مطالعه تأثیر اسانس گیاه آویشن شیرازی بر باکتری *Escherichia coli O157:H7* در پنیر سفید آب نمکی طی فرآیند تولید و نگهداری

خسرو محمدی[۱*]، گیتی کریم[۲]، شهرام حنیفیان[۳]، علیرضا تاری‌نژاد[۴]، رضا قاسم‌نژاد[۵]

۱- گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز ، تبریز، ایران.
۲- گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۳- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز ، تبریز، ایران.
۴- گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم پایه دانشگاه تربیت معلم، آذرشهر، تبریز، ایران.
۵- اداره بهداشت و درمان نهاجا، تبریز، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: mohammadi@iaut.ac.ir
(دریافت مقاله:۹۰/۱/۲۴ پذیرش نهایی: ۹۰/۵/۲۹)

چکیده

اسانس گیاه آویشن شیرازی کشت‌شده در ایران به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان طعم‌دهنده در مواد غذایی کاربرد دارد. همچنین این اسانس برای بعضی از باکتری‌های بیماری‌زای غذایی اثر ضدمیکروبی دارد. هدف از این تحقیق ارزیابی تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی بر رشد و بقای باکتری *اشریشیاکولای O157:H7* در طی مرحلهٔ تولید و نگهداری پنیر سفید آب‌نمکی بود. اسانس این گیاه به روش تقطیر با بخار تهیه و آنالیز اسانس توسط دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌نگار جرمی انجام شد. در ابتدا جهت تعیین حداکثر مقدار استفاده از اسانس، آزمایشات حسی انجام گرفت. در پایان زمان نگهداری پنیرها، نتیجه آزمایشات حسی نشان داد که مقادیر بیشتر از ۲۰۰ppm بر طعم و بوی پنیرها اثر سوء دارد. بنابراین فقط غلظت‌های ppm ۰ و ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ppm آزمایش شدند. اثر ضدمیکروبی غلظت‌های مختلف این اسانس با تأثیر بر رشد باکتری در محیط کشت انتخابی در آزمایشگاه ارزیابی شد. اثر ضدباکتریایی اسانس آویشن شیرازی در غلظت ppm ۲۰۰ در مقایسه با غلظت‌های کمتر و گروه کنترل معنی‌دار بود ($P<0.05$). تفاوت معنی‌داری بین pH گروه‌های کنترل و تیمار شده وجود نداشت. در صورتی که استفاده از اسانس آویشن شیرازی به منظور ارتقای کیفیت بهداشتی پنیر توصیه می‌گردد، لازم است از غلظت‌هایی از اسانس استفاده شود که طعم، بوی تند و نامطلوب در پنیر ایجاد نکند.

واژه‌های کلیدی: ***اشریشیاکولای O157:H7*، اسانس، آویشن شیرازی، پنیر سفید آب‌نمکی**

مقدمه

در سال‌های اخیر، تولید کنندگان مواد غذایی توجه زیادی به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی از جمله اسانس‌های گیاهی (Essential oils = Eos) به‌جای نگه‌دارنده‌های شیمیایی در محصولات خود نموده‌اند. به اسانس‌های گیاهی روغن‌های اتری یا فرار نیز

Archive of SID
www.SID.ir

گفته می‌شود که معمولاً به روش تقطیر با بخار داغ (steam distillation) تهیه می‌شوند. استفاده از مواد نگه‌دارنده طبیعی به‌جای مواد شیمیایی در تهیه و فرآوری مواد غذایی در حال تحقیق است (Moosavy et al., 2008). اهمیت اسانس‌های گیاهی در این است که علاوه بر ایجاد عطر و طعم در مواد غذایی، ماده مؤثر اصلی آنها دارای اثرات ضدمیکروبی می‌باشد که مصرف کنندگان نسبت به مواد شیمیایی ترجیح می‌دهند. ترکیبات فنولی مسئول خواص ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی هستند. بنابراین هر چه مقدار مواد فنولی در اسانس‌ها بالاتر باشد، خواص ضدمیکروبی آنها نیز بالاتر خواهد بود. این مواد شامل کارواکرول (Carvacrol)، اوژنول (Eugenol) و تیمول (Thymol) می‌باشد (Burt, 2004).

