# بررسی امکان استفاده از عصاره اتانولی ریحان در کنترل *سالمونلا تیفی موریم* در سس مایونز

**زهرا لطیفی[۱]، سودابه معینی[۲]، جعفر محمدزاده میلانی[۳]، تارا قربانی پیرشهید[۴]، پریا رهنما [۵]، لیلا روزبه نصیرایی*[۶]**

۱. باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران.
۲. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، واحد نور، دانشگاه آزاد اسلامی، نور، ایران.
۳. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ساری، ایران.
۴. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران.
۵. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
۶. گروه علوم و صنایع غذایی، واحد نور، دانشگاه آزاد اسلامی، نور، ایران.

***نویسنده مسئول:** *dr.rozbeh_l@yahoo.com*

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۱/۱۹

**چکیده**

سالمونلا یکی از مهم‌ترین علت‌های شیوع بیماری‌های ناشی از غذا در جهان است. عمده‌ترین مـواد غذایی مسئول در انتقال سالمونلا در کشور ایران تخم‌مرغ و گوشت مرغ می‌باشد. هدف از این پژوهش بررسی امکان استفاده از عصاره هیدرو اتانولی ریحان در کنترل سالمونلا تیفی موریم در سس مایونز می‌باشد. در این پژوهش ابتدا آزمایش‌های خاصیت ضد میکروبی عصاره اتانولی ریحان مورد بررسی قرار گرفت و با توجه به نتایج به‌دست آمده، غلظت‌های مورد نظر عصاره برای بررسی نهایی ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد در نظر گرفته شد. سپس خاصیت آنتی باکتریایی عصاره اتانولی ریحان روی باکتری سالمونلا تیفی موریم در سس مایونز طی ۳۰ روز در دمای ۲۵ و ۴ درجه سلسیوس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از بررسی‌های آماری نشان داد که سه غلظت مورد مطالعه به‌طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) نسبت به نمونه شاهد موجب کاهش رشد باکتری سالمونلا تیفی موریم در طی دوره نگهداری شدند و با افزایش غلظت عصاره فعالیت ضد باکتری عصاره افزایش یافت به‌طوری‌که عصاره ریحان با غلظت ۷۵۰۰ ppm به‌طور معناداری در اکثر زمان‌ها کمتر از سایر تیمارها بود ($p<۰/۰۵$). تست ارزیابی حسی به روش هدونیک ۵ نقطه‌ای صورت گرفت و نتایج آنالیز حسی ظاهر و رنگ در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری نسبت به هم نداشتند. در ارتباط با طعم، بافت و پذیرش کلی سس، کمترین امتیاز حسی مربوط به تیمار با غلظت ۰/۷۵ درصد بوده است. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده میزان باکتری در هر دو دما در تمامی تیمارها کاهش یافت و این کاهش در تیمار شاهد ناچیز بود و با افزایش غلظت عصاره، فعالیت ضدباکتریایی آن افزایش یافت.

**کلید واژه ها:** ریحان، ضد میکروبی، *سالمونلا*، سس مایونز، عصاره، نگهدارنده.

**مقدمه**

ایمنی مواد غذایی یک مسئله جهانی است و پیامدهای قابل توجهی بر سلامت انسان دارد. پردازش حرارتی یک روش معمول برای از بین بردن میکروارگانیسم‌های رویشی برای اطمینان از ایمنی غذا است، اما این روش ممکن است اثرات نامطلوب تغذیه‌ای و کیفی ایجاد کند (Tiwari *et al.*, 2009). برای جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های نامطلوب در مواد غذایی، می‌توان مواد ضد میکروبی را بطور مستقیم به فرمولاسیون محصول اضافه کرد، روی

سطح آن را پوشش داد یا در مواد بسته‌بندی قرار داد (Del Nobile *et al*., 2012). از متابولیسم ثانویه گیاهان ترکیبات فعال زیستی حاصل می‌شود، که آنها را به یک ماتریس عملگرا مرتبط با عملکردهای مفید سلامتی تبدیل می‌کند (McCance *et al*., 2016). این مولکول‌ها توجه بسیاری از جامعه علمی را به خود جلب کرده و منجر به مطالعاتی بر اساس خصوصیات و کاربردهای آنها، نه تنها در صنایع غذایی بلکه به عنوان مواد طبیعی در بخش دارویی نیز شده است (Rodriguez-Amaya, 2016). خانواده نعناعیان[1] یکی از بزرگ‌ترین خانواده‌های گیاهی است که دارای پراکنش جهانی می‌باشد. گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*) با داشتن ۲۵۰ جنس و ۷۰۰۰ گونه، از این خانواده است (Zangeneh *et al*., 2019). گیاه ریحان به‌عنوان سبزی خوراکی، به‌صورت تازه و خشک در تهیه انواع غذاها، نوشیدنی‌ها، بستنی و ... کاربرد فراوانی دارد (Labra *et al*., 2004). عصاره این گیاه حاوی ترکیبات شیمیایی خاصی است که مقدار آن با توجه به گونه گیاهی و شرایط اقلیمی محل رویش متفاوت بوده و بین ۰/۵ تا ۱/۵ درصد متغیر است (Mansouripour, 2011). همچنین عصاره و اسانس ریحان دارای خاصیت ضد باکتریایی و ضد قارچی است (Noorbakhsh, 2010).

*سالمونلا تیفی موریم* یک باکتری گرم منفی میله‌ای شکل فاقد کپسول و غیر اسیدفست و از خانواده انتروباکتریاسه می‌باشد. در اغلب محیط‌های غذایی رشد کرده و قادر به تخمیر گلوکز و مانوز است. این میکروارگانیسم همواره متداول‌ترین واریته سرولوژیک جدا شده از مواد غذایی در سراسر جهان می‌باشد (Cetinkaya *et al*., 2008). اغلب سالمونلاها آئروژنیک[2] هستند اما *سالمونلاتیفی* یک استثناء مهم است و هرگز گاز تولید نمی‌کند. معمولاً سالمونلاها از سیترات به‌عنوان منبع کربن استفاده می‌نمایند، اما برخی از گونه‌ها مانند *سالمونلاتیفی* و *سالمونلا پاراتیفی* A سیترات منفی هستند (Murray, 2003). سس مایونز یکی از پرکاربردترین سس‌ها در جهان می‌باشد (Menchetti *et al*., 2020). سس مایونز به دلیل pH کم، چربی بالا و سطح اسید استیک، معمولاً مقاوم در برابر فساد میکروبی شناخته می‌شود (Menchetti *et al*., 2020). با این حال، کاملاً از آلودگی عوامل بیماری‌زا و عواملی مانند مواد تشکیل دهنده، روش نگهداری، به ویژه دمای ذخیره‌سازی عاری نیست و تولید آن می‌تواند بر ایمنی میکروبیولوژیکی آن تأثیر بگذارد (Keerthirathne *et al*., 2016). سس مایونز به علت وجود تخم‌مرغ در فرمولاسیون آن و احتمال آلوده بودن تخم‌مرغ به سالمونلا، می‌تواند حاوی آلودگی باشد (Menchetti et al., 2020). برخی از موادی که بطور مکرر در تهیه مایونز استفاده می‌شود، مانند ادویه‌ها، ممکن است دارای فعالیت ضد میکروبی باشند اما خود می توانند منبع آلودگی باشند (Keerthirathne *et al*., 2016). با توجه به مصرف گسترده سس مایونز در صنایع غذایی و استفاده روزانه مردم از این محصول و اهمیت موضوع از بین بردن *سالمونلا تیفی موریم* به‌عنوان یک خطر بالقوه در این محصولاتT لذا بر آن شدیم در این مطالعه امکان استفاده از عصاره اتانولی ریحان در کنترل *سالمونلا تیفی موریم* در سس مایونز را موردبررسی قرار دهیم.

