Archive OF SID


# بررسی اثر اسانس گیاه آویشن شیرازی بر روی میزان رشد سالمونلا تیفی موریوم در سوپ جو تجارتی

میرحسن موسوی[۱]*، افشین آخوندزاده‌بستی[۲]، علی میثاقی[۳]، حسین جباری‌خامنه[٤]، گیتی کریم[٥]، تقی زهرایی‌صالحی[٦]

۱- استادیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز
۲- دانشیار، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران
۳- استادیار، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران
٤- استادیار، گروه آمار، دانشکده علوم ریاضی، دانشگاه تبریز، تبریز
٥- استاد، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران
٦- استاد، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران
* آدرس مکاتبه: تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده دامپزشکی، گروه پاتوبیولوژی
صندوق‌پستی: ٥١٦٦٦١٤٧٧٩، تلفن: ٣٣٩٢٣٧٧ (٠٤١١)، نمابر: ٣٣٥٧٨٣٤ (٠٤١١)
پست الکترونیک: mhmoosavy@lycos.com

**تاریخ دریافت:** ۸۷/۵/۲۲ **تاریخ تصویب:** ۸۸/٦/۳۱

## چکیده

**مقدمه:** با وجود پیشرفت‌های صورت گرفته در بهداشت کشتارگاه و تکنیک‌های تولید مواد غذایی، ایمنی مواد غذایی یک موضوع مهم بهداشت عمومی محسوب می‌شود. از طرف دیگر سازمان بهداشت جهانی اخیراً برای کاهش وقوع بیماری‌های قلبی- عروقی، کاهش مصرف نمک در سطح جهانی را مطرح نمودند. در صورتی‌که میزان نمک در غذاهای فرآیند شده کاهش یابد برای سالم نگهداشتن مواد غذایی احتمالاً به افزودنی‌های دیگری نیاز خواهد بود. اسانس‌های گیاهی احتمالاً یکی از افزودنی‌های طبیعی است که می‌توان به عنوان افزودنی‌های ضدباکتری استفاده کرد.

**هدف:** بررسی اثر ضدباکتریایی اسانس گیاه آویشن شیرازی بر روی رشد سالمونلاتیفی موریوم در سوپ جو تجارتی بود.

**روش بررسی:** ابتدا اسانس این گیاه با دستگاه[1] **GC/MS** تجزیه و اجزای شیمیایی عمده آن شناسایی شد. فعالیت ضدباکتریایی اسانس بر روی رشد باکتری سالمونلاتیفی موریوم در سوپ جو تجارتی متاثر از غلظت‌های مختلف (صفر، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ درصد) آویشن شیرازی در دو درجه حرارت ۸ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد در مدت ۲۱ روز بررسی شد.

**نتایج:** فعالیت ضدباکتریایی اسانس آویشن شیرازی بر روی میزان رشد سالمونلا تیفی موریوم معنی‌دار (**p**< ۰/۰۰۱) و ضریب همبستگی غلظت اسانس با لگاریتم تعداد باکتری مورد مطالعه برابر با ۰/٤۰۲- بود.

**نتیجه‌گیری:** اسانس گیاه آویشن شیرازی احتمالاً قادر است به عنوان یک نگهدارنده مناسب علیه بعضی باکتری‌های پاتوژن غذایی در برخی از مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرد.

**گل‌واژگان:** اسانس، آویشن شیرازی، سالمونلا تیفی موریوم، سوپ جو

[1] Gas Chromatography-Mass Spectrometry



www.SID.ir

Archive OF SID



## مقدمه

اسانس‌ها تقریباً از قرن سیزدهم تولید و عرضه می‌شده است، ولی استفاده از آنها تا قرن شانزدهم به صورت وسیع درنیامده بود. نخستین بار دلاکروکس[1] در سال ۱۸۸۱ اولین اندازه‌گیری جهت تعیین خواص آنتی‌میکروبیال اسانس‌ها را انجام داد. سرانجام در قرون ۱۹ و ۲۰ استفاده از خواص طعمی و بویی اسانس‌ها بر مصارف پزشکی آنها ارجحیت یافت. بیشترین استفاده از این مواد مربوط به کشورهای عضو اتحادیه اروپا می‌شود. این موارد شامل صنایع آرایشی، بهداشتی و عطرها، مصارف طبی و دارویی به عنوان ضدمیکروب و ضدعفونی‌کننده و برای بهبود طعم داروها می‌باشد. از خواص ضدمیکروبی اسانس‌ها نیز استفاده می‌شود که می‌توان به مواد پرکننده دندان، ضدعفونی‌کننده‌ها و مکمل‌های غذایی برای دام‌ها اشاره کرد [۱].

