# ارائه مدل ریاضی پیشگو برای ارزیابی اثر زیره سبز و دمای نگه‌داری بر رشد باکتری باسیلوس سرئوس در محیط BHI

**زهره مشاک**

گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.

**نویسنده مسئول:** *mashak@kiau.ac.ir*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۲۰

**چکیده**

باسیلوس سرئوس یک باکتری بیماری‌زای غذازاد است که مسبب حدود ۲۰ درصد موارد شیوع مسمومیت‌های غذایی در جهان می‌باشد. امروزه توجه و علاقه فزاینده‌ای به استفاده از اسانس‌های گیاهی به عنوان نگه‌دارنده‌های طبیعی در غذا وجود دارد. زیره سبز گیاه بومی ایران است که در طب سنتی و فراورده‌های غذایی استفاده می‌شود. هدف از این تحقیق ارائه یک مدل ریاضی پیشگو برای ارزیابی اثر ضدمیکروبی اسانس زیره سبز به عنوان یک نگه‌دارنده غذایی طبیعی علیه باکتری باسیلوس سرئوس در یک مدل چند فاکتوری است. اسانس گیاه زیره سبز به وسیله روش تقطیر با بخار آب استخراج شد و به کمک دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌نگار جرمی مورد تحلیل قرار گرفت. سپس تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس زیره سبز (۰، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵، ۰/۰۳ و ۰/۰۴۵ درصد) و دمای نگه‌داری (۱۰ و ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد) بر باکتری باسیلوس سرئوس در محیط براث BHI طی زمان‌های معینی از آزمایش (روزهای ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸، ۲۱، ۲۴، ۲۷، ۳۰، ۳۶ و ۴۲) مورد بررسی قرار گرفت. رشد باکتری باسیلوس سرئوس با کاربرد غلظت ۰/۰۱۵ درصد اسانس زیره سبز در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد و همچنین غلظت ۰/۰۳۰ درصد اسانس در دمای ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد ($P<0/05$). مدل ریاضی پیشگوی به دست آمده در این مطالعه می‌تواند ابزار مفیدی جهت ارزیابی تغییرات این میکروارگانیسم طی زنجیره غذایی باشد.

**واژگان کلیدی:** مدل ریاضی پیشگو، اسانس زیره سبز، باسیلوس سرئوس، لگاریتم درصد احتمال رشد.

## مقدمه

باسیلوس سرئوس باکتری اسپوردار بیماریزای غذازادی می‌باشد که اغلب در فرآورده‌های غذایی نظیر گوشت، سبزیجات، برنج، سوپ، شیر و فرآورده‌های لبنی، تحت شرایط مناسب می‌تواند رشد و تولید توکسین نماید. علائم بالینی مسمومیت حاصله به دو فرم استفراغی و اسهالی ایجاد می‌شود. حدود ۲۰ درصد موارد شیوع مسمومیت‌های غذایی در جهان به دلیل باسیلوس سرئوس می‌باشد. بر طبق گزارشات علمی مختلف تعداد $10^5$ الی $10^8$ از این باکتری قادر به ایجاد بیماری در انسان می‌باشد (Kramer et al., 1989).

در سالیان اخیر با توجه به اثرات مضر نگهدارنده‌های غذایی شیمیایی و سنتتیک، مصرف کنندگان و تولید کنندگان مواد غذایی، خواهان استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی هستند که علاوه بر افزایش زمان ماندگاری غذا (به واسطه خواص ضدمیکروبی آن) از اثرات مضر نگهدارندهای شیمیایی در امان

باشند. یکی از مهم‌ترین مواد نگهدارنده، اسانس‌های گیاهی هستند که در سالیان اخیر مورد توجه محققان بهداشت مواد غذایی قرار گرفته و مطالعات زیادی روی اثرات ضدمیکروبی و نگه‌دارندگی آن‌ها صورت پذیرفته است (Jay, 1996). زیره سبز گیاهی از خانواده چتریان (Apiaceae) است که با خاصیت ضدمیکروبی خود به عنوان یک ادویه سالم در غذای انسان مصرف می‌شود. محل اصلی رویش زیره سبز در منطقه وسیعی از مدیترانه، عربستان و ایران بوده و زمان مناسب جهت جمع‌آوری آن اواخر تابستان است. اسانس زیره دارای ترکیبات مختلفی همچون فلاونوئیدها می‌باشد. در مطالعات مختلف، خاصیت ضدمیکروبی این اسانس از طریق ایجاد سوراخ در غشای سلول در باکتری‌های گرم مثبت و تخریب غشاء خارجی در باکتری گرم منفی گزارش شده است (Burt, 2004; Derakhshan et al., 2008).

اثرات ناخواسته احتمالی که اسانس‌ها در مقادیر زیاد بر طعم، مزه، بو و رنگ غذا می‌گذارند، استفاده از آن‌ها را به تنهایی به عنوان یک نگه‌دارنده غذایی محدود می‌سازد. کاربرد تکنولوژی مانعی (Hurdle Technology) در بهداشت مواد غذایی، به صورت بررسی اثر اسانس‌های گیاهی در غلظت‌های مختلف و توام با سایر مواد نگهدارنده، ابتدا در مدل‌های آزمایشگاهی و سپس در مدل‌های غذایی، می‌تواند به صورت مدل‌های پیشگویی کننده علیه باکتری‌های پاتوژن غذازاد مورد استفاده قرار می‌گیرد (Listner and Gorris, 1995). به عبارت دیگر به کمک مفاهیم ریاضی مانند ثابت‌ها، متغیرها، توابع، معادلات و نظایر آن‌ها مسائل به گونه‌ای بازسازی شده که بتواند راه حلی برای آن ارائه کند. بدین ترتیب با استفاده از داده‌های مربوط به پاسخ‌های میکروارگانیسم‌ها به شرایط محیطی، ارزیابی صحیحی از عوامل دخیل در فراوری، نگهداری و تولید بر روی کیفیت و سلامت میکروبیولوژیکی مواد غذایی ارائه می‌شود (شهنیا و همکاران، ۱۳۹۱؛ Alghooneh et al., 2015; Tijskens et al., 2003).

