

مقایسه اثر ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی و رزماری بر باکتری باسیلوس کواگولانس در سس کچاپ پروبیوتیک

مینا آذری جوقان^۱، انوشه شریفان^{۲*}، حامد اهری^۳

چکیده

امروزه اسانس‌های گیاهی به عنوان جایگزین نگهدارنده‌های شیمیایی بیشتر مورد توجه مصرف‌کنندگان هستند، به علاوه تمایل مصرف‌کنندگان به مصرف محصولات پروبیوتیک رو به افزایش است، بنابراین تولید محصول پروبیوتیک که دارای باکتری پروبیوتیکی مقاوم و اسانس‌های گیاهی بوده حائز اهمیت است و سس کچاپ محصولی است که استفاده از آن بسیار رایج می‌باشد. حداقل غلظت بازدارندگی (Minimum Inhibitory Concentrate) اسانس‌های آویشن شیرازی و رزماری بر باکتری پروبیوتیکی باسیلوس کواگولانس به روش رقیق سازی بر روی آگار تعیین شد. نمونه‌های سس کچاپ حاوی باکتری و هر کدام از اسانس‌ها به طور مجزا و توأم با هم تولید شد و نمونه فاقد اسانس و باکتری به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. فاکتورهای pH اسیدیته و شمارش پروبیوتیک در فواصل زمانی ۲۴ ساعت، ۷۲ ساعت، یک هفته، دو هفته و یک ماه پس از تولید نمونه‌های در سس انجام شد و در انتها ارزیابی حسی با استفاده از آزمون هدونیک ۵ امتیازی انجام گرفت. حداقل غلظت بازدارندگی اسانس آویشن شیرازی و رزماری به ترتیب، ۰/۰۳٪ و ۰/۰۳٪ حاصل شد. نتایج حاصل از آزمون‌های شیمیایی و میکروبی دارای همبستگی معناداری بودند. pH در اکثر نمونه‌ها رو به کاهش بود و شمارش میکروبی در تمام نمونه‌ها رو به کاهش و اسیدیته افزایش یافت. در ارزیابی حسی بهترین نمونه در شاخص پذیرش کلی نمونه شاهد (فاقد باکتری و اسانس) و پس از آن تیمار دارای باکتری و اسانس آویشن شیرازی گزارش شد. اثر ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی بیشتر از رزماری می‌باشد. باکتری باسیلوس کواگولانس یک باکتری پروبیوتیکی مقاوم است اما سس کچاپ در مقایسه با سایر محصولات غذایی مثل محصولات لبنی و فرآورده‌های حرارت داده شده حامل مناسبی برای باکتری‌های پروبیوتیکی نمی‌باشد.

واژگان کلیدی: آویشن شیرازی، باسیلوس کواگولانس، پروبیوتیک، رزماری، سس کچاپ.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۲/۲۷

مقدمه

امروزه مصرف‌کنندگان با توجه به اثرات مضر نگهدارنده‌های شیمیایی و سنتتیک، خواهان استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی

مشتمل شده از منابع گیاهی، حیوانی و میکروبی هستند تا علاوه بر افزایش زمان ماندگاری غذا، از اثرات مضر نگهدارنده‌های شیمیایی مصون باشند. اسانس‌ها مایعات معطری هستند که از اجزای مختلف گیاه به دست می‌آیند. کمیت و کیفیت ترکیبات شیمیایی اسانس با توجه به نوع گیاه، آب و هوا، ترکیب خاک و سن گیاه می‌تواند متغیر باشد (۴). معمولاً اسانس‌های غنی از ترکیبات فنلی دارای خاصیت ضد میکروبی قابل توجهی هستند، این ترکیبات هم در غشاء سلول نفوذ می‌کنند و هم می‌توانند در لخته شدن محتویات سلول نقش داشته باشند (۱). از جمله این اسانس‌ها می‌توان به اسانس آویشن شیرازی (*Zataria Multiflora Boiss*) و رزماری (*Rosmarinus Officinalis*) اشاره کرد که ویژگی ضد میکروبی آنها علیه دامنه وسیعی از باکتری‌های بیماری‌زا به اثبات رسیده است (۱۷ و ۵). پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های زنده و غیر بیماری‌زایی هستند که اگر به تعداد کافی مورد استفاده قرار گیرند، از طریق ایجاد تعادل میکروبی در روده، اثرات مفید و سلامتی بخشی برای میزبان خود دارند. گوناگونی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک، همواره در حال افزایش بوده است، بدین معنا که پژوهش‌های نوین به شناخت سویه‌ها، گونه‌ها و جنس‌های جدیدی از میکروارگانیسم که دارای خواص پروبیوتیکی هستند، منجر می‌شوند. باکتری‌های جنس باسیلوس به دلیل تولید اسپور، در غذاهای پخته شده پایدار باقی مانده و فواید پروبیوتیکی خود را در دمای پخت حفظ می‌کنند (۱۹).

