

اثر اسانس آویشن شیرازی بر روی احتمال رشد ویبریو پاراهمولیتیکوس در محیط آبگوشت قلب و مغز

علی خنجری¹، افشین آخوندزاده بستی^{1*}، نوردهر رکنی¹، مهدی سلطانی²، شمسعلی رضازاده³، بهراد رادمهر⁴، راضیه پرتوی¹، ساناز چراغی⁶، حسین اسماعیلی⁵، فاطمه غلامی⁶، حسین غلامی⁶، محمدرضا محمدیان⁶، آیناز یمرلی⁶

1- گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

2- گروه بهداشت و بیماری های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

3- پژوهشکده گیاهان دارویی، جهاد دانشگاهی

4- گروه بهداشت مواد غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج

5- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

6- دانشجوی دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

(تاریخ دریافت: 89/5/22 تاریخ پذیرش: 89/7/22)

چکیده

نگهدارنده های شیمیایی معمولاً جهت کاهش یا حذف میکروارگانیسم های بیماری زا یا عامل فساد در مواد غذایی به کار می روند، استفاده بیش از حد آنها منجر به ایجاد باقی مانده های سمی و تاثیرات مضر در مصرف کنندگان می شود. بنابراین تحقیقات بسیاری جهت جایگزینی نگهدارنده های شیمیایی با انواع طبیعی آنها، بخصوص اسانس های گیاهی در حال انجام است. در این مطالعه لگاریتم درصد احتمال رشد ویبریو پاراهمولیتیکوس ATCC 43996 در محیط آبگوشت قلب و مغز متاثر از غلظت های مختلف اسانس آویشن شیرازی (صفر، 0/0025، 0/005، 0/015، 0/03 و 0/045 درصد) در طی 43 روز نگهداری در دمای 35 درجه سانتیگراد مورد مطالعه قرار گرفت. لگاریتم درصد احتمال رشد ویبریو پاراهمولیتیکوس بطور بسیار معنی داری (p < 0/001) تحت تاثیر غلظت های مختلف اسانس آویشن شیرازی قرار گرفت. بطوریکه در غلظت های 0/03% و 0/045% اسانس مذکور در هیچ یک از لوله ها رشدی مشاهده نشد و حداکثر لگاریتم درصد احتمال رشد برای آنها 4/241- بدست آمد. همچنین حداکثر لگاریتم درصد احتمال رشد در غلظت 0/015% در روز 15 و برابر با 1/761 بدست آمد درحالیکه در مورد غلظت های 0/005، 0/0025 و 0 اسانس آویشن شیرازی برابر با 3/902 به ترتیب در روزهای 19، 4 و صفر بدست آمد. بر اساس نتایج فوق لگاریتم درصد احتمال رشد با افزایش غلظت اسانس آویشن شیرازی کاهش یافت.

کلید واژگان: ویبریو پاراهمولیتیکوس، اسانس آویشن شیرازی، لگاریتم درصد احتمال رشد

1- مقدمه

برای به دست آوردن اسانس ها می توان از روش های مختلف شامل فشار، تبخیر یا عرق گیری استفاده کرد ولی روش معمول تجاری، تقطیر با بخار داغ¹ می باشد [1].

اسانس ها عموماً بی رنگ هستند ولی بر اثر مرور زمان رنگ آن ها به علت اکسیداسیون و رزینی شدن تیره می گردد، برای ممانعت از ایجاد چنین حالتی باید اسانس ها را در جای خشک و خنک و ظروف شیشه ای تیره نگهداری کرد. اسانس ها در آب نامحلول ولی در الکل، اتر و اغلب حلال های آلی محلول می باشند و وزن مخصوص آن ها معمولاً کمتر از آب است [10] و 1 [استفاده از افزودنیهای طبیعی به عنوان ترکیبات ضدباکتریایی، یک راه مناسب جهت کنترل باکتریهای بیماریزا و افزایش مدت ماندگاری مواد غذایی فرآوری شده می باشد که در نتیجه باعث کاهش خطرات بهداشتی و ضررهای اقتصادی ناشی از رشد میکروارگانیسمهای با منشأ غذایی می شود [10]. گیاه آویشن شیرازی گیاهی است که در خانواده نعنائیان² قرار دارد و بومی ایران، پاکستان و افغانستان می باشد [11].