عموماً اسانس‌ها بیرنگ می‌باشند به ویژه زمانی که تازه تهیه شده باشند ولی با گذشت زمان به دلیل اکسیداسیون و رزینی شدن، رنگ آنها تیره می‌شود. برای اینکه مانع این‌گونه تغییرات شد باید اسانس‌ها را در جای خشک، خنک و در ظروف در بسته و تیره از جنس شیشه نگهداری نمود. انواعی از گیاهان شناسایی شده‌اند که حاوی انواع فراوانی از پلی‌ساکاریدهای تعدیل‌کننده ایمنی می‌باشند. بررسی‌ها حاکی از آن است که بیشتر این ترکیبات به دلیل فعال نمودن سیستم ایمنی میزبان، بیشتر خاصیت ضدتوموری و ضدمیکروبی دارند تا اثرات سمی داشته باشند [۲،۳،٤].

برای کاربردی کردن مصرف اسانس‌های گیاهی به عنوان نگهدارنده در مواد غذایی، بررسی اثرات ضدمیکربی آنها به تنهایی و توام با عوامل موثر دیگر (مانند درجه حرارت نگهداری، pH و غیره) در رشد باکتری‌های بیماری‌زای منتقل شده از غذا و میکروارگانیسم‌های عامل فساد مواد غذایی در مدل‌های آزمایشگاهی و مدل‌های غذایی ضرورت دارد.

سالمونلاها از باکتری‌های خانوادهٔ آنتروباکتریاسه بوده که در دستگاه گوارش انسان، حیوانات و حشرات و نیز در گیاهان، خاک، آب و مواد در حال فساد یافت می‌شوند. بعضی از اعضای این خانواده مانند سالمونلا، شیگلا و یرسینیا بیماری‌زا می‌باشند.

در تحقیق حاضر اثر آویشن شیرازی در دو دمای ۸ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد بر میزان رشد باکتری سالمونلا تیفی موریوم در مدت ۲۱ روز مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

### طرح آزمایش

مطالعه اثر اسانس آویشن شیرازی بر روی میزان رشد سالمونلا تیفی موریوم در سوپ جو تجارتی متاثر از غلظت‌های مختلف (صفر، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ درصد) اسانس در درجات حرارت ۸ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۱ روز بود.

### اسانس گیاه آویشن شیرازی

گیاه آویشن شیرازی از استان فارس در فصل تابستان جمع‌آوری و نام علمی آن توسط هرباریوم پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی تایید شد. پس از تهیه اسانس گیاه به روش تقطیر با آب از سرشاخه‌های هوایی گیاه، آنالیز اسانس توسط دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف نگار جرمی[1] انجام شد. طیف‌نگار جرمی مورد استفاده از نوع Termoquest Finngan با ستون مویینه به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر، ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر و با برنامه دمایی ۵۰ تا ۲٦۵ درجه سانتی‌گراد با افزایش تدریجی ۲/۵ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه و نگهداری ستون در ۲٦۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه بود. دمای محفظه تزریق ۲۵۰ درجه و سرعت گاز هلیم ۱/۵ میلی‌لیتر در دقیقه و انرژی یونیزاسیون شناساگر EI ۷۰ الکترون ولت و دمای منبع یونیزاسیون ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود.

