ارزیابی خواص ضد باکتریایی فیلم زیست فعال زئین حاوی اسانس آویشن شیرازی

محبوبه کشیری[۱]*، یحیی مقصودلو[۱]، مرتضی خمیری[۱] و ربیع بهروز[۲]

۱- اعضاء هیات علمی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲- عضو هیات علمی گروه چوب و کاغذ، دانشگاه تربیت مدرس نور

(تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۳/٤/۸)

چکیده

ترکیبات شیمیایی آویشن شیرازی با هدف کاربرد اسانس گیاهی به عنوان ترکیب ضد باکتری طبیعی در فیلم زیست فعال زئین با استفاده از طیف سنج جرمی تعیین گردید. حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس در برابر *لیستریا مونوسایتوژنز* و *اشرشیا کلای* با روش چاهک میکروپلیت و تبخیر اسانس در فضای خالی ارزیابی شد. فیلم زیست کامپوزیت زئین حاوی ۵ و ۱۰ درصد اسانس آویشن شیرازی تولید و فعالیت ضد میکروبی آن‌ها در فاز بخار و در تماس مستقیم با محیط مایع تعیین شد. کارواکرول و تیمول به عنوان مهم‌ترین ترکیبات اسانس آویشن شیرازی شناسایی شدند. حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی ترکیبات فوق الذکر علیه *لیستریا مونوسایتوژنز* (به ترتیب ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم در لیتر) بود که در مقایسه با *اشرشیا کلای* بسیار موثرتر بود. *لیستریا مونوسایتوژنز در مقایسه اشرشیا کلای* در فاز بخار اسانس از حساسیت بیش‌تری برخوردار بود. بالاترین منطقه بازدارندگی فاز بخار اسانس در غلظت ۱۰ درصد و مقابل *لیستریا مونوسایتوژنز* مشاهده شد. بخار اسانس در غلظت ۵٪ در ترکیب فیلم فاقد قدرت بازدارندگی در برابر باکتری بود، علاوه بر این غلظت۱۰٪ اسانس فقط قادر به کاهش دانسیته میکروبی گردید اندیس لگاریتم کاهشی فیلم زیست فعال زئین با افزایش غلظت اسانس در تماس مستقیم افزایش معنی‌داری یافت. تحقیق حاضر نشان داد که پتانسیل اسانس آویشن شیرازی به عنوان یک افزودنی طبیعی در ترکیب با زئین و تولید فیلم ضد میکروبی برای کاربردهای غذا مطلوب بود.

کلید واژگان: بسته‌بندی ضد میکروبی، زئین، اسانس

*□□□□□ □□□□: kashiri.m@Gmail.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

۱- مقدمه

اثرات زیان‌بار نگهدارنده‌های شیمیایی و نگرانی مصرف‌کنندگان سبب افزایش تمایل کاربرد انواع ترکیبات طبیعی گردیده است. ترکیبات ضد میکروبی در تماس مستقیم ماده غذایی و یا به طور غیر مستقیم با قرار دادن در بسپارهای بسته‌بندی قادر به کاهش یا به تاخیر انداختن رشد میکروارگانیسم‌ها می‌باشند [۱]. که روش اخیر از رهیافت جدید در حوزه بسته‌بندی در زیر مجموعه بسته‌بندی فعال محسوب می‌شود. بسته‌بندی ضد میکروبی یک نوع بسته‌بندی فعال است که مهاجرت پیوسته ترکیبات ضد میکروبی به سطح ماده غذایی را فراهم می‌سازد به طوری که این تداوم رهایش ترکیبات ضد میکروبی، اجازه رشد به سلول‌های ترمیم یافته میکروبی را نخواهد داد. بنابراین از بسته‌بندی ضد میکروبی به عنوان یک تکنولوژی هردل جهت افزایش امنیت و بهبود کیفیت مواد غذایی یاد می‌شود [۲].

آویشن شیرازی با نام علمی *Zataria multiflora* Bois. گیاهی معطر از تیره نعناعیان و بومی مناطق گرم ایران، پاکستان و افغانستان می‌باشد [۳]. مهم‌ترین ترکیبات اسانس آویشن و پونه کوهی، کارواکرول و تیمول است [٤]. که به عنوان ترکیبی ایمن و سالم مورد تایید سازمان غذا و دارو آمریکا قرار گرفته است [۱]،اثرات ضد میکروبی این اسانس بر *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیا کلای* [٥]، [٦]، *سالمونلو تایفی موریوم* [۷]، *شیگلا* [۸]، *لیستریا مونوسایتوژنز*[۹] و کپک و مخمر [۱۰] مورد بررسی قرار گرفته است. از یافته‌های علمی در حوزه کاربرد اسانس در تولید فیلم‌های ضد میکروبی می‌توان به تأثیر اسانس آویشن شیرازی در کیتوزان [۳]، پلی‌ساکارید محلول سویا [٦]، کاپا کاراگینان [۱۱]، اسانس پونه کوهی در چهار بسپار اتیلن‌وینیل‌الکل [۲]، ایزوله سویا [۱۲]، ژلاتین [۱۳ و تریتیکاله [٤] هم‌چنین کارواکرول در بستر کیتوزان [۱٤]، تیمول و کارواکرول در بستر پلی‌پروپیلن [۱] اشاره کرد که علاوه بر نوآوری در بخش علمی، در مقیاس صنعتی مورد استقبال مصرف کنندگان و تولید کنندگان جهت به حداقل رساندن آلودگی‌های سطحی در مواد غذایی و کاهش نرخ رشد میکروارگانیسم‌ها قرار گرفته است [٤]. علی‌رغم گزارشات متعدد از ارزیابی فیلم ضد میکروبی بر مبنای تماس مستقیم بین میکروارگانیسم و عوامل ضد میکروبی، تحقیقات اندکی در خصوص قدرت بازدارندگی فاز بخار اسانس بدون تماس مستقیم انجام شده است [۱۱]. لوپز و همکاران (۲۰۱۱) و علی‌آبادی و همکاران (۲۰۱٤) قدرت ضد باکتریایی فاز بخار اسانس را مورد تایید قرار دادند [۱۱ و ۱٥].خواص ضد میکروبی یک فیلم بسته بندی تحت تأثیر نوع ترکیب ضد میکروبی، ماهیت بسپار و تعامل بین ترکیبات ضد میکروبی و بسپار قرار دارد [۱٦]. بدین مفهوم که ترکیب ضد میکروبی فراری نظیر اسانس، بسته به قدرت تبخیر ترکیبات تشکیل دهنده آن و هم‌چنین امکان اجازه خروج از بسپار می‌تواند از طریق فضای خالی بسته و یا در تماس مستقیم به محیط اطراف رهایش یابد [۱٦]. لذا با توجه به عدم تشابه سرعت رهایش و تبخیر ترکیبات ضد میکروبی در بسپارهای آب دوست و آب گریز، بروز خواص ضد میکروبی طی دوره نگهداری در این بسپارها نیز یکسان نخواهد بود.

