اثرات اسانس آویشن شیرازی، اسید استیک، درجه حرارت و زمان نگهداری بر روی احتمال رشد یک سلول و سلولهای مورد نیاز سالمونلا تایفی موریم در محیط آبگوشت قلب - مغز

دکتر ودود رضویلر * دکتر افشین آخوندزاده بستی دکتر رضا عباسی فر دکتر بهراد رادمهر

دریافت مقاله: ۱۴ شهریورماه ۱۳۸۳
پذیرش نهایی: ۱ تیرماه ۱۳۸۴

هدف: اثرات اسانس آویشن شیرازی، اسید استیک، درجه حرارت وزمان نگهداری بر روی احتمال رشد یک سلول وسلولهای مورد نیاز سالمونلا تایفی موریم در یک محیط مدل برات مورد بررسی قرارگرفت.

طرح: مشاهده رشد در مدل برات و محاسبه لگاریتم درصد احتمال رشد (Log P%).

روش: لگاریتم درصد احتمال رشد (Log P%) سالمونلا تایفی موریم در محیط آبگوشت قلب ومغز (brain heart infusion broth) بصورت مدل متأثر از غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی(صفر، ۰/۰۳ و ۰/۰۶ درصد)، اسید استیک (۷/۴ و۶، pH)، درجه حرارت (۳۵، ۲۵ و۱۵ درجه سانتیگراد) وزمان نگهداری (تا ۴۳ روز) مورد بررسی قرارگرفت.

تجزیه و تحلیل آماری: تعیین اثرات تنها و توامان فاکتورهای رشد بر روی لگاریتم درصد احتمال رشد با استفاده از آنالیز واریانس.

نتایج: مقادیر Log P% سالمونلا تایفی موریم، بطور معنی داری (P<۰/۰۵، با آنالیز واریانس) تحت تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس، مقادیر pH، درجه حرارت نگهداری و اثرات تداخلی آنها قرارگرفت. حداکثر لگاریتم درصد احتمال رشد در غلظت صفر درصد اسانس و pH برابر ۷/۴ (محیط آبگوشت) در درجات حرارت ۳۵، ۲۵، ۱۵ درجه سانتیگراد به ترتیب ۱/۰۷، ۱/۰۷ و۰/۴۱ بود. در این pH و درجات حرارت اشاره شده بالا با غلظت ۰/۰۳ درصد اسانس به ترتیب به ۲/۹۳-، ۳/۲۴- و ۳/۲۴- کاهش یافته و با افزایش اسانس به ۰/۰۶ درصد، مقادیر Log P% به ترتیب به ۴/۲۳-، ۴/۲۳- و ۴/۲۳- کاهش پیدا نمود. با کاهش pH محیط به ۶ در غلظت صفر درصد اسانس در درجات حرارت ۳۵، ۲۵، ۱۵ به ترتیب ۲، ۰/۷۶ و۱/۴۱ بود و با افزایش مقدار اسانس به ۰/۰۳ درصد و pH برابر ۶، مقادیر Log P% در سه درجه حرارت مورد نظر به ترتیب به ۱/۹۳-، ۲/۵۹- و ۴/۲۳- کاهش پیدا نمود در این حالت با افزایش غلظت اسانس به ۰/۰۶ مقادیر Log P% به ترتیب به ۴/۹۳-، ۴/۹۳- و ۴/۹۳- کاهش پیدا نمود که بیانگر توقف رشد کامل باکتری بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج بدست‌آمده در تحقیق، اسانس آویش شیرازی احتمالاً می‌تواند بعنوان یک نگهدارنده و ضد باکتری مناسب لااقل علیه برخی از باکتری‌های گرم منفی از جمله باکتری مورد مطالعه، در برخی از مواد غذایی مورد استفاده قرارگیرد.

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۱۳۸۵، دوره ۶۱، شماره ۲، ۱۴۱-۱۳۵.

کلمات کلیدی: اسانس آویشن شیرازی، اسید استیک، سا لمونلا تایفی موریم، لگاریتم درصد احتمال رشد.

در سالهای اخیر، تولیدکنندگان مواد غذایی توجه زیادی به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی (از جمله گیاهی) بجای مواد شیمیایی در محصولات خود نموده‌اند. این امر از یکطرف بعلت اثرات سوء شناخته شده نگهدارنده‌های شیمیایی و در نتیجه توجه هر چه بیشتر متولیان بهداشتی به این موضوع و از طرف دیگر تمایل زیاد مصرف کنندگان به استفاده از مواد

گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشکده دامپزشکی تهران، تهران - ایران.
*) نویسنده مسؤول: vrazavi@ut.ac.ir

Effect of *Zataria multiflora Boiss*, Essential Oil, Acetic Acid, Temperature and Storage Time on Probable Growth of *Salmonella typhimurium* in a Brain Heart Infusion Broth

Razavilar, V., Basti, A.A., Abbasifar, R., Radmehr, B.