۱- کارشناس ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲* - دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران (a_sharifan2000@yahoo.com)
۳- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

دارای باکتری پروبیوتیک است و اثرات سلامت بخش دارد از سوی دیگر به دلیل محتوای لیکوپن بالا، محصول مناسبی محسوب می‌شود. در این تحقیق هدف بررسی اثر اسانس‌های آویشن شیرازی و رزماری در سس کچاپ پروبیوتیک می‌باشد.

مواد و روش کار

استخراج اسانس

گیاهان آویشن شیرازی و رزماری در فصل بهار از مزرعه گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی در استان قزوین تهیه شد و در هر بار یوم دانشکده داروسازی دانشگاه تهران مورد تأیید نام علمی قرار گرفت. پس از خشک کردن گیاهان در مجاورت سایه به منظور اسانس‌گیری از آنها، مقدار ۱۰۰ گرم از گیاهان خشک را در بالن دستگاه کلونجر به همراه ۱ لیتر آب مقطر ریخته شد و به مدت ۳-۴ ساعت عمل اسانس‌گیری به طول انجامید و پس از آن روغن اساسی جمع شده در لوله مدرج، پس از آب‌گیری توسط سولفات سدیم بدون آب، در ظروف تیره و در پوش دار جمع‌آوری و تا انجام آزمایشات در یخچال نگهداری شد.

تهیه و کشت باکتری مورد آزمون

باکتری باسیلوس کواگولانس (Takgene BC) از شرکت تک ژن زیست تهیه شد. طبق دستورالعمل شرکت به منظور فعال‌سازی باکتری، ۱ گرم از پودر باکتری در ۹CC محیط نوترینت برات (MERCK, Germany) استریل توزین شد و مخلوط به مدت ۱۰-۱۵ دقیقه در دمای ۸۰-۸۵ درجه سانتی‌گراد و سپس به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده شد و پس از آن توسط سوپ استریل روی محیط نوترینت آگار (MERCK, Germany) کشت داده شد و مجدداً ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفت.

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی اسانس‌ها (MIC)

به این منظور، از روش رقیق‌سازی بر روی محیط آگار (Agar dilution) استفاده شد. با توجه به عدم حلالیت

پروبیوتیک‌های باسیلوس مثل باسیلوس کواگولانس، برای مصرف طولانی مدت انسان بی‌خطر شناخته شده و قادر است شرایط معده را تحمل کرده و اکثر سلول‌های باکتری بدون تغییر به روده کوچک می‌رسند (۱۱).

این باکتری گرم مثبت، اسپوردار، متحرک، طنابی شکل، تک تک یا به صورت زنجیره‌های کوتاه، دمای بهینه برای رشد ۵۰-۳۵ درجه سانتی‌گراد و pH بهینه ۶/۵ - ۵/۵ است. از نظر متابولیسی بی‌هوازی اختیاری است و از تخمیر قندهای مالتوز، مانیتول، رافینوز، سوکروز و تری‌هالوز اسید بدون گاز ایجاد می‌کند (۳).

اسپور باکتری در مقابل حرارت و فشار در فرایند تولید، از سلول محافظت کرده و پایداری آن را هنگام گذشتن از دستگاه گوارش در برخورد با اسید معده و صفرا حفظ می‌کند، با رسیدن به روده کوچک شروع به جوانه زنی و تکثیر می‌کند و یک باکتری جدید تولید می‌کند. این باکتری اسید لاکتیک را به عنوان محصول اولیه تخمیر تولید می‌کند که محیط اسیدی ایجاد شده توسط آن از رشد پاتوژن‌ها جلوگیری می‌کند. علاوه بر این، باکتریوسین‌ها (ترکیبات ضد میکروبی پروتئینی) را تولید می‌کند که از رشد باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی ممانعت می‌کنند. (۱۴، ۳) با وجود استفاده از این باکتری در برخی از محصولات غذایی، گزارشی در ارتباط با استفاده از آن در سس کچاپ وجود ندارد.

