بررسی اثر اسانس زیره سبز بر روی رشد باکتری باسیلوس سرئوس در یک مدل غذایی

بهروز مرادی[۱]، زهره مشاک[۲]*، افشین آخوندزاده بستی[۳]، بیژن مرادی[٤]، عباس برین[٥]

۱- کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج

۲- استادیار، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج

۳- استاد، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران

٤- کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، زنجان

٥- استادیار، گروه کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران

*آدرس مکاتبه: کرج، بلوار موذن، دانشگاه آزاد اسلامی کرج، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت مواد غذایی

تلفن: ۳٤٤۰٥۱۳۰ (۰۲٦)

پست الکترونیک: mashak@kiau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۲/٥ **تاریخ تصویب:** ۹۰/۱/۲٥

چکیده

مقدمه: باسیلوس سرئوس باکتری است گرم مثبت و اسپوردار که اغلب در فرآورده‌های غذایی مانند گوشت، سبزیجات، سوپ، برنج، شیر و سایر فرآورده‌های لبنی تکثیر می‌نماید. بین ۱ الی ۲۰ درصد تمامی موارد شیوع مسمومیت‌های غذایی در جهان به دلیل باسیلوس سرئوس بوده است. امروزه توجه و علاقه فزاینده به استفاده از اسانس‌های گیاهی به عنوان نگه‌دارنده‌های طبیعی برای غذا وجود دارد. یک نمونه از این افزودنی‌های ضدمیکروبی طبیعی اسانس زیره سبز است و تاکنون مهار رشد چندین باکتری بیماری‌زا توسط این اسانس در مقالات مختلف گزارش شده است.

هدف: هدف از این تحقیق ارزیابی اثر ضدمیکروبی اسانس زیره سبز علیه باکتری باسیلوس سرئوس در یک مدل غذایی است.

روش بررسی: اسانس گیاه زیره سبز به وسیله روش تقطیر با بخار آب استخراج شد و به کمک دستگاه رنگ‌نگار گازی متصل به طیف‌نگار جرمی مورد تحلیل قرار گرفت. سپس تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس(صفر، ٥۰، ۱٥۰، ۳۰۰ و ppm ٤٥۰) بر باکتری باسیلوس سرئوس در سوپ جو تجاری در دو دمای نگه‌داری ۱۰ و ۲٥ درجه سانتی‌گراد طی زمان‌های معینی از آزمایش (روز صفر، ۱، ۲، ۳، ٤، ٥، ٦، ۹، ۱۲، ۱٥، ۱۸ و ۲۱) مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: لگاریتم باکتری باسیلوس سرئوس به وسیله غلظت‌های ۳۰۰ و ppm ٤٥۰ اسانس در دمای نگه‌داری ۱۰ درجه سانتی‌گراد و همچنین غلظت ppm ٤٥۰ اسانس در دمای نگه‌داری ۲٥ درجه سانتی‌گراد به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد ($p<۰/۰۱$).

نتیجه‌گیری: یافته‌های این پژوهش نشانگر اثرات بالقوه مهارکننده اسانس زیره سبز بر باکتری باسیلوس سرئوس در مدل غذایی (سوپ جو تجاری) بود.

گل‌واژگان: اسانس زیره سبز، باسیلوس سرئوس، سوپ جو تجاری

[Downloaded from jmp.ir on 2023-12-07]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.17.3]

مقدمه

تغییرات اقتصادی و اجتماعی نوین به همراه تجارت بین‌المللی غذا در سطح جهانی خطر بروز بسیاری از بیماری‌های غذازاد (Foodborne disease) را بیش از پیش مطرح ساخته است و در این راستا دست‌یابی به غذای سالم هم‌گام با ماندگاری بالا، لزوم استفاده از نگه‌دارنده‌های غذایی (Food preservations) را خاطرنشان می‌سازد. در سالیان اخیر با توجه به اثرات مضر نگه‌دارنده‌های غذایی شیمیایی و سنتتیک، مصرف‌کنندگان و تولیدکنندگان مواد غذایی، خواهان استفاده از نگه‌دارنده‌های طبیعی نظیر اسانس‌های گیاهی (Essential oils) هستند که علاوه‌بر افزایش زمان ماندگاری غذا (به واسطه خواص ضدمیکروبی آن) از اثرات مضر نگه‌دارندهای شیمیایی در امان باشند [٤ – ١]. یک نمونه از این افزودنی‌های ضدمیکروبی طبیعی اسانس زیره سبز (*Cuminum cyminum*) است [٦، ٥]. همچنین در برخی گزارش‌ها نشان داده شده است که اسانس زیره سبز در غلظت‌های بسیار کم در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد تأثیری برابر دارد [٧]. تاکنون مهار رشد چندین باکتری بیماری‌زا توسط اسانس زیره سبز در مقالات مختلف گزارش شده است [٩، ٨].

زیره سبز گیاهی است یک‌ساله، کوچک و علفی با ارتفاع حدود ٦٠ سانتی‌متر است که در مناطق ایران، ترکیه، هند و چین می‌روید [١٠]. محل اصلی رویش آن در ایران اطراف تبریز، خراسان، تهران، سمنان، دامغان و ... بوده و زمان مناسب جهت جمع‌آوری آن اواخر تابستان می‌باشد. بهترین روش برای تهیه اسانس آن تقطیر با بخار آب (Steam Distillation) است. زیرا در این روش اجزای اسانس با درصد خلوص بالا و به صورت مرغوب‌تری استخراج می‌شوند [٤].

