Archive of SID

ORIGINAL ARTICLE

The Effects of Chitosan Incorporated with Eucalyptus and Cuminum Essential Oils on Storage Time of Oncorhynchus mykiss

Reza Sharafati Chaleshtori[1],
Mohsen Taghizadeh[2],
Ahmad Khanalizadeh[3],
Sepideh Hesami[3],
Zahra Heidaryan[3],
Pegah Sahebjami[3],
Mehdi Khatami[3]

[1] Assistant Professor, Research Center for Biochemistry and Nutrition in Metabolic Diseases, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
[2] Associate Professor, Research Center for Biochemistry and Nutrition in Metabolic Diseases, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
[3] Research Center for Biochemistry and Nutrition in Metabolic Diseases, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

(Received August 31, 2015 Accepted November, 11, 2015)

Abstract

Background and purpose: Today, the use of natural preservatives in increasing meat products shelf life has gained much attention. In this study, we aimed at evaluating the effects of eucalyptus and cuminum essential oils on microbial quality of *Oncorhynchus mykiss*.

Materials and methods: In an experimental study the eucalyptus and cuminum essential oils were prepared and their antibacterial activities were evaluated against *Shigella dysenteriae*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, and *Salmonella typhi* by micro dilution method. Then, the effects of eucalyptus and cuminum essential oils were examined on microbial quality of *Oncorhynchus mykiss* at 8±1 °C in zero, 3 and 6 days in different forms and concentrations (alone: eucalyptus 0.25% and cuminum 0.5%, combined: 0.5% + 0.5%, and also incorporated with chitosan: 0.25% and 0.5%). Data analysis was performed in SPSS ver.16 applying ANOVA and Duncan test.

Results: The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) for the essential oils ranged between 0.351 and 11.25, and 1.406 and 11.25 mg/ml, respectively. Eucalyptus essential oil at 0.5% concentration was found to have the best effect on decreasing the total count of bacteria, enterobacteriaceae and psychrotrophic bacteria in fish. Also, combination of chitosan and the essential oils decreased the total count of bacteria, enterobacteriaceae and psychrotrophic bacteria ($P<0.05$). The antibacterial effects of essential oils (alone) were lower compared to synergistic antibacterial activities of essential oils with chitosan ($P<0.05$).

Conclusion: Eucalyptus and cuminum essential oils could be used as alternative for chemical preservatives and also in active packaging in meat industry.

Keywords: Eucalyptus, Cuminum, *Oncorhynchus mykiss*

J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 26(133): 150-161 (Persian).

www.SID.ir

Archive of SID

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و پنجم شماره ۱۳۳ بهمن سال ۱۳۹۴ (۱۶۱-۱۵۰)

بررسی اثرات کیتوزان حاوی اسانس های اکالیپتوس و زیره بر مدت زمان نگهداری ماهی قزل آلا

رضا شرافتی چالشتری[۱]
محسن تقی زاده[۲]
احمد خانعلی زاده[۳]
سپیده حسامی[۳]
زهرا حیدریان[۳]
پگاه صاحب جمعی[۳]
مهدی خاتمی[۳]

چکیده

سابقه و هدف: امروزه جهت افزایش مدت زمان نگهداری گوشت‌ها و فراورده‌های گوشتی، استفاده از ترکیبات نگهدارنده طبیعی رو به افزایش است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات کیتوزان حاوی اسانس‌های اکالیپتوس و زیره بر مدت زمان نگهداری ماهی قزل‌آلا بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، پس از تهیه اسانس اکالیپتوس و زیره، اثرات ضدمیکروبی اسانس‌ها به روش میکرودایلوشن علیه باکتری‌های *شیگلا دیزانتری*، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *استرپتوکوکوس پایوژنز* و *سالمونلا تایفی* بررسی شدند. سپس اثرات اسانس‌های اکالیپتوس و زیره به صورت مجزا (غلظت‌های ۰/۲۵ درصد و ۰/۵ درصد)، ترکیبی (۰/۵ + ۰/۵ درصد) و هم‌چنین در ترکیب با کیتوزان (غلظت‌های ۰/۲۵ درصد و ۰/۵ درصد) بر روی کیفیت میکروبی ماهی قزل‌آلا در ۱±۸ درجه سانتی‌گراد در روزهای صفر، ۳ و ۶ بررسی شدند. نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۱۶ و آزمون واریانس و آزمون دانکن مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: حداقل میزان غلظت مهار کنندگی باکتری‌ها و حداقل میزان باکتری‌کشی باکتری‌ها به ترتیب غلظت‌هایی بین ۰/۳۵۱ تا ۱۱/۲۵ و ۱/۴۰۶ تا ۱۱/۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر برای اسانس‌ها بود. اسانس اکالیپتوس ۰/۵ درصد بهترین اثر را در کاهش شمارش کلی باکتری‌ها، سرماگراها و انتروباکتریاسه‌ها در ماهی نشان داد. هم‌چنین استفاده از کیتوزان همراه با اسانس‌ها سبب کاهش شمارش کلی باکتری‌ها، سرمادوست‌ها و انتروباکتریاسه‌ها در ماهی قزل‌آلا شد ($p<0/05$). اثرات ضد باکتریایی اسانس‌های تنها نسبت به حالت سینرژیستی اسانس‌ها با کیتوزان کم‌تر بود ($p<0/05$).

استنتاج: بنابراین می توان اسانس‌های مذکور را به عنوان جایگزینی برای ترکیبات نگهدارنده شیمیایی و هم‌چنین در بسته‌بندی‌های فعال در صنایع گوشت استفاده نمود.

واژه های کلیدی: اکالیپتوس، زیره، قزل آلا

مقدمه

ماهیان و فرآورده‌های آن‌ها، از غذاهای فسادپذیر و با زمان ماندگاری کوتاهی می‌باشند. رشد افزایشی میکروب‌ها بر روی ماهی و گوشت‌های تازه سرد شده، به دلیل عدم رعایت زنجیره سرما در زمان ذخیره سازی،