گوجه‌فرنگی و محصولات آن دارای مقادیر زیادی لیکوپن هستند. لیکوپن یک آنتی‌اکسیدان قوی می‌باشد و رادیکال‌های آزاد مضر را که باعث انواع سرطان‌ها و بیماری‌های قلبی و غیره می‌شوند را خنثی می‌کند. محتوای لیکوپن محصولات گوجه‌فرنگی فرآیند شده معمولاً بالاتر از گوجه‌فرنگی خام است (۷)، بنابراین تولید سس کچاپ پروبیوتیک به عنوان یک محصول فراسودمند، علاوه بر اینکه

مشخص شده از آزمون تعیین حداقل غلظت بازدارندگی، تحت شرایط استریل به نمونه‌های سس به صورت جداگانه و توام با هم افزوده شد و نمونه‌ها در دمای 4°C در یخچال نگهداری شد.

شاخص‌های مورد آزمون

شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها این آزمون بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ۲۹۶۵ انجام شد.

سنجش pH

آزمون pH مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۲۵۵۰ و با استفاده از دستگاه pH متر (Metrohm، سوئیس)، پس از گذشت ۲۴ ساعت، ۷۲ ساعت، یک هفته، دو هفته و یک ماه انجام شد.

سنجش اسیدیته بر حسب اسید لاکتیک

اندازه‌گیری اسیدیته مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۲۵۵۰ انجام شد.

ارزیابی حسی

فاکتورهای بررسی شده در ارزیابی حسی، مزه، بو، بافت و پذیرش کلی می‌باشد که به ترتیب از کمترین پذیرش تا بیشترین شماره ۱ تا ۵ داده شد.

نتایج

با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ و آزمون آماری ANOVA (آنالیز واریانس دو طرفه) در $\alpha=0/05$ ، اختلاف میانگین در تیمارهای مختلف مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حداقل غلظت بازدارندگی اسانس آویشن شیرازی و رزماری بر باکتری باسیلوس کوآگولانس

اسانس‌ها در محیط کشت، از حلال دی متیل سولفوکساید (Dimethyl sulfoxide) (DMSO) استفاده شد. غلظت‌های (۰، ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۳، ۰/۰۴ و ۰/۰۵) درصد اسانس آویشن شیرازی و غلظت‌های (۰، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴ و ۰/۵) درصد اسانس رزماری تهیه شد و در محیط کشت مولر هیتون آگار (HIMEDIA, India) به صورت یکنواخت توزیع گردید و پس از بستن محیط‌های حاوی اسانس از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده مطابق با استاندارد نیم مک فارلند، ۳ میکرولیتر به صورت نقطه‌ای کشت داده شد و پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه قرار گرفتند.

تهیه سس کچاپ

مواد مورد استفاده در فرمولاسیون سس کچاپ در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- فرمولاسیون سس کچاپ

مواد مورد نیاز	مقدار (%)
رب	۲۰
سرکه ۵٪	۳
نمک	۱/۵
شکر	۹
شربت گلوکز	۵/۴
نشاسته ۵٪	۱
گوار	۰/۱۳

برای تهیه سس ابتدا رب و سرکه توسط میکسر به شدت مخلوط شده و پس از آن بقیه مواد افزوده شده و به خوبی مخلوط گردید. جهت تلقیح سلول پروبیوتیک ۱CC از سوسپانسیون میکروبی که معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند (۱۰۸ cfu/g) است به ظروف استریل حاوی ۱۰CC نمونه‌های سس افزوده شد. جهت افزودن اسانس‌های گیاهی به فرمولاسیون سس کچاپ، هر کدام از اسانس‌ها به میزان

جدول ۲- نتایج حداقل غلظت بازدارندگی اسانس آویشن شیرازی بر باکتری باسیلوس کوآگولانس

