

## اثر ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی بر *E. coli* O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> در گوشت چرخ کرده گوساله در طی نگهداری در دمای یخچالی به منظور جایگزینی با نگهدارنده‌های شیمیایی و تامین سلامت مصرف کنندگان

\*نگین نوری<sup>۱</sup>، نوردهررکتی<sup>۲</sup>، افشین آخوندزاده بستی<sup>۳</sup>، علی میثاقی<sup>۳</sup>، آراسب دباغ مقدم<sup>۴</sup>، رامک یحیی رعیت<sup>۵</sup>، نسطونا قنبری سقرلو<sup>۱</sup>

تاریخ اعلام قبولی مقاله: ۱۳۹۱/۵/۱۴

تاریخ اعلام وصول: ۱۳۹۱/۲/۳

### چکیده

**سابقه و هدف:** امروزه مصرف کنندگان مواد غذایی آگاهی بیشتری در مورد اثرات ناخواسته نگهدارنده‌های شیمیایی دارند تاکنون در مورد اثر آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss) بر *E. coli* O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> در گوشت چرخ کرده تحقیق چندانی نشده است. این پژوهش با هدف بررسی اثر آویشن شیرازی بر رشد باکتری اشریشیاکلی انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** آویشن شیرازی جمع‌آوری شده از استان فارس به روش تقطیر با بخار داغ اسانس‌گیری و توسط دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف نگار جرمی (GC-MS) آنالیز و سپس اثر آن با غلظت‌های مختلف (صفر، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ درصد) بر رشد باکتری *E. coli* O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> در گوشت چرخ کرده در دماهای ۴، ۱۰ درجه سانتی گراد در مدت ۱۴ روز بررسی گردید. ارزیابی اثر غلظت‌های مختلف بر رشد باکتری، با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA و نرم افزار SPSS۱۶ انجام شد. **یافته‌ها:** در غلظت ۰/۰۳ درصد اثر ضد باکتریایی قوی گزارش گردید. ضریب همبستگی غلظت اسانس آویشن شیرازی با لگاریتم تعداد باکتری مورد مطالعه در دماهای ۴، ۱۰ درجه سانتی گراد به ترتیب ۰/۷۰۱- و ۰/۵۹۹- بود که نشان می‌دهد با افزایش غلظت اسانس، میزان رشد باکتری در طی دوره نگهداری کاهش می‌یابد و از نظر آماری اثر اسانس بر رشد باکتری معنی‌دار است ( $p < 0/01$ ). یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که جمعیت باکتری *E. coli* O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> در گوشت چرخ کرده تیمار شده با غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی گراد، کاهش بیشتری نسبت به نمونه‌های نگهداری شده در دمای ۱۰ درجه سانتی گراد (دمای نامناسب) داشتند.

**بحث و نتیجه‌گیری:** این مطالعه نشان می‌دهد که در بالاترین غلظت اسانس آویشن شیرازی (۰/۰۳ درصد) در ۴ درجه سانتی گراد، هرچه مدت زمان نگهداری بیشتر شود، میزان رشد باکتری کاهش می‌یابد ( $p < 0/01$ ). اسانس آویشن شیرازی به عنوان نگهدارنده طبیعی در فراورده‌های گوشتی قابل توصیه است.

**کلمات کلیدی:** اسانس، آویشن شیرازی، *E. coli* O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>، گوشت چرخ کرده، دمای یخچالی

### مقدمه

میکروارگانسیم‌های مختلف آلوده شوند و اگر شرایط حمل و

گوشت و فراورده‌های گوشتی ممکن است به آسانی به نقل و نگهداری آنها مناسب نباشد، منجر به رشد باکتری‌های مولد

۱- استادیار، ایران، تهران، دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی (\*\*نویسنده مسئول)  
تلفن: ۰۲۱-۶۱۱۱۷۰۶۷ آدرس الکترونیک: nnoori@ut.ac.ir

۲- استاد، ایران، تهران، دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی

۳- دانشیار، ایران، تهران، دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی

۴- مربی، ایران، تهران، دانشگاه علوم پزشکی آجا، گروه پزشکی اجتماعی و بهداشت

۵- استادیار، ایران، تهران، دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، گروه میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات قارچ شناسی