نظر به کاهش مشکلات زیست محیطی ناشی از مصرف فیلم‌های بسته‌بندی مشتق شده از منابع فسیلی، بسپارهای طبیعی به‌عنوان جایگزین امیدبخش مطرح می‌باشند [۱۷]. ظرفیت تولید جهانی پلاستیک‌های زیستی در سال ۲۰۱۰ میلادی ۷۲٤ هزار تن گزارش شده است [۱۸]. انجمن زیست پلاستیک اروپا افزایش رشد تولید این محصولات را به بیش از دو برابر در سال ۲۰۱٥ تخمین زدند [۱۸]. پتانسیل تولید جهانی این پلاستیک‌ها، بر اساس گزارش چشم‌انداز توسعه زیست پلاستیک‌ها در سال ۲۰۲۰، بیش از ۳/٤٥ میلیون تن پیش‌بینی شده است [۱۹]. زئین، زیست پلاستیک صنعتی غیر قابل حل در آب و محلول در اتانول الکل است [۱۷]. در دو دهه اخیر این بسپار به‌سبب قابلیت زیست‌تخریب‌پذیری و توانایی تولید فیلم مناسب به‌روش غلطک‌زنی و پرس داغ مورد استقبال فراوان در صنایع بسته‌بندی قرار گرفته است [۲۰]. در حقیقت زیست پلاستیک زئین می‌تواند پاسخ‌گو نیاز تولید کنندگان و مصرف کنندگان علاقه‌مند به استفاده از منابع تجدیدپذیر و جایگزین پلاستیک‌های نفتی باشد [۲۱].

نظر به اهمیت نقش ماهیت بسپار در قدرت رهایش ترکیبات ضد میکروبی هدف از این تحقیق تولید فیلم ضد میکروبی بر پایه زئین با استفاده از اسانس آویشن شیرازی و ارزیابی اثر بخشی

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

غلظت اسانس بر رشد *اشرشیا کلی* و *لیستریا مونوسیتوژنز* در فاز بخار اسانس و در محیط مایع بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

زئین شرکت تولیدی مواد شیمیایی نیپون (اوساکای ژاپن)، گلیسرول (اسکارلو، اسپانیا)، گیاه آویشن شیرازی، تریپتوز سوی براث (اسکارلب، اسپانیا)، تریپتوز سوی آگار (اسکارلب، اسپانیا).

۲-۲- مراحل انجام کار

۲-۲-۱- مرحله اول: استخراج و ارزیابی ترکیبات شیمیایی اسانس آویشن

اسانس از سر شاخه‌های هوایی خشک شده گیاه آویشن شیرازی پس از تایید گروه گیاه‌شناسی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی با نام علمی آن *Zataria multiflora* Boiss. به روش تقطیر با بخار آب در مدت ۳ ساعت با استفاده از سیستم کلونجر استخراج شد. میزان بازدهی اسانس ۱/۵۱ درصد وزن خشک گیاه بود. اسانس حاصل با سولفات سدیم بدون آب، آب‌گیری و پس از عبور از میکرو فیلتر ۰/۴۵ میکرومتر در ظروف شیشه‌ای دربسته دور از نور خورشید نگهداری شد. آنالیز ترکیبات شیمیایی آن توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی انجام شد. دستگاه طیف سنج جرمی از نوع Agillent6890 با ستون موئین DB_5 به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر، با برنامه دمایی ۵۰ تا ۲۶۵ درجه سانتی‌گراد و با افزایش تدریجی ۲/۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه و نگهداری ستون در ۲۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه، دمای اتاقک تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت جریان گاز هلیم ۱/۵ میلی‌لیتر در دقیقه بود. طیف‌سنجی جرمی به روش یونیزاسیون الکترونی با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و دمای منبع یونیزاسیون ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع و مقالات و با استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری صورت گرفت.

۲-۲-۲- مرحله دوم: آماده‌سازی تلقیح باکتریایی و ارزیابی خواص ضدمیکروبی اسانس آویشن شیرازی

در تحقیق حاضر سویه‌های باکتریایی *اشرشیا کلای* (CECT۳٤) از دسته باکتری‌های گرم منفی و *لیستریا مونوسایتوژنز* (CECT۹۳٤) از دسته باکتری‌های گرم مثبت از مرکز کلکسیون میکروبی اسپانیا[1] انتخاب گردیدند. پس از فعال سازی سویه‌ها باکتریایی روی محیط تریپتوزسوی‌اگار، یک لوپ باکتری به ۱۰ میلی‌لیتر تریپتوزسوی‌براث تلقیح و به مدت ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (دانسیته نوری ۰/۹ در طول موج ٦۰۰ نانومتر بیانگر ابتدای فاز سکون می‌باشد). در مرحله بعد برای رسیدن به فاز رشد لگاریتمی، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی آماده شده، در ۱۰ میلی‌لیتر تریپتوزسوی‌براث رقیق و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تا حصول دانسیته نوری ۰/۲ (طول موج ٦۰۰ نانومتر) نگهداری شد [٦].

