Archive of SID

نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۱ شماره ۳/ سال ۱۳۹۰

ترکیب شیمیایی و اثرات ضد میکروبی اسانس‌های روغنی گیاهان موسیر (*Allium ascalonicum*) و بادیان رومی(*Pimpinella anisum*) علیه *لیستریا مونوسیتوژنز* در پنیر سفید آب نمکی

علی احسانی[۱*]، رزاق محمودی[۳]، پیمان زارع[۴] و عباس حسنی[۴]

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۱/۶ تاریخ پذیرش: ۹۰/۴/۱۸

۱- استادیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه
۲- استادیار گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز
۳- استادیار گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز
۴- استادیار گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه
*مسئول مکاتبه:Email:ehsaniali@yahoo.com

چکیده

با توجه به اثرات زیان آور نگهدارنده‌های شیمیایی و رواج ایده مصرف سبز، لزوم انجام پژوهش در خصوص اثرات ضد میکروبی نگهدارنده‌های طبیعی و اسانس‌های گیاهی بر رشد میکروارگانیسم‌های مهم مواد غذایی در مدل‌های آزمایشگاهی و غذایی افزایش یافته است. اهداف این مطالعه شامل استخراج و تعیین ترکیبات شیمیایی اسانس‌های موسیر و بادیان رومی و ارزیابی اثرات ضد میکروبی آنها علیه لیستریا مونوسیتوژنز در مراحل مختلف رسیدن پنیر سفید آب نمکی بود. نتایج نشان داد که تعداد ۱۵ ترکیب با میزان ۹۷/۲ درصد در اسانس بادیان رومی قابل شناسایی بود که *Longifolene* و *Benzene* بیشترین مقادیر را به خود اختصاص دادند، در مورد اسانس موسیر نیز تعداد ۱۵ ترکیب با مجموع ۹۶/۶۲ درصد وجود داشت که ترکیبات ارگانو سولفوره بالاترین میزان را تشکیل می دهند، نتایج بررسی اثرات ضد میکروبی نشان داد که اسانس موسیر از بالاترین توان ضد میکروبی علیه *لیستریا مونوسیتوژنز* برخوردار بود، میانگین شمارش آن در تیمارهای ۰/۱ درصد اسانس موسیر و ۰/۲ درصد اسانس بادیان رومی در انتهای دوره نگهداری پنیر به ترتیب ۳/۷۹ و ۴/۶۵ لگاریتم بود، که در مقایسه با سایر تیمار ها بیشترین کاهش را نشان دادند($P<۰/۰۵$). نتایج ارزیابی حسی پنیر نشان داد که تیمار ۰/۰۲۵ درصد اسانس موسیر از بالاترین قابلیت پذیرش حسی برخوردار بود($P<۰/۰۵$).

واژه‌های کلیدی: بادیان رومی، پنیر سفید آب نمکی، اسانس روغنی، *لیستریا مونوسیتوژنز*، موسیر

www.SID.ir

Archive of SID

Biochemical properties and antimicrobial effects of *Allium ascalonicum* and *Pimpinella anisum* essential oils against *Listeria monocytogenes* in white brined cheese

A Hsani[1], R Mahmoudi[2], P Zare[3] and A Hasany[4]

Received: January 26, 2011 Accepted: July 09, 2011

[1]Assistance Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Urmia, Iran
[2]Assistance Professor, Department of Food Hygiene and Aquatics, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[3]Assistance Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[4]Assistance Professor, Department of Horticulture, faculty of Agriculture, University of Urmia, Urmia, Iran
[*]Corresponding author: E mail: ehsaniali@yahoo.com

Abstract

Due to the side effects of chemical preservatives and as a support of the idea for consumption of green natural food, demand for studies on the antimicrobial properties of natural preservatives and essential oils on the important food borne pathogens *in vitro* and in food products has been increased. The goals of the present study included determination of biochemical properties and antimicrobial effects of *Allium ascalonicum* and *Pimpinella anisum* essential oils against *Listeria monocytogenes* in different steps of the ripening White Brined cheese. Results showed that 15 different substances made up 97.2% of its content for *Pimpinella anisum* essential oil; *Longifolene* and *Benzene* had the highest concentrations among these 15 substances; *Allium ascalonicum* essential oil contained 15 different substances made up 96.62% of its content; *organosulfur* substances had the highest concentrations among these 15 substances. The results of antimicrobial studies of these essential oils in the administered concentrations (*Allium ascalonicum*: 0, 0.025, 0.05, 0.1 % and *Pimpinella anisum*: 0, 0.05, 0.1, 0.2 %) during different steps of production and ripening of Feta cheese showed that *Allium ascalonicum* essential oils had the highest antimicrobial effects against *Listeria monocytogenes*. Treatments of 0.1% *Allium ascalonicum* and 0.2% *Pimpinella anisum* essential oils at the end of cheese ripening period showed the highest decrease in the mean bacterial colony counts (including 3.79 and 4.65 Log CFU/g, respectively) compared to other treatments ($P< 0.05$). The results demonstrated that 0.025% *Allium ascalonicum* essential oil maintained the highest acceptable range in cheese organoleptic assessment.

Keywoads: *Allium ascalonicum*, Essential oil, *Listeria monocytogenes*, *Pimpinella anisum*, White Brined cheese