لذا در این تحقیق تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس زیره سبز همراه با سایر عوامل مهار کننده رشد باکتریایی نظیر درجه حرارت و زمان نگه‌داری بر روی لگاریتم درصد احتمال رشد باکتری باسیلوس سرئوس، در محیط براث BHI مورد بررسی قرار گرفت. با کمک نرم‌افزار آماری مدل ریاضی مناسبی جهت پیشگویی رفتار باکتری تحت تاثیر شرایط فوق محاسبه شد و سپس کارآیی مدل مورد ارزیابی قرار گرفت (Razavilar and Genigeorgis, 1998).

## مواد و روش کار

الف) تهیه زیره سبز واستخراج اسانس و تحلیل اجزای آن

زیره سبز در فصل تابستان ۱۳۹۴ از استان کرمان جمع‌آوری شده و نام علمی گیاه توسط پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی تایید شد.اسانس از دانه‌های گیاه به روش تقطیر با بخار آب (Steam distllation) به مدت ۲ ساعت با استفاده از دستگاه کلونجر تهیه شد. برای بررسی ترکیبات سازنده اسانس، آنالیز به وسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی (Thermo Quest، انگلستان) انجام گردید. دستگاه کروماتوگراف مجهز به ستون موبینه DB5 (ابعاد ۳۰ ×۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر) بوده و تحت برنامه دمایی زیر آنالیز اسانس انجام شد: دمای آغازین ۵۰ درجه سانتی‌گراد، با افزایش تدریجی ۲/۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه تا دمای پایانی ۲۶۵ درجه سانتی‌گراد و دمای انژکتور ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد. گاز حامل هلیم و نسبت جداسازی برابر با ۱۲۰ بود.

همچنین تحلیل اسانس به وسیله کروماتوگرافی گازی متصل به اسپکتروفوتومتر جرمی (Thermo Quest/ Finnigan، انگلستان) با ستون موبینه مشابه و تحت برنامه دمایی مذکور

انجام شد. اسپکتروفوتومتری جرمی در حالت یونیزاسیون الکترونی با استفاده از انرژی یونیزان ۷۰eV انجام شد.

سپس شاخص بازدارندگی (Covats index) برای هر یک از مواد جدا شده بر اساس زمان استخراج محاسبه شد. به کمک اطلاعات کتابخانه‌ای و با مراجعه به منابع موجود در ارتباط با اجزای تشکیل دهنده اسانس‌ها و تطابق تصاویر طیف‌سنجی، نتایج حاصل تفسیر و اجزای تشکیل دهنده اسانس مشخص شد.

ب) تهیه میکروارگانیسم مورد مطالعه

کشت لیوفیلیزه باکتری باسیلوس سرئوس ATCC 11778 از مرکز کلکسیون قارچها و باکتری‌های ایران – سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید. پس از دو بار متوالی پاساژ کشت لیوفیلیزه در محیط براث BHI (Merck/ آلمان) در ۳۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۸ ساعت، کشت خطی بر محیط کشت شیبدار آگار BHI (Merck/آلمان) تحت شرایط مشابه انجام شد و برای مراحل بعدی از آن استفاده شد.

ج) طراحی مدل آزمایش

جهت ارزیابی اثر ضدباکتریایی اسانس زیره سبز و درجه حرارت نگه‌داری بر روی لگاریتم درصد احتمال رشد باکتری باسیلوس سرئوس یک مدل چند فاکتوری طراحی شد. این مدل مشتمل بر غلظت‌های مختلف اسانس زیره سبز (۰، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵، ۰/۰۳۰ و ۰/۰۴۵ درصد) در سه دمای نگهداری (۱۰، ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد) و طی زمان‌های معینی از آزمایش (روزهای صفر، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸، ۲۱ ، ۲۴، ۲۷، ۳۰، ۳۶ و ۴۲) بود.

د) تهیه دوز تلقیح باکتریایی

باکتری باسیلوس سرئوس از مرحله (ب) به لوله محتوی براث BHI انتقال داده شد. پس از گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۱۸ ساعت، مجدداً کشت دومی از آن در شرایط مشابه تهیه شد. در یک لوله کووت استریل به کمک افزودن محیط براث BHI استریل و رقیق‌سازی محیط کشت باکتریایی، جذب نوری کشت باکتریایی در OD: ۰/۰۹ تنظیم شد و جهت اندازه‌گیری طول موج از دستگاه اسپکتروفتومتر ۲۰ طیفی (Milton Roy Co. / ایالات متحده) از طول موج ۶۰۰ نانومتر استفاده گردید و بدین ترتیب غلظت باکتریایی $10^6$ باکتری در هر میلی‌لیتر به دست آمد. تعداد باکتری‌ها در این محلول به کمک تهیه رقت‌های متوالی ده برابر و کشت سطحی از هر رقت بر دو پلیت حاوی محیط آگار BHI و گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت محاسبه شد.

ه) تهیه محیط براث BHI حاوی اسانس و تلقیح باکتری

جهت تهیه محیط براث BHI محیط کشت پایه BHI (۷/۴ گرم) در ۲۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر به کمک حرارت ملایم در یک بطری شیشه‌ای ۵۰۰ میلی‌لیتری درپیچ‌دار حل شد. سپس محیط کشت در ۵ ظرف تقسیم شده و سپس مقادیر مختلف اسانس (صفر، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵، ۰/۰۳۰ و ۰/۰۴۵ درصد) اضافه شده و به میزان۵ درصد حجمی/ حجمی دی متیل سولفوکساید (DMSO) (Merck/ آلمان) (به عنوان امولسیون کننده) و ۰/۰۵ درصد وزنی/ حجمی آگار آگار (Merck / آلمان) (به عنوان تثبیت کننده) به محیط‌های کشت اضافه شد. گروه شاهد فاقد اسانس زیره سبز (غلظت صفر) ، همان مقادیر DMSO و آگار آگار بود. pH نیز بر روی ۶ تنظیم گردید.سپس محتویات هر بطری در لوله‌های درپیچ‌دار به میزان ۹ میلی‌لیتر تقسیم شد و در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو گردید ( Mann and Marham, 1998).

با استفاده از لوله کووت حاوی $10^6$ باکتری باسیلوس سرئوس در هر میلی‌لیتر محیط کشت، رقت‌های متوالی از $10^5$ تا $10^{-2}$ *CFU/ml* تهیه شد.