به منظور تعیین حداقل غلظت بازدارندگی رشد[2] اسانس آویشن از روش چاهک در میکرو پلیت استفاده شد. تریپتوز سوی برات به همراه ۰۵/ درصد آگار آگار و ۵ درصد دی متیل سولفوکسید در آب مقطر حل و استریل شد. پس از خنک شدن، رقت سازی انجام شد. پلیت‌های ۹٦ چاهکی به کمک توزیع ۱۹۰ میکرولیتر از محیط تریپتوز سوی برات و ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی اشاره شده در فوق به هر یک از چاهک‌ها اضافه شد. موارد کنترل این آزمایش شامل کنترل مثبت (۱۹۰ میکرولیتر محیط فاقد اسانس و ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی) جهت خنثی نمودن تأثیر ضد باکتریایی دی متیل سولفوکسید و نیز کنترل منفی برای هر چاهک (۲۰۰ میکرولیتر محیط حاوی اسانس و فاقد باکتری) در نظر گرفته شد هر غلظت در سه تکرار انجام شد. میکروپلیت با درپوش استریل پوشانده و به مدت ٦۰ ثانیه با ۱۰۰ دور در دقیقه مخلوط و سپس در ۳۷-۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت گرم خانه گذاری شد. پس از این مدت زمان، رشد میکربی و کدورت چاهک‌های حاوی اسانس و باکتری در مقایسه با چاهک‌های کنترل با اندازه گیری میزان جذب در طول موج ٦۲۰ نانومتر تعیین گردید. چاهک‌های واجد

1. Spanish Type Culture Collection (CECT, Valencia, Spain)
2. Minimal Inhibitory Concentration (M.I.C)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

کدورت از لحاظ رشد مثبت تلقی شدند و کم‌ترین غلظت اسانس که از رشد باکتری جلوگیری نمود و محیط موجود در چاهک مربوط به آن شفاف بود، به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی تلقی گردیدند [۲۰]. در تعیین حداقل غلظت باکتری کشی[1] از رقت‌هایی که کدورتی در آن‌ها مشاهده نشد، در محیط تریپتوز سوی آگار کشت سطحی داده شدند و پلیت‌ها به‌مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم خانه گذاری شدند. غلظتی که هیچ کلونی قابل شمارش در آن مشاهده نگردید، به عنوان حداقل غلظت باکتری‌کشی تعیین گردید [۲۲].

۲-۲-۳- مرحله سوم- آماده‌سازی فیلم

ابتدا محلول ۱٦ درصد وزنی- وزنی زئین در اتانول ۸۰ درصد تهیه و به مدت یک ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد با سرعت ٤۰۰ دور در دقیقه حرارت داده شد. در ادامه گلیسرول به عنوان نرم‌کننده (۰/۱۵ درصد وزن پلی‌مر) اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کاملاً همگن شد. محلول حاصل روی صفحه شیشه‌ای پوشیده شده از ورقه نازک از پلی‌پروپیلن به طور یکنواخت پخش و در تونل مجهز به منبع حرارتی به مدت ۲۰ دقیقه حرارت داده شد. ضخامت فیلم با استفاده از ریزسنج (میتوتوی، ژاپن) کنترل گردید. فیلم زئین فعال نیز مطابق روش فوق آماده شد، با این تفاوت که پس از افزودن گلیسرول به مدت ۸ دقیقه عمل هم زدن صورت گرفت و در ادامه اسانس آویشن در سطح ۵ و ۱۰ درصد نسبت به وزن بسپار اضافه و به مدت ۷ دقیقه به منظور پخش یکنواخت در محلول، هم زدن انجام شد.

۲-۲-٤- مرحله چهارم- ارزیابی خاصیت بازدارندگی بخار اسانس آویشن و فیلم زیست فعال زئین

۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری‌های آماده شده، به طور یکنواخت با استفاده از سوآپ استریل، روی محیط کشت تریپتوز سوی آگار پخش گردید. دیسک‌های کاغذی استریل به سطح فوقانی پلیت‌ها چسبانده و اسانس آویشن در غلظت‌های متفاوت به آن اضافه شد. در ادامه جهت کاهش خروج ترکیبات فرار موجود در اسانس، هر یک از پلیت‌ها با پارافیلم محصور و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت نگهداری شدند [۲].

فیلم‌های زیست کامپوزیت فعال بر پایه زئین به قطر ٤ و ۸ سانتی‌متر مشابه روش اشاره شده در فوق آماده و به درب پلیت‌ها برای ارزیابی خاصیت بازدارندگی بخار اسانس آویشن، بدون تماس مستقیم با میکروارگانیسم، چسبانده شدند و به مدت ۲٤ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم خانه گذاری شدند. قطر منطقه بازدارندگی به عنوان نتیجه گزارش گردید.

۲-۲-۵- مرحله پنجم- ارزیابی خاصیت ضدباکتریایی فیلم فعال زیست کامپوزیت زئین در محیط مایع

۰/۲۵ گرم از فیلم زیست کامپوزیت فعال حاوی اسانس آویشن در ۱۰ میلی‌لیتر از محلول تریپتوز سوی برات در شرایط کاملاً استریل قرار داده شد و ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی در فاز لگاریتمی (جمعیت میکروبی تقریبی 10^5 CFU/ml) اضافه شد و پس از ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم خانه گذاری با توجه به کدورت محلول، رقت سازی و جهت شمارش تعداد میکروب‌ها در تریپتوز سوی آگار کشت داده شدند [۲].

۲-۳- آنالیز آماری

در این تحقیق نتایج بررسی حاصل از رشد باکتریایی در محیط کشت مایع با استفاده از نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح آماری ۵ درصد انجام گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ترکیبات شیمیایی اسانس آویشن شیرازی

بر اساس طیف‌سنجی جرمی انجام شده ۱٤ ترکیب تشکیل‌دهنده اسانس آویشن شیرازی شناسایی و در جدول ۱ خلاصه شد.

2-Minimal Bactericidal Concentration (M.B.C)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

جدول ۱ ترکیبات قابل شناسایی اسانس آویشن شیرازی با استفاده از طیف سنج جرمی

ترکیب	مقدار (٪)	شاخص بازداری
توژن	۰/۲۹	۹۳۰
آلفا پینن	٤/۲٦	۹۳۷
بتا پینن	۰/٦	۹۷٦
بتا میرسین	۰/۸۵	۹۸۵
پی‌سیمن	۳/۲۷	۱۰۲٤
گاما ترپنین	۷/۱٤	۱۰۵۵
آلفا ترپینن	۲/۲۳	۱۰٦۱
لینالول	۱/٦۳	۱۰۹۰
آلفا تریپینول	۰/۷۷	۱۲۰۹
تیمول متیل استر	۱/٤۷	۱۲۳٦
کارواکرول متیل استر	۳/٤۹	۱۲٤۳
کارواکرول	۳۷/۲۲	۱۳۱٤
تیمول	۲۸/٤۱	۱٤۱۸
گلوبوبول	۲/۳۲	۱۵۸۲
مجموع	۹۳/۹۵	-

