مطالعه اثر ضدمیکروبی پودر عصاره برگ نوروزک بر رشد استافیلوکوکوس اورئوس در همبرگر

مژگان یوسفلی[۱]، حسین آذرنیوند[۲]، زهره حسینی[۳]، محمد حسین حداد خداپرست[۴]، پرنیان پزشکی[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، رشته مهندسی منابع طبیعی گرایش مدیریت مناطق بیابانی، دانشگاه تهران
۲- استاد گروه مهندسی منابع طبیعی دانشگاه تهران
۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، رشته علوم و صنایع غذایی دانشگاه فردوسی مشهد
٤- استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد
(تاریخ دریافت: ۸۸/۱/۲۸ تاریخ پذیرش: ۸۹/۳/۱۹)

چکیده

در این تحقیق اثر ضد میکروبی پودر عصاره برگ نوروزک در ٤ سطح (۵۰۰۰، ۱۰۰۰۰، ۱۵۰۰۰و ۲۰۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و ۳ دوره زمانی ۱۵، ۳۰ و ٤۵ روز بر رشد استافیلوکوکوس اورئوس و شمارش کلی در همبرگر نگهداری شده در دمای ^{c}۱۲- مورد ارزیابی قرار گرفت، تمامی ارزیابی های میکروبی ۳ بار تکرار گردیدند. نتایج حاصل کاهش تعداد استافیلوکوکوس اورئوس و شمارش کلی میکروب‌ها را در تمامی سطوح پودر افزوده شده نشان داد، که این روند کاهشی در روزهای پانزدهم و سی‌ام به ترتیب برای استافیلوکوکوس اورئوس و شمارش کلی معنی دار بود. در بین سطوح پودر افزوده شده به ترتیب بیشترین و کمترین تأثیر مربوط به سطوح ۲۰۰۰۰ و ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش شد. طبق نتایج این بررسی، پودر عصاره برگ نوروزک بر استافیلوکوکوس اورئوس همبرگر اثر مهارکنندگی و کشندگی داشته و می تواند به عنوان یک ترکیب نگهدارنده طبیعی در فرآورده‌های غذایی مورد توجه قرار گیرد.

کلید واژگان: برگ نوروزک، فعالیت ضد میکروبی، استافیلوکوکوس اورئوس، شمارش کلی، نگهدارنده طبیعی

۱- مقدمه

گوشت و فرآورده‌های گوشتی از مهم‌ترین منابع غذایی در جیره روزانه افراد در کشورهای توسعه‌یافته بوده ومصرف آن ها تحت تأثیر عوامل متعددی قرار می‌گیرد. مصرف این قبیل فرآورده‌ها بدلیل تنوع غذایی در کنار سهولت مصرف و عدم نیاز به پخت اکثر آن‌ها، افزایش چشمگیری داشته و بخش قابل ملاحظه ای از نیاز غذایی جامعه بویژه جوانان و نوجوانان را تامین می کنند

*مسئول مکاتبات: khodaparast@um.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-05]

[۱و۲]. از سوی دیگر در سال‌های اخیر تا حد زیادی افراد به مصرف غذاهای فانکشنال (سلامتی‌بخشی) بویژه مواردی که در ترکیب آن‌ها از گوشت استفاده شده و از جمله آن‌ها می‌توان به فرآورده‌های گوشتی منجمد نظیر همبرگر اشاره نمود، اقبال پیدا کرده‌اند. با این همه، گزارشات روزافزون بیماریهای منتقله از غذا و بویژه آلودگی ثانویه محصولات غذایی در خلال مراحل بعد از فرآوری، مسئله سلامت مواد غذایی را مطرح می‌کنند که نگرانی مصرف‌کنندگان و نیز تولیدکنندگان و دیگر عوامل درگیر در صنایع غذایی را در پی داشته است [۳]. یکی از مهم‌ترین میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا (پاتوژن) در فرآورده‌های گوشتی بویژه آن‌هایی که طی تولید مکرراً با دست تماس دارند، استافیلوکوکوس اورئوس (عامل مسمومیت غذایی استافیلوکوکال) می باشد[٤] و در حال حاضر سلامت عمومی را در سراسر جهان به خطر انداخته است [۵]. گسترش این قبیل بیماری‌های مربوط به غذا در کنار مشکلات اجتماعی و اقتصادی ناشی از آن، لزوم تولید مواد غذایی سالم‌تر و به تبع آن استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی جدید و تا حد امکان غیرسنتزی را مطرح نموده است. از زمان کشف داروهای شیمیایی و ترکیبات ضدمیکروبی، گرچه کنترل عفونت‌های غذایی امکان‌پذیر گردیده، ولی با این همه، برخی باکتری‌ها به ترکیبات فوق مقاوم هستند [٦] و علاوه بر این نگرانی‌هایی در خصوص ایمنی و پتانسیل اثر افزودنی‌های مصنوعی و عوارض جانبی نگهدارنده‌های شیمیایی بر سلامت مصرف‌کنندگان مطرح شده که معطوف شدن توجهات به بحث جایگزینی آن‌ها با ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی را در پی داشته است. در این میان توجه تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان به استفاده از عصاره‌های گیاهی معطوف شده که خواص ضد-میکروبی ترکیبات فوق مورد مطالعه قرار گرفته و اثرشان علیه طیف وسیعی از باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌ها به اثبات رسیده است [۷]. از جمله آن‌ها می‌توان به تحقیقات انجام گرفته روی عصاره های گیاهی به دست آمده از سیر، پیاز، دارچین، جوز، کاری (زردچوبه هندی)، خردل، فلفل سیاه، آویشن، پونه کوهی، رزماری (اکلیل کوهی)، بادیان، فلفل قرمز، زردچوبه، برگ بو، هل، کرفس، شبدر، گشنیز، زنجبیل، مرزنگوش، سماق، نعناع، ریحان و اشاره نمود [٢٤-٨] ولی از آن‌جا که اکثر مطالعات انجام شده در این ارتباط، در محیط‌های آزمایشگاهی صورت گرفته، لذا اطلاعات اندکی در مورد اثرات آن‌ها در مواد غذایی موجود می باشد[۲۵].