مقدمه

اسانس‌های گیاهی، مایعات روغنی معطر هستند که از بخش‌های مختلف گیاهان بدست آمده و به عنوان طعم دهندهای غذایی مورد استفاده قرار می گیرند (بورت ۲۰۰۴). مطالعات مختلفی ویژگی های ضد میکروبی، ضد قارچی، ضد ویروسی، ضد انگلی و آنتی اکسیدانی اسانس‌های گیاهی را تایید نمودند و برخی نیز در محافظت مواد غذایی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (فرید و همکاران۲۰۰۷، کوردالی و همکاران ۲۰۰۵). در سال‌های اخیر تولید کنند گان مواد غذایی توجه زیادی به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی با منشا گیاهی و میکروبی به جای نگهدارنده‌های شیمیایی در محصولات

www.SID.ir

Archive of SID

خود نموده‌اند. این امر از یک سو به علت تمایل زیاد مصرف کنندگان به استفاده از مواد غذایی فرآوری شده بدون نگهدارنده یا حتی المقدور با نگهدارنده های طبیعی و از طرف دیگر توجه هر چه بیشتر متولیان بهداشتی به این موضوع می باشد (دلاکویس و همکاران۲۰۰۲، تاسو و نیچاس ۱۹۹۴، تاسو و همکاران ۱۹۹۵). بادیان رومی (*Pimpinella anisum L.*) گیاهی با برگ های سفید و دانه های کوچک سبز رنگ متمایل به زرد و از اعضای خانواده *Umbelliferae* می باشد. این گیاه در کشور هایی همچون عراق، ترکیه، ایران، هند، مصر و بسیاری از مناطق گرم دنیا رشد می نماید (پور غلامی و همکاران ۱۹۹۹). کشت این گیاه به جهت تولید دانه های معطر که استفاده بسیاری در پزشکی در زمینه درمان و بهبود اختلات گوارشی، سردرد و سرفه داشته، حائز اهمیت می باشد(فوجی ماتو وهمکاران ۲۰۰۳). علاوه بر این، اسانس برخی گونه های این گیاه جهت درمان بیماریهایی از قبیل تشنج و صرع نیز مورد استفاده قرار گرفته است (آل بیاتی ۲۰۰۸).

گیاه *Allium ascalonicum* بومی نواحی غرب آسیا است. عده‌ای موطن آن را کوهستان‌های فلسطین می‌دانند، موسیر از گیاهان بومی کشور ایران نیز می‌باشد. در جنس *Allium* بیش از ۵۰۰ گونه گیاهی شناسایی شده که فقط تعداد معدودی از آنها ارزش غذایی دارند. مهمترین گونه های موجود در این جنس شامل سیر، پیاز، پیازکوهی و تره فرنگی می باشند. از زمان های قدیم از این گیاهان به عنوان چاشنی غذا و دارو استفاده می کردند (فنویس و هان لیلی ۱۹۸۵، فنویس ۱۹۸۵). خصوصیات ضد میکروبی اسانس های گیاهی علیه طیف وسیعی از میکروارگانیسم ها (باکتری ها، مخمرها و قارچ ها) تایید شده است (اسمیت و همکاران ۲۰۰۱). تحقیقات متعددی در زمینه ویژگی های ضد میکروبی و نگهدارندگی اسانس های گیاهی از جمله اسانس های بدست آمده از گیاهان موسیر و بادیان رومی (*Pimpinella anisum L.* و *Allium ascalonicum*) صورت گرفته است(امین و همکاران ۲۰۰۹، آل بیاتی ۲۰۰۸، ایلهامی گولسین و همکاران ۲۰۰۳، راتاناچاکوسوپون و فومخاچورن ۲۰۰۹، ناجا و همکاران ۲۰۰۷). با وجود این اغلب این تحقیقات در شرایط آزمایشگاهی انجام گرفته است و اطلاعات کمی پیرامون اثرات آ نها به هنگام استفاده در مدل های غذایی آشکار شده است. در این تحقیق تاثیر اسانس های بادیان رومی و موسیر (*Pimpinella Anis* .*Allium Ascalinum* ,*um L*) در غلظت های مختلف بر روی رشد و بقا باکتری *L.monocytogenes* در پنیر سفید آب نمکی در طول نگهداری به مدت دو ماه ارزیابی گردید.

مواد و روش‌ها

تهیه اسانس وآنالیز آن: گیاهان موسیر (*Allium ascalonicum*) و بادیان رومی (*Pimpinella anisum*) پس از جمع آوری از اطراف ارومیه، توسط اساتید گیاه شناسی گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه از نظر صحت نام علمی تایید شدند. به منظور استخراج اسانس این گیاهان، بخش‌های خشک شده گیاه کاملاً آسیاب گردید و با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت روغن آن به روش تقطیر توسط آب، استخراج و با استفاده از سولفات سدیم خشک (شرکت مرک آلمان) آب گیری شد و تا تشخیص، تعیین ترکیب‌های تشکیل دهنده و همچنین تعیین خواص ضد باکتریایی آن، در ظروف شیشه‌ای تیره و در دمای یخچال نگهداری گردید. ابتدا نمونه‌های آماده شده به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق شد. مناسب ترین برنامه ریزی دمایی ستون برای جداسازی کامل ترکیب‌های اسانس‌ها بدست آمد. همچنین درصد ترکیب‌های تشکیل دهنده هر نمونه اسانس و شاخص بازداری هر ترکیب محاسبه گردید. در این مطالعه دستگاه کروماتوگرافی گازی-اسپکترومتری جرمی[1] از نوع Agilent 6890 با ستون مویینه به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلیمتر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS با برنامه دمایی ستون در

[1] -Gas Chromatography/ Mass Spectrophotometer (GC/MS)

www.SID.ir

Archive of SID

ابتدا بصورت ۵۰ درجه سانتیگراد با توقف ۵ دقیقه، سپس افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سانتیگراد با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، در ادامه افزایش دمای ستون تا ۳۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه استفاده شد. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتیگراد بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی لیتر در دقیقه استفاده گردید. طیف نگار جرمی مورد استفاده مدل Agilent 5973 با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و شناساگر EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتیگراد بود. شناسایی ترکیب های اسانس با استفاده از شاخص بازداری و بررسی طیف های جرمی هر یک از اجزای اسانس و مقایسه آنها با طیف های مرجع انجام شد.

آماده سازی ومحاسبه میزان تلقیح *باکتری لیستریا مونوسیتوژنز*

در مطالعه حاضر باکتری *لیستریا مونوسیتوزنز* ATCC ۱۹۱۱۸ از بخش بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شد. باکتری لیوفلیزه به محیط BHI Broth[1] (شرکت مرک آلمان) منتقل شد و مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه گردید. و برای حداقل دو مرتبه به طور متوالی تجدید کشت شد. برای محاسبه میزان باکتری لازم (CFU/ml 10^3) جهت تلقیح در شیر از دستگاه اسپکتروفتومتر (ساخت شرکت Pharmacia انگلستان) در طول موج ۶۰۰ نانومتر استفاده شد، باکتری به روش سطحی کشت و شمارش گردید(بستی و همکاران ۲۰۰۷).