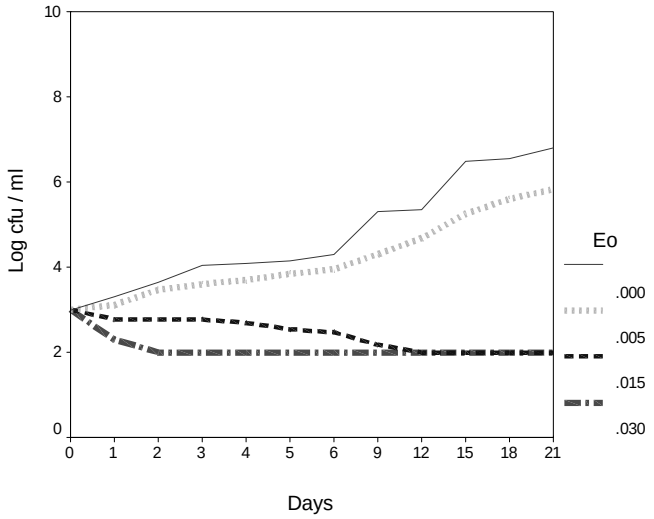
[1] Delacroix

[1] GC/MS

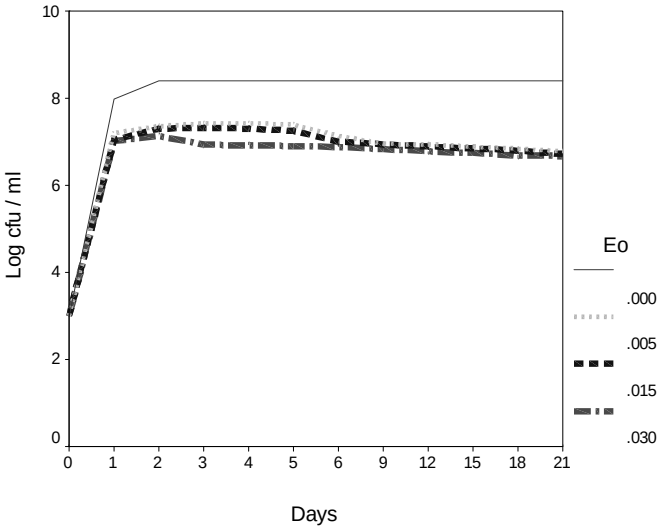


www.SID.ir

Archive OF SID


**نمودار شماره ۱- رفتار سالمونلا تیفی موریوم در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد در سوپ جو با چهار دوز (صفر، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ درصد) اسانس آویشن شیرازی در طی ۲۱ روز**




**نمودار شماره ۲- رفتار سالمونلا تیفی موریوم در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در سوپ جو با چهار دوز (صفر، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ درصد) اسانس آویشن شیرازی در طی ۲۱ روز**

**باکتری مورد مطالعه**

باکتری مورد استفاده در این بررسی سالمونلاتیفی موریوم فاژ تایپ ۲ (تایید شده توسط انستیتو پاستور فرانسه) بود. ابتدا کشت لیوفیلیزه باکتری در محیط آبگوشت قلب و مغز در ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت دو مرتبه به طور متوالی تجدید کشت شد. در مرحله بعد کشت ۱۸ ساعته دوم به نسبت پنج به یک با گلیسرول استریل مخلوط و در حجم‌های ۱۰۰ میکرولیتر داخل لوله‌های کوچک اپندورف سترون در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا در طول مطالعه مورد استفاده قرار گیرد.

**آماده‌سازی باکتری برای تلقیح**

آماده‌سازی باکتری برای تلقیح با انتقال باکتری از لوله کوچک اپندورف سترون به محیط آبگوشت قلب و مغز و نگهداری آن به مدت ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. مجدداً کشت دومی از کشت ۱۸ ساعته اول در محیط



www.SID.ir

Archive OF SID



آبگوشت قلب و مغز دیگر (در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت) تهیه شد. از کشت ۱۸ ساعته دوم، مقادیر مختلفی به لوله‌های کووت[1] ۱ 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 شد. همزمان با عمل فوق با نمونه‌برداری از محتویات لوله‌های کووت، شمارش باکتریایی انجام گرفت و در نهایت لوله کووتی که تقریباً حاوی $10^5$ باکتری در هر میلی‌لیتر بود، مشخص شد. در طول انجام مطالعه با استفاده از مشخصات جذب نوری لوله کووت مذکور و انجام محاسبات ریاضی، دوز تلقیح در هر بار تلقیح به سوبسترا تعیین می‌شد [۵،۶].