گیاه علوفه‌ای، دارویی و صنعتی نوروزک با نام علمی *Salvia leriifolia* و نام‌های محلی و بومی مختلفی چون نوروزک و جبله [٢٦]، از خانواده نعناعیان و بومی مناطق کم ارتفاع گرمسیری جنوب خراسان، سمنان و قسمتی از افغانستان بوده، برای اولین بار در سال ۱۹۸۲ در فلور طبیعی ایران به آن اشاره شده [٤] و دارای خواص با ارزش متعددی از جمله خواص آنتی اکسیدانی، ضد-باکتریایی و ضدقارچی، ضددیابت و ضددرد است. جنس سالویا (لامیناسه) ۵۰۰ گونه دارد که ٥٦ گونه از این جنس در ایران شناسایی گردیده که غالباً چندساله، دائمی و بسیار معطرند. گیاهان تیره نعناع از زمان‌های گذشته در طب سنتی بخصوص در درمان عفونت‌های دستگاه گوارش یا دل‌درد کاربرد داشته‌اند [۲۷]. امروزه از گیاهان تیره نعناع به صورت ادویه و چاشنی غذا در رستوران‌ها و منازل همراه با غذا استفاده می‌شود [۲۸]. مطالعات نشان داده‌اند انشعابات، شاخ و برگ نوروزک علاوه بر اسانس دارای خواص متعدد دارویی و ضد میکروبی و پوست خارجی آن حاوی موسیلاژ بوده و نیز گزارش‌های مختلفی در ارتباط با فعالیت‌های بیولوژیکی این گیاه نظیر خواص درمانی، ضدباکتریایی وجود دارد. از متابولیت‌های ثانویه با ارزش موجود در این گیاه، به ترتیب فراوانی می توان به ترپنوئیدها، ساپونین‌ها، فلاونوئیدها، تانن‌ها و آلکالوئیدها اشاره کرد. کالکون‌ها نیز گروه دیگری از متابولیت‌های ثانویه گیاهی‌اند که از قدرت آنتی-اکسیدانی بسیار بالایی برخوردار بوده و خواص دارویی این گیاه و از جمله برگ آن نیز در ارتباط با مواد آنتی‌اکسیدانی موجود در آن است [۲۹].

همبرگر یکی از فرآورده‌های گوشتی است که به دلایل گوناگون از جمله سهولت مصرف، استفاده از گوشت در ترکیب و طعم مطلوب مصرف بالایی دارد و با توجه به این که این فرآورده تا زمان مصرف، فرآورده ای خام است، کنترل کیفیت میکروبی این فرآورده گوشتی ضروری است. عمده میکروارگانیسم‌های آلوده کننده همبرگر، باکتری‌ها شامل استافیلوکوک‌ها، باسیلوس‌ها، اسید لاکتیک باکتری‌ها و مخمرهایی نظیر کاندیدا می‌باشند [۳۰].

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-05]

از مهمترین باکتری‌های آلوده کننده می‌توان به استافیلوکوکوس اشاره نمود. حضور استافیلوکوکوس از آن جهت در مواد غذایی حائز اهمیت است که به دلیل تولید انتروتوکسین، عامل مسمومیت استافیلوکوکال می‌باشد [۳۱]. علائم کلاسیک این مسمومیت که در اثر مصرف غذای حاوی انتروتوکسین استافیلوکوکوس به وجود می‌آید، عبارتند از: دردهای ناحیه شکمی، تهوع، استفراغ و اسهال که در بعضی بیماران همراه با سردرد می باشد [۳۲]. گرچه مطالعاتی در خصوص فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی و تغذیه‌ای برگ نوروزک انجام شده [۳۳ و ۳٤]. اما تاکنون امکان فعالیت ضدمیکروبی برگ این گیاه علیه باکتری‌های مولد فساد و بیماری‌زا در مواد غذایی و به ویژه فرآورده‌های گوشتی مورد مطالعه و بررسی قرار نگرفته است. مطالعات بیشتر در خصوص اثرات ضدمیکروبی این گیاه، می‌تواند آن را به عنوان یک نگهدارنده طبیعی برای جایگزین شدن با انواع سنتتیک مطرح نماید. بر این اساس هدف از پژوهش فوق، ارزیابی و بررسی اثر ضد میکروبی عصاره الکلی برگ نوروزک بر استافیلوکوکوس اورئوس و شمارش کلی میکروبی در محصول همبرگر و مقایسه آن با نمونه شاهد به منظور تقلیل بار میکروبی و به طور خاص کنترل میکروارگانیسم مذکور و در نهایت ایجاد شرایطی است که با مصرف همبرگر، ایمنی و سلامت مصرف کننده تضمین شود.

۲- مواد و روش‌ها

تهیه پودر عصاره نوروزک: برگ‌های گیاه نوروزک در بهار ۱۳۸۷ از کوه‌های بخش کوهسرخ واقع در جنوب غرب نیشابور جمع‌آوری و بلافاصله در دمای اتاق و دور از نور خورشید خشک و سپس به کمک آسیاب برقی (Feller مدل EG 850) پودر شدند [۳٤]. خشک کردن گیاهان دارویی به منظور جلوگیری از عمل آنزیم‌ها و رشد باکتری‌ها و در نتیجه جلوگیری از کپک زدن و تغییرات شیمیایی گیاه صورت می‌گیرد [۳۵]. سپس برگ پودر شده توسط حلال متانول (۱:۱۰ حجمی/وزنی) با استفاده از دستگاه گرمخانه همزن دار (فراز طب تجهیز، ایران) و در دمای اتاق به مدت یک شبانه روز عصاره‌گیری شد. عصاره حاصل، فیلتر شده و مراحل عصاره‌گیری با حلال تازه تحت همان شرایط، برای رسوب مرحله اول تکرار گردید. پس از اختلاط عصاره‌های صاف شده مرحله اول و دوم، مخلوط حاصل توسط کربن فعال (۱:۵، وزن برگ/ وزن زغال) رنگبری شد. در مرحله بعد عصاره رنگبری شده به کمک قیف بوخنر صاف و سپس حلال آن در دستگاه تبخیر کننده دورانی[1] (Heidolph vv1 با دمای ٤۵ درجه سانتیگراد) تحت خلاء جدا و در گرمخانه ٤۵ درجه سانتیگراد تحت خلاء *vacuo* ، تا رسیدن به وزن ثابت خشک گردید. پس از حذف کامل حلال، عصاره خشک شده برگ نوروزک به شکل پودری به رنگ زرد قهوه‌ای با بوی ادویه مانند به دست آمد [۳٤].

