

مطالعه ترکیب شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی اسانس های پونه کوهی (*Mentha longifolia* L.) و زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) در سوپ

محمد رضا پژوهی الموتی^۱، حسین تاجیک^{۲*}، افشین آخوندزاده^۳، حسن گندمی
نصر آبادی^۴، علی احسانی^۵

۱- استادیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا
۲- استادیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه
۳- استادیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
۴- استادیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
۵- استادیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه
(تاریخ دریافت: ۸۸/۱۲/۱۱ تاریخ پذیرش: ۸۹/۳/۱۹)

چکیده

امروزه تمایل زیادی به استفاده از اسانس های گیاهی بعنوان محافظت کننده های طبیعی در مواد غذایی وجود دارد. شناسایی ترکیبات اسانس ها و بررسی فعالیت ضد میکروبی آنها در مدل های غذایی برای دست یابی به غذای سالم و مطمئن رو به افزایش است. هدف از این مطالعه ارزیابی ترکیب شیمیایی اسانس گیاهان پونه کوهی و زیره سبز و بررسی تأثیر آنها روی فرم رویشی باکتری های *باسیلوس سرئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* در یک مدل غذایی می باشد. پس از استخراج اسانس های مورد مطالعه به کمک دستگاه کلونجر، ترکیب شیمیایی آنها توسط دستگاه GC/MS تشریح شد. سپس میزان بقای فرم رویشی باکتری های *باسیلوس سرئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* تحت تأثیر غلظت های مختلف اسانس های مورد مطالعه به مدت ۱۵ روز گرمخانه گذاری در دو دمای ۸ و ۲۵ درجه سانتی گراد در سوپ جو تجاری بررسی گردید و در ادامه پذیرش حسی اسانس های مورد مطالعه مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که پولگون با ۳۱/۵۴ درصد و کومین آلدئید با ۲۹/۰۲ درصد به ترتیب بیشترین ترکیبات اسانس پونه کوهی و زیره سبز را تشکیل می دادند. اسانس های مورد مطالعه در دمای ۸ درجه سانتی گراد اثر معنی داری در کاهش لگاریتم تعداد باکتری های مورد مطالعه داشتند. کمترین غلظت بکار رفته از هر اسانس نسبت به گروه کنترل مانع از رشد باکتری های مورد مطالعه شد. اسانس زیره سبز نسبت به اسانس پونه کوهی در غلظت های مشابه فعالیت ضد میکروبی بیشتری بر روی باکتری های مورد مطالعه داشت. باکتری *باسیلوس سرئوس* حساسیت بیشتری را نسبت به اسانس های مورد مطالعه در مقایسه با *باسیلوس سوبتیلیس* از خود نشان داد. غلظت $0.15 \mu\text{g ml}^{-1}$ از اسانس های مورد مطالعه بیشترین پذیرش حسی را داشت. نتایج این مطالعه نشان دهنده اثر ضد میکروبی اسانس های زیره سبز و پونه کوهی در مدل غذایی می باشد و می توان از این اسانس ها بطور مطلوبی در برخی از مواد غذایی بدون ایجاد اثرات حسی و طعمی نامطلوب استفاده کرد.

کل واژگان: پونه کوهی، زیره سبز، *باسیلوس سرئوس*، *باسیلوس سوبتیلیس*، مدل غذایی، سوپ.

* مسئول مکاتبات: H.tajik@urmia.ac.ir

۱- مقدمه

علیرغم وجود تکنیک‌های بسیار گسترده نگهداری مواد غذایی، پاتوژن‌های غذازاد هنوز بعنوان یک مشکل بزرگ در صنعت مواد غذایی مطرح می‌باشند. برخی از این تکنیک‌ها مناسب بوده اما بسیاری از آنها سبب کاهش تمایل مصرف کننده به استفاده از این محصولات و نیز افزایش مقاومت پاتوژن‌ها در محیط شده است [۱]. باسیلوس‌ها باکتری‌های گرم مثبت، میله‌ای اسپورزا با گسترش همه‌جایی می‌باشند. باسیلوس سرئوس از جمله پاتوژن‌های غذازاد بوده که علاوه بر مسمومیت غذایی، عامل فساد مواد غذایی نیز می‌باشد [۲]. این باکتری انواع مختلفی توکسین تولید می‌کند که با دو سندرم اسهال‌زا و استفراغ‌آور همراه است. باسیلوس سوبتیلیس نیز بعنوان یک باکتری فسادزا در مواد غذایی، همچون باسیلوس سرئوس می‌تواند توکسین مقاوم به حرارتی تولید کند که علایم آن مشابه سندرم استفراغ‌آور باسیلوس سرئوس باشد [۳ و ۴]. خطر آلودگی و مسمومیت با این باکتری‌ها بیشتر در مواد غذایی دیده می‌شود که اجزاء اصلی آنها را سبزیجات و غلات تشکیل داده و تیمار حرارتی نا کافی روی آنها اعمال شده باشد [۵]. از آنجایی که سلامت نگهدارنده‌های شیمیایی در سال‌های اخیر مورد تردید واقع شده، تقاضا برای استفاده از ترکیبات طبیعی بعنوان محافظت کننده‌های جایگزین در مواد غذایی رو به افزایش است. استفاده از مواد ضد میکروبی طبیعی در سامانه‌های غذایی علیه باکتری‌های پاتوژن و کاستن از فرایند‌های شیمیایی و فیزیکی مرسوم نگهداری مواد غذایی توجه فراوانی را به خود جلب کرده است [۶-۸]. اسانس‌های گیاهی از جمله ترکیبات طبیعی می‌باشند که امروزه هم بعنوان طعم‌دهنده مواد غذایی و هم بعلاوه تأثیر ضد میکروبی شان کاربرد فراوانی پیدا کرده‌اند [۹]. مطالعه‌های متعددی در ارتباط با بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی در مواد غذایی مختلف صورت

گرفته است [۷، ۸ و ۱۰]. گیاه پونه کوهی^۲ از جنس *Mentha* L. در خانواده Lamiaceae قرار دارد. اساساً بصورت وحشی در مکان‌های مرطوب مانند حاشیه رودخانه‌ها روییده و در سراسر مناطق معتدله نواحی مرکزی و جنوب اروپا، جنوب غربی آسیا و استرالیا رشد می‌کند. برگ، گل و ساقه گونه‌های پونه در چای‌های گیاهی یا بعنوان افزودنی در مخلوط‌های ادویه‌های تجارتي برای طعم دادن به غذاها استفاده می‌شود. این گیاه در طب سنتی برای درمان تهوع، برونشیت، نفخ و بی‌اشتهایی بکار گرفته می‌شود [۱۱ و ۱۲]. زیره سبز^۳ از خانواده Apiaceae بوده و از زمان‌های قدیم بعنوان ادویه و داروی طب سنتی بخوبی شناخته شده است. گیاه زیره سبز بطور وحشی در نواحی وسیعی با آب و هوای مدیترانه‌ای می‌روید. بیشترین ترکیبات شناخته شده اسانس دانه زیره سبز شامل کومین آلدهید، مشتقات متون، گاما تریپنین و پاراسیمن می‌باشد که مسئول بو و اثرات بیولوژیکی آن می‌باشند [۱۳]. اگرچه اکثریت اسانس‌ها بعنوان افزودنی‌های بی‌خطر^۴ طبقه‌بندی می‌شوند اما غلظت‌های موثر آنها از مقادیر پذیرش حسی در مواد غذایی تجاوز می‌کند. به همین دلیل کاربردشان در مواد غذایی بعنوان محافظت کننده بدلیل تأثیرات نامطلوب در خصوصیات حسی غذا محدود می‌شود [۱۴]. بنابراین تقاضا برای شناخت صحیح مقادیر موثر و کاربردی اسانس‌ها همراه با ایجاد تعادل بین پذیرش حسی و تأثیر ضد میکروبی آنها رو به افزایش بوده و تحقیقات گسترده‌ای بر روی اسانس‌ها در مواد غذایی مختلف صورت گرفته است [۱۰، ۱۵ و ۱۶]. هدف از این مطالعه ارزیابی ترکیب شیمیایی اسانس پونه کوهی و زیره سبز و همچنین بررسی فعالیت ضد میکروبی آنها در دماهای ۸ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد بر روی فرم رویشی باکتری‌های باسیلوس سرئوس و باسیلوس سوبتیلیس در سوپ جو تجارتي بعنوان یک مدل غذایی می‌باشد.

2. *Mentha longifolia* L.
3. *Cuminum cyminum* L.
4. General Recognized as Safe

1. Essential oil

۲- مواد و روش کار

۲-۱- استخراج اسانس

روغن فرار گیاه خشک شده پونه کوهی و دانه زیره سبز پس از تأیید نام علمی توسط گیاه شناس پژوهشکده گیاهان دارویی تهران وابسته به جهاد دانشگاهی، با روش تقطیر با آب در مدت ۳ ساعت و با استفاده از دستگاه کلونجر استخراج شد. میزان بازده اسانس پونه کوهی و زیره سبز به ترتیب برابر ۲/۷ و ۲/۵ درصد وزن خشک گیاه بود. اسانس بدست آمده به کمک سولفات سدیم بدون آب، آبگیری و پس از عبور از میکروفیلتر ۰/۴۵ میکرومتر در ظرف در بسته ای دور از نور خورشید در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد.

۲-۲- گاز کروماتوگرافی - طیف سنج جرمی

برای ارزیابی و شناسایی ترکیبات شیمیایی و غلظت آنها در اسانس های مورد مطالعه از دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) استفاده شد. در این مطالعه دستگاه گاز کروماتوگراف از نوع Agilent 6890 با ستون مویینه به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS با برنامه دمایی ستون در ابتدا بصورت ۵۰ درجه سانتی گراد با توقف ۵ دقیقه در این دما سپس افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سانتی گراد با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، و افزایش دمای ستون تا ۳۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳ دقیقه استفاده شد. دمای اتاق تزریق ۲۹۰ درجه سانتی گراد بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی لیتر در دقیقه استفاده گردید. طیف سنج جرمی مورد استفاده مدل Agilent 5973 با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و شناساگر EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی گراد بود. تشخیص طیف ها به کمک شاخص بازداری آنها و مقایسه آن با شاخص های موجود در کتب مرجع و مقالات و

با استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه رایانه ای صورت گرفت [۱۷].

۲-۳- باکتری های مورد مطالعه

در این مطالعه باکتری های باسیلوس سرئوس ATCC 11778 و باسیلوس سوتیلیس ATCC 6633 تهیه شده از گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران مورد استفاده قرار گرفت. سوسپانسیون فرم روشی باکتری های مورد مطالعه با انتقال باکتری های لیوفیلیزه به محیط آبگوشت قلب و مغز استریل^۱ (Merck, KGaA, Darmstadt, Germany) و گرمخانه گذاری آنها در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۸ ساعت و تجدید کشت آنها برای حداقل دو بار متوالی انجام شد. در ادامه سویه های باکتریایی بر روی محیط آگار شیب دار^۲ BHI (Merck, KGaA) کشت گردیده و در دمای ۴ درجه سانتی گراد برای استفاده در طول آزمایش نگهداری شدند.

۲-۴- تهیه سوسپانسیون باکتریایی

به منظور تهیه و محاسبه میزان تلقیح باکتری های مورد مطالعه برای افزودن به سوپ جو از روش طیف نور سنجی استفاده شد. بدین ترتیب که یک کلونی از کشت باکتری های مورد مطالعه به محیط آبگوشت BHI انتقال داده و به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد این کار حداقل برای دو بار متوالی انجام شد. برای این منظور از سوسپانسیون کشت های باکتریایی رقت های مختلف تهیه شده و بعد از قرائت جذب نوری آنها بوسیله دستگاه طیف نور سنج (Pharmacia LKB-Nova Spacell England) در طول موج ۶۰۰ نانومتر، شمارش باکتریایی به روش کشت سطحی^۳ در محیط آگار صورت گرفته و جذب نوری معادل^۴ CFU/ml^۷ ۱۰ محاسبه

1. Brain Heart Infusion broth (BHI)
2. Streak Brain Heart Infusion agar
3. Spread Plate Count
4. Colony forming unit per milliliter

گردید. بدین ترتیب در هر بار انجام آزمایش سوسپانسیون باکتریایی با جذب نوری محاسبه شده، تهیه و جهت تلقیح در مدل غذایی استفاده گردید.

۲-۵- آماده سازی مدل غذایی

در این مطالعه از سوپ جو تجارتي بعنوان مدل غذایی استفاده گردید. سوپ جو پس از خریداری طبق دستورالعمل کارخانه تولیدکننده، تهیه و آماده سازی شد. سپس نمونه ها در فلاسک های قابل اتوکلاو با حجم ۱۰۰ میلی لیتر توزیع (۵۰ میلی لیتر سوپ جو در هر فلاسک) و استریل شدند. pH سوپ جو تجارتي استریل معادل ۵/۶ بود. پس از افزودن اسانس ها مورد مطالعه در غلظت های (۰/۰۵، ۰/۱۵، ۰/۳۰ و ۰/۴۵ g ml⁻¹)^۱، مقادیر مناسب از سوسپانسیون فرم رویشی باکتری های باسیلوس سرئوس و باسیلوس سوبتیلیس تحت شرایط استریل به داخل فلاسک ها تلقیح شد (تعداد نهایی باکتری در هر نمونه ۱۰^۲ CFU/ml بود که با کشت سطحی تأیید گردید). سپس هر تیمار برای بررسی رشد باکتری های مورد مطالعه، در دو دمای ۸ درجه سانتی گراد (بعنوان دمای نامناسب یخچال) و دمای ۲۵ درجه سانتی گراد (بعنوان دمای محیط)، به مدت ۱۵ روز گرمخانه گذاری شده و در روزهای صفر، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ (بار) جهت شمارش باکتریایی از طریق کشت سطحی بر روی محیط BHI آگار مورد ارزیابی قرار گرفت. تمام آزمایش ها سه بار تکرار گردید [۸].

۲-۶- ارزیابی خصوصیات حسی

برای ارزیابی ویژگی های حسی ناشی از افزودن اسانس پونه کوهی و زیره سبز به سوپ جو از آزمون پذیرش حسی^۱ استفاده گردید. برای این منظور سوپ جو آماده شده به هفت قسمت (شامل ۵۰۰ میلی لیتر سوپ جو در فلاسک ها با حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر) تقسیم گردید، سپس اسانس های مورد مطالعه در

غلظت های مختلف (۰/۰۵، ۰/۱۵، ۰/۳۰ و ۰/۴۵ μg ml⁻¹) به هر فلاسک اضافه شد. ارزیابی حسی بوسیله یک پانل هفت نفره که عمدتاً از کارکنان و اعضای گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه بودند، صورت پذیرفت. اعضای پانل معیار خود از ارزیابی حسی سوپ جو حاوی اسانس را با استفاده از یک مقیاس حسی ۹ نمره ای^۲ مشخص نمودند. در این مقیاس نمره ۹ خیلی عالی، نمره ۸ عالی، نمره ۷ خوب، نمره ۶ نسبتاً خوب، نمره ۵ نه خوب نه بد، نمره ۴ نسبتاً بد، نمره ۳ بد، نمره ۲ خیلی بد و نهایتاً نمره ۱ فوق العاده بد، برای ارزیابی ویژگی های حسی لحاظ گردید [۱۸]. اختلافات در ارزیابی های حسی اسانس های مورد مطالعه با استفاده از تجزیه واریانس (ANOVA) و آزمون LSD^۳ (با استفاده از نرم افزار SPSS 17.0) مورد بررسی قرار گرفت.

۲-۷- تجزیه آماری

اثر اسانس های مورد مطالعه بر روی شمارش باکتریایی توسط تجزیه واریانس (ANOVA) و با استفاده از نرم افزار SPSS 17.0 تحت ویندوز انجام شد. کل آزمایشات سه مرتبه تکرار گردید. حداقل اختلاف معنی دار با $P < 0.05$ مورد پذیرش بود.

۳- نتایج

نتایج تجزیه ترکیب شیمیایی اسانس پونه کوهی و زیره سبز با دستگاه GC/MS به ترتیب در جدول های ۱ و ۲ نشان داده شده است. بیشترین ترکیبات اسانس پونه کوهی را پولگون (% ۳۱/۵۴)، ۸ سینئول (% ۱۵/۸۹) و منتوفوران (% ۱۱/۱۸) و در مورد اسانس زیره سبز کومین آلدهید (% ۲۹/۰۲)، آلفاترپین ۷ آل (% ۲۰/۷) و گاماترپین (% ۱۲/۹۴) تشکیل دادند. تأثیر غلظت های مختلف اسانس پونه کوهی در سوپ جو تجارتي روی شمارش باکتری باسیلوس سوبتیلیس در جدول ۳ نشان داده شده

2. Nine point hedonic scale
3. least significant difference

1. Sensory acceptance test

است. رشد باکتری باسیلوس سوبتیلیس در دمای ۸ درجه سانتی گراد با افزایش مدت زمان نگهداری کاهش پیدا کرد. تمامی غلظت های مورد مطالعه اسانس پونه کوهی اثر معنی داری روی شمارش باکتری داشتند ($P < 0.05$) و با افزایش غلظت اسانس این اثر بازدارندگی بیشتر گردید، بطوریکه لگاریتم تعداد باکتری در روز پنج گرمخانه گذاری در دمای ۸ درجه سانتی گراد تحت تأثیر غلظت $0.45 \mu\text{g ml}^{-1}$ اسانس 0.77 محاسبه شد، در حالی که لگاریتم شمارش باکتری در گروه کنترل در این روز $1/8$ محاسبه شد و تا روز دوازدهم به کمتر از یک نرسید. در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد هیچ یک از غلظت های اسانس پونه کوهی بطور کامل مانع از رشد باسیلوس سوبتیلیس نشد اما در غلظت های بالا شمارش باکتری نسبت به گروه کنترل بطور معنی داری پایین تر بود ($P < 0.05$). در جدول ۴ شمارش باسیلوس سوبتیلیس تحت تأثیر غلظت های مختلف اسانس زیره سبز در سوپ جو تجارتي نشان داده شده است. تأثیر اسانس زیره سبز روی باسیلوس سوبتیلیس با افزایش غلظت اسانس افزایش یافت، اما لگاریتم شمارش باکتری در بالاترین غلظت بکار رفته از اسانس زیره سبز در روز چهارم در دمای ۸ درجه سانتی گراد 0.63 بود. همچنین در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد تنها غلظت های بالای اسانس زیره سبز تأثیر معنی داری را در مهار باکتری از خود نشان دادند. در جدول ۵ تأثیر اسانس پونه کوهی روی لگاریتم شمارش باکتری باسیلوس سرئوس در سوپ جو تجارتي نمایش داده شده است. در دمای ۸ درجه سانتی گراد لگاریتم شمارش باکتری باسیلوس سرئوس در بالاترین غلظت اسانس پونه کوهی در روز چهارم گرمخانه گذاری به 0.49 رسید در حالیکه در گروه کنترل در روز چهارم لگاریتم تعداد باکتری $1/88$ محاسبه شده و تا روز دوازدهم به کمتر از یک نرسید. با افزایش

غلظت اسانس تأثیر مهاری آن روی باسیلوس سرئوس بیشتر نمایان بود. لگاریتم شمارش باکتری در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد در گروه کنترل در روز دوم بالاتر از هفت محاسبه گردید. غلظت های 0.15 و $0.05 \mu\text{g ml}^{-1}$ اسانس اثر چندانی در کاهش رشد باکتری نداشتند، در حالیکه غلظت های 0.30 و $0.45 \mu\text{g ml}^{-1}$ اسانس کاهش معنی داری را در رشد باکتری نسبت به گروه کنترل نشان دادند بطوریکه در غلظت $0.45 \mu\text{g ml}^{-1}$ اسانس پونه کوهی لگاریتم شمارش باکتری در روز چهارم به $7/01$ رسید. تأثیر اسانس زیره سبز روی باکتری باسیلوس سرئوس در سوپ جو تجارتي در جدول ۶ نشان داده شده است. با افزایش غلظت اسانس زیره سبز در دمای ۸ درجه سانتی گراد تأثیر ممانعت کنندگی اسانس بطور معنی داری آشکار شد. در غلظت $0.45 \mu\text{g ml}^{-1}$ اسانس لگاریتم شمارش باکتری در روز سوم به 0.85 رسید در صورتی که در گروه کنترل تا روز نه لگاریتم تعداد باکتری به کمتر از یک نرسید. در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد تمام غلظت های اسانس زیره سبز بطور معنی داری رشد باکتری را نسبت به گروه کنترل کاهش داده و با افزایش غلظت اسانس این اثر مهاری بیشتر شده و در بالاترین غلظت اسانس زیره سبز لگاریتم تعداد باکتری در روز چهارم کمتر از هفت محاسبه گردید ($6/57$). میزان میانگین پذیرش خصوصیات حسی سوپ جو حاوی غلظت های مختلف اسانس های پونه کوهی و زیره سبز در جدول ۷ نشان داده شده است. غلظت های 0.15 ، 0.05 ، $0.05 \mu\text{g ml}^{-1}$ اختلاف آماری معنی داری را نشان ندادند. بیشترین غلظت از هر دو اسانس که مورد پذیرش حسی قرار گرفت غلظت $0.15 \mu\text{g ml}^{-1}$ بود. تمام غلظت های اسانس ها دارای پذیرش حسی بودند.

جدول ۱ ترکیب شیمیایی اسانس پونه کوهی شناسایی شده با GC/MS

نام ترکیب	زمان بازداری (دقیقه)	شاخص بازداری	درصد	نام ترکیب	زمان بازداری (دقیقه)	شاخص بازداری	درصد
آلفاپینن	۱۰/۸۶	۹۳۹	۱/۸۶	سیس ایزو پولگون	۲۳/۰۱	۱۱۷۵	۹/۷۴
کامفن	۱۱/۵۲	۹۵۳	۰/۵۷	بورنول	۲۳/۷۶	۱۱۹۰	۱/۰۱
سایینن	۱۲/۸۱	۹۷۶	۰/۵۲	نئو ایزو دی هیدروکاروئول	۲۵/۱۸	۱۲۲۰	۱/۷۸
۲-بتاپینن	۱۲/۹۵	۹۸۰	۳/۰۷	پولگون	۲۶/۳۳	۱۲۴۵	۳۱/۵۴
بتامیرسن	۱۳/۷۴	۹۹۱	۰/۵۰	۲-سیکلو هگزان-۱-وان	۳۰/۷۷	۱۳۴۲	۳/۸۰
۳-اکتانول	۱۳/۹۶	۹۹۳	۰/۶۰	۱-دسن	۳۱/۱۳	۱۳۵۰	۱/۵۸
۸و۱ سینتول	۱۵/۸۱	۱۰۳۱	۱۵/۸۹	پیریتونون اکساید	۳۱/۷۴	۱۳۶۴	۰/۳۴
پارامنتا-۳ و ۸-دین	۱۷/۷۰	۱۰۶۸	۰/۵۴	سیس جاسمون	۳۳/۱۱	۱۳۹۵	۰/۴۰
ایزوپنتیل-۲-متیل بوتانوات	۱۹/۲۹	۱۰۹۹	۰/۹۱	۴و۱-بنزن دی آمین	۳۷/۰۲	۱۴۸۹	۰/۳۵
پارامنت-۳-ان-۸-ال	۲۱/۶۵	۱۱۴۹	۷	اسپاتولنول	۴۰/۴۵	۱۵۷۵	۰/۵۲
منتوفوران	۲۲/۴۳	۱۱۶۳	۱۱/۱۸	کاربوفیلن اکساید	۴۰/۶۷	۱۵۸۰	۱/۶۰
جمع کل							۹۵/۳۰

جدول ۲ ترکیب شیمیایی اسانس زیره سبز شناسایی شده با GC/MS

نام ترکیب	زمان بازداری (دقیقه)	شاخص بازداری	درصد	نام ترکیب	زمان بازداری (دقیقه)	شاخص بازداری	درصد
آلفاتوژن	۱۰/۵۳	۹۳۱	۰/۳۴	۸و۱ سینتول	۱۵/۸۰	۱۰۳۱	۰/۸۴
آلفاپینن	۱۰/۸۴	۹۳۹	۰/۶۸	گاماترپینن	۱۷/۳۸	۱۰۶۱	۱۲/۹۴
بتاپینن	۱۳/۰۶	۹۸۰	۷/۷۲	ترپینن ۴ ال	۲۲/۹۹	۱۱۷۴	۰/۴۳
میرسن	۱۳/۸۰	۹۹۱	۱/۱۰	سس دیهیدرو کارون	۲۳/۹۹	۱۱۹۵	۴/۴۵
آلفافلاندین	۱۴/۳۶	۱۰۰۳	۰/۷۹	کومین آلدهید	۲۶/۴۵	۱۲۴۷	۲۹/۰۲
آلفاترپینن	۱۴/۹۷	۱۰۱۵	۰/۳۱	آلفا ترپینن ۷ آل	۲۸/۴۰	۱۲۸۹	۲۰/۷۰
پاراسیمن	۱۵/۶۰	۱۰۲۷	۸/۵۵	گاما ترپینن ۷ آل	۲۹/۱۱	۱۳۰۴	۸/۹۰
بتافلاندین	۱۵/۷۵	۱۰۳۰	۰/۳۴	بتا آکورادینن	۳۶/۳۷	۱۴۷۳	۰/۳۷
جمع کل							۹۷/۴۸

جدول ۳ شمارش باکتری باسیلوس سوبتیلیس (لگاریتم تعداد باکتری \pm انحراف استاندارد) تحت تأثیر غلظت های مختلف اسانس پونه کوهی در سوپ جو تجارتي در مدت ۱۵ روز نگهداری در دمای ۸ و ۲۵ درجه سانتی گراد ($\mu\text{g ml}^{-1}$)

دما	غلظت اسانس	روز های مختلف نگهداری									
		۱۵	۱۲	۹	۶	۵	۴	۳	۲	۱	۰
۸	۰	۰/۷۱±۰/۰۵ ^a	۱/۰۰±۰/۰۰	۱/۷۷±۰/۰۷	۱/۸۰±۰/۰۳	۲/۰۴±۰/۰۳	۲/۸۷±۰/۰۰	۳/۰۰±۰/۰۰	۳/۱۹±۰/۰۰	۳/۱۰±۰/۰۰	۰
	۰/۰۵		۰/۳۶±۰/۰۰	۱/۴۹±۰/۰۳	۱/۶۹±۰/۰۸	۱/۹۶±۰/۰۲	۲/۶۸±۰/۰۰	۲/۸۰±۰/۰۰	۲/۹۸±۰/۰۰	۳/۰۸±۰/۰۱	۰/۰۵
	۰/۱۵		۰/۳۶±۰/۰۰	۱/۰۰±۰/۰۰	۱/۳۲±۰/۰۴	۱/۸۰±۰/۰۳	۲/۲۵±۰/۰۲	۲/۶۸±۰/۰۰	۲/۹۳±۰/۰۰	۳/۰۸±۰/۰۱	۰/۱۵
	۰/۳۰			۰/۶۳±۰/۰۰	۱/۱۰±۰/۱۷	۱/۵۲±۰/۰۳	۱/۹۰±۰/۰۵	۲/۵۹±۰/۰۱	۲/۸۳±۰/۰۰	۳/۰۶±۰/۰۷	۰/۳۰
	۰/۴۵				۰/۷۷±۰/۰۰	۱/۱۰±۰/۱۷	۱/۸۰±۰/۰۳	۲/۰۵±۰/۰۵	۲/۵۷±۰/۰۱	۳/۰۷±۰/۰۰	۰/۴۵
۲۵	۰						۷/۸۱±۰/۰۰ ^b	۶/۷۶±۰/۰۰	۳/۰۸±۰/۰۰	۰	
	۰/۰۵						۷/۴۴±۰/۰۰	۶/۶۴±۰/۰۱	۳/۰۹±۰/۰۱	۰/۰۵	
	۰/۱۵						۷/۵۰±۰/۰۱	۶/۷۱±۰/۰۱	۳/۰۱±۰/۰۱	۰/۱۵	
	۰/۳۰						۷/۳۶±۰/۰۱	۶/۶۱±۰/۰۱	۳/۰۷±۰/۰۱	۰/۳۰	
	۰/۴۵						۷/۳۰±۰/۰۱	۶/۳۳±۰/۰۳	۳/۰۶±۰/۰۱	۰/۴۵	

a: در مواردی که لگاریتم تعداد باکتری کمتر از یک بود از روش MPN^۱ جهت محاسبه تعداد باکتری استفاده گردید.
b: در صورتی که لگاریتم تعداد باکتری بیشتر از هفت محاسبه می گردید شمارش باکتری در روزهای بعد صورت نگرفت.

جدول ۴ شمارش باکتری باسیلوس سوبتیلیس (لگاریتم تعداد باکتری \pm انحراف استاندارد) تحت تأثیر غلظت های مختلف اسانس زیره سبز در سوپ جو در مدت ۱۵ روز نگهداری در دمای ۸ و ۲۵ درجه سانتی گراد

دما	غلظت اسانس	روز های مختلف نگهداری									
		۱۵	۱۲	۹	۶	۵	۴	۳	۲	۱	۰
۸	۰	۰/۷۱±۰/۰۵ ^a	۱/۰۰±۰/۰۰	۱/۷۷±۰/۰۷	۱/۸۰±۰/۰۳	۲/۰۴±۰/۰۳	۲/۸۷±۰/۰۰	۳/۰۰±۰/۰۰	۳/۱۹±۰/۰۰	۳/۱۰±۰/۰۰	۰
	۰/۰۵		۰/۳۶±۰/۰۰	۱/۰۰±۰/۰۰	۱/۴۶±۰/۰۸	۱/۸۴±۰/۰۶	۲/۴۱±۰/۰۱	۲/۷۳±۰/۰۰	۲/۹۴±۰/۰۰	۳/۰۸±۰/۰۱	۰/۰۵
	۰/۱۵			۰/۷۷±۰/۰۰	۱/۱۰±۰/۱۷	۱/۴۹±۰/۰۳	۲/۲۷±۰/۰۲	۲/۵۱±۰/۰۱	۲/۷۹±۰/۰۰	۳/۰۸±۰/۰۱	۰/۱۵
	۰/۳۰			۰/۷۷±۰/۰۰	۱/۲۰±۰/۰۴	۱/۵۴±۰/۰۶	۲/۱۸±۰/۰۱	۲/۷۱±۰/۰۱	۳/۰۳±۰/۰۲	۳/۰۳±۰/۰۲	۰/۳۰
	۰/۴۵				۰/۶۳±۰/۰۰	۱/۰۰±۰/۰۰	۱/۸۲±۰/۰۳	۲/۳۹±۰/۰۱	۳/۰۷±۰/۰۱	۳/۰۷±۰/۰۱	۰/۴۵
۲۵	۰						۷/۸۱±۰/۰۰ ^b	۶/۷۶±۰/۰۰	۳/۰۸±۰/۰۰	۰	
	۰/۰۵						۷/۳۷±۰/۰۰	۶/۶۱±۰/۰۱	۳/۰۵±۰/۰۰	۰/۰۵	
	۰/۱۵						۷/۴۰±۰/۰۰	۶/۵۳±۰/۰۱	۳/۰۴±۰/۰۱	۰/۱۵	
	۰/۳۰						۷/۲۸±۰/۰۰	۶/۴۹±۰/۰۲	۳/۰۷±۰/۰۰	۰/۳۰	
	۰/۴۵						۷/۱۶±۰/۰۰	۶/۰۶±۰/۰۲	۳/۰۶±۰/۰۱	۰/۴۵	

a: در مواردی که لگاریتم تعداد باکتری کمتر از یک بود از روش MPN^۱ جهت محاسبه تعداد باکتری استفاده گردید.
b: در صورتی که لگاریتم تعداد باکتری بیشتر از هفت محاسبه می گردید شمارش باکتری در روزهای بعد صورت نگرفت.

1. Most Probable Number

جدول ۵ شمارش باکتری باسیلوس سرئوس (لگاریتم تعداد باکتری \pm انحراف استاندارد) تحت تأثیر غلظت های مختلف اسانس پونه کوهی در سوپ جو تجارتي در مدت ۱۵ روز نگهداری در دمای ۸ و ۲۵ درجه سانتی گراد

دما	غلظت اسانس	روز های مختلف نگهداری									
		۰	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۹	۱۲	۱۵
۸	۰	۳/۰۸±۰/۰۱	۲/۶۹±۰/۰۰	۲/۱۱±۰/۰۳	۱/۹۵±۰/۰۰	۱/۸۸±۰/۰۳	۱/۶۹±۰/۰۰	۱/۴۱±۰/۱۰	۱/۲۰±۰/۱۷	۰/۷۷±۰/۰۰ ^a	۰/۷۷±۰/۰۰
	۰/۰۵	۳/۱۰±۰/۰۰	۲/۶۰±۰/۰۲	۲/۰۴±۰/۰۳	۱/۸۸±۰/۰۳	۱/۸۴±۰/۰۰	۱/۷۷±۰/۰۰	۱/۲۰±۰/۱۷	۰/۶۳±۰/۰۰	۰/۶۳±۰/۰۰	
	۰/۱۵	۳/۰۸±۰/۰۱	۲/۵۵±۰/۰۰	۱/۹۳±۰/۰۲	۱/۸۰±۰/۰۳	۱/۲۰±۰/۱۷	۱/۰۰±۰/۰۰	۰/۳۶±۰/۰۰	۰/۳۶±۰/۰۰	۰/۳۶±۰/۰۰	
	۰/۳۰	۳/۰۶±۰/۰۱	۱/۹۹±۰/۰۴	۱/۸۲±۰/۰۳	۱/۴۱±۰/۱۰	۱/۳۰±۰/۰۰	۰/۶۳±۰/۰۰	۰/۶۳±۰/۰۰	۰/۶۳±۰/۰۰	۰/۶۳±۰/۰۰	
	۰/۴۵	۳/۰۲±۰/۰۲	۱/۶۶±۰/۰۵	۱/۳۰±۰/۰۰	۱/۰۰±۰/۰۰	۰/۴۹±۰/۰۰	۰/۴۹±۰/۰۰	۰/۴۹±۰/۰۰	۰/۴۹±۰/۰۰	۰/۴۹±۰/۰۰	
۲۵	۰	۳/۰۹±۰/۰۱	۶/۵۳±۰/۰۰	۷/۴۱±۰/۰۰ ^b	۷/۴۱±۰/۰۰	۷/۴۱±۰/۰۰	۷/۴۱±۰/۰۰	۷/۴۱±۰/۰۰	۷/۴۱±۰/۰۰	۷/۴۱±۰/۰۰	
	۰/۰۵	۳/۰۵±۰/۰۱	۶/۴۶±۰/۰۰	۷/۲۰±۰/۰۰	۷/۲۰±۰/۰۰	۷/۲۰±۰/۰۰	۷/۲۰±۰/۰۰	۷/۲۰±۰/۰۰	۷/۲۰±۰/۰۰		
	۰/۱۵	۳/۱۰±۰/۰۱	۶/۴۱±۰/۰۰	۷/۱۲±۰/۰۰	۷/۱۲±۰/۰۰	۷/۱۲±۰/۰۰	۷/۱۲±۰/۰۰	۷/۱۲±۰/۰۰	۷/۱۲±۰/۰۰		
	۰/۳۰	۳/۰۵±۰/۰۲	۶/۲۳±۰/۰۰	۶/۴۶±۰/۰۰	۷/۰۲±۰/۰۰	۷/۰۲±۰/۰۰	۷/۰۲±۰/۰۰	۷/۰۲±۰/۰۰	۷/۰۲±۰/۰۰		
	۰/۴۵	۳/۰۳±۰/۰۱	۵/۰۴±۰/۰۰	۵/۸۰±۰/۰۰	۶/۴۲±۰/۰۰	۷/۰۱±۰/۰۰	۷/۰۱±۰/۰۰	۷/۰۱±۰/۰۰	۷/۰۱±۰/۰۰		

a: در مواردی که لگاریتم تعداد باکتری کمتر از یک بود از روش MPN جهت محاسبه تعداد باکتری استفاده گردید.
 b: در صورتی که لگاریتم تعداد باکتری بیشتر از هفت محاسبه می گردید شمارش باکتری در روزهای بعد صورت نگرفت.

جدول ۶ شمارش باکتری باسیلوس سرئوس (لگاریتم تعداد باکتری \pm انحراف استاندارد) تحت تأثیر غلظت های مختلف اسانس زیره سبز در سوپ جو تجارتي در مدت ۱۵ روز نگهداری در دمای ۸ و ۲۵ درجه سانتی گراد

دما	غلظت اسانس	روز های مختلف نگهداری									
		۰	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۹	۱۲	۱۵
۸	۰	۳/۰۸±۰/۰۱	۲/۶۹±۰/۰۰	۲/۱۱±۰/۰۳	۱/۹۵±۰/۰۰	۱/۸۸±۰/۰۳	۱/۶۹±۰/۰۰	۱/۴۱±۰/۱۰	۱/۲۰±۰/۱۷	۰/۷۷±۰/۰۰ ^a	
	۰/۰۵	۳/۰۸±۰/۰۴	۲/۴۸±۰/۰۲	۱/۸۸±۰/۰۳	۱/۷۵±۰/۰۴	۱/۵۹±۰/۱۱	۱/۲۰±۰/۱۷	۰/۳۶±۰/۰۰	۰/۳۶±۰/۰۰		
	۰/۱۵	۳/۰۵±۰/۰۳	۱/۸۸±۰/۰۳	۱/۸۰±۰/۰۳	۱/۶۶±۰/۰۵	۱/۰۰±۰/۰۰	۰/۸۵±۰/۱۲	۰/۸۵±۰/۱۲	۰/۸۵±۰/۱۲		
	۰/۳۰	۳/۱۰±۰/۰۱	۱/۷۵±۰/۰۴	۱/۴۹±۰/۰۳	۱/۰۰±۰/۰۰	۰/۶۳±۰/۰۰	۰/۶۳±۰/۰۰	۰/۶۳±۰/۰۰	۰/۶۳±۰/۰۰		
	۰/۴۵	۳/۰۷±۰/۰۲	۱/۵۸±۰/۰۳	۱/۰۰±۰/۰۰	۰/۸۵±۰/۱۲	۰/۸۵±۰/۱۲	۰/۸۵±۰/۱۲	۰/۸۵±۰/۱۲	۰/۸۵±۰/۱۲		
۲۵	۰	۳/۰۹±۰/۰۱	۶/۵۳±۰/۰۰	۷/۴۱±۰/۰۰ ^b	۷/۴۱±۰/۰۰	۷/۴۱±۰/۰۰	۷/۴۱±۰/۰۰	۷/۴۱±۰/۰۰	۷/۴۱±۰/۰۰		
	۰/۰۵	۳/۰۴±۰/۰۱	۵/۹۰±۰/۰۰	۷/۰۸±۰/۰۰	۷/۰۸±۰/۰۰	۷/۰۸±۰/۰۰	۷/۰۸±۰/۰۰	۷/۰۸±۰/۰۰	۷/۰۸±۰/۰۰		
	۰/۱۵	۳/۰۶±۰/۰۲	۵/۸۴±۰/۰۰	۶/۹۲±۰/۰۰	۶/۹۲±۰/۰۰	۶/۹۲±۰/۰۰	۶/۹۲±۰/۰۰	۶/۹۲±۰/۰۰	۶/۹۲±۰/۰۰		
	۰/۳۰	۳/۱۰±۰/۰۱	۵/۴۷±۰/۰۱	۶/۱۷±۰/۰۰	۶/۱۷±۰/۰۰	۶/۱۷±۰/۰۰	۶/۱۷±۰/۰۰	۶/۱۷±۰/۰۰	۶/۱۷±۰/۰۰		
	۰/۴۵	۳/۰۸±۰/۰۱	۴/۲۵±۰/۰۰	۴/۲۵±۰/۰۰	۶/۴۱±۰/۰۰	۶/۵۷±۰/۰۰	۷/۲۳±۰/۰۰	۷/۲۳±۰/۰۰	۷/۲۳±۰/۰۰		

a: در مواردی که لگاریتم تعداد باکتری کمتر از یک بود از روش MPN جهت محاسبه تعداد باکتری استفاده گردید.
 b: در صورتی که لگاریتم تعداد باکتری بیشتر از هفت محاسبه می گردید شمارش باکتری در روزهای بعد صورت نگرفت.

جدول ۷ میانگین پذیرش حسی سوپ جو حاوی غلظت های مختلف اسانس پونه کوهی و زیره سبز

میانگین \pm انحراف استاندارد		غلظت اسانس
زیره سبز	پونه کوهی	($\mu\text{g ml}^{-1}$)
$7,21 \pm 0,26^a$	$7,21 \pm 0,26^a$	۰
$7,35 \pm 0,47^a$	$7,14 \pm 0,37^a$	۰/۰۵
$7,64 \pm 0,47^a$	$7,42 \pm 0,44^a$	۰/۱۵
$6,42 \pm 0,53^b$	$6,10 \pm 0,41^b$	۰/۳۰
$5,64 \pm 0,37^c$	$5,07 \pm 0,44^c$	۰/۴۵

اعداد نشان داده شده با حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار می باشند ($P < 0,05$)

۴- بحث

در مطالعه انجام گرفته توسط ایاکوبلیس و همکاران (۲۰۰۶) ترکیبات اصلی اسانس دانه زیره سبز کومین آلدهید، پارا متا-۱، ۴-دین-۷ آل، گاما تریپنین و بتا پینین معرفی شد [۲۱]. نتایج بدست آمده از تجزیه GC/MS اسانس ها در مطالعه حاضر تا حدودی با سایر بررسی ها همخوانی دارد. اختلاف در ترکیب شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی اسانس ها در بین نتایج و گزارشات منتشر شده می تواند ناشی از تفاوت در فصل برداشت گیاه، شرایط آب و هوایی، منطقه جغرافیایی رویش، قسمت های مختلف گیاه، روش و مدت زمان استخراج اسانس و گونه میکروبی مورد آزمایش باشد [۲۲]. بطور کلی مطالعات صورت گرفته روی اسانس های گیاهی نشان داده است که اسانس ها فاز تأخیری رشد باکتریایی را طولانی کرده در حالی که سرعت رشد در فاز لگاریتمی را کاهش می دهند عملکرد آنها از یک سازوکار واحد تبعیت کرده که مربوط به تجمع آنها در دو لایه لیپیدی غشا سلول و تخریب ساختار آن می باشد [۲۳ و ۲۴]. نتایج حاصل از بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس های پونه کوهی و زیره سبز در بررسی حاضر نشان داد که بکارگیری این اسانس ها در دمای پایین (۸ درجه سانتی گراد) در مقایسه با گروه کنترل (فاقد اسانس) بطور معنی داری در کمترین غلظت بکار رفته از هر اسانس مانع از رشد فرم رویشی باکتری های باسیلوس سرئوس و باسیلوس سوبتیلیس در سوپ جو تجارتمی می شود. بیشترین تأثیر اسانس های مورد مطالعه در غلظت $0,45 \mu\text{g ml}^{-1}$ بود ولی با

از آنجائیکه سلامت غذا یک مسئله بنیادی چه از دیدگاه مصرف کننده مواد غذایی و چه از دیدگاه صاحبان صنایع غذایی می باشد و با عنایت به گزارش های متعدد عفونت های حاصل از مواد غذایی آلوده، توجه به سلامت غذا و ارائه راهکارهایی جهت سلامت و محافظت هر چه بیشتر مواد غذایی ضروری بنظر می رسد. کنترل پاتوژن های غذا بوسیله محصولات و ترکیبات مشتق شده از گیاهان کاربرد گسترده ای پیدا کرده است. امروزه بیشتر مطالعه ها در جهت جداسازی و شناخت ترکیبات اسانس ها و بررسی فعالیت ضد میکروبی آنها در مواد غذایی بدون تأثیر نامطلوب در خصوصیات حسی و ارزش تغذیه ای مواد غذایی می باشد [۱۵ و ۱۹]. تجزیه اسانس های مورد مطالعه توسط دستگاه GC/MS نشان داد که بیشترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس پونه کوهی پولگون (۳۱/۵۴٪) و ۸۱ سینئول (۱۵/۸۹٪) و در مورد زیره سبز کومین آلدهید (۲۹/۰۲٪) و آلفا تریپنین ۷ آل (۲۰/۷٪) می باشند. در مطالعه ای که توسط گولوسه و همکاران (۲۰۰۷) روی ترکیب شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی عصاره متانولی و اسانس پونه کوهی صورت گرفت. بیشترین ترکیبات اسانس را سیس پیریتون اپوکساید (۱۸/۴٪)، پولگون (۱۵/۵٪) و پیریتون اکساید تشکیل می دادند. همچنین آنها نشان دادند که تأثیر ضد میکروبی اسانس پونه بیشتر از عصاره آن می باشد [۲۰].

سرئوس در مقایسه با باسیلوس سوبتیلیس بیشتر می باشد که ناشی از اختلاف حساسیت باکتری های مورد مطالعه می باشد. بر اساس نتایج بدست آمده اسانس های مورد مطالعه در غلظت $0.15 \mu\text{g ml}^{-1}$ بیشترین پذیرش حسی را داشتند این در حالی است که غلظت های 0.30 و $0.45 \mu\text{g ml}^{-1}$ اسانس های مورد مطالعه علاوه بر پذیرش حسی مطلوب دارای بیشترین فعالیت ضد میکروبی بر روی باکتری های مورد مطالعه بودند. نتایج مطالعه ما نشان دهنده اثر ضد میکروبی اسانس های مورد مطالعه در مدل غذایی مختلف می باشد و می توان از این اسانس ها بطور مطلوبی در مواد غذایی مختلف بدون ایجاد اثرات حسی و طعمی نامطلوب استفاده کرد، با این وجود بدلیل تفاوت در حساسیت باکتری های مختلف نسبت به اسانس ها و اثر ترکیبات مواد غذایی بر روی کارایی اسانس ها، مطالعات بیشتری جهت کاربردی نمودن استفاده از اسانس ها در مواد غذایی ضروری بنظر می رسد.

۵- منابع

- [1] Brul, S. and Coote, P. 1999. Preservative agents in foods: Mode of action and microbial resistance mechanisms. *International Journal of Food Microbiology*. 50: 1-17.
- [2] Jay, J.M., Loessner, M.J. and Golden, D.A. 2005. *Bacillus cereus* gastroenteritis. In: *Modern food microbiology*, 7th edition, Springer Science, Inc., New York, USA, pp: 583-590.
- [3] Schoeni, J.L. and Wong, A.C. 2005. *Bacillus cereus* food poisoning and its toxins. *Journal of Food Protection*. 68: 636-648.
- [4] Granum, P.E. 2007. *Bacillus cereus*. In: *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, 3 rd ED. Edited by Doyle M. and Beuchat L. ASM Press, Washington, D.C. pp: 445-456.
- [5] Carlin, F., Guinebretiere, M.H., Choma, C., Pasqualini, R., Braconnier, A. and Nguyen-The, C. 2000. Spore-forming bacteria in commercial cooked, pasteurized and chilled vegetable pures. *Food Microbiology*. 17: 153-165.

توجه به تاثیرات حسی این میزان اسانس، غلظت $0.15 \mu\text{g ml}^{-1}$ از اسانس های مورد مطالعه نه تنها دارای پذیرش حسی بالایی بود بلکه فعالیت ضد میکروبی نیز نشان داد. والرو و گینر (۲۰۰۶) در مطالعه ای تاثیر ضد میکروبی ترکیبات تعدادی اسانس را بر روی فرم رویشی باسیلوس سرئوس و خصوصیات حسی اسانس ها در آبگوشت هویج بررسی کردند. آنها نشان دادند که از میان ترکیبات اسانس های مورد مطالعه سیناموآلدهید بیشترین تاثیر را روی فرم رویشی باسیلوس سرئوس داشته و در پی آن کارواکرول و تیمول چنین اثری را نشان دادند. با وجود اثرات مشهود ضد میکروبی این ترکیبات افزودن آنها در آبگوشت هویج سبب بو و طعم نامطلوبی شده بود [۲۳]. در حالیکه در مطالعه حاضر غلظت های استفاده شده از اسانس پونه کوهی و زیره سبز هیچ گونه اثرات نامطلوبی روی طعم و مزه سوپ جو نداشتند. در بررسی والرو و سالمرون (۲۰۰۳) فعالیت ضد باکتریایی یازده اسانس علیه فرم رویشی باسیلوس سرئوس در آبگوشت هویج مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج آنها نشان داد که اسانس مرزنجوش نسبت به سایر اسانس های مورد بررسی در غلظت 0.1 درصد مانع از رشد اسپورهای باسیلوس سرئوس در آبگوشت هویج می گردد [۱۵]. شکر فروش و همکاران (۲۰۰۷) تاثیر دمای نگهداری و اسانس گیاهان مرزنجوش و جوز هندی روی رشد و بقای باکتری *E. coli* O157:H7 در جوجه کباب را مورد بررسی قرار دادند. اسانس های مرزنجوش و جوز هندی به ترتیب با غلظت های 0.6 و 1.0 میکرولیتر در هر لیتر اثر مهاری علیه این باکتری داشتند. آنها همچنین بیان داشتند که بر خلاف اثر ممانعت کنندگی اسانس های مورد بررسی روی *E. coli* O157:H7 در محیط کشت، این اسانس ها در نمونه های جوجه کبابی تاثیر چندانی از خود نشان ندادند [۲۵]. در مطالعه حاضر اسانس زیره سبز نسبت به اسانس پونه کوهی در غلظت های مشابه فعالیت ضد میکروبی بیشتری بر روی باکتری های مورد مطالعه نشان داد. تفاوت در فعالیت ضد میکروبی اسانس های مورد مطالعه می تواند ناشی از تفاوت در ترکیبات آنها باشد بطوریکه کومین آلدهید و آلفا ترپینن ۷ آل در زیره سبز و پولگون در پونه کوهی می توانند مهمترین ترکیبات تاثیرگذار در فعالیت ضد میکروبی اسانس های مورد مطالعه باشند. بعلاوه نتایج نشان داد که اثر اسانس های مورد مطالعه روی باکتری باسیلوس

- Oils. *Flavour and Fragrance Journal*. 13: 98-104.
- [14] Lambert, R.J.W., Skandamis, P.N., Coote, P.J. and Nychas, G.J.E. 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*. 91: 453-462.
- [15] Valero, M. and Salmeron, M.C. 2003. Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth. *International Journal of Food Microbiology*. 85: 73-81.
- [16] Fisher, K. and Phillips, C.A. 2006. The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* *in vitro* and in food systems. *Journal of Applied Microbiology*. 101: 1232-1240.
- [17] Adams, R.P. 1995. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography-Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL, USA.
- [18] Meilgaard, M.C., Civille, G.V., Carr, B.T. 1991. Sensory Evaluation Techniques. 2nd Edition. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. pp: 123-133.
- [19] Bowles, B.L. and Juneja, V.K. 1998. Inhibition of food-borne bacterial pathogens by naturally occurring food additives. *Journal of Food Safety*. 18: 101-112.
- [20] Gulluce, M., Sahin, F., Sokmen, M., Ozer, H., Daferera, D., Sokme, A., Polissiou, M., Adiguzel, A. and Ozkan, H. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. *Food Chemistry*. 103: 1449-1456.
- [21] Iacobellis, N.S., Cantore, P.L., Capasso, F., Senatore, F. 2006. Antibacterial Activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. Essential Oils. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 53: 57-61.
- [6] Davidson, P.M. 1997. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. In: Doyle M.P., Beuchat L.R., Montville T.J. *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. American Society for Microbiology. pp: 520-556.
- [7] Valero, M. and Frances, E. 2006. Synergistic bactericidal effect of carvacrol, cinnamaldehyde or thymol and refrigeration to inhibit *Bacillus cereus* in carrot broth. *Food Microbiology*. 23(1): 68-73.
- [8] Mousavi, M.H., Akhondzadeh-Basti, A., Misaghi, A., Zahraei Salehi, T., Abbasifar, R., Ebrahimzadeh Mousavi, H.A., Alipour, M., Emami Razavi, N., Gandomi, H. and Noori, N. 2008. 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 Research International*. 41: 1050-1057.
- [9] Ultee, A., Bennik, H.J., Moezelaar, R. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*. 68: 1561-1568.
- [10] Solomakos, N., Govaris, A., Koidis, P. and Botsoglou, N. 2008. The antimicrobial effect of thyme essential oil against *Listeria monocytogenes* in minced beef during refrigerated storage. *Food Microbiology*. 25: 120-127.
- [11] Moreno, L., Bell, R., Primo-Yufera, E., Esplugues, J. 2002. Pharmacological properties of the methanol extract from *Mentha suaveolens* Ehrh. *Phytotherapy Research*. 16: 10-13.
- [12] Iscan, G., Kirimer, N., Kurkcuoglu, M., Baser, K.H. and Demirci, F. 2002. Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. *Journal of Agriculture Food Chemistry*. 50: 3943-3946.
- [13] Lis-Balchin M, Deans SG, Eaglesham E. 1998. Relationship between Bioactivity and Chemical Composition of Commercial Essential

- [24] Tassou, C., Koutsoumanis, K. and Nychas, G.J.E. 2000. Inhibition of *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus* in nutrient broth by mint essential oil. Food Research International. 33: 273– 280.
- [25] Shekarforoush, S.S., Nazer, A.H.K., Firouzi, R. and Rostami, M. 2007. Effects of storage temperatures and essential oils of oregano and nutmeg on the growth and survival of *Escherichia coli* O157:H7 in barbecued chicken used in Iran. Food Control. 18: 1428– 1433.
- [22] Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods-a review. International Journal of Food Microbiology. 94: 223-253.
- [23] Valero, M. and Giner, M.J. 2006. Effects of antimicrobial components of essential oils on growth of *Bacillus cereus* INRA L2104 in and the sensory qualities of carrot broth. International Journal of Food Microbiology. 106: 90-94.

A Study on chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Mentha longifolia* L. and *Cuminum cyminum* L. in soup

Pajohi Alamoti, M. R¹, Tajik, H. ^{2*}, Akhondzade, A. ³, Gandomi, H. ⁴, Ehsani, A. ⁵

1- Assistant Professor of Department of Food Hygiene, Faculty of Para-Veterinary Sciences, Bu-Ali Sina University.

2*- Professor of Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University.

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

4- Assistant Professor of Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University.

5- Assistant Professor of Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University.

(Received:88/11/12 Accepted:89/3/19)

Plant essential oils are increasingly used as natural food preservatives. Understanding their chemical composition and their antimicrobial activity in the context of food health and safety seems indispensable. In the present study the chemical composition of essential oils of *Mentha longifolia* L. and *Cuminum cyminum* L., which were obtained using a Clevenger apparatus, was analyzed by GC/MS. The antimicrobial effect on growth of *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis* in different concentrations during 15 days incubation at 8 and 25°C was done in commercial barley soup. The taste acceptability of these essential oils was also assessed. The result indicated pulegon with 31.54% and cuminaldehyde with 29.02% were the most compounds found in *Mentha longifolia* L. and *Cuminum cyminum* L., respectively. These essential oils at the 8°C showed significant reduction of bacterial count. The lowest concentration of the essential oils inhibited bacterial growth compared to the controls. Essential oil of *Mentha longifolia* L. showed more antibacterial activity compared to *Cuminum cyminum* L. essential oil in similar concentrations. On the other hand, *Bacillus cereus* was more sensitive to these essential oils than *Bacillus subtilis*. A concentration of 0.15 µg ml⁻¹ of these essential oils showed the maximum taste acceptability. This study clearly demonstrated that these essential oils could be used in some food systems without any undesirable palatability.

Key words: *Mentha longifolia* L., *Cuminum cyminum* L., *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, Food systems, Soup

* Corresponding author E-Mail address: H.tajik@urmia.ac.ir