اسانس زیره سبز دارای ترکیبات پینن (Pinene)، آلفا ترپینول (alpha-Terpineol)، آپی ژنین (Apigenin)، فلاوونوئید (Flavonoid) و ... بوده که علاوه بر آرومای خاص دارای خاصیت ضدمیکروبی نیز می‌باشد [١١]. این ترکیبات اغلب از طریق ایجاد سوراخ در غشای سلولی باکتری‌های گرم مثبت و تخریب غشاء خارجی (Outer membrane) باکتری‌های گرم منفی، خاصیت ضدمیکروبی خود را اعمال می‌نماید [٤].

باسیلوس سرئوس (*Bacillus cereus*) باکتری است گرم مثبت و اسپوردار که در فرآورده‌های غذایی مانند گوشت، سبزیجات، سوپ، برنج، شیر و سایر فراورده‌های لبنی توانایی تکثیر و توکسین‌زایی دارد. بین ١ الی ٢٠ درصد تمامی موارد شیوع مسمومیت‌های غذایی در جهان، به دلیل باسیلوس سرئوس بوده است [١٢]. رشد این باکتری در فرم رویشی معمولاً در محدوده دمایی ١٠ الی ٥٠ درجه سانتی‌گراد رخ می‌دهد و دمای مناسب رشد آن بین ٢٨ الی ٣٥ درجه سانتی‌گراد است. با این حال انواع سرمادوست باسیلوس سرئوس که قادر به رشد در دمای زیر ٥ درجه سانتی‌گراد هستند نیز شناسایی شده‌اند [١٤، ١٣]. اگر چه سلول‌های رویشی باسیلوس سرئوس می‌تواند به سادگی به وسیله حرارت غیرفعال شود، ولی اسپورهای آن توانایی تحمل دمایی بیشتری دارند و می‌توانند پس از رشد مجدد باعث فساد غذا شوند [١٣]. باسیلوس سرئوس می‌تواند با ایجاد دو نوع علایم استفراغی (مشابه استافیلوکوکوس اورئوس) و اسهالی (مشابه کلستریدیوم پرفرنجنس) مسمومیت غذایی حادی را در انسان ایجاد نماید [١٢]. بنابراین در این تحقیق تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس زیره سبز همراه با سایر عوامل مهارکننده رشد باکتریایی نظیر درجه حرارت و زمان نگه‌داری بر روی رشد باکتری باسیلوس سرئوس، در یک مدل غذایی (سوپ جوی تجاری) مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

تهیه گیاه، اسانس و آنالیز آن

گیاه زیره سبز از حوالی شهر تبریز در فصل تابستان جمع‌آوری شد و نام علمی گیاه توسط پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی تأیید شد. چون اسانس گیاه در مقایسه

[Downloaded from jmp.ir on 2023-12-07]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.17.3]

با عصاره یا پودر آن خاصیت ضدمیکروبی بیشتری دارد، به روش تقطیر با بخار آب از دانه‌های گیاه تهیه شد و سپس توسط دستگاه رنگ‌نگار گازی (یانگ لینگ (Youngling)/ امریکا) متصل به طیف‌سنج جرمی (/Gas Chromatography Mass Spectrophotometer (GC/MS)) (ترموکوئست فینیگان (Thermo-Quest Finnigan)/ آمریکا) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت [٤]. بدین‌منظور دستگاه ستون مویینه HP5 به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۲۵۰ میکرون و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرون مورد استفاده قرار گرفت. بدین جهت از برنامه دمایی۵۰ تا ٢٥٦ درجه سانتی‌گراد، با افزایش تدریجی ۲/۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه و در نهایت نگهداری ستون در دمای ٢٦٥ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه استفاده شد. دمای اتاقک تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و گاز حامل آن، هلیم بود که با سرعت ۱/۵ میلی‌متر بر دقیقه از لوله عبور می‌کرد. در نهایت اجزای اسانس به ترتیب زمان استخراج بر مبنای انرژی یونیزاسیون، به کمک شناساگر FID با ظرفیت الکتریکی ۷۰ الکترون ولت و دمای منبع یونیزاسیون ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد شناسایی شد.

تهیه دوز تلقیح

کشت لیوفیلیزه باسیلوس سرئوس ATCC11778 از بخش میکروب‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شد و دو مرتبه به طور متوالی در محیط براث BHI (مرک (Merck KGaA)/آلمان) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت کشت داده شد تا باکتری‌ها به حالت رویشی و فعال در بیایند. سپس کشت دوم به میزان پنج به یک با گلیسیرین استریل مخلوط و در قسمت‌های مساوی در لوله‌های میکروسانتریفیوژ اپندورف (Micro-centrifuge ependorf) استریل در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری و در طی تحقیق از آنها استفاده شد.

