مقاله تحقیقی

اثر ضدباکتریایی عصاره سیر درگوشت بلدرچین

میلاد کربلائی آقامحسن، مهناز هاشمی روان *، رضوان پوراحمد

گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین پیشوا ، ورامین ایران.

* **مسئول مکاتبات:** آدرس الکترونیکی: m_hashemiravan@yahoo.com، تلفن: ۰۹۱۲۱۸۷۲۰۵۲

محل انجام تحقیق: دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین پیشوا، آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم- آزمایشگاه تخصصی ابوریحان استان قم

تاریخ دریافت:۹۵/۴/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۵/۵/۲۳

فصلنامه علمی پژوهشی دانش زیستی ایران
جلد ۱۱- شماره ۲- تابستان ۱۳۹۵

چکیده

استافیلوکوکوس اورئوس بعنوان سومین عامل مسمومیت غذایی پس از *سالمونلا* و *اشرشیا* در گوشت بلدرچین می‌باشد. آلیسین یا دی آلیل دی سولفید اکسید یکی از مهم ترین ترکیبات ضد میکروبی موجود در سیر می باشد. در این تحقیق به بررسی فعالیت ضد باکتریایی عصاره سیر و بازدارندگی از رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در گوشت بلدرچین در دمای نگهداری ۴ درجه سانتی گراد پرداخته شد. عصاره گیری سیر با استفاده از دستگاه تقطیر در خلأ انجام شد. عصاره آبی سیر در سه غلظت ۰،۱/۵ و۱/۵ درصد و باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در ۲ سطح تلقیح غلظت 10^{2}و10^{3} *cfu/ml* و یک نمونه شاهد هر یک در ۳ تکرار بررسی گردید. پس از تلقیح به گوشت بلدرچین، شمارش تعداد باکتری نمونه ها در محیط کشت برد-پارکر آگار در زمان های صفر، ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت به عنوان تست شناسایی و تست ایجاد لخته کوآگولاز مثبت در رابیت پلاسما و سپس کشت در محیط آگار خون دار به عنوان تست تاییدی، محاسبه حداکثر تعداد احتمالی *استافیلوکوکوس اورئوس* انجام شد. ارزیابی حسی توسط ۱۰ ارزیاب متخصص آموزش دیده انجام شد. به منظور بررسی و مقایسه میزان عدم رشد بین شاهد و گروه تیمارها از نرم افزار چند دامنه ای دانکن در سطح اطمینان ۵٪ برای تجزیه و تحلیل آماری استفاده گردید. عصاره سیر در کلیه غلظت ها توانست رشد باکتری را متوقف کند. با افزایش غلظت عصاره، این بازدارندگی سریع تر و در زمان کوتاهتری اتفاق افتاد و بازدارندگی رشد نسبت به نمونه شاهد اختلاف معنی داری نشان داد ($p<0.05$). نتایج آزمون حسی گوشت بلدرچین حاوی غلظت های مختلف عصاره سیر نشان داد که تیمار حاوی ۰/۵ درصد عصاره سیر از لحاظ صفت عطر و طعم بیشترین پذیرش کلی را دارد. تیمار با غلظت ۱/۵ درصد عصاره سیر در هر دو غلظت این باکتری بیش ترین خاصیت بازدارندگی بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* را داشت که به عنوان تیمار برتر انتخاب گردید.

کلمات کلیدی: *استافیلوکوکوس اورئوس*، عصاره سیر،گوشت بلدرچین

مقدمه

صنعت گوشت رشد قابل توجهی در سال‌های اخیر داشته است و به دلیل تقاضا برای محصولات گوشتی با خواص تغذیه‌ای عالی، توسعه‌ی محصولات گوشتی با روش‌های فرآوری جدید، افزایش یافته است. این در حالی است که ارزش غذایی گوشت بلدرچین به عنوان کوچکترین پرنده حلال گوشت تقریبا مشابه گوشت مرغ است اما مقدار ویتامین های موجود در این گوشت آن را ارزشمندتر می سازد. این گوشت چربی کمتری داشته و کلسترول آن نیز کم است. گوشت بلدرچین منبع بسیار خوبی از پروتئین و مواد معدنی از قبیل سدیم، پتاسیم و آهن و همچنین اسیدهای چرب ضروری از جمله اسید لینولئیک می باشد. در طی مراحل مختلف کشتار، حمل و نقل، نگهداری و فرآوری، گوشت به انواع مختلفی از میکروارگانیسم‌ها آلوده می‌شود. گوشت خام بلدرچین بمدت محدودی قابل نگهداری در یخچال

است اما بکارگیری سایر روش‌های نگهداری مانند افزودنی های طبیعی[1] باعث افزایش مدت زمان نگهداری آن می‌گردد (۱). *استافیلوکوکوس اورئوس*[2] یکی از عوامل ایجاد کننده مسمومیت غذایی[3]در انسان می باشد. این باکتری با تولید آنتروتوکسین[4]در انواع مختلف مواد غذایی، به ویژه مواد غذایی با منشاء دامی و غذاهایی که فرآیند حرارتی[5]مناسبی را نمی گذرانند، موجب مسمومیت غذایی می گردد (۲). اسانس و عصاره ها یا روغن‌های فرار، مایعات روغنی معطری هستند که از قسمت‌های مختلف گیاهان عمدتا از طریق تقطیر بدست می‌آیند(گل، جوانه، دانه، برگ، شاخ، میوه و ریشه) و شامل ترکیبات فنول، الکل، استون، ترپن‌ها و اسیدها می‌باشند که دارای خاصیت ضدمیکروبی هستند (۳). اثربخشی ضدمیکروبی اسانس و عصاره ها به طور واضح به عواملی از قبیل روش استخراج از گیاه، از جمله این گیاهان می توان به سیر، موسیر، پیاز و تعداد گیاهان جنس آلیوم[6]اشاره کرد، حجم تلقیح، فاز رشد، محیط کشت مورد استفاده و نیز شرایط داخلی و خارجی ماده غذایی بستگی دارد (۴). در این تحقیق به بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره آبی سیر در شرایط آزمایشگاهی[7] و نیز گوشت تازه بلدرچین– ماده غذایی[8] پرداخته شده است. اسانس و عصاره سیر از طرف سازمان غذا و دارو[9] مطابق گرس[1] ۲۳۴۰ و گرس ۲۳۴۳ به عنوان افزودنی مجاز معرفی شده است (۵).

مواد و روش ها

تهیه باکتری و سوسپانسیون باکتری

باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* که در این پژوهش استفاده شد به شماره کلکسیون[1] ۱۱۱۳ بود که به صورت آمپول لیوفیلیزه از دانشگاه آزاد اسلامی واحد استان قم خریداری شد. برای تهیه سوسپانسیون ، با استفاده از لام هموسیتومتر برای شمارش تعداد کلنی های موجود در این سوسپانسیون استفاده شد (۶).