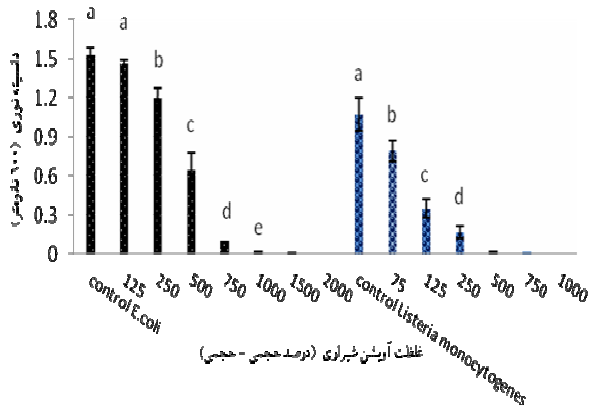
مشتقات فنیل پروپانوئیدها بیش‌ترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس آویشن شیرازی بودند. کارواکرول (۳۷/۲۲ درصد) بیش‌ترین ترکیب شناسایی شده و. پس از آن تیمول (۲۸/٤۱ درصد)، گاماترپینن (۷/۱٤ درصد) و آلفاپینن (٤/۲٦درصد) بودند .خواص ضد میکروبی آویشن و پونه کوهی به حضور ترکیبات فنلی به ویژه تیمول و کارواکرول بستگی دارد [۸، ۲۳ و ۲٤]. اختلاف فراوانی این ترکیبات در اسانس استخراج شده می‌تواند ناشی از تأثیر منطقه جغرافیایی، سن گیاه، روش خشک کردن و استخراج اسانس باشد [۸] که در این خصوص می‌توان به آنالیز ترکیبات شناسایی شده از اسانس آویشن شیرازی استان یزد (٦۱/۲۹ درصد کارواکرول و ۲۵/۱۸ درصد تیمول) و اسانس آویشن شیرازی استخراج شده از استان فارس (کارواکرول ۷۱/۱۲ درصد و فاقد تیمول) اشاره کرد [۲۵]. هم چنین مرادی و همکاران (۲۰۱۳) نیز مهم‌ترین ترکیبات شناسایی شده اسانس آویشن شیرازی استان فارس را تیمول (٦٤/۸۷ درصد) و کارواکرول (٤/٦۵ درصد) گزارش کردند [۳]. نظر به تأثیر تغییرات کمی و کیفی اسانس استخراج شده گیاهان بر خواص ضد میکروبی، شناسایی دقیق از حیث گیاه‌شناسی و استاندارد کردن روش استخراج از نکات مهم است [۲۳ و ۲٦]. در غیر این صورت مقایسه نتایج به دست آمده از اسانس‌های گیاهی با مشکل روبرو خواهد گردید [۸]. اسانس گونه‌های مختلف آویشن بر اساس مونوترپن غالب آن‌ها در سه تیپ تیمولی، کارواکرولی یا تیپ تیمولی- کارواکرولی طبقه‌بندی می‌شوند [۲۷ و ۲۸]. لذا بر اساس ترکیبات شناسایی شده، در تحقیق حاضر اسانس آویشن شیرازی در تیپ کارواکرولی- تیمولی طبقه‌بندی شد. علاوه بر ترکیبات اشاره شده در فوق اثرات ضد میکروبی آلفا پینن و لینالول بر *اشرشیا کلای*، *باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس ارئوس* گزارش شده است [۲۹] که در تحقیق حاضر نیز آلفا- پینن و لینالول حدود ۵/۸٦ درصد از اسانس را تشکیل داده که به نوبه خود می‌تواند بر خواص ضد میکروبی اسانس موثر باشد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

۳-۲- تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل کشندگی اسانس آویشن شیرازی

علی‌رغم استفاده از مواد نگهدارنده برای کنترل میکروارگانیسم‌های عامل فساد و عفونت مواد غذایی، امنیت غذایی چالشی مهم در صنعت است. در حال حاضر استفاده از مواد نگهدارنده طبیعی جایگزین سالم و مناسب برای مواد شیمیایی می‌باشند. نظر به اثرات ضد باکتریایی قوی‌تر اسانس آویشن شیرازی در مقایسه با دارچین، میخک و پونه کوهی که حداقل غلظت بازدارندگی بیش‌تر و حداقل کشندگی کم‌تری در مقابل *لیستریا مونوسایتوژنز* و *اشرشیا کلای* نشان داده‌اند [۳۰]. لذا در تحقیق حاضر این اسانس مناسب تشخیص داده شد.

بر اساس جذب نوری ناشی از رشد *لیستریا مونوسایتوژنز* و *اشرشیا کلای* در رقت‌های مختلف اسانس آویشن (شکل ۱)، حداقل غلظت بازدارندگی تعیین گردید. همان طوری که مشاهده می‌شود حداقل غلظت بازدارندگی اسانس آویشن شیرازی در برابر *لیستریا مونوسایتوژنز* و *اشرشیا کلای* به ترتیب ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم در لیتر بود.



شکل ۱ متوسط جذب نوری مربوط به رشد *لیستریا مونوسایتوژنز* و *اشرشیا کلای* در غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی آویشن

که این اثر بخشی به ساختار کارواکرول و تیمول، توانمندی این ترکیبات در برقراری پیوندهای هیدروژنی، ترکیب آن‌ها با سایر مونوترپن‌ها نظیر گاماترپنین‌ها و بروز اثرات سینرژیستی نسبت داده می‌شود که در نهایت منجر به بی‌ثباتی غشاء سلولی باکتری می‌گردد [۳۰]. Elizaquivel و همکاران (۲۰۱۳) حداقل غلظت بازدارندگی اسانس آویشن شیرازی (۷۱/۱۲ درصد کارواکرول و ۰/٤٦ درصد کارواکرول متیل اتر) در مقابل *لیستریا مونوسایتوژنز* و *اشرشیا کلای* را به ترتیب ۰/۰۲ و ۰/۰۳ درصد گزارش کردند که بیانگر اهمیت فراوانی کارواکرول در بروز شدت اثرات ضد میکروبی بود [۳۰]. هم چنین ارفا و همکاران (۲۰۰٦) به اثر بخشی قوی‌تر کارواکرول نسبت به اتر متیل آن اشاره کردند [۳۱]. در تحقیق حاضر نیز مقدار کارواکرول متیل اتر (۱/٤۷ درصد) و تیمول متیل اتر (۳/٤۹ درصد) بود که در مقایسه با Elizaquivel و همکاران (۲۰۱۳) بیش‌تر و حداقل غلظت بازدارندگی باکتریایی این اسانس نیز بالاتر تعیین شد [۳۰].

