

Antibacterial effects of essence of Bene tree fruit on *Clostridium perfringens* in laboratory environment and on meat product

Soltan Dallal MM¹, Faraji M², Mirahmadi F³

1. Professor of Microbiology, Food Microbiology Research Center/ Division of Microbiology, Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran, (Corresponding Author) Tel: +98-21-88992971, Email: msoltandallal@gmail.com

2. MSc Student of Food Microbiology, Devison of Food Microbiology, Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

3. Instructor, Department of Food Industrial, Azad University, Branch of Sanandaj, Sanandaj, Iran.

ABSTRACT

Background and Aim: Essence of *P. atlantica* Subsp. Kurdica fruit or wild pistachios have been recognized as an anti- microbial compound against most of microorganisms. The purpose of this study was to determine the anti-microbial activity of the essence of *P. atlantica* Subsp. Kurdica fruit on *Clostridium perfringens* in laboratory environment and meat products.

Material and Method: The anti-microbial effects of the essence of *P. atlantica* Subsp. Kurdica fruit on *Clostridium perfringens* was evaluated by determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). Then MBC of the essence was added to the processed foods (hot dog and kielbasa) in order to reduce anaerobic microbes especially Clostridium. Using SAS software, data were analyzed by chi-square test. $p < 0/05$ was considered significant.

Results: The results showed that MIC for *Clostridium* bacteria was 250 milligrams per liter. MBC of *P. atlantica* Subsp. Kurdica essence for *Clostridium* bacteria was 500 milligrams per liter. Use of 500 milligrams per liter of *P. atlantica* Subsp. Kurdica essence in the food products such as hot dogs had bactericidal effect on Clostridium bacteria.

Conclusions: The essence of *P. atlantica* Subsp. Kurdica in the food product such as hot dogs had inhibitory and anti-bacterial effects on *Clostridium*. This essence had no positive effect on the taste of food product. This problem can be solved by purification and decolorization. It can be used as a drug or remedy for the treatment of *Clostridium* infection or poisoning.

Keywords: *P. atlantica* Subsp. Kurdica fruit essence, *Clostridium perfringens*, Minimum inhibitory concentration (MIC), Hot dogs and sausages, Organoleptic properties

Receivied: Sep 17, 2018

Accepted: Feb 20, 2019

How to cite the article: Soltan Dallal MM, Faraji M, Mirahmadi F. Antibacterial effects of essence of Bene tree fruit on *Clostridium perfringens* in laboratory environment and on meat product. SJKU 2019; 24 (1): 112-121.

Copyright © 2019 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBY-NC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal.

بررسی اثرات ضدباکتریایی اسانس میوه درخت بنه بر روی باکتری کلوستریدیوم پرفرنجنس در محیط آزمایشگاهی و سوسیس

محمد مهدی سلطان دلالت^۱، محمد فرجی^۲، فردین میر احمدی^۳

۱. استاد میکروبی شناسی، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی/بخش میکروبی شناسی غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران، (نویسنده مسئول) تلفن ثابت: ۰۲۱-۸۸۹۹۲۹۷۱، ایمیل: msoltandallal@gmail.com

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبی شناسی مواد غذایی، بخش میکروبی شناسی غذایی، گروه پاتو بیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران.

۳. مربی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنجند، سنجند، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: اسانس میوه درخت بنه یا پسته وحشی به عنوان ترکیب ضد میکروبی در مقابل اکثر میکروارگانیسم ها شناخته شده است. هدف از این تحقیق تعیین فعالیت ضد میکروبی اسانس میوه درخت بنه بر روی باکتری کلوستریدیوم پرفرنجنس در محیط آزمایشگاهی و فراورده های گوشتی میباشد.

روش بررسی: در این تحقیق اثرات ضد میکروبی اسانس میوه درخت بنه بر روی کلوستریدیوم پرفرنجنس، به روش تعیین غلظت ممانعت کنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) مورد ارزیابی قرار گرفت. در مرحله بعد بررسی استفاده از حداقل غلظت کشنده از اسانس به عنوان ترکیب ضد باکتری به فرآورده غذایی (سوسیس) برای کاهش میکروب های بی هوازی به خصوص کلوستریدیوم انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون کای اسکوئر و نرم افزار SPSS استفاده شده و موارد $p < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها: نتایج نشان داد که حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) برای باکتری کلوستریدیوم برابر ۲۵۰ میلی گرم بر لیتر است. حداقل غلظت کشندگی (MBC) در اسانس بنه برای باکتری کلوستریدیوم برابر ۵۰۰ میلی گرم در لیتر بود. در غلظت ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر اسانس میوه بنه بر روی باکتری کلوستریدیوم پرفرنجنس در نمونه های سوسیس تولیدی اثر کشندگی داشت.

نتیجه گیری: اسانس میوه درخت بنه بر روی باکتری کلوستریدیوم پرفرنجنس دارای خاصیت بازدارندگی در محیط آزمایشگاهی و در سوسیس های تولیدی داشته، ولی بر روی طعم آن اثر مثبتی نداشته که این مسئله را می توان با خالص سازی و رنگ بری حل کرد، و یا از آن می توان به عنوان دارو و درمان عفونت یا مسمومیت ناشی از این باکتری استفاده کرد.

واژگان کلیدی: اسانس میوه درخت بنه، کلوستریدیوم پرفرنجنس، حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)، سوسیس، خصوصیات ارگانولپتیک

وصول مقاله: ۹۷/۶/۲۶ اصلاحیه نهایی: ۹۷/۹/۲۶ پذیرش: ۹۷/۱۲/۱

مقدمه

گیاهان دارویی^۱ به گیاهانی گفته می‌شود که دارای مواد مؤثره^۲ مشخصی باشند و در درمان بیماری یا پیشگیری از بروز آن در انسان یا دام مورد استفاده قرار گیرند و همچنین نام آن‌ها در یکی از فارماکوپه‌های^۳ معتبر بین‌المللی ذکر شده باشند(۱).

از زمانهای قدیم تاکنون گیاهان دارویی به دلیل داشتن اسانس، نقش مهمی در سلامتی انسان داشته‌اند. گیاهان دارویی از منابع مهمی هستند که از گذشته‌های دور مورد توجه انسان بوده‌اند و با افزایش آگاهی‌ها و پیشرفت علوم، اطلاعات پیرامون گیاهان دارویی افزایش یافته است. تحقیقات امروزی نشان داده است که ترکیبات مختلف با اثرات متفاوتی در گیاهان وجود دارد و در اکثر موارد اثرات درمانی گیاه مربوط به این ترکیبات می‌باشد(۲). تجربه چند دهه اخیر نشان داده است که مواد صناعی با تمام کارایی‌های مورد توجه، اثرات نامطلوب و ناخواسته بسیاری به همراه دارند و به همین دلیل توجه محققان به تحقیقات و آزمایشات بر روی گیاهان برای جایگزین کردن آنها معطوف گشته است. گیاهان دارویی به علت وجود مواد مؤثره طبیعی و همراه بودن این مواد مؤثره با مواد دیگر تعادل بیولوژیک ایجاد کرده و از انباشته شدن مواد دارویی در بدن جلوگیری می‌کنند. عوارض جانبی کم و یا فقدان عوارض جانبی داروهای با منشأ گیاهی در دهه‌های اخیر، توجه جهانیان و محققان به این داروها را به خود جلب کرده است(۳).

درخت بنه به عنوان منبع تولید رزین (صمغ) یکی از گونه‌های رستنی در سلسله جبال زاگرس و بویژه استان

کردستان مطرح می‌باشد(۴). نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد که رزین گونه‌های پیستاسیا^۴ بر روی باکتری‌های مختلفی از گرم مثبت و منفی حتی کپک و مخمر اثر کشندگی دارد(۵).

