

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

الهام مریخی اردبیلی<sup>۱</sup> و محمد محسن زاده<sup>۲\*</sup>

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: ۹۷/۰۳/۰۴)

## چکیده

لیستریا مونوسیوتوزنز 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 مونوسیوتوزنز در گوشت مرغ نگهداری شده در یخچال انجام گردید. برای این منظور، نمونه های گوشت مرغ با غلظت های ۰/۳، ۰/۴۵ و ۰/۶۵ اسانس زنیان و غلظت های ۰/۲۵ و ۰/۵ عصاره زردچوبه در گروه 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 نمونه ها در یخچال نگهداری شده و در روزهای صفر، ۴ و ۸ بابت لیستریا مونوسیوتوزنز مورد شمارش قرار گرفتند. در مطالعه حاضر، حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) اسانس زنیان معادل ۰/۰۶۴ تعیین شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که بین تعداد باکتری لیستریا مونوسیوتوزنز شمارش شده در نمونه های دارای پوشش نسبت به نمونه های فاقد پوشش تفاوت معنی داری وجود دارد ( $p < 0.001$ ). آنالیز آماری داده ها نشان داد در تمام گروه ها میانگین لگاریتم تعداد باکتری از روز ۱ تا ۸ روند کاهشی را نشان دادند. در مجموع 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 مونوسیوتوزنز در گوشت مرغ استفاده کرد.

کلید واژگان: لیستریا مونوسیوتوزنز، عصاره زردچوبه، اسانس زنیان، متیل سلولز، خاصیت مهارکنندگی

\*مسئول مکاتبات: mohsenzadeh@um.ac.ir

## 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 ضد میکروبی 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 از جمله میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و عامل فساد فراهم می‌کند [۲]. لیستریا مونوسیټوزنیه عنوان یک مشکل بهداشتی جهانی محسوب شده و از طریق گوشت و فرآورده‌های گوشتیبه انسان قابل انتقال است. گودبرندتر<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که فراوانی لیستریا مونوسیټوزن در گوشت صفر تا ۱۵٪، در مرغ ۲۰/۶ تا ۲۴/۱ درصد و در گیاهان دریایی ۵/۹ تا ۲۲/۱ درصد است [۲]. آلودگی گوشت مرغ با لیستریا مونوسیټوزنز ممکن است از طریق وسایل و تجهیزات در تماس با گوشت مرغ صورت گیرد [۲]. در نتیجه این باکتری از نظر بهداشت عمومی بسیار حائز اهمیت است و بایستی به تهیه، توزیع، فرآوری و نگهداری گوشت بسیار توجه شود. استفاده از ترکیبات طبیعی نظیر عصاره و اسانس گیاهان به جای 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 بسته‌بندی در 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 *Trachyspermum ammi* گیاهی است یکساله، علفی و از خانواده جعفریان می‌باشد. بذر گیاه زنیان دارای اسانس بوده و مقدار آن با توجه به خصوصیات ژنتیکی و محیطی بین ۲ 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، گروه‌پنین، گروه سیمونمیرسن هستند که عمدتاً از منوترپنهای اکسیژنه می‌باشند

[۳]. تعداد ترکیب‌های موجود در اسانس در منابع از ۱۱ تا ۱۷ مورد گزارش شده است. همچنین مقدار تیمول موجود در اسانس آن در منابع مختلف ۳۹/۳، ۴۵/۲ و ۴۱/۷ درصد ذکر گردیده است. در مطالعات انجام شده، اسانس زنیان شامل ۱۱ ترکیب می‌باشد که تیمول (۴۵/۲ درصد) و دلتاسیمن (۴۱/۹ درصد) ترکیب‌های اصلی آنرا تشکیل می‌دهند. در مطالعات مختلفی اثر ضدباکتریایی گیاه زنیان بر علیه عوامل بیماری‌زای گیاهی، کلینیکی و غذایی از جمله سودوموناسا آئروژینوزا، آسیتوباکتر، کلبسیلا پنومونیا، استافیلوکوکوس اورئوس، ایشریشیا کلی، انتروباکتر آئروژنس، انتروکوکوس فکالیس و سالمونلا تیفیموریوم و تعدادی از کپک‌ها مورد بررسی قرار گرفته است [۴-۷]. شکران و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه‌ای اثر ضد میکروبی زنیان را بر روی تعدادی از پاتوژنهای گیاهی و غذایی مطالعه نمودند. در مطالعه آنها بالاترین غلظت مهارکننده بر علیه سودوموناسا سیرینگه ۱/۵۶٪ تعیین گردید [۸]. طریق و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه‌ای به اثر ضد باکتریایی زنیان بر علیه باکتریهای تولیدکننده بتالاکتاماز و مقاوم به آنتی‌بیوتیک 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 تصفیه خون، 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 استافیلوکوکوس اورئوس، ایشریشیا کلی و کلبسیلا پنومونیا مورد بررسی قرار گرفته است [۱۰ و ۱۱]. زردچوبه از نظر شیمیایی شامل ترکیبات فرار و غیر فرار می‌باشد. قسمت فرار حاوی تورمرون<sup>۲</sup>، اسیدهای آزاد، کورلون<sup>۳</sup> و زینگیرن<sup>۴</sup> 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 و روکومینوئید نام دارند و شامل

