

اثر روغن فرار آویشن شیرازی بر روی زمان رشد تاخیری استافیلوکوک طلائی

افشین آخوندزاده‌بستی^۱، علی میثاقی^۲، حسینعلی ابراهیم‌زاده موسوی^۳، رضا عباسی‌فر^۴، بهراد رادمهر^۵، شمسعلی رضازاده^۶، شاهین آخوندزاده‌بستی^{۷*}

- ۱- استادیار گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشکده دامپزشکی تهران
 - ۲- استادیار گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشکده دامپزشکی تهران
 - ۳- استادیار گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشکده دامپزشکی تهران
 - ۴- دستیار دکترای بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی تهران
 - ۵- دستیار دکترای بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی تهران
 - ۶- دستیار تخصصی شیمی دارویی و عضو هیأت علمی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
 - ۷- دانشیار گروه روانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران (مرکز تحقیقات روانپزشکی) و محقق پژوهشکده گیاهان دارویی
- *آدرس مکاتبه: تهران، خیابان انقلاب اسلامی، خیابان قدس، خیابان بزرگمهر غربی، پلاک ۹۷، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، صندوق پستی: ۱۳۱۴۵-۱۴۴۶
 تلفن: ۶۴۶۲۱۷۹، ۶۹۵۰۴۴۷ (۰۲۱)، نمابر: ۶۴۶۵۵۵۴ (۰۲۱)
 پست الکترونیک: s.akhond@neda.net

چکیده

استفاده بیش از حد از نگهدارنده‌های غذایی شیمیایی که برخی از آنها مشکوک به اثرات سوء سرطان‌زایی و تراوتوزنیک هستند و یا باقیمانده‌های سمی ایجاد می‌نمایند، منجر به رویکرد قابل توجه تولیدکنندگان مواد غذایی به جایگزینی نگهدارنده‌های شیمیایی با انواع طبیعی مانند اسانس‌های گیاهی در فرآورده‌های غذایی شده است. برای اثبات کاربرد اثرات نگهدارندگی (ضدمیکروبی) انواع اسانس‌های گیاهی، مطالعه اثرات آنها بر روی فاکتورهای رشدی مختلف میکروب‌های پاتوژن و عامل فساد غذایی در سیستم‌های مدل مختلف لازم و ضروری می‌باشد. در این مطالعه، زمان رشد تاخیری استافیلوکوک طلائی در میزان تلقیح 10^6 cfu/ml در طی ۴۳ روز (۱۰۳۲ ساعت) نگهداری در محیط آبگوشت قلب و مغز متأثر از غلظت‌های مختلف (صفر، ۰/۰۳ و ۰/۰۶ درصد) اسانس آویشن شیرازی در سه درجه حرارت (۲۵، ۳۵ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد) مورد بررسی قرار گرفت. زمان رشد تاخیری استافیلوکوک طلائی، به‌طور معنی‌داری ($p < 0/05$) آنالیز واریانس) تحت تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس قرار گرفت. به‌طوری‌که در غلظت صفر درصد اسانس در درجات حرارت ۳۵، ۲۵ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۷/۲، ۱۵/۳ و ۸۴ ساعت بود. در حالی‌که در غلظت ۰/۰۳ درصد به ترتیب ۳۱/۴۴، ۸۴/۹۶ و ۴۵۱/۹۲ ساعت و در غلظت ۰/۰۶ درصد به ترتیب ۴۴/۴، ۱۵۸/۴ و > 1032 ساعت بود. بر طبق نتایج به دست آمده، زمان رشد تاخیری استافیلوکوک طلائی با افزایش غلظت اسانس به‌طور قابل توجهی افزایش پیدا کرد.

