مقاله تحقیقاتی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران

سال دهم ● شماره ۳ ● صفحات ۱۹۲ تا ۱۹۷ ● پاییز ۱۳۹۱

# اثر ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی بر $E.coli\ O_{157}:H_7$ در گوشت چرخ‌کرده گوساله در طی نگهداری در دمای یخچالی به منظور جایگزینی با نگه‌دارنده‌های شیمیایی و تامین سلامت مصرف کنندگان

*نگین نوری[۱]، نوردهرکنی[۲]، افشین آخوندزاده بستی[۲]، علی میثاقی[۳]، آراسب دباغ مقدم[۴]، رامک یحیی رعیت[۵]، نسطونا قنبری سقرلو[۴]

تاریخ اعلام وصول: ۱۳۹۱/۲/۳ تاریخ اعلام قبولی مقاله: ۱۳۹۱/۵/۱۴

## چکیده

**سابقه و هدف:** امروزه مصرف‌کنندگان مواد غذایی آگاهی بیشتری در مورد اثرات ناخواسته نگه‌دارنده‌های شیمیایی دارند تاکنون در مورد اثر آویشن شیرازی (Zataria multiflora Boiss) بر E.coli $O_{157}:H_7$ در گوشت چرخ‌کرده تحقیق چندانی نشده است. این پژوهش با هدف بررسی اثر آویشن شیرازی بر رشد باکتری اشریشیاکلی انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** آویشن شیرازی جمع‌آوری شده از استان فارس به روش تقطیر با بخار داغ اسانس‌گیری و توسط دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف نگار جرمی (GC-MS) آنالیز و سپس اثر آن با غلظت‌های مختلف (صفر، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ درصد) بر رشد باکتری E. coli $O_{157}:H_7$ در گوشت چرخ‌کرده در دماهای ۴، ۱۰ درجه سانتی گراد در مدت ۱۴ روز بررسی گردید. ارزیابی اثر غلظت‌های مختلف بر رشد باکتری، با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA و نرم افزار SPSS۱۶ انجام شد.

**یافته‌ها:** در غلظت ۰/۰۳ درصد اثر ضد باکتریایی قوی گزارش گردید. ضریب همبستگی غلظت اسانس آویشن شیرازی با لگاریتم تعداد باکتری مورد مطالعه در دماهای ۴، ۱۰ درجه سانتی گراد به ترتیب ۰/۷۰۱- و ۰/۵۹۹ - بود که نشان می‌دهد با افزایش غلظت اسانس، میزان رشد باکتری در طی دوره نگهداری کاهش می‌یابد و از نظر آماری اثر اسانس بر رشد باکتری معنی‌دار است ($p<0/01$). یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که جمعیت باکتری E. coli $O_{157}:H_7$ در گوشت چرخ‌کرده تیمار شده با غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی گراد، کاهش بیشتری نسبت به نمونه‌های نگهداری شده در دمای ۱۰ درجه سانتی گراد (دمای نامناسب) داشتند.

**بحث و نتیجه‌گیری:** این مطالعه نشان می‌دهد که در بالاترین غلظت اسانس آویشن شیرازی (۰/۰۳ درصد) در ۴ درجه سانتی گراد، هرچه مدت زمان نگهداری بیشتر شود، میزان رشد باکتری کاهش می‌یابد ($p<0/01$). اسانس آویشن شیرازی به عنوان نگه‌دارنده طبیعی در فراورده‌های گوشتی قابل توصیه است.

**کلمات کلیدی:** اسانس، آویشن شیرازی، E. coli $O_{157}:H_7$، گوشت چرخ‌کرده، دمای یخچالی

## مقدمه

گوشت و فرآورده‌های گوشتی ممکن است به آسانی به میکروارگانیسم‌های مختلف آلوده شوند و اگر شرایط حمل و نقل و نگهداری آنها مناسب نباشد، منجر به رشد باکتری‌های مولد

۱ـ استادیار، ایران، تهران، دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی (*نویسنده مسئول)
تلفن: ۶۱۱۱۷۰۶۷-۰۲۱ آدرس الکترونیک:nnoori@ut.ac.ir
۲ـ استاد، ایران، تهران، دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی
۳ـ دانشیار، ایران، تهران، دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی
۴ـ مربی، ایران، تهران، دانشگاه علوم پزشکی آجا، گروه پزشکی اجتماعی و بهداشت
۵ـ استادیار، ایران، تهران، دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، گروه میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات قارچ شناسی

www.SID.ir

فساد و بیماریزا می‌شود و در نهایت کیفیت گوشت، کاهش یافته و بهداشت عمومی در معرض خطر قرار می‌گیرد (۱).