2. Turmeron  
3. Curlone  
4. Zingiberene

1. Godbjornsdottir

۸۰ و کلیه مواد شیمیایی دیگر از شرکت‌های معتبر مرک و سیگما تهیه شد.

## ۲-۲- آماده‌سازی باکتری جهت تلقیح

باکتری لیستریا مونوسیتوزنتر (ATCC:7644) مورد استفاده در این مطالعه از سویه رفرنس موجود در گروه بهداشت مواد غذایی و آبیان، 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 پلیت‌های محیط آگار BHI کشت داده شد. سپس پلیت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری 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 به وسیله 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 ۶۰۰ نانومتر). در این کدورت تعداد  $10^8 \times 1/5$  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 مورد نظر از سوسپانسیون باکتری برداشت و در نهایت سوسپانسیون باکتریایی به میزان  $10^6$  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 گاز کروماتوگراف (Agilent HP-6890 Paloagilent technologies, Alto, CA, USA) با ستون موئینه HP-5MS با طول ۳۰ متر (ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر و قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر) متصل به یک طیف نگار جرمی (Agilent HP-5973) با انرژی یونیزاسیون ۷۰ 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 تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد بالا رفت و نهایتاً تا ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد با نسبت ۱۵ درجه در دقیقه بالا رفت و پس‌از آن به مدت ۳ دقیقه ثابت نگه‌داشته شد. از گاز هلیوم به‌عنوان حامل با میزان جریان

کورکومین<sup>۱</sup>، دیمتوکسیکورکومین<sup>۲</sup> و بisdemethoxyکورکومین<sup>۳</sup> می‌باشد. اسید فرولیک و اسید پروتوکاتک ویکنیز از ترکیبات فنولی زردچوبه هستند که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند [۱۲].

از فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی به دلیل داشتن مواد طبیعی برای افزایش کیفیت و زمان ماندگاری مواد غذایی استفاده می‌شود. از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی در مقادیر کمتر با حفظ اثربخشی آنها همراه با فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی استفاده می‌شود [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 [۱۳و۳]. فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکیه دلیل زیست تخریب پذیر بودن، در بین مصرف‌کنندگان از محبوبیت بسیاری برخوردار هستند [۱۴] 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 مونوسیتوزنتر 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 مولر هیتون و پودر متیل سلولز با ویسکوزیته CP ۴۰۰۰ (شرکت سیگما آلدریج)، پلی‌اتیلن گلیکول ۴۰۰، توئین

1. Curcumin
2. Curcumindimethoxy
3. Bisdemethoxy curcumin

یک دقیقه در حالت سکون قرار گرفت و جذب آن در ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis خوانده شد [۳].

## ۲-۶- تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)

### اسانس زنیان

برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس زنیان از روش میکروبراث دایلوژن<sup>۴</sup> 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 و یک چاهک کنترل مثبت و فاقد اسانس در نظر گرفته شد. پلیت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری گردید و پس از طی این مدت، چاهک‌ها از نظر کدورت حاصل از فعالیت و رشد باکتری مورد بررسی میکروسکوپی 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 [۱۶].

