ORIGINAL ARTICLE

# *Antioxidant Activity of Zataria Multiflora Hydroalcoholic Extract and Its Antibacterial Effect on Staphylococcus Aureus*

Reza Sharafati Chaleshtori[1],
Mahmoud Rafieian Kopaei[2],
Noordahr Rokni[3],
Seifollah Mortezaei[4],
Ali Sharafati Chaleshtori[5]

[1] Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran
[2] Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
[3] Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
[4] Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
[5] Student Research Committee, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

(Received November 26, 2013 ; Accepted February 18, 2013)

## *Abstract*

**Background and purpose:** Nowadays, adding natural preservatives is one of the main methods for increasing shelf-life. This study evaluated the antioxidant activity of *Zataria multiflora* hydroalcoholic extract and its antibacterial effect on *Staphylococcus aureus* in hamburger.

**Materials and methods:** In this experimental study, after collection and extraction of *Zataria multiflora*, total amount of phenols and flavonoids as well as flavonols were colorimetrically determined. The antioxidant activity was evaluated by β-Carotene bleaching assey. Then the effect of different concentrations of *Zataria multiflora* extract (0.0, 0.5 and 1.5%) in 4±1ºC at different storage times (0, 1, 3, 6, 9 and 12 days) was evaluated on growth of *Staphylococcus aureus* in hamburger.

**Results:** Total phenol content in *Zataria multiflora* extract was 283.43±11.06 mg/gr as gallic acid equivalent. Total flavonoid and total flavonol contents were 131.23±4.5 and 92±5.67mg/g as rutin equivalent, respectively. Antioxidant activity was 71±4 percent. Also *Zataria multiflora* extract in 4±1ºC decreased the growth rate of *Staphylococcus aureus* in hamburger.

**Conclusion:** These findings showed that *Zataria multiflora* had antibacterial effect and could be used as an antibacterial preservative in hamburger or other meat products.

**Keywords:** *Zataria multiflora*, antioxidant activity, antibacterial effect, hamburger

**J Mazand Univ Med Sci 2013; 23(Supple 1): 88-94 (Persian).**

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و دوم ویژه نامه ۱ اسفند سال ۱۳۹۱ (۹۴-۸۸)

# بررسی خواص آنتی اکسیدانی عصاره هیدرو الکلی آویشن شیرازی و اثر ضد میکروبی آن بر روی استافیلوکوکوس ارئوس

رضا شرافتی چالشتری[۱]
محمود رفیعیان کوپائی[۲]
نوردهر رکنی[۳]
سیف الله مرتضایی[۲]
علی شرافتی چالشتری[۴]

## چکیده

**سابقه و هدف:** امروزه یکی از روش‌های نگهداری مواد غذایی، افزودن مواد نگهدارنده طبیعی به آن‌هاست. هدف از این مطالعه شناسایی خواص آنتی اکسیدانی عصاره هیدرو الکلی آویشن شیرازی و اثر ضد میکروبی آن بر روی استافیلوکوکوس ارئوس در همبرگر بود.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، پس از جمع‌آوری گیاه آویشن شیرازی، عصاره هیدرو الکلی آن تهیه شد. میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و فلاونولی کل به روش کلریمتری و خاصیت آنتی‌اکسیدانی به روش رنگ زدایی بتا کاروتن اندازه‌گیری شد. سپس تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره (صفر، ۰/۵ و ۱/۵ درصد) در دمای یخچالی (۱±۴ درجه سانتی‌گراد) بر روی رشد استافیلوکوکوس ارئوس در مدت زمان نگهداری معین (روز صفر، ۱، ۳، ۶، ۹ و ۱۲) در همبرگر مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که محتوی فنول کل عصاره آویشن شیرازی ۱۱/۰۶±۲۸۳/۴۳ میلی‌گرم در گرم معادل اسید گالیک و محتوی فلاونوئید و فلاونول کل به ترتیب ۴/۵۰±۱۳۱/۲۳ و ۵/۶۷±۹۲ میلی‌گرم در گرم معادل روتین بود. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز برابر۴±۷۱ درصد بود. همچنین عصاره آویشن شیرازی در شرایط یخچالی سبب مهار رشد باکتری استافیلوکوکوس ارئوس در همبرگر شد.