نگهداری در سردخانه، متداول‌ترین روش نگهداری گوشت و فرآورده‌های گوشتی محسوب می‌شود. در برخی از کشورها به منظور افزایش مدت زمان نگهداری گوشت و فراورده‌های گوشتی، از مواد ضد میکروبی و آنتی اکسیدان که اکثر اوقات سنتتیک هستند، استفاده می‌شود (۱۵). این در حالی است که امروزه مصرف کنندگان نیز آگاهی بیشتری در مورد عوارض استفاده از نگه‌دارنده‌های شیمیایی پیدا کرده‌اند و تقاضای غذاهای تازه‌تر، طبیعی‌تر و همراه با کنترل بیشتر را دارند.

مکانیسم اثر ضد باکتریایی اسانس‌های گیاهی به خاصیت آبگریزی آنها بر می‌گردد که موجب نفوذ این مواد به فسفو لیپیدهای غشا باکتری و میتوکندری‌ها شده و سبب اختلال در ساختمان آنها و افزایش نفوذ پذیری می‌گردد. این مسئله موجب خروج و نشت یون‌ها و دیگر محتویات سلولی شده که در نهایت مرگ باکتری را در بر خواهد داشت (۳، ۲).

تاکنون مطالعات بسیاری در زمینه اثر ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی بر میکروب‌های بیماریزای مواد غذایی صورت گرفته است، اما تحقیقات زیادی روی اثر ضد میکروبی آویشن شیرازی بر E.coli $O_{157}$: $H_7$ درگوشت چرخ کرده انجام نشده است.

آویشن شیرازی یکی از گیاهان خانواده نعناع می‌باشد که بومی ایران، افغانستان و پاکستان است. از این گیاه در طب سنتی به عنوان آنتی سپتیک، ضد اسپاسم و ضد التهاب یاد شده است و به عنوان طعم دهنده در مواد غذایی کاربرد فراوانی دارد (۴). آویشن شیرازی دارای اثر ضد میکروبی می‌باشد که این اثر به طور عمده به‌تر کیبات فنلی آن مربوط است (۳).

هر چقدر مقدار مواد فنولی در اسانس بالاتر باشد، خواص ضد میکروبی آن بیشتر است. این مواد شامل کارواکرول، اوژنول وتیمول هستند (۳،۴). استفاده از نگه‌دارنده‌های طبیعی برای مهار رشد باکتری‌های بیماریزای مهم مانند E.coli $O_{157}$: $H_7$ یک ایده ارزشمند در صنعت فرآورده‌های گوشتی به منظور حفظ سلامت مصرف کنندگان به شمار می‌آید.

## مواد و روش‌ها

باکتری مورد مطالعه: سویه E.coli $O_{157}$: $H_7$ (مولد وروتوکسین II)، اهدایی توسط دکتر خاشابی از انستیتو تحقیقات میکروبیولوژی اتریش می‌باشد. در ابتدا این کشت لیوفیلیزه در محیط آبگوشت قلب و مغز (BHI) در ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت، ۲ مرتبه متوالی مورد تجدید کشت قرار گرفت. سپس کشت دوم به میزان ۵ به ۱ با گلیسیرین استریل مخلوط و در قسمت‌های مساوی در لوله‌های میکروسانتریفوژ اپندرف استریل در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