2- مواد و روش کار

2-1- طرح کلی

بررسی اثرات اسانس آویشن شیرازی بر روی یکی از فاکتورهای رشدی یعنی لگاریتم درصد احتمال رشد ویبریو پاراهمولیتیکوس ATCC 43996 در محیط آبگوشت قلب و مغز متاثر از غلظت های مختلف اسانس (صفر، 0/0025، 0/005، 0/015، 0/03 و 0/045 درصد) در طی 43 روز نگهداری در دمای 35 درجه سانتیگراد.

2-2- تهیه اسانس و آنالیز آن

گیاه آویشن شیرازی از استان فارس در فصل تابستان جمع آوری گردید و توسط گیاه شناسان پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی علوم تهران تأیید نام علمی گردید. اسانس به

با وجود پیشرفتهای جدید در بهداشت و فناوری تولید غذا، اهمیت سلامت غذا به طور فزاینده ای در بهداشت عمومی افزایش یافته است [1]. طبق تخمین سازمان بهداشت جهانی سالانه 30 درصد افراد در کشورهای صنعتی از بیماریهای منتقله از طریق غذا رنج می برند و در سال 2000 میلادی در سراسر جهان حداقل 2 میلیون نفر در اثر بیماری اسهال جان خود را از دست داده اند [2]. جنس ویبریو متعلق به خانواده ویبریو ناسه می باشد. ویبریوها باکتری های میله ای شکل، گرم منفی، کاتالاز مثبت، بی هوازی اختیاری، متحرک (دارای تاژک قطبی) و فاقد اسپور می باشند [3]. ویبریو های بیماریزای روده ای در یک دامنه دمایی از 5 تا 43 درجه سانتیگراد و دمای متوسط 35 درجه سانتیگراد رشد می کنند. در درجه حرارت مناسب، رشد ویبریو پاراهمولیتیکوس بسیار سریع بوده و در محیط کشت آبگوشت و تحت شرایط مطلوب، زمان تکثیر کمتر از 8 تا 9 دقیقه خواهد بود [4]. این باکتری در آبهای ساحلی شمالی و جنوبی ایران و محصولات غذایی صید شده نیز گزارش شده است [5 و 6]. مصرف غذاهای دریایی خام و نیمه پخته آلوده به ویبریو پاراهمولیتیکوس منجر به گاستریت حاد در انسان می گردد [7 و 8].

امروزه مردم با توجه به اثرات مضر نگهدارنده های غذایی شیمیایی و سنتتیک خواهان استفاده از نگهدارنده های طبیعی بدست آمده از منابع گیاهی، حیوانی و میکروبی هستند تا علاوه بر افزایش زمان ماندگاری غذا از اثرات مضر نگهدارنده های غذایی شیمیایی مصون باشند [9]. اسانس ها ترکیبات روغنی گیاهی هستند که از مخلوط ترکیبات شیمیایی آلی فرار سنگین و چربی تشکیل شده اند. این مایعات روغنی بوده به علت تبخیر در مجاورت هوا در دمای طبیعی محیط روغن های فرار، روغن های اتری یا روغن اسانسی نامیده می شوند. اسانس ها در بسیاری از تیره های گیاهی شامل تیره ی کاج، برگ بو، نارنج، چتریان، نعنائیان و کاسنی ها و در قسمت های مختلف آن ها مثل شاخه، گل، غنچه، برگ، جوانه، پوست، ریشه، میوه و ... یافت می شود.

1. Steam distillation
2. Laminaceae

هر میلی لیتر با استفاده از سوبسترای آ بگوشت قلب و مغز همراه با ترکیب با فاکتورهای مورد نظر آزمایش، که در قسمت بعدی توضیح داده می شود، تهیه گردید. از مجموعه رقت های 10^5 تا 10^{-2} جهت تعیین لگاریتم درصد احتمال رشد باکتری⁴ استفاده شد.

