(مقاله پژوهشی)

بررسی تاثیر استفاده از اسانس آویشن‌شیرازی بر بار میکروبی و ماندگاری زیتون پرورده

علی عمارلو[۱]، اکرم شریفی[۱*]

۱-[۱]گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی صنایع و مکانیک، واحد قزوین، دانشگاه آزاد اسلامی، قزوین، ایران.

تاریخ دریافت:۱۳۹۹/۰۳/۲۸ تاریخ پذیرش:۱۳۹۹/۰۴/۳۰

چکیده

با توجه به اینکه زمان ماندگاری زیتون پرورده بدون استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی محدود می باشد، مطالعه حاضر با هدف کاربرد اسانس آویشن شیرازی به جای نگهدارنده های شیمیایی جهت افزایش ماندگاری زیتون پرورده انجام گرفت. دو نوع زیتون پرورده که نوع اول دارای ۰/۰۷ درصد اسانس آویشن شیرازی و دیگری بدون اسانس بود، تولید و فعالیت آنتی اکسیدانی و باکتریایی محصول تولیدی بررسی شد. تغییرات در طی دوره سی روزه نگهداری بررسی گردید. نتایج نشان داد تعداد باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس در نمونه های دارای اسانس رشد کمتری نسبت به نمونه بدون اسانس داشت. میزان رشد مخمر در روز های اول و پانزدهم در نمونه دارای اسانس صفر گزارش شد و در روز سی‌ام رشد مخمر به طور معنی‌داری در نمونه بدون اسانس افزایش داشت. تعداد کپک مشاهده شده در روز سی‌ام در نمونه های دارای اسانس بطور معنی داری کاهش داشت. تعداد باکتری های اسید دوست در هر دو نمونه در روز های اول و پانزده صفر گزارش شد اما در روز سی‌ام در نمونه دارای اسانس کمتر بود. بار میکروبی کل نمونه بدون اسانس در سه روز بسیار بیشتر از نمونه دارای اسانس بود. نتایج بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد در کل دوره نگهداری میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نمونه دارای اسانس بیشتر بود. نتایج نشان داد استفاده از اسانس آویشن شیرازی می تواند ماندگاری زیتون پرورده را افزایش دهد و جایگزین نگهدارنده‌های شیمیایی باشد.

واژه‌های کلیدی: زیتون پرورده، اسانس، آویشن شیرازی، ماندگاری.

* مسئول مکاتبات: asharifi@qiau.ac.ir

۱-مقدمه

زیتون پرورده فرآورده‌ای است، که از مواد اصلی شامل: زیتون فرآوری شده بدون هسته، مغز گردو، آب انار و یا رب انار به همراه سیر تازه و مواد دیگر شامل: سرکه، روغن زیتون، نمک خوراکی، سبزی‌های معطر، انواع ادویه مانند: گلپر، تهیه شده و فرآیند حرارتی مناسب را طی کرده باشد (۵). هدف اصلی از فرآوری میوه زیتون، ایجاد ارزش افزوده و جلوگیری از افت کیفیت و فساد طی انبارداری و نگهداری می‌باشد. علاوه بر این، تجهیزات و امکانات مورد استفاده و در تماس با فرآوری میوه نباید آلودگی داشته باشند (۳۴). با توجه به تنوع مواد اولیه به کار رفته و به دلیل رشد میکروارگانیسم‌ها مدت ماندگاری این فرآورده کوتاه می باشد (۱۹). کنترل میکروارگانیسم‌ها یکی از مهم‌ترین جنبه‌های نگهداری غذا است (۲۰). کمتر مواد غذایی یافت می‌شود که به نحوی با مواد افزودنی در ارتباط نباشد. این مواد افزودنی اگر در حد مجاز استفاده شوند خطری برای مصرف کننده ندارند ولی در صورت استفاده بیش از حد می‌تواند برای مصرف کننده مسمومیت‌زا بوده و حتی در مواردی مانند استفاده از نیترات و نیتریت به دلیل تشکیل نیتروزآمین خطر ابتلا به سرطان را افزایش دهد (۴۸،۳۰،۲۷). اما در سال‌های اخیر چون سلامت نگهدارنده‌های شیمیایی مورد تردید واقع شده، تقاضا برای استفاده از ترکیبات طبیعی به عنوان محافظت کننده‌های جایگزین در مواد غذایی رو به افزایش است. اسانس‌های گیاهی از جمله ترکیبات طبیعی هستند که علاوه بر نقش طعم دهندگی، خاصیت ضدمیکروبی نیز دارند و روش اسانس و عصاره‌گیری در کمیت و کیفیت آن ها موثر است (۶۳،۳۴). فعالیت ضد میکروبی اسانس‌ها مربوط به ترکیبات فنلی موجود در آن‌ها است و بسیاری از آن‌ها در دسته مواد بدون ضرر طبقه‌بندی شده‌اند و به همین جهت به عنوان مواد ضدباکتری، به مواد غذایی افزوده می‌شوند (۵۷). فعالیت بسیاری از گیاهان و ادویه‌جات مربوط به اسانس‌های موجود در آنهاست. گیاهانی مانند رزماری، پونه، آویشن، درمنه، میخک، گشنیز، سیر و پیاز دارای فعالیت ضدباکتریایی و ضدقارچی هستند که این اثرات مربوط به اجزاء دارای اسانس است (۴۷). از گیاهانی که دارای خواص ضدمیکروبی و ضداکسیداسیونی می‌باشند می‌توان به رزماری۱، مریم‌گلی۲، آویشن۳ (۵۴،۵۳)، میخک۴، نعناع۵ و زیره۶ اشاره کرد (۴۵،۳۵،۳۱). اسانس‌ها ترکیبات طبیعی حاوی مخلوطی از اجزای ترپنیک بوده که از قسمت‌های مختلف گیاهان و توسط روش‌هایی مانند تقطیر یا بخار استخراج می‌شوند (۲۵). اسانس آویشن شیرازی با نام علمی (Zataria multiflora Boiss.) (۳۲)دارای خاصیت، ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی است که دلیل اصلی آن حضور ترکیبات فنولی مخصوصاً، تیمول۷ و کارواکرول۸ می باشد (۴۰،۳۳). این گیاه همچنین دارای اثرات ضدقارچی نیز است (۱۶). اسانس آویشن توسط اتحادیه اروپا۹ به عنوان یک ترکیب GRAS ۱۰ معرفی شده است (۵۹). متخصصان بهداشت مواد غذایی با انجام تحقیقات جدید و کاربرد تکنولوژی هاردل۱۱، ابتدا در مدل‌های آزمایشگاهی و سپس در مدل‌های اصلی (مدل‌های غذایی مایع و سپس جامد)، سعی بر به کارگیری اسانس‌های گیاهی به

1- Rosmarinus Officinalis
2- Salvia Officinalis
3- Thymus Vulgaris
4- Clove
5- Mint
6- Cumin
7 -Thymol
8 -Carvacrol
9 -European Commission
10 -Recognized As Safe Generally
11- Hurdle Technology

تنهایی و توام با سایر نگهدارنده های طبیعی دیگر در غلظت‌ها و درجات ترکیبی مختلف بر علیه باکتری‌های بیماریزا دارند. تا به توان به ترکیب سینرژیستی مطمئن و مناسبی از نگهدارنده‌های طبیعی با بیشترین اثر ضدپاتوژنی و در عین حال با کم‌ترین اثر معکوس ارگانولپتیکی دست یافت (۴۲،۲۹،۲۳،۶۴). تکنولوژی ترکیبی برای نگهداری مواد غذایی، تغییرات ناخواسته در خصوصیات محصول را حداقل می‌کند و غلظت مواد افزودنی و تیمارهای حرارتی را کاهش داده و کیفیت محصول و سلامتی آن را حفظ می‌نماید (۱۳). زیتون پرورده به عنوان محصول محلی ایرانی که به صورت محدود تولید صنعتی آن شروع شده است بسرعت دچار فساد شده و ماندگاری پایینی دارد که نیاز به پژوهش‌های علمی جهت بهبود سلامت، افزایش ارزش غذایی، ارتقاء ماندگاری و بهبود طعم آن احساس می‌شود. بررسی متون نشان می‌دهد که تاکنون در زمینه اثرات ضد میکربی اسانس‌های گیاهی در طی مراحل تولید و نگهداری زیتون پرورده پژوهشی صورت نگرفته است، از این رو در این مقاله، اثر اسانس آویشن شیرازی بر ماندگاری زیتون پرورده مورد بررسی قرار گرفت.