آویشن شیرازی (Zataria multiflora Boiss.) یکی از گیاهان خانواده نعناعیان (Lamiaceae) می‌باشد که از نظر جغرافیایی تنها در کشورهای ایران، پاکستان و افغانستان می‌روید. این گیاه بوته‌ای، دارای ساقه‌های متعدد، نازک، سخت و بسیار منشعب، به ارتفاع ۴۰ تا ۸۰ سانتی‌متر، گردینه‌پوش، سبز متمایل به سفید و معطر است. تحقیقات زیادی در مورد ترکیبات و خصوصیات بازدارندگی اسانس آویشن شیرازی بر باکتری‌های بیماری‌زا یا عامل فساد مواد غذایی صورت گرفته است (Basti et al., 2007; Ebrahimzadeh et al., 2003; Fazeli et al., 2007; Moosavy et al., 2008 and Sharififar et al., 2007). کارواکرول و تیمول شاخص‌ترین ترکیبات فنولی آویشن می‌باشند که در بخش‌های مختلف این گیاه از جمله برگ، گل و ریشه به میزان متفاوت وجود دارد. این گیاه علاوه‌براین، حاوی تانن، فلاونویید، ساپونین و مواد تلخ می‌باشد (Burt, 2004).

اشریشیاکولای سروتیپ *O157:H7* یکی از عوامل اصلی ایجادکننده مسمومیت غذایی و بیماری‌هایی نظیر اسهال خفیف، کولیت خونریزی‌دهنده (hemorrhagic colitis)، ترومبوتیک رومبوسایتوپنیک پورپورا (thrombotic thrombocytopenic purpura)، سندرم همولیتیک اورمیک (hemolytic uremic syndrome) و مرگ در انسان است (Jamshidi et al., 2008, Shekarforoush et al., 2007 and Solomakos et al., 2008). گاوسانان به‌ویژه گوساله یکی از مخازن اصلی این باکتری است. همچنین حیواناتی مانند گوسفند، بز، آهو، خوک، گربه، سگ، جوجه و غاز به‌عنوان مخزن شناخته شده‌اند. تاکنون هیچ‌گونه بیماری‌زایی ناشی از این باکتری در حیوانات یادشده گزارش نشده است. اما امکان انتقال باکتری از حیوانات به انسان، از راه مستقیم، تماس با آب، خاک و فضولات نشخوار کنندگان و مصرف مواد غذایی مانند شیر خام و پاستوریزه آلوده، ماست، پنیر، همبرگر، سوسیس، گوشت خردشده، ساندویچ‌های گوشتی، سبزیجات، آب میوه‌ها (به‌ویژه آب سیب) وجود دارد (Kenneth et al., 2004; Fratamico et al., 2006). برای کاربردی کردن مصرف اسانس‌های گیاهی به‌عنوان نگه‌دارنده در مواد غذایی، بررسی اثرات ضدمیکروبی آنها به‌تنهایی و توأم با عوامل مؤثر دیگر (مانند درجه حرارت نگه‌داری، pH و غیره) در رشد پاتوژن‌های منتقله از مواد غذایی و میکروارگانیسم‌های عامل فساد مواد غذایی در مدل‌های آزمایشگاهی و مدل‌های غذایی ضروری است (Lemay et al., 2002).

Archive of SID
www.SID.ir

هدف از این مطالعه تعیین اثر ضدمیکروبی اسانس آویشن شیرازی (در غلظت‌های صفر، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ ppm) بر باکتری *اشریشیاکولای O157:H7* در پنیر سفید آب نمکی و توجه به خواص حسی پنیر پس از طی ۶۰ روز نگهداری پنیر بود.

مواد و روش‌ها

تهیه گیاه، اسانس و آنالیز آن

گیاه آویشن شیرازی از استان فارس تهیه و توسط گیاه‌شناس پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی تأیید نام علمی گردید. سپس گیاهان جمع‌آوری شده در سایه خشک شد. اندام‌های هوایی گیاه خشک شده توسط دستگاه کلونجر (Clevenger) به روش تقطیر با آب به‌مدت ۳ ساعت اسانس‌گیری گردید. اسانس توسط سولفات سدیم بدون آب، آب‌گیری و در ظرف دربسته تیره رنگ دور از نور و در یخچال نگه‌داری شد. آنالیز اسانس توسط دستگاه گازکروماتوگراف متصل به طیف نگار جرمی (GC/MS) انجام شد.

