اثر اسانس آویشن شیرازی بر روی احتمال رشد ویبریو پاراهمولیتیکوس در محیط آبگوشت قلب و مغز

علی خنجری[۱]، افشین آخوندزاده بستی [۱*]، نوردهر رکنی[۱]، مهدی سلطانی[۲]، شمسعلی رضازاده[۳]، بهراد رادمهر[۴]، راضیه پرتوی[۱]، ساناز چراغی[۶]، حسین اسماعیلی[۵]، فاطمه غلامی[۶]حسین غلامی[۶]، محمدرضا محمدیان[۶]،آیناز یمرلی[۶]

۱- گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
۲- گروه بهداشت و بیماری های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
۳- پژوهشکده گیاهان دارویی، جهاد دانشگاهی
٤- گروه بهداشت مواد غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج
۵- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
٦- دانشجوی دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

(تاریخ دریافت: ۸۹/۵/۲۲ تاریخ پذیرش: ۸۹/۷/۲۲)

چکیده

نگهدارنده های شیمیایی معمولاً جهت کاهش یا حذف میکروارگانیسم های بیماری زا یا عامل فساد در مواد غذایی به کار می روند، استفاده بیش از حد آنها منجر به ایجاد باقی مانده های سمی و تاثیرات مضر در مصرف کنندگان می شود. بنابراین تحقیقات بسیاری جهت جایگزینی نگهدارنده های شیمیایی با انواع طبیعی آنها ، بخصوص اسانس های گیاهی در حال انجام است. در این مطالعه لگاریتم درصد احتمال رشد ویبریو پاراهمولیتیکوس ATCC 43996 در محیط آبگوشت قلب و مغز متاثر از غلظت های مختلف اسانس آویشن شیرازی (صفر،۰/۰۰۲۵، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵، ۰/۰۳ و ۰/۰٤۵درصد) در طی ٤۳ روز نگهداری در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد مورد مطالعه قرار گرفت. لگاریتم درصد احتمال رشد ویبریوپاراهمولیتیکوس بطور بسیار معنی داری ($p < ۰/۰۰۱$) تحت تاثیر غلظت های مختلف اسانس آویشن شیرازی قرار گرفت. بطوریکه در غلظت های ۰/۰۳٪ و ۰/۰٤۵٪ اسانس مذکور در هیچ یک از لوله ها رشدی مشاهده نشد و حداکثر لگاریتم درصد احتمال رشد برای آنها ٤/۲٤۱- بدست آمد. همچنین حداکثر لگاریتم درصد احتمال رشد در غلظت ۰/۰۱۵٪ در روز ۱۵ و برابر با ۱/۷٦۱ بدست آمد درحالیکه در مورد غلظت های ۰/۰۰۵ ، ۰/۰۰۲۵ و ۰ اسانس آویشن شیرازی برابر با ۳/۹۰۲ به ترتیب در روزهای ۱۹، ٤ و صفر بدست آمد. بر اساس نتایج فوق لگاریتم درصد احتمال رشد با افزایش غلظت اسانس آویشن شیرازی کاهش یافت.

کلید واژگان: ویبریو پارا همولیتیکوس، اسانس آویشن شیرازی، لگاریتم درصد احتمال رشد

* مسئول مکاتبات: aakhond@ut.ac.ir

۱- مقدمه

با وجود پیشرفتهای جدید در بهداشت و فناوری تولید غذا ، اهمیت سلامت غذا به طور فزاینده ای در بهداشت عمومی افزایش یافته است[۱].طبق تخمین سازمان بهداشت جهانی سالانه ۳۰ درصد افراد در کشورهای صنعتی از بیماریهای منتقله از طریق غذا رنج می برند و در سال ۲۰۰۰ میلادی در سراسر جهان حداقل ۲ میلیون نفر در اثر بیماری اسهال جان خود را از دست داده اند[۲]. جنس ویبریو متعلق به خانواده ویبریو ناسه می باشد. ویبریوها باکتری های میله ای شکل، گرم منفی، کاتالاز مثبت، بی هوازی اختیاری، متحرک (دارای تاژک قطبی) و فاقد اسپور می باشند[۳]. ویبریو های بیماریزای روده ای در یک دامنه دمایی از ۵ تا ٤۳ درجه سانتیگراد و دمای متوسط ۳۵ درجه سانتیگراد رشد می کنند. در درجه حرارت مناسب، رشد ویبریو پاراهمولیتیکوس بسیار سریع بوده و در محیط کشت آبگوشت و تحت شرایط مطلوب، زمان تکثیرکمتر از ۸ تا ۹ دقیقه خواهد بود[٤]. این باکتری در آبهای ساحلی شمالی و جنوبی ایران و محصولات غذایی صید شده نیز گزارش شده است[۵ و ٦].مصرف غذاهای دریایی خام و نیمه پخته آلوده به ویبریو پاراهمولیتیکوس منجر به گاستریت حاد در انسان می گردد[۷و ۸].