سویه میکروبی مورد مطالعه: استافیلوکوکوس اورئوس استاندارد ATCC-29737 مورد نیاز جهت افزودن به همبرگر، بصورت آمپول لیوفیلیزه از کلکسیون باکتری‌ها و قارچ‌های سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید [۳٦].

فعال‌سازی سویه میکروبی: آمپول لیوفیلیزه حاوی سویه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس طبق دستورالعمل شرکت سازنده از محل بالای توده پنبه خراش داده شده، سپس اطراف آمپول با گاز استریل مرطوب شده با الکل ۷۰ درجه کاملا ضدعفونی گردید. آمپول احاطه شده توسط گاز استریل، از محل خراش شکسته شد. توده پنبه به کمک یک پنس استریل خارج شده، تحت شرایط استریل در زیر هود و به کمک پیپت پاستور استریل ۰/۵ میلی‌لیتر، ۰/۳ تا ۰/٤ میلی‌لیتر از محیط کشت مایع استریل تریپتون سویا براث (Merck) به ماده خشک موجود در آمپول اضافه و پس از یکنواخت شدن، سوسپانسیون میکروبی حاصل شد. سوسپانسیون حاصل توسط آنس استریل مخلوط شده و مقداری از آن جهت تهیه کشت مادر[2] روی محیط آگار مغذی (Difco,Laboratories,Detroit, MI) منتقل و کشت انجام گردید. سپس برای رشد استافیلوکوکوس اورئوس، محیط‌های کشت حاوی میکروب به مدت ۲٤ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند. بعد از این مدت، از کشت مادر رشد یافته، کشت دیگری روی آگار مغذی به عنوان کشت ذخیره[3] تهیه شد و در مراحل بعدی استفاده گردید [۳٦و۳۷].

۲-۱- تهیه محلول استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند

یکی از روش‌های تعیین تعداد باکتری‌ها در محیط مایع، روش شمارش غیر مستقیم است. در روش کدورت سنجی که

1. Rotary Evaporator
2. Master culture
3. Sub Master

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-05]

یکی از معمول‌ترین روش‌های شمارش غیر مستقیم است، کدورت محیط مایع که باکتری در آن رشد کرده است، با یک استاندارد که کدورت آن با تعداد معینی باکتری متناسب است، مقایسه می‌شود. کدورت استاندارد را می‌توان بوسیله مخلوط مقادیر مشخصی از مواد شیمیایی ایجاد نمود که یک نمونه از آن سولفات باریوم است که شدت آن توسط مک‌فارلند[1] با تعداد تقریبی باکتری‌ها ارزیابی شده است [۳۶ و ۳۸]. استانداردهای مک‌فارلند با افزودن حجم خاصی از محلول اسید سولفوریک ۱٪ و کلرید باریوم ۱/۷۵٪ برای بدست آوردن یک محلول سولفات باریوم با دانسیته نوری خاص تهیه می‌شوند و معمولاً استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند که از افزودن ۹/۹۵ میلی‌لیتر اسید سولفورریک خالص ۱٪ حجم به حجم (۰/۰۳۶ نرمال) به ۰/۰۵ میلی‌لیتر کلرید باریوم ۱/۷۵٪ (۰/۰۴۸ مولار) حاصل می شود، بیشتر کاربرد دارد. استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند کدورتی معادل با یک سوسپانسیون باکتریایی معادل $1/5\times10^{8}$ cfu/ml ایجاد می‌کند [۳۶ و ۳۷].

۲-۲- تهیه سوسپانسیون میکروبی ۰/۵ مک فارلند

برای هر سری آزمایش، نیاز به کشت تازه ۲٤ ساعته استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد؛ بنابراین از کشت ذخیره (ساب ماستر)، کشت دیگری تهیه شده و موقع کار از کشت جوان و تازه ۲٤ ساعته که میکروارگانیسم‌های آن در فاز فعال خود هستند، استفاده می‌شد. به این ترتیب که ۲٤ ساعت قبل از انجام آزمایش، از کشت ذخیره به محیط کشت آگار شیبدار مغذی تلقیح انجام گردید و بمدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه-گذاری شد. برای تهیه سوسپانسیون میکروبی، پس از رشد کشت مربوطه، کلونی‌های سطح آن با محلول نرمال سالین ۰/۹٪[2] شسته شده و سوسپانسیون غلیظی از میکروب‌ها حاصل گردید [۳۹]. آنگاه به کمک پیپت پاستور استریل مقدار کمی از این سوسپانسیون غلیظ میکروبی، داخل لوله‌های درپیچ‌دار استریل ریخته شده و سپس با افزودن محلول نرمال سالین، سوسپانسیون غلیظ تا حدی رقیق گردید که در مقایسه با محلول استاندارد ۰/۵ مک فارلند، میزان جذب (کدورت) سوسپانسیون در طول موج ۵۳۰ نانومتر اسپکتروفوتومتر با میزان جذب (کدورت) محلول ۰/۵ مک فارلند برابر گردد؛ به این ترتیب سوسپانسیونی با غلظت تقریبی $1/5\times10^{8}$ cfu/ml (۱۰ میکروارگانیسم در هر میلی‌لیتر) به دست می‌آید که از آن در تلقیح استفاده شد [۳٦ و ۳۷].

