

بررسی اثر اسانس آویشن شیرازی و درجه حرارت نگهداری بر روی میزان رشد $O_{157}:H_7$ در همبرگر با استفاده از سیستم Hurdle Technology

نگین نوری* نوردررکنی افشین آخوندزاده بستی علی میثاقی مجید علیپور اسکندانی فهیمه توریان

گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران-ایران.

(دریافت مقاله: ۱۶ بهمن ماه ۱۳۸۵، پذیرش نهایی: ۲۷ فروردین ماه ۱۳۸۶)

چکیده

این مطالعه، بررسی اثر اسانس آویشن شیرازی بر روی رشد باکتری $E. coli O_{157}:H_7$ در همبرگر متاثر از غلظت‌های مختلف (صفر، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ درصد) آویشن شیرازی در درجه حرارت‌های ۸ و ۲۵ درجه سانتیگراد در مدت ۲۱ روز است. ضریب همبستگی غلظت اسانس آویشن شیرازی با لگاریتم تعداد باکتری مورد مطالعه (۵۲۸/ -) بوده و مشخص گردید تاثیر مقادیر مختلف اسانس بر میزان رشد باکتری از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد ($p < 0/05$). ضریب همبستگی مدت زمان نگهداری با لگاریتم تعداد باکتری برابر با (۴۳۴/۰) می‌باشد که نشان می‌دهد با افزایش مدت زمان نگهداری میزان رشد باکتری کاهش می‌یابد و از نظر آماری اثر مدت زمان نگهداری بر روی رشد باکتری معنی‌دار بود ($p < 0/05$). همچنین ضریب همبستگی دمای نگهداری با لگاریتم تعداد باکتری برابر با ($p < 0/500$) بوده و به عبارت دیگر با کاهش دمای نگهداری رشد باکتری هم کاهش می‌یابد و تاثیر دمای نگهداری بر روی رشد باکتری از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد ($p < 0/05$).

واژه‌های کلیدی: اسانس آویشن شیرازی، $E. coli O_{157}:H_7$ ، شمارش کلی باکتریایی.

آن‌ها بیشتر است. این مواد شامل کارواکرول اوژنول و تیمول هستند (۳،۴). تحقیقات زیادی در مورد اثرات ضد باکتریایی و نگهدارندگی اسانس‌های گیاهی از جمله اسانس‌های بدست آمده از گیاهان خانواده lamiaceae انجام شده است (۱۶، ۲۱، ۲۷، ۳۳، ۳۴، ۳۷). آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) یکی از گیاهان این خانواده می‌باشد که بومی ایران، افغانستان و پاکستان است (۱۵). این گیاه در طب سنتی به عنوان آنتی‌سپتیک، ضد اسپاسم و ضد التهاب یاد شده است و به عنوان طعم‌دهنده در مواد غذایی کاربرد فراوانی دارد (۱۴).

$E. coli O_{157}:H_7$ یک باکتری فوق‌العاده بیماری‌زاست و مولد اسهال خونی، سندرم همولیز ناشی از اورمی (HUS Syndrome) و خونریزی پورپورایی ناشی از اختلالات پلاکتی ایجاد کننده ترومبوز (ترومبوتیک ترومبوسیتوپاتیک پورپورا (TTP)) می‌باشد و وروتوکسین II، تولید می‌نماید. شیوع بیماری ناشی از این باکتری در سال ۱۹۹۳ در امریکا نتیجه مصرف همبرگرهای نیم پز بود که در اثر مصرف آنها ۶۰۰ نفر دچار بیماری شده و ۴ کودک تلف شدند. همچنین در سال ۱۹۹۶ باعث ابتلای ۵۰۰ نفر در اسکاتلند شد که ۲۰ نفر جان خود را از دست دادند (۲۲).