**آماده‌سازی سوبسترا**

هر بسته سوپ جو تجارتی تولیدی شرکت مهنام در یک لیتر آب مقطر حل شد و به مدت بیست دقیقه در دمای جوش حرارت داده شد، سپس سوپ به دست آمده در ظروف شیشه‌ای در پیچ‌دار حاوی مگنت (در هر یک به میزان ۴۰ میلی‌لیتر) پخش شد و در اتوکلاو (۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه) سترون شدند. پس از سترون و خنک شدن شیشه‌های حاوی سوپ، غلظت‌های مورد نظر اسانس به آنها اضافه شد.

**تلقیح باکتری به سوبسترا**

برای این منظور ابتدا باکتری موردنظر 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 (در طول موج ۶۰۰ نانومتر) لوله کووتی که مشخص‌کننده حدود $10^5$ باکتری در هر میلی‌لیتر بود با 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.

[1] Cuvett
[2] Spectrophotometer (Milton Roy Company, USA)

**ارزیابی رشد باکتری**

در طول مدت ۲۱ روز نگهداری سوبستراها در دو دمای ۸ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد ۱۲ بار در روزهای ۰، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸ و ۲۱ از همه سوبستراها در شرایط سترون نمونه‌برداری انجام گرفت [۷] و با استفاده از لوله‌های رقت حاوی ۹ میلی‌لیتر آب پپتونه (یک در هزار) استریل سریال‌های رقت ۱۰ تایی تهیه و در محیط آگار قلب و مغز به روش سطحی[1] کشت داده شد. شمارش باکتریایی پس از گرمخانه‌گذاری پلیت‌ها در ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انجام می‌گرفت و نتایج در فرم‌های مربوط ثبت می‌شد.

**آنالیز آماری**

برای آنالیز آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS 15.0 استفاده شد. بدین‌ترتیب جهت بررسی اثر متغیرهای مستقل (مقادیر مختلف اسانس، درجه حرارت و مدت زمان نگهداری) بر روی متغیر وابسته (لگاریتم تعداد باکتری) از آزمون آنالیز واریانس و برای بررسی اثر متقابل متغیرهای مذکور از آنالیز واریانس دو طرفه استفاده شد.

## نتایج

نتیجه آنالیز ترکیبات اسانس آویشن شیرازی مورد استفاده در این تحقیق نشان داد بیشترین ترکیب تشکیل‌دهنده اسانس، کارواکرول[2] بوده که به میزان ۷۱/۱۲ درصد است (جدول شماره ۱).

آنالیز آماری اثر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی بر متغیر وابسته بر حسب cfu/ml[3] نشان داد که به طور کلی مقادیر مختلف اسانس، بر میزان رشد باکتری مورد مطالعه تاثیر معنی‌داری داشت ($p<0/001$) بدین‌صورت که با افزایش غلظت اسانس، لگاریتم تعداد باکتری در شرایط یکسان کاهش می‌یافت. بیشترین رشد باکتری در گروه کنترل و کمترین آن در غلظت ۰/۰۳ درصد اسانس مشاهده شد و

[1] Surface plate
[2] Carvacrol
[3] Colony forming unit per milliliter



www.SID.ir

Archive OF SID


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

| نام ترکیب | اندیس بازدارنده | درصد |
|---|---|---|
| Thujene | ۹۳۰ | ۰/۱۹ |
| Alpha-Pinene | ۹۳۷ | ٤/۲٦ |
| Beta-Pinene | ۹۷٦ | ۰/٤۳ |
| Beta-myrcene | ۹۸۵ | ۰/۸۵ |
| Eucaliptol | ۱۰۲٤ | ۳/۳۷ |
| Gama-Terprinene | ۱۰۵۵ | 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 | ۱۵۸۲ | ۲/۳۲ |
| جمع | - | ۹۱/۹۰ |

اختلاف در میزان رشد بین غلظت‌های مختلف اسانس از نظر آماری معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$).

مدت زمان نگهداری بر لگاریتم تعداد سالمونلاتیفی موریم تاثیر آماری معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۰۱$). بیشترین رشد مربوط به روز بیست و یکم بود. اختلاف رشد باکتری بین روزهای صفر و سایر روزها معنی‌دار بود ($p<۰/۰۰۱$). اما بین سایر روزها اختلاف آماری معنی‌داری از نظر میزان رشد باکتری دیده نشد. ضریب همبستگی مدت زمان نگهداری با لگاریتم تعداد باکتری سالمونلاتیفی موریوم بسیار کم و برابر با ۰/۰۷۷ بود.