اگر چه داروهای شیمیایی به‌طور سریع اثر بخشند، ولی اکثر آنها عوارض جانبی نامطلوبی بر بدن انسان بر جای می‌گذارند. در حالی که مواد دارویی حاصل از گیاهان با آن که به تدریج تأثیرگذار می‌باشند، دارای اثرات مفیدی بوده و چندان اثرات جانبی ندارد. مواد مؤثره گیاهان، به خصوص عطریات و اسانس‌ها، موارد استفاده متعدد و متفاوتی در صنایع لوازم آرایش، صنایع مواد شیمیایی خانگی دارند، به طوری که بدون حضور مواد مؤثره مذکور، ساخت و تهیه بسیاری از محصولات امکان‌پذیر نخواهد بود(۶).

در حال حاضر در ایران بیش از پنج هزار واحد عطاری فعالیت دارند و حدود صد تا دویست گونه گیاهی موجود در ایران نیز به عنوان داروی گیاهی برجسته شناخته شده و توسط وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی برای تهیه و تولید گیاهان دارویی معرفی شده است(۷).

مدل‌های مختلفی در مطالعات گوناگون به منظور بررسی اثرات ضد باکتریایی و نگهدارندگی اسانس‌های گیاهی استفاده شده است. در برخی از این روش‌ها از مدل‌های آزمایشگاهی مثل محیط کشت و در برخی دیگر از مدل‌های غذایی برای بررسی اثرات ضد باکتریایی اسانس‌ها استفاده شده است(۸-۱۱).

در واقع قرن‌ها است که مواد مؤثره استخراج شده از گیاهان و ادویه‌ها توسط مصریان باستان و کشورهای آسیایی مانند چین و هند استفاده می‌شوند، اما در طول سال‌های اخیر کاربردهای دارویی این ترکیبات نسبت به ایجاد طعم و بو

1 Medicinal plants

2 Active substances

3 Pharmacopoeia

4 Pistacia

محیط کشت رین فورست کلوستریدیوم براث^۷ (RCB) ۳.۸ گرم از پودر این محیط کشت را در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل گردید و سپس ظرف به خوبی تکان داده شد تا زمانی که پودر به طور کامل حل گردید. سپس سر ارلن را با پنبه و فویل آلومینیومی پوشانده و روی حرارت گذارده تا بجوشد و کاملاً یک نواخت شود. سپس محلول اتوکلاو شد.

فعال سازی سوش باکتری:

سوش باکتری کلوستریدیوم پرفرنجنس با کد PTCC 1765 و ATCC 13124 و با تاریخ تولید ۹۴/۸/۲۵ از مرکز منطقه ای کلکسیون قارچ ها و باکتری های صنعتی ایران خریداری شد و با توجه به دستورالعمل ارسالی توسط خود سازمان تامین کننده سوش باکتری در محیط کشت تعیین شده توسط سازمان (RCB) ۵۷ فعال و کشت داده شد. بدین صورت که ابتدا آمپول حاوی میکروارگانیسم مورد نظر با احتیاط کامل در شرایط استریل و در زیر هود لامینار فلو شکسته شد. سپس با استفاده از سمپلر حدود نیم میلی لیتر از محیط کشت مایع استریل مناسب (رین فورست کلوستریدیوم براث) به آن اضافه شد تا سوسپانسیون باکتری حاصل شود. سپس بخش اعظم سوسپانسیون حاصل شده از باکتری، به محیط کشت رین فورست کلوستریدیوم براث منتقل گردید و مقدار کمی از سوسپانسیون نیز به محیط رین فورست کلوستریدیوم آگار که توسط سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران در مورد این سویه پیشنهاد شده بود، منتقل شد. سپس به جاری هی هوازی همراه با گاز پک مرطوب در دمای ۳۷ درجه سلیسیوس به مدت ۴۸ ساعت گرم خانه گذاری شد.

از کلنی های تشکیل شده با روش های کشت خطی و با بکار گیری محیط کشت اختصاصی کشت تهیه گردید و سپس جهت اطمینان بیشتر از باکتری رنگ آمیزی گرم

توسط آنها در درجه دوم اهمیت قرار گرفته است، با این وجود در حال حاضر همچنان در هند برخی از ادویه ها مانند میخک، دارچین، خردل، سیر، زنجبیل و نعنا به عنوان نسخه های سلامتی استفاده می شوند (۱۲). با توجه به عدم مطالعه اسانس شیره بنه بر روی کلوستریدیوم پرفرنجنس در محصولات گوشتی، این مطالعه با هدف بررسی اثرات ضدباکتریایی اسانس میوه درخت بنه بر روی باکتری کلوستریدیوم پرفرنجنس^۵ در محیط آزمایشگاهی و سوسیس انجام شده است.

روش بررسی

این مطالعه از نوع تجربی و آزمایشگاهی و برای تعیین خاصیت ضد باکتریایی اسانس میوه درخت بنه از روش filter paper disc diffusion Method برای تعیین قطر هاله رشد و برای تعیین فاکتور MIC و MBC از روش Liquid broth culture استفاده گردید.

جمع آوری و خشک کردن گیاه:

ابتدا میوه درخت از ارتفاعات کردستان در ماه اردیبهشت جمع آوری و به هر بار یوم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان کردستان انتقال داده شدند، تا از نظر گیاه شناسی تایید شوند. سپس نمونه های به روش خشک کردن طبیعی به مدت ۲ - ۳ هفته در سایه و هوای آزاد خشک شدند.

اسانس گیری:

اسانس گیری با استفاده از روش تقطیر با آب^۶ با استفاده از دستگاه کلونجر (British Pharmacopea) انجام شد.

محیط های کشت

آماده سازی محیط کشت بر طبق دستورالعمل تجاری نوشته شده بر روی بسته صورت گرفت. به عنوان مثال جهت تهیه

⁵ Clostridium perfringens

⁶ Hydrodistillation

⁷ Reinforced Clostridial Broth(RCB)