## ۲-۷- تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)

### عصاره زردچوبه

برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی از روش انتشار در آگار<sup>۵</sup>، در محیط کشت آگار مولر هیتون استفاده شد. از کشت ۲۴ ساعته باکتری لیستریا مونوسیتوژنز سوسپانسیون با کدورت معادل استاندارد، ۰/۵ مک فارلند تهیه شد و با استفاده از سوآب‌های پنبه‌ایاستریل به صورت یکنواخت در آگار مولر هیتون کشت داده شد. در روش انتشار در آگار، چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر در پلیت‌ها ایجاد شد و در هر چاهک مقدار ۵۰ میکرولیتر از عصاره مورد نظر ریخته شد و در دمای ۳۰ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری شد. از آب مقطر استریل به عنوان کنترل استفاده گردید. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری قطر هاله عدم رشد بر حسب 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،

۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. نمونه‌های ۰/۱ میکرو لیتری به صورت دستی با روش اسپلیتلس تزریق شد. جهت به دست آوردن داده‌های کمی از محدوده درصد‌های پیک‌ها استفاده شد. اندیس‌های بازداري برای همه ترکیبات با استفاده از ترکیبات هم‌رده N-آلکان‌ها (که در شرایط مشابه با نمونه‌ها تزریق می‌شدند) محاسبه شد. ترکیبات اسانس در مقایسه با اندیس‌های بازداري نسبی مربوط به N-آلکان‌ها 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 تأیید شدند.

## ۲-۴- 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<sup>۲</sup> 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 ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر 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 ۲ و ۲ 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

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

1. Splitless  
2. Folin-Ciocalteu Reagent

(وزنی \_ وزنی) اضافه شد. پس از سرد شدن محلول به ۶ بخش مساوی تقسیم شدند. به این ترتیب محلول‌های حاوی ترکیب اسانس زنیان و عصاره زردچوبه به طور جداگانه در غلظت‌های ۰/۳، ۰/۴۵ و ۰/۶۵ درصد 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، توئین ۸۰ به عنوان امولسیفایر به میزان ۰/۲ درصد حجم اسانس به محلول اضافه گردید. سپس به مدت ۳۰ 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 مدت ۵ 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 [۱۴]. سپس قطعات مرغ در کیسه های زیپ دار استریل قرار داده شده و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ روز نگهداری شدند. نمونه ها در فواصل زمانی ۴ روزه (صفر، ۴ 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.

۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم در میلی لیتر و ۱۹، ۳۸، ۷۰ و ۱۴۰ میکروگرم در میلی لیتر مورد آزمایش قرار گرفت. از دیسک آنتی‌بیوتیک تتراسیکلین (۳۰ میکروگرم) به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید [۱۶].

## ۸-۲- 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 در نهایت هر یک از نمونه‌ها توسط آب مقطر به‌طور کامل آب‌کشی شد و در کیسه‌های پلی‌اتیلنی استریل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

## ۹-۲- آماده‌سازی و تلقیح باکتری به گوشت مرغ

ابتدا قطعات مرغ به مدت ۱۵ دقیقه در الکل ۷۰ درجه استریل‌یو بعد از شعله دهی به‌صورت جداگانه به مدت یک دقیقه در محلول آب پیتونه حاوی  $10^6$  سلول در هر میلی لیتر 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 ( $25^{\circ}\text{C}$ ) زیر هود بیولوژیک خشک شدند.

## ۱۰-۲- 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 مدت ۳۰ دقیقه روی هیتر مگنت دار در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد و دور بالا حرارت داده شد. سپس پلی‌اتیلن گلیکول ۴۰۰ به عنوان نرم‌کننده به میزان ۰/۳۳ درصد وزن پلیمر به محلول متیل سلولز

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)

زنیان و با استفاده از روش رقیق‌سازی در برات 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* essential oil

NO	Phytochemicals	Percent	Retention index
1	$\alpha$ -pinene	0.29	11.35
2	$\beta$ -pinene	0.43	13.45
3	$\beta$ -Myrcene	0.34	14.28
4	$\alpha$ -Phellandrene	0.065	14.89
5	$\alpha$ -Terpinen	0.311	15.54
6	p-Cymene	22.55	16.21
7	$\alpha$ -Terpinolene	0.095	19.18
8	$\beta$ -Phellandrene	0.541	16.29
9	$\gamma$ -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	

## ۱۱-۲- شمارش باکتری لیستریا مونوسیوتوژنز در

### قطعات مرغ

برای شمارش باکتری لیستریا مونوسیوتوژنز تلقیح شده، مقدار ۲۵ گرم از قطعات مرغ را با ۲۵۰ میلی لیتر آب پیتونه استریل ۰/۱ درصد در داخل دستگاه استوماکر برای مدت ۳ دقیقه کاملاً 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 ۴۸ ساعت انکوبه گردید.

