مطالعه رفتار باکتری لیستریامونوسیتوژنز در طی روند تولید پنیر سفید ایرانی تحت تاثیر اسانس آویشن شیرازی

زهره مشاک[۱]، بیژن مرادی[۲]، افشین آخوندزاده‌بستی[۳]*، آرش عباسی‌فر[٤]، حسن گندمی[٥]

۱- استادیار، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج
۲- دانشجوی کارشناسی‌ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان
۳- دانشیار، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
٤- دستیار، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
٥- استادیار، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
*آدرس مکاتبه: تهران، خیابان آزادی، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت مواد غذایی، صندوق پستی: ٦٤٥٣ – ١٤١٥٥، تلفن: ٦٦٩٢٣٥١٠ (٠٢١)، نمابر: ٦٦٩٣٣٢٢٢ (٠٢١)
پست الکترونیک: aakhond@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ٨٦/٥/١٠ **تاریخ تصویب:** ٨٧/٦/١٤

چکیده

مقدمه: گزارش‌های بسیاری درباره جداسازی لیستریا مونوسیتزژنز از انواع پنیرها موجود است. کاربرد نگهدارنده‌های طبیعی از جمله اسانس آویشن شیرازی در کاهش این آلودگی موثر می‌باشد.

هدف: هدف از این تحقیق بررسی اثر ضدلیستریایی اسانس آویشن شیرازی بر رفتار باکتری لیستریا مونوسیتوژنز تحت شرایط تولید پنیر سفید ایرانی است.

روش بررسی: روش‌های به کار رفته در این تحقیق مشتمل بر تهیه گیاه، استخراج اسانس و آنالیز آن، تهیه میزان تلقیح باکتریایی، تولید پنیرهای حاوی باکتری لیستریا و غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی (صفر، ٥٠، ١٥٠ و ppm ٣٠٠)، آزمایش‌ها میکروبی و شیمیایی از نمونه‌های پنیر و بالاخره تحلیل آماری نتایج می‌باشد.

نتایج: نتایج نشان داد که آویشن شیرازی تاثیر معنی‌داری بر تغییرات pH در نمونه‌های پنیر نداشت ($p>0/05$). هم‌چنین با افزایش غلظت اسانس مزبور در نمونه‌های پنیر، لگاریتم تعداد باکتری‌ها کاهش یافت. به طوری که کاهش رشد باکتری‌ها تحت تاثیر غلظت‌های ppm ١٥٠ و ٣٠٠ در پنیرها در مقایسه با نمونه‌های فاقد آویشن معنی‌دار بود ($p<0/05$).

نتیجه‌گیری: یافته‌های این پژوهش نشانگر اثرات بالقوه خوب آویشن شیرازی در پنیر به عنوان یک ماده ضدلیستریایی بود. کاربرد غلظت ppm ١٥٠ آویشن شیرازی در پنیر سفید ایرانی، می‌تواند سبب سلامت این فرآورده با حفظ اثرات مفید ارگانولپتیکی و کاهش رشد باکتری لیستریا در پنیر شود.

گل‌واژگان: اسانس آویشن شیرازی، لیستریا مونوسیتوژنز، پنیر سفید ایرانی، استارتر

[Downloaded from jmp.ir on 2025-07-09]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.29.14.5]

مقدمه

با توجه به اثرات مضر نگه دارنده‌های شیمیایی غذایی، استفاده از نگه دارنده‌های طبیعی رشد روزافزونی دارد. اسانس‌ها[1] (روغن‌های فرار یا روغن‌های اتری) مایعات روغنی معطری هستند که از اجزای مختلف گیاه به دست می‌آیند [۱]. خواص ضدمیکروبی اسانس‌ها سال‌ها است که شناخته شده است و امروزه رویکرد عموم مردم و هم‌چنین سایر سازمان‌های ملی و بین‌المللی مسؤول در زمینه بهداشت مواد غذایی در استفاده از نگه دارنده‌های طبیعی مختلف به جای مواد شیمیایی منجر به تمایل بیشتر برای شناخت علمی این مواد شده است [۱،۲]. اما اثرات ناخواسته احتمالی که اسانس‌ها در مقادیر زیاد بر طعم، مزه، بو و رنگ غذا می‌گذارند، استفاده از آن‌ها را به تنهایی به عنوان یک نگه دارنده غذایی محدود می‌سازد. بنابراین تکنولوژی مانعی [2] در بهداشت مواد غذایی [۳]، به صورت بررسی اثر ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی در غلظت‌های مختلف و توأم با سایر عوامل درون اثر و برون اثر علیه باکتری‌های پاتوژن مهم غذازاد، ابتدا در محیط‌های کشت آزمایشگاهی و سپس در فرآورده‌های غذایی، در قالب مطالعات تلقیحی[3] مورد استفاده قرار می‌گیرد که در نهایت می‌تواند به صورت مدل‌های پیشگویی‌کننده رشد میکروبی در مواد غذایی و جهت تامین سلامتی انسان‌ها به کار برده شود.