**مواد و روش کار**

استخراج عصاره از برگ گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*)

گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*) از بازار محلی تهیه گردید و سپس برگ‌ها از گیاه جدا شده، شسته و خشک شدند. برگ‌های آماده شده در دمای محیط در یک اتاق دارای تهویه مناسب و تاریک به مدت ۱۶۸ساعت (۷ روز) در دمای متوسط ۲۸ درجه سلسیوس (رطوبت نسبی متوسط ۶۱ درصد) در هوا خشک و سپس توسط آسیاب پودر شد و ۱۵۰ گرم از پودر برای عصاره‌گیری استفاده گردید. عصاره‌گیری به روش خیساندن (ماسراسیون) در

[1] *Lamiaceae*
[2] Aerogenic

اتانول ۴۵ درصد انجام گرفت. هر ۵۰ گرم پودر ریحان با ۱۸۰ میلی‌لیتر اتانول ۴۵ درصد مخلوط شد. سپس آن‌ها را باهم خوب مخلوط کرده و دور ظرف حاوی این مخلوط را آلومینیوم پیچیده و به مدت ۷۲ ساعت درون آون ۳۰ درجه سلسیوس می‌گذاریم. در این مدت هرچند ساعت ظرف حاوی عصاره تکان داده شد. بعد از ۷۲ ساعت عصاره‌ها را از درون آون خارج کرده و در محیطی فاقد نور، مخلوط عصاره توسط کاغذ صافی، صاف گردید و محلول صاف شده تحت خلأ در دمای ۴۳ درجه سلسیوس تغلیظ گردید. سپس محلول تغلیظ شده جهت تبخیر کامل حلال در پلیت‌های شیشه‌ای ریخته و در آون در دمای ۳۰ درجه سلسیوس قرار داده شد و پودر عصاره حاصل تا زمان مصرف در یخچال نگهداری شد.

آزمایشات میکروبی

تهیه محلول استاندارد مک فارلند

محلول استاندارد مک‌فارلند با افزودن حجم خاصی از محلول اسیدسولفوریک ۱ درصد و کلرید باریم ۱/۱۷۵ درصد برای به دست آوردن یک محلول سولفات باریوم با دانسیته نوری خاص تهیه شد. برای تهیه سوسپانسیون میکروبی با میزان میکروب موردنظر از جدول استاندارد نفلومتری مک فـارلند استفاده شد طبق این جدول، پس از تهیه محلول کلرید باریم و محلول اسیدسولفوریک درنهایت برای تهیه نیم مک فارلند، ۰/۸ میلی‌لیتر از محلول کلرید باریم به ۹/۲ میلی‌لیتر محلول سولفوریک اسید اضافه گردید. کدورت باکتریایی معادل $10^8$ cfu/ml × ۲/۴ به دست آمد (Lahuerta Zamora and Perez-Gracia, 2012).

تهیه سوسپانسیون میکروبی

برای تهیه سوسپانسیون میکروبی نیاز به کشت ۲۴ ساعته از باکتری می‌باشد؛ بنابراین ۲۴ ساعت قبل از آزمایش از کشت ذخیره به محیط کشت تلقیح انجام شد. بعد از ۲۴ ساعت کشت مربوطه توسط رینگر شسته شد و سوسپانسیون غلیظ میکروبی تهیه گردید. سپس مقداری از این سوسپانسیون میکروبی در کووت ریخته شد و کدورت آن توسط اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و تا هنگام برابر شدن کدورت محلول با کدورت محلول استاندارد مک فارلند توسط محلول رینگر رقیق شد.

بررسی اثر ضد میکروبی عصاره برگ ریحان

آزمایش‌های خاصیت ضد میکروبی عصاره متانولی، اتانولی و آبی ریحان مورد بررسی قرار گرفت و مقایسه نتایج کشت میکروبی این آزمایش‌ها نشان دادند که خاصیت ضد میکروبی عصاره اتانولی بیشتر از عصاره متانولی و عصاره آبی بوده، لذا در این بررسی به استفاده از عصاره اتانولی ریحان در سس مایونز پرداخته شد. حجم مشخصی از عصاره ریحان تهیه‌شده (۲۵۰۰،۵۰۰۰،۷۵۰۰ppm) در پلیت استریل ریخته شد، سپس از سوسپانسیون میکروبی مورد نظر حجم ۲۰۰ ماکرولیتر اضافه‌شده و کشت به‌صورت پورپلیت در پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار انجام گرفت. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس قرارگرفته و سپس تعداد کلنی‌ها شمارش شدند؛ بنابراین حداقل غلظت کشندگی عصاره اتانولی ریحان مشخص شد.

بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره اتانولی برگ ریحان در سس مایونز

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده در آزمایش‌های بررسی اثر ضد میکروبی عصاره ریحان، غلظت‌های مورد نظر عصاره برای بررسی نهایی ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد (معادل ۷۵۰۰،۵۰۰۰،۲۵۰۰ ppm) در نظر گرفته شد.

آماده‌سازی تیمارهای حاوی عصاره برگ ریحان

لازم به ذکر می‌باشد که قبل از تهیه سس مایونز، ابتدا تخم‌مرغ‌هایی که برای تهیه سس خریداری‌شده بودند را شسته و به اتانول آغشته کرده، در محیط کشت سالمونلا شیگلا آگار (SSA[1]) ازنظر وجود یا عدم وجود باکتری *سالمونلا تیفی موریم* توسط کشت سطحی مورد بررسی

[1]Salmonella Shigella Agar

قرار گرفتند و پلیت ها به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری شدند، پس از ۴۸ ساعت کلنی‌ای مشاهده نشد، درنتیجه عدم وجود سالمونلا در آن تخم‌مرغ‌ها تائید شد. سپس اقدام به تهیه سس مایونز گردید و با مخلوط کردن تخم‌مرغ و میزان مشخصی از روغن سالاد، سرکه، آب‌لیمو، نمک، شکر، پودر خردل و صمغ گزانتان، توسط مخلوط‌کن، سس مایونز در شرایط آزمایشگاه، زیر هود و با استفاده از لوازم کاملاً استریل تولید شد. نمونه سس استریل فاقد عصاره و باکتری نیز جهت کشت آماده شد، همچنین مقداری سس جهت پاستوریزاسیون در دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه در بن ماری قرار گرفت و جهت کشت آماده شد. مابقی سس‌ها با وزن مشخصی در بشرهای استریل قرار گرفت. با توجه به درصد عصاره مورد نظر، عصاره به سس اضافه شد. نمونه‌ها شامل ppm۷۵۰۰،۵۰۰۰،۲۵۰۰ عصاره بودند و همچنین نمونه فاقد عصاره و حاوی سوسپانسیون باکتری نیز به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. به هر بچ از نمونه‌ها، سوسپانسیون میکروبی نیز افزوده شد تا درنهایت جمعیت میکروبی در هر بچ سس $1/5\times10^{8}$CFU/g باشد. محتویات هر بچ به‌طور کامل مخلوط شد و در ظروف کدگذاری شده استریل تقسیم گردید. نمونه‌ها در آون در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و یخچال ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. همچنین نمونه‌های سس فاقد میکروارگانیسم و عصاره نیز در این دو دما نگهداری شدند.