سپس با انجام محاسبات لازم مشخص گردید که برای رسیدن غلظت نهایی استافیلوکوکوس اورئوس به 5×10^{5} cfu/g، به ٤ میلی‌لیتر از سوسپانسیون فوق نیاز است. مخلوط همبرگر از یک کارخانه تولیدی در مشهد تهیه شد و به آزمایشگاه انتقال یافت. از مخلوط همبرگر فوق بر روی محیط بیرد پارکر آگار[3] (Merck, Rahway, NJ) با سوسپانسیون زرده تخم مرغ (Merck,Rahway, NJ) و پلیت کانت آگار[4] (Difco Laboratories, Detroit, MI) کشت انجام شد و سپس بلافاصله مقدار ۱۲۰۰ گرم همبرگر با ٤ میلی‌لیتر سوسپانسیون حاوی استافیلوکوکوس اورئوس مخلوط گردید. از مخلوط آلوده فوق نیز به منظور کنترل غلظت استافیوکوکوس در محیط‌های فوق، کشت بعمل آمد. در مرحله بعد تحت شرایط استریل، ۱۰ نمونه ۲۰ گرمی از مخلوط حاصل درون ظروف پلاستیکی استریل توزین شده و بعنوان شاهد انتخاب گردیدند. سپس ۲٤۰ گرم از مخلوط همبرگر آلوده توزین و به آن ۱/۲ گرم پودر خشک عصاره نوروزک اضافه و به طور کامل مخلوط گردید؛ بعد از آن ۱۲ نمونه ۲۰ گرمی از این مخلوط همبرگر توزین و در شرایط استریل در ظروف پلاستیکی یکبار مصرف با گنجایش ٤۰ میلی لیتر پر شد و به فریزر ۱۲- درجه سانتیگراد انتقال یافت. سایر تیمارها نیز به همین ترتیب با افزودن به ترتیب ۲/٤، ۳/٦ و ٤/۸ گرم پودر عصاره به آن‌ها آماده شده و پس از توزین در اندازه نمونه های ۲۰ گرمی، در ظروف پلاستیکی مورد نظر پر و به همان فریزر انتقال داده شدند.

در دوره های زمانی صفر (روز اول انجام کار و پس از تلقیح)، ۱۵، ۳۰ و ٤۵ روز از هر تیمار ۲ نمونه گرفته شده و به منظور اندازه گیری رشد استافیلوکوکوس اورئوس و شمارش کلی، در محیط های برد پارکر آگار و پلیت کانت آگار به ترتیب کشت سطحی و مخلوط انجام گردید و سپس به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ و۳۰ درجه سانتیگراد گرمخانه‌گذاری شدند. به منظور

1. McFarland
2. Normal Saline
3. Baird Parker Agar
4. Plate Count Agar

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-05]

شمارش و شناسایی میکروارگانیسم از کلنی کانتر مدل Funke-Gerbe و میکروسکوپ الکترونی Olympus مدل BH2 استفاده شد. تیمارهای مختلف با علائم شرح داده شده طبق جدول ۱، مشخص گردیده‌اند.

جدول ۱ تیمارها و علائم اختصاری آن‌ها

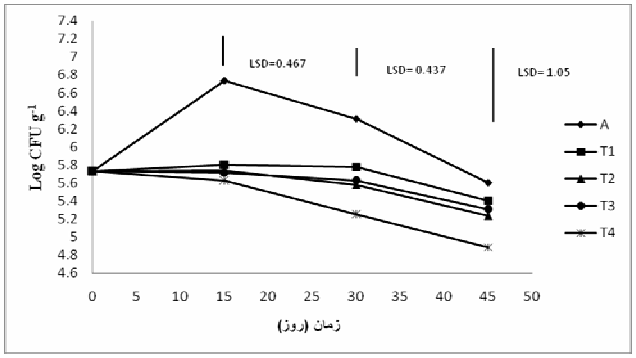
علامت اختصاری	نوع تیمار
Control	همبرگر آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس بدون عصاره
T_1	همبرگر آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس + ۵۰۰۰ mg/kg پودر عصاره
T_2	همبرگر آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس + ۱۰۰۰۰ mg/kg پودر عصاره
T_3	همبرگر آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس + ۱۵۰۰۰ mg/kg پودر عصاره
T_4	همبرگر آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس +۲۰۰۰۰ mg/kg پودر عصاره

۲-۳- آنالیز آماری

در این مطالعه از طرح فاکتوریل کاملا تصادفی استفاده گردید. بر اساس انجام آنالیز واریانس اولیه مشخص گردید اثر متقابل بین تیمارها و فواصل زمانی معنی‌دار نمی‌باشد ($P<0.05$)؛ بنابراین کلیه تیمارها در تمامی زمان‌ها به طور یکجا تحت آنالیز آماری قرار گرفتند. به منظور مقایسه میانگین‌ها از آزمون مقایسه میانگین LSD[1] استفاده گردید و آنالیز واریانس و مقایسه میانگین‌ها توسط نرم افزار MSTATC انجام گرفت. نتایج حاصل در جدول ۲ آورده شده است. همچنین برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده گردید.

۳- نتایج و بحث

در ارتباط با تأثیر غلظت‌های مختلف پودر عصاره بر تعداد میکروارگانیسم مورد مطالعه، همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌گردد، تعداد استافیلوکوکوس در نمونه شاهد تا روز پانزدهم افزایش و پس از آن تا روز چهل و پنجم کاهش نشان داده است. روند افزایشی اولیه (تا روز پانزدهم) ناشی از حضور آب، چربی، پروتئین و محتوای املاحی است که به طور بدیهی در مواد غذایی فرآوری شده‌ای چون همبرگر یافت شده و مقاومت میکروبی را افزایش می‌دهند [۴۰]. دلیل دیگری که می‌توان در این ارتباط ذکر نمود، مقاوم بودن این باکتری در برابر انجماد است [۴۱و ۴۲]. علت کاهش تعداد استافیلوکوکوس اورئوس در نمونه کنترل (شاهد) در خلال روزهای پانزدهم تا چهل و پنجم نامعلوم است. بعد از ۴۵ روز نگهداری، اختلاف تیمارهای T_1، T_2 و T_3 با نمونه شاهد بر کاهش تعداد استافیلوکوکوس اورئوس معنی‌دار نبوده و تنها در تیمار چهارم (T_4) اختلاف بین تعداد اولیه و نهایی میکروارگانیسم مورد مطالعه معنی‌دار بود ($P<0.05$)(جدول ۲). به این معنی که در تیمارهای T_2 و T_3 رشد استافیلوکوکوس اورئوس طی ۳۰ روز مشاهده نشده و تعداد آن‌ها تقریباً ثابت باقی ماند، در حالی که در بالاترین غلظت عصاره (۲۰۰۰۰ mg/kg) در تیمار چهارم (T_4)، تعداد استافیلوکوکوس اورئوس نه تنها در تمامی دوره‌های زمانی کاهش یافته، بلکه این روند کاهشی در فاصله زمانی بعد از روز پانزدهم سرعت بیشتری نیز پیدا کرده است. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌گردد، بیشترین و کمترین تأثیر پودر عصاره بر کاهش تعداد استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب مربوط به تیمارهای T_1 و T_4 می‌باشد. در این میان نکته قابل توجه این است که بیشترین تأثیر پودر عصاره بر کاهش تعداد استافیلوکوکوس اورئوس در تمامی غلظت‌ها، در ۱۵ روز اول است، تا جایی که در روز چهل و پنجم تعداد استافیلوکوکوس اورئوس در نمونه شاهد تقریباً معادل میزان آن در سایر تیمارها شده و اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود ($P<0.05$) که این، خود یکی از ویژگی‌های منحصر به فرد عصاره نوروزک است.



