Downloaded from jmp.ir at 18:33 +0330 on Monday September 25th 2017

ارزیابی اثر اسانس آویشن شیرازی بر رفتار ویبریو پاراهمولیتیکوس (*Vibrio parahaemolyticus*) در ماهی شور

عباسعلی ساری[۱]، افشین آخوندزاده‌بستی[۲]*، نوردهر رکنی[۲]، حسینعلی ابراهیم‌زاده موسوی[۳]، مهدی سلطانی[۳]، حسن گندمی[٤]، نسرین چوبکار[٥]، علی خنجری[۱]، سپیده عباس‌زاده[۱]، راضیه پرتوی[۱]، علی ملکشاهی[٦]، علی ذبیحی[۱]

۱- دستیار، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران
۲- استاد، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران
۳- استاد، گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران
٤- استادیار، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران
٥- استادیار، گروه مهندسی شیلات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه، کرمانشاه
٦- دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران
*آدرس مکاتبه: تهران، خیابان آزادی، نبش خیابان قریب، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، صندوق‌پستی: ٦٤٥٣- ١٤١٥٥، تلفن: ٦٦٩٢٣٥١٠ (٠٢١) نمابر ٦٦٩٣٣٢٢٢ (٠٢١)
پست الکترونیک: aakhond@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۸/۸/۱۳ **تاریخ تصویب:** ۸۹/۲/٦

چکیده

مقدمه: گیاه آویشن شیرازی[1] از گیاهان دارویی در طب سنتی ایران بوده و بررسی اثرات ضدمیکروبی آن در زمینه مواد غذایی بر روی باکتری‌های بیماری‌زای مهمی که از عوامل مسمومیت‌های غذایی رایج هستند، لازم و ضروری به نظر می‌رسد.

هدف: این مطالعه به منظور ارزیابی اثر ضدمیکروبی اسانس آویشن شیرازی بر باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس در ماهی کپور نقره‌ای شور (۸ درصد نمک در بافت) صورت گرفت.

روش بررسی: اثر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی (صفر، ۰/۰٤٥، ۰/۱۳٥، ۰/٤۰٥ و ۰/۸۱۰ درصد) بر روی ویبریو پاراهمولیتیکوس در دو درجه حرارت (۱٥ و ۲٥ درجه سانتی‌گراد) از طریق سنجش میزان رشد باکتری در فیله ماهی شور بررسی شد.

نتایج: نتایج نشان می‌دهد که تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس مذکور بر روی رشد ویبریو پاراهمولیتیکوس در دو دمای ۱٥ و ۲٥ درجه سانتی‌گراد نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بوده است و تیمارهای مختلف هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند ($p<۰/۰٥$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که اسانس آویشن شیرازی دارای اثر بازدارندگی روی ویبریو پاراهمولیتیکوس بوده و می‌تواند به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در ماهی شور مورد توجه قرار گیرد.

گل‌واژگان: آویشن شیرازی، اسانس گیاهی، ویبریوپاراهمولیتیکوس، ماهی شور

[1] *Zataria multiflora* Boiss.

Downloaded from jmp.ir at 18:33 +0330 on Monday September 25th 2017

مقدمه

بیماری‌های با منشای غذایی سلامت جامعه را با تهدید جدی مواجه می‌کنند. در ایالات متحده هر سال بیماری‌های با منشاس غذایی بین ۸۰ – ٦۰ میلیون نفر را مبتلا کرده و سبب مرگ ۹۰۰۰ نفر می‌شوند که ضرر اقتصادی آن تا ۵ میلیون دلار در سال تخمین زده شده است. چهره اپیدمیولوژیک بیماری‌های با منشای غذایی به سرعت در حال تغییر است و عوامل بیماری‌زای نوپدید و ارتباط آنها با ناقلین غذا در حال گسترش می‌باشد [۱].

ویبریو پاراهمولیتیکوس، یک باکتری گرم منفی میله‌ای، غیراسپورزا، دارای تاژک قطبی و متحرک در هنگام رشد در محیط مایع است[۲] که به طور طبیعی در آب‌های ساحلی و دریاها وجود دارد [۳،٤،۵،٦]. دوز عفونی آن بیش از $۱۰^{٦}$ سلول باکتری در هر گرم ماده غذایی، دوره کمون ۷٦ – ۳ ساعت و طول دوره بیماری بین ۸ – ۱ روز است [۳].