تعیین میزان تلقیح باکتریایی: برای تعیین میزان تلقیح باکتریایی مورد مطالعه، باکتری منجمد داخل میکروسانتریفوژ اپندرف به محیط آبگوشت BHIمنتقل گردیده و ۲ مرتبه متوالی در ۳۵درجه سانتی گراد به مدت ۱۸ ساعت گرمخانه گذاری شد. سپس از کشت ۱۸ ساعته دوم مقادیر مختلفی به لوله‌های کووت (Cuvett) حاوی ۵ میلی لیتر آبگوشت BHI استریل اضافه و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Milton Roy Company,USA) جذب نوری آنها در طول موج ۶۰۰ نانومتر تعیین گردید. همزمان با عمل فوق، نمونه برداری از محتویات لوله‌های کووت صورت گرفته و شمارش باکتریایی انجام شد و در نهایت لوله کووت که حاوی $۱\times۱۰^{۸}$ باکتری در هر میلی لیتر بود، مشخص گردید. بدین ترتیب در هربار انجام آزمایش، با مشخص شدن جذب نوری معادل تقریبا $۱\times۱۰^{۸}$ باکتری در میلی لیتر که با کشت دادن سطحی نیز تایید شد، لوله کووت حاوی تقریبا $۱\times۱۰^{۸}$ باکتری در هر میلی لیتر مشخص گردید. سپس از این لوله رقت‌های ۱۰ تایی درست شده و از این رقت‌ها جهت بدست آوردن دوز تلقیح $۱۰^{۳}$ در این آزمایش استفاده گردید (۶، ۷).

**تهیه و آماده سازی گوشت چرخ کرده:** ۵ کیلوگرم گوشت چرخ کرده از یک کارخانه از یک سری تولیدی نمونه گیری و به اندازه‌های ۲۵ گرمی در داخل پلاستیک‌های استریل بسته بندی شد. سپس در آزمایشگاه سازمان انرژی اتمی ایران به منظور استریل نمودن، تحت اشعه دهی گاما به میزان ۵ کیلو گری (۵ KGy) قرار گرفت و برای تایید استریل بودن، کشت میکروبی انجام شد.

**تهیه اسانس و آنالیز آن:** گیاه آویشن شیرازی در فصل تابستان از استان فارس جمع‌آوری و توسط هرباریوم پژوهشکده گیاهان دارویی موسسه جهاد دانشگاهی دانشگاه علوم پزشکی تهران نام علمی آن تایید گردید. اسانس از سرشاخه‌های گیاه توسط دستگاه Celevenger Type به روش تقطیر با بخار داغ تهیه و توسط

Archive of SID

www.SID.ir

کروماتوگراف گازی متصل به طیف نگار جرمی (GC-MS) آنالیز گردید. دستگاه GC-MS مورد استفاده از نوع Thermoquest Finnigan با ستون موئینه به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر بابرنامه دمایی ۵۰ تا ۲۶۵ درجه سانتی گراد در هر دقیقه و نگهداری ستون در ۲۶۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه بود. دمای محفظه تزریق ۲۵۰ درجه سانتی گراد، سرعت گاز هلیوم ۱/۵ میلی متر در دقیقه، انرژی یونیزاسیون شناسگر EI ۷۰ الکترون ولت و دمای منبع یونیزاسیون ۲۵۰ درجه سانتی گراد بود.

**تلقیح باکتری و اضافه نمودن اسانس به گوشت چرخ‌کرده:** ۲۵ گرم گوشت چرخ‌کرده به همراه غلظت‌های مورد نظر اسانس آویشن شیرازی و دوز تعیین شده باکتری در داخل کیسه‌های استریل Bag) (Mixer به ابعاد ۱۹×۳۵ سانتی متر قرار داده شده و سپس کیسه‌های استریل در استوماکر Window door/porte FenetreW: Model-France، Interscience ۴۰۰vw گذاشته شده و به مدت ۲ دقیقه دردمای اتاق به منظور توزیع یکنواخت اسانس و باکتری در گوشت چرخ کرده هموژن گردید؛ سپس کیسه‌های استوماکر در بسته در دماهای ۴ و ۱۰ درجه سانتی گراد (به ترتیب دمای یخچالی مناسب و دمای سرد نامناسب) به مدت ۱۴ روز نگهداری و از روز صفر، هر ۲ روز یک‌بار تا روز ۱۴ شمارش میکربی انجام شد.

**آنالیز میکروبی:** در زمان مورد نظر، به نمونه‌های گوشت چرخ‌کرده گوساله (۲۵ گرم) در کیسه‌های استوماکر در شرایط استریل ۲۲۵ میلی لیتر آب پپتونه ۰/۱ درصد اضافه شده و ۲ دقیقه در دمای اتاق توسط استوماکر هموژن گردید؛ سپس رقت‌های بعدی با استفاده از لوله‌های رقت حاوی آب پپتونه ۰/۱ درصد بدست آمده و در پلیت حاوی آگار قلب و مغز کشت داده شده و در ۳۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری گردید. لازم به ذکر است که این آزمایش در ۳ تکرار انجام و سپس نتایج در فرم‌های مربوط ثبت شد (۲۶).