امروزه مردم با توجه به اثرات مضر نگهدارنده‌های غذایی شیمیایی و سنتتیک خواهان استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی بدست آمده از منابع گیاهی، حیوانی و میکروبی هستند تا علاوه بر افزایش زمان ماندگاری غذا از اثرات مضر نگهدارنده های غذایی شیمیایی مصون باشند[۹]. اسانس ها ترکیبات روغنی گیاهی هستند که از مخلوط ترکیبات شیمیایی آلی فرار سنگین و چربی تشکیل شده اند. این مایعات روغنی بوده به علت تبخیر در مجاورت هوا در دمای طبیعی محیط روغن های فرار، روغن های اتری یا روغن اسانسی نامیده می شوند. اسانس ها در بسیاری از تیره های گیاهی شامل تیره ی کاج، برگ بو، نارنج، چتریان، نعنائیان و کاسنی ها ودر قسمت های مختلف آن ها مثل شاخه، گل، غنچه، برگ، جوانه، پوست، ریشه، میوه و ... یافت می شود. برای به دست آوردن اسانس ها می توان از روش های مختلف شامل فشار، تبخیر یا عرق گیری استفاده کرد ولی روش معمول تجاری، تقطیر با بخار داغ[1] می باشد[۱].

اسانس ها عموماً بی رنگ هستند ولی بر اثر مرور زمان رنگ آن ها به علت اکسیداسیون و رزینی شدن تیره می گردد، برای ممانعت از ایجاد چنین حالتی باید اسانس ها را در جای خشک و خنک و ظروف شیشه ای تیره نگهداری کرد. اسانس ها در آب نامحلول ولی در الکل، اتر و اغلب حلال های آلی محلول می باشند و وزن مخصوص آن ها معمولاً کمتر از آب است[۱۰و ۱] .استفادهازافزودنیهای طبیعی به عنوان ترکیبات ضدباکتریایی،یک راه مناسب جهت کنترل باکتریهای بیماریزاوافزایش مدت ماندگاری مواد غذایی فراوری شده می باشد که در نتیجه باعث کاهش خطرات بهداشتی و ضررهای اقتصادی ناشی از رشدمیکروارگانیسمهای با منشاء غذایی می شود [۱۰]. گیاه آویشن شیـــرازی گیـاهی است که در خانواده نعناعیان۲ قرار دارد و بومی ایران، پاکستان و افغانستان می باشد [۱۱].

۲- مواد و روش کار

۲-۱- طرح کلی

بررسی اثرات اسانس آویشن شیرازی بر روی یکی از فاکتورهای رشدی یعنی لگاریتم درصد احتمال رشد ویبریو پاراهمولیتیکوس ATCC 43996 در محیط آبگوشت قلب و مغز متاثر از غلظت های مختلف اسانس(صفر ،۰/۰۰۲۵ ،۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵ ،۰/۰۳ و ۰/۰٤۵ درصد) در طی ٤۳ روز نگهداری در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد.

۲-۲- تهیه اسانس و آنالیز آن

گیاه آویشن شیرازی از استان فارس در فصل تابستان جمع آوری گردید و توسط گیاه شناسان پژهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی علوم تهران تأیید نام علمی گردید. اسانس به روش تقطیر با بخار از سر شاخه های هوایی گیاه تهیه گردید. پس از آن آنالیز اسانس بوسیله دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف نگار جرمی (GC/MS) انجام شد.