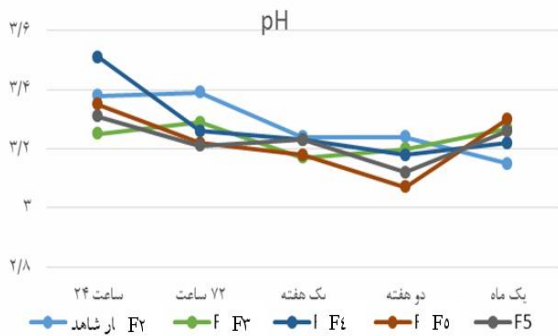
غلظت اسانس %	شاهد *	کنترل منفی رشد	+/01	+/02	+/03	+/04	+/05
-/+	+	-	+	+	+	-	-

*: محیط دارای DMSO و باکتری و فاقد اسانس + : نشاندهنده رشد باکتری - : نشاندهنده عدم رشد باکتری

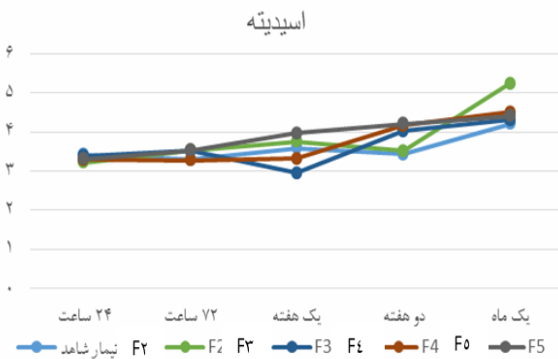
جدول ۳- نتایج حداقل غلظت بازدارندگی اسانس رزماری بر باکتری باسیلوس کوآگولانس

غلظت اسانس %	شاهد *	کنترل منفی رشد	+/01	+/02	+/03	+/04	+/05
-/+	+	-	+	+	+	-	-

*: محیط دارای DMSO و باکتری و فاقد اسانس + : نشاندهنده رشد باکتری - : نشاندهنده عدم رشد باکتری



نمودار ۱- یافته‌ها در pH (تیمار شاهد: سس کچاپ بدون اسانس و باکتری. F۲: سس کچاپ بدون اسانس و دارای باکتری F۳: سس کچاپ دارای آویشن شیرازی و باکتری. F۴: سس کچاپ دارای رزماری و باکتری. F۵: سس کچاپ دارای آویشن شیرازی و رزماری و باکتری)



نمودار ۲- یافته‌ها در اسیدیته (تیمار شاهد: سس کچاپ بدون اسانس و باکتری. F۲: سس کچاپ بدون اسانس و دارای باکتری F۳: سس کچاپ دارای آویشن شیرازی و باکتری. F۴: سس کچاپ دارای رزماری و باکتری. F۵: سس کچاپ دارای آویشن شیرازی و رزماری و باکتری)

نتایج حداقل غلظت بازدارندگی رشد مربوط به اسانس آویشن شیرازی بر باکتری باسیلوس کوآگولانس نشان داد که در غلظت ۰/۰۳٪ اسانس آویشن شیرازی، باکتری رشد بسیار کمتری نسبت به غلظت‌های کمتر از آن را داشت پس به عنوان MIC اسانس آویشن شیرازی در نظر گرفته شد. اسانس رزماری در غلظت ۰/۰۳٪، تا حدودی از رشد باکتری ممانعت به عمل آورده بود، پس به عنوان MIC اسانس رزماری مطرح شد.

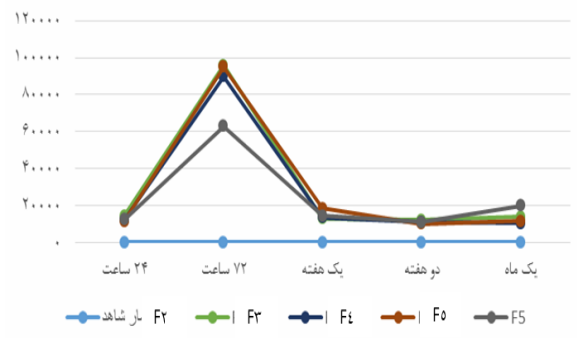
بررسی pH و اسیدیته

طبق آزمون دانکن در سنجش pH، کلیه تیمارها بجز تیمار دارای اسانس آویشن شیرازی و باکتری (F۳) با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) دارند و همچنین بین تمامی زمان‌ها از نظر pH اختلاف معنی‌داری ($P < 0/05$) وجود دارد. به طوری که میزان pH با افزایش زمان کاهش پیدا کرده است. در سنجش اسیدیته تیمارهای بدون اسانس و دارای باکتری (F۲) و تیمار دارای اسانس آویشن شیرازی و رزماری و باکتری (F۵) با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند اما با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) دارند همچنین بین تمامی زمان‌ها اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) وجود دارد و با افزایش زمان آزمایش میزان اسیدیته افزایش پیدا کرده است. نمودار این آزمون‌ها در زیر آمده است.