آماده سازی آغازگر جهت تلقیح در شیر

در این مطالعه از آغازگر مزوفیل پنیر .Chr Hansen R 704 (شامل *لاکتوکوکوس لاکتیس* زیر گونه *کرموریس* و *لاکتوکوکوس لاکتیس* زیر گونه *دی استیلاکتیس* تهیه شده از شرکت کریستین هانسن دانمارک) استفاده شد.

تولید پنیر سفید آب نمکی

برای تهیه پنیر، شیر تازه گاو از گاوداری دانشگاه ارومیه (چربی ۲/۵، پروتئین ۳/۰۷، ماده جامد ۱۱/۱۲ ٪ و pH۶/۷۷) تهیه و در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ ثانیه پاستوریزه شد، قبل از شروع به انجام مراحل مختلف پنیرسازی، دمای شیر پاستوریزه به ۳۵ درجه سانتیگراد رسانده شد و در هریک از ظروف استریل مخصوص تهیه پنیر مقدار ۵ لیتر از شیر ریخته شد. سپس باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* با دوز مورد نظر (CFU/ml 10^3) به نمونه‌های شیر آماده تلقیح گردید. آغازگر به میزان ۰/۵ درصد (حجمی/ حجمی) به نمونه های شیر اضافه شد. پس از گذشت نیم ساعت مقدار ۰/۰۲ درصد (وزنی/ حجمی) کلرور کلسیم اضافه گردید. نهایتاً پس از آنکه pH شیر به ۵/۶ رسید، رنت میکروبی (تهیه شده از شرکت سانجیو میتو ژاپن) بمقدار ۰/۰۰۱ درصد (وزنی / حجمی) پس از حل نمودن آن در آب مقطر استریل به شیر افزوده شد و در همین زمان غلظت های مختلف اسانس بادیان رومی (صفر، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲درصد) و اسانس موسیر (صفر، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵ و ۰/۱درصد) اضافه گردید. به منظور کارایی بهتر رنت، دمای شیر در مدت زمان تشکیل لخته در حدود ۳۵ درجه سانتیگراد حفظ شد. پس از گذشت یک ساعت، لخته تشکیل شده به قطعات ۲-۱ سانتی‌مترمکعبی برش داده شده و آبگیری شد. سپس قطعات لخته آبگیری شده در آب نمک ۲۰ درصد (وزنی / حجمی) استریل بمدت ۸ ساعت قرارگرفت. بعد از آن، نمونه های پنیر ضمن انتقال به آب نمک ۸ درصد استریل، تا ۱۵ روز در دمای ۱۴-۱۲ درجه سانتیگراد و پس از طی دوره رسیدن اولیه جهت دوره رسیدن نهایی نمونه‌ها به مدت ۴۵ روز در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

روش شمارش میکروبی

نمونه برداری از پنیر در روزهای ۱، ۷، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ صورت گرفت. شمارش پرگنه‌های *لیستریا مونوسیتوژنز* با استفاده از محیط انتخابی لیستریا پالکام آگار و به روش کشت سطحی و گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد بمدت ۴۸ ساعت انجام شد (برگدول و ونگ ۲۰۰۶) اندازه گیری pH توسط

[1] Brain Heart Infusion Broth

www.SID.ir

Archive of SID

دستگاه pH متر دیجیتال (ساخت کارخانه Metrohm Herisua سوئیس) صورت گرفت.

ارزیابی حسی

ارزیابی حسی بوسیله یک پانل هفت نفره که عمدتاً از کارکنان و اعضای گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه بودند، صورت پذیرفت. برای ارزیابی ویژگی های حسی ناشی از افزودن اسانس های مورد مطالعه به پنیر از تست پذیرش حسی استفاده گردید. برای این منظور پنیر فاقد باکتری، آماده شده با غلظت های مختلف اسانس های مورد مطالعه به هفت قسمت (هر قسمت شامل ۵۰۰ گرم پنیر در ظروف سفید و تمیز) تقسیم گردید. اعضای پانل معیارهای خود (شامل طعم، بو و قوام) از ارزیابی حسی پنیر سفید حاوی غلظت های مختلف اسانس های موسیر و بادیان رومی را با استفاده از یک مقیاس حسی ۹ نمره ای[1] مشخص نمودند. در این مقیاس نمره ۹ خیلی عالی، نمره ۸ عالی، نمره ۷ خوب، نمره ۶ نسبتاً خوب، نمره ۵ نه خوب نه بد، نمره ۴ نسبتاً بد، نمره ۳ بد، نمره ۲ خیلی بد و نهایتاً نمره ۱ فوق العاده بد، لحاظ گردید (میلگارد و همکاران ۱۹۹۱).

روش آماری

برای هر تیمار، تولید پنیر جداگانه و در ۳ تکرار صورت پذیرفت، در ضمن برای تمامی تیمارها از یک نوع شیر استفاده گردید. اثر اسانس های مورد بررسی بر روی شمارش باکتری *لیستریا* توسط آنالیز واریانس (ANOVA) صورت گرفت . تفاوت در بررسی های ارگانولپتیک مورد نظر با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) و LSD[2] انجام شد، آزمایشات به صورت طرح فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. لازم به ذکر است تمام تحلیل های آماری با نرم افزار SPSS۱۷ مورد بررسی قرارگرفت. نتایج معنی دار در P<۰/۰۵ مد نظر قرار گرفت.