کیلوگرم ادویه و مقداری یخ نیز به گوشت اضافه کرده و پس از مخلوط شدن در کاتر، ۱۵ کیلوگرم آرد و ۴ کیلوگرم گلوتن همراه مقدار دیگری یخ به مخلوط درون کاتر اضافه شد. پس از اینکه خمیر درون کاتر به خوبی مخلوط و یکدست شد، ۲۰ گرم پودر اسید آسکوربیک را در مقداری کمی آب حل کرده و به امولسیون تشکیل شده در کاتر اضافه شد. امولسیون حاصل خمیری یک دست و روان بوده و دمای آن در پایان کار حداکثر ۱۲ درجه سلسیوس بود. مخلوط فارش سوسیس در کارخانه بیستون کرمانشاه تهیه و به آزمایشگاه انتقال یافت. از فارش سوسیس بدون نیترات مقدار ۳۰۰ گرم با ۳۰ میلی لیتر سوسپانسیون حاوی کلستریدیوم پرفرنجنس باکتری مخلوط و بر روی محیط پلیت کانت آگار کشت داده شد. از مخلوط آلوده فوق نیز به منظور کنترل غلظت کلستریدیوم پرفرنجنس در محیط کشت سولفیت پلی میکسین سولفادیازین آگار^{۱۰} (SPS agar) کشت به عمل آمد. در مرحله بعد تحت شرایط استریل، ۹۰ گرم از مخلوط فارش آلوده، تزیق و به آن ۸۰ PPM نیترات سدیم به عنوان شاهد اضافه و به طور کامل مخلوط شد. سپس ۹۰ گرم از مخلوط فارش آلوده توزین و به آن ۹ گرم پودر اسانس بنه اضافه و به طور کامل مخلوط شد. تمامی نمونه ها در اندازه های ۱۰ گرمی در ظروف مورد نظر پر و به یخچال ۶ درجه سلسیوس انتقال داده شدند. در در دوره های زمانی صفر (روز اول انجام کار و پس از تلقیح) ۱۵، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰، ۱۰۰، ۱۱۰، ۱۲۰، ۱۳۰، ۱۴۰، ۱۵۰، ۱۶۰، ۱۷۰، ۱۸۰، ۱۹۰، ۲۰۰، ۲۱۰، ۲۲۰، ۲۳۰، ۲۴۰، ۲۵۰، ۲۶۰، ۲۷۰، ۲۸۰، ۲۹۰، ۳۰۰، ۳۱۰، ۳۲۰، ۳۳۰، ۳۴۰، ۳۵۰، ۳۶۰، ۳۷۰، ۳۸۰، ۳۹۰، ۴۰۰، ۴۱۰، ۴۲۰، ۴۳۰، ۴۴۰، ۴۵۰، ۴۶۰، ۴۷۰، ۴۸۰، ۴۹۰، ۵۰۰، ۵۱۰، ۵۲۰، ۵۳۰، ۵۴۰، ۵۵۰، ۵۶۰، ۵۷۰، ۵۸۰، ۵۹۰، ۶۰۰، ۶۱۰، ۶۲۰، ۶۳۰، ۶۴۰، ۶۵۰، ۶۶۰، ۶۷۰، ۶۸۰، ۶۹۰، ۷۰۰، ۷۱۰، ۷۲۰، ۷۳۰، ۷۴۰، ۷۵۰، ۷۶۰، ۷۷۰، ۷۸۰، ۷۹۰، ۸۰۰، ۸۱۰، ۸۲۰، ۸۳۰، ۸۴۰، ۸۵۰، ۸۶۰، ۸۷۰، ۸۸۰، ۸۹۰، ۹۰۰، ۹۱۰، ۹۲۰، ۹۳۰، ۹۴۰، ۹۵۰، ۹۶۰، ۹۷۰، ۹۸۰، ۹۹۰، ۱۰۰۰، ۱۰۱۰، ۱۰۲۰، ۱۰۳۰، ۱۰۴۰، ۱۰۵۰، ۱۰۶۰، ۱۰۷۰، ۱۰۸۰، ۱۰۹۰، ۱۱۰۰، ۱۱۱۰، ۱۱۲۰، ۱۱۳۰، ۱۱۴۰، ۱۱۵۰، ۱۱۶۰، ۱۱۷۰، ۱۱۸۰، ۱۱۹۰، ۱۲۰۰، ۱۲۱۰، ۱۲۲۰، ۱۲۳۰، ۱۲۴۰، ۱۲۵۰، ۱۲۶۰، ۱۲۷۰، ۱۲۸۰، ۱۲۹۰، ۱۳۰۰، ۱۳۱۰، ۱۳۲۰، ۱۳۳۰، ۱۳۴۰، ۱۳۵۰، ۱۳۶۰، ۱۳۷۰، ۱۳۸۰، ۱۳۹۰، ۱۴۰۰، ۱۴۱۰، ۱۴۲۰، ۱۴۳۰، ۱۴۴۰، ۱۴۵۰، ۱۴۶۰، ۱۴۷۰، ۱۴۸۰، ۱۴۹۰، ۱۵۰۰، ۱۵۱۰، ۱۵۲۰، ۱۵۳۰، ۱۵۴۰، ۱۵۵۰، ۱۵۶۰، ۱۵۷۰، ۱۵۸۰، ۱۵۹۰، ۱۶۰۰، ۱۶۱۰، ۱۶۲۰، ۱۶۳۰، ۱۶۴۰، ۱۶۵۰، ۱۶۶۰، ۱۶۷۰