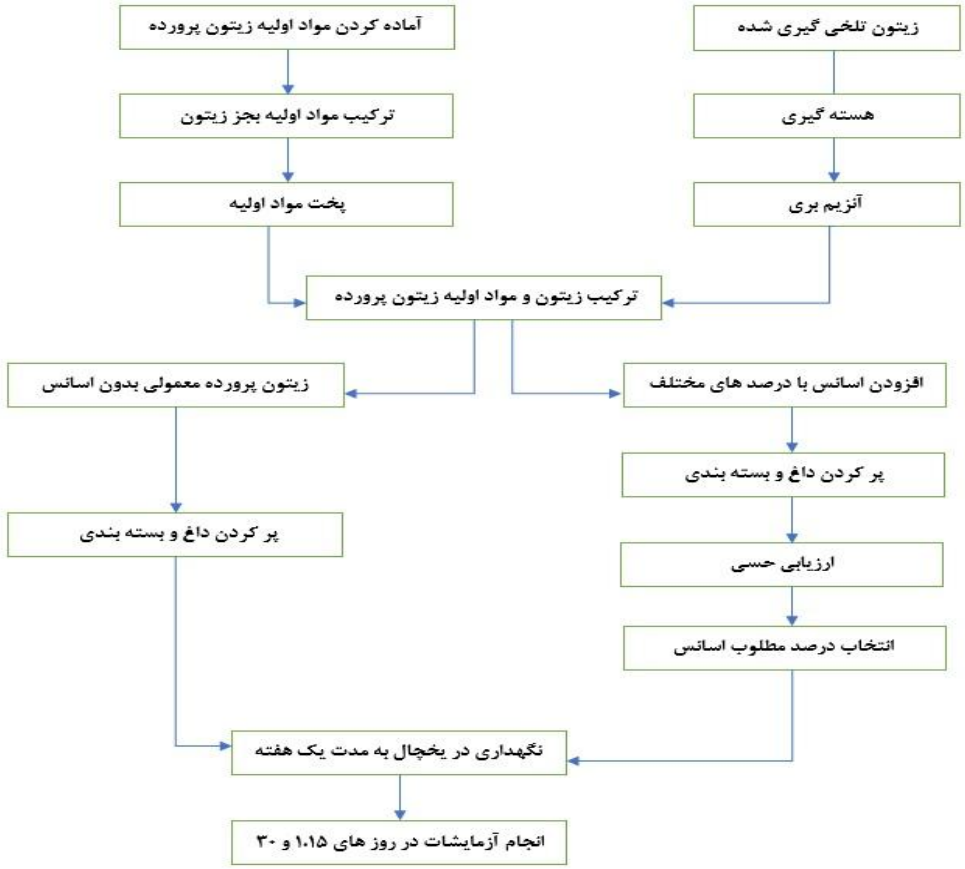
۲-مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

میوه زیتون واریته زرد، از باغات شهرستان طارم تهیه و فرآوری، تلخی گیری، درجه بندی و هسته گیری شد. اسانس آویشن‌شیرازی از شرکت ماگنولیا ساوه، رب‌انار تولید شرکت نارنی شیراز، گردو از شهرستان تویسرکان، نمک برند سیصد دانه، زنجان، سیر سفید از شهرستان طارم، روغن زیتون بکر تولید گیلوان زیتون، شهرستان طارم و ظروف بسته‌بندی، ظروف یک‌بار مصرف پلی‌اتیلنی مخصوص بسته بندی، از شرکت یگانه ظروف تهیه گردید. سایر مواد شیمیایی و محیط‌های کشت از شرکت مرک آلمان تهیه شد.

۲-۲-تولید و آماده سازی زیتون پرورده

زیتون ماده اولیه اصلی برای تولید زیتون پرورده می‌باشد. برای تهیه‌زیتون پرورده،۱۰کیلوگرم میوه زیتون فرآوری، تلخی‌گیری، درجه بندی و هسته‌گیری شد و به دیگ میکسر منتقل‌گردید. ترکیبات زیتون پرورده شامل گردو آسیاب شده، سیر، گلپر، روغن زیتون بکر و رب انار به همراه زیتون بدون هسته و اسانس آویشن‌شیرازی با یکدیگر ترکیب شدند. در این تحقیق دو نوع زیتون پرورده تولید شد: نوع اول دارای اسانس آویشن‌شیرازی و دیگری بدون اسانس آویشن شیرازی (نمونه شاهد). برای تیمار دارای اسانس، میزان ۰/۰۷٪ اسانس آویشن شیرازی که از نتایج ارزیابی حسی و پژوهش‌های قبلی حاصل شده بود، مورد استفاده قرار گرفت (۶). پس از پخت ترکیبات، زیتون پرورده بصورت داغ بسته بندی شد و پس از یک هفته نگهداری در دمای$5^{\circ}C$، بررسی رشد میکروارگانیسم ها و ارزیابی حسی انجام گرفت. کلیه مراحل تهیه و تولید نمونه‌ها با تجهیزات و مشابه فرآیند یکی ازکارخانه های محلی استان زنجان (آیتونا سبز طارم) انجام شد (شکل ۱).



شکل ۱- دیاگرام تولید زیتون پرورده

۲-۳- اندازه گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی

توانایی احیاکنندگی و مهار رادیکال‌های آزاد در تیمارهای زیتون‌پرورده با درصد اسانس آویشن شیرازی مطلوب، حاصل از ارزیابی حسی به روش طیف سنجی و بی‌رنگ نمودن محلول متانولی ارغوانی رنگ DPPH[1] به روش برند- ویلیام[2] و همکاران اندازه‌گیری شد (۲۱). ابتدا ۲/۵mL از محلول متانولی نمونه مورد نظر در یک لوله‌ء آزمایش ریخته و سپس به آن ۱mL محلول متانولی DPPH اضافه شد. محتویات لوله با ورتکس کامل مخلوط شد و پس از گذشت ۳۰ دقیقه، در دمای اتاق و در تاریکی، جذب آن‌ها در طول موج ۵۱۷nm با استفاده از اسپکتروفتومتر UV/Vis در برابر بلانک حاوی متانول خوانده شد. درصد مهار رادیکال DPPH با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید. IC_{50} بیانگر غلظتی از نمونه است که موجب ۵۰٪ بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی می گردد.

درصد مهار رادیکال آزاد $= (A_0-A_S)/A_0 \times 100$

A_0 جذب نمونه شاهد یا کنترل و As جذب نمونه بود. سپس نتایج بصورت IC_{50} بیان گردید (۵۱).

۲-٤- آزمون‌های میکروبی

محتویات نمونه‌های زیتون پرورده با تهیه رقت به مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر، جهت کشت در سطح پلیت بردپارکر برداشته و کشت داده شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه‌گذاری شدند. پرگنه‌های کروی شکل و مقعر، با قطر ۱/۵ - ۱ سانتیمتر با رنگ خاکستری سیاه

1 Diphenyl-1-Picrylhydrazyl
2 Brand-Williams

و یا کاملا سیاه شمارش شدند. آماده‌سازی نمونه ها و تهیه رقت های مورد نیاز بر اساس استانداردهای ملی شماره ۲۳۲۶ انجام گرفت. جهت شمارش پرگنه‌های استافیلوکوکوس اورئوس از روش کشت سطحی در محیط اختصاصی آگار بردپارکر استفاده شد (۱۸). برای سنجش و شمارش پرگنه‌های کپک و مخمر از روش کشت سطحی با استفاده از محیط کشت YGC[1]، برای شمارش باکتری‌های *اشرشیاکلی* از محیط غنی کننده *اشرشیاکلی* (EMB[2]) حاوی *آنتی‌بیوتیک نووبیوسین*[3] و کشت در محیط مکانکی حاوی قند سوربیتول استفاده شد. همچنین برای شمارش باکتری‌های اسید دوست از محیط OSA[4] و برای شمارش توتال کانت از نوترینت آگار استفاده شد. آزمون های میکروبی زیتون پرورده، مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۲۳۲۶ و کیفیت میکروبی براساس M5 سازمان غذا و دارو تعیین و تمامی آزمون ها در سه تکرار انجام شد.