مولف مسئول: رضا شرافتی چالشتری: کاشان: مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان Email: sharafati.reza@gmail.com
۱. استادیار، مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
۲. دانشیار، مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
۳. کارشناس مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۴/۶/۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۴/۶/۲۴ تاریخ تصویب : ۱۳۹۴/۸/۲۰

www.SID.ir

Archive of SID

توزیع و حمل و نقل، سبب کوتاه شدن زمان نگهداری و کاهش کیفیت آن می‌شود. از طرفی با حمایت از رشد میکروارگانیسم‌های پاتوژن می‌تواند مشکلات جدی برای سلامت عمومی ایجاد نماید(۲،۱) ماهی به عنوان یکی از مهم‌ترین منابع پروتئینی که حاوی انواع اسیدهای آمینه ضروری برای بدن، مواد معدنی مانند آهن و روی، انواع ویتامین‌ها و نیز انرژی کافی بوده، در زمره یکی از بهترین و کامل‌ترین مواد غذایی معرفی شده است. در صورت ایجاد فساد باکتریایی و فساد اکسیداتیو و از بین رفتن این محصولات، خسارات اقتصادی سنگینی به صنعت گوشت وارد خواهد شد(۳- ۱). برای به تعویق انداختن فساد اکسیداتیو و باکتریایی ماهی و فرآورده‌های آن می‌توان از روش‌هایی هم‌چون کنترل درجهٔ حرارت و کاهش آن، بسته‌بندی تحت خلأ، بسته‌بندی در اتمسفر تغییریافته، افزودن عوامل ضد میکروبی مانند نمک و افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها اشاره کرد. البته باید توجه شود که تعدادی از روش‌های ذکر شده برای نگهداری ماهی که به شکل تازه و خام که از تقاضای زیادی در بین مصرف‌کنندگان برخوردار است، کاربرد ندارد(۵،۴). یکی از روش‌های نگهداری مواد غذایی استفاده از افزودن نگهدارنده‌های شیمیایی و طبیعی در غلظت‌های مختلف به انواعی از مواد غذایی است که با توجه به رویکرد مصرف‌کنندگان به استفاده از ترکیبات طبیعی در مواد غذایی و احتمال سرطان زایی ترکیبات نگهدارنده سنتزی، استفاده از مواد طبیعی با خاصیت ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی مانند اسانس های گیاهی رو به افزایش است(۶). با این حال به دلیل آزاد شدن اسانس‌ها به صورت کنترل نشده در ماده غذایی و ایجاد بوها و طعم‌های تند و یا غیر فعال شدن قسمتی از این ترکیبات فعال به دلیل واکنش با مواد غذایی، عملکرد آن‌ها کاهش می‌یابد(۷). بنابراین می توان با استفاده از پوشش‌های خوراکی حاوی ترکیبات ضدمیکروبی که به صورت کندتر سبب آزادسازی این ترکیبات به داخل گوشت می‌شوند و سبب حفظ غلظت‌های بالاتر ترکیبات ضدمیکروبی در سطح گوشت می‌شود، کارایی این روش را افزایش داد(۸). از طرفی امروزه آلودگی‌های ناشی از پلیمرهای سنتزی در جهت تولید انواع بسته‌بندی‌ها به ویژه برای مواد غذایی مختلف، توجه محققین را به استفاده از مواد زیست تخریب پذیر جلب نموده، به طوری که در دههٔ اخیر مطالعه بر روی ترکیباتی با خواص مذکور حاصل از پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها گسترش وسیعی یافته است(۸،۶). کیتوزان ترکیبی پلی ساکاریدی است که دارای ویژگی‌های عملکردی مانند خصوصیت ضدباکتریایی، ضد قارچی و آنتی‌اکسیدانی است(۹). هم‌چنین دارای خواص زیست تخریبی، غیرسمی بودن، خاصیت چسبندگی، فیبر غذایی و تولید فیلم هایی با ویژگی عدم تبادل گازهای CO_2، O_2 و رطوبت می‌باشد که در صنایع دارویی و غذایی و غیره کاربرد دارد(۱۰،۹).

محققین استفاده از اسانس‌های گیاهی را برای محافظت از انواعی ازموادغذایی درمقابل میکروارگانیسم‌های عامل فساد و بیماری‌زا نشان داده‌اند(۱۲،۱۱). فعالیت ضد میکروبی عصاره اکالیپتوس روی طیف وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی نظیر استافیلوکوکوس اورئوس، شیگلا دیسانتری، سالمونلا پاراتیفی، اشرشیا کولی، باسیلوس سرئوس و نیز قارچ کاندیدا آلبیکنس مشخص شده است(۱۴،۱۳). هم‌چنین در مطالعه‌ای، مهم‌ترین ترکیبات اسانس زیره سبز را سابینن، فلاونوئیدها، کومارین، کومین آلدئید، پینن و ترپینن گزارش کردند و اثرات ضد میکروبی اسانس را علیه باسیلوس سرئوس و اشریشیاکلی نشان دادند(۱۵). اثرات ضدمیکروبی برخی از فیلم‌های خوراکی حاوی اسانس‌ها و عصاره‌ها، به وسیله تعدادی از محققان ارزیابی شده است. با این وجود به دلیل این که تاکنون مطالعه‌ای در به کارگیری از اسانس‌های اکالیپتوس، زیره و به‌صورت ترکیبی آن‌ها و یا همراه با کیتوزان بر روی گوشت ماهی وجود ندارد، بنابراین هدف از این بررسی اثرات کیتوزان حاوی اسانس‌های

www.SID.ir

Archive of SID

اکالیپتوس و زیره بر مدت زمان نگهداری ماهی قزل‌آلا در دمای ۱±۸ °C بود.

مواد و روش ها

تهیه اسانس و آنالیز آن

در این مطالعه تجربی که در آزمایشگاه میکروب شناسی مواد غذایی دانشگاه علوم پزشکی کاشان در بهار ۱۳۹۴ انجام گرفت، اسانس‌های اکالیپتوس (دانسیته ۰/۸۷۹ گرم در میلی‌لیتر در ۲۰ درجه سانتی‌گراد، ضریب شکست ۱/۴۵۸۳ و چرخش نوری ۱/۹۵) و اسانس زیره (دانسیته ۰/۹۰۶ گرم در میلی‌لیتر در ۲۰ درجه سانتی‌گراد، ضریب شکست ۱/۴۸۵ و چرخش نوری ۱۳/۹۳) با درجه غذایی از شرکت باریج اسانس تهیه شدند. سپس توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی مجهز به دتکتور یونیزاسیون شعله (FID) (Agilent ۶۸۹۰) با طول ستون ۶۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS آنالیز شدند. برنامه دمایی ستون به این نحو تنظیم شد: دمای ابتدایی آون ۴۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۱ دقیقه بود. سپس تا رسیدن به دمای نهایی ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد، افزایش دما با شیب حرارتی ۳ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه انجام گرفت. دمای اتاقک تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۱ میلی‌متر در دقیقه استفاده شد. جهت شناسایی ترکیبات اسانس‌ها از مقایسه پیک‌های به دست آمده با استانداردهای موجود و با سه بار تکرار به دست آمد.

