درجه حرارت (سانتی‌گراد)	غلظت اسانس (درصد)	لگاریتم ($\log_{10}$) تعداد باکتری										
		۰	۱	۲	۳	٤	٥	٦	۹	۱۲	۱٥	۱۸	۲۱
۸	۰	۳	۳/٦٦	۳/٥۱	۳/۳۸	۳/۳۷	۳/۳٦	۳/۲۷	۳	۲/۸٤	<۲		
	۰/۰۰٥	۳	۳/۳۹	۳/۳۳	۳/۳۱	۳/۰٤	۳	۲/۹	۲/٤۷	۲/۳	<۲		
	۰/۰۱٥	۳	۳/۲۳	۲/۸٤	۲/٤۷	<۲							
	۰/۰۳	۳	۳/۰٤	۲/۳	<۲								
۲٥	۰	۳	>٦										
	۰/۰۰٥	۳	>٦										
	۰/۰۱٥	۳	۳/۳۹	۲/۹٥	۲/٦	۲/۲٥	<۲						
	۰/۰۳	۳	۳/۲۷	۲/۷٦	۲/٤۷	<۲							

ضریب همبستگی غلظت اسانس با لگاریتم تعداد باکتری در دماهای ۸ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد به ترتیب برابر با ۰/٤٦٤- و ۰/۸۱۳- بود. منفی بودن این ضریب بدین معنی است که با افزایش غلظت اسانس، میزان رشد باکتری کاهش می‌یابد. همچنین دراین بررسی مشخص گردید تاثیر مقادیر مختلف اسانس بر میزان رشد باکتری معنی‌دار ($p < ۰/۰٥$) است.

ترکیب اصلی اسانس‌های گیاهان خانواده نعنا که آویشن شیرازی نیز در این تیره قرار می‌گیرد تیمول وکاروا کرول است. ماده موثره اصلی آویشن شیرازی در این تحقیق

Archive of SID
www.SID.ir

کارواکرول (۷۱/۱۲ درصد) بود که اثر قوی ضدمیکروبی کارواکرول توسط محققین نشان داده شده است [۲،۱۶،۳۱،۳۲،۳۳،۳۵،۳٤]. Kunel در سال ۲۰۰۳، اثر فوق العاده شدید کارواکرول استخراج شده با هگزن از گیاه لیپیا مولتی فلورا[1] را برروی استافیلوکوکوس ارئوس، اشریشیا کولای، سودوموناس آئروجینوزا، سالمونلاتیفی موریوم، باسیلوس سوبتیلیس و کاندیدا آلبیکنس نشان داد. به گونه‌ای که در محیط کشت میکروارگانیسم مذکور، دیسک‌های حاوی ٤ میکرولیتر کارواکرول، منطقه ممانعت از رشد وسیعی بین ۲٤ الی ۳۸ میلی‌متر راایجاد کردند [۳٦].

در بررسی دیگری، در سال ۲۰۰۱ رسولی اثر ضدمیکروبی اسانس آویشن شیرازی را با روش دیسک دیفیوژن[2] بر روی اشریشیاکولای و استافیلوکوکوس ارئوس بررسی کرد و اثر آمپی‌سیلین را با همان شرایط روی باکتری‌های فوق‌الذکر مقایسه نمود و چنین نتیجه گرفت که فعالیت باکتریسیدال اسانس آویشن شیرازی نسبت به آمپی‌سیلین در مدت زمان کوتاه‌تری سبب ممانعت از رشد میکروارگانیسم‌های مذکور می‌شود [۲۷].

در تحقیق انجام شده توسط Tassou و همکاران در سال ۲۰۰۰، اثر بازدارندگی اسانس نعنا بر روی رشد و بقاء سالمونلا انتریتیدیس و استافیلوکوکوس ارئوس در محیط آبگوشت مغذی با روش‌های اندازه‌گیری ضریب هدایت[3] و شمارش باکتری‌های زنده[4] بررسی شد و نشان داده شد که غلظت یک درصد اسانس باعث کاهش ۷ – ٦ لوگ ($\log_{10}$) در تعداد استافیلوکوکوس ارئوس و ۳ لوگ ($\log_{10}$) در تعداد سالمونلاانتریتیدیس می‌شود و اثر بازدارندگی اسانس با درجه حرارت نگهداری و غلظت اسانس تحت تاثیر قرار می‌گیرد [۲۱] که با نتایج به دست آمده از تحقیق ما همخوانی دارد.