، ۱۶۸۰، ۱۶۹۰، ۱۷۰۰، ۱۷۱۰، ۱۷۲۰، ۱۷۳۰، ۱۷۴۰، ۱۷۵۰، ۱۷۶۰، ۱۷۷۰، ۱۷۸۰، ۱۷۹۰، ۱۸۰۰، ۱۸۱۰، ۱۸۲۰، ۱۸۳۰، ۱۸۴۰، ۱۸۵۰، ۱۸۶۰، ۱۸۷۰، ۱۸۸۰، ۱۸۹۰، ۱۹۰۰، ۱۹۱۰، ۱۹۲۰، ۱۹۳۰، ۱۹۴۰، ۱۹۵۰، ۱۹۶۰، ۱۹۷۰، ۱۹۸۰، ۱۹۹۰، ۲۰۰۰، ۲۰۱۰، ۲۰۲۰، ۲۰۳۰، ۲۰۴۰، ۲۰۵۰، ۲۰۶۰، ۲۰۷۰، ۲۰۸۰، ۲۰۹۰، ۲۱۰۰، ۲۱۱۰، ۲۱۲۰، ۲۱۳۰، ۲۱۴۰، ۲۱۵۰، ۲۱۶۰، ۲۱۷۰، ۲۱۸۰، ۲۱۹۰، ۲۲۰۰، ۲۲۱۰، ۲۲۲۰، ۲۲۳۰، ۲۲۴۰، ۲۲۵۰، ۲۲۶۰، ۲۲۷۰، ۲۲۸۰، ۲۲۹۰، ۲۳۰۰، ۲۳۱۰، ۲۳۲۰، ۲۳۳۰، ۲۳۴۰، ۲۳۵۰، ۲۳۶۰، ۲۳۷۰، ۲۳۸۰، ۲۳۹۰، ۲۴۰۰، ۲۴۱۰، ۲۴۲۰، ۲۴۳۰، ۲۴۴۰، ۲۴۵۰، ۲۴۶۰، ۲۴۷۰، ۲۴۸۰، ۲۴۹۰، ۲۵۰۰، ۲۵۱۰، ۲۵۲۰، ۲۵۳۰، ۲۵۴۰، ۲۵۵۰، ۲۵۶۰، ۲۵۷۰، ۲۵۸۰، ۲۵۹۰، ۲۶۰۰، ۲۶۱۰، ۲۶۲۰، ۲۶۳۰، ۲۶۴۰، ۲۶۵۰، ۲۶۶۰، ۲۶۷۰، ۲۶۸۰، ۲۶۹۰، ۲۷۰۰، ۲۷۱۰، ۲۷۲۰، ۲۷۳۰، ۲۷۴۰، ۲۷۵۰، ۲۷۶۰، ۲۷۷۰، ۲۷۸۰، ۲۷۹۰، ۲۸۰۰، ۲۸۱۰، ۲۸۲۰، ۲۸۳۰، ۲۸۴۰، ۲۸۵۰، ۲۸۶۰، ۲۸۷۰، ۲۸۸۰، ۲۸۹۰، ۲۹۰۰، ۲۹۱۰، ۲۹۲۰، ۲۹۳۰، ۲۹۴۰، ۲۹۵۰، ۲۹۶۰، ۲۹۷۰، ۲۹۸۰، ۲۹۹۰، ۳۰۰۰، ۳۰۱۰، ۳۰۲۰، ۳۰۳۰، ۳۰۴۰، ۳۰۵۰، ۳۰۶۰، ۳۰۷۰، ۳۰۸۰، ۳۰۹۰، ۳۱۰۰، ۳۱۱۰، ۳۱۲۰، ۳۱۳۰، ۳۱۴۰، ۳۱۵۰، ۳۱۶۰، ۳۱۷۰، ۳۱۸۰، ۳۱۹۰، ۳۲۰۰، ۳۲۱۰، ۳۲۲۰، ۳۲۳۰، ۳۲۴۰، ۳۲۵۰، ۳۲۶۰، ۳۲۷۰، ۳۲۸۰، ۳۲۹۰، ۳۳۰۰، ۳۳۱۰، ۳۳۲۰، ۳۳۳۰، ۳۳۴۰، ۳۳۵۰، ۳۳۶۰، ۳۳۷۰، ۳۳۸۰، ۳۳۹۰، ۳۴۰۰، ۳۴۱۰، ۳۴۲۰، ۳۴۳۰، ۳۴۴۰، ۳۴۵۰، ۳۴۶۰، ۳۴۷۰، ۳۴۸۰، ۳۴۹۰، ۳۵۰۰، ۳۵۱۰، ۳۵۲۰، ۳۵۳۰، ۳۵۴۰، ۳۵۵۰، ۳۵۶۰، ۳۵۷۰، ۳۵۸۰، ۳۵۹۰، ۳۶۰۰، ۳۶۱۰، ۳۶۲۰، ۳۶۳۰، ۳۶۴۰، ۳۶۵۰، ۳۶۶۰، ۳۶۷۰، ۳۶۸۰، ۳۶۹۰، ۳۷۰۰، ۳۷۱۰، ۳۷۲۰، ۳۷۳۰، ۳۷۴۰، ۳۷۵۰، ۳۷۶۰، ۳۷۷۰، ۳۷۸۰، ۳۷۹۰، ۳۸۰۰، ۳۸۱۰، ۳۸۲۰، ۳۸۳۰، ۳۸۴۰، ۳۸۵۰، ۳۸۶۰، ۳۸۷۰، ۳۸۸۰، ۳۸۹۰، ۳۹۰۰، ۳۹۱۰، ۳۹۲۰، ۳۹۳۰، ۳۹۴۰، ۳۹۵۰، ۳۹۶۰، ۳۹۷۰، ۳۹۸۰، ۳۹۹۰، ۴۰۰۰، ۴۰۱۰، ۴۰۲۰، ۴۰۳۰، ۴۰۴۰، ۴۰۵۰، ۴۰۶۰، ۴۰۷۰، ۴۰۸۰، ۴۰۹۰، ۴۱۰۰، ۴۱۱۰، ۴۱۲۰، ۴۱۳۰، ۴۱۴۰، ۴۱۵۰، ۴۱۶۰، ۴۱۷۰، ۴۱۸۰، ۴۱۹۰، ۴۲۰۰، ۴۲۱۰، ۴۲۲۰، ۴۲۳۰، ۴۲۴۰، ۴۲۵۰، ۴۲۶۰، ۴۲۷۰، ۴۲۸۰، ۴۲۹۰، ۴۳۰۰، ۴۳۱۰، ۴۳۲۰، ۴۳۳۰، ۴۳۴۰، ۴۳۵۰، ۴۳۶۰، ۴۳۷۰، ۴۳۸۰، ۴۳۹۰، ۴۴۰۰، ۴۴۱۰، ۴۴۲۰، ۴۴۳۰، ۴۴۴۰، ۴۴۵۰، ۴۴۶۰، ۴۴۷۰، ۴۴۸۰، ۴۴۹۰، ۴۵۰۰، ۴۵۱۰، ۴۵۲۰، ۴۵۳۰، ۴۵۴۰، ۴۵۵۰، ۴۵۶۰، ۴۵۷۰، ۴۵۸۰، ۴۵۹۰، ۴۶۰۰، ۴۶۱۰، ۴۶۲۰، ۴۶۳۰، ۴۶۴۰، ۴۶۵۰، ۴۶۶۰، ۴۶۷۰، ۴۶۸۰، ۴۶۹۰، ۴۷۰۰، ۴۷۱۰، ۴۷۲۰، ۴۷۳۰، ۴۷۴۰، ۴۷۵۰، ۴۷۶۰، ۴۷۷۰، ۴۷۸۰، ۴۷۹۰، ۴۸۰۰، ۴۸۱۰، ۴۸۲۰، ۴۸۳۰، ۴۸۴۰، ۴۸۵۰، ۴۸۶۰، ۴۸۷۰، ۴۸۸۰، ۴۸۹۰، ۴۹۰۰، ۴۹۱۰، ۴۹۲۰، ۴۹۳۰، ۴۹۴۰، ۴۹۵۰، ۴۹۶۰، ۴۹۷۰، ۴۹۸۰، ۴۹۹۰، ۵۰۰۰، ۵۰۱۰، ۵۰۲۰، ۵۰۳۰، ۵۰۴۰، ۵۰۵۰، ۵۰۶۰، ۵۰۷۰، ۵۰۸۰، ۵۰۹۰، ۵۱۰۰، ۵۱۱۰، ۵۱