فصل‌نامه‌ی داروهای گیاهی
Journal homepage: WWW.ojs.iaushk.ac.ir

فعالیت ضدباکتریایی اسانس چند گیاه دارویی انحصاری ایران علیه باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* جداشده از گوشت

شهره دادفر[۱]، عبدالله قاسمی پیربلوطی[۲*]، مریم میرلوحی[۳]، محمد حجت الاسلامی[۱]، بهزاد حامدی[۲]

۱. گروه صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران؛

۲. مرکز پژوهش‌های گیاهان دارویی و دامپزشکی سنتی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران؛

*مسئول مکاتبات: (E-mail: *ghasemi@iaushk.ac.ir*)

۳. گروه تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران؛

شناسه مقاله

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۱۰/۲۰
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۱۲/۱۷
نوع مقاله: پژوهشی
موضوع: بهداشت مواد غذایی

کلید واژگان:
- ✓ *اسانس*
- ✓ *مرزه*
- ✓ *ضد باکتریایی*
- ✓ *انحصاری*

چکیده

مقدمه و هدف: متابولیت‌های ثانویه با خواص زیست فعالی و عملکردی در اسانس گیاهان معطر می‌توانند در جهت بهبود کیفیت و ماندگاری بیشتر مواد غذایی به عنوان نگهدارنده های طبیعی مؤثر واقع شوند. این مطالعه با هدف مقایسه خاصیت ضدباکتریایی اسانس چند گیاه بومی ایران برای استفاده در صنایع غذایی اجرا شد.

روش تحقیق: ابتدا اندام هوایی پنج گونه گیاه دارویی انحصاری ایران شامل آویشن دنایی (*Thymus daenensis* Celak.)، آویشن کرمانی (*Thymus carmanicus* Jalals)، مرزه بختیاری (*Satureja bachtiarica* Bunge.)، مرزه خوزستانی (*Satureja khuzestanica* Jamzad.) و کرفس معطر بختیاری یا کلوس (*Kelussia odoratissima* Mozaff.) به همراه دو گونه بومی مرزه معمولی (*Satureja hortensis* L.) و گلپر برفی (*Heracleum lasiopetalum* Boiss.) از استان های چهارمحال و بختیاری، کرمان و خوزستان جمع آوری شد. سپس به روش تقطیر با آب (طرح کلوینجر) اسانس گیری انجام شد. قدرت ضد میکروبی اسانس ها در سه غلظت علیه *Pseudomonas aeruginosa* به روش انتشار دیسک تعیین شدند.

نتایج و بحث: اسانس‌های مرزه معمولی، مرزه بختیاری ، مرزه خوزستانی ، آویشن دنایی و آویشن کرمانی بیشترین قطر هاله ممانعت از رشد را علیه باکتری عامل فساد گوشت *Pseudomonas aeruginosa* داشتند. در نهایت اسانس مرزه بختیاری (*Satureja bachtiarica* Bunge.) مؤثرترین اسانس انتخاب بود.

توصیه کاربردی/ صنعتی: اسانس مرزه به عنوان یک طعم دهنده و نگهدارنده طبیعی می‌تواند جایگزین نگهدارنده‌های سنتزی در صنعت غذا به خصوص تولید و فرآوری گوشت به کار برده شود.

1. مقدمه

در گیاهان ترکیبات شیمیایی زیادی مانند متابولیت‌های ثانویه وجود دارد که دارای خواص زیست فعالی و بیوشیمیایی بسیاری هستند که این ترکیبات ثانویه در صنایع مختلف دارویی، شیمیایی، آرایشی و بخصوص صنعت غذا کاربرد دارند. (Gourin, 2010 ؛ Philipson, 1990؛ قاسمی پیربلوطی، 8511) وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی در عصاره و اسانس گیاهان دارویی، در سال‌های اخیر توجه ویژه‌ای را در تحقیقات به خود جلب کرده است (Madsen and Bertelsen, 1995; Sagdic, 2003). از سوی دیگر نگهداری غذا به صورت سالم و با کیفیت بالا در طول مراحل تولید، انبارداری و مصرف از جمله دغدغه‌های اصلی متخصصان