تهیه عصاره آبی سیر

عصاره مورد استفاده در این تحقیق، عصاره سیر بوده که از حبه های دوحلقه سیر خریداری شده از شهر همدان بدست آمد و در آزمایشگاه بیوشیمی دانشگاه آزاد واحد قم، استخراج شد. برای تهیه عصاره از روش ماسیراسیون (خیساندن) استفاده گردید و با استفاده از دستگاه تقطیر در خلأ (روتاری) تغلیظ شد (۷).

شناسایی ترکیبات عصاره

برای جداسازی و شناسایی ترکیبات متشکله از دستگاه طیف سنج پلاسمای دی سی یا مستقیم[12] استفاده شد. دستگاهی دقیق و موفق برای اندازه گیری تعین غلظت فلزات و املاح معدنی متشکله می باشد، در نهایت نتایج روابط خطی حاصل تجزیه و تحلیل در دستگاه جذب اتمی مورد بررسی قرار گرفت.

تهیه گوشت بلدرچین

گوشت تازه ذبح شده بلدرچین به وزن ۲ کیلوگرم از کشتارگاه طبق رعایت موازین بهداشتی و استاندارد ایران تهیه شد (۸).

آزمون ها

اندازه گیری pH با دستگاه pHمتر بافتی (Metler toledo، آلمان) و اسیدیته با تیتراسیون سود ۰/۱ نرمال طبق روش ذکر شده در استاندارد ملی ایران به شماره ۲۱۴ انجام گردید. ویژگی های حسی نمونه ها با استفاده از روش هدونیک ۹ نمره ای مورد ارزیابی قرار گرفت.

آزمون میکروبی در شرایط آزمایشگاهی

برای بررسی حداقل غلظت مهارکنندگی[13]عصاره سیر با استفاده از روش رقت سازی در چاهک[14] (میکروبراث دایلوشن) از پلیت ۹۶ خانه طبق استاندارد

[1] Natural Additives
[2] *Staphylococcus aureus*
[3] food poisoning
[4] Enterotoxin
[5] Thermal Process
[6] Allium
[7] In vitro
[8] In vivo
[9] FDA: Food and Drug Adminstration
[1] GRAS: Generally Recognized As Safe
[1] PTCC:Persian Type culture collection

[1] DCP-AES: Direct current plasma-at mission spectroscopy
[1] Minimum Inhibitory Concentration
[1] Microdilution

کلینیکی و آزمایشگاهی[1] استفاده شد. غلظتی که شمارش تعداد کلنی صفر بود به عنوان حداقل غلظت میکروب کشی برای هر باکتری تعیین گردید (۹).

آزمون میکروبی گوشت بلدرچین

پس از تلقیح سوسپانسیون باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* حاوی 10^3 *cfu/ml* و 10^2 به صورت تک نقطه ای (روی سطوح مختلف قطعات ران و سینه گوشت) به حجم ۴۰ میکرولیتر، بر روی سطح گوشت بلدرچین حاوی غلظت های مختلف عصاره (۰/۵، ۱، ۵/۱٪) و شاهد (بدون عصاره)، بسته بندی مجدد گوشت در درون کیسه های استریل جنس پلی اتیلن زیپ دار درون استومکر[2] به طور دقیق انجام شد و در ۳ روز استاندارد انقضاء و دمای نگهداری این گوشت در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. در روزهای مورد نظر، از نمونه ها کشت سوسپانسیونی همگن در محیط کشت اختصاصی این گوشت (برد-پارکر آگار[3]) تهیه شد و سپس بررسی رقت های 10^2، 10^3 از تیمارها و رقت های 10^2، 10^3 از شاهد، از کیسه های استریل تهیه گردید و بر روی محیط کشت برد-پارکر آگار، کشت داده شد و کشت ها در زمان های (صفر، ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت) بعد از نگهداری کیسه های حاوی گوشت بلدرچین، کلونی ها شمارش و با استفاده از شیوه محتمل ترین تعداد برای تعداد کم این میکروارگانیسم استفاده شد (۱۰). لازم به ذکر است هر آزمون در ۳ تکرار انجام گردید و مقادیر میانگین داده ها گزارش شد.

تجزیه وتحلیل آماری

جهت بررسی نتایج از آزمون فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی استفاده شد. برای تحلیل واریانس نتایج از نرم افزار $SPSS_{22}$ استفاده شد. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چنددامنه ای دانکن در سطح معنی داری ۵٪ انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار ۲۰۱۳ EXCEL استفاده شد.

نتایج

بررسی تغییرات pH گوشت بلدرچین (سینه و ران) پس از اضافه کردن عصاره، پس از ۷۲ساعت نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد

نتایج آزمایش ها نشان داد که اثر تراکم باکتری و زمان ماندگاری تفاوت کاملا معنی داری بر pH دارد ($p>0/05$). همچنین نتایج نشان داد که اثر متقابل دوجانبه (تراکم باکتری×زمان ماندگاری) تفاوت کاملا معنی داری بر pH دارد ($p>0/05$). با توجه به نمودار ۱ میانگین pH گوشت بلدرچین بلافاصله پس از ذبح و تلقیح عصاره و باکتری پس از ۷۲ساعت و طی ۴ روز نشان می دهند که روند تغیرات pH در طی مدت زمان نگهداری برای کلیه تیمار ها دارای اختلاف معنی بوده است. کمترین میزان pH در روز اول پس از تلقیح *استافیلوکوکوس اورئوس* به گوشت بلدرچین با تراکم های 10^3 *cfu/ml* و 10^2 بود. میزان pH با گذشت زمان بدلیل حالت جمودنشی[5] در گوشت ها، افزایش یافت.

بررسی نتایج آزمون اسیدیته گوشت بلدرچین (سینه، ران) بلافاصله پس از ذبح و اضافه کردن عصاره، پس از ۷۲ ساعت نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد

نتایج آزمایش ها نشان داد که اثر تراکم باکتری و زمان ماندگاری تفاوت کاملا معنی داری بر pH دارد ($p>0/05$). همچنین نتایج نشان داد که اثر متقابل دوجانبه (تراکم باکتری×زمان ماندگاری) تفاوت کاملا معنی داری بر pH دارد ($0/05>p>0/01$). با توجه به نمودار ۲ اختلاف میانگین مشاهده شده در میزان اسید لاکتیک در زمان های مختلف در گوشت ران و سینه بلدرچین به دلیل اثر زمان می تواند باشد. کمترین میزان اسیدیته در روز اول و بیش ترین میزان در روز سوم بوده است. این آزمون مشخص می کند که اختلاف میانگین مشاهده شده در میزان اسیدیته در زمان های صفر و روز اول یکسان و با دیگر روزها متفاوت می باشد ($p<0/05$)

[1] Clinical & Laboratory Standards Institute
[2] Stomacker
[3] Baird-Parker Agar
[4] MPN:Most Probable Number
[5] Rigor mortis

بررسی نتایج میزان بازدارندگی عصاره سیر از رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* با تراکم های اولیه (*cfu/ml*۱۰۳ و ۱۰۲) درگوشت بلدرچین

در هر دو تراکم باکتری در کلیه تیمار ها نسبت به تیمار شاهد عصاره سیر توانست در غلظت ۱/۵درصد اثر معنی داری برروی رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* داشته باشد ($p<۰/۰۵$) به طوریکه پس از گذشت ۳روز در هیچ یک از تیمار ها هیچگونه رشدی مشاهده نگردید. با توجه به نمودار ۳ کمترین میزان بازدارندگی مربوط به تیمار m_1s_1 با ۰/۵ درصد عصاره و تراکم باکتری *cfu/ml* ۱۰۲ وm_2s_2 با ۰/۵ درصد عصاره و تراکم باکتری *cfu/ml* ۱۰۳ *استافیلوکوکوس اورئوس* بود. بیشترین میزان بازدارندگی مربوط به تیمارm_1s_3 با ۱/۵ درصد عصاره و تراکم باکتری*cfu/ml* ۱۰۲ و m_2s_3 با ۱/۵ درصد عصاره و تراکم باکتری *cfu/ml* ۱۰۳ *استافیلوکوکوس اورئوس* در روز سوم بود.