بدین ترتیب برای هر حالت ترکیبی اسانس و دمای نگهداری مجموعاً ۲۴ لوله در ۳ سری به ترتیب در دماهای ۱۰، ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۳ روز نگه‌داری،در نظر گرفته شد تا بر اساس رشد و عدم رشد باکتریایی لگاریتم درصد احتمال رشد باکتریایی به روش بیشترین رشد احتمالی(Most Probable Number) ، با مشاهده کدورت قابل رویت باکتریایی محاسبه شود. ( USP 24, 2003). تمامی مراحل آزمایش ۳ مرتبه تکرار گردید.

و) محاسبه لگاریتم درصد احتمال رشد باکتریایی ($\log P\%$)

لگاریتم درصد احتمال رشد باکتریایی از روی تعداد لوله‌های هر حالت مورد مطالعه (مجموعه‌های ۲۴ لوله‌ای) که کدورت رشد باکتریایی را نشان دادند، با استفاده از روش MPN ۲۴ لوله‌ای (۳ × ۸) محاسبه شد (Fisher and Yates, 1957).

برای هر حالت مورد مطالعه میزان دوز باکتریایی که رشدش متوقف شده بود، از فرمول $\log_{10} I/G$جهت محاسبه استفاده گردید که I برابر با بالاترین تعداد سلول‌های تلقیح شده در لوله‌ها و $G$ برابر با MPN سلول‌های باکتریایی در همان سری لوله‌ها است که رشد باکتریایی در آن‌ها صورت گرفته است. درصد احتمال رشد باکتریایی ($P\%$) برای هر حالت مورد مطالعه از فرمول $P\% = 100/\text{antilog}\,(\log_{10} I - \log_{10} G)$ به دست آمد. بر اساس اندازه‌گیری MPN هنگامی که هیچ رشدی در لوله‌ها مشاهده نشد، G برابر با ۰/۱۷ می‌باشد. تعداد سلول‌های مورد نیاز برای رشد و ایجاد کدورت ( Cell Needed) برای مشاهده رشد باکتریایی در هر حالت مورد مطالعه نیز از فرمول $CN = 100/P\%$ محاسبه شد (Razavilar and Genigeorgis, 1998).

ز) تجزیه وتحلیل داده‌ها

تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس زیره سبز و دما و همچنین زمان نگهداری (به عنوان فاکتور کوواریانس) به تنهایی و همراه با هم به عنوان متغیرهای مستقل، بر روی درصد احتمال رشد باکتری باسیلوس سرئوس ($\log P\%$)و به عنوان متغیر وابسته با استفاده از آزمون تحلیل واریانس (ANOVA) به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ ارزیابی شد. با استفاده از نتایج آزمون تحلیل واریانس با فرض حد معنی‌دار $P<0/05$ و رگرسیون چند متغیره گام به گام ( Stepwise Multiple Regression) نرم افزار SPSS نسخه ۲۳، بهترین مدل پیشگو برای درصد احتمال رشد باکتریایی (متغیر وابسته) تحت تاثیر متغیرهای مستقل مهم و تغییرات معنی‌دار وابسته به آن پیشنهاد شد. جهت بررسی و تایید مدل‌سازی، آزمون‌های همبستگی جزئی و دوربین- واتسون مورد استفاده قرار گرفت و همچنین اختلاف بین مقادیر قابل انتظار و مقادیر قابل مشاهده به صورت نمودار نقطه‌ای (residual plot) رسم شد تا کارایی مدلسازی بهتر مشخص شود. مدل کلی برای معادله‌ای که بهترین انطباق را با نتایج مشاهده شده دارد، به صورت $Y = a + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + \ldots + b_nx_n$ می‌باشد که در حقیقت معادله خطی فرضی است که مقادیر قابل انتظار یا پیشگویی شده از این رابطه به دست می‌آیند. در این معادله $Y$ برابر با متغیر وابسته، $a$ برابر با عرض از مبدا فرضی، $b_1$،$b_2$،$b_3$، تا $b_n$ برابر با ضرایب رگرسیون ( regression coefficients) و $x_1$،$x_2$،$x_3$ تا $x_n$ برابر با متغیرهای مستقل می‌باشند. ضریب تعیین ($R^2$) جهت بیان نسبت واریانس متغیرهای وابسته به واریانس متغیرهای مستقل استفاده شد. ضریب‌های رگرسیون ضرایب معادله را برای تغییرات لگاریتم درصد احتمال رشد باسیلوس سرئوس بر اساس تغییر در متغیرهای مستقل بیان نمود. متغیرهای مستقل دارای ضریب رگرسیون با آزمون فرض $P<0/05$ به عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شدند.

برای اندازه‌گیری نیکویی برازش (Goodness of fit) مدل درصد واریانس ($V\%$) مدل محاسبه شد. درصد واریانس از رابطه ریاضی زیر به دست آمد:

$$\%V = 1 - (1 - r^2) \times (n - 1) / (n - N - 1)$$

که در این رابطه $r^2$ برابر با ضریب رگرسیون چندگانه (ضریب تعیین)، $n$ برابر با تعداد مشاهدات در هر سری داده‌ها (۲۴ داده) و $N$ تعداد حالات (۱۵ حالت) در مدل مورد مطالعه می‌باشد (Davey and Daughtry, 1995).

$$\%V = ۱ - (۱ - ۰/۹۹۶) \times (۲۴ - ۱) / (۲۴ - ۱۵ - ۱)$$

## نتایج

الف) نتایج آنالیز اسانس زیره سبز

درصد اجزای اسانس با استفاده از روش رنگ‌نگاری گازی متصل به طیف سنج جرمی در جدول ۱ نشان داده شده است. بر اساس تفسیر نتایج به دست‌آمده ۱۳ نوع ترکیب عمده شناسایی شدند که ۹۷/۹۳ درصد از اسانس فوق را تشکیل می‌دهند. عمده‌ترین ترکیب موجود، کومین آلدهید (Cumin aldehyde) به میزان ۲۸/۹۶ درصد می‌باشد. سایر ترکیبات مهم شامل بتا ترپینیل بوتانوات (Beta-terpinylbutanoate) ۲۲/۱۷ درصد، بتا پینن (Beta-pinene) ۱۴/۹۳ درصد و پاراسایمن (Para-cymene) ۹/۴۰ درصد بود.