1. Steam distillation
2. Laminaceae

۲-۳- باکتری مورد مطالعه

باکتری استفاده شده در این مطالعه باکتری*ویبریو پاراهمولیتیکوس* ATCC 43996 می باشد. این باکتری لیوفیلیزه در محیط آبگوشت قلب و مغز در ۳۵ درجه سانتی گراد به مدت ٦ ساعت حداقل ۲ مرتبه به طور متوالی کشت داده شده، سپس از کشت دوم به نسبت ۱ به ۵ با گلیسیرین استریل مخلوط و در حجم های ۵۰۰ میکرولیتری در میکروتیوب‌های اپندروف در ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شده و برای هر آزمایش از این کشت های نگهداری شده در ۲۰- درجه سانتی گراد استفاده می گردد و از این کشت دوم برای تحقیق استفاده می شود.

۲-٤- تهیه میزان تلقیح باکتری

ابتدا کشت نگهداری شده در ۲۰- درجه سانتی گراد را به لوله درپیچ دار استریل حاوی۱۰ میلی لیتر آبگوشت قلب و مغز منتقل و آن را در ۳۵ درجه سانتی گراد به مدت ٦ ساعت گرمخانه گذاری نموده سپس کشت دومی از این آبگوشت ٦ ساعت اول برروی آبگوشت قلب و مغز دیگر به مدت ٦ ساعت در دمای ۳۵سانتی گراد صورت می گیرد. سپس مقادیر مختلفی از این کشت دوم به لوله های کووت[3] حاوی ٤ میلی لیتر آبگوشت قلب و مغز منتقل شد تا جایی که لوله کووت جذب نوری ۰/۱ را در طول موج ٦۰۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Milton Ray Company, USA) نشان داد.سپس از این لوله کووت بر روی محیط کشت آگار قلب و مغزکشت داده شد تا میزان باکتری ها در هر میلی لیتر از آبگوشت قلب و مغز درکووت مورد نظر به دست آمد که این میزان برابر با تعداد$۱۰^{٦}\times$ ٤/۹ باکتری در هر میلی لیتر بود. سپس همانگونه که در قسمت های بعدی بیان می شود از این کووت حاوی $۱۰^{٦}\times$ ٤/۹ باکتری در هر میلی لیتر سریال‌های رقت ۸ تایی از $۱۰^{۵}$ باکتری در هر میلی لیتر تا $۱۰^{-۲}$ باکتری در هر میلی لیتر با استفاده از سوبسترای آ بگوشت قلب و مغز همراه با ترکیب با فاکتورهای مورد نظر آزمایش، که در قسمت بعدی توضیح داده می شود، تهیه گردید. از مجموعه رقت های $۱۰^{۵}$ تا $۱۰^{-۲}$ جهت تعیین لگاریتم درصد احتمال رشد باکتری [4] استفاده شد.

۲-۵- تهیه مدل آبگوشت قلب و مغز

ابتدا جهت تهیه آبگوشت قلب و مغز پایه ۳۷ گرم پودر محیط کشت آبگوشت قلب و مغز را در ۹۰۰ میلی لیتر آب مقطر در یک ارلن مایر با حرارت ملایم حل نموده و میزان ۱۰ گرم نمک، ۰/۵ گرم آگار آگار (به عنوان تثبیت کننده برای تمام حالت ها) و۵۰ میلی لیتردی متیل سولفوکساید[5](به عنوان امولسیون کننده برای تمام حالت ها) به آن اضافه نموده و در نهایت با استفاده از آب مقطر حجم آن را به ۱۰۰۰ میلی لیتر می رساندیم. پس از اتوکلاو (۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه) و سرد شدن محیط، اسانس آویشن شیرازی در مقادیر مورد نظر جهت مطالعه اضافه گردید.

