بررسی اثر ضد میکروبی عصاره سیر بر باکتری‌های *Staphylococous aureus* و *Escherichia coli* در مدل غذایی گوشت مرغ آماده طبخ

مریم رنجبر[a*]، انوشه شریفان[b]، شاهرخ شعبانی[c]، مهدی امین افشار[d]

[a] کارشناس ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه مهندسی کشاورزی- علوم و صنایع غذایی، تهران، ایران
[b] استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، تهران، ایران
[c] مربی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، تهران، ایران
[d] استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: 1392/3/20 تاریخ پذیرش مقاله: 1392/5/15

چکیده

مقدمه: در حال حاضر نگه دارنده‌های شیمیایی به منظور افزایش زمان ماندگاری و حفظ کیفیت، به طور متداول در مواد غذایی مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرند. از آنجائیکه اثرات جانبی این نگه دارنده‌ها به طور کامل شناخته شده نمی‌باشد و همچنین به علت مضرات احتمالی استفاده مداوم آن‌ها در مواد غذایی، کاربرد نگه دارنده‌های طبیعی رو به افزایش است. در این تحقیق از عصاره سیر به عنوان نگه دارنده طبیعی با خواص ضد میکروبی و اثرات مطلوب حسی در گوشت مرغ آماده طبخ، استفاده شده است.

مواد و روش‌ها: ابتدا تعیین حداقل غلظت بازدارنگی عصاره سیر (MIC) به روش رقیق سازی در محیط آگار، بر روی باکتری گرم منفی *Escherichia coli O157:H7 ATCC* 35218 و باکتری گرم مثبت *Staphylococous aureus PTCC* 1431 در محیط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. جهت مشخص شدن اثر ضد میکروبی عصاره و ویژگی‌های حسی آن در ماده غذایی، غلظت‌های مختلف عصاره سیر (0،6،7،8 ، 10 mg/ml) در گوشت مرغ آماده طبخ در فواصل زمانی 24، 48، 72 ساعت و 1هفته مورد بررسی قرار گرفت و همچنین اثر افزودن عصاره سیر بر ویژگی‌های حسی گوشت مرغ بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان می‌دهد که عصاره سیر اثر ضد میکروبی قابل توجهی بر روی باکتری‌های مورد بررسی دارد، به گونه‌ای که MIC مربوط به باکتری‌های *Escherichia coli O157:H7* و *Staphylococous aureus* در محیط آزمایشگاهی در مورد عصاره سیر 7 mg/ml می‌باشد. ثابت گردید که استفاده از غلظت‌های مناسب عصاره سیر (8 mg/ml و 7) در گوشت مرغ آماده طبخ، علاوه بر کاهش فلور میکروبی مرغ در سطح معناداری ($p< 0/05$) بر روی طعم، مزه و به طور کلی خصوصیات ارگانولپتیک آن اثر مثبتی گذاشته و می‌تواند موجب افزایش زمان ماندگاری گوشت مرغ آماده طبخ گردد.

نتیجه‌گیری: بررسی حاضر نشان داد که غلظت‌های مناسب عصاره سیر (8 mg/ml و 7) موجب کم شدن میزان این دو پاتوژن مهم در گوشت مرغ می‌گردند، لذا می‌توان از عصاره سیر به عنوان یک نگهدارنده طبیعی که بر خصوصیات ارگانولپتیک محصول نهایی نیز اثر مثبت دارد، در فرایند تولید گوشت مرغ آماده طبخ استفاده نمود و ماندگاری این محصول را افزایش داد. غلظت‌های بالاتر از عصاره سیر (10 mg/ml) با آنکه اثر ضد میکروبی شدیدتری داشته است، اما بر خصوصیات حسی اثر نامطلوبی را برجا گذاشت.

واژه‌های کلیدی: *حداقل غلظت بازدارندگی(MIC)، خصوصیات ارگانولپتیک، عصاره سیر، گوشت مرغ آماده طبخ*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: mariam.ranjbar@yahoo.com

jftn.srbiau.ac.ir

مقدمه

بیشتر مواد غذایی فسادپذیر هستند و در درجه حرارت‌های پایین نگه داری می‌شوند و یا گاهی اوقات تحت اتمسفر اصلاح شده بسته‌بندی می‌گردند تا زمان ماندگاری شان افزایش یابد. اما این موارد قادر به حذف میکروارگانیسم‌های نا مطلوب از این محصولات نمی‌باشند. در نتیجه استفاده از مواد نگه دارنده طبیعی که خاصیت ضد میکروبی دارند، امروزه در صنعت غذا جای مخصوصی را به خود اختصاص داده است (Holley & Patel, 2004).

همچنین مواد غذایی در طول مراحل آماده‌سازی، نگه‌داری و توزیع نیاز به حفاظت دارند تا فاسد نشوند. از آنجائیکه امروزه مواد غذایی در مکان‌های دورتری از محل تولید به فروش می‌رسند، افزایش زمان ماندگاری آن‌ها پر اهمیت‌تر می‌گردد. در مورد گوشت مرغ، دام‌ها از منابع متعددی در مزرعه آلودگی را دریافت می‌کنند و این آلودگی در طول فراوری، پخش و منتقل می‌گردد. مهمترین مراحلی که در انتقال آلودگی نقش دارند عبارتند از مراحل شستشو با آب، پر کنی و خارج کردن محتویات شکمی. در ضمن انتقال بیشتر آلودگی می‌تواند در طول حمل و نقل در سوپر مارکت‌ها و آشپزخانه‌ها رخ دهد. فرآیند حرارتی ناکافی اجازه زنده ماندن میکروارگانیسم‌ها را می‌دهد و نگه‌داری در دمای نامناسب (بالای صفر درجه) شرایط را برای تکثیر باکتری‌ها فراهم می‌نماید (Bryan & Doyle, 1995). البته حفظ زنجیره سرمایی از محل تولید تا محل فروش می‌تواند موثر باشد اما این امر به تنهایی نمی‌تواند از فساد کلیه مواد غذایی جلوگیری نماید. به همین دلایل استفاده از مواد نگه دارنده مرسوم شده است اما بحث ایمنی این نگه دارنده‌ها همچنان مورد سوال است (Holley & Patel, 2004).