۲-۵- آزمون حسی

به منظور انتخاب بهترین درصد از اسانس برای استفاده در فرمولاسیون زیتون پرورده، محصول با درصدهای مختلف از اسانس شامل شش نمونه زیتون پرورده به ترتیب با درصد های صفر، ۰/۰۱، ۰/۰۴، ۰/۰۷، ۰/۱ و ۰/۱۳ از اسانس آویشن شیرازی تولید و مورد ارزیابی حسی قرار گرفتند. بررسی ویژگی‌های حسی نمونه‌ها به روش هدونیک به صورت آزمون پنج نقطه ای انجام شد (عدد ۱ نشانگر کمترین امتیاز و عدد ۵ نشانگر بیشترین امتیاز). تعداد ده نفر ارزیاب از بین همکاران مرکز تحقیقات زیتون رودبار که از ویژگی‌های زیتون پرورده به طور کامل آشنا بودند، انتخاب شدند. به هر داور ده نمونه در ظروف مجزا بسته بندی شده بدون علامت و معیار مشخص در خصوص فرمولاسیون داده شد که توسط کدهای خاص از هم تفکیک شده بودند و یک بطری آب آشامیدنی به همراه یک فرم امتیازدهی داده شد. هر داور نمونه ها را به صورت تصادفی و انفرادی ارزیابی کرده و بین هر نمونه آب نوشیده می شد. ویژگی‌های مورد ارزیابی عبارت از جمله ویژگی‌های بافت، رنگ، طعم و بو و پذیرش کلی بودند. نتایج آزمون مورد تجزیه و تحلیل کیفی و کمی قرار گرفته و در نهایت بیشترین امتیاز به بهترین نمونه از نظر خصوصیات حسی داده شد.

۲-۶- روش تجزیه و تحلیل آماری

در این تحقیق زیتون پرورده با درصد مطلوب اسانس آویشن شیرازی استخراج شده از ارزیابی حسی، تولید و در روزهای اول، پانزدهم و سی‌ام مورد آزمون‌های مختلف قرار گرفته است. میانگین و انحراف از استاندارد با استفاده از نرم افزار SPSS 22 و جهت تفسیر نتایج به‌دست آمده از آزمون تحلیل واریانس (ANOVA) و تست های تعقیبی پست هاک[5] توکی[6] جهت مقایسه معنی دار بودن ۹۵٪ ($P<۰/۰۵$) داده‌ها استفاده گردید. نمودارها توسط نرم افزارSPSS22 و اکسل۲۰۱۳ ترسم شد.

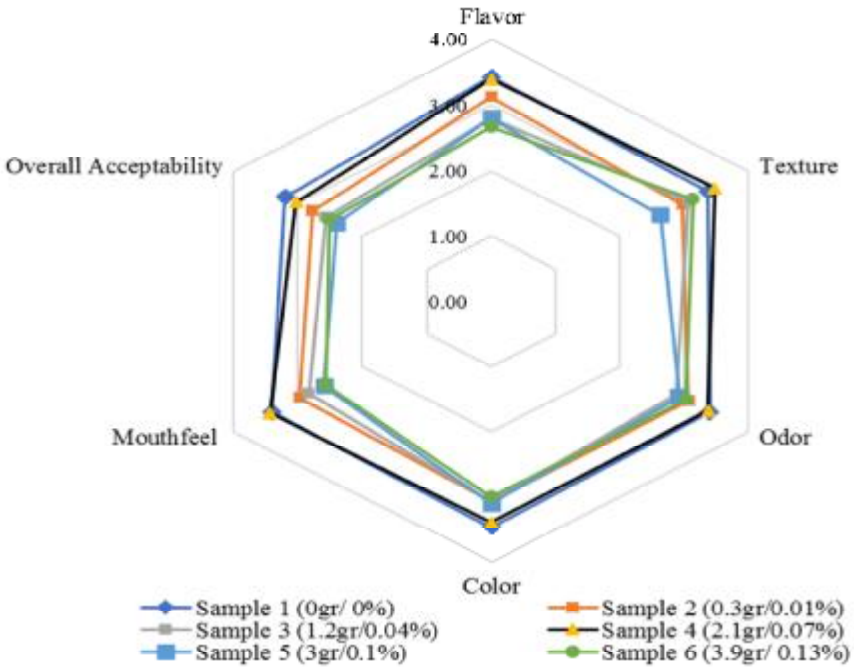
۳-نتایج و بحث

۳-۱-ارزیابی حسی زیتون پرورده

بررسی نتایج حاصل از آزمون حسی نشان داد که نمونه شماره ۴ از میان شش نمونه زیتون پرورده به ترتیب شماره دارای صفر، ۰/۰۱، ۰/۰۴، ۰/۰۷، ۰/۱ و ۰/۱۳ درصد اسانس آویشن شیرازی از نظر طعم، بافت، بو، رنگ، احساس دهانی و پذیرش‌کلی، نتایج نزدیک‌تری به نمونه شاهد داشت. لذا درصد استفاده شده در نمونه ۴ (۰/۰۷)، که مطلوبیتی مشابه نمونه زیتون پرورده شاهد و اصلی داشت، جهت تولید و انجام آزمایشات مورد نظر انتخاب شد. با توجه به داده‌های آزمون

1 -Yeast Extract Glucose Chloramphenicol
2 -Eosin Methylen-Blue
3 -Novobiocin
4 -Orange Serum Agar
5 -Post Hoc
6 -Tukey

حسی می‌توان برداشت کرد که درصدهای کم‌تر اسانس نسبت به نمونه انتخاب شده در ارزیابی حسی، به جهت تاثیر حرارت ناشی از پخت و آنزیم‌بری اثر خود را از دست داده و نمونه‌های محتوی درصدهای بیشتر، تاثیر طعم و مزه متفاوت‌تری نسبت به محصول اصلی ایجاد کرده است. به نظر می‌رسد در نمونه‌های دارای ۰/۰۱ و ۰/۰۴ درصد به جهت کم بودن میزان اسانس و وجود ترکیبات مختلف طعم‌دار بخصوص سیر در مواد متشکله زیتون پرورده، طعم اسانس نتوانست بروز کند، اما میزان ۰/۰۷ درصد بخوبی تاثیر مثبت خود را در طعم و مزه زیتون پرورده نمایان کرده و بیشتر از این میزان به جهت غلبه طعم تند اسانس بر طعم سایر ترکیبات زیتون‌پرورده، از نظر ارزیاب‌ها مطلوب و مورد پسند نبوده است. همان‌طور که از بررسی نتایج بر می‌آید (شکل ۲) افزودن اسانس آویشن شیرازی به میزان ۰/۰۷٪ ویژگی‌های حسی بهتری داشت و حتی این ویژگی‌ها در برخی موارد به خصوص بافت و احساس دهانی نسبت به نمونه شاهد، مطلوب‌تر گزارش شد. در پژوهش دیگری اعلام شده است که افزودن اسانس آویشن به میزان ۰/۰۵٪ در حلوا ارده می‌تواند سبب بهبود برخی ویژگی‌های کیفی‌آن گردد ولی غلظت‌های بالاتر اسانس آویشن به دلیل کاهش پذیرش حسی توصیه نشده است (۱۰)که مشابه نتایج ارزیابی حسی این پژوهش می‌باشد.