میکروارگانیسم مورد مطالعه و آماده‌سازی آن جهت تلقیح

باکتری *اشریشیاکولای O157:H7* (ATCC 25922) اهدایی از گروه میکروب‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شد. یک پرگنه از این باکتری دو بار متوالی در محیط آبگوشت قلب و مغز (brain heart infusion broth) در دمای ۳۵ درجه سلسیوس و به‌مدت ۲۰-۱۸ ساعت فعال‌سازی شد تا جذب نوری در طول موج ۶۰۰ نانومتر به ۰/۸ تا ۰/۹ برسد. در این حالت جمعیت باکتری حدود 10^9 cfu/ml می‌باشد (Rozand et al., 2005). این کشت رقیق شد تا غلظت 10^8 cfu/ml تهیه شد. یک میلی‌لیتر از این کشت رقیق‌شده به ده لیتر شیر اضافه گردید و کاملاً مخلوط شد تا دوز تلقیح در شیر به 10^4 cfu/ml برسد. همزمان با عمل فوق نمونه‌برداری از شیر صورت گرفت و شمارش باکتریایی به روش کشت سطحی انجام شد.

تولید پنیر سفید ایرانی

برای تولید پنیر از شیر تازه و پاستوریزه گاو استفاده شد. با آزمایش کوپن (Copan milk test= CMT) شیر از نظر عدم وجود بقایای آنتی‌بیوتیکی مورد ارزیابی قرار گرفت. شیر مورد استفاده حاوی ۲/۵ درصد چربی، ۸/۹ درصد ماده خشک بدون چربی و pH=۶/۷ بود که این ویژگی‌ها مطابق با استاندارد ملی ایران برای تولید پنیر بود (ISIRI, No. 5772). پس از آماده‌سازی سوسپانسیون باکتری *اشریشیاکولای O157:H7* به تعداد 10^4cfu/ml در شیر پنیر تلقیح شد (ساعت صفر). استارتر مورد استفاده باکتری‌های *لیوفیلیزه لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* (شرکت سازنده CHR HANSEN-) بود که به نسبت ۰/۵ درصد (وزن به حجم)، تحت شرایط استریل در دمای ۳۵ درجه سلسیوس به آن افزوده شد. پس از گذشت نیم ساعت مقدار ۰/۰۲ درصد (وزن به حجم) کلرید کلسیم افزوده شد. در همین زمان اسانس آویشن شیرازی در غلظت‌های صفر، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ ppm به شیر پنیر اضافه شد. پس از رسیدن pH شیر به ۵/۶، رنت حل‌شده در آب مقطر استریل به مقدار

Archive of SID
www.SID.ir

۰/۰۰۱ درصد (وزن به حجم) افزوده و مخلوط گردید. پس از نگه‌داری نمونه‌ها به‌مدت یک ساعت در دمای ۳۵ درجه سلسیوس، لخته حاصله به‌صورت قطعات ۱ الی ۲ سانتی‌متر مکعبی برش و پس از آبگیری، به‌مدت شش ساعت تحت فشار وزنه یک کیلوگرمی آبگیری شد (ساعت ۷). سپس لخته فشرده به قطعات ۷ سانتی‌متر مکعبی بریده شد و به‌مدت ۸ ساعت در آب نمک ۲۰ درصد پاستوریزه قرار گرفت (ساعت ۱۵). پس از آن نمونه‌های پنیر تا پایان روز شصت (پایان دوره نگه‌داری) در آب نمک ۶ درصد پاستوریزه قرار داده شد. نمونه‌های پنیر ابتدا به‌مدت ۱۵ روز در دمای ۱۴ درجه سلسیوس و سپس به‌مدت ۴۵ روز در دمای ۴ درجه سلسیوس نگه‌داری شد (ISIRI, No. 5772).

شمارش میکروبی و تأیید *اشریشیاکولای O157:H7*

به‌منظور شمارش باکتری *اشریشیاکولای O157:H7* از روش کشت سطحی و با انتقال ۰/۱ میلی‌لیتر از رقت‌های تهیه‌شده به پلیت‌های دوگانه حاوی محیط کشت سفیکسیم تلوریت- سوربیتول مکانگی آگار (CT-SMAC) واجد ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر سفیکسیم و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر پتاسیم تلوریت کشت داده شد و پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۵ درجه سلسیوس، کلنی‌های سوربیتول منفی (بی‌رنگ) شمارش شدند. تعداد ۱۰-۵ کلنی برای تأیید با تست‌های بیوشیمیایی سیمون سیترات آگار، SIM agar, MR-VP broth و TSI agar انتخاب شدند. خصوصیات *اشریشیاکولای O157:H7* در این تست‌ها، گلوکز، اندول و متیل‌رد مثبت اما سیترات، SH_2, CO_2 و VP منفی می‌باشد. در نهایت برای تعیین سروتیپ از تست آگلوتیناسیون با آنتی‌سرم اختصاصی *اشریشیاکولای O157:H7* استفاده گردید (Meng et al., 2001).