کلواژگان: اسانس آویشن شیرازی، استافیلوکوک طلائی، زمان رشد تاخیری

مقدمه

در سال‌های اخیر، تولیدکنندگان مواد غذایی توجه زیادی به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی (از جمله گیاهی) به جای شیمیایی در محصولات خود نموده‌اند. این امر از یک طرف به علت اثرات سوء شناخته شده نگهدارنده‌های شیمیایی و در نتیجه توجه هر چه بیشتر متولیان بهداشتی به این موضوع و از طرف دیگر تمایل زیاد مصرف‌کنندگان به استفاده از مواد غذایی فرآوری شده بدون نگهدارنده و یا حداقل‌مقدور با نگهدارنده‌های طبیعی می‌باشد [۱۸، ۱۷، ۱۶، ۴]. اسانس‌های به دست آمده از گونه‌های گیاهان معطر دارای مصارف زیادی در صنایع صابون‌سازی، عطرسازی، صنایع غذایی و غیره می‌باشند [۳]. تحقیقات زیادی در مورد اثرات ضدباکتریایی و نگهدارندگی اسانس‌های گیاهی از جمله اسانس‌های به دست آمده از گیاهان خانواده Lamiales انجام شده است [۱۸، ۱۷، ۱۶، ۱۴، ۱۲، ۶]. آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) یکی از گیاهان این خانواده می‌باشد که بومی ایران، افغانستان و پاکستان است. این گیاه بوته‌ای، دارای ساقه‌های متعدد، نازک، سخت و بسیار منشعب، به ارتفاع ۴۰ تا ۸۰ سانتی‌متر، گردینه پوش، سبز متمایل به سفید و معطر است. برگ آن کوتاه، دارای دم‌برگ کوتاه، مدور یا بیضی شکل با طول و عرض ۷-۵ میلی‌متر، در قاعده مقطع تقریباً قلبی شکل و در انتها مدور و نوکچه‌دار است. گل‌های آن سفید و کوچک گویچه‌ای بسیار متراکم و واقع در گل‌آذین‌های باریک تسبیح‌مانند، ساده و براکته‌های پهن دراز است. کاسه گل غشایی کوتاه به طول ۲ میلی‌متر، پنج پهلوی در زاویه‌ها مژکدار، دارای دندانه‌های مثلی کوتاه می‌باشد. پرچم‌ها چهار عدد و دو به دو مساوی است. جام گل سفید و اندکی طویل‌تر از کاسه گل می‌باشد [۱۹]. از این گیاه در طب سنتی به‌عنوان آنتی‌سپتیک یاد شده است و به عنوان طعم‌دهنده مواد غذایی استفاده می‌شود [۵].

به منظور پاسخگویی هر چه بهتر به علاقه‌مندان مصرف‌کنندگان مواد غذایی به جایگزینی نگهدارنده‌های شیمیایی (ضدمیکروبی) با انواع طبیعی مانند اسانس‌های گیاهی در فرآورده‌های غذایی، مطالعه اثرات ضدمیکروبی انواع اسانس‌های گیاهی قابل استفاده در مواد غذایی بر روی فاکتورهای رشدی مختلف پاتوژن‌های غذایی و میکروب‌های عامل فساد مواد غذایی لازم و ضروری می‌باشد [۹]. در این مطالعه، زمان رشد تاخیری (Lag phase, Lag) استافیلوکوک طلائی (*Staphylococcus aureus*) در میزان تلقیح 10^5 cfu/ml در طی ۴۳ روز (۱۰۳۲ ساعت) نگهداری در محیط آبگوشت قلب و مغز (Brain Heart Infusion Broth, BHI) متأثر از غلظت‌های مختلف (صفر، ۰/۰۳ و ۰/۰۶ درصد) اسانس آویشن شیرازی در سه درجه حرارت (۳۵، ۲۵ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد)

مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

طرح آزمایش

بررسی اثرات اسانس آویشن شیرازی بر روی یکی از فاکتورهای رشدی یعنی Lag استافیلوکوک طلائی (در میزان تلقیح 10^5 cfu/ml) در محیط BHI متأثر از غلظت‌های مختلف (صفر، ۰/۰۳ و ۰/۰۶ درصد) اسانس، در طی ۴۳ روز (۱۰۳۲ ساعت) نگهداری در درجات حرارت ۳۵، ۲۵ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد.

تهیه اسانس و آنالیز آن

گیاه آویشن شیرازی از استان فارس در فصل تابستان جمع‌آوری شد و توسط گیاه‌شناس پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی 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. دستگاه GC/MS از نوع Thermoquest Finnigan GC/MS با ستون مومینه به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر با برنامه دمایی ۵۰ تا ۲۶۵ درجه سانتی‌گراد با افزایش تدریجی ۲/۵ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه و نگهداری ستون در ۲۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه استفاده شد. دمای اتاقک تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و گاز حامل، هلیوم با سرعت ۱/۵ میلی‌متر در دقیقه بود. شناساگر EI با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و دمای منبع یونیزاسیون ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود.