۲۰، ۵۱۳۰، ۵۱۴۰، ۵۱۵۰، ۵۱۶۰، ۵۱۷۰، ۵۱۸۰، ۵۱۹۰، ۵۲۰۰، ۵۲۱۰، ۵۲۲۰، ۵۲۳۰، ۵۲۴۰، ۵۲۵۰، ۵۲۶۰، ۵۲۷۰، ۵۲۸۰، ۵۲۹۰، ۵۳۰۰، ۵۳۱۰، ۵۳۲۰، ۵۳۳۰، ۵۳۴۰، ۵۳۵۰، ۵۳۶۰، ۵۳۷۰، ۵۳۸۰، ۵۳۹۰، ۵۴۰۰، ۵۴۱۰، ۵۴۲۰، ۵۴۳۰، ۵۴۴۰، ۵۴۵۰، ۵۴۶۰، ۵۴۷۰، ۵۴۸۰، ۵۴۹۰، ۵۵۰۰، ۵۵۱۰، ۵۵۲۰، ۵۵۳۰، ۵۵۴۰، ۵۵۵۰، ۵۵۶۰، ۵۵۷۰، ۵۵۸۰، ۵۵۹۰، ۵۶۰۰، ۵۶۱۰، ۵۶۲۰، ۵۶۳۰، ۵۶۴۰، ۵۶۵۰، ۵۶۶۰، ۵۶۷۰، ۵۶۸۰، ۵۶۹۰، ۵۷۰۰، ۵۷۱۰، ۵۷۲۰، ۵۷۳۰، ۵۷۴۰، ۵۷۵۰، ۵۷۶۰، ۵۷۷۰، ۵۷۸۰، ۵۷۹۰، ۵۸۰۰، ۵۸۱۰، ۵۸۲۰، ۵۸۳۰، ۵۸۴۰، ۵۸۵۰، ۵۸۶۰، ۵۸۷۰، ۵۸۸۰، ۵۸۹۰، ۵۹۰۰، ۵۹۱۰، ۵۹۲۰، ۵۹۳۰، ۵۹۴۰، ۵۹۵۰، ۵۹۶۰، ۵۹۷۰، ۵۹۸۰، ۵۹۹۰، ۶۰۰۰، ۶۰۱۰، ۶۰۲۰، ۶۰۳۰، ۶۰۴۰، ۶۰۵۰، ۶۰۶۰، ۶۰۷۰، ۶۰۸۰، ۶۰۹۰، ۶۱۰۰، ۶۱۱۰، ۶۱۲۰، ۶۱۳۰، ۶۱۴۰، ۶۱۵۰، ۶۱۶۰، ۶۱۷۰، ۶۱۸۰، ۶۱۹۰، ۶۲۰۰، ۶۲۱۰، ۶۲۲۰، ۶۲۳۰، ۶۲۴۰، ۶۲۵۰، ۶۲۶۰، ۶۲۷۰، ۶۲۸۰، ۶۲۹۰، ۶۳۰۰، ۶۳۱۰، ۶۳۲۰، ۶۳۳۰، ۶۳۴۰، ۶۳۵۰، ۶۳۶۰، ۶۳۷۰، ۶۳۸۰، ۶۳۹۰، ۶۴۰۰، ۶۴۱۰، ۶۴۲۰، ۶۴۳۰، ۶۴۴۰، ۶۴۵۰، ۶۴۶۰، ۶۴۷۰، ۶۴۸۰، ۶۴۹۰، ۶۵۰۰، ۶۵۱۰، ۶۵۲۰، ۶۵۳۰، ۶۵۴۰، ۶۵۵۰، ۶۵۶۰، ۶۵۷۰، ۶۵۸۰، ۶۵۹۰، ۶۶۰۰، ۶۶۱۰، ۶۶۲۰، ۶۶۳۰، ۶۶۴۰، ۶۶۵۰، ۶۶۶۰، ۶۶۷۰، ۶۶۸۰، ۶۶۹۰، ۶۷۰۰، ۶۷۱۰، ۶۷۲۰، ۶۷۳۰، ۶۷۴۰، ۶۷۵۰، ۶۷۶۰، ۶۷۷۰، ۶۷۸۰، ۶۷۹۰، ۶۸۰۰، ۶۸۱۰، ۶۸۲۰، ۶۸۳۰، ۶۸۴۰، ۶۸۵۰، ۶۸۶۰، ۶۸۷۰، ۶۸۸۰، ۶۸۹۰، ۶۹۰۰، ۶۹۱۰، ۶۹۲۰، ۶۹۳۰، ۶۹۴۰، ۶۹۵۰، ۶۹۶۰، ۶۹۷۰، ۶۹۸۰، ۶۹۹۰، ۷۰۰۰، ۷۰۱۰، ۷۰۲۰، ۷۰۳۰، ۷۰۴۰، ۷۰۵۰، ۷۰۶۰، ۷۰۷۰، ۷۰۸۰، ۷۰۹۰، ۷۱۰۰، ۷۱۱۰، ۷۱۲۰، ۷۱۳۰، ۷۱۴۰، ۷۱۵۰، ۷۱۶۰، ۷۱۷۰، ۷۱۸۰، ۷۱۹۰، ۷۲۰۰، ۷۲۱۰، ۷۲۲۰، ۷۲۳۰، ۷۲۴۰، ۷۲۵۰، ۷۲۶۰، ۷۲۷۰، ۷۲۸۰، ۷۲۹۰، ۷۳۰۰، ۷۳۱۰، ۷۳۲۰، ۷۳۳۰، ۷۳۴۰، ۷۳۵۰، ۷۳۶۰، ۷۳۷۰، ۷۳۸۰، ۷۳۹۰، ۷۴۰۰، ۷۴۱۰، ۷۴۲۰، ۷۴۳۰، ۷۴۴۰، ۷۴۵۰، ۷۴۶۰، ۷۴۷۰، ۷۴۸۰، ۷۴۹۰، ۷۵۰۰، ۷۵۱۰، ۷۵۲۰، ۷۵۳۰، ۷۵۴۰، ۷۵۵۰، ۷۵۶۰، ۷۵۷۰، ۷۵۸۰، ۷۵۹۰، ۷۶۰۰، ۷۶۱۰، ۷۶۲۰، ۷۶۳۰، ۷۶۴۰، ۷۶۵۰، ۷۶۶۰، ۷۶۷۰، ۷۶۸۰، ۷۶۹۰، ۷۷۰۰، ۷۷۱۰، ۷۷۲۰، ۷۷۳۰، ۷۷۴۰، ۷۷۵۰، ۷۷۶۰، ۷۷۷۰، ۷۷۸۰، ۷۷۹۰، ۷۸۰۰، ۷۸۱۰، ۷۸۲۰، ۷۸۳۰، ۷۸۴۰، ۷۸۵۰، ۷۸۶۰، ۷۸۷۰، ۷۸۸۰، ۷۸۹۰، ۷۹۰۰، ۷۹۱۰، ۷۹۲۰، ۷۹۳۰، ۷۹۴۰، ۷۹۵۰، ۷۹۶۰، ۷۹۷۰، ۷۹۸۰، ۷۹۹۰، ۸۰۰۰، ۸۰۱۰، ۸۰۲۰، ۸۰۳۰، ۸۰۴۰، ۸۰۵۰، ۸۰۶۰، ۸۰۷۰، ۸۰۸۰، ۸۰۹۰، ۸۱۰۰، ۸۱۱۰، ۸۱۲۰، ۸۱۳۰، ۸۱۴۰، ۸۱۵۰، ۸۱۶۰، ۸۱۷۰، ۸۱۸۰، ۸۱۹۰، ۸۲۰۰، ۸۲۱۰، ۸۲۲۰، ۸۲۳۰، ۸۲۴۰، ۸۲۵۰، ۸۲۶۰، ۸۲۷۰، ۸۲۸۰، ۸۲۹۰، ۸۳۰۰، ۸۳۱۰، ۸۳۲۰، ۸۳۳۰، ۸۳۴۰، ۸۳۵۰، ۸۳۶۰، ۸۳۷۰، ۸۳۸۰، ۸۳۹۰، ۸۴۰۰، ۸۴۱۰، ۸۴۲۰، ۸۴۳۰، ۸۴۴۰، ۸۴۵۰، ۸۴۶۰، ۸۴۷۰، ۸۴۸۰، ۸۴۹۰، ۸۵۰۰، ۸۵۱۰، ۸۵۲۰، ۸۵۳۰، ۸۵۴۰، ۸۵۵۰، ۸۵۶۰، ۸۵۷۰، ۸۵۸۰، ۸۵۹۰، ۸۶۰۰، ۸۶۱۰، ۸۶۲۰، ۸۶۳۰، ۸۶۴۰، ۸۶۵۰، ۸۶۶۰، ۸۶۷۰، ۸۶۸۰، ۸۶۹۰، ۸۷۰۰، ۸۷۱۰، ۸۷۲۰، ۸۷۳۰، ۸۷۴۰، ۸۷۵۰، ۸۷۶۰، ۸۷۷۰، ۸۷۸۰، ۸۷۹۰، ۸۸۰۰، ۸۸۱۰، ۸۸۲۰، ۸۸۳۰، ۸۸۴۰، ۸۸۵۰، ۸۸۶۰، ۸۸۷۰، ۸۸۸۰، ۸۸۹۰، ۸۹۰۰، ۸۹۱۰، ۸۹۲۰، ۸۹۳۰، ۸۹۴۰، ۸۹۵۰، ۸۹۶۰، ۸۹۷۰، ۸۹۸۰، ۸۹۹۰، ۹۰۰۰، ۹۰۱۰، ۹۰۲۰، ۹۰۳۰، ۹۰۴۰، ۹۰۵۰، ۹۰۶۰، ۹۰۷۰، ۹۰۸۰، ۹۰۹۰، ۹۱۰۰، ۹۱۱۰، ۹۱۲۰، ۹۱۳۰، ۹۱۴۰، ۹۱۵۰، ۹۱۶۰، ۹۱۷۰، ۹۱۸۰، ۹۱۹۰، ۹۲۰۰، ۹۲۱۰، ۹۲۲۰، ۹۲۳۰، ۹۲۴۰، ۹۲۵۰، ۹۲۶۰، ۹۲۷۰، ۹۲۸۰، ۹۲۹۰، ۹۳۰۰، ۹۳۱۰، ۹۳۲۰، ۹۳۳۰، ۹۳۴۰، ۹۳۵۰، ۹۳۶۰، ۹۳۷۰، ۹۳۸۰، ۹۳۹۰، ۹۴۰۰، ۹۴۱۰، ۹۴۲۰، ۹۴۳۰، ۹۴۴۰، ۹۴۵۰، ۹۴۶۰، ۹۴۷۰، ۹۴۸۰، ۹۴۹۰، ۹۵۰۰، ۹۵۱۰، ۹۵۲۰، ۹۵۳۰، ۹۵۴۰، ۹۵۵۰، ۹۵۶۰، ۹۵۷۰، ۹۵۸۰، ۹۵۹۰، ۹۶۰۰، ۹۶۱۰، ۹۶۲۰، ۹۶۳۰، ۹۶۴۰، ۹۶۵۰، ۹۶۶۰، ۹۶۷۰، ۹۶۸۰، ۹۶۹۰، ۹۷۰۰، ۹۷۱۰، ۹۷۲۰، ۹۷۳۰، ۹۷۴۰، ۹۷۵۰، ۹۷۶۰، ۹۷۷۰، ۹۷۸۰، ۹۷۹۰، ۹۸۰۰، ۹۸۱۰، ۹۸۲۰، ۹۸۳۰، ۹۸۴۰، ۹۸۵۰، ۹۸۶۰، ۹۸۷۰، ۹۸۸۰، ۹۸۹۰، ۹۹۰۰، ۹۹۱۰، ۹۹۲۰، ۹۹۳۰، ۹۹۴۰، ۹۹۵۰، ۹۹۶۰، ۹۹۷۰، ۹۹۸۰، ۹۹۹۰، ۱۰۰۰۰، ۱۰۰۰۱، ۱۰۰۰۲، ۱۰۰۰۳، ۱۰۰۰۴، ۱۰۰۰۵، ۱۰۰۰۶، ۱۰۰۰۷، ۱۰۰۰۸، ۱۰۰۰۹، ۱۰۰۱۰، ۱۰۰۱۱، ۱۰۰۱۲، ۱۰۰۱۳، ۱۰۰۱۴، ۱۰۰۱۵، ۱۰۰۱۶، ۱۰۰۱۷، ۱۰۰۱۸، ۱۰۰۱۹، ۱۰۰۲۰، ۱۰۰۲۱، ۱۰۰۲۲، ۱۰۰۲۳، ۱۰۰۲۴، ۱۰۰۲۵، ۱۰۰۲۶، ۱۰۰۲۷، ۱۰۰۲۸، ۱۰۰۲۹، ۱۰۰۳۰، ۱۰۰۳۱، ۱۰۰۳۲، ۱۰۰۳۳، ۱۰۰۳۴، ۱۰۰۳۵، ۱۰۰۳۶، ۱۰۰۳۷، ۱۰۰۳۸، ۱۰۰۳۹، ۱۰۰۴۰، ۱۰۰۴۱، ۱۰۰۴۲، ۱۰۰۴۳، ۱۰۰۴۴، ۱۰۰۴۵، ۱۰۰۴۶، ۱۰۰۴۷، ۱۰۰۴۸، ۱۰۰۴۹، ۱۰۰۵۰، ۱۰۰۵۱، ۱۰۰۵۲، ۱۰۰۵۳، ۱۰۰۵۴، ۱۰۰۵۵، ۱۰۰۵۶، ۱۰۰۵۷، ۱۰۰۵۸، ۱۰۰۵۹، ۱۰۰۶۰، ۱۰۰۶۱، ۱۰۰۶۲، ۱۰۰۶۳، ۱۰۰۶۴، ۱۰۰۶۵، ۱۰۰۶۶، ۱۰۰۶۷، ۱۰۰۶۸، ۱۰۰۶۹، ۱۰۰۷۰، ۱۰۰۷۱، ۱۰۰۷۲، ۱۰۰۷۳، ۱۰۰۷۴، ۱۰۰۷۵، ۱۰۰۷۶، ۱۰۰۷۷، ۱۰۰۷۸، ۱۰۰۷۹، ۱۰۰۸۰، ۱۰۰۸۱، ۱۰۰۸۲، ۱۰۰۸۳، ۱۰۰۸۴، ۱۰۰۸۵، ۱۰۰۸۶، ۱۰۰۸۷، ۱۰۰۸۸، ۱۰۰۸۹، ۱۰۰۹۰، ۱۰۰۹۱، ۱۰۰۹۲، ۱۰۰۹۳، ۱۰۰۹۴، ۱۰۰۹۵، ۱۰۰۹۶، ۱۰۰۹۷، ۱۰۰۹۸، ۱۰۰۹۹، ۱۰۱۰۰، ۱۰۱۰۱، ۱۰۱۰۲، ۱۰۱۰۳، ۱۰۱۰۴، ۱۰۱۰۵، ۱۰۱۰۶، ۱۰۱۰۷، ۱۰۱۰۸، ۱۰۱۰۹، ۱۰۱۱۰، ۱۰۱۱۱، ۱۰۱۱۲، ۱۰۱۱۳، ۱۰۱۱۴، ۱۰۱۱۵، ۱۰۱۱۶، ۱۰۱۱۷، ۱۰۱۱۸، ۱۰۱۱۹، ۱۰۱۲۰، ۱۰۱۲۱، ۱۰۱۲۲، ۱۰۱۲۳، ۱۰۱۲۴، ۱۰۱۲۵، ۱۰۱۲۶، ۱۰۱۲۷، ۱۰۱۲۸، ۱۰۱۲۹، ۱۰۱۳۰، ۱۰۱۳۱، ۱۰۱۳۲، ۱۰۱۳۳، ۱۰۱۳۴، ۱۰۱۳۵، ۱۰۱۳۶، ۱۰۱۳۷، ۱۰۱۳۸، ۱۰۱۳۹، ۱۰۱۴۰، ۱۰۱۴۱، ۱۰۱۴۲، ۱۰۱۴۳، ۱۰۱۴۴، ۱۰۱۴۵، ۱۰۱۴۶، ۱۰۱۴۷، ۱۰۱۴۸، ۱۰۱۴۹، ۱۰۱۵۰، ۱۰۱۵۱، ۱۰۱۵۲، ۱۰۱۵۳، ۱۰۱۵۴، ۱۰۱۵۵، ۱۰۱۵۶، ۱۰۱۵۷، ۱۰۱۵۸، ۱۰۱۵۹، ۱۰۱۶۰، ۱۰۱۶۱، ۱۰۱۶۲، ۱۰۱۶۳، ۱۰۱۶۴، ۱۰۱۶۵، ۱۰۱۶۶، ۱۰۱۶۷، ۱۰۱۶۸، ۱۰۱۶۹، ۱۰۱۷۰، ۱۰۱۷۱، ۱۰۱