## ۱۲-۲- 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.

## ۲-۳- 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، سکت قلبی و آلزایمر جلوگیری می‌کنند [۱۹].

**Table 2** Chemical composition of *Curcuma longa* extract

Total phenol (mg/g)	Tocopherol ( $\mu$ g/ml)	
57.92 $\pm$ 1.24	107.72 $\pm$ 4.36	Water extract
51.32 $\pm$ 3.15	93.86 $\pm$ 4.78	Propylene glycol extract

می‌باشد. میزان ترکیبات فنولی کل عصاره آب و پروپیلن گلیکول گیاه زردچوبه در این تحقیق به ترتیب ۵۷/۹۲ و ۵۱/۳۲ میلی گرم گالیک اسید بر گرم عصاره به دست آمد که این مقدار برای

## ۳- نتایج و بحث

### ۱-۳- 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 اثبات شده‌اند. در آنالیز اسانس زنیان، ۱۴ 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 ضد میکروبی ترکیبات شیمیایی اسانس

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

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 [۲۴]. مطالعه ما نیز نشان داد که حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) رشد باکتری لیستریا مونوسیژنوز به وسیله عصاره آبی و عصاره 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 میلی‌لیتر در مقابل لیستریا مونوسیژنوز می‌باشد [۳]. در مطالعه ما نیز حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) اسانس زنیان بر علیه لیستریا مونوسیژنوز معادل ۰/۰۶۴ تعیین گردید.

در سال‌های اخیر توجه مصرف‌کنندگان به مواد غذایی با فراوری و مواد شیمیایی کمتر، منجر به رویکرد قابل توجه تولیدکنندگان مواد غذایی به جایگزینی نگه‌دارنده‌های شیمیایی با انواع طبیعی و بیولوژیک در فرآورده‌های غذایی شده است. اسانس‌های گیاهی یک منبع قوی ترکیبات ضد میکروبی 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 [۱۳ و ۱۴].

در مطالعه انجام شده به وسیله آنو همکاران (۲۰۰۴) 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 قرار گیرند [۲۵]. اور و همکاران (۲۰۰۹) اثر اسیدهای ارگانیک و عصاره‌های گیاهی را بر روی لیستریا مونوسیژنوز، اشریشیاکلی و سالمونلا تایفیموریوم در

عصاره متانول-آبی پوست گریپ فروت ۲۵/۹۰ میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم پوست گریپ فروت خشک شده [۲۰]، عصاره متانولی گیاه مورینگا ۱۰/۱۷ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک [۲۱] گزارش شده است. استانکویک و همکاران (۲۰۱۲) میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی گیاه هلپه را توسط حلال‌های 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 ۱۴/۵۷ تا ۱۵۷/۸۴ میلی‌گرم 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 می‌باشد. غنی بودن توکوفرول در غشا کلروپلاست احتمالاً مرتبط با توانایی توکوفرول در مهار و غیرفعال سازی اکسیژن فعال و محافظت از پراکسیداسیون چربی می‌باشد [۲۳]. میزان توکوفرول عصاره آب و پروپیلن گلیکول گیاه زردچوبه به ترتیب ۱۰۷/۷۲ و ۹۳/۸۶ میکروگرم آلفا توکوفرول بر میلی‌لیتر 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 تولیدکننده، فراوری‌کننده، توزیع‌کننده، بسته‌بندی‌کننده، فروشنده، کارگر و مصرف‌کننده میسر نمی‌باشد [۱۳]. لیستریا مونوسیژنوز یک عامل باکتریایی مشترک بین انسان و دام است. آلودگی به این باکتری در انسان منجر به بیماری‌هایی همچون شبه آنفولانزا، مننژیت، مننژوانسفالیت، 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 اسانس‌های گیاهی می‌توانند خواص حسی غذاها را تغییر دهند، باید از غلظت‌های پایین آنها که دارای خاصیت ضد میکروبی باشند استفاده نمود. نتایج حاصل از بررسی

در مطالعه حاضر نیز با افزایش غلظت اسانس زنیان و عصاره زردچوبه فعالیت ضد میکروبی 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 ۱۴ میلی متر بود. داده‌ها نشان داد که با افزایش غلظت اسانس زنیان ( $EO$ ) و عصاره زردچوبه ( $T$ ) رشد باکتری لیستریا مونوسیژنوز بیشتر مهار شد و ناحیه بازدارنده فیلم متیل سلولز بر باکتری لیستریا مونوسیژنوز برای گروه ( $EO + T$ ) بیشتر از سایر گروه‌ها بود [۲۶، ۲۸ و ۲۹].