اهدایی توسط دکتر خاشابی از انستیتو تحقیقات میکروبیولوژی اتریش می‌باشد. در ابتدا این کشت لیوفیلیزه در محیط آبگوشت قلب و مغز (BHI) در ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت، ۲ مرتبه متوالی مورد تجدید کشت قرار گرفت. سپس کشت دوم به میزان ۵ به ۱ با گلیسرین استریل مخلوط و در قسمت‌های مساوی در لوله‌های میکروسانتریفوژ اپندرف استریل در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

تعیین میزان تلقیح باکتریایی: برای تعیین میزان تلقیح باکتریایی مورد مطالعه، باکتری منجمد داخل میکروسانتریفوژ اپندرف به محیط آبگوشت BHI منتقل گردیده و ۲ مرتبه متوالی در ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت گرمخانه گذاری شد. سپس از کشت ۱۸ ساعته دوم مقادیر مختلفی به لوله‌های کووت (Cuvett) حاوی ۵ میلی لیتر آبگوشت BHI استریل اضافه و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Milton Roy Company, USA) جذب نوری آنها در طول موج ۶۰۰ نانومتر تعیین گردید. همزمان با عمل فوق، نمونه برداری از محتویات لوله‌های کووت صورت گرفته و شمارش باکتریایی انجام شد و در نهایت لوله کووت که حاوی  $1 \times 10^8$  باکتری در هر میلی لیتر بود، مشخص گردید. بدین ترتیب در هر بار انجام آزمایش، با مشخص شدن جذب نوری معادل تقریباً  $1 \times 10^8$  باکتری در میلی لیتر که با کشت دادن سطحی نیز تایید شد، لوله کووت حاوی تقریباً  $1 \times 10^8$  باکتری در هر میلی لیتر مشخص گردید. سپس از این لوله رقت‌های ۱۰ تایی درست شده و از این رقت‌ها جهت بدست آوردن دوز تلقیح  $10^3$  در این آزمایش استفاده گردید (۶، ۷).

**تهیه و آماده سازی گوشت چرخ کرده:** ۵ کیلوگرم گوشت چرخ کرده از یک کارخانه از یک سری تولیدی نمونه گیری و به اندازه‌های ۲۵ گرمی در داخل پلاستیک‌های استریل بسته بندی شد. سپس در آزمایشگاه سازمان انرژی اتمی ایران به منظور استریل نمودن، تحت اشعه دهی گاما به میزان ۵ کیلو گری (۵ KGy) قرار گرفت و برای تایید استریل بودن، کشت میکروبی انجام شد.

**تهیه اسانس و آنالیز آن:** گیاه آویشن شیرازی در فصل تابستان از استان فارس جمع‌آوری و توسط هر بار بیوم پژوهشکده گیاهان دارویی موسسه جهاد دانشگاهی دانشگاه علوم پزشکی تهران نام علمی آن تایید گردید. اسانس از سرشاخه‌های گیاه توسط دستگاه Celevenger Type به روش تقطیر با بخار داغ تهیه و توسط

فساد و بیماری‌زا می‌شود و در نهایت کیفیت گوشت، کاهش یافته و بهداشت عمومی در معرض خطر قرار می‌گیرد (۱).

نگهداری در سردخانه، متداول‌ترین روش نگهداری گوشت و فرآورده‌های گوشتی محسوب می‌شود. در برخی از کشورها به منظور افزایش مدت زمان نگهداری گوشت و فرآورده‌های گوشتی، از مواد ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدان که اکثر اوقات سنتتیک هستند، استفاده می‌شود (۱۵). این در حالی است که امروزه مصرف کنندگان نیز آگاهی بیشتری در مورد عوارض استفاده از نگه‌دارنده‌های شیمیایی پیدا کرده‌اند و تقاضای غذاهای تازه‌تر، طبیعی‌تر و همراه با کنترل بیشتر را دارند.