2-5- تهیه مدل آ بگوشت قلب و مغز

ابتدا جهت تهیه آ بگوشت قلب و مغز پایه 37 گرم پودر محیط کشت آ بگوشت قلب و مغز را در 900 میلی لیتر آب مقطر در یک ارلن مایر با حرارت ملایم حل نموده و میزان 10 گرم نمک، 0/5 گرم آگار آگار (به عنوان تثبیت کننده برای تمام حالت ها) و 50 میلی لیتر دی متیل سولفوکساید⁵ (به عنوان امولسیون کننده برای تمام حالت ها) به آن اضافه نموده و در نهایت با استفاده از آب مقطر حجم آن را به 1000 میلی لیتر می رساندیم. پس از اتوکلاو (121 درجه سانتی گراد به مدت 15 دقیقه) و سرد شدن محیط، اسانس آویشن شیرازی در مقادیر مورد نظر جهت مطالعه اضافه گردید.

2-6- تلقیح آ بگوشت قلب و مغز و گرمخانه

گذاری

با استفاده از لوله کووت که حاوی $4/9 \times 10^6$ باکتری در هر میلی لیتر در محیط کشت آ بگوشت قلب و مغز داخل آن بود و 8 لوله در پیچ دار حاوی 9 میلی لیتر آ بگوشت قلب و مغز برای هر حالت از غلظت اسانس رقت های مورد نظر از 10^5 تا 10^{-2} باکتری در هر میلی لیتر به دست آمد. در مجموع 48 لوله در پیچ دار حاوی 9 میلی لیتر آ بگوشت قلب و مغز برای رقت های مختلف باکتری (از 10^5 تا 10^{-2}) و غلظت های مختلف اسانس آویشن شیرازی (صفر، 0/0025، 0/005، 0/015، 0/03، و 0/045 درصد) تهیه شد. سپس محتویات (9 میلی لیتر) هر یک از لوله های در پیچ دار استریل در قسمت های 3 میلی لیتری داخل سه لوله در پیچ دار (BectonDickson) استریل ریخته و به این ترتیب غلظت های مختلف اسانس آویشن

روش تقطیر با بخار از سر شاخه های هوایی گیاه تهیه گردید. پس از آن آنالیز اسانس بوسیله دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف نگار جرمی (GC/MS) انجام شد.

2-3- باکتری مورد مطالعه

باکتری استفاده شده در این مطالعه باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس ATCC 43996 می باشد. این باکتری لیوفیلیزه در محیط آ بگوشت قلب و مغز در 35 درجه سانتی گراد به مدت 6 ساعت حداقل 2 مرتبه به طور متوالی کشت داده شده، سپس از کشت دوم به نسبت 1 به 5 با گلیسرین استریل مخلوط و در حجم های 500 میکرولیتری در میکروتیوب های اپندروف در 20- درجه سانتی گراد نگهداری شده و برای هر آزمایش از این کشت های نگهداری شده در 20- درجه سانتی گراد استفاده می گردد و از این کشت دوم برای تحقیق استفاده می شود.

2-4- تهیه میزان تلقیح باکتری

ابتدا کشت نگهداری شده در 20- درجه سانتی گراد را به لوله در پیچ دار استریل حاوی 10 میلی لیتر آ بگوشت قلب و مغز منتقل و آن را در 35 درجه سانتی گراد به مدت 6 ساعت گرمخانه گذاری نموده سپس کشت دومی از این آ بگوشت 6 ساعت اول بر روی آ بگوشت قلب و مغز دیگر به مدت 6 ساعت در دمای 35 سانتی گراد صورت می گیرد. سپس مقادیر مختلفی از این کشت دوم به لوله های کووت³ حاوی 4 میلی لیتر آ بگوشت قلب و مغز منتقل شد تا جایی که لوله کووت جذب نوری 0/1 را در طول موج 600 نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Milton Ray Company, USA) نشان داد. سپس از این لوله کووت بر روی محیط کشت آگار قلب و مغز کشت داده شد تا میزان باکتری ها در هر میلی لیتر از آ بگوشت قلب و مغز در کووت مورد نظر به دست آمد که این میزان برابر با تعداد $4/9 \times 10^6$ باکتری در هر میلی لیتر بود. سپس همانگونه که در قسمت های بعدی بیان می شود از این کووت حاوی $4/9 \times 10^6$ باکتری در هر میلی لیتر سریال های رقت 8 تایی از 10^5 باکتری در هر میلی لیتر تا 10^{-2} باکتری در