نتایج

نتایج آنالیز ترکیب اسانس های بادیان رومی و موسیر استفاده شده در این مطالعه با استفاده از GC/MS در جدول شماره ۱ و ۲ نشان داده شده است. *Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)* و *Longifolene*-(V4) به ترتیب با ۳۷/۸۹ و ۲۸/۸۸ درصد بالاترین ترکیبات موجود در اسانس بادیان رومی بودند. در اسانس موسیر نیز *Diallyl disulphide* و *Trisulfide, methyl 2-propenyl* و *Disulfide, methyl 1-propenyl* به ترتیب با ۲۰/۰۵، ۱۸/۶ و ۱۱/۲۰ درصد بیشترین ترکیبات را تشکیل می دهند. نتایج این مطالعه (جدول شماره ۳) نشان داد که اسانس های مورد بررسی در غلظت های بالای صفر تعداد باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* را نسبت به گروه شاهد به طور معنی داری کاهش داده اند($P<۰/۰۵$). شمارش باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* در روز های ۱۵ و ۳۰ تحت تاثیر غلظت های مختلف اسانس های موسیر و بادیان رومی نشان داد که میانگین شمارش کلنی های باکتری مورد مطالعه پس از این مدت در غلظت های ۰/۱ درصد اسانس موسیر و ۰/۲ درصد بادیان رومی نسبت به غلظت های دیگر این اسانس ها از بالاترین کاهش برخوردار است($P<۰/۰۵$). در انتهای دوره نگهداری پنیر، میزان کاهش *لیستریا مونوسیتوژنز* در تیمارهای ۰/۱ درصد اسانس موسیر و ۰/۲ درصد اسانس بادیان رومی به ترتیب ۲/۵۱ و ۱/۶۵ لگاریتم بیشتر از گروه کنترل بود. همچنین اسانس موسیر در مقایسه با اسانس بادیان رومی از خاصیت ضد میکروبی قوی تری علیه این با کتری برخوردار بود($P<۰/۰۵$). نتایج حاصل از بررسی تاثیر اسانس های مورد مطالعه بر خصوصیات ارگانولپتیکی پنیر در انتهای دوره رسیدن و نگهداری در جدول شماره ۵ نشان داده شده است. بر اساس نتایج به دست آمده تیمار ۰/۰۲۵ درصد اسانس موسیر بالاترین قابلیت پذیرش حسی را کسب کرد(P<۰/۰۵). جهت حصول اطمینان از عدم اثر ممانعت کنندگی اسانس ها ی مورد مطالعه بر رشد و فعالیت باکتری های آغازگر در تمامی مراحل نمونه برداری،

[1] 9-point hedonic scale
[2] least significant difference procedure

www.SID.ir

Archive of SID

اندازه‌گیری pH نیز انجام گرفت، نتایج حاصل از ارزیابی تغییرات pH پنیر در مراحل مختلف رسیدن و نگهداری پنیر سفید در جدول شماره۴ نشان داده شده است. پیش از تلقیح مقادیر میانگین pH در شیر پنیر برابر ۶/۶۹ بود. سپس این مقادیر در طول ایجاد لخته و آبگیری کاهش یافت. در طی دوره رسیدن، pH باز هم کاهش یافته و پس از حدود پانزده روز به حدود ۴/۹۰ در گروه کنترل رسید، بطور ملایم تا انتهای دوره نگهداری نیز کاهش نشان داد و به ۴/۶۵ در گروه کنترل رسید. در ضمن اسانس های مذکور در مقایسه با گروه کنترل در غلظتهای مختلف خود هیچ گونه اثر معنی داری بر تغییرات مقادیر pH پنیر نداشتند (P>۰/۰۵).

جدول شماره ۱- نتایج آنالیز اسانس بادیان رومی مورد بررسی با استفاده از GC/MS

ترکیب	شاخص بازداری	درصد
D-Limonene	۲/۱۳	۰/۷۵
Estragole	۲/۹۹	۱/۰۲
Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-	۴/۳۷	۳۷/۸۹
Cyclohexene, 4-ethenyl-4-methyl-3-(1-methylethenyl)-1-(1-methylethyl)-, (3R-trans)-	۴/۵۹	۱/۰۲
Azulene, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1R-(1à,3aá,4à,7á)]-	۵/۲۸	۰/۳۳
1,3,6,10-Dodecatetraene, 3,7,11-trimethyl-, (Z,E)-	۵/۸۲	۰/۶۱
1,6,10-Dodecatriene, 7,11-dimethyl-3-methylene-, (E)-	۵/۹۶	۰/۳۸
1H-Benzocycloheptene, 2,4aà,5,6,7,8,9,9aà-octahydro-3,5,5-trimethyl-9-methylene	۶/۱۷	۱/۰۳
Longifolene-(V4)	۶/۵۹	۲۸/۸۸
Cyclohexene, 1-methyl-4-(5-methyl-1-methylene-4-hexenyl)-, (S)-	۶/۷۳	۳/۳۵
Tricyclo[5.4.0.0(2,8)]undec-9-ene, 2,6,6,9-tetramethyl-	۶/۷۶	۱/۴۷
Cyclohexene, 3-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-6-methylene-, [S-(R,S*)]-*	۶/۹۰	۲/۳۰
Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-, (E)-	۹/۶۳	۱۱/۲۲
Butanoic acid, 2-methyl-, 4-methoxy-2-(3-methyloxiranyl)phenyl ester	۹/۹۹	۱/۹۵
1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester	۱۵/۱۳	۶/۷۰

www.SID.ir

Archive of SID

جدول شماره ۲- نتایج آنالیز اسانس موسیر مورد بررسی با استفاده از GC/MS

ترکیب	شاخص بازداری	درصد
Disulfide, methyl 1-propenyl	۱/۸۶	۱۱/۲۰
Dimethyl trisulfide	۲/۰۰	۷/۱۱
Diallyl disulphide	۲/۴۳	۲۰/۰۵
Trisulfide, methyl 2-propenyl	۲/۷۰	۱۸/۱۶
3-Vinyl-1,2-dithiacyclohex-4-ene	۳/۰۴	۱/۵۱
3-Vinyl-1,2-dithiacyclohex-5-ene	۲/۲۳	۱/۰۴
Trisulfide, di-2-propenyl	۴/۱۸	۱۵/۳۷
1-Propene, 3,3'-thiobis-	۴/۳۴	۰/۵۳
2-Chlorbenzothiazol	۵/۱۷	۱/۸۹
5-Methyl-1,2,3-thiadiazole	۵/۷۶	۰/۴۸
Tetrasulfide, di-2-propenyl	۷/۲۱	۱/۷۸
Pentanoic acid, 4-methyl-4-nitro-, methyl ester	۹/۱۷	۰/۶۹
Methoxyacetic acid, cyclopentyl ester	۹/۳۱	۰/۶۰
Disulfide, methyl 1-propenyl	۱/۸۶	۱۰/۲۰
Dimethyl trisulfide	۲/۰۰	۶/۰۱