جهت تهیه دوز تلقیح باکتری از لوله میکروسانتریفیوژ اپندورف مرحله قبل به محیط براث BHI تلقیح و دو بار متوالی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت کشت داده شد که در مدت زمان مذکور باکتری‌ها در آن به تعداد معینی ازدیاد یافتند. سپس ارزیابی تعداد باکتری با استفاده از روش خواندن جذب نوری و همزمان با آن کشت سطحی انجام گرفت. به این ترتیب که مقادیر مختلفی از کشت مزبور به لوله‌های کووت (Cuvette) حاوی ۵ میلی‌لیتر محیط براث BHI استریل انتقال داده شد و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (شرکت میلتون روی (Milton Roy Company)/ آمریکا) در طول موج ٦٠٠ نانومتر، جذب نوری لوله‌های مذکور خوانده شد. همزمان از محتویات این لوله‌ها شمارش باکتریایی به روش کشت سطحی بر آگار BHI (مرک/آلمان) انجام شد. بدین ترتیب پس از شمارش باکتری‌ها در پلیت‌ها، لوله حاوی 10^{7} cfu/ml باکتری مشخص شد (Abs: ۰/۱۹ – ۰/۲۰) و نشان داده شد که برای تهیه این تعداد باکتری بایستی میزان ۱۳۸۵ µl از محیط کشت براث BHI ۱۸ ساعت دوم به ۵ میلی‌لیتر محیط براث BHI استریل اضافه شود [۱۲].

تهیه مدل غذایی

این مدل غذایی (سوپ جوی تجاری) حاوی جو، سیر، پیاز، نمک، روغن، مونوسدیم گلوتامات، اسید سیتریک و آرد گندم بوده، بر طبق فرمول کارخانه تهیه و در حجم ۸۰ میلی‌لیتر در فلاسک‌های استریل (زیمنس (Siemens AG)/آلمان) پخش و اتوکلاو (Autoclave) (پاراگون (Paragon)/ آمریکا) شد (۱۲۱ درجه سانتی‌گراد در ۱۵ دقیقه). بعد از سرد شدن نمونه‌های سوپ ۵ غلظت اسانس زیره سبز (صفر، ۵۰، ۱۵۰، ۳۰۰ و ٤٥٠ ppm) به آنها افزوده، سپس در این فلاسک‌ها تعداد 10^{3} cfu/ml باکتری تلقیح شد. بدین‌منظور ۸ میکرولیتر از سوسپانسیون 10^{7} cfu/ml در ۸۰ میلی‌لیتر سوپ تلقیح شد تا به دوز نهایی 10^{3} cfu/ml برسد. سپس نمونه‌های سوپ در دمای ۱۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۱ روز نگهداری شد. شمارش باکتریایی نمونه‌ها طی فواصل زمانی ۰، ۱، ۲، ۳، ٤، ٥، ٦، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸ و ۲۱ روز، به وسیله کشت سطحی بر روی آگار BHI و به

[Downloaded from jmp.ir on 2023-12-07]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.17.3]

صورت دو بار تکرار انجام گرفت. غلظت‌های به کار رفته برای اسانس و فواصل زمانی نمونه‌برداری با توجه به مطالعات پیشین مشخص شد [۱۹، ۱۶، ۱۵].

تحلیل آماری

تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس زیره سبز، دمای نگهداری و مدت زمان نگهداری بر تغییرات لگاریتم تعداد باکتری در نمونه‌های سوپ به کمک نرم‌افزار SPSS 16.0 (SPSS تحت سیستم‌عامل ویندوز) و توسط آزمون آنالیز واریانس یک طرفه آنووا (ANOVA) با حد معنی‌دار p<۰/۰۵ و آزمون ضریب همبستگی انجام گرفت. سپس اختلافات شاخص در هر گروه آزمایشی توسط آزمون توکی (Tukey) مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

اجزای مختلف اسانس زیره سبز توسط دستگاه رنگ‌نگار گازی متصل به طیف‌سنج جرمی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. بر این اساس بیشترین جزء اسانس را بنزآلدهاید (Benzaldehyde) با ۲۷/۱۸ درصد درصد تشکیل می‌داد. پس از آن فنیل پروپانول (Phenyl Propanol)، گاما ترپینن (γ-Terpinene) و بنزن متانول (Benzene Methanol) بیشترین مقدار را بین اجزای اسانس دارا بودند (جدول شماره ۱).

دمای نگهداری تأثیر معنی‌داری بر رشد باکتری باسیلوس سرئوس در نمونه‌ها داشت (p<۰/۰۱). به طوری که دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد به طور قابل ملاحظه‌ای باعث کاهش رشد باکتری نسبت به دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد شده بود.