بررسی تغییرات تعداد باکتری سالمونلا تیفی موریم مولد فساد در مایونز حاوی عصاره ریحان

تعداد باکتری *سالمونلا تیفی موریم* تلقیح شده به سس مایونز در دو دمای نگهداری ۴ و ۲۵ درجه سلسیوس در طی ۳۰ روز مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا ۱ گرم از هر نمونه در شرایط کاملاً استریل به لوله فالکن حاوی ۹ میلی‌لیتر محلول رینگر انتقال داده شده و کاملاً هم زده شد تا یکنواخت گردد. رقیق‌سازی در میکرو تیوب‌های حاوی ۹۰۰ ماکرولیتر محلول رینگر استریل تا رقت $10^{6}$ انجام گرفت. سپس به‌وسیله سمپلر ۲۰۰ ماکرولیتر از هر رقت به پلیت‌های حاوی محیط کشت SSA افزوده شد و کشت به صورت خطی انجام گرفت. پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شد و سپس تعداد کلنی‌ها شمارش گردید.

ارزیابی حسی سس مایونز حاوی عصاره ریحان

به‌منظور بررسی اثر این عصاره بر خصوصیات حسی سس مایونز تست پانل نیز انجام گرفت که طی آن سس حاوی درصدهای مختلف عصاره و نمونه شاهد مورد ارزیابی حسی قرار گرفتند. تست پانل به روش هدونیک ۵ نقطه‌ای و مبتنی بر روش امتیازدهی طراحی و توسط ۱۰ نفر انجام گرفت. داده در آنالیزها برای امتیاز بسیار بد عدد ۱، بد عدد ۲، متوسط عدد ۳، خوب عدد ۴ و بسیار خوب عدد ۵ منظور می‌گردد، استفاده شد. در این روش به هر نفر یک ظرف حاوی نمونه که با کدهای A0, A1,A2.A3, A4 شماره‌گذاری شد، یک قاشق، یک لیوان آب به همراه یک فرم امتیازدهی داده شد. هر نفر تمام نمونه‌ها را به صورت تصادفی ارزیابی کرد و بین هر نمونه آب نوشیده شد. به‌این‌ترتیب ۴ فاکتور تأثیرگذار سس مایونز شامل ظاهر، رنگ، بو، طعم و مزه، بافت و پذیرش کلی مورد ارزیابی قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

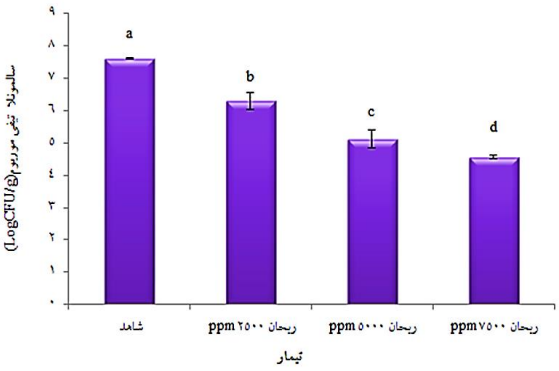
تجزیه و تحلیل داده‌ها، با توجه به نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس، با استفاده از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) استفاده شد. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون دانکن درسطح ۵ درصد استفاده شد. تمام داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شد و ارزیابی‌ها در ۳ تکرار صورت پذیرفت. از نرم‌افزار (SPSS version 18) برای آنالیز داده‌ها و Excel برای رسم شکلها استفاده گردید.

## نتایج

بررسی اثر عصاره برگ ریحان بر باکتری *سالمونلا تیفی موریم*

تغییر در تعداد باکتری *سالمونلا تیفی موریم* در سس مایونز حاوی غلظت‌های متفاوت عصاره ریحان در شکل

(۱) نشان داده‌شده است. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود با افزایش غلظت‌های عصاره ریحان در سس مایونز از جمعیت باکتری *سالمونلا تیفی موریم* کاسته شد. افزودن این عصاره منجر به کاهش معنی‌دار بار میکروبی نمونه‌های سس مایونز حاوی عصاره ریحان نسبت به نمونه شاهد فاقد عصاره شد ($p<۰/۰۵$).




شکل ۱- تغییرات مقادیر باکتری *سالمونلا تیفی موریم* در تیمارهای مختلف طی دوره نگهداری در سس مایونز (در دمای ۴ درجه سلسیوس)

نتایج مربوط به تغییرات باکتری *سالمونلا تیفی موریم* در سس مایونز طی فرآیند نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس در جدول (۱) و شکل (۲) آورده شده است. با توجه به نتایج، تغییرات باکتری *سالمونلا تیفی‌موریم* تحت تأثیر زمان و تیمارها بوده است. به همین دلیل مقایسه تأثیر زمان و تیمار به‌طور جداگانه مورد بررسی قرار گرفت.

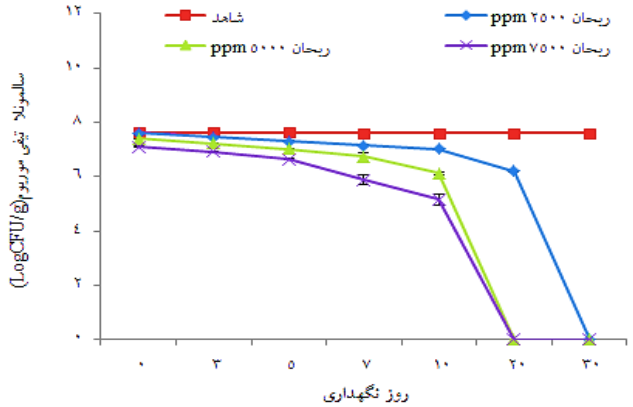
با توجه به نتایج آنالیز آماری، همان‌طور که در شکل (۲) مشاهده می‌شود، تغییرات باکتری *سالمونلا تیفی‌موریم* در طول زمان در همه تیمارها با کاهش معنی‌داری همراه بود ($p<۰/۰۵$) اما این کاهش در تیمار شاهد بسیار جزئی بوده و معنی‌دار نیست ($p>۰/۰۵$). همان‌طور که در شکل (۲) مشهود است، از روز پنجم درصد اختلاف بین نمونه شاهد و سایر غلظت‌ها معنی‌دار می‌شود و از روز هفتم به بعد در تمام غلظت‌ها در روزهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p<۰/۰۵$). در روز سی‌ام نگهداری در تیمار عصاره ریحان با غلظت ۲۵۰۰ ppm کلنی‌ای مشاهده نشد و در تیمارهای عصاره ریحان با غلظت ۵۰۰۰ ppm و ۷۵۰۰ در روز بیستم نگهداری کلنی‌ای مشاهده نشد. تیمار شاهد در انتهای دوره در روز ۳۰، میزان آن log CFU/g ۷/۶ بود. با افزایش غلظت عصاره فعالیت ضد باکتری عصاره افزایش یافت به‌طوری‌که مقادیر باکتری *سالمونلا تیفی‌موریم* در عصاره ریحان با غلظت ppm ۷۵۰۰ به‌طور معنی‌داری در اکثر زمان‌ها کمتر از مابقی تیمارها بود ($p<۰/۰۵$) و همچنین این میزان در تمامی زمان‌ها در نمونه شاهد بیشتر از مابقی تیمارها بود ($p<۰/۰۵$).