**استنتاج:** نتایج نشان داد که عصاره آویشن شیرازی دارای اثر ضد باکتریایی بوده و می‌تواند به عنوان یک نگهدارنده ضد باکتریایی در همبرگر و سایر فرآورده‌های گوشتی پیشنهاد گردد.

**واژه های کلیدی:** آویشن شیرازی، خواص آنتی اکسیدانی، اثر ضد میکروبی، همبرگر

## مقدمه

تغییرات اقتصادی و اجتماعی مدرن به همراه تجارت بین‌المللی غذا در سطح جهانی خطر ایجاد بسیاری از بیماری‌های منتقله ازغذا را بیش‌تر از گذشته مطرح ساخته است. بنابراین دست یابی به غذای سالم با ماندگاری بالا، لزوم استفاده از نگه دارنده‌های غذایی شیمیایی و طبیعی را خاطر نشان می‌سازد(۱). امروزه به

**مؤلف مسئول: رضا شرافتی چالشتری**- شهرکرد: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، گروه دانشکده دامپزشکی E-mail: sharafati33@yahoo.com
۱. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران
۲. مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۳. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۴. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۹/۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۱/۱۱/۱۵ تاریخ تصویب: ۱۳۹۱/۱۱/۳۰

دلیل افزایش علاقه مردم به مصرف مواد طبیعی و نیز شیوع بیماری‌های گوارشی، تنفسی و انواع سرطان‌ها، تحقیقات گسترده‌ای برای استفاده از عصاره‌ها و اسانس‌ها انجام گرفته است(۲). یک نمونه از افزودنی‌های طبیعی به مواد غذایی اسانس یا عصاره آویشن شیرازی است به طوری که در مطالعات متعددی اثرات ضد لیستریایی و ضد ویبریو پاراهمولیتیکوس در ماهی شور(۳،۴)، اثر ضد اشریشیاکلی O157:H7 در گوشت گوساله چرخ کرده(۵) و اثر ضد باسیلوس سرئوس در سوپ تجاری گزارش کرده‌اند(۶). گیاه آویشن شیرازی گیاهی با بوته‌هایی به ارتفاع ۴۰ تا ۸۰ سانتی متر، سبز متمایل به سفید و معطر، با ساقه‌های متعدد، محکم و مقاوم، با پوست خاکستری متمایل به سفید یا کمی متمایل به قهوه‌ای است، برگ آویشن شیرازی کوچک و دارای دمبرگ کوتاه است. گیاه آویشن شیرازی انتشار نسبتاً وسیعی در ایران دارد و در بخش‌های مرکزی، جنوب و جنوب شرقی ایران، اصفهان، یزد، خوزستان، فارس، بوشهر و بندرعباس دیده می‌شود(۲).