بررسی نتایج آزمون میکروبی در مرحله اول (In vitro)

طبق نتایج (جدول ۱)، در کلیه روزهای مورد بررسی، اختلاف میزان بازدارندگی بین تیمارهای حاوی ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد عصاره سیر در سطح ۵٪ یکسان بود و با شاهد اختلاف معنی داری را نشان دادند.

بررسی نتایج آزمون میکروبی در مرحله دوم (In vivo)

با توجه به نتایج در جدول ۲، با افزایش غلظت عصاره، میزان بازدارندگی از رشد باکتری، افزایش یافت. با توجه به نتایج، بیشترین و کمترین میزان بازدارندگی در روزهای مورد بررسی، به ترتیب مربوط به نمونه های حاوی ۱/۵ و ۰/۵ درصد عصاره سیر بود.

ارزیابی حسی

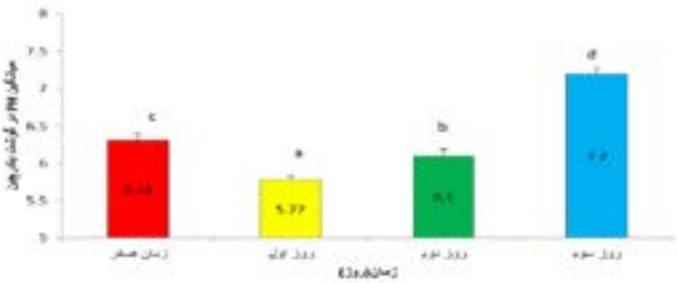
ارزیابی حسی توسط ۵ نفر ارزیاب حسی متخصص صورت گرفته است بدین منظور که گوشت بلدرچین استریل شده فاقد باکتری و تنها حاوی سه غلظت عصاره سیر پس از پخت کامل صورت پذیرفت و به علت طعم جدید گوشت بلدرچین ، نظرات ارزیاب ها متفاوت بوده است. فاکتور مزه با غلظت کم عصاره در تیمار m_1s_1 و m_2s_2 با ۰/۵ درصد طی زمان صفر تا ۲۸ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد در نمونه شاهد در این ارزیابی به عنوان مطلوب تر انتخاب شد و از نظر مزه، به مزه نمونه بدون عصاره نزدیک تر بود. بوی عصاره سیر افزوده شده در ارزیابی حسی در کلیه تیمارها تا آخرین روز غالب بود، ولی در تیمارهای m_1s_3 و m_2s_3 با ۱/۵درصد عصاره طی ۴ روز نگهداری تا ۲۸ روز در دمای ۴درجه سانتی گراد بیشتر بود. در محصولات گوشتی طی مدت نگهداری بوی بدی از محصول حاصل می شود و باید از افزودنی استفاده شود ولی در این گوشت بلدرچین بوی سیر (نیز بعنوان ماده مارینیت) غالب بوده است. بهترین طعم مربوط به تیمارهای m_1s_1 و m_2s_2 در طول این مدت نگهداری بوده است. رنگ و ظاهر محصول در کلیه تیمار ها تا آخرین روز نگهداری، نتایج یکسانی را نشان داد که تشابه رنگ و ظاهر تیمار m_1s_1 و m_2s_2 به تیمار شاهد طی ۲۸ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد بیشتر بوده است. بیشترین امتیاز مربوط به تیمار m_2s_2 بوده است و در نهایت از نظر امتیاز ارزیاب حسی پذیرش کلی، تیمار m_2s_3 انتخاب شده است.

ارزیابی میزان پذیرش کلی گوشت بلدرچین

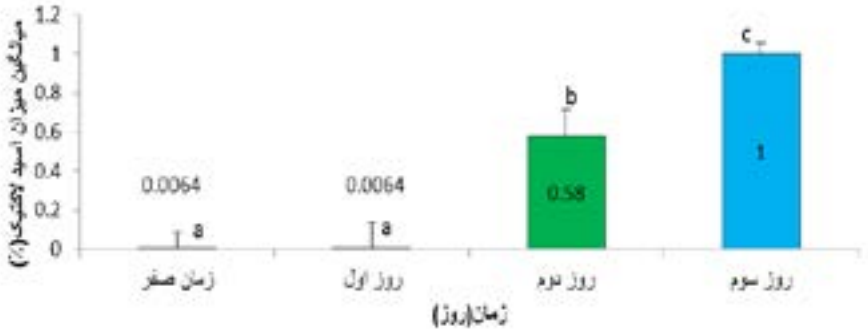
نتایج آزمایش ها نشان دادند که اثر تراکم باکتری تفاوت کاملا معنی داری بر ارزیابی پذیرش کلی گوشت بلدرچین دارد ($p<۰/۰۵$). زمان ماندگاری اثر کاملا معنی داری بر ارزیابی پذیرش کلی گوشت بلدرچین دارد ($p<۰/۰۵$). همچنین اثر متقابل تراکم باکتری و اثر زمان ماندگاری تفاوت معنی داری بر پذیرش کلی دارد ($p<۰/۰۵$). با توجه به نمودار ۴ میانگین امتیاز پذیرش کلی گوشت بلدرچین با عصاره افزوده شده بلافاصله پس از ذبح در روز صفر و طی ۲۸ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد در تیمار m_1s_1 و m_2s_2 روز ۳ در دمای ۴درجه سانتی گراد امتیاز پذیرش کلی افزایش یافته است. همچنین در کلیه تیمار ها در روز ۲۸ نگهداری در دمای ۴درجه سانتی گراد ارزیابی حسی پذیرش کلی کاهش یافته است.