4. Log Probability percentage(LP%)
5. Dimethyl Sulfoxide(DMSO)

3. Cuvett

3- نتایج

نتیجه آنالیز ترکیبات اسانس آویشن شیرازی مورد استفاده با استفاده از GC/MS در جدول شماره 1 آمده است. همانطور که در جدول آمده بیشترین ترکیب تشکیل دهنده اسانس آویشن شیرازی کارواکول است.

جدول 1 آنالیز ترکیبات اسانس آویشن شیرازی مورد استفاده با استفاده از گاز کروماتوگراف طیف نگار جرمی

شیرازی به دست آمد که در دمای مطالعه یعنی 35 درجه سانتی گراد به مدت 43 روز نگهداری شد. طی این مدت تمام لوله‌ها جهت مشاهده کدورت قابل رؤیت مورد بررسی قرار گرفت و نتیجه مشاهده شده ثبت گردید.

از آنجائیکه روش 24 لوله ای شمارش بیشترین تعداد احتمالی (Most probable number MPN) برای تعیین لگاریتم درصد احتمال رشد ویبریو پارا همو لیتیکوس به کار رفت. در این روش، در هر یک از لوله‌های در پیچ دار، بطور استریل در قسمت‌های مساوی 3 میلی لیتری در داخل 3 لوله سرپوش دار (BectonDickson 16×100mm) استریل ریخته شد و بدین ترتیب $24 = 3 \times 8$ لوله برای هر غلظت اسانس داشتیم. این مجموعه‌های 24 لوله ای را در دمای 35 درجه سانتیگراد به مدت 43 روز گرمخانه گذاری کردیم. در طی این مدت 26 دفعه (صفر، 1، 2، 3، 4، 23، 25، 27، 29، 31، 33، 35، 37، 40، 19، 21، 15، 17، 15،

5، 6، 7، 8، 9، 11، 13، 43) تمام لوله‌ها جهت مشاهده کدورت رشدی قابل رویت مورد بررسی قرار گرفتند.

2-7- محاسبه لگاریتم درصد احتمال رشد

لگاریتم درصد احتمال رشد از روی تعداد لوله‌های مثبت (دارای کدورت قابل رویت) در طی 43 روز نگهداری، از فرمول $\text{LogP}\% = 2 - (\log I - \log \text{MPN})$ محاسبه شد [12]. که در این فرمول $\log I$ میزان تلقیح در یک میلی لیتر و $\log \text{MPN}$ لگاریتم تعداد احتمالی باکتری‌ها در یک میلی لیتر است.

2-8- آنالیز آماری و انتخاب مدل پیشگو

اثرات اسانس آویشن شیرازی بر روی لگاریتم درصد احتمال رشد باکتری با استفاده از آنالیز واریانس دوطرفه ANOVA با کمک نرم افزار SPSS ارزیابی گردید.

لوله ها به ترتیب در روزهای 19، 4 و صفر کدورت را نشان

نام ترکیب	اندیس	درصد
Thujene	930	0/19
Alpha-pinen	937	4/26
Beta-pinen	976	0/43
Beta-myrcene	985	0/85
Eu caliptol	1024	3/37
Gama-terinen	1055	7/24
Lina lool	1090	0/68
Thymol methyl ether	1236	0/47
Carvacrol methylether	1243	0/46
Carvacrol	1299	71/12
Trans-carfyophllen	1418	0/41
Globulol	1582	32/2
جمع	---	91/90

روز D	حداکثر لگاریتم درصد احتمال رشد	غلظت اسانس آویشن شیرازی (درصد)
0	3/902	0
4	3/902	0/0025
19	3/902	0/005
15	1/761	0/015
>43	-4/241	0/03
>43	-4/241	0/045

نتایج حداکثر درصد احتمال رشد ویبریو پاراهمولیتیکوس در آبگوشت قلب و مغز متاثر از غلظت های مختلف (صفر، 0/0025، 0/005، 0/015، 0/03، 0/045، درصد) اسانس مذکور در طی 43 روز نگهداری در جدول شماره 2 آمده است. در این جدول D، روز رسیدن به حداکثر درصد احتمال رشد می باشد.