به طور عمده ترکیبات فنولی مسئول خواص ضد باکتریایی عصاره‌ها و اسانس‌ها می‌باشند(۷،۸). بنابراین هر چه مقادیر مواد فنولیک بالاتر باشد، خواص ضدمیکروبی آن بالاتر خواهد بود از این مواد در اسانس آویشن شیرازی می‌توان به کارواکرول، تیمول و اوژنول اشاره کرد(۳). کارواکرول از طریق ایجاد سوراخ در غشای سلولی باکتری‌های گرم مثبت و تخریب غشاء خارجی باکتری‌های گرم منفی اثر ضد میکروبی خود را می‌گذارد(۶). استافیلوکوکوس اورئوس عامل ایجاد عفونت‌های خارج روده‌ای مانند جوش، زخم، ذات الریه، سندرم شوک توکسیک، منتژیت و عامل اصلی مسمومیت غذایی استافیلوکوکی در بدن انسان می‌باشد. مسمومیت غذایی حاصل از استافیلوکوکوس ارئوس در اغلب کشورها از نظر وقوع در لیست سه مسمومیت درجه اول قرار می‌گیرد. انواع گوشت و فرآورده‌های گوشتی، ماهیان و فرآورده‌ای آن‌ها، شیر و فرآورده‌ای آن، سس‌های خام‌های، سالادها، پودینگ‌ها، فرنی‌ها، پای‌ها و سس‌های سلاد نیز در ایجاد این مسمومیت غذایی دخالت دارند(۹). طبق استاندارد ملی ایران در فرآورده گوشتی همبرگر به عنوان یک فراورده خام گوشتی میزان قابل پذیرش شمارش استافیلوکوکوس ارئوس در هرگرم برابر ۱۰۰۰ می‌باشد(۱۰) بنابراین هدف از این مطالعه استفاده از عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی برای مهار رشد باکتری بیماری‌زای استافیلوکوکوس ارئوس در همبرگر بود که می‌تواند به عنوان یک ایده در صنعت فرآورده‌های گوشتی به منظور حفظ سلامت مصرف‌کنندگان باشد.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت تجربی آزمایشگاهی در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام شد. جهت انجام این مطالعه از سویه استاندارد باکتری استافیلوکوکوس ارئوس (۱۱۸۹ PTCC) تهیه شده از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران استفاده شد.

آویشن شیرازی از مراکز فروش در شهرکرد در سال ۱۳۹۱خریداری شد. سپس برای تهیه عصاره اتانولی، ۱۰۰ گرم از پودر خشک شده با ۵۰۰ سی سی اتانول ۸۰ درصد، مخلوط و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق (حدود ۲۲ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد. سپس عصاره به دست آمده، توسط کاغذ صافی فیلتر شده و وارد دستگاه روتاری (برای حذف اتانول) گردید. عصاره الکلی بدست آمده در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور خشک شد(۱۱).

*تعیین میزان فنول کل*

میزان ترکیبات فنولی کل براساس روش رنگ سنجی Folin-Ciocaltue و بر حسب اسید گالیک اندازه‌گیری شد(۱۲).

*تعیین میزان فلاونوئید و فلاونول کل*

میزان فلاونوئید و فلاونول کل به روش رنگ سنجی کلرید آلمینیوم و بر حسب Rutin اندازه‌گیری شد(۱۲).

*تعیین خاصیت آنتی اکسیدانی*

برای انجام آزمایش ابتدا یک محلول پایه از بتا کاروتن- لینولئیک اسید به صورت زیر تهیه شد: ۰/۵ میلی‌گرم بتاکاروتن در ۱ میلی‌لیتر کلروفرم حل شد و سپس ۲۵ میکرولیتر لینولئیک اسید و ۲۰۰ میلی گرم توئین ۴۰ به آن اضافه گردید و کاملاً مخلوط شد. سپس با تبخیر در خلأ (۵۰ درجه سانتی‌گراد در دستگاه روتاری) کلروفرم تبخیر و ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر اشباع شده از اکسیژن (۳۰ دقیقه تحت فشار ۱۰۰ میلی لیتر در دقیقه) همراه با تکان شدید به آن اضافه شد. ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده فوق به لوله آزمایش منتقل شد و ۳۵۰ میکرولیتر از اسانس به لوله آزمایش اضافه گردید. تمامی این مراحل در مورد بوتیلیتد هیدروکسی تولوئن (BHT) به عنوان شاهد مثبت و بلانک (فقط حاوی ۳۵۰ میکرولیتر اتانول) انجام شد. بعد از ۴۸ ساعت گرم‌خانه گذاری در دمای اتاق جذب نوری نمونه‌ها در ۴۹۰ نانومتر قرائت شد و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، از مقایسه جذب نوری نمونه ها با زمان صفر و از روی میزان پایداری رنگ زرد بتا کاروتن به درصد مورد سنجش قرار گرفت(۱۳).