بررسی نتایج آزمون حسی

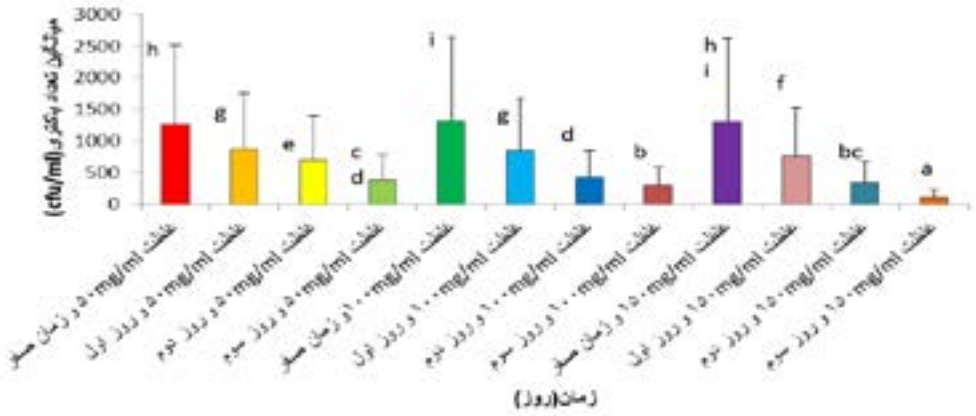
بررسی نتایج آزمون حسی دو صفت عطر و طعم (نمودارهای ۴ و ۳)، تیمارها با شاهد تفاوت معنی دار را نشان ندادند ولی بین تیمارها تفاوت معنی دار بود و تیمارهای با غلظت بالا ۱ و ۱/۵ درصد مطلوبیت کمتری برخوردار بودند.



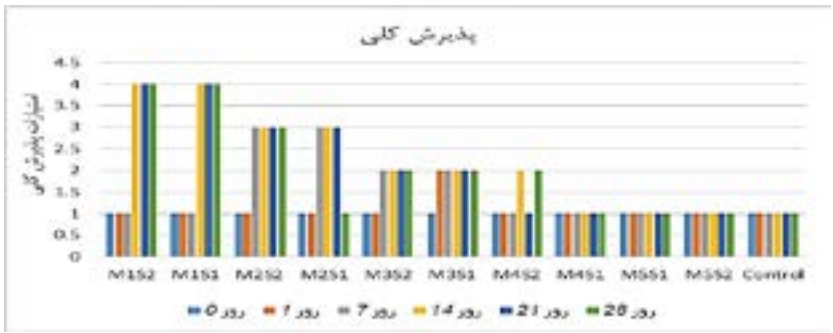
نمودار ۱- اثر غلظت های مختلف عصاره سیر ۰/۵، ۱و ۱/۵درصد و نسبت باکتری در تراکم cfu/ml ۱۰^{۳}و ۱۰^{۲} در روز های مختلف بر میزان pH در گوشت بلدرچین.



نمودار ۲- اثر غلظت های مختلف عصاره سیر ۰/۵، ۱و ۱/۵درصد و نسبت باکتری در تراکمcfu/ml ۱۰^{۳} و۱۰^{۲} در روز های مختلف بر میزان اسیدیته بر حسب اسید لاکتیک.



نمودار ۳- اثر غلظت های مختلف عصاره سیر ۰،۱/۵ و۱/۵درصد درروزهای مختلف برجمعیت باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* با تراکم های اولیهcfu/ml ۱۰^{۳}و۱۰^{۲} درگوشت بلدرچین.



نمودار ۴- اثر غلظت های مختلف عصاره سیر ۰/۵، ۱، ۱/۵ درصد و نسبت باکتری در تراکم های cfu/ml $۱۰^{۳}$و$۱۰^{۲}$در روز های مختلف بر میزان پذیرش کلی.

جدول ۱- اثر غلظت های مختلف عصاره سیر بر رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در محیط کشت.

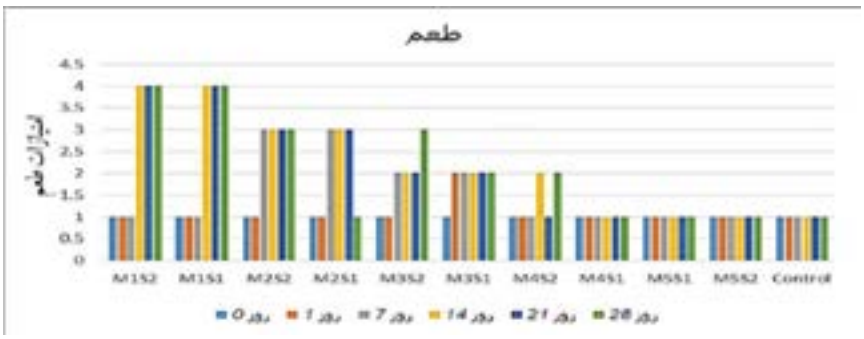
غلظت عصاره(٪) (µl/۱۰ml)	تعداد باکتری ها			
	زمان صفر	روز اول	روز دوم	روز سوم
۰	۴/۸۰۹±۰/۱^{a}	۵/۹۹۳±۰/۱۷^{a}	۶/۷۰۳±۰/۱۸^{a}	۵/۹۶۵±۰/۱۷^{a}
۰/۵	۳/۹۵۲±۰/۳۵^{b}	۰±۰^{b}	۰±۰^{b}	۰±۰^{b}
۱	۳/۸۷۷±۰/۰۴^{b}	۰±۰^{b}	۰±۰^{b}	۰±۰^{b}
۱/۵	۳/۵۶۶±۰/۳۱^{b}	۰±۰^{b}	۰±۰^{b}	۰±۰^{b}

مقادیر دارای حروف مشابه اختلاف معنی داری ندارند($p>۰/۰۵$).

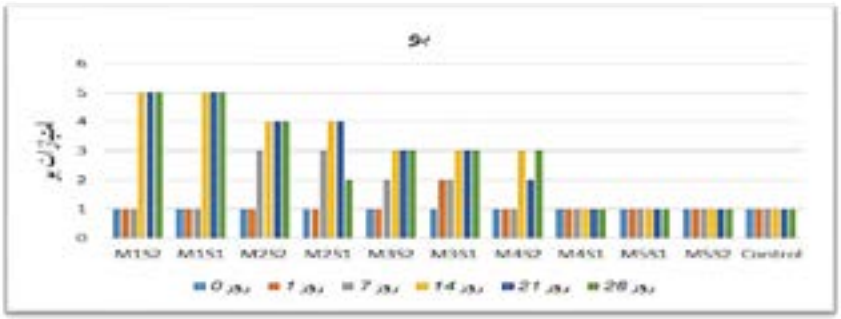
جدول۲- اثر غلظت های مختلف عصاره سیر بر رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در گوشت بلدرچین تازه

تیمار *(µl/۱۰ml)*	تعداد باکتری ها		
	روز اول	روز دوم	روز سوم
۰	۴/۸۵۷±۰/۰۹^{a}	۶/۳۲۲±۰/۸۴^{a}	۵/۸۴±۰/۰۵^{a}
۰/۵	۳/۳۴۷±۰/۳۵^{abc}	۴/۸۸۰±۰/۲۴^{b}	۴/۶۳۳±۰/۰۳^{bc}
۱	۳/۹۸۷±۰/۲۱^{bc}	۴/۷۲۲±۰/۱۷^{b}	۴/۶۰۱±۰/۰۴^{bc}
۱/۵	۳/۶۸۳±۰/۶۴^{c}	۴/۶۲۲±۱/۱۵^{b}	۳/۹۸۳±۰/۱۵^{bc}

مقادیر با حرف متفاوت در سطح ($p \leq ۰/۰۵$) دارای اختلاف معنی دار می باشند.