ارگانیسیم مورد مطالعه

کشت لیوفلیزه استافیلوکوک طلائی ATCC 25923 اهدایی توسط دکتر خاشابی از انستیتو تحقیقات میکروبیولوژی اتریش جهت این بررسی مورد استفاده قرار گرفت. در ابتدا این کشت لیوفلیزه در محیط آبگوشت BHI در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت، دو مرتبه به طور 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 گردید.

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

شد. محتویات (۹ میلی‌لیتری) هر یک از لوله‌های در پیچ‌دار حاوی 10^5 cfu/ml) باکتری، به طور استریل در قسمت‌های مساوی ۳ میلی‌لیتری در داخل ۳ لوله سرپوش‌دار (16×100 mm) (Becton Dickson) استریل ریخته و بدین ترتیب مجموع ۳ لوله برای هر حالت به دست آمد [۲]. هر مجموعه ۳ لوله‌ای در هر یک از حرارت‌های مورد نظر در مطالعه یعنی ۲۵، ۳۵ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۳ روز نگهداری شدند. در طی این مدت تمام لوله‌ها جهت مشاهده اولین کدورت رشدی قابل رؤیت مورد بررسی قرار گرفتند [۱۵، ۲].

تعیین زمان تقریبی رشد تاخیری (Lag time, Lag)

Lag از مشاهده مکرر و ثبت زمان ظهور اولین کدورت رشدی قابل رؤیت اندازه‌گیری شد [۲].

آنالیز آماری

اثر غلظت‌های مختلف اسانس بر روی Lag با استفاده از آنالیز واریانس و با کمک نرم افزار (SPSS 10.0 for Windows, SPSS Inc.) ارزیابی شد.

نتایج

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

نتایج زمان رشد تاخیری استافیلوکوک طلائی تلقیح شده (10^5 cfu/ml) در آبگوشت BHI متأثر از غلظت‌های مختلف (صفر، ۰/۰۳ و ۰/۰۶ درصد) اسانس مذکور در طی ۴۳ روز نگهداری در درجات حرارت ۲۵، ۳۵ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد در جدول شماره ۲ نشان داده شده است.

تأثیر معنی‌دار ($p < 0.05$) غلظت‌های مختلف اسانس بر روی Lag با استفاده از آنالیز واریانس نشان داده شد.

بحث

اسانس‌های گیاهی یکی از منابع بالقوه واجد ترکیبات ضدباکتریایی می‌باشند و برای این منظور بسیار موثر و مفید هستند [۱]. مقایسه نتایج گزارش شده در مورد خواص ضدباکتریایی اسانس‌های مختلف بسیار مشکل می‌باشد. از دلایل آن می‌توان به تفاوت در روش‌های مختلف بررسی خواص ضدباکتریایی اسانس‌ها، منابع تهیه آنها و سویه‌های باکتریایی به کار برده شده نام برد [۱۶، ۱۴، ۱۲، ۱]. به‌طور کلی، ترکیبات

گرفت. مجدداً کشت دومی از این کشت ۱۸ ساعته اول، در آبگوشت BHI دیگر (به مدت ۱۸ ساعت، ۳۷ درجه سانتی‌گراد) تهیه شد. سپس لوله‌های cuvet در حاوی ۵ میلی‌لیتر آبگوشت BHI استریل تهیه شد. سپس، مقادیر مختلفی از کشت آبگوشت BHI ۱۸ ساعته دوم بر روی لوله‌های cuvet مختلف مذکور برده شد. با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Milton Roy company, USA) در طول موج ۶۰۰ نانومتر، جذب نوری لوله‌های مذکور خوانده شد. از محتویات این لوله‌های cuvet، شمارش باکتریایی به روش pour plate انجام شد و در آخر، لوله cuvet حاوی تقریباً 1×10^7 باکتری در هر میلی‌لیتر مشخص می‌گشت. بدین ترتیب در هر بار انجام آزمایش (تعیین لگاریتم درصد احتمال رشد)، با مشخص شدن جذب نوری که معادل تقریباً 1×10^7 باکتری در هر میلی‌لیتر بود (که بعد با کشت pour plate نیز تایید می‌شد)، لوله cuvet حاوی تقریباً 1×10^7 باکتری در هر میلی‌لیتر مشخص می‌شد. سپس از این لوله، رقت 10^5 با استفاده از لوله‌های رقت حاوی ۹ میلی‌لیتر آبگوشت BHI حاوی غلظت‌های مورد نظر (صفر، ۰/۰۳ و ۰/۰۶ درصد) اسانس که نحوه تهیه آن در ذیل آمده، تهیه می‌شد [۱۵، ۲].

