

Antibacterial Effect of Nisin and *Satureja edmondi* Essential Oil Alone and In Combination with each other on Growth of *Staphylococcus aureus* in Hamburgers

Mohsen Ghasemi¹,
Ehsan Sadeghi²,
Shirin Moradi³,
Moein Bashiry⁴,
Reza Mohammadi⁵

¹ MSc Student in Food Science, Department of Chemical Engineering, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran

² Associate Professor, Research Center for Environmental Determinants of Health, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

³ MSc in Food Science, School of Public Health, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

⁴ Instructor, Department of Food Science and Technology, School of Public Health, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

⁵ Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, School of Public Health, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

(Received June 21, 2016 ; Accepted September 24, 2016)

Abstract

Background and purpose: Nowadays consumers are cautious about foods and are more interested in foods that are less processed. This has led to significant approaches and replacing chemical preservatives in food products by different natural components. The essential oil of *Satureja edmondi* is used as a flavoring agent and known as a pharmaceutical plant because of its antimicrobial characteristics. Nisin is also an antibacterial peptide that is widely used to inhibit microbial growth in food products. The aim of this study was to investigate the inhibitory effects of *Satureja edmondi* individually and also in combination with bacteriocin nisin on the growth of *Staphylococcus aureus* in hamburgers.

Materials and methods: Hamburger samples were inoculated with 5×10^3 CFU/g of *S. aureus*. Nisin treatment at 0.5% and essential oil of *Satureja edmondi* treatment at 0.01%, 0.02%, and 0.04% were prepared individually and in combination with nisin. The treated and control samples were packaged and kept at -12°C for 63 days. The samples were cultured on Baird–Parker Agar and the number of *S. aureus* were counted every seven days.

Results: Compared to the control group, all treatments could significantly inhibit the growth of bacteria during the storage period. Simultaneous use of nisin and essential oil of *Satureja edmondi* increased bactericidal effects too.

Conclusion: Results revealed simultaneous use of 0.5% nisin and 0.04% essential oil of *Satureja edmondi* as the best treatment that could reduce the bacterial population. Also, sensory analysis revealed that 0.04% of the essential oil was not found pleasant by testers.

Keywords: essential oil, *Satureja edmondi*, Nisin, *Staphylococcus aureus*, hamburgers

J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 26 (145): 222-233 (Persian).

بررسی اثر ضد باکتریایی نایسین و اسانس گیاه ازبوهه [مرزه پرویی] به تنهایی و توام با یکدیگر بر جمعیت استافیلوکوکوس اورئوس تلقیح شده در همبرگر

محسن قاسمی^۱
احسان صادقی^۲
شیرین مرادی^۳
معین بشیری^۴
رضا محمدی^۵

چکیده

سابقه و هدف: اهمیت تغذیه سالم و توجه روزافزون مصرف کنندگان به مواد غذایی سالم، منجر به رویکرد قابل توجه تولید کنندگان به جایگزینی نگهدارنده‌های شیمیایی با انواع طبیعی و بیولوژیک در فرآورده‌های غذایی شده است. اسانس مرزه پرویی به علت دارا بودن خاصیت ضد میکروبی به عنوان یک گیاه دارویی شناخته شده است. نایسین نیز یک پپتید ضد میکروبی است که روی طیف وسیعی از باکتری‌ها تأثیر می‌گذارد و به صورت گسترده در مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف تحقیق حاضر، بررسی استفاده از اسانس مرزه پرویی و باکتریوسین نایسین به تنهایی و توام با یکدیگر جهت مهار رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در همبرگر است.

مواد و روش‌ها: به نمونه‌های همبرگر میزان 5×10^3 CFU/g باکتری استافیلوکوکوس اورئوس تلقیح شد. تیمار نایسین در غلظت ۰/۵ درصد و تیمارهای اسانس مرزه پرویی در سه غلظت ۰/۰۱، ۰/۰۲ و ۰/۰۴ درصد به تنهایی و توام با نایسین تهیه شد. همه تیمارها و گروه شاهد بسته‌بندی و به مدت ۶۳ روز در دمای 12°C - نگهداری شدند. تعداد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس هر هفت روز یک بار توسط کشت سطحی روی محیط برد پارکر آگار شمارش شد.

یافته‌ها: تمامی تیمارها توانستند به طور معنی‌داری مانع از رشد باکتری نسبت به نمونه شاهد در طی مدت نگهداری شوند. استفاده همزمان از نایسین و اسانس مرزه پرویی باعث افزایش قدرت باکتری‌زدایی گردید.

استنتاج: بیش‌ترین میزان کاهش جمعیت باکتریایی در استفاده همزمان از نایسین ۰/۵ درصد و اسانس مرزه پرویی ۰/۰۴ درصد بود. هم‌چنین غلظت ۰/۰۴ درصد اسانس از نظر ارزیابی حسی برای تست کنندگان مطلوب نبود.

واژه‌های کلیدی: اسانس، مرزه پرویی، نایسین، استافیلوکوکوس اورئوس، همبرگر

مقدمه

همبرگر یکی از فرآورده‌های گوشتی است که به دلایل گوناگون از جمله سهولت مصرف، استفاده از گوشت با درصد‌های مختلف در ترکیب آن و طعم مطلوب، مصرف آن در حال افزایش است. با توجه به

E-mail: ehsan_vet59@yahoo.com

مؤلف مسئول: احسان صادقی - کرمانشاه: دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، مرکز تحقیقات عوامل محیطی موثر بر سلامت

۱. کارشناس ارشد صنایع غذایی، گروه مهندسی شیعی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران

۲. دانشیار، مرکز تحقیقات عوامل محیطی موثر بر سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۳. کارشناس ارشد صنایع غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۴. مربی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۵. استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۴/۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۵/۴/۱۵ تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۷/۳

مصرف بالای این ماده غذایی، توجه به ویژگی‌های مختلف آن، به خصوص کیفیت میکروبی ضروری به نظر می‌رسد (۱). از مهم‌ترین ارگانیزم‌های آلوده‌کننده همبرگر می‌توان به *استافیلوکوکوس اورئوس* اشاره نمود (۲). *استافیلوکوکوس* ها، باکتری‌های کروی و گرم مثبتی هستند که معمولاً به شکل دسته‌های منظم شبیه خوشه‌های انگور آرایش پیدا می‌کنند. این باکتری‌ها روی انواع مختلفی از محیط‌ها رشد کرده، از نظر متابولیسمی فعال بوده، کربوهیدرات‌ها را تخمیر نموده، و پیگمان‌های مختلفی از سفید تا زرد پررنگ تولید می‌نمایند. بعضی از اعضای این خانواده فلور طبیعی پوست و غشاهای مخاطی انسان هستند، برخی دیگر عامل بیماری‌هایی نظیر عفونت‌های چرکی، تشکیل آبسه و حتی سپتی سمی‌های کشنده می‌باشند. *استافیلوکوک* بیماری‌زا معمولاً خون را همولیز کرده، پلازما را لخته می‌کند و طیف وسیعی از آنزیم‌های خارج سلولی و توکسین‌ها را تولید می‌کند. شایع‌ترین نوع مسمومیت غذایی به وسیله آنروتوکسین مقاوم به حرارت *استافیلوکوک* ایجاد می‌شود (۳).