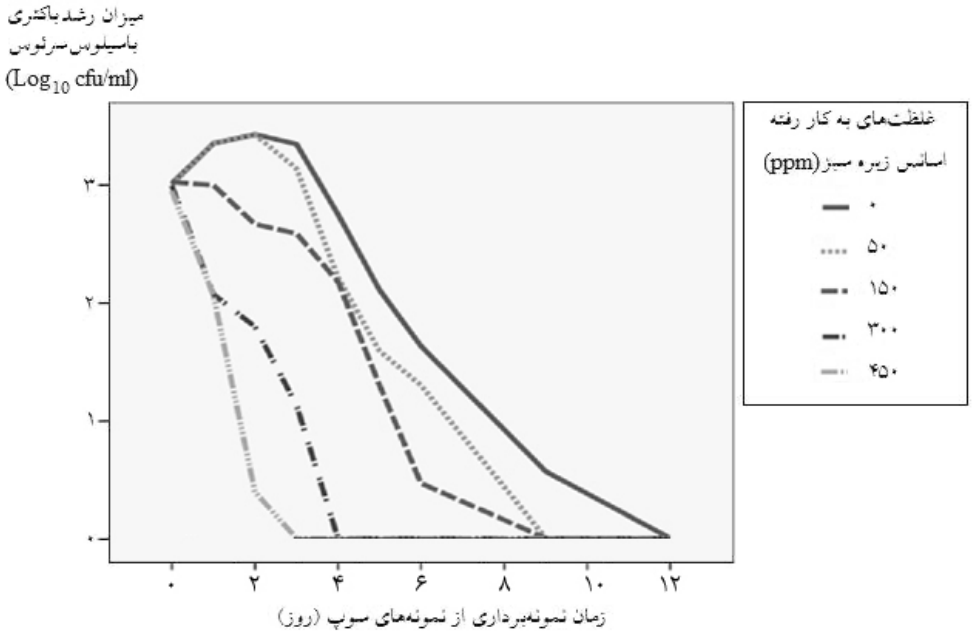
بنابراین جهت بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس زیره سبز، نمونه‌های مورد بررسی به دو گروه (نگهداری شده در ۱۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد) تقسیم شدند. نتایج حاصل از بررسی میزان رشد باکتری موردنظر در نمونه‌های مدل غذایی در نمودارهای شماره ۱ و ۲ ارایه شده است. با مقایسه روند رشد باکتری در این دو نمودار می‌توان نتیجه گرفت که اسانس زیره سبز در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد روی باکتری باسیلوس سرئوس اثر کشندگی داشته است (p<۰/۰۵). به طوری که غلظت ۳۰۰ و ۴۵۰ ppm اسانس در مدت زمان کوتاهی قادر به از بین بردن باکتری باسیلوس سرئوس می‌باشد (نمودار شماره ۱). اما در دمای نگه‌داری ۲۵ درجه سانتی‌گراد، اسانس زیره سبز روی باکتری باسیلوس سرئوس تنها اثر مهار رشد دارد. به طوری که غلظت ۴۵۰ ppm اسانس نسبت به سایر غلظت‌های اسانس به طور قابل توجهی موجب مهار رشد باکتری در نمونه‌ها شده است (نمودار شماره ۲).

جدول شماره ۱ – نتایج GC/MS اسانس زیره سبز

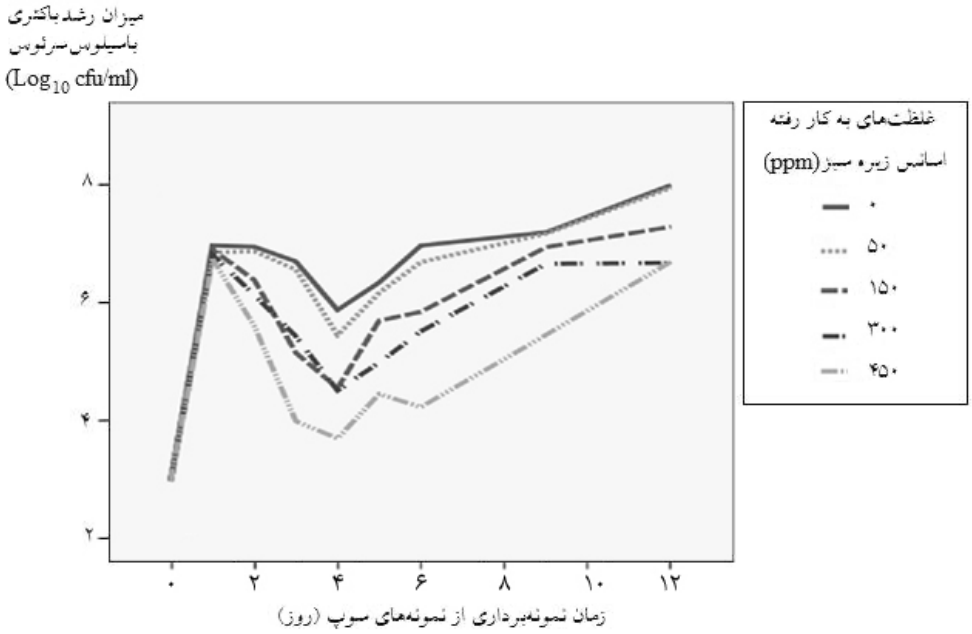
ترکیبات	زمان استخراج (دقیقه)	درصد
بتا پنین	۱۳/۰۷	۷/۱۱
۱- متیل بنزن	۱۵/۵۷	۷/۷۳
بتا فلاندرن	۱۵/۶۹	۱/۰۱
گاما ترپینن	۱۷/۳۶	۱۲/۵۶
بی سایکلو ایزوپروپیل	۲۳/۸۸	۲/۷۶
بنزآلدهاید	۲۶/۴۶	۲۷/۱۸
ایزوپروپیلایدن	۲۸/۱۱	۳/۷۷
فنیل پروپانول	۲۸/۷۴	۱۷/۵۰
بنزن متانول	۲۸/۹۹	۱۰/۸۲
اتان دیول	۲۹/۳۵	۳/۰۲
مجموع		۹۳/۴۶

[Downloaded from jmp.ir on 2023-12-07]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.17.3]