تهیه محیط آبگوشت BHI با غلظت‌های مورد

نظر اسانس

ابتدا جهت تهیه ۱۰ میلی‌لیتر آبگوشت پایه تقریباً مورد نیاز برای یک حالت، ۰/۳۷ گرم پودر محیط کشت BHI را در ۹ میلی‌لیتر آب مقطر در یک ارلن با حرارت ملایم حل نمودیم و سپس غلظت‌های مورد نظر (صفر، ۰/۰۳ و ۰/۰۶ درصد) اسانس، ۵ درصد DMSO (به عنوان امولسیون‌کننده برای تمام حالت‌ها) و ۰/۰۵ درصد آگار آگار (به عنوان تثبیت‌کننده برای تمام حالت‌ها) را اضافه کردیم [۱۱، ۴]. در نهایت با استفاده از آب مقطر به حجم مورد نظر (۱۰ میلی‌لیتر) رسیدیم. سپس محتویات تهیه شده در ارلن را در لوله‌های (رقت) در پیچ‌دار (هر یک به میزان ۹ میلی‌لیتر) پخش کردیم و در اتوکلاو (۱۲۱ درجه سانتی‌گراد ۱۵ دقیقه) استریل نمودیم. قابل توضیح است از آنجایی که سه غلظت اسانس برای ۳ درجه حرارت در این آزمایش در نظر گرفته شد، بنابراین در مجموع نه حالت داشتیم. برای هر حالت نیز، دقیقاً ۹ میلی‌لیتر آبگوشت (با غلظت مورد نظر اسانس) برای تهیه رقت 10^5 ، مورد نیاز بود [۲].

تلقیح آبگوشت BHI و گرمخانه گذاری

همان‌گونه که گفته شد از لوله cuvet با جذب نوری که مشخص‌کننده 1×10^7 باکتری در هر میلی‌لیتر بود، رقت 10^5 با استفاده از لوله‌های رقت حاوی ۹ میلی‌لیتر آبگوشت BHI حاوی غلظت‌های مورد نظر (صفر، ۰/۰۳ و ۰/۰۶ درصد) اسانس تهیه

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

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

جدول شماره ۲- زمان رشد تاخیری (Lag) استافیلوکوک طلائی تلقیح شده (10^5 cfu/ml) در آبگوشت BHI، متأثر از غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی در طی ۴۳ روز نگهداری در درجات حرارت مختلف

درجه حرارت بر حسب سانتی‌گراد	غلظت اسانس آویشن شیرازی (درصد)	Lag (ساعت)
۳۵	۰/۰۰	۷/۲
	۰/۰۳	۳۱/۴۴
	۰/۰۶	۴۴/۴
۲۵	۰/۰۰	۱۵/۳۶
	۰/۰۳	۸۴/۹۶
	۰/۰۶	۱۵۸/۴
۱۵	۰/۰۰	۸۴
	۰/۰۳	۴۵۱/۹۲
	۰/۰۶	> ۱۰۳۲

در مطالعه حاضر، از مشاهده مکرر و ثبت زمان ظهور اولین کدورت رشدی قابل رؤیت استافیلوکوک طلائی تلقیح شده (10^5 cfu/ml) در آبگوشت BHI با غلظت‌های مختلف اسانس در طی ۴۳ روز نگهداری در درجات حرارت مختلف (۲۵، ۳۵ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد) جهت تعیین یکی از فاکتورهای رشدی باکتریایی یعنی Lag استفاده شد [۲]. در این بررسی همان‌گونه که گفته شد، به منظور ایجاد و حفظ (تثبیت) حالت امولسیون اسانس مذکور در محیط BHI در طی مطالعه به ترتیب از DMSO و آگار آگار استفاده شد [۴، ۱۱]. در ضمن برای در نظر گرفتن اثرات احتمالی (حتی ناچیز) ضدباکتریایی این دو ترکیب،

اسانس‌های گیاهی برحسب منطقه جغرافیایی رویش این گیاهان، وارسته 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 ضدباکتریایی و نگهدارندگی اسانس‌های گیاهی استفاده شده است. در برخی از این روش‌ها از مدل‌های آزمایشگاهی مثل محیط کشت و در برخی دیگر از مدل‌های غذایی برای بررسی اثرات ضدباکتریایی اسانس‌ها استفاده شده است [۸، ۹، ۱۰، ۱۳، ۱۷، ۱۸]. بنابراین با توجه به مطالب گفته شده نتایج به‌دست آمده در مطالعات مختلف بعضاً متفاوت می‌باشد.