آنروتوکسین حاصل از این باکتری در همبرگر به حرارت مقاوم است به طوری که پخت معمولی، پاستوریزاسیون و خشک کردن آن را از بین نمی‌برد (۳). در پژوهشی آمار تکان‌دهنده‌ای از مسمومیت *استافیلوکوک* گزارش شد که از مجموع حدود ۲۴ میلیون مورد کل مسمومیت‌های غذایی در ایالات متحده آمریکا ۸/۹ میلیون مورد آن مربوط به مسمومیت غذایی *استافیلوکوک* است (۴). علائم مسمومیت معمولاً ۲-۴ ساعت پس از مصرف غذای آلوده بروز می‌کند و دوره کمون آن بین ۳۰ دقیقه تا ۸ ساعت گزارش شده است، علائم شامل تهوع، کرامپ شکمی است که بلافاصله با استفراغ ادامه می‌یابد.

اسهال به همراه استفراغ شروع شده و چندین ساعت ادامه می‌یابد و به ندرت خون در آن دیده می‌شود. اسهال بدون استفراغ بروز نمی‌کند و درجه حرارت بدن معمولاً کم‌تر از حد نرمال می‌رسد (۵). مطالعات نشان می‌دهد که این باکتری به شدت به اسانس‌های گیاهی

مانند *Ferulago angulate* (چویر) حساس است (۶). اسانس‌های گیاهی (essential oil) از بهترین نگهدارنده‌های طبیعی محسوب می‌شوند. در اغلب موارد تأثیر اسانس‌های گیاهی بر ساختار دیواره سلولی تأیید شده است (۷). آب‌گریزی اسانس‌ها سبب نفوذ آن‌ها در لپید غشاء سلولی و افزایش نفوذپذیری آن می‌گردد، که این امر سبب اختلال در کلیه فعالیت‌های حیاتی وابسته به غشای سلولی، خروج یون‌ها و در نهایت مرگ سلول خواهد شد (۸). اسانس‌های گیاهی را روغن‌های اتری یا فرار نیز می‌نامند. اکثر اسانس‌های گیاهی دارای اثر ضد میکروبی هستند که این اثر به طور عمده مربوط به ترکیبات فنولی آن‌هاست. اسانس‌های گیاهی و ترکیباتشان به عنوان متابولیت‌های ثانویه گیاهان هستند و خاصیت آنتی‌باکتریال آن‌ها مدتهاست که شناخته شده است و کاربردهای زیادی به عنوان طعم‌دهنده و نگهدارنده در صنایع غذایی و دارویی دارند (۹). جهت کاربردی کردن مصرف اسانس‌های گیاهی به عنوان نگهدارنده در مواد غذایی و مطالعه اثر ضد میکروبی آن‌ها، ابتدا استفاده از مدل‌های آزمایشگاهی و سپس مدل‌های غذایی مایع و جامد لازم است (۱۰). گیاه دارویی مرزه (*Lamiaceae*) از تیره نعنائیان حاوی ۵/۱ تا ۸ درصد اسانس به همراه تانن رزین و موسیلاژ است (۱۱). بررسی‌های گوناگونی بر روی تأثیرات ضد باکتریایی اسانس‌ها صورت گرفته است که از این جمله میتوان به فعالیت ضد میکروبی عصاره برگ نوروزک و اثر ضد میکروبی عصاره هیدرو الکلی آویشن شیرازی بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در همبرگر اشاره کرد (۳، ۱). که در هر دو تحقیق اسانس این گیاهان توانست جمعیت باکتریایی را به زیر حد مجاز (۱۰۰۰ کلنی در هر گرم) برساند.

Satureja edmondi از خانواده نعنائیان (*Lamiaceae*) است. در کرمانشاه ۵ گونه از جنس *Satureja* می‌روید که از این تعداد ۴ گونه، *S. bachtiarica*, *S. sedmondi*, *S. sahendica* و *S. kermanshahensis* از گونه‌های

انحصاری ایران هستند (۱۲). *Satureja edmondi* گیاهی بوته‌ای با ساقه‌های متعدد نازک و باریک، به ارتفاع ۱۵ تا ۵۰ سانتی‌متر، کمائی راست و تقریباً پیچ و تاب دار است. این گیاه ساده قهوه‌ای کم‌رنگ و با کرک‌های کوتاه پراکنده و کرک‌های کوتاه زگیل مانند غده‌دار و با برگ‌های متراکم یا تنک است (۱۳).

نایسین یک باکتریوسین است که توسط گونه‌های لاکتوکوکوس لاکتیس تولید می‌شود. سازمان خواربار و کشاورزی سازمان ملل متحد و سازمان جهانی بهداشت در سال ۱۹۶۹ استفاده از نایسین را به عنوان ماده نگهدارنده غذایی به جای مواد شیمیایی تایید کردند. نایسین به علت طبیعی و غیرسمی بودن، پایداری‌های اسیدی و قابلیت انبارداری بسیار خوب، حلالیت در pH بالا در محیط‌های آبی، قابلیت تجزیه توسط آنزیم‌های هضم‌کننده و عدم تاثیر بر فلور میکروبی روده، عدم سرطان‌زایی، تغییر ندادن بو یا طعم غذا و طیف وسیع فعالیت میکروبی به عنوان یک نگهدارنده مطلوب در مواد غذایی مطرح است (۱۴). مکانیسم ضد میکروبی آن شامل تخریب غشای سیتوپلاسمی و نشت مواد ضروری مثل ATP، اسیدهای آمینه و جریان ترکیب‌های کوچک سیتوپلاسمی می‌شود. نایسین این کار را با تشکیل منفذ در غشای سیتوپلاسمی و توقف گرادیان یون‌های حیاتی انجام می‌دهد (۱۵، ۱۶).

با توجه به مصرف بالای فراوده‌های گوشتی مانند همبرگر در کشور و هم‌چنین استقبال عمومی استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی و اهمیت حذف یا کاهش نگهدارنده‌های شیمیایی، در این مطالعه به بررسی امکان جایگزینی نگهدارنده‌های طبیعی در غلظت‌های متفاوت به جای نگهدارنده‌های شیمیایی و اثرات مهارکنندگی آن روی باکتری *استافیلوکوکوس ارونوس* پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

اسانس گیاه مرزه پرویی با نام علمی

Satureja edmondi از سرشاخه‌های گیاه مرزه در تیر ماه از منطقه چالابه کرمانشاه جمع‌آوری شد. گیاه توسط هرباریوم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه به شماره شناسایی ۷۸۳۵ شناسایی و اسانس آن با روش تقطیر با آب در مدت ۳ ساعت و با استفاده از دستگاه کلونجر که ساخت کشور ایران است، استخراج شد. اسانس توسط سولفات سدیم بدون آب، آب‌گیری و در ظرف در بسته تیره رنگ دور از نور و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

نایسین: نایسین با برند سیگما تهیه شد که به صورت پودر و حاوی ۲/۵ درصد نایسین فعال بود. برای آماده‌سازی ابتدا نایسین خالص در اسید کلریدریک ۲ درصد در میکروتیوب‌های استریل حل گردید در مرحله بعد آن را در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه در بن ماری حرارت داده شد و پس از سانتریفوژ و فیلتراسیون مایه رویی با فیلتر ۲۲ میکرون، تا زمان مصرف در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (۱۷).

شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده و مشخصات دستگاه گاز کروماتوگرافی: به منظور تجزیه کیفی و کمی اسانس مرزه پرویی، نمونه آماده شده به دستگاه کروماتوگرافی گازی توأم با طیف سنج جرمی تزریق گردید. دستگاه گاز کروماتوگراف از نوع HP-5MS، با ستون موبینه از نوع AGILENT 7890N به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر، با برنامه دمایی ستون در ابتدا ۶۰ درجه سانتی‌گراد با توقف ۴ دقیقه‌ای در این دما، سپس افزایش دما تا ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۳ درجه در هر دقیقه با توقف ۲ دقیقه‌ای، سپس افزایش دمای ستون تا ۲۲۵ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۴ درجه در دقیقه استفاده شد. دمای اتافک تزریق ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد بود و گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده گردید. طیف سنج جرمی مورد استفاده مدل 5975C، با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و شناساگر EI و دمای منبع

یونیزاسیون ۲۶۰ درجه سانتی گراد و ناحیه جرمی از ۵۰ تا ۵۵۰ بود (۱۸).

طراحی آزمایش: ارزیابی اثر غلظت‌های اسانس مرزه پرویی و نایسین روی جمعیت باکتری استافیلوکوکوس اروئوس در محیط برد پارکر آگار، در سه میزان غلظت اسانس ازبوهه ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۴ درصد، یک نمونه حاوی نایسین ۰/۵ درصد، سه نمونه ترکیبی حاوی نایسین با غلظت‌های فوق و نایسین ۰/۵ درصد و یک نمونه شاهد فاقد نایسین و اسانس بود. باکتری به مدت ۶۳ روز و در دمای ۱۲- درجه سانتی گراد ارزیابی شد.

آماده سازی باکتری استافیلوکوکوس اروئوس برای تلقیح باکتری استافیلوکوکوس اروئوس با مشخصات ATCC ۶۵۳۸ از گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه تهیه شد که ویال لیوفلیزه آن در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شده بود. نظر به این که می‌بایست 5×10^3 CFU/g باکتری به همبرگر مصرفی اضافه نمود در ابتدا این کشت لیوفلیزه در محیط tryptic Soy Broth (TSB) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد ۱۸ ساعت، حداقل ۲ مرتبه متوالی مورد کشت قرار گرفت. سپس ۰/۱ میلی لیتر از آن برداشته و به محیط plate count agar (PCA) منتقل و کشت شد. سپس یک کلنی از سطح محیط کشت PCA روی محیط کشت شیب‌دار PCA برای ذخیره‌سازی منتقل شد. کلنی توسط لوپ استریل برداشته و به محیط کشت PCA شیب‌دار به صورت عمودی منتقل شد و بعد به آرامی آن را از همان مسیر خارج و بدون اینکه نوک لوپ برداشته شود به حالت زیزاگ روی سطح شیب دار کشیده شد. بعد از انکوبه گذاری، از محیط کشت شیب دار PCA یک کلنی برداشته شد، در ۱۰ میلی لیتر آب پیتونه حل گردید و کاملاً هم زده شد سپس یک میلی لیتر از آن برداشته شد و وارد لوله آزمایش حاوی ۹ میلی لیتر پپتون واتر شد. به این ترتیب هفت رقت تهیه شد و از تمام رقت‌ها کشت تهیه گردید. بعد از این مرحله توسط دستگاه

اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر میزان طول موج هر یک از رقت‌ها خوانده و ثبت شد. هم‌زمان با عمل فوق، نمونه برداری از محتویات لوله‌های آزمایش صورت گرفت و شمارش باکتریایی انجام شد (۱۸).

تلقیح باکتری و اضافه نمودن اسانس و نایسین به همبرگر
۳ کیلوگرم همبرگر از یک کارخانه فرآورده گوشتی تهیه گردید و به صورت ۱۰۰ گرمی در داخل پلاستیک‌های استریل بسته‌بندی شد. ۱۰۰ گرم همبرگر به همراه غلظت‌های مورد نظر اسانس و نایسین و دوز تعیین شده باکتری در داخل کیسه‌های استریل در بسته گذاشته شده و به مدت ۲ دقیقه در دمای اتاق و در شرایط استریل به منظور توزیع یکنواخت اسانس و نایسین و باکتری در همبرگر هموژن گردید. سپس کیسه‌های در بسته در دمای ۱۲- درجه سانتی گراد به مدت شصت و سه روز نگهداری و از روز صفر، هر هفت روز یک بار شمارش میکروبی انجام شد.

ارزیابی رشد باکتری

حالت‌های مختلف نمونه‌های مورد مطالعه در دمای ۱۲- Surfaceplate Surfaceplate روزهای ۰، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵، ۴۲، ۴۹، ۵۶، ۶۳ از تمام حالت‌ها در شرایط استریل نمونه برداری انجام گرفت و با استفاده از ارلن‌های رقت حاوی ۴۵ میلی لیتر آب پیتونه (یک در هزار) استریل، سریال‌های رقت ۱۰ تایی تهیه گردید و در محیط برد پارکر آگار به روش سطحی (Surface plate) کشت داده شد. شمارش باکتریایی پس از گرمخانه گذاری پلیت‌ها در ۳۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت انجام گرفت و نتایج در فرم‌های مربوطه ثبت شد.

ارزیابی حسی

ارزیابی حسی توسط یک پانل ۳۰ نفره نیمه آموزش دیده با استفاده از آزمون چشایی روش هدونیک ۵ امتیازی (۱: خیلی بد، ۵: خیلی خوب) انجام شد. اعضای پانل از دانشجویان رشته صنایع غذایی

یا نایسین و یا ترکیب هر دو آن‌ها نسبت به نمونه فاقد اسانس شد. بهترین نتیجه در کاهش تعداد باکتریایی را می‌توان در غلظت ۰/۰۴ درصد اسانس مرزه پرویی و نایسین به صورت تواما با یکدیگر مشاهده کرد.

