

مطالعه اثر ضد میکروبی اسانس پونه کوهی (*Mentha longifolia*) بر باکتری

## سالمونلا انتریتیدیس در سس مایونز

شقایق قربانی<sup>۱\*</sup>، لیلا روزبه نصیرایی<sup>۲</sup>، محمدحسن جوری<sup>۳</sup>

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد صنایع غذایی، واحد نور، دانشگاه آزاد اسلامی، مازندران، ایران.

۲. گروه علوم و صنایع غذایی، واحد نور، دانشگاه آزاد اسلامی، مازندران، ایران.

۳. گروه علوم و منابع طبیعی، واحد نور، دانشگاه آزاد اسلامی، مازندران، ایران.

\*نویسنده مسؤل: Sh.ghorbani87@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۶/۲۸

## چکیده

امروزه تمایل زیادی به استفاده از اسانس‌های گیاهی به عنوان نگهدارنده‌های طبیعی در مواد غذایی وجود دارد. بررسی فعالیت ضد میکروبی آنها در مدل‌های غذایی برای دستیابی به غذایی ایمن و سالم رو به افزایش است. پونه کوهی گیاهی از تیره نعناعیان دارای ترکیبات ضد میکروبی کارواکرول و تیمول است که در اسانس حاصل از این گیاه یافت می‌شود. هدف از این تحقیق بررسی خاصیت ضد میکروبی اسانس پونه کوهی و امکان کاربرد آن به عنوان ماده نگهدارنده طبیعی و طعم دهنده در سس مایونز می‌باشد. در این مطالعه اثر ضد میکروبی غلظت‌های مختلف (۱۲۵۰، ۲۵۰۰، ۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ پی‌پی‌ام) اسانس پونه کوهی بر سالمونلا انتریتیدیس موجود در سس مایونز در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد طی ۳۰ روز نگهداری مورد ارزیابی قرار گرفت. آزمایشات به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و توسط نرم افزار SPSS آنالیز شد. نتایج نشان داد اثر ضد میکروبی اسانس پونه کوهی در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد نسبت به دمای ۴ درجه سانتیگراد بیشتر بوده ( $P < 0.05$ ) و این اثر با افزایش غلظت اسانس در نمونه‌ها افزایش یافت. بیشترین تاثیر اسانس در غلظت ۱۰۰۰۰ پی‌پی‌ام در هر دو دما بود، این در حالی بود که با افزایش غلظت اسانس در نمونه‌ها به طور محسوسی از مقبولیت حسی ماده غذایی کاسته شد. باتوجه به نتایج ارزیابی حسی و آزمون میکروبی، غلظت ۱۲۵۰ پی‌پی‌ام اسانس در نمونه سس مایونز توانست نتایج مطلوبی در کاهش تعداد باکتری تا ۶ لگاریتم و پذیرش حسی بدست آورد.

واژگان کلیدی: اسانس، پونه کوهی، نگهدارنده، سس مایونز، سالمونلا انتریتیدیس.

## مقدمه

(۱۳۹۰). به منظور جلوگیری از رشد باکتری‌های بیماری‌زا و فسادزا در مواد غذایی از افزودنی‌های شیمیایی مختلف استفاده می‌شود که امروزه بدلیل اثرات نامطلوبشان از جمله سرطان‌زایی، سمیت و ایجاد مقاومت در میکروب‌ها، اکثر مصرف کنندگان مواد غذایی، خواستار استفاده از

علی‌رغم وجود تکنیک‌های بسیار گسترده نگهداری مواد غذایی، پاتوژن‌های غذا هنوز به عنوان یک مشکل بزرگ در صنعت مواد غذایی مطرح می‌باشند (محمودی و همکاران،

آنتی‌اکسیدانی گونه‌های متعدد این گیاه به خوبی مشخص شده است (محمودی و همکاران، ۱۳۹۰).

سس‌ها یکی از محصولات پر مصرف خوراکی در سراسر دنیا هستند که در کشورهای مختلف با ذائقه‌های متفاوت مورد مصرف‌اند. در سال‌های اخیر استفاده از سس‌ها به عنوان چاشنی در بهبود عطر و طعم، مزه، رنگ و به عنوان عامل اشتهاآور در کنار غذاها بسیار مورد توجه قرار گرفته است (دباغ و همکاران، ۱۳۹۰). سس مایونز از امولسیون‌های غذایی و از نوع روغن در آب (O/W)<sup>۲</sup> بوده و به عنوان یک چاشنی در غذاهایی مانند انواع ساندویچ و سالاد موجب طعم مطلوب می‌شود (استاندارد شماره ۲۹۶۵). آلودگی به سالمونلا از طریق پرندگان یا محصولات آنها بخصوص از طریق پوست تخم مرغ ایجاد می‌شود (ضابطیان حسینی، ۱۳۸۹). چون در فرایند تولید سس مایونز از دما برای سالم سازی فرآورده استفاده نمی‌شود پس لازم است به وسیله ترکیبات شیمیایی نگهدارنده مانند بنزوات سدیم<sup>۳</sup> و سوربات پتاسیم<sup>۴</sup> از رشد میکروب‌ها در شرایط نگهداری سس ممانعت شود که این ترکیبات تاثیرات سرطان زایی بر سلامت انسان دارد (برزگر و همکاران، ۱۳۸۹). بنابراین ارتقاء سطح سلامت و کیفیت این فرآورده از اهداف تولیدکنندگان می باشد.