آزمایشات فیزیکی- شیمیایی نمونه‌های پنیر

به‌همراه نمونه‌برداری برای شمارش میکروبی، آزمایشات فیزیکی- شیمیایی نمونه‌های پنیر شامل اندازه‌گیری pH، نمک و ماده خشک کل انجام شد. اندازه‌گیری pH توسط pH متر دیجیتال مجهز به پروب اندازه‌گیری دما (Testo, Germany) انجام گرفت (Sadler et al., 2003). اندازه‌گیری ماده خشک کل به روش خشک کردن در آون (Oven drying method) در دمای ۲ ± ۱۰۲ درجه سلسیوس برای مدت ۱۶ ساعت (Bradley, 2003) و اندازه‌گیری نمک به روش موهر (Mohr method) انجام شد (Carpenter et al., 2003).

ارزیابی حسی

برای ارزیابی ویژگی‌های حسی ناشی از افزودن اسانس آویشن شیرازی به پنیر سفید ایرانی از تست پذیرش حسی استفاده گردید. برای این منظور پنیر سفید فاقد باکتری *اشریشیاکولای O157:H7*، تهیه شده با غلظت‌های مختلف اسانس به هفت قسمت تقسیم گردید. ارزیابی حسی به‌وسیله یک پانل هفت نفره که عمدتاً از کارکنان و اعضای گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز بودند، صورت پذیرفت. اعضای پانل

Archive of SID
www.SID.ir

معیار خود از ارزیابی حسی پنیر سفید حاوی اسانس را با استفاده از یک مقیاس حسی ۹ نمره‌ای (9- point hedonic scale) مشخص نمودند. در این مقیاس نمره ۹ خیلی عالی، نمره ۸ عالی، نمره ۷ خوب، نمره ۶ نسبتاً خوب، نمره ۵ نه خوب نه بد، نمره ۴ نسبتاً بد، نمره ۳ بد، نمره ۲ خیلی بد و نمره ۱ فوق‌العاده بد لحاظ گردید.

آنالیز آماری

جهت بررسی تغییرات میانگین لگاریتم تعداد باکتری و پارامترهای فیزیکی- شیمیایی نمونه‌های پنیر تحت تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی طی تولید و نگهداری پنیر سفید ایرانی، از آزمون اسپلیت پلات بر پایه طرح کامل تصادفی (CRD) و آزمون آنالیز واریانس و بررسی اختلافات شاخص توسط آزمون دانکن انجام شد.

یافته‌ها

نتیجه آنالیز اسانس آویشن شیرازی مورد استفاده در این مطالعه با استفاده از GC/MS در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول شماره ۲ اثر ضدمیکروبی اسانس آویشن شیرازی بر کاهش لگاریتم تعداد باکتری *اشریشیاکولای O157:H7* در نمونه‌های پنیر طی فرایند تولید و نگه‌داری تا روز ۶۰ را نشان می‌دهد. کاهش لگاریتم تعداد باکتری طی فرایند آبگیری و قالب‌گیری (ساعت ۷) در غلظت‌های ۱۵۰ و ۲۰۰ ppm معنی‌دار بود (P<0.05). بعد از مراحل نمک‌زنی، رسیدن و نگه‌داری پنیر تا روز ۶۰، اثر اسانس

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

نام ترکیب	اندیس بازداری	درصد
α-Thujene	۹۳۲	۰/۵۵
α-Pinene	۹۳۸	۳/۸۲
Octanol	۹۹۵	۰/۲۵
Octanone	۹۹۹	۰/۲۸
β -Pinene	۱۰۰۸	۰/۴۸
β-Myrcene	۱۰۱۱	۱/۶۷
δ-Caren	۱۰۱۷	۱/۶
Para-cymene	۱۰۲۴	۸/۵۸
Dihydrocarveol	۱۰۴۳	۱/۱۵
γ-terpinene	۱۰۶۵	۷/۱۹
Linalool	۱۱۰۱	۱/۲
4-Terpineol	۱۱۸۲	۰/۸
α-Terpineol	۱۱۹۰	۰/۸۹
Cumicaldehyde	۱۱۹۷	۰/۸۶
Thymol methyl ether	۱۲۲۳	۰/۷
Carvacrol methyl ether	۱۲۳۱	۲/۱
Thymol	۱۲۸۹	۲۱/۳۲
Carvacrol	۱۲۹۷	۳۷/۱
β-Caryophyllene	۱۴۲۰	۲/۷۹
Aromadendrene	۱۴۴۱	۰/۹۷
Spathulenol	۱۵۷۱	۰/۵۳
Caryophyllene oxide	۱۵۸۲	۰/۳۴
جمع	-	۹۵/۱۷