در این مطالعه، اثر آویشن شیرازی، درجه حرارت و مدت زمان نگهداری بر روی رشد $E. coli O_{157}:H_7$ در همبرگر متاثر از غلظت‌های مختلف (صفر، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ درصد) اسانس آویشن شیرازی در طی ۲۱ روز نگهداری در درجات حرارت ۸ و ۲۵ درجه سانتیگراد مورد مطالعه قرار گرفت.

مقدمه

روش‌های نگهداری مواد غذایی ضمن حفظ کیفیت و افزایش زمان ماندگاری غذا، بدلیل بهبود شرایط تولید، عرضه و تجارت آن از اهمیت زیادی برخوردار است. بشر از دیرباز با روش‌های مختلف نگهداری نظیر استفاده از حرارت، سرما، خشک کردن و نمک سود کردن آشنایی داشته ولی برای کاهش یا حذف عوامل میکروبی بیماری‌زا و نیز جلوگیری از فساد مواد غذایی به روش‌های جدیدتری نیاز مند بوده است.

یکی از این روش‌ها استفاده از اسانس‌های گیاهی به عنوان افزودنی‌های ضد میکروبی در مواد غذایی است. جهت کاربردی کردن مصرف اسانس‌های گیاهی به عنوان نگهدارنده در مواد غذایی و مطالعه اثر ضد میکروبی آنها به تنهایی و نیز همراه با دیگر عوامل موثر در رشد میکروارگانیسم‌ها، استفاده از مدل‌های آزمایشگاهی و سپس از مدل‌های غذایی مایع و جامد لازم می‌باشد (۴).

اسانس‌های گیاهی از بهترین نگهدارنده‌های طبیعی محسوب می‌شوند. این مواد از اندام‌های مختلف گیاهان نظیر دانه، ریشه، جوانه، برگ، پوست، شاخه، غنچه و گل بدست می‌آیند. اسانس‌های گیاهی را روغن‌های اتری یا فرار نیز می‌گویند. اکثر اسانس‌های گیاهی دارای اثر ضد میکروبی می‌باشند که این اثر به طور عمده مربوط به ترکیبات فنلی آن‌ها است (۴).

هر چه مقدار مواد فنولیک در اسانس بالاتر باشد، خواص ضد میکروبی



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

نام ترکیب	اندیس بازدارندگی	درصد
Thujene	۹۳۰	۰/۱۹
Alpha-Pinene	۹۳۷	۴/۲۶
Beta-Pinene	۹۷۶	۰/۴۳
Beta-myrcene	۹۸۵	۰/۸۵
Eucaliptol	۱۰۲۴	۳/۲۷
Gama-Terpinene	۱۰۵۵	۷/۳۴
Linalool	۱۰۹۰	۰/۶۸
Thymol methyl ether	۱۲۳۶	۰/۴۷
Carvacrol methyl ether	۱۲۴۳	۰/۴۶
Carvacrol	۱۲۹۹	۷/۱۲
Trans-Caryophyllen	۱۴۱۸	۰/۴۱
Globulol	۱۵۸۲	۲/۳۲
جمع	-	۹۱/۹۰

کووت حاوی تقریباً $10^8 \times 1$ باکتری در هر میلی لیتر مشخص گردید. سپس از این لوله رقت‌های ۱۰ تایی درست کرده و از این رقت‌ها جهت بدست آوردن دوز تلقیح 10^3 در این آزمایش استفاده شد (۷، ۲۹).

تهیه و آماده سازی همبرگر: ۵ کیلوگرم همبرگر از یک کارخانه از یک سری تولیدی تهیه گردید و به صورت ۱۰۰ گرمی در داخل پلاستیک‌های استریل بسته بندی شد. سپس توسط سازمان انرژی اتمی به منظور استریل نمودن تحت اشعه دهی قرار گرفت و در تایید استریل بودن کشت میکروبی انجام شد.