از ویژگی‌های مهم اسانس‌ها و اجزاء تشکیل دهنده آنها خاصیت آبگریزی آنها می‌باشد که موجب نفوذ این مواد به لیپیدهای غشاء سلول باکتری و میتوکندری‌ها شده و سبب اختلال در ساختمان آنها و ایجاد نفوذپذیری بیشتر می‌گردد. این مسئله موجب خروج و نشت یون‌ها و دیگر محتویات سلولی به بیرون می‌شود. اگرچه خروج مقادیر محدود این مواد برای باکتری قابل تحمل است ولی در قابلیت زیستی

نگهدارنده‌های طبیعی مشتق از منابع گیاهی، حیوانی و میکروبی هستند تا علاوه بر افزایش زمان ماندگاری غذا از اثرات زیان‌بار نگهدارنده‌های شیمیایی مصون باشند. از جمله ترکیبات طبیعی که امروزه به‌طور فزاینده‌ای در مواد غذایی مورد بررسی و استفاده قرار گرفته، اسانس‌ها، ادویه‌ها و گیاهان می‌باشند که نه تنها مانع رشد میکروب‌ها می‌شوند بلکه به عنوان طعم دهنده در مواد غذایی کاربرد فراوانی دارند (پژوهی و همکاران، ۱۳۸۹). ادویه‌جات، گیاهان دارویی و اسانس‌ها و عصاره‌های آنها درجات متنوعی از فعالیت زیستی را دارا می‌باشند. از میان ۷۰ ادویه‌ای که رسماً به عنوان افزودنی‌های غذایی شناخته شده‌اند، فعالیت ضد میکروبی تعداد زیادی از آنها به اثبات رسیده است (محمودی و همکاران، ۱۳۹۰). گیاه پونه کوهی از اعضاء خانواده لامیناسه<sup>۱</sup> بوده و به صورت یک گیاه چند ساله می‌باشد. این جنس شامل بیش از ۲۵ گونه است و به صورت وحشی در مناطق مرطوب نواحی مرکزی و جنوب اروپا، جنوب غربی آسیا و شمال آفریقا می‌روید. ساقه‌های این گیاه بصورت چند ساله برافراشته بوده که در مراحل نهایی بلوغ گیاه به طول ۱۵۰ سانتی متر می‌رسد. برگ‌های آن به صورت ساده و چسبیده (بدون پایه) به ساقه، به طول ۹۹ میلی متر و عرض ۲۲ میلی‌متر می‌باشد. همچنین این گیاه واجد گل‌های کوچک (به طول ۳ میلی متر) به رنگ سفید متمایل به ارغوانی روشن می‌باشد. از قسمتهای مختلف این گیاه در ترکیب ادویه تجاری به عنوان طعم دهنده در غذا استفاده می‌شود (پژوهی و همکاران، ۱۳۸۹). خصوصیات درمانی این گیاه در برطرف کردن اختلالات گوارشی، استفراغ، بی‌اشتهایی، کولیت اولسراتیو و اختلالات کبدی به اثبات رسیده است. همچنین خصوصیات ضد میکروبی و

<sup>۲</sup>-Oil in water

<sup>۳</sup>- Sodium benzoate

<sup>۴</sup>- Potassium sorbate

<sup>۱</sup>Laminacea

میکروارگانیسم تلقیح شده است ( Skandamis et al., 2002). در مطالعه‌ای اسانس‌های پونه کوهی و جوز هندی بر روی باکتری‌های *اشریشیا کولی* O157:H7، لیستریامونوسیتوژنز و *یرسینیا آنتروکولیتیکا* در جوجه کباب آماده پخت بررسی شد. اسانس‌های پونه کوهی و جوز هندی به ترتیب با غلظت‌های ۰/۶ و ۱۰ میکرولیتر در هر لیتر اثر مهاری علیه این باکتری‌ها داشتند. نتایج نشان داد بر خلاف اثر ممانعت‌کنندگی اسانس‌های مورد بررسی روی باکتری‌های مورد نظر در محیط کشت، این اسانس‌ها در نمونه‌های جوجه کبابی تأثیر چندانی از خود نشان ندادند (shekarforoush et al., 2007). در تحقیقی اثر ضد-باکتریایی عصاره آویشن باغی بر *سالمونلا انتریتیدیس* موجود در سس مایونز در دو دمای نگهداری یخچال و محیط (۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد) طی مدت زمان ۳۰ روز مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاکی از این بود که افزایش درصد عصاره آویشن از صفر به ۰/۴ درصد در سس مایونز منجر به کاهش معنی‌دار در تعداد باکتری *سالمونلا انتریتیدیس* در طی زمان نگهداری شد (ضابطیان حسینی و همکاران، ۱۳۸۹).

در این پژوهش سعی شده از اسانس پونه کوهی به عنوان جایگزین نگهدارنده‌های شیمیایی (بنزوات و سوربات) در سس مایونز مورد استفاده قرار گیرد و اثر ضد میکروبی آن بر باکتری *سالمونلا انتریتیدیس* در دماهای ۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد طی مدت ۳۰ روز نگهداری و اثر اسانس پونه کوهی بر خواص حسی سس مورد ارزیابی قرار گیرد.