اسانس‌ها با داشتن خاصیت آب‌گریزی موجب نفوذ در لیپید غشایی[4] سلول باکتری شده و منجر به خارج شدن یون‌ها و محتویات سلولی از آن می‌شوند. خروج این مواد از سلول، با ایجاد اختلال در عملکرد سلولی باعث مرگ آن می‌شود [۱،۲]. آویشن شیرازی[5] از خانواده‌ی نعناع[6] حداقل واجد ۰/۶ درصد اسانس و هم‌چنین مقادیری از اسیدهای چرب[7]، اسید الئانولیک[8]، بتاسیتوسترول[9] و بتولین[10] است [٤]. ترکیبات اسانس آویشن شیرازی توسط کمیسیون اروپایی جهت استفاده به عنوان طعم‌دهنده در مواد غذایی به ثبت رسیده است که خطری برای سلامت مصرف‌کننده ندارد. انتشار این گیاه در ایران، افغانستان و پاکستان بوده و در بسیاری از مناطق ایران به طور سنتی در غذاها به عنوان طعم‌دهنده استفاده می‌شود [۱،٤].

لیستریا مونوسیتوژنز[1] باکتری میله‌ای شکل، گرم مثبت و کاتالاز مثبت بوده که متابولیسم تنفسی هوازی – بی‌هوازی اختیاری دارد [۵]. بقای آن در حرارت ۰/۱ – تا ٤۵ درجه سانتی‌گراد و ۹/۵ – ٤/۵ ~pH دیده شده و در برابر طیف وسیعی از استرس‌های محیطی از جمله نمک ۱۰ درصد [٦] و خشکی مقاوم است [۵،۷]. اغلب از طریق آب آلوده، غذای آلوده و آلودگی متقاطع، عفونت لیستریایی (لیستریوز) رخ می‌دهد که با علایمی شبیه آنفلوانزا، سپتی سمی و مننژیت خصوصاً در نوزادان، خانم‌های باردار، افراد مسن و اشخاص با نقص سیستم ایمنی همراه می‌باشد [۵]. تاکنون موارد بسیاری از شیوع لیستریوز در انسان توسط مصرف انواع غذاها نظیر شیر و فراورده‌های لبنی ارائه شده است که بیش‌ترین موارد گزارش شده در پنیر مربوط به پنیر نرم و نیمه نرم بوده و پنیر سفید ایرانی نیز از این دسته می‌باشد [۲،۸،۹]. ناکارآمدی حرارت پاستوریزاسیون در نابودی کامل این باکتری (در صورتی که تعداد باکتری بیش از ۱۰۳cfu/ml در شیر باشد) [۲] و هم‌چنین رشد آن در دمای یخچالی ٤ درجه سانتی‌گراد (که در صورت نگه داری طولانی مدت پنیرهای آلوده در این دما موجب افزایش تعداد باکتری می‌گردد) اهمیت بررسی این باکتری را بیشتر آشکار می‌سازد [۹]. بنابراین در این مطالعه رفتار باکتری لیستریا منوسایتوژنز در پنیر سفید ایرانی تحت تاثیر غلظت‌های مختلف آویشن شیرازی (صفر، ۵۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ ppm) در مدل غذایی پنیر سفید ایرانی (دارای استارتر و فاقد آن) در طی زمان‌های مختلف تولید پنیر تحت بررسی قرار گرفت. این غلظت‌ها بر اساس آزمایش‌های انجام شده در تحقیقات پیشین تعیین و تلقیح شد [٤].

[1] Essential oils
[2] Hurdle Technology
[3] Inoculums Pack Study
[4] Cell Membrane
[5] *Zataria multiflora* Boiss.
[6] Lamiacea
[7] Fatty Acid
[8] Oleanolic acid
[9] β-Cytosterol
[10] Betoline

[1] *Listeria monocytogenes*

[Downloaded from jmp.ir on 2025-07-09]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.29.14.5]

مواد و روش‌ها

الف. تهیه گیاه، اسانس و آنالیز آن: گیاه آویشن شیرازی از استان فارس در فصل تابستان جمع‌آوری شد و نام علمی گیاه توسط پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی تایید شد. چون اسانس گیاه در مقایسه با عصاره یا پودر آن خاصیت ضدمیکروبی بیشتری دارد، به روش تقطیر با بخار آب از سرشاخه‌های هوایی گیاه تهیه شد و سپس توسط دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف نگار جرمی[1] تحلیل قرار گرفت. بدین‌منظور دستگاه Thermoquest GC/MS Finnigan با ستون مویینه به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر، با برنامه دمایی ۵۰ تا ۲٦۵ درجه سانتی‌گراد با افزایش تدریجی ۲/۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه و نگهداری ستون در ۲٦۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه استفاده شد. دمای اتاقک تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و گاز حاصل، هلیم با سرعت ۱/۵ میلی‌متر در دقیقه بود. هم‌چنین شناساگر EI با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و دمای منبع یونیزاسیون ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود.