در غلظت ۲۰۰ppm بر کاهش لگاریتم تعداد باکتری در مقایسه با بقیه گروه‌ها معنی‌دار بوده است (P<0.05). به عبارتی با افزایش غلظت اسانس، تعداد باکتری کاهش می‌یابد (شکل ۱)، به‌طوری‌که در غلظت ppm ۲۰۰ لگاریتم تعداد باکتری در نمونه‌های پنیر در مقایسه با نمونه‌های فاقد اسانس و غلظت‌های ۱۰۰ و ppm ۱۵۰ کاهش معنی‌داری داشته است (P<0.05).

مدت زمان نگه‌داری بر لگاریتم تعداد *اشریشیاکولای O157:H7* تأثیر آماری معنی‌داری داشت (P<0.05). بیشترین رشد در زمان آبگیری و قالب‌گیری

Archive of SID
www.SID.ir

نمونه‌های پنیر بود. درحالی‌که طی نمک‌زنی، رسیدن و نگه‌داری کاهش لگاریتم باکتری معنی‌دار بود ($P<0.05$).

ویژگی‌های فیزیکی- شیمیایی

پنیرهای تولیدشده در این آزمایش از نظر ویژگی‌های فیزیکی- شیمیایی در محدوده استاندارد ایران برای تولید پنیر بودند (pH=۴/۵±۰/۰۲، ماده خشک کل ۴۵±۰/۰۷ درصد و مقدار نمک ۳/۴±۰/۰۴ درصد) بود. pH شیر پنیر طی مراحل رسیدن و نگهداری به ۴/۵ کاهش یافت. تغییرات pH طی تولید پنیرها تحت تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس (صفر، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ ppm) در دوره‌های زمانی مشابه، اختلاف آماری معنی‌داری را نشان ندادند.

ارزیابی حسی

نتایج حاصل از ارزیابی حسی در شکل ۲ نشان داده شده است. امتیاز خصوصیات حسی نمونه‌های پنیر در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ بالای حد پذیرش بود ($P < 0.05$). درحالی‌که با افزایش غلظت اسانس به ۲۰۰ppm، امتیاز خصوصیات حسی به زیر حد پذیرش کاهش یافت ($P < 0.05$).

جدول ۲: اثر اسانس آویشن شیرازی (در غلظت‌های صفر، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ ppm) بر کاهش لگاریتم تعداد باکتری *اشریشیاکولای O157:H7* در نمونه‌های پنیر در طی فرایند تولید و نگهداری تا روز ۶۰

زمان	غلظت اسانس (ppm)			
	۰	۱۰۰	۱۵۰	۲۰۰
ساعت صفر (الف)	a۰/۰۶±۴/۱۱	a۰/۰۸±۴/۱۱	a۰/۰۴±۴/۱۲	a۰/۰۵±۴/۱۶
ساعت ۷ (ب)	b۰/۰۲±۷/۷۲	b۰/۰۳±۷/۶۳	a۰/۰۹±۷/۲۴	a۰/۰۵±۷/۰۷
ساعت ۱۵ (ج)	c۰/۰۵±۷/۱۵	bc۰/۰۳±۷/۰۷	ab۰/۰۳±۶/۹۲	a۰/۰۸±۶/۸۰
روز ۱۵ (د)	c۰/۰۶±۶/۵۱	bc۰/۰۷±۶/۴۲	b۰/۰۷±۶/۱۷	a۰/۰۹±۵/۸۱
روز ۳۰ (ر)	d۰/۰۴±۴/۸۷	c۰/۰۲±۴/۶۲	b۰/۰۴±۴/۳۳	a۰/۰۴±۳/۹۸
روز ۴۵ (ر)	c۰/۰۴±۳/۶۴	b۰/۰۲±۳/۵۰	b۰/۰۲±۳/۴۱	a۰/۰۳±۲/۸۸
روز ۶۰ (ر)	b۰/۰۸±۲/۷۶	b۰/۰۹±۲/۶۹	b۰/۰۹±۲/۶۰	a۰/۰۳±۲/۱۱

نتایج حاصل سه تکرار برای هر غلظت اسانس می‌باشد

a, b, c, d در هر ردیف میانگین‌هایی که دارای حروف غیرمشابه می‌باشند، در سطح احتمال ۵٪ آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری با هم دارند ($P < ۰.۰۵$).