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

Objective: To study the effect of *zataria multi flora Boiss* essential oil, acetic acid, temperature and storage time on probable growth of *salmonella typhimurium* in brain heart infusion broth.

Design: Multiple factorial analysis of bacterial growth.

Organism: *Salmonella typhimurium*.

Procedure: Log probability percentage (Log P%) for growth of *salmonella typhimurium* was investigated in Brain Heart Infusion (BHI)broth in response to different concentration of *Zataria multiflora Boiss*. essential oil (0.0, 0.03 and 0.06%) and acetic acid (pH,7.4 and 6) during 43 days storage at three temperature (35, 25 and 15°C).

Results: The Log P% of *S. typhimurium* was affected significantly (P<0.05)by different concentrations of essential oil, pH levels, storage temperature and their interaction. The Log P% of *S. typhimurium* in BHI broth (pH, 7.4) with 0% essential oil at 35, 25 and 15°C were 1.07, 1.07 and 0.41, respectively. This log P% in response to 0.03 and 0.06% essential oils were -2.93, -3.24 and -4.23, and -4.23, -4.23 and - 4.23, respectively. The Log P% of *S. typhimurium* in BHI broth (pH, 6) with 0% essential oil at 35, 25 and 15°C were 2, 0.76 and 1.41, respectively.This Logp% in response to 0.03 and 0.06% essential oils were -1.93, -2.59 and -4.23, and -4.93, -4.93 and -4.93,respectively. At recent conditions, growth has been completely suppressed.

Food safety implication: Based on the results of this study, *Zataria multiflora Boiss*. essential oil can be used as a growth inhibitor for salmonella in food products.

J.Fac.Vet.Med. Univ. Tehran. 61,2:135-141,2006.

Keyword: *Zataria multiflora Boiss*. essential oil, acetic acid, *Salmonella typhimurium*, Log probability percentage of growth.

Corresponding author's email:vrazavi@ut.ac.ir

غذایی فرآوری شده بدون نگهدارنده و یا حتی المقدور با نگهدارنده‌های طبیعی می‌باشد (۲۰، ۱۸، ۱۷، ۴) اسانس های بدست آمده از گونه‌های گیاهان معطر دارای مصارف زیادی در صنایع صابون سازی، عطرسازی، صنایع غذایی و غیره بوده و تحقیقات زیادی در مورد اثرات ضد باکتریایی این اسانس‌ها از جمله اسانس‌های بدست آمده از گیاهان خانواده Lamiaceae انجام شده است(۲۰،۱۸،۱۷،۱۵،۱۲،۶،۳). آویشن شیرازی (*Zataria multiflora Boiss*) نیز که یکی از گیاهان این خانواده و از گیاهان بومی ایران، افغانستان و پاکستان است. از این گیاه در طب سنتی بعنوان آنتی سپتیک یاد شده است و بعنوان طعم دهنده مواد غذایی نیز مورد استفاده می‌شود(۵).

به منظور پاسخگویی هرچه بهتر به علاقه فزاینده مصرف کنندگان مواد غذایی به جایگزینی نگهدارنده‌های شیمیایی (ضد میکربی) با انواع طبیعی مانند اسانسهای گیاهی در فرآورده‌های غذایی و اثبات کاربرد اثرات نگهدارندگی (ضد میکروبی) انواع اسانسهای گیاهی، مطالعه اثرات آنها بر روی فاکتورهای رشدی میکروب‌های پاتوژن وعامل فساد غذایی در سیستمهای مدل مختلف، لازم و ضروری می‌باشد(۹). در این مطالعه، لگاریتم درصد احتمال رشد (Log Probability Percentage, Log P%) سالمونلا تایفی موریم (*Salmonella typhimurium*)، یکی از باکتریهای مهم در عفونت‌های غذایی (۱۹) در طی ۴۳ روز نگهداری درمحیط آبگوشت قلب و مغز (Brain Heart Infusion Broth) (BHI) متأثر از غلظت‌های مختلف (صفر، ۰/۰۳ و ۰/۰۶ درصد) اسانس آویشن شیرازی، اسید استیک (۷/۴ و pH،۶) در سه درجه حرارت نگهداری (۱۵،۲۵،۳۵ درجه سانتیگراد) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

طرح آزمایش: بررسی اثر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی (صفر، ۰/۰۳ و ۰/۰۶ درصد) توام با عوامل مختلف رشد باکتریایی شامل اسید استیک (۷/۴ و pH،۶)، زمان نگهداری تا ۴۳ روز و دمای نگهداری حرارت (۳۵، ۲۵ و ۱۵ درجه سانتیگراد) برروی یکی از پارامترهای رشد (Log P%) سالمونلا تایفی موریم مورد ارزیابی قرار گرفت.

تهیه اسانس و آنالیز آن: گیاه آویشن شیرازی از استان فارس در فصل تابستان جمع آوری شد و توسط گیاه‌شناس پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی تایید نام علمی گردید. پس از تهیه اسانس گیاه به روش steam distillation از سرشاخه‌های هوایی گیاه، آنالیز اسانس توسط دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف نگار جرمی (GC/MS) انجام شد.