این باکتری به فراوانی از انواع مختلف فراورده‌های دریایی شامل ماهی کد، ساردین، صدف خوراکی، میگو، خرچنگ، لابستر، ماکرل و اختاپوس جداسازی شده است [۲].

مصرف فراورده‌های دریایی خام و یا کم پخته به ویژه صدف‌های آلوده به ویبریو پاراهمولیتیکوس، منجر به ایجاد گاستروآنتریت حاد با علایم اسهال، سردرد، استفراغ، تهوع، دل‌پیچه و تب مختصر می‌شود [۲،۳،٤،٦،۷،۸]. اگرچه گاستروآنتریت ناشی از ویبریو پاراهمولیتیکوس اغلب خودمحدود شونده[1] است، اما عفونت با این باکتری در افراد دارای بیماری کبدی و افراد دارای ضعف سیستم ایمنی منجر به سپتی سمی می‌شود که ممکن است زندگی آنها را به خطر بیاندازد [۲].

این باکتری به عنوان عامل اصلی مسمومیت غذایی در کشورهای آسیایی نظیر ژاپن، چین و تایوان شناخته شده است. علاوه بر این در آمریکا و برخی از کشورهای اروپایی نیز این باکتری سبب بیماری شده است [۲،٦].

معمولاً جهت کنترل رشد و بقای میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در فراورده‌های دریایی از روش‌های خشک کردن، دودی کردن، نمک‌سود کردن و یا نگهداری در دمای پایین استفاده می‌شوند [٦].

اگرچه گزارش شده است که اغلب سویه‌های ویبریو پاراهمولیتیکوس به دمای پایین حساس هستند، اما برخی از سویه‌ها حداقل ۳ هفته در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد زنده می‌مانند و در شرایط مناسب به طور گسترده رشد و تکثیر می‌یابند [٦]. علاوه‌بر این فعالیت آبی[1] در اغلب غذاهای دریایی خشک شده در محدوده‌ای نیست که از رشد ویبریوپاراهمولیتیکوس جلوگیری کند. گزارش‌ها نشان می‌دهد که خطر بیماری در مورد سویه‌هایی از ویبریو پاراهمولیتیکوس که قابلیت سازگاری با محیط‌های سرد را دارند افزایش می‌یابد [٦].

اغلب غذاهای دریایی در بازارهای دنیا به منظور نگهداری طولانی مدت[2] به صورت منجمد، خشک و شور عرضه می‌شوند. بنابراین بقاء و رشد ویبریو پاراهمولیتیکوس بیماری‌زا، یک نگرانی عمده برای بهداشت عمومی محسوب می‌شود [٦]. در نتیجه استفاده از روش‌های جدید و در صورت امکان ترکیب با روش‌های موجود، جهت کاهش و یا حذف باکتری‌های بیماری‌زای با منشای مواد غذایی ضروری به نظر می‌رسد [۹].

استفاده از افزودنی‌های طبیعی به عنوان ترکیبات ضدباکتریایی، یک راه مناسب جهت کنترل باکتری‌های بیماری‌زا و افزایش مدت ماندگاری مواد غذایی فراوری شده می‌باشد که در نتیجه باعث کاهش خطرات بهداشتی و ضررهای اقتصادی ناشی از رشد میکروارگانیسم‌های با منشای غذایی می‌شود [۱۰]. این ترکیبات را می‌توان در طی مراحل فراوری به مواد غذایی افزود. در بین این ترکیبات، اسانس‌های روغنی گیاهان دارویی، ادویه‌جات و سبزیجات خواص ضدباکتریایی دارند [۱۰] و به عنوان نگهدارنده طبیعی جهت کنترل رشد باکتری‌های بیماری‌زا و یا باکتری‌های عامل فساد

[1] Self-limited

[1] -Water activity

[2] Long Shelf-Life

Downloaded from jmp.ir at 18:33 +0330 on Monday September 25th 2017

در مواد غذایی به فراوانی استفاده می‌شوند [۵،۹،۱۰،۱۱]. حدود ۳۰۰۰ نوع اسانس گیاهی شناخته شده وجود دارد که تقریباً ۳۰۰ نوع از آنها اهمیت تجاری دارند [۹]. یکی از این گیاهان، آویشن شیرازی می‌باشد. این گیاه متعلق به خانواده نعناعیان[1] است که فقط در ایران، پاکستان و افغانستان بوده و به عنوان ترکیب طعم‌دهنده در انواع مختلفی از غذاها در ایران استفاده می‌شود [۱۱].