جدول شماره ۱: نتایج آنالیز اسانس آویشن شیرازی (*Satureja edmondi*) مورد مطالعه با استفاده از GC-MS

ردیف	ترکیب	Retention time	درصد
۱	M-thymol	۲۳/۱۴۹	۳۹/۶۴
۲	Gamma-terpinene	۱۱/۶۶۷	۲۵/۱۲
۳	Cymene	۱۰/۱۳۶	۱۵/۶۱
۴	Alpha-terpinene	۹/۷۳۱	۴/۲
۵	Beta-myrcene	۸/۷۰۹	۱/۶۳
۶	Thujene	۶/۳۷۲	۱/۴۷
۷	4-terpineol	۱۶/۸۷۴	۱/۳۴
۸	Trans-caryophyllene	۲۷/۷۸۶	۱/۳۱
۹	Nerolidol	۳۲/۷۶۸	۱/۱۸
۱۰	Borneol	۱۶/۳۲۹	۱/۱۳
۱۱	Alpha-pinene	۶/۵۹۸	۰/۷
۱۲	Spathulenol	۳۳/۱۷۳	۰/۴۶
۱۳	Beta-phellandrene	۱۰/۲۴۹	۰/۴۶
۱۴	Thymol acetate	۲۵/۳۶۲	۰/۴۵
۱۵	Trans-sabinene hydrate	۱۱/۹۱۸	۰/۳۸
۱۶	جمع		۹۵/۰۸

جدول شماره ۲: مقایسه میانگین تیمارها توسط آزمون Tukey HSD

شمارش باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (لگاریتم تعداد باکتری) تحت تاثیر غلظت های مختلف اسانس مرزه پرویی و نایسین در همبرگر در مدت ۶۳ روز نگهداری در دمای ۱۲ °C -

تیمار	۰	۷	۱۴	۲۱	۲۸	۳۵	۴۲	۴۹	۵۶	۶۳
C	۳/۶۹ ^a	۴/۸۷ ^a	۴/۹۷ ^a	۴/۳۶ ^a	۴/۰۶ ^a	۳/۸ ^a	۳/۴ ^a	۳/۱ ^a	۳ ^a	۲/۸ ^a
N	۳/۶۹ ^a	۴/۵ ^b	۴/۱ ^b	۳/۹ ^b	۳/۶ ^b	۳/۲ ^b	۲/۸ ^b	۲/۸ ^b	۲/۶ ^b	۲/۵ ^b
E1	۳/۶۹ ^a	۴/۶ ^c	۴/۴ ^c	۴/۲ ^c	۳/۸ ^c	۳/۶ ^c	۳/۲ ^c	۲/۹ ^c	۲/۸ ^c	۲/۵ ^b
E2	۳/۶۹ ^a	۴/۴ ^d	۴/۱ ^d	۴ ^d	۳/۵ ^d	۲/۹ ^d	۲/۸ ^d	۲/۵ ^d	۲/۳ ^d	۲/۱ ^d
E3	۳/۶۹ ^a	۴ ^e	۳/۶ ^e	۳/۴ ^e	۳/۱ ^e	۲/۸ ^e	۲/۴ ^e	۲/۲ ^e	۱/۹ ^e	۱/۶ ^e
E1N	۳/۶۹ ^a	۴/۳ ^f	۳/۸ ^f	۳/۶ ^f	۳/۴ ^f	۳/۰ ^f	۲/۶ ^f	۲/۵ ^d	۲/۴ ^f	۲/۳ ^f
E2N	۳/۶۹ ^a	۴/۲ ^g	۳/۶ ^g	۳/۴ ^g	۳ ^g	۲/۴ ^g	۲/۱ ^g	۲/۰ ^g	۱/۹ ^e	۱/۸ ^g
E3N	۳/۶۹ ^a	۳/۹ ^e	۳/۱ ^h	۲/۸ ^h	۲/۶ ^h	۱/۸ ^h	۱/۴ ^h	۱/۲ ^h	۱/۱ ^h	۰/۹ ^h

C: همبرگر آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس،

E1: همبرگر آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس + ۰/۰۱ درصد اسانس

E2: همبرگر آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس + ۰/۰۲ درصد اسانس،

E3: همبرگر آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس + ۰/۰۴ درصد اسانس

N: همبرگر آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس + ۰/۵ درصد نایسین،

NE1: همبرگر آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس + ۰/۰۱ درصد اسانس + ۰/۵ درصد نایسین

NE2: همبرگر آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس + ۰/۰۲ درصد اسانس + ۰/۵ درصد نایسین

NE3: همبرگر آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس + ۰/۰۴ درصد اسانس + ۰/۵ درصد نایسین

تیمارها با حروف مشابه در هر ستون به معنای عدم اختلاف معنی دار، در سطح احتمال ۵ درصد است.

دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه انتخاب گردید و معیارهایی شامل طعم، بو و مقبولیت کلی مورد بررسی قرار گرفت.

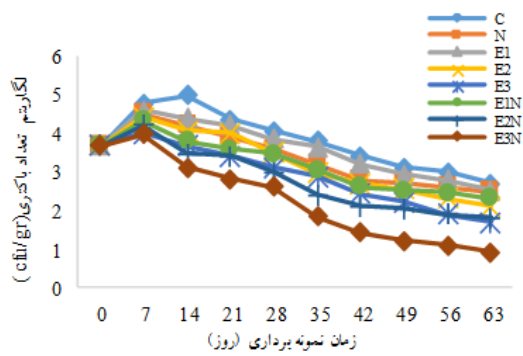
تجزیه و تحلیل آماری

به منظور آنالیز آماری داده‌ها نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ استفاده شد و مقدار P کم‌تر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار لحاظ شد. در این پژوهش از آزمون paired samples test برای سنجش معنی داری اثر زمان در تک تک گروه‌های آزمون استفاده شد. هم‌چنین آزمون one way anova و آزمون تعقیبی Tukey HSD به منظور بررسی معناداری در غلظت‌های مختلف نسبت به نمونه شاهد و نسبت به یکدیگر استفاده شد.

یافته‌ها

نتیجه آنالیز ترکیبات اسانس مرزه پرویی مورد استفاده در این مطالعه با استفاده از دستگاه GC/MS در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود از بین ترکیبات شناسایی شده، M-thymol با ۳۹/۶۴ درصد، Gamma terpinene با ۲۵/۱۲ درصد و Cymene با ۱۵/۶۱ درصد مهم‌ترین ترکیبات اسانس مرزه پرویی را تشکیل می‌دهند.