۲-٦- تلقیح آبگوشت قلب و مغز و گرمخانه گذاری

با استفاده از لوله کووت که حاوی $۱۰^{٦}\times$ ٤/۹ باکتری در هر میلی لیتر در محیط کشت آبگوشت قلب و مغز داخل آن بود و ۸ لوله در پیچ دار حاوی ۹ میلی لیتر آبگوشت قلب و مغز برای هر حالت از غلظت اسانس رقت های مورد نظر از $۱۰^{۵}$ تا $۱۰^{-۲}$ باکتری در هر میلی لیتر به دست آمد.در مجموع ٤۸ لوله درپیچ دار حاوی ۹ میلی لیتر آبگوشت قلب و مغز برای رقت های مختلف باکتری (از$۱۰^{۵}$ تا $۱۰^{-۲}$)و غلظت های مختلف اسانس آویشن شیرازی(صفر، ۰/۰۰۲۵، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵، ۰/۰۳ و ۰/۰٤۵درصد) تهیه شد. سپس محتویات (۹ میلی لیتر) هر یک از لوله‌های درپیچ دار استریل در قسمت‌های ۳ میلی لیتری داخل سه لوله درپیچ‌دار (BectonDickson) استریل ریخته و به این ترتیب غلظت های مختلف اسانس آویشن شیرازی به دست آمد که در دمای مطالعه یعنی ۳۵ درجه سانتی گراد به مدت ٤۳ روز نگهداری شد. طی این مدت تمام لوله‌ها جهت مشاهده کدورت قابل رؤیت[6]مورد بررسی قرار گرفت و نتیجه مشاهده شده ثبت گردید.

از آنجائیکه روش ۲٤ لوله ای شمارش بیشترین تعدا د احتمالی (Most probable number MPN) بـرای تعیـین لگـاریتم

3. Cuvett
4. Log Probability percentage(LP%)
5. Dimethyl Sulfoxide(DMSO)
6.Visual turbidity

درصد احتمال رشد ویبریو پارا همو لیتیکوس به کار گرفته شد، بنابراین محتویات (۹ میلی لیتر) هر یک از لوله های درپیچ دار، بطور استریل در قسمت های مساوی ۳ میلی لیتری در داخل ۳ لوله سرپوش دار (BectonDickson ۱۶×۱۰۰mm) استریل ریخته شد و بدین ترتیب ۲٤ =۸ ×۳ لوله برای هر غلظت اسانس داشتیم. این مجموعه های ۲٤ لوله ای را در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد به مدت ٤۳ روز گرمخانه گذاری کردیم . در طی این مدت ۲٦ دفعه (صفر، ۱،۲،۳،٤،۲۳،۲۵،۲۷،۲۹،۳۱،۳۳،۳۵،۳۷،٤۰ ،۱۹،۲۱ ،۱۵،۱۷، ۵،٦،۷،۸،۹،۱۱،۱۳،٤۳) تمام لوله ها جهت مشاهده کدورت رشدی قابل رویت مورد بررسی قرار گرفتند.

۲-۷- محاسبه لگاریتم درصد احتمال رشد

لگاریتم درصد احتمال رشد از روی تعداد لوله های مثبت (دارای کدورت قابل رویت) در طی ٤۳ روز نگهداری، از فرمول LogP%= 2- (logI-logMPN) محاسبه شد[۱۲] .

که در این فرمول logI میزان تلقیح در یک میلی لیتر و logMPN لگاریتم تعداد احتمالی باکتری ها در یک میلی لیتر است.

۲- ۸- آنالیز آماری و انتخاب مدل پیشگو

اثرات اسانس آویشن شیرازی بر روی لگاریتم درصد احتمال رشد باکتری با استفاده از آنالیز واریانس دوطرفه ANOVA با کمک نرم افزار SPSS ارزیابی گردید.

۳- نتایج

نتیجه آنالیز ترکیبات اسانس آویشن شیرازی مورد استفاده با استفاده از GC/MS در جدول شماره ۱ آمده است. همانطور که در جدول آمده بیشترین ترکیب تشکیل دهنده اسانس آویشن شیرازی کارواکرول است.

جدول ۱ آنالیز ترکیبات اسانس آویشن شیرازی مورد استفاده با استفاده از گاز کروماتوگراف طیف نگار جرمی

نام ترکیب	اندیس بازداری	درصد
Thujene	۹۳۰	۰/۱۹
Alpha-pinen	۹۳۷	٤/۲٦
Beta-pinen	۹۷٦	۰/٤۳
Beta-myrcene	۹۸۵	۰/۸۵
Eu caliptol	۱۰۲٤	۳/۳۷
Gama-terinen	۱۰۵۵	۷/۲٤
Lina lool	۱۰۹۰	۰/٦۸
Thymol methyl ether	۱۲۳٦	۰/٤۷
Carvacrol methylether	۱۲٤۳	۰/٤٦
Carvacrol	۱۲۹۹	۷۱/۱۲
Trans-carfyophllen	۱٤۱۸	۰/٤۱
Globulol	۱۵۸۲	۳۲/۲
جمع	---	۹۱/۹۰