تلقیح باکتری و اضافه نمودن اسانس به همبرگر: ۱۰۰ گرم همبرگر به همراه غلظت‌های مورد نظر اسانس آویشن شیرازی و دوز تعیین شده باکتری مورد نظر را در داخل کیسه‌های استریل (bag mixer) به ابعاد 35×19 cm قرار داده سپس کیسه‌های استریل را در استوماکر (window door/porte fenetre) France-Model: W، interscience، گذاشته و به مدت ۴ دقیقه هموزن نمودیم، سپس در ۲ دمای ۸ و ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲۱ روز نگهداری کرده و هر روز تا ۲۱ روز در روزهای (۱-۲-۳-۴-۵-۶-۹-۱۲-۱۵-۱۸ و ۲۱) ۲۵ گرم از محتویات کیسه‌های استریل را با ۲۲۵ میلی لیتر آب پیتونه ادر ۱۰۰۰ مخلوط کرده و مجدداً در استوماکر گذاشته و ۱ دقیقه هموزن کردیم (رقت ۱-). سپس رقت‌های بعدی را با استفاده از لوله‌های رقت بدست آورده و در پلیت حاوی آگار قلب و مغز (BHI) کشت داده و در ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری نمودیم، لازم به ذکر است که این آزمایش در ۳ تکرار انجام شد و سپس نتایج را در فرم‌های مربوطه ثبت نمودیم (۳۵).

آنالیز آماری: ارزیابی اثر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی، درجه حرارت و مدت زمان نگهداری بر روی رشد *E. coli O157:H7* با استفاده از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه ANOVA انجام شد و از نرم افزار SPSS12.0 استفاده گردید.

مواد و روش کار

طرح مطالعه: این مطالعه بررسی اثر اسانس آویشن شیرازی بر روی رشد *E. coli O157:H7* در همبرگر با استفاده از غلظت‌های (صفر، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵، ۰/۰۳ و ۰/۰۴ درصد) در درجه حرارت‌های ۲۵ و ۸ درجه سانتیگراد در مدت ۲۱ روز می‌باشد.

لازم به ذکر است که غلظت‌های فوق بر اساس مطالعات اولیه آزمایشگاهی بدست آمده است و دمای ۲۵ درجه سانتیگراد معرف دمای اتاق و دمای ۸ درجه سانتیگراد معرف شرایط یخچالی نامناسب می‌باشد.

تهیه اسانس و آنالیز آن: گیاه آویشن شیرازی در فصل تابستان از استان فارس جمع‌آوری شد و توسط هر بار یوم پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی دانشگاه علوم پزشکی تهران تایید نام علمی گردید. اسانس از سر شاخه‌های گیاه توسط دستگاه Celevenger type apparatus به روش تقطیر با بخار داغ تهیه و توسط گاز کروماتوگراف متصل به طیف نگار جرمی (GC-MS) آنالیز گردید. دستگاه (GC-MS) مورد استفاده از نوع Finnigan Thermoquest با ستون موئینه به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر با برنام‌دهی ۵۰ تا ۲۶۵ درجه سانتیگراد در هر دقیقه و نگهداری ستون در ۲۶۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه بود. دمای محفظه تزریق ۲۵۰ درجه سانتیگراد، سرعت گاز هلیوم ۱/۵ میلی متر در دقیقه، انرژی یونیزاسیون شناساگر EI ۷۰ الکترون ولت و دمای منبع یونیزاسیون ۲۵۰ درجه سانتیگراد بود.

باکتری مورد مطالعه: سوش *E. coli O157:H7* (مولد وروتوکسین II)، اهدایی توسط دکتر خاشابی از انستیتو تحقیقات مواد غذایی اتریش می‌باشد. در ابتدا این کشت لیوفلیزه در محیط آبگوشت BHI در ۳۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۸ ساعت، ۲ مرتبه متوالی تجدید کشت شد. سپس کشت دوم به میزان ۵ به ۱ با گلیسرین استریل مخلوط شد و در قسمت‌های مساوی در لوله‌های میکرو سانتریفوژ اپندرف استریل در ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

تهیه میزان تلقیح باکتریایی: برای تعیین میزان تلقیح باکتریایی مورد مطالعه، باکتری منجمد داخل میکروسانتریفوژ اپندرف را به محیط آبگوشت BHI منتقل کرده و ۲ مرتبه متوالی در ۳۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۸ ساعت گرمخانه‌گذاری نمودیم. سپس از کشت ۱۸ ساعته دوم مقادیر مختلفی به لوله‌های cuvet حاوی ۵ میلی لیتر آبگوشت BHI استریل اضافه کرده و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Roy Company, USA Milton) 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 $10^8 \times 1$ باکتری در هر میلی لیتر بود مشخص گردید.