در جدول شماره ۲ مقایسه میانگین بین سطوح مختلف فاکتور غلظت به روش آزمون Tukey HSD نشان داده شده است در این جدول غلظت‌های مختلف با هم بررسی و میزان معنی دار بودن اختلاف آن‌ها نشان داده شده است. در روز صفر اختلاف میانگین معنی داری بین غلظت‌های مختلف اسانس مشاهده نشد به عبارتی در روز تلقیح، غلظت اسانس و نایسین تاثیری بر کاهش جمعیت باکتریایی ندارد. اما در سایر روزهای مورد بررسی بین غلظت‌های مختلف، اختلاف میانگین معنی داری مشاهده شد. به طوری که تمامی غلظت‌های به کار رفته موجب کاهش معنادار در تعداد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس در نمونه‌های دارای اسانس و



نمودار شماره ۱: میانگین لگاریتم رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس تحت تاثیر تیمارهای مختلف در روزهای مختلف نمونه برداری

جدول شماره ۴: مقایسه فاکتورهای طعم، عطر و مقبولیت کلی

مقبولیت کلی	عطر	طعم	غلظت اسانس (درصد)
۳ ^a	۳ ^a	۳ ^a	C
۲/۹±۰/۴ ^a	۳ ^a	۳ ^a	N
۳/۸±۰/۶ ^{ab}	۳/۸±۰/۴ ^a	۴/۵±۰/۷ ^b	E1
۴/۴±۰/۶ ^b	۴/۵±۰/۷ ^b	۴±۰/۸ ^b	E2
۱/۳±۰/۸ ^c	۲±۰/۴ ^c	۱/۲±۰/۳ ^d	E3
۳/۵±۰/۸ ^{ab}	۳/۵±۰/۴ ^a	۴/۲±۰/۳ ^b	E1N
۴/۱±۰/۱ ^b	۴/۸±۰/۲ ^b	۳/۹±۰/۷ ^b	E2N
۱/۱±۰/۹ ^c	۱/۹±۰/۵ ^c	۱±۰/۵ ^d	E3N

تیمارها با حروف مشابه در هر ستون به معنای عدم اختلاف معنی دار، در سطح احتمال ۵ درصد است.

بحث

نتایج به دست آمده از این پژوهش حاکی از تاثیر معنی دار اسانس مرزه پرویی و نایسین به تنهایی و تواما با یکدیگر در تمامی غلظت‌های به کار رفته بر ضد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس است. به علاوه نتایج حاصل از ارزیابی حسی نشان داد که با افزایش غلظت اسانس، میزان پذیرش کلی محصول نهایی کاهش یافت و نمی توان در غلظت‌های بالا از این اسانس در همبرگر استفاده کرد. مطالعات زیادی در رابطه با تاثیر اسانس‌های روغنی مختلف در ماتریکس‌های مختلف غذایی به منظور بررسی اثرات ضد میکروبی و ضد اکسیدانی آنها صورت گرفته است که تا حدودی با نتایج کار ما هماهنگی دارد. در این میان می توان به مطالعات Rezaei و همکاران (۱۳۹۰) اشاره کرد که در تحقیقی

هم چنین مقایسه میانگین روزهای نمونه برداری به روش آزمون paired sample test در جدول شماره ۳ در سطح احتمال ۵ درصد نشان داده شده است. در این جدول روزهای مختلف نمونه برداری با هم بررسی و میزان معنی دار بودن اختلاف آن‌ها نشان داده شده است. نتایج نشان داد در کلیه جفت روزها اختلاف معنی دار وجود دارد.

نمودار شماره ۱ نیز میانگین لگاریتم رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس تحت تاثیر تیمارهای مختلف در روزهای مختلف نمونه برداری را نشان می دهد. از روی نمودار شماره ۱ این گونه استنباط می شود که اثرات ضد باکتریایی نایسین در شرایط نگهداری رایج در مورد همبرگر با گذشت زمان کاهش پیدا می کند به صورتی که در این پژوهش از روز ۴۲ به بعد کاهش محسوسی در روند باکتری زدایی نمونه‌های حاوی نایسین ۰/۵ درصد مشاهده شد.

جدول شماره ۴ مقایسه میانگین نتایج ارزیابی حسی فاکتورهای طعم، بو و پذیرش کلی بین تیمارهای مختلف را نشان می دهد. در مقایسه نتایج به دست آمده اختلاف معنی داری در ارزیابی حسی نمونه حاوی نایسین و نمونه کنترل مشاهده نشد و از نظر تست کنندگان هیچ گونه اختلافی در عطر، طعم، و مقبولیت کلی این دو نمونه وجود نداشت. هم چنین نتایج مشخص کرد که بهترین تیمار از نظر ارزیاب‌ها تیمار با اسانس ۰/۰۲ درصد بود.

جدول شماره ۳: مقایسه تغییرات شمارش باکتریایی نسبت به روزهای مختلف نمونه برداری توسط آزمون paired sample test

لگاریتم تعداد باکتری در روزهای مختلف	E3N	E2N	E1N	E3	E2	E1	N	C
۰	۳/۶۹ ^a	۳/۶۹ ^a	۳/۶۹ ^a	۳/۶۹ ^a	۳/۶۹ ^a	۳/۶۹ ^a	۳/۶۹ ^a	۳/۶۹ ^a
۷	۲/۳۹ ^b	۲/۳۹ ^b	۲/۳۹ ^b	۲/۳۹ ^b	۲/۳۹ ^b	۲/۳۹ ^b	۲/۳۹ ^b	۲/۳۹ ^b
۱۴	۳/۱ ^c	۳/۱ ^c	۳/۱ ^c	۳/۱ ^c	۳/۱ ^c	۳/۱ ^c	۳/۱ ^c	۳/۱ ^c
۲۱	۳/۸۱ ^d	۳/۸۱ ^d	۳/۸۱ ^d	۳/۸۱ ^d	۳/۸۱ ^d	۳/۸۱ ^d	۳/۸۱ ^d	۳/۸۱ ^d
۲۸	۲/۶۲ ^e	۲/۶۲ ^e	۲/۶۲ ^e	۲/۶۲ ^e	۲/۶۲ ^e	۲/۶۲ ^e	۲/۶۲ ^e	۲/۶۲ ^e
۳۵	۱/۸۴ ^f	۱/۸۴ ^f	۱/۸۴ ^f	۱/۸۴ ^f	۱/۸۴ ^f	۱/۸۴ ^f	۱/۸۴ ^f	۱/۸۴ ^f
۴۲	۱/۴۴ ^g	۱/۴۴ ^g	۱/۴۴ ^g	۱/۴۴ ^g	۱/۴۴ ^g	۱/۴۴ ^g	۱/۴۴ ^g	۱/۴۴ ^g
۴۹	۱/۲۱ ^h	۱/۲۱ ^h	۱/۲۱ ^h	۱/۲۱ ^h	۱/۲۱ ^h	۱/۲۱ ^h	۱/۲۱ ^h	۱/۲۱ ^h
۵۶	۱/۱ ⁱ	۱/۱ ⁱ	۱/۱ ⁱ	۱/۱ ⁱ	۱/۱ ⁱ	۱/۱ ⁱ	۱/۱ ⁱ	۱/۱ ⁱ
۶۳	۰/۸۲ ^j	۰/۸۲ ^j	۰/۸۲ ^j	۰/۸۲ ^j	۰/۸۲ ^j	۰/۸۲ ^j	۰/۸۲ ^j	۰/۸۲ ^j

تیمارها با حروف مشابه در هر ستون به معنای عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