Archive of SID
www.SID.ir

صنایع غذایی و تغذیه می‌باشد. بنابراین می‌توان با پیوند دادن گیاهان دارویی و خواص سلامتی بخش آن‌ها با صنعت غذا نه تنها سلامت مصرف کننده را تضمین کرد؛ بلکه با وجود ترکیبات معطر در ترکیبات ثانویه گیاه، باعث بهبود عطر و طعم غذا و رضایت‌مندی مصرف کننده شد. وجود فلور میکروبی طبیعی در مواد غذایی مختلف و هم‌چنین آلودگی‌های ثانویه در طی مراحل تولید می‌توانند سبب مسمومیت‌های غذایی شده، از این حیث کنترل بار میکروبی مواد غذایی طی مراحل تولید تا مصرف بسیار حائز اهمیت است. وجود ترکیبات ضدمیکروبی در اسانس و عصاره گیاهان دارویی خود نقطه عطفی در کاربرد آن‌ها در صنعت غذا می‌باشد. تحقیقات در سال‌های اخیر بروی قابلیت‌های ضد میکروبی بسیاری از گیاهان بومی مناطق مختلف دنیا انجام شده است. به طور نمونه در تحقیقی بر روی اسانس گونه ای سالویا (*Salvia*)، قدرت ضد میکروبی این گیاه در مقابل ۱۴ باکتری گرم مثبت و منفی ارزیابی شد؛ حساس‌ترین باکتری، باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس* و مقاوم‌ترین آن‌ها باکتری‌های گرم منفی *سودوموناس آئروژینوزا* و *یرسینسیا انتروکولیتیکا* گزارش شد (Tenore *et al*., 2011). نتایج یک مطالعه که توسط روی اثرات ضد لیستریایی ترکیبات فنولی استخراج شده از گیاهان دارویی انجام شد، نشان داد که با افزایش غلظت ترکیبات مختلف، میزان ممانعت از رشد پاتوژن های عامل فساد مواد غذایی کاهش یافت (Shan *et al*., 2007).

در تحقیق حاضر، هفت گیاه بومی و دارویی ایران از نظر قابلیت ضد میکروبی مورد آزمون قرار گرفتند. انتخاب مؤثرترین اسانس و شناسایی ترکیبات ثانویه تشکیل دهنده آن با استفاده از گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) انجام شد. بنابراین معرفی و انتخاب مؤثرترین اسانس به عنوان نگهدارنده طبیعی به صنعت گوشت و فرآورده‌های گوشتی از اهداف این تحقیق می‌باشد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. مواد، وسایل و محلول‌های مورد نیاز

اتانول (۹۹/۶ درصد)، محیط کشت نوترینت براث، نوترینت آگار از شرکت مرک (Merck, Germany) سدیم سولفات (آبگیری اسانس)، دیسک بلانک، دیسک‌های حاوی آنتی بیوتیک اریترومایسین، جنتامایسین و تتراسایکلین.

۲-۲. مواد گیاهی

هفت گونه گیاهی مندرج در جدول ۱ از زیستگاه‌های طبیعی خود جمع آوری گردید و پس تأیید صحت گونه انتخاب شده مطابق با نمونه‌های هرباریومی موجود در هرباریوم های مراکز تحقیقات کشاورزی و منابع سه استان جهت اسانس گیری خشک شدند. تنها گونه مرزه معمولی از مراکز فروش سبزی تهیه گردید.

ردیف	نام فارسی	نام علمی	تیره	اندام مورد استفاده
۱	مرزه بختیاری	*Satureja bachtiarica* Bunge	نعناعیان	برگ
۲	آویشن دنایی	*Thymus daenensis* Celak	نعناعیان	برگ
۳	گلپر	*Heracleum lasiopetalum* Boiss	چتریان	میوه
۴	آویشن کرمانی	*Thymus carmanicus* Jalals	نعناعیان	برگ
۵	کِلوس	*Kelussia odoratissima* Mozaff	چتریان	برگ
۶	مرزه خوزستانی	*Satureja khuzestanica* Jamzad	نعناعیان	برگ
۷	مرزه معمولی	*Satureja hortensis* L	نعناعیان	برگ

جدول ۱. معرفی نام علمی، تیره و اندام مورد استفاده هفت گونه گیاه دارویی مورد آزمون