شکل۲- ارزیابی حسی زیتون پرورده حاوی درصد های مختلف اسانس آویشن شیرازی

۳-۲- بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی

اثر افزودن اسانس آویشن شیرازی بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی زیتون‌پرورده در روز تولید، روز پانزدهم و سی‌ام دوره نگهداری بررسی شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد در روزهای نگهداری در کلیه نمونه‌ها، با افزایش مدت زمان نگهداری، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی یا مهارکنندگی‌رادیکال‌های

DPPH کاهش یافت. همان طور که در جدول شماره ۱ قابل مشاهده است، بیشترین مهارکنندگی در روزهای نگهداری، مربوط به روز اول تولید و کمترین مهارکنندگی به نمونه روز سی‌ام تعلق داشت، بطوری که در مقایسه نمونه‌های دارای اسانس و بدون اسانس در هر کدام از روزهایی که نمونه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند، سطح مهارکنندگی در نمونه‌های داری اسانس در تمام دورهء نگهداری بالاتر از نمونه‌های بدون اسانس بود و در انتهای دوره نگهداری (روز سی‌ام) در نمونه‌های دارای اسانس خاصیت آنتی اکسیدانی بهتر حفظ شده است. مقایسه نتایج مربوط به IC_{50} نشان داد بیشترین IC_{50} در هر سه روز مربوط به نمونه سی‌ام و کمترین IC_{50} مربوط به روز تولید بود. نتایج مقایسه نمونه‌های دارای اسانس آویشن شیرازی و بدون اسانس آویشن شیرازی نشان داد که افزودن اسانس آویشن شیرازی تاثیر بیشتری در حفظ ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به نمونه‌های بدون اسانس در مدت نگهداری داشته است. به نظر می‌رسد که این فعالیت بیشتر تحت تاثیر وجود ترکیبات فنولی بوده که نقش اصلی ترکیبات فنولی در از بین بردن رادیکال‌های آزاد در مقالات متعدد دیگری گزارش شده است (۶۱،۳۷،۲۸). فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی تا حد زیادی مربوط به وجود ترکیباتی مانند تیمول، کارواکرول و گاما ترپن می باشد که قبلا گزارش شده است (۵۵). مطابق نتایج به‌دست آمده خواص آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های دارای اسانس آویشن شیرازی بعد از سی روز نگهداری بهتر نسبت به نمونه‌های بدون اسانس حفظ شده است. (۴۳). فاضل و همکاران (۲۰۰۷)، فعالیت آنتی‌رادیکالی اسانس‌های آویشن و مرزه را با روش DPPH تعیین کردند. IC_{50} اسانس های مورد مطالعه به ترتیب مقادیر ۵/۵ و ۹/۸ mg/ml بود (۱۱). نتایج مشابه دیگری توسط یانیشلیوا[1] و همکاران (۱۹۹۹) گزارش شده است که بیان می کند افزودن غلظت‌های مختلف تیمول و کارواکرول به روغن آفتاب‌گردان، روند اکسیداسیون را کند می‌کند. اثر آنتی‌اکسیدانی ترکیب‌های فنلی یاد شده وابسته به غلظت بود. نتایج این تحقیق نشان داد، تیمول و کارواکرول (دو ترکیب عمده موجود در اسانس آویشن شیرازی) دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی هستند (۶۴). در مطالعه‌ای که توسط مصحفی و همکاران (۲۰۱۴) در مورد اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره‌های متانولی *Zataria Multiflora* انجام گرفت، نتایج به دست آمده نشان داد که عصاره و اسانس این گیاه دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریالی جالب توجهی بوده که می توان پس از بررسی بیشتر در صنایع غذایی با اطمینان کافی از آن‌ها استفاده نمود (۱۲). شهسواری و همکاران(۲۰۰۸) در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه آویشن شیرازی در روغن سویا، گزارش کردند که اسانس آویشن شیرازی خاصیت آنتی‌اکسیدانی خوبی از خود نشان داده است. همچنین نتایج این پژوهش نشان داد که اسانس آویشن شیرازی در غلظت ۰/۱ درصد دارای اثر آنتی‌اکسیدانی معادل آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA[2] در غلظت ۰/۰۲ درصد، در روغن سویا بود (۷). در بررسی دیگری سوری و همکاران (۲۰۱۰) خاصیت مهار رادیکال‌های آزاد توسط عصاره متانولی آویشن شیرازی را بیشتر از اسید آسکوربیک گزارش کردند (۶۰). با توجه به این که گیاه آویشن‌شیرازی بومی کشور ایران است و ترکیبات تشکیل‌دهنده آن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی دارند، می‌توان این اسانس را به عنوان مکمل آنتی‌اکسیدانی برای استفاده در زیتون پرورده و سایر محصولات غذایی پیشنهاد کرد.

1 -Yanishlieva
2- Butylated Hydroxyanisole

جدول۱- مقایسه تاثیر اسانس آویشن شیرازی بر خاصیت آنتی اکسیدانی زیتون پرورده

تیمار ها	درصد فعالیت مهار کنندگی			IC_{50}%		
	روز ۱	روز ۱۵	روز ۳۰	روز ۱	روز ۱۵	روز ۳۰
تیمار با آویشن	24/51±8/06 ^{aA}	22/83±8/17 ^{aA}	13/75±4/12 ^{aA}	152/85±0/78 ^{aA}	165/33±4/68 ^{aA}	270/81±10/14 ^{aB}
تیمار بدون آویشن	21/88±7/07 ^{aA}	21/67±8/00 ^{aA}	11/68±3/78 ^{aA}	171/01±1/95 ^{bA}	174/85±7/36 ^{aA}	320/20±3/58 ^{bB}

*حروف کوچک مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار ($p>0.05$) در هر ستون و حروف بزرگ مشابه نمایانگر عدم تفاوت معنی دار ($p<0.05$) در هر ردیف است.

۳-۳-نتایج بررسی آزمون‌های میکروبی

۳-۳-۱-بررسی جمعیت استافیلوکوکوس اورئوس در زیتون پرورده تولیدی در مدت زمان نگهداری

نتایج حاصل از شمارش باکتری استافیلوکوکوس در روز تولید، عدم وجود باکتری مذکور در تیمارهای زیتون پرورده را نشان داد. در روز پانزدهم و سی‌ام میزان بار میکروبی در نمونه‌های دارای اسانس آویشن شیرازی نسبت به نمونه‌های بدون اسانس اختلاف معنی‌داری ($p<0/05$) داشت به طوری که در این دو روز تعداد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نمونه‌های دارای اسانس آویشن شیرازی کمتر از نمونه های بدون اسانس گزارش شد (جدول ۲). این موضوع می‌تواند به ترکیبات فنلی و ضد میکروبی اسانس آویشن‌شیرازی همچون تیمول و کارواکرول مرتبط باشد که اثر اسانس آویشن شیرازی بر استافیلوکوکوس اورئوس (گرم مثبت) را تایید کرده است، چرا که باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت در مقابل اثر ضدمیکروبی اسانس‌ها مقاوم‌تر هستند. این امر به دلیل وجود دیواره سلولی لیپوپلی‌ساکاریدی در باکتری‌های گرم منفی است، که این دیواره از رسیدن ترکیبات موثره اسانس ها به غشاء سیتوپلاسمی ممانعت می‌کند (۲۲). همچنین نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که با افزایش اسانس آویشن‌شیرازی در طی دوره نگهداری میزان رشد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس به صورت معناداری کاهش یافته است($P<۰/۰۵$). آخوندزاده و همکاران (۲۰۰۶) نیز به نتایج مشابهی رسیده و به خاصیت بازدارندگی اسانس آویشن شیرازی برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس اشاره کردند و دلیل این خاصیت را حضور ترکیبات کارواکرول و تیمول اعلام کرده‌اند (۱). پژوهش‌های مشابه دیگر در خصوص اثر ضداستافیلوکوکوس اورئوس اسانس آویشن‌شیرازی در مواد غذایی انجام شده است که نتایج فوق را تایید می‌کند (۸،۲). همچنین اثرات باکتریواستاتیکی قوی اسانس آویشن بر باکتری‌های گرم مثبت مانند استافیلوکوکوس اورئوس و باکتری‌های گرم منفی مانند اشریشیاکلی در رابطه با میزان بالای کارواکرول موجود در اسانس گزارش شده است (۳۶).

جدول۲- مقایسه تاثیر اسانس آویشن شیرازی بر رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

تیمار ها	روز۱	روز۱۵	روز ۳۰
تیمار با آویشن	0/00 ^{aA}	159±2/08 ^{aB}	796±90/74 ^{aC}
تیمار بدون آویشن	0/00 ^{aA}	197±3/06 ^{bB}	986±15/28 ^{bC}

*حروف کوچک مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار ($p>0.05$) در هر ستون و حروف بزرگ مشابه نمایانگر عدم تفاوت معنی دار ($p<0.05$) در هر ردیف است.