Rahnama و همکاران (۲۰۱۴) در تحقیق دیگری که روی تاثیر اسانس گیاه آویشن شیرازی و نایسین به تنهایی و ترکیبی با یکدیگر علیه لیستریا مونوسیتوزنر در آبگوشت قلب- مغز داشتند به این نتیجه رسیدند که اسانس آویشن شیرازی با غلظت ۶۰۰ میکروگرم در میلی لیتر به تنهایی دارای اثرات ضد میکروبی بود و این اثر به وضوح در همراهی با نایسین با غلظت ۲/۵ میکروگرم در میلی لیتر افزایش یافت (۲۱). نتایج این پژوهشگران با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. در یک مطالعه دیگر Mahmodi و همکاران اثرات اسانس پونه را بر استافیلوکوکوس اورئوس سنجیدند که در طی نتایج حاصل از آن میزان رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در طی مراحل مختلف تولید و نگهداری پنیر تحت اثر غلظت‌های مختلف اسانس پونه کوهی و باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی در بهترین حالت از نظر ممانعت رشد استافیلوکوکوس اورئوس بود و هم‌چنین از نظر ارزیابی حسی، خواص طعمی مطلوب ۰/۱۵ درصد بوده است. به علاوه مشخص شد که افزایش غلظت اسانس به طور معناداری در کاهش تعداد استافیلوکوکوس اورئوس موثر بوده است (۲۲). نتایج مهارکنندگی اسانس به کار رفته در این پژوهش با نتایج مطالعه ما نیز همخوانی داشت. Darderafshi و همکاران (۱۳۹۲) در طی پژوهشی که روی اسانس گیاه چویر در پنیر سفید ایرانی انجام دادند غلظت‌های ۰/۰۳ و ۰/۱۵ و ۰/۰۷۵ درصد را مورد بررسی قرار دادند که غلظت‌های ۰/۰۳ و ۰/۱۵ درصد به طور معنی‌داری مانع از رشد باکتری در طی مدت نگهداری شد که تاییدی بر خواص ضد میکروبی اسانس به کار رفته بود اما در غلظت ۰/۰۷۵ درصد تاثیر معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج ارزیابی حسی نشان داد که طعم مطلوب در محصول با غلظت ۰/۱۵ درصد به دست آمد (۲۳). Parsaeimehr و همکارانش (۱۳۸۸) در تحقیق بر روی تاثیر اسانس آویشن شیرازی بر روی تولید انترتوکسین باکتری استافیلوکوکوس اورئوس دریافتند که می‌توان

تاثیر نایسین و اسانس آویشن شیرازی را به تنهایی و توأم با یکدیگر بر جمعیت لیستریا مونوسیتوزنر در گوشت چرخ کرده گاو سنجیدند. نتایج مطالعه حاکی از آن بود که نایسین در دو غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ IU/g به تنهایی نتوانست تعداد باکتری‌های لیستریا مونوسیتوزنر را به زیر حد مجاز برای افراد سالم (۱۰۰ سلول در هر گرم ماده غذایی خام) برساند.

هم‌چنین با گذشت زمان از خاصیت مهارکنندگی نایسین علیه رشد لیستریا مونوسیتوزنر کاسته شد. در حالی که استفاده هم‌زمان از نایسین و اسانس آویشن در دو غلظت ۰/۸ و ۱/۲ درصد موجب کاهش تعداد این باکتری به زیر حد مجاز در طول ۱۲ روز دوره آزمایش شد. کاهش فعالیت ضد باکتریایی نایسین در طول زمان احتمالاً به دلیل ترکیب شدن نایسین با پروتئین و چربی غذا، بروز مقاومت میکروبی و یا به خاطر فعالیت آنزیم‌های موجود در گوشت بود. یافته‌های این محققان با نتایج مطالعه حاضر که نشان‌دهنده کاهش فعالیت نایسین با گذشت زمان و هم‌چنین افزایش قدرت باکتری‌کشی در ترکیب با اسانس بود مطابقت دارد (۱۹).

Solomakos و همکاران (۲۰۰۸) نیز در مطالعه‌ای مشابه تاثیر اسانس آویشن و نایسین و ترکیب هر دو را علیه لیستریا مونوسیتوزنر در گوشت چرخ کرده گاو در یخچال سنجیدند. اسانس در سه غلظت ۰/۰۳، ۰/۰۶، ۰/۰۹ درصد و نایسین در غلظت‌های ۵۰۰ IU و ۱۰۰۰ IU مورد بررسی قرار گرفت. در این بین غلظت ۰/۰۳ اسانس خواص ضد باکتریایی ضعیف و غلظت ۰/۰۹ از نظر خواص حسی در گوشت غیر قابل قبول بود. بنابراین تنها سطح قابل بررسی غلظت ۰/۰۶ اسانس بود. کاهش جمعیت باکتریایی در هر دو غلظت ۵۰۰ IU و ۱۰۰۰ IU نایسین نیز کاملاً معنی‌دار بود. هم‌چنین ترکیب اسانس و نایسین کاملاً دارای اثرات سینرژیستی بود و بهترین تیمار، تیمار با غلظت ۰/۰۶ اسانس و ۱۰۰۰ IU نایسین بود (۲۰). که نتایجی همانند مطالعه ما داشتند.

اشرشیاکلی O157:H7، شیگلا دیسانتری، باسیلوس سرئوس و استافیلوکوک اورئوس در سطوح بین ۰ و ۲ و ۱۰ μl/ml بررسی شده است که بر باکتری‌های گرم مثبت بیش‌تر از گرم منفی‌ها تأثیر داشته‌اند (۲۶).

در تحقیقی Teimori (۲۰۰۹) نشان داد مهمترین ترکیبات گیاه مرزه، کارواکرول و تیمول هستند و با توجه به خواص ضد میکروبی ترکیبات فنولی تیمول و کارواکرول، اثرات ضد میکروبی اسانس را علیه چهار باکتری گرم مثبت که یکی از آن‌ها/استافیلوکوکوس اورئوس بود و سه باکتری گرم منفی مورد بررسی قرار داد. نتایج نشان داد که اسانس گیاه موردنظر دارای اثر ضد باکتریایی با درجات متفاوت علیه سویه‌های باکتری است (۲۷).

Tassou و همکاران (۲۰۰۰) اثر ممانعت‌کنندگی اسانس نعناع را روی رشد سالمونلا انتریتیدیس و استافیلوکوکوس اورئوس در محیط برات مغذی با استفاده از روش‌های اندازه‌گیری هدایت الکتریکی و شمارش باکتری‌های زنده مورد بررسی قرار دادند و نشان داده شد که غلظت ۱ درصد اسانس سبب کاهش حدود ۶-۷ سیکل لگاریتمی در تعداد استافیلوکوکوس اورئوس و کاهش ۳ سیکل لگاریتمی در تعداد سالمونلا انتریتیدیس می‌شود. همچنین نشان داده شد که اثر ممانعت‌کنندگی اسانس متأثر از دمای نگهداری (انکوباسیون) و نیز غلظت اسانس است (۲۸).