### مواد و روش کار

گیاه پونه کوهی در اواخر بهار سال ۱۳۹۳ از منطقه کوهستانی طالقان چیده شد. نمونه جمع آوری شده شامل تمام اندام‌های گیاه بود و سپس به قسمت هر بارپوم<sup>۵</sup> دانشگاه

آن اثر گذاشته و خروج مقادیر وسیع محتویات سلولی یا خروج یون‌ها و ملکول‌های حیاتی موجب مرگ سلول خواهد شد (Burt, 2004). به طور کلی هر چه مقدار مواد فنولیک در اسانس بالاتر باشد، خواص ضد میکروبی آن‌ها علیه پاتوژن‌های غذایی بیشتر خواهد بود. این ترکیبات شامل کارواکرول، اوژنول و تیمول می‌باشند. مکانیسم اثر این ترکیبات هم مانند سایر ترکیبات فنولی شامل موارد زیر می‌باشد: اختلال در غشاء سیتوپلاسمی، بر هم زدن نیروی حرکت پروتونی و جریان الکتریکی، انعقاد محتویات سلول (Tajkarimi et al., 2010). پونه کوهی به دلیل داشتن خواص ضد میکروبی شامل تیمول و کارواکرول باعث جلوگیری از رشد باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی، کپک و مخمر می‌شود (چمنی، ۱۳۹۳). در ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره متانولی و اسانس پونه کوهی نشان داده شد که تأثیر ضد میکروبی اسانس پونه کوهی بیشتر از عصاره متانولی آن می‌باشد (Gulluce et al., 2007).

وجود باکتری *سالمونلا انتریتیکا* زیر شاخه *سالمونلا انتریتیدیس* در سس مایونز تولید شده به روش صنعتی که با تخم مرغ آلوده شده به *سالمونلا* تهیه شده بود مورد بررسی قرار گرفت (Lock et al., 1994). شیوع مسمومیت غذایی توسط *سالمونلا* از طریق مصرف مایونز خانگی توسط رادرفورد و بورد گزارش شده است (Butler., 2009). در پژوهشی اثر اسانس پونه کوهی و قابلیت نفوذ فیلم روی رفتار *سالمونلا تیفی* موربوم در فیله گوشت استریل و فیله گوشت آلوده شده نگهداری شده در ۵ درجه سانتیگراد تحت شرایط هوازی، بسته بندی، اتمسفر تعدیل شده و بسته بندی در خلا بررسی شد. در نمونه‌های فاقد اسانس میکروارگانیسم بیماری‌زا تحت همه شرایط زنده می‌ماند. افزودن اسانس پونه کوهی در غلظت ۰/۸٪ (حجمی / وزنی) موجب کاهش ۱ تا ۲ سیکل لگاریتمی از جمعیت میکروبی گوشت با

<sup>۵</sup>-Herbarium

برای تعیین MIC از روش میکروداپلوشن<sup>۱۰</sup> استفاده شد. به منظور ایجاد یک امولسیون پایدار و ممانعت از دو فاز شدن اسانس روغنی از دی متیل سولفوکساید<sup>۱۱</sup> (DMSO) با غلظت ۱۰ درصد استفاده شد. غلظت‌های اسانس مورد مطالعه ۱۲۵۰، ۲۵۰۰، ۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ پی‌پی‌ام بود. کنترل مثبت (سوسپانسیون باکتری + محیط کشت مولر هینتون برات + DMSO ۱۰ درصد) و کنترل منفی (اسانس + محیط کشت مولر هینتون برات + رینگر) در هر مرحله آزمایش در نظر گرفته شد. سپس کلیه رقت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه قرار داده شد. از روی کدورت به روش چشمی MIC مشخص شد. حداقل غلظتی که ایجاد حالت عدم رشد یا عدم کدورت مشهود در مقایسه با گروه کنترل کند به عنوان MIC تعیین گردید. در این مرحله برای تعیین MBC از رقت‌هایی که در آنها کدورت خاصی ایجاد نشده بود به میزان ۱۰۰ میکرولیتر با روش پخش یکنواخت در محیط نوترینت آگار کشت داده و پس از ۴۸-۲۴ ساعت گرمخانه گذاری نتایج به صورت رشد یا عدم رشد بررسی گردید (پژوهی الموتی و همکاران، ۱۳۸۹).

#### تهیه تیمارها

تولید سس مایونز در شرایط آزمایشگاهی و به طور کاملاً استریل (تخم مرغ‌ها شسته و پوسته آن با اتانول آغشته شد، ادویه‌ها قبل از مصرف زیر اشعه فرابنفش به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت و تمامی ظروف هم قبل از مصرف توسط اتوکلاو استریل شدند) انجام گرفت. ۱ عدد تخم‌مرغ به همراه ۳۰ سی‌سی سرکه داخل همزن ریخته، در حین هم زدن ۳۰۰ میلی‌لیتر روغن آرام به محتوی داخل همزن اضافه و ادویه‌های مصرفی هم افزوده و تا زمان بدست آمدن غلظت مناسب هم زده شد. مقدار ۱۰۰ گرم از سس تولید شده را برای آزمون ارزیابی حسی جدا کرده و به ۴۰۰ گرم مابقی ۱

نور منتقل شد. جهت شناسایی نوع گونه از فلور رنگی (قهرمان، ۱۳۸۷) و نیز فلور فارسی: تیره نعنایان (جم‌زاد، ۱۳۹۱) استفاده شد. الکل اتانول ۹۹ درصد، اسید سولفوریک، مولر هینتون آگار، نوترینت آگار و محیط کشت اختصاصی سالمونلا شیگلا آگار<sup>۶</sup> (SSA) از شرکت مرک آلمان و سوش خالص سالمونلا / انتریتیدیس pt4 از موسسه رازی کرج تهیه شد. مواد اولیه جهت تهیه سس مایونز به روش آزمایشگاهی شامل تخم مرغ، روغن مایع، نمک، فلفل و سرکه است.

#### اسانس‌گیری

به منظور استخراج اسانس گیاه پونه کوهی، گیاه به مدت ۷ روز در سایه و در دمای محیط خشک گردید. بخش‌های خشک شده کاملاً آسیاب شد و با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۵ ساعت به روش تقطیر با آب اسانس آن استخراج شد. سپس با سولفات سدیم آگیری شد و تا هنگام تعیین خواص ضدباکتریایی آن اسانس در ظروف شیشه‌ای تیره و در دمای یخچال نگهداری شد (قاسمی و همکاران، ۱۳۹۲).