ب. تهیه میزان تلقیح باکتریایی: ابتدا کشت لیوفلیزه باکتری لیستریا منوسایتوژنز، ATCC 19118 تهیه شده از بخش میکروب‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران دو مرتبه به طور متوالی در محیط BHI Broth[2] در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ساعت، کشت داده شد. سپس جهت تهیه میزان تلقیح باکتری از کشت مرحله دوم مقادیر مختلفی به کووت‌های[3] حاوی ۵ میلی‌لیتر BHI Broth استریل منتقل شده و با استفاده از خواندن جذب نوری کووت‌های مذکور (۰/۱۹۰- ۰/۱۷۵ :Abs در طول موج ٦۰۰ نانومتر) و شمارش باکتریایی به کمک کشت سطحی، کووت حاوی حدود ۱۰۷ cfu/ml جهت تلقیح به نمونه‌های مورد آزمایش مشخص شد [٤،۹].

ج. تهیه پنیر سفید ایرانی: استارتر به کمک شیر باز ساخته (شیر خشک بدون چربی و آب مقطر استریل به نسبت ۱۱ درصد) و باکتری‌های لیوفیلیزه لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس شرکت‌های ANISCO/Bulk Culture Set و CHR HANSEN ساخته شد که به نسبت برابر و ۰/۵ درصد، تحت شرایط استریل در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به آن افزوده شد. برای تولید پنیر، شیر پاستوریزه تازه و کامل گاو به مقدار ۵ لیتر درون ظروف مخصوص پنیرسازی ریخته و به دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد رسانده شد. سپس با تلقیح سوسپانسیون باکتری لیستریا مونوسیتوژنز از کووت حاوی حدود cfu/ml ۱۰۷، به نسبت ۱/۱۵۰۰۰ در شیر، تعداد نهایی باکتری مورد نظر به cfu/ml ۱۰۳ در نمونه‌ها رسانده شد [٤].

پس از آن به نمونه‌های شیر، مقدار ۰/۵ درصد از استارتر ساخته شده و پس از نیم ساعت مقدار ۰/۰۲ درصد کلرید کلسیم افزوده شد. در همین زمان نیز اسانس آویشن شیرازی در غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ ppm به نمونه‌ها اضافه شد. پس از رسیدن pH شیر به ۵/٦، رنت[1] حل شده در آب مقطر استریل به مقدار ۰/۰۰۱ درصد افزوده و یکنواخت شد. پس از نگهداری نمونه‌ها به مدت یک ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد، لخته حاصله به صورت قطعات ۱ الی ۲ سانتی‌متر مکعبی برش خورد و به مدت شش ساعت تحت فشار وزنه استریل آبگیری شد. سپس لخته فشرده قطعه قطعه شده و به مدت ۸ ساعت در آب نمک ۲۰ درصد استریل و پس از آن تا پایان روز شصتم در آب نمک ۸ درصد استریل قرار داده شد. نمونه‌ها ابتدا، به مدت ۱۵ روز در دمای ۱٤ درجه و سپس به مدت ٤۵ روز در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

د. کشت میکروبی و آزمایش‌های شیمیایی: در آزمایش‌های میکروبی که به منظور شمارش لیستریا مونوسیتوژنز انجام شد از محیط آگار انتخابی لیستریا (پالکام)[2] به روش کشت سطحی استفاده شد و در ۳۵ درجه سانتی‌گراد

[1] Gas Chromatography/ Mass Spectrophotometer (GC/MS)
[2] Brain Heart Infusion Broth
[3] Cuvett

[1] Rennet
[2] (PALCAM) Listeria Selective Agar

[Downloaded from jmp.ir on 2025-07-09]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.29.14.5]

به مدت ٢٤ الی ٤٨ ساعت نگهداری شد [٥،١٠] و در آزمایش‌های شمیایی نیز اندازه‌گیری pH توسط دستگاه pH متر دیجیتال کارخانه Corning و در طی مراحل زیر صورت پذیرفت:

– نمونه‌برداری از شیر در ساعت صفر (لحظه تلقیح باکتری) و ساعت نیم (پس از افزودن استارتر و رنت)

– نمونه‌برداری از لخته تشکیل شده در ساعت ١/٥ (پس از ایجاد لخته) و ساعت ٧/٥ (پس از آبگیری لخته)

– نمونه‌برداری از پنیر و آب نمک در ساعت ١٦٨ (روز هفتم)، ساعت ٣٦٠ (روز پانزدهم و متعاقب اتمام دوره رسیدن اولیه پنیر در انبار سبز)، ساعات ٧٢٠ (روز ٣٠)، ١٠٨٠ (روز ٤٥) و ١٤٤٠ (روز ٦٠). [٢،٩].

ه. **تحلیل آماری:** جهت بررسی تغییرات لگاریتم تعداد باکتری و pH نمونه‌های پنیر و آب نمک آن، تحت تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی در طی زمان تولید پنیر، از ضریب همبستگی و آزمون آنالیز واریانس SPSS 15.0 for Windows استفاده شد. بررسی اختلافات شاخص توسط آزمون Tukey در $p<0/05$ و $p<0/01$ انجام گرفت.