هدف از این مطالعه بررسی اثر ضدمیکروبی اسانس آویشن شیرازی بر باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس در ماهی کپور نقره‌ای شور در حضور غلظت‌های مختلف (صفر، ۰/۰۴۵، ۰/۱۳۵، ۰/۴۰۵ و ۰/۸۱۰ درصد) اسانس مذکور در دو دمای ۱۵ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود.

مواد و روش‌ها

تهیه اسانس و آنالیز آن

اسانس مورد استفاده در این مطالعه، اسانسی است که قبلاً توسط موسوی و همکاران (۲۰۰۸) مورد بررسی قرار گرفته است. اجزای اصلی این اسانس شامل کارواکرول ۷۱/۱۲ درصد، گاماترپینن ۷/۳۴ درصد، آلفاپینن ۴/۲۶ درصد اوکالیپتول ۳/۳۷ درصد و گلوبولول ۲/۳۲ درصد است [۱۲].

باکتری مورد بررسی

باکتری مورد استفاده در این بررسی، ویبریو پاراهمولیتیکوس ATCC 17802 بود. کشت لیوفیلیزه این باکتری با انتقال به محیط آبگوشت قلب و مغز BHI [2] در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت دو مرتبه به طور متوالی تجدید کشت شد. سپس از کشت دوم به نسبت ۱ به ۵ با گلیسرین استریل مخلوط و در حجم‌های ۱ سی‌سی در میکروتیوب‌های اپندورف در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

[1] Laminaceace
[2] -Brain Heart Agar

تهیه میزان تلقیح باکتریایی

تهیه میزان تلقیح باکتری مورد آزمایش، با انتقال باکتری از میکروتیوب‌های اپندرف به محیط آبگوشت BHI و نگهداری به مدت ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. مجدداً کشت دومی از این کشت ۱۸ ساعته اول در آبگوشت BHI دیگر (به مدت ۱۸ ساعت، ۳۷ درجه سانتی‌گراد) تهیه شد. از کشت ۱۸ ساعته دوم سوسپانسیون باکتریایی با کدورت معادل ۰/۵ مک‌فارلند (با جذب نوری ۰/۱) به روش اسپکتروفتومتری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر[1] در طول موج ۶۰۰ نانومتر تهیه شد و تعداد باکتری در این سوسپانسیون از طریق شمارش تعداد کلونی محاسبه و در تمام مراحل آزمایش برای تهیه دوز تلقیح از سوسپانسیون باکتری با کدورت معادل ۰/۵ مک فارلند استفاده شد. برای تهیه دوز تلقیح، سوسپانسیون مذکور با استفاده از رقیق کننده استریل آب پپتونه ۰/۱ درصد حاوی ۳ درصد نمک رقیق شد تا در نهایت در هر ۱۰۰ میکرولیتر از محتویات لوله آزمایش مقدار $۲/۵ \times ۱۰^{۴}$ باکتری موجود باشد (تعداد دقیق باکتری با کشت بر روی آگار و شمارش تعداد کلونی تایید می‌شد).

آماده‌سازی ماهی

ماهی کپور نقره‌ای[2] یا فیتوفاگ با نام علمی هیپوفتالمیکتیس مولیتریکس[3] با وزن متوسط ۲ کیلوگرم از یک مزرعه پرورش ماهی تهیه شد و در دمای صفر تا ۲ درجه سانتی‌گراد در مجاورت یخ نگهداری و در کیسه‌های پلی‌اتیلنی به محل فیله‌گیری منتقل شد. در محل مذکور بلافاصله مراحل پوست کنی، تخلیه اندرونه، جداکردن سر و آبشش ماهی‌ها انجام گرفت. سپس فیله کردن ماهی به قطعات ۸ × ۳ سانتی‌متر مربع صورت گرفت، به طوری که وزن متوسط قطعات حدود ۲۵ گرم بود. تعداد ۱۲ قطعه فیله ماهی در داخل کیسه‌های پلی اتیلنی استریل قرار داده شد و مجدداً در مجاورت یخ و دمای صفر تا ۲ درجه سانتی‌گراد به سازمان انرژی اتمی منتقل و برای از بین بردن کامل فلور سطحی،