جدول ۲ حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی باکتریایی اسانس آویشن شیرازی

	حداقل غلظت بازدارندگی اسانس آویشن (ppm)	حداقل غلظت کشندگی اسانس آویشن (ppm)
لیستریا مونوسایتوژنز	۵۰۰	۱۰۰۰
اشرشیا کلای	۱۰۰۰	۲۰۰۰

۳-۳-خواص ضد میکروبی بخار اسانس آویشن شیرازی

نتایج حاصل از تأثیر بخار اسانس در محیط جامد در جدول ۳ نشان داده شده است.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

جدول ۳ تأثیر مقدار اسانس آویشن شیرازی بر مهار رشد باکتریایی در فاز بخار

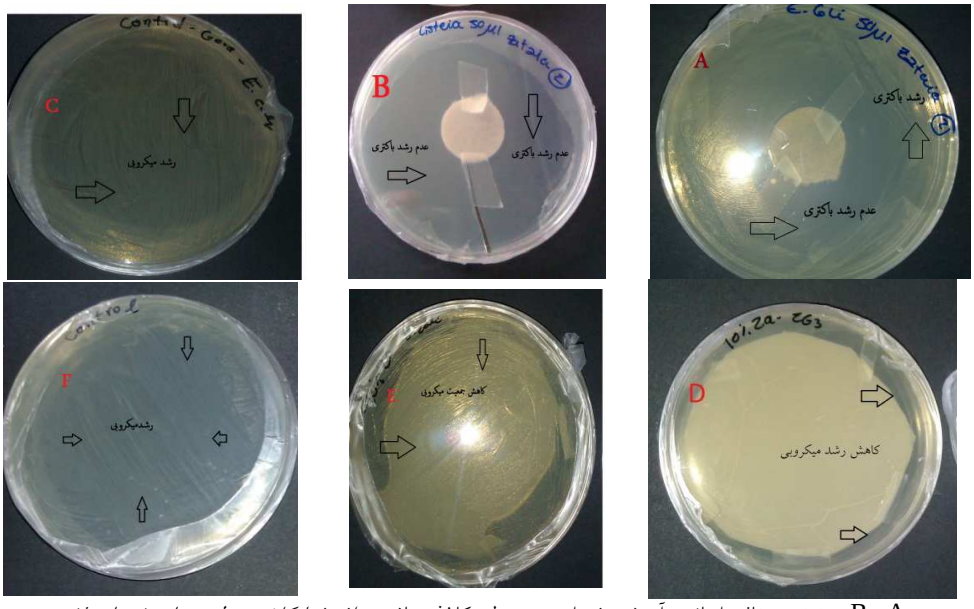
	محدوده بازدارندگی (سانتی‌متر)	
اسانس آویشن شیرازی (میکرولیتر)	*لیستریا مونوسایتوژنز*	*اشرشیا کلای*
دارای محدوده بازدارندگی	دارای محدوده بازدارندگی*	۲۵
دارای محدوده بازدارندگی	۷/۲۵±۰/۱۷	۵۰
۷/۵±۰/۵۹	۵/۵± ۰/۵۲	۷۵
۸/۷۵± ۰/٤٦	۸/۷۵± ۰/۳۲	۱۰۰

*کاهش قابل مشاهده در دانیسته میکروبی در سطح پلیت

بیش‌ترین محدوده بازدارندگی باکتریایی ناشی از بخار اسانس در غلظت ۱۰۰ میکرولیتر مشاهده شد. محدوده بازدارندگی بخار حاصل از ۷۵ میکرولیتر اسانس در برابر *لیستریا مونوسایتوژنز* (۷/۵±۰/۵۹ سانتی‌متر) بیش‌تر از *اشرشیا کلای* (۵/۵±۰/۵۲ سانتی‌متر) بود. حداقل غلظت لازم اسانس برای بروز اثرات ضد میکروبی در برابر *اشرشیا کلای* بیش از ۵۰ میکرولیتر بود. گزارش Tajkarimi, و همکاران (۲۰۱۰) حاکی از تأثیر غلظت اسانس در اثر بخشی ضد باکتریایی بخار در محیط جامد بود [۳۲] که با نتایج تحقیق حاضر مبنی بر افزایش ۵۹ درصدی قدرت بازدارندگی بخار اسانس بر *اشرشیا کلای* با افزایش غلظت اسانس از ۵۰ به ۱۰۰ میلی‌لیتر در محیط جامد مطابقت داشت.

در ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس‌ها در تماس مستقیم با محیط جامد، ضریب نفوذپذیری و قدرت انحلال آن‌ها و در تماس غیر مستقیم اسانس با محیط جامد، میزان فراریت ترکیبات اسانس تعیین‌کننده شدت اثر خواهد بود [۳۲]. اثرات ضد باکتریایی فاز بخاراسانس مرکبات [۲ و۳۲] و پونه کوهی [۲] مورد بررسی قرار گرفته است. بر اساس تحقیق این محققان حداقل غلظت بخار اسانس پونه کوهی (۵۰ میلی‌گرم) برای بروز بازدارندگی کامل باکتریایی در مقایسه با اسانس مرکبات (۷ میلی‌گرم) بیش‌تر بود [۲]. لذا با مقایسه نتایج حاصل از این تحقیق با گزارشات فوق می‌توان بیان داشت که حداقل غلظت مورد نیاز اسانس آویشن شیرازی برای بروز اثرات بازدارندگی در تماس فاز بخار نسبت به اسانس مرکبات و پونه کوهی بالاتر بود. همان‌طوری که در شکل ۲ و جدول۳ مشاهده می‌شود، *لیستریا مونوسایتوژنز* در مقایسه با *اشرشیا کلای* از حساسیت بیش‌تری در برابر اسانس برخوردار بود. در تفسیر علت این پدیده می‌توان به حضور دیواره لیپو پلی‌ساکاریدی در باکتری‌های گرم منفی اشاره کرد که از ورود ترکیبات فعال به غشاء سیتوپلاسمی ممانعت به عمل می‌آورد [۳۳].