مکانیسم اثر ضد باکتریایی اسانس‌های گیاهی به خاصیت آگریزی آنها بر می‌گردد که موجب نفوذ این مواد به فسفولیپیدهای غشا باکتری و میتوکندری‌ها شده و سبب اختلال در ساختمان آنها و افزایش نفوذ پذیری می‌گردد. این مسئله موجب خروج و نشت یون‌ها و دیگر محتویات سلولی شده که در نهایت مرگ باکتری را در بر خواهد داشت (۲، ۳).

تاکنون مطالعات بسیاری در زمینه اثر ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی بر میکروب‌های بیماری‌زای مواد غذایی صورت گرفته است، اما تحقیقات زیادی روی اثر ضد میکروبی آویشن شیرازی بر *E. coli O<sub>157</sub>: H<sub>7</sub>* در گوشت چرخ کرده انجام نشده است.

آویشن شیرازی یکی از گیاهان خانواده نعناع می‌باشد که بومی ایران، افغانستان و پاکستان است. از این گیاه در طب سنتی به عنوان آنتی‌سپتیک، ضد اسپاسم و ضد التهاب یاد شده است و به عنوان طعم دهنده در مواد غذایی کاربرد فراوانی دارد (۴). آویشن شیرازی دارای اثر ضد میکروبی می‌باشد که این اثر به طور عمده به ترکیبات فنلی آن مربوط است (۳).

هر چقدر مقدار مواد فنولی در اسانس بالاتر باشد، خواص ضد میکروبی آن بیشتر است. این مواد شامل کارواکرول، اوژنول و تیمول هستند (۳، ۴). استفاده از نگه‌دارنده‌های طبیعی برای مهار رشد باکتری‌های بیماری‌زای مهم مانند *E. coli O<sub>157</sub>: H<sub>7</sub>* یک ایده ارزشمند در صنعت فرآورده‌های گوشتی به منظور حفظ سلامت مصرف کنندگان به شمار می‌آید.

## مواد و روش‌ها

باکتری مورد مطالعه: سویه *E. coli O<sub>157</sub>: H<sub>7</sub>* (مولد وروتوکسین II)،

## یافته‌ها

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 (۷۱/۱۲ درصد) تشکیل دهنده اسانس، کارواکرول (Carvacrol) است. نتایج بررسی رشد *E. coli* O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> تلقیح شده (۱۰<sup>۳</sup> cfu/g) در گوشت چرخ کرده متأثر از غلظت‌های مختلف (صفر، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ درصد) اسانس یاد شده در طی ۱۴ روز نگهداری در دمای ۴، ۱۰ درجه سانتی‌گراد در جدول ۲، ۳ آمده است.

این مطالعه نشان می‌دهد که در بالاترین غلظت اسانس آویشن شیرازی (۰/۰۳ درصد) در ۴ درجه سانتی‌گراد، هرچه مدت زمان نگهداری بیشتر شود، میزان رشد باکتری کاهش می‌یابد (P<۰/۰۱). تعداد *E. coli* O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> در گروه‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف آویشن شیرازی نسبت به گروه کنترل در دمای ۴ درجه و ۱۰ درجه سانتی‌گراد اختلاف معنی‌داری داشتند (P<۰/۰۵). در غلظت ۰/۰۳ درصد آویشن شیرازی تعداد *E. coli* O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> در روز هشتم به Log ۲/۸۶ cfu/g در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد رسید که این تعداد تقریباً تا انتهای دوره نگهداری بدون تغییر ماند (P<۰/۰۱).

در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد جمعیت باکتری مورد نظر در گروه

جدول 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-Caryophyllen	۱۴۱۸	۰/۴۱
Globulol	۱۵۸۲	۲/۳۲
جمع	-	۹۱/۹۰

کروماتوگراف گازی متصل به طیف نگار جرمی (GC-MS) آنالیز گردید. دستگاه GC-MS مورد استفاده از نوع Thermoquest Finnigan با ستون موئینه به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر بابرنامه دمایی ۵۰ تا ۲۶۵ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه و نگهداری ستون در ۲۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه بود. دمای محفظه تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد، سرعت گاز هلیوم ۱/۵ میلی‌متر در دقیقه، انرژی یونیزاسیون شناسگر EI ۷۰ الکترون ولت و دمای منبع یونیزاسیون ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود.