در بررسی حاضر مشخص گردید دمای نگهداری، مدت زمان نگهداری و غلظت اسانس آویشن شیرازی بر میزان رشد باکتری تاثیر آماری معنی‌داری دارد. بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که اسانس گیاه مورد بررسی می‌تواند به عنوان یک نگهدارنده طبیعی و ضدباکتری مناسب حداقل علیه برخی از باکتری‌های گرم مثبت از جمله استافیلوکوکوس ارئوس در بعضی از مواد غذایی مورد توجه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و نیزاز همکاری سر کار خانم فرشته قدمی، آقای محفوظیان و آقای واحدی کارشناسان آزمایشگاه کنترل بهداشتی مواد غذایی تشکر و قدردانی می‌گردد.

[1] Lippia multiflora
[2] Disk diffusion
[3] Conductance Measurement
[4] Viable count method

Archive of SID
www.SID.ir

منابع

1.Bart S. Essentialoils: their antibacterial propertied and potential application in foods-a review. *Int. Food Microbiol*. 2004; 94 (3): 223-253.

2.Bagamboula CF, Uyttendaele M and Debevere J. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards Shigella sonnei and S. flexneri. *Food microbiology* 2004; (21): 32-42.

3..Bani NH, Yazdani D, Ali SM and Nazari F. Effect of spacing and harvesting time on herbage yield and quality/quantity of oil in *Thymus vulgaris* L. *Industrial crops and products*. 2004; 19: 231-236.

4.Delaquis PJ, Stanich K, Girard B and Mazza G. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill,cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. Int. *J. Food Microbiol*. 2002; 74: 101-109.

5.Hudaib M, Speroni E, Didietra AM and Cavrini V. GC/MS evaluation of thyme(*Thymus vulgaris L*.) oil composition and variation during the vegetative cycle. *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2002; 29 (4): 691-700.

6.Koutsoumanis K, Lambropoulou K and Nyhas GJE. A predictive model for the non-thermal inactivation of *Salmonella* in a food model system supplemented with a natural antimicrobial. *Int. J. Food Microbiol*. 1999; 49: 63-74.

7.Lemay MJ, Choquette J, Delaquis PJ, Gariepy C, Rodrigue N and Saucier L. Antimicrobial effect of natural preservatives in a cooked and acidified chicken meat model. *Int. J. Food Microbiol*. 2002; 78: 217 – 226.

8.Blackburn CW and Peter JM. Foodborne pathogens, Hazard, Risk analyses and control. CRC press. 2002, pp: 385-390.

9.Hui YH, smith RA and Spoorke DG. Foodborne Disease Handbook.2nd ed. Marcel Dekker Inc. USA. 2001, Vol. 1: pp: 345-372, Vol. 2: pp: 427-428.

10. Jay MJ. Modern food microbiology.6th ed. Chapman and Hall. Newyork. 2000, pp: 441-455.

11. Normanno G, Firinu A, Virgilio S, Mula G, Dambrosio A, Poggiu A, Decastelli L, Mioni R, Scuota S, Bolzoni G, Digiannatale E, Salinetti Ap, La salandra G, Bartoli M, Zuccon F, Pirino T, Sias S, Parisi A, Quaglia Nc, and Celano GV. Coagulase-positive staphylococci and *staphylococcus* aureus in food products marketed in Italy. Int. *J. Food Microbiol*. 2005; 98 (1):73-79.

12. Varnam AH and Evans MG. Foodborne pathogens an illustrared text.Wolfe publishing Ltd. England. 1991, pp: 235-265.

13. Basti AA, Misaghi M. and Kaschabi D. Growth response and modeling of the effects of Zataria multiflora Boiss. essential oil, pH and temperature *Salmonella* Typhimuriunm and *Staphylococcus aureus*. *LWT- Food Science and Technology*. In Press (2006).

14. Razavilar V and Genigeorgis C. Prediction of Listeria spp. growth as affected by various levels of chemicals, PH, temperature and storage time in model broth. *Int. Food Microbiol.* 1998; 40: 149-157.

15. Thomas LV, Ingram RE, Yu S and Delves-Broughton J. Investigation of the effectiveness of Ascopyrone P as a food preservative. *Int. J. Food Microbiol*. 2004; 93: 319-323.