ارگانیسم مورد مطالعه: کشت لیوفلیزه سالمونلا تایفی موریم شماره ۱۳۸ فاژ تایپ ۲ (توسط انستیتو پاستور فرانسه) تهیه شده از گروه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی تهران جهت این بررسی مورد استفاده قرار گرفت. در ابتدا این کشت لیوفلیزه در محیط آبگوشت BHI در ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت۱۸ ساعت، دو مرتبه بطور متوالی تجدید کشت داده شد. سپس کشت دوم به میزان پنج به یک با گلیسرین استریل مخلوط شد و در قسمتهای مساوی در لوله‌های میکروسانتریفیوژ اپندرف استریل در ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

تهیه میزان تلقیح باکتریایی: تهیه میزان تلقیح باکتری مورد آزمایش، با انتقال باکتری از لوله میکروسانتریفیوژ اپندرف به محیط آبگوشت BHI و نگهداری به مدت ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد انجام گرفت. مجددا کشت دومی از این کشت ۱۸ ساعته اول، درآبگوشت BHIدیگر (به مدت ۱۸ ساعت، ۳۷ درجه سانتیگراد) تهیه شد. سپس لوله‌های cuvettحاوی ۵ میلی لیتر آبگوشت BHI استریل تهیه شد. سپس، مقادیر مختلفی ازکشت آبگوشت ۱۸BHI ساعته دوم بر روی لوله‌های cuvettمختلف مذکور برده شد. با استفاده از دستگاه اسپکترو فتومتر (Milton Roy company, USA) در طول موج ۶۰۰ نانومتر، جذب نوری لوله‌های مذکور خوانده شد. از محتویات این لوله‌های cuvett، شمارش باکتریایی به روش pour plate انجام شد و در آخر، لوله cuvett حاوی تقریبا ۱×۱۰^{۷} باکتری در هر میلی لیتر مشخص شد. بدین ترتیب در هر بار انجام آزمایش تعیین مقادیر Log P% با مشخص شدن جذب نوری که معادل تقریباً ۱×۱۰^{۷} باکتری در هر میلی لیتر بود (که بعد با کشت pour plate نیز تأیید می‌شد)، لوله cuvettحاوی تقریباً ۱×۱۰^{۷} باکتری در هر میلی لیتر مشخص می‌شد. سپس از این لوله، سریالهای رقت ۱۰ تایی از $۱۰^{۵}$ تا $۱۰^{-۲}$ (۸ رقت) با استفاده از لوله‌های رقت حاوی ۹ میلی لیتر آبگوشت BHI حاوی غلظت‌های مورد نظر (صفر، ۰/۰۳ و ۰/۰۶ درصد) اسانس و مقادیر مورد نظر pH تهیه می‌شد(۱۶، ۲).

تهیه محیط آبگوشت BHI با غلظت‌های مورد نظراسانس: ابتدا جهت تهیه ۱۰۰ میلی لیتر آبگوشت پایه تقریباً مورد نیاز برای یک حالت، ۳/۷ گرم پودر محیط کشت BHI را در ۹۰ میلی لیتر آب مقطر در یک ارلن با حرارت ملایم حل گردید و سپس غلظت‌های مورد نظر (صفر، ۰/۰۳ و ۰/۰۶ درصد) اسانس، ۱۰ درصد DMSO (بعنوان امولسیون کننده برای تمام حالت‌ها) و ۰/۰۵ درصد آگار آگار (بعنوان تثبیت کننده برای تمام حالت ها) اضافه گردید(۴،۱۱). در نهایت با استفاده از آب مقطر به حجم مورد نظر (۱۰۰ میلی لیتر) رسیده و تنظیم pH در حد مورد نیاز نیز با استفاده از اسید استیک یک نرمال و سود یک نرمال (در صورت لزوم) انجام شد. سپس محتویات تهیه شده در ارلن در لوله‌های (رقت) در پیچ دار (هریک به میزان ۹ میلی لیتر) پخش گردید و در اتوکلاو (۱۲۱ درجه سانتیگراد ۱۵ دقیقه) استریل شد. قابل توضیح است، از آنجایی که سه غلظت اسانس برای ۳ درجه حرارت در این آزمایش در نظر گرفته شد، بنابراین در مجموع ۹ حالت وجود داشت. برای هر حالت نیز، دقیقاً ۷۲ میلی لیتر آبگوشت (با غلظت مورد نظر اسانس و مقادیر pH مورد نظر) برای تهیه ۸ رقت هرکدام ۹ میلی لیتری، مورد نیاز بود(۲،۱۶).