جدول شماره ۳- میانگین لگاریتم شمارش باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* در مراحل مختلف رسیدن و نگهداری پنیر،

نمونه	٪ اسانس	روز ۱	روز ۷	روز ۱۵	روز ۳۰	روز ۴۵	روز ۶۰
A۱	۰/۰۵	۵/۰۷± ۰/۰۶^{a}	۹/۰۲± ۰/۰۶^{b}	۷/۸۷± ۰/۰۴^{c}	۸/۵۸± ۰/۰۱^{d}	۵/۸۴± ۰/۰۲^{a}	۶/۲۳± ۰/۰۱^{e}
A۲	۰/۱	۵/۱۷± ۰/۰۵^{a}	۸/۶۴± ۰/۱۲^{d}	۷/۵۳± ۰/۰۳^{c}	۷/۹۸± ۰/۰۵^{c}	۵/۸۲± ۰/۱۱^{a}	۶/۱۵± ۰/۰۲^{e}
A۳	۰/۲	۵/۱۳± ۰/۰۲^{a}	۷/۸۳± ۰/۰۹^{c}	۷/۷۴± ۰/۲۲^{c}	۶/۷۶± ۰/۰۹^{e}	۵/۵۲± ۰/۰۵^{a}	۴/۶۵± ۰/۰۳^{f}
B۱	۰/۰۲۵	۵/۰۴± ۰/۰۱^{a}	۷/۸۸± ۰/۰۴^{c}	۷/۹۷± ۰/۱۵^{c}	۷/۲۸± ۰/۰۵^{c}	۶/۳۰± ۰/۰۳^{e}	۶/۲۴± ۰/۰۴^{e}
B۲	۰/۰۵	۵/۱۵± ۰/۰۶^{a}	۷/۳۷± ۰/۱۵^{c}	۷/۱۵± ۰/۰۱^{c}	۷/۲۷± ۰/۰۷^{c}	۵/۲۹± ۰/۰۲^{a}	۵/۹۶± ۰/۰۶^{e}
B۳	۰/۱	۵/۰۴± ۰/۰۵^{a}	۶/۹۱± ۰/۰۱^{c}	۶/۷۴± ۰/۰۳^{e}	۵/۱۵± ۰/۰۲^{a}	۵/۲۲± ۰/۰۲^{a}	۳/۷۹± ۰/۰۱^{g}
C	۰	۵/۰۴±۰۰^{a}	۹/۰۶± ۰/۰۲^{b}	۹/۲۱± ۰/۰۷^{b}	۷/۹± ۰۰^{d}	۷/۸۶± ۰/۰۶^{d}	۶/۳۰± ۰/۰۲^{e}

(A: اسانس بادیان، B: اسانس موسیر C: کنترل)

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی دار (P<۰/۰۵) می باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول شماره ۴- تغییرات pH در پنیر

pH	ساعت صفر	روز۷	روز۱۵	روز۳۰	روز۴۵	روز۶۰
A۱	۶/۶۹±۰/۰۵^{a}	۵/۰۳±۰/۰۱^{b}	۴/۹۸±۰/۰۴^{b}	۴/۸۷±۰/۰۵^{b}	۴/۸۳±۰/۰۹^{b}	۴/۶۲±۰/۰۵^{b}
A۲	۶/۶۹±۰/۰۸^{a}	۵/۱۰±۰/۰۷^{b}	۴/۹۱±۰/۰۷^{b}	۴/۵۳±۰/۰۳^{b}	۴/۸۱±۰/۱۰^{b}	۴/۷۲±۰/۰۳^{b}
A۳	۶/۶۹±۰/۰۲^{a}	۵/۱۸±۰/۰۳^{b}	۴/۸۳±۰/۰۵^{b}	۴/۸۳±۰/۰۹^{b}	۴/۷۸±۰/۰۶^{b}	۴/۷۰±۰/۱۲^{b}
B۱	۶/۶۹±۰/۰۷^{a}	۵/۲۳±۰/۰۹^{b}	۴/۹۹±۰/۰۲^{b}	۴/۸۸±۰/۱۰^{b}	۴/۸۵±۰/۰۳^{b}	۴/۷۸±۰/۰۹^{b}
B۲	۶/۶۹±۰/۰۹^{a}	۵/۰۶±۰/۰۴^{b}	۴/۹۶±۰/۰۱^{b}	۴/۸۴±۰/۰۶^{b}	۴/۸۳±۰/۰۹^{b}	۴/۶۵±۰/۰۷^{b}
B۳	۶/۶۹±۰/۱۰^{a}	۵/۲۵±۰/۰۳^{b}	۴/۹۲±۰/۰۶^{b}	۴/۸۰±۰/۰۳^{b}	۴/۸۰±۰/۱۱^{b}	۴/۷۴±۰/۰۲^{b}
C	۶/۶۹±۰/۰۳^{a}	۵/۲۰±۰/۰۸^{b}	۴/۹۰±۰/۰۲^{b}	۴/۸۶±۰/۰۰^{b}	۴/۸۴±۰/۰۷^{b}	۴/۶۵±۰/۰۸^{b}

A: اسانس بادیان رومی، B : اسانس موسیر، C : کنترل

حروف غیر مشابه نشانه وجود اختلاف معنی دار ($P<۰/۰۵$) می باشد.