نمودار ۵- امتیازات طعم نمونه های گوشت بلدرچین حاوی غلظت های مختلف عصاره.



نمودار ۶- امتیازات بو نمونه های گوشت بلدرچین حاوی غلظت های مختلف عصاره.

بحث

خدایی مطلق (۱۳۹۳)، تاثیر ضد باکتریایی اسانس سیر و رزماری بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* را بررسی نمود، در خصوص اثر اسانس که در غلظت ۵۰ درصد بین دو اسانس سیر و رزماری تفاوت معنی دار وجود نداشت و اسانس سیر کمترین میزان تاثیر را نشان داد. در۱۰درصد کمتر از (۰/۰۰۲) و در غلظت ۳۰درصد (کمتر از ۰/۰۰۷) تفاوت معنی دار بین دو اسانس مشاهده شد که در این بین رزماری در هر دو حالت اثر آنتی باکتریال قوی تری نشان داد. قطر هاله عدم رشد برای غلظت های مختلف اسانس نشان داد که برای اسانس رزماری تنها تفاوت معنی دار بین غلظت ۱۰و۵۰ درصد (۰/۰۱) مشهود بوده است. اما درمورد اسانس سیر بین هر۳ غلظت (۱۰ ،۳۰ ،۵۰) تفاوت معنی دار وجود داشت (۰/۰۱). در هردو اسانس مورد بررسی با افزایش غلظت اسانس اثر آنتی باکتریال افزوده می شود. نتیجه دیگرتحقیق نشان داد با افزایش غلظت عصاره سیر میزان بازدارندگی از رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* افزایش یافت ضمن اینکه اختلاف معنی داری را در سطح ۵٪ با شاهد نشان دادند. طبق نتایج، کمترین و بیشترین میزان بازدارندگی از رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، به ترتیب مربوط به تیمارهای حاوی ۰/۵ و ۱/۵ درصد بود(۱۱). حسینی و همکاران(۱۳۹۴)، بررسی خاصیت ضد میکروبی اسانس میخک بر روی میکروارگانیسمهای *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا کولای*[1] *کاندیدا آلبیکانس*[2] و *آسپرژیلوس نایجر*[3] در همبرگر طی دوره نگهداری در فریزر را بررسی کردند. حداقل غلظت بازدارندگی اسانس اثر ضدمیکروبی غلظتهای ۰/۰۰۱۵، ۰/۰۱، ۰/۱ درصد، و ۰/۱۵درصد اسانس در روزهای صفر، ۷،۳۰،۶۰،۹۰ نگهداری همبرگر در انجماد بررسی گردید. نتایج حاصل از آزمون حداقل میزان بازدارندگی برای *استافیلوکوکوس اورئوس* ۰/۱، *اشرشیا کولای* ۰/۰۶۵، *کاندیدا آلبیکانس* ۰/۰۳، *آسپرژیلوس نایجر* ۰/۰۱درصد حجمی-حجمی بدست آمد. نتایج آزمونهای میکروبی نشان داد، با افزایش غلظت اسانس میخک و افزایش زمان نگهداری در فریزر، میزان بارمیکروبی کاهش بیشتری نشان می دهد(۵). گنزالس[4] و همکاران(۱۹۹۴)، اثر سیر خشک را برروی رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* بررسی کردند و دریافتند که رشد این باکتری درحضور غلظت های ۱/۵درصد و بالاتر، مهار می گردد(۱۲). میرلمن[5] و همکاران(۱۹۹۷)، در بررسی خود نشان دادند که آلیسین یک داروی ضد میکروبی و مهارکننده برای طیف وسیعی از انواع مختلف باکتری ها است(۱۳). محسن زاده[6](۲۰۰۷)، اثر ضد باکتریایی غلظت های مختلف (۰/۰۱ تا ۱۵ درصد) اسانس های آویشن، نعناع فلفلی، زیره، رازیانه، پونه و ترخون را بر *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* در محیط آبگوشت مغذی مطالعه نمود. مقادیر حداقل غلظت مهارکنندگی رشد اسانس های نعناع فلفلی، رازیانه،

[1] *Escherichia coli*

[2] *Candida albicans*
[3] *Aspergillus niger*
[4] Gonzales
[5] Mirelman
[6] Mohsenzade

آویشن، پونه، زیره و ترخون در مورد *اشریشیا کلی* به ترتیب ۰/۳، ۰/۰۷، ۰/۶، ۲ درصد بودند(۱۴). اتییر(۲۰۱۴)، در این بررسی اثر عصاره الکلی سیر بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* جداشده درشرایط آزمایشگاهی با غلظت *(mg/ml*۱۰-۱۰۰) در تست آگار دیفیوژن[2] بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* به همراه اتیلن گلایکول استفاده شد. نتیجه حاکی از آن شد که عصاره الکلی سیر در غلظت *mg/ml* ۱۰-۲۰ و *mg/ml* ۴۰-۶۰، دارای تاثیرگذاری متوسط تا پایین داشته و بالاترین تاثیر بازدارندگی در برابر این باکتری در غلظت*mg/ml* ۸۰-۱۰۰ اندازه گیری شد(۱۵). دانگانا[3]و همکاران (۲۰۱۶)، پتانسیل ضدمیکروبی چهار گیاه جداشده از گیاهان رایج نیجریه علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کلی* را بررسی کردند. فعالیت ضدباکتریایی عصاره آبی و اتانولی جدا شده از آزادیراچتا ایندیکا[4](درخت نیم[5])،آلیوم ساتیوم (سیر)، زینگیبر(زنجفیل[6])، آلیوم سپا[8] (پیاز) در برابر دو باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کلی* قرار گرفت. بالاترین خاصیت آنتی باکتریایی مربوط به، ایندیکا عصاره جداشده از درخت نیم بود در حالی که عصاره آبی داغ جداشده از آلیوم ساتیوم با غلظت *mg/ml* ۱۸برای *اشرشیا کلی**mm* ۳۰ و *mm*۲۷ برای *استافیلوکوکوس اورئوس* را نشان داد.عصاره اتانولی تازه جداشده از آلیوم ساتیوم با غلظت*mg/ml* ۰/۵ با قطر هاله عدم رشد*mm* ۲۸ بالاترین بازدارندگی را در برابر باکتری ها را داشت. یافته های این پژوهش نشان داد که دو عصاره جداشده (آلیوم ساتیوم و آزادیراچتا ایندیکا) از این گیاهان فعالیت ضدباکتریایی قابل توجهی را تشکیل دادند(۱۶). طبق نمودار ۳، با گذشت زمان در نمونه شاهد، افزایش جمعیت و در تمامی تیمارها، سیر نزولی جمعیت باکتری گزارش شد. سادیکی[9] و همکاران(۲۰۱۴)، اثر اسانس مورد و آویشن را در ترکیب با هم بر روی دو باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کلی* بررسی کردند مشاهده شد که ترکیب این اسانس ها علیه هر د باکتری اثر سینرژیستی داشت(۱۷). امیر[10] همکاران(۲۰۱۴)، فعالیت ضد میکروبی عصاره آبی سی را برروی *استافیلوکوکوس اورئوس* در همبرگر بررسی کردند. عصاره آبی سیر در شرایط استریل با غلظت های *ml*۱، ۲، ۳ به نمونه *g*۱۰۰ همبرگر اضافه شد. نمون همبرگر سپس در دمای ۴درجه سیلیسیوس تا ۱۸ درجه سیلیسیوس، یکی در یخچال به مدت یک هفته دیگری در فریزر به مدت دو هفته نگهداری شد که د هفته اول و دوم در تمام غلظت های اضافه شده(۳-۲- میلی لیتر)، کاهش اثر میکروبی مشخص شد. در غلظ های *ml*۱-۲ تفاوت معنی داری از اثر بازدارندگی ب رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* وجود نداشت. در نمون های نگهداری شده در شرایط انجماد به مدت دو و س ماه بهترین نتیجه در غلظت *ml*۲ از عصاره آبی سی دارد(۱۸). مشابه این نتایج را نوری و همکاران (۱۳۸۸ گزارش کردند بطوریکه با بررسی اثر بازدارندگی اسانس دارچین و درجه حرارت نگهداری بر میزان رش *اشرشیاکلی* در همبرگر متاثر از غلظت های مختلف اسانس دارچین، نتایج نشان داد که با افزایش غلظ اسانس، میزان رشد باکتری در شرایط دمایی یکسا کاهش یافت(۱۹). و همچنین دیویدسون هریسون(۲۰۰۴)، نوع ماده غذایی جامد (گوشت)، حضور چربی،کربوهیدرات، پروتئین و نمک در ماد غذایی را بر اثرگذاری درصد غلظت مورد استفاده عصار و اسانس ها موثر دانستند (۲۰).