*تهیه نمونه همبرگر و آماده سازی*

همبرگر از یک بهر تولیدی یک کارخانه فرآورده گوشتی تهیه شد. سپس برای انجام آزمایش میکروبی مورد نظر، همبرگرها جهت اشعه دهی گاما به منظور استریل شدن به سازمان انرژی اتمی ایران در کنار یخ انتقال یافتند. سپس جهت انجام کارهای میکروبی در کنار یخ به آزمایشگاه مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد منتقل شدند. در تأیید استریل بودن کشت میکروبی انجام شد. پرتوتابی گاما توسط منبع کبالت ۶۰ از نوع گاما سل ۲۲۰ با دز ۵/۵ کیلوگری به مدت ۲۶ دقیقه انجام شد. منبع پرتو گاما رادیو ایزوتوپ کبالت ۶۰، با Activity برابر ۱۴۳۸۶ کوری، Dose rate برابر ۳/۵۲ گری بر ثانیه و Transite dose برابر ۱۰/۸۱ گری در مرکز انرژی اتمی ایران موجود است.

*تهیه میزان تلقیح باکتریایی*

برای تعیین میزان تلقیح باکتریایی مورد مطالعه، باکتری به محیط آب گوشت Brain Heart Infusion (BHI) اضافه شد و ۲ مرتبه متوالی در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت گرمخانه گذاری شد. سپس از کشت ۱۸ ساعته دوم مقادیر مختلفی به لوله‌های cuvett حاوی ۵ میلی لیتر آب‌گوشت BHI استریل اضافه شد و با استفاده از دستگاه اسپکترو فتومتر جذب نوری آن‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر تعیین گردید. همزمان با عمل فوق، نمونه‌برداری از محتویات لوله های کووت صورت گرفته و شمارش باکتریایی انجام شد و در نهایت لوله کووت که حاوی $۱۰^{۸}\times ۱$ باکتری در هر میلی‌لیتر می‌باشد مشخص گردید. بدین ترتیب در هربار انجام آزمایش با مشخص شدن جذب نوری معادل تقریباً $۱۰^{۸}\times ۱$ باکتری در میلی‌لیتر که با کشت دادن سطحی نیز تأیید می‌شد، لوله کووت حاوی تقریباً $۱۰^{۸}\times ۱$ باکتری در هر میلی‌لیتر مشخص می گردید. سپس از این لوله رقت‌های ۱۰ تایی درست کرده و از این رقت‌ها جهت بدست آوردن دوز تلقیح $۱۰^{۳}$ در این آزمایش استفاده شد(۱۴).

۱۰۰ گرم همبرگر حاوی غلظت های مورد نظر عصاره آویشن شیرازی (۰/۵و۱/۵ درصد) و گروه کنترل به همراه دوز تعیین شده باکتری مورد نظر را در داخل کیسه‌های استریل(bag mixer) در زیر هود و کنار شعله قرار داده و سپس کیسه‌های استریل را در استوماکر Seward ساخت کشور انگلیس قرار دادیم و به مدت ۴ دقیقه هموژن نمودیم، سپس در دمای یخچالی (۱±۴ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۱۲ روز نگهداری شدند و در روزهای ۰، ۱، ۳، ۶، ۹ و ۱۲، ۲۵

گرم از محتویات کیسه‌های استریل را با ۲۲۵ میلی لیتر آب پپتونه ۱ در ۱۰۰۰ مخلوط کرده و مجدداً در استوماکر گذاشته و ۱ دقیقه هموژن کردیم (رقت ۱-)، سپس رقت‌های بعدی را با استفاده از لوله‌های رقت به دست آورده و در پلیت حاوی آگار قلب و مغز (BHA) کشت داده و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری می‌کردیم(۱۴). تمامی آزمایش‌ها ۳ بار تکرار و مقادیر متوسط حاصل از ۳ تکرار با استفاده از میانگین و انحراف معیار گزارش شدند. جهت ارزیابی اثر غلظت‌های مختلف عصاره آویشن شیرازی از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و نرم‌افزار SPSS ۱۶ استفاده شد.