آماده‌سازی کیتوزان و نمونه ماهی

کیتوزان با وزن ملکولی متوسط از شرکت سیگما (St. Louis, MO. USA) خریداری گردید. برای تهیه فیلم، ابتدا محلول اسید استیک دو درصد تهیه و سپس محلول کیتوزان دو درصد در اسید مذکور تهیه و پس از حل شدن کامل (۲/۵ ساعت در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد) و عبور دادن از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۱، به میزان دو درصد حجمی حجمی از پلاستی سایزر گلیسرول به محلول اضافه گردید(۱۶). از توئین ۸۰ به عنوان امولسیفایر (۰/۲ درصد محلول کیتوزان) برای توزیع کامل اسانس‌های مذکور در محلول کیتوزان استفاده شد. نمونه‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با وزن تقریبی ۲۰±۳۵۰ گرم از یک مغازه ماهی فروشی در شهر کاشان خریداری و سریعاً در کنار یخ به آزمایشگاه میکروب شناسی مواد غذایی دانشگاه علوم پزشکی کاشان انتقال یافتند. پس از شستشوی اولیه توسط آب سرد استریل، به قطعات ۱۰ گرمی تقسیم شدند. گروه‌های تیمار و کنترل شامل: ۱) گوشت ماهی بدون اسانس و پوشش کیتوزان، ۲) گوشت ماهی بدون اسانس و همراه با پوشش کیتوزان، ۳) گوشت ماهی با پوشش کیتوزان و غلظت ۰/۲۵ درصد اسانس اکالیپتوس، ۴) گوشت ماهی با پوشش کیتوزان و غلظت ۰/۲۵ درصد اسانس زیره، ۵) گوشت ماهی با پوشش کیتوزان و غلظت ۰/۵ درصد اسانس اکالیپتوس، ۶) گوشت ماهی با پوشش کیتوزان و غلظت ۰/۵ درصد اسانس زیره، ۷) گوشت ماهی با غلظت ۰/۲۵ درصد اسانس اکالیپتوس، ۸) گوشت ماهی با غلظت ۰/۲۵ درصد اسانس زیره، ۹) گوشت ماهی با غلظت ۰/۵ درصد اسانس اکالیپتوس، ۱۰) گوشت ماهی با غلظت ۰/۵ درصد اسانس زیره و ۱۱) گوشت ماهی با غلظت ترکیبی ۰/۵ + ۰/۵ درصد اسانس اکالیپتوس و زیره بودند. به منظور پوشش نمونه‌ها توسط محلول کیتوزان، آن‌ها را یک دقیقه در محلول غوطه ور نموده و به مدت ۳۰ دقیقه مجاورت هوا خشک کردیم. سپس کلیه نمونه‌های آماده سازی شده در دما ۱±۸ °C نگهداری شدند و آنالیزهای میکروبی بر روی آن‌ها در روزهای صفر، سه و شش صورت پذیرفت. کلیه آزمون‌ها با سه بار تکرار انجام گرفت.

فعالیت ضد میکروبی

جهت تعیین فعالیت ضد میکروبی اسانس‌های اکالیپتوس، زیره و محلول کیتوزان از باکتری‌های

www.SID.ir

Archive of SID

لیستریا مونوسیتوژنز (PTCC: ۱۱۶۶)، *سالمونلا تایفی* (PTCC: ۱۶۰۹)، *استرپتوکوکوس پایوژنز* (PTCC: ۱۴۴۷) و *شیگلا دیزانتری* (PTCC: ۱۱۸۸) تهیه شده از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران استفاده شد. سپس باکتری‌های مورد نظر جهت تهیه سوسپانسیون ۰/۵ مک فارلند به محیط کشت تریپتیک سوی براث منتقل شدند و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند.

تعیین میزان حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) و حداقل میزان کشندگی باکتری‌ها (MBC) با استفاده از روش میکرودایلوشن اندازه‌گیری گردید. به این صورت که برای هر تست، ۹ چاهک از پلیت الیزا انتخاب شد و به هر کدام ۹۵ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث اضافه، سپس ۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی معادل لوله ۰/۵ مک فارلند به همه چاهک‌ها اضافه نمودیم. سپس به هر کدام از چاهک‌ها، ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های متوالی اسانس ها معادل ۶۶۶-۵/۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اضافه کردیم. چاهک شماره ۸ صرفاً حاوی ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت به عنوان کنترل منفی و چاهک شماره ۹ حاوی ۱۹۵ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث به اضافه ۵ میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد. حجم نهایی در تمامی چاهک‌ها ۲۰۰ میکرولیتر بود. پس از مخلوط کردن نمونه‌ها توسط شیکر (۲۰ ثانیه با دور ۳۰۰ rpm)، آن‌ها را به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده و چاهک‌ها را از نظر وجود کدورت و یا عدم کدورت مورد بررسی قرار دادیم. رقت چاهک حاوی کم‌ترین غلظت اسانس که باعث جلوگیری از رشد باکتری (عدم ایجاد کدورت) شد، به عنوان میزان حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد باکتری (MIC) تعیین گردید. سپس از نمونه‌های چاهک‌های بدون کدورت بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار پاساژ داده و میزان حداقل غلظت کشندگی باکتری(MBC) نیز تعیین شد(۱۱).

آزمون‌های میکروبی

نمونه‌های ۱۰ گرمی هر کدام از تیمارهای مورد نظر به ۹۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل اضافه شد (رقت ۱-)، سپس رقت‌های بعدی با استفاده از لوله‌های رقت به دست آمد. شمارش کلی باکتری‌های مزوفیل و انتروباکتریاسه‌ها به ترتیب در محیط کشت plate count agar و ویولت ردبایل گلوکز آگار (VRBGA) به روش کشت سطحی انجام و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. شمارش باکتری‌های سرمادوست در محیط کشت Glutamat Starch Phenol Red Agar (GSPAgar) به روش کشت سطحی انجام و به مدت ۴۸ ساعت در ۳۵ درجه سانتی گراد گرمخانه‌گذاری شد(۱۸،۱۷).

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

کلیه آزمون‌های میکروبی با دو بار تکرار و به صورت میانگین به دست آمده همراه با انحراف معیار گزارش گردید. نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۱۶ و آزمون واریانس و آزمون دانکن مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

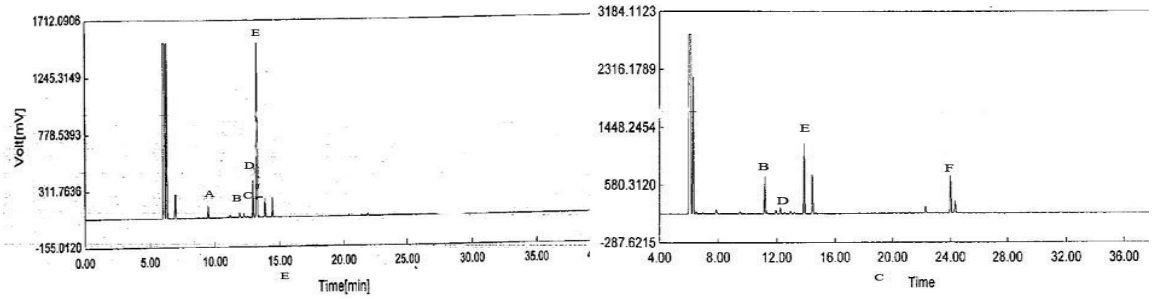
یافته ها

کروماتوگرام آنالیز دستگاهی GC/FID اسانس‌های اکالیپتوس و زیره در تصویر شماره ۱ قابل مشاهده است. در اسانس اکالیپتوس، پنج ترکیب اصلی ۱ و ۸ سینئول (۷۷/۳۲ درصد)، لیمونن (۸/۳۹ درصد)، آلفا پینن (۲/۷۴ درصد)، بتاپینن (۰/۸۶ درصد) و سابینن (۰/۵۲ درصد) شناسایی شد. هم چنین در اسانس زیره، چهار ترکیب ۱ و ۸ سینئول (۲۶/۷۵ درصد)، کومین (۱۷/۱ درصد)، سابینن (۱۵/۱۴ درصد) و لیمونن (۰/۹۴ درصد) شناسایی شد.