با توجه به آثار جانبی استفاده از ترکیبات نگه دارنده سنتزی و به منظور کاهش مخاطرات سلامتی و هزینه‌های اقتصادی، استفاده از مواد طبیعی نظیر اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی به عنوان ترکیبات ضدباکتریایی برای کنترل باکتری‌های پاتوژن و افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. از آنجائیکه ترکیبات فوق دارای نقشی ارزشمند در بهبود طعم و ویژگی‌های ارگانولپتیک محصولات غذایی می‌باشند، استفاده از آن‌ها در فرآوری مواد غذایی بسیار سود مند است (Oussalah *et al*., 2005).

سیر (*Allium sativum L.*) از دسته سبزی‌های پیازی است که از لحاظ غذایی و دارویی اهمیت زیادی دارد. تصور می‌شود مرکز ژنتیکی آن آسیای مرکزی بوده است. ایران از لحاظ کشت و مصرف سیر قدمت طولانی دارد و سطح زیر کشت آن در حدود 10 هزار هکتار تخمین زده می شود. در حال حاضر حدود6 نوع فرآورده دارویی و بهداشتی از سیر با مجوز رسمی وزارت بهداشت در بازار ایران موجود می‌باشد (بقالیان و همکاران، 1383).

آلیسین ماده موجود در عصاره سیر می‌باشد که دارای خصوصیات ضدمیکروبی است. آلیسین در فرم خالص دارای خواص ضد باکتریایی، در برابر رنج وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، خواص ضد انگلی، ضد قارچی و ضد ویروسی می‌باشد (Ankri & Mirelman, 1999).

سیر به عنوان ادویه و طعم دهنده قوی در صنایع غذایی شناخته می‌شود به همین دلیل در فرمولاسیون برخی از محصولات غذایی و یا به اشکال دیگر از جمله کنسرو سیر ترشی، سیر ترشی سفید، سیر خشک شده در دسترس می‌باشد. فراورده‌های گوشتی نمونه‌ای دیگر از فراورده‌های حاوی سیر می‌باشند. سیر در عمل آوری، بهبود قابلیت نگه داری، بهبود عطر و طعم فرآورده‌های گوشتی نقش به سزایی دارد (مقصودی، 1388).

تحقیقات زیادی در مورد اثر ضد میکروبی مواد طبیعی در گوشت مرغ صورت گرفته است از جمله اثر ضدمیکروبی اوژنول بر روی باکتری‌های *Listeria monocytogenes* و *Aeromonas hydrophila* در قطعات سینه گوشت مرغ (Hao *et al*., 1998). اثر اسانس روغنی پونه و جوز بر رشد و زنده مانی باکتری *E.coli O157:H7* در گوشت مرغ کبابی در ایران (Shekarforoush *et al*., 2007)، بررسی خصوصیات میکروبیولوژیکی و ارزیابی حسی گوشت مرغ نیمه پخته توسط چند ترکیب ضد میکروبی طبیعی (EDTA، لیزوزیم، اسانس رزماری و پونه) (Ntzimani *et al*., 2010)، بررسی اثر توام اسانس روغنی پونه و بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده بر افزایش زمان ماندگاری گوشت سینه مرغ تازه (Chouliara *et al*., 2007) صورت گرفته است.

jfn.srbiau.ac.ir

در گذشته خاصیت ضد لیستریایی عصاره آبی سیر (یزدان پناه، 1382) و اثر ضد میکروبی عصاره آبی سیر بر روی باکتری *E.coli* در دو نوع پنیر محلی به اثبات رسیده است (حاج نوروز علی، 1382) و اثر ضد میکروبی اجزاء تشکیل دهنده سیر در نوعی غذایی به نام Tom-Yum بر روی برخی از باکتری‌ها (Siripongvutikorn *et al.*, 2005) نیز گزارش شده است.

Escherichia coli O157:H7 باکتری گرم منفی است که برای اولین بار در سال 1982 به عنوان پاتوژن شناخته شده است و به عنوان عامل اصلی ورم خونی روده و ادرار خونی مورد توجه قرار دارد. عفونت‌های ناشی از این باکتری توسط غذای آلوده، آب آلوده و انسان منتشر می‌گردد (Moreira *et,al*. 2005). این باکتری نگرانی‌هایی را در سطح عمومی‌و جهانی بهداشت به همراه داشته است و به میزان زیادی در مواد غذایی گوناگون یافت شده است. اگر چه با انجام فرآیند پاستوریزاسیون و یا پخت بر روی مواد غذایی می‌توان تا حدودی اطمینان یافت که سلول‌های زنده حذف می‌شوند اما همیشه احتمال آلودگی مجدد وجود دارد (Burt, 2003).

استافیلوکوکوس‌ها باکتری‌های کوکسی، کروی، فاقد اسپور، فاقد کپسول و گرم مثبت بوده و آرایش آنها به صورت خوشه‌ای است و انواع بیماری‌زای آن کواگولاز مثبت می‌باشند (Elliot *et al.*, 2000). استافیلوکوکوس اورئوس می‌تواند انتروتوکسین تولید نماید و اگر این انتروتوکسین‌ها توسط مواد غذایی آلوده وارد بدن شوند موجب بروز علائم مسمومیت می‌گردند. در مطالعه‌ای توسط Normanno و همکاران در سال 2005 مشخص گردید که استافیلوکوکوسی‌های کوآگولاز مثبت و استافیلوکوکوس اورئوس در محصولات غذایی تولید شده موجود در سوپر مارکت‌های ایتالیا و سوآپ‌های برداشته شده از سطح نمونه‌های غذایی موجود در کارخانجات به مقدار قابل توجهی وجود داشته‌اند (Normanno *et al.*, 2005). حضور و رشد استافیلوکوکهای کوآگولاز مثبت در مواد غذایی موجب به مخاطره افتادن بهداشت عمومی می‌گردد. زیرا این باکتری‌ها سم آنتروتوکسین ترشح می‌کنند که در صورت بلع موجب مسمومیت غذایی می‌شود (بی‌نام، 1383).