۲-۳. آماده سازی اسانس

اندام مورد نظر گیاهان جمع آوری شده در هوای خشک و سایه به مدت ۵ روز کاملاً خشک شدند. سپس عملیات اسانس گیری از اندام های خورد شده توسط دستگاه کلوینجر، به روش تقطیر با آب به مدت ۳ ساعت انجام شد سپس اسانس ها تا زمان استفاده در یخچال و محل تاریک نگهداری شدند.

www.SID.ir

۲-۴.تعیین کردن قابلیت ضد میکروبی

۴-۲-۱. تهیه سویه های میکروبی

گونه میکروبی مورد نظر (*سودوموناس آئروژینوزا*) از گوشت جدا سازی، خالص سازی و از طریق واکنش های زنجیره ای پلیمراز شناسایی شد. این باکتری تا زمان انجام آزمایشات در فریزر ۲۰- سانتی‌گراد نگهداری شد.

۴-۲-۲. تهیه سوسپانسیون میکروبی

۲۴ ساعت قبل از انجام هر مرحله از آزمایش و با استفاده از محیط‌های کشت ذخیره مبادرت به تهیه کشت تازه‌ای شد که به آن کشت ۲۴ ساعته گویند. به طوری که قبل از شروع تلقیح با استفاده از یک سواپ استریل مقداری از کلونی‌های سطح محیط کشت نوترینت آگار به لوله حاوی نوترینت براث انتقال داده شد. سپس کدورت سوسپانسیون میکروبی تهیه شده با استفاده از محلول استاندارد ۱ مک فارلند بررسی شد. تعداد باکتری در هر میلی لیتر از سوسپانسیون میکروبی 10^7 عدد باکتری خواهد بود (Vanden and Velietinck, 1991).

۴-۲-۳. روش انتشار دیسک

برای این مرحله از آزمایش از پلیت های حاوی محیط کشت نوترینت آگار استفاده شد. برای کشت باکتری در محیط نوترینت آگار با استفاده از سمپلر از سوسپانسیون میکروبی به میزان ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و روی محیط جامدی که از قبل تهیه گردیده بود، ریخته شد و با استفاده از پیپت پاستور کشت داده شد. پس از آن با استفاده از پنس استریل داخل هر پلیت سه دیسک آنتی بیوگرام خالی به صورت مثلثی گذاشته شد که یکی از آن‌ها دیسک آزمون و دو تای دیگری تکرار بودند. پلیت ها علامت گذاری شده و هر پلیت به یک غلظت اسانس گیاه اختصاص داده شد. سپس از هرکدام از غلظت‌های ۱۰۰۰ µg/ml، ۵۰۰ µg/ml و ۲۵۰ µg/ml اسانس گیاه مورد نظر مقدار ۲۰ میکرولیتر به دیسک‌های اختصاص یافته اضافه شد. سه دیسک آنتی‌بیوتیک اریترومایسین، جنتامایسین و تتراسایکلین هم داخل پلیت‌های مشخص قرار داده شد. بعد از آن با استفاده از سمپلر مقدار ۲۰ میکرولیتر حلال دی متیل سولفوکساید (DMSO) بر روی هر یک به علت وجود خاصیت ضد میکروبی الکل، طبق روش بالا مقدار ۲۰ µl از الکل اتانول ۷۰٪ که عمل محلول سازی با آن انجام شده بود بر روی دیسک بلانک قرار داده شد (پلیت حاوی باکتری کشت داده شده است) و قطر هاله اندازه گیری شد که نشان دهنده قدرت ضد میکروبی اتانول در مقابل باکتری مورد نظر است.

۲-۵. تجزیه آماری

جهت تجزیه و تحلیل اطلاعات از تجزیه واریانس یک طرفه و همچنین از مقایسه میانگین به روش آزمون دانکن و توکی با سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از نرم افزار آماری SPSS (Ver.16) استفاده شد.