(الف) ساعت صفر: زمان تلقیح باکتری در شیر پنیر

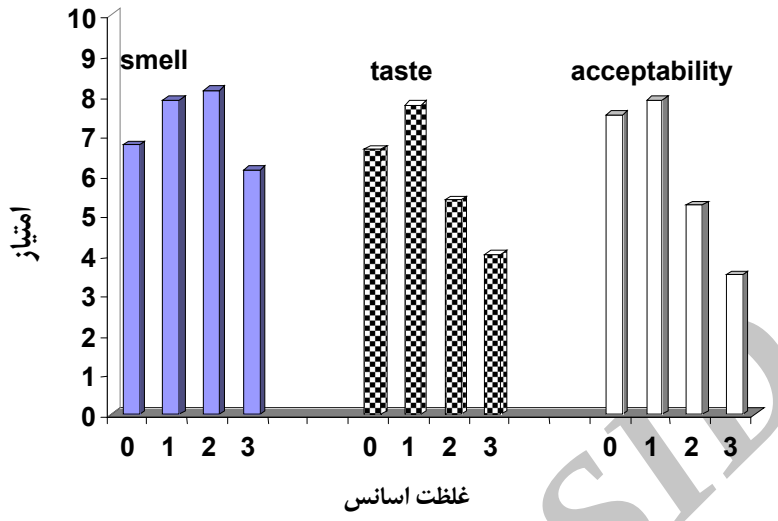
(ب) ساعت ۷: پس از آبگیری و قالب‌گیری پنیر

(ج) ساعت ۱۵: پس از نگهداری نمونه‌های پنیر در آب نمک ۲۰ درصد

(د) روز ۱۵: پس از دوره رساندن پنیر در انبار سبز (۱۴ درجه سلسیوس)

(ر) روزهای ۳۰، ۴۵ و ۶۰: دوره نگهداری نمونه‌های پنیر در ۴ درجه سلسیوس

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۱: ارزیابی حسی پنیرهای تیمارشده با اسانس آویشن شیرازی در غلظت‌های مختلف. ستون صفر: کنترل، ستون ۱: غلظت ppm ۱۰۰، ستون ۲: غلظت ppm ۱۵۰، ستون ۳: غلظت ppm ۲۰۰ امتیاز ۵ بیانگر حد پذیرش می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

در بسیاری از موارد جهت پیشگیری از رشد و تکثیر باکتری‌های بیماری‌زا، عامل فساد و نیز برای افزایش مدت زمان ماندگاری مواد غذایی از آنتی‌بیوتیک‌ها و نگه‌دارنده‌های شیمیایی و صناعی استفاده می‌شود. این امر باعث ایجاد مسایل و مشکلات عدیده‌ای در سلامت و بهداشت انسان می‌گردد. در سال‌های اخیر استفاده از مواد نگه‌دارنده طبیعی به‌جای مواد شیمیایی در تهیه یا فرآوری مواد غذایی مختلف مورد پژوهش قرار گرفته است. اهمیت گیاهان در این است که همراه با ماده مؤثر اصلی، متشکل از مواد دیگری با اثرات درمانی می‌باشند. همچنین اسانس‌های گیاهی باعث بهبود طعم و مزه می‌شوند که مصرف کنندگان آن را نسبت به مواد شیمیایی ترجیح می‌دهند (Sharififar et al., 2007).

تاکنون بررسی‌های زیادی در مورد اثر سینرژیستی اجزای مختلف اسانس‌های گیاهی در مواد غذایی مختلف جهت افزایش قدرت ضدمیکروبی آن‌ها انجام شده است. به‌طوری‌که تأثیر ضدمیکروبی توأم دو جز کارواکرول و تیمول موجود در اسانس آویشن شیرازی بیشتر از تأثیر هر یک از آنها، به‌صورت تنها گزارش شده است (Basti et al., 2009).