۳-۳-۲-بررسی میزان اشرشیاکلی در زیتون‌پرورده تولیدی در مدت زمان نگهداری

شمارش میکروبی باکتری اشرشیاکلی در تیمارها و زمان‌ها در حضور اسانس آویشن شیرازی، صفر گزارش شد. این موضوع تاثیر مثبت داغ پر کردن و نیز اثر اسانس آویشن‌شیرازی را بر باکتری اشرشیاکلی به اثبات رساند و نشان داد اشرشیاکلی (گرم منفی) حساس‌تر از استافیلوکوکس اورئوس (گرم منفی) بوده است. اکثر تحقیقات انجام شده نشان می دهد، حساسیت باکتری‌های گرم منفی در مقابل ترکیبات ضد میکروبی در مقایسه با باکتری های گرم مثبت، کمتر است که ممکن است به خاطر وجود غشای خارجی در ساختمان دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی باشد (۵۰). عطایی و همکاران (۲۰۱۳) اثر ضدمیکروبی اسانس آویشن شیرازی بر منحنی رشد و تولید شیگا توکسین باکتری *اشرشیا کلی*[1] را بررسی کردند. در این مطالعه نشان داده شد که می‌توان از این اسانس در غلظت بازدارنده رشد جهت جلوگیری از رشد اشرشیاکلی و در غلظت‌های تحت بازدارنده جهت جلوگیری از تولید شیگا توکسین آن در صنایع غذایی استفاده نمود (۹). در پژوهشی دیگر، نوری و همکاران اذعان داشتند که اسانس گیاه آویشن شیرازی را می‌توان به عنوان یک نگهدارنده طبیعی و ضد باکتری‌های گرم منفی بخصوص اشرشیاکلی مورد استفاده قرارداد (۴۶). محققین دیگری در تایید اثر ضدباکتریایی اسانس اعلام کردند کارواکرول خاصیت متوقف کننده و کشنده بر باکتری اشرشیاکلی دارد. کارواکرول غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی را تخریب و با افزایش نفوذ پذیری سلول ها سبب از بین رفتن آن‌ها می‌شود (۵۶). همچنین رسولی و رضایی درباره اثرات ضدمیکروبی اسانس گیاه آویشن‌شیرازی در سال ۱۳۸۰ پژوهشی انجام دادند. نتایج نشان داد، که اسانس آویشن شیرازی، حتی در غلظت‌های بسیار کم ۱/۶۴ دارای اثر ضدباکتریایی است. این اسانس علیه اشرشیاکلی و استاف آرئوس[2] باکتریوسید بوده و اثر باکتریوسیدال[3] خود را تا غلظت ۱/۸ حفظ می‌کرد. اثر ضد میکروبی اسانس آویشن‌شیرازی تا چهار ماه پس از فراهم کردن آن حفظ می‌شد (۳).

۳-۳-۳-بررسی تغییرات میزان مخمر در زیتون پرورده تولیدی در مدت زمان نگهداری

روند تغییرات میزان مخمر در نمونه‌های دارای اسانس و بدون اسانس در طی دوره نگهداری در روزهای تولید، پانزدهم و سی‌ام در جدول ۳ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می شود در روز تولید در کلیه نمونه‌ها رشد این میکروارگانیسم‌ها صفر است. در روز پانزدهم و سی‌ام، اثر اسانس آویشن شیرازی نتایج مشهودی داشت، در این دو روز میزان مخمرها در حضور اسانس صفر بود که با نمونه‌های بدون اسانس اختلاف معنی‌داری ($p<0/05$) داشت. به طوری که مقایسه نتایج در هر دو نمونه نشان داد رشد مخمرها در

1 -Shiga Toxin– Producing *E. Coli*

2-Aureus.S
3-Bactericidal

نمونه‌های دارای اسانس کنترل شده است اما نمونه های بدون اسانس رشد قابل ملاحظهء مخمر را از خود به نمایش گذاشته است که نمایانگر بازدارندگی بهتر اسانس آویشن شیرازی بر رشد مخمر می باشد. علاوه‌بر این‌که فرآوری در حرارت ۶۰ درجه سانتیگراد سلول‌های مخمر را نابود می‌کند (۶۲)، دلیل دیگر آن، این است که معمولا مخمرها به فرم اسپوری در محیط نمونه‌ها حضور دارند و پس از سازگاری با محیط به فرم رویشی درآمده و شمارش آنها افزایش می‌یابد (۶۲).

۳-۳-٤- بررسی تغییرات میزان رشدکپک‌ها در زیتون پرورده تولیدی در مدت زمان نگهداری

داده‌های به‌دست آمده از ارزیابی نتایج شمارش کپک در محصول زیتون پرورده بیانگر کاهش رشد کپک در نمونه‌های دارای اسانس در مقایسه با نمونه‌های بدون اسانس بود. علاوه بر این در انتهای دوره نگهداری سی روزه، میزان رشد کپک در این دو نمونه تفاوت معناداری داشت (P<۰ / ۰۵). در روز تولید در نمونه‌های مورد بررسی هیچ گونه رشدی مشاهده نشد و در روز پانزدهم نیز رشد کپک در نمونه‌های حاوی اسانس نسبت به نمونه‌های بدون اسانس تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (p>0/05) (جدول ۳). اما مقایسه نمونه‌های داراس اسانس و بدون اسانس نشان داد که رشد کپک در نمونه دارای اسانس به مراتب کمتر از نمونه‌های بدون اسانس است. به دلیل فعالیت ضدمیکروبی اسانس، شمارش مخمرها و کپک‌ها در مدت نگهداری محصول رشد کمتری نسبت به نمونه‌های فاقد اسانس نشان داد، بر اساس پژوهش‌های انجام شده می توان تاثیر اسانس آویشن را ناشی از ترکیبات ضد میکروبی موجود در آن از قبیل کارواکرول و تیمول دانست (۵۶،۲۲). با توجه به شرایط مطلوب رشد کپک در زیتون پرورده (pH بیشینه ۴/۳ بر اساس استاندارد ۸۶۹۲)، جمعیت کپک با گذشت زمان در محصول افزایش داشته است اما این رشد با اعمال اسانس آویشن‌شیرازی کنترل و حتی روند کاهشی را نشان داد. هچنین نتایج نشان داد قدرت ضد-میکروبی اسانس در روز پانزدهم و سی‌ام، بخصوص بعد از گذشت سی روز از نگهداری، بیشتر نمایان شده است. در پژوهشی که در خصوص تاثیر اسانس آویشن‌شیرازی بر آلودگی قارچی کیک صورت گرفته است، آلودگی قارچی کیک‌های حاوی ۰/۱۵-۰/۰۵ درصد اسانس آویشن شیرازی و دارچین در مقایسه با نمونه های کنترلی در طی دوره نگهداری کمتر گزارش شده است (۳۹). عمل متوقف سازی رشد توسط اسانس‌ها به دلیل واکنش گروه آلدئیدی با گروه‌های سولفیدریل موثر در رشد قارچ ها صورت می‌گیرد و مستعد بودن قارچ ها برای اثر متوقف کنندگی رشد توسط آلدئیدها به میزان زیادی متغیر است و به نوع کشت و سن قارچ بستگی دارد و کشت های مسن‌تر نسبت هاگ‌ها حساس‌ترند (۴۱).نتایج پژوهش نصرآبادی و همکاران (۲۰۰۸) بیانگر اثرات بازدارندگی اسانس آویشن شیرازی بر روی کپک‌ها بوده و این اسانس را به عنوان جایگزینی به جای نگهدارنده های شیمیایی به صنعت غذایی معرفی می‌نماید (۱۴). طبق اطلاعات موجود، اسانس آویشن‌شیرازی، حاوی درصد بالایی از تیمول و کارواکرول است که این ترکیبات، خاصیت ضدقارچی و ضدباکتریایی دارند (۵۶).

جدول۳- مقایسه تاثیر اسانس آویشن شیرازی بر رشد کپک و مخمر

نام میکروارگانیسم	تیمار ها	روز ۱	روز ۱۵	روز ۳۰
کپک	تیمار با آویشن	0/00 ^{aA}	6/67±5/77 ^{aB}	26/67±15/28 ^{aC}
	تیمار بدون آویشن	0/00 ^{aA}	23/33±5/77 ^{bB}	53/33±5/77 ^{bC}
مخمر	تیمار با آویشن	0/00 ^{aA}	0/00 ^{aA}	10±10 ^{aB}
	تیمار بدون آویشن	0/00 ^{aA}	16/67±5/77 ^{bB}	60±45/83 ^{bC}

*حروف کوچک مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار ($p>0.05$) در هر ستون و حروف بزرگ مشابه نمایانگر عدم تفاوت معنی‌دار ($p<0.05$)در هر ردیف است.