۳. نتایج و بحث

وجود ترکیبات ثانویه در گیاهان سبب شده که در سال‌های اخیر توجه ویژه‌ای را به خود جلب کنند. به ویژه وجود ترکیبات ضد میکروبی، گیاهان دارویی را در صنعت غذا جایگزین خوبی برای نگهدارنده‌های سنتزی قرار داده است. در نمودار ۱ ارزیابی قدرت ضد میکروبی هفت گیاه مورد آزمون در ۳ غلظت مختلف نشان داده شده است. با توجه به نمودار ۱ از نظر میانگین قطر هاله ایجاد شده توسط اسانس ۷ گیاه مورد آزمون و اتانول ۷۰ درصد و دیسک‌های آنتی‌بیوتیک به عنوان شاهد، نتایج بررسی میانگین نشان داد که این تیمارها در ۵ گروه مجزا قرار گرفتند. کمترین قطر هاله ها مربوط به تیمارهای اسانس گیاه گلپر، تیمار حاوی اتانول ۷۰ درصد و آنتی‌بیوتیک های تتراسایکلین و اریترومایسین به ترتیب با قطر هاله های ۱۰/۷۷ و ۱۱/۳۳، ۱۳ و ۱۲ میلی‌متر بودند. بیشترین قطر هاله توسط اسانس گیاهان مرزه معمولی، آنتی‌بیوتیک جنتامایسین، آویشن کرمانی، آویشن دنایی و مرزه بختیاری به ترتیب با قطر هاله-های ۱۹،۲۰/۸۸ ، ۲۰/۶۶ ، ۲۱/۸۸ و ۲۲/۲۲ میلی‌متر حاصل شد.

بررسی میانگین قطر هاله ها در شکل ۱ نشان داد که آنتی‌بیوتیک جنتامایسین در رده گیاهان با قدرت ضدمیکروبی بالا در این آزمون قرار گرفت و هم‌چنین میانگین قطر هاله حاصل از گیاهان خانواده نعناعیان تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند. علت این نتیجه شاید به دلیل ماهیت یکسان ترکیبات ثانویه موجود در دو جنس مرزه و آویشن باشد که اغلب از نوع مونوترپن ها

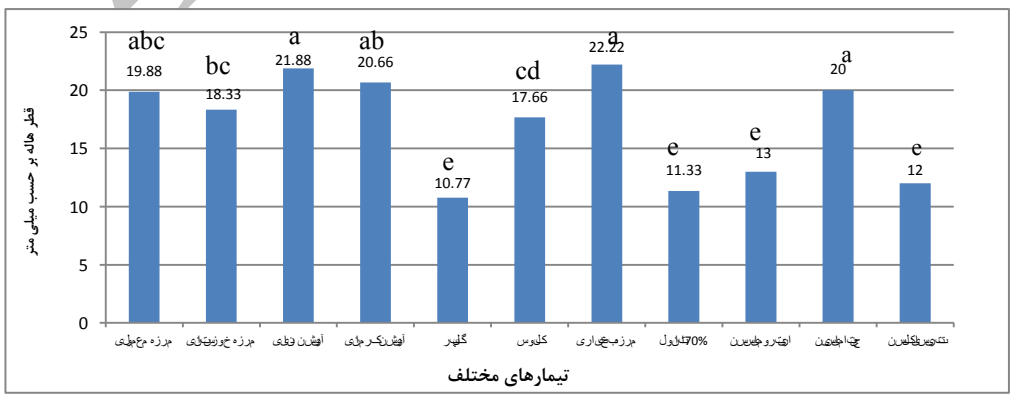
www.SID.ir

می باشند. احتمالاً ترکیبات فنولیک به خصوص کارواکرول، تیمول و اوژنول و هم‌چنین برخی از سزکویی‌ترپن‌ها با خواص ضد میکروبی بالا از رشد و تکثیر باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* جلوگیری کرده اند (Farag, 1989; Thoroski, 1989; Dorman and Deans, 2000; Lambert, 2001;Burt, 2004).

اسانس گیاهان معطر دارای مواد فراری هستند که ماده اصلی تشکیل دهنده آن‌ها هیدروکربن‌ها، آلدئیدها، کتون‌ها، الکل‌ها، فنل ها، اترها، استر با منشأ فنولیک و ترپنیک هستند. ترکیباتی نظیر لینالول، آلفاپینن، بتاپینن، برنئول، کارون، لیمونن، کارواکرول، پارا-سیمن، گاما ترپینن موجود در اسانس اغلب گیاهان مورد مطالعه به خصوص تیره نعناعیان دارای خاصیت ضد قارچی و ضد میکروبی هستند (قاسمی پیربلوطی، ۱۳۸۸؛ Hara-kudo, 2004). این ترکیبات با خصوصیات هیدروفوبیتی بالا قادرند لیپیدهای دیواره سلول باکتری را جدا کنند و از این راه نفوذپذیری غشا را افزایش می‌دهند. اختلال در عملکرد غشایی سلول باکتری منجر به خروج یون‌ها و بهم خوردن تعادل الکترونی غشا می‌شود عبور و خروج مواد دچار مشکل شده و در نهایت منجر به مرگ سلول می‌شود (Lambert, 2001; Duffy, 2001; Skandamis, 2001; Carson, 2002; Ultee, 2002; Cox, 2000).