نتایج

ترکیبات اسانس آویشن شیرازی مورد استفاده در این تحقیق با استفاده از GC/MS بررسی شد که در این میان کارواکرول[1] (با میزان ٧١/١٢ درصد) بیشترین ترکیب موجود در اسانس را دارا بود. سایر ترکیبات اسانس عبارت بود از گاما ترپنین[2] (٧/٣٤ درصد)، آلفا پنین[3] (٤/٢٦ درصد)، اکالیپتول[4] (٣/٣٧ درصد)، گلوبولول[5] (٢/٣٢ درصد)، بتا میرسین[6] (٠/٨٥ درصد)، لینالئول[7] (٠/٦٨ درصد)، تیمول متیل اتر[8] (٠/٤٧ درصد) و سایر ترکیبات فرعی.

نتایج موجود در نمودار شماره ١ نیز نشانگر عدم تاثیر اسانس آویشن شیرازی بر تغییرات pH است. به طوری که تغییرات pH در طی تولید پنیرها تحت اثر غلظت‌های مختلف آویشن شیرازی (صفر، ٥٠، ١٥٠، ٣٠٠ ppm) در دوره‌های زمانی مشابه، اختلاف آماری (آنالیز واریانس) معنی‌داری را نشان ندادند ($p<0/05$).

نمودار شماره ٢ و ٣ به ترتیب نشان‌دهنده اثر ضدمیکروبی اسانس آویشن شیرازی بر کاهش لگاریتم تعداد باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در نمونه‌های پنیر و هم‌چنین آب نمک در طی فرایند تولید پنیر است؛ به عبارتی با افزایش غلظت اسانس، تعداد باکتری کاهش می‌یابد. به طوری که کاهش معنی‌دار لگاریتم تعداد باکتری در نمونه‌های پنیر و آب نمک به طور مشابه در غلظت‌های ppm ١٥٠ و ٣٠٠ آویشن شیرازی در مقایسه با نمونه‌های فاقد اسانس دیده می‌شود ($p<0/05$).

بحث

از دیرباز اثر بازدارندگی رشد میکروبی اسانس‌های گیاهی شناخته شده و به تازگی توجه زیادی به سوی تاثیر آن‌ها بر روی عوامل پاتوژن و فساد مواد غذایی معطوف شده است [٢،١]. در این راستا بررسی اثر اسانس‌های گیاهی بر روی باکتری‌های پاتوژن غذازاد مانند لیستریا مونوسیتوژنز نشان دهنده تلاش محققان برای جایگزین نمودن نگه دارنده‌های طبیعی به جای نگه دارنده‌های شیمیایی می‌باشد [٢،١١].

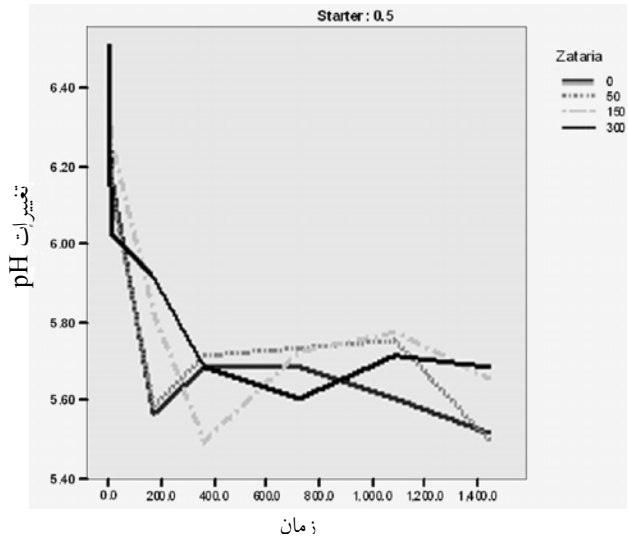
تاکنون بررسی‌های زیادی در مورد اثر سینرژیستی اجزای مختلف اسانس‌های گیاهی در مواد غذایی مختلف جهت افزایش قدرت ضدمیکروبی آن‌ها انجام شده است. به طوری که تاثیر ضدمیکروبی توام دو جز کارواکرول و تیمول موجود در اسانس آویشن شیرازی بیش‌تر از تاثیر هر یک از آن‌ها به تنهایی گزارش شده است [١،١٢،١٣]. کارامن[1] و همکاران (٢٠٠١) و رسولی[2] و میرمصطفی[3] (٢٠٠٢) در مطالعات خود فعالیت ضدمیکروبی بالای اسانس‌های گیاهی غنی از ترکیبات فنولیک (کارواکرول و تیمول) را خاطر نشان نمودند [١٢]. در بررسی دیگر نیز توسط ناواس[4] و همکاران (١٩٩٦) نشان داده

[1] Carvacrol
[2] Gamma-Terprinene
[3] Alpha-Pinene
[4] Eucaliptol
[5] Globulol
[6] Beta-Myrcene
[7] Linalool
[8] Thymol Methyl Ether