بدین ترتیب در هر بار انجام آزمایش با مشخص شدن جذب نوری معادل تقریباً میلی لیتر $10^8 \times 1$ باکتری که با کشت دادن سطحی نیز تایید شد، لوله



جدول ۲- لگاریتم تعداد $E. coli O_{157}:H_7$ در همبرگر متاثر از غلظت های مختلف اسانس آویشن شیرازی در طی ۲۱ روز نگهداری در درجات حرارت مختلف. * $\text{Log n} = \text{Log}_{10} \text{cfu ml}^{-1}$.

درجه حرارت (سانتیگراد)	غلظت اسانس (درصد)	Log n* درروز صفر	Log n درروز اول	Log n درروز دوم	Log n درروز سوم	Log n درروز چهارم	Log n درروز پنجم	Log n درروز ششم	Log n درروز نهم	Log n درروز دوازدهم	Log n درروز پانزدهم	Log n درروز هجدهم	Log n درروز بیست و یکم
۸	۰	۳	۴/۳	۴/۶	۵/۵۴	۶/۶	۷/۸۵	۸/۳۸	۸/۳۸	۸/۳۸	۸/۳۸	۸/۳۸	۸/۳۸
	۰/۰۰۵	۳	۳	۳	۳	۳/۴	۳/۴۸	۳/۶	۴/۷	۴/۹	۶/۷	۷/۷۸	۷/۹۵
	۰/۰۱۵	۳	۳	۳	۳	۳/۱۸	۳/۱۸	۳/۶	۳/۶	۳/۶۵	۳/۷۸	۴/۳۴	۴/۵۸
	۰/۰۳	۳	۳	۳	۳	۳/۰۸	۳/۰۸	۲/۷	۲/۷	۲	۲	۱۶	۱۶
۲۵	۰	۳	۶/۳	۷/۶	۸/۸۵	۸/۹۵	۹	۹	۹	۹	۹	۹	۹
	۰/۰۰۵	۳	۵/۳	۵/۹۵	۶/۳	۶/۷	۷/۳	۷/۹	۷/۹۵	۸/۳	۸/۹	۹/۳	۹/۳
	۰/۰۱۵	۳	۳/۹	۴/۳	۵/۶	۵/۹	۶/۷	۶/۹	۷	۷/۴۸	۷/۸۵	۸/۹۳	۹/۳
	۰/۰۳	۳	۳/۳	۳/۹	۴/۳	۴/۸۵	۴/۹	۵/۶	۵/۹	۶/۳	۶/۸۵	۶/۹۵	۷/۰۴

نتایج

نتیجه آنالیز ترکیبات اسانس آویشن شیرازی مورد استفاده در این مطالعه با استفاده از GC/MS در جدول 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/ml) در همبرگر متاثر از غلظت های مختلف (صفر، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵، ۰/۰۳، ۰/۰۳ درصد) اسانس مذکور در طی ۲۱ روز نگهداری در درجات حرارت ۲۵ و ۸ درجه سانتیگراد در جدول ۲ آمده است.

این مطالعه نشان می دهد که در بالاترین غلظت (۰/۰۳ درصد) در ۸ درجه سانتیگراد هر چه مدت زمان نگهداری بیشتر شود میزان رشد باکتری کاهش می یابد که این موضوع در ۲۵ درجه سانتیگراد و سایر غلظت های ۸ درجه سانتیگراد صدق نمی کند.