#### تهیه سوسپانسیون باکتریایی

برای تهیه سوسپانسیون میکروبی نیاز به کشت ۲۴ ساعته از هر باکتری است. بنابراین ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش، از کشت ذخیره به محیط کشت نوترینت آگار تلقیح انجام شد. بعد از کشت و ۲۴ ساعت انکوباتورگذاری در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد، سوسپانسیون غلیظ میکروبی معادل cfu/ml<sup>۸</sup> ۱۰\*۲/۴ به روش مک فارلند<sup>۷</sup> تهیه شد (ضابطیان حسینی و همکاران، ۱۳۸۹).

تعیین میزان حداقل غلظت مهارکنندگی رشد<sup>۸</sup> (MIC) و حداقل میزان کشندگی<sup>۹</sup> (MBC)

<sup>۶</sup>-Salmonella Shigella Agar

<sup>۷</sup>-Mc Farland

<sup>۸</sup>-Minimum Inhibitory Concentration

<sup>۹</sup>-Minimum Bactericidal Concentration

<sup>۱۰</sup>-Microdilution

<sup>۱۱</sup>-Dimethyl Sulfoxid

ها توسط نرم افزار SPSS و رسم نمودارها توسط نرم افزار Excel انجام گرفت (ضابطیان حسینی و همکاران، ۱۳۸۹).

### نتایج

#### نتایج آزمون میکروبی

نتایج بدست آمده در آزمایش رقت لوله غلظت‌های مورد نظر اسانس برای بررسی نهایی ۱۲۵۰، ۲۵۰۰، ۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ پی‌پی‌ام در نظر گرفته شد که اسانس با غلظت ۱۲۵۰ پی‌پی‌ام به عنوان MIC و غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام به عنوان MBC شناخته شد.

در این پژوهش اثر ضدباکتریایی اسانس پونه‌کوهی بر *سالمونلا* / *انتریتیدیس* موجود در سس مایونز به مدت ۳۰ روز نگهداری در دو دمای یخچال و محیط (۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد) مورد ارزیابی قرار گرفت. روند تغییر تعداد باکتری *سالمونلا* / *انتریتیدیس* در سس مایونز حاوی درصد‌های مختلف اسانس پونه‌کوهی در طول نگهداری در نمودار ۱ نشان داده شده است. هر ستون نشان دهنده نمونه سس با غلظتی مشخص از اسانس و اثر آن در کاهش تعداد باکتری طی میانگین در ۳۰ روز نگهداری می‌باشد. آنالیز داده‌ها نشان داد تعداد باکتری *سالمونلا* / *انتریتیدیس* در نمونه‌های سس حاوی درصد‌های مختلف اسانس با نمونه شاهد از نظر آماری اختلاف معنی‌داری وجود دارد ( $p < 0/05$ ). با افزایش غلظت اسانس پونه‌کوهی میزان جمعیت باکتری *سالمونلا* / *انتریتیدیس* در نمونه سس کاهش پیدا کرد.

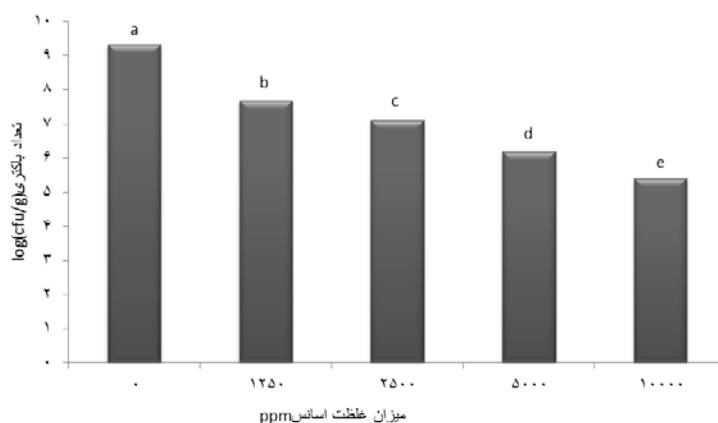
میلی‌لیتر سوسپانسیون میکروبی اضافه شد. جمعیت میکروبی در نمونه آزمایش سس به  $10^8 \text{ cfu/g} \times 2/4$  شد. وزن مشخصی از سس (۲۰ گرم) را داخل ظروف استریل ریخته سپس در هر یک از ظروف به جز نمونه‌های شاهد، اسانس پونه‌کوهی (۱۲۵۰، ۲۵۰۰، ۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ پی‌پی‌ام) اضافه شد. ظروف نمونه‌ها کدگذاری و در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. کشت میکروبی از روز اول بلافاصله پس از تهیه تیمارها انجام گرفت. شمارش تعداد باکتری‌ها بر اساس استاندارد ۱۸۱۰ سالمونلا انجام شد. مدت زمان گرمخانه‌گذاری ۳۰ روز بود و کشت میکروبی از روز اول بلافاصله بعد از تهیه تیمارها و بعد به فاصله زمانی ۵ روز یک بار از تمام نمونه‌ها انجام شد (ضابطیان حسینی و همکاران، ۱۳۸۹).