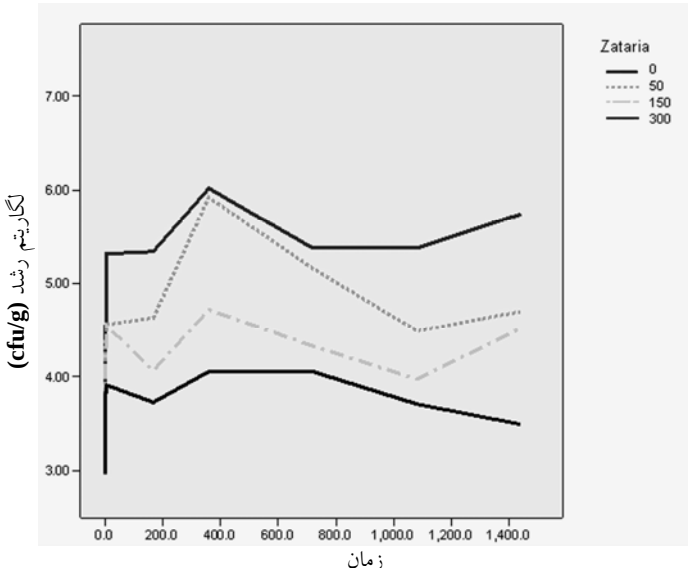
[1] Karaman
[2] Rasooli
[3] Mirmostafa
[4] Navas

[Downloaded from jmp.ir on 2025-07-09]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.29.14.5]

شد که آویشن کوهی در مقایسه با سایر اسانس‌های گیاهی، به دلیل مقادیر بالای کارواکرول و تیمول از خاصیت ضدمیکروبی بالاتری برخوردار می‌باشد [١٤]. نتایج حاصل از تجزیه اسانس آویشن شیرازی در این مطالعه نیز مشابه مطالعات قبلی دال بر وجود تر کیبات کارواکرول (بیشترین ترکیب به میزان ٧١/١٢ درصد) و تیمول در اسانس می‌باشد. در این مطالعه تغییرات کاهشی pH در طی روند ساخت و نگهداری پنیر در طی زمان‌های مختلف نمونه‌برداری قابل توجه می‌باشد و حداقل pH که حدود ٥/٥ می‌باشد به طور متوسط در ساعات ٣٦٠ مشاهده شده است. به نظر می‌رسد که کاهش pH در نمونه‌های پنیر به علت وجود میکروارگانیسم‌های مولد اسیدلاکتیک و اسیدهای آلی موجود در استارتر باشد [١١].



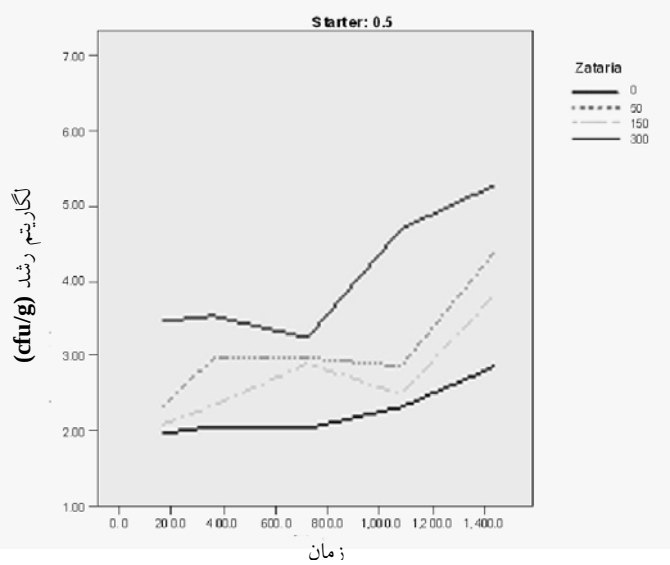
نمودار شماره ١- تغییرات pH در نمونه‌های پنیر تحت تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی (ppm) طی زمان تولید پنیر (ساعت)



نمودار شماره ٢- لگاریتم رشد لیستریا (cfu/g) در نمونه‌های پنیر تحت تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی (ppm) طی زمان تولید پنیر (ساعت)

[Downloaded from jmp.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.29.14.5]



نمودار شماره ۳- لگاریتم رشد لیستریا مونوسایتوژنز (cfu/ml) در نمونه‌های آب نمک مورد استفاده تحت تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی (ppm) طی زمان تولید پنیر (ساعت)