بحث

اگرچه مدت ها است که اثر بازدارندگی آویشن و جات، عصاره ها و اسانس های گیاهی شناخته شده است، اما در سال های اخیر توجه زیادی به تاثیر عصاره های معطر و اسانس های گیاهی و یا مواد موثره این اسانس ها بر روی پاتوژن ها و میکروارگانیسم های عامل فساد مواد غذایی شده است (۱،۲،۳۶). بررسی اثر این مواد بر روی پاتوژن های مهم منتقله از راه مواد غذایی نظیر سالمونلا انتریتیدیس (۱۸،۲۳،۳۲،۳۳)، اشریشیا کلی (۲۲،۳۲)، گونه های شینگلا (۳،۲۶)، باسیلوس سرئوس (۸،۱۱،۳۶)، استافیلوکوکوس ارئوس (۲۴،۲۶،۲۹،۳۲،۳۳) و لیستریا مونوسیتوژنز (۱۰،۳۱) نشان دهنده تلاش محققان برای جایگزین کردن نگهدارنده های طبیعی مشتق از منابع گیاهی، حیوانی و میکروبی به جای نگهدارنده های شیمیایی می باشد.

در این مطالعه میزان رشد $E. coli O_{157}:H_7$ در همبرگر متاثر از غلظت های مختلف (صفر، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵، ۰/۰۳، ۰/۰۳ درصد) آویشن شیرازی در درجات حرارت ۲۵ و ۸ درجه سانتیگراد مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج بدست آمده تاثیر معنی دار اسانس بر روی رشد باکتری مورد مطالعه نشان

داده شد که اثر بازدارندگی اسانس ۸ درجه سانتیگراد به طور معنی دار ($p < 0.05$) افزایش پیدا کرده که این موضوع با یافته های بسیاری از محققان همخوانی دارد (۶،۱۳،۳۷).

ضریب همبستگی غلظت اسانس با لگاریتم تعداد باکتری در دماهای ۸ و ۲۵ درجه سانتیگراد به ترتیب برابر با ۰/۶۹۲- و ۰/۵۲۱- بود. منفی بودن این ضریب بدین معنی است که با افزایش غلظت اسانس، میزان رشد باکتری کاهش می یابد. همچنین در این مطالعه مشخص گردید، تاثیر مقادیر مختلف اسانس بر میزان رشد باکتری معنی دار می باشد ($p < 0.05$).

از جمله مواد موثره اصلی در اسانس گیاهان خانواده نعناع که آویشن شیرازی نیز در زمره آن ها قرار می گیرد، می توان از تیمول و کارواکرول نام برد. ماده موثره اصلی آویشن شیرازی در این مطالعه کارواکرول (۷۱/۱۲ درصد) بود که اثر قوی ضد میکروبی کارواکرول توسط محققین نشان داده شده است (۱،۲،۷،۹،۱۲،۲۰،۲۵).

Kunel در سال ۲۰۰۳ اثر فوق العاده شدید کارواکرول استخراج شده با هگزن از گیاه *lippia multiflora* را بر روی استافیلوکوکوس ارئوس، اشریشیا کلی، پseudomonas، آئرو جینوزا، سالمونلا تیفی موریوم، باسیلوس سوبتیلیس و کاندیدا آلبیکنس نشان داده به طوری که در محیط کشت میکرو ارگانیسم مذکور دیسک های حاوی ۴ میکرو لیتر کارواکرول، منطقه ممانعت از رشد وسیعی بین ۲۴ الی ۳۸ میلی متر ایجاد می گردد (۱۷). در مطالعه دیگری در سال ۲۰۰۱ رسولی اثر ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی را با روش Disk diffusion بر روی اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس ارئوس مورد بررسی قرار داد و اثر آمپی سیلین را با همان شرایط روی باکتری های فوق الذکر مقایسه نمود و چنین نتیجه گرفت که فعالیت باکتریسیدال اسانس آویشن شیرازی نسبت به آمپی سیلین در مدت زمان کوتاهی سبب ممانعت از رشد میکرو ارگانیسم های مذکور می شود (۲۸).