نمودار شماره ۱- مقایسه اثر غلظت‌های مختلف اسانس زیره سبز (ppm) بر تعداد باکتری باسیلوس سرئوس (Log_{10} cfu/ml) در طی مدت زمان نگه‌داری (روز) نمونه‌های سوپ در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد



نمودار شماره ۲- مقایسه اثر غلظت‌های مختلف اسانس زیره سبز (ppm) بر تعداد باکتری باسیلوس سرئوس (Log_{10} cfu/ml) در طی مدت زمان نگه‌داری (روز) نمونه‌های سوپ در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد

[Downloaded from jmp.ir on 2023-12-07]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.17.3]

ضریب همبستگی غلظت اسانس زیره سبز با لگاریتم رشد باکتری باسیلوس سرئوس در نمونه‌های سوپ نگهداری شده در دو دمای ۱۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۰/۴۷۱- و ۰/۳۸۹- بود. منفی بودن این ضریب نشان می‌دهد که با افزایش غلظت اسانس به کار رفته در نمونه‌های سوپ میزان تعداد باکتری کاهش می‌یابد و این کاهش در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد بیشتر دیده می‌شود.

همچنین تأثیر مدت زمان نگه‌داری بر روی رشد باکتری در نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. باکتری‌ها در دو سری نمونه‌های نگهداری شده در دماهای ۱۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد رفتار متفاوتی از خود نشان دادند (نمودار شماره ۱ و ۲). به طوری‌که در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد لگاریتم تعداد باکتری‌ها در نمونه‌های مورد آزمایش به مرور زمان کاهش معنی‌داری نشان داد و پس از روز دوازدهم میزان باکتری در تمامی نمونه‌ها به صفر رسید (یعنی اسانس زیره سبز روی میکروارگانیسم اثر کشندگی داشت). اما در نمونه‌های نگه‌داری شده در ۲۵ درجه سانتی‌گراد روند صعودی رشد باکتری‌ها در طی مدت زمان نگهداری آنها مشاهده شد. هر چند در بازه زمانی خاصی (روزهای ۳ و ٤) اثر مهار رشد اسانس زیره سبز روی میکروارگانیسم‌ها به خوبی قابل بررسی بود.

بحث

با توجه به رویکرد جدید سازمان‌های متولی بهداشت مواد غذایی و مصرف‌کنندگان غذا در جایگزین نمودن نگهدارنده‌های طبیعی به جای نگهدارنده‌های شیمیایی مضر، تاکنون مطالعات متعددی روی اثرات ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی مختلف صورت پذیرفته است [۱٦،۱۷،۱۸،۱۹،۲۰،۲۱،۲۲].

تحقیقات پیشین نشان داده است که اسانس‌ها می‌توانند شامل بیش از ٦۰ جزء باشند که جزء اصلی گاهی تا ۸۵ درصد اسانس را شامل می‌شود در حالی که سایر ترکیباتی که در مقادیر اندک وجود دارند، به دلیل ایجاد اثرات سینرژیستی بین سایر اجزاء نقش مهمی در ایجاد اثرات ضدمیکروبی دارند [٤].

در نتایج به دست آمده از تحلیل اسانس زیره سبز نیز ۱۰ ترکیب مورد شناسایی قرار گرفتند که همگی دارای ریشه فنلی و دارای خاصیت ضدمیکروبی می‌باشند (جدول شماره ۱). نتایج به دست آمده از تحلیل این اسانس با نتایج به دست آمده از سایر منابع مطابقت نداشت که این امر می‌تواند به دلیل فصل برداشت، سن گیاه، روش خشک کردن و منطقه جغرافیایی رشد گیاه باشد [۲٦، ۲۵، ۲٤، ۲۳، ٤، ۲]. تمامی اجزای تشکیل‌دهنده این اسانس توسط کمیسیون اروپایی جهت استفاده به عنوان طعم‌دهنده در مواد غذایی به ثبت رسیده و عنوان شده است که این طعم‌دهنده‌ها خطری برای سلامت مصرف‌کننده ندارند [٤].

اما به دلیل 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 نگهدارنده غذایی محدود می‌سازد. لذا تکنولوژی مانعی (Hurdle Technology) در بهداشت مواد غذایی، به صورت بررسی اثر ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی در غلظت‌های مختلف و توام با سایر عوامل درون اثر و برون اثر علیه میکروب‌های بیماریزای مهم غذازاد، ابتدا در محیط‌های کشت آزمایشگاهی و سپس در فراورده‌های غذایی، در قالب مطالعات تلقیحی (Inoculums Pack Study) مورد استفاده قرار می‌گیرد [۲۷]. بنابراین تأثیر سایر اسانس‌های گیاهی از جمله آویشن شیرازی، دارچین، اوژنول، کارواکرول و تیمول به همراه سایر عوامل محدودکننده رشد باکتریایی از جمله pH محیط، دما و زمان نگهداری، میزان تلقیح اولیه و اثرات سینرژیکی سایر نگه‌دارنده‌های طبیعی بر روی باکتری‌های بیماریزای غذازاد مختلفی از جمله استافیلوکوکوس، میکروکوکوس، سالمونلا، انتروباکتر و باسیلوس سرئوس در محیط کشت براث مورد بررسی قرار گرفته و با کمک این روش کم‌ترین غلظت‌های اسانس که به طور قابل توجهی باعث کاهش میزان رشد باکتری می‌شود، مشخص شده است [۱۹، ۱۸، ٤، ۱].