در این تحقیق به بررسی اثر ضد میکروبی عصاره سیر بر روی باکتری‌های *Staphylococous aureus PTCC* 1431 و *Escherichia coli O157:H7 ATCC* 35218، که در فلور طبیعی گوشت مرغ وجود دارند پرداخته است و اثر این عصاره بر افزایش ماندگاری و خصوصیات ارگانولپتیک گوشت مرغ آماده طبخ بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

- جمع آوری، آماده‌سازی و عصاره‌گیری از گیاه سیر

گیاه سیر تازه همدان از بازار محلی شهر همدان تهیه گردید. نمونه‌های گیاهی تهیه شده در سایه و به دور از تابش نور خورشید، به مدت 4-3 روز خشک گردیدند و حبه‌های سیر جهت عصاره‌گیری با آسیاب به شکل خرد شده در آمدند. عصاره‌گیری توسط روش پرکولاسیون با حلال اتانول 96٪ به مدت 4 روز به کمک شیکر (HEIDOLPH UNIMAX2010) صورت گرفت. عصاره حاصله با صافی صاف و به کمک تبخیر کننده دوار (HEIDOLPH 4001) تحت شرایط خلاء تغلیظ گردید تا تمام حلال از عصاره جدا شد و راندمان w/w عصاره سیر، محاسبه گردید.

- آماده سازی میکروارگانیسم‌ها

آمپول لیوفیلیزه *Staphylococous aureus* 1431 *PTCC* از سازمان پژوهش‌های علمی‌و صنعتی ایران تهیه و در شرایط استریل و در زیر هود لامینار شکسته شد. سپس با استفاده از سمپلر حدود 0/5 میلی‌لیتر از محیط کشت مایع استریل مناسب (نوترینت براث) به آن اضافه شد تا سوسپانسیون باکتری حاصل شود. بخش اعظم سوسپانسیون حاصل شده از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، به محیط کشت مایع نوترینت براث انتقال یافت و مقدار کمی‌از سوسپانسیون نیز به محیط کشت Triptic soy agar که توسط سازمان پژوهش‌های علمی‌و صنعتی ایران در مورد این سویه پیشنهاد شده بود، منتقل شد و در دمای 37 درجه سانتی‌گراد به مدت 48 ساعت گرم‌خانه‌گذاری گردید. کشت تازه *ATCC* 35218

jfn.srbiau.ac.ir

Escherichia coli O157:H7، از دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شد.

از کلنی‌های تشکیل شده پس از چندین مرحله جداسازی و خالص سازی با روش‌های کشت خطی و با به کارگیری محیط‌های کشت اختصاصی هر باکتری، کشت خالص تهیه گردید و سپس جهت اطمینان بیشتر، باکتری‌ها پس از رنگ آمیزی گرم در زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفتندو در نهایت محیط کشت‌های مادر به منظور استفاده‌های بعدی تهیه و در یخچال نگه داری شدند.

- تهیه میزان تلقیح باکتریایی

جهت تهیه سوسپانسیون‌های میکروبی از استاندارد نیم مک فارلند استفاده گردید و سوسپانسیون میکروبی حاوی تعداد 10^8 باکتری در هر میلی‌لیتر تهیه شد. در ادامه جهت اطمینان از صحت تعداد باکتری‌ها، آزمون کنترلی انجام شد به این طریق که از سوسپانسیون میکروبی، رقت‌های مختلف تهیه شد و بر روی محیط کشت نوترینت آگار، کشت داده شد و به مدت 22-18 ساعت گرمخانه‌گذاری شد و سپس شمارش تعداد هر باکتری انجام گردید.پس از رقت‌سازی، حجم مناسب تلقیح که حاوی تعداد 10^6 باکتری بوده است، استفاده گردید. جهت تلقیح از سوسپانسیون تازه حاوی باکتری‌های جوان و فعال استفاده شد NCCLS standards and guidelines, (2006).

- تعیین حداقل غلظت بازدارندگی

جهت تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از روش رقیق سازی بر روی محیط آگار استفاده گردید، به منظور انحلال کامل عصاره در محیط کشت از حلال آلی دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) استفاده شد. پس از بستن محیط کشت، عمل تلقیح میکروارگانیسم‌ها توسط نقطه گذاری در مرکز محیط کشت توسط سمپلر صورت گرفت. محیط کشت محتوی 1٪ دی‌متیل سولفوکساید و فاقد اسانس و عصاره به عنوان کنترل مثبت رشد و محیط کشت محتوی 1٪ دی‌متیل سولفوکساید و دارای اسانس و عصاره اما بدون باکتری به عنوان کنترل منفی رشد در نظر گرفته شد. در انتها پلیت‌ها به مدت 48 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردیدند و شمارش کلیه آزمایشات در 3 تکرار انجام پذیرفت NCCLS (standards and guidelines, 2006).

- شرح فرآیند آماده سازی نمونه مرغ آماده طبخ

نمونه‌های سینه مرغ آماده طبخ از آشپزخانه مرکزی یکی از رستوران‌های معتبر شهر تهران تهیه گردید. سینه مرغ به صورت دستی چربی زدایی شده و سپس توسط دستگاه مخصوص (تندرایزر)کوبیده گردید تا قطر آن به حدود 1 سانتی متر رسید و در انتها قسمت‌های اضافی آن جدا شد و به شکل دایره در آمد. این محصول در مریناد مخصوص که حاوی روغن زیتون و انواع ادویه جات می‌باشد به مدت 3 – 2 ساعت در ظروف استیل قرار گرفت و سپس قطعات مرغ در مارینادغوطه ور شده و توسط دستگاه بسته‌بندی و وکیوم گردیدند و بلافاصله به آزمایشگاه انتقال یافتند. نمونه‌ها تا زمان شروع آزمایشات در یخچال‌های بالای صفر، تحت دمای 4 درجه سانتیگراد نگه داری شدند.

- بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره سیر در گوشت مرغ آماده طبخ

در ابتدا جهت مشخص شدن تاثیر عصاره سیر، شمارش کلی باکتری‌های گوشت مرغ پس از افزودن غلظت‌های 10 mg/ml، 8 ،7، 6 از عصاره سیر در بازه‌های زمانی 24، 48، 72 ساعت و یک هفته پس از تحویل نمونه‌ها، در محیط کشت پلیت کانت آگار صورت گرفت. دمای نگه‌داری 4 درجه سانتیگراد بوده است و برای کلیه تیمارها نمونه شاهد بدون افزودن عصاره سیر نیز در نظر گرفته شد. تمام آزمون‌ها در 3 تکرار صورت گرفت. سپس جهت مشخص شدن اثر ضدمیکروبی عصاره سیر بر میکروارگانیسم‌های مورد نظر، به دلیل آنکه میزان آلودگی نمونه‌های مرغ کم و مطابق استاندارد ملی ایران شماره 9714 بوده است (بی‌نام، 1386). سوسپانسیون‌های میکروبی به روش نیم مک فارلند تهیه شدند و در شرایط استریل به نمونه‌های مرغ تلقیح گردیدند، سپس تکه‌های مرغ در بسته‌های حاوی مارینادبا غلظت‌های مختلف عصاره قرار گرفتند و در شرایط استریل بسته بندی و وکیوم شدند. بسته‌های مرغ در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگه‌داری و در بازه‌های زمانی 24، 48، 72 ساعت و یک هفته مورد

jftn.srbiau.ac.ir

شمارش قرار گرفتند.

- ارزیابی حسی

جهت ارزیابی اثر عصاره سیر بر خصوصیات ارگانولپتیک (شامل طعم، بو و پذیرش کلی)، مرغ حاوی عصاره در غلظت‌های 10 mg/ml، 8 ،7 همراه با یک نمونه شاهد در رستوران توسط دستگاه، گریل شده و در شرایط یکسان توسط 12 پانلیست مورد ارزیابی قرار گرفت. غلظت‌هایی از اسانس و عصاره جهت ارزیابی حسی انتخاب شدند که خاصیت ضد میکروبی مناسبی را در محیط آزمایشگاهی از خود نشان داده بودند. نمونه‌ها به مدت 24 ساعت در مارینادِ مخصوص با غلظت‌های مختلف عصاره، در دمای 4 درجه سانتیگراد نگه داری شده و سپس در زمان برگزاری آزمون در رستوران توسط دستگاه به روش گریل و تحت حرارت مستقیم پخته شدند و بلافاصله جهت ارزیابی در اختیار پانلیست‌ها قرار گرفتند. جهت آزمون پانل بر روی هر صفت، از سیستم ارزیابی 5 رتبه‌ای استفاده گردید (شریفان، 1385).

- تجزیه و تحلیل آماری

تمامی‌داده‌ها در سه تکرار انجام گرفت و از نرم افزار SPSS 19 به منظور تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون دانکن در سطح معناداری 5٪ استفاده شد.

یافته‌ها

- راندمان استخراج عصاره سیر

محاسبه راندمان عصاره سیر به صورت وزنی/ وزنی (W/W) صورت گرفت و میزان آن 23/47٪ تعیین گردید.

- حداقل غلظت بازدارندگی عصاره سیر در محیط آزمایشگاه

حداقل غلظت بازدارندگی عصاره سیر در مورد هر دو باکتری‌ها 7 mg/ml بوده است.

- اثرات ضدمیکروبی عصاره سیر بر پاتوژن‌های مورد بررسی در مدل غذایی

جدول 1 اثر غلظت‌های مختلف عصاره سیر بر تعداد کلی میکروارگانیسم‌های مرغ آماده طبخ را نشان می‌دهد. طبق نتایج آماری کلیه غلظت‌های مورد استفاده عصاره سیر با نمونه شاهد در سطح 5٪ دارای اختلاف معنادار بوده اند و بیشترین اختلاف معنادار مربوط به نمونه حاوی غلظت 10 mg/ml از عصاره سیر می‌باشد. در این بین، غلظت‌های 7 mg/ml، 8 و 10 از عصاره با یکدیگر دارای اختلاف معنادار می‌باشند و اختلاف معنادار بین غلظت‌های 6 mg/ml و 7 مشاهده نشده است.

جدول 1- تعداد میکروارگانسیم‌ها در گوشت مرغ آماده طبخ در روز اول، دوم، سوم و هفتم - پس از تهیه نمونه‌ها در مورد غلظت‌های مختلف عصاره سیر در درجه حرارت 4 درجه سانتی‌گراد (میانگین ± خطا استاندارد)

تیمارها	تعداد میکروارگانیسم‌ها طی روزهای آزمون (Cfu/g)			
	روز 1	روز 2	روز 3	روز 7
شاهد (0)	$31/6 \pm 0/034^{D.a}$	$37/3 \pm 0/034^{C.a}$	$40/2 \pm 0/034^{B.a}$	$60 \pm 0/038^{A.a}$
نمونه+ 6 mg/ ml عصاره	$23/6 \pm 0/033^{C.b}$	$30/6 \pm 0/033^{C.b}$	$33 \pm 0/033^{B.b}$	$40 \pm 0/034^{A.b}$
نمونه+ 7 mg/ ml عصاره	$22 \pm 0/033^{Bb}$	$26/1 \pm 0/033^{B.b}$	$28/1 \pm 0/033^{B.b}$	$34 \pm 0/034^{A.b}$
نمونه+ 8 mg/ ml عصاره	$21/6 \pm 0/033^{A.c}$	$22 \pm 0/033^{A.c}$	$23/6 \pm 0/033^{A.c}$	$24/3 \pm 0/034^{A.c}$
نمونه+ 10 mg/ ml عصاره	$10 \pm 0/033^{A.d}$	$11 \pm 0/033^{A.d}$	$12/3 \pm 0/033^{A.d}$	$13/3 \pm 0/034^{A.d}$

* حروف کوچک غیر مشابه در هر ستون بیانگر اختلاف آماری معنی دار می‌باشد ($p< 0/05$).