شکل ۱ نمودار تغییر تعداد استافیلوکوکوس اورئوس در تیمارهای مختلف طی ۴۵ روز نگهداری

1 . least Significant Difference (LSD) Test

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-05]

جدول ۲ مقایسه میانگین تیمارها توسط آزمون LSD

شمارش کلی					استافیلوکوکوس اورئوس				
	روز					روز			
تیمار	۰	۱۵	۳۰	٤٥	تیمار	۰	۱۵	۳۰	٤٥
شاهد	٦/٤١٦±۰/۰۱^{bcd}	٦/٥٩٢±۰/۱^{bc}	۷/۱۳۷±۰/۰۸^{a}	٦/۳۹٦±۰/٦^{cd}	شاهد	٥/۷۲۹±۰/۱۹^{cde}	٦/۷۳٤±۰/۲۳^{a}	٦/۳۱٤±۰/۲٤^{ab}	٥/٦۰٦±۰/۰٥^{cde}
T_1	٦/٤١٦±۰/۰۱^{bcd}	٦/٥۲۸±۰/٥۷^{bc}	٦/۹۷٤±۰/۳^{ab}	٥/۸۸۱±۰/۲٦^{def}	T_1	٥/۷۲۹±۰/۱۹^{cde}	٥/۸۰۲±۰/۰۱^{bc}	٥/۷۷۸±۰/۰٤^{cd}	٥/٤۰٥±۰/۰۳^{cdef}
T_2	٦/٤١٦±۰/۰۱^{bcd}	٦/٤۷۱±۰/۱۲^{bc}	٦/٥۹٤±۰/۱٥^{abc}	٥/٦۹۱±۰/۱۱^{f}	T_2	٥/۷۲۹±۰/۱۹^{cde}	٥/٤۷۱±۰/۰۲^{cde}	٥/٥۸۲±۰/۱٥^{cde}	٥/۲۳۱±۰/٥٤^{ef}
T_3	٦/٤١٦±۰/۰۱^{bcd}	٦/٤۷۷±۰/۰۷^{bc}	٦/٥٦٤±۰/۰٥^{bc}	٥/۷۷۳±۰/۰۸^{ef}	T_3	٥/۷۲۹±۰/۱۹^{cde}	٥/۷۱٤±۰/۳٤^{cde}	٥/۸۳۱±۰/۰۲^{bc}	٥/۳۰٦±۰/۷^{cdef}
T_4	٦/٤١٦±۰/۰۱^{bcd}	٦/۳٤۱±۰/۲٦^{cd}	٦/۳۱٦±۰/۳٤^{cde}	٥/۱۲۷±۰/٦۱^{g}	T_4	٥/۷۲۹±۰/۱۹^{cde}	٥/٦۲۲±۰/۰۲^{cde}	٥/۲٤۹±۰/۲٥^{def}	٤/۸۸۷±۰/۰۸^{f}

*حروف کوچک نشاندهنده اختلاف معنی دار در هر ستون می باشند.

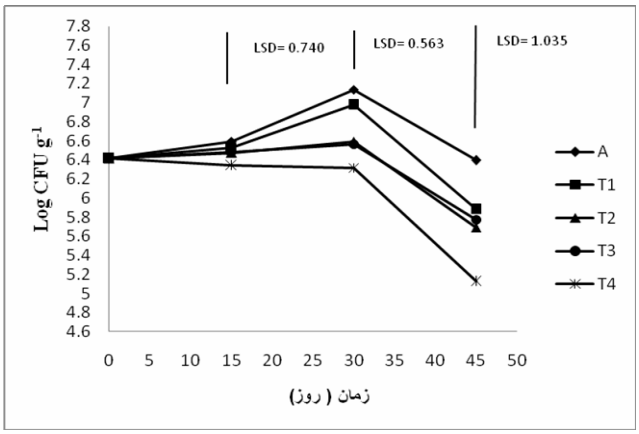
کامانزی و همکاران طی مطالعه‌ای اثر عصاره اتانولی برخی گونه‌های گیاهی را مورد بررسی قرار دادند[٤۳]. نتایج به دست آمده از ۱٤۸ نمونه، بیانگر فعالیت شدید بازدارندگی این عصاره‌ها علیه کوکسی‌های گرم مثبت (از جمله استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس فکالیس) بود.