طبق نتایج نمودار۳ و جدول ۱، جمعیت رشد د کلیه تیمارها تا روز پنجم روند افزایشی نشان داد و نی میزان رشد جمعیت نسبت به شاهد پائین تر بود. سپس تمامی تیمارها از روز پنجم تا روز دهم، سیر نزول نشان دادند به استثنای ۱۰ و ۲۵ میکرولیتر بر ۰ میلی لیتر که روند افزایشی جمعیت باکتری مشاهد شد. بنابراین با گذشت زمان در تیمارهای حاوی غلظ های پائین عصاره، فعالیت بازدارندگی محدود گردید یا به طور کامل از بین رفت. جوانمرد و گل محمدی(۱۳۸۷)، با بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره

[1] Atheer
[2] Agar diffusion test
[3] Dangana
[4] Azadirachta indica
[5] Neem Tree
[6] Zingiber officinale
[7] Ginger
[8] Allium cepa
[9] Sadiki

[0] Amir
[1] Davidson and Harrison

دارچین را در مقابل *سالمونلا تیفی موریوم*[1] و جمعیت کل میکروبی[2] در گوشت چرخ کرده بسته بندی شده (در روزهای هفتم، چهاردهم و بیست و یکم) نشان دادند فعالیت بازدارندگی طی هفته اول را گزارش کردند درحالیکه در هفته دوم هیچ یک از تیمارها، فعالیت بازدارندگی مشاهده نشد(۲۱). دورمن و دینس[3](۲۰۰۰)، بیان می کند بین ساختار شیمیایی و میزان مواد موثر موجود در اسانس و عصاره ها خاصیت ضدمیکروبی آن ها همبستگی وجود دارد که می تواند اثر گذشت زمان بر کاهش فعالیت ضدمیکروبی این بازدارنده های طبیعی را توجیه کند(۲۲).گنزالس[4] و همکاران(۱۹۹۴)، از مهم ترین خواص سیر را خاصیت ضد باکتریایی آن گزارش نمودند. سیر باعث جلوگیری از رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* و همچنین مانع تولید انتروتوکسین های A-D، ترمونوکلئاز و کوآگولاز حاصل از این باکتری می گردد(۱۲). مشابه این نتایج را دهخوارقانی(۱۳۷۳)، گزارش شد که سیر از رشد باکتری *باسیلوس سوبتیلیس*[5] در گوشت جلوگیری می کند(۲۳). و نیز سرل[6](۱۹۵۱)، بیان نمود که سیر مانع از رشد مایکوباکتریوم ها نیز می شود (۲۴). آزاد[7] و همکاران(۱۹۹۱)، اثر ضدباکتریایی عصاره سیر نسبت به *شیگلا* راگزارش نمودند به طوری که نسبت به *شیگلافلکسنری* را برابر با ۵ میکرولیتر بر میلی لیتر می باشد(۲۵). تاینکا[8] و همکاران(۱۹۷۳)، تحقیقات دیگر نیز حاکی از اثر ضد باکتریایی سیر نسبت به باکتری های *اشرشیا کولی*،*پروتئوس ولگاریس*[9] و *سراشیا مارسنس* می باشند را گزارش کردند. مسلما سیر، به علت داشتن اثر ضد باکتریایی، دارای خاصیت آنتی بیوتیک نیز می باشد که نسبت به ترکیبات فنلی ۱برابر ۱۵ می باشد. خاصیت ضد باکتریایی سیر بواسطه واکنش گروهS-O-S در آلیسین و سایر آلکیل سولفیناته های موجود با گروه سولفیدریل (SH-) آنزیم های تیول دار موجود در باکتری می باشد که منجر به تشکیل ساختمان سوم و چهارم مولکول آنزیم و در نتیجه غیرفعال شدن آن می گردد (۲۶). قندی (۱۳۷۲)، خاصیت سیر عمدتا به وجود جسمی مایع و گوگرد دار که به روغن سیر موسوم است، نسبت می دهند. گروه هیدروکربنی موجود در روغن راآلیل(از کلمه آلیوم)نامید و نام آلیل گوگرد رابه مواد فرار اطلاق کرد. به نظر می رسد اثر بازدارندگی عصاره و اسانس های روغنی بر میکروارگانیزم ها از طریق اختلال در سیستم غشاء بوسیله ترپنوئیدها و فنولیک ها، شلاته کردن فلزات با فنول ها و فلاونوئیدها و اثر بر ترکیبات ژنتیکی، صورت می گیرد (۲۷). آلیناز که سبب تبدیل آلئین به آلیسین می شود که یکی از مواد موثره مهم سیر می باشد. سایکلواکسیژناز نیز در سیر یافت می شود و با انکوبه کردن سیر و آراشیدونیک و جداکردن ۴ نوع پروستاگلندین و یک نوع ترمبوکسان به وجود این آنزیم پی بردند و جالب این که این عمل توسط ایندومتاسین قابل مهار می باشد (۲۸). مشابه ترکیبات شناسایی شده در عصاره سیر در این تحقیق در برخی تحقیقات دیگر گزارش شده که علت اصلی خصوصیت ضدکپکی و ضدمیکروبی عصاره سیر معرفی شده اند. مکانیسم اثر عصاره سیر به دلیل ترکیب برروی فعالیت آنزیم هایی که در متابولیسم باکتری ها نقش دارند، به خصوص آن هایی که گروه SH- دارند تاثیر می گذارند (۲۹). سیر دارای خاصیت ضدمیکروبی است و مواد مختلفی در آن باعث ایجاد این خاصیت می گردند، از جمله این مواد: آلئین–اهوئن–آلیسین–آلیساتین ۱ و ۲ (۳۰،۳۱).