Govaris و همکاران در سال ۲۰۱۰، اثر نایسن ۵۰۰IU و ۱۰۰۰IU، پونه ۰/۰۶ و ۰/۰۹، و ترکیب آن‌ها را بر جمعیت سالمونلا انتریتیدیس تلقیح شده در گوشت چرخ شده گوسفند در دو دمای ۴ و ۱۰ درجه سانتی‌گراد سنجیدند. آنالیز ترکیبی اسانس پونه کوهی، شامل کارواکرول فنول (۸۰/۱۵ درصد) و تیمول (۴/۸۲ درصد) بود. هم‌چنین مشخص شد که نایسن در غلظت ۵۰۰ IU/g و ۱۰۰۰IU/g تأثیر ثابت و یکسانی روی جمعیت باکتریایی داشت و ترکیب اسانس با غلظت ۰/۰۶ درصد و نایسن با غلظت ۱۰۰۰ IU/g بیش‌ترین تأثیر را در

از اسانس آویشن شیرازی به عنوان مهارکننده انترتوکسین استافیلوکوکوس اورئوس در صنایع غذایی استفاده کرد. در این تحقیق اسانس در سه غلظت ۰/۰۵، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ در ۴۵ روز ارزیابی شد و سنجش انترتوکسین توسط کیت صورت گرفت که اسانس آویشن در غلظت ۰/۰۳ درصد به‌طور کامل از رشد باکتری جلوگیری نمود. غلظت ۰/۰۰۵ درصد هیچ‌گونه اثر مهاری روی تولید انترتوکسین استافیلوکوکوس اورئوس نداشت اما با افزایش غلظت اسانس اثر مهاری معناداری مشاهده شد ($p < 0/05$) (۲۴). نتایج این تحقیق حاکی از مفید بودن استفاده از اسانس‌های روغنی در مهار رشد میکروارگانیسم‌های پاتوژن بود که با نتایج آزمایشات ما نیز هماهنگ بود.

Sharafati Chaleshtori و همکاران (۱۳۹۱) در تحقیقی نشان دادند عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی در دو غلظت ۰/۵ و ۱/۵ درصد موجب کاهش باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در همبرگر نسبت به نمونه کنترل شد که با نتایج حاضر مطابقت دارد. اما بین تیمارها اختلاف معناداری مشاهده نشد (۲۵). Yaghoubzadeh و همکارش در تحقیقی تأثیر ضد باکتریایی اسانس گیاه آویشن شیرازی را روی دو باکتری لیستریا مونوسیتوژنز و اشرشیاکلی در ماهی فیتوفاک سنجدید. نتایج نشان داد غلظت ۱/۲ درصد آویشن دارای اثرات مهارکننده بیش‌تری نسبت به غلظت ۰/۸ درصد بود هم‌چنین تأثیر ضد میکروبی اسانس بر اشرشیاکلی بهتر از لیستریا و اثر فوق به صورت باکتری‌کشی بود به‌طوری که در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت هیچ‌گونه رشدی از اشرشیاکلی مشاهده نشد که با مطالعه حاضر مطابقت دارد. تأثیر غلظت‌های مورد استفاده آویشن بر لیستریا مونوسیتوژنز به صورت اثر بازدارندگی بوده است (۳).

Burt (۲۰۰۴) نیز خواص آنتی باکتریال اسانس‌های گیاهی و پتانسیل استفاده آن‌ها در مواد غذایی را مرور نموده است. فعالیت ضد میکروبی این اسانس‌ها علیه باکتری‌های لیستریا مونوسیتوژنز، سالمونلا تیفسی موریموم،

با گذشت زمان افزایش یافت اما با اضافه کردن نایسین این افزایش رشد آهسته تر شد و در غلظت ۵۰۰ IU/ml نایسین کاهش $\log 1/5$ در جمعیت باکتریایی مشاهده شد (۳۱).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که اسانس مرزه پرویی دارای اثرات کشنده روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* است. این اثرات باکتری کشی قوی علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* در همبرگر احتمالاً به دلیل تیمول و آلفا ترپینن و سیمین فراوان موجود در اسانس مرزه پرویی است. مطالعات در محیط آزمایشگاهی فعالیت ضدباکتریایی اسانس مرزه پرویی علیه باکتری های گرم مثبت از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس* را به ترکیبات فنولی موجود نسبت می دهند. هم چنین اثرات باکتری کشی اسانس مذکور در کنار خواص نگهدارندگی نایسین به وضوح افزایش می یابد.

سپاسگزاری

نگارندگان بر خود لازم می دانند بدینوسیله از کمک های بی شائبه خانم دکتر نسترن جلیلیان معاون محترم هرباریوم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه جهت همکاری و شناسایی نام و گونه گیاه *Satureja edmondi* کمال تشکر و قدردانی را داشته باشند.

باکتری زدایی داشت. به علاوه کاهش جمعیت باکتریایی در دمای ۱۰ درجه سانتی گراد نسبت به ۴ درجه سانتی گراد بیش تر بود. نتایج ارزیابی حسی نشان داد هر دو غلظت ۰/۰۶ و ۰/۰۹ از نظر ارزیابی حسی قابل قبول بودند و نتایج حاصل از ارزیابی حسی نایسین در این پژوهش با نتایج حاصل از پژوهش حاضر مطابقت دارد (۲۹).

Fazlara و همکاران در ۱۳۸۸ آثار اسانس زیره سبز و باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس *اسیدوفیلوس* را بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در پنیر سفید ایرانی بررسی نمودند. اسانس به تنهایی و پروبیوتیک به تنهایی اثرات معنی داری نسبت به شاهد داشتند و نیز اسانس و پروبیوتیک اثر سینرژیستی را در حالت های مختلف نشان دادند. اسانس مورد نظر در غلظت ۰/۰۳ درصد بالاترین تأثیر را بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* داشت. ترکیب ماده غذایی مورد آزمایش با استارتر و پروبیوتیک به میزان هر کدام ۰/۵ درصد به طور معنی داری مانع رسیدن تعداد این باکتری ها به دوز مسمومیت زا شد (۳۰).

Felicio و همکاران تأثیر نایسین را بر جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* و خواص فیزیولوژیکی پنیر سنجدند. دوز تلقیح 5×10^5 cfu/ml بود و نایسین در غلظت های ۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ IU/ml بکار گرفته شد دمای ذخیره سازی ۴ درجه سانتی گراد بود. نتایج نشان داد جمعیت باکتری های *استافیلوکوکوس اورئوس*

References

1. Yousefli M, Hosseini Z, Haddad Khodaparast M, Azarnivand H, Pezeshki P. Antimicrobial effect of *Salvia leriifolia* leaf extract powder against the growth of *Staphylococcus aureus* in hamburger. *Iranian Journal of Food Science and Technology* 2011; 8(29): 126-136 (Persian).
2. Sadeghi E, Hashemian AH, Soltanian M, Soltanian S, Mohammadi M. Study of nitrite and nitrate levels in meat products distributed in kermanshah. *Iran Occupational Health* 2014; 11(6): 94-100 (Persian).
3. Yaghoobzadeh Z, Safari R. Effect of Boiss *Zataria Multiflora* Essential Oil on *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* Inoculated into Ground Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *J Mazandaran Univ Med Sci* 2015; 24(120): 100-107 (Persian).
4. Pauli A. Antimicrobial properties of essential oil constituents. *International Journal of Aromatherapy* 2001; 11(3): 126-133.