تلقیح آبگوشت BHI و گرمخانه گذاری: همانگونه که گفته شد از لوله cuvettبا جذب نوری که مشخص کنند ه ۱×۱۰^{۷} باکتری در هر میلی لیتر بود، سریالهای رقت ۱۰ تایی از $۱۰^{۵}$ تا $۱۰^{-۲}$ (۸ رقت) با استفاده از لوله‌های رقت حاوی ۹ میلی لیتر آبگوشت BHIحاوی غلظت‌های مورد نظر (صفر، ۰/۰۳ و ۰/۰۶ درصد) اسانس و مقادیر pH مورد نظر، تهیه شد. از آنجایی که از روش ۲۴

جدول ۱- نتایج آنالیز واریانس (ANOVA) اثرات تنهاو تداخلی فاکتور های، اسانس آویشن شیرازی، pHو درجه حرارت بر روی درصد احتمال رشد سالمونلا تفی موریم در محیط آبگوشت مدل BHI.

فاکتور	p- value
اسانس	<۰/۰۵
pH	<۰/۰۵
درجه حرارت	<۰/۰۵
اسانس ×pH	<۰/۰۵
اسانس ×درجه حرارت	<۰/۰۵
درجه حرارت× pH	<۰/۰۵

لوله‌ای شمارش بیشترین تعداد احتمالی (Probable Number, MPN Most) برای تعیین لگاریتم درصد احتمال رشد باکتری استفاده شد، لذا محتویات (۹ میلی لیتری) هر یک از لوله‌های در پیچ دار، بطور استریل در قسمت‌های مساوی ۳ میلی لیتری در داخل ۳ لوله سرپوش دار (۱۶×۱۰۰mm Becton Dickson) استریل ریخته وبدین ترتیب مجموع ۲۴=۸×۳ لوله برای هر حالت بدست آمد(۲). هر مجموعه ۲۴ لوله‌ای در هر یک از حرارت‌های مورد نظر در مطالعه یعنی ۳۵، ۲۵ و۱۵ درجه سانتیگراد بمدت ۴۳ روز نگهداری شدند. در طی این مدت ۱۷ دفعه (روزهای ۴۳، ۳۷، ۳۱، ۲۸، ۲۵، ۲۲، ۱۹، ۱۶، ۱۳، ۱۰،۷،۶،۵،۴،۳،۲،۱) تمام لوله‌ها جهت مشاهده کدورت رشدی قابل رؤیت مورد بررسی قرار گرفتند(۱۶،۲).

محاسبه لگاریتم درصد احتمال رشد(Log P% Percentage, Log Probability): Log P% از روی تعداد لوله‌های مثبت (کدورت قابل روئیت حاصل از رشد باکتری) در طی ۴۳ روز نگهداری، با استفاده از فرمول Log P%=2-(log I/3- log MPN/3) محاسبه شد(۱۶) که در این فرمول I/3 log =لگاریتم میزان دز تلقیح در یک میلی لیترو log MPN/3=لگاریتم تعداد احتمالی باکتری ها در یک میلی لیتر می باشد تعداد سلولهای مورد نیاز (CN) برای شروع رشد قابل رؤیت در هریک از ترکیبات اسانس - pH - درجه حرارت با استفاده از فرمول CN=۱۰۰/ Log P% محاسبه شد(۱۶).

آنالیز آماری: اثرغلظت های مختلف اسانس برروی Log P% با استفاده از آنالیز واریانس و با کمک نرم افزار (10.0 for Windows, SPSS Inc. SPSS) ارزیابی شد.

نتایج

نتیجه آنالیز ترکیبات اسانس آویشن شیرازی مورد استفاده در این مطالعه با استفاده از GC-MS در جدول ۱ نشان داده شده است. همان‌گونه که در جدول آمده، بیشترین ترکیب تشکیل دهنده اسانس، کارواکرول carvacrol (۷۱/۱۲درصد) است.

تأثیر معنی‌دار (P<۰/۰۵) غلظت‌های مختلف اسانس، pH، درجه حرارت و اثرات تداخلی آنها بر روی Log P% با استفاده از آنالیز واریانس در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۲- لگاریتم احتمال رشد (درصد) یک سلول (Log P%) وتعداد سلولهای مورد نیاز (CN) سالمونلاتیفی موریم متأثراز حرارت (سانتیگراد) و زمان نگهداری (روز) بدون استفاده از اسانس آویشن شیرازی در محیط آبگوشت مدل BHI.

D	Log P%	CN ۳۵°C	Log P%	CN ۲۵°C	Log P%	CN ۱۵ °C
۱	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	-۰/۲۴	۱/۷×۱۰^{۲}	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^{۶}
۲	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	-۲/۹۳	۸/۵×۱۰^{۴}
۳	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	-۰/۵۹	۳/۹×۱۰^{۲}
۴	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۰/۴۱	۳/۹×۱۰^{۱}
۵	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۰/۴۱	۳/۹×۱۰^{۱}
۶	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۰/۴۱	۳/۹×۱۰^{۱}
۷	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۰/۴۱	۳/۹×۱۰^{۱}
۱۰	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۰/۴۱	۳/۹×۱۰^{۱}
۱۳	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۰/۴۱	۳/۹×۱۰^{۱}
۱۶	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۰/۴۱	۳/۹×۱۰^{۱}
۱۹	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۰/۴۱	۳/۹×۱۰^{۱}
۲۲	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۰/۴۱	۳/۹×۱۰^{۱}
۲۵	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۰/۴۱	۳/۹×۱۰^{۱}
۲۸	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۰/۴۱	۳/۹×۱۰^{۱}
۳۱	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۰/۴۱	۳/۹×۱۰^{۱}
۳۷	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۰/۴۱	۳/۹×۱۰^{۱}
۴۳	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۱/۰۷	۸/۵×۱۰^{۰}	۰/۴۱	۳/۹×۱۰^{۱}