حبیبی و همکاران ساختار "Labdane" دی‌ترپنوئید جدید (8 (17), 12E, 14-Labdatrien-6,19olide) ایزوله شده از اندام-های هوایی نوروزک را مشخص و فعالیت ضدمیکروبی این ترکیب را مورد مطالعه قرار داد. نتایج این مطالعه نشان داد ترکیب I نوروزک بر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس اثر بازدارندگی و عصاره متانولی برگ‌های آن خواص آنتی‌اکسیدانی دارند[٤٤]. مطالعات پیشین، اثر آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی برگ نوروزک را به بوتئین نسبت می‌دهند. بوتئین از خانواده کالکون‌ها است که نوعی ترکیبات فلاونوئیدی بوده و در تحقیقات متعدد، اثرات ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی آن‌ها به اثبات رسیده است[۲۷و ۳۳]. حداد خداپرست و همکاران آن را مهم‌ترین ترکیب آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره برگ نوروزک دانسته اند[۳۳،۳٤،٤٦و٤٥]. حسین‌زاده و همکاران (۲۰۰۹) سمیت و خواص درمانی و دارویی نوروزک را مورد بررسی قرار دادند. روغن موجود در برگ این گیاه حاوی ۳۱/٥ درصد بتاپینن، ۲٤/۷ درصد سینئول و ۱۷/٥ درصد آلفا پینن بود. علاوه بر این‌ها، در قسمت‌های مختلف گیاه بویژه ریشه و برگ ترکیباتی چون ساپونین‌ها و تانن‌ها و در عصاره الکلی آن مقادیر کمی آلکالوئید نیز یافت شده است[۲۷]. شلف درسال۱۹۸۳ نشان داد باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با گرم منفی‌ها عموما در برابر عصاره‌های گیاهی حساس‌تر بوده و از سوئی عصاره‌های فوق بیشتر از اثر بازدارندگی علیه باکتری‌ها، اثر کشندگی بر آن‌ها دارند[۱۷]. اوسالاه و همکاران در سال ۲۰۰۷ گزارش کردند استافیلوکوکوس اورئوس به دلیل دارا بودن دیواره سلولی یک‌لایه، در مقایسه با میکروارگانیسم‌هایی چون اشرشیاکلی و سالمونلا تیفی‌موریوم در مقابل ترکیبات مختلف بسیار حساس است[٤۷]. لامبرت و همکاران در ۲۰۰۱ با مشاهده حساسیت بالای استافیلوکوکوس اورئوس به روغن پونه کوهی، نتیجه مشابهی گزارش نمودند [٤۸]. از مطالعات پیشین انجام شده توسط مدرس روی خصوصیات ضدمیکروبی عصاره نوروزک در سوسپانسیون‌های میکروبی نیز نتایج مشابهی بدست آمده بود. در آنجا نیز بیشترین تأثیر عصاره مربوط به سطح ۲۰۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بوده و غلظت ٥۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اثر معنی‌داری از خود نشان نداده بود. به این ترتیب در مطالعه فوق بالاترین اثر بازدارندگی مربوط به غلظت ۲۰۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره و حساس‌ترین ارگانیسم به این روغن ضروری، استافیلوکوکوس اورئوس معرفی شد. در مرحله گلدهی نوروزک نیز توسط محققین دیگر نتایجی مشابه نتایج مطالعه مدرس به دست آمده است.

برخی محققین گزارش کرده‌اند با استفاده از این ترکیبات در مواد غذایی، بخشی از اثر ضدمیکروبی آن‌ها از دست می‌رود. این پدیده می‌تواند به دلایل مختلف اتفاق افتد. در این ارتباط محققان بسیاری بر این نظرند که محتوای بالای چربی در مواد غذایی اثر حفاظتی بر میکروارگانیسم‌ها دارد [۱۷،٤۹و٥۰]. آن‌ها هم‌چنین

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-05]

متذکر شدند کاهش فعالیت ضدمیکروبی ادویه‌ها و روغن‌ها در ترکیب ماده غذایی در نتیجه حل شدن عوامل ضدمیکروبی در فراکسیون چربی ماده غذایی است. برخی محققین گزارش کرده‌اند اثر ضدمیکروبی عصاره گیاهانی چون رزماری و پونه‌کوهی به ترتیب به دلیل حضور ترکیبات پلی‌فنولی و کارواکرول است که بر سیالیت غشاء مؤثرند. کارواکرول مهم‌ترین ماده مؤثره موجود در پونه کوهی ، طبیعتی آبگریز (هیدروفوب) داشته و سبب مرگ سلولی میکروارگانیسمی چون استافیلوکوکوس اورئوس می‌شود. در مطالعات دیگر روی عصاره کلم، اثرضدباکتریایی آن بر استافیلوکوکوس اورئوس به دلیل محتوای بالای اسید فنولیک آن گزارش و نتایج مشابهی به دست آمد [۵۱]. شکل ۲ اثر افزودن پودر عصاره بر شمارش کلی میکروارگانیسم‌های زنده را در تیمارهای مختلف نشان می‌دهد.



شکل ۲ نمودار تغییر شمارش کلی میکروب‌ها در تیمارهای مختلف طی ٤٥ روز نگهداری

همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می گردد، در این مورد نیز افزودن عصاره در غلظت‌های مختلف سبب کاهش تعداد شمارش کلی میکروب‌ها شده است. در اینجا برخلاف تعداد استافیلوکوکوس، بیشترین تأثیر مربوط به بعد از روز سی‌ام بوده و در روزهای پانزدهم و چهل و پنجم، تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نمی‌گردد($P<0.05$). در روز چهل و پنجم، اختلاف بین T_4 و تیمارهای دیگر معنی‌داربوده است ($P<0.05$). در مورد اثر عصاره بر کاهش بار میکروبی، مجدداً بیشترین و کمترین تأثیر به ترتیب مربوط به تیمارهای T_4 و T_1 می‌باشد. در این ارتباط تیمار T_1 روند مشابهی با شاهد داشته و تفاوت معنی-داری طی دوره چهل و پنج روزه نگهداری مشاهده نشد($P<0.05$). به این ترتیب نتیجه‌گیری می‌شود، این سطح از پودر عصاره تأثیر چندانی بر جلوگیری از افزایش تعداد کلی میکروب‌ها ندارد.

٤- نتیجه‌گیری

از مطالعات پیشین انجام گرفته توسط مدرس روی خواص ضدمیکروبی عصاره نوروزک در سوسپانسیون‌های میکروبی نیز نتایج مشابهی بدست آمده است. در مطالعات فوق نیز بیشترین تأثیر ضدمیکروبی عصاره مربوط به سطح ۲۰۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بوده و غلظت ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اثر معنی‌داری از خود نشان نداده بود. به همین ترتیب بین سطوح ۵۰۰۰ با ۱۰۰۰۰ و ۱۵۰۰۰ با ۲۰۰۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد[۳۳]. البته ذکر این نکته ضروری است که پیش‌بینی رفتار رشد استافیلوکوکوس اورئوس در فرآورده‌های غذایی مختلف از جمله همبرگر، به دلایل متعدد از جمله طبیعت گوشت و سایر افزودنی‌ها، میزان اکسیژن در دسترس (Eh)، فعالیت آبی (aw)، درجه حرارت، pH و به ویژه اثر متقابل سایر ارگانیسم‌ها (سینرژیسم و آنتاگونیسم) بسیار دشوار است.