بررسی شمارش میکروبی

طبق آزمون دانکن در شمارش میکروبی نشان می‌دهد که تمامی تیمارها با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) دارند. همچنین تمامی تیمارها با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) دارند بطوری که تمامی تیمارها شمارش بیشتری نسبت به شاهد داشته‌اند همچنین تمامی زمان‌ها با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) دارند، بطوری که بجز ساعت ۷۲ تمامی زمان‌ها شمارش رو به کاهش است.

آزمون میکروبی

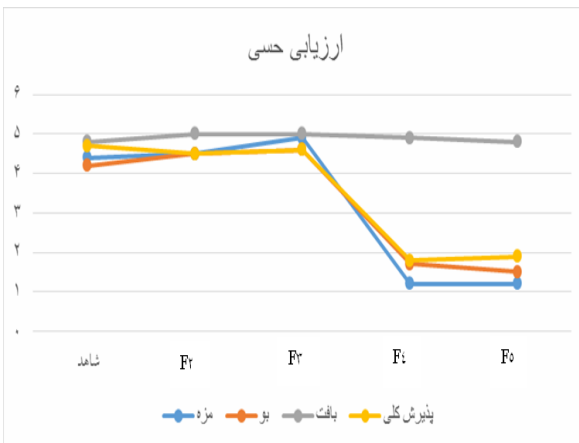


نمودار ۳- یافته‌ها در شمارش میکروبی (تیمار شاهد: سس کچاپ بدون اسانس و باکتری. F۲: سس کچاپ بدون اسانس و دارای باکتری F۳: سس کچاپ دارای آویشن شیرازی و باکتری. F۴: سس کچاپ دارای رزماری و باکتری. F۵: سس کچاپ دارای آویشن شیرازی و رزماری و باکتری) در شمارش میکروبی تمامی زمان‌ها با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) دارند، بطوری که بجز ساعت ۷۲ تمامی زمان‌ها شمارش رو به کاهش است.

بررسی ارزیابی حسی

آزمون دانکن نشان می‌دهد که از نظر مزه بجز تیمار بدون اسانس و دارای باکتری (F۲) کلیه تیمارها با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) دارند. تیمارهای دارای رزماری و باکتری (F۴) و دارای آویشن شیرازی و رزماری و باکتری (F۵) با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند اما به طرز معنی‌داری از سایر تیمارها امتیاز کمتری را از نظر مزه کسب کرده‌اند و تیمار (F۵) به طرز معنی‌داری ($P < 0/05$) از نظر بو امتیاز کمتری را نسبت به سایر تیمارها کسب کرده است. این در

حالی است که تیمار دارای آویشن شیرازی و باکتری (F۳) و تیمار بدون اسانس و دارای باکتری (F۲) امتیاز بیشتری از شاهد دارند. از نظر بافت، تیمار دارای آویشن شیرازی و رزماری و باکتری (F۵) با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری ندارند اما به طرز معنی‌داری ($P < 0/05$) امتیاز کمتری را از نظر بافت نسبت به سایر تیمارها کسب کرده‌اند. از نظر پذیرش کلی بجز تیمار دارای آویشن شیرازی و باکتری (F۳) کلیه تیمارها با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری ($P < 0/05$) دارند. تیمارهای دارای رزماری و باکتری (F۴) و دارای آویشن شیرازی و رزماری و باکتری (F۵) با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ($P < 0/05$) ندارند اما به طرز معنی‌داری از سایر تیمارها امتیاز کمتری را از نظر پذیرش کلی کسب کرده‌اند.