اثرات تداخلی متغیرهای مورد مطالعه بر یکدیگر به صورت دو تایی روی لگاریتم تعداد باکتری معنی‌دار بود ($p<۰/۰۰۱$).

## بحث

طبق گزارش‌های معتبر موجود در منابع علمی، ترکیبات متنوعی از گیاهان، ادویه‌ها، میوه‌ها، سبزیجات، برگ‌ها، پوست درختان و بافت‌های حیوانی دارای خواص ضدمیکروبی می‌باشند [۱،۲،۸،۹،۱۰،۱۱].

یکی از ترکیبات طبیعی، اسانس‌های گیاهی هستند که مطالعات فراوانی توسط محققین روی اثرات ضدمیکروبی و نگهدارندگی آنها انجام گرفته است [۱۵ - ۱۲].

اسانس گیاهی مورد آزمایش در این بررسی اسانس گیاه آویشن شیرازی می‌باشد که بومی ایران، افغانستان و پاکستان بوده و به خانواده نعناع تعلق دارد. این خانواده جزو گیاهان دارویی طبقه‌بندی شده است. در ارتباط با اثرات ضدباکتریایی اسانس‌های گیاهی خانواده نعناع و برخی از ترکیبات شناخته شده مهم در اسانس‌های این خانواده از جمله کارواکرول و تیمول تحقیقات مختلفی انجام گرفته است که نشان‌دهنده اثرات قوی ضدمیکروبی این اسانس‌ها می‌باشد [۱٦،۱۸،۱۹،۲۷].

همچنین محققین رشته‌های مختلف پزشکی و میکروبیولوژی برخی از اثرات اسانس آویشن شیرازی را نیز مورد مطالعه قرار داده‌اند اما در زمینه مواد غذایی و پاتوژن‌های غذایی مطالعات زیادی انجام نگرفته است [۲٦ - ۲۰]. بر اساس نتایج تحقیق حاضر، دمای انکوباسیون بر میزان رشد باکتری سالمونلاتیفی موریوم تاثیر معنی‌داری دارد بدین‌معنی که با افزایش دمای انکوباسیون میزان رشد باکتری در شرایط یکسان افزایش می‌یابد. این موضوع توسط بسیاری از محققین دیگر نیز نشان داده شده است. از این رو در بسیاری از مطالعات حفظ دما در درجات پایین را در طی مراحل عمل‌آوری و نگهداری غذا از بهترین راه‌های سلامت آن و جلوگیری از رشد و تکثیر این میکروب‌ها می‌دانند [۲۷].



www.SID.ir

Archive OF SID



در این مطالعه نیز دمای انکوباسیون بالاترین ضریب همبستگی را با میزان رشد باکتری مورد بررسی داشت که نشانگر آن است که درجه حرارت نگهداری مهم‌ترین عامل تاثیرگذار بر روی میزان رشد باکتری مذکور می‌باشد.

دامنه رشد سالمونلاتیفی موریوم ٤٥ - ٦/٢ درجه سانتی‌گراد ذکر شده است. این میکروارگانیسم در دمای اتاق به خوبی رشد می‌کند، اما اپتیمم آن حدود ۳۷ درجه سانتی‌گراد می‌باشد [۲۸].

بر اساس یافته‌های تحقیق حاضر، مقادیر مختلف اسانس آویشن شیرازی، بر میزان رشد سالمونلاتیفی موریوم تـأثیر معنی‌داری دارد ($p<۰/۰۰۱$) بدین‌معنی که با افزایش غلظت اسانس، لگاریتم تعداد باکتری موردبررسی در شرایط یکسان کاهش می‌یابد.

در یک مطالعه، فعالیت ضدقارچی عصاره تعدادی از گیاهان ایرانی از جمله آویشن شیرازی به وسیله سرداری در سال ۱۹۹۸ بر روی برخی از قارچ‌ها نظیر آسپرژیلوس، کاندیدا و کریپتوکوکوس مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که عصاره آویشن شیرازی جزو مؤثرترین عصاره‌های مورد مطالعه در این بررسی بر روی قارچ‌های مذکور می‌باشد [۲۹].