جدول شماره ۵ – میزان میانگین پذیرش حسی پنیر حاوی غلظت‌های مختلف اسانس های بادیان رومی(A)، موسیر(B) و کنترل(C)

تیمارها	EO %	Mean rating ±SD
A۱	۰/۰۵	۶ .۶۷± .۰۰^{a}
A۲	۰/۱	۵,۷۲± ۰۱۴ ^{b}
A۳	۰/۲	۴,۲۸±.۲۱^{c}
A۴	۰/۳	۳,۲۵± .۴۲ ^{d}
B۱	۰/۲۵	۷,۵۵± .۱۱^{e}
B۲	۰/۰۵	۷,۰۹ ± .۲۵^{e}
B۳	۰/۱	۵,۰۲ ±.۳۲^{b}
B۴	۰/۲	۳,۴۰ ± .۴۲^{d}
C	۰	۸,۳۳ ± .۲۸^{f}

حروف غیر مشابه در یک ستون نشانه وجود اختلاف معنی دار ($P<۰/۰۵$) می باشد.

بحث

پائین بودن دوز عفونت زایی بسیاری از پاتوژن های غذا زاد، سبب افزایش علاقه شدید محققین به تحقیقات گسترده در زمینه دست یابی به ترکیبات دارویی جدید با توان باکتری کشی بالا گردیده است؛ در جهت نیل به این هدف استفاده از ترکیبات روغنی حاصل از گیاهان و ادویه جات جهت تامین سلامت و بهداشت غذا بسیار حائز اهمیت می باشد (گیل و هولی ۲۰۰۶). مکانیسم عملکردی اسانس ها در ارتباط با ترکیب شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی آنها می باشد، در مطالعه حاضر با توجه به نتایج بدست آمده در بخش شناسایی و تعیین ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس بادیان رومی با استفاده از GC/MS (جدول شماره۱) مشتقات بنزنی با میزان ۴۵/۶۲٪ بیشترین اجزاء موجود در اسانس را به خود اختصاص دادند، بر اساس یافته های بسیاری از محققین، ترکیباتی همچون مشتقات بنزنی و آنتول در اسانس گونه های مختلف گیاه بادیان رومی از نقش اساسی در زمینه فعالیت ضد میکروبی برخوردار

www.SID.ir

Archive of SID

می باشند (تپه و همکاران ۲۰۰۶، پارک و همکاران ۲۰۰۴، فوجیماتو و همکاران ۲۰۰۳). در مطالعه انجام شده در زمینه ارزیابی خصوصیات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی اسانس بادیان رومی، مشتقات بنزنی با میزان ۹۷/۶٪ عمده ترین ترکیب موجود در اسانس را تشکیل می دادند(تپه و همکاران ۲۰۰۶). نتایج بدست آمده در این مطالعه نیز با توجه به ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس بادیان رومی و کاهش معنی دار شمارش *لیستریا مونوسیتوژنز* در بالاترین غلظت مورد استفاده اسانس (۰/۲٪) در مقایسه با گروه کنترل که در انتهای دوره نگهداری پنیر ۱/۵۸ لگاریتم بیشتر بوده، حاکی از فعالیت ضد میکروبی این اسانس می باشد که با مطالعات انجام شده در این زمینه کاملاً مشابه می باشد. در ارتباط با فعالیت ضد میکروبی اسانس های گیاهی در تمامی موارد از مکانیسم مشابهی برخوردار نبوده با این وجود در اغلب موارد تاثیر اسانس های گیاهی بر ساختار دیواره سلولی تایید شده است، ویژگی آبگریزی اسانس ها سبب نفوذ آنها در لیپید غشاء سلولی و افزایش نفوذ پذیری آن می گردد، که این امر سبب اختلال در کلیه فعالیت های حیاتی وابسته به غشاء سلولی، خروج یون ها، ترکیبات حیاتی و در نهایت مرگ سلول خواهد شد (بورت ۲۰۰۴، پالمر و همکاران ۲۰۰۱). اثرات سمی روی ساختار و عملکرد غشاء به طور کلی توجیح کننده عملکرد ضد میکروبی اسانس های گیاهی و ترکیبات مونوترپنید های آنها می باشد. در حقیقت مکانیسم عملکرد اسانس های گیاهی شامل، تخریب دیواره سلولی، صدمه به غشاء سیتوپلاسمی و انعقاد سیتوپلاسم، نشت محتویات سلولی و کاهش شدید ATP داخل سلولی (به علت کاهش سنتز و افزایش هیدرولیز) می باشد (بورت ۲۰۰۴). مکانیسم عملکرد ضد باکتریایی اسانس بادیان رومی مورد استفاده در این مطالعه بر *لیستریا مونوسیتوژنز* نیز می تواند ترکیبی از مکانیسم‌های ذکر شده فوق باشد.