Sharififar و همکاران در سال ۲۰۰۶ در کرمان اثر ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی آویشن شیرازی را بررسی کرده و بیان نمودند که این اسانس اثر بهتری روی باکتری های گرم منفی دارد و همچنین دارای اثر آنتی اکسیدانی مطلوب تری نسبت به بوتیل هیدروکسی آنیزول و آسکوربیک اسید می باشد



References

1. Akgul, A., Kivanc, M. (1988) Inhibitory effects of selected Turkish spices and oregano components on some foodborne fungi. *Int. J. Food Microbiol.* 69: 263-268.
2. Ali, M. S., Saleem, M., Akhtar, F., Jahangir, M., Ahmad, V. U. (1999) Three *p*-cymene derivatives from *Zataria multiflora*. *Phytochemistry.* 52: 685-688.
3. Bagamboula, C. F., Uyttendaele, M., Debevere, J. (2004) Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and *p*-cymene towards *shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiol.* 21: 32-42.
4. Bart, S. Essential oils. (2004) Their antibacterial properties and potential application in foods-a review. *Int. J. Food Microbiol.* 94: 223-253.
5. Basti, A. A., Razavilar, V. (2004) Growth response and modeling of the effects of selected factors on the time-to-detection and probability of growth initiation of *Salmonella Typhimutium*. *Food Microbiol.* 21: 431-438.
6. Blackburn, C. W., Peter, J. M. (2002) Foodborne pathogens, Hazard, Risk analysis and control. CRC press. Cambridge, England. 385-390.
7. Bouchra, C., Achouri, M., Hassani, L. M. I., Hmamouchi, M. (2003) Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiate against *Botrytis cinera* pers. *J. Ethnopharmacol.* 89: 165-169.
8. Chaibi, A., Ababouch, L. H., Belasri, K. (1997) Inhibition of germination and Vegetative growth of *Bacillus cereus* and *Clostridium botulinum* 62A spores by essential oils. *Food Microbiol.* 14: 161-174.
9. Chami, N., Chami, F., Bennis, S., Trouillas, J., Remmal, A. (2004) Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats. *Braz. J. Infec. Dis.* 8: 217-226.
10. Delaquis, P. J., Stanich, K., Girard, B., Mazza, G. (2002) Antimicrobiol activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Int. J. Food Microbiol.* 74:

و نشان دادند که آویشن شیرازی می تواند به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در غذا و صنایع دارویی بکار رود. باکتری ها در این مطالعه عبارت بودند از استافیلوکوکوس ارئوس، اشریشیا کلی، کلبسیلا پنومونیا، استافیلوکوکوس اپیدرمیس و سالمونلا تیفی موربوم. از روش Disk diffusion جهت تعیین فعالیت ضد باکتریایی استفاده شده و از جنتامایسین به منظور کنترل کردن به صورت موازی با این روش استفاده شده است (۳۰).

Lemay و همکاران در سال ۲۰۰۱ در کانادا از خردل به عنوان Essentia oil استفاده کردند و در عرض ۲ هفته نگهداری سوسیس مرغ در دمای ۲۲ درجه سانتیگراد، اثر چشمگیر کاهش رشد باکتریایی را در باکتری های مزوفیل هوازی و باکتری های مولد اسید لاکتیک مشاهده نمودند (۱۹). نتایج بدست آمده از مطالعات فوق با نتایج حاصله از تحقیق ما همخوانی دارد. در مطالعه حاضر مشخص گردید دمای نگهداری، مدت زمان نگهداری و غلظت اسانس آویشن شیرازی بر میزان رشد باکتری تاثیر آماری معنی داری دارد. بنابراین می توان نتیجه گیری کرد که اسانس گیاه مورد مطالعه می تواند به عنوان یک نگهدارنده طبیعی و ضد باکتریایی مناسب علیه باکتری های گرم منفی از جمله *E.coli O157:H7* در فرآورده های گوشتی مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدر دانی

بدین وسیله از حمایت های معاونت محترم پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تشکر و قدر دانی می گردد. همچنین از شرکت محترم روبرته که اسانس های گیاهی را جهت انجام این پروژه تحقیقاتی در اختیار ما قرار دادند، کمال تشکر را دارد.