Moosavy و همکاران (۲۰۰۸) اثر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی و نایسین را بر *باکتری سالمونلا تایفی‌موریوم* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در یک مدل غذایی مطالعه کرده‌اند. در این مطالعه، این دو ترکیب در دمای ۲۵ درجه سلسیوس بر رشد *سالمونلا تایفی‌موریوم* تأثیری نداشته است. اما تعداد *سالمونلا تایفی‌موریوم* در غلظت

Archive of SID
www.SID.ir

۳۰ میکرولیتر درصد میلی‌لیتر و دمای ۸ درجه سلسیوس در مدت زمان دو روز، از ۳ واحد لگاریتمی به کمتر از ۲ واحد لگاریتمی کاهش یافته است.

Solomakos و همکاران (۲۰۰۸) تأثیر اسانس نعناع و نایسین را بر *اشریشیا کولای O157:H7* در گوشت قیمه‌شده گاو در دمای ۴ و ۱۰ درجه سلسیوس مطالعه کرده‌اند. در این مطالعه، اسانس نعناع در غلظت ۰/۶ درصد در دمای ۱۰ درجه سلسیوس بهتر از دمای ۴ درجه سلسیوس عمل کرده است. ترکیب این اسانس با نایسین به مقدار ۵۰۰ واحد در هر گرم، به مراتب اثر قوی‌تری داشته است.

Palmer و همکاران (۲۰۰۱) اسانس گیاه میخک، دارچین و آویشن را در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد بر *لیستریا مونوسایتوژنز* و *سالمونلا انتریتیدیس* در پنیر نرم کم‌چرب و پرچرب مطالعه کرده‌اند. طبق این تحقیق ترکیب پنیر فاکتور مهمی در تعیین اثر مهاری اسانس‌های گیاهی می‌باشد. در پنیر کم‌چرب همه اسانس‌ها در غلظت یک درصد اثر بازدارنده داشتند و *لیستریا مونوسایتوژنز* را به مقدار یک واحد لگاریتمی کاهش دادند. در مقایسه در پنیر پرچرب تنها اسانس گیاه میخک اثر داشت.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که اثر اسانس آویشن شیرازی بر روی شمارش باکتری مورد مطالعه از الگوی وابسته به دوز تبعیت می‌نماید. بررسی‌های حسی پنیرهای تولیدشده با غظت‌های صفر، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ ppm اسانس آویشن شیرازی نشان داد که استفاده از این غلظت‌ها تا میزان ۱۵۰ ppm مورد قبول می‌باشد و افزایش غلظت اسانس به ۲۰۰ ppm بر خواص حسی محصول اثر نامطلوب دارد.

تاکنون پژوهش‌های زیادی بر روی اثرات ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی مختلف و اثر ممانعت از رشد این اسانس‌ها بر روی *اشریشیا کولای O157:H7* صورت گرفته است که اکثریت این بررسی‌ها در محیط‌های کشت آزمایشگاهی بوده است و پژوهش‌های محدودی در مدل‌های غذایی نظیر محصولات لبنی و غیره انجام شده است. اکثر تحقیقات انجام‌شده نشان می‌دهد، حساسیت باکتری‌های گرم منفی در مقابل ترکیبات ضدمیکروبی در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت کمتر است که ممکن است به‌خاطر وجود غشای خارجی در ساختمان دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی باشد (Oussalah et al., 2007).

اگرچه اسانس‌های روغنی به‌عنوان ترکیبات بی‌ضرر (GRAS= Generally recognized as safe) مورد توجه قرار گرفته‌اند، اما استفاده از آنها اغلب به‌دلیل وجود ساپونین و مواد تلخ از لحاظ حسی محدود می‌باشد. به‌همین‌دلیل تعیین حداقل غلظت لازم جهت جلوگیری از رشد باکتری‌های بیماری‌زا بدون مطالعه تأثیر بر کیفیت حسی ماده غذایی امکان‌پذیر نیست.