## یافته ها

نتایج محتوی ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و فلاونولی عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود. میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی این عصاره نسبت به آنتی اکسیدان استاندارد BHT پایین‌تر بود (جدول شماره ۱).

**جدول شماره ۱:** محتوی ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی، فلاونولی و خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی

| | میزان فنول mg/g | میزان فلاونوئید mg/g | میزان فلاونول mg/g | فعالیت آنتی اکسیدانی درصد |
|---|---|---|---|---|
| آویشن شیرازی | ۲۸۳/۴۳±۱۱/۰۶ | ۱۳۱/۲۳±۴/۵۰ | ۹۲±۵/۶۷ | ۷۱±۴ |
| BHT | - | - | - | ۹۰/۶±۳/۳۰ |

اثرات عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی بر روی رشد باکتری استافیلوکوکوس ارئوس در جدول شماره ۲ قابل مشاهده می‌باشد. بر اساس نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر، در دو غلظت مورد استفاده عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی در دمای ۱±۴ درجه سانتی‌گراد، کاهش تعداد باکتری استافیلوکوکوس ارئوس مشاهده شد. همچنین در دمای ۱±۴ درجه سانتی‌گراد در طی ۱۲ روز نگهداری نمونه‌ها، مرگ باکتری‌ها مشاهده شد. به‌طوری‌که در نمونه کنترل (بدون عصاره) در روز ششم تعداد باکتری استافیلوکوکوس ارئوس به کمتر از ۱۰۲ Colony forming unit/g رسید. در غلظت‌های ۰/۵ و ۱/۵ درصد عصاره آویشن شیرازی در روز یکم شاهد کاهش باکتری و در روز سوم افزایش باکتری و نهایتاً از روز ششم تعداد باکتری استافیلوکوکوس ارئوس به کم‌تر از ۱۰۲ cfu/g رسید که کاهش آن نسبت به گروه کنترل در روز یکم و سوم مشهود است ($p<۰/۰۵$)، ولی بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$).

## 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 اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی مختلف صورت پذیرفته است(۱۵).

در مطالعات انجام شده، اثرات سمی و سرطان زایی برخی آنتی اکسیدان‌های مصنوعی و نگهدارنده‌های شیمیایی مانند ترشیاری بوتیلیتد هیدروکسی کوئینون (TBHQ) نشان داده شده به طوری که تا کنون فقط

**جدول شماره ۲:** میانگین و انحراف معیارهای شمارش باکتریایی استافیلوکوکوس ارئوس(**cfu/g**) در نمونه های همبرگر حاوی عصاره آویشن شیرازی در شرایط یخچالی

| روز | ۰ | ۱ | ۳ | ۶ | ۹ | ۱۲ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| تیمار | | | | | | |
| کنترل منفی | a۱/۵×۱۰۳±۸۲ | a۱/۲×۱۰۳±۴۸ | a۱/۷×۱۰۳±۸۲ | a<۱۰۰ | a<۱۰۰ | a<۱۰۰ |
| آویشن شیرازی ۱/۵ درصد | a۱/۵×۱۰۳±۸۲ | b۱×۱۰۲±۰/۰ | b۳/۶×۱۰۲±۴۸ | a<۱۰۰ | a<۱۰۰ | a<۱۰۰ |
| آویشن شیرازی ۰/۵ درصد | a۱/۵×۱۰۳±۸۲ | b۲×۱۰۲±۰/۰ | b۳/۳×۱۰۲±۴۸ | a<۱۰۰ | a<۱۰۰ | a<۱۰۰ |