ارزیابی اثر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی و دما بر رشد E.coli $O_{157}$: $H_7$ با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA انجام شد و از نرم افزار SPSS ۱۶ استفاده گردید. جهت مقایسه بین میانگین‌ها از تست Tukey, Post Hoc (LSD) استفاده شد.

## یافته‌ها

نتیجه آنالیز ترکیبات اسانس آویشن شیرازی مورد استفاده در این مطالعه با استفاده از GC/MS در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. همان‌گونه که در جدول آمده، بیشترین ترکیب (۷۱/۱۲ درصد) تشکیل دهنده اسانس، کارواکرول (Carvacrol) است.نتایج بررسی رشد E.coli $O_{157}$: $H_7$ تلقیح شده ($10^3$ cfu/g) در گوشت چرخ‌کرده متاثر از غلظت‌های مختلف (صفر، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ درصد) اسانس یاد شده در طی ۱۴ روز نگهداری در دمای ۴ ، ۱۰ درجه سانتی گراد درجدول ۲، ۳ آمده است.

این مطالعه نشان می‌دهد که در بالاترین غلظت اسانس آویشن شیرازی (۰/۰۳ درصد) در ۴ درجه سانتی گراد، هرچه مدت زمان نگهداری بیشتر شود، میزان رشد باکتری کاهش می‌یابد (P<۰/۰۱). تعداد E.coli $O_{157}$: $H_7$ در گروه‌های تیمارشده با غلظت‌های مختلف آویشن شیرازی نسبت به گروه کنترل در دمای ۴ درجه و ۱۰ درجه سانتی گراد اختلاف معنی‌داری داشتند (P<۰/۰۵). در غلظت ۰/۰۳ درصد آویشن شیرازی تعداد E.coli $O_{157}$: $H_7$ در روز هشتم به Log ۲/۸۶ cfu/g در دمای ۴ درجه سانتی گراد رسید که این تعداد تقریبا تا انتهای دوره نگهداری بدون تغییر ماند(P<۰/۰۱).

در دمای ۱۰ درجه سانتی گراد جمعیت باکتری مورد نظر در گروه

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

| نام ترکیب | اندیس بازدارنده | درصد |
|---|---|---|
| Thujene | ۹۳۰ | ۰/۱۹ |
| Alpha–Pinene | ۹۳۷ | ۴/۲۶ |
| Beta – Pinene | ۹۷۶ | ۰/۴۳ |
| Beta –Myrcene | ۹۸۵ | ۰/۸۵ |
| Eucaliptol | ۱۰۲۴ | ۳/۳۷ |
| Gama – Terprinene | ۱۰۵۵ | ۷/۳۴ |
| Linalool | ۱۰۹۰ | ۰/۶۸ |
| Thymol methyl ether | ۱۲۳۶ | ۰/۴۷ |
| Carvacrol Methyl ether | ۱۲۴۳ | ۰/۴۶ |
| Carvacrol | ۱۲۹۹ | ۷۱/۱۲ |
| Trans–Caryophyllen | ۱۴۱۸ | ۰/۴۱ |
| Globulol | ۱۵۸۲ | ۲/۳۲ |
| جمع | – | ۹۱/۹۰ |

Archive of SID
www.SID.ir

**جدول ۲- اثر اسانس آویشن شیرازی بر رشد $E.coli\ O_{157}:H_7$ در گوشت چرخکرده طی ۱۴ روز نگهداری در دمای ۱۰ درجه سانتی گراد (P<۰/۰۱)**