نمودار ۴- یافته‌ها در ارزیابی حسی (تیمار شاهد: سس کچاپ بدون اسانس و باکتری. F۲: سس کچاپ بدون اسانس و دارای باکتری F۳: سس کچاپ دارای آویشن شیرازی و باکتری. F۴: سس کچاپ دارای رزماری و باکتری. F۵: سس کچاپ دارای آویشن شیرازی و رزماری و باکتری)

نتایج ارزیابی حسی نمونه‌های سس بیانگر این بود که اسانس آویشن شیرازی از نظر مزه و بو و پذیرش کلی به طور چشم‌گیری موفقیت‌آمیزتر از اسانس رزماری و همچنین هر دو اسانس همزمان با هم در نمونه‌های سس است. بنابراین اسانس آویشن شیرازی علاوه بر این که یک نگهدارنده طبیعی بسیار خوب با اثر ضد میکروبی زیاد بر باکتری‌ها می‌باشد از نظر مصرف‌کنندگان نیز مورد پذیرش واقع شده است.

بحث

سال ۱۳۹۲ مطابقت داشت. گذشت زمان، pH کاهش یافته و اسیدیته افزایش یافت. این تغییر می‌تواند در نتیجه فعالیت باکتری پروبیوتیک مورد استفاده و تولید اسید لاکتیک توسط آندر سس کچاپ می‌باشد (۱۸ و ۵،۲).

موسوی و همکارانش در سال ۱۳۹۳ به بررسی ماندگاری باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5 و تاثیر آن بر برخی خواص کیفی سس مایونز کم چرب پروبیوتیک پرداختند. هدف از این تحقیق در درجه اول، بررسی امکان بقای باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5 در سس مایونز کم چرب با نگهدارنده و بدون نگهدارنده و در درجه بعد، ارزیابی تاثیر گذار بودن حضور این باکتری‌ها بر ویژگی‌های میکروبیولوژیکی، شیمیایی و پایداری بافتی محصول طی نگهداری ۸ هفته‌ای در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بود. جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5 از ۱۰۷ به $2/2 \times 10^7$ افزایش یافت (۵). این در حالی است که با وجود توانایی تولید اسپور توسط باکتری پروبیوتیک استفاده شده در این تحقیق، شمارش آنها در زمان نگهداری کاهش یافت و در برخی از تیمارها تقریباً پس از ۷۲ ساعت ثابت شد. ثابت بودن آن می‌تواند به دلیل تشکیل اسپور در این باکتری و مقاومت در برابر موانع موجود و شرایط سس کچاپ باشد. در مقایسه با برخی از مواد غذایی مشابه مانند سس مایونز که حضور روغن در فرمولاسیون نیز می‌تواند تا حدی باعث محافظت باکتری شود انتظار می‌رود زنده ماندن پروبیوتیک‌ها در سس کچاپ پایین تر باشد. کاهش تعداد باسیلوس کوآگولانس در انتهای دوره نگهداری نسبت به روز اول می‌تواند ناشی از مرگ تدریجی سلول‌های آسیب دیده در زمان نگهداری باشد. به علاوه در راستای تحقیق Jafari در ۲۰۱۷ که در اثر پختن سوسیس‌ها تعداد باکتری‌های پروبیوتیکی در آن ۳-۴ واحد لگاریتمی کاهش داشته است (۱۲)، در این تحقیق نیز بخشی از کاهش تعداد باکتری‌ها می‌تواند به دلیل حرارت پاستوریزاسیون سس کچاپ باشد.