فعالیت ضد میکروبی گیاهان سیر، پیاز و موسیر توسط دیدری وهمکاران (۱۹۸۷) مطالعه شد که در این زمینه اثرات ضد میکروبی عصاره سیر در مقایسه با بقیه بیشتر بود. در مطالعه صورت گرفته توسط ین وهمکاران(۲۰۰۳) اثرات ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی عصاره آبی و روغنی موسیر بررسی گردید. روغن موسیر در غلظت های ۵ و ۱۰ میلی مول دارای خاصیت آنتی اکسیدانی فوق العاده بوده است و نیز این عصاره مانع رشد هر ۴ گونه باکتریایی مهم منتقله از غذا شامل *لیستریا مونوسیتوژنز*، *استافیلوکوکوس اوروئوس*، *سالمونلا* و *اشرشیا کلی* گردید. بر اساس مطالعات صورت گرفته اثرات ضد میکروبی و سلامتی حاصل از گیاهان گونه های *Allium* را ناشی از چهار ترکیب دی آلیل سولفید شامل دی آلیل مونوسولفید، دی آلیل دی سولفید، دی الیل تری سولفید و دی الیل تتراسولفید ذکر می نمایند (کیم و همکاران ۲۰۰۴، بلوک وهمکاران ۱۹۹۲). در تحقیق انجام شده توسط امین و همکاران (۲۰۰۵) تاثیرات ضد باکتریایی و ضد قارچی عصاره موسیر، سیر و پیاز بر روی گونه های قارچی و باکتریایی مورد ارزیابی قرار گرفت، این مطالعه نشان داد که گونه های قارچی در مقایسه با باکتریایی نسبت به عصاره موسیر حساسیت بیشتری دارند. در مطالعه صورت گرفته توسط رهبر و همکاران (۱۳۸۳) اثرات ضد میکروبی عصاره تام موسیر علیه باسیل های گرم منفی شامل *اشرشیاکلی*، *کلبسیلا پنومونیه* و *پروتئوس میرابیلیس* و باکتری گرم مثبت شامل گونه های *اورئوس* و *اپیدرمیس استافیلوکوکوس* گزارش شده است. تیوسولفینات ها ترکیبات عمده فرار موجود در جنس *Allium* بوده که به علت ناپایداری سریعاً تغییر ساختار داده و ترکیبات ارگانوسولفوره را ایجاد می نمایند (ناجا و همکاران ۲۰۰۷). بر اساس یافته های مطالعه ما در بخش شمارش میکروبی و با توجه به کاهش معنی دار *لیستریا مونوسیتوژنز* تحت تاثیر غلظت های مختلف اسانس موسیر در مقایسه با گروه کنترل ($P<0/05$)، حضور ترکیباتی با فعالیت ضد باکتریایی مطلوب در اسانس کاملاً واضح می باشد. بر اساس مطالعات بسیاری از محققین، گونه های جنس *Allium* دارای ترکیبات ضد میکروبی شامل آلیسین، آجون و ارگانوسولفید ها می باشند (هاریس و همکاران ۲۰۰۱، فوستر و تیلر ۱۹۹۹). در مطالعه حاضر نیز ترکیبات

www.SID.ir

Archive of SID

ارگانوسولفیدی با میزان ۸۹/۸۸٪ ، عمده ترین اجزاء اسانس را تشکیل دادند. سلول های میکروبی به علت فقدان وجود مقادیر کافی تیول داخل سلولی جهت خنثی سازی یا متعادل نمودن اکسیداسیون تیول ایجاد شده با واسطه آلیسین و مشتقات ارگانوسولفورها در مقایسه با سلول های انسانی بیشتر تحت تاثیر فعالیت ممانعت کنندگی اسانس موسیر قرار می گیرند (هاریس و همکاران ۲۰۰۱). به علاوه مشخص شده که عصاره حاصل از جنس *Allium* سبب کاهش دریافت اکسیژن، ممانعت از سنتز لیپیدها، پروتئین ها و اسید نوکلئیک، کاهش رشد و نهایتاً آسیب به دیواره سلولی می گردد (هان ۱۹۹۶)، بنابراین حضور مقادیر قابل توجه ترکیبات ارگانوسولفوره و سایر ترکیبات ذکر شده با مکانیسم های فوق به ویژه تاثیر بر غشاء سلولی و مختل نمودن فعالیت آن و نیز ایجاد اختلال در فعالیت های متابولیسمی نشان از توان بالای فعالیت ضد میکروبی اسانس موسیر در مقایسه با اسانس بادیان رومی علیه *لیستریامونوسیتوژنز* در مراحل مختلف رسیدن پنیر دارد($P<۰/۰۵$). نتایج حاصل از ارزیابی تغییرات pH پنیر در مراحل مختلف تهیه و نگهداری آن در مطالعه حاضر نشان دهنده فقدان تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس های موسیر و بادیان رومی بر رشد و فعالیت باکتری‌های آغازگر مولد اسید لاکتیک، در کنار اثر مهارکنندگی آنها بر باکتری پاتوژن *لیستریا مونوسیتوژنز* بوده است.

در مطالعه انجام شده توسط زایکا و همکاران (۱۹۸۳) نیز هیچ گونه اثر مهاری در غلظت‌های مختلف اسانس پونه کوهی (۲۰۰ ppm-۴۰) بر باکتری‌های مولد اسید لاکتیک نظیر *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *پدیکوکوس اسیدولاکتیس* در محیط کشت مایع مشاهده نشده است. نتایج مشابهی نیز در مطالعه صورت گرفته توسط صبری و نیازمند (۲۰۰۹) بر روی تاثیر اسانس های نعناع و کاکوتی بر فعالیت *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در ماست مشاهده شده است. این افراد نشان داند که با وجود کاهش شمارش باکتری های استارتر در هفته اول ذخیره سازی ماست، هیچ گونه اختلاف آماری معنی داری بر روی ماندگاری و شمارش *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در نمونه‌های کنترل و تیمارهای دارای غلظت های مختلف این اسانس ها وجود نداشت.

در بررسی حاضر مشخص گردید غلظت های مختلف اسانس های مذکور و نیز مدت زمان نگهداری بر رشد و بقا باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* تاثیر آماری معنی داری دارند. همچنین با افزایش غلظت اسانس میزان کاهش باکتری نیز افزایش یافت، به گونه ای که در انتهای دوره نگهداری غلظت های بالاتر اسانس هر دو گیاه در مقایسه با گروه کنترل و تیمارهای با غلظت های پائین تر از نظر ممانعت از رشد و کاهش بقاء باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* موثرتر بودند ($P<۰/۰۵$). بنابراین می توان نتیجه گیری کرد که اسانس گیاهان موسیر و بادیان رومی می توانند به عنوان نگهدارنده های طبیعی، طعم دهنده و ضد باکتری مناسب در کنار سایر روش های محافظتی طبیعی علیه برخی از باکتری های گرم مثبت و گرم منفی در بسیاری از محصولات غذایی از جمله پنیر در جهت کاهش یا جایگزینی نگهدارنده‌های شیمیایی و سنتتیک مورد توجه قرار گیرند.

منابع مورد استفاده

Al-Bayati FA, 2008. Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. Journal of Ethnopharmacology, 116: 403–406.

Amin M and Kapadnis BP, 2005. Heat stable antimicrobial activity of Allium Asacalicum against bacteria and fungi. Indian Journal of Experimental Biology, 43: 751-754.