| شمارش باکتریایی $(Log\ ^{c}fu/g)^{A}$ | | | | |
|---|---|---|---|---|
| روز | غلظت‌های آویشن شیرازی | | | |
| | کنترل | ۰/۰۰۵ | ۰/۰۱۵ | ۰/۰۳ |
| ۰ | ۳/۰۵±۰/۰۹ a | ۳/۰۳±۰/۰۵ b | ۳/۰۱±۰/۰۲ c | ۳/۰۳±۰/۰۵ d |
| ۲ | ۴/۴۲±۰/۳۴ a | ۴/۰۱±۰/۰۷ b | ۳/۱۹±۰/۲۳ c | ۳/۰۱±۰/۰۲ d |
| ۴ | ۵/۴۲±۰/۳۳ a | ۴/۴۲±۰/۲۷ b | ۳/۴۶±۰/۳۲ c | ۳/۱۹±۰/۲۱ d |
| ۶ | ۶/۰۶±۰/۹ a | ۵/۰۴±۰/۲۱ b | ۳/۸۱±۰/۳۹ c | ۳/۴۶±۰/۴۳ d |
| ۸ | ۷/۲۸±۰/۵۲ a | ۵/۶۹±۰/۵۱ b | ۴/۴۹±۰/۴۱ c | ۳/۵۵±۰/۶۷ d |
| ۱۰ | ۸/۰۵±۰/۱۵ a | ۶/۳۸±۰/۲۹ b | ۵/۰۸±۰/۱۶ c | ۳/۶۶±۰/۱۷ d |
| ۱۲ | ۸/۸۳±۰/۳۵ a | ۶/۸۳±۰/۳۸ b | ۵/۵۵±۰/۴۱ c | ۳/۶۵±۰/۸۱ d |
| ۱۴ | ۹/۱۶±۰/۶۳ a | ۷/۴۳±۰/۵۳ b | ۵/۴۶±۰/۶۶ c | ۳/۸۱±۰/۹۸ d |

A میانگین ± انحراف معیار
میانگین‌های نشان دار شده با حروف غیر یکسان در هر ردیف دارای اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشند.

**جدول ۳- اثر اسانس آویشن شیرازی بر رشد $E.coli\ O_{157}:H_7$ در گوشت چرخ‌کرده طی ۱۴ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد (P<۰/۰۱)**

| شمارش باکتریایی $(Log\ ^{c}fu/g)^{A}$ | | | | |
|---|---|---|---|---|
| روز | غلظت‌های آویشن شیرازی | | | |
| | کنترل | ۰/۰۰۵ | ۰/۰۱۵ | ۰/۰۳ |
| ۰ | ۳/۰۲±۰/۳۷ a | ۳/۰۷±۰/۰۷ b | ۳/۰۴±۰/۰۶ c | ۳/۰۳±۰/۰۶ d |
| ۲ | ۴/۲۳±۰/۱۲ a | ۳/۷۶±۰/۲۶ b | ۳/۰۷±۰/۰۷ c | ۳/۰۷±۰/۰۷ d |
| ۴ | ۵/۱۴±۰/۰۳ a | ۴/۱۷±۰/۰۴ b | ۳/۱۶±۰/۰۴ c | ۳/۰۵±۰/۰۸ d |
| ۶ | ۵/۳۳±۰/۰۹ a | ۴/۷۸±۰/۰۶ b | ۳/۴۲±۰/۱۵ c | ۳/۱۲±۰/۰۶ d |
| ۸ | ۶/۷۴±۰/۰۸ a | ۵/۲۲±۰/۱ b | ۴/۲۳±۰/۱۲ c | ۲/۸۶±۰/۰۸ d |
| ۱۰ | ۷/۸۶±۰/۰۷ a | ۶/۱۴±۰/۰۷ b | ۴/۸۴±۰/۱ c | ۲/۶۲±۰/۱ d |
| ۱۲ | ۸/۳۸±۰/۱۴ a | ۶/۴۶±۰/۱۲ b | ۵/۲۶±۰/۱۱ c | ۲/۰۴±۰/۰۶ d |
| ۱۴ | ۸/۶۲±۰/۱۲ a | ۶/۸۷±۰/۰۸ b | ۴/۸۷±۰/۰۷ c | ۲/۰۳±۰/۰۵ d |

A میانگین ± انحراف معیار
میانگین‌های نشان دار شده با حروف غیر یکسان در هر ردیف دارای اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشند.

کنترل طی دوره نگهداری سیر افزایشی داشت و در پایان دوره به ۹/۱۶ Log cfu/g رسید اما در غلظت ۰/۰۳ درصد در همین دما، جمعیت باکتری ۳/۸۱ Log cfu/g نشان داده شد که حاکی از تاثیر مثبت غلظت اسانس آویشن شیرازی است (P<۰/۰۱).

## بحث و نتیجه‌گیری

اگرچه مدت‌هاست که اثر بازدارندگی ادویه جات، عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی شناخته شده. اما در سال‌های اخیر به تاثیر عصاره‌های معطر و اسانس‌های گیاهی یا مواد موثره این اسانس‌ها روی پاتوژن‌ها و میکروارگانیسم‌های عامل فساد مواد غذایی توجه ویژه‌ای شده است (۲، ۱ ، ۲۷).