ضریب همبستگی غلظت اسانس با لگاریتم تعداد باکتری سالمونلاتیفی موریوم ۰/٤۰۲ بود. این موضوع نشانگر اثر مهارکنندگی خوب اسانس بر روی باکتری مورد مطالعه است این یافته با مطالعات سایر محققین که اسانس‌های گیاهی و ترکیب آنها را روی باکتری‌ها بررسی کرده‌اند، مطابقت دارد.

در مطالعه انجام شده توسط کرامن[1] و همکاران در سال ۲۰۰۱ اثرات باکتریواستاتیکی قوی اسانس آویشن بر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی نشان داده شد آنها علت احتمالی این اثرات را میزان بالای کارواکرول موجود در اسانس اعلام کردند [۱،۱٦،۳۰].

کیم[2] و همکاران در سال ۱۹۹۵ اثرات ضدباکتریایی کارواکرول را بر روی سالمونلاتیفی موریوم مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که کارواکرول اثرات ضدباکتریایی قوی بر روی باکتری فوق دارد [۱،۱٦].

بگمبولا[3] و همکاران در سال ۲۰۰٤ اثرات ضدمیکروبی اسانس آویشن و ترکیبات کارواکرول و تیمول را بر روی باکتری شیگلا مورد مطالعه قرار دادند و نتیجه گرفتند که ترکیبات مذکور دارای اثر باکتریسیدی قوی بر روی باکتری مورد مطالعه دارد [۳۱،۳۲].

با توجه به اینکه کارواکرول ترکیب اصلی و بیشترین جزء تشکیل‌دهنده (۷۱/۱۲ درصد) اسانس به دست آمده از آویشن شیرازی مورد مطالعه ما است لذا چنین نتیجه‌گیری می‌توان نمود که احتمالاً اثر جلوگیری از رشد اسانس مذکور در غلظت‌های مورد بررسی نیز تا حد زیادی به علت میزان بالای کارواکرول موجود در اسانس باشد.

نتایج آنالیز آماری نشان می‌دهد که غلظت اسانس با دمای انکوباسیون تـأثیر متقابل معنی‌داری را بر روی رشد باکتری فوق دارد بنابراین استفاده از غلظت‌های اسانس به همراه درجه حرارت مناسب نگهداری می‌تواند اثر ممانعت‌کنندگی مناسبی را بر روی رشد باکتری مورد بررسی ایجاد نماید.

## تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تهران به خاطر تامین اعتبار این پروژه تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

[1] Karaman
[2] Kim
[3] Bagamboula

## منابع

**1.** Bart S. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods-a review. *Int. J. Food Microbiol*. 2004; 94: 223 -53.

**2.** Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Rev*. 1999; 12: 564 – 582.



www.SID.ir

**3.** Paulsen BS. Plant polysaccharides with immunostimulatory activities. *Current Organic Chem*. 2001; 5: 939 – 50.

**4.** Tzianbos AO. Polysaccharide immunomodulators as therapeutic agants: Structuaral aspects and biologic function. *Clin Microbiol Rev*. 2000; 13 (4): 523 – 33.

**5.** Basti AA, Misaghi A, and Khaschabi D. Growth response and modelling of the effects of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil, pH and temperature on *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus. LWT- Food Science and Technol*. 2007; 40: 973 - 81.

**6.** 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. J. Food Microbiol*. 1998; 40: 149 - 57.

**7.** 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 - 23.

**8.** Gould GW. Method for preservation and extention of shelf life. *Int. J. Food Microbiol.* 1996; 33: 51 - 64.

**9.** 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. *International J. Food Microbiol*. 2002; 78 (3): 217 – 26.

**10.** Roler S. The Quest for Natural Antimicrobials as Novel Means of Food Preservation: Status Reports on a European Research project. *International Biodeterioration*. 1995; 333 - 45.

**11.** Smith–Palmer A, Stewart J and Fyfe L. The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiol*. 2001; 18 (4): 463 - 70.