جدول ۱- نتایج آنالیز اسانس زیره سبز مورد بررسی با استفاده از GC/MS

| ردیف | نام ترکیب | درصد |
|---|---|---|
| ۱ | آلفا توجن (Alpha tujene) | ۰/۴۲ |
| ۲ | آلفا پینن (Alpha-pinene) | ۰/۹۴ |
| ۳ | سابینن (Sabinene) | ۰/۹۶ |
| ۴ | بتا پینن | ۱۴/۹۳ |
| ۵ | میرسن (Myrcene) | ۰/۵۷ |
| ۶ | آلفا فلاندرن (Alpha-phelandrene) | ۰/۵۶ |
| ۷ | پارا سایمن | ۹/۴۰ |
| ۸ | بتا فلاندرن (Beta-phelandrene) | ۰/۶۱ |
| ۹ | بتا ترپینیل بوتانوات | ۲۲/۱۷ |
| ۱۰ | گاما ترپینن (Gamma-Terpinene) | ۳/۶۰ |
| ۱۱ | کومین آلدهید | ۲۸/۹۶ |
| ۱۲ | ۱و۳ سیکلو هگزادین (1,3 Cyclohexadiene) | ۸/۵۱ |
| ۱۳ | ۱و۲ اتان دیول (1,2 ethane diol) | ۶/۳۰ |
| | مجموع | ۹۷/۹۳ |

ب) تاثیر اسانس و دما

جدول ۲ مقادیر لگاریتم درصد احتمال رشد باکتریایی ( Log P%) را در روز رسیدن به بیشترین احتمال رشد برای باسیلوس سرئوس و تعداد سلول‌های مورد نیاز برای رشد و ایجاد کدورت (CN)، تحت تاثیر دما و اسانس در مدل براث BHI نشان می‌دهد.

جدول ۲- مقادیر لگاریتم درصد احتمال رشد باکتریایی باسیلوس سرئوس (Log P%) و CN تحت تاثیر دما و اسانس زیره سبز در مدل براث BHI

| دمای نگه‌داری (درجه سانتی‌گراد) | غلظت اسانس (درصد) | روز توقف رشد باکتریایی | لگاریتم درصد احتمال رشد | CN (تعداد) |
|---|---|---|---|---|
| ۳۵ | صفر | ۱ | ۱/۰۷ | ۸/۵ |
| | ۰/۰۰۵ | ۱ | ۱/۰۷ | ۸/۵ |
| | ۰/۰۱۵ | ۲ | ۱/۰۷ | ۸/۵ |
| | ۰/۰۳۰ | ۳ | ۰/۷۶ | $۱/۷\times۱۰^{۱}$ |
| | ۰/۰۴۵ | ۳ | ۰/۷۶ | $۱/۷\times۱۰^{۱}$ |
| ۲۵ | صفر | ۱ | ۱/۰۷ | ۸/۵ |
| | ۰/۰۰۵ | ۲ | ۱/۰۷ | ۸/۵ |
| | ۰/۰۱۵ | ۴ | ۱/۰۷ | ۸/۵ |
| | ۰/۰۳۰ | ۴ | ۰/۷۶ | $۱/۷\times۱۰^{۱}$ |
| | ۰/۰۴۵ | ۵ | ۰/۴۵ | $۳/۵\times۱۰^{۱}$ |
| ۱۰ | صفر | ۲۷ | -۲/۹۳ | $۸/۵\times۱۰^{۴}$ |
| | ۰/۰۰۵ | ۲۷ | -۲/۹۳ | $۸/۵\times۱۰^{۴}$ |
| | ۰/۰۱۵ | ۳۷ | -۴/۲۳ | $۱/۷\times۱۰^{۶}$ |
| | ۰/۰۳۰ | ۳۹ | -۴/۲۳ | $۱/۷\times۱۰^{۶}$ |
| | ۰/۰۴۵ | > ۴۲ | -۴/۹۳ | $۸/۵\times۱۰^{۶}$ |

غلظت اسانس کمتر از ۰/۰۱۵ درصد در دماهای نگهداری ۲۵ و ۳۵ درجه نتوانست موجب مهار رشد باسیلوس سرئوس شود (Log P% =۱/۰۷) و تعداد ۸/۵ الی ۱۷ سلول باکتریایی (CN) باسیلوس سرئوس توانست موجب رشد باکتریایی در روزهای ۲ و ۴ شود. اما در غلظت اسانس ۰/۰۱۵ درصد در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد لگاریتم احتمال رشد برای باسیلوس سرئوس تا ۴/۲۳- کاهش یافت ($CN=۱/۷\times۱۰^{۶}$) ($p<۰/۰۵$).

در غلظت ۰/۰۳۰ درصد اسانس در دماهای نگهداری ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد، لگاریتم درصد احتمال رشد باسیلوس سرئوس به ۰/۷۶ رسید و در دمای نگهداری ۲۵ درجه سانتی‌گراد با افزایش غلظت اسانس تا ۰/۰۴۵ درصد اثر مهاری بیشتری مشاهده شد و درصد لگاریتم رشد باسیلوس سرئوس به ۰/۴۵ رسید ($p<۰/۰۵$). غلظت ۰/۰۴۵ درصد اسانس در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد به طور کامل رشد باکتریایی را تا روز ۴۲ متوقف نمود (Log P% = -۴/۹۳). نتیجه شمارش باکتریایی به روش کشت سطحی برای این سری لوله‌های ۳ تایی که تا روز آخر بررسی فاقد رشد باکتریایی بود (Log P% = -۴/۹۳) نشان دهنده کمتر از ۱ باکتری در هر میلی‌لیتر محیط کشت براث BHI بود (کمترین حد قابل تشخیص).

ج) مدل‌سازی آماری

براساس نتایج تحلیل واریانس یک طرفه، لگاریتم درصد احتمال رشد باکتریایی به طور معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) تحت تاثیر اسانس و دمای نگهداری بوده و همچنین بر اساس نتایج تحلیل واریانس دو طرفه به صورت تداخلی تحت تاثیر همزمان هر دو عامل می‌باشد.در جدول ۳ به صورت خلاصه معادله رگرسیون برای رشد باسیلوس سرئوس شامل متغیرها، عرض از مبدا، ضرایب رگرسیون، همبستگی جزئی، ضرایب تعیین و ارزش‌های آزمون دوربین – واتسون ارائه شده است. این معادله به صورت یک مدل ریاضی با پیشگویی اعداد لگاریتم درصد احتمال رشد باسیلوس سرئوس (Log *P*%)، رشد میکروارگانیسم را تحت تاثیر فاکتورهای محیطی شرح می‌دهد.