جدول ۱- تغییرات مقادیر *سالمونلا تیفی‌موریم* در تیمارهای مختلف طی دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس*

| دوره نگهداری (روز) | تیمارها | | | |
|---|---|---|---|---|
| | شاهد | عصاره ریحان (۲۵۰۰ ppm) | عصاره ریحان (۵۰۰۰ ppm) | عصاره ریحان (۷۵۰۰ ppm) |
| ۰ | ۷/۶۳ ± ۰/۰۱ $^{aA**}$ | ۷/۵۹ ± ۰/۰۳ $^{bA}$ | ۷/۴۰ ± ۰/۰۱ $^{cA}$ | ۷/۰۹ ± ۰/۰۲ $^{dA}$ |
| ۳ | ۷/۶۲ ± ۰/۰۱ $^{aAB}$ | ۷/۴۵ ± ۰/۰۱ $^{bAB}$ | ۷/۲۳ ± ۰/۰۱ $^{bAB}$ | ۶/۹۱ ± ۰/۰۳ $^{bB}$ |
| ۵ | ۷/۶۲ ± ۰/۰۱ $^{aABC}$ | ۷/۳۰ ± ۰/۰۲ $^{bBC}$ | ۷/۰۱ ± ۰/۰۳ $^{bB}$ | ۶/۶۴ ± ۰/۰۴ $^{cC}$ |
| ۷ | ۷/۶۱ ± ۰/۰۱ $^{aABC}$ | ۷/۱۵ ± ۰/۰۲ $^{bCD}$ | ۶/۷۴ ± ۰/۱۵ $^{bcC}$ | ۵/۸۸ ± ۰/۱۶ $^{cD}$ |
| ۱۰ | ۷/۶۱ ± ۰/۰۱ $^{aABC}$ | ۷/۰۱ ± ۰/۰۲ $^{bD}$ | ۶/۱۲ ± ۰/۰۶ $^{bcD}$ | ۵/۱۵ ± ۰/۲۱ $^{cE}$ |
| ۲۰ | ۷/۶۱ ± ۰/۰۲ $^{aABC}$ | ۶/۱۹ ± ۰/۰۳ $^{bE}$ | ۰/۰۰ ± ۰/۰۰ $^{bE}$ | ۰/۰۰ ± ۰/۰۰ $^{bF}$ |
| ۳۰ | ۷/۶۰ ± ۰/۰۳ $^{aC}$ | ۰/۰۰ ± ۰/۰۰ $^{bF}$ | ۰/۰۰ ± ۰/۰۰ $^{bF}$ | ۰/۰۰ ± ۰/۰۰ $^{bF}$ |

* همه اعداد بر حسب log CFU/g بیان شده است (میانگین ± انحراف معیار)

** حروف کوچک (a-d) در هر ردیف و حروف بزرگ (A-F) مشابه در هر ستون برای هر پارامتر نشان دهنده عدم اختلاف معنادار (p< ۰/۰۵) بر اساس آزمون دانکن بین داده‌ها است.




شکل ۲- اثر غلظت‌های متفاوت عصاره ریحان بر جمعیت *سالمونلا تیفی موریم* در سس مایونز در دمای ۴ درجه سلسیوس، طی مدت‌زمان نگهداری

تغییرات مقادیر باکتری *سالمونلا تیفی‌موریم* در تیمارهای مختلف طی دوره نگهداری در سس مایونز (در دمای ۲۵ درجه سلسیوس)

نتایج مربوط به تغییرات باکتری *سالمونلا تیفی‌موریم* در سس مایونز طی فرآیند نگهداری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در جدول (۲) و شکل (۳) آورده شده است. با توجه به نتایج آنالیز آماری، همان‌طور که در شکل (۳) مشاهده می‌شود، تغییرات تعداد باکتری *سالمونلا تیفی-موریم* در طول زمان در همه تیمارها با کاهش معنی‌داری همراه بود (p<۰/۰۵) اما این کاهش در تیمار شاهد بسیار ناچیز بود و معنی‌دار نیست (*p*<۰/۰۵) و با افزایش غلظت عصاره در نمونه‌ها سرعت کاهش تعداد باکتری مذکور به‌طور معنی‌داری افزایش‌یافته است، به‌طوری‌که با افزایش غلظت عصاره شیب کاهش جمعیت باکتری افزایش‌یافته است. میزان باکتری *سالمونلا تیفی‌موریم* در تیمار شاهد در روز سی‌ام ۷/۶ log CFU/g بود، تیمار عصاره ریحان با ۲۵۰۰ ppm در روز سی‌ام نگهداری ۵/۱۵ log CFU/g، در تیمار عصاره ریحان با ۵۰۰۰ ppm در روز سی‌ام نگهداری کلنی‌ای مشاهده نشد، در عصاره ریحان با غلظت ۷۵۰۰ ppm نیز در روز بیستم نگهداری کلنی‌ای مشاهده نشد. با افزایش غلظت عصاره فعالیت ضد باکتری عصاره افزایش یافت به‌طوری مقادیر باکتری *سالمونلا تیفی‌موریم* در تیمار عصاره ریحان با غلظت ۷۵۰۰ ppm به‌طور معنی‌داری در اکثر زمان‌ها کمتر از مابقی تیمارها بود (*p*<۰/۰۵) و همچنین این میزان در تمامی زمان‌ها در نمونه شاهد بیشتر از مابقی تیمارها بود (*p*<۰/۰۵).

مقایسه تأثیر دمای نگهداری بر جمعیت باکتری *سالمونلا تیفی موریم* در سس مایونز در طی دوره نگهداری

نتایج مربوط به تاثیر دماهای مختلف بر تغییرات باکتری *سالمونلا تیفی‌موریم* طی زمان نگهداری در شکل (۴) آورده شده است. با توجه به نتایج همان‌طور که در شکل (۴) مشهود است، میزان باکتری در هر دو دما با افزایش زمان، کاهش یافت و مقادیر باکتری *سالمونلا تیفی موریم* در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در روز ۲۰ و ۳۰ به‌طور معنی‌داری بیشتر از دمای ۴ درجه سلسیوس بوده است (*p*<۰/۰۵).