#### ارزیابی حسی

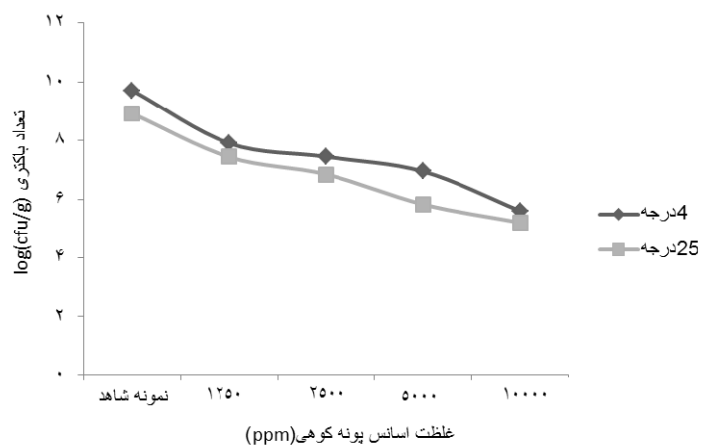
به منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف اسانس پونه‌کوهی بر خصوصیات حسی سس مایونز تست پانل به روش هدونیک پنج نقطه‌ای توسط ۱۰ نفر انجام گرفت. نمونه‌ها شامل نمونه شاهد، ۱۲۵۰، ۲۵۰۰، ۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ پی‌پی‌ام اسانس و موارد مورد بررسی شامل رنگ، طعم، بو، بافت و پذیرش کلی بود (ضابطیان حسینی، ۱۳۸۹).

#### طرح آماری و آنالیز داده‌ها

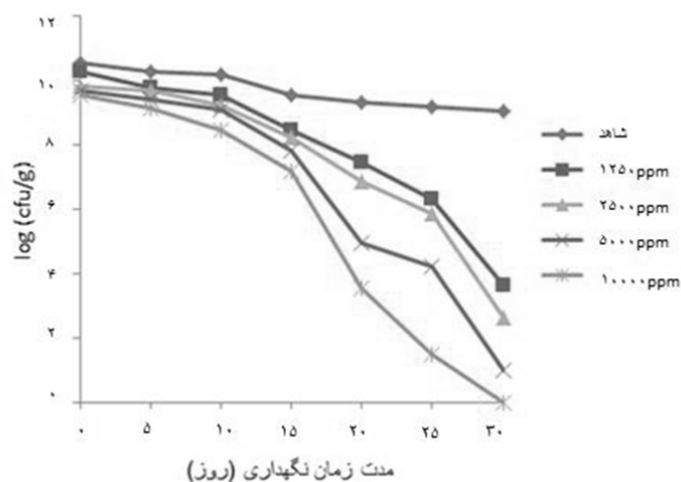
این پژوهش در قالب فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. تیمارهای آزمایش شامل سس مایونز حاوی اسانس پونه‌کوهی در ۵ سطح برای *سالمونلا* / *انتریتیدیس*، در دو دمای نگهداری ۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد بود. بررسی میانگین داده‌ها توسط آزمون دانکن، آنالیز داده-



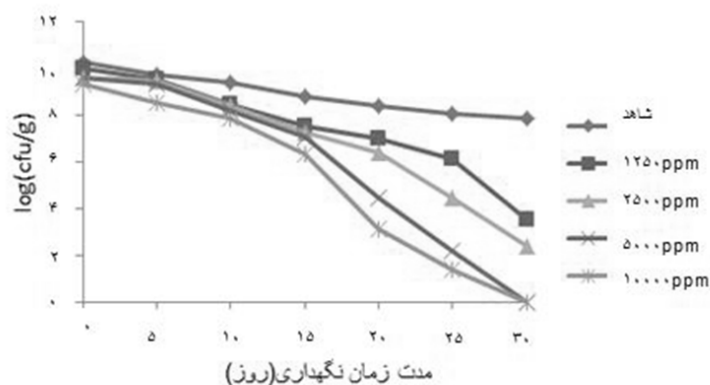
نمودار ۱- اثر غلظت‌های متفاوت اسانس پونه کوهی بر باکتری سالمونلا انتریتیدیس در سس مایونز طی میانگین ۳۰ روز نگهداری برای هر نمونه. حروف کوچک انگلیسی در هر ستون تفاوت بین میانگین‌های فاقد حروف مشترک معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0.05$ )



نمودار ۲- اثر غلظت‌های متفاوت اسانس پونه کوهی بر جمعیت سالمونلا انتریتیدیس در سس مایونز با میانگین از ۳۰ روز نگهداری هر نمونه در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد



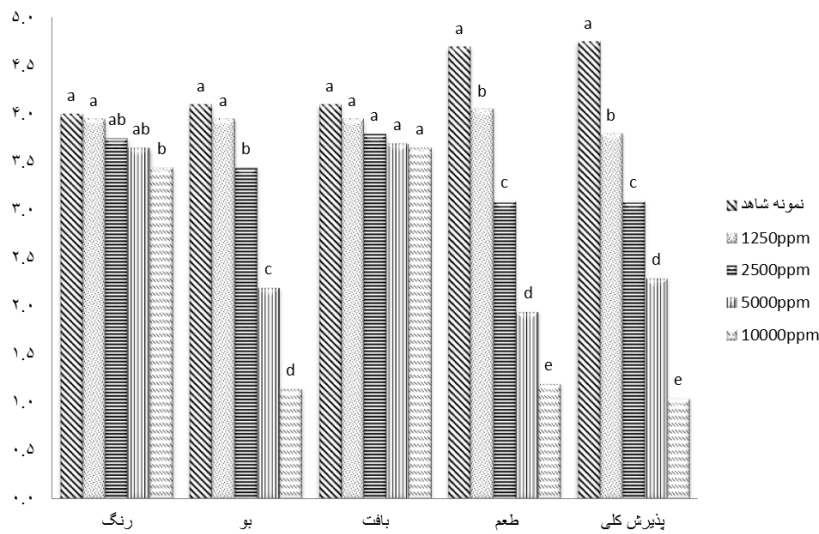
نمودار ۳- اثر غلظت‌های متفاوت اسانس پونه کوهی بر جمعیت باکتری سالمونلا/انتریتیدیس در سس مایونز در دمای نگهداری ۴ درجه سانتی‌گراد



نمودار ۴- اثر غلظت‌های متفاوت اسانس پونه کوهی بر تعداد سالمونلا/انتریتیدیس در سس مایونز در دمای نگهداری ۲۵ درجه سانتی‌گراد

دماهای بالا مثل ۲۵ درجه سانتی‌گراد خاصیت ضد میکروبی اسانس پونه کوهی بیشتر از ۴ درجه سانتی‌گراد بود.