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

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

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

آرپایی و همکاران (۲۰۱۴) 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 ۱۶ روزه را مورد بررسی قرار دادند. بر اساس نتایج بدست آمده پوشش متیل سلولز حاوی ۱/۵ درصد اسانس اناریجه جهت ارزیابی میکروبی گوشت توانست از رشد باکتری‌های کلون باکتری‌های سرمادوست فیله ماهی فیتوفاگ در شرایط سرد نگهداری (در ۴ درجه سلسیوس) جلوگیری نماید. پوشش فیله ماهی با متیل سلولز غنی شده با اسانس اناریجه موجب کند شدن رشد میکروبی به مقدار ۶/۵۹ و ۷/۶۶ لگاریتم به ترتیب در روزهای دوازدهم و شانزدهم نگهداری شد. همچنین در غلظت ۱/۵ درصد اسانس حساس‌ترین باکتری لیستریا مونوسیژنوز بود که ناحیه بازدارنده آن برای پوشش خوراکی ۳۴/۳۳ میلی متر بدست آمد و نتایج نشان داد در فیلم‌های خوراکی با افزایش غلظت اسانس در ماتریکس پلیمر ناحیه بازدارنده افزایش پیدا کرد [۳۵]. صداقت و همکاران (۲۰۱۵) خواص ضد میکروبی فیلم کربوکسی متیل سلولز حاوی اسانس گشنیز و پوست لیمو ترش و تأثیر آن

محیط کشت مایع و گوشت مرغ مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که اسیدهای ارگانیک و عصاره‌های گیاهی می‌توانند جمعیت این باکتری‌ها را کنترل کنند [۲۶]. مطالعات زیادی در خصوص فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس زنیان انجام شده است که نشان می‌دهد 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 ضد باکتریایی اسانس زردچوبه را در دامنه غلظتی ۲۰ الی ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بر استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و عصاره‌آبی گیاه را در غلظت 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 مورد بررسی قرار دادند. رنگ طبیعی زردچوبه اثر بازدارندگی بر روی اشرشیاکلی و ویبریوکلا 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 ایروچینزا و اشرشیاکلی بوده است [۳۳]. سایر محققان فعالیت ضد میکروبی عصاره‌آبی زردچوبه را بر استافیلوکوکوس اورئوس و سایر باکتری‌های گرم مثبت گزارش کرده‌اند. پژوهشگران معتقدند که عصاره الکلیان 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 [۱۱ و ۱۰]. سیکریکی و همکاران (۲۰۰۸) اثر ضد باکتریایی زردچوبه را مربوط به حضور آلکالوئید، کورکومین و دیگر کورکومینوئیدها، اسانس زردچوبه، ولریک اسید و تومرول معرفی کردند [۳۴].

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



و عصاره زردچوبه نشان داده شده است. در نمونه‌های بدون پوشش، تعداد لیستریا مونوسییتوزنز در طی ۸ روز نگهداری در نمونه شاهد از ۵/۹۸ به ۵/۹۹، در A<sub>1</sub> از ۵/۹۸ به ۵/۸۰، در A<sub>2</sub> از ۵/۹۷ به ۵/۷۳، در B<sub>1</sub> از ۵/۹۷ به ۵/۶۱، در B<sub>2</sub> از ۵/۹۶ به ۵/۴۸، در C<sub>1</sub> از ۵/۹۳ به ۵/۴۱ و در C<sub>2</sub> از ۵/۹۰ به ۵/۳۹ و در نمونه‌های دارای پوشش متیل سلولز، تعداد لیستریا مونوسییتوزنز در طی ۸ روز نگهداری در نمونه شاهد از ۶ به ۵/۹۶، در A<sub>1</sub> از ۵/۹۸ به ۵/۷۱، در A<sub>2</sub> از ۵/۹۷ به ۵/۶۰، در B<sub>1</sub> از ۵/۹۵ به ۵/۴۷، در B<sub>2</sub> از ۵/۹۳ به ۵/۳۹، در C<sub>1</sub> از ۵/۸۶ به ۵/۲۹ و در C<sub>2</sub> از ۵/۸۷ به ۵/۱۷ کاهش یافت.