نگهداری مورد ارزیابی قرار گرفت. در نهایت سوسیس های تولیدی در اختیار گروه پانلیست برای بررسی خواص حسی قرار داده شد. نتایج ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس بنه بر باکتری کلستریدیوم پرفرنجنس حداقل غلظت مهارکننده رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC)

نتایج بررسی حداقل غلظت بازدارنده اسانس بنه بر روی باکتری کلستریدیوم پرفرنجنس مورد مطالعه نشان داد که حداقل غلظت بازدارنده باکتری کلستریدیوم پرفرنجنس ۲۵۰ میلی گرم بر لیتر و حداقل غلظت کشندگی، ۵۰۰ میلی-گرم بر لیتر بود (جدول ۱). این نتایج نشان می دهد که اسانس استخراج شده از این گیاه دارای خاصیت ضد میکروبی روی باکتری نام برده بوده و توانایی استفاده به صورت تجاری و دارویی را دارا می باشد

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات:

بر روی همه نمونه ها در چهار زمان نگهداری آزمون های میکروبی انجام شد (علاوه بر روز صفر) ۵، ۱۵، ۱۰ و ۲۰ روز. برای تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون کای اسکوتر و نرم افزار SPSS استفاده شده و موارد $p < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

این مطالعه در سه مرحله انجام گرفت در مرحله اول اسانس گیری از میوه گیاه بنه به منظور تعیین کارایی ضد میکروبی به خصوص ضد کلستریدیوم پرفرنجنس انجام گرفت. در مرحله دوم تعیین حداقل غلظت ممانعت کنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MBC) بود. در مرحله بعد افزودن اسانس ها در غلظت حداقل غلظت کشنده به نمونه های سوسیس حاوی میکروارگانیزم کلستریدیوم پرفرنجنس در غلظت نیم مک فارلند بدست آمده با روش OD_{600} قدرت کشندگی در شرایط فرآیند در طول دوران

جدول ۱: تعیین میزان MIC و MBC باکتری کلستریدیوم پرفرنجنس در حضور اسانس گیاه بنه (نتایج برگرفته از سه تکرار می باشد)

Tube	میلی گرم بر لیتر	MIC	MBC
۱	2000	-	-
۲	1000	-	-
۳	۵۰۰	-	-
۴	۲۵۰	-	+
۵	۱۲۵	*±	+
۶	۶۲.۵	+	+
۷	۳۱.۲۵	+	+
۸	۱۵.۶۲۵	+	+
۹	۷.۸۱۲۵	+	+
۱۰	۳.۹۰۶۳	+	+
کنترل میکروب		+	+
کنترل محیط کشت		-	-
کنترل اسانس میکروبی		-	-

*± نشان دهنده مشاهده ممانعت میکروبی در حد کمتر از ۵۰ درصد (یک تکرار از سه تکرار) می باشد ($P > 0.05$).

اثر متقابل تیمارهای اصلی انواع نمونه و مدت زمان نگهداری از لحاظ ویژگی لگاریتم تعداد کلستریدیوم پرفرنجنس باقی مانده معنی دار نمی باشد و بین تیمار اصلی مدت زمان نگهداری از لحاظ ویژگی لگاریتم تعداد کلستریدیوم پرفرنجنس باقی مانده در سطح ۱ درصد ($P < 0.01$) اختلاف معنی دار وجود دارد.

برای تولید سوسیس ها به همه نمونه ها بر اساس OD 600 بدست آمده به میزان نیم مک فارلند به سوسیس ها میکروارگانیسم کلستریدیوم پرفرنجنس افزوده شد. نتایج بدست آمده نشان می دهند که مدل انتخابی و تیمار اصلی انواع نمونه برای تحلیل داده های بدست آمده از لحاظ ویژگی تعداد کلستریدیوم پرفرنجنس باقی مانده مورد بررسی در سطح ۵ درصد ($P < 0.05$) معنی دار می باشند و

جدول ۲: مقایسه میانگین تیمار مدت زمان نگهداری از لحاظ ویژگی های تحت بررسی در سوسیس های تولیدی

نوع تیمار سوسیس	میانگین ویژگی های تحت بررسی
تعداد کلستریدیوم پرفرنجنس باقی مانده	
روز صفر	543.333 ± 248.407^C
روز پنجم	606.667 ± 189.766^{BC}
روز دهم	693.333 ± 60.711^{BC}
روز پانزدهم	739.167 ± 98.717^{AB}
روز بیستم	860.833 ± 119.067^A

آزمایشگاهی ۱۰ نفر پانلیست سوسیس های تولیدی به همراه نمونه شاهد مصرف نمودند. لازم به ذکر است که امتیازات طوری داده شد که مطلوبیت ترین امتیاز ۵ در یک سیستم ۵ نقطه ای و بدترین امتیاز ۱ را اخذ کرد.

نتایج جدول ۲ نشان می دهد که بین روزهای مختلف نگهداری از لحاظ کلیه ویژگی های تحت بررسی اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد ($P < 0.05$) وجود دارد.

برای بررسی خواص حسی انواع سوسیس های فرموله شده با اسانس میوه درخت بنه و انطباق این نتایج با نتایج

جدول ۳: مقایسه مجموع امتیازات داده شده خصوصیات حسی سوسیس های تحت تیمار

انواع سوسیس فرموله تولیدی	رنگ	بو	طعم	برش پذیری
شاهد (نمونه رایج)	۱۶.۵	۱۶.۵	۱۸.۵	۱۶
حاوی اسانس بدون نیتريت	۱۳.۵	۱۳.۵	۱۱.۵	۱۴

و نمونه سوسیس حاوی اسانس بدون نیتريت از نوع بدترین میباشد. پس این عدم مطلوبیت طعمی نسبت به نمونه رایج با توجه با خواص مطلوب ضد میکروبی بایستی با خالص سازی و رنگ بری بر طرف گردد.

نتایج موجود در جدول ۳ نشان می دهد که بین نمونه های سوسیس تولیدی از لحاظ خواص حسی تحت بررسی رنگ و بو و برش پذیری دارای اختلاف معنی دار نمی باشد ولی از لحاظ طعم کاملاً تفاوت معنی دار وجود دارد ($P < 0.05$). نمونه سوسیس شاهد بهترین نمونه از لحاظ تمامی فاکتورها

فرجی و همکاران در تحقیقی نشان دادند که با افزایش مدت زمان نگهداری کشک میزان pH کاهش قابل توجهی داشته است. همچنین جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* در مقایسه با *کلستریدیوم بوتولینوم* با سرعت بیشتری از بین می‌رود، در پایان روز بیست و یکم نگهداری، جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* به صفر رسیده است. در نتیجه عصاره حاوی یک درصد موسیر هم به لحاظ کاهش رشد میکروبی و هم به لحاظ خصوصیات حسی و رنگ به عنوان مناسبترین نمونه انتخاب شد (۱۴).

بر اساس نتایج حنفی و همکاران، فعالیت ضد میکروبی، قطر هاله عدم رشد میکروارگانیسم های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیاکلی* (در غلظت ۵۰ mg/ml) و *کلستریدیوم اسپروژنس* در غلظت ۱۲۰ mg/ml به ترتیب ۰/۳۲ ± ۱۳/۴، ۰/۴ ± ۱۱/۶ و ۰/۳ ± ۸/۸ تعیین شد، که *استافیلوکوکوس اورئوس*، بیشترین حساسیت و *کلستریدیوم اسپروژنس* بیشترین مقاومت را به اسانس شیره بنه نشان داد (۱۵).

همیشه از گیاهان و خواص درمانی آن‌ها برای در مان بیماری‌ها و یا به نوعی غلبه بر میکروب‌ها استفاده شده است. در تحقیقات متعددی که توسط دانشمندان مختلف انجام شده است این امر با بکارگیری گیاهان گوناگون برای نابودی میکروارگانیسم‌های مختلف به اثبات رسیده است. با توجه به تحقیقات انجام شده می‌توان از مواد ضد میکروبی که در گیاهان به خصوص در گیاهان معطر وجود دارد بر علیه باکتری‌ها در مواد غذایی استفاده کرد. از آنجایی که گیاه بنه دارای قسمت‌های مختلفی مانند برگ، ریشه، ساقه و میوه است تحقیقات جداگانه‌ای بر روی هر یک از اجزای و نیز خواص ضد میکروبی هر یک از آنها انجام شده است. بر همین اساس در تحقیق پیش رو از اسانس میوه بنه برای اثر بر روی *کلستریدیوم پرفرنژنس* استفاده شد که کل گیاه بنه مانند سایر قسمت‌های آن اثر ضد میکروبی داشت و باعث کنترل رشد میکروب مورد نظر و سایر میکروارگانیسم‌های باکتریایی شد.