تاثیر معنی دار ($p < 0/001$) غلظت های مختلف اسانس بر روی درصد احتمال رشد با استفاده از آنالیز واریانس نشان داده شد.

همانطور که در جدول شماره 2 نشان داده شده است اسانس آویشن شیرازی دارای تاثیر معنی داری بر لگاریتم درصد احتمال رشد ویبریو پاراهمولیتیکوس می باشد. بطوریکه در غلظت های 0/03% و 0/045% اسانس مذکور در هیچ یک از لوله ها رشدی مشاهده نشد و حداکثر لگاریتم درصد احتمال رشد برای آنها -4/241 بدست آمد. همچنین حداکثر لگاریتم درصد احتمال رشد در غلظت 0/015% در روز 15 و برابر با 1/761 بدست آمد در حالیکه در مورد غلظت های 0/005 و 0/0025 اسانس آویشن شیرازی و غلظت 0 (کنترل) اسانس مذکور تمام

دادند و حداکثر لگاریتم رشدی برای حالت های مذکور برابر با 3/902 محاسبه شد.

جدول 2 حداکثر درصد احتمال رشد ویبریو پاراهمولیتیکوس در آبگوشت قلب و مغز متاثر از غلظت های مختلف اسانس آویشن شیرازی در طی 43 روز گرمخانه گذاری در دمای 35 درجه سانتیگراد و D روز رسیدن به حداکثر لگاریتم درصد احتمال رشد

مطالعات باگامبولا و همکاران (2004) روی اثر اسانس آویشن و ترکیبات کارواکروول و تیمول بر باکتری شیگلا نشان داد که این ترکیبات اثر باکتروسیدی بر این باکتری دارند [19].

یوتوکا و همکاران (2006) اثرات ضد باکتریایی 18 گونه گیاهی را در ترکیب با حرارت و مواد مغذی روی ویبریو پاراهمولیتیکوس مطالعه نمودند. نتایج آنها نشان داد که فقط گیاهان رزماری، مرزنگوش، سیر، ترب کوهی، میخک، اورگانو، ریحان و آویشن اثرات ضد میکروبی در دمای نگهداری 30 درجه سانتی گراد دارند. کمترین MIC برای میخک و مرزنجوش در یک محیط غنی از مواد مغذی برابر 0/125 درصد بدست آمد. کاهش دمای نگهداری، به جز در مورد زردچوبه، تأثیر اندکی بر MIC داشت. در محیط با مواد مغذی کم، کمترین MIC در مورد مرزنگوش در دمای 30 و 5 درجه سانتی گراد به ترتیب 0/001 درصد و 0/00025 درصد بود. حساسیت به ادویه های مختلف در بین سروتپهای بالینی مختلف یکسان بود. [20]

در مطالعه ای که توسط رضویلر و همکاران (2007) در مورد اثرات اسانس آویشن، اسید استیک، درجه حرارت و زمان نگه داری بر روی احتمال رشد یک سلول و سلول های مورد نیاز سالمونلا تیفی موریوم در محیط آبگوشت قلب- مغز صورت گرفت نشان داده شد که اسانس آویشن احتمالا می تواند به عنوان یک نگه دارنده و ضد باکتری مناسب لاقط علیه برخی از باکتری های گرم منفی از جمله باکتری های مورد مطالعه در برخی از مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرد [21].