طبق نتایج این مطالعه، غلظت ۰/۰۰۵ درصد اسانس آویشن شیرازی اثر مهاری پایینی بر رشد باکتری داشت. همان‌طور که در مطالعات انجام شده توسط Friedman و همکاران در سال ۲۰۰۲ میلادی؛

www.SID.ir

Marino و همکاران در سال ۱۹۹۹ میلادی و Sagdic در سال ۲۰۰۳ میلادی نشان داده شده است، اسانس‌های گیاهی اثر ضد میکروبی بر E.coli $O_{157}$: $H_7$ داشته‌اند. در مطالعات متعددی گزارش شده است که اثر ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی وابسته به دوز است (Burt-Sagdic-۲۰۰۳ ۲۰۰۴) که مطالعه حاضر نیز موید این مسئله است.

Ozcan و همکاران در سال ۲۰۰۳ میلادی نشان دادند که با استفاده از روش Disc Diffusion اسانس آویشن (Thyme) در غلظت ۰/۲ درصد هیچ فعالیت ضد میکروبی برضد E.coli $O_{157}$: $H_7$ ندارد، در حالی‌که در غلظت ۰/۴ درصد فعالیت زیادی دارد.

Burt و همکاران در سال ۲۰۰۳ میلادی دریافتند که اسانس آویشن در غلظت‌های پایین مانند ۰/۱۲ و ۰/۲۵ درصد به ترتیب اثر باکتریواستاتیکی و باکتریوسیدی دارد.

همچنین Sagdic و همکاران در سال ۲۰۰۲ میلادی گزارش کردند که اسانس آویشن در غلظت‌های ۰/۵، ۱/۵ و ۲ درصد در نوترینت براث بر E.coli $O_{157}$: $H_7$ اثر باکتریوسیدی وابسته به دوز در طی نگهداری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۷ روز دارد.

کارواکرول و تیمول، دوترکیب فنلی مهم در آویشن شیرازی هستند که اثر قوی ضد میکروبی آنها توسط محققان نشان داده شده است (۱۷، ۱۱، ۱۰، ۷، ۴، ۱ و ۲۲).

Gama – Tterprinene یک ترکیب هیدروکربنی مونوترپنی است که در اسانس آویشن شیرازی و Thyme وجود دارد و بر طبق یافته‌های Burt و همکاران در سال ۲۰۰۵ میلادی هیچ گونه اثر ضد میکروبی در محیط‌های آزمایشگاهی بر ضد E.coli $O_{157}$: $H_7$ ندارد. هرچند که Roller و Kisko در سال ۲۰۰۵ میلادی دریافتند که این ماده بر ضد E.coli $O_{157}$: $H_7$ در آب سیب فعالیت ضد میکروبی دارد.

در مطالعه حاضر، ضریب همبستگی غلظت اسانس با لگاریتم تعداد باکتری در دماهای ۴ ، ۱۰ درجه سانتی گراد به ترتیب برابر با ۰/۷۰۱ – و ۰/۵۹۹– بود. منفی بودن این ضریب بدین معنی است که با افزایش غلظت اسانس، میزان رشد باکتری در طی دوره نگهداری کاهش می‌یابد. همچنین نشان داده شد که تاثیر مقادیر مختلف اسانس بر میزان رشد باکتری معنی‌دار می‌باشد.

بر اساس نتایج به‌دست آمده، تاثیر معنی‌دار اسانس بر رشد باکتری مورد مطالعه نشان داد که اثر بازدارندگی اسانس در ۴ درجه سانتی گراد به طور معنی‌دار افزایش پیدا کرده است که این موضوع با یافته‌های بسیاری از محققان همخوانی دارد (Blackburn - ۲۰۰۲ , Fujikawa- ۲۰۰۶ , Vaiero- ۲۰۰۳).

در مطالعه حاضر همچنین مشخص گردید که دمای نگهداری، مدت زمان نگهداری و غلظت اسانس آویشن شیرازی بر میزان رشد باکتری تاثیر آماری معنا داری دارد).