با توجه به تأکید سازمان بهداشت جهانی (WHO) بر استفاده از مواد نگهدارنده طبیعی در مواد غذایی [٤] و نتایج حاصل از این پژوهش، می توان استفاده از پودر عصاره برگ نوروزک بعنوان یک افزودنی طبیعی با خاصیت ضد باکتریایی در مواد غذایی مورد بررسی بیشتری قرار داد که علاوه بر کاهش بار میکروبی، سبب افزایش پایداری اکسیداسیونی و نیز بهبود سایر ویژگی‌های تغذیه‌ای محصول می‌گردد. همچنین بایستی اثرات ضد میکروبی نوروزک بر سایر میکروبها (گرم منفی و کپک و مخمر)، همچنین ویژگیهای ارگانولپتیکی فرآورده های غذایی مورد تحقیق قرار گیرد.

۵- تشکر و قدردانی

نگارندگان بر خود لازم می‌دانند بدین وسیله از کمک‌های بی‌شائبه کارکنان محترم پژوهشکده اقبال مخصوصاً جناب آقای

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-05]

مهندس رضا کاراژیان جهت همکاری صمیمانه، کمال تشکر و قدردانی را داشته باشند.

٦- منابع

[1] Jime´nez-Colmenero, F., Carballo, S., & Cofrades. 2001. Review. Healthier meat and meat products: their role as functional foods. Meat Science, 59, 5-13.

[2] Shahrasebi, H., Naseri, A. 1985. Nutrition value and practical methods of chemical and hygienic control of some Iran meat products. Publication of ISBA of Iran.

[3] Reji,MW., E.D. Den Aantrekker . 2004. Recontamination as a source of pathogens in processed foods. Int. J Food Microbial. 91:1-11

[4] Rasooli, B. 1999. Study of antimicrobial activity of tyme, mint, sumac and wild pistachio by in vitro method. Msc Thesis of Urmia university.

[5] Hall, R.L. 1997. Food-borne illness: implications for the future. Emerging Infectious Diseases 3, 555–559.

[6] Essawi, T., Srour, M. 2000. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. Journal of Ethnopharmacology 70, 343–349.

[7] Mitscher L. A. et al. 1987. A modern look at folkloric use of anti-infective agents. J. Nat.Prod., 50, 1025

[8] Zaika, L.L., Kissenger, J.C. 1981. Inhibitory and stimulatory effects of oregano on Lactobacillus plantarum and Pediococcus cerevisiae. J. Food Sci. 46, 1205–1210.

[9] Aktug, S.E., Karapinar, M. 1986. Sensitivity of some common food-poisoning bacteria to thyme, mint and bay leaves. Int. J. Food Microbiol. 3, 349– 354

[10] El-Khateib, T., Abd El-Rahman, H. 1987. Effect of garlic andLactobacillus plantarum on growth of Salmonella typhemurium in Egyptian fresh sausage and beef burger. J. Food Prot.50,310–311.

[11] Deans, S.G., Svodoba, K.P. 1989. Antibacterial activity of summer savory (Satureja hortensis L.) essential oil and its constituents. J. Hortic. Sci. 64, 205–210.

[12] Farag, R.S., Daw, Z.Y., Hewedi, F.M., El-Baroty, G.S.A. 1989. Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils.J. Food Prot. 52, 665– 667

[13] Karapinar, M., 1990. Inhibitory effects of anethole and eugenol on the growth and toxin production of Aspergillus paraciticus. Int. J. Food Microbiol. 10, 193– 200.

[14] Aureli, P., Costantini, A., Zolea, S. 1992. Antimicrobial activity of some plant essential oils against Listeria monocytogenes.J. Food Prot. 55, 344– 348.

[15] Ting, W.T.E., Deibel, K.E. 1992. Sensitivity of Listeria monocytogenes to spices at two temperatures. J. Food Safety 12, 129– 137.

[16] Hefnawy, Y.A., Moustafa, S.I., Marth, E.H., 1993. Sensitivity of Listeria monocytogenes to selected spices. J. Food Prot. 56, 876–878.

[17] Pandit, V.A., Shelef, L.A. 1994. Sensitivity of Listeria monocytogenes to rosemary (Rosmarinus officinalis L.). Food Microbiol. 11, 57– 63.

[18] Holt, D.L., Almonte, N.G. 1995. Anti-mycotic activity of garlic extracts and extract fractions in vitro and in plant. J. Food Prot. 58, 322–325.

19] Sivropoulou, A., Papanikolaou, E., Nikolaou, C., Kokkini, C., Lanaras, T., Arsenakis, M. 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of Origanum essential oil. J. Agric. Food Chem. 44, 1202– 1205.

[20] Ceylan, E., Kang, D., Daniel, Y.C.F. 1998. Spices May Reduce Escherichia Coli O157:H7 in Meat http://genetics.miningco. com/library/blpressecoli.htm

[21] Hao, Y.Y., Brackett, R.E., Doyle, M.P. 1998. Inhibition of Listeria monocytogenes and Acromonas hydrophila by plant extracts in refrigerated cooked beef. J. Food Prot. 61, 307– 312.

[22] Arora, D.S., Kaur, J. 1999. Antimicrobial activity of spices. Int. J. Antimicrob. Agents 12, 257– 262

[23] Nasar-Abbas, S.M., Kadir Halkman, A. 2004. Antimicrobial effect of water extract of sumac (Rhus coriaria L.)on the growth of some food borne bacteria including pathogens. International Journal of Food Microbiology 97 ,63– 69

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-05]

[24] Soliman, K.M., Badeaa, R.I. 2002. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. Food Chemical Toxicology 40, 1669–1675

[25] Burt S. Essential oils. 2004. Their antimicrobial properties and potential applications of foods. A review international Journal of food microbiology. 94:223-253

[26] Rechinger KH. 1982. Flora Iranica, No. 150 Labiatae. Tab 582 (Tabulate). Graz-Austeria: Akademische Druk-U. Verlangsantlat.

[27] Hosseinzadeh, H., Sedeghnia, H. R. Imenshahidi, M., Fazly bazzaz, B.S. 2009. Review of the pharmacological and toxicological effects of saliva leriifolia. Iranian journal of basic medical sciences. 12:1-8

[28] Mehrabian,S., Mollabashi,z., Majd, A. 2004. study of antimicrobial effect of three spicies of laminacea mint against some pathogen and food poisoning bacteria. Science magazine. 8:1-11

[29]Tabatabaee yazdi,F. 2006. Study of antioxidan effect of *salvia lirifolia* extract and essential oil and it's photochemical ditection. MSC.Thesis. Biology department of ferdowsi university ofmashhad. Iran.:75-80.