[1] Milton Roy Company USA
[2] Silver Carp
[3] *Hypophthalmichthys Molitrix*

Downloaded from jmp.ir at 18:33 +0330 on Monday September 25th 2017

فیله‌ها در معرض اشعه گاما به میزان ۵ کیلوگرمی[1] پرتودهی شدند. پس از این مرحله فیله‌های اشعه دیده در مجاورت یخ و در دمای صفر تا ۲ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه منتقل شدند.

جهت اطمینان از عدم آلودگی فیله‌ها، از فیله‌های پرتو دیده به طور اتفاقی[2] نمونه‌برداری کرده و پس از تهیه رقت به روش کشت مخلوط[3] در محیط کشت آگار قلب و مغز کشت داده شد و به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید و سپس محیط‌های کشت از لحاظ رشد باکتری مورد بررسی قرار گرفت، که هیچگونه باکتری رشد نکرده بود.

فیله‌ها در محلول آب نمک استریل حاوی غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی (صفر، ۰/۰٤۵، ۰/۱۳۵، ۰/٤۰۵، ۰/۸۱۰ درصد)، ۱ درصد لستین (به عنوان امولسی‌فایر جهت توزیع یکنواخت اسانس) و ۰/۰۲ درصد آگارآگار (به عنوان پایدار کننده امولسیون) به مدت۲ ± ۲٤ ساعت در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (لازم به ذکر است که غلظت آب نمک طوری تعیین گردید تا در نهایت غلظت نمک در بافت ماهی ۸ درصد باشد).

سپس در شرایط استریل در زیر هود بیولوژیک[4] فیله‌ها از محلول خارج و به مدت یک دقیقه در ظرف استریل قرار داده شدند تا آب اضافی آنها گرفته شود و سپس در داخل پلیت استریل وزن آنها به ۲۵ گرم رسانده شد و بعد ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی (حاوی $۲/۵ \times ۱۰^{٤}$ باکتری) به صورت کشت نقطه‌ای[5] در ده نقطه روی هر فیله تلقیح شد. به طوریکه دوز نهایی تلقیح در هر گرم از فیله ماهی ۱×۱۰^{۳} باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس باشد. سپس فیله‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق در زیر هود بیولوژیک نگهداری شدند تا باکتری‌ها جذب بافت ماهی گردند. بعد فیله‌ها با حفظ شرایط استریل در کیسه‌های پلاستیکی استوموکر[6] قرار داده شد و به گرمخانه‌های ۱۵ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

کشت فیله‌های تلقیح شده (به روش سطحی روی آگار TCBS[7]) و شمارش باکتری مورد بررسی در روزهای صفر، ۱، ۲، ۳، ٦، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸ و ۲۱ صورت گرفت. به ازای هر غلظت اسانس و هر درجه حرارت ۲ تکرار در نظر گرفته شد.

تحلیل آماری

ابتدا از تجزیه واریانس یک طرفه جهت مقایسه میانگین‌ها استفاده شد و در مواردی که بین میانگین‌ها اختلاف معنی‌داری وجود داشت، از تست Tukey جهت جدا کردن آنها استفاده شد. میانگین‌ها در سطح اعتماد ۹۵ درصد از لحاظ آماری متفاوت قلمداد شدند. آنالیزهای آماری با استفاده از برنامه SPSS16 انجام شد.