بنابراین می‌توان اذعان نمود که اسانس گیاه مورد مطالعه را می‌توان به عنوان یک نگهدارنده طبیعی و ضد باکتریایی مناسب ضد باکتری‌های گرم منفی از جمله E.coli $O_{157}$: $H_7$ در گوشت و فراورده‌های گوشتی مورد استفاده قرار داد.

## References


1- Vernozy-Rozand C, Ray-Gueniot S, Ragot C, Bavai C, Mazuy C, Montet MP, et al. Prevalence of Escherichia coli O157:H7 in industrial minced beef. Lett Appl Microbiol 2002; 35(1): 7-11.

2- Imaida K, Fukushima S, Shirai T, Ohtani M, Nakanishi K, Ito N. Promoting activities of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene on 2-stage urinary bladder carcinogenesis and inhibition of gamma-glutamyl transpeptidase-positive foci development in the liver of rats. Carcinogenesis 1983; 4(7): 895-9.

3- Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. Int J Food Microbiol 2004; 94(3): 223-53.

4- Burt SA, Vlielander R, Haagsman HP, Veldhuizen EJ. Increase in activity of essential oil components carvacrol and thymol against Escherichia coli O157:H7 by addition of food stabilizers. J Food Prot 2005; 68(5): 919-26.

5- Nazer A, Kobilinsky A, Tholozan JL, Dubois-Brissonnet F. Combinations of food antimicrobials at low levels to inhibit the growth of Salmonella sv. Typhimurium: a synergistic effect? Food Microbiol 2005; 22(5): 391-8.

6- Hosseinzadeh H, Ramezani M, Salmani G. Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of Zataria multiflora Boiss extracts in mice and rats. J Ethnopharmacol 2000; 73(3): 379-85.

7- Bagamboula C, Uyttendaele M, Debevere J. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards Shigella sonnei and S. flexneri. Food Microbiol 2004; 21(1): 33-42.

8- Betts G. Controlling O157. Nutr Food Sci 2000; 30(4): 183-6.


Archive of SID
www.SID.ir

9- Karmali MA. Infection by verocytotoxin-producing Escherichia coli. Clin Microbiol Rev 1989; 2(1): 15-38.
10- Adams MR, Moss MO. Food microbiology. 2nd ed. [Mortazavi SA, Sadeghi Mahoonak AR, Trans]. Iran, Mashhad: Ferdowsi University of Mashhad Publication; 2000. [Persian]
11- Razavilar V, Genigeorgis C. Prediction of Listeria spp. growth as affected by various levels of chemicals, pH, temperature and storage time in a model broth. Int J Food Microbiol 1998; 40(3): 149-57.
12- Bouchra C, Achouri M, Idrissi Hassani LM, Hmamouchi M. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against Botrytis cinerea Pers: Fr. J Ethnopharmacol 2003; 89(1): 165-9.
13- Thomas LV, Ingram RE, Yu S, Delves-Broughton J. Investigation of the effectiveness of Ascopyrone P as a food preservative. Int J Food Microbiol 2004; 93(3): 319-23.
14- Ali MS, Saleem M, Akhtar F, Jahangir M, Parvez M, Ahmad VU. Three p-cymene derivatives from Zataria multiflora. Phytochemistry 1999; 52(4): 685-8.
15- Akgul A, Kivanc M. Inhibitory effects of selected Turkish spices and oregano components on some foodborne fungi. Int J Food Microbiol 1988; 6(3): 263-8.
16- Valero M, Giner MJ. Effects of antimicrobial components of essential oils on growth of Bacillus cereus INRA L2104 in and the sensory qualities of carrot broth. Int J Food Microbiol 2006; 106(1): 90-4.
17- Friedman M, Henika PR, Mandrell RE. Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against Campylobacter jejuni, Escherichia coli, Listeria monocytogenes, and Salmonella enterica. J Food Protect 2002; 65(10): 1545-60.
18- Sağdıç O. Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. Lwt-Food Sci Technol 2003; 36(5): 467-73.
19- Burt SA, Reinders RD. Antibacterial activity of selected plant essential oils against Escherichia coli O157:H7. Lett Appl Microbiol 2003; 36(3): 162-7.
20- Özkan G, Sağdiç O, Özcan M. Note: Inhibition of pathogenic bacteria by essential oils at different concentrations. Food Sci Technol Int 2003; 9(2): 85-8.
21- Marino M, Bersani C, Comi G. Antimicrobial activity of the essential oils of Thymus vulgaris L. measured using a bioimpedometric method. J Food Prot 1999; 62(9): 1017-23.
22- Sağdıç O, Kuşçu A, Özcan M, Özçelik S. Effects of Turkish spice extracts at various concentrations on the growth of Escherichia coli O157: H7. Food Microbiol 2002; 19(5): 473-80.
23- Chami N, Chami F, Bennis S, Trouillas J, Remmal A. Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats. Braz J Infect Dis 2004; 8(3): 217-26.
24- Lopez-Malo A, Maris Alzamora S, Palou E. Aspergillus flavus growth in the presence of chemical preservatives and naturally occurring antimicrobial compounds. Int J Food Microbiol 2005; 99(2): 119-28.
25- Didry N, Dubreuil L, Pinkas M. Activity of thymol, carvacrol, cinnamaldehyde and eugenol on oral bacteria. Pharm Acta Helv 1994; 69(1): 25-8.
26- Periago PM, Moezelaar R. Combined effect of nisin and carvacrol at different pH and temperature levels on the viability of different strains of Bacillus cereus. Int J Food Microbiol 2001; 68(1): 141-8.
27- Blackburn C, McClure P. Foodborne Pathogens: Hazards. Risk Analysis, and Control CRC Press, Cambridge 2002.
28- Valero M, Salmeron MC. Antibacterial activity of 11 essential oils against Bacillus cereus in tyndallized carrot broth. Int J Food Microbiol 2003; 85(1-2): 73-81.
29- Fujikawa H, Morozumi S. Modeling Staphylococcus aureus growth and enterotoxin production in milk. Food Microbiol 2006; 23(3): 260-7.