Basti AA, Misaghi A and Khaschabi D, 2007. Growth response and modelling of the effects of Zataria multiflora Boiss. essential oil, pH and temperature on *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. Food Science and Technology, 40: 973-981.

www.SID.ir

Archive of SID

Bergdoll MS and Wong AC, 2006. Foodborne infections and intoxications. Third edition, Elsevier, pp. 544-545.

Block E, Naganathan S, Putman D and Zhao SH, 1992. Allium chemistry: HPLC analysis of thiosulfinates from onion, garlic, wild garlic, leek, scallion, shallot, elephant garlic, chive and Chinese chive. Uniquely high allyl metyyl ratios in some garlic samples. Journal of Food Chemistry, 40: 2418-2430.

Burt S, 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. International Journal of Food Microbiology, 94: 223–253.

Delaquis PJ, Stanich K, Girad B and Mazza G, 2002. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalylptus essential oils. International Journal of Food Microbiology, 74: 101-109.

Didry N, Pinkas M and Dubreuil L, 1987. Antibacterial activity of species of the genuse Allium. Pharmazien. 42: 687-688.

Faid M, Bakhy K, Anchad M, Tantaoui-Elaraki A and Alomondpaste M, 1995. Physicochemical and microbiological characterizations and preservation with sorbic acid and cinnamon. Journal of Food Products, 58: 547–550.

Falahati M, Omidi Tabrizi N and Jahanian F, 2005. Antidermatophyte activity of eucalyptus camadulensis in comparison with Griseofulvin. Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics, 4: 80-83.

Fenwic GR, 1985. The genus Allium –Part 3. Critical Review of Food Science and Nutrition, 23: 1-7.

Fenwic GR and Hanlely A, 1985. The genus Allium –Part Crit. Rev. Food Science Nutrition, 23: 1-73.

Foster S, Tyler VE, 1999. *A sensible guide to the use of herbs and related remedies*. 4th ed. The Haworth Herbal Press. New York, pp. 98-102.

Fujimatu E, Ishikawa T and Kitajima J, 2003. Aromatic compound glucosides, alkyl glucoside and glucide from the fruit of anise. Phytochemistry, 63: 609–616.

Gill AO, Holley RA, 2006. Disruption of *E. coli*, *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus sakei* cellular membranes by plant oil aromatics. International Journal of Food Microbiology, 108: 1-9.

Gulcin I, Oktay M, Kırec E and Kufrevıoglu I, 2003. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum L*.) seed extracts. Food Chemistry, 83: 371–382.

Hann G, 1996. *History, folk medicine and legendary uses of garlic*. 2nd ed. Williamsand Wilkins press. Baltimore, pp. 64-75.

Harris JC, Cottrell SL, Plunmer S, Lloyd, D, 2001. Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). Applied Microbiology Biotechnology, 57: 282-86.

Kim JW, Huh JE, Kyung SH and Kyung KH, 2004. Antimicrobial activity of alk(en)yl sulfides found in essential oils of garlic and onion. Food Science Biotechnology, 13: 235-239.

Meilgaard MC, Civille GV and Carr BT, 1991. Sensory evaluation techniques. 2nd edition. Crc prees, Inc. bocaration, florida. pp: 345-386.

Najja, H, Neffati M, Zouari S and Ammar E, 2007. Essential oil composition and antibacterial activity of different extracts of *Allium roseum L*., a North African endemic species. Comptes Rendus Chimie, 10: 820-826.

Palmer AS, Steward J, Fyfe L. 2001. The potential application of plant essential oils as natural preservatives in soft cheese. Food Microbiology, 18: 463-470.

Park JS, Baek HH, Bai DH, Oh TK and Lee, CH, 2004. Antibacterial activity of *Fennel* (*Foeniculum vulgare Mill*.) seed essential oil against the growth of *Streptococcus* mutants. Food Science and Biotechnology, 13, 581–58.

Pourgholami MH, Majzoob S, Javadi M, Kamalinejad M, Fanaee GHR and Sayyah M, 1999. The seeds essential oil of *Pimpinella anisum* exerts anticonvulsant effects in mice. Journal of Ethnopharmacology, 66: 211–215.

Rahbar M, Hoseiny Tagavi, SA, Diba K and Heydari A, 2004. Study on antibacterial effects of *Allium* Extract. Journal of Medicinal Plants, 13:19-25.

www.SID.ir

Archive of SID

Rattanachaikunsopon P and Phumkhachorn P, 2009. Shallot (*Allium ascalonicum L.*) oil: Diallyl sulfide content and antimicrobial activity against food-borne pathogenic bacteria. African Journal of Microbiology Research, 3: 747-750.

Sarabi-Jamab M and Niazmand R, 2009. Effect of Essential Oil of *Mentha piperita* and *Ziziphora clinopodioides* on *Lactobacillus acidophilus* Activity as Bioyogurt Starter Culture. American-Eurasian Journal Agriculture and Environment Science, 6: 129-131.

Smith p, Stewart J and Fyfe L, 2001. The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. Food Microbiology, 18: 463-470.

Tassou C, Koutsoumani, K and Nychas G-JE. 2000. Inhibition of *Salmonella entritidis* and *Staphylococcus aureus* in nutrient broth by mint essential oil. Food Research International, 33: 273-80.

Tassou, C and Nychas G-JE. 1995. Antimicrobial activity of essential oil of mastic gum (Pistacia lentiscus var. chia) on gram positive and gram negative bacteria in brith and in model food system. International Biodeterioration and Biodegradation, 12: 411-420.

Tepe B, Askin Akpulat H, Sokmen M, Daferera D, Yumrutas O, Aydin E, et al., 2006. Screening of the antioxidative and antimicrobial properties of the essential oils of *Pimpinella anisetum* and *Pimpinella flabellifolia* from Turkey. Food Chemistry, 97: 719–724.

Yin MC and Chang HH, 2003. In vitro antioxidant and antibacterial activity of shallot and Scallion. Journal of Food Science, 68: 178- 182.

Zaika LL, Kissinger JC and Wasserman AE, . 1983. Inhibition of Lactic Acid Bacteria by Herb. Journal of Food Science, 48: 1445-9.

www.SID.ir