a,b: حروف غیر مشابه در یک ستون نشاندهنده وجود اختلاف معنی دار ($p<۰/۰۵$) است

ژاپن استفاده از آن را ممنوع کرده است(۱۶). محتوی فنول کل عصاره آویشن شیرازی۱۱/۰۶±۲۸۳/۴۳ میلی‌گرم در گرم معادل اسید گالیک و محتوی فلاونوئید و فلاونول کل به ترتیب ۴/۵۰±۱۳۱/۲۳ و ۵/۶۷±۹۲ میلی‌گرم در گرم معادل روتین بود. میزان فعالیت آنتی اکسیدانی نیز برابر ۴±۷۱ درصد بود. در مطالعه‌ای میزان فلاونوئید عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی را برابر ۳۲ میلی‌گرم در گرم و خاصیت نابودی رادیکال‌های آزاد آن را ۷۱ درصد گزارش کردند(۱۷). در بررسی دیگری خاصیت نابودی رادیکال‌های آزاد توسط عصاره متانولی آویشن شیرازی را بیشتر از ترولوکس یا اسید آسکوربیک گزارش کردند(۱۸). در مطالعه زنگی آبادی و همکاران نیز میزان فنول کل موجود در اسانس آویشن شیرازی برابر ۳۲۲ میلی گرم در میلی لیتر ذکر شد و بهترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را نسبت به اسانس زیره سیاه نشان داد(۱۵). در مطالعه حاضر میزان فلاونوئید بیش‌تر از گزارش قبلی و برابر ۱۳۱/۲۳ میلی گرم در گرم بود ولی میزان ترکیب فنولی کل از میزان آن در اسانس کم‌تر بود. همچنین خاصیت آنتی اکسیدانی آن نیز برابر ۷۱ درصد بود. تفاوت‌هایی که در میزان خواص آنتی‌اکسیدانی و محتوی فنولیک عصاره‌های گیاهی مشاهده می‌شود می‌تواند متاثر از فاکتورهایی همچون موقعیت جغرافیایی، دما، مرحله رشد گیاه، زمان برداشت گیاه، فاکتور زمین و به طور کلی فاکتور های محیطی و فاکتورهای ژنتیکی گیاه باشد(۱۹).

در مطالعه‌ای توسط مهدویان مهر و همکاران بر روی اثر ضد باکتریایی عصاره نوروزک (غلظت‌های ۱۰،۵ و ۲۰ هزار ppm) بر روی استافیلوکوکوس ارئوس در فراورده همبرگر در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد در مدت زمان ۴۵ روز گزارش دادند که همه نمونه‌ها با تمام غلظت‌ها کاهش شمارش باکتری را داشتند ولی اثر عصاره در روزهای ۱۵ و ۳۰ به‌طور معنی‌داری سبب کاهش باکتری مذکور شد(۲۰). در مطالعه حاضر نیز غلظت‌های مورد استفاده از عصاره آویشن در همبرگر، سبب کاهش تعداد باکتری‌ها در دمای یخچالی شدند به‌طوری که از روز یکم شاهد کاهش تعداد باکتری‌ها بودیم.

در بررسی دیگری اثر اسانس‌های میخک، دارچین و سیر بر روی باکتری استافیلوکوکوس ارئوس با دوز تلقیحی ۱۰۵ cfu/g در پاته‌های گوشت مرغ در دمای ۱±۵ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفت که نشان دادند همه گروه‌های تیمار تا روز چهارم سبب کاهش تعداد باکتری‌ها شدند(۲۱).

همچنین نتایج مطالعه چوبکار و همکاران، اثر اسانس آویشن شیرازی را بر کاهش تعداد استافیلوکوکوس ارئوس در فیله‌های ماهی کپور نقره‌ای نشان دادند و این اثرات ضد میکروبی را مربوط به محتوای ترکیبات فنولی موجود در اسانس گزارش کردند(۲۲). یافته‌های اثرات ضد باکتریایی عصاره آویشن در مطالعه حاضر و محتوای نسبتاً بالای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی آن، همسو با نتایج گزارشات قبلی است.