بر اساس نتایج، اسانس های اکالیپتوس و زیره دارای اثرات ضدمیکروبی بودند. این اثرات در جدول شماره ۱ قابل مشاهده می‌باشند. محلول کیتوزان اثر ضد باکتریایی بیش‌تری نسبت به اسانس‌ها نشان داد، به طوری که بیش‌ترین اثر را بر *استرپتوکوکوس پایوژنز*

www.SID.ir

Archive of SID



تصویر شماره ۱: کروماتوگرام ترکیبات اصلی اسانس های اکالیپتوس و زیره به دست آمده توسط GC/FID، E: اکالیپتوس، C: زیره، A: آلفا پینن (زمان بازدارندگی:۹/۴۸۴۲ دقیقه)، B: سابینن (زمان بازدارندگی:۱۱/۱۷۵۰ دقیقه)، C: بتاپینن (زمان بازدارندگی: ۱۱/۶۷۱۷ دقیقه)، D: لیمونن (زمان بازدارندگی:۱۲/۹۵۲۵ دقیقه)، E: ۱ و ۸ سینئول (زمان بازدارندگی:۱۳/۲۶۱۷ دقیقه) و F: کومین آلدهید (زمان بازدارندگی:۲۳/۹۹۶۷ دقیقه)

جدول شماره ۱: حداقل میزان مهارکنندگی رشد (MIC) و حداقل میزان کشندگی باکتری‌ها (MBC) تحت تاثیر اسانس های اکالیپتوس، زیره و محلول کیتوزان بر تعدادی از باکتری‌های منتقله از غذا

	شیگلا دیزانتری		لیستریا مونوسیتوژنز		سالمونلا تایفی		استرپتوکوکوس پایوژنز	
	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)
اسانس اکالیپتوس	۱۱/۲۵	۲۲/۵	۵/۶۲۵	۱۱/۲۵	۵/۶۲۵	۱۱/۲۵	۱/۴۰۶	۲/۸۱۲
اسانس زیره	۰/۳۵۱	۰/۷۰۳	۵/۶۲۵	۱۱/۲۵	۵/۶۲۵	۱۱/۲۵	۲/۸۱۲	۵/۶۲۵
محلول کیتوزان	۰/۵	۱	۰/۵	۱	۱	۲	۰/۲۵	۰/۵

داشت. در بین اسانس‌ها نیز اثر ضد میکروبی زیره بر روی *شیگلا دیزانتری* قابل توجه است. با این وجود باکتری‌های *لیستریا مونوسیتوژنز* و *سالمونلا تایفی*، بیش‌ترین مقاومت را نسبت به اسانس‌ها و محلول کیتوزان نشان دادند.

نتایج این مطالعه نشان داد که در دمای ۸±۱ °C میزان شمارش کلی باکتری‌ها در روز سوم در گروه کنترل و اسانس زیره ۰/۲۵ درصد تفاوت معنی‌داری باهم ندارد ($p>0/05$)، ولی در سایر تیمارها، کاهش شمارش کلی باکتری‌ها قابل مشاهده است. این کاهش در تیمارهای حاوی کیتوزان و اسانس اکالیپتوس ۰/۵ درصد نسبت به سایرین بیش‌تر است ($p<0/05$). در روز ششم، نتایج حاکی از آن است که استفاده از غلظت‌های اسانس‌ها سبب جلوگیری از افزایش شمارش کلی باکتری‌ها شد، به ویژه که با افزایش غلظت اسانس‌ها نیز این اثر کاهشی نمایان‌تر شد. استفاده ترکیبی اسانس‌های زیره و اکالیپتوس نیز نسبت به استفاده تنهای اسانس‌ها اثر بهتری نشان داد ($p<0/05$)، با این حال در این روز نیز استفاده از پوشش کیتوزان به تنهایی و یا همراه با اسانس‌ها سبب جلوگیری از افزایش شمارش کلی باکتری‌ها بیش از ۲ Log CFU/g شدند (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲: رشد لگاریتمی شمارش کلی باکتری ها (CFU/g) در گوشت ماهی همراه با کیتوزان و اسانس‌های نگهداری شده در دمای ۸±۱ °C به مدت ۶ روز

تیمار	روز صفر	روز سوم	روز ششم
C *	۲/۹۰ ± ۰/۰۱ ^{a}	۴/۴۵ ± ۰/۰۱ ^{a}	۶/۴۱±۰/۰۱ ^{a}
Ch *	۲/۹۰ ± ۰/۰۱ ^{a}	<۲ ^{bc}	<۲ ^{bc}
Z ۰/۲۵*	۲/۹۰ ± ۰/۰۱ ^{a}	۴/۴۵ ± ۰/۰۰ ^{a}	۶/۳۸ ± ۰/۰۱ ^{bd}
Z ۰/۵*	۲/۹۰ ± ۰/۰۱ ^{a}	۳/۵۰ ± ۰/۰۱ ^{bd}	۶/۳۴ ± ۰/۰۰ ^{be}
E ۰/۲۵*	۲/۹۰ ± ۰/۰۱ ^{a}	۳/۵۵ ± ۰/۰۰ ^{be}	۵/۷۹ ± ۰/۰۰ ^{bf}
E ۰/۵ *	۲/۹۰ ± ۰/۰۱ ^{a}	<۲ ^{bc}	۵/۶۳ ± ۰/۰۰ ^{bg}
E۰/۵ + Z ۰/۵ *	۲/۹۰ ± ۰/۰۱ ^{a}	۴/۱۶ ± ۰/۰۰ ^{bf}	۵/۳۶ ± ۰/۰۰ ^{bh}
CZ ۰/۲۵*	۲/۹۰ ± ۰/۰۱ ^{a}	<۲ ^{bc}	۳/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{b}
CZ ۰/۵*	۲/۹۰ ± ۰/۰۱ ^{a}	<۲ ^{bc}	<۲ ^{bc}
CE ۰/۲۵*	۲/۹۰ ± ۰/۰۱ ^{a}	<۲ ^{bc}	<۲ ^{bc}
CE ۰/۵ *	۲/۹۰ ± ۰/۰۱ ^{a}	<۲ ^{bc}	<۲ ^{bc}