۳-۳-۵-تغییرات میزان باکتری‌های اسید دوست در زیتون پرورده تولیدی در مدت زمان نگهداری

بررسی‌های به عمل آمده در روز تولید و روز پانزدهم نشان داد که نتایج رشد باکتری‌های اسید دوست را در تمامی نمونه‌ها، صفر است که این گزارش نشان دهنده کفایت روش‌ها تهیه محصول و تاثیر مثبت فرآیندهای اعمال شده می‌باشد. همان طور که در جدول ۴ آمده است، در روز سی‌ام میزان رشد این باکتری‌ها در دو گروه تفاوت معنی داری ($p<0/05$) مشاهده شد بطوری که در نمونه دارای اسانس آویشن‌شیرازی این میکروارگانیسم کاهش یافته است. این مطلب در ارتباط با خصوصیات ضدمیکروبی ترکیبات فنولی اسانس آویشن به خصوص کارواکرول و تیمول گزارشد شده است (۲۴). از آنجا که باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس شدیدا حساس به شرایط اسیدی می‌باشد، بالاتر بودن میزان بقاء یا شمارش این باکتری در نمونه‌های بدون اسانس، احتمالا به دلیل پایین‌تر بودن اسیدیته نمونه‌های بدون اسانس می‌باشد. برخی محققان اسیدیته و پراکسید هیدروژن موجود در محیط نمونه‌ها را مهمترین عامل موثر بر زنده مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس گزارش کرده‌اند (۲۶).

جدول٤- مقایسه تاثیر اسانس آویشن شیرازی بر رشد باکتری های اسید دوست

تیمار ها	روز ۱	روز ۱۵	روز ۳۰
تیمار با آویشن	0/00 ^{aA}	0/00 ^{aA}	26/67±15/28 ^{aB}
تیمار بدون آویشن	0/00 ^{aA}	0/00 ^{aA}	60±10 ^{bB}

* حروف کوچک مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار ($p>0.05$) در هر ستون و حروف بزرگ مشابه نمایانگر عدم تفاوت معنی دار ($p<0.05$) در هر ردیف است.

۳-۳-٦-بررسی تغییرات میزان بار میکروبی کل در زیتون پرورده تولیدی در مدت زمان نگهداری

در این پژوهش اثر اسانس آویشن شیرازی بر بار میکروبی و ماندگاری زیتون پرورده در مدت سی روز بررسی شد. تغییرات بار میکروبی کل طی دوره نگهداری در تیمارهای مختلف در جدول ۵ نشان داده شده است. بر اساس این نتایج شمارش بار میکروبی زیتون پرورده مانند سایر نمونه‌ها و آزمایش‌ها در روز تولید، صفر است. بررسی نتایج شمارش بار میکروبی کل در روز پانزدهم، بین تیمارهای دارای اسانس و بدون اسانس تفاوت معنی‌داری ($p<0/05$) نشان داد، به‌طوری که بار میکروبی کل در نمونه‌های دارای اسانس افزایش کم‌تری داشته است. بررسی نتایج در روز سی‌ام و بعد از سی روز نگهداری نشان داد بین نمونه دارای اسانس آویشن شیرازی و بدون اسانس آویشن تفاوت معنی‌داری ($p<0/05$) وجود داشته است که گروه اول بار میکروبی کل مطلوب‌تری داشت و نمونه‌های دارای اسانس تاثیر مثبتی بر بار میکروبی گذاشته است، در حالی‌که در نمونه‌های بدون اسانس افزایش بار میکروبی در نمونه‌ها به روشنی قابل مشاهده بود. در کل می‌توان گفت استفاده از اسانس آویشن شیرازی سبب کاهش بار میکروبی کل شده است. با توجه به اینکه اسانس آویشن‌شیرازی دارای ترکیبات فنلی و ضدمیکروبی موثری مانند کارواکرول، تیمول می‌باشد، می توان کاهش بار میکروبی زیتون پرورده در نمونه‌های دارای اسانس را مرتبط با آن دانست. مکانیسم اثر ضدباکتریایی اسانس‌های‌گیاهی به خاصیت آب‌گریزی آن‌ها بر می‌گردد که موجب نفوذ این مواد به فسفولیپیدهای غشا باکتری و میتوکندری‌ها شده و سبب اختلال در ساختمان آنها و افزایش نفوذپذیری می‌گردد. این مسئله موجب خروج و نشت یون‌ها و دیگر محتویات سلولی شده که در نهایت مرگ باکتری را دربر خواهد داشت (۴۶). تیمول و کارواکرول که اجزای اصلی اسانس گیاه را تشکیل می‌دهند، دارای اثرات ضدمیکروبی خوبی هستند (۵۹،۴۹). ویژگی آب‌گریزی اسانس ها سبب نفوذ آنها در لیپیدهای غشای سلولی و افزایش نفوذپذیری آن می‌گردند که این امر سبب اختلال در کلیه فعالیت‌های حیاتی وابسته به غشای سلولی و خروج یون‌ها، ترکیب‌های حیاتی و در نهایت مرگ سلول خواهد شد (۵۸،۳۸). در تحقیقات مختلفی از جمله پژوهش ضارع و همکاران (۲۰۱۵) و محمدی و همکاران (۲۰۱۱) در خصوص اثر ضدباکتریایی اسانس روغنی آویشن شیرازی انجام شده است که اثرات ضدباکتریایی قابل توجهی برای اسانس آویشن شیرازی به اثبات رسانده است (۴۴،۴). اکثر تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد، حساسیت باکتری‌های گرم منفی در مقابل ترکیبات ضدمیکروبی در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت، کم‌تر است که ممکن است به خاطر وجود غشای خارجی در ساختمان دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی باشد (۵۰).

جدول۵- مقایسه تاثیر اسانس آویشن شیرازی بر بار میکروبی کل

تیمار ها	روز ۱	روز ۱۵	روز ۳۰
تیمار با آویشن	0/00 ^{aA}	840±111/36 ^{aB}	2790±399/62 ^{aC}
تیمار بدون آویشن	0/00 ^{aA}	1303/33±15/28 ^{bB}	3516/67±100/17 ^{bC}

*حروف کوچک مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار ($p>0.05$) در هر ستون و حروف بزرگ مشابه نمایانگر عدم تفاوت معنی دار ($p<0.05$) در هر ردیف است.

٤-نتیجه‌گیری

افزودن اسانس گیاهان اثرات مطلوبی بر مواد غذایی دارد و ضمن افزایش ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی از رشد بار میکروبی جلوگیری می‌کند. در این پژوهش، اثر اسانس آویشن شیرازی بر ماندگاری زیتون پرورده مورد ارزیابی قرار گرفت. از نمونه‌های دارای اسانس آویشن‌شیرازی و نمونه‌های بدون اسانس استفاده شد. اسانس آویشن‌شیرازی، رشد میکروارگانیسم‌ها (باکتری‌ها، مخمرها، کپک و بار کلی میکروبی) را در هر روز از دوره‌های آزمون به وضوح کاهش داد. در مورد خاصیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها، نمونه‌های دارای اسانس آویشن‌شیرازی افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی را نشان دادند. این مطالعه نشان داد که برای افزایش ماندگاری زیتون پرورده، می‌توان از اسانس آویشن شیرازی به میزان ۰/۰۷ درصد استفاده کرد که علاوه بر عدم تاثیر منفی بر ویژگی‌های طعمی و مزه، از رشد میکروارگانیسم‌ها جلوگیری می‌کند و بر ماندگاری آن تاثیر مثبت دارد.

٥-سپاسگزاری

از آقای دکتر عادل میرزاعلیزاده، شرکت‌های آیتونا سبز طارم و عطر و طعم ماگنولیا جهت راهنمایی و کمک‌های شایانی که در خصوص این پژوهش داشتند نهایت تشکر و قدردانی به عمل می آید.

٦-منابع

۱. آخوندزاده، ا.، میثاقی، ع.، موسوی، م.، صالحی، ت.، کریم، گ. ۱۳۸٦. اثر اسانس گیاه آویشن شیرازی بر روی میزان رشد استافیلوکوکوس ارئوس در سوپ تجارتی. *فصلنامه گیاهان دارویی*، جلد۲، شماره۲۲، ۹۱-۸.