نتایج حداکثر درصد احتمال رشد ویبریو پاراهمولیتیکوس در آبگوشت قلب و مغز متاثر از غلظت های مختلف (صفر، ۰/۰۰۲۵، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵، ۰/۰۳، ۰/۰۴۵ درصد) اسانس مذکور در طی ۴۳ روز نگهداری در جدول شماره ۲ آمده است. در این جدول D، روز رسیدن به حداکثر درصد احتمال رشد می باشد.

تاثیر معنی دار ($p<۰/۰۰۱$) غلظت های مختلف اسانس بر روی درصد احتمال رشد با استفاده از آنالیز واریانس نشان داده شد.

همانطور که در جدول شماره ۲ نشان داده شده است اسانس آویشن شیرازی دارای تاثیر معنی داری بر لگاریتم درصد احتمال رشد ویبریو پاراهمولیتیکوس می باشد. بطوریکه در غلظت های ٪۰/۰۳ و ٪ ۰/۰۴۵ اسانس مذکور در هیچ یک از لوله ها رشدی مشاهده نشد و حداکثر لگاریتم درصد احتمال رشد برای آنها ۴/۲۴۱- بدست آمد. همچنین حداکثر لگاریتم درصد احتمال رشد در غلظت ٪۰/۰۱۵ در روز ۱۵ و برابر با ۱/۷۶۱ بدست آمد در حالیکه در مورد غلظت های ۰/۰۰۵ و ۰/۰۰۲۵ اسانس آویشن شیرازی و غلظت۰ (کنترل) اسانس مذکور تمام لوله ها به ترتیب در روزهای ۱۹ ،۴ و صفر کدورت را نشان دادند و حداکثر لگاریتم رشدی برای حالت های مذکور برابر با ۳/۹۰۲ محاسبه شد.

جدول۲ حداکثر درصد احتمال رشد ویبریو پاراهمولیتیکوس در آبگوشت قلب و مغز متاثر از غلظت های مختلف اسانس آویشن شیرازی در طی ۴۳ روز گرمخانه گذاری در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد و D روز رسیدن به حداکثر لگاریتم درصد احتمال رشد

غلظت اسانس آویشن شیرازی (درصد)	حداکثر لگاریتم درصد احتمال رشد	روزD
۰	۳/۹۰۲	۰
۰/۰۰۲۵	۳/۹۰۲	۴
۰/۰۰۵	۳/۹۰۲	۱۹
۰/۰۱۵	۱/۷۶۱	۱۵
۰/۰۳	-۴/۲۴۱	>۴۳
۰/۰۴۵	-۴/۲۴۱	>۴۳

۴- بحث

امروزه مردم با توجه به اثرات مضر نگهدارنده‌های غذای شیمیایی و سنتتیک خواهان استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی مشتق از منابع گیاهی، حیوانی و میکروبی هستند تا علاوه بر افزایش زمان ماندگاری غذا، از اثرات مضر نگهدارنده‌های شیمیایی مصون باشند. در آخرین گزارش‌های معتبر در منابع علمی مشخصات ضد میکروبی ترکیبات متنوعی از گیاهان، ادویه‌ها، میوه ها، سبزیجات، برگها، پوست درختان و بافتهای حیوانی ارائه شده است[۱ ،۱۳- ۱۵].

از مدتها قبل از اسانسهای گیاهی بعنوان عوامل طعم دهنده در مواد غذایی و نوشیدنیها استفاده می‌شود، همچنین بدلیل داشتن ترکیبات ضد میکروبی مختلف آنها بعنوان نگهدارنده‌های طبیعی در مواد غذایی مطرح می باشند[۱].

مطالعات بسیاری در مورد خواص ضد باکتریایی خانواده نعنائیان (که آویشن شیرازی هم جزو این خانواده است) انجام شده که به برخی از آنها اشاره می شود.