Archive of SID
www.SID.ir

منابع

- Basti, A.A., Misaghi, A. and Khaschabi, D. (2007). Growth response and modeling of the effects of *Zataria multiflora Boiss*. Essential oil, pH and temperature on *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. Food Science and Technology, 40: 973-81.
- Basti, A.A., Mashak, Z., Moradi, B., Abasifar, A. and Gandomi, H. (2009). Fate of *Listeria monocytogenes* during the manufacturing process of Iranian white brined cheese as affected by *Zataria multiflora Boiss*. essential oil. Journal of Medicinal Plants, 29: 114-122.
- Bradley, R.L. (2003). Moisture and total solids analysis. In: Nielsen, S.S. (Editor), Food analysis. 3rd Edition, New York, Springer Science and Business Media Publishers, pp: 87-89.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods-a review. International Food Microbiology, 94: 223-253.
- Carpenter, C.E. and Hendricks, D.G. (2003). Mineral analysis. In: Nielsen, S. S., (Editor), Food analysis. 3rd Edition, New York, Springer Science and Business Media Publishers, pp. 195.
- Ebrahimzadeh, H., Yamini, Y., Sefidkon, F., Chaloosi, M. and Pourmortazavi, S. M. (2003). Chemical composition of the essential oil and supercritical CO_2 extracts of *Zataria multiflora Boiss*. Journal of Food Chemistry, 83: 357-361.
- Fazeli, M.R, Gholamreza, A. and Attari, M.M.A. (2007). Antimicrobial activities of Iranian Sumac and Avishan-e Shirazi (*Zataria multiflora*) against some food-borne bacteria. Food Control, 18: 646-649.
- Fratamico, P.M. and Smith, J.L. (2006). *Escherichia coli* infections. In: Riemann, HP and Cliver, D.O. Foodborne Infections and Intoxications. Third Edition, Elsevier, pp. 224.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2002). Guideline for the production of Iranian white cheese with a semi-industrial. Standard No. 5772.
- Jamshidi, A., Bassami, M.R. and Rasooli, M. (2008). Isolation of *Escherichia coli O157:H7* from ground beef samples collected from beef markets, using conventional culture and polymerase chain reaction in Mashhad, northeastern Iran. Iranian Journal of Veterinary Research, 9: 72-76.
- Kenneth, J., Ryan, M.D. and Cray, M.D. (2004). Sherries Medical Microbiology. 4th Edition, Mc Graw Hill, 354-357.
- Lemay, M.J., Choquette, J., Delaquis, P.J., Gariepy, C., Rodrigue, N. and Saucier, L. (2002). Antimicrobial effect of natural preservatives in a cooked and acidified chicken meat model. International Journal of Food Microbiology, 78: 217- 226.
- Meng, J., Feng, P. and Doyle, M.P. (2001). Pathogenic *Escherichia coli*. In: Downes, FP and Itō, K (Eds.), Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th Edition, Washington, D.C., American Public Health Association, pp. 331-341.
- Moosavy, M.H., Akhondzadeh, Basti, A., Misaghi, A., Salehi, T.Z. and Abbasifar, R. (2008). Effect of *Zataria multiflora Boiss*. essential oil and nisin on *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in a food model system and on the bacterial cell membranes. Journal of Food Research, 41: 1050-1057.
- Oussalah, M., Caillet, S. and Laroix, M. (2006). Mechanism of action of Spanish Oregano, Chinese Cinnamon, and Savory essential oils against cell membrane and walls of *Escherichia coli O157:H7* and *Listeria monocytogenes*. Journal of Food Protection, 69: 1046-1055.
- Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L. and Laroix, M. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli O157:H7*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Journal of Food Control, 18: 414-420.
- Palmer, A.S, Steward, J. and Fyfe, L. (2001). The potential application of plant essential oils as natural preservatives in soft cheese. Food Microbiology, 18: 463-470.
- Rozand, C., Ray-Gueniot, S., Ragot, C., Bavai, C., Mazuy, C. and Montet, M.P. (2002). Prevalence of *Escherichia coli O157:H7* in industrial minced beef. Letters in Applied Microbiology, 35: 7-11.

Archive of SID

www.SID.ir

- Sadler, G.D. and Murphy, P.A. (2003). pH and titratable acidity. In: Nielsen, S.S. (Editor.), Food analysis. 3rd Edition, New York, Springer Science and Business Media Publishers, pp. 207-225.
- Sharififar, F., Moshafi, M.H., Mansouri, S.H., Khodashenas, M. and Khoshnoodi, M. (2007). In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora Boiss*. Journal of Food Control, 18: 800-805.
- Shekarforoush, S.S., Nazer, A.H.K., Firouzi, R. and Rostami, M. (2007). Effects of storage temperatures and essential oils of oregano and nutmeg on the growth and survival of *Escherichia coli O157:H7* in barbecued chicken used in Iran. Journal Food Control, 18: 1428-1433.
- Solomakos, N., Govaris, A., Koidis, P. and Botsoglou, N. (2008). The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin and their combination against *Escherichia coli O157:H7* in minced beef during refrigerated storage. Jornal of Meat Science, 80: 159-166.

Archive of SID

www.SID.ir