جدول ۳- خلاصه متغیرها، عرض از مبدا، ضرایب رگرسیون، همبستگی جزئی، ضرایب تعیین و مقادیر آزمون دوربین واتسون برای لگاریتم درصد احتمال رشد باکتری باسیلوس سرئوس (Log *P*%) طی ۴۲ روز نگهداری (D) در محیط براث BHI تحت تاثیر دمای نگهداری (T) و غلظت اسانس زیره سبز (EO)

| متغیرها | ضریب رگرسیون | همبستگی جزئی |
|---|---|---|
| غلظت اسانس زیره سبز | -۰/۰۲۷ | -۰/۱۴۰ |
| غلظت اسانس زیره سبز×دمای نگهداری | -۰/۰۵۴ | -۰/۴۱۷ |
| دمای نگهداری×زمان توقف رشد باکتریایی | -۰/۰۱۴ | -۰/۹۲۸ |
| $\sqrt{\text{غلظت اسانس سبززیره}}$ | ۰/۰۴۳ | ۰/۰۲۹ |
| $\frac{1}{\text{دمای نگهداری}}$ | -۲۳/۶۶۸ | -۰/۶۷۱ |
| $\frac{1}{\text{زمان توقف رشد باکتریایی}}$ | -۱/۰۶۰ | -۰/۷۹۲ |
| عرض از مبدا | ۳/۳۱۲ | |
| ضریب تعیین | ۰/۹۹۷ | |
| مقدار دوربین واتسون | ۲/۲۱۶ | |

مدل رگرسیون به شکل معادله زیر و مقدار درصد V خواهد بود:

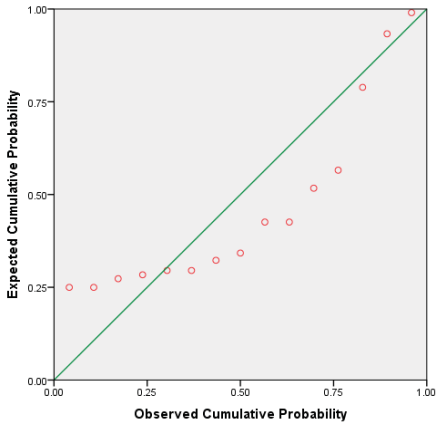
$$\text{Log P\%= -0.027 EO – 0.054 EO×T – 0.014 T×D + 0.043 } \sqrt{\text{EO}} \text{ – 23.668 } \frac{1}{\text{T}} \text{ – 1.060 } \frac{1}{\text{D}} \text{ + 3.312}$$

$$\%V = ۱ - (۱ - ۰/۹۹۷) \times (۲۴ - ۱) / (۲۴ - ۱۵ - ۱) = ٪۹۹/۱۴$$

درجدول ۴ مقادیر درصد احتمال رشد پیشگویی شده و مشاهده شده با هم مقایسه شده است و نمودار ۱ به صورت نقطه‌ای احتمال طبیعی اختلافات نتایج پیشگویی شده و مشاهده شده را نشان می‌دهد.

جدول ۴- مقدادیر مشاهده شده و مقادیر پیش‌بینی شده لگاریتم درصد رشد باکتری باسیلوس سرئوس در طی ۴۲ روز در محیط براث BHI تحت اثر توام غلظت اسانس زیره سبز و دمای نگهداری

| دمای نگه‌داری (درجه سانتی‌گراد) | غلظت اسانس (درصد) | مقادیر مشاهده شده | مقادیر پیش‌بینی شده | اختلاف بین مقادیر مشاهده شده و مقادیر پیش‌بینی شده |
|---|---|---|---|---|
| | صفر | ۱/۰۷ | ۱/۰۹ | -۰/۰۲ |
| | ۰/۰۰۵ | ۱/۰۷ | ۱/۰۸ | -۰/۰۱ |
| ۳۵ | ۰/۰۱۵ | ۱/۰۷ | ۱/۱۱ | -۰/۰۴ |
| | ۰/۰۳۰ | ۰/۷۶ | ۰/۷۸ | -۰/۰۲ |
| | ۰/۰۴۵ | ۰/۷۶ | ۰/۷۷ | -۰/۰۱ |
| | صفر | ۱/۰۷ | ۰/۹۶ | ۰/۱۱ |
| | ۰/۰۰۵ | ۱/۰۷ | ۱/۱۳ | -۰/۰۶ |
| ۲۵ | ۰/۰۱۵ | ۱/۰۷ | ۰/۶۹ | ۰/۳۸ |
| | ۰/۰۳۰ | ۰/۷۶ | ۰/۶۸ | ۰/۰۸ |
| | ۰/۰۴۵ | ۰/۴۵ | ۰/۳۷ | ۰/۰۸ |
| | صفر | -۲/۹۳ | -۲/۸۷ | -۰/۰۶ |
| | ۰/۰۰۵ | -۲/۹۳ | -۲/۸۸ | -۰/۰۵ |
| ۱۰ | ۰/۰۱۵ | -۴/۲۳ | -۴/۲۷ | ۰/۰۴ |
| | ۰/۰۳۰ | -۴/۲۳ | -۴/۵۵ | ۰/۳۲ |
| | ۰/۰۴۵ | -۴/۹۳ | -۴/۹۷ | ۰/۰۴ |




نمودار ۱- نمودار نقطه‌ای احتمال طبیعی اختلافات بین مقادیر مشاهده شده و مقادیر پیش‌بینی شده لگاریتم درصد احتمال رشد باکتری باسیلوس سرئوس

**بحث**

از دیرباز اثر بازدارندگی رشد میکروبی اسانس‌های گیاهی شناخته شده و به تازگی توجه زیادی به سوی تاثیر آن‌ها بر روی عوامل پاتوژن و فساد مواد غذایی معطوف شده است (Burt, 2004). خاصیت ضدمیکروبی و نگهدارندگی فراورده‌های طبیعی و مشتقات آن‌ها در مواد غذایی توسط محققان مختلف مورد بررسی گرفته و بر اساس فلور گیاهان بومی مناطق مختلف و نیز نوع ذائقه مردم از گونه‌های مختلف گیاهان در مطالعات استفاده شده است (Valero and Salmeron, 2003).