سینگ و همکاران (۲۰۰۲) گزارش دادند که اسانس گیاه آویشن بر روی اشریشیا کولی انتروهموراژیک اثر باز دارندگی دارد. از بین ترکیبات اسانس آویشن تیمول و کارواکرول به عنوان عوامل مؤثر نام برده شده اند[۱۶].

رسولی و همکاران (۲۰۰۲) اثرات باکتریوسیدی اسانس آویشن (با میزان بالای کارواکرول) بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلای را نشان دادند و علت اثر باکتریوسیدی قوی اسانس مورد مطالعه را میزان بالای کارواکرول موجود در اسانس بیان داشتند[۱۷].

مطالعه‌ی بنیادیان و کریم(۲۰۰۳) روی تأثیر روغن‌های فرار برخی گیاهان (پونه، نعناع، ترخان، زیره و آویشن) بر روی باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلای در محیط کشت مایع، نشان داد که بیشترین اثر را روغن فرار آویشن بر روی این دو باکتری داراست به طوری که حداقل غلظت مهار کننده عصاره این گیاه برای باکتری های مذکور به ترتیب ۰/۱ و ۰/۰۵درصد بود[۱۸]

مطالعات باگامبولا و همکاران (۲۰۰٤) روی اثراسانس آویشن و ترکیبات کارواکرول و تیمول بر باکتری شیگلا نشان داد که این ترکیبات اثر باکتریوسیدی بر این باکتری دارند[۱۹].

یوتوکا و همکاران (۲۰۰٦) اثرات ضد باکتریایی ۱۸ گونه گیاهی را در ترکیب با حرارت و مواد مغذی روی ویبریو پاراهمولیتیکوس مطالعه نمودند. نتایج آنها نشان داد که فقط گیاهان رزماری، مرزنگوش، سیر، ترب کوهی، میخک، اورگانو، ریحان و آویشن اثرات ضد میکروبی در دمای نگهداری۳۰ درجه سانتی گراددارند. کمترین MICبرای میخک و مرزنجوش در یک محیط غنی از مواد مغذی برابر ۰/۱۲۵ درصد بدست آمد. کاهش دمای نگهداری، به جز در مورد زردچوبه، تأثیر اندکی بر MIC داشت. در محیط با مواد مغذی کم، کمترین MIC در مورد مرزنگوش در دمای۳۰ و ۵ درجه سانتی گراد به ترتیب ۰/۰۰۱ درصد و ۰/۰۰۰۲۵ درصد بود. حساسیت به ادویه های مختلف در بین سروتیپهای بالینی مختلف یکسان بود.[۲۰]

در مطالعه ای که توسط رضویلر و همکاران (۲۰۰۷) در مورد اثرات اسانس آویشن، اسید استیک، درجه حرارت و زمان نگه داری بر روی احتمال رشد یک سلول و سلول های مورد نیاز سالمونلا تیفی موریوم در محیط آبگوشت قلب- مغز صورت گرفت نشان داده شد که اسانس آویشن احتمالا می تواند به عنوان یک نگه دارنده و ضد باکتری مناسب لااقل علیه برخی از باکتری های گرم منفی از جمله باکتری های مورد مطالعه در برخی از مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرد[۲۱].

ووداکول۷ و همکاران (۲۰۰۷) با استفاده از تکنیک Disc Diffusion، فعالیت ضد میکروبی عصاره تازه گالانگال۸، لیمو و سیر را با غلظت ۱۰ میکرولیتر در هر دیسک بر سویه پاندمیک ویبریو پاراهمولیتیکوس مورد مطالعه قرار دادند نتایج کار این محققین حاکی از مهار رشد ویبریو پاراهمولیتیکوس بوسیله این سه عصاره بود و گالانگال هیچگونه اثری بر اشریشیا کولی و استافیلوکوکوس اورئوس نداشت.[۲۲]

بوچات۹ (۲۰۰۸) رشد ویبرویو پاراهمولیتیکوس را در محیط کشت حاوی اسانسهای آویشن، مرزنجوش و ساسافراس۱۰ مورد بررسی قرار داد و بیان کردکه هر سه اسانس مذکور در سطح ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر باکتریسیدال بودند[۲۳].