**12.** Amin G, Salehi Sourmaghi MH, Zahedi M, Khanavi M and Samadi N. Essential oil composition and antimicrobial activity of Oliveria decumbens. *Fitoterapia* 2005; 76 (7-8): 704 – 7.

**13.** Moreira MR, Ponce AG, DelValle CE and Roura SI. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT – Food science and Technol*. 2005; (39): 565 - 70.

**14.** Pauli A. Antimicrobial properties of essential oil constituents. *Int. J. Aromatherapy* 2001; 11 (3): 126 – 33.

**15.** Yesil Celiktas O, Hames Kocabas EE, Bedir E, Vardar Sukan F, Ozek T and Baser KHC. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of Rosmarinus officinalis, depending on location and seasonal variations. *Food Chem*. 2007; 100 (2): 553 - 9.

**16.** Kim JM, Marshall MR, Cornell JA, Preston JF and Wel CI. Antibacterial activity of carvacrol, citral and Geraniol agaist *Salmonella typhimurium* in culture medium and fish cube. *J. Food Sci*. 1995; 60: 1364 – 8.

**17.** Marino M, Bersani C and Comi G. Impedance measurments to the antimicrobial activity of essential oils Lamiaceae and compositae. *Int. J. Food Microbiol*. 2001; 67: 187 - 95.

**18.** Nickavar B, Mojab F and Dolat-abadi R. Analysis of the essential oils of two Thymus species from Iran. *Food Chem*. 2005; 90: 609 - 11.

**19.** Sacchetti G, Maietti S, Muzzoli M, Scaglianti M, Manfredini S, Radice M and Bruni R. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chem*. 2005; 91 (4): 621 - 32.

**20.** Hosseinzadeh H, Ramezani M and Salmani GA. Antinociceptive, anti- inflammatory and acute toxicity effects of *Zataria multiflora* Boiss. Extracts in mice and rats. *J. Enthopharmacol*. 2000; 73: 379 - 85.

**21.** Jaffary F, Ghannadi A and Siahpoush, A. Antinociceptive effects of hydroalcoholic extract and essential oil of *Zataria multiflora*. *Fitoterapia* 2004; 75: 217 - 20.

**22.** Ramezani M, Hosseinzadeh H and Samizadeh S. Antinociceptive effects of *Zataria multiflora*



www.SID.ir

Archive OF SID



Boiss. Fractions in mice. *J. Ethnopharmacol*. 2004; 91: 167 - 70.

**23.** Sardari H, Ghannadi A and Takei-bavani M. Effects of *Zataria multiflora* and *Carum carvi* essential oils and hydroalcoholic extracts of *Passiflora incarnata*, *Berberis integerrima* and *Crocus sativus* on rat isolated uterus contractions. *International J. Aromatherapy* 2003; 13: 21 - 127.

**24.** Shaiq Ali M, Saleem M, Akhtar F, Jahangir M, Parvez M and Ahmad VU. Three *p*-cymene derivatives from *Zataria multiflora*. *Phytochem*. 1999; 52: 685 - 8.

**25.** Shaiq Ali M, Saleem M, Ali Z and Ahmad VU. Chemistry of *Zataria multiflora* (Lamiaceae). *Phytochem*. 2000; 55: 933 - 6.

**26.** 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. *International J. Food Microbiol.* 2006; 106 (1): 90 - 4.

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

**28.** Jay MJ. Modern Food Microbiology. 6th ed. Chapman and Hall. Newyork. 2000, pp: 441 - 56.

**29.** Sardari H, Amin G, Micetich RG and Daneshtalab M. Antifungal activity of selected Iranian and Canadian plants. *Pharmacological. Biol*. 1998; 36 (3): 180 - 8.

**30.** Karaman S, Digrak M, Ravid U and IIcim A. Antibacterial and antifungal activity of essential oils of thymus revolutus Celak from Turkey. *J. Ethnopharmacol*. 2001; 76: 183 - 6.

**31.** 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 Microbiol.* 2004; 21: 32 - 42.

**32.** Rasooli I and Mirmostafa SA. Antibacterial properties of *Thymus pubescens* and *thymus sepyllum* essential oils. *Fitoterapia* 2002; 73: 244 - 50.



www.SID.ir