امروزه جهت مقابله با پاتوژن‌های مهم غذازاد یا مولد فساد از مطالعات تلقیحی میکروبی در محیط کشت و سپس در ماده غذایی استفاده می‌شود. در بررسی‌های متعدد، از مدل‌های مختلفی برای مطالعه اثرات ضدباکتریایی و نگه‌دارندگی اسانس‌های گیاهی و به همراه مواد دیگر استفاده شده است که در برخی از این روش‌ها از مدل‌های آزمایشگاهی نظیر محیط‌های کشت و در بعضی دیگر، از مدل‌های غذایی بهره برده شده است (مشاک و همکاران، ۱۳۹۱؛ Alghooneh et al., 2015; Periago and Moezelaar, 2001; Pol and Smid, 1999; Razavilar and Genigeorgis, 1998; Tavakoli et al., 2015).

در مطالعه حاضر لگاریتم درصد احتمال رشد باکتری باسیلوس سرئوس در یک مدل چند فاکتوری تحت تاثیر غلظت اسانس زیره سبز، دمای نگهداری و مدت زمان نگهداری در محیط کشت براث BHI مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۲). سپس یک مدل خطی برای پیشگویی نتایج لگاریتم درصد احتمال رشد باکتریایی تحت تاثیر فاکتورهای مذکور به کار گرفته شد.

در نتایج به دست آمده از تحلیل اجزای اسانس زیره سبز ۱۳ ترکیب مورد شناسایی قرار گرفت که بیشترین ترکیبات اسانس غیر از کومین آلدهید (۲۶/۹۶ درصد)، ترپینل بوتانات (۲۲/۱۷ درصد)، بتا پینن (۱۴/۹۳ درصد) و پاراسایمن (۹/۴۰ درصد) می‌باشد که این ترکیبات و همچنین سایر اجزای اسانس دارای ساختار مونوترپنی می‌باشند (جدول ۱). ناناسومبات و لوهان سوپثاوی (۲۰۰۵)، درخشان و همکاران (۲۰۰۸) و اکرمی و همکاران (۲۰۱۵) نیز نشان دادند که اسانس زیره سبز سرشار از ترکیبات مونوترپنی بوده و اثرات قوی ضدمیکروبی این اسانس را به وجود این ترکیبات نسبت دادند (Akrami et al., 2015; Derakhshan et al., 2008; Nanasombat and Lohasupthawee, 2005).

در مطالعه حاضر در دمای نگهداری ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد با افزایش غلظت اسانس زیره سبز تا غلظت ۰/۰۳۰ درصد رشد باکتری باسیلوس سرئوس به شدت کاهش یافت (Log P%=۰/۷۶). همچنین فعالیت مهاری اسانس بر روی باکتری با کاهش دما بیشتر شد که نشان دهنده تقویت خاصیت ضدمیکروبی دو فاکتور دما و اسانس در اثر اعمال توام آن‌ها می‌باشد (مشاک و همکاران، ۱۳۹۱؛ Blackburn, 2006).

لانسیوتی و همکاران (۲۰۰۱) محدوده رشد و عدم رشد سه سویه باکتریایی استافیلوکوکوس ارئوس، سالمونلا انتریتیدیس و باسیلوس سرئوس را در حضور فاکتورهای رشد مانند دما، pH، فعالیت آبی و غلظت اتانول در محیط براث BHI مورد بررسی قرار دادند. مشابه مطالعه کنونی رشد باکتریایی به کمک مشاهده کدورت رشد باکتریایی در محیط براث اندازه‌گیری شد. جهت ارزیابی مدل ریاضی، کمترین غلظت بازدارنده( Minimum Inhibitory Concentration) که به باکتری اجازه رشد می‌داد ، ارزیابی شد. در مطالعه فوق نشان داده شد که محدوده رشد/ عدم رشد باسیلوس سرئوس به شدت تحت تاثیر دما و غلظت اتانول می‌باشد (Lanciotti et al., 2001).

در مطالعات مختلف دیگر نیز مشابه مطالعه کنونی مهار رشد باکتری باسیلوس سرئوس تحت اثر اسانس‌های گیاهی در دماهای پایین نشان داده شده است (Pol and Smid, 1999; Periago and Moezelaar, 2001).

در مطالعه دیگر راجکویچ و همکاران (۲۰۰۵) اثر ضدمیکروبی نیسین و کارواکرول را بر روی باسیلوس سرئوس و باسیلوس سرکولانس ابتدا در محیط براث BHI و سپس در مدل غذایی پوره سیب زمینی ارزیابی کردند. پیش از انجام آزمایش در مدل غذایی، حداقل غلظت بازدارندگی( MIC) را علیه میکرو ارگانیسم‌های مذکور تحت تاثیر غلظت‌های مختلف نیسین و کارواکرول در دماهای نگهداری مختلف در مدل BHI بررسی کرده و عنوان نمودند که با کاهش دمای نگهداری تا ۱۰ درجه سانتی‌گراد، مهار رشد باکتریایی در غلظت‌های کمتری از نیسین و کارواکرول صورت می‌گیرد (Rajkovic et al., 2005).

میثاقی و آخوندزاده بستی (۲۰۰۷) لگاریتم درصد احتمال رشد باکتری باسیلوس سرئوس ATCC 11778 را در یک مدل براث BHI شامل ۵ غلظت مختلف اسانس آویشن شیرازی، ۵ غلظت مختلف نیسن، ۳ pH مختلف و ۳ دمای نگهداری طی ۴۳ روز بررسی کردند. آن‌ها نشان دادند در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد، اسانس و نیسین با غلظت‌های کمتری موجب مهار رشد باسیلوس سرئوس می‌شوند (Misaghi and Akhondzadeh Basti, 2007). در مطالعه حاضر نیز اثر غلظت‌های مختلف اسانس بر درصد لگاریتم احتمال رشد باکتریایی (به عنوان شاخص رشد باکتری) ارزیابی شده و با کاهش دمای نگهداری، غلظت‌های کمتری از اسانس زیره سبز رشد باکتری را تحت تاثیر قرار داد (جدول ۲).