16. Akgul A and Kivanc M.Inhibitory effects of selected Turkish spices and oregano components on some foodborne fungi. *Int. J. Food Microbiol*. 1988; 69 (3): 263-268.

17. Ali MS, Saleem M, Akhtar F, Jahangir M, Parvez M and Ahmad VU. Three p-cymene erivatives from *Zararia multiflora*. *Phytochemistry* 1999; 52 (4): 685-688.

18..Valero M and Giner MJ. Effects of antimicrobial components of essential oils on growth of Bacillus cereus INRA L2104 in and the sensory qualities of carrot broth. *Int. J. Food Microbiol.* 2006; 106 (1): 90-94.

Archive of SID
www.SID.ir

19. Nazer A, Kobilinsky A, Tholozan JL and Dubais-Brissonet F. Combination of foods antimicrobials at low levels to inhibit the growth of *Salmonella sv. typhimurium*: a synergistic effect? *Food Microbiol*. 2005; 22: 391-398.

20. Sokmen A, Gulluce M, Akpulat HA and etal.The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control*. 2004; 15: 627-634.

21. Tassou C, Koutsomanis K, Nychas GJE. Inhibition of *Salmonella* entritidis and *Staphylococcus aureus* in nutrient broth by mint essential oil. *Food Res.Int*. 2000; 33: 273-280.

22. Marino M, Bersani C and Comi G. Impedance measurement to study the antimicrobial activity of essential oils from *Lamiaceae* and Compositeae. *Int.J. Food Microbiol*. 2001; 67: 187-195.

23. Rahman M and Gul S. Antibacterial activity of hydrodistilled essential oil of psammogeton canescens N.O. *umbelliferae Biotechnology*. 2002; 1 (1): 55-60.

24. Chaibi A, Ababouch LH, Belasri K and etal. Inhibitionof germination and vegetative growth of *Bacillus cereus* and *Clostridium botulinum* 62A spores by essential oils. *Food microbiol*. 1997; 14 (2): 161-174.

25. Delgado B, Fernandez PS, Palop A. and periago PM. Effect of thymol and cymene on *Bacillus cereus* vegetative cells evaluated through the use of frequency distributions. *Food Microbiol*. 2004; 21: 327-334.

26. Perez C, Agnese AM and Cabrera JL. The essential oil of Senecio graveolens (Compositae): Chemical composition and antimicrobial activity tests. *J. thnopharmacology* 1999; 66: 91-96.

27. Rasooli I and Rezaei MB. Antimicrobial effects of ampicilin and essential oil of *Zataria multiflora*. *Hakim*. 2001; 4: 219-225.

28. Smith-Palmer AS, Stewart J and Fyfe L. The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiol*. 2001; 18: 463-470.

29. Fujikawa H and Morozumi S. Modeling *staphylococcus aureus* growth and enterotoxin production in milk. *Food Microbiol*. 2006; 23 (3Phyto medi): 260-267.

30. Yang S, Yu R and Chou C. influence of holding temperature on the growth and survival of *Salmonella* spp. *Staphylococcal aureus* and the production of staphylococcal enterotoxin in egg products. *Int. J. of Food Microbiol*. 2001; 63: 99-107.

31. Bouchra C, Achouri M, Hassani LMI and hmamouchi M. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiate against Botrytis cinera pers. *FrJ. of Ethnopharmacology* 2003; 89 (1): 165-169.

32. Chami N, Chami F, Bennis S, Trouillas J and Remmal A. Antifungal treatment With carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats. *Braz. J. Infec. Dis*. 2004; 8 (3): 217-226.

33. Didry N, Dubreuil L and Pinkas M. Activity of thymol, carvacrol, cinnamaldehyde and eugenol on oral bacteria. *Pharmaceutica Acta Helvetica*. 1994; 69 (1): 25-28.

34. Lopez-Malo A, Alzamora SM and Palou E. *Aspergillus flavous* growth in the presence of chemical preservative and naturally occurring antimicrobial compounds. *Int. J. Food Microbiol*. 2005; 99: 119-128.

35. Periago PM and Moezelaar R. Combined effect of nisin and carvacrol at different PH and temperature levels on the viability of different strains of *Bacillus cereus. Int. J. Food Microbiol.* 2001; 68 (1-2); 141-148.

36. Kunleo OJ, Egamana E, Emojevwe E and Shok M. Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippia multiflora* leaf extract. *Phytomedicine* 2003; 10 (1): 59 -61.

Archive of SID

www.SID.ir