شکل۲ تأثیر اسانس آویشن شیرازی بر سطح دیسک کاغذی و در ترکیب فیلم زیست فعال زئین



A , B به ترتیبت تاثیر اسانس آویشن شیرازی بر سطح کاغذ صافی بر *اشرشیا کلای* و *لیستریا مونوسایتوژنز*

D , E به ترتیب تأثیر اسانس آویشن شیرازی در فیلم زئینی بر *اشرشیا کلای* و *لیستریا مونوسایتوژنز*

F, C به ترتیب *اشرشیا کلای* و *لیستریا مونوسایتوژنز* (شاهد میکروبی)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

هم‌چنین وجود آنزیم‌های موجود در فضای پری‌پلاسمیک در باکتری‌های گرم منفی سبب شکستن ترکیبات ضد میکروبی و جلوگیری از ورود آن به درون سلول می‌گردد. این در حالی است که باکتری‌های گرم مثبت فاقد فضای پری پلاسمیک هستند و ترکیبات ضد میکروبی به آسانی سبب تخریب دیواره سلول و غشاء سیتوپلاسمی و خروج سیتوپلاسم از سلول می‌گردد [۳۳].

۳-٤- خواص ضد میکروبی بخار اسانس در ترکیب فیلم زیست فعال زئین

ترکیبات ضد میکروبی فرار از طریق مهاجرت در فضای موجود در بسته‌بندی و ترکیبات ضد میکروبی غیر فرار به صورت مواد حل شونده در تماس بین ماده بسته‌بندی و غذا می‌توانند اثرات ضد میکروبی بروز دهند [۳٤]. همان‌طوری که در جدول ٤ مشاهده می‌شود، بخار اسانس فیلم زیست فعال زئین در غلظت ۵ درصد و به قطر ٤ سانتی‌متری، فاقد فعالیت ضد باکتریایی بود و افزایش غلظت اسانس (۱۰ درصد) و سطح مقطع فیلم (۸ سانتی‌متر) سبب کاهش دانسیته میکروبی در مقایسه با نمونه شاهد گردید (شکل ۲). فیلم زیست کامپوزیت زئین بدون اسانس نیز فاقد هر گونه فعالیت ضد باکتریایی بود. نتایج به دست آمده از این تحقیق با گزارش Muriel-Galet و همکاران (۲۰۱۲) مبنی بر افزایش شدت ضد میکروبی فاز بخار فیلم زیست فعال اتیلن‌وینیل‌الکل در مقایسه با اسانس در دیسک‌های کاغذی مطابقت نداشت [۲]. این محققان بستر الحاق اسانس را در قدرت فراریت و انتشار آن مهم معرفی کردند.

جدول ٤ تأثیر غلظت اسانس آویشن شیرازی در فیلم زیست کامپوزیت زئین بر مهار رشد باکتریایی در فاز بخار

محدوده بازدارندگی				
فیلم حاوی ۱۰٪ اسانس	فیلم حاوی ۵٪ اسانس	فیلم فاقد اسانس	نوع میکروارگانیسم	قطر فیلم
-	-	-	*لیستریا مونوسایتوژنز*	٤ سانتی‌متر
-	-	-	*اشرشیا کلای*	
دارای محدوده بازدارندگی*	-	-	*لیستریا مونوسایتوژنز*	۸ سانتی‌متر
دارای محدوده بازدارندگی	-	-	*اشرشیا کلای*	

*کاهش قابل مشاهده در دانسیته میکروبی در سطح پلیت

بدین مفهوم که دیسک‌های کاغذی با جذب ترکیبات اسانس سبب کاهش فعالیت ضد میکروبی در فاز تبخیر اسانس در مقایسه با فیلم آب دوست اتیلن‌وینیل‌الکل فعال گردیده است؛ لذا با استناد به تحلیل فوق کاهش فعالیت ضد میکروبی اسانس آویشن در ترکیب با فیلم زئین را می‌توان به ماهیت آب گریز این بسپار در مقایسه با دیسک‌های کاغذی و بسپار اتیلن وینیل الکل نسبت داد. بنابراین در بسپارهای آب گریز ضمن در نظر گرفتن سطح قابل پذیرش اسانس از لحاظ حسی، افزایش غلظت اسانس برای بهبود اثرات ضد میکروبی از طریق فاز بخار ضروری به نظر می‌رسد.

۳-۵- خواص ضد میکروبی فیلم زیست فعال زئین در محیط مایع

با توجه به عدم کارائی لازم بخار اسانس آویشن در ترکیب فیلم زئین در برابر باکتری‌های مورد بررسی، در این تحقیق اثر ضد میکروبی فیلم فعال زئین در تماس مستقیم با محیط مایع در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد ارزیابی شد. همان‌طوری که در جدول ۵ مشاهده می‌شود.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

جدول ۵ اثرات ضد میکروبی فیلم زیست فعال زئین حاوی ۵ و ۱۰٪ اسانس آویشن شیرازی بر *لیستریا مونوسیتوژنز* و *اشرشیا کلای* بیان شده با لگاریتم تعداد واحد کلنی *(Log(CFU)* و اندیس کاهش لگاریتمی (LRV)

	لیستریا مونوسایتوژنز		*اشرشیا کلای*	
	Log CFU/ml	LRV	Log CFU/ml	LRV
شاهد میکروبی (A)*	۹/۰۶±۰/۰۲	–	۹/۱۱±۰/۳۶	–
۵٪ اسانس آویشن	۷/۸۹±۰/۱۱	۱/۱۷[a]	۷/۹۷±۰/۱۲	۱/۱٤[a]
شاهد میکروبی (B)	۸/۹۵±۰/۰۳	–	۹/۵۱±۰/۳۳	–
۱۰٪ اسانس آویشن	٦/۸۱±۰/۰۵	۲/۱٤[b]	٦/۸۵±۰/۵۹	۲/٦٦[b]

* شاهد میکروبی A و B به ترتیب نمونه کنترل بار میکروبی فیلم حاوی ۵ و ۱۰٪ اسانس آویشن شیرازی