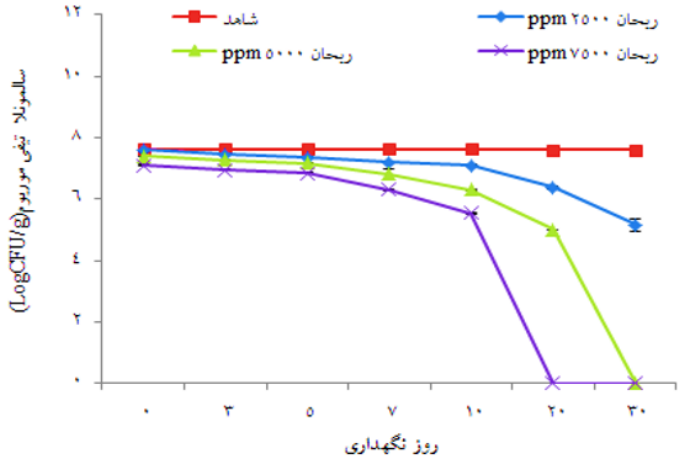
جدول ۲- تغییرات مقادیر *سالمونلا تیفی‌موریوم* در تیمارهای مختلف طی دوره نگهداری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس*

| دوره نگهداری (روز) | تیمارها | | | |
|---|---|---|---|---|
| | شاهد | عصاره ریحان (۲۵۰۰ ppm) | عصاره ریحان (۵۰۰۰ ppm) | عصاره ریحان (۷۵۰۰ ppm) |

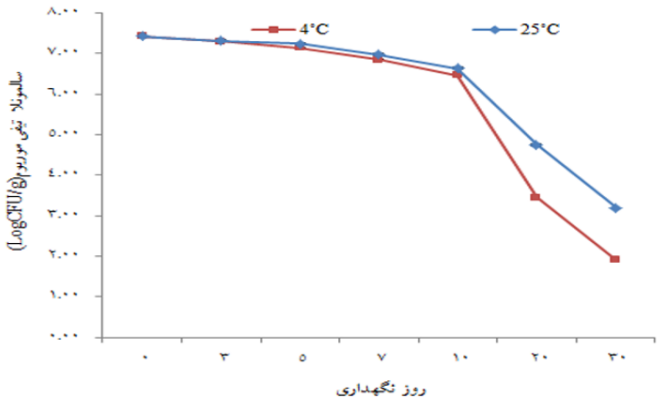
| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| ۰ | ۷/۶۳ ± ۰/۰۱ aA** | ۷/۵۹ ± ۰/۰۳ bA | ۷/۴۰ ± ۰/۰۴ cA | ۷/۰۹ ± ۰/۰۳ dA |
| ۳ | ۷/۶۳ ± ۰/۰۱ aAB | ۷/۴۵ ± ۰/۰۱ bB | ۷/۲۶ ± ۰/۰۲ cB | ۶/۹۵ ± ۰/۰۳ dA |
| ۵ | ۷/۶۲ ± ۰/۰۳ aB | ۷/۳۴ ± ۰/۰۲ bC | ۷/۱۷ ± ۰/۰۱ bC | ۶/۸۴ ± ۰/۰۴ cB |
| ۷ | ۷/۶۲ ± ۰/۰۳ aBC | ۷/۱۹ ± ۰/۰۱ bD | ۶/۸۱ ± ۰/۱۷ cD | ۶/۳۰ ± ۰/۰۲ dC |
| ۱۰ | ۷/۶۲ ± ۰/۰۱ aBC | ۷/۱۰ ± ۰/۰۴ bE | ۶/۳۱ ± ۰/۰۲ cE | ۵/۵۳ ± ۰/۰۱ dD |
| ۲۰ | ۷/۶۱ ± ۰/۰۱ aBC | ۶/۳۸ ± ۰/۰۶ bF | ۵/۰۰ ± ۰/۰۰ cF | ۰/۰۰ ± ۰/۰۰ dE |
| ۳۰ | ۷/۶۰ ± ۰/۰۱ aC | ۵/۱۵ ± ۰/۲۱ bF | ۰/۰۰ ± ۰/۰۰ cF | ۰/۰۰ ± ۰/۰۰ dE |

* همه اعداد برحسب log CFU/g بیان‌شده است (میانگین ± انحراف از معیار)

** حروف کوچک (a-d) در هر ردیف و حروف بزرگ (A-G) مشابه در هر ستون برای هر پارامتر نشان دهنده عدم اختلاف معنادار ($p< ۰/۰۵$) بر اساس آزمون دانکن بین داده‌ها است.



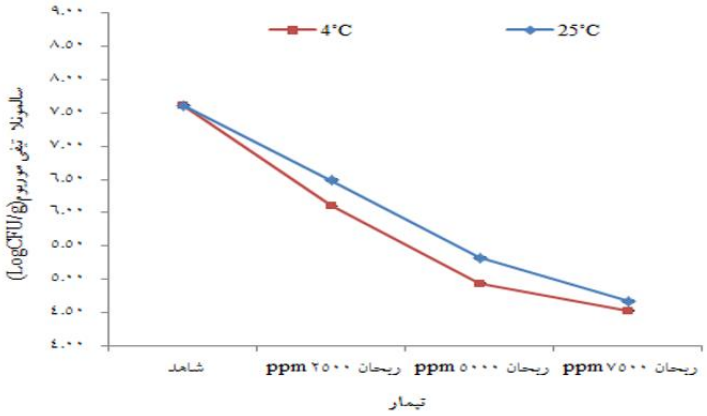

شکل ۳- اثر غلظت‌های متفاوت عصاره ریحان بر جمعیت *سالمونلا تیفی موریم* در سس مایونز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، طی مدت‌زمان نگهداری




شکل ۴- بررسی تأثیر دما بر جمعیت *سالمونلا تیفی‌موریم* در طی دوره نگهداری

مقایسه تأثیر غلظت عصاره ریحان بر جمعیت باکتری *سالمونلا تیفی‌موریم* در سس مایونز در طی دوره نگهداری نتایج مربوط به تأثیر عصاره ریحان بر تغییرات *باکتری سالمونلا تیفی‌موریم* در دماهای مختلف در شکل (۵) آورده شده است. با توجه به نتایج مقادیر *باکتری سالمونلا تیفی‌موریم* در تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر از مابقی تیمارها بود و همچنین با افزایش غلظت عصاره فعالیت ضد باکتریایی عصاره افزایش یافت به‌طوری‌که جمعیت باکتری مذکور در نمونه حاوی عصاره ریحان با غلظت ۷۵۰۰ ppm به‌طور معنی‌داری کمتر از مابقی

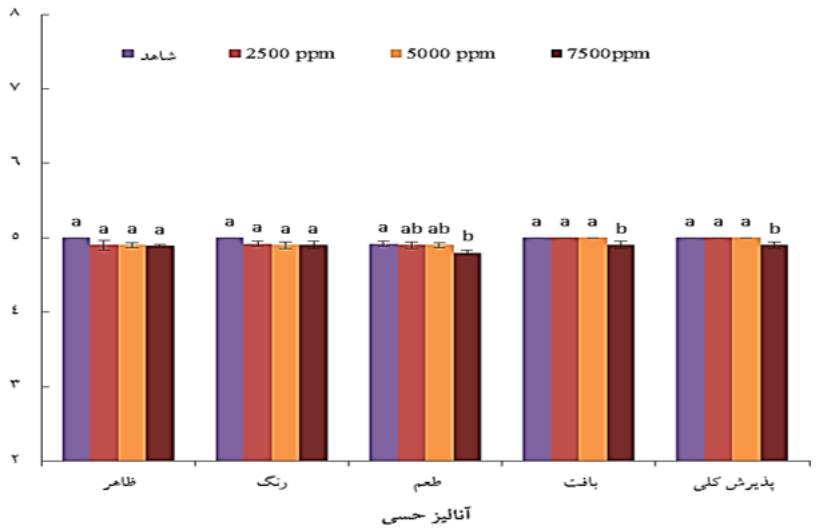
تیمارها بود ($p<۰/۰۵$). همچنین مقادیر باکتری مذکور در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به‌طور معنی‌داری بیشتر از دمای ۴ درجه سلسیوس بوده است ($p<۰/۰۵$). درمجموع کمترین مقادیر باکتری *سالمونلا تیفی‌موریم* در دمای ۴ درجه سلسیوس و تیمار عصاره ریحان با غلظت ppm ۷۵۰۰ مشاهده شد.