** حروف بزرگ غیر مشابه در هر ردیف بیانگر اختلاف آماری معنی دار می‌باشد ($p< 0/05$).

*** برای محاسبه میزان کل آلودگی اعداد جدول ضرب 10^2 گردد.

jftn.srbiau.ac.ir

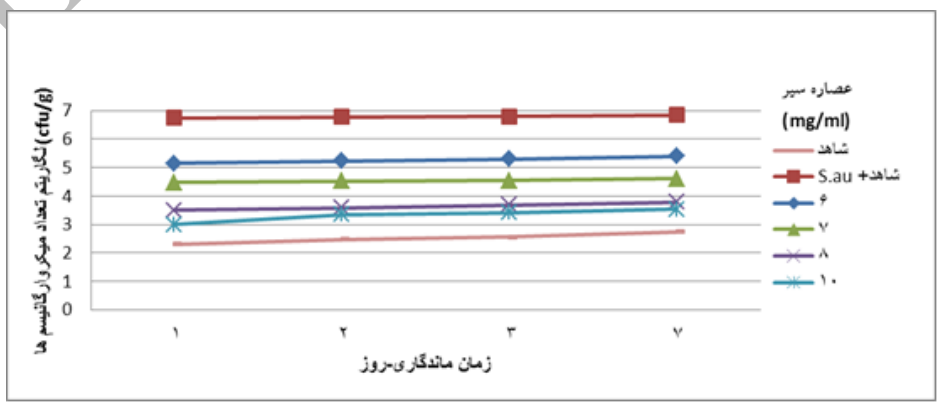
در مورد باکتری اشریشیا کلی، طبق نتایج آزمون دانکن، کلیه غلظت‌های عصاره سیر دارای اثر ضد میکروبی و اختلاف معنادار با نمونه شاهد + باکتری بوده‌اند. در این بین بیشترین اختلاف معنادار مربوط به غلظت 10mg/ml بوده است و بین نمونه‌ها 8 mg/ml و 7 اختلاف معنادار مشاهده نشده است. اما با توجه به نمودار شماره 2 با افزودن کلیه غلظت‌های عصاره سیر، کاهش قابل توجهی در تعداد اولیه باکتری، نسبت به نمونه شاهد مشاهده شده است.

در مورد اثر عصاره سیر بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، طبق نتایج آماری کلیه غلظت‌ها دارای اختلاف معنادار با نمونه شاهد + *S.au* بوده‌اند و با افزایش غلظت عصاره، این اختلاف بیشتر شده است، به گونه‌ای که موثرترین غلظت عصاره بر روی این باکتری 10 mg/ml می‌باشد. اما با استفاده از غلظت 7 mg/ml شاهد کاهش 2/25 سیکل لگاریتمی از تعداد باکتری بوده‌ایم که میزان قابل توجهی می‌باشد (نمودار 2).

- ارزیابی حسی

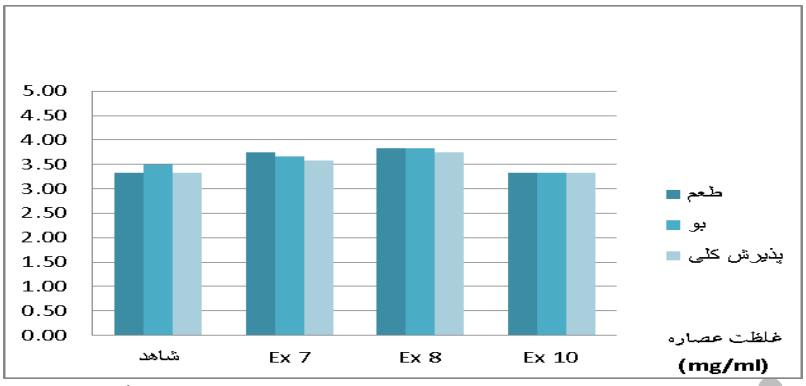
طبق نتایج آماری میانگین مربعات طعم، بو و پذیرش کلی، هیچ یک از نمونه‌ها، در سطح معناداری 5٪ با یکدیگر اختلاف معنادار نداشته اند. لیکن همانطور که در نمودار 3 مشخص می‌باشد، برخی از نمونه‌ها از جمله نمونه EX 8 امتیاز بیشتری نسبت به شاهد کسب نموده اند و مورد پذیرش ارزیابان قرار گرفته اند. این در حالی است که اکثر ارزیابان قادر به تشخیص بوی شدید سیر و طعم کمی‌تلخ در نمونه EX 10 به علت میزان بالای عصاره بوده اند. بنابراین با توجه به اینکه در حال حاضر نمونه شاهد در یکی از رستوران‌های زنجیره‌ای شهر تهران در حال مصرف می‌باشد و جزء غذاهای مورد استقبال مردم است، می‌توان از کلیه نمونه‌ها، به دلیل عدم اختلاف معنادار با شاهد استفاده نمود و این در حالی است که کلیه نمونه‌ها دارای اثر ضدمیکروبی مطلوبی بر فلور میکروبی مرغ بوده‌اند و بنابراین عصاره سیر به عنوان یک نگهدارنده طبیعی که از نظر طعم نیز مورد قبول مصرف کنندگان می‌باشد، می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

نمودار 1- اثر غلظت‌های مختلف عصاره سیر بر شمار باکتری *E.coli O157:H7* در گوشت مرغ آماده طبخ در درجه حرارت 4 درجه سانتی‌گراد



نمودار 2- اثر غلظت‌های مختلف عصاره سیر بر شمار باکتری *S.aureus* در گوشت مرغ آماده طبخ در درجه حرارت 4 درجه سانتی‌گراد

ifstrjournal.ac.ir



نمودار 3- بررسی خصوصیات ارگانولپتیک عصاره سیر در گوشت مرغ طبخ شده (Ex: عصاره سیر)

بحث

در تحقیق صورت گرفته توسط Curtis و همکاران در سال 2004، که عصاره سیر به روش سانتریفیوژ و توسط پمپ خلاء از پالپ سیر جدا شده است، راندمان استخراج عصاره 1 ml به ازای هر 3-4 g سیر تازه خرد شده بوده است که راندمان استحصال آن معادل 33/33 – 25 ٪ می‌باشد، که با نتایج حاصل از این تحقیق هم خوانی دارد (Curtis *et al.*, 2004). در تحقیق دیگری، راندمان عصاره آبی سیر را 57/1 (w/v)٪ به دست آورده اند (Bakri & Douglas, 2004).