۲. پارسایی مهر، م.، آخوندزاده بستی، ا.، میثاقی، ع.، زهرایی‌صالحی، ت.، رادمهر، ب.، گندمی نصرآبادی، ح. ۱۳۸۸. بررسی اثر اسانس آویشن شیرازی بر روی تولید انتروتوکسین باکتری استافیلوکوکوس اورئوس. *فصلنامه گیاهان دارویی*، جلد۱، شماره ۳۳، ۱۲۰-۹۸.

۳. رسولی، ا.، رضایی، م.۱۳۸۰. مقایسه تاثیر ضد میکروبی آمپی سیلین و اسانس آویشن شیرازی. *مجله تحقیقات نظام سلامت حکیم*، جلد ٤، شماره ۳، ۲۲۵- ۲۱۹.

٤. زارع‌بیدکی، م.، عرب، م.، خزاعی، م.، افکار، ا.، زردست، م. ۱۳۹٤. اثر ضدباکتریایی اسانس روغنی آویشن شیرازی بر هشت گونه پاتوژن گوارشی. *فصلنامه افق دانش*، جلد ۲۱، شماره ۳، ۱٦۱-۱٥٥.

٥. سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۹٥. زیتون پرورده- ویژگی‌ها و روش‌های آزمون. استاندارد ملی ایران، شماره۸٦۹۲، چاپ اول.

٦. سامانی، ف.، بخشیان، ن.، حشمتی، م. ۱۳۹۷. کاهش میزان نیتریت فرمولاسیون سوسیس با استفاده از بهینه سازی هردل‌های فعالیت آبی و مدت زمان فرایند حرارتی. *مجله علوم و صنایع غذایی ایران*، جلد ۱٥، شماره ۸٤، ۸۰-٦۹.

۷. شهسواری، ن.، برزگر، م.، سحری، م.، نقذی‌بادی، ح. ۱۳۸۷. بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه آویشن شیرازی (*Zataria multiflora Boiss*) در روغن سویا. *فصلنامه گیاهان دارویی*، جلد ٤، شماره ۲۸، ٦۸-٥٦.

۸. عزیزخانی، م.، میثاقی، ع.، آخوندزاده‌بستی، ا.، گندمی نصرآباد، ح.، حسینی، ه. ۱۳۹۱. بررسی اثر اسانس آویشن‌شیرازی بر رشد و تولید

انتروتوکسین E باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ۲۹۲۱۳ATCC. *فصلنامه گیاهان دارویی*، جلد٤، شماره ٤٤، ۱۹۲-۱۸۵.

۹. عطائی، م.، آخوندزاده بستی، ا.، زهرایی صالح آبادی، ت.، حسینی، ه.، گندمی نصرآبادی، ح.، نوری، ن و دیگران. ۱۳۹۲. بررسی اثر ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی بر منحنی رشد و تولید شیگا توکسین ۲ باکتری اشرشیا کلی. *فصلنامه گیاهان دارویی*، جلد٤، شماره ٤٨، ۷۱-٦۲.

۱۰. عظیمی، م.، اخوان، ح م.، رادی، م. ۱۳۹٦. تاثیر افزودن اسانس آویشن بر برخی ویژگی های کیفی و میکروبی حلوا ارده در طی زمان نگهداری. *مجله علوم و صنایع غذایی ایران*، جلد ١٤، شماره ٦٨، ۲۹۲-۲۸۱.

۱۱. فاضل، م.، امیدبیگی، م.، برزگر، م.، نقدی بادی، ح.۱۳۸٦. بررسی تاثیر حرارت روی فعالیت آنتی‌رادیکالی اسانس گیاهان آویشن، مرزه و میخک توسط روش ۲ و ۲- دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH). *فصلنامه گیاهان دارویی*، جلد ۲، شماره۲۲، ٦۳-٥٤.

۱۲. مصحفی، م.، منصوری، ش.، شریفی‌فر، ف.، خشنودی، م. ۱۳۸۵. اثر ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره گیاهی آویشن شیرازی در برون تن. *مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان*، جلد١٤، شماره ۱، ٤۳-۳۳.

۱۳. نصر، آ.، کسری‌کرمانشاهی، ر.، نحوی، ا. ۱۳۸٤. بررسی اثر تشدیدکنندگی برخی از مواد نگهدارنده بیولوژیکی و شیمیایی در کنترل باسیلوس سرئوس مقاوم در مواد غذایی. *مجله پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران*، جلد ۱، شماره ۲، ۲۱-۱۱.

١٤. نصرآبادی، ح.، میثاقی، ع.، آخوندزاده‌بستی، ا.، خسروی، ع.، بکایی، س.، عباسی‌فر، آ. ۱۳۸۷. اثر اسانس آویشن شیرازی روی آسپرژیلوس فلاووس. *فصلنامه گیاهان دارویی*، جلد ۳، شماره ۲۷، ٥۱-٤٥.

15. Amanlou, M., Beitollahi, JM. Abdollahzadeh, S., Tohidast-Ekrad, Z., 2006. Miconazole gel compared with Zataria multiflora Boiss. gel in the treatment of denture stomatitis. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*,20 (11): 9-966.

16. Arqués, J., Rodríguez, E., Gaya, P., Medina, M. ,Nunez, M. 2005. Effect of combinations of high-pressure treatment and bacteriocin-producing lactic acid bacteria on the survival of Listeria monocytogenes in raw milk cheese. *International Dairy Journal*, 15 (9-6: 893-900.

17. Ashrafi, K. Valero, MA. Massoud, J. Sobhani, A. Solaymani-Mohammadi, S. Conde, P, et al. 2006. Plant-borne human contamination by fascioliasis. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 75 (2):295-302.

18. Beales, N. 2004. Adaptation of microorganisms to cold temperatures, weak acid preservatives, low pH, and osmotic stress: a review. *Comprehensive Reviews in Food science and Food safety*, 3 (1): 1-20.

19. Brand-Williams, W., Cuvelier, M-E., Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 1(28): 25-30.

20. Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94 (3): 223-253.

21. Chi-Zhang, Y., Yam, KL., Chikindas, ML. 2004. Effective control of Listeria monocytogenes by combination of nisin formulated and slowly released into a broth system. *International journal of food microbiology*, 90 (1): 15-22.

22. Cosentino, S. ,Tuberoso, CIG., Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi, E. et al. 1999. In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian thymus essential oils. *Letters in applied microbiology*, 29 (2): 5-130.

23. Daferera, DJ. Ziogas, BN. Polissiou, MG. 2000. GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on Penicillium digitatum. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48 (6): 2576-2581.

24. Dave, RI., Shah, NP. 1997. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, 7 (1): 31-41.

25. DeMan, JM. 1999. Principles of Food Chemistry. Aspen Publishers,Inc. Gatithersburg,Mariland.

26. Duenas, M., Hernandez, T., Estrella, I. 2006. Assessment of in vitro antioxidant capacity of the seed coat and the cotyledon of legumes in relation to their phenolic contents. *Food Chem*, 1(98): 98-103.

27. Ettayebi, K., El, Yamani, J., Rossi-Hassani, B-D. 2000. Synergistic effects of nisin and thymol on antimicrobial activities in Listeria monocytogenes and Bacillus subtilis. *FEMS Microbiology Letters*, 183 (1): 5-191.

28. Farag, R., Daw, Z., Hewedi, F., El-Baroty, G. 19859. Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *Journal of food protection*, 52(9):665-667.

29. Georgantelis, D., Blekas, G., Katikou, P., Ambrosiadis, I., Fletouris, DJ. 2007. Effect of rosemary extract, chitosan and α-tocopherol on lipid oxidation and colour stability during frozen storage of beef burgers. *Meat Science*, 75(2): 256-264.

30. Gandomi, H., Misaghi, A., Basti, AA., Bokaei, S., Khosravi, A., Abbasifar, A. et al. 2009. Effect of Zataria multiflora Boiss. essential oil on growth and aflatoxin formation by Aspergillus flavus in culture media and cheese. *Food and chemical toxicology*,47(10): 2397-2400.

31. Golmakani, MT., Rezaei, K. 2008. Microwave-assisted hydrodistillation ofessential oil from Zataria multiflora Boiss. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110(5): 454-448.