ووداکول ۷ و همکاران (2007) با استفاده از تکنیک Disc Diffusion، فعالیت ضد میکروبی عصاره تازه گالانگال ۸، لیمو و سیر را با غلظت 10 میکرولیتر در هر دیسک بر سویه پاندمیک ویبریو پاراهمولیتیکوس مورد مطالعه قرار دادند نتایج کار این محققین حاکی از مهار رشد ویبریو پاراهمولیتیکوس بوسیله این سه عصاره بود و گالانگال هیچگونه اثری بر اشیریشیا کولی و استافیلوکوکوس اورئوس نداشت. [22]

بوچات ۹ (2008) رشد ویبریو پاراهمولیتیکوس را در محیط کشت حاوی اسانسهای آویشن، مرزنجوش و ساسافراس ۱۰

4- بحث

امروزه مردم با توجه به اثرات مضر نگهدارنده های غذایی شیمیایی و سنتتیک خواهان استفاده از نگهدارنده های طبیعی مشتق از منابع گیاهی، حیوانی و میکروبی هستند تا علاوه بر افزایش زمان ماندگاری غذا، از اثرات مضر نگهدارنده های شیمیایی مصنوع باشند. در آخرین گزارش های معتبر در منابع علمی مشخصات ضد میکروبی ترکیبات متنوعی از گیاهان، ادویه ها، میوه ها، سبزیجات، برگها، پوست درختان و بافتهای حیوانی ارائه شده است [13-15].

از مدتها قبل از اسانسهای گیاهی بعنوان عوامل طعم دهنده در مواد غذایی و نوشیدنیها استفاده می شود، همچنین بدلیل داشتن ترکیبات ضد میکروبی مختلف آنها بعنوان نگهدارنده های طبیعی در مواد غذایی مطرح می باشند [1].

مطالعات بسیاری در مورد خواص ضد باکتریایی خانواده نعنائیان (که آویشن شیرازی هم جزو این خانواده است) انجام شده که به برخی از آنها اشاره می شود.

سینگ و همکاران (2002) گزارش دادند که اسانس گیاه آویشن بر روی اشیریشیا کولی انتروهومورازیک اثر باز دارندگی دارد. از بین ترکیبات اسانس آویشن تیمول و کارواکروول به عنوان عوامل مؤثر نام برده شده اند [16].

رسولی و همکاران (2002) اثرات باکتروسیدی اسانس آویشن (با میزان بالای کارواکروول) بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و اشیریشیا کلای را نشان دادند و علت اثر باکتروسیدی قوی اسانس مورد مطالعه را میزان بالای کارواکروول موجود در اسانس بیان داشتند [17].

مطالعه ی بنیادین و کریم (2003) روی تأثیر روغن های فرار برخی گیاهان (پونه، نعناع، ترخان، زیره و آویشن) بر روی باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و اشیریشیا کلای در محیط کشت مایع، نشان داد که بیشترین اثر را روغن فرار آویشن بر روی این دو باکتری داراست به طوری که حداقل غلظت مهار کننده عصاره این گیاه برای باکتری های مذکور به ترتیب 0/1 و

0/05 درصد بود [18]

7. Vuddhakul
8. Galangal
9. Buchat
11. Sassafras

- [5] Soltani M, Kakoolaki sh, kisami M. 2001. Isolation and identification of dominant vibrio species in farmed prawn of heleh station. Bushehr . Journal of veterinary faculty of Tehran. 55: 29-32
- [6] Amirmozafari, N., Fororesh, H., Halakoo, 2005. Occurrence of Pathogenic Vibrios in Coastal Areas of Golestan Province in Iran. Archive Razi Institute. 60 :33-44.
- [7] Barker, W. H., and E. J. Gangarosa. 1974. Food poisoning due to *Vibrio parahaemolyticus*. Annual Review of Medicine. 25:75-81.
- [8]. Blake, P. A., R. E. Weaver, and D. G. Hollis. 1980. Diseases of humans (other than cholera) caused by vibrios. Annual Review. Microbiology. 34:341-367.
- [9] Juncioni de Arauz, L., A. Faustino Jozala., P. GavaMazzola, and T.Ch.Vessonipenna., 2009. Nisin biotechnological production and application:A review.2009.Trend. Food Science Technology. 20: 146-154.
- [10] Oussalah M, Caillet S, Saucier L, Lacroix 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. Food Control. 18: 414 – 420.
- [11] Iranian Herbal Pharmacopoeia Commission.2003. First edition. Ministry of Health, Treatment and Medical Education.1.51-56
- [12] A. Akhondzadeh-Basti, V. Razavilar, A. Misaghi, B. Radmehr, R. Abbasifar, D. Yazdani, S. Akhondzadeh. Effect of Zataria multiflora Boiss. essential oil on probability of growth initiation of Staphylococcus aureus in a brain heart infusion broth. Journal of Medicinal Plants. 2004; 3(10).