C: گروه کنترل (گوشت ماهی)، Ch: گوشت ماهی همراه با کیتوزان، Z: گوشت ماهی حاوی اسانس زیره (۰/۲۵ و ۰/۵ درصد)، E: گوشت ماهی حاوی اسانس اکالیپتوس (۰/۲۵ و ۰/۵ درصد)، E+Z: گوشت ماهی حاوی اسانس زیره و اکالیپتوس (۰/۵+۰/۵ درصد)، CZ: گوشت ماهی همراه با کیتوزان حاوی اسانس زیره (۰/۲۵ و ۰/۵درصد)، CE: گوشت ماهی همراه با کیتوزان حاوی اسانس اکالیپتوس (۰/۲۵ و ۰/۵درصد)، حروف غیر یکسان در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی دار می باشند ($p<0/05$).

www.SID.ir

Archive of SID

در جدول شماره ۳ اثر تیمارهای مختلف اسانس‌ها و کیتوزان بر روی شمارش باکتری‌های سرماگرا مشاهده می‌شود. در روز سوم در گروه کنترل و تمام تیمارهای اسانس‌ها به جز اسانس اکالیپتوس ۰/۵ درصد، شمارش باکتری‌های سرماگرا نسبت به روز صفر افزایش داشته است، ولی در گروه اسانس‌های زیره ۰/۵ درصد و اکالیپتوس ۰/۵ درصد، کم ترین میزان رشد مشاهده شد ($p<0/05$). در این روز، تیمارهای کیتوزان و کیتوزان حاوی اسانس‌ها سبب کاهش باکتری‌های سرماگرا شدند. در روز ششم، نشان داده شد که با افزایش غلظت اسانس‌ها، رشد باکتری‌های مذکور کاهش یافت ($p<0/05$)، ولی بین استفاده ترکیبی اسانس های زیره و اکالیپتوس (۰/۵+۰/۵ درصد) با استفاده تنهای اسانس‌های زیره ۰/۵ درصد و اکالیپتوس ۰/۵ درصد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p>0/05$). در این روز نیز استفاده از پوشش کیتوزان به تنهایی و یا همراه با اسانس‌ها سبب جلوگیری از افزایش شمارش باکتری های سرماگرا بیش از Log CFU/g ۲ شدند.

جدول شماره ۳: رشد لگاریتمی باکتری های سرماگرا (CFU/g) در گوشت ماهی همراه با کیتوزان و اسانس های نگهداری شده در دمای ۱±۸ °C به مدت ۶ روز

تیمار	روز صفر	روز سوم	روز ششم
C *	۳/۶۰ ± ۰/۰۵^{a}	۴/۳۴ ± ۰/۰۱^{a}	۷/۴۵±۰/۰۰^{a}
Ch *	۳/۶۰ ± ۰/۰۵^{a}	<۲^{bc}	<۲^{bc}
Z ۰/۲۵*	۳/۶۰ ± ۰/۰۵^{a}	۴/۴۳ ± ۰/۰۳^{bd}	۷/۰۰ ± ۰/۰۰^{bd}
Z ۰/۵*	۳/۶۰ ± ۰/۰۵^{a}	۳/۷۳ ± ۰/۰۵^{be}	۶/۰۱ ± ۰/۰۱^{be}
E ۰/۲۵*	۳/۶۰ ± ۰/۰۵^{a}	۴/۰۶ ± ۰/۰۱^{bf}	۷/۰۰ ± ۰/۰۰^{bd}
E ۰/۵ *	۳/۶۰ ± ۰/۰۵^{a}	۳/۶۲ ± ۰/۰۱^{bg}	۶/۰۲ ± ۰/۰۱^{be}
E۰/۵ + Z ۰/۵ *	۳/۶۰ ± ۰/۰۵^{a}	۴/۳۹ ± ۰/۰۱^{abd}	۶/۰۳ ± ۰/۰۰^{be}
CZ ۰/۲۵*	۳/۶۰ ± ۰/۰۵^{a}	<۲^{bc}	<۲^{bc}
CZ ۰/۵*	۳/۶۰ ± ۰/۰۵^{a}	<۲^{bc}	<۲^{bc}
CE ۰/۲۵*	۳/۶۰ ± ۰/۰۵^{a}	<۲^{bc}	<۲^{bc}
CE ۰/۵*	۳/۶۰ ± ۰/۰۵^{a}	<۲^{bc}	<۲^{bc}

C: گروه کنترل (گوشت ماهی)، Ch: گوشت ماهی همراه با کیتوزان، Z: گوشت ماهی حاوی اسانس زیره (۰/۲۵ و ۰/۵ درصد)، E: گوشت ماهی حاوی اسانس اکالیپتوس (۰/۲۵ و ۰/۵ درصد)، E+Z: گوشت ماهی حاوی اسانس زیره و اکالیپتوس (۰/۵+۰/۵ درصد)، CZ: گوشت ماهی همراه با کیتوزان حاوی اسانس زیره (۰/۲۵ و ۰/۵درصد)، CE: گوشت ماهی همراه با کیتوزان حاوی اسانس اکالیپتوس (۰/۲۵ و ۰/۵درصد)، حروف غیر یکسان در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار می باشند($p<0/05$).

در جدول شماره ۴، اثر تیمارهای مختلف اسانس‌ها و کیتوزان بر روی شمارش انتروباکتریاسه‌ها مشاهده می‌شود. در روز سوم، اسانس‌های زیره و اکالیپتوس با غلظت های ۰/۵ درصد و هم‌چنین تیمارهای حاوی کیتوزان سبب کاهش انتروباکتریاسه‌ها نسبت به روز صفر شدند. در روز ششم نیز، رشد انتروباکتریاسه‌ها در گروه اسانس اکالیپتوس ۰/۵ درصد نسبت به گروه‌های کنترل و اسانس‌های دیگر پایین‌تر و حدود Log CFU/g ۴/۸۳ بود ($p<0/05$). هم‌چنین گروه‌های کیتوزان به تنهایی و همراه با غلظت های مختلف اسانس اجازه رشد به انتروباکتریاسه‌ها ندادند ($p<0/05$).

جدول شماره ٤: رشد لگاریتمی انتروباکتریاسه ها (CFU/g) در گوشت ماهی همراه با کیتوزان و اسانس های نگهداری شده در دمای ۱±۸ °C به مدت ۶ روز

تیمار	روز صفر	روز سوم	روز ششم
C *	۳/۶۰ ± ۰/۰۵^{a}	۳/۸۸ ± ۰/۰۱^{a}	۵/۳۰±۰/۰۰^{a}
Ch *	۳/۶۰ ± ۰/۰۵^{a}	<۲^{bc}	<۲^{bc}
Z ۰/۲۵*	۳/۶۰ ± ۰/۰۵^{a}	۳/۸۰ ± ۰/۱^{be}	۵/۱۲ ± ۰/۰۱^{bd}
Z ۰/۵*	۳/۶۰ ± ۰/۰۵^{a}	<۲^{bc}	۵/۰۵ ± ۰/۰۰^{be}
E ۰/۲۵*	۳/۶۰ ± ۰/۰۵^{a}	۳/۰۲ ± ۰/۰۲^{bf}	۴/۹۵ ± ۰/۰۰^{bf}
E ۰/۵ *	۳/۶۰ ± ۰/۰۵^{a}	<۲^{bc}	۴/۸۳ ± ۰/۰۱^{bg}
E۰/۵ + Z ۰/۵ *	۳/۶۰ ± ۰/۰۵^{a}	۳/۸۳ ± ۰/۰۰^{be}	۵/۴۰ ± ۰/۰۱^{bh}
CZ ۰/۲۵*	۳/۶۰ ± ۰/۰۵^{a}	<۲^{bc}	<۲^{bc}
CZ ۰/۵*	۳/۶۰ ± ۰/۰۵^{a}	<۲^{bc}	<۲^{bc}
CE ۰/۲۵*	۳/۶۰ ± ۰/۰۵^{a}	<۲^{bc}	<۲^{bc}
CE ۰/۵*	۳/۶۰ ± ۰/۰۵^{a}	<۲^{bc}	<۲^{bc}