**تلقیح باکتری و اضافه نمودن اسانس به گوشت چرخ کرده:** ۲۵ گرم گوشت چرخ کرده به همراه غلظت‌های مورد نظر اسانس آویشن شیرازی و دوز تعیین شده باکتری در داخل کیسه‌های استریل (Bag Mixer) به ابعاد ۱۹×۳۵ سانتی‌متر قرار داده شده و سپس کیسه‌های استریل در استوماکر 'Window door/porte FenetreW: Model- France، Interscience ۴۰۰vw گذاشته شده و به مدت ۲ دقیقه در دمای اتاق به منظور توزیع یکنواخت اسانس و باکتری در گوشت چرخ کرده هموزن گردید؛ سپس کیسه‌های استوماکر در بسته در دماهای ۴ و ۱۰ درجه سانتی‌گراد (به ترتیب دمای یخچالی مناسب و دمای سرد نامناسب) به مدت ۱۴ روز نگهداری و از روز صفر، هر ۲ روز یکبار تا روز ۱۴ شمارش میکروبی انجام شد.

**آنالیز میکروبی:** در زمان مورد نظر، به نمونه‌های گوشت چرخ کرده گوساله (۲۵ گرم) در کیسه‌های استوماکر در شرایط استریل ۲۲۵ میلی‌لیتر آب پیتونه ۰/۱ درصد اضافه شده و ۲ دقیقه در دمای اتاق توسط استوماکر هموزن گردید؛ سپس رقت‌های بعدی با استفاده از لوله‌های رقت حاوی آب پیتونه ۰/۱ درصد بدست آمده و در پلیت حاوی آگار قلب و مغز کشت داده شده و در ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید. لازم به ذکر است که این آزمایش در ۳ تکرار انجام و سپس نتایج در فرم‌های مربوط ثبت شد (۲۶).

ارزیابی اثر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی و دما بر رشد *E. coli* O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA انجام شد و از نرم افزار SPSS ۱۶ استفاده گردید. جهت مقایسه بین میانگین‌ها از تست Post Hoc (LSD), Tukey استفاده شد.

جدول ۲- اثر اسانس آویشن شیرازی بر رشد *E. coli* O<sub>157</sub>: H<sub>7</sub> در گوشت چرخ کرده طی ۱۴ روز نگهداری در دمای ۱۰ درجه سانتی گراد ( $P < 0.01$ )

روز	شمارش باکتریایی (Log <sup>c</sup> fu/g) <sup>A</sup>			
	کنترل	۰/۰۰۵	۰/۰۱۵	۰/۰۳
۰	۳/۰۵±۰/۰۹ <sup>a</sup>	۳/۰۳±۰/۰۵ <sup>b</sup>	۳/۰۱±۰/۰۲ <sup>c</sup>	۳/۰۳±۰/۰۵ <sup>d</sup>
۲	۴/۴۲±۰/۳۴ <sup>a</sup>	۴/۰۱±۰/۰۷ <sup>b</sup>	۳/۱۹±۰/۲۳ <sup>c</sup>	۳/۰۱±۰/۰۲ <sup>d</sup>
۴	۵/۴۲±۰/۳۳ <sup>a</sup>	۴/۴۲±۰/۲۷ <sup>b</sup>	۳/۴۶±۰/۳۲ <sup>c</sup>	۳/۱۹±۰/۲۱ <sup>d</sup>
۶	۶/۰۶±۰/۰۹ <sup>a</sup>	۵/۰۴±۰/۲۱ <sup>b</sup>	۳/۸۱±۰/۳۹ <sup>c</sup>	۳/۴۶±۰/۴۳ <sup>d</sup>
۸	۷/۲۸±۰/۵۲ <sup>a</sup>	۵/۶۹±۰/۵۱ <sup>b</sup>	۴/۴۹±۰/۴۱ <sup>c</sup>	۳/۵۵±۰/۶۷ <sup>d</sup>
۱۰	۸/۰۵±۰/۱۵ <sup>a</sup>	۶/۳۸±۰/۲۹ <sup>b</sup>	۵/۰۸±۰/۱۶ <sup>c</sup>	۳/۶۶±۰/۱۷ <sup>d</sup>
۱۲	۸/۸۳±۰/۳۵ <sup>a</sup>	۶/۸۳±۰/۳۸ <sup>b</sup>	۵/۵۵±۰/۴۱ <sup>c</sup>	۳/۶۵±۰/۸۱ <sup>d</sup>
۱۴	۹/۱۶±۰/۶۳ <sup>a</sup>	۷/۴۳±۰/۵۳ <sup>b</sup>	۵/۴۶±۰/۶۶ <sup>c</sup>	۳/۸۱±۰/۹۸ <sup>d</sup>