بسیاری از تحقیقاتی که تاثیر عصاره آبی را به عنوان عامل ضدمیکروب در غذا نشان می دهد، به فاکتور طعم که توسط عصاره آبی ایجاد می شود، به عنوان موضوع مهم و قابل توجه در استفاده از عصاره ها در مواد غذایی، اشاره دارد (۳۲). با وجود اینکه بیشتر عصاره های آبی جزء لیست افزودنی های مجاز می باشند، لذا استفاده از آن ها به عنوان نگهدارنده اغلب به دلیل اثر نامطلوب بر طعم، محدود می شود (۳۳). ترکیبات طبیعی با ویژگی‌های ضدمیکروبی مانند اسیدهای آلی، اسانس و عصاره‌های گیاهی می‌توانند جایگزین مناسبی برای ترکیبات سنتزی باشند (۳۴،۳۵). ترکیبات طبیعی از زمان‌های دور، به منظور ایجاد طعم و عطر در مواد غذایی، نگهدارنده و همچنین

[1] *Salmonella Typhimurium*
[2] .Total count
[3] Dorman and Deans
[4] Gonzalez
[5] *Bacillus subtilis*
[6] Surl
[7] Azad
[8] Tynecka
[9] *Proteus vulgaris*

نیز برای درمان و جلوگیری از بیماری‌ها بکار گرفته می‌شوند (۳۶). باوجود اینکه که اسانس ها و عصاره های گیاهی در لیست GRAS قرار دارند، لکن استفاده از آن ها به عنوان یک نگه دارنده غذایی اغلب از نظر مزه و بو دارای محدودیت است(۳۷).که با نتایج این تحقیق تطابق دارد چرا که با وجود افزایش در غلظت بالاتر(۱ و ۱/۵)درصد، مطلوبیت آنها از لحاظ عطر وطعم کاسته شد وامتیازات پایین تری نسبت به سایر تیمار ها کسب نمودند.

طبق نتایج آزمون میکروبی در محیط کشت در روز سوم، تیمار حاوی ۱/۵ درصد عصاره سیر اثر بازدارندگی از رشد باکتری را از خود نشان دادند و نمونه فریز شده در روز سوم و در روز پنجم رشد باکتری به طور کامل متوقف شد. در صورتیکه در شاهد در روزهای زمان صفر، اول، دوم، افزایش جمعیت باکتری مشاهده شد. با توجه به اینکه یکی از اهداف تحقیق، دستیابی به حداقل غلظت بازدارندگی بود، غلظت ۰/۵درصد عصاره به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی گزارش شد. نتیج آزمون میکروبی در گوشت نشان داد که با افزایش غلظت عصاره سیر، بر طبق نتایج آزمون حسی گوشه بلدرچین (بدون تلقیح باکتری)، و در نمونه شاهد د غلظت های بالای عصاره سیر که میزان بازدارندگی رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* افزایش یافت، امتیـ صفت عطر و طعم در این گوشت کاهش یافت ، عبارتی کمترین و بیشترین امتیاز مربوط به تیمار حاو ۱/۵ و ۰/۵ درصد عصاره بود که با توجه به نتایج ای آزمون ، تیمار حاوی ۰/۵ درصد عصاره سیر به عنوا تیمار برتر انتخاب شد. با توجه به نتایج آزمو میکروبی، تیمار حاوی غلظت ۰/۵ درصد، عصاره سیر عنوان تیمار برتر انتخاب شد.

تقدیر و تشکر

از معاونت پژوهشی واحد ورامین قدردانی می گرد

منابع مورد استفاده

1. Boni, I., Nurul, H., Noryati, I., 2010. Comparison of meat quality characteristics Food between young and spent quails Research Journal of International; 17: 661-666.
2. Razavilar, V., 1999. Pathogenic bacteria in food and epidemiology of food poisoning. First edition. Tehran university publisher. Antibacterial activity of new, stable, aqueous extract of *Allicin* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. British Journal of Bromedical Science 6(2): 1-4.
3. Lopez, A., Aretto-Valdavieso, J. B., Palou, E., Martin, F. S., 2001. *Aspergillus flavus* growth response to cinnamon extract and sodium benzoate mixtures. Food Control 18: 1358-1362.
4. Burt, S., 2004. Essential oils: Their antimicrobial properties and potential application in foods: a review. International Journal of Food Microbiology 94: 223-235.
5. Sahana, K., Nagarajan, S., Rao, L. J. M., 2011. Cumin (*L.Cuminum cyminum*) seed volatile oil: Chemistry and role in health and disease prevention. Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention, Chapter 5, pp. 417-427.
6. Saedi, A., 2013. Effect of oily essential oils and extracts of Iranian cumin plant as an antimicrobial compound in Mayonnaise. Master's Degree in Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Varamin-Pishva Branch, chapter;167.
7. Institute of Standards and Industrial Research of Iran., 2013. Microbiology of food and animal feed. Sampling of livestock and poultry carcasses for microbial analysis, National Iranian Standard Numbers;17219.
8. Institute of Standards and Industrial Research of Iran., 2001. Microbiology of food and animal feed. Counting and identification of coagulase-positive *staphylococci* (*Staphylococcus aureus* and other species), Testing method, Part III: Counting and identification using the highest probable number, National Iranian Standard No;1-6806.
9. Inouya, S., Takizawa, T., Yamaguchi, H., 2001. International Journal of Food Microbiology 156: 7-17.
10. Inouya, S., Takizawa, T., Yamaguchi, H., 2001. Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 47: 565-573.
11. Khodae, M. M., 2014. Antimicrobial effect of garlic and rosemary essential oil on some major pathogens of mastitis in