بحث

نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که حداقل غلظت بازدارندگی اسانس بنه بر باکتری *کلستریدیوم پرفرنژنس* مورد مطالعه برابر با ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. جوان جبلی و همکاران (۱۳۹۳) در تحقیق خود به این نتیجه رسیدند حداقل غلظت بازدارندگی برای باکتری‌های گرم مثبت کمتر از باکتری‌های گرم منفی است. به عبارت دیگر گرم مثبت‌ها نسبت به عمل آنتی‌باکتریال اسانس‌ها حساس‌ترند. علت حساسیت کمتر گرم منفی‌ها احتمالاً به علت وجود غشا خارجی در باکتری‌های گرم منفی است که سبب محدود شدن انتشار اجزا هیدروفوبیک اسانس به لایه لیپو پلی‌ساکاریدی می‌شود (۱۳).

در مطالعه دیگری والرو و همکارانش اثر ۱۱ اسانس گیاهی را بر روی باکتری اسپوردار *باسیلوس سرئوس* در کاروت برات در دمای زیر ۱۶ درجه سانتی‌گراد بررسی کردند و در مورد اثرات دارچین بیان شده است که اضافه کردن ۵ میکرولیتر از اسانس برای هر صد میلی‌لیتر کاروت برات در دمای کمتر از ۸ درجه سانتی‌گراد شرایطی را ایجاد می‌کند که به مدت ۶۰ روز باکتری قادر به رشد نمی‌باشد (۱۱).

بررسی اثر اسانس‌های گیاهی این مواد بر روی پاتوژنهای مهم منتقله از راه مواد غذایی نظیر *سالمونلا انتریتیدیس*، *اشریشیاکلی*، گونه‌های *شیگلا*، *باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا مونو سیتوژنز* نشان دهنده تلاش محققان برای جایگزین کردن نگهدارنده‌های طبیعی مشتق از منابع گیاهی، حیوانی و میکروبی به جای نگهدارنده‌های شیمیایی می‌باشد (۵، ۹، ۱۱).

حداقل غلظت کشندگی (MBC) در اسانس بنه برای باکتری *کلستریدیوم* برابر ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود. اگرچه بروز فعالیت ضد میکروبی بسیار روشن است، ولی مکانیسم عملاً به طور کامل درک نشده است.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق اسانس بنه به عنوان نگهدارنده طبیعی که دارای اثر بازدارندگی مناسبی بر روی باکتری کلوستریدیوم پرفرجنس در شرایط آزمایشگاهی و فرآورده های گوشتی می باشند، ولی بر روی طعم آن اثر مثبتی نداشته که این مسئله را می توان با خلص سازی و رنگ بری حل کرد. این نتایج نشان می دهد که اسانس استخراج شده از این گیاه دارای خاصیت ضد میکروبی روی باکتری نام برده بوده و توانایی استفاده به صورت تجاری و دارویی را دارا می باشد. با توجه به نتایج فوق می توان این اسانس را به عنوان یک ترکیب طبیعی ضد میکروب در محصولات غذایی و دارویی استفاده نمود

تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات میکروب شناسی مواد غذایی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به شماره قرارداد ۳۱۶۴۹ می باشد. بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران که حامی مالی این طرح تحقیقاتی می باشند، کمال سپاسگذاری و تشکر را داریم.

این تحقیقات نشان داد این اسانس می توانند از رشد میکروارگانیزم های فوق ممانعت کنند. با توجه به تحقیق بالا بی اثر بودن عصاره ای در این تحقیق تا حدودی قابل توجه است که عصاره آبی فاقد ترکیبات موثر ضد باکتری می باشد. در واقع از گیاه بنه و گیاهان مشابه می توان برای تهیه غذاهای ارگانیک سود برد و به این وسیله از مواد نگه دارنده شیمیایی و مواد آنتی باکتریال که اثر سو بر سلامت دارند کمتر استفاده کرد. سوسیس یکی از انواع غذاها فرآورده های گوشتی هست که اگر به جای نیتريت از عصاره گیاهان استفاده شود، می توانند به عنوان غذاهای ارگانیک به بازار عرضه شوند، و یا به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در مواد غذایی و یا به عنوان یک ترکیب ضد میکروبی برای عفونت های ناشی از این باکتری استفاده شود.

در این تحقیق ماده غذایی سوسیس بوده که حاوی روغن و ادویه های مختلف بوده است و در واقع محیط مورد استفاده چرب بوده است، در نتیجه عصاره که ترکیب روغنی می باشد به راحتی در آن حل شده و در کل بسته بندی به طور یکنواخت پخش شده، همچنین سوسیس در درجه حرارت یخچال ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد.

References

1. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J Appl Microbiol* 1999; 86:985-90.
2. Gutierrez J, Barry-Ryan C, Bourke P. Antimicrobial activity of plant essential oils using food model media: Efficacy, synergistic potential and interactions with food components. *Food Microbiol* 2009;26:142-50.
3. Alvarez R, Encina A, Pe ´rez Hidalgo N. Pistacia Terebinthus L. leaflets: an anatomical study. *Plant Systematics and Evolution* 2008;272:107-18.
4. Del Campo J, Amiot MJ, Nguyen C. Antibacterial effect of rosemary extracts. *J Food Prot* 2000;63:1359-68.
5. Ravanshad SH, Basiri E, Dastgheib B. Shirazi thyme essential oil concentration on antimicrobial activity of different bacteria, *Enterococcus faecalis*. *Shiraz Univ Dent J* 2007;8:28-36.
6. Amiri Aghdaei SF, Zareh Zardini H. Investigating the Factors Affecting the Improvement and Development of Medicinal Plants in Iran (Case Study: Esfahan City). *J New Market Res* 2012;1:195-214.

7. Ashayeri N, Abbassian AR, Janbakhsh S, Sheibani S, Sodagari F, Minaie MB. The more prevalent medicinal herbs which have been purchased from herbal medicine stores in Tehran, 2008. *JITM* 2013; 3: 477-82. [In Persian]
8. Kout Soumanis K, Lambropoulon K, Nychas G JE. A predictive model for the nonthermal inactivation of Salmonella enteritidis in a food model system supplemented with a natural antimicrobial. *Int J Food Microbiol* 1999;49:63-74.
9. Soltan Dallal M M, Bayat M, Yazdi M H, Aghaamiri S, Ghorbanzadeh Meshkani M, Abedi Mohtasab TP, et al. Antimicrobial effect of Zataria multiflora on antibiotic-resistant Staphylococcus aureus strains isolated from food. *SJKU* 2012; 17: 21-9. [In Persian]
10. Tassou C, Nychas GJE. Antimicrobial activity of essential oil of mastic gum (Pistacia lentiscus var. Chia) on gram positive and gram negative bacteria in broth and in model food system. *Int Biodet Biodeg* 1995;36:411-20.
11. Valero M , Salmeron MC. Antibacterial activity of 11 essential oils against Bacillus cereus in tyndallized carrot broth. *Int J Food Microbiol* 2003;85:73-81.
12. Serajoldini MF. Plant protection and medicine in ancient Iran. *Medical History* 2010; 2:11 - 33. [In Persian]
13. Javan Jebelli A, M, Hamedani Ahmadi A, Bayan M, Keykhosravi K, Abdollahi Z, Kanani M. Antioxidant and antimicrobial effect of different mints, the most widely used in Caspian sea areas, Iran. *J Vet Res Lab* 2014;6:93-102. [In Persian]
14. Farajii M, Roozbeh Nasiraie L, Farhoodi M. Antibacterial effect of ethanolic extract shallot (Allium Hirtifolium) on the Clostridium botulinum & Staphylococcus aureus and organoleptic propertise of liquid curd. *Iranian J Nutri Sci Food Tech* 2018;82:73-82. [In Persian]
15. Hanafi QM, Darvishi SH, Dervishi N, Sayedin Ardebili SM, Mirahamdi F. Antibacterial Properties of Embryonic Salt Essences on Staphylococcus aureus, Escherichia coli. *SJKU* 2011;17:1-11. [In Persian]

Archive of SID