در مطالعه ای که توسط خانزادی و همکاران در مورد اثرات اسانس آویشن، اسید استیک، درجه حرارت و زمان نگه داری بر روی احتمال رشد کلستریدیوم بوتولینوم تیپA در محیط آبگوشت قلب- مغز صورت گرفت نشان داده شد که لگاریتم درصد احتمال رشد باکتری و حداقل تعداد باکتری مورد نیاز جهت شروع رشد۱۱ به طور معنی داری ($p< ۰/۰۵$) تحت تأثیر غلظت های مختلف اسانس، سطوح PH و دمای نگهداری قرار گرفت. طبق نتایج به دست آمده لگاریتم درصد احتمال رشد کلستریدیوم بوتولینوم تیپ A با افزایش غلظت اسانس، کاهش PH و کاهش دمای نگهداری، کاهش پیدا می کند.[۲٤]

با توجه به نتایج بدست آمده از مطالعه اخیر چنین نتیجه گیری می شود که اسانس آویشن شیرازی بصورت بسیار معنی دار ($p<۰/۰۰۱$) دارای توانایی جلوگیری از رشد ویبریو پارا همو لیتیکوس را می باشد که این توانایی رابطه مستقیم با افزایش غلظت اسانس آویشن شیرازی دارد.

۵- منابع

[1] Burt, S. 2004. Essential oils: their antimicrobial properties and potential applications in foods – a review. International Journal of food microbiology, 94: 233-253.

[2] WHO 2002. Food safety and Foodborne Illness. World Health Organization. Fact sheet 237, revised January 2002 – Geneva.

[3] Bhunia, A.K. 2008. Foodborne Microbial Pathogens Mechanisms and Pathogenesis. Food science text series, Springer publication. 241-248

[4] Chia Yin Lee, Shwu Fen Pan, Chien-Hsien Chen. 1995. Sequence of a Cloned pR72H Fragment and its use for Detection of *Vibrio parahaemolyticus* in shelfish with the PCR. Applied and Environmental Microbiology.61(4): 1311-1317.

[5] Soltani M, Kakoolaki sh, kisami M. 2001. Isolation and identification of dominant vib... spoiled in canned pears

7. Vuddhakul
8. Galangal
9. Buchat
11. Sassafras

11. Cell needed

of heleh station. Bushehr . Journal of veterinary faculty of Tehran. 55: 29-32

[6] Amirmozafari, N., Forohesh, H., Halakoo,2005. Occurrence of Pathogenic Vibrios in Coastal Areas of Golestan Province in Iran. Archive Razi Institute. 60 :33-44.

[7] Barker, W. H., and E. J. Gangarosa. 1974. Food poisoning due to *Vibrio parahaemolyticus*. Annual Review of Medicine. 25:75–81.

[8]. Blake, P. A., R. E. Weaver, and D. G. Hollis. 1980. Diseases of humans (other than cholera) caused by vibrios. Annual Review. Microbiology. 34:341–367.

[9] Juncioni de Arauz, L., A. Faustino Jozala., P. GavaMazzola, and T.Ch.Vessonipenna., 2009. Nisin biotechnological production and application:A review.2009.Trend. Food Science Technology. 20: 146-154.

[10] Oussalah M, Caillet S, Saucier L, Lacroix M.2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E.coli O157:H7, Salmonella *typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *listeria monocytogenes*. Food Control. 18: 414 – 420.

[11] Iranian Herbal Pharmacopoeia Commission.2003. First edition. Ministry of Health, Treatment and Medical Education.1.51-56

[12] A. Akhondzadeh-Basti, V. Razavilar, A. Misaghi, B. Radmehr, R. Abbasifar, D. Yazdani, S. Akhondzadeh. Effect of Zataria multiflora Boiss. essential oil on probability of growth initiation of Staphylococcus aureus in a brain heart infusion broth. Journal of Medicinal Plants. 2004; 3(10).

[13] Cowan, M.M., 1999. Plant product as antimicrobial agent. Clinical Microbiology Reviews, 12: 564-582

[14] Gould .G.W, (1996), Method for preservation and extension of shelf life. International
Journal of food Microbiology. 33: 51-64

[15] Lemay M J, Choquette .J., Delaquis P J, Gariépy C Rodrigue N, Saucier L, , (2002)Antimicrobial effect of natural preservatives in a cooked and acidified chicken meat model. International Journal of Food Microbiology, 78: 217-226.