اثر ضد میکروبی عصاره سیر بر روی باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت در بسیاری از تحقیقات مشخص شده است. اثر بازدارندگی اسانس روغنی سیر که توسط روش تقطیر با بخار آب استخراج شده است، بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، در غلظت‌های 50 ml/l ، 100، 200، 300 ، 500 پس از 48 ساعت به اثبات رسیده است (Benkeblia, 2004). اثر ضد میکروبی سیر بر روی *E.coli O157:H7*، در انواع ماریناده‌ها، سس‌ها، گوشت گاو، پیتزا و پنیرها به ثابت گردیده است. (Holley & patel, 2005) در تحقیق Curtis و همکاران، اثر ضد میکروبی عصاره سیر بر باکتری *E.coli* مشخص شد. (Curtis *et al.*, 2004) همچنین در تحقیق Ankri و Mirelaman در سال 1999 اثر ضد میکروبی عصاره سیر بر روی انتروکوکسی‌های مقاوم به واکومایسین و استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متیسیلین اثبات گردید (Mirelaman & Ankri, 1999).

در تحقیقی حداقل غلظت مهاری سیر در محیط کشت غلظت 2/5 درصد بوده است (سلوتی، 1381)، حداقل غلظت بازدارندگی عصاره آبی سیر در مورد قارچ‌های کاندیدا آلبیکانس و کریپتوکوکوس نئوفورمنس به ترتیب 10 mg/ml و 1/25 mg/ml بیان شده است (آیت الهی موسوی و همکاران،1386).

نتایج متفاوت در تحقیقات مختلف در مورد راندمان استحصال و خاصیت بازدارندگی عصاره‌ها و اسانس‌های روغنی را می‌توان به مکان جغرافیایی و شرایط موجود در زمان رشد گیاه از جمله: نور، درجه حرارت، آبیاری و ارتفاع محل، خصوصیات مختلف خاک مانند: میزان ازت، pH و بافت خاک، عوامل درونی و ژنتیکی و همچنین نحوه بهره‌برداری و استحصال ماده موثره گیاه، نسبت داد (امیدبیگی، 1374; میر حسینی، 1386; صمصام شریعت، 1386).Diallyl thiosulfinate یا آلیسین که یک ترکیب سولفوره اکسیژنه شده و ماده موثره موجود در عصاره سیر می‌باشد، به عنوان ترکیب اصلی ضد میکروبی سیر معرفی شده است.آلیسین دارای خاصیت ضد میکروبی وسیعی روی باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت می‌باشد. خاصیت ضد میکروبی آلیسین به علت واکنش شیمیایی آن با گروه تیول تعداد زیادی از آنزیم‌ها از جمله: papain، urease، succinic dehydrogenase، oxidase، xanthine oxidase، hexokinase reductase، alcohol dehydrogenase،choline cysteine و RNA polymerase، thioredoxin proteinaseها می‌باشد Ankri & Mirelaman, 1999, 2004) (Curtis *et al.*,).

برخی علت اصلی خاصیت ضد میکروبی آلیسین و دیگر ترکیبات موجود در عصاره سیر را واکنش آنها باگروه سولفیدریل (SH) برخی از پروتئین‌های سلولی از جمله

jfn.srbiau.ac.ir

سیستئین بیان کردند، و گفته اند که آنها نمی‌توانند با آمینو اسیدهایی که دارای گروه سولفیدریل نمی‌باشند، واکنش دهند، این در حالی است که برخی شواهد نشان می‌دهند آلیسین و دیگر تیوسولفینات‌ها قادرند با آمینو اسیدهای بدون گروه سولفیدریل نیز وارد واکنش شوند (Kyung, 2011).

با این وجود تحقیقات اخیر نشان داده اند که عصاره سیر بدون آلیسین (عاری شده از آلیسین) خاصیت ضد میکروبی خود را در برابر میکروب‌ها حفظ نموده است و به نظر می‌رسد ترکیبات دیگر در عصاره سیر نیز دارای خاصیت ضد میکروبی بالایی هستند. از بین این ترکیبات، ترکیبات سولفونه شده vinyl-dithiins **و** ajoene که محصول اکسیداسیون جزئی آلیسین می‌باشد، بیشترین توجهات را به خود جلب نمودند و به نظر می‌رسد که حتی گاهی اوقات در غلظت‌های مورد استفاده کمتر از آلیسین دارای خاصیت ضد میکروبی وسیعی و قوی‌ای باشند (Millet *et al*., 2011).

در تحقیقی به منظور مشخص شدن خصوصیات ضد میکروبی سیر، ترکیب شش مخلوط از روغن تقطیر شده سیر را مورد بررسی قرار دادند، در ترکیب این شش مخلوط diallyl disulfide (DDS) و diallyltrisulfide (DTS) به ترتیب به میزان 51٪-1 و 88٪-38 یافت شدند و خاصیت ضد میکروبی آن‌ها بر روی تعدادی مخمر، باکتری گرم مثبت و گرم منفی بررسی گردید. طبق نتایج خاصیت ضد میکروبی این ترکیبات بر روی مخمرها بیشتر از باکتری‌ها بوده است و این خاصیت بیشتر مربوط به DDS بوده است به گونه ای که با افزایش مقدار DDS ، خاصیت بازدارندگی افزایش یافته است، بنابر این طبق نتایج این تحقیق می‌توان DDS را نیز به عنوان ترکیب ضد میکروبی سیر در نظر گرفت (Avato *et al*., 2000).

با توجه به دما و روش استخراج مواد موثره عصاره سیر متغییر خواهند بود، چنانچه از بخار آب و دمای 100°C استفاده گردد، عصاره حاوی Diallyl disulfide خواهد بود، چنانچه از اتیل الکل (اتانول) و یا آب و دمای 25 ° C استفاده شود. ترکیب عصاره آلیسین خواهد بود و چنانچه از اتانول در دمای صفر درجه استفاده شود ترکیب آن آلیین خواهد بود (Corzo-Martı´nez *et al*., 2007). بنابراین با توجه به شرایط استخراج عصاره در این تحقیق که در دمای محیط و توسط اتانول96 ٪ صورت گرفته است، می‌توان گفت که بیشترین ترکیب موجود در عصاره، آلیسین بوده است.