در مطالعه دیگری، Karaman و همکاران، اثرات باکتریو استاتیکی قوی اسانس *Thymus revolutus* را بر روی باکتری‌های گرم مثبت از جمله استافیلوکوک طلائی نشان دادند. آنها علت احتمالی این اثرات را میزان بالای کارواکروول موجود در اسانس بیان نمودند [۶]. مطالعه مشابه، توسط رسولی و همکاران در سال ۲۰۰۲ بر روی اثرات باکتریوسیدی اسانس *Thymus pubescens* (با میزان بالای کارواکروول) بر روی باکتری گرم مثبت، استافیلوکوک طلائی و 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 کارواکروول موجود در اسانس بیان شد [۱۴]. نتایج مشابه دیگری توسط Baganboula و همکاران در سال ۲۰۰۴ بر روی اثرات اسانس Thyme و ترکیبات کارواکروول و تیمول بر روی باکتری شیگلا سونئی (*Shigella sonnei*) و شیگلا فلکسنری (*Shigella flexneri*) به دست آمد [۱].

از آنجایی که کارواکروول در اسانس استخراج شده از آویشن شیرازی مورد مطالعه ما، ترکیب اصلی و بیشترین جزء تشکیل‌دهنده (۷۱/۱۲ درصد) می‌باشد، چنین بیان می‌شود که احتمال اثر جلوگیری از رشد (افزایش زمان رشد تاخیری) اسانس مذکور در غلظت‌های مورد مطالعه ما نیز همین میزان بالای کارواکروول موجود در اسانس باشد.

با توجه به نتایج به دست آمده در تحقیق، اسانس مورد نظر در غلظت‌های اندک (۰/۰۳ و ۰/۰۶ درصد)، دارای اثر جلوگیری از رشد معنی‌داری ($p < 0.05$) بود. لذا چنین نتیجه‌گیری می‌شود که این اسانس احتمالاً می‌تواند به عنوان یک نگهدارنده و ضدباکتری مناسب لافل علیه برخی از باکتری‌های گرم مثبت از جمله باکتری مورد مطالعه، در برخی از مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

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

کلیه محیط‌های BHI تهیه شده، حتی محیط‌های (حالت‌های) بدون اسانس نیز حاوی مقادیر در نظر گرفته شده DMSO و آگار آگار بودند. بر طبق نتایج به دست آمده، اسانس آویشن شیرازی مورد مطالعه، اثر معنی‌داری ($p < 0.05$) را در غلظت‌های مورد استفاده (صفر، ۰/۰۳ و ۰/۰۶ درصد)، بر روی Lag استافیلوکوک طلائی در طی ۴۳ روز نگهداری در درجات حرارتی مختلف مورد مطالعه نشان داد. به طوری که در ۳۵ درجه سانتی‌گراد، Lag باکتری در غلظت صفر درصد اسانس ۷/۲ ساعت بود در حالی که این میزان در غلظت ۰/۰۳ درصد ۳۱/۴۴ ساعت و در غلظت ۰/۰۶ درصد ۴۴/۴ ساعت بود که به میزان قابل توجهی افزایش پیدا کرد. در ۲۵ درجه سانتی‌گراد، Lag در حضور صفر، ۰/۰۳ و ۰/۰۶ درصد اسانس به ترتیب ۱۵/۳۶، ۱۵/۹۶ و ۱۵۸/۴ ساعت و در ۱۵ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۸۴، ۴۵۱/۹۲ و > 1032 ساعت بود که به میزان قابل توجهی نیز افزایش پیدا کرد.