در این مطالعه هیچ‌یک از غلظت‌های آویشن شیرازی (صفر، ۵۰، ۱۵۰، ۳۰۰ ppm) بر تغییرات pH حاصله در طی تولید و نگهداری و در دوره‌های زمانی، از نظر آماری (آنالیز واریانس) تاثیر معنی‌داری نداشت (p<۰/۰۵). به عبارتی غلظت‌های مختلف آویشن شیرازی تاثیر معنی‌داری بر رشد و فعالیت باکتری‌های مولد اسیدلاکتیک موجود در استارتر به کاربرده شده در پنیرها، یا به بیان دیگر کاهش pH پنیرها ندارد. در بررسی‌های به عمل آمده اظهار شده است که با وجود اثرات ضدمیکروبی اسانس‌ها بر روی مهار رشد باکتری‌های گرم مثبت، این تاثیر بر روی مهار رشد باکتری‌های مولد اسید لاکتیک موجود در استارتر چشمگیر نبوده است [۱۰]. زایکا[1] و همکاران (۱۹۸۳) نیز در مطالعه مشابهی هیچ‌گونه اثر مهاری در غلظت‌های مختلف اسانس پونه کوهی (ppm ۲۰۰- ٤۰) را بر باکتری‌های مولد اسید لاکتیک نظیر لاکتوباسیلوس پلانتوروم و پدیوکوکوس اسیدولاکتیس در محیط کشت مایع مشاهده ننمودند [۱۵].

براساس نتایج این مطالعه، اسانس آویشن شیرازی از خاصیت ضدلیستریایی برخوردار بوده و کاربرد آن سبب کاهش لگاریتم باکتری لیستریا در نمونه‌های پنیر و به موازات آن در نمونه‌های آب نمک می‌گردد (p<۰/۰۵). کوتر[1] (۲۰۰۱) تاثیر عصاره گیاهان مختلف را بر باکتری‌های اشرشیاکلی، سالمونلاتیفی موریوم و لیستریا مونوسیتوژنز در گوشت گوساله بررسی کرد و نتیجه گرفت که کاربرد عصاره گیاهان مزبور در گوشت، سبب کاهش جمعیت باکتری‌ها می‌شود [۱٦]. در مطالعه پالمر[2] و همکاران (۲۰۰۱) نیز اثرات اسانس برگ بو، میخک، دارچین و آویشن در غلظت‌های صفر، ۰/۱ و ۱ درصد، در پنیرهای نرم علیه لیستریا مونوسیتوژنز در طی ۱٤ روز بررسی شد که هر چهار اسانس در غلظت ۰/۱ درصد سبب کاهش تعداد لیستریا تا کم‌تر از یک کلنی در هر گرم شد [۲]. در این مطالعه نیز با کاربرد اسانس آویشن شیرازی (۵۰، ۱۵۰، ۳۰۰ ppm) کاهش معنی‌داری در لگاریتم تعداد باکتری لیستریا در مقایسه با نمونه‌های فاقد آویشن مشاهده شد (p<۰/۰۵). غلظت‌های ppm ۱۵۰ و ۳۰۰ بالاترین اثر مهاری را بر رشد باکتری در نمونه‌های پنیر و آب نمک نشان دادند و به طور چشم‌گیری از افزایش باکتری جلوگیری کردند. ضریب همبستگی غلظت اسانس با لگاریتم باکتری در نمونه‌های پنیر برابر ۰/٤۵۸- بود که نشانگر کاهش میزان رشد باکتری همگام با افزایش غلظت اسانس به کار برده شده می‌باشد (p<۰/۰۱).

[1] Zaika

[1] Cutter [2] Palmer

[Downloaded from jmp.ir on 2025-07-09]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.29.14.5]

بر طبق نمودار لگاریتم رشد باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در پنیر (نمودار شماره ۲) لگاریتم تعداد باکتری در ساعات آغازین تهیه پنیر (طی ۷/۵ ساعت اولیه) به میزان log ۲/۵– ۱ افزایش می‌یابد که در مقایسه با میزان رشد باکتری در سایر مراحل تولید پنیر قابل توجه می‌باشد ($p<۰/۰۱$). اما بر اساس نتایج حاصله کاربرد غلظت‌های ppm ۱۵۰ و ۳۰۰ اسانس آویشن شیرازی می‌تواند به طور معنی‌داری از افزایش لگاریتم باکتری‌ها در این مرحله جلوگیری کند ($p<۰/۰۵$).

این رشد قابل توجه باکتری در ساعات اولیه تولید پنیر می‌تواند به دلیل اثرات محافظتی ترکیبات غذا بر روی میکروارگانیسم مزبور باشد [۱۷]. هم‌چنین وجود عوامل مهاری داخلی و خارجی پنیر نظیر استارتر، تغییر میزان aw، درصد نمک، pH، درجه حرارت، نوع سویه باکتریایی و میزان تلقیح باکتری می‌تواند در کند شدن رشد باکتری پس از ۷/۵ ساعت اولیه تولید پنیر موثر باشد. پیش از این نیز فعالیت ضدمیکروبی استارترها به واسطه توانایی کاهش مقادیر pH ناشی از تولید اسید لاکتیک، رقابت برای مصرف ماده غذایی و تولید مواد باکتریوسیدال یا باکتریواستاتیک از جمله باکتریوسین‌ها یا پراکسید هیدروژن به اثبات رسیده است [۱۱]. در مطالعه رودرینگیوز[1] و همکاران (۲۰۰۵) نیز اثر ضدمیکروبی باکتری‌های لاکتوکوکوس لاکتیس موجود در استارتر پنیر، بر مهار رشد باکتری‌های استافیلوکوکوس آرئوس، لیستریا مونوسیتوژنز و اشریشیا کولی در مقایسه با پنیرهای فاقد استارتر آورده شده است [۱۸]. میلت[2] (۲۰۰۶) نیز دریافت که مهار رشد لیستریا در طی دوره رسیدن پنیرهای تولید شده با شیر غیرپاستوریزه، حاصل تغییرات مقادیر pH و محتوای L– لاکتات می‌باشد [۹].