در بین ترکیبات مختلف نشان داده شده است که روغن‌های اساسی استخراج شده از گیاهان دارویی دارای فعالیت‌های ضد میکروبی بارزی می‌باشند و می‌توانند به عنوان عوامل ضد میکروبی طبیعی در برابر پاتوژن‌های غذا مورد استفاده قرار گیرند. در همین راستا، همانطور که در تحقیقات دیگر نشان داده شده، کارواکرول و تیمول دو جزء اصلی ترکیبات سازنده اسانس آویشن شیرازی را تشکیل می‌دهند. Amin و همکاران در تحقیق خود بیان داشتند که اسانس روغنی آویشن شیرازی خاصیت ضد میکروبی خوبی را از خود نشان می‌دهد و استافیلوکوکوس اورئوس در برابر آن حساس بوده است و MIC مربوط به این باکتری ۰/۳۹ mg/ml بوده است در صورتیکه در مورد اشرشیا کلی و باسیلوس سرئوس، MIC ۰/۷۸ mg/ml بوده است که این نشان می‌دهد استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به اسانس روغنی آویشن شیرازی حساس‌تر می‌باشد. نتایج این تحقیق در راستای پژوهش‌های پیشین می‌باشد با این تفاوت که اسانس آویشن شیرازی تاثیر ضد میکروبی شدید تری بر باکتری باسیلوس کوآگولانس دارد که می‌تواند به دلیل وجود ترکیبات فنلی نظیر تیمول و کارواکرول باشد. یکی از ویژگی‌های مهم اسانس‌های گیاهی خاصیت هیدروفوبیک بودن آنهاست که موجب نفوذ این مواد به لیپیدهای غشاء سلول باکتری و میتوکندری می‌گردد. وجود غشاء خارجی در باکتری‌های گرم منفی سبب محدودیت انتشار اجزاء هیدروفوبیک اسانس می‌گردد بنابراین معمولاً باکتری‌های گرم مثبت حساسیت بیشتری نسبت به اسانس‌های گیاهی دارند. سلول پروبیوتیک انتخاب شده در این تحقیق اگرچه باکتری گرم مثبت می‌باشد، اما به دلیل توانایی تشکیل اسپور مقاومت نسبی در برابر اسانس نشان داد (۸).

نتایج pH و اسیدیته با نتایج Yoon و همکارانش در ۲۰۰۴، موسوی و همکاران در سال ۱۳۹۳ و ضیایی و همکاران در

بر باکتری‌های پاتوژن. مجله علوم و صنایع غذایی ایران، ۷(۵): ۹۵۵-۹۴۹.

۲- ضیایی، ا.، اسکندری، م.ه.، امانی، ا.، شاد، ا.، مردانی، ا. (۱۳۹۲): تولید ماست پروبیوتیک کم چرب با استفاده از باکتری باسیلوس کوآگولانس و بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی و میکروبی آن. بیست و یکمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی، شیراز، دانشگاه شیراز.

۳- گنجوری، م.، مهربان، ص.، اخوان‌سپهی، ع. (۱۳۹۱): غنی‌سازی نان‌های حجیم با باسیلوس‌های بالقوه پروبیوتیک (باسیلوس کوآگولانس). مجله زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس، ۳(۱): ۳۷-۴۶.

۴- ملکوتیان، م.، حاتمی، ب. (۱۳۹۲): بررسی ترکیب شیمیایی و خواص ضد باکتریایی اسانس رزماری بر اثرشیاکلی و تعیین سنتتیک آن. فصلنامه علمی پژوهشی دانشکده بهداشت یزد، ۱۲(۱): ۸۹-۸۲.

۵- موسوی، م.، تاج‌آبادی ابراهیمی، م.، پور احمد، ر. (۱۳۹۳): بررسی ماندگاری باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5 و تاثیر آن بر برخی خواص کیفی سس مایونز کم چرب پروبیوتیک. نشریه نوآوری در علوم و فناوری غذایی، ۶(۴): ۹۷-۹۱.

۶- هاشمی، م.، قیصری، ح. ر.، شکر فروش، ش. (۱۳۹۲): بررسی بقای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و باسیلوس کوآگولانس در بستنی‌های پروبیوتیک و سین بیوتیک کم چرب. مجله بهداشت مواد غذایی، ۳(۱۱): ۶۵-۵۷.

7- Alda, L.M., Gogoasa, I., Bordean, D.M., Gergen, I., Alda, S., Moldovan, C., Nita, L. (2009): Lycopene content of tomatoes and tomato products. J. Agroalhmnt. Processes Technol. 15(4):540-542.

8- Amin, M., Kalantar, E., Mohammad-Saeid, N., Ahsan, B. (2010): Anti-bacterial effect and physicochemical properties of essential oil of Zataria multiflora Boiss, Asian. Pac. J. Trop. Med. 3(6): 439-442.

9- Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., Scher, J. (2011): Encapsulation of probiotic living cells: from laboratory scale to industrial applications. J. Food Eng., 104: 467-483.

همچنین می‌توان اینگونه اظهار داشت که سس کچاپ به دلیل pH پایین، محدودیت آب آزاد به دلیل استفاده از ترکیبات هیدروکلئید در فرمولاسیون و اعمال فرآیند حرارتی، محیط مناسبی برای بقای این باکتری نبوده است. علاوه بر آن بررسی‌ها نشان داده است حضور نمک طعام می‌تواند اثرات ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی را تشدید کند.