نتایج

اثر اسانس آویشن شیرازی روی ویبریو پاراهمولیتیکوس در جداول شماره ۱ و۲ آمده است. تمام غلظت‌های مورد استفاده اثر مهارکنندگی معنی‌داری روی رشد ویبریو پاراهمولیتیکوس در دو دمای ۱۵ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد نسبت به گروه کنترل داشتند و تیمارهای مختلف هیچگونه اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند ($p<۰/۰۵$). اثر اسانس آویشن شیرازی روی ویبریو پاراهمولیتیکوس در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در جدول شماره ۱ آمده است. همانطور که در این جدول مشاهده می‌شود در گروه کنترل ابتدا در روز اول کاهش تعداد باکتری مشاهده شد اما از روز دوم تعداد باکتری افزایش یافت و در روز ٦ به حداکثر رشد ($۱۰^{۷}$ cfu/g) رسید و پس از آن تا روز ۲۱ تغییر معنی‌داری نداشت. در غلظت‌های ۰/۰٤۵ و ۰/۱۳۵ درصد تا روز سوم رشد باکتری مشاهده نشد و بعد از آن در روز ٦ افزایش تعداد باکتری مشاهده شد که البته در مورد غلظت ۰/۱۳۵ درصد تعداد باکتری در روز ٦ کمتر بود. پس از آن تا روز ۲۱ شمارش باکتری موردنظر تغییر معنی‌داری نداشت. غلظت‌های ۰/٤۰۵ و ۰/۸۱۰ درصد دارای اثر مهارکنندگی کامل بوده و در طول ۲۱ روز هیچ رشدی مشاهده نشد. اثر اسانس آویشن شیرازی روی ویبریو پاراهمولیتیکوس در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد در جدول شماره ۲ آمده است. در این دما در گروه کنترل در روز اول تعداد باکتری کاهش یافت و پس از آن افزایش تعداد باکتری مشاهده شد

[1] Kilo Gray
[2] Random
[3] Pour Plate
[4] Biosafety Cabinet
[5] Spot Inoculation
[6] Stomacher
[7] Thiosulfate-Citrate-Bile salt-Sucrose agar

جدول شماره ۱- اثر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی بر شمارش باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس (cfu/g) در فیله ماهی کپور نقره‌ای شور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد

غلظت اسانس (٪)	روز											
	۰	۱	۲	۳	۶	۹	۱۲	۱۵	۱۸	۲۱
۰/۰	*$۱/۴\times۱۰^{۳}\pm۹۱$	$۱\times۱۰^{۲}\pm۱$	$۱/۵\times۱۰^{۳}\pm۱۰۰$	$۱/۸\times۱۰^{۴}\pm۱۰^{۳}$	$۲/۴۵\times۱۰^{۷}\pm۵\times۱۰^{۵}$	$۲/۴۵\times۱۰^{۷}\pm۰/۰$	$۲/۴۵\times۱۰^{۷}\pm۰/۰$	$۲/۴۵\times۱۰^{۷}\pm۰/۰$	$۲/۴۵\times۱۰^{۷}\pm۰/۰$	$۲/۴۵\times۱۰^{۷}\pm۰/۰$
۰/۰۴۵	$۱/۵\times۱۰^{۳}\pm۸۸$	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	$۱/۲۳\times۱۰^{۴}\pm۱۰۰$	$۳\times۱۰^{۴}\pm۱۰^{۴}$	$۴/۲\times۱۰^{۴}\pm۱۰^{۳}$	$۴/۲\times۱۰^{۴}\pm۰/۰$	$۴/۲\times۱۰^{۴}\pm۰/۰$	$۴/۲\times۱۰^{۴}\pm۰/۰$
۰/۱۳۵	$۲/۵\times۱۰^{۳}\pm۷۶$	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	$۲/۵\times۱۰^{۲}\pm۱۰۰$	$۳/۲\times۱۰^{۴}\pm۱۰^{۳}$	$۳\times۱۰^{۴}\pm۵\times۱۰^{۳}$	$۳\times۱۰^{۴}\pm۰/۰$	$۳\times۱۰^{۴}\pm۰/۰$	$۳\times۱۰^{۴}\pm۰/۰$
۰/۴۰۵	$۱/۲\times۱۰^{۳}\pm۹۴$	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰
۰/۸۱۰	$۲/۷\times۱۰^{۳}\pm۱۰۰$	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰

* میانگین± انحراف معیار

Downloaded from jmp.ir at 18:33 +0330 on Monday September 25th 2017

جدول شماره ۲- اثر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی بر شمارش باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس (cfu/g) در فیله ماهی کپور نقره‌ای شور در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد

غلظت اسانس (٪)	روز										
	۰	۱	۲	۳	٦	۹	۱۲	۱۵	۱۸	۲۱
۰/۰	*۱/۱×۱۰^{۳}±۸۵	۱×۱۰^{۲}±۱	۱/۱×۱۰^{۳}±۱۰۰	۲/۵×۱۰^{۳}±۱۰۰	۱/۵×۱۰^{٤}±۱۰^{۳}	٤/۵×۱۰^{۳}±۱۰^{۳}	۳/۱×۱۰^{٤}±۰/۰	۳/۱×۱۰^{٤}±۰/۰	۳/۱×۱۰^{٤}±۰/۰	۳/۱×۱۰^{٤}±۰/۰
۰/۰٤۵	۱/۲×۱۰^{۳}±۱۰٦	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰
۰/۱۳۵	۳/۷×۱۰^{۳}±۷۳	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰
۰/٤۰۵	۲/٤×۱۰^{۳}±۸۱	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰
۰/۸۱۰	۱/٦×۱۰^{۳}±۹۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰	<۱۰۰

* میانگین ± انحراف معیار

Downloaded from jmp.ir at 18:33 +0330 on Monday September 25th 2017

به طوری که شمارش باکتری به 10^4 cfu/g رسید و پس از آن تا روز ۲۱ تغییر معنی‌داری مشاهده نشد. در این دما تمام غلظت‌های مورد استفاده از روز اول باعث کاهش تعداد باکتری شدند و در تمام مدت ۲۱ روز مطالعه هیچ‌گونه رشدی در هیچ یک از غلظت‌های مورد مطالعه مشاهده نشد.

بحث

فرآورده‌های شور معمولاً در ایران و اغلب کشورها در دمای محیط (۲۵ – ۱۵ درجه سانتی‌گراد) و یا شرایط نامناسب یخچالی نگهداری می‌شوند لذا میکروارگانیسم‌های نمک دوست می‌توانند در این فراورده‌ها رشد و تکثیر نموده و بنابراین استفاده از نگهدارنده‌ها برای جلوگیری از خطرات میکروبی این محصولات ضروری به نظر می‌رسد. اسانس‌های گیاهی از مدت‌ها قبل به عنوان عوامل طعم‌دهنده در مواد غذایی و نوشیدنی‌ها استفاده می‌شوند، همچنین به دلیل داشتن ترکیبات ضدمیکروبی مختلف به عنوان نگهدارنده‌های طبیعی در مواد غذایی مطرح‌اند [۹،۱۰].

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که اثر اسانس آویشن شیرازی بر روی شمارش باکتری مورد مطالعه از الگوی وابسته به دوز تبعیت می‌نماید. با مقایسه جداول شماره ۱ و ۲ چنین نتیجه گرفته می‌شود که کاهش درجه حرارت باعث افزایش مهار رشد باکتری می‌شود. همچنین بررسی‌های ارگانولپتیک بر روی غلظت‌های مورد استفاده از اسانس آویشن شیرازی نشان داد که به کارگیری این غلظت‌ها تا میزان ۰/۴۰۵ درصد نه تنها اثر نامطلوب در طعم فراورده نداشت بلکه موجب بهبود طعم آن نیز شد و غلظت ۰/۸۱۰ درصد نیز طعم قابل قبول ایجاد کرد.

با توجه به نگرانی مصرف‌کنندگان در مورد استفاده از نگهدارنده‌های مصنوعی در سال‌های اخیر گرایش به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی در مواد غذایی افزایش یافته است از این رو بررسی‌های مختلفی در ارتباط با اثر اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی مختلف بر روی باکتری‌های بیماریزای مهم با منشای غذایی در محیط کشت و غذا انجام گرفته است [۱۳].