A میانگین ± انحراف معیار  
میانگین‌های نشان دار شده با حروف غیر یکسان در هر ردیف دارای اختلاف آماری معنی دار می‌باشند.

جدول ۳- اثر اسانس آویشن شیرازی بر رشد *E. coli* O<sub>157</sub>: H<sub>7</sub> در گوشت چرخ کرده طی ۱۴ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد ( $P < 0.01$ )

روز	شمارش باکتریایی (Log <sup>c</sup> fu/g) <sup>A</sup>			
	کنترل	۰/۰۰۵	۰/۰۱۵	۰/۰۳
۰	۳/۰۲±۰/۳۷ <sup>a</sup>	۳/۰۷±۰/۰۷ <sup>b</sup>	۳/۰۴±۰/۰۶ <sup>c</sup>	۳/۰۳±۰/۰۶ <sup>d</sup>
۲	۴/۲۳±۰/۱۲ <sup>a</sup>	۳/۷۶±۰/۲۶ <sup>b</sup>	۳/۰۷±۰/۰۷ <sup>c</sup>	۳/۰۷±۰/۰۷ <sup>d</sup>
۴	۵/۱۴±۰/۰۳ <sup>a</sup>	۴/۱۷±۰/۰۴ <sup>b</sup>	۳/۱۶±۰/۰۴ <sup>c</sup>	۳/۰۵±۰/۰۸ <sup>d</sup>
۶	۵/۳۳±۰/۰۹ <sup>a</sup>	۴/۷۸±۰/۰۶ <sup>b</sup>	۳/۴۲±۰/۱۵ <sup>c</sup>	۳/۱۲±۰/۰۶ <sup>d</sup>
۸	۶/۷۴±۰/۰۸ <sup>a</sup>	۵/۲۲±۰/۰۱ <sup>b</sup>	۴/۲۳±۰/۱۲ <sup>c</sup>	۲/۸۶±۰/۰۸ <sup>d</sup>
۱۰	۷/۸۶±۰/۰۷ <sup>a</sup>	۶/۱۴±۰/۰۷ <sup>b</sup>	۴/۸۴±۰/۰۱ <sup>c</sup>	۲/۶۲±۰/۰۱ <sup>d</sup>
۱۲	۸/۳۸±۰/۱۴ <sup>a</sup>	۶/۴۶±۰/۱۲ <sup>b</sup>	۵/۲۶±۰/۱۱ <sup>c</sup>	۲/۰۴±۰/۰۶ <sup>d</sup>
۱۴	۸/۶۲±۰/۱۲ <sup>a</sup>	۶/۸۷±۰/۰۸ <sup>b</sup>	۴/۸۷±۰/۰۷ <sup>c</sup>	۲/۰۳±۰/۰۵ <sup>d</sup>

A میانگین ± انحراف معیار  
میانگین‌های نشان دار شده با حروف غیر یکسان در هر ردیف دارای اختلاف آماری معنی دار می‌باشند.

اسانس‌های گیاهی شناخته شده. اما در سال‌های اخیر به تاثیر عصاره‌های معطر و اسانس‌های گیاهی یا مواد موثره این اسانس‌ها روی پاتوژن‌ها و میکروارگانیسم‌های عامل فساد مواد غذایی توجه ویژه‌ای شده است (۱، ۲، ۲۷).

طبق نتایج این مطالعه، غلظت ۰/۰۰۵ درصد اسانس آویشن شیرازی اثر مهارتی پایینی بر رشد باکتری داشت. همان‌طور که در مطالعات انجام شده توسط Friedman و همکاران در سال ۲۰۰۲ میلادی؛

کنترل طی دوره نگهداری سیر افزایشی داشت و در پایان دوره به ۹/۱۶ Log cfu/g رسید اما در غلظت ۰/۰۳ درصد در همین دما، جمعیت باکتری Log cfu/g ۳/۸۱ نشان داده شد که حاکی از تاثیر مثبت غلظت اسانس آویشن شیرازی است ( $P < 0.01$ ).