[16] Singh, N. Singh, R.K. Bhunia, A.K and Stroshine, R.L. 2002. Efficacy of Chlorine Dioxide, Ozone, and Thyme Essential Oil or a Sequential Washing in Killing Escherichia coli O157:H7 on Lettuce and Baby Carrots. Lebensmittel-Wissenschaft and Technology.35: 720-729

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

[18] Bonyadian M, Karim G. 2003. Study of effects of some plant extracts on E.coli and S.aureus in broth medium. Journal of veterinary faculty of Tehran. 57(4): 81-83.

[19] Bagambula, C.F., Uyttendaele, M.andDebever, J., 2004. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and P-cymene towards shigella sonnei and S.flexneri. Food microbiology, 21: 32-42.

[20] Yutaka, Y.S.M., Oikawa, H. 2006. Antimicrobial effect of spices and herbs on Vibrio parahaemolyticus. International Journal Food Microbiology. 111: 6-11.

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

[22] Vuddhakul, B.P., Hayeebilan, F., Subhadrasakul, S. 2007. Inhibitory activity

of Thai condiments on pandemic strain of Vibrio parahaemolyticus. Food Microbiology. 24: 413-418

[23] Beuchat, L.R. 2008. Sensitivity of *Vibrio parahaemolyticus* to spices and organic acids. Journal of Food Science. 41: 899-902.

[24] Khanzadi S., Razavilar V., Akhoundzadeh Basti A. , Jamshidi E. 2007. Effect of *zataria multiflora* boiss essential oil, acetic acid, temperature and storage time on probability of growth initiation of *clostridium botulinum* type A in brain heart infusion broth . Iranian food science and technology research journal. 2007; 2(2):23-31.

Effect of *zataria multiflora* Boiss. essential oil on log p% of *Vibrio parahaemolyticus* in BHI broth

Khanjari, A. [1], Akhondzadeh Basti, A. [1*], Dahr Rokni, N.[1], Soltani, M. [2], Rezazadeh, [2]. Behrad Radmehr, SH. A. [3], Partovi, R. [1], Cheraghi, S. [6], Esmaili, H. [5], Gholami, F. [6], Gholami, H. [6], Mohamadian, M. R. [6], Yamrali, A. [6]

1. Department of Food hygiene, Faculty of veterinary medicine, University of Tehran
2. Aquatic animals health and diseases, Faculty of veterinary medicine, University of Tehran
3. Institute of medicinal plants(ACECR)
4. Department of Food hygiene, Faculty of veterinary medicine, Islamic azad university, Branch Karaj
5. Department of pathobiology , Faculty of veterinary medicine, University of Tehran
6. Undergraduate student of veterinary medicine, Faculty of veterinary medicine, University of Tehran

(Received:89/5/22 Accepted: 89/7/22)

Chemical preservatives are usually used to reduce or eliminate pathogenic or spoilage microorganisms but their inordinate applications have resulted in toxigenic residuals and adverse effects on consumers, So many researches have been done to substitute the chemicals with naturally occurring compounds, especially plant essential oils. In this study log P% of *vibrio parahaemolyticus*ATCC 43996 with different concentrations of *zataria multiflora* Boiss essential oil (0, 0.0025, 0.005, 0.015, 0.03 and 0.045%) in BHI broth during incubation at 35° C for 43 days was investigated. Log P% of*vibrioparahaemolyticus* was affected very significantly($p<0.001$) with all concentrations of *zataria multiflora* Boiss. Essential oil *Vibrio parahaemolyticus* wasn't grow In any tubes of 0.03 and 0.045%concentrations of essential oil and maximum of log p% was calculated as -4.241. Maximum log P% of this bacterium in 0.015% concentration of essential oil was achievedat15th day and was 1.761, whereas the maximum log p% for 0.005, 0.0025 and 0 concentrations of essential oil that was 3.902, were achieved at 19th , 4th and 0 day. In conclusion the log P% of *vibrio parahaemolyticus* was decreased by increasing of *zataria* essential oil concentrations.

Key words: *Vibrio parahaemolyticus, zataria multiflora* Boiss. essential oil, log p%

* Corresponding Author E-Mail address: aakhond@ut.ac.ir