یوتوکا و همکاران (۲۰۰۶) اثرات ضدمیکروبی ۱۸ نوع ادویه گیاهی را در ترکیب با حرارت و مواد مغذی بر ویبریو پاراهمولیتیکوس بررسی نمودند. به طوری که ریحان، میخک، سیر، ترب کوهی، مرزنگوش، رزماری و آویشن اثرات ضدمیکروبی را در دمای نگهداری ۳۰ درجه سانتی‌گراد نشان دادند. کمترین MIC، ۰/۱۲۵ درصد بود که در میخک و مرزنگوش در یک محیط غنی از مواد مغذی مشاهده شد. کاهش دمای نگهداری به جز در مورد زردچوبه، تاثیر اندکی بر MIC داشت. به نظر رسید که کاهش MIC در مورد زردچوبه به طور اساسی به حساسیت باکتری به سرما نسبت داده می‌شود. در محیط با مواد مغذی کم، کمترین MIC در مورد مرزنگوش در دمای ۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۰۲۵ درصد بود. حساسیت به ادویه‌های مختلف در بین سروتیپ‌های بالینی مختلف یکسان بود [۵].

وود هاکول و همکاران (۲۰۰۷) با استفاده از تکنیک انتشار دیسک[1]، فعالیت ضدمیکروبی عصاره تازه گالانگال[2]، سیر و لیمو را با غلظت µl/disc ۱۰ بر سویه پاندمیک ویبریو پاراهمولیتیکوس مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که این سه عصاره سبب مهار رشد ویبریو پاراهمولیتیکوس می‌شوند و گالانگال هیچ‌گونه اثری بر اشریشیا کولی و استافیلوکوکوس اورئوس نداشت [۸].

در مطالعه الجده و همکاران (۲۰۰۰) تلقیح‌های (1×10^4 cfu/ml) سس ماهی مهیاوه[3] با اشریشیا کولی، سالمونلا تایفی، استافیلوکوکوس اورئوس و ویبریو پاراهمولیتیکوس نشان داد که ادویه‌ها و دیگر ترکیبات (گندم و لیمو) اثرات مهارکننده بر باکتری‌های مورد نظر داشتند. تنها ویبریو پاراهمولیتیکوس بیشتر از ۷ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد زنده ماند و پس از ۲۱ روز شناسایی نشد در حالی‌که در گروه کنترل (بدون ادویه، گندم و لیمو) تمام این پاتوژن‌ها به جز استافیلوکوکوس اورئوس تا روز ۲۸ زنده بودند [۱۴].

[1] Disc Diffusion
[2] Galangal
[3] Mehyawah

Downloaded from jmp.ir at 18:33 +0330 on Monday September 25th 2017

Downloaded from jmp.ir at 18:33 +0330 on Monday September 25th 2017

در مطالعه لین و همکاران (۲۰۰۵) اثرات ضدمیکروبی مخلوط عصاره مرزنگوش و Cranberry روی ویبریو پاراهمولیتیکوس در محیط کشت و مدل غذایی فیله ماهی کد[1] و میگو مورد بررسی قرار گرفت و نشان داده شد که فعالیت ضدمیکروبی مخلوط این دو عصاره بیشتر از اثر هر کدام به تنهایی بود و کارایی این عصاره‌ها در ترکیب با اسید لاکتیک بیشتر بود [٤].

بوچات (۲۰۰۸) رشد ویبرویو پاراهمولیتیکوس را در محیط کشت حاوی اسانس‌های مرزنگوش، آویشن و ساسافراس[2] مورد بررسی قرار داد و مشاهده نمود که هر سه اسانس مذکور در سطح ۱۰۰ μg/ml باکتریسیدال بودند [۱۵].

بدین ترتیب بررسی متون نشان می‌دهد که تاکنون پژوهش‌های زیادی بر روی اثرات ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی مختلف و اثر ممانعت از رشد این اسانس‌ها بر روی ویبریو پاراهمولیتیکوس صورت گرفته است که اکثریت این بررسی‌ها در محیط‌های کشت آزمایشگاهی بوده است و پژوهش‌های محدودی که در همین زمینه و با استفاده از مدل‌های غذایی مانند فیله ماهی کد، میگو و غیره انجام شده است نشان می‌دهد که اثرات ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی در محیط‌های آزمایشگاهی بیشتر از مدل‌های غذایی است و افزایش غلظت اسانس‌ها موجب افزایش اثر ضدمیکروبی می‌شود.