یکی از محدودیت‌های استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی اثر نامطلوب آنها در ویژگی‌های ارگانولپتیک مواد غذایی است معمولاً استفاده همزمان از دو یا چند اسانس گیاهی به دلیل امکان استفاده از غلظت‌های پایین‌تر هر یک از اسانس‌ها و نیز اثر پوشانندگی طعم تا اندازه‌ای تغییرات نامطلوب ارگانولپتیک را کاهش می‌دهد.

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، اسانس آویشن شیرازی و اسانس رزماری به عنوان دو نگهدارنده طبیعی دارای اثر بازدارندگی مناسبی بر روی باکتری‌ها می‌باشند و جایگزین مناسبی برای نگهدارنده‌های شیمیایی محسوب می‌شوند. با این وجود استفاده از این ترکیبات در مدل‌های مختلف غذایی نیاز به تحقیقات بیشتری دارد. اسانس آویشن شیرازی نسبت به رزماری اثر ضد میکروبی بیشتری داشته و همچنین بیشتر مورد پسند مصرف کنندگان واقع شد. باکتری پروبیوتیکی باسیلوس کوآگولانس، در مقایسه با سایر پروبیوتیک‌های رایج مقاومت بیشتری داشته و پس از گذشت یک ماه در سس کچاپ به طور کامل از بین نرفته بود اما تعداد باکتری به کمتر از 10^6 cfu/ml رسید که کمتر از تعداد لازم باکتری در فراورده‌های پروبیوتیک می‌باشد. بنابراین سس کچاپ حامل مناسبی برای باکتری‌های پروبیوتیکی محسوب نمی‌شود.

فهرست منابع

۱- شهینا، م.، خاکسار، ر. (۱۳۹۱): بررسی اثرات ضد میکروبی و روش‌های تعیین حداقل غلظت بازدارندگی اسانس‌های گیاهی

- 10- Cutting, S.M.(2011): Bacillus probiotics. Food Microbiol. 28(2): 214-220.
- 11- Endres, J.R., Clewell,A., Jade,K.A., Farber,T., Hauswirth,J., Schauss,A.G. (2009): Safety assessment of a proprietary preparation of a novel probiotic, Bacillus coagulans, as a food ingredient. Food Chem. Toxicol. 47(6): 1231-1238.
- 12- Jafari,M., Mortazavian,A., Hosseini,H., Safaei,F., Mousavi Khaneghah,A., Santana,A. (2017): Probiotic Bacillus: Fate during sausage processing and storage and influence of different culturing conditions on recovery of their spores. Food Res. Int. 95: 46-51.
- 13- Krasaekoopt,W., Watcharapoka,S. (2014): Effect of addition of inulin and galactooligosaccharide on the survival of microencapsulated probiotics in alginate Beads coated with chitosan in simulated digestive system. Yogurt and fruit juice. LWT- - Food Sci. Technol. 57(2): 761-766.
- 14- Majeed,M., Kamarei,R. (2012): Prebiotics / Probiotics: Bacillus coagulans: probiotic of choice. NutraCos, B5 srl. 19-21.
- 15- Mirzaei,H., Pourjafar,H., Homayouni,A. (2012): Effect of calcium alginate and resistant starch microencapsulation on the survival rate of Lactobacillus acidophilus La 5 and sensory properties in Iranian white brined cheese. Food chem. 132: 1966-1970.
- 16- Sudha,M.R., Chauhan,P., Dixit,K., Babu,S., Jamil,K. (2010): Molecular typing and probiotic attributes of a new strain of Bacillus coagulans –unique IS-2: a potential biotherapeutic agent. Genet. Eng. Biotechnol. J.7: 1-20.
- 17- Wang,W., Li,N., Luo,M., Zu,Y., Effert,T.(2012): Antimicrobial activity and Anticancer of Rosmarinus officinalis L. essential oil compared to that of its main components. Molecules. 17(3): 2704-2713.
- 18- Yoon, K.Y., Woodams, E.E., Hang, Y.D. (2004): Probiotication of tomato juice by lactic acid bacteria. J. Microbiol. 42(4): 315-318.
- 19- Dolin, B.J. (2009): Effects of a proprietary Bacillus coagulans preparation symptoms of diarrhea a predominant irritable bowel syndrome. Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol. 31(10): 655-659.