نتایج لگاریتم احتمال رشد یک سلول (Log P%) و تعداد سلولهای مورد نیاز سالمونلاتایفی موریم مورد مطالعه در آبگوشت BHI متأثر از غلظت‌های مختلف (صفر، ۰/۰۳ و ۰/۰۶ درصد) اسانس مذکور، اسید استیک (pH، ۷/۴ و۶) در طی ۴۳ روز نگهداری در درجات حرارت ۳۵، ۲۵ و۱۵ درجه سانتیگراد در جدول ۲ تا ۶ نشان داده شده است.

بحث

اسانس‌های گیاهی یکی از منابع بالقوه واجد ترکیبات ضد باکتریایی می‌باشند و برای این منظور بسیار مؤثر و مفید هستند(۱). مقایسه نتایج گزارش شده در مورد خواص ضد باکتریایی اسانس‌های مختلف بسیار مشکل می‌باشد. از دلایل آن می‌توان به تفاوت در روشهای مختلف بررسی خواص ضد باکتریایی اسانس‌ها، منابع تهیه آنها و سویه‌های باکتریایی بکار برده شده نام برد (۱،۱۲،۱۵،۱۷). به طور کلی، ترکیبات اسانس‌های گیاهی بر حسب منطقه جغرافیایی رویش این گیاهان، واریته گیاهی، سن گیاه در هنگام تهیه اسانس، روش خشک کردن و استخراج اسانس متفاوت می‌باشد(۱). مدل‌های مختلفی در مطالعات مختلف به منظور بررسی اثرات ضد باکتریایی و نگهدارندگی اسانس‌های گیاهی استفاده شده است. در برخی از این

جدول ۳-لگاریتم احتمال رشد (درصد) یک سلول (Log P%) وتعداد سلولهای مورد نیاز (CN) سالمونلاتیفی موریم متأثراز حرارت (سانتیگراد) و زمان نگهداری (روز) با استفاده از اسانس آویشن شیرازی (۰/۰۳ درصد) در محیط آبگوشت مدل BHI.

D	Log P%	CN ۳۵°C	Log P%	CN ۲۵°C	Log P%	CN ۱۵ °C
۱	-۲/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۴}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۲	-۲/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۴}$	-۳/۲۴	$۱/۷\times۱۰^{۵}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۳	-۲/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۴}$	-۳/۲۴	$۱/۷\times۱۰^{۵}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۴	-۲/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۴}$	-۳/۲۴	$۱/۷\times۱۰^{۵}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۵	-۲/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۴}$	-۳/۲۴	$۱/۷\times۱۰^{۵}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۶	-۲/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۴}$	-۳/۲۴	$۱/۷\times۱۰^{۵}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۷	-۲/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۴}$	-۳/۲۴	$۱/۷\times۱۰^{۵}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۱۰	-۲/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۴}$	-۳/۲۴	$۱/۷\times۱۰^{۵}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۱۳	-۲/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۴}$	-۳/۲۴	$۱/۷\times۱۰^{۵}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۱۶	-۲/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۴}$	-۳/۲۴	$۱/۷\times۱۰^{۵}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۱۹	-۲/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۴}$	-۳/۲۴	$۱/۷\times۱۰^{۵}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۲۲	-۲/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۴}$	-۳/۲۴	$۱/۷\times۱۰^{۵}$	-۳/۲۴	$۱/۷\times۱۰^{۵}$
۲۵	-۲/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۴}$	-۳/۲۴	$۱/۷\times۱۰^{۵}$	-۳/۲۴	$۱/۷\times۱۰^{۵}$
۲۸	-۲/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۴}$	-۳/۲۴	$۱/۷\times۱۰^{۵}$	-۲/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۴}$
۳۱	-۲/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۴}$	-۳/۲۴	$۱/۷\times۱۰^{۵}$	-۲/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۴}$
۳۷	-۲/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۴}$	-۳/۲۴	$۱/۷\times۱۰^{۵}$	-۲/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۴}$
۴۳	-۲/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۴}$	-۳/۲۴	$۱/۷\times۱۰^{۵}$	-۲/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۴}$

جدول ۴- لگاریتم احتمال رشد (درصد) یک سلول (Log P%) وتعداد سلولهای مورد نیاز (CN) سالمونلاتیفی موریم متأثراز حرارت (سانتیگراد) و زمان نگهداری (روز) با استفاده از اسانس آویشن شیرازی (۰/۰۶ درصد) در محیط آبگوشت مدل BHI.