Archive of SID

www.SID.ir

J Army Univ Med Sci. 2012 October; 10 (3) : 192-197

# The antimicrobial effect of ZatariamultifloraBoiss essential oil against E.coli $O_{157}$: $H_7$ in minced beef during refrigerated storage as a replacement for chemical preservatives in order to maintain the consumers health

*Negin Noori[1], Nordahr Rokni[2], Afshin Akhondzade Basti[3], Ali Misaghi[4], Arasb Dabbagh Moghaddam[5]
Ramak Yahyaraeyat[6], Nastona Ghanbari Sagharloo[7]

Received: 22 Apr 2012 Accepted: 4 Aug 2012

## Abstract

**Background:** Today, the consumers have more knowledge about the unwanted effects of synthetic antimicrobials in foods and they want food with more natural ingredients. There are many researches about antimicrobial effects of essential oils, but we did not found researches about Zatariamultiflora Bios on E.coli O157:H7 in minced beef. The aim of this study was to determinre the effect of Zatariamultiflora Bios essential oil on E.coli O157:H7 in minced.

**Materials and Methods:** The antimicrobial effect of different concentrations of Zatariamultiflora Boiss essential oil at supplementation levels of (0, 0.005, 0.015, 0.03%) on E. coli O157:H7 was examined in minced beef. All of the above concentrations showed acceptable organoleptic properties in minced beef. Eo at 0.03% possessed a strong antibacterial activity against E.coli O157:H7 in minced beef.

**Results:** The correlation coefficient of different concentrations of ZatariamultifloraBoiss essential oil with logarithm of the numbers of E. coli O157:H7 was –0.701, –0.599 at 4 and 10°C respectively. It was found that effect of different concentrations of essential oil on growth rate of E. coli O157:H7 was statistically significant ($p<0.01$).

**Conclusion:** In this study, it was found that treatment of minced beef with different concentrations of essential oils showed an inhibitory activity against E. coli O157:H7 during storage at 4°C, but not at 10°C ($p< 0.01$). According to present study, storage at a proper refrigerated storage like 4°C is suggested. ZatariamultifloraBioss essential oil can use as a natural preservative instead of chemical preservatives for meat products.

**Keywords:** ZatariamultifloraBoiss, Essential Oil; E .coli O157:H7, Minced beef, Refrigeration Temperatures

1- (*Corresponding Author) Assistant Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran. Tel: +982161117067 E-mail: nnoori@ut.ac.ir
2- Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
3- Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
4- Associated Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
5- Instructor, Department of Social Medicine and Public Health, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran
6- Assistant Professor, Mycology research center, Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
7- Instructor, Department of Social Medicine and Public Health, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Archive of SID
www.SID.ir