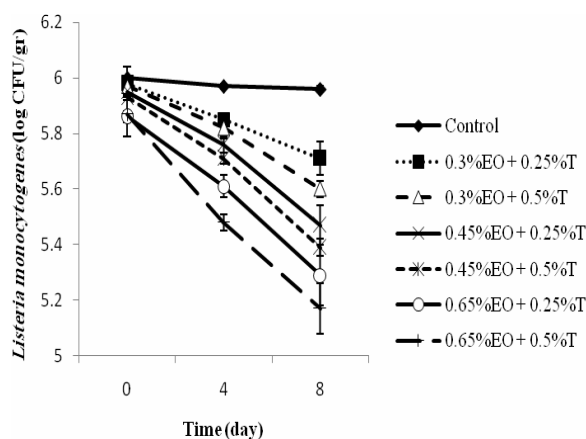


Fig 2 Changes of *Listeria monocytogenes* in poultry meat coated by methylcellulose

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 به صورت معنی داری کمتر از گروه کنترل (فاقد اسانس و عصاره) بود و در نمونه‌های دارای پوشش حاوی اسانس و عصاره نیز نسبت به نمونه‌های فاقد پوشش بدون اسانس و عصاره رشد باکتری بیشتر مهار شد. به طوری که رشد باکتری در قطعات مرغ فاقد پوشش خوراکی افزایش یافت، اما این روند افزایشی در گوشت پوشش داده شده کم‌تر بود. از طرف دیگر، با افزایش غلظت عصاره و اسانس، خاصیت ضد میکروبی افزایش یافت. در مطالعات انجام شده توسط سایر محققان نیز نتایج مشابهی گزارش شده است [۲۹-۳۰ و ۳۷].

برافزایش زمان ماندگاری گوشت گوسفند در دمای یخچال را مورد بررسی قرار دادند. در این بررسی فیلم‌های حاوی اسانس گشنیز و لیمو ترش در محیط کشت آگار در مقابل میکروارگانیزم‌های اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژنز خاصیت ضد میکروبی داشتند، اما تأثیر معنی داری بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نداشتند. فیلم CMC باعث کاهش بار میکروبی کل و باکتری‌های سودوموناس، کلی فرم و استافیلوکوکوس گوشت شد و عملکرد فیلم حاوی اسانس بهتر از فیلم فاقد اسانس بود ( $p < 0.05$ ). تأثیر ضد میکروبی اسانس لیمو بر سودوموناس به طور معنی داری بیش‌تر از اسانس گشنیز بود [۳۶]. شبان و همکاران (۲۰۱۴) فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های متیل سلولز غنی شده با اسانس‌های میخک، مرزنجوش، دارچین، گشنیز و زیره سبز را در برابر سه پاتوژن ناشی از مواد غذایی (اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسییتوزنز) با استفاده از روش انتشار در آگار مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه اثر ضد میکروبی مرزنجوش <میخک> دارچین <گشنیز <زیره سبز بود. در این مطالعه ماهیت و مقدار اسانس نقش مهمی در فعالیت ضد میکروبی فیلم ایجاد کرد. فیلم حاوی ۱/۵٪ مرزنجوش جمعیت باکتری لیستریا مونوسییتوزنز، اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس را به ترتیب ۶/۳۳، ۴/۵۲ و ۵/۸۰ لگاریتم کاهش داد [۲۹].