**حروف غیرمشابه در یک ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است (P <۰/۰۵)

جمعیت *اشرشیا کلای* (شاهد) Log (CFU/ml) ۹/۰٦±۰/۰۲ و *لیستریا مونوسایتوژنز* (شاهد) Log (CFU/ml) ۹/۱۱±۰/۳٦ بود. اندیس کاهش لگاریتمی[1] فیلم زیست فعال زئین حاوی ۵ درصد اسانس در برابر *لیستریا مونوسایتوژنز* و *اشرشیا کلای* به ترتیب ۱/۱۹ و ۱/۱٤ لگاریتم بود. اندیس کاهش لگاریتمی فیلم زیست فعال زئین با افزایش غلظت اسانس به ۱۰ درصد در برابر *لیستریا مونوسایتوژنز* و *اشرشیا کلای* افزایش معنی‌داری نشان داد. در تطابق یافته‌های این تحقیق با سایر محققان می‌توان به کاهش جمعیت *لیستریا مونوسایتوژنز* و *اشرشیا کلای* در فیلم اتیلن وینیل الکل حاوی ۱۰ درصد اسانس پونه کوهی [۲] و ۷/۵ درصد عصاره کاکائو [۳۵] در محیط مایع اشاره کرد. مقایسه اندیس کاهش لگاریتمی تحقیق حاضر با گزارش Calatayud و همکاران (۲۰۱۳) حاکی اثر بخشی بیش‌تر اسانس آویشن شیرازی در مقایسه با عصاره کاکائو بود [۳۵]. هم‌چنین مقایسه شدت کاهش لگاریتمی حاصل از این تحقیق و یافته‌های مولر گلت و همکاران (۲۰۱۲) نشان دهنده نقش نوع بسپار بر میزان رهایش ماده مؤثره و شدت کاهش جمعیت میکروبی بود. بدین مفهوم که اسانس موجود در ترکیب بااتیلن‌وینیل‌الکل با ماهیت آب دوستی در مقایسه با زئین، آسان‌تر به محیط مایع اطراف نفوذ می‌نماید و کاهش اندیس لگاریتمی در سطح بالاتری قرار داشت.

۳- نتیجه گیری

فعالیت ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی در برابر *لیستریا مونوسایتوژنز* و *اشرشیا کلای* بر اساس رهایش ترکیبات موثر در محیط مایع و تبخیر اسانس در محیط جامد مطلوب بود. *لیستریا مونوسایتوژنز* در مقایسه با *اشرشیا کلای* از حساسیت بیش‌تری در برابر اسانس آویشن شیرازی برخوردار بود. غلظت اسانس مصرفی در بهینه‌سازی تولید فیلم ضد میکروبی بر پایه زئین به مراتب بیش‌تر از نتایج ارزیابی ضد باکتریایی اسانس بود. پتانسیل ضد میکروبی فیلم زیست فعال زئین بر پایه بخار اسانس آویشن شیرازی در محیط جامد مطلوب نبود؛ لذا در گسترش بسته‌بندی فعال برای کنترل باکتری‌های بیماری‌زا با تکیه بر تکنولوژی هردل، تماس مستقیم فیلم بسته‌بندی با ماده غذایی ضروری بود. فیلم زیست کامپوزیت فعال زئین از خواص ضد میکروبی خوبی در محیط مایع برخوردار بود. با توجه به اهمیت کاربردی کاهش جمعیت باکتریایی در بسته‌بندی مواد غذایی در تضمین امنیت غذایی، افزایش غلظت اسانس آویشن (۱۰ درصد) در فیلم زئین بسیار اثر بخش ارزیابی شد. اسانس آویشن در ترکیب با فیلم زئین، جایگزین مناسبی برای پاسخ به نگرانی‌های مصرف کنندگان و افزایش ارتقاء کیفیت مواد غذایی معرفی می‌گردد.

[1] Log Reduction Value (L.R.V)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

٤- سپاسگزاری

از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و اعضای گروه تحقیقاتی بخش بسته‌بندی IATA والنسیا جهت حمایت‌های خالصانه آن‌ها در اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد.

٥- منابع

[1] Guarda, A., Rubilar, J. F. Miltz, J. and Galotto, M. J. 2011. The antimicrobial activity of microencapsulated thymol and carvacrol. International Journal of Food Microbiology. 146: 144–150.

[2] Muriel-Galet, V., Cerisuelo, J. P., Lopez-Carballo, G., Lara, M., Gavara, R. and Hernandez-Munoz, P. 2012. Development of antimicrobial films for microbiological control of packaged salad. International Journal of Food Microbiology. 157: 195–201.

[3] Moradi, M., Tajik, H., Razavi. M., Rohani, S. M., Oromiehie, A. R, Malekinejad, .H., Aliakbarlu, J. and Hadian, M. 2012. Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with *Zataria multiflora* Boiss essential oil and grape seed extract. Food Science and Technology. 46: 477–484.

[4] Aguirrea, A., Borneoa, R. B. and Leon, A. E. 2013. Antimicrobial, mechanical and barrier properties of triticale protein films incorporated with *oregano essential* oil. Food Bioscience. 1: 2–9.

[5] Rasooli, I. and Mirmostaf, S. A. 2002. Antimicrobial properties of *Thymus pubscens*, *Thymus sepylum* essential oils. Fitoterapia. 73: 244– 250.

[6] Salarbashi, D., Tajik, S., Aliabadi, S. S., Ghasemlou, M., Moayyed, H., Khaksar, R. and Shahidi Noghabi, M. 2014. Development of new active packaging film made from a soluble soybean polysaccharide incorporated *Zataria multiflora* Boiss and *Mentha pulegium* essential oils. Food Chemistry. 146: 614–622.

[7] Razavilar, V., Akhoundzadeh Basti, A., Abbasifar, R. and Radmehr, B. 2006. Effect of *zataria multiflora* Boiss essential oil, acetic acid, temperature and storage time on probable growth of *salmonella typhimurium* in Brain heart infusion broth. Journal of veterinary research. 61(2): 135–141.

[8] Bagamboula, C. F., Uyttendaele, M. and Debevere, J. 2004. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*. Food Microbiology. 21: 32–42.

[9] Abdollahzadeh, E., Rezaei, M. and Hosseini, H. 2014. Antibacterial activity of plant essential oils and extracts: The role of *thyme essential oil*, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish meat. Food Control. 35: 177–183.

[10] Suhr, K. I. and Nielsen P. V. 2003. Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. Journal of Applied Microbiology. 94: 665–674.

[11] Aliabadia, S. S., Hosseini, H., Mohammadifar, M. A., Mohammadi, A. and Ghasemlou, M. 2014. Characterization of k-carrageenan films incorporated plant essential oils with improved antimicrobial activity. Carbohydrate Polymers. 101: 582–591.

[12] Zinoviadou, K. G., Koutsoumanis, K. P. and Biliaderis, C. G. 2009. Physical and thermo-mechanical properties of whey protein isolate films containing antimicrobials, and their effect against spoilage flora of fresh beef. Food Hydrocolloids. 24: 49–59.

[13] Hosseini, S. F., Rezaei, M., Zandi, M. and Farahmand Ghavi, F. 2013. Preparation and functional properties of fish gelatin–chitosan blend edible films. Food Chemistry. 136: 1490–1495.

[14] Rubilar, J. F., Cruz, R. M. S., Silva, H. D., Vicente, A., AKhmelinskii, I. and Vieira, M. C. 2013. Physico-mechanical properties of chitosan films with carvacrol and grape seed Extract. Journal of Food Engineering. 115: 466–474.

[15] Lopez, P., Sanchez, C., Batlle, R. and Nerin, C. 2011. Solid-and vapor-phase antimicrobial activities of six essential oils: Susceptibility of selected food borne bacterial and fungal strains. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53(17): 6939–6946.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

spices, Vol. II. Wood head Publishing, Cambridge, England.

[28] Pina-Vaz, C., Rodrigues, G. R, Pinto, E., Costa-de-Oliveira, S., Tavares, C., Salguerio, L., Cavalerio, C., Goncalves, M. J. and Martinez-de-Oliveira, J. 2004. Antifungal activity of Thymus oils and their major compounds. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. 18: 73–78.

[29] Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A. and Cliver, D. O. 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. Food Control. 21: 1199–1218.

[30] Elizaquivel, P., Azizkhani, M., Sanchez, G. and Aznar, Rosa. 2013. Evaluation of *Zataria multiflora* Boiss essential oil activity against *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* by propidium monoazide quantitative PCR in vegetables. Food Control. 34: 770–776.

[31] Arfa, A. B., Combes, S., Preziosi-Belloy, L., Gontard, N. and Chalier, P. 2006. Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. Letters in Applied Microbiology, 43: 149–154.

[32] Tyagi, A. and Malik, A. 2010. Antimicrobial action of essential oil vapors and negative air ions against *Pseudomonas fluorescens.* International Journal of Food Microbiology. 143*:* 205–210.

[33] Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I. and Jovin, E. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., *Lamiaceae*) essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 55(19): 7879–7885.

[34] Shan, B., Cai, Y., Brooks, J. D. and Corke, H. 2007. Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (*Cinnamomum burmannii*): activity against foodborne pathogenic bacteria. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 55 (14): 5484–5490.

[35] Calatayud, M., Lopez-de-Dicastillo, M., Lopez-Carballo M., Velez, D., Hernandez Munoz, P. and Gavara, R. 2013. Active films based on cocoa extract with antioxidant, antimicrobial and biological applications. Food Chemistry. 139: 51–58.

[16] Quintavalla, S. and Vicini, L. 2002. Antimicrobial food packaging in meat industry. Meat Science. 62: 373–380.

[17] Yin, Y. C., Yin, S. W., Yang, X. W., Tang, C. H., Wen, S. H., Chen, Z., Xiao, B. j. and Wu, L. Y. 2014. Surface modification of sodium caseinate films by zein coatings. Food Hydrocolloids. 36: 1–8.

[18] Anon., 2011. http://www.en.european-bioplastics.org/market.

[19] Shen, L., Worrell, E. and Patel, M. 2010. Present and future development in plastics from biomass. Biofuels Bioproduct Biorefin. 4 (1): 25–40.

[20] Kim, S . 2008. Processing and properties of gluten/zein composite. Bioresource Technology. 99 : 2032–2036.

[21] Sessa, D. J., Cheng, H. N., Kim, S., Selling, G. W. and Biswas, G. 2013. Zein-based polymers formed by modifications with isocyanates. Industrial Crops and Products. 43: 106–113.

[22] Shahnazi, S., Khalili Sigaroudi, F., Ajni, Y., Yazdani, D., Ahvazi, M. and taghizad, F. 2007. Investigation of chemical composiotion and antimicrobial properties *Thymus trautvetteri* essential oil. Journal of Medicinal Plants, 23: 80–88.

[23] Cosentino, S., Tuberoso, C. I. G., Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi, E. and Palmas, F. 1999. In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils. Letters in Applied Microbiology. 29:130–135.

[24] Davidson, P. M. and Naidu A. S. 2000. Phyto-phenols, p. 265-294, In Naidu AS, ed. Natural Food Antimicrobial Systems. CRC Press, Boca Raton, FL.

[25] Burt, S. A. and Reinders, R. D. 2003. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. Letters in Applied Microbiology. 36: 162–167.

[26] Misaghi, A. and Akhondzadeh Basti, A. 2007. Effects of *Zataria multifora* Boiss essential oil and nisin on *Bacillus cereus ATCC 11778.* Food Control. 18: 1043–1049.

[27] Stahl-Biskup, E. 2004. Thyme, p. 297-318, In Peter KV, ed. Handbook of herbs and

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]

Evaluation antibacterial activity of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil and Zein bioactive film

Kashiri, M. [1*], Maghsoudlou, Y. [1], Khomeiri, M. [2], Behrooz, R. [2]

1. Department of Food Science and Technology, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
2. Department of wood Science and Technology, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.

(Received: 92/10/23 Accepted: 93/4/8)

With the aim of using plant essential oils (EOs) as natural antibacterial in the bioactive zein film, the chemical composition of *Zataria multiflora Boiss*. was analyzed by GC–MS. Minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of *Zataria multiflora* EOs were evaluated against for *Listeria monocytogenes* and *Escherchia coli* by using the method of micro-well dilution and head space phase. Zein based films containing 5 and 10 % of *Zataria multiflora* Boiss. (ZEO) were developed. The antimicrobial activity of the films was investigated in a vapor phase and liquid media. Carvacrol and thymol were detected as the major components. MIC and MBC were obtained from above components against for *Listeria monocytogenes* (500 µg/l and 1000 respectively) compared to *Escherchia coli* were more effective. *Listeria monocytogenes* was more sensitive to ZEO on vapors phase. A highest inhibition zone was observed against for *Listeria monocytogenes* by incorporating 10% (v/v) ZEO in the vapor phase. zein film containing 5% ZEO had no inhibitory ability on bacteria in addition to in concentration of 10% just reduced the density of bacteria, Log reduction value of bioactive film of zein against *Listeria monocytogenes and Escherchia coli* were increased the direct-contact. These results revealed that ZEO as natural food additive has good potential to be incorporated into zein to make antimicrobial for food applications.

Key words: Antimicrobial packaging, Zein, Essential oil

* Corresponding Author E-Mail Address:

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-14]