در یک بررسی تأثیر اسانس آویشن شیرازی به همراه مقادیر مختلفی از نگهدارنده نیسین، pH، دما و زمان نگهداری

[Downloaded from jmp.ir on 2023-12-07]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.17.3]

بر روی رشد باسیلوس سرئوس در محیط کشت براث مورد بررسی قرار گرفت و کم‌ترین غلظت‌های اسانس با بیشترین تاثیر ضدمیکروبی تعیین شد [۱٦]. همچنین فعالیت ضدباکتریایی کارواکرول به همراه اثر pH (۵/۷۵، ٦/۳ و ۷) و دما (۸ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد) بر سلول‌های رویشی سویه‌های مختلف باسیلوس سرئوس بررسی شد و نتیجه گرفته شد که در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد اسانس کارواکرول قادر به جلوگیری از رشد باکتری حتی در pH های اپتیمم آن می‌باشد [۱۸].

در تحقیق دیگری که فعالیت ضدمیکروبی ۱۱ اسانس گیاهی علیه باسیلوس سرئوس در آب‌گوشت هویج تندالیزه شده در دمای ۸ و ۱٦ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفته است، میزان ppm ۵۰ اسانس دارچین نسبت به سایر اسانس‌ها تأثیر بازدارندگی بهتری علیه باکتری باسیلوس سرئوس داشت و در نهایت در دمای نگه‌داری ۸ درجه سانتی‌گراد توانست به خوبی مانع رشد باکتری باسیلوس سرئوس در طی دوره ٦۰ روزه نگه‌داری شود [۲۸].

موسوی و آخوندزاده بستی (۲۰۰۸) تأثیر ضدمیکروبی اسانس آویشن شیرازی و نیسین را بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا تایفی موریوم در مدل غذایی سوپ جوی تجاری در دو دمای نگهداری ۱۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد در طی دوره ۲۱ روزه مورد بررسی قرار دادند و عنوان نمودند که تهیه چنین مدل غذایی جهت بررسی اثرات ضدباکتریایی اسانس‌ها می‌تواند منجر به افزایش کاربرد اسانس‌ها در صنایع غذایی شود [۱۵]. در مطالعه حاضر نیز با توجه به تحقیقات پیشین، مدل غذایی مشابهی (سوپ جو تجاری در دو دمای ۱۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد) جهت بررسی اثرات ضدمیکروبی اسانس زیره سبز مورد استفاده قرار گرفت و مشابه مطالعات قبلی مشاهده شد که تعداد باکتری در طی دوره نگهداری (۲۱ روز) در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد به طور معنی‌داری کم‌تر از دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد است [۱۵].

تاکنون خواص ضدمیکروبی اسانس زیره سبز در بررسی‌های محققین رشته‌های مختلف پزشکی و میکروبیولوژی مورد مطالعه قرار گرفته است. در مطالعه‌ای تأثیرات ضدمیکروبی این اسانس علیه انتروباکتر کلوآکه و اشریشیاکلی نشان داده شد [۲]. در تحقیق دیگری نیز تأثیر اسانس زیره سبز بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا که در اغلب عفونت‌های بیمارستانی نسبت به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم است، صورت پذیرفت. همچین اثرات آن علیه هلیکوباکتر پیلوری و سودوموناس آزمایش شد و عنوان شد که این اسانس در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد به میزان برابر و یا بیشتر از آنها و در غلظت‌های کم دارای اثرات ضدمیکروبی می‌باشد [۲٤]. در مطالعه دیگری نیز کمترین غلظت ضدمیکروبی اسانس زیره سبز علیه باکتری کلبسیلا نومونیه مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که تمامی سویه‌های مورد آزمایش به اسانس حساس بودند. همچنین مقادیر MIC و MBC اسانس مشابه هم بودند که نشان‌دهنده قدرت بالای میکروب‌کشی اسانس زیره سبز است [۲٦].

در زمینه مواد غذایی و پاتوژن‌های غذازاد مهم، مطالعات کمی بر روی این اسانس صورت گرفته است. دی (De) و همکاران (۱۹۹۹) خواص ضدمیکروبی برخی از ادویه‌های هندی را مورد بررسی قرار داده و خاصیت ضدمیکروبی زیره سبز را علیه میکروب‌های مورد آزمایش (باسیلوس سوبتیلیس، اشریشیا کلی و ساکارومایسس سرویسیه) نشان دادند و مصرف آن به عنوان نگهدارنده غذایی ضدعفونی کننده مورد تأیید قرار گرفت. در مطالعه دیگری از همین محقق (۲۰۰۳) نیز MIC اسانس زیره سبز بررسی و ترکیبات موثر آن مشخص شد و تأثیر معنی‌دار اسانس زیره سبز بر مهار رشد باکتری باسیلوس سوبتیلیس نشان داده شد. میزان MIC برای باکتری باسیلوس سرئوس برابر با ۳۸ $\mu g\ ml^{-1}$ بود که نسبت به باکتری‌های گرم منفی و استافیلوکوکوس و سودوموناس میزان قابل قبول‌تری به شمار می‌آید [۲۵]. ناناسومبات (Nanasombat) و لوهان سوپتاوی (Lohansupthawee) (۲۰۰۵) نیز اثر ۱۸ اسانس گیاهی مختلف را با روش دیسک دیفیوژن (Disk Diffusion) و MIC بر گونه‌های سالمونلا و چند گونه انتروباکتریاسه مورد بررسی قرار دادند که در این میان

[Downloaded from jmp.ir on 2023-12-07]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.17.3]

اسانس زیره سبز پس از اسانس گیاه میخک و کفیر بیشترین هاله عدم رشد را بر باکتری‌های مزبور نشان داد. همچنین اسانس زیره سبز به همراه اسانس میخک با کمترین میزان MIC (۰/۴۲ درصد) رشد گونه‌های باکتری مورد آزمایش را متوقف کردند [۲۹].