## بحث و نتیجه گیری

اگرچه مدت‌هاست که اثر بازدارندگی ادویه جات، عصاره‌ها و

در محیط‌های آزمایشگاهی بر ضد *E. coli* O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> ندارد. هرچند که Roller و Kisko در سال ۲۰۰۵ میلادی دریافتند که این ماده بر ضد *E. coli* O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> در آب سیب فعالیت ضد میکروبی دارد. در مطالعه حاضر، ضریب همبستگی غلظت اسانس با لگاریتم تعداد باکتری در دماهای ۴، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درجه سانتی گراد به ترتیب برابر با ۰/۷۰۱ - و ۰/۵۹۹ - بود. منفی بودن این ضریب بدین معنی است که با افزایش غلظت اسانس، میزان رشد باکتری در طی دوره نگهداری کاهش می‌یابد. همچنین نشان داده شد که تاثیر مقادیر مختلف اسانس بر میزان رشد باکتری معنی دار می‌باشد. بر اساس نتایج به دست آمده، تاثیر معنی دار اسانس بر رشد باکتری مورد مطالعه نشان داد که اثر بازدارندگی اسانس در ۴ درجه سانتی گراد به طور معنی دار افزایش پیدا کرده است که این موضوع با یافته‌های بسیاری از محققان همخوانی دارد (Blackburn - ۲۰۰۲, Fujikawa - ۲۰۰۶, Vaiero - ۲۰۰۳). در مطالعه حاضر همچنین مشخص گردید که دمای نگهداری، مدت زمان نگهداری و غلظت اسانس آویشن شیرازی بر میزان رشد باکتری تاثیر آماری معنا داری دارد). بنابراین می‌توان ادعا نمود که اسانس گیاه مورد مطالعه را می‌توان به عنوان یک نگهدارنده طبیعی و ضد باکتریایی مناسب ضد باکتری‌های گرم منفی از جمله *E. coli* O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> در گوشت و فراورده‌های گوشتی مورد استفاده قرار داد.

Marino و همکاران در سال ۱۹۹۹ میلادی و Sagdic در سال ۲۰۰۳ میلادی نشان داده شده است، اسانس‌های گیاهی اثر ضد میکروبی بر *E. coli* O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> داشته‌اند. در مطالعات متعددی گزارش شده است که اثر ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی وابسته به دوز است (Burt - ۲۰۰۳ - Sagdic ۲۰۰۴ که مطالعه حاضر نیز موید این مسئله است. Ozcan و همکاران در سال ۲۰۰۳ میلادی نشان دادند که با استفاده از روش Disc Diffusion اسانس آویشن (Thyme) در غلظت ۰/۲ درصد هیچ فعالیت ضد میکروبی بر ضد *E. coli* O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> ندارد، در حالی که در غلظت ۰/۴ درصد فعالیت زیادی دارد. Burt و همکاران در سال ۲۰۰۳ میلادی دریافتند که اسانس آویشن در غلظت‌های پایین مانند ۰/۱۲ و ۰/۲۵ درصد به ترتیب اثر باکتريواستاتیکی و باکتريوسیدی دارد. همچنین Sagdic و همکاران در سال ۲۰۰۲ میلادی گزارش کردند که اسانس آویشن در غلظت‌های ۰/۵، ۱/۵ و ۲ درصد در نوترینت براث بر *E. coli* O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> اثر باکتريوسیدی وابسته به دوز در طی نگهداری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۷ روز دارد. کارواکرول و تیمول، دو ترکیب فنلی مهم در آویشن شیرازی هستند که اثر قوی ضد میکروبی آنها توسط محققان نشان داده شده است (۱۷، ۱۱، ۱۰، ۷، ۴، ۱ و ۲۲). Gama - Tterprinene یک ترکیب هیدروکربنی مونوترپنی است که در اسانس آویشن شیرازی و Thyme وجود دارد و بر طبق یافته‌های Burt و همکاران در سال ۲۰۰۵ میلادی هیچ گونه اثر ضد میکروبی