C: گروه کنترل (گوشت ماهی)، Ch: گوشت ماهی همراه با کیتوزان، Z: گوشت ماهی حاوی اسانس زیره (۰/۲۵ و ۰/۵ درصد)، E: گوشت ماهی حاوی اسانس اکالیپتوس (۰/۲۵ و ۰/۵ درصد)، E+Z: گوشت ماهی حاوی اسانس زیره و اکالیپتوس (۰/۵+۰/۵ درصد)، CZ: گوشت ماهی همراه با کیتوزان حاوی اسانس زیره (۰/۲۵ و ۰/۵درصد)، CE: گوشت ماهی همراه با کیتوزان حاوی اسانس اکالیپتوس (۰/۲۵ و ۰/۵درصد)، حروف غیر یکسان در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار می باشند ($p<0/05$).

بحث

براساس نتایج به دست آمده این مطالعه، اسانس‌های اکالیپتوس و زیره حاوی ترکیباتی به ترتیب ۱ و ۸ سینئول (۷۷/۳۲ درصد)، لیمونن (۸/۳۹ درصد)، آلفا پینن (۲/۷۴ درصد) و ۱ و ۸ سینئول (۲۶/۷۵

www.SID.ir

Archive of SID

درصد)، کومین آلدهید (۱۷/۱ درصد) و سابینن (۱۵/۱۴ درصد) بودند.

در مطالعه Huang و همکاران، بیش‌ترین ترکیبات اسانس اکالیپتوس را ۱ و ۸ سینئول (۲۳/۹ درصد)، آلفا ائودسمول (۱۱/۶ درصد) و گاما ترپن (۱۲/۹ درصد) گزارش نمودند(۱۹). هم‌چنین در مطالعه دیگری، ۱ و ۸ سینئول ۲۱/۷۵ درصد و بتا پینن ۲۰/۵۱ درصد، بیش‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس اکالیپتوس بودند(۲۰). در بررسی‌های صورت گرفته بر روی اسانس زیره در مناطق مختلف، انواعی از ترکیبات مانند آلفاپینن (۰/۵ درصد)، لیمونن (۰/۵ درصد)، ۱ و ۸ سینئول (۰/۲ درصد)، بتاپینن (۱۳ درصد)، D ترپینن (۲۹/۵ درصد) و کومین آلدهید (۳۲/۴ درصد) گزارش شده اند(۲۱). هم‌چنین در مطالعه‌های دیگری ترکیبات مونوترپنی بیش‌ترین ترکیبات اسانس زیره بوده که شامل کومین آلدهید (۲۵ تا ۳۵ درصد)، ترپینن (۲۹/۵ درصد)، آلفا و بتا پینن (۲۱ درصد) بودند(۲۳،۲۲). در بررسی دیگری توسط پژوهی و همکاران نیز بیش ترین ترکیب اسانس زیره را کومین آلدهید ۲۹/۲ درصد و آلفا ترپینن ۲۰/۷ درصد گزارش کردند(۲۴). وجود ترکیبات موجود در اسانس‌ها که شامل انواع مونوترپن‌ها، سسکوئی‌ترپن‌ها و مشتقات اکسیژنه آن‌ها می‌باشند، دارای اثرات ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند(۲۶،۲۵). در مطالعه حاضر اثرات ضدباکتریایی اسانس‌های زیره و اکالیپتوس در شرایط آزمایشگاهی در جدول شماره ۱ قابل مشاهده است. در مطالعه‌ای اثر اسانس اکالیپتوس علیه باکتری‌های اشریشیاکلی، سودوموناس آئروژنز، باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس ارئوس، میکروکوکوس فلاووس به روش میکرودایلوشن و دیسک دیفوژن بررسی شد و نشان داده شد که بیش‌ترین حساسیت به اسانس را میکروکوکوس فلاووس، سودوموناس آئروژنز و اشریشیاکلی داشتند(۲۷). در بررسی دیگری اثر اسانس اکالیپتوس بر باکتری‌های اشریشیاکلی، سودوموناس آئروژنز، استرپتوکوکوس فکالیس، کاندیدا آلبیکانس و آسپرژیلوس فلاووس نشان داده شد و میزان MIC برای آن‌ها را به ترتیب ۵/۲، ۵/۶، ۴، ۴/۸ و ۱۲/۸ میکروگرم در میلی لیتر گزارش کردند(۲۸). در مطالعات دیگری، اثر ضد باکتریایی اسانس زیره بر باسیلوس سرئوس، اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس ارئوس و استرپتوکوکوس فکالیس را نشان داده‌اند(۲۹،۲۴). در بررسی حاضر نیز اثر ضدباکتریایی اسانس بر روی چهار باکتری منتقله از غذا نشان داده شد که در مقایسه با کیتوزان اثر کم‌تری داشتند که می‌تواند یکی از دلایل آن نوع تهیه کیتوزان باشد که در شرایط اسیدی تهیه شده است. تفاوت‌هایی که در میزان ترکیبات، خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی اسانس‌ها در بررسی‌های محققان مشاهده می‌شود که می‌تواند در اثر وجود ترکیبات متفاوت در اسانس‌ها باشد که تحت تاثیر فاکتورهایی هم‌چون موقعیت جغرافیایی، دما، مرحله رشد گیاه، زمان برداشت گیاه، فاکتور زمین و به‌طورکلی فاکتورهای محیطی و ژنتیکی گیاه باشد(۶). هم‌چنین نوع دستگاه‌های آنالیزکننده و تکنیک‌های مورد استفاده در روش‌های گازکروماتوگرافی نیز تفاوت‌هایی را در میزان ترکیبات مختلف در انواع اسانس‌ها نشان می‌دهد(۱۹).