[30] Ferna´ndez-Gine´ s, J. M., Ferna´ndez-Lo´ pez, J., Sayas-Barbera´, E., & Pe´ rez-Alvarez, J. A. 2005. Meat products as functional foods: a review. Journal of Food Science, 70,37–43.

[31] Vernozy –rozand, mazvey, C. 1996. Entrotoxin production by coagulase negative staphylococci isolated from goats, milk and cheese. International journal of food microbiology.30.271-280.

[32] Betley. M.j, T.O.Harris. 1994. Staphylococcal enterotoxins: genetic characterization and relationship between structure and emetic activity. Food microbiology .11.109-121.

[33] Modarres, M. 2008. Study of phenomenology and some physiological and biochemical properties of Salvia leriifolia. MSC thesis. Science faculty. Biology group, Ferdowsi University of Mashhad..

[34] Farhoosh, R., Purazrang, H., Khodaparast, M. H. H., Rahimizadeh, M. and Seyedi S. M .2004. Extraction and separation of Antioxidative Compounds from Salvia leriifolia Leaves.J.Agric. Sci. Technol. Vol. 6:57-62

[35] Omidbeigi, R. 2006. Production and processing of pharmaceutical plants. First volume.first edition. Fekre rooz publishing. Tehran. 64-106 , 191-200.

[36] Baghi, N., 1995-1996, Study of antimicrobial effect of salvia leriifolia. Phd thesis. Pharmacology faculty. Mashhad medical science university.

[37] Mahun, C.R. , Manuselis, G. 1995. Diagnostic Microbiology. W.B. Saunderes. Company, London. pp: 58-96.

[38] Baron EJ. et al., 1984. Ẓincer Microbiology´ 18th ed. A Publishing division of Prentice- Hall Inc. London,.PP:444-445. 453-456, 605-606, 1186-1187

[39] Daly.C. and sandine, W.F. 1973. Control of staphylococcus aureus in sausage by starter cultures and chemical acidulation. Journal of food science 38.426-430.

[40] Snyder, O.P., 1997. Antimicrobial Effect of Spices and Herbs. www.hi-tm.com/Documents/Spices.html.

[41] Douglas, L. A. 2004. Freezing: an underutilized food safety technology. International Journal of Food Microbiology. 90 , 127– 138

[42] J. Eoley and J. J. Sheuring .Microbial Destruction Rates in Soft-Serve Ice Cream during Freezing. Available on line at jds.fass.org/cgi/reprint/48/9/1191.pdf

[43] Kamanzi Atindehou, K ., Kone, M., Terreaux, C., Traore, D., Hostettmann, K., Dosso, M. 2002. Evaluation of the Antimicrobial Potential of Medicinal Plants from the Ivory Coast. Phytother. Res. 16: 497–502

[44] Habibi, Z : Eftekhar, F : Samiee, K : Rustaiyan, 2000. A Structure and antibacterial activity of new labdane diterpenoid from Salvia leriaefolia.

[45] Hadad khodaparast, M. H., Haghdoost, A., Golimovahhed, G. 2008. New source of butein in root of saliva leriifolia (Nowroozak). American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci., 3(1): in press.

[46] Sato M, Tsuchia H, Akagiri M, et al. 1997. Growth Inhibition of oral bacteria related to

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-05]

denture Stomatitis by anti-candidal chalcons. Aust Dent J; 42:343-6.

[47] 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.

[48] Lambert, R.J.W., Skandamis, P.N., Coote, P., Nychas, G.J.E. 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. Journal of Applied Microbiology 91, 453–462

[49] Ismaiel, A.A., and Pierson,M .D. 1990. Effect of sodium nitrite and origanum oil on growth and toxin production of clostridium botulinum in TYG broth ang ground pork. J.Food safety. 6: 129-139

[50] Isamel, A.A. and M.D. Pierson.1990. Inhibition of germination outgrowth andvegetative growth of *Clostridium baturinum* by spice oils. J. of Feed Protection 53(9): 755-758.

[51]Romano, S, C., Abadi, K., Repetto, V., Vojnov, A A., Moreno, S. 2009. Synergistic antioxidant and antibacterial activity of rosemary plus butylated derivatives. Food Chemistry. In press.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-05]

Antimicrobial effect of *Salvia leriifolia* leaf extract powder against the growth of *Staphylococcus aureus* in hamburger

Yousefli, M. [1], Hosseini, Z. [2], Haddad Khodaparast, M. H. [3*], Azarnivand, H. [4], Pezeshki, P. [2]

1- Msc student, Natural Resources Engineering Management Major desert regions, Tehran University
2-Msc students, Food Science & Technology Department, Ferdowsi University, Mashhad
3- Professor, Food Science & Technology Department, Ferdowsi University, Mashhad
4- Professor, Natural Resources Engineering Management Major desert regions, Tehran University

(Received:88/1/28 Accepted: 89/3/29)

In this research, antimicrobial activity of extract of *Salvia leriifolia* were investigated with different concentrations of the extract (5000, 10000, 15000 and 20000 mg/kg) on *Staphylococcus aureus* count and Total viable count in hamburger at different time intervals: after treatment (day 0) and after storage for 15, 30 and 45 day at -12°C, all microbiological analyses performed at 3 replication. The results showed that both of microbial total count and the number of *Staphylococcus aureus* in all samples with different concentrations of extract, decreased during storage. This decreasing effect was significant on day 15 and 30 for *Staphylococcus aureus* and total count, respectively. Our data also showed that the extract of *Salvia leriifolia* at highest concentration (20000 mg/kg) caused maximum reduction compared to other concentrations and extract at lowest concentration (5000 mg/kg) was less effective in initial Staphylococcus aureus population and microbial total count. These data indicate that *Salvia leriifolia* extract can exhibit antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*; so it can be considered as an alternative natural preservative in food products.

Keywords: *Salvia leriifolia* leaf, antimicrobial activity, *Staphylococcus aureus*, total viable count, natural preservative

* Corresponding author E-mail address: khodaparast@um.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-05]