## References

- 1- Vernozy-Rozand C, Ray-Gueniot S, Ragot C, Bavai C, Mazuy C, Montet MP, et al. Prevalence of Escherichia coli O157:H7 in industrial minced beef. *Lett Appl Microbiol* 2002; 35(1): 7-11.
- 2- Imaida K, Fukushima S, Shirai T, Ohtani M, Nakanishi K, Ito N. Promoting activities of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene on 2-stage urinary bladder carcinogenesis and inhibition of gamma-glutamyl transpeptidase-positive foci development in the liver of rats. *Carcinogenesis* 1983; 4(7): 895-9.
- 3- Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int J Food Microbiol* 2004; 94(3): 223-53.
- 4- Burt SA, Vlieland R, Haagsman HP, Veldhuizen EJ. Increase in activity of essential oil components carvacrol and thymol against Escherichia coli O157:H7 by addition of food stabilizers. *J Food Prot* 2005; 68(5): 919-26.
- 5- Nazer A, Kobilinsky A, Tholozan JL, Dubois-Brissonnet F. Combinations of food antimicrobials at low levels to inhibit the growth of Salmonella sv. Typhimurium: a synergistic effect? *Food Microbiol* 2005; 22(5): 391-8.
- 6- Hosseinzadeh H, Ramezani M, Salmani G. Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of Zataria multiflora Boiss extracts in mice and rats. *J Ethnopharmacol* 2000; 73(3): 379-85.
- 7- Bagamboula C, Uyttendaele M, 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(1): 33-42.
- 8- Betts G. Controlling O157. *Nutr Food Sci* 2000; 30(4): 183-6.

- 9- Karmali MA. Infection by verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* 1989; 2(1): 15-38.
- 10- Adams MR, Moss MO. *Food microbiology*. 2nd ed. [Mortazavi SA, Sadeghi Mahoonak AR, Trans]. Iran, Mashhad: Ferdowsi University of Mashhad Publication; 2000. [Persian]
- 11- Razavilar V, Genigeorgis C. Prediction of *Listeria* spp. growth as affected by various levels of chemicals, pH, temperature and storage time in a model broth. *Int J Food Microbiol* 1998; 40(3): 149-57.
- 12- Bouchra C, Achouri M, Idrissi Hassani LM, Hmamouchi M. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Pers: Fr. *J Ethnopharmacol* 2003; 89(1): 165-9.
- 13- Thomas LV, Ingram RE, Yu S, Delves-Broughton J. Investigation of the effectiveness of Ascopyrone P as a food preservative. *Int J Food Microbiol* 2004; 93(3): 319-23.
- 14- Ali MS, Saleem M, Akhtar F, Jahangir M, Parvez M, Ahmad VU. Three p-cymene derivatives from *Zataria multiflora*. *Phytochemistry* 1999; 52(4): 685-8.
- 15- Akgul A, Kivanc M. Inhibitory effects of selected Turkish spices and oregano components on some foodborne fungi. *Int J Food Microbiol* 1988; 6(3): 263-8.
- 16- Valero M, Giner MJ. Effects of antimicrobial components of essential oils on growth of *Bacillus cereus* INRA L2104 in and the sensory qualities of carrot broth. *Int J Food Microbiol* 2006; 106(1): 90-4.
- 17- Friedman M, Henika PR, Mandrell RE. Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*. *J Food Protect* 2002; 65(10): 1545-60.
- 18- Sağdıç O. Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. *Lwt-Food Sci Technol* 2003; 36(5): 467-73.
- 19- Burt SA, Reinders RD. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Lett Appl Microbiol* 2003; 36(3): 162-7.
- 20- Özkan G, Sağdıç O, Özcan M. Note: Inhibition of pathogenic bacteria by essential oils at different concentrations. *Food Sci Technol Int* 2003; 9(2): 85-8.
- 21- Marino M, Bersani C, Comi G. Antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus vulgaris* L. measured using a bioimpedometric method. *J Food Prot* 1999; 62(9): 1017-23.
- 22- Sağdıç O, Kuşçu A, Özcan M, Özçelik S. Effects of Turkish spice extracts at various concentrations on the growth of *Escherichia coli* O157: H7. *Food Microbiol* 2002; 19(5): 473-80.
- 23- Chami N, Chami F, Bennis S, Trouillas J, Remmal A. Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats. *Braz J Infect Dis* 2004; 8(3): 217-26.
- 24- Lopez-Malo A, Maris Alzamora S, Palou E. *Aspergillus flavus* growth in the presence of chemical preservatives and naturally occurring antimicrobial compounds. *Int J Food Microbiol* 2005; 99(2): 119-28.
- 25- Didry N, Dubreuil L, Pinkas M. Activity of thymol, carvacrol, cinnamaldehyde and eugenol on oral bacteria. *Pharm Acta Helv* 1994; 69(1): 25-8.
- 26- Periago PM, Moezelaar R. Combined effect of nisin and carvacrol at different pH and temperature levels on the viability of different strains of *Bacillus cereus*. *Int J Food Microbiol* 2001; 68(1): 141-8.
- 27- Blackburn C, McClure P. *Foodborne Pathogens: Hazards, Risk Analysis, and Control* CRC Press, Cambridge 2002.
- 28- Valero M, Salmeron MC. Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth. *Int J Food Microbiol* 2003; 85(1-2): 73-81.
- 29- Fujikawa H, Morozumi S. Modeling *Staphylococcus aureus* growth and enterotoxin production in milk. *Food Microbiol* 2006; 23(3): 260-7.