D	Log P%	CN ۳۵°C	Log P%	CN ۲۵°C	Log P%	CN ۱۵ °C
۱	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۲	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۳	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۴	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۵	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۶	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۷	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۱۰	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۱۳	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۶۹	$۴/۹\times۱۰^{۶}$
۱۶	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$
۱۹	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$
۲۲	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$
۲۵	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$
۲۸	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$
۳۱	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶a}$	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$
۳۷	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$
۴۳	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$

روشها از مدلهای آزمایشگاهی مثل محیط کشت و در برخی دیگر از مدل های غذایی برای بررسی اثرات ضد باکتریایی اسانس ها استفاده شده است(۸،۹،۱۰،۱۲،۱۸،۲۰). بنابراین با توجه به مطالب گفته شده نتایج بدست آمده در مطالعات مختلف بعضاً متفاوت می باشد.

در مطالعه حاضر، از روش ۲۴ لوله ای شمارش MPN، براساس شمارش لوله ها با کدورت قابل روئیت (به علت رشد باکتری سالمونلا تایفی موریم تلقیح شده در محیط BHI با غلظت های مختلف اسانس و مقادیر مختلف pH در طی ۴۳ روز نگهداری در درجات حرارت ۳۵، ۲۵ و۱۵ درجه سانتیگراد) برای اندازه گیری یکی از پارامترهای رشد باکتریایی یعنی Log P% استفاده شد(۲،۱۶). بر طبق نتایج بدست آمده، لگاریتم درصد احتمال رشد سالمونلا تایفی موریم، به طور معنی داری (P<۰/۰۵، آنالیز واریانس) تحت تأثیر غلظت های مختلف اسانس، مقادیر pH، درجه حرارت و اثرات تداخلی آنها قرار گرفت. به طوری که حداکثر لگاریتم درصد احتمال رشد در غلظت صفر درصد اسانس و pH = ۷/۴ در درجات حرارت ۳۵، ۲۵ و۱۵ درجه سانتیگراد به ترتیب ۱/۰۷، ۱/۰۷ و۰/۴۱ بود. در حالی که در غلظت اسانس، ۰/۰۳ درصد (pH = ۷/۴) به ترتیب ۲/۹۳-، ۳/۲۴- و ۳/۲۴- و در غلظت ۰/۰۶ درصد اسانس (pH=۷/۴) به ترتیب ۴/۲۳-، ۴/۲۳- و ۴/۲۳- بود. ودر pH = ۶ وغلظت صفر درصد اسانس در درجات حرارت ۳۵، ۲۵ و۱۵ به ترتیب ۲، ۰/۷۶ و۱/۴۱ و در غلظت ۰/۰۳ درصد اسانس (pH = ۶) به ترتیب ۱/۹۳-، ۲/۵۹- و ۴/۲۳- و در غلظت ۰/۰۶ درصد اسانس (pH=۶) به ترتیب ۴/۹۳-، ۴/۹۳- و ۴/۹۳- بود، که کاملاً از رشد باکتری جلوگیری شد. مطالعات مختلفی در مورد اثرات ضد باکتریایی اسانس های گیاهی خانواده Lamiaceae (که گیاه آویشن شیرازی مطالعه نیز در آن قرار دارد) و برخی از ترکیبات شناخته شده مهم در اسانس های این خانواده از جمله کارواکرول و تیمول (thymol) وجود دارد. در مطالعه انجام شده توسط Kim و همکاران در سال ۱۹۹۵، اثرات ضد باکتریایی و محاسبه Minimum Inhibitory Concentration (MIC) و Minimum bacteriocidal Concentration (*MBC*) کارواکرول بر روی سالمونلا تایفی موریم و سویه مقاوم به ریفامپیسین آن در محیط Soy agar Triptic (با استفاده از دیسک های کاغذی آغشته به غلظت های مورد نظر کارواکرول و تعیین منطقه جلوگیری از رشد) و در محیط Triptic Soy broth (از روی اندازه گیری کدورت رشد با استفاده از اسپکترو فتومتر در طول موج ۵۴۰ نانومتر و سپس کشت بر روی محیط agar Triptic Soy) مورد بررسی قرار گرفت. آنها نشان دادند که کارواکرول اثرات ضد باکتری قوی بر هر دو سویه مورد مطالعه با MIC، ۲۵۰ ماکروگرم در میلی لیتر داشت. در همین

جدول۵- لگاریتم احتمال رشد (٪) یک سلول (Log P%) وتعداد سلولهای مورد نیاز (CN) سالمونلا تیفی موریم متأثراز حرارت (سانتیگراد)، اسید استیک (۶ = pH) و زمان نگهداری (روز)، بدون استفاده از اسانس آویشن شیرازی در محیط آبگوشت مدل BHI.