- 101-109.
11. Delgado, B., Fernandez, P. S., Palop, A., Periago, P. M. (2004) Effect of thymol and p- cymene on *Bacillus cereus* vegetative cells evaluated through the use of frequency distributions. *Food Microbiol.* 21: 327-334.
 12. Didry, N., Dubreuil, M., Pinkas, M. (1994) Activity of thymol, carvacrol, cinnamaldehyde and eugenol on oral bacteria. *Pharmaceutica Acta Helvetica.* 69: 25-28.
 13. Fujikawa, H., Morozumi, S. (2006) Modeling *Staphylococcus aureus* growth and enterotoxin production in milk. *Food Microbiol.* 23: (3 phyto medi) 260-267.
 14. Hosseinzadeh, H., Ramezani, M., Salmani G-a. (2000) Antinociceptive, anti- inflammatory and acute toxicity effects of *Zataria multiflora* Boiss extracts in mice and rats. *J. Ethnopharmacol.* 73: 379-385.
 15. Iranian Herbal pharmacopoeia. (2002) Ministry of health (Food & Drug Administration). (1sted.) 1: 15.
 16. Karaman, S., Digrak, M., Ravid, U., Ilcim, A. (2001) Antibacterial and antifungal activity of essential oils of *Thymus revolutus* Celak from Turkey. *J. Ethnopharmacol.* 76: 183-186.
 17. Kunle, O. J., Egamana, E., Emojevwe, E., Shok, M. (2003) Antimicrobial activity of Various extracts and Carvacrol from *Lippia* leaf extract. *Phytomedicine.* 10: 59-61.
 18. Koutsoumanis, K., Lambropoulou, K., Nyhas, G. J. E. (1999) A predictive model for non-thermal inactivation of *Salmonella* in a food model system supplement with a natural antimicrobial. *Int. J. Food Microbiol.* 49: 63-74.
 19. Lemay, M. J., Choquette, J., Delaquis, P. J., Garipey, C., Rodrigue, N., Saucier, L. (2002) Antimicrobial effect of natural preservatives in a cooked and acidified chicken meat model. *Int. J. Food microbiol.* 78: 217-226.
 20. Lopez-Malo, A., Alzamora, S. M., Palou, E. (2005) *Aspergillus flavous* growth in the presence of chemical preservative and naturally occurring antimicrobial compounds. *Int. J. Food microbiol.* 99: 119-128.
 21. Marino, M., Bersani, C., Comi, G. (2001) Impedance measurement to study the antimicrobial activity of essential oils from *Lamiaceae* and *Compositae*. *Int. J. Food Microbiol.* 67: 187-195.
 22. Mortazavi, S. A., Sadeghi Mahoonak, A. R. (2006) *Adams food microbiology.* (3rded.), Ferdowsi University of Mashhad publication. Mashhad, Iran. pp. 28-29, 293-298.
 23. Nazer, A., Kobilinsky, A., Tholozan, J. L., Dubais-Brissonet, F. (2005) Combination of foods antimicrobials at low levels to inhibit the growth of *Salmonella sv. typhimurium*: a synergistic effect. *Food Microbiol.* 22: 391-398.
 24. Perez, C., Agnese, A. M., Cabera, J. L. (1999) The essential oil of *senecio graveolens* (*Compositae*): Chemical composition and antimicrobial activity tests. *J. Ethnopharmacol.* 66: 91-96.
 25. Periago, P. M., Moezelaar, M. R. (2001) Combination effect of nicin and carvacrol at different strains of *Bacillus cereus*. *Int. J. Food Microbiol.* 68: 141-148.
 26. Rahman, M., Gul, S. (2002) Antibacterial activity of hydrodistilled essential oil of *psammogeton canescens* N. O. *Umbelliferae*. *Biotechnol.* 1: 55-56.
 27. Rasooli, I., Mirmostafa, S. A. (2002) Antibacterial properties of thymus pubescens sepyllum essential oils. *Fitoterapia.* 73: 244-250.
 28. Rasooli, I., Rezaei, M. B. (2001) Antimicrobial effects of Ampicilin and essential oil of *zataria multiflora*. *Hakim.* 4: 219-225.
 29. Razavilar, V., Genigeorgis, C. (1998) Prediction of *Listeria* Spp. growth as affected by various levels of chemicals, pH, Temperature and storage time in model broth. *Int. Food Microbiol.* 40: 149-157.
 30. Sharififar, F., Moshafi, M. H., Mansouri, S. H. (2007) In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control.* 18: 800-805.
 31. Smith-palmer, A. S., Stewart, J., Fyfe, L. (2001) The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiol.* 18: 463-470.
 32. Sokmen, A., Gulluce, M., Akpulat, H. A. (2004) The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the



- essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control*. 15: 627-634.
33. Tassou, C., Koutsomanis, K., Nychas, G. J. E. (2000) Inhibition of *Salmonella* Enteritidis and *Staphylococcus aureus* in nutrient broth by mint essential oil. *Food Res. Int.* 33: 273-280.
34. Tassou, C., Nychas, G-J. E. (1995) 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. Biodeterioration and Biodegradation*. 36:411-420.
35. Thomas, L. V., Ingram, R. E. (2004) Investigation of the effectiveness of Ascopyrone P as a food preservative. *Int. J. Food Microbiol.* 93: 319-323.
36. Valero, M., Giner, M. J. (2006) Effect 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.* 106: 90-94.
37. Vaiero, M., Salmeron, M. C. (2003) Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth. *Int. J. Food Microbiol.* 85: 73-81.
38. Yang, S. (2001) Influence of holding temperature on the growth and survival of *Salmonella* Spp. *Staphylococcal aureus* and the production of *Staphylococcal Enterotoxin* in egg products. *Int. J. Food Microbiol.* 63: 99-107.



EFFECT OF *ZATARIA MULTIFLORA* BOISS. ESSENTIAL OIL AND STORAGE TEMPERATURE ON THE GROWTH OF *E. COLI* O₁₅₇:H₇ IN HAMBURGER USING HURDLE TECHNOLOGY

Noori, N.*, Rokni, N., Akhondzadeh Basti, A., Misaghi, A., Alipour Eskandani, M., Tourian, F.

Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran.

(Received 4 February 2007, Accepted 15 April 2007)

Abstract:

In This study, the effect of different concentrations of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil (0.00, 0.005, 0.015, 0.03%), temperatures (8&25°C) and storage time (up to 21 days) was evaluated in a food model system (Hamburger). The correlation coefficient of different concentrations of *zataria multiflora* Boiss.essential oil with logarithm of the numbers of *E.coli* O₁₅₇:H₇ was (-0.528). It was found that effect of different concentrations of essential oil on growth rate of *E.coli* O₁₅₇:H₇ was statistically significant (p<0.05). The correlation coefficient of storage time and logarithm of the number of microorganism used in this study was (0.434), which indicated a decrease in the growth rate when the storage time was increased. The effect of storage time on growth rate was statistically significant (p<0.05). In addition the correlation coefficient of storage temperature with logarithm of the number of bacterium was (0.500). In other words, decreasing the storage temperature (from 25°C to 8°C) resulted in the decrease of the growth rate of the microorganism (p<0.05).

Key words: *Zataria multiflora*, Boiss.essential oil, *E.coli* O₁₅₇:H₇, total bacterial count.

*Corresponding author's email: nnoori@ut.ac.ir, Tel: 021-61117067, Fax: 021-66933222