توسعه تکنیک‌های موفق مدلسازی با پیش‌بینی مناسب، به کاربران اجازه به دست آوردن خصوصیات، پیش‌بینی کارآیی فرایند و همچنین بهینه‌سازی فرایند را می‌دهد (Alghooneh et al., 2015). در مطالعات مختلف اثر اسانس‌های گیاهی مختلف نظیر زیره سبز، بر باکتری باسیلوس سرئوس در قالب مدل براث BHI مورد بررسی قرار گرفته است.

بطوریکه پژوهی و همکاران (۱۳۸۹) در یک مدل براث BHI غلظت‌های مختلف از اسانس‌های پونه کوهی و زیره سبز و نیسین به روش میکرودایلوشن تهیه کرده و آن را بر باکتری‌های باسیلوس سرئوس و باسیلوس سوبتیلیس با دوز تلقیح $۵\times۱۰^{۶}$ باکتری بر میلی‌لیتر در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تیمار نمودند و بدین ترتیب حداقل غلظت مهارکننده اسانس زیره سبز علیه باسیلوس سرئوس را غلظت ۰/۲۵ درصد عنوان کردند (پژوهی و همکاران، ۱۳۸۹).

تنوا و همکاران (۲۰۱۵) تاثیر رقت‌های متوالی اسانس فلفل سیاه، زیره سبز، گشنیز و هل را به طور جداگانه علیه میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و عامل فساد مواد غذایی را در مدل محیط کشت طی ۲ روز و در دماهای مختلف مورد بررسی قرار دادند. بر این اساس پس از فلفل سیاه، اسانس زیره سبز با غلظت ۶۰۰ppm بیشترین اثر مهاری را بر باسیلوس سرئوس نشان داد (Teneva et al., 2015).

توکلی و همکاران (۲۰۱۵) اثر ترکیبی اسانس زیره سبز، نیسین و دمای نگهداری را بر باکتری‌های سالمونلا تیفی‌موریوم و استافیلوکوکوس ارئوس در مدل براث BHI مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که غلظت ۴۵ میکرولیتر در ۱۰۰ میلی‌لیتر اسانس زیره سبز در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد می‌تواند به طور معنی‌داری موجب کاهش رشد استافیلوکوکوس ارئوس گردد (Tavakoli et al., 2015).

در مطالعه کنونی نیز غلظت ۰/۰۳۰ درصد اسانس زیره سبز در دماهای ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد و غلظت ۰/۰۱۵ درصد اسانس زیره سبز در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد توانست سبب

کاهش رشد معنی دار باکتری در مدل براث BHI گردد.

با توجه به مقادیر ضریب تعیین $R^2$ و درصد واریانس V% بین نتایج لگاریتم احتمال درصد رشد که از طریق مدل پیشگو به دست آمده و نتایج مشاهده شده طی آزمایش همبستگی خوبی وجود داشت (جدول ۴) که نشان دهنده صحت بالای مدل پیشگوی ارائه شده بود. با توجه به این مدل ریاضی و مقادیر پیشگویی شده لگاریتم درصد احتمال رشد باکتری باسیلوس سرئوس، می‌توان جهت تعیین محدوده رشد باکتری با توجه به دمای نگهداری و کاربرد هر غلظت اسانس در طی مدت زمان نگهداری خاص استفاده کرد. پیشنهاد می‌شود که اثر مهاری اسانس زیره سبز در مدل‌های غذایی نیز مورد بررسی قرار گیرد.

## نتیجه‌گیری

در انتها از مطالعه حاضر چنین نتیجه‌گیری می شود که اسانس زیره سبز قادر است به عنوان یک نگهدارنده مناسب علیه باکتری پاتوژن غذایی باسیلوس سرئوس مورد استفاده قرار گیرد و استفاده از غلظت‌های اسانس به همراه درجه حرارت مناسب نگهداری می‌تواند اثر مهاری مناسبی را بر روی رشد باکتری مورد بررسی ایجاد نماید.

مقدار ضریب تعیین مدل در مطالعه کنونی درجه بالایی از برازش نکویی بین نتایج حاصل از مدلسازی و نتایج به دست آمده از تحقیق را نشان میدهد،که از مقایسه داده‌های پیش‌بینی شده و داده‌های مشاهده شده ،نیز مشهود است. مدل ریاضی پیشگوی به دست آمده در این مطالعه می‌تواند ابزار مفیدی جهت ارزیابی تغییرات باسیلوس سرئوس طی زنجیره غذایی باشد. همچنین می‌تواند به کاهش خطرات در نقاط بحرانی زنجیره غذایی و ارزیابی مخاطرات کمک کند.

## منابع

۱. پژوهی، محمدرضا.، تاجیک، حسین.، آخوندزاده بستی، افشین.، گندمی نصرآبادی، حسن.، احسانی، علی و شکوهی ثابت جلالی، فرنود. (۱۳۸۹). ارزیابی ترکیبات شیمیایی و فعالیت ضدمیکروبی اسانس پونه کوهی (*Mentha longifolia L*) و دانه زیره سبز (*Cuminum cyminum L*) به تنهایی و توأم با نیسین. مجله پزشکی ارومیه، سال چهارم، شماره ۲۱، صفحه ۳۲۴-۳۳۱.

۲. شهنیا، مریم.، رادمهر، بهراد.، قاسملو، مهران و خاکسار، رامین. (۱۳۹۱). کاربرد مدل‌سازی ریاضی و میکروبیولوژی پیشگو در صنایع غذایی. علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، سال پنجم، شماره ۷، صفحه ۷۳۷-۷۴۳.

۳. مشاک، زهره.، مرادی، بیژن و مرادی، بهروز. (۱۳۹۱). اثر ترکیبی اسانس دارچین و آویشن شیرازی بر رشد Bacillus cereus در یک مدل غذایی. فصلنامه گیاهان دارویی، شماره ۴۲، صفحه ۶۲-۷۳.

4. Akrami, F., Rodriguez-Lafuente, A., Bentayeb, K., Pezo, D., Ghalebi S.R., and Nerin, C. 2015. Antioxidant and antimicrobial active paper based on Zataria (*Zataria multiflora*) and two cumin cultivars (*Cuminum cyminum*). LWT - Food Sci Technol Int . 60 (2): 929–933.
5. Alghooneh, A., Alizadeh Behbahani, B., Noorbakhsh, H., and Tabatabaei Yazdi, F. 2015. Application of intelligent modeling to predict the population dynamics of *Pseudomonas aeruginosa* in Frankfurter sausage containing *Satureja bachtiarica* extracts. Microb Pathog. 85: 58–65.
6. Blackburn, C. 2006. Food Spoilage Microorganisms. England: Woodhead Publishing Ltd., pp. 86 - 118.