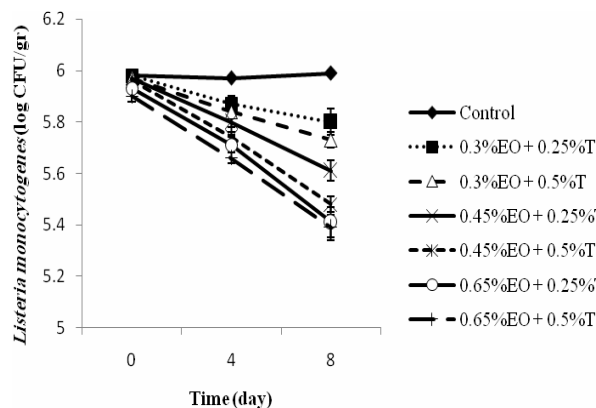


Fig 1 Changes of *Listeria monocytogenes* in uncoated poultry meat

در شکل‌های ۱ و ۲ نتایج تعداد لیستریا مونوسییتوزنز در نمونه‌های واجد پوشش و بدون پوشش حاوی مقادیر مختلف اسانس زنیان

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 [۴۱]. خنجری و همکاران (۲۰۱۳) بر اثر ترکیبی  $N_2O$  - کربوکسی متیل کیتوزان و اسانس پونه کوهی بر کنترل رشد لیستریا مونوسیٹوژنز 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 مونوسیٹوژنز و افزایش عمر مفید فیله مرغ داشت [۴۲]. 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 [۱۴].

## ۵- نتیجه‌گیری

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

## ۶- تشکر و قدردانی

نگارندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند 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.

## ۶- منابع

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

اوتارو 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) خواص ضد میکروبی، فیزیکی و مکانیکی فیلم‌های خوراکی تولید شده از کیتوزان محتوی اسانس‌های آویشن و میخک، را مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق فیلم‌های خوراکی از جنس کیتوزان محتوی اسانس‌های آویشن و میخک در سه سطح غلظتی ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد تولید شدند. خواص ضد میکروبی فیلم‌ها روی پنج باکتری گرم 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 ضد میکروبی به‌صورت آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفت. تقی زاده و همکاران (۲۰۱۲) اثر پوشش ژلاتینی را بر روی کیفیت فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در طی یک دوره ۲۰ روزه در شرایط نگهداری سرد (۴ درجه سانتی‌گراد) بررسی کردند. آنها گزارش کردند که این پوشش‌ها به‌تنهایی فاقد خواص ضد میکروبی بوده و تأثیری در حفظ خواص حسی فیله ماهی در دمای یخچال نداشتند. هرچند تأثیر آنها در بازدارندگی اکسیداسیون به دلیل ممانعت از نقل و انتقال اکسیژن محسوس بود [۴۰]. برومند و همکاران (۲۰۱۳) اثر ضد میکروبی فیلم کازئینی حاوی اسانس آویشن شیرازی را بر روی سه میکروارگانیسم مهم بیماری‌های غذایی سالمونلاتیفی موریوم، اشرشیاکلی *O157:H7* و استافیلوکوکوس اورئوس مورد ارزیابی قرار دادند. این مطالعه نشان داد که اسانس آویشن شیرازی اگرچه بر هر سه باکتری مؤثر است، ولی بیشترین تأثیر آن بر استافیلوکوکوس اورئوس با MIC و MBC برابر با ۲۵۰ ppm بود [۴۱].

مطالعه جیانگو همکاران (۲۰۱۱) اثر منجمد کردن، نگهداری در فریزر همراه با پوشش خوراکی ضد باکتری (پکتین) در کنترل لیستریا مونوسیٹوژنز در بوقلمون کباب شده را مورد بررسی قرار

- [9] Tariq M.O., Gore M., Aruna K. 2014. Antibacterial and synergistic activity of ethanolic ajwain (*Trachyspermum ammi*) 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 and Nutrition*, 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 pathogenic bacteria: *E coli* 0157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *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, poultry 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., Karbalaeei-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 Turill 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 *Microsporium 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.

- 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 ammi* 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 Curcuma 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.
- and chemical composition of Ajowan (*Carum copticum* Benth. & Hook) Essential Oil. Journal of Agricultural 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 khouk 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] Kavooosi G., Tafsiroy A., Ebdam A.A., Rowshan V. 2013. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of essential oils from *Carum copticum* seed and *Ferula*

- refrigerated rainbow trout fillet (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 9: 67-76.
- [41] Boroumand A., Hamed, 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.
- [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

## 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 stored at 4°C

Merrikhi Ardebili, E.<sup>1</sup>, Mohsenzadeh, M.<sup>2\*</sup>

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 stored 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* essential oil, Methyl cellulose, Inhibitory effect

---

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