در سال‌های اخیر، استفاده از تکنولوژی مانعی (Technology Hurdle) برای افزایش قدرت ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی توام با سایر عوامل درون اثر و برون اثر مانند استفاده از فیلم‌های بسته‌بندی، علیه میکروب‌های بیماری‌زای مهم موادغذائی، رو به گسترش است(۳۱،۳۰). بر اساس نتایج به دست آمده در این مطالعه، نشان داده شد که استفاده از اسانس‌ها می‌تواند سبب کاهش جمعیت میکروبی گوشت ماهی شود. با افزایش غلظت اسانس‌ها، اثرات ضد میکروبی آن‌ها بیش‌تر شده و سبب کاهش جمعیت میکروبی گوشت ماهی شدند. هم‌چنین اسانس اکالیپتوس ۰/۵ درصد نسبت به سایر غلظت‌های اسانس‌ها اثرات ضد باکتریایی بهتری در ماهی نشان داد. با این حال استفاده ترکیبی از اسانس اکالیپتوس و زیره

www.SID.ir

Archive of SID

(غلظت های ۰/۵+۰/۵ درصد) سبب کاهش شمارش کلی باکتری ها نسبت به استفاده تنهای اسانس ها شد ($p<0/05$)، ولی کاهشی در شمارش انتروباکتریاسه‌ها و سرماگراها مشاهده نشد ($p<0/05$). هم چنین استفاده از پوشش کیتوزان به‌تنهایی و یا همراه با غلظت‌های مختلف اسانس‌ها، سبب جلوگیری از رشد کلی باکتری‌ها، انتروباکتریاسه‌ها و سرماگراها در دمای ۱±۸ °C شدند. در مطالعه ای اثرات ترکیبات ژلاتین همراه با کیتوزان و اسانس پونه علیه اشریشیاکلی O157:H7 را نشان دادند. در بررسی صورت گرفته شده، نشان داده شد که با گذشت زمان بر تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی بر روی ماهی افزوده شد، ولی در نمونه‌های حاوی ژلاتین همراه با کیتوزان و اسانس پونه، مهار رشد باکتری‌های مزوفیل هوازی مشاهده شد(۳۱). در مطالعه جوکی و همکاران، استفاده از موسیلاژ دانه به همراه با اسانس آویشن ۲ درصد به عنوان یک پوشش بسته‌بندی، سبب مهار رشد سودوموناس‌ها، انتروباکتریاسه‌ها و باکتری‌های مولد اسید لاکتیک در فیله های ماهی شد و نشان دادند که این پوشش سبب افزایش مدت زمان نگهداری ماهی تا ۱۱ روز در دمای ۱± ۴ °C می‌شود(۳۲). در مطالعه دیگری استفاده ترکیبی از بسته بندی با اتمسفر تغییر شکل یافته همراه با غلظت ۰/۲ درصد پونه و نمک سبب کاهش معنی‌داری در جمعیت میکروبی فیله‌های ماهی شد. هم‌چنین مدت زمان نگهداری ماهی تا ۱۲ روز در دمای ۱± ۴ °C افزایش یافت(۳۳). در مطالعه حاضر نیز تا روز ششم، در گروه‌های کیتوزان و کیتوزان حاوی اسانس‌ها، رشد میکروبی در دمای ۱±۸ °C دیده نشد. اثرات ضد باکتریایی اسانس‌ها به دلیل وجود انواعی از ترکیبات مانند ترکیبات فنولی موجود در آن ها می‌باشد. در بررسی‌ها نشان داده‌اند که استفاده از ۱و ۸ سینئول به همراه لیمونن و یا آلفا پینن و لیمونن دارای اثر سینرژیستی(۳۶-۳۴) و وجود کارواکول به همراه میرسین، کارواکل به همراه ائوژنول دارای اثرات آنتاگونیستی بر روی خواص ضد باکتریایی و مخمری است(۳۷). هم‌چنین اثرات ضد باکتریایی پوشش‌های کیتوزانی، به دلیل بار مثبت گروه‌های آمینی آن‌ها و واکنش با گروه‌های آنیونی سطح سلولی باکتری‌ها است که نهایتاً باعث مرگ باکتری‌ها می‌شود. به علاوه استفاده از فیلم‌های حاوی ترکیبات ضدباکتریایی مانند اسانس‌ها و عصاره‌ها، به دلیل این که به مرور این ترکیبات را در غذا رها می‌سازند، نسبت به زمانی که این ترکیبات را به تنهایی در غذا اضافه می‌کنند، موثرترند(۳۱،۳۰).

یافته‌های این پژوهش نشانگر این بود که اسانس های زیره و اکالیپتوس دارای خاصیت ضدباکتریایی در شرایط آزمایشگاهی است، ولی در زمانی که در یک مدل غذایی استفاده می‌شوند، خاصیت ضدباکتریایی آن‌ها کاهش می یابد. از طرفی خاصیت ضدباکتریایی اسانس‌ها، وقتی با پوشش کیتوزانی همراه شدند، سبب بهبود وضعیت میکروبی ماهی قزل آلا به ویژه در دمای بالای دمای یخچالی شد که می‌توان ترکیب مذکور را به‌عنوان یک پوشش بسته‌بندی مناسب در صنایع تبدیلی غذایی معرفی نمود.

سپاسگزاری

نویسندگان از همکاری کارمندان آزمایشگاه کنترل غذای معاونت غذا و داروی دانشگاه علوم پزشکی کاشان کمال تشکر را دارند.

References

1. Kargiotou C, Katsanidis E, Rhoades J, Kontominas M, Koutsoumanis K. Efficacies of soy sauce and wine base marinades for controlling spoilage of raw beef. Food Microbiol 2011; 28(1): 158-163.

2. Loretz M, Stephan R, Zweifel C. Antibacterial activity of decontamination treatments for cattle hides and beef carcasses. Food Control 2011; 22(3): 347-359.