هم‌چنین دوچه[3] و همکاران (۲۰۰۲) در مطالعات خود به کاهش تولید پروتئین‌های باکتری در محیط نمکی ۱۰ درصد اشاره نمودند. پروتئین‌های مزبور شامل آنزیم‌های حیاتی جهت انجام واکنش‌های کاتابولیک در باکتری می‌باشد. بنابراین کاربرد نمک بالا سبب کاهش aw و مرگ باکتری می‌شود [۶].

[1] Rodriguez
[2] Millet
[3] Duche

هم‌چنین تغییر حرارت محیط نیز عامل دیگری جهت کنترل رشد لیستریا مونوسیتوژنز محسوب می‌شود [۷،۹].

لیستریا مونوسیتوژنز قادر به بقا در شرایط محیطی مختلفی نظیر محلول نمکی ۱۰ درصد، دمای یخچالی ٤ درجه سانتی‌گراد و pH~ ۳/۵–۵/۵ بوده که این قابلیت تطبیق با محیط، کنترل آن را در محصولات غذایی با مشکل رو به رو می‌سازد [۸،۱۹]. امروزه به دلیل اثرات سو و محدودیت در کاربرد هر یک از فاکتورهای داخلی و خارجی محدودکننده رشد باکتری‌ها به تنهایی، از عوامل چند فاکتوری[1] به صورت توام با یکدیگر و در مقادیر کمتر از حدمطلوب[2]، به منظور مهار رشد باکتری در غذا و هم‌چنین حفظ ویژگی‌های حسی و حفظ ارزش غذایی فرآورده‌های غذایی مختلف استفاده می‌شود [۳،۷].

به طوری که در مطالعات بستی[3] و همکاران (۲۰۰۷) تاثیر فاکتورهای مختلفی نظیر غلظت‌های مختلف آویشن شیرازی (صفر، ۰/۰۱۵، ۰/۰۳ و ۰/۰٦ درصد)، pH (۷/۳ و ٦ ~pH) و دماهای نگهداری (۱۵، ۲۵، ۳۵ درجه سانتی‌گراد) در زمان نگهداری بیش از ٤۳ روز، بر میزان رشد باکتری سالمونلاتیفی موریوم و استافیلوکوکوس ارئوس در محیط BHI Broth مدل‌سازی شد و توقف رشد هر دو باکتری تحت تاثیر عوامل چند فاکتوری نظیر غلظت ۰/۰٦ درصد اسانس آویشن شیرازی و pH~ ٦ و دماهای پایین‌تر از ۲۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد [٤]. رضویلر[4] و همکاران (۱۹۹۸) در مطالعات خود اثرات تلقیح تعداد ۱۰۵ – ۱ باکتری را در pH پایین و با غلظت‌های بالای مواد شیمیایی گزارش نمودند و نتیجه گرفتند که هر چه میزان تلقیح اولیه باکتریایی بیشتر باشد، اولاً رشد آن‌ها در مراحل بعدی بیشتر بوده و ثانیاً جهت مهار آن‌ها باید عوامل مهارکننده در غلظت‌های بیشتری به کار برده شوند [۷]. بنابراین در مطالعات اخیر به میزان تلقیح باکتریایی اولیه و بررسی روند رشد آن اهمیت زیادی داده می‌شود [۲۰]. رابینسون[5] و همکاران (۲۰۰۱) رشد لیستریا مونوسیتوژنز را با

[1] Multifactorial
[2] Sub Optimal
[3] Basti
[4] Razavilar
[5] Robinson

[Downloaded from jmp.ir on 2025-07-09]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.29.14.5]

تلقیح اولیه cfu/ml ۱۰۵ – ۱ و نمک ۱/۸ مولار را در ۳۷ درجه سانتی‌گراد مورد مطالعه قرار دادند [۲۰].

در پایان باید خاطرنشان ساخت که یافته‌های این پژوهش نشانگر اثرات بالقوه ضدلیستریایی آویشن شیرازی در پنیر بود که قابل پذیرش مصرف‌کنندگان و سازمان‌های مسؤول ملی و بین‌المللی دخیل در امر بهداشت مواد غذایی، در مقایسه با سایر ترکیبات افزودنی شیمیایی می‌باشد. کاربرد غلظت ppm ۱۵۰ آویشن شیرازی در پنیر فتا می‌تواند سبب ایمنی و سلامت این گونه پنیرها با دستیابی به اثرات مفید ارگانولپتیکی و کاهش رشد باکتری لیستریا شود.