مطالعات مختلفی در مورد اثرات ضدباکتریایی اسانس‌های گیاهی خانواده Lamiaceae (که گیاه آویشن شیرازی مورد مطالعه ما هم در این خانواده قرار دارد) و برخی از ترکیبات شناخته شده مهم در اسانس‌های این خانواده از جمله کارواکروول و تیمول (thymol) وجود دارد. در مطالعه انجام شده توسط Kim و همکاران در سال ۱۹۹۵، اثرات ضدباکتریایی و محاسبه Minimum Inhibitory Concentration (MIC) و Minimum bacteriocidal Concentration (MBC) کارواکروول بر روی سالمونلاتیفی موریم و سویه مقام به ریفامپیسین آن در محیط Triptic Soy agar (با استفاده از دیسک‌های کاغذی آغشته به غلظت‌های مورد نظر کارواکروول و تعیین منطقه جلوگیری از رشد) و در محیط Triptic Soy broth (از روی اندازه‌گیری کدورت رشد با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۰ نانومتر و سپس کشت بر روی Triptic Soy agar) مورد بررسی قرار گرفت. آنها نشان دادند که کارواکروول اثرات ضدباکتری قوی بر هر دو سویه مورد مطالعه با MIC ۲۵۰ ماکروگرم در میلی‌لیتر داشت. در همین تحقیق، کارواکروول با غلظت ۳ درصد در Tween 20 یک درصد، اثر کشندگی قوی را بر سویه‌های مقاوم به ریفامپیسین در یک نمونه غذای ماهی (fish cube) نشان داد [۷].

منابع

1. Bagamboula CF, 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.* 2004; 21: 33-42.
2. Basti AA and Razavilar V. 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.* 2004; 21: 431-438.

3. Cimanga K, Kambu K, Tona L, Apers S, De Bruyne T, Hermans N, Totte J, Pieters L and Vlietinck AJ. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in Democratic Republic of Congo. *J. Ethnopharmacol.* 2002; 79: 213-220.
 4. Delaquis PJ, Stanich K, Girard B and Mazza G. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Int. J. Food Microbiol.* 2002; 74: 101-109.
 5. Hosseinzadeh H, Ramezani M and Salmani G-a. Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Zataria multiflora* Boiss extracts in mice and rats. *J. Ethnopharmacol.* 2000; 73: 379-385.
 6. Karaman S, Digrak M, Ravid U and Ilcim A. Antibacterial and antifungal activity of essential oils of *Thymus revolutus* Celak from Turkey. *J. Ethnopharmacol.* 2001; 76: 183-186.
 7. Kim JM, Marshall MR, Cornell JA, Preston III JF and Wel CI. Antibacterial activity of carvacrol, citral and Geraniol against *Salmonella typhimurium* in culture medium and fish cube. *J. Food. Sci.* 1995; 60: 1364-1368.
 8. Koutsoumanis K, Lambropoulou K and Nyhas G-JE. A predictive model for the non-thermal inactivation of *Salmonella enteritidis* in a food model system supplemented with a natural antimicrobial. *Int. J. Food Microbiol.* 1999; 49: 63-74.
 9. Koutsoumanis K, Tassou C, Taoukis PS and Nychas GJE. Modelling the effectiveness of a natural antimicrobial on *Salmonella enteritidis* as a function of concentration, temperature and pH, using conductance measurements. *J. Applied Microbiol.* 1998; 84: 981-987.
 10. Lemay M-J, Choquette J, Delaquis PJ, Garipey C, Rodrigue N and Saucier L. Antimicrobial effect of natural preservatives in a cooked and acidified chicken meat model. *Int. J. Food Microbiol.* 2002; 78: 217-226.
 11. Mann CM and Marham. A new method for determining inhibitory concentration of essential oils. *J. Applied Microbiol.* 1998; 84: 538-544.
 12. Marilena M, Bersani C and Comi G. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from *Lamiaceae* and *Composita*. *Int. J. Food Microbiol.* 2001; 67: 187-195.
 13. Palmer AS, Steward J and Fyfe. The potential application of plant essential oils as natural preservatives in soft cheese. *Food Microbiol.* 2001; 18: 463-470.
 14. Rasooli I and Mirmostafa SA. Antibacterial properties of *Thymus pubescens* and *thymus sepyllum* essential oils. *Fitoterapia.* 2002; 73: 244-250.
 15. Razavilar V and Genigeorgis C. Prediction of *Listeria* spp. growth as affected by various levels of chemicals, pH, temperature and storage time in model broth. *Int. J. Food Microbiol.* 1998; 40: 149-157.
 16. Tassou C, Koutsoumanis K and Nychas G-JE. Inhibition of *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus* in nutrient broth by mint essential oil. *Food Research Int.* 2000; 33: 273-280.
 17. Tassou C and Nychas G-JE. 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* 1995; 411-420.
 18. Valero M and Salmeron MC. Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth. *Int. J. Food Microbiol.* 2003; 85: 73-81.
۱۹. کمیته تدوین فارماکوپه گیاهی ایران. فارماکوپه ایران. چاپ اول. وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی (معاونت غذا و دارو). ۱۳۸۱، جلد اول، صفحه ۵۱.