شکل ۵- اثر غلظت‌های متفاوت بر جمعیت باکتری *سالمونلا تیفی‌موریوم* در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سلسیوس

## بررسی ارزیابی حسی سس مایونز

افزودن غلظت‌های مختلف عصاره ریحان به سس مایونز اگرچه کاهش چشمگیر در تعداد باکتری *سالمونلا تیفی‌موریم* گذاشت اما نتیجه نامطلوبی بر برخی پارامترهای حسی داشت. آنالیز حسی سس مایونز شامل ظاهر (درخشندگی، شفافیت)، رنگ (مطلوبیت رنگ)، طعم (شدت طعم)، بافت (یکنواختی و سفتی) و پذیرش کلی در تیمارهای مختلف سس مایونز در شکل (۶) آورده شده است. نتایج آنالیز حسی ظاهر و رنگ در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری نسبت به هم نداشتند. در ارتباط با طعم، بافت و پذیرش کلی سس، کمترین امتیاز حسی مربوط به تیمار عصاره ریحان با غلظت ppm ۷۵۰۰ بوده است. همان‌طور که در شکل (۶) مشخص است، بین نمونه شاهد فاقد عصاره با نمونه‌های سس با غلظت‌های ppm ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰ عصاره اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($p>۰/۰۵$) اما با نمونه سس حاوی غلظت ppm ۷۵۰۰ این اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$). در بررسی هر ۵ پارامتر مورد ارزیابی می‌توان فهمید که نمونه سس فاقد عصاره، بیشترین نمره را بین سایر نمونه‌ها کسب کرده و با افزایش غلظت عصاره، از مقبولیت آن بین مصرف‌کنندگان کاسته شده است. در ستون مربوط به طعم بین نمونه شاهد و نمونه حاوی غلظت ppm ۷۵۰۰ اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($p<۰/۰۵$)؛ اما بین نمونه‌های سس حاوی ppm ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰ عصاره با نمونه شاهد و با نمونه حاوی ppm ۷۵۰۰ عصاره اختلاف معنی‌دار وجود ندارد ($p>۰/۰۵$) و این امر به دلیل طعم تلخ عصاره حاصل می‌باشد که باعث ایجاد طعم ناخوشایندی در نمونه سس حاوی ppm ۷۵۰۰ می‌شود و به این دلیل تمایل مصرف‌کننده به مصرف نمونه سس با غلظت مذکور نسبت به سایر نمونه‌ها کمتر بود. بطور کلی نتایج نشان‌دهنده تمایل مصرف‌کننده به نمونه سسی است که شباهت بیشتری به محصولات موجود در بازار دارد. بین نمونه‌ها، نمونه سس دارای غلظت ppm ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰ در بین مصرف‌کنندگان مقبولیت داشته و به نمونه شاهد نزدیک‌تر هستند، نمونه دارای غلظت ppm ۷۵۰۰ نیز کمترین امتیاز را نسبت به سایر نمونه‌ها کسب کرده است.




شکل ۶- ارزیابی حسی سس مایونز حاوی غلظت‌های مختلف عصاره ریحان

حروف کوچک انگلیسی: در هر ستون تفاوت بین میانگین‌های فاقد حروف مشترک معنی‌دار می‌باشد

**بحث**

با افزایش غلظت عصاره ریحان خاصیت ضد میکروبی آن بر باکتری *سالمونلا تیفی موریم* به‌طور معنی‌دار افزایش یافت. عصاره و اسانس برگ ریحان اصولاً در صنایع غذایی و آرایشی استفاده می‌شود (Javanmardi *et al.*, 2002). همچنین کاربردهای گسترده‌ای به‌عنوان ادویه در انواع غذاها، نوشیدنی‌ها و محصولات قنادی دارد. این ماده همچنین دارای فعالیت ضد میکروبی است و برخی از اجزای آن مانند لینالول[1]، ۱،۸-سینئول[2]، اوژنول[3]، استراگول[4] و کامفور[5] شناخته شده‌اند که از نظر بیولوژیکی فعال هستند (Rattanachaikunsopon and Phumkhachorn, 2010). اجزای اصلی ترکیبات عصاره‌های ریحان به عوامل ژنتیکی، ریشه‌های جغرافیایی، وضعیت تغذیه‌ای، مواد گیاهی استخراج شده (ساقه، برگ و گل)، روش‌های استخراج و غیره بسیار متفاوت است (Suppakul *et al.*, 2003). چندین مکانیسم ضد میکروبی احتمالی در عصاره‌ها و اسانس‌های روغنی گیاهان پیشنهاد شده است که از آن جمله تخریب دیواره سلول، آسیب به غشای سیتوپلاسمی، آسیب به پروتئین‌های غشاء، نشت محتوای سلول، انعقاد سیتوپلاسم و نقص در نیروی محرکه پروتون هستند (Rattanachaikunsopon and Phumkhachorn, 2010). اسانس روغنی ریحان بر اساس فعالیت ضد میکروبی آن در برابر *سالمونلا اینتریدیس* در شرایط in vitro و در یک مدل غذایی و پذیرش توسط مصرف کنندگان در مواد غذایی، به عنوان عامل نگهدارنده مواد غذایی به حساب می‌آید (Rattanachaikunsopon and Phumkhachorn, 2010). در مورد نحوه عملکرد عصاره‌ها در مرگ باکتری‌های بیماری‌زا چنین اظهار شده است که یکی از ویژگی‌های مهم این مواد و ترکیب‌های آن خاصیت آب‌گریزی است که سبب می‌شود در بخش‌های لیپیدی دیواره سلولی و میتوکندری باکتری توزیع شده و موجب تغییر و تخریب ساختمان و نفوذپذیری بیشتر آن‌ها گردد. به دنبال آن بخش زیادی از یون‌ها و دیگر محتویات حیاتی سلول به بیرون تراوش می‌نماید که در نهایت منجر به مرگ باکتری می‌شود (Chan *et al.*, 2007). همچنین این ترکیبات قادر به ایجاد اختلال در عملکرد آنزیم‌های متصل به غشاء سلولی بوده که در نهایت منجر به ایجاد نقص در سنتز بسیاری از ترکیبات