D	Log P%	CN ۳۵°C	Log P%	CN ۲۵°C	Log P%	CN ۱۵ °C
۱	-۳/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۵}$	-۳/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۵}$	-۳/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۵}$
۲	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$
۳	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$
۴	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$
۵	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$
۶	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$
۷	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$
۱۰	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$
۱۳	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$
۱۶	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$
۱۹	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$
۲۲	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$
۲۵	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$
۲۸	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$
۳۱	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$
۳۷	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$
۴۳	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$	۰/۷۶	$۱/۷\times۱۰^{۱}$

تحقیق، کارواکرول با غلظت ۳ درصد در توئین ۲۰ (Tween 20) (یک درصد)، اثر کشندگی قوی را بر سویه‌های مقاوم به ریفامپیسین در یک نمونه غذای ماهی (fish cube) نشان داد(۷). در مطالعه دیگری، Karaman و همکاران درسال ۲۰۰۱، اثرات باکتریواستاتی قوی اسانس *Thymus revolatus* را بر روی باکتریهای گرم منفی نشان دادند. آنها علت احتمالی این اثرات را میزان بالای کارواکرول موجود در اسانس بیان نمودند. مطالعه مشابه، توسط رسولی و همکاران(۱۵)در سال ۲۰۰۲ بر روی اثرات باکتریوسیدی اسانس *Thymus pubescus* (با میزان بالای کارواکرول) بر روی باکتری گرم منفی، اشرشیا کلی (*Escherichia coli*) (با استفاده از روش disk diffusion) انجام شد و همانند مطالعه قبلی، احتمال اثر باکتریوسیدی قوی اسانس مورد مطالعه، میزان بالای کارواکرول موجود دراسانس بیان شد(۶). نتایج مشابه دیگری توسط Baganboula و همکاران در سال ۲۰۰۴ بر روی اثرات اسانس Thyme و ترکیبات کارواکرول و تیمول بر روی باکتری شیگلا سونئی) *Shigella sonnei* (و شیگلا فلکسنری) *Shigella flexneri* (بدست آمد (۱).

جدول ۶- لگاریتم احتمال رشد (درصد) یک سلول (Log P%) وتعداد سلولهای مورد نیاز (CN) سالمونلا تیفی موریم متأثراز حرارت (سانتیگراد)، اسید استیک (۶ = pH) و زمان نگهداری (روز)، با استفاده از اسانس آویشن شیرازی (۰/۰۳ درصد) در محیط آبگوشت مدل BHI.

D	Log P%	CN ۳۵°C	Log P%	CN ۲۵°C	Log P%	CN ۱۵ °C
۱	-۳/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۵}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۲	-۱/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۳}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۳	-۱/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۳}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۴	-۱/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۳}$	-۲/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۵	-۱/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۳}$	-۲/۵۹	$۳/۹\times۱۰^{۴}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۶	-۱/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۳}$	-۲/۵۹	$۳/۹\times۱۰^{۴}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۷	-۱/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۳}$	-۲/۵۹	$۳/۹\times۱۰^{۴}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۱۰	-۱/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۳}$	-۲/۵۹	$۳/۹\times۱۰^{۴}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۱۳	-۱/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۳}$	-۲/۵۹	$۳/۹\times۱۰^{۴}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۱۶	-۱/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۳}$	-۲/۵۹	$۳/۹\times۱۰^{۴}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۱۹	-۱/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۳}$	-۲/۵۹	$۳/۹\times۱۰^{۴}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۲۲	-۱/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۳}$	-۲/۵۹	$۳/۹\times۱۰^{۴}$	-۴/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۶}$
۲۵	-۱/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۳}$	-۲/۵۹	$۳/۹\times۱۰^{۴}$	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$
۲۸	-۱/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۳}$	-۲/۵۹	$۳/۹\times۱۰^{۴}$	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$
۳۱	-۱/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۳}$	-۲/۵۹	$۳/۹\times۱۰^{۴}$	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$
۳۷	-۱/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۳}$	-۲/۵۹	$۳/۹\times۱۰^{۴}$	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$
۴۳	-۱/۹۳	$۸/۵\times۱۰^{۳}$	-۲/۵۹	$۳/۹\times۱۰^{۴}$	-۴/۲۳	$۱/۷\times۱۰^{۶}$

از آنجایی‌که کارواکرول در اسانس استخراج شده از آویشن شیرازی مورد مطالعه ما، ترکیب اصلی و بیشترین جزء تشکیل دهنده (۷۱/۱۲درصد) می‌باشد، چنین بیان می‌شود که احتمال اثر جلوگیری از رشد (کاهش درصد احتمال رشد) اسانس مذکور در غلظت‌های مورد مطالعه ما نیز همین میزان بالای کارواکرول موجود در اسانس باشد. از طرف دیگر در مطالعه انجام شده توسط Periago و همکاران در مورد اثر ضد باکتریایی توأمان کارواکرول و pH بر روی فرم رویای باسیلوس سرئوس (*Bacillus cereus*) افزایش اثر با کاهش pH مشاهده شد که با نتایج بدست آمده در مورد اثر ضد باکتریایی (سالمونلا تایفی موریم) اسانس آویشن شیرازی مورد مطالعه ما که بیشترین جزء تشکیل دهنده آن را کارواکرول تشکیل می‌دهد هم خوانی داشت(۱۴).