نمودارهای ۴ تا ۶ نشان دهنده نقش دما و تاثیر مستقیم آن بر خاصیت ضد میکروبی اسانس پونه کوهی و در نتیجه کاهش جمعیت باکتری مذکور می‌باشد. به طوری که در



نمودار ۵- ارزیابی حسی سس مایونز حاوی غلظت‌های متفاوت اسانس پونه کوهی

#### نتایج ارزیابی حسی

در نمودار ۵ مشاهده می‌شود افزودن غلظت‌های متفاوت اسانس پونه کوهی به سس مایونز با وجود تاثیری که در کاهش بار میکروبی سس گذاشت اما نتیجه نامطلوبی بر برخی پارامترهای حسی داشت. بین نمونه شاهد فاقد اسانس با نمونه‌های سس حاوی غلظت‌های متفاوت اسانس در پارامترهایی چون رنگ، بو و طعم اختلاف معنی دار وجود دارد ( $P < 0/05$ ) و این تفاوت با افزایش غلظت اسانس در نمونه بیشتر شده به طوری که در پارامترهای مورد ارزیابی قرار گرفته، نمونه با میزان اسانس بیشتر کمترین مقبولیت را بین پانلیست‌ها داشته و این به خاطر بوی تند و شدید حاصل از اسانس و همچنین طعم تلخ اسانس بوده که باعث ایجاد طعم ناخوشایندی در نمونه سس می‌شود. همچنین رنگ اسانس استخراج شده متمایل به رنگ زرد بود که باعث تغییر اندکی در رنگ نمونه سس شد و به دلیل تمایل مصرف کننده به مصرف سس سفید رنگ امتیاز کمتری کسب کرده است.

#### بحث

امروزه توجه به سلامت غذا و ارائه راهکارهایی جهت سلامت و محافظت هر چه بیشتر مواد غذایی ضروری به نظر می‌رسد. کنترل پاتوژن‌های غذا بوسیله محصولات و ترکیبات مشتق شده از گیاهان کاربرد گسترده‌ای پیدا کرده است. امروزه بیشتر مطالعه‌ها در جهت جداسازی و شناخت ترکیبات اسانس‌ها و بررسی فعالیت ضد میکروبی آنها در مواد غذایی بدون تاثیر نامطلوب در ارزش تغذیه‌ای و حسی می‌باشد. تاکنون مطالعات وسیعی در زمینه اثر ضدباکتریایی شماری از اسانس‌های گیاهان بر روی باکتری‌های منتقله از مواد غذایی انجام شده است. بطور کلی مطالعات صورت گرفته روی اسانس‌های گیاهی نشان داده است که اسانس‌ها فاز تأخیری رشد باکتریایی را طولانی کرده در حالی که سرعت رشد در فاز لگاریتمی را کاهش می‌دهند عملکرد آنها از یک ساز و کار واحد تبعیت کرده که مربوط به تجمع آنها در دو لایه لیپیدی غشا سلول و تخریب ساختار آن می‌باشد (Valero and Giner., 2006).



در بررسی حاضر نتایج بدست آمده نشان دهنده اثر کشندگی اسانس پونه کوهی بر باکتری *سالمونلا انتریتیدیس* در مدل غذایی سس مایونز می‌باشد. نتایج نشان داد با افزایش غلظت‌های اسانس پونه کوهی در سس مایونز از جمعیت باکتری *سالمونلا انتریتیدیس* کاسته می‌شود. افزودن این اسانس منجر به کاهش معنی‌دار بار میکروبی نمونه‌های سس مایونز حاوی اسانس پونه کوهی نسبت به نمونه شاهد شد ( $p < 0.05$ ). پونه کوهی به دلیل داشتن عوامل ضد میکروبی شامل تیمول و کارواکرول باعث جلوگیری از رشد باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی، کپک و مخمر می‌شود (Iscan et al., 2002). بکارگیری اسانس پونه کوهی در دمای بالاتر (۲۵ درجه سانتیگراد) در مقایسه با دمای ۴ درجه سانتیگراد اثر بهتری بر عملکرد فعالیت ضد میکروبی اسانس داشت. علت آن فرار گرفتن باکتری در فاز لگاریتمی رشد خود در دمای ۲۵ درجه می‌باشد در نتیجه حساسیت باکتری به تغییرات محیطی بیشتر می‌شود (Fisher et al., 2006)، بنابراین ترکیبات ضد میکروبی اسانس پونه کوهی اثر بیشتری بر روی باکتری می‌گذارد، اما در دمای ۴ درجه سانتیگراد چون باکتری در مرحله خفته می‌باشد به دلیل تغییر در غشای باکتری میزان نفوذ مواد ضد میکروبی اسانس کمتر می‌شود (Tassou et al., 2000). در همین راستا لاک و همکاران (1995) در مطالعه خود بقایای *سالمونلا انتریتیدیس* در انواع مختلف سس مایونز (پرچرب، کم چرب و پر کالری) بررسی کردند و نتایج نشان داد که دمای ۴ درجه سانتیگراد نسبت به دمای ۲۴ درجه سانتیگراد اثر کمتری بر کاهش جمعیت *سالمونلا* داشت (Lock et al., 1995).