# The antimicrobial effect of *Zataria multiflora* Boiss essential oil against *E. coli* O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> in minced beef during refrigerated storage as a replacement for chemical preservatives in order to maintain the consumers health

\*Negin Noori<sup>1</sup>, Nordahr Rokni<sup>2</sup>, Afshin Akhondzade Basti<sup>3</sup>, Ali Misaghi<sup>4</sup>, Arasb Dabbagh Moghaddam<sup>5</sup>, Ramak Yahyaraeyat<sup>6</sup>, Nastona Ghanbari Sagharloo<sup>7</sup>

Received: 22 Apr 2012

Accepted: 4 Aug 2012

## Abstract

**Background:** Today, the consumers have more knowledge about the unwanted effects of synthetic antimicrobials in foods and they want food with more natural ingredients. There are many researches about antimicrobial effects of essential oils, but we did not found researches about *Zataria multiflora* Bios on *E. coli* O157:H7 in minced beef. The aim of this study was to determinre the effect of *Zataria multiflora* Bios essential oil on *E. coli* O157:H7 in minced.

**Materials and Methods:** The antimicrobial effect of different concentrations of *Zataria multiflora* Boiss essential oil at supplementation levels of (0, 0.005, 0.015, 0.03%) on *E. coli* O157:H7 was examined in minced beef. All of the above concentrations showed acceptable organoleptic properties in minced beef. Eo at 0.03% possessed a strong antibacterial activity against *E. coli* O157:H7 in minced beef.

**Results:** The correlation coefficient of different concentrations of *Zataria multiflora* Boiss essential oil with logarithm of the numbers of *E. coli* O157:H7 was  $-0.701$ ,  $-0.599$  at 4 and 10°C respectively. It was found that effect of different concentrations of essential oil on growth rate of *E. coli* O157:H7 was statistically significant ( $p < 0.01$ ).

**Conclusion:** In this study, it was found that treatment of minced beef with different concentrations of essential oils showed an inhibitory activity against *E. coli* O157:H7 during storage at 4°C, but not at 10°C ( $p < 0.01$ ). According to present study, storage at a proper refrigerated storage like 4°C is suggested. *Zataria multiflora* Bios essential oil can use as a natural preservative instead of chemical preservatives for meat products.

**Keywords:** *Zataria multiflora* Boiss, Essential Oil; *E. coli* O157:H7, Minced beef, Refrigeration Temperatures

1- (\*Corresponding Author) Assistant Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran. Tel: +982161117067 E-mail: nnoori@ut.ac.ir

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

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

4- Associated Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

5- Instructor, Department of Social Medicine and Public Health, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran

6- Assistant Professor, Mycology research center, Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

7- Instructor, Department of Social Medicine and Public Health, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran