ارزیابی تأثیر پوشش خوراکی متیل سلولز حاوی اسانس زنیان (*Carum copticum* L.)و عصاره زردچوبه (*Curcuma longa*L.) بر کنترل رشد *لیستریا مونوسیتوژنز* در گوشت مرغ نگهداری شده در یخچال

الهام مریخی اردبیلی[1] و محمد محسن زاده[2*]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۲- دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۳/۰٤)

چکیده

لیستریا مونوسیتوژنز یک باکتری پاتوژن با منشأ غذایی و عامل ایجاد بیماری لیستریوزیس است. این مطالعه با هدف ارزیابی تأثیر پوشش خوراکی متیل سلولز حاوی اسانس زنیان(*Carum copticum*L.) و عصاره زردچوبه (*Curcuma longa*L.) بر کنترل رشد *لیستریا مونوسیتوژنز* در گوشت مرغ نگهداری شده در یخچال انجام گردید. برای این منظور، نمونه های گوشت مرغ با غلظت‌های۰/۳، ۰/٤٥ و۰/٦٥٪اسانس زنیان و غلظت های ۲۵/۰ و ۰/۵٪،عصاره زردچوبه درگروه های مختلف پوشش داده شدند. در گروه کنترل بجای محلول پوشش از آب مقطر استریل استفاده گردید. عمل پوشش دهی به صورت غوطه وری انجام گرفت. سپس کلیه نمونه‌ها در یخچال نگهداری شده و در روزهای صفر، ٤ و۸ از بابت *لیستریامونوسیتوژنز* مورد شمارش قرار گرفتند. در مطالعه حاضر، حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) اسانس زنیان معادل ۰/۰٦٤٪تعیین شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که بین تعداد باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* شمارش شده در نمونه‌های دارای پوشش نسبت به نمونه‌های فاقد پوشش تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($p<0.001$). آنالیز آماری داده ها نشان داد در تمام گروه‌ها میانگین لگاریتم تعداد باکتری از روز ۱ تا ۸ روند کاهشی را نشان دادند.درمجموع با توجه به نتایج بدست آمده، می توان نتیجه گیری کرد که از پوشش خوراکی متیل سلولز حاوی اسانس زنیان و عصاره زردچوبه می توان به منظور کنترل رشد *لیستریا مونوسیتوژنز* در گوشت مرغ استفاده کرد.

کلید واژگان: *لیستریامونوسیتوژنز*، عصاره زردچوبه، اسانس زنیان، متیل سلولز، خاصیت مهار کنندگی

*مسئول مکاتبات: mohsenzadeh@um.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-05]

۱- مقدمه

بیماری ناشی از مصرف غذاهای آلوده به باکتری‌های پاتوژن، موجب نگرانی در سلامت عمومی جامعه شده است. به نظر می‌رسد جهت کاهش موارد تهدیدکننده سلامت، استفاده از فرآورده‌های طبیعی مثل ترکیب‌های ضدمیکروبی گیاهی، راهی مناسب برای کنترل باکتری‌های پاتوژن و توسعه زمان ماندگاری غذاهای فرآوری شده باشد [۱]. گوشت مرغ یک ماده غذایی بسیار فسادپذیر است که محیط مناسبی را برای رشد میکروب‌ها ازجمله میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و عامل فساد فراهم می‌کند [۲]. *لیستریا مونوسیتوژنز*به عنوان یک مشکل بهداشتیجهانی محسوب شده واز طریق گوشت و فرآورده‌های گوشتیبه انسان قابل انتقال است. *گودبرندتر*[1] و همکاران (۲۰۰٤) نشان دادند که فراوانی *لیستریا مونوسیتوژنز* در گوشت صفر تا ۱۵٪، در مرغ ۲۰/٦ تا ۲٤/۱درصد و در گیاهان دریایی ۵/۹ تا ۲۲/۱ درصد است[۲]. آلودگی گوشت مرغ با *لیستریا مونوسیتوژنز* ممکن است از طریق وسایل و تجهیزات در تماس با گوشت مرغ صورت گیرد[۲]. در نتیجه این باکتری ازنظر بهداشت عمومی بسیار حائز اهمیت است و بایستی به تهیه، توزیع، فراوری و نگهداری گوشت بسیار توجه شود. استفاده از ترکیبات طبیعی نظیر عصاره و اسانس گیاهان به‌جای مواد شیمیایی، در نگهداری مواد غذایی از اهمیت خاصی برخوردار شده است[۱]. امروزه مصرف‌کنندگان خواهان استفاده از غذاهای طبیعی و سالم، بدون افزودنی‌های شیمیایی و نیز بسته‌بندی‌در مواد مناسب به لحاظ زیست‌محیطی می‌باشند. برای برآورده کردن این خواسته،یکی از چالش‌های بزرگ در صنایع غذایی کاهش افزودنی‌های شیمیایی رایج و استفاده از ترکیب‌های طبیعی در فرمولاسیون غذا است.

گیاه زنیان با نام علمی *Trachyspermumammi* گیاهی است یکساله، علفی و ازخانواده جعفریان میباشد. بذر گیاه زنیان دارای اسانس بوده و مقدار آن با توجه به خصوصیات ژنتیکی و محیطی بین۲ الی ۵ درصد متغیر است. اهمیت گیاه زنیان به علت اسانس و ترکیب‌های موجود در اسانس آن است. از ترکیب‌های عمده اسانس این گیاه، تیمول، ترپینن، فلاندرن، گروهپینن،گروه سیمنومیرسن هستند که عمدتاً از منوترپنهای اکسیژنه می‌باشند [۳]. تعداد ترکیب‌های موجود در اسانس در منابع از۱۱تا ۱۷ مورد گزارش‌شده است. همچنین مقدار تیمول موجود در اسانس آن در منابع مختلف ۳۹/۳، ٤۵/۲ و ٤۱/۷ درصد ذکر گردیده است. در مطالعات انجام شده، اسانس زنیان شامل ۱۱ ترکیب می‌باشد که تیمول (٤۵/۲ درصد) و دلتاسیمن (٤۱/۹ درصد) ترکیب‌های اصلی آنرا تشکیل می‌دهند. در مطالعات مختلفی اثر ضدباکتریایی گیاه زنیان بر علیه عوامل بیماریزای گیاهی، کلینیکی و غذایی از جمله *سودوموناسآئروژینوزا*، *آسینتوباکتر*، *کلبسیلاپنومونیا*، *استافیلوکوکوساورئوس*، *ایشریشیاکلی*، *انتروباکترآئروژنس*، *انتروکوکوسفکالیس* و *سالمونلاتیفیموریوم*و تعدادی از کپک ها مورد بررسی قرار گرفته است [٤-۷]. شکریان و همکاران (۲۰۱٦) در مطالعه ای اثر ضد میکروبی زنیان را بر روی تعدای از پاتوژنهای گیاهی و غذایی مطالعه نمودند. در مطالعه آنها بالاترین غلظت مهار کننده بر علیه *سودوموناسسیرینگه* ۱/۵٦ ٪ تعیین گردید [۸]. طریق و همکاران (۲۰۱٤) در مطالعه ای به اثر ضد باکتریایی زنیان بر علیه باکتریهای تولید کننده بتالاکتاماز و مقاوم به آنتی بیوتیک پرداختند[۹]. این اسانس همچون بسیاری از اسانس‌های گیاهی به‌عنوان جایگزین نگه‌دارنده‌های مصنوعی پیشنهاد شده است[۵].

گیاه زردچوبه (*Curcuma longa*) یک ترکیب مهم در علم پزشکی به حساب می‌آید که در تصفیه‌خون، درمان بیماری‌های پوستی، بیماری مزمن کبدی، یرقان، زخم‌های دیابتی و درمان برخی سرطان‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی زردچوبه از مدت‌ها قبل شناخته شده است. اثر ضد میکروبی عصاره زردچوبه بر علیه تعدادی از باکتریهای مهم بیماریزا از جمله *استافیلوکوکوساورئوس*، *اشریشیاکلی* و *کلبسیلاپنومونیا* مورد بررسی قرار گرفته است [۱۰و۱۱]. زردچوبه از نظر شیمیایی شامل ترکیبات فرار و غیر فرار می‌باشد. قسمت فرار حاوی تورمرون[2]، اسیدهای آزاد، کورلون[3] و زینگیبرن[4] است که آرومای زردچوبه را به وجود می‌آورند و قسمت غیر فرار که اغلب از ترکیبات فنولی تشکیل شده است، باعث رنگ زرد می‌شود. این ترکیبات فنولیک ورکومینوئید نام دارند و شامل

1. Godbjornsdottir

2. Turmeron
3. Curlone
4. Zingiberene

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-05]

کورکومین[1]، دیمتوکسیکورکومین[2] و بیسدیمتوکسیکورکومین[3] می‌باشد. اسید فرولیک و اسید پروتوکاتک ویکنیز از ترکیبات فنولی زردچوبه هستند که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند[۱۲].

از فیلم ها و پوشش های خوراکی به دلیل داشتن مواد طبیعی برای افزایش کیفیت و زمان ماندگاری مواد غذایی استفاده می شود. از اسانس ها و عصاره های گیاهی در مقادیر کمتر با حفظ اثربخشی آنها همراه با فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی استفاده می شود[۹]. مزیت اصلی این تکنولوژی آن است که نرخ انتشار عوامل ضد میکروبی را به داخل فرآورده، کاهش می‌دهد و بدین ترتیب غلظت‌های بالایی از ترکیبات فعال را برای دوره‌های زمانی طولانی در سطح فرآورده، (جایی که بیشتر در معرض هجوم باکتری‌ها است) حفظ می‌کند. به علاوه، اضافه کردن اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی به پوشش‌های خوراکی به آنها ویژگی ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی می‌دهد [۳و۱۳]. فیلم‌ها و پوشش های خوراکیبه دلیل زیست تخریب پذیر بودن، در بین مصرف کنندگان از محبوبیت بسیاری برخوردارهستند [۱٤] و می‌توانند به عنوان جایگزین بالقوه برای مواد پلاستیکی که مشکلات فراوانی را از نظر آلودگی‌های زیست محیطی ایجاد کرده‌اند، مورد استفاده واقع شوند[۱۳].

بنابراین این مطالعه با هدف ارزیابی تأثیر پوشش خوراکی متیل سلولز حاوی اسانس زنیان و عصاره زردچوبه بر کنترل رشد *لیستریا مونوسیتوژنز*در گوشت مرغ به منظور افزایش زمان ماندگاری آن در شرایط نگهداری در یخچال انجام گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

اسانس تهیه شده از میوه یا بذر گیاه زنیان و عصاره‌های آبیو پروپیلن گلیکول زردچوبه از شرکت جوهره طعم مشهد و مواد آزمایشگاهی همچون محیطهای کشت آگار-آگار، BHI، آکسفورد، آگار مولرهینتون و پودر متیل سلولز با ویسکوزیته ٤۰۰۰ CP (شرکت سیگما آلدریچ)، پلی‌اتیلن گلیکول٤۰۰، توئین ۸۰ و کلیه مواد شیمیایی دیگر از شرکت‌های معتبر مرک و سیگما تهیه شد.

۲-۲- آماده‌سازی باکتری جهت تلقیح

باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز*(ATCC:7644) مورد استفاده در این مطالعه از سویه رفرنس موجود در گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شد.برای تهیه کشت مورد نیاز، ابتدا با استفاده از آنس استریل و در شرایط استریل از سویه رفرنس برداشته و بر روی پلیت های محیط آگار BHI کشت داده شد. سپس پلیت به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه گذاری گردید. در مرحله بعد، از کلنی حاصل از باکتری برداشته و به لوله‌آزمایش حاوی آب مقطر استریل انتقال داده شد. تعداد باکتری از طریق سنجش و کدورت حاصل از آن به‌وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر مطابق با لوله ۰/۵ مک فارلند در نظر گرفته شد (میزان جذب نوری برابر با ۰/۱-۰/۰۸ در طول موج ٦۰۰ نانومتر). در این کدورت تعداد $۱/۵ \times ۱۰^{۸}$ باکتری در میلی‌لیتر موجود بود. جهت کنترل سوسپانسیون مورد نظر را رقت سازی کرده و شمارش بر روی محیط BHI آگار نیز انجام شد. برای انجام هر مرحله از آزمایش به میزان موردنظر از سوسپانسیون باکتری برداشت و درنهایت سوسپانسیون باکتریایی به میزان $۱۰^{٦}$ سلول در هر میلی‌لیتر تهیه شد[۱].

۲-۳- آنالیز اسانس زنیان

اسانس زنیان مورد استفاده در این مطالعه با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف نگار جرمی آنالیز گردید. دستگاه گازکروماتوگراف (Agilent HP-6890 Paloagilent technologies,Alto, CA,USA) با ستون موئینه HP-5MS با طول ۳۰متر (ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵میکرومتر و قطر داخلی ۲۵۰میکرومتر) متصل به یک طیف نگار جرمی (Agilent HP-5973) با انرژی یونیزاسیون۷۰ الکترون‌ولت انجام شد. دمای فور ابتدا به مدت ۵ دقیقه در ۵۰ درجه سانتی‌گراد نگه‌داشته شد و سپس دمای آن با نسبت ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه تا۲٤۰ درجه سانتی‌گراد بالا رفت و نهایتاً تا۲۹۰ درجه سانتی‌گراد با نسبت ۱۵ درجه در دقیقه بالا رفت و پس‌ازآن به مدت ۳ دقیقه ثابت نگه داشته شد. از گاز هلیوم به‌عنوان حامل با میزان جریان

1. Curcumin
2. Curcumindimethoxy
3. Bisdemethoxy curcumin

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-05]

۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. نمونه‌های ۰/۱ میکرو لیتری به‌صورت دستی با روش اسپلیتلس[1]تزریق شد. جهت به دست آوردن داده‌های کمی از محدوده درصدهای پیک‌ها استفاده شد. اندیس‌های بازداری برای همه ترکیبات با استفاده از ترکیبات هم‌رده N–آلکان‌ها (که در شرایطی مشابه با نمونه‌ها تزریق می‌شدند) محاسبه شد. ترکیبات اسانس در مقایسه با اندیس‌های بازداری نسبی مربوط به (C8-C22) N-آلکان ها با موارد موجود در سایر تحقیقات یا کتب معتبر و با تطبیق دادن طیف آنها با سایر موارد طیف‌های انتشار یافته یا اطلاعات کامپیوتری سیستم داده‌ای GC-MS تائید شدند.

۲-٤- اندازه گیری ترکیبات فنولی عصاره زردچوبه

عصاره با غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر تهیه شد و ۰/۵ میلی لیتر از آن به لوله فالکون منتقل شد و با ۲/۵ میلی لیتر از معرف فولین سیوکالتیو[2] رقیق شده با آب به نسبت ۱ به ۱۰ ترکیب و ۲ میلی لیتر از کربنات سدیم ۷/۵ درصد مخلوط شد و به مدت نیم ساعت در دمای اتاق قرار گرفت و سپس جذب آن در طول موج ۷٦۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در مقابل بلانک قرائت شد. محاسبات بر اساس منحنی کالیبراسیون به دست آمده از گالیک اسید انجام شد. میزان تام ترکیبات فنولیک بر اساس میزان معادل میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره گزارش گردید. آزمایشات در سه بار تکرار و میانگین آنها گزارش شد[۱۵].

۲-۵- اندازه گیری توکوفرول موجود در عصاره زردچوبه

۲۰۰ میلی گرم از عصاره به دقت در یک بالن ژوژه ۱۰ میلی لیتری وزن شد و ۵ میلی لیتر تولوئن به نمونه اضافه و به خوبی مخلوط شد. سپس ۳/۵ میلی لیتر محلول ۲و۲ بی پیریدین (۰/۰۷ درصد وزنی حجمی در اتانول آبی ۹۵ درصد) و ۰/۵ میلی لیتر کلرید آهن III شش آبه (۰/۲ درصد وزنی حجمی در اتانول آبی ۹۵ درصد) اضافه و مخلوط گردید و در نهایت حجم محلول با اتانول آبی ۹۵ درصد به ۱۰ میلی لیتر رسانده شد. محلول به مدت یک دقیقه در حالت سکون قرار گرفت و جذب آن در ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis خوانده شد[۳].

۲-٦- تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) اسانس زنیان

برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی[3]اسانس زنیان از روش میکروبراث دایلوشن[4] در محیط کشت BHI استفاده شد. بدین منظور غلظت‌های مختلف از ۰,۰۰۱ تا ۱ درصد اسانس با محیط کشت تهیه گردید. سپس از باکتری *Listeria monocytogenes* به میزان 10^6 CFU/ml به هرکدام از چاهک‌ها تلقیح گردید. یک چاهک کنترل منفی فاقد باکتری ویک چاهک کنترل مثبت و فاقد اسانس در نظر گرفته شد. پلیت به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتیگرادگرمخانه گذاری گردید و پس از طی این مدت، چاهک‌ها از نظر کدورت حاصل از فعالیت و رشد باکتری موردبررسی ماکروسکوپی قرار گرفتند. حداقل غلظت مهارکنندگی(MIC) برای چاهکی در نظر گرفته شد که حاوی کمترین غلظت اسانس باشد و کدورت فراوانی در آن ایجاد نشده باشد[۱٦].

۲-۷- تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی(MIC) عصاره زردچوبه

برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی ازروشانتشار درآگار[5]، در محیط کشت آگار مولر هینتون استفاده شد. ازکشت ۲٤ ساعته باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* سوسپانسیونباکدورتمعادلاستاندارد، ۰/۵ مک فارلند تهیه شد و با استفاده از سوآب های پنبه‌ایاستریل به‌صورت یکنواخت در آگار مولر هینتون کشت داده شد. درروش انتشار در آگار، چاهک‌هایی به قطر ٦ میلی‌متر در پلیت‌ها ایجاد شد و در هر چاهک مقدار۵۰ میکرولیتر از عصاره مورد نظر ریخته شد و در دمای ۳۰ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری شد. از آب مقطر استریل به‌عنوان کنترل استفاده گردید. پس از ۲٤ ساعت گرمخانه گذاری قطر هاله عدم رشد برحسب میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. لازم به ذکر است که منظور فعالیت ضد باکتریایی عصاره آبی و پروپیلن گلیکول زرد چوبه به ترتیب در غلظت‌های ۲۵، ۵۰،

1. Splitless
2. Folin-Ciocalteu Reagent

3. Minimum inhibitory concentration
4. Micro-broth dilution method
5. Agar well diffusion method

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-05]

۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرمدرمیلی‌لیتر و ۱۹، ۳۸، ۷۰ و ۱٤۰ میکروگرم در میلی‌لیتر مورد آزمایش قرار گرفت. از دیسک آنتی‌بیوتیک تتراسیکلین (۳۰ میکروگرم) به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید[۱٦].

۲-۸- آماده کردن نمونه‌های گوشت مرغ

نمونه‌های سینه مرغ از بازار خریداری و بعد از پوست‌کنی و جدا کردن چربی‌ها به قطعات ۲۵ گرمی یکسان تقسیم شد. ابتدا به وسیله آب به طور کامل شست‌وشو داده شد تا ضمن گرفتن ضایعات و چربی‌های سطحی، بار میکروبی آن کاهش یابد و درنهایت هر یک از نمونه‌ها توسط آب مقطر به‌طور کامل آب‌کشی شد و در کیسه‌های پلی‌اتیلنی استریل در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

۲-۹- آماده‌سازی و تلقیح باکتری به گوشت مرغ

ابتدا قطعات مرغ به مدت ۱۵ دقیقه در الکل ۷۰ درجه استریلوبعد از شعله دهی به‌صورت جداگانه به مدت یک دقیقه درمحلول آب پپتونه حاوی 10^{6}سلول در هر میلی‌لیتر غوطه‌ور شدند. به‌منظور اطمینان از تلقیح کامل از همزن شیشه‌ای برای مخلوط کردن استفاده شد. قطعات گوشت تلقیح شده به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق (۲۵ ^{o}C) زیر هود بیولوژیک خشک شدند.

۲-۱۰- تهیه پوشش و تیمارها

ابتدا محلول ۱/۵ درصد (وزنی _حجمی) پودر متیل سلولز در آب مقطر و اتانول به نسبت ۲ به ۱ تهیه شد. محلول مورد نظر به مدت۳۰ دقیقه روی هیتر مگنت دار در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد و دور بالا حرارت داده شد. سپس پلی‌اتیلن گلیکول٤۰۰ به عنوان نرم‌کننده به میزان ۰/۳۳ درصد وزن پلیمر به محلول متیل سلولز (وزنی _ وزنی) اضافه شد. پس از سرد شدن محلول به ٦ بخش مساوی تقسیم شدند. به این ترتیب محلول‌های حاوی ترکیب اسانس زنیان و عصاره زردچوبه به طور جداگانه در غلظت‌های ۰/۳، ۰/٤۵ و ۰/٦۵درصد اسانس زنیان و ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد عصاره زردچوبه (حجمی-حجمی) تهیه شدند و به یک بخش نیز اسانسی افزوده نشد تیمار شاهد). قبل از افزودن اسانس، توئین۸۰ به عنوان امولسیفایر به میزان ۰/۲ درصد حجم اسانس به محلول اضافه گردید. سپس به مدت۳۰ دقیقه عمل همزدن به آرامی صورت گرفت تا امولسیفایر به صورت یکنواخت درون محلول پخش شود. پس از آن اسانس زنیان و عصاره زردچوبه در غلظت‌های ذکر شده به هر کدام از محلول‌ها اضافه شد و به مدت دو دقیقه عمل همزدن با هموژنایزر صورت گرفت. تا اسانس‌ها به طور یکنواخت در مجموعه پخش شدند. جهت ایجاد پوشش بر سطح قطعات مرغ تلقیح شده با باکتری به میزان 10^{6}CFU/g، ابتدا قطعات مرغ به مدت ۱ دقیقه در محلول‌های تهیه شده غوطه‌ور شدند. سپس آن‌ها را از محلول خارج نموده و پس از گذشت تقریباً ۲ دقیقه، مجدداً ۱ دقیقه دیگر در محلول پوششی قرار گرفت. جهت خشک کردن قطعات مرغ آنها را به مدت۵ ساعت از صفحات مشبک استریل آویزان نموده و در دمای محیط (حدود ۱۰ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۵ ساعت تا تشکیل پوشش بر روی قطعات مرغ باقی ماندند[۱٤]. سپس قطعات مرغ در کیسه های زیپ دار استریل قرارداده شده و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ روز نگهداری شدند. نمونه ها در فواصل زمانی ٤ روزه (صفر، ٤ و ۸) مورد ارزیابی میکروبی قرار گرفتند. نمونه‌های تلقیح شده با باکتری به میزان 10^{6}CFU/g تحت تیمارهای آورده شده در جدول ۱ قرار گرفتند.

Table 1 List of treatments in the present study.

	Treatment	Description
1	Control (CO)	Samples without any coating solution
2	A1 (0.3%EO + 0.25%T)	Samples coated with EO (0.3% w/v) and T (0.25% w/v)
3	A2 (0.3%EO + 0.5%T)	Samples coated with EO (0.3% w/v) and T (0.5% w/v)
4	B1 (0.45%EO + 0.25%T)	Samples coated with EO (0.45% w/v) and T (0.25% w/v)
5	B2 (0.45%EO + 0.5%T)	Samples coated with EO (0.45% w/v) and T (0.5% w/v)
6	C1 (0.65%EO + 0.25%T)	Samples coated with EO (0.65% w/v) and T (0.25% w/v)
7	C2 (0.65%EO + 0.5%T)	Samples coated with EO (0.65% w/v) and T (0.5% w/v)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-05]

۲-۱۱- شمارش باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در قطعات مرغ

برای شمارش باکتری لیستریا مونوسیوژنز تلقیح شده، مقدار ۲۵ گرم از قطعات مرغ را با ۲۵۰ میلی لیتر آب پپتونه استریل ۰/۱ درصد در داخل دستگاه استوماکر برای مدت ۳ دقیقه کاملا هموژن کرده و سپس از آن رقت های متوالی تهیه کرده و روی محیط آگار آکسفورد پخش کرده و در ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ٤٨ ساعت انکوبه گردید.

۲-۱۲- تجزیه و تحلیل آماری

همه‌ی آزمایش‌ها در ۳ تکرار انجام گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS16 انجام شد. تحلیل داده‌ها و مقایسه میانگین داده‌ها در تیمارهای مختلف بر اساس آزمون دانکن و سطح معنی داری ۵ درصد انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ترکیبات شیمیایی اسانس زنیان

آنالیز اسانس با دستگاه گاز کروماتوگرافی–اسپکترومتری جرمی انجام و ترکیبات آن تعیین گردید. اجزای اسانس زنیان همراه با اندیس بازداری و درصد اجزاء در جدول ۱ثبت شده‌اند. در آنالیز اسانس زنیان، ١٤ جزء تشخیص داده شد. اجزاء اصلی اسانس شامل تیمول به میزان ۵۷/۱۸ درصد، پاراسایمن ۲۲/۵۵ درصد و گاما ترپاینن به میزان ۱۳/۰۷ درصد بودند. اغلب مطالعات انجام شده، تیمول را به عنوان جزء غالب اسانس زنیان معرفی نموده‌اند درحالی‌که برخی گزارش‌ها کارواکرول را به عنوان ترکیب شیمیایی اصلی آن بیان کرده‌اند[۱۷]. گودرزی و همکاران (۲۰۱۱) با هدف بررسی فعالیت ضدمیکروبی ترکیبات شیمیایی اسانس زنیان و با استفاده از روش رقیق‌سازی در براث و انتشار در آگار نشان دادند که اجزای غالب اسانس زنیان به ترتیب تیمول،گاما ترپاینن و پارا سایمن تشکیل می‌دهند[۱۸].

Table 1 Chemical composition of *Carum capticum* essentional oil

NO	Phytochemicals	Percent	Retention index
1	α-pinene	0.29	11.35
2	β-pinene	0.43	13.45
3	β-Myrcene	0.34	14.28
4	α-Phellandrene	0.065	14.89
5	α-Terpinen	0.311	15.54
6	p-Cymene	22.55	16.21
7	α -Terpinolene	0.095	19.18
8	β-Phellandrene	0.541	16.29
9	γ -Terpinen	13.07	17.93
10	L-Carvone	0.908	27.29
11	*trans*-anethole	1.7	28.68
12	Thymol	57.18	29.73
13	Carvacrol	0.524	29.84
14	Apiol	0.566	42.73
	Total	98.57	

۳-۲- ویژگی های آنتی اکسیدانی عصاره زردچوبه

امروزه یکی از بهترین منابع آنتی‌اکسیدان های طبیعی، ترکیبات فنولی گیاهان می باشد. در میان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک با توزیع فراوان در گیاهان شناخته شده‌اند. ترکیبات فنولی گیاه مانند اسید فنولیک، تانن و لیگنان به طور معمول در بافت، برگ و گل وجود دارند و نقش مهمی در گیاه از جمله رشد و دفاع در برابر عفونت بر عهده دارند. فنولیک‌ها مانند فلاونوئیدها از بروز بسیاری از بیماری‌ها از جمله بیماری‌های التهابی، سرطان، دیابت، سکته قلبی و آلزایمر جلوگیری می‌کنند[۱۹].

Table 2 Chemical composition of*Curcuma longa* extract

Total phenol (mg/g)	Tocopherol (μg/ml)	
57.92±1.24	107.72±4.36	Water extract
51.32±3.15	93.86±4.78	Propylene glycol extract

جدول ۲ مقادیر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی فنول و توکوفرول عصاره زردچوبه را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می شود گیاه زردچوبه دارای مقادیر نسبتاً بالایی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. میزان ترکیبات فنولی کل عصاره آب و پروپیلن گلیکول گیاه زردچوبه در این تحقیق به ترتیب۵۷/۹۲ و ۵۱/۳۲ میلی گرم گالیک اسید بر گرم عصاره به دست آمد که این مقدار برای

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-05]

عصاره متانول–آبی پوست گریپ فروت ۲۵/۹۰ میلی گرم گالیک اسید در هر گرم پوست گریپ فروت خشک شده[۲۰]، عصاره متانولی گیاه مورینگا ۱۰/۱۷ میلی گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک [۲۱] گزارش شده است. استانکویک و همکاران (۲۰۱۲) میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی گیاه هلپه را توسط حلال های مختلف (آب، استن، متانول و پترولیوم اتر) استخراج کردند. نتایج حاصل از تحقیق آنها نشان داد میزان ترکیبات فنولی با توجه به نوع حلال از ۱٤/۵۷ تا ۱۵۷/۸٤ میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره متفاوت بود [۲۲].

توکوفرول آنتی‌اکسیدان محلول در چربی است. در بسیاری از مطالعات نشان داده شده که آلفا–توکوفرول شکل عمده توکوفرول موجود در برگ است و مکان اصلی آن در پلاستیدها می باشد. غنی بودن توکوفرول در غشا کلروپلاست احتمالاً مرتبط با توانایی توکوفرول در مهار و غیرفعال سازی اکسیژن فعال و محافظت از پراکسیداسیون چربی می باشد[۲۳]. میزان توکوفرول عصاره آب و پروپیلن گلیکول گیاه زردچوبه به ترتیب ۱۰۷/۷۲و ۹۳/۸٦ میکرو گرم آلفا توکوفرول بر میلی لیتر عصاره بود.

۳-۳- خصوصیات ضد میکروبی

بهداشت و سلامت گوشت یکی از چالش‌های مهم در مبحث بهداشت مواد غذایی است که باید به‌خوبی درک شود. مدیریت این مسئله جز با همکاری یکپارچه تمام بخش‌ها از جمله تولید کننده، فراوری کننده، توزیع کننده، بسته‌بندی کننده، فروشنده، کارگر و مصرف‌کننده میسر نمی‌باشد[۱۳]. *لیستریا مونوسیتوژنز* یک عامل باکتریایی مشترک بین انسان و دام است. آلودگی به این باکتری در انسان منجر به بیمارهایی همچون شبه آنفولانزا، مننژیت، مننگوانسفالیت، سقط، تولد زودرس و تولد جنین مرده می‌گردد. احتمال ایجاد این بیماری در زنان باردار، افراد جوان یا مسن و افرادی که سیستم ایمنی بدن آنها ضعیف شده بیشتر است[۲].

۳-۳-۱- بررسی میزان MIC اسانس زنیان و عصاره زردچوبه

با توجه به اینکه اسانس های گیاهی می توانند خواص حسی غذاها را تغییر دهند، باید از غلظت های پایین آنها که دارای خاصیت ضد میکروبی باشند استفاده نمود. نتایج حاصل از بررسی تأثیر عصاره اتیلاستاتی زردچوبه روی استافیلوکوکوس های مقاوم به متیسیلین که توسط Kim و همکاران (۲۰۰۵) انجام گرفت، نشان داد دامنه MIC عصاره بین ۰/۱۲۵ تا ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر است[۲٤]. مطالعه ما نیز نشان داد که حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) رشد باکتری*لیستریا مونوسیتوژنز* به‌وسیله عصاره آبی وعصاره پروپیلن گلیکولی زردچوبه به ترتیب ۵۰ و ۷۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر میباشد. در خصوص اثرات ضدباکتریایی اسانس زنیان، عروجعلیان و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که حداقل غلظت بازدارندگی(MIC) آن ۰/۵– ۰/۰۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتردر مقابل *لیستریا مونوسیتوژنز* می‌باشد [۳]. در مطالعه ما نیز حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) اسانس زنیان برعلیه *لیستریا مونوسیتوژنز* معادل ۰/۰٦٤ تعیین گردید.

در سال‌های اخیر توجه مصرف‌کنندگان به مواد غذایی با فرآوری و مواد شیمیایی کمتر، منجر به رویکرد قابل توجه تولید کنندگان مواد غذایی به جایگزینی نگه‌دارنده‌های شیمیایی با انواع طبیعی و بیولوژیک در فرآورده‌های غذایی شده است. اسانس‌های گیاهی یک منبع قوی ترکیبات ضدمیکروبی به‌ویژه ضد باکتریایی می‌باشند [۳]. اسانس زنیان نیز که بیشترین جزء آن را تیمول تشکیل می‌دهد دارای خواص آنتی‌باکتریال بوده و قادر به جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های پاتوژن می‌باشد. یک ویژگی مهم اسانس‌های گیاهی و ترکیبات آن‌ها، خاصیت آب‌گریزی بوده که آنها را قادر می‌سازد لیپیدها را پراکنده ساخته، غشاء سلولی باکتری و میتوکندری را تخریب نموده و باعث از بین رفتن ساختار سلولی و افزایش نفوذپذیری آن شوند. نهایتاً ترشح گسترده مواد از سلول باکتری یا خروج یون‌ها و مولکول‌های حیاتی از آن منجر به مرگ باکتری خواهد شد[۳]. استفاده از اسانس‌های گیاهی در ترکیب با سایر روش‌های نگه‌دارنده از جمله مواد نگه‌دارنده شیمیایی یا دمای پایین می‌تواند یک جایگزین مناسبی برای روش‌های رایج باشد [۱۳و۱٤].

در مطالعه انجام شده به وسیله آنو همکاران (۲۰۰٤)نشان داده شد که عصاره‌های گیاهی می‌توانند در کنار سایر روش‌های نگهداری در جهت کاهش جمعیت باکتریایی، اکسیداسیون چربی و تغییر رنگ در گوشت گاو مورد استفاده قرارگیرند[۲۵]. اور وهمکاران (۲۰۰۹) اثر اسیدهای ارگانیک و عصاره‌های گیاهی را بر روی *لیستریا مونوسیتوژنز*، *اشریشیاکلی* و *سالمونلا تایفیموریوم* در

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-05]

محیط کشت مایع وگوشت مرغ مورد بررسی قراردادند و نتیجه گرفتند که اسیدهای ارگانیک و عصاره‌های گیاهی می‌توانند جمعیت این باکتری‌ها را کنترل کنند[۲٦]. مطالعات زیادی در خصوص فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس زنیان انجام شده است که نشان می دهد این اسانس قادر است بطور قابل توجهی جمعیت باکتریهای گرم منفی و گرم مثبت را کاهش داده و به عنوان آنتی‌اکسیدان در نگهداری غذاهای پرچرب مورد استفاده قرار گیرد که با مطالعه حاضر همخوانی دارد [۲۷-۳۰].

سینگ و همکاران (۲۰۰۲) فعالیت ضدباکتریایی اسانس زردچوبه را در دامنه غلظتی۲۰ الی ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بر *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوساپیدرمیدیس* و عصارهآبی گیاه را درغلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بر *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داده است[۳۱]. سلوام و همکاران (۲۰۱۲) فعالیت ضد میکروبی رنگ طبیعی زردچوبه را در برابر گونه‌های مختلف باکتری موردبررسی قرار دادند. رنگ طبیعی زردچوبه اثر بازدارندگی بر روی *اشرشیاکلی و ویبریوکلرا* نشان داد [۳۲]. نخعی و همکاران (۲۰۰۲) اثر ضد باکتریایی عصاره الکلی زردچوبه را بر بعضی از باکتری‌های ایجادکننده عفونت روده‌ای و پوستی مورد تحقیق قرار دادند و اعلام کردند که این عصاره می‌تواند مانع رشد باکتری‌ها گردد. در این بررسی اثر عصاره زردچوبه بر باکتری‌هایی چون *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *باسیلوس سابتیلیس* بیشتر از اثر آن بر *سودوموناس ایروجینزا* و *اشرشیاکلی* بوده است[۳۳]. سایر محققان فعالیت ضد میکروبی عصارهآبیزردچوبه را بر *استافیلوکوکوس اورئوس* و سایر باکتری‌های گرم مثبت گزارش کرده‌اند. پژوهشگران معتقدند که عصاره الکلیاین گیاه بر باکتری‌های گرم مثبت مؤثر است و می‌تواند از عفونت زخم جلوگیری کند. کورکومین یکی از مواد مؤثره مهم این گیاه است که بر باکتری‌های گرم مثبت اثر دارد[۱۰و۱۱]. سیکریکی و همکاران (۲۰۰۸) اثر ضدباکتریایی زردچوبه را مربوط به حضور آلکالوئید، کورکومین و دیگر کورکومینوئیدها، اسانس زردچوبه، ولریک اسید و تومرول معرفی کردند[۳٤].

۳-۳-۲- بررسی خصوصیات ضد میکروبی اسانس زنیان و عصاره زردچوبه به روش انتشار در آگار

در مطالعه حاضر نیز با افزایش غلظت اسانس زنیان و عصاره زردچوبه فعالیت ضدمیکروبی پوشش متیل سلولز افزایش یافت به طوری قطر هاله عدم رشد در نمونه های CO، A_1، A_2، B_1، B_2، C_1 و C_2 به ترتیب صفر، ۷، ۷، ۱۰، ۱۲، ۱۳ و ۱٤ میلی‌متر بود. داده‌ها نشان داد که با افزایش غلظت‌اسانس زنیان (EO) و عصاره زردچوبه (T) رشد باکتری *لیستریامونوسیتوژنز* بیشتر مهار شد و ناحیه بازداری فیلم متیل سلولز بر باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* برای گروه (٪۰/۵T + ٪۰/٦۵ EO) بیشتر از سایر گروه‌ها بود [۲٦، ۲۸ و ۲۹].

Table 3 Inhibition zone diameter (mm) in agar diffusion methodagainst*Listeria monocytogenes*

Diameter (mm)	Treatment	
0 [g]	Control (CO)	1
7 [f]	A1 (0.3%EO + 0.25%T)	2
7 [f]	A2 (0.3%EO + 0.5%T)	3
10 [e]	B1 (0.45%EO + 0.25%T)	4
12 [d]	B2 (0.45%EO + 0.5%T)	5
13 [c]	C1 (0.65%EO + 0.25%T)	6
14 [b]	C2 (0.65%EO + 0.5%T)	7
45 [a]	Tetracycline (30 µg)	8

Means within a column with the same letters are not significantly different at $P < 0.05$.

آریایی و همکاران (۲۰۱٤) در تحقیق خود فعالیت ضد میکروبی فیلم خوراکی متیل سلولز غنی شده با اسانس اناریجه بر روی فیله‌های ماهی فیتوفاگ در شرایط نگهداری در یخچال طی دوره ۱٦ روزه را موردبررسی قراردادند. بر اساستایجبدست آمده پوشش متیل سلولز حاوی ۱/۵درصد اسانس اناریجه جهت ارزیابی میکروبی گوشت توانست از رشد باکتری‌های کلوباکتری‌های سرمادوست فیله ماهی فیتوفاگ در شرایط سرد نگهداری (در ٤ درجه سلسیوس) جلوگیری نماید. پوشش فیله ماهی با متیل سلولز غنی شده با اسانس اناریجه موجب کند شدن رشد میکروبی به مقدار٦/۵۹ و ۷/٦٦ لگاریتم به ترتیب در روزهای دوازدهم و شانزدهم نگهداری شد. همچنین در غلظت ۱/۵ درصد اسانس حساس‌ترین باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* بود که ناحیه بازداری آن برای پوشش خوراکی ۳٤/۳۳ میلی‌متر بدست آمد و نتایج نشان داد در فیلم‌های خوراکی با افزایش غلظت اسانس در ماتریکس پلیمر ناحیه بازداری افزایش پیدا کرد[۳۵]. صداقت و همکاران (۲۰۱۵) خواص ضد میکروبی فیلم کربوکسی متیل سلولز حاوی اسانس‌گشنیز و پوست لیمو ترش و تأثیر آن

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-05]

برافزایش زمان ماندگاری گوشت گوسفند در دمای یخچال را موردبررسی قراردادند. در این بررسی فیلم‌های حاوی اسانس‌گشنیز و لیمو ترش در محیط کشت آگار در مقابل میکروارگانیسم‌های *اشرشیاکلی* و *سودوموناس آئوروژنس* خاصیت ضدمیکروبی داشتند، اما تأثیر معنی‌داری بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* نداشتند. فیلم CMC باعث کاهش بار میکروبی کل و باکتری‌های *سودوموناس*، *کلی‌فرم* و *استافیلوکوکوس*گوشت شد و عملکرد فیلم حاوی اسانس بهتر از فیلم فاقد اسانس بود($p<0.05$). تأثیر ضدمیکروبی اسانس لیمو بر *سودوموناس* به طور معنی‌داری بیش‌تر از اسانس‌گشنیز بود [۳۶]. شبان و همکاران (۲۰۱٤) فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌های متیل سلولز غنی‌شده با اسانس‌های میخک، مرزنجوش، دارچین، گشنیز و زیره سبز را در برابر سه پاتوژن ناشی از مواد غذایی (*اشرشیاکلی*، *استافیوکوکوس اورئوس* و *لیستریا مونوسیتوژنز*) با استفاده از روش انتشار درآگار موردبررسی قراردادند. در این مطالعه اثر ضدمیکروبی مرزنجوش >میخک>دارچین>گشنیز >زیره سبز بود. در این مطالعه ماهیت و مقدار اسانس نقش مهمی در فعالیت ضدمیکروبی فیلم ایجاد کرد. فیلم حاوی ۱/۵ ٪ مرزنجوش جمعیت باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز*، *اشرشیاکلی* و *استاف اورئوس* را به ترتیب ٦/۳۳، ٤/٥۲و ٥/۸۰ لگاریتم کاهش داد [۲۹].

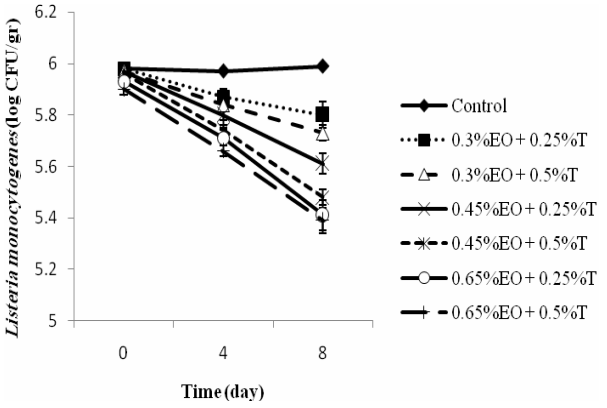

Fig 1 Changes of *Listeria monocytogenes* in uncoated poultry meat

در شکل‌های ۱ و ۲ نتایج تعداد *لیستریامونوسیتوزنز* در نمونه‌های واجد پوشش و بدون پوشش حاوی مقادیر مختلف اسانس زنیان و عصاره زردچوبه نشان داده شده است. در نمونه‌های بدون پوشش، تعداد *لیستریامونوسیتوزنز* در طی ۸ روز نگهداری در نمونه شاهد از ۵/۹۸ به ۵/۹۹، در A_1 از ۵/۹۸ به ۵/۸۰، در A_2 از ۵/۹۷ به ۵/۷۳، در B_1 از ۵/۹۷ به ۵/٦۱، در B_2 از ۵/۹٦ به ۵/٤۸، در C_1 از ۵/۹۳ به ۵/٤۱ و در C_2 از ۵/۹۰ به ۵/۳۹ و در نمونه‌های دارای پوشش متیل سلولز، تعداد *لیستریا مونوسیتوزنز* در طی ۸ روز نگهداری در نمونه شاهد از ٦ به ۵/۹٦، در A_1 از ۵/۹۸ به ۵/۷۱، در A_2 از ۵/۹۷ به ۵/٦۰، در B_1 از ۵/۹۵ به ۵/٤۷، در B_2 از ۵/۹۳ به ۵/۳۹، در C_1 از ۵/۸٦ به ۵/۲۹ و در C_2 از ۵/۸۷ به ۵/۱۷ کاهش یافت.

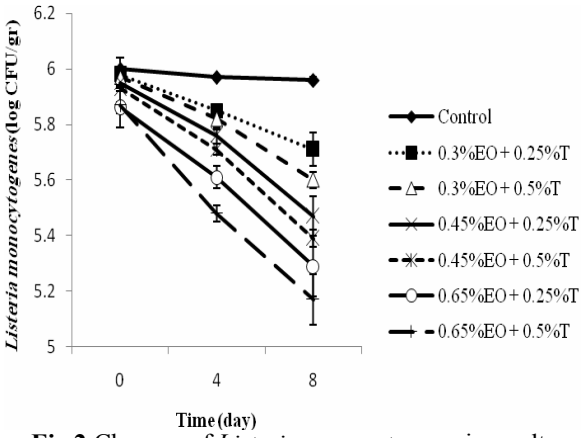

Fig 2 Changes of *Listeria monocytogenes*in poultry meat coated by methylcellulose

در این مطالعه، در قطعات مرغ حاوی اسانس زنیان و عصاره زردچوبه رشد باکتری بیشتر مهار شد به طوری که میانگین لگاریتم تعداد باکتری در دوره ۸ روزه در تمام گروه‌ها به‌صورت معنی‌داری کمتر از گروه کنترل(فاقد اسانس و عصاره)بود و در نمونه های دارای پوشش حاوی اسانس و عصاره نیز نسبت به نمونه های فاقد پوشش بدون اسانس و عصاره رشد باکتری بیشتر مهار شد. به طوری که رشد باکتری در قطعات مرغ فاقد پوشش خوراکی افـزایش یافـت، اما این روند افزایشی در گوشـت پوشش داده شده کمتربـود. از طرف دیگر، با افزایش غلظت عصاره و اسانس، خاصیت ضد میکروبی افزایش یافت. در مطالعات انجام شده توسط سایر محققان نیز نتایج مشابهی گزارش‌شده است[۲۹-۳۰ و۳۷].

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-05]

اوتاراو همکاران (۲۰۰۱) با بررسی اثر استفاده از فیلم کامپوزیت بر پایه پروتئین آب‌پنیر و سویا در ترکیب با کربوکسی متیل سلولز حاوی اسانس آویشن و سینالدئید مشاهده نمودند که رشد میکروبی در نمونه‌های میگوی پخته تیمار شده در مقایسه با نمونه‌های فاقد پوشش کاهش نشان می‌دهد[۳۸]. حسینیو همکاران (۲۰۰۹) خواص‌ضد میکروبی، فیزیکی و مکانیکی فیلم‌های خوراکی تولید شده از کیتوزان محتوی اسانس‌های آویشن و میخک، را مورد بررسی قرار دادند. در این‌تحقیق فیلم‌های خوراکی از جنس کیتوزان محتوی اسانس‌های آویشن و میخک در سه سطح غلظتی۰/۵، ۱ و ۱/۵درصد تولید شدند. خواص ضد میکروبی فیلم‌ها روی پنج باکتری‌گرم مثبت و گرم منفی مورد آزمایش قرار گرفت. خواص ضد میکروبی فیلم‌های حاوی اسانس آویشن، به طور معنی‌داری بالاتر از فیلم‌های حاوی اسانس میخک بودند. فیلم‌ها روی باکتری‌های گرم مثبت به طور معنی‌داری مؤثرتر از باکتری‌های گرم منفی بودند[۳۹].

در این مطالعه نیز فیلم متیل سلولز با اسانس و فاقد اسانس تهیه گردید و از بابت اثرات ضدمیکروبی به‌صورت آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرارگرفت.تقی زادهو همکاران (۲۰۱۲) اثر پوشش ژلاتینی را بر روی کیفیت فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در طی یک دوره ۲۰ روزه در شرایط نگهداری سرد (٤درجه سانتی‌گراد) بررسی کردند. آنها گزارش کردند که این پوشش‌ها به‌تنهایی فاقد خواص ضدمیکروبی بوده و تأثیری درحفظ خواص حسی فیله ماهی در دمای یخچال نداشتند. هرچند تأثیر آنها در بازدارندگی اکسیداسیون به دلیل ممانعت از نقل و انتقال اکسیژن محسوس بود [٤۰]. برومندو همکاران (۲۰۱۳) اثر ضدمیکروبی فیلم کازئینی حاوی اسانس آویشن شیرازی را بر روی سه میکروارگانیسم مهم بیماری‌های مواد غذایی *سالمونلاتیفی‌موریوم*، *اشرشیاکلی O157:H7* و *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد ارزیابی قراردادند. این مطالعه نشان داد که اسانس آویشن‌شیرازی اگرچه بر هر سه باکتری مؤثر است، ولی بیشترین تأثیر آن بر *استافیلوکوکوساورئوس* با MIC و MBC برابر با ۲۵۰ppm بود[٤۱].

مطالعه جیانگو همکاران (۲۰۱۱) اثر منجمد کردن، نگهداری در فریزر همراه با پوشش خوراکی ضد باکتری (پکتین) در کنترل *لیستریا مونوسیتوژنز* در بوقلمون کباب شده را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه نشان داده شد که استفاده از پکتین باعث افزایش سلامت غذاهای آماده می‌شود همچنین فریزر گذاری باعث افزایش اثر ضد *لیستریایی* پکتین می‌شود[٤۱]. خنجری و همکاران (۲۰۱۳) براثر ترکیبی N,O_ کربوکسی متیل کیتوزان و اسانس پونه کوهی بر کنترل رشد *لیستریا مونوسیتوژنز* و افزایش عمر مفید در فیله گوشت مرغ خام مطالعه انجام دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که ترکیب این دو اثر ضد میکروبی و نگه‌دارندگی قابل‌توجهی بر *لیستریا مونوسیتوژنز* و افزایش عمر مفید فیله مرغ داشت[٤۲]. در بررسی اجاق و همکاران (۲۰۱۰) افزودن غلظت‌های مختلف اسانس دارچین بر ویژگی‌های فیلم کیتوزان دارای اسانس دارچین نشان داد که اثر ضد میکروبی با افزایش غلظت اسانس افزایش یافت. آنها پیشنهاد کردند که فیلم دارای اسانس دارچین می‌تواند بسته‌بندی مناسبی برای نگهداری ماهی قزل‌آلا تحت شرایط نگهداری در یخچال باشد[١٤].

۵- نتیجه‌گیری

به‌طور خلاصه نتایج این مطالعه نشان داد که، استفاده از پوشش خوراکی متیل سلولز حاوی ترکیب عصاره زردچوبه و اسانس زنیان می تواند به عنوان یک پوشش اقتصادی و موثر و در عین حال زیست تخریب پذیر، رشد باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* را در گوشت مرغ کنترل نماید و باعث افزایش زمان ماندگاری گوشت مرغ در یخچال شود.

٦- تشکر و قدردانی

نگارندگان مقاله برخود لازم می دانند از زحمات سرکار خانم خواجه نصیری کارشناس محترم آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی و معاونت محترم پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به خاطر حمایت مالی این پروژه به شماره طرح ۳/۳۳۲۳۸ صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

٦- منابع

[1] Oussalah M., Caillet, S., Saucier, L. and Lacroix, M. 2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-05]

pathogenic bacteria: *E coli 0157:H7*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeriamonocytogenes*. Journal of Food Control, 18, 414-420.

[2] Gudbjornsdottir B.SM-L, Gustavsson G., Thorkelsson G.,Salo S., Sjoberg A.M., Niclasen O., Bredholt S. 2004. Incidence of *Listeria monocytogenes* in meat, poltry and sea food plants of nocardic countries. Journal of Food Microbiology, 21, 217-222.

[3] Oroojalian F., Kasra-Kermanshahi R., Azizi M., Bassami M.R. 2010. Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens. Journal of Food chemistry, 3:765-70.

[4] Vazirzadeh M., Zaboli J., Mohsenzadeh S., Teixeira da Silva J.A., Karbalaei-Heidari H.R., Robati R. 2013. Antibacterial activity of Ajowan (Trachyspermum copticum) seed extract. Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology, 7(1): 54-55.

[5] Omidpanah S., Vazirian M., Hosseinkhani F., Hadjiakhondi A., Pirali Hamedani M., Manayi A.. 2016. Antibacterial activity of essential oil of *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague ex Turrill against isolated and standard bacteria. American Journal of Essential Oils and Natural Products, 4(2): 05-11.

[6] Ashrafi Tamai I., Zahraei Salehi T., Khosravi A.R., Sharifzadeh A., Balal A. 2013. Chemical composition and anti-candida activity of *Trachyspermum ammi* essential oil on azoles resistant Candida albicans isolates from oral cavity of HIV+ patients. Journal of Medicinal Plants, 2:137-149.

[7] Khosravi A.R., Shokri H., Sohrabi N. 2014. Potential effects of Trachyspermum copticum essential oil and propolis alcoholic extract on Mep3 gene expression of Microsporum canis isolates. Journal de Mycologie Medicale, 24:101-7.

[8] Shokrian T., Sadat Noori S.A., Nematzadeh G.A., Alavi S.M. 2016. Evaluating Antibacterial Activity of In Vitro Culture of Ajwain (*Trachyspermum copticum*) Extract and Comparison with Seed Extract and Essential Oils. Journal of Plant Molecular Breeding, 4(2): 41-46.

[9] Tariq M.O., Gore M., Aruna K. 2014. Antibacterial and synergistic activity of ethanolic ajwain (*Trachyspermumammi*) extract on ESBL and MBL producing uropathogens. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 6(6):278-84.

[10] Niamsa N., Sittiwet C. 2009. Antimicrobial activity of Curcuma longa aqueous extract. Journal of Pharmacology and Toxicology, 4(4):173-7.

[11] Fagbemi J.F., Ugoji E., Adenipekun T., Adelowotan O. 2009. Evaluation of the antimicrobial properties of unripe banana (Musa sapientum L.), lemon grass (Cymbopogon citratus S.) and turmeric (Curcuma longa L.) on pathogens. African Journal of Biotechnology, 8(7): 1176-1182.

[12] Jayaprakasha G.K., Jagan L., Jagan Mohan Rao L., Sakariah K.S.2005. Chemistry and biological activities of Curcuma longa. Trends in Food Science and Technology, 16:533-548.

[13] Gómez-Estaca J., López de Lacey, A., López-Caballero, M.E., Gómez-Guillén, M.C. and Montero, P. 2010. Biodegradable gelatine-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. Journal of Food Microbiology, 27:889-96.

[14] Ojagh S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H. and Hosseini, S.M.H. 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. Journal of Food Chemistry, 120: 193–198.

[15] Sayyari Z., Farahmandfar R. 2017. Stabilization of sunflower oil with pussy willow (Salix aegyptiaca) extract and essential oil. Food Science andNutrition, 5:266-272.

[16] Li J.E., Fan S.T., Qiu Z.H., Li C., Nie S.P. 2015. Total flavonoids content, antioxidant and antimicrobial activities of extracts from Mosla chinensis Maxim. cv. Jiangxiangru. LWT-Food Science and Technology, 64:1022-1027.

[17] Behravan J.R.M., Hassanzadeh M.K., Ebadi. S. Evaluation of antibacterial activity of the essential oils of Zataria Multiflora, Carum copticum and Thymus vulgaris by a thin layer chromatography-bioautography method. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 10:259-264.

[18] Goudarzi G.R., Saharkhiz M., Sattari M., Zomorodian K. 2011. Antibacterial activity

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-05]

and chemical composition of Ajowan (Carum copticum Benth. & Hook) Essential Oil. Journal of Agrcultural Science and Technology, 2:203-208.

[19] Kongkachuichai R., Charoensiri R., Yakoh K., Kringkasemsee A., Insung P. 2015, Nutrients value and antioxidant content of indigenous vegetables from Southern Thailand. Food chemistry, 173:838-846.

[20] Yasari S., Yasari E. 2013. Effect of extracts of thampson oranges on the stability of canola oil. International Journal of Agriculture and Crop Science, 5: 410-420.

[21] Mohammed S.,Manan F.A.2015. Analysis of phenolics, Tannins and flavonoids from Moringa oleifera seed extract. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 7: 132-135.

[22] Stankovik M.S., Niciforovic N., Mihailovic V., Topuzovic M., Solujic S.2012. Antioxidant activity, total phenolic content and flavonoid concentration of different plant parts of Teucrium Polium L subsp polium. Acta Societatis Botanicorum Poloniae,81: 117-122.

[23] Ouchick O., Chahad T.H., Ksouri R., Bentarit M., Faleh H., Abdelly Ch., Elyas kchouk M., Marzouk B. 2011. The effects of extraction method on the measured tocopherol level and antioxidant activity of Lnobilis vegetable oranges. Journal of Food Composition and Analysis, 24: 103-110.

[24] Kim K.J., Yu H.H., Cha J.D., Seo S.J., Chio N.Y., You Y.O.2005. Antibacterial activity of Curcuma Longa against methicillin-resistant Staphylococcus aureus.Phytotherapy Research, 19:599-604.

[25] Ahn J., Grun I.U., Mustapha A. 2004. Antimicrobial and antioxidant activities of natural extracts in vitro and in ground beef. Journal of Food Protection, 67:148- 55.

[26] Over K.F., Hettiarachchy N., Johnson M.G., Davis B. 2009. Effect of organic acids and plant extracts on *Escherichia coli O157:H7*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella typhimurium* in broth culture model and chicken meat systems. Journal of Food Science, 74:515-521.

[27] Kavoosi G., Tafsiry A., Ebdam A.A., Rowshan V. 2013. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of essential oils from Carum copticum seed and Ferula assafoetida latex. Journal of Food Sciences, 78:356-361.

[28] Gandomi H., Abbaszadeh S., Jebbelijavan A., Sharifzadeh A.2014. Chemical constituents, antimicrobial and antioxidative effects of *Trachyspermum am*mi essential oil. Journal of Food Processing and Preservation, 38:1690-1695.

[29] Shaaban H.A.,Mahmoud K.F., Ibrahim M.A.,Ibrahim G.2014. Antimicrobial Activity of Edible Methyl Cellulose Films Enriched with Essential Oils Against Three Common Foodborne Pathogens. World Apply Science Journal, 32:2092-101.

[30] Ariaii P., Tavakolipour H., Rezai M., Rad A.H.E. 2014. Properties and antimicrobial activity of edible methylcellulose based film incorporated with Pimpinella affinis oil. European Journal of Experimental Biology, 4:670-676.

[31] Singh R., Chandra R., Bose M., Luthra P.M.2002. Antibacterial activity of Curcuma Longa rhizome extract on pathogenic bacteria. Current Science, 83:737-740.

[32]Selvam R.M, Singh A.J., Kalirajan K.2012. Antimicrobial Activity of Turmeric Natural Dye against Different Bacterial Strains. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 2:210-212.

[33] Nakhaei M., Zakayi M.,2008. The Antibacterial Effect of Alcoholic Extract of Curma Longa on Some Bacteria Causing Skin and Gastrointestinal Infections. Iranian Journal of Basic Medical Sciences, 11: 91-96.

[34] Cikricki S., Mozioglu E., Yilmaz H. 2008. Biological activity of curcuminoids isolated from Curcuma longa. Records of Natural Products, 2:19- 24.

[35] Ariaii P., Tavakolipour H., Rezai M., Elhami Rad A.H.2014. Properties and antimicrobial activity of edible methylcellulose based film incorporated with Pimpinella affinis oil. European Journal of Experimental Biology, 4:670-676.

[36] Sedaghat N., Mohammad Hosseini M., Khoshnoudi-nia S., Najafi H., Koocheki A. 2015. Antimicrobial Properties of CMC-based Edible Films Incorporated with Coriander and Citrus Lemon Essential oils on the Shelf-life of Fresh Lamb-meat at Refrigerator Temperature. Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology, 9:53-62.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-05]

[37] Iturriaga L., Olabarrieta I., de Marañón I.M. 2012. Antimicrobial assays of natural extracts and their inhibitory effect against Listeria innocua and fish spoilage bacteria, after incorporation into biopolymer edible films. International journal of food microbiology, 158(1):58-64.

[38] Ouattara B., Sabato S., Lacroix M. 2001. Combined effect of antimicrobial coating and gamma irradiation on shelf life extension of pre-cooked shrimp (Penaeus spp.). International Journal of Food Microbiology, 68(1):1-9.

[39] Hosseini S.M.H., Razavi, S.H., Mousavi, S.M.A. 2009. Microbial, Physical and Mechanical Properties of Chitosan-Based Edible Films Incorporated with Thyme and Clove Essential Oils. Journal of Food Process preservation, 33:727-743.

[40] Taghizadeh Andevari G., Rezaei, M. 2012. Effect of gelatin coatings on chemical, microbial and sensory properties of refrigerated rainbow trout fillet (Oncorhynchus mykiss). Iranian Journal of Food Science and Technology,; 9: 67-76.

[41] Boroumand A., Hamedi, M., Emamjome, Z., Razavi, S. H. 2013. Investigation on the antimicrobial effect of caseinate edible film containing the essential oil of Zataria multiflora. Journal of Food Science and Technology, 10.

[42] Jiang Z., Neetoo H., Chen H. 2011. Efficacy of freezing, frozen storage and edible antimicrobial coating used in combination for control of Listeria monocytogenes on roasted turkey stored at chiller temperatures. Journal of Food Microbiology, 28:1394-1401.

[43] Khanjari A., Karabagias I., Kontominas M. 2013. Combined effect of N, O-carboxymethyl chitosan and oregano essential oil to extend shelf life and control Listeria monocytogenes in raw chicken meat fillets. LWT-Food Science and Technology, 53(1):94-99.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-05]

Evaluation of methyl cellulose edible coating incorporated with *Carum copticum* L. essential oil and Turmeric (*Curcuma longa*L.) extract on growth control of *Listeria monocytogenes* inoculated to chicken meat portions storaged at 4˚C

Merrikhi Ardebili, E.[1] , Mohsenzadeh, M. [2*]

1. M.Sc of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
2. Associate Professor of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

(Received: 2018/02/05 Accepted:2018/05/25)

Listeria monocytogenes is a foodborne bacterial pathogen causing Listeriosis. The aim of this study was to evaluate the effect of methyl cellulose edible coatings containing *Carumcopticum* L. essential oil and turmeric(*Curcuma longa* L.) extract to control the growth of *L. monocytogenes* inoculated in chicken portions storaged at 4°C. For this purpose, chicken meat samples were coated with different concentrations of 0.3, 0.45 and 0.65% of essential oil and concentrations of 0.25 and 0.5% of turmeric extract. In the control group, sterile distilled water was used instead of the solution. The samples were coated by dipping method. All specimens were then stored in the refrigerator and counted for *L.monocytogenes* on days 0, 4 and 8. In the present study, the minimum inhibitory concentration (MIC) of *Carumcopticum* essential oil was 0.064%. The results of this study showed that there is a significant difference between *L.monocytogenes* population in coated and non-coated chicken samples ($p<0.001$). Statistical analysis showed that the mean log of the number of bacteria in all groups from day 1 to 8 showed a decreasing trend.In total, according to the results, it can be concluded that methyl cellulose coating containing *Carumcopticum* EO with turmeric extract can be used to control the growth of *L.monocytogenes* in chicken meat.

Keywords: *Listeria monocytogenes,*Turmeric extract (*Curcum longa*L.), *Carum copticum*essentialoil, Methyl cellulose, Inhibitory effect

* Corresponding Author E-Mail Address: mohsenzadeh@um.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-05]