5. Jay JM, Loessner MJ, Golden DA. Modern food microbiology, 7th ed. New York: Springer Science & Business Media; 2006.
6. Sadeghi E, Mahtabani A, Etminan A, Karami F. Stabilization of soybean oil during accelerated storage by essential oil of *Ferulago angulata* Boiss. *J Food Sci Technol* 2016; 53(2): 1199-1204.
7. Knobloch K, Pauli A, Iberl B, Weigand H, Weis N. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oil Components. *Journal of Essential Oil Research* 1989; 1(3): 119-128.
8. Smith-Palmer A, Stewart J, Fyfe L. The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiol* 2001; 18(4): 463-470.
9. Sadeghi E, Karami F, Etminan A. The Effect of *Ferulago angulata* (Schlecht) Boiss Essential Oil on Stabilization of Sunflower Oil During Accelerated Storage. *J Food Process Pres* 2016; DOI 10.1007/s13197-015-2078-7.
10. Solomakos N, Govaris A, Koidis P, Botsoglou N. The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin and their combination against *Escherichia coli* O157: H7 in minced beef during refrigerated storage. *Meat Sci* 2008; 80(2): 159-166.
11. Yazdanpanah L, Aminaii M, Panahi B, Emamifar M, Mahdian M. Effect of antifungal essential oil from *Satureja hortensis* on *Alternaria citri*. *Plant Products Technology* 2011; 10(2): 83-90 (Persian).
12. Sefidkon F, Jamzad Z. Essential oil analysis of Iranian *Satureja edmondi* and *S. isophylla*. *Flavour Frag J* 2006; 21(2): 230-233.
13. Jamzad Z. A new species of *satureja* (lamiaceae) from iran. *Iran Journ Bot* 2010; 16(2): 213-217.
14. Krivorotova T, Cirkovas A, Maciulyte S, Staneviciene R, Budriene S, Serviene E, et al. Nisin-loaded pectin nanoparticles for food preservation. *Food Hydrocolloid* 2016; 54: 49-56.
15. Sahl HG, Bierbaum G. Lantibiotics: biosynthesis and biological activities of uniquely modified peptides from gram-positive bacteria. *Annu Rev Microbiol* 1998; 52(1): 41-79.
16. Cooke EM. Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization. *J Clin Pathol* 1983; 36(3): 364.
17. Moosavy M-H, Basti AA, Misaghi A, Zahraei Salehi T, Abbasifar R, Ebrahimzadeh Mousavi HA, et al. Effect of *Zataria multiflora* Boiss. Essential oil and nisin on *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in a food model system and on the bacterial cell membranes. *Food Res Int* 2008; 41(10): 1050-1057.
18. Sadeghi E, Akhondzadeh basti A, Misaghi A, Zahraei Salehi T, Bohlouli Osgouei S. Evaluation of effects of *Cuminum cyminum* and probiotic on *Staphylococcus aureus* in feta cheese. *Journal of Medicinal Plants* 2010; 9(34): 131-141 (Persian).
19. Rezaei M, Hosseini H, Safari R, Yaghoobzade Z. Inhibitory Effect of Nisin on *Listeria monocytogenes* Inoculated into Surimi and Minced Meat. *J Fasa Univ Med Sci* 2012; 1(4): 221-226 (Persian).
20. Solomakos N, Govaris A, Koidis P, Botsoglou N. The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin, and their combination against *Listeria monocytogenes* in minced beef during refrigerated storage. *Food Microbiol* 2008; 25(1): 120-127.
21. Rahnama M, Najimi M, Ali Sh. Antibacterial effects of *Myristica fragrans*, *Zataria multiflora* Boiss, *Syzygium aromaticum*, and *Zingiber officinale* Rosci essential oils, alone and in combination with nisin on *Listeria*

- monocytogenes. *Comparative Clinical Pathology* 2012; 21(6): 1313-1316.
22. Mahmodi R, Tajik H, Farshid AA, Ehsani A, Zaree P, Moradi M. Phytochemical Properties of *Mentha longifolia* L. Essential Oil and its Antimicrobial Effects on *Staphylococcus aureus*. *Armaghane Danesh* 2011; 16(5): 400-412 (Persian).
23. Darderafshi M, Bahrami Gh, Sadeghi E, Khanahmadi M, Mohammadi M, Mohammadi R. The effect of *Ferulago angulata* essential oil on *Staphylococcus aureus* during the manufacture and preservation of Iranian white cheese. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology* 2014; 8(4): 13-20 (Persian).
24. Parsaeimehr M, Basti A, Misaghi A, Salehi T, Radmehr B, Nasrabadi H. Effect of *Zataria multiflora* Boiss. Essential oil on enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. *Journal of Medicinal Plants* 2010; 1(33): 98-102 (Persian).
25. Sharafati Chaleshtori R, Rafieian Kopaei M, Rokni N, Mortezaei S, Sharafati Chaleshtori A. Antioxidant activity of *Zataria multiflora* hydroalcoholic extract and its antibacterial effect on *Staphylococcus aureus*. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2013; 22(1): 88-94 (Persian).
26. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int J Food Microbiol* 2004; 94(3): 223-253.
27. Teimori M. Essential oil analysis and antibacterial activity of *Satureja bachtiarica* Bunge. in Ardebil province. *Journal of Plant Environmental Physiology* 2009; 2(4): 19-26 (Persian).
28. Tassou C, Koutsoumanis K, Nychas GJE. Inhibition of *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus* in nutrient broth by mint essential oil. *Food Res Int* 2000; 33(3-4): 273-280.
29. Govaris A, Solomakos N, Pexara A, Chatzopoulou PS. The antimicrobial effect of oregano essential oil, nisin and their combination against *Salmonella enteritidis* in minced sheep meat during refrigerated storage. *Int J Food Microbiol* 2010; 137(2-3): 175-180.
30. Fazlara A, Sadeghi E, Rostami Soleimani P. Study on the antibacterial effects of *Cuminum cyminum* essential oil on *Listeria monocytogenes* in Iranian white cheese. *Journal of Food Science and Technology* 2012; 9(35): 35-44 (Persian).
31. Felicio BA, Pinto MS, Oliveira FS, Lempk MW, Pires ACS, Lelis CA. Effects of nisin on *Staphylococcus aureus* count and physicochemical properties of Minas Frescal cheese. *J Dairy Sci* 2015; 98(7): 4364-4369.