در مطالعه مسعود احمد چاودری (Masood Ahmad Chaudhry) و همکاران (۲۰۰۸) نیز اثرات ضد باکتریایی عصاره گیاهان شبکور، زیره سبز و خشخاش با روش دیسک دیفیوژن بر علیه ۱۸۸ گونه باکتریایی از جمله باسیلوس سوبتیلیس، ساکارومایسس سرویسیه و اشریشیا کلی مورد بررسی قرار گرفت که در این میان عصاره گیاه زیره سبز بیشترین تاثیر مهاری (۷۳ درصد) را بر باکتری‌ها نشان داد [۲۳].

بر اساس نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر نیز مشاهده شد که غلظت‌های ۳۰۰ و ۴۵۰ppm اسانس زیره سبز در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد موجب کاهش معنی‌دار تعداد باکتری‌ها می‌شود ($p<0/05$). پس با توجه به محدودیت در کاربرد میزان اسانس در مواد غذایی، بهترین شرایط برای نگه‌داری نمونه‌های سوپ غلظت ۳۰۰ppm و دمای نگه‌داری ۱۰ درجه سانتی‌گراد پیش‌نهاد می‌گردد.

همچنین روند رشد باکتری باسیلوس سرئوس در طی مدت نگه‌داری نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که رفتار باکتری در دو دمای نگه‌داری متفاوت است.

دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد در طی ۲۱ روز نگهداری نمونه‌ها، موجب مرگ باکتری شد. همچنین اسانس زیره سبز در این دما موجب افزایش مرگ باکتری باسیلوس سرئوس در نمونه‌های سوپ شد ($p<0/01$). به طوری که میزان باکتری باسیلوس سرئوس در نمونه فاقد اسانس پس از روز نهم و در نمونه حاوی غلظت ۴۵۰ ppm اسانس پس از روز دوم به کم‌تر از 10^2 cfu/ml تنزل یافت.

اما در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد باکتری رشد صعودی داشت و هر چند رشد باکتری در نمونه‌های دارای اسانس کم‌تر بود؛ اما وجود اسانس در دمای مزبور نتوانست در نهایت مانع از رسیدن تعداد باکتری باسیلوس سرئوس به 10^6 cfu/ml شود. بدین ترتیب می‌توان نتیجه گرفت در محدوده دمای رشد باسیلوس سرئوس (۵۵- ۵ درجه سانتی‌گراد) دماهای پایین‌تر موجب افزایش اثر ضدمیکروبی اسانس زیره سبز می‌گردد. پیش از این در مطالعه‌ای بر روی اثرات (MIC) کارواکرول بر روی سویه‌های مختلف باسیلوس سرئوس در محیط BHI در درجه حرارت‌های مختلف نیز، چنین بیان شد که میزان اثر بازدارندگی از رشد کارواکرول وابسته به سویه باکتری بوده و با کاهش درجه حرارت افزایش می‌یابد. به طوری که در مورد یکی از سویه‌های آن، میزان MIC کارواکرول در ۲۲ درجه سانتی‌گراد و ۱۹ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۰/۰۱۵ و ۰/۰۱۱ درصد بود [۲۰].

در پایان باید خاطر نشان ساخت که یافته‌های این پژوهش نشانگر اثرات ضدمیکروبی اسانس زیره سبز بر باکتری باسیلوس سرئوس در مدل غذایی سوپ تجاری است که قابل پذیرش مصرف کنندگان و سازمان‌های مسئول ملی و بین‌المللی دخیل در امر بهداشت مواد غذایی می‌باشد. بر اساس مشاهدات حاضر کاربرد غلظت ppm ۳۰۰ اسانس زیره سبز در مدل غذایی سوپ جو تجاری در دمای پایین یخچالی می‌تواند سبب افزایش ایمنی و سلامت غذا گردد. لذا اثر توام این اسانس همراه با سایر عوامل مهارکننده رشد باکتریایی، از جمله سایر نگهدارنده‌های طبیعی، می‌تواند اندیشه مصرف اسانس زیره سبز را در صنعت مواد غذایی افزایش دهد.

منابع

1. Akhondzadeh Basti A, 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.

2. Dweck AC. Natural Preservative. Peter Black Medicare Ltd. White Horse Business Park, Aintree

[Downloaded from jmp.ir on 2023-12-07]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.17.3]

Avenue, Trowbridge, Wiltshire, UK. 2003, pp: 1 - 33.

3. Cutter CN. 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.

4. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review, *International of Food Microbiol.* 2004; 4 (3): 233 - 53.