[1] Llinalool
[2] 1,8-cineole
[3] Euglenol
[4] Estragole
[5] Camphor

پلی‌ساکاریدی دیواره سلولی و ممانعت از رشد سلول خواهد شد (Basti *et al.*, 2007; Chan *et al.*, 2007). نتیجه حاصل با نتایج تحقیق داسیلوا و همکاران (۲۰۱۶) مطابقت داشت، این محققان مشاهده کردند که سالاد روسی تهیه شده با سس مایونز حاوی اسانس پونه کوهی با ۰/۲ درصد (وزنی/وزنی) در مقایسه با سالاد تهیه شده با سس مایونز بدون اسانس پونه کوهی باعث کاهش *سالمونلا اینتریتیدیس* گردید، نتایج آنها نشان داد که استفاده از اسانس پونه کوهی به عنوان یک ماده نگهدارنده زیستی می‌تواند ایمنی مواد غذایی را افزایش دهد (da Silva *et al.*, 2016). همچنین نتایج حاضر با نتایج پژوهش منچتی و همکاران (۲۰۲۰) مطابقت داشت، آن‌ها در پژوهش خود تأثیر عصاره فنلی از آب گیاهان زیتون و دمای ذخیره‌سازی (۴ و ۲۲ درجه سلسیوس) را بر بقای *سالمونلا اینتریتیدیس* تلقیح شده روی سس مایونز بررسی کردند نتایج آنها نشان داد که پس از ۴۸ ساعت، در مایونز حاوی عصاره فنلی در هر دو دمای ذخیره‌سازی هیچ رشدی قابل تشخیص نبود ($p<۰/۰۰۱$)، در نتیجه آنها بیان کردند که *سالمونلا اینتریتیدیس* در مایونز بدون افزودنی ذخیره شده در ۴ درجه سلسیوس زنده می‌ماند و اگر در ۲۲ درجه سلسیوس ذخیره شود می‌تواند تکثیر یابد، افزودن عصاره فنلی از آب گیاهان زیتون برای کنترل سالمونلا مؤثر است اما اگر مایونز در ۴ درجه سلسیوس ذخیره شود میزان مرگ و میر بیشتر است (Menchetti *et al.*, 2020). نتایج در مطالعه احمدی-دستگردی و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد که اسانس بومادران (*Achillea millefolium*) بر تمام میکروارگانیسم‌های آزمایش شده در سس مایونز تأثیر داشته و همه پاتوژن‌ها و قارچ‌ها در سس مایونز رشد نمی‌کنند، در نتیجه آنها بیان کردند که از اسانس بومادران (*Achillea millefolium*) می‌توان به عنوان نگهدارنده طبیعی در صنایع غذایی مانند سس مایونز استفاده کرد (Ahmadi-Dastgerdi *et al.*, 2019). روحی‌پور و همکاران (۲۰۱۹) اثرات ضد میکروبی اسانس زنیان (*Trachyspermum*) و فرنجمشک (*lemon balm*) (۰/۷۵ µg/ml، ۰/۵، ۰/۲۵ و ۰) و ترکیب آنها در برابر باکتری‌های *سالمونلا اینتریتیدیس* و مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* در سس مایونز ارزیابی کردند، نتایج آنها نشان داد که سطوح مختلف گیاه زنیان بطور معنی‌داری احتمال رشد میکروبی را در مقایسه با فرنجمشک کاهش می‌دهد و از طرفی مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* در مقایسه با *سالمونلا اینتریتیدیس* نسبت به تیمار اسانس با غلظت‌های مختلف حساسیت بیشتری نشان داد (Rouhipour *et al.*, 2019).

در استفاده از عصاره‌های گیاهی به عنوان مواد ضد باکتریایی در مواد غذایی، اثرات حسّی آن‌ها نیز باید مورد توجه قرار گیرد. در تحقیق انجام‌گرفته توسط روحی‌پور و همکاران (۲۰۱۹) اثرات ضد میکروبی اسانس زنیان (*Trachyspermum*) و فرنجمشک (*lemon balm*) (۰/۷۵ µg/ml، ۰/۵، ۰/۲۵ و ۰) و ترکیب آنها در سس مایونز نشان داد با افزایش غلظت اسانس اگرچه باعث کاهش چشمگیر در جمعیت باکتری می‌شود اما بر روی خواص حسی آن تأثیر نامطلوب گذاشته و از مقبولیت آن می‌کاهد بطوری که ارزیابی حسی آنها نشان داد که سس مایونز با ۰/۵ µg/ml از اسانس زنیان از کیفیت بهتری برای مصرف کننده برخوردار بود (Rouhipour *et al.*, 2019). در همین راستا نتایج ارزیابی حسی تحقیق داسیلوا و همکاران (۲۰۱۶)، نشان داد که مصرف کنندگان سس مایونز حاوی اسانس پونه کوهی با ۰/۲ درصد (وزنی/وزنی) را در مایونز به جای غلظت ۰/۵ و ۱ درصد ترجیح می‌دهند (da Silva *et al.*, 2016). در استفاده از اسانس‌های گیاهی به عنوان مواد ضد باکتریایی در مواد غذایی، اثرات حسّی آن‌ها نیز باید مورد توجه قرار گیرد.

**نتیجه‌گیری**

سس مایونز از جمله محصولاتی است که در فرآیند تولید آن از دما برای سالم‌سازی این فرآورده استفاده نمی‌شود و به همین جهت اطمینان از سلامتی کامل آن وجود ندارد و امکان آلودگی به پاتوژن‌هایی نظیر سالمونلا به دلیل

وجود تخم‌مرغ در فرمولاسیون آن وجـود دارد. در مطالعـه حاضر اثر ضـد میکروبـی عصـاره اتـانولی ریحـان در برابـر باکتری *سالمونلا تیفی مـوریم* در سـس مـایونز طـی دوره نگهداری در دماهای ۴ و ۲۵ درجه سلسیوس مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده میـزان بـاکتری در هر دو دما در تمامی تیمارها کاهش یافت و این کـاهش در تیمار شاهد ناچیز بود و با افزایش غلظـت عصـاره فعالیـت ضـد باکتریـایی آن افـزایش یافـت به‌طوری‌کـه تعـداد باکتری‌های تیمار عصاره ریحان با غلظـت ppm ۷۵۰۰ در اکثر زمان‌ها کمتر از مابقی تیمارها بود. همچنـین بررسـی اثر دما بر کاهش جمعیت میکروبی *سالمونلا تیفـی مـوریم* نشان داد که این بـاکتری بـه دمـای ۴ درجـه سلسـیوس حساس‌تر از دمای ۲۵ درجه سلسیوس می‌باشد و سـرعت کاهش این باکتری در نمونه‌های سـس نگهـداری شـده در دمـای ۴ درجـه سلسـیوس بیشـتر از نمونـه‌هـای سـس نگهداری شده در دمای ۲۵ درجه سلسیوس بـود. بررسـی ارزیابی حسی به روش هدونیک پنج نقطه‌ای نشان داد کـه افزودن غلظت‌های مختلف عصاره ریحان بر خواص حسّـی سس مایونز تـأثیر می‌گـذارد. بـا توجـه بـه اینکـه از نظـر میکروبـی تیمـار بـا غلظـت ppm ۷۵۰۰ عصـاره ریحـان اختلاف معنی‌داری نسبت به غلظت‌های دیگـر در کـاهش باکتری دارد ولی پذیرش کلی کمتری را در ارزیابی حسـی به همراه داشـت. از آنجـایی کـه غلظـت ppm ۵۰۰۰ هـم توانسته تـا روز بیسـتم نگهـداری بـا غلظـت ppm ۷۵۰۰ برابـری کـرده و در روز سـی نگهـداری تعـداد بـاکتری را کاهش دهد، می‌توان انتظار داشت در سس بـدون بـاکتری هنگام جایگزین شدن با سوربات و بنزوات بتواند طی مدت نگهداری سس (۶ ماه) برابری کند که قابل‌بررسی می‌باشد.

**منابع**

1. Ahmadi-Dastgerdi A, Gholami Ahangaran M, Saafizadeh Z. 2019. Antibacterial and antifungal effect of *Achillea millefolium* essential oil during shelf life of Mayonnaise. Food. Sci. Tech. 13(4), 12-20.
2. Basti AA, Misaghi A, and Khaschabi D. 2007. Growth response and modelling of the effects of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil, pH and temperature on *Salmonella Typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. LWT-Food Science and Technology. 40(6): 973-981.
3. Burt S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. Inte. J. Food. Microbiol. 94(3): 223-253.
4. Cetinkaya F, Cibik R, Soyutemiz GE, Ozakin C, Kayali R, and Levent B. 2008. *Shigella and Salmonella* contamination in various foodstuffs in Turkey. Food. Control. 19(11):1059-1063.
5. Chan EWC, Lim YY, and Omar M. 2007. Antioxidant and antibacterial activity of leaves of Etlingera species (*Zingiberaceae*) in Peninsular Malaysia. Food. Chem. 104(4): 1586-1593.
6. da Silva JPL, de Souza EF, Della Modesta RC, Gomes IA, Freitas-Silva O, and de Melo Franco B. DG. 2016. Antibacterial activity of nisin, *oregano* essential oil, EDTA, and their combination against Salmonella Enteritidis for application in mayonnaise. Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência and Tecnologia (Health Surveillance under Debate: Society, Science and Technology)–Visa em Debate. 4(1): 83-91.
7. Del Nobile MA, Lucera A, Costa C, and Conte A. 2012. Food applications of natural antimicrobial compounds. Frontiers in Microbiology. 3: 287.
8. Javanmardi J, Khalighi A, Kashi A, Bais H, and Vivanco J. 2002. Chemical characterization of basil (*Ocimum basilicum L.*) found in local accessions and used in traditional medicines in Iran. Journal of agricultural and food. Chem. 50(21): 5878-5883.
9. Keerthirathne TP, Ross K, Fallowfield H, and Whiley H. 2016. A review of

temperature, pH, and other factors that influence the survival of *Salmonella* in mayonnaise and other raw egg products. Pathogens. 5(4): 63.
10. Labra M, Miele M, Ledda B, Grassi F, Mazzei M, and Sala F. 2004. Morphological characterization, essential oil composition and DNA genotyping of *Ocimum basilicum* L. cultivars. Plant sci. 167(4): 725-731.
11. Lahuerta Zamora L, and Perez-Gracia M. 2012. Using digital photography to implement the McFarland method. J. Royal Soci. Inter. 9(73): 1892-1897.
12. Mansouripour S, MM, Moradi S Alimi M. 2011. The influence of synergistic utilization of flake tragacanth and chitosan on the rheological properties of mayonnaise food. tec. Nut. 8(2): 44-52.
13. McCance KR, Flanigan PM, Quick MM, and Niemeyer ED. 2016. Influence of plant maturity on anthocyanin concentrations, phenolic composition, and antioxidant properties of 3 purple basil (Ocimum basilicum L.) cultivars. J. food. comp. analysis. 53: 30-39.
14. Menchetti L, Taticchi A, Esposto S, Servili M, Ranucci D, Branciari R, and Miraglia D. 2020. The influence of phenolic extract from olive vegetation water and storage temperature on the survival of S*almonella Enteritidis* inoculated on mayonnaise. LWT. 129: 109648.
15. Murray PR ,de P. 2003. Manual of Clinical Microbiology. ASM. 8th Edition. 2003.
16. Noorbakhsh F, RS, Arab M. 2010. Evaluation the Antifungal Activity and Chemical Composition of Essential Oils of *Petroselinum crispum, Acimum basilicum, Anethum graveolens, Mentha viridis on Aspergillus parasiticus*. JMW. 3(2): 129-136.
17. Rattanachaikunsopon P, and Phumkhachorn P. 2010. Antimicrobial activity of basil (*Ocimum basilicum*) oil against Salmonella enteritidis in vitro and in food. Biosci. Biotec. Biochem. *74*(6): 1200-1204.
18. Rodriguez-Amaya DB. 2016. Natural food pigments and colorants. Cur. Opi. Food. Sci. 7: 20-26.
19. Rouhipour S. B, Khomeiri M, Mahoonak AS, and Sadeghi A. 2019. Evaluating the antimicrobial and antioxidant effects of *trachyspermum and lemon balm essences and their combination on salmonella enteritidis bacteria and saccharomyces cerevisiae* yeast in mayonnaise sauce. Eurasia J Biosci. 13(2): 1805-1815.
20. Suppakul P, Miltz J, Sonneveld K, and Bigger, SW. 2003. Antimicrobial properties of basil and its possible application in food packaging. J. Agr. Food chem. 51(11): 3197-3207.
21. Tiwari BK, Valdramidis VP, O'Donnell CP, Muthukumarappan K, Bourke P, and Cullen P. 2009. Application of natural antimicrobials for food preservation. J. Agr. Food. Chem. 57(14): 5987-6000.
22. Zangeneh MM, Zangeneh A, Salmani S, Jamshidpour R, and Kosari, F. 2019. Protection of phenylhydrazine-induced hematotoxicity by aqueous extract of *Ocimum basilicum* in Wistar male rats. Comp Clin Pathol. 28(2): 331-338.

# Investigating the possibility of using basil ethanolic extract to control *Salmonella Typhimurium* in mayonnaise

**Latifi Z [1], Moieni S[2], Mohammadzadeh Milani J[3], Ghorbani- Pir Shahid T [4], Rahnama P [5], Roozbeh Nasiraie L [*6]**

1. Young Researchers and elite Club, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.
2. Graduated of the Masters Degree, Department of Food Science and Technology, Nour Branch, Islamic Azad University, Nour, Iran.
3. Professor, Department of Food Science and Technology, Sari Branch, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran.
4. Graduated Students, Department of Food Science and Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran.
5. Ph.D. Student, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
6. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Nour Branch, Islamic Azad University, Nour, Iran.

Received: 04 September 2021 Accepted: 08 April 2022

***Corresponding author**: *dr.rozbeh_l@yahoo.com*

**Abstract**

*Salmonella* is one of the important food borne diseases, worldwide. Egg and meat are among the most important incriminated foods to cause *salmonella* infection in Iran. This study was designed to investigate possible inhibitory effects of ethanolic extract of basil on *Salmonella* in mayonnaise sauce. *Salmonella* is killed with baking food but there is problem with foods like sauce which contain raw egg and is not used any procedure for baking them while producing. The purpose of this project was to investigate the possibility to use ethanol extract of basil to control *Salmonella* Typhimurium in sauce. In the study, first of all the anti-bacterial property of ethanol extract of basil was tested. So, by appearing result test for final investigation densities of extract was purposed 0.25, 0.5 and 0.75%. Then anti-bacterial property of ethanol extract of basil on growth of salmonella in mayonnaise sauce for a period of 30 days in condition of 25°c and 4°c was investigated.The results of statistical studies showed that the three concentrations studied significantly ($p < 0.05$) compared to the control sample reduced the growth of *Salmonella* Typhimurium during storage and with increasing the concentration of the extract increased the antibacterial activity of the extract so that the extract Basil with a concentration of 7500 ppm was significantly lower than other treatments in most cases ($p<0.05$). Sensory evaluation test was performed by 5-point hedonic method and the results of sensory analysis of appearance and color in different treatments were not significantly different from each other. Regarding the flavour, texture and total acceptability of the sauce, the lowest sensory score was related to the treatment with a concentration of 0.75%. Based on the obtained results, the amount of bacteria in both temperatures decreased in all treatments and this decrease was little in the control treatment and its antibacterial activity increased with increasing the concentration of the extract.

**Keywords:** Basil extract, Antimicrobial, *Salmonella*, Mayonnaise, Preservative.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

Copyright © 2022 Shahrekord Branch, Islamic Azad University.