dairy cattle. Journal of Cell and Texture 5: 79-88.
12. Gonzalez, F., 1994. S*taphylococcal* growth and enterotoxins (A-D) and thermonuclease synthesis in the presence of dehydrated garlic. J Appl Bacteriol 77(5): 549-52.
13. Mirelman, D., Wichek, M., 1997. Antimicrobial agent and chemotherapy therapeutic effect of garlic clarified at weizmann, oct. Weizmann Institute of Science.
14. Mohsenzadeh, M., 2007. Spice derived essential oil. Archives of Phytopathology and Plant Protection 45: 2474–2484.
15. Atheer, A., 2014. Antibacterial activity of garlic extract (*Alliume sativum* L.) against *Staphylococcus aureus* in vitro. Global Journal of Bioscience and Biotechnology 3: 346-348.
16. Dongana, A., Abdullahi, I., Nonye, B., 2016. Preliminary evaluation of antibacterial of four common Nigerian plants against isolates of *Staphylococcus aureus* and *Esherichia coli*. New York Science Journal 9: 13-23.
17. Sadiki, M. M., Balouiri, H., Barkai, H., Maataoui, S., Ibnesoud, K., Elabed, S., 2014. Synergistic antibacterial effect of Myrtus communis and Thiymus vulgaris essential oils fractional inhibitory concentration index. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 6: 121-124.
18. Amir, S., Shahrokh, S., Mansour, B., Ebrahim, H., 2014. Antibacterial effect of garlic aqueous extract on *Staphylococcus aureus* in hamburger. Jundishapur Journal of Microbiology 7(11): e13134.
19. Noori, N., Toyan, N., Rokni, A., Akhondzadeh, E., 2009. The effect of cinnamon essential oil storage and storage temperature on growth rate of *E. coli O 157: H7* in hamburger using hybrid technology. Quarterly Journal of Food Science and Technology 4: 42-35.
20. Davidson, P. M., Harrison, M. A., 2002. Resistance and adaptation to food antimicrobials, sanitizers and other process controls. Food Technology 56: 69-78.
21. Javanmard, M., Golmohammadi, H., 2008. Study of antimicrobial effects of cinnamon extract in meat packaging. Ph.D. Professional Dissertation, Faculty of Veterinary Medicine, Karaj University.
22. Dorman, H. J. D., Deans, S. G., 2000. Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology 88: 308-316.
23. Dehkhar Ghani, B., 1994. The effect of garlic extract on the major flora of intestinal bacteria in laboratory animals. Ph.D. Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Islamic Azad University, Tehran.
24. Surl, J. C., 1951. Antitubercular activity of garlic. Indian J Med Res 39(3): 411-415.
25. Azad, A. K., 1991. Efficacy of aqueous extract of garlic & allicin in experimental shigellosis in rabbits. Indian J Med Res 12: 13-16.
26. Tynecka, Z., Gas, Z., 1973. The inhibitory action of garlic on growth and respiration of some microorganisms. Acta Microbiologica Polonika Ser B 5: 51-52.
27. Ghandi, M., 1998. Translation of garlic and onion. Chemistry Magazine 1: 1-8.
28. Hagh Khah, M., Fazeli, M., Raei, M., 1997. Antimicrobial effects of garlic. Thirteenth Congress of Physiology and Pharmacology of Iran, Isfahan, pp. 7-4.
29. Appleton, J. A., Tansey, M. R., 1967. Inhibition of growth of *Zoopatogenic fungi* by garlic extracts. Mycologia 67: 882-889.
30. Saberi Najafi, M., 1996. Investigation of the effect of chloroform extract on garlic allicin on toxico-genicity of Enteropathogenic s*higella*. Master's thesis for Microbiology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran University.
31. Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Cooten, P., Nychas, G. J. E., 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. Journal of Application of Microbiology 91: 453–462.
32. Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A., Cliver, D. O., 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. Food Control 21: 1199-1218.
33. Holley, R. A., Patel, D., 2005. Improvement in shelf life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. Food Microbiology 22: 273-292.
34. Skrinjar, M. M., Nemet, N., 2009. Antimicrobial effects of spices and herbal essential oils. APTEFF 40: 195-209.
35. Karbin, S., Rad, A. B., Arouiee, H., Jafarnia, S., 2009. Antifungal activities of the essential oils on post-harvest disease agent *Aspergilus flavus*. Advances in Environmental Biology 3: 219-225.
36. Institute of Standards and Industrial Research of Iran (2001). Microbiology of food and animal feed. Preparation of the test, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examinations. Part I: General Provisions

37. for Preparation of Primary Suspension and Decimals, National Iranian Standard No; 1-8923.
38. Adams, R. P., 1995. Identification of essential oil compounds by Gas chromatography Mass spectroscopy. Allured publishing corporation, Carol Stream, I.L.
39. Androw, J. M., 2001. BSAC Standardized disc susceptibility testing method. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 7 (5): 48-57.
40. Anjum, T., Akhtar, N., 2012. Antifungal activity of essential oils extracted from clove and cumin and cinnamon against Blue mold disease on citrus fruits. International Conference on Applied Life Sciences. http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/; 321-326.
41. Cavallito, C. J., 1946. Relationship of thio-structure to reaction with antibiotics. J Biol Chem 16A: 22-35.
42. Dausah, J. G., Nixon, D. W., 1990. Garlic: A review of its relationship to malignant disease. Prev Med 3: 346-361.
43. Davidson, P. M., Parish, M. E., 1989. Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. Food Technology 43: 148-155.
44. Kalantari, F., Barzegar, M., Hamidi-Esfahani, Z., 2012. Control of *Aspergillus flavus* growth in tomato paste by Cinnamomum zeylanicum L. and Origanum vulgare essential oils. World academy of science engineering and technology 66: 64-68.
45. Kasoga, S., Kancsawa, A., 1988. Extraction of ajoene from garlic for treatment of liver disease. JPN. Kokai Tokyo kono JP; 14 Appl.86/153.342.
46. Mashhadian, N. V., Rakhshandeh, H., 2005. Antibacterial and antifungal effects of *Nigella sativa* extracts against *S. aureus*, *P. aeroginosa* and *C. albicans* Pakistan Journal of the Medical Science; 21 (1): 47-52.
47. Nielsen, P. V., Rios, R., 2000. Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil original. International Journal of Food Microbiology 60: 219-229.
48. Omidbeygi, M., Barzegar, M., Hamidi, Z., Naghdibadi, H., 2007. Antifungal activity of thyme, summer savory, clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. Food Control 18: 1518-1523.
49. Singh Negi, P., 2012. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. International Journal of Food Microbiology 156: 7-17.
50. Tiwari, B. K., Valderamidi, V. P., O'Donnell, C. P., Muthcumarappan, K., Bourke, P., Cullen, P. J., 2009. Application of natural antimicrobials for food preservation. Journal of Agriculture and Food Chemistry 57: 5987-6000.
51. Tripathi, P., Dubey, N. K., Shukla, A. K., 2008. Use of some essential oils as post-harvest botanical fungicides in the management of grey mold of grapes caused by *Botrytis cinerea*. World Journal of Microbiology and Biotechnology 24: 39-46.
52. Yu, T. H., Wu, C. M., 1980. Stability of *allicin* in garlic juice. Journal of Food Science 54: 977-981.
53. Imani Fooladi, E., Sattari, M., Qazi Saeedi, K., 1994. Antimicrobial effect of garlic chlorophyllic extract (Allicin) on *Mycobacterium tuberculosis* strains (sensitive and resistant). Master's thesis, Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, pp. 30-26, 35-32, 38-37, 46-45.
54. Jaymound, K., Rezaei, M., 2006. Distillation devices. Test methods and inhibitory indexes for essential oil decomposition. First edition, Medicinal Plants Association, Tehran, pp. 18, 105-107.