طبق نتایج حاصل از این تحقیق جهت رسیدن به همان میزان خاصیت ضد میکروبی در گوشت مرغ، غلظت‌های مورد استفاده از عصاره سیردر محیط آزمایشگاهی کفایت کرده است. که با نتایج برخی از تحقیقات ذکر شده در یک مقاله مروری هم خوانی دارد (Bajpai *et al*., 2012). این در حالی است که بسیاری از تحقیقات گزارش کرده اند که به مقادیر بالاتری از مواد موثره مورد نیاز است تا به همان میزان خاصیت بازدارندگی در ماده غذایی دست یابیم (Burt, 2004 ; Tajkarimi *et al*., 2010). با بررسی اثر ضد میکروبی سیر در سیستم غذایی Tom-Yum، به این نتیجه دست یافتند که سیر در مدل غذایی نیز خاصیت ضد میکروبی خود را به همان حد که به تنهایی مورد بررسی قرار گرفته است، نشان می‌دهد (Siripongvutikorn *et al*., 2005).

در این پژوهش ماده غذایی گوشت مرغ بوده است که در ماریناد مخصوص خود که حاوی روغن‌ها و ادویه‌های مختلف می‌باشد، خوابانیده شده است و در واقع محیط مورد استفاده بسیار چرب بوده است، در نتیجه عصاره سیر که جزء ترکیبات روغنی می‌باشد به راحتی در آن حل شده و در کل بسته بندی به طور یکنواخت پخش گردیده است، در واقع میزان بالای چربی در ماده غذایی بر اثر گذاری اسانس‌های روغنی موثر بوده است. این امر می‌تواند به دلیل حلالیت اسانس‌ها و عصاره‌ها در لیپیدها نسبت به بخش آبی مواد غذایی باشد (Tajkarimi *et al*., 2010). همچنین بسته‌های مرغ در درجه حرارت یخچال 4°C نگه داری شده اند و باکتری‌های مورد آزمون، باکتری‌هایی هستند که به طور معمول در گوشت مرغ یافت می‌شوند و در واقع گوشت مرغ محیط مناسبی از نظر مواد غذایی، pH و ... برای رشد و فعالیت آنها بوده است. بنابراین با توجه به تمام این عوامل دستیابی به غلظت‌های مشابه از عصاره که دارای خاصیت ضد میکروبی مناسب در ماده غذایی و محیط آزمایشگاهی بودند، دور از ذهن به نظر نمی‌رسد.

در تحقیق صورت گرفته توسط Siripongvutikorn، که بر روی نوعی غذا به نام Tom-Yum که غذای

jftn.srbiau.ac.ir

مرسوم و قومی‌در ژاپن و تایلند می‌باشد، انجام شده است، اثر ضد میکروبی اجزاء تشکیل دهنده این غذا مورد بررسی قرار گرفته است، یکی از مواد تشکیل دهنده این غذا، سیر می‌باشد که طبق نتایج این تحقیق اثر ضد میکروبی بالایی بر روی باکتری‌های *Pseudomonas fluorescens* ATCC 49839، *Listeria monocytogenes*، *Escherichia coli O157:H7*، و *Staphylococcus aureus* ATCC 13565 داشته است . در حالیکه استفاده از سیر پخته شده این خاصیت را نداشته و احتمالا این موضوع به علت آن است که ترکیبات ضد میکروبی سیر در برابر حرارت مقاوم نبوده و یا به ترکیبات دیگری که اثر ضد میکروبی کمی‌دارند تبدیل می‌شوند (Siripongvutikorn *et al*., 2005).

البته اثر ضدمیکروبی اسانس‌های روغنی به عواملی مانند، روش استخراج، حجم تلقیح باکتری، فاز رشد میکروارگانیسم، محیط کشت مصرفی، ویژگی‌های ماده غذایی از جمله، pH، میزان چربی، پروتئین، آب، آنتی اکسیدان‌ها و نگهدارنده‌های استفاده شده در آن، دما و زمان گرم‌خانه گذاری، نحوه بسته‌بندی و ساختار فیزیکی ماده غذایی بستگی دارد (Tajkarimi *et al*., 2010).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، عصاره سیر به عنوان نگهدارنده طبیعی که ضمن داشتن اثر بازدارندگی مناسبی بر روی باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت پاتوژن می‌باشند و همچنین طعم و بو مورد قبولی را در مواد غذایی ایجاد می‌کند، بنابراین می‌تواند جایگزین مناسبی برای نگهدارنده‌های شیمیایی محسوب شود. استفاده از این ترکیبات در مدل‌های مختلف غذایی نیاز به تحقیقات بیشتری دارد، همچنین اثرات ضد میکروبی آن باید بر روی گونه‌های دیگر میکروارگانیسم‌ها نیز مورد بررسی قرار گیرد. اثر روش‌های مختلف استخراج بر روی خواص بازدارندگی این عصاره نیز از مواردی است که کمتر به آن پرداخته شده است.

منابع

امید بیگی، ر. (1374). رهیافت‌های تولید و فرآوری گیاهان دارویی. انتشارات فکر روز، جلد اول، چاپ دوم، ویرایش دوم،
283 صفحه.

آیت اللهی موسوی، س.م.، مهرابیان، م.، یغمایی، ب. (1387). مقایسه اثر غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی و متانولی سیر بر قارچ‌های فرصت طلب اسپوروتریکس شنکئی، کریپتوکوکوس نئو فرمنس و کاندیدا آلبیکانس، مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، دوره هفتم، شماره چهارم، 234-227.

بی نام. (1383). میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- شناسایی نوکلئاز مقاوم به حرارت حاصل از استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولار مثبت. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، استاندارد شماره 7612. چاپ اول.

بی نام. (1386). گوشت تازه طیور-ویژگی‌ها. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، استاندارد شماره 9714. چاپ اول.