با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق، اسانس مورد نظر در غلظت‌های اندک (۰/۰۳ و ۰/۰۶ درصد)، دارای اثر جلوگیری از رشد معنی داری (P<۰/۰۵) بود. لذا چنین نتیجه‌گیری می‌شود که این اسانس احتمالاً می‌تواند بعنوان یک نگهدارنده و ضد باکتری مناسب لااقل علیه برخی از

جدول۷- لگاریتم احتمال رشد (درصد) یک سلول (Log P%) وتعداد سلولهای مورد نیاز (CN) سالمونلا تیفی موریم متأثراز حرارت (سانتیگراد)، اسید استیک (pH = ۶) و زمان نگهداری (روز)، با استفاده از اسانس آویشن شیرازی (۰/۰۶ درصد) در محیط آبگوشت مدل BHI.

CN ۱۵ °C	Log P%	CN ۲۵°C	Log P%	CN ۳۵°C	Log P%	D
۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۱
۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۲
۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۳
۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۴
۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۵
۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۶
۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۷
۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۱۰
۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۱۳
۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۱۶
۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۱۹
۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۲۲
۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۲۵
۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۲۸
۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۳۱
۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۳۷
۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۸/۵×۱۰^۶	-۴/۹۳	۴۳

باکتری های گرم منفی از جمله باکتری مورد مطالعه، در برخی از مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر وقدردانی

با تشکر و قدردانی از معاونت پژوهشی محترم دانشگاه تهران و معاونت پژوهشی محترم دانشکده دامپزشکی تهران به منظور تأمین هزینه انجام این تحقیق و آقای مهندس یزدانی و خانم دکتر سیگارودی در پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی.

References

1. Bagamboula, C. F., (2004) Uyttendaele M and 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. 21: 33-42.
2. 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 typhimurium. Food Microbiol. 21: 431-438.
3. Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., De Bruyne, T., Hermans, N., Totte, J., Pieters, L. and Vlietinck, A. J.(2002) Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in Democratic Republic of Congo. J. Ethnopharmacol. 79: 213-220.
4. Delaquis, P. J., Stanich, K., Girard, B., Mazza, G., (2002) Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. Int. J. Food Microbiol. 74: 101-109.
5. 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.
6. 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.
7. Kim, J. M., Marshall, M. R., Cornell, J. A., Preston , J. F. and Wel, C. I.(1995) Antibacterial activity of carvacrol, citral and Geraniol against *Salmonella typhimurium* in culture medium and fish cube. J Food Sci. 60: 1364-1368.
8. Koutsoumanis, K., Lambropoulou, K., Nyhas, G-JE., (1999) A predictive model for the non-thermal inactivation of Salmonella entritidis in a food model system supplemented with a natural antimicrobial. Int. J. Food Microbiol. 49: 63-74.
9. Koutsoumanis, K., Tassou, C., Taoukis, P. S., Nychas, G. J. E.(1998) Modelling the effectiveness of a

natural antimicrobial on Salmonella entritidis as a function of concentration, temperature and pH, using conductance measurements. J Appl Microbiol. 84: 981-987.

10. Lemay, M-J., Choquette, J., Delaquis, P. J., Gariepy, C., Rodrigue, N. and Saucier, L.(2002) Antimicrobial effect of natural preservatives in a cooked and acidified chicken meat model. Int. J. Food Microbiol. 78: 217-226.
11. Mann, C. M., Marham, J. L.(1998) A new method for determining inhibitory concentration of essential oils. J Appl Microbiol. 84: 538-544.
12. Marilena, M., Bersani, C., Comi, G.(2001) Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Composita. Int. J. Food Microbiol. 67: 187-195.
13. Palmer A. S., Steward, J., Fyfe, L.(2001) The potential application of plant essential oils as natural preservatives in soft cheese. Food Microbiol. 18: 463-470.
14. Periago, P. M., Mooezelaar, R. (2001) Combined effect of nissin and carvacrol at different pH and temperature levels on the viability of different strains of Bacillus cereus.. Int. J. Food Microbiol. 68, 141-148.
15. Rasooli, I., Mirmostafa, S. A.(2002) Antibacterial properties of Thymus pubescens and thymus sepyllum essential oils. Fitoterapia. 73: 244-250.
16. 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. J. Food Microbiol. 40: 149-157.
17. Tassou, C., Koutsoumanis, K., Nychas, G-J. E.(2000) Inhibition of Salmmonella entritidis and Staphylococcus aureus in nurient broth by mint essential oil. Food Research Int. 33: 273-280.
18. 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. 411-420.
19. Tauxe, R V.(2002) Emerging foodborne pathogens. Int. J. Food Microbiol. 78, 31-41.
20. Valero, 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.