www.SID.ir

Archive of SID

3. Sharafati-Chaleshtori R, Rokni N, Rafieian Kopaei M, Drees F, Sharafati-Chaleshtori A, Salehi E. Use of tarragon (Artemisia Dracunculus) essential oil as a natural preservative in beef burger. Ital J Food Sci 2014; 26(4): 427-432.
4. Kerry JP, O'Grady MN, Hogan SA. Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review. Meat Sci 2006; 74(1): 113-130.
5. Lin C-C, Lin C-S. Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillets by glazing with tea extracts. Food Control 2005; 16(2): 169-175.
6. Sharafati Chaleshtori R, Rokni N, Rafieian-Kopaei M, Drees F, Salehi E. Antioxidant and Antibacterial Activity of Basil (Ocimum basilicum L.) Essential Oil in Beef Burger. J Agr Sci Tech 2015; 17(4): 817-826.
7. Quintavalla S, Vicini L. Antimicrobial food packaging in meat industry. Meat Sci 2002; 62(3): 373-380.
8. Higueras L, Lopez-Carballo G, Hernandez-Munoz P, Catala R, Gavara R. Antimicrobial packaging of chicken fillets based on the release of carvacrol from chitosan/cyclodextrin films. Int J Food Microbiol 2014; 188: 53-59.
9. Hassanzadeh P, Tajik H, Razavi Rohani M, Ehsani A, Aliakbarlu J, Moradi M. Effects of gamma irradiation and chitosan edible coating on the bacterial, chemical and sensory properties of chicken meat. J Food Res 2011; 3(21): 356-369 (Persian).
10. Busatta C, Vidal RS, Popiolski AS, Mossi AJ, Dariva C, Rodrigues MR, et al. Application of Origanum majorana L. essential oil as an antimicrobial agent in sausage. Food Microbiol 2008; 25(1): 207-211.
11. Sharafati Chaleshtori R, Rafieian Kopaei M, Salehi E. Bioactivity of Apium petroselinum and Portulaca oleracea Essential Oils as Natural Preservatives. Jundishapur J Microbiol 2015; 8(3): e 20128.
12. Perricone M, Arace E, Corbo MR, Sinigaglia M, Bevilacqua A. Bioactivity of essential oils: a review on their interaction with food components. Front Microbiol 2015;6(76).
13. Sattari M, Shahbazi N, Najar Peeryeh S. An assessment of antibacterial effect of alcoholic and aquatic extracts of Eucalyptus leaves on Pseudomonas aeruginosa. Modares Journal of Medical Sciences: Pathobiology 2006; 8(1): 19-23 (Persian).
14. Srinivasan D, Nathan S, Suresh T, Lakshmana Perumalsamy P. Antimicrobial activity of certain Indian medicinal plants used in folkloric medicine. J Ethnopharmacol 2001; 74(3): 217-220.
15. Daneshmandi S, Soleimani N, Pourfathollah AA, Sattari M. Evaluation of the drug synergistic and antibacterial effects of cuminum cyminum essential oil. Arak Med Univ J 2010; 13(2): 75-82 (Persian).
16. Fernandes IP, Leite E, Vilas-Boas D, Amaral JS, Barreiro M. Production of chitosan based films enriched with oregano essential oil for increased antibacterial activity. 11 Encontro de Química dos Alimentos Bragança, Portugal, 16-19 Set. 2012.
17. Ahmadabad MK, Rezaei M, Ojagh S. The effect of whey protein edible coating on microbial quality of rainbow trout fillet during cold storage.Iran J Food Sci Technol 2016; 12(49): 11-20 (Persian).
18. Zolfaghari M, Shabanpoor B, Fallahzadeh S. Comparison the effect of thyme, onion and ziziphora clinopodiodes extracts on shelf-life of rainbow trout (oncorhynchus mykiss). Iran

www.SID.ir

Archive of SID

Food Sci Technol Rese J 2010; 6(2)(12): 121-129 (Persian).

19. Huang HC, Ho YC, Lim JM, Chang TY, Ho CL, Chang TM. Investigation of the anti-melanogenic and antioxidant characteristics of eucalyptus camaldulensis flower essential oil and determination of its chemical composition. Int J Mol Sci 2015; 16(5): 10470-10490.
20. Salem MZ, Ashmawy NA, Elansary HO, El-Settawy AA. Chemotyping of diverse Eucalyptus species grown in Egypt and antioxidant and antibacterial activities of its respective essential oils. Nat Prod Res 2015; 29(7): 681-685.
21. Peter KV. Handbook of herbs and spices. Cambridge England: Woodhead publishing Limited Abington Hall; 2006.
22. Nadeem M, Riaz A. Cumin (Cuminum cyminum) as a potential source of antioxidants. Pakistan J Food Sci 2012; 22(2): 101-107.
23. Raghavan S. Handbook of spices, seasonings, and flavorings. 2nd Ed. Boca Raton : CRC Press, Taylor & Francis Group, 2007.
24. Pajohi MR, Tajik H, Farshid AA, Hadian M. Synergistic antibacterial activity of the essential oil of Cuminum cyminum L. seed and nisin in a food model. J Appl Microbiol 2011; 110(4): 943-951.
25. AL-Jabri NN, Hossain MA. Comparative chemical composition and antimicrobial activity study of essential oils from two imported lemon fruits samples against pathogenic bacteria. Beni-Suef Univ J Basic Appl Sci 2014; 3(4): 247-253.
26. Bassole IH, Juliani HR. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. Molecules 2012; 17(4): 3989-4006.
27. Bugarin D, Grbovic S, Orcic D, Mitic-Culafic D, Knezevic-Vukcevic J, Mimica-Dukic N. Essential oil of Eucalyptus gunnii hook. As a novel source of antioxidant, antimutagenic and antibacterial agents. Molecules 2014; 19(11): 19007-19020.
28. Soliman FM, Fathy MM, Salama MM, Saber FR. Chemical composition and bioactivity of the volatile oil from leaves and stems of Eucalyptus cinerea. Pharm Biol 2014; 52(10): 1272-1277.
29. Allahghadri T, Rasooli I, Owlia P, Nadooshan MJ, Ghazanfari T, Taghizadeh M, et al. Antimicrobial property, antioxidant capacity, and cytotoxicity of essential oil from cumin produced in Iran. J Food Sci 2010; 75(2): H54-61.
30. Wu J, Chen S, Ge S, Miao J, Li J, Zhang Q. Preparation, properties and antioxidant activity of an active film from silver carp (Hypophthalmichthys molitrix) skin gelatin incorporated with green tea extract. Food Hydrocolloids 2013; 32(1): 42-51.
31. Wu J, Ge S, Liu H, Wang S, Chen S, Wang J, et al. Properties and antimicrobial activity of silver carp (Hypophthalmichthys molitrix) skin gelatin-chitosan films incorporated with oregano essential oil for fish preservation. Food Packaging and Shelf Life 2014; 2(1): 7-16.
32. Jouki M, Yazdi FT, Mortazavi SA, Koocheki A, Khazaei N. Effect of quince seed mucilage edible films incorporated with oregano or thyme essential oil on shelf life extension of refrigerated rainbow trout fillets. Int J Food Microbiol 2014; 174: 88-97.
33. Frangos L, Pyrgotou N, Giatrakou V, Ntzimani A, Savvaidis IN. Combined effects of salting, oregano oil and vacuum-packaging on the shelf-life of refrigerated trout fillets. Food Microbiol 2010; 27(1): 115-121.

www.SID.ir

Archive of SID

34. Van Vuuren SF, Viljoen AM. Antimicrobial activity of limonene enantiomers and 1, 8cineole alone and in combination. Flavour Fragr J 2007; 22(6): 540-544.
35. Tserennadmid R, Tako M, Galgoczy L, Papp T, Pesti M, Vagvolgyi C, et al. Anti yeast activities of some essential oils in growth medium, fruit juices and milk. Int J Food Microbiol 2011; 144(3): 480-486.
36. Sharafati Chaleshtori R, Rafieian Kopaei M, Rokni N, Mortezaei S, Sharafati Chaleshtori A. Antioxidant activity of zataria multiflora hydroalcoholic extract and its antibacterial effect on staphylococcus aureus. J Mazandaran Univ Med Sci 2013; 22(1): 88-94 (Persian).
37. Gallucci MN, Oliva M, Casero C, Dambolena J, Luna A, Zygadlo J, et al. Antimicrobial combined action of terpenes against the food-borne microorganisms Escherichia coli, Staphylococcus aureus and Bacillus cereus. Flavour Fragr J 2009; 24(6): 348-354.

www.SID.ir