7. Burt, S. 2004. Essential oils and their antimicrobial properties and potential application in foods – a review. Int J Food Microbiol . 94: 233-253.
8. Davey, K.R., and Daughtry, B.J. 1995. Validation of a model for predicting the combined effect of three environmental factors on both exponential and lag phases of bacterial growth: Temperature, salt concentration and pH. Food Res Int. 28: 233–237.
9. Derakhshan, S., Sattari, M., and Bigdeli, M. 2008. Effect of subinhibitory concentrations of cumin seed essential oil and alcoholic extract on the morphology, capsule expression and urease activity of *Klebsiella pneumonia.* Int J Antimicrob Agents. 32 (5): 432-436.
10. Fisher, R.A., and Yates, F. 1957. Statistical tables for biological agricultural and medical research (5th ed.), London: Oliver and Boyd.
11. Jay, M.J. 1996. Modern food microbiology. 5th Ed. The Diction NewYork, Chapman and Hall, pp: 364.
12. Kramer, J.M., and Gilbert, R.J. 1989. *Bacillus cereus* and other *Bacillus species*. In M. P. Doyle (ed.). Foodborne bacterial pathogens, Marcel Dekker Inc., New York, N.Y., pp: 21-70.
13. Lanciotti, R., Sinigaglia, M., Gardini, F., Vannini, L., and Guerzoni, M.E. 2001. Growth/ no growth interfaces of *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enteritidis* in model systems based on water activity, pH, temperature and ethanol concentration. Food Microbiol.18: 659–668.
14. Listner, L., and Gorris, L.M.G. 1995. Food preservation by hurdle technology. Trends Food Sci. Technol. 6: 35-68.
15. Mann, C.M., and Marham, G. 1998. A new method for determining inhibitory concentration of essential oils. J. Applied Microbiol. 84: 538-544.
16. Misaghi, A., and Akhondzadeh Basti, A. 2007. Effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil and nisin on *Bacillus cereus* ATCC 11778. Food Control.18 (9): 1043-1049.
17. Nanasombat, S., and Lohasupthawee, P. 2005. Antibacterial activity of ethanolic extracts and essential oils of spices against *Salmonella* and other Enterobacteria. *KMITL Sci Tech J.* 5 (3): 527-538.
18. Periago, P.M., and Moezelaar, R. 2001. Combined effect of nisin and carvacrol at different pH and temperature levels on the viability of different strains of *Bacillus cereus*. Int J Food Microbiol . 8: 141-148.
19. Pol, I.E., and Smid, E.J. 1999.Combined action of nisin and carvacrol on *Bacillus*

*cereus* and *Listeria monocytogenes*. *Let. App Mic*. 29: 166–170.

20. Rajkovic, A., Uyttendaele, M., Courtens, T., and Debevere, J. 2005. Antimicrobial effect of nisin and carvacrol and competition between *Bacillus cereus* and *Bacillus circulans*in vacuum-packed potato puree. Food Microbiol. 22: 189–197.
21. Razavilar, V., and Genigeorgis, C. 1998. Prediction of *Listeria spp.* growth as affected by various levels of chemicals, pH, temperature and storage time in model broth. Int. J. Food Mic. 40: 149–157.
22. Tavakoli, H.R., Mashak, Z., Moradi, B., and Sodagari, H. 2015, Antimicrobial activities of the combined use of *Cuminum Cyminum* L. essential oil, nisin and storage temperature against *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in vitro. Jundishapur J Microbiol. 8 (4): e24838 , DOI: 10.5812/jjm. 8 (4) 24838.
23. Teneva, D., Denkova, Z., Denkova, R., Atanasova, T., Nenov, N., and Merdzhanov, P. 2015. Antimicrobial activity of essential oils and extracts from black pepper, cumin, coriander and cardamom against some pathogenic and saprophytic microorganisms. Bulg. J. Vet. Med. Online First, ISSN 1311-1477; DOI: 10.15547/bjvm. 881.
24. Tijskens, E., Ramon, H., and De Baerdemaeker, J. 2003. Discrete element modeling for process simulation in agriculture. J. Sound Vibration. 266 (3): 493–514.
25. United States Pharmacopeia. USP 24. 2015. United State Pharmacopeial Convention INC. 12601 Twinbrook Parkway Rockville, MD, pp. 2530–2531.
26. Valero, M., and Salmeron, M.C. 2003. Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tantalized carrot broth. Int J Food Microbiol .85: 73-81.

# Predictive mathematical model for evaluation of *Cuminum cyminum* L. essential oil and temperature storage effects on *Bacillus cereus* growth in BHI.

**Mashak Z**

Department of Food Hygiene, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

**Corresponding author:** *mashak@kiau.ac.ir*

Received:09 February 2016 Accepted: 18 January 2016

**Abstract**

*Bacillus cereus* is a food-born pathogen that 20% of total outbreaks of food intoxication in the world are caused by *Bacillus cereus*. Nowadays there is an increasing interest in the use of plant-derived antimicrobial compounds as natural preservatives for foods. *Cuminum cyminum* L. is an Iranian native plant that is used in traditional medicine and food products. The aim of this survey is providing of predictive mathematically model for evaluation of antibacterial effects of *Cuminum cyminum* L. essential oil on *Bacillus cereus* in a multi-factorial system. The essential oil of *Cuminum cyminum* L. plant was obtained by steam-distillation and analyzed by GC/MS. Then, effects of different concentrations of *Cuminum cyminum* L. essential oil (0, 0.005, 0.015, 0.030 and 0.045%) and storage temperature (10, 25 and 35°C) were evaluated on growth of *Bacillus cereus* in BHI broth during at certain intervals (1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 15, 18, 21 24, 27, 30, 36 and 42 days). The growth of *Bacillus cereus* was significantly decreased by 0.015% EO concentration incubated at 10°C storage temperature and 0.030% EO concentration incubated at 25 and 35°C storage temperature ($p<0.05$). The predictive mathematically model produced in this study can be a useful tool for evaluation of changes of this microorganism along of the food chain.

**Keywords:** predictive mathematically model, *Cuminum cyminum* L. essential oil, *Bacillus cereus*, Log *P*%