32. Hromadkova, Z., Ebringerová, A. 2003. Ultrasonic extraction of plant materials––investigation of hemicellulose release from buckwheat hulls. *Ultrasonics sonochemistry*,10(3): 127-133.

33. Kailis S., Harris DJ. 2007. Producing table olives: Landlinks press.

34. Kanatt, SR., Chander, R., Sharma, A. 2008. Chitosan and mint mixture: A new preservative for meat andmeat products. *Food Chemistry*, 107(2): 852-845.

35. Karaman, S., Digrak, M., Ravid, U., Ilcim, A. 2001. Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of Thymus revolutusCelak from Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 76(2): 183-186.

multiflora Boiss. essential oil on Escherichia coli O157:H7 during manufacture and ripening of white brined cheese. *Journal of Food Hygiene*, 1(2): 69-78.

44. No, H., Meyers, SP., Prinyawiwatkul, W., Xu, Z. 2007. Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: a review. *Journal of food science*, 72(5): 87-100.

45. Noori, N., Rokni, N., Akhondzade, BA., Misaghi, A., Dabbagh, MA., Yahyaraeyat , R. et al. 2012. The antimicrobial effect of Zatariamultiflora Boiss essential oil against E. coli O157:H7 in minced beef during refrigerated storage as a replacement for chemical preservatives in order to maintain the consumers health. 2012. *Annals of military and health sciences research*, 10(2): 192-197.

46. Nychas G. 1995. *Natural antimicrobials from plants in: New methods of food preservation*. Springer, pp. 58-89.

47. Gould, G. W. 1995. *New Methods of Food Preservation*. Springer Science & Business Media.

48. Omidbeygi, M., Barzegar, M., Hamidi, Z., Naghdibadi, H. 2007. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essentialoils against Aspergillus flavus in liquid medium and tomato paste. *Food control*, 18 (12): 1518-1523.

49. Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., Lacroix, M. 2007. 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.

50. Parthasarathy, S., Bin, Azizi, J., Ramanathan, S., Ismail, S., Sasidharan, S., Said, MI. et al. 2009. Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of

36. Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T., Jukic, M. 2006. Screening of ۷۰ medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food chem*, 94(4): 550-557

37. Kim, J., Marshall, MR., Wei, C-i. 1195. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. *Journal of agricultural and food chemistry*, 43(11): 2839-2845.

38. Kordsardouei, H., Barzegar, M., Sahari, MA. 2013. Application of Zataria multiflora Boiss .and cinnamon zeylanicum essential oils as two natural preservatives in cake. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 3(3):238-247.

39. Kostaki, M., Giatrakou, V., Savvaidis, IN., Kontominas, MG. 2009. Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical andsensory attributes of organically aquacultured sea bass (Dicentrarchuslabrax) fillets. *Food microbiology*, 26(5): 475-482.

40. Kurita, N., Miyaji, M., Kurane, R., Takahara, Y., Ichimura, K. 1979. Antifungal activity and molecular orbital energies of aldehyde compounds from oils of higher plants. *Agricultural and Biological Chemistry*, 11(43): 2365-2371.

41. Leistner, L., Gorris, LG. 1995. Food preservation by hurdle technology. *Trends in food science & technology*, 6 (2): 41-46.

42. Miliauskas, G., van Beek, TA., de Waard, P., Venskutonis, RP., Sudhölter, EJ. 2005. Identification of radical scavenging compounds in rhaponticum c arthamoides by means of LC-DAD-SPE-NMR. *Journal of Natural Products*,68 (2): 168-172.

43. Mohammadi, K., Karim, G., Hanifian, S., Tarinejad, A., Gasemnezhad, R. 2011. Antimicrobial effect of Zataria

aqueous, methanolic and alkaloid extracts from Mitragynaspeciosa (Rubiaceae family) leaves. *Molecules*, (10)14: 3963-3974.

51. Peñas, E., Gómez, R., Frías, J., Vidal-Valverde, C. 2010. Effects of combined treatments of high pressure, temperature and antimicrobial products on germination of mung bean seeds and microbial quality of sprouts. *Food control*, 21 (1): 88-82.

52. Ramarathnam, N., Osawa, T., Ochi, H., Kawakishi, S. 1995. The contribution of plant food antioxidants to human health. *Trends in Food Science & Technology*, 6 (3): 75-82.

53. Riznar, K. Celan, S. Knez, Z. SKerget, M. Bauman, D. Glaser, R. 2006. Antioxidant and antimicrobial activity of rosemary extract in chicken frankfurters. *Journal of Food Science*, 71 (7): 425-429.

54. Ruberto, G., Baratta, MT. 2000. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food chemistry*, 69 (2): 167-174.

55. Sajed, H. Sahebkar, A. Iranshahi, M. 2013. Zataria multiflora Boiss. (Shirazi thyme)-an ancient condiment with modern pharmaceuticaluses. *Journal of ethnopharmacology*, 145 (3): 686-698

56. Singh, A. 2001. Editor Use of plant essential oils as antimicrobial agents against Listeria monocytogenes in hotdogs. Program listing, New Orleans, The 2001 IFT annual meeting.

57. Smith-Palmer, A., Stewart, J., Fyfe, L. 2001. The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food microbiology, 18(4):463-470.*

58. Sharififar, F., Moshafi, M., Mansouri, S., Khodashenas, M., Khoshnoodi, M. 2007. In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic Zataria multiflora Boiss. *Food control*, 18 (7): 800-805.

59. Souri, E., Amin, G., Farsam, H., Jalalizadeh, H., Barezi, S. 2010. Screening of thirteen medicinal plant extracts for antioxidant activity. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, (2)7: 149-154.

60. Thériault, M., Caillet, S., Kermasha, S., Lacroix, M. 2006. Antioxidant, antiradical and antimutagenic activities of phenolic compounds present in maple products. *Food chemistry*, 98 (3): 490-501.

61. Truong-Meyer, X-M., Strehaiano, P., Riba, J-P. 1997. Thermal inactivation of two yeast strains heated in a strawberry product: Experimental data and kinetic model. *Chemical Engineering Journal*, 65 (2): 99-104.

62. Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L., Bates, D. 2008. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry—A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9 (2): 161-169.

63. Yanishlieva, NV., Marinova, EM., Gordon, MH., Raneva, VG. 1999. Antioxidant activity andmechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chemistry*,64 (1): 59-66.

64. Yvonne Salfinger and Mary LouTortorello. 2013. Compendium of methods for the Microbiological Examination of Foods. *American Public Health Association*. APH press.

(Original Research Paper)

Effect of *Zataria Multiflora Boiss.* Essential Oil on Microbial Load and Shelf Life of Processed Olive (zeiton parvarde)

Ali Amarlo[1], Akram Sharifi[2*]

1-Department of Food Science and Technology, Faculty of Industrial and Mechanical Engineering, Qazvin Branch, Islamic Azad University, Qazvin, Iran.

Received:17/06/2020 Accepted:20/07/2020

Abstract

Since shelf life of processed olives without chemical preservatives is limited, the aim of this study to replace of Zataria Multiflora Boiss essential oil to increase the shelf life of processed olives. In this study, two types of processed Olive, the first one containing 0.07% of Zataria Multiflora Boiss. essential oil (from sensory evaluation) and the other one without Zataria Multiflora Boiss. Essential oil and antioxidant activity and bacterial activity were evaluated in three replications. The results were compared with each other during the thirty-day period. The results showed that the number of Staphylococcus aureus in the sample with no sample essential oils have lower growth. Yeast growth rate in the first and second days was reported zero in the Samples containing essential oil and on the third day, yeast growth was significantly increased in the non-essential oil sample. The number of mildew observed on the 30th day in the essential oil samples was significantly reduced. The number of acidophilic bacteria in both samples was reported to be zero on the first and second days on the third day, however, in the content of the essential oil was significantly lower. The total microbial load of the non-essential oil samples in three days was much higher than that of the essential oil samples. The results of antioxidant activity analysis showed that the total antioxidant activity was higher in the essential oil samples during the whole storage period. The results showed that the use of Zataria multiflora Boiss. Essential oil can increase the shelf life of the processed olives and replace the chemical preservatives.

Keywords*:* Processed olive, Zataria Multiflora Boiss., Essential Oil, Shelf Life.

*Corresponding Author: asharifi@qiau.ac.ir