نتایج بررسی نوری و همکاران نشان داد که اثر اسانس اویشن شیرازی بر روی اشریشیاکلی O157:H7 در همبرگر در دو دمای ۴ و ۱۰ درجه سانتی‌گراد سبب کاهش رشد باکتری شده و اثر بازدارندگی اسانس در ۴ درجه سانتی‌گراد همراه با افزایش مدت زمان نگهداری سبب کاهش بیشتر باکتری شده است(۵).

در مطالعه دیگری اثر زیره سبز بر روی باسیلوس سرئوس در سوپ تجاری در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد بررسی شد. نتایج نشان داد که اسانس زیره سبز در این دما اثر کشندگی بر باکتری داشت. همچنین با توجه به این‌که در این دما، در روز نهم در گروه کنترل تعداد باکتری‌ها به کم‌تر از ۱۰۲ cfu/g رسیدند نتیجه گیری شد که دمای ۱۰ درجه سانتی گراد نیز سبب مرگ باکتری شده است(۱). نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر نیز با توجه به کاهش رشد باکتری استافیلوکوکوس ارئوس در نمونه کنترل همبرگر در روز ششم می‌تواند تأییدکننده اثر کشندگی دمای ۱±۴ درجه سانتی‌گراد در طی زمان نگهداری بر روی باکتری

استافیلوکوکوس ارئوس باشد.

بدین ترتیب می‌توان نتیجه گرفت که دمای پایین موجب افزایش اثر ضد میکروبی عصاره آویشن شیرازی شد. بنابراین می‌توان پیشنهاد نمود که از غلظت‌های پایین این عصاره در این دما به عنوان یک نگهدارنده طبیعی ضدباکتریایی از جمله ضد استافیلوکوکوس ارئوس در صنعت گوشت و فراورده‌های آن استفاده شود.

## سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهشی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد جهت تأمین هزینه و امکانات و کارکنان مرکز تحقیقات گیاهان دارویی به دلیل همکاری در اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

## References

1. Moradi B, Mashak Z, Akhondzadeh Basti A, Moradi B, Barin A. The survey of the effect of cuminumcyminum l. Essential oil on the growth of bacillus cereus in a food model system. J Med Plants 2012; 11(8): 93-102 (Persian).
2. Lahooji A, Mirabolfathy M, Karami Osboo R. Effect of Zataria multiflora and Satureja hortensis essential oils, Thymol and carvacrol on growth of Fusarium graminearum isolates and deoxynivalenol production. Iran J Pl Path 2010; 46(1). 37-50 (Persian).
3. Ekhtiarzadeh H, Akhondzadeh Basti A, Misaghi A, Ebrahimzadeh Mousavi HA, Bokaei S, Taherkhani P, et al. Effect of zataria multiflora boiss. essential oil on the growth of listeria monocytogenes in salted fish. J Med Plants 2011; 10(40):89-96 (Persian).
4. Sari AA, Akhoundzadeh Basti A, Rokni N, Ebrahimzadeh Mousavi HA, Soltani M, Gandomi H, et al. Effect of zataria multiflora boiss. Essential oil on the behavior of vibrio parahaemolyticus in salted fish. J Med Plants 2010; 9(36):136-144(Persian).
5. Noori N, Rokni N, Akhondzade Basti A, Misaghi A, Dabbagh Moghaddam A, Yahyaraeyat R, et al. The antimicrobial effect of Zatariamultiflora boiss essential oil against E.coli O157: H7 in minced beef during refrigerated storage as a replacement for chemical preservatives in order to maintain the consumers health. J Army Univ Med Sci 2012; 10 (3): 192-197(Persian).
6. Mashak Z, Moradi B, Moradi B. The combined effect of zataria multiflora boiss and cinnamomum zeylanicum nees essential oil on the growth of bacillus cereus in a food model system. J Med Plants 2012; 11(42):62-73(Persian).
7. Zhang Z, Liao L, Moored J, Wu T, Wang Z. Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (Juglans regia L.). Food Chem 2009; 113(1): 160-165.
8. Ayoughi F, Barzegar M, Sahari MA, Naghdibadi H. Chemical compositions of essential oils of Artemisia dracunculus l. and endemic matricaria chamomilla l. and an evaluation of their antioxidative effects. J Agr Sci Tech 2011; 13: 79-88.
9. Razavilar V. Pathogenic microorganisms in foods and epidemiology of food poisoning. 2nd ed. Tehran: Tehran University Pub; 2002.
10. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Raw frozen hamburger – Specifications. (Amendment No.1). 2008.