دبقالیان، ک.، ضیایی، ع.، نقوی، م. ر و نقدی بادی، ح. (1383). ارزیابی پیش از کشت اکوتیپ‌های سیر ایرانی از نظر میزان آلیسین و خصوصیات گیاه شناسی، فصل نامه گیاهان دارویی، سال چهارم، شماره 13.

سلوتی، س.س. (1381). بررسی کاربرد سیر به عنوان نگه دارنده در صنایع رب گوجه فرنگی. فصل نامه گیاهان دارویی، شماره سوم، تابستان 1381.

شریفان، ا . (1385). اثر اسانس گیاهان آویشن، آویشن باریک و آویشن شیرازی بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس. رساله دکتری رشته کشاورزی-علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی - واحد علوم و تحقیقات، دانشکده کشاورزی، 78 صفحه.

صمصام شریعت، س.ه. (1386). عصاره‌گیری و استخراج مواد موثره گیاهان دارویی. انتشارات مانی ،چاپ دوم، 226 صفحه.

مقصودی، ش. (1388). سیر (کشاورزی، صنعت، تغذیه و درمان)، نشر علوم کشاورزی ایران، 231 صفحه.

میر حسینی، س. م. (1386). روش‌ها و دستگاه‌های استخراج مواد موثره دارویی، غذایی و صنعتی، انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی‌واحد زاهدان، 170 صفحه.

Ankri, S. & Mirelaman, D. (1999). Antimicrobial properties of allicin from garlic .Microbes and infection. 2, 125-129.

Avato, P., Tursi, F., Vitali, C., Miccolis, V. & Candido, V. (2000). Allylsulfide constituents of garlic volatile oil as antimicrobial agents. Phytomedicine, 7(3), 239-243.

jftn.srbiau.ac.ir

using essential oils: A review, Food Research International, 45, 722-734.

Bakri, I. M. & Douglas, C. W. I. (2005). Inhibitory effect of garlic extract on oral bacteria, Archives of Oral Biology.50, 645-651.

Benkeblia, N. (2004). Antimicrobial activityof essential oil extracts of various onions (Allium cepa) and garlic (Allium sativum). Lebensm.-Wiss. u.-Technol. 37, 263-268.

Bryan, F. L.(1995). ejuni in raw poultry. J. Food Prot. 58, 326– 344.

Burt, S. & Reinders, R. (2003). Antibacterial activity of selected plant essential oils against Escherichia coli O157:H7. J. Applied microbiology. 36, 162–167.

Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. A review. International Journal of Food Microbiology, 94, 223-253.

Chouliara, E., Karatapanis, A., Savvaidis, I. N. & Kontominas, M. G. (2007). Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4 °C. Food Microbiology. 25, 607-617.

Corzo Martı´nez, M., Corzo, M. & Villamiel, M. (2007). Biological properties of onion and garlic. Trends in Food Science & Technology 18 609-625.

Curtis, H., Noll, U., Stormann, J. & Slisarenko, A. J. (2004). Broad-spectrum activity of the volatile phytoanticipin allicin in extracts of garlic (Allium sativum L.) against plant pathogenic bacteria, fungi and Oomycetes. Physiological and Molecular Plant Pathology. 65, 79-89.

Elliot, T., Hasting, M. & Desselberger, U. (2000). Medical Microbiology.Third edition, Great Britain at the university Press, Cambridge.

Hao, Y. Y., Brackett, R. E. & Doyle, M. P. (1998). Efficacy of plant extracts in inhibiting Aeromonas hydrophila and Listeria monocytogenes in refrigerated cooked poultry. Food Microbiology 15, 367–378.

Holley, R. A. & Patel, D. (2005). Review. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. Food Microbiology, 22, 273–292.

Kyung. K. H. (2011). Antimicrobial properties of allium species. Current Opinion

Bajpai, V. K., Baek, K. H. & Kang, S. C. (2012). Control of Salmonella in foods by in Biotechnology, 23, 142-147.

Millet, C. O. M., Lioyd, D., Williams, C., Williams, D., Evans, G., Saunders, R. A. & Cable, H. (2011). Effect of garlic and allium-derived products on the growth and metabolism of Spironucleus vortens, Experimental Parasitology. 127,490-499.

Moreira, M. R., Ponce, A. G., vella. C. E. & Roura, S. I. (2005).Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. LWT, 38, 565-570

NCCLS M7-A7., (2006). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility tests for bacteria that Grow Aerobically; Approved standards. 7th edition . 26 (2), 9-16.

Ntzimani, G. A., Giatrakou, I. V. & Savvaidis, I. N. (2010). Combined natural antimicrobial treatments (EDTA, lysozyme, rosemary and oregano oil) on semi cooked coated chicken meat stored in vacuum packages at 4 °C: Microbiological and sensory evaluation, Innovative Food Science and Emerging Technologies 11, 187-196.

Normanno, G., Firinu, A., Virgilio, S., Mula, G., Dambrosio, A., Poggiu, A., Decastelli, L., Mioni, R. , Scuota, S., Bolzoni, G.,Giannatale, E. D., Salinetti, A. P., La Salandra, G., Bartoli, M., Zuccon, F., Pirino, T., Sias, S., Parisi, A., Quaglia N. C. & Celano, G. V. (2005). Coagulase-positive Staphylococci and Staphylococcus aureus in food products marketed in Italy, International Journal of Food Microbiology, 98, 73-79

Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L. & Lacroix, M., (2005). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E. coli O157:H7, Salmonella Typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes. Food Control 18(5): 414-420.

Shekarforoush, S. S., Nazer, A. H. K., Firouzi, R. & 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.

Siripongvutikorn, S., Thummaratwasik, P. & Huang, Y. (2005). Antimicrobial and antioxidation effects of Thai seasoning, Tom-Yum. LWT, 38, 347–352.

Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A. & Cliver, D. O. (2010). Antimicrobial herb and spice

jfn.srbiau.ac.ir

compounds in food. Food Control. 21, 1199– 1218.

jftn.srbiau.ac.ir

jftn.srbiau.ac.ir