دافی و همکاران (Duffy et al., 2007) بیان کردند که باکتری‌های گرم منفی دارای یک غشاء خارجی و یک فضای پری پلاسمی واحد هستند که این فضا در باکتری‌های گرم مثبت وجود ندارد. هم‌چنین مقاومت باکتری‌های گرم منفی مربوط به سطح هیدروفیلیک غشای خارجی آن‌هاست که غنی از مولکول‌های لیپوپلی ساکارید است و سدی را نسبت به نفوذ مولکول‌های آنتی‌بیوتیک ایجاد می‌کند و هم‌چنین آنزیم‌هایی که در فضای پری پلاسمی وجود دارند قادر به شکستن مولکول‌هایی هستند که از خارج وارد این فضا می‌شوند. ولی از آن‌جایی که باکتری‌های گرم مثبت چنین غشای خارجی و ساختار دیواره‌ای را ندارند مواد ضد باکتری به راحتی آن‌ها و غشای سیتوپلاسمی آن را از بین می‌برد. با توجه به این تحقیقات گونه *سودوموناس آئروژینوزا* که در این تحقیق به عنوان فلور میکروبی غالب در گوشت و شاخص قرار گرفته به دلیل گرم منفی بودن و هم به دلیل تحقیقات سایرین یکی از مقاوم‌ترین گونه‌های میکروبی محسوب می‌شود؛ بنابراین مقاومت سایر باکتری‌ها در گوشت کمتر از *سودوموناس آئروژینوزا* می‌باشد که این می تواند بیانگر قابلیت ضد میکروبی اسانس گیاهان مورد بررسی به خصوص گیاه دارویی مرزه بختیاری در مقابل سایر باکتری‌های گوشت باشد (Lambert, 2001; Shelef, 1983; Marino, 2001; Senatore, 2000; Canillac and Mourey, 2001; Demetzos and Perdetzoglou, 2001; Pintore, 2002; Harpaz, 2003; Ruberto, 2000; Senatore, 2000; Duffy, 2001).

نتایج تحقیقات (سفیدکن و همکاران، ۱۳۸۸؛ Sefidkon, 2004) در مورد ترکیبات غالب در اسانس مرزه بختیاری گزارش کردند که اسانس این گونه حاوی کارواکرول، پاراسیمن، تیمول، لینالول و ترانس-آلفا-برگاموتن می باشد.



شکل ۱. اثر ضدباکتریایی تیمارهای مورد بررسی علیه باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* به روش انتشار دیسک

Archive of SID
www.SID.ir

۴. نتیجه گیری

با توجه به اثر بسیار مناسب اسانس گیاهان دارویی مورد بررسی در تحقیق حاضر به ویژه تیره نعناعیان که اثرات ضدباکتریایی آن‌ها تغریباً یکسان و در یک گروه آماری قرار گرفته اند می توان جهت جلوگیری از فساد گوشت به خصوص علیه باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* از گیاه مرزه تابستانه که دسترسی به آن بیشتر از گونه های دیگر می باشد و به طور وسیع در کشور کشت و کار می شود استفاده نمود. البته این امر نیاز به تحقیقات گسترده تری در شناسایی ترکیبات موثره و بررسی هر کدام یک از آن ترکیبات در شرایط مختلف می باشد.

۵. منابع

سفیدکن، ف.، جمزاد، ز.، برازنده، م.م. ۱۳۸۳. اسانس *bachtiarica Satureja* به عنوان منبعی غنی از کارواکرول. *فصل‌نامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر*، ۲۰: ۴۳۹-۴۲۵.

قاسمی پیربلوطی، ع. ۱۳۸۸. *گیاهان دارویی و معطر (شناخت و بررسی اثرات آنها)*، انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی، ص ۲-۳۵۲.

Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *International Journal of Food Microbiology*., 94: 223– 253.

Canillac, N. and Mourey, A. 2001. Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria *International Journal of Food Microbiology.,* 18: 261– 268.

Carson, C. F., Mee, B. J. and Riley, T. V. 2002. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.*, 46 (6): 1914–1920.

Cox, S.D., Mann, C. M., Markham, J. L., Bell, H. C., Gustafson, J. E., Warmington, J. R. and Wyllie, S. G. 2000. The mode of antimicrobial action of essential oil of *Melaleuca alternifola* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology.*, 88; 170–175.

Demetzos, C. and Perdetzoglou, D. K. 2001. Composition and antimicrobial studies of the oils of *Origanum calcaratum* Juss. and *O. scabrum* Boiss. et Heldr. from Greece. *Journal of Essential Oil Research.,* 13: 460–462.

Dorman, H. J. D. and Deans, S. G. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology.*, 88: 308– 316.

Duffy, C. F. and Power, R. F., 2001. Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts. *International Journal of Antimicrobial Agents.,* 17: 527–529.

Farag, R. S., Daw, Z. Y., Hewedi, F. M. and El-Baroty, G. S. A. 1989. Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *Journal of Food Protection.*, 52 (9): 665– 667.

Gourine, N., Yousfi, M. and Bombarda, I. 2010. Antioxidant activities chemical composition of essential oil of pistacia atlantica from Algeria. *Industerial crops and products.*, 31: 203-208.

Hara-Kudo, Y., Kobayashi, A., Sugita-Konishi, Y. and Kondo, K., 2004. Antibacterial activity of plants used in cooking for aroma and taste. *Journal of Food Protection.,* 67: 2820–2824.

Harpaz, S., Glatman, L., Drabkin, V. and Gelman, A. 2003. Effects of herbal essential oils used to extend the shelf life of fresh water reared Asian sea bass fish (*Lates calcarifer*). *Journal of Food Protection.*, 66 (3): 410–417.

Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. and Nychas, G. J. E. 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology,* 91: 453–462.

Archive of SID

www.SID.ir

enzyme production by Bacillus cereus. *Journal of Food Protection.*, 52 (6): 399– 403.

Vanden, D. A. and Velietinck, A. J. In: Dey PM, Harborne JB. 1991. (Eds.), Method in plant biochemistry: screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. London: Academic press, 47-69.

Ultee, A., Bennink, M. H. J. and Moezelaar, R. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen Bacillus cereus. *Applied and Environmental Microbiology.,* 68 (4): 1561–1568.

Madsen, H. L. and Bertelsen, G. 1995. Spices as antioxidants. *Trends Food Science. Technology.*, 6: 271–277.

Philipson, J. D. 1990. *Plants as a source of valuable products*. In: Charlwood, B. V., Rhodes, M. J., Secondary products from plants tissue culture. Clarendon press, Oxford, pp. 1-22.

Ruberto, G., Baratta, M. T., Deans, S. G. and Dorman, H. J. D. 2000. Antioxidant and antimicrobial activity of *Foeniculum vulgare* and *Crithmum maritimum* essential oils. *Planta Medica.*, 66: 687– 693.

Sagdic, O., Karahan, A. G., Ozcan, M. and Ozkan, G. 2003. Effect of some spice extracts on bacterial inhibition. *Food Science Technology International.*, 9: 353–356.

Shan, B., Cai, Y., Brooks, J. D. and Corke, H. 2007. The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International Journal of Food Microbiology.*, 117: 112–119.

Shelef, L. A. 1983. Antimicrobial effects of spices. *Journal of Food Safety.*, 6: 29– 44.

Skandamis, P. N. and Nychas, G. J. E. 2001. Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. *Journal of Applied Microbiology.*, 91: 1011 –1022.

Tenore, G. C., Ciampaglia, R., Apostolides Arnold, N., Piozzi, F., Napolitano, F., Rigano, D. and Senatore, F. 2011. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oil of *Salvia lanigera* from Cyprus. *Food and Chemical Toxicology.*, 49: 238–243.

Thoroski, J., Blank, G. and Biliaderis, C. 1989. Eugenol induced inhibition of extracellular

Archive of SID

www.SID.ir