در استفاده از اسانس‌های گیاهی به عنوان مواد ضد باکتریایی در مواد غذایی، اثرات ارگانولپتیک آنها نیز باید مورد توجه قرار گیرد. در تحقیق انجام گرفته توسط ضابطیان حسینی و همکاران، (۱۳۸۹) اثر اسانس آویشن باغی بر خواص حسی سس مایونز بررسی کردند، بجز پارامتر رنگ، تاثیر نامطلوبی بر سایر خواص حسی سس مایونز نداشت. پژوهی الموتی و همکاران (۱۳۸۹) در مطالعه خود اسانس پونه کوهی را در سوپ بررسی کرده و به نتایج مطلوبی دست یافتند. بررسی‌ها نشان می‌دهد غلظت ۰/۰۵ درصد اسانس پونه کوهی در فیله ماهی کاد ایجاد طعم مشخص ولی مطلوب می‌کند که بتدریج و طی نگهداری در دمای ۲ درجه سانتیگراد کاهش پیدا می‌کند (پژوهی الموتی و همکاران، ۱۳۸۹). اگرچه بسیاری از اسانس‌ها و مواد موثره آنها به عنوان مواد خوراکی ایمن پذیرفته شده‌اند اما به علت طعمی که به مواد غذایی می‌بخشند استفاده از آنها محدود و در برخی موارد قابل پذیرش نمی‌باشد (شهتیا و همکاران، ۱۳۸۹). با توجه به تاثیرات نامطلوب حسی اسانس در غلظت‌های بالا، به کارگیری همزمان طعم دهنده‌های مناسب ماده غذایی برای ایجاد خواص حسی مطلوب مصرف کننده ضروری به نظر می‌رسد. همین‌طور بدلیل تفاوت در حساسیت باکتری‌های مختلف نسبت به اسانس‌ها و اثر ترکیبات مواد غذایی بر روی کارایی اسانس‌ها، مطالعات بیشتری جهت کاربردی نمودن استفاده از اسانس‌ها در مواد غذایی لازم است (محمودی و همکاران، ۱۳۸۹).

از آنجایی که غلظت ۱۲۵۰ پی‌پی‌ام اسانس پونه کوهی توانسته تا روز ۱۵ نگهداری با غلظت‌های بالاتر برابری کرده و در روز ۳۰ نگهداری تا ۶ لگاریتم تعداد باکتری را کاهش دهد و تاثیر نامطلوبی بر خواص حسی سس مایونز نداشت می‌توان تاثیر آن را در سس بدون باکتری (نمونه شاهد) هنگام جایگزین شدن با سوربات و نیترات طی مدت زمان نگهداری سس مایونز (۶ ماه) بررسی کرد.

منابع

۱. برزگر، حسن، کرباسی، احمد، جمالیان، جلال و لاری، محمودامین. (۱۳۸۷). بررسی امکان استفاده از کیتوزان به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در سس مایونز. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، سال دوازدهم، شماره ۴۳ (ب). صفحات ۹-۲.
۲. پژوهی‌الموتی، محمدرضا، تاجیک، حسین، آخوندزاده، افشین، گندمی، حسن، احسانی، علی و شکوهی‌ثابت-جلالی، فرنود. (۱۳۸۹). ارزیابی ترکیبات شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی اسانس پونه کوهی و دانه زیره سبز به تنهایی و توأم با نایسین. مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و یکم، شماره ۴، صفحات ۳۳۱-۳۲۴.
۳. جم‌زاد، زیبا. (۱۳۹۱). فلور فارسی ایران، تیره نعنایان. انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، صفحات ۶۱-۵۷.
۴. دباغ، نیلو، حسینی، ابراهیم، شعبانی، شاهرخ و علیمی، مزدک. (۱۳۹۰). بررسی امکان استفاده از نایسین و دی استات سدیم به عنوان نگهدارنده‌های طبیعی در نگهداری سس فرانسوی. مجله پژوهش‌های صنایع غذایی، جلد ۹، شماره ۳. صفحات ۳۹-۴۶.
۵. ضابطیان حسینی، فاطمه، مرتضوی، علی، فضل‌بزاز، بی-بی صدیقه، کوچکی، آرش و بلوریان، شادی. (۱۳۸۹). بررسی اثر ضد میکروبی عصاره آویشن باغی بر سالمونلا انتریتیدیس موجود در سس مایونز. نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، جلد ۶، شماره ۲، صفحات ۸۴-۹۰.
۶. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۱). ویژگی‌ها و روش‌های آزمون میکروبیولوژی سس مایونز و سس سالاد. استاندارد شماره ۲۹۶۵.
۷. شهتیا، مریم و خاکسار، رامین. (۱۳۹۱). بررسی اثرات ضد میکروبی و روش‌های تعیین حداقل غلظت بازدارندگی اسانس‌های گیاهی بر باکتری‌های پاتوژن. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، سال هفتم، شماره ویژه ۵، صفحات ۹۵۵-۹۴۹.
۸. قاسمی، وحید، محرمی پور، سعید و طهماسبی، غلامحسین. (۱۳۹۲). تأثیر اسانس پونه کوهی بر روی سرعت مرگ و میر کنه واروا و زنبور عسل اروپایی. فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، جلد ۲۹، شماره ۱، صفحات ۳۴-۲۶.
۹. قهرمان، احمد. (۱۳۸۷). فلور رنگی ایران. انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، صفحات ۹۹-۸۶.
۱۰. محمودی، رزاق، تاجیک، حسین، فرشید، امیرعباس، احسانی، علی، زارع، پیمان و مرادی، مهران. (۱۳۹۰). تعیین ترکیبات شیمیایی و اثرات ضد میکروبی اسانس پونه کوهی علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، دوره ۱۶، شماره ۵. صفحات ۴۱۲-۴۰۰.
11. BURT, S. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods. *J Food Microbiol.* 94: 223-253.
12. Caroline Butler, J. 2009. The effects of electrostatic polarization ultra-violet light filters on the bioaerosols of a commercial broiler processing plant hang room. *Food Control.* 18: 1562-1568.
13. Fisher, K. and Phillips, C.A. 2006. The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157,

- Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* in vitro and in food systems. *J Appl Microbiol.* 101: 1232-1240.
14. Gulluce, M., Sahin, F., Sokmen, M., Ozer, H., Daferera, D. and Sokme, A. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *Longifolia*. *J Food Chem.* 103: 1449-56.
  15. Hathcox, A., Beuchat, L. R., and Doyle, M.P. 1995. Death of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in real mayonnaise and reduced-calorie mayonnaise dressing as influenced by initial population and storage temperature. *J Environl Microbiol.* 61: 4172-4177.
  16. Iscan, G., Kirimer, N., Kurkcuglu, M., Baser, KH. And Demirci, F. 2002. Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. *J Agric Food Chem.* 50: 3943-6.
  17. Lock, J.L. and Board, R.G. 1994. The fate of *Salmonella enteritidis* PT4 in deliberately infected commercial mayonnaise. *J Food Microbiol.* 11: 499-504.
  18. Lock, J.L. and Board, R.G. 1995. The fate of *Salmonella enteritidis* PT4 in home-made mayonnaise prepared from artificially inoculated eggs. *J Food Microbiol.* 12: 181-186.
  19. Riahi, L., Elferchichi, M., Ghazghazi, H., Jebali, J., Ziadi, S., Aouadhi, Ch., Chograni, H., Zaouali, Y., Zoghliami, N. and Mliki, A. 2013. Phytochemistry, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of *Mentha rotundifolia* L. *Food Control.* 49: 883-889.
  20. Shekarforoush, S.S., Nazer, A.H.K., Firouzi, R. and Rostami, M. 2007. Effects of storage temperatures and essential oils of oregano and nutmeg on the growth and survival of *Escherichia coli* O157:H7 in barbecued chicken used in Iran. *Food Control.* 18: 1428-1433.
  21. Skandamis, P., Tsigarida, E. and Nychas, G. J. 2002. The Effect of oregano Essential oil on Survival/Death of *Salmonella Typhimurium* in Meat stored at 5°C under Aerobic, VP/MAP Condition. *J Food Microbiol.* 19: 97-103.
  22. Smith, P., Stewart, J. and Fyfe, L. 1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *J Food Microbiol.* 26: 118-122.
  23. Tajkarim, M.M., Ibrahim, S.A., Cliver, D.O. 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control.* 21: 1199-18.
  24. Tassou, C., Koutsoumanis, K. and Nychas, G.J.E. 2000. Inhibition of *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus* in nutrient broth by mint essential oil. *J Food Res Int.* 33: 273- 280.
  25. Valero, M. and Giner, M.J. 2006. Effects of antimicrobial components of essential oils on growth of *Bacillus cereus* INRA L2104 in and the sensory qualities of carrot broth. *International J Food Microbiol.* 106: 90-94.

## The antimicrobial effects of *Mentha longifolia* L. essential oil on *Salmonella enteritidis* in mayonnaise sauce

Ghorbani Sh<sup>1\*</sup>, Rouzbeh-nasiraei L<sup>2</sup>, Juri MH<sup>3</sup>

1. MSc Student of Food Science and Tecnology, Nour Branch, Islamic Azad University, Mazandaran, Iran.
2. Department of Food Science and Tecnology, Nour Branch, Islamic Azad University, Mazandaran, Iran.
3. Department of Agriculture Science and natural Researches, Nour Branch, Islamic Azad University, Mazandaran, Iran.

\*Corresponding author: [Sh.ghorbani87@yahoo.com](mailto:Sh.ghorbani87@yahoo.com)

Received: 22 December 2015

Accepted: 19 September 2015

### Abstract

Now adays, there is a considerable tendency to use herbal essential oil as natural preservatives in foods and nutrition. Studies of their antimicrobial impact in the food models to achieve a safe and healthy food is growing. *Mentha longifolia* plant of the *Laminacea* family has antimicrobial compounds, Carvacrol and Thymol which are found in the essential oil of this plant. The aim of this study is to survey and evaluate the antimicrobial activity of essential oils of *Mentha longifolia* and the possibility of its application as a natural preservative and flavor in mayonnaise. In this study, the antimicrobial effect of different concentrations (1250, 2500, 5000 and 10000 ppm) *Mentha longifolia* essential oil on *Salmonella enteritidis* in mayonnaise at 4 and 25 °C were evaluated in 30 days. Factorial experiments in a completely randomized design, with three repetitions were analyzed by SPSS software. The results showed that the antimicrobial effect of “essential oil of oregano” at 25 °C is higher than 4 °C ( $p<0.05$ ) and this effect increased by increasing the density of oil in the samples. The greatest impact of the essential oil concentration was 10000 ppm at both temperatures. While the increase in essential oil concentration in the samples, the sensory acceptability of food was reduced considerably. According to the results of sensory evaluation and microbial tests, the concentration of 1250 ppm oil in mayonnaise samples, have favorable results in reducing the number of bacteria up to 6 logarithms and gain a sensory of acceptance.

**Keywords:** Essential oil, Preservative, *Mentha longifolia*, Mayonnaise, *Salmonella enteritidis*.