مورد بررسی قرار داد و بیان کرد که هر سه اسانس مذکور در سطح 100 میکروگرم بر لیتر باکتریسیدال بودند [23].

در مطالعه ای که توسط خاززادی و همکاران در مورد اثرات اسانس آویشن، اسید استیک، درجه حرارت و زمان نگه داری بر روی احتمال رشد کلستریدیوم بوتولینوم تیپ A در محیط آبگوشت قلب- مغز صورت گرفت نشان داده شد که لگاریتم درصد احتمال رشد باکتری و حداقل تعداد باکتری مورد نیاز جهت شروع رشد ۱۱ به طور معنی داری ($p < 0/05$) تحت تأثیر غلظت های مختلف اسانس، سطوح PH و دمای نگهداری قرار گرفت. طبق نتایج به دست آمده لگاریتم درصد احتمال رشد کلستریدیوم بوتولینوم تیپ A با افزایش غلظت اسانس، کاهش PH و کاهش دمای نگهداری، کاهش پیدا می کند. [24]

با توجه به نتایج بدست آمده از مطالعه اخیر چنین نتیجه گیری می شود که اسانس آویشن شیرازی بصورت بسیار معنی دار ($p < 0/001$) دارای توانایی جلوگیری از رشد ویبریو پارا همو لیتیکوس را می باشد که این توانایی رابطه مستقیم با افزایش غلظت اسانس آویشن شیرازی دارد.

5- منابع

- [1] Burt, S. 2004. Essential oils: their antimicrobial properties and potential applications in foods – a review. International Journal of food microbiology, 94: 233-253.
- [2] WHO 2002. Food safety and Foodborne Illness. World Health Organization. Fact sheet 237, revised January 2002 – Geneva.
- [3] Bhunia, A.K. 2008. Foodborne Microbial Pathogens Mechanisms and Pathogenesis. Food science text series, Springer publication. 241-248
- [4] Chia Yin Lee, Shwu Fen Pan, Chien-Hsien Chen. 1995. Sequence of a Cloned pR72H Fragment and its use for Detection of *Vibrio parahaemolyticus* in shelfish with the PCR. Applied and Environmental Microbiology.61(4): 1311-1317.

