

## مقایسه اثر بازدارندگی دو حالت اسانس و پودر خشک ریحان سبز بر جمعیت میکروبی گوشت چرخ شده گاو طی مدت نگهداری در یخچال

شهره دادفر<sup>۱</sup>، مریم میرلوحی<sup>۲\*</sup>، عبدالله قاسمی پیربلوطی<sup>۳</sup>، آذین پور خلیلی<sup>۱</sup>  
۱- کارشناس ارشد علوم و صنایع غذایی، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.  
۲- استادیار علوم و صنایع غذایی، مرکز تحقیقات و امنیت غذایی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.  
۳- استادیار زراعت و اصلاح نباتات، مرکز پژوهش‌های گیاهان دارویی و دامپزشکی سنتی، دانشکده زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.

یافته / دوره شانزدهم / شماره ۲ / تابستان ۹۳ / مسلسل ۶۰

### چکیده

دریافت مقاله: ۹۱۲/۱۲/۱۰ پذیرش مقاله: ۹۱۳/۱۲/۱۱

\* مقدمه: ریحان با نام علمی *Ocimum basilicum* یکی از سبزیجات رایج معطر خوراکی است که در طب سنتی خواص مفیدی برای آن شناخته شده است. هدف از انجام این تحقیق در مرحله اول مقایسه قدرت ضد میکروبی اسانس روغنی ریحان سبز و ریحان بنفش در شرایط آزمایشگاهی جهت انتخاب نمونه واجد ترکیبات زیست فعال با پتانسیل کاربردی بیشتر و در مرحله بعد مقایسه اثر استفاده از دو حالت اسانس و پودر خشک نمونه انتخاب شده در گوشت چرخ شده گاو در ثبات جمعیت میکروبی و افزایش مدت ماندگاری آن در یخچال بود.

\* مواد و روش‌ها: در بخش اول این تحقیق، قابلیت ضد میکروبی دو اسانس ریحان سبز و ریحان بنفش با روش انتشار دیسک بررسی شد. بر اساس نتیجه بدست آمده، در بخش دوم تحقیق اثر اسانس ریحان سبز در سطح ۰/۱ درصد و معادل پودر خشک آن (۲۲ درصد) در گوشت گاو خام به منظور بررسی جمعیت میکروبی کل در مدت ۱۰ روز نگهداری در یخچال در مقابل نمونه شاهد ارزیابی شد.

\* یافته‌ها: اسانس ریحان سبز در غلظت ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر با تفاوت معنی داری ( $P < 0/05$ ) نسبت به اسانس ریحان بنفش در جلوگیری از رشد باکتری برتری داشت. این تفاوت در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر نیز به شکل نسبی قابل مشاهده بود. در بخش دوم آزمایشات مشخص شد که استفاده از هر دو تیمار حاوی اسانس در سطح ۰/۱ درصد و پودر خشک گیاه ریحان سبز (۲۲ درصد) در کاهش جمعیت میکروبی مؤثر بوده است. اگرچه پودر خشک در روزهای آخر نگهداری خواص ضد میکروبی قوی تری را نسبت به اسانس نشان داد.

\* بحث و نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که هر دو حالت اسانس و پودر خشک گیاه ریحان سبز در افزایش پایداری میکروبی گوشت طی دوره نگهداری مؤثر بودند. با ذکر اینکه پودر خشک قابلیت نگهدارندگی بیشتری را در انتهای دوره نشان داد. بنابراین می‌توان از این مواد طبیعی به عنوان جایگزین نگهدارنده‌های سنتزی به منظور کاهش بیماری‌های مصرف کننده و بهبود عطر و طعم غذا استفاده کرد.

\* واژه‌های کلیدی: ریحان سبز و قرمز، قدرت ضد میکروبی، گوشت گاو، دوره یخچال‌گذاری.

\* آدرس مکاتبه نویسنده مسئول: اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، دانشکده تغذیه و علوم غذایی.

پست الکترونیک: m\_mirlohi@hlth.mui.ac.ir

## مقدمه

امروزه بخش مهمی از تحقیقات علم غذا به معرفی و کاربرد ترکیبات طبیعی در مواد غذایی به عنوان جایگزین‌هایی بی‌خطر برای مواد