5. Balacs T. Research Reports. Antimicrobial cumin. *The International J.Aromatherapy* 1993; 5 (3): 40 - 2.

6. De M, De AK, Mukhopadhyay R, Banerjee AB, Miro YM. Antimicrobial Activity of *Cuminum cyminum* L. *Ars Pharmaceutica* 2003; 44 (3): 257 - 69.

7. Singh G, Kapoor IP, Pandey SK, Singh UK and Singh RK. Studies on essential oils: Part 10; antibacterial activity of volatile oils of some spices. *Phytother. Res*. 2002; 16 (7): 280 - 2.

8. Iacobelis NS, Lo Cantro P, Capasso F and Senatore F. Antibacterial activity of Cuminum cymnum L. and Carum carvi essential oils. *J. Agric. Food Chem.* 2005; 53 (1): 57 - 61.

9. Nostro A, Gellini L, Di Bartlomeo S, Di Campli E, Grande R, Cannatelli Ma, Marzio L and Alonzo V. Antibacterial effect of plant extracts against *Helicobacter pylori*. *Phytother. Res.* 2005; 19 (3): 198 - 202.

10. Planchon L, Bretin P and Maneau P. Precise the Material Medical. 50nd ed. Library Maloine. v. 2. Paris. 1946, pp: 1540.

11. Dorvault. Officinal repertoire general the pharmacy particle. Vigo Freres ed. Paris. 1982, pp: 413.

12. Kramer JM and Gilbert RJ. *Bacillus cereus* and other *Bacillus species*. In M. P. Doyle (ed.), Foodborne bacterial pathogens. Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y. 1989, pp: 21 - 70.

13. Dufrenne J, Soentoro P, Tatini S, Day T and Notermans S. Characteristics of *Bacillus cereus* related to safe food production. *Int. J. Food Microbiol.* 1994; 23: 99 - 109.

14. Rusul G and Yaacob NH. Prevalence of *Bacillus cereus* in selected foods and detection of enterotoxin using TECRA-VIA and BCET-RPLA. 1995; *Int. J. Food Microbiol.* 25: 131 - 9.

15. Moosavy MH, Akhondzadeh Basti A, Misaghi A, Zahraei Salehi T, Abbasifar R, Ebrahimzadeh Mousavi HA, Alipour M, Emami Razavi N, Gandomi H and 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. 2008; *Food Research International*. 41 (10): 1050 – 7.

16. Misaghi A. and Akhondzadeh Basti A. Effect of *Zataria multiflora* Boiss. Essential oil and nisin on *Bacillus cereus* ATCC 11778. *Food Control* 2007; 18 (9): 1043 - 9.

17. Skandamis P, Tsingarida E and Nychas GJE. The Effect of Oregano Essential Oil on Survival/ Death of *Salmonella thyphimurium* in Meat Stored at 5º Under Aerobic, VP/MAP Conditions. *Food Microbiol*. 2002; 19: 379 - 85.

18. Periago PM and Moezelaar R. Combined effect of nisin and carvacrol at different pH and temperature levels on the viability of different strains of *Bacillus cereus*. *International J. Food Microbiol*. 2001; 68: 141 - 8.

19. Valero M and Frances E. Synergistic bactericidal effect of carvacrol, cinnamaldehyde or thymol and refrigeration to inhibit *Bacillus cereus* in carrot broth. *Food Microbiol.* 2006; 23 (1): 68 - 73.

20. Rajkovic A, Uyttendaele M, Courtens T and Debevere J. Antimicrobial effect of nisin and carvacrol and competition between *Bacillus cereus* and *Bacillus circulans* in vacuum-packed potato

[Downloaded from jmp.ir on 2023-12-07]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.17.3]

puree. *Food Microbiol.* 2005; 22: 189 - 97.

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

22. Hsieh PC, Mau JL and Huang SH. Antimicrobial Effect of Various Combinations of Plant Extracts. *Food Microbiol*. 2001; 18: 35 - 43.

23. Masood Ahmed Chaudhry N and Tariq P. In vitro antibacterial activities of kalonji, cumin and poppy seed. 2008; *Pak. J. Bot.* 40 (1): 461 - 7.

24. Hosseini Jazani H, Zartoshti M and Shahabi S. Antibacterial effects of Iraninan *Cuminium cyminum* Essential oil on burn isolated of *Pseudomonas aeroginosa*. *International J. Pharmacol*. 2008; 4 (2): 157 - 9.

25. De M, De AK and Banerjee AB. Antimicrobial screening of some Indian spices. *Phytotherapy Res*. 1999; 13 (7): 616 - 8.

26. Derakhshan S, Sattari M and Bigdeli M. Effect of subinhibitory concentrations of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seed essential oil and alcoholic extract on the morphology, capsule expression and urease activity of *Kelebsiella pneumonia*. *International J. Antibacterial Agents*. 2008; 32: 432 - 436.

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

28. Valero M, Salmeron MC. Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth. *Int. J. Food Microbiol.* 2003; 85: 73 - 81.

29. Nanasombat S and Lohasupthawee P. Antimicrobial activity of crude ethanolic extracts and essential oils of spices against Salmonella and other Enterobacteria. *Sci. Tech. J.* 2005; 5 (3): 527 - 538.

[Downloaded from jmp.ir on 2023-12-07]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.17.3]