Available from: http://www.isiri.org/portal/files/std/a-2304.pdf. Accessed July 14, 2012.

11. Asgari S, Ansari SamaniR, DerisF, Shahinfard, Salimi M, Mortazaei S, Asgharzadeh S, et al. Antioxidant Activity and the Lowering Effect of Hydroalcoholic Extract of Allium hirtifolium Boisson Some Haemostatic Factors in Hypercholesterolemic Rabbits. J Mazand Univ Med Sci 2012; 22(91): 40-48 (Persian).
12. Sharafati Chaleshtori R, Sharafati Chaleshtori F, Rafieian kopaei M. Biological characterization of Iranian walnut (Juglans regia) leaves. Turk J Biol 2011; 35 (5): 635-639.
13. Sharafati chaleshtori R, Rafieian kopaei M, Mortezaei S, Sharafati-chaleshtori A, Amini E. Antioxidant and antibacterial activity of the extracts of *Echinophora platyloba* D.C. Afr J Pharm Pharacol 2012; 6(37): 2692-2695.
14. Noori N, Tooryan F, Rokni N, Akhondzadeh A, Misaghi A. Preservative effect of Cinnamomum Zeylanicum Blume. essential oil and storage temperature on the growth of E .coli O157:H7 in hamburger using Hurdle Technology. J Food Sci Technol 2010; 7 (4). 35-42 (Persian).
15. Zangiabadi M, Sahari MA, Barzegar M, Naghdi Badi H. *Zataria multiflora* and *Bunium persicum* essential oils as two natural antioxidants. J Med Plants 2012; 11(41): 8-21(Persian).
16. Shahidi F, Zhong Y. Novel antioxidants in food quality preservation and health promotion. Eur J Lipid Sci Technol 2010; 112. 930-940.
17. Fatemi F, Asri Y, Rasooli I, Alipoor ShD, Shaterloo M. Chemical composition and antioxidant properties of γ-irradiated Iranian Zataria multiflora extracts. Pharm Biol 2012; 50(2): 232-8. PMID: 22092051.
18. Souri E, Amin Gh, Farsam H, Jalalizadeh H, Barezi S. Screening of thirteen medicinal plant extracts for antioxidant activity. Iran J Pharm Res 2008; 7 (2): 149-154.
19. Goze I, Alim A, Tepe AS, Sokmen M, Sevgi K, Tepe B. Screening of the antioxidant activity of essential oil and various extracts of Origanum rotundifolium Boiss. From Turkey. J Med Plants Res 2009; 3: 246-54.
20. Mahdavian Mehr H, Hosseini Z, Haddad Khodaparast MH, Edalatian MR. 2010. Study on the antimicrobial effect of salvia leriifolia (nowroozak) leaf extract powder on the growth of staphylococcus aureus in hamburger. J Food Saf 2010; 30: 941–953.
21. Jagadeesh Babu A, Rupasundari A, Sankar Reddy B, Sravanthi M. Studies on the antimicrobial effectiveness of essential oils of garlic, clove and cinnamon on staphylococcus aureus in chicken meat patties. Tamil Nadu J vet Anim Sci 2012; 8 (1): 45-49.
22. Choobkar N, Soltani M, Ebrahimzadeh Mousavi HA, Akhonzadeh Basti A, Matinfar A. Effect of *Zataria multiflora* Boiss essential oil on the growth of *Staphylococcus aureus* in the light salted fillets of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). Iran J Fish Sci 2010; 9 (3):352-359.