- cymene towards shigella sonnei and S.flexneri. Food microbiology, 21: 32-42.
- [20] Yutaka, Y.S.M., Oikawa, H. 2006. Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*. International Journal Food Microbiology. 111: 6-11.
- [21] Razavilar V., Akhoundzadeh Basti A., Abbasifar R., Radmehr B. 2006. Effect of *zataria multiflora* boiss essential oil, acetic acid, temperature and storage time on probable growth of salmonella typhimurium in Brain heart infusion broth. Journal of veterinary research. 61(2):135-141.
- [22] Vuddhakul, B.P., Hayeebilan, F., Subhadrasakul, S. 2007. Inhibitory activity of Thai condiments on pandemic strain of *Vibrio parahaemolyticus*. Food Microbiology. 24: 413-418
- [23] Beuchat, L.R. 2008. Sensitivity of *Vibrio parahaemolyticus* to spices and organic acids. Journal of Food Science. 41: 899-902.
- [24] Khanzadi S., Razavilar V., Akhoundzadeh Basti A., Jamshidi E. 2007. Effect of *zataria multiflora* boiss essential oil, acetic acid, temperature and storage time on probability of growth initiation of *clostridium botulinum* type A in brain heart infusion broth. Iranian food science and technology research journal. 2007; 2(2):23-31.
- [13] Cowan, M.M., 1999. Plant product as antimicrobial agent. Clinical Microbiology Reviews, 12: 564-582
- [14] Gould .G.W, (1996), Method for preservation and extension of shelf life. International Journal of food Microbiology. 33: 51-64
- [15] Lemay M J, Choquette .J., Delaquis P J, Gariépy C Rodrigue N, Saucier L, (2002) Antimicrobial effect of natural preservatives in a cooked and acidified chicken meat model. International Journal of Food Microbiology, 78: 217-226.
- [16] Singh, N. Singh, R.K. Bhunia, A.K and Stroshine, R.L. 2002. Efficacy of Chlorine Dioxide, Ozone, and Thyme Essential Oil or a Sequential Washing in Killing *Escherichia coli* O157:H7 on Lettuce and Baby Carrots. Lebensmittel-Wissenschaft and Technology. 35: 720-729
- [17] Rasooli, I. and Mirmostaf, S.A. 2002. Antimicrobial properties of *Thymus pubscens*, *Thymus sepylum* essential oils. Fitoterapia, 73: 244- 250.
- [18] Bonyadian M, Karim G. 2003. Study of effects of some plant extracts on *E.coli* and *S.aureus* in broth medium. Journal of veterinary faculty of Tehran. 57(4): 81-83.
- [19] Bagambula, C.F., Uyttendaele, M. and Debever, J., 2004. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and P-

Effect of *zataria multiflora* Boiss. essential oil on log p% of *Vibrio parahaemolyticus* in BHI broth

Khanjari, A. ¹, Akhondzadeh Basti, A. ^{1*}, Dahr Rokni, N. ¹, Soltani, M. ², Rezazadeh, ².
Behrad Radmehr, SH. A. ³, Partovi, R. ¹, Cheraghi, S. ⁶, Esmaili, H. ⁵, Gholami, F. ⁶,
Gholami, H. ⁶, Mohamadian, M. R. ⁶, Yamrali, A. ⁶

1. Department of Food hygiene, Faculty of veterinary medicine, University of Tehran

2. Aquatic animals health and diseases, Faculty of veterinary medicine, University of Tehran

3. Institute of medicinal plants(ACECR)

4. Department of Food hygiene, Faculty of veterinary medicine, Islamic azad university, Branch Karaj

5. Department of pathobiology , Faculty of veterinary medicine, University of Tehran

6. Undergraduate student of veterinary medicine, Faculty of veterinary medicine, University of Tehran

(Received:89/5/22 Accepted: 89/7/22)

Chemical preservatives are usually used to reduce or eliminate pathogenic or spoilage microorganisms but their inordinate applications have resulted in toxigenic residuals and adverse effects on consumers, So many researches have been done to substitute the chemicals with naturally occurring compounds, especially plant essential oils. In this study log P% of *vibrio parahaemolyticus* ATCC 43996 with different concentrations of *zataria multiflora* Boiss essential oil (0, 0.0025, 0.005, 0.015, 0.03 and 0.045%) in BHI broth during incubation at 35° C for 43 days was investigated. Log P% of *vibrioparahaemolyticus* was affected very significantly($p < 0.001$) with all concentrations of *zataria multiflora* Boiss. Essential oil

* Corresponding Author E-Mail address: aakhond@ut.ac.ir

Vibrio parahaemolyticus wasn't grow In any tubes of 0.03 and 0.045% concentrations of essential oil and maximum of log p% was calculated as -4.241. Maximum log P% of this bacterium in 0.015% concentration of essential oil was achieved at 15th day and was 1.761, whereas the maximum log p% for 0.005, 0.0025 and 0 concentrations of essential oil that was 3.902, were achieved at 19th, 4th and 0 day. In conclusion the log P% of *vibrio parahaemolyticus* was decreased by increasing of *zataria* essential oil concentrations.

Key words: *Vibrio parahaemolyticus*, *zataria multiflora* Boiss. essential oil, log p%