جهت دستیابی به ایمنی بیش‌تر در مواد غذایی فعالیت ترکیبی عوامل محیطی مختلف نظیر pH، aw، حرارت، ترکیبات غذا، حالات فیزیولوژیکی سلول‌های رویشی و اسپورها و ... در سالیان اخیر مطالعه شده است و اخیراً مدل‌های ریاضی به منظور توصیف و یافتن کمیت واقعی این فاکتورهای محیطی به عنوان عوامل غیرفعال‌کننده لیستریا مونوسیتوژنز تحت بررسی می‌باشد. در ادامه مطالعه کنونی بررسی اثرات این اسانس یا سایر اسانس‌های گیاهی بومی کشور توام با سایر فاکتورهای محیطی روی میکروب‌های پاتوژن و مولد فساد در مواد غذایی دیگر پیشنهاد می‌شود و به دنبال آن تهیه مدل‌سازی رشد انواع میکروب‌های پاتوژن در غذاهای مختلف توصیه می‌شود.

منابع

1. Bart S. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods-a review. *International J. of Food Microbiol*. 2004; 94 (3): 223 - 53.

2. Palmer S, Stewart J and Fyfe L. The potential application of Plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiol*. 2001; 18: 463 - 70.

3. Listner L and Gorris L M G. Food preservation by hurdle technology. *Trends Food Sci. Technol*. 1995; 6: 35 - 68.

4. Basti AA, Misaghi A and Khaschabi D. Growth response and modeling of the effects of *Zataria multiflora* Boiss. Essential oil, pH and temperature on *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. *LWT- Food Science and Technol*. 2007; 40: 973 - 81.

5. Murray P, Barton EJO, Jorgensen JH, Pfaller MA, Yolken RH. Manual of Clinical Microbiology, Diagnostic Microbiology, handbooks, manuals, etc. 8th ed. Vol 2. *National Institute of Health, ASM Press*. Washington DC. 2003; 37 - 9, 461 - 7.

6. Duche O, Tremoulet F, Glaser P and Labadie J. Salt stress proteins induced in *Listeria monocytogenes*. *Appl. Environ. Microbiol*. 2002; 68 (4): 1491 - 8.

7. 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. Food Microbiol*. 1998; 40: 149 - 57.

8. O'Donnel and Geraid. The incidence of Salmonella and Listeria in raw milk from farm bulk tanks in England and Wales. *Journal of Society of Dairy Technol*. 1995; 48: 25 - 32.

9. Millet L, Saubusse M, Didienne R, Tessier L and Montel M.C. Control of *Listeria monocytogenes* in raw-milk cheeses. *Int. J. of Food Microbiol*. 2006; 108 (1): 105 - 14.

10. Jay M G. Modern Food Microbiology, 7th ed. *An Aspen Publication*. 2005, p: 232.

11. Rodriguez E, Gaya P, Nunez M and Medina M. Inhibitory activity of a nisin-producing starter culture on *Listeria innocua* in raw ewes milk Manchego cheese. *International J. of Food Microbiol*. 1998; 39: 129 - 32.

[Downloaded from jmp.ir on 2025-07-09]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.29.14.5]

12. Karaman S, Digrak M, Ravid U and Ilcim A. Antibacterial and antifungal activity of essential oils of Thymus revolutus Celak from Turkey. *J. of Ethnopharmacol*. 2001; 76: 183 - 6.

13. Rasooli I, Mirmostafa SA. Antibacterial properties of *Thymus pubescens* and *Thymus sepyllum* essential oils. *Fitoterapia*. 2002; 73: 244 - 50.

14. Navas MJ and Jimenez AM. Review of chemiluminescent methods in food analysis. *Food Chem*. 1996; 55 (1): 7 - 15.

15. Zaika LL, Kissinger JC and Wasserman AE. Inhibition of Lactic Acid Bacteria by Herbs. *J. of Food Sci*. 1983; 48: 1455 - 9.

16. Cutter C N, Antimicrobial effect of herb extracts against E. coli O157: H7, L. monocytogenes and S.typhimurium associated with beef. *J. Food Protec*. 2000; 63 (5): 601 - 7.

17. Hao YY, Brackett RE and Doyle MP. Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas hydrophila* by plant extracts in refrigerated beef. *J. Food Prot*. 1998; 61: 307 - 12.

18. Rodriguez E, Calzada J, Arques JL, Rodriguez JM, Nunez M and Medina M. Antimicrobial activity of pediocin-producing *Lactococcus lactis* on *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7 in cheese. *Int. Dairy J*. 2005; 15: 51 - 7.

19. McCluve PJ, Roberts TA and Oguru PO. Comparison of the effects of sodium chloride, pH and temperature on the growth of Listeria monocytogenesListeria monocytogenes on gradient plates and liquid medium. *Lett. Appl. Microbiol*. 1989; 9: 95 - 9.

20. Robinson TP, Aboaba OO, Kaloti A, Ocio M J, Baranyi J and Mackey BM. The effect of inoculum size on the lag phase of Listeria monocytogenes. *International J. of Food Microbiol*. 2001; 70: 163 – 73.

[Downloaded from jmp.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2009.8.29.14.5]