اگر چه اسانس‌های روغنی به عنوان ترکیبات بی‌ضرر[3] (GRAS) مورد توجه قرار گرفته‌اند، اما استفاده از آنها اغلب به لحاظ ارگانولپتیک محدود شده است. به همین دلیل تعیین حداقل غلظت لازم جهت جلوگیری از رشد باکتری‌های بیماری‌زا بدون تاثیر بر کیفیت حسی ماده غذایی ضروری است. نتایج بررسی حاضر اثر مهارکنندگی اسانس آویشن شیرازی روی ویبریو پاراهمولیتیکوس را به خوبی ثابت می‌نماید و این اسانس را به عنوان جایگزینی برای نگهدارنده‌های شیمیایی در مواد غذایی معرفی می‌نماید اما با این حال استفاده عملی از این اسانس نیازمند انجام بررسی‌های سم‌شناسی، اقتصادی و میکروبی بیشتر است.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از همکاری آقای دکتر حسن اختیارزاده و کارشناسان محترم آزمایشگاه میکروبیولوژی مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران در انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌گردد.

[1] Cod Fish Fillet [2] Sassafras
[3] Generally Recognized As Safe

منابع

1. Altekruse SF, Cohen ML, Swerdlow DL. Emerging Foodborne Diseases. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA. *Emerging Infectious Diseases*. 1997; 3 (3): 285 – 93.

2. Yi-Cheng S, Chengchu L. *Vibrio parahaemolyticus*: A concern of sea food safety. a Review. *Food Microbiol*. 2007; 24: 549 – 58.

3. Jay JM, Loessner MJ, Golden DA. Modern Food Microbiology. Seventh Edition. Springer press. USA. 2005, pp: 657 – 64.

4. Lin YT, Labbe RG, Kalidos S. Inhibition of *Vibrio parahaemolyticus* in sea food systems using Oregano and Cranberry phytochemical synergies and lactic acid. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 2005; 6: 453 – 8.

5. Yutaka Y, Satomi M, Oikawa H. Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus. Int. J. Food Microbiol*. 2006; 111: 6 – 11.

6. Zhen-quan Y, Xin-an J, Xiao-Hui Z, Guo-

Downloaded from jmp.ir at 18:33 +0330 on Monday September 25th 2017

Wiang C, Wei-ming F, Rui-Xia G. Isolation and molecular characterization of *Vibrio parahaemolyticus* from fresh, low temperature preserved, dried and salted seafood products in two coastal areas of eastern China. *Int. J. Food Microbiol*. 2008; 125: 279 – 85.

7. Pouch DP, Ito K. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of foods. Fourth Edition. American Public Health Association. Washington DC. 2001, pp: 405 – 16.

8. Vuddhakul V, Bhoopong P, Hayeebilan F, Subhadrasakul S. Inhibitory activity of Thai condiments on pandemic strain of *Vibrio parahaemolyticus*. *Food Microbiol.* 2007; 24: 413 – 8.

9. Burt S. Essential oils: their antimicrobial properties and potential applications in foods-a review. *Int. J. Food Microbiol*. 2004; 94: 223 – 53.

10. Oussalah M, Caillet S, Saucier L, Lacroix M. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E.coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *listeria monocytogenes*. *Food Control*. 2007; 18: 414 – 20.

11. Misaghi A, Akhondzadeh Basti A. Effects of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil and nisin on *Bacillus cereus* ATCC 11718. *Food Control*. 2007; 18: 1043 – 9.

12. Moosavy MH, Akhondzadeh Basti A, Misaghi A, Zahraei Salehi T, Abbasifar R, Ebrahimzadeh Mousavi HA, Alipour M, Emami Razavi N, Gandomi H, Noori N. Effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil and nisin on *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in a food model system and on the bacterial cell membranes. *Food Res. Int.* 2008; 41: 1050 - 7.

13. Smith-Palmer A, Stewart J, Fyfe L. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important Food-borne pathogens. *Lett. Appl. Microbiol.* 1998; 26: 118 – 22.

14. Al-Jedah JH, Ali MZ, Robinson RK. The inhibitory action of spices against pathogens that might be capable of growth in a fish sauce (*mehyawah*) from the Middle East. *Int. J. Food Microbiol*. 2000; 57: 129 – 33.

15. Beuchat LR. Sensitivity of *Vibrio parahaemolyticus* to spices and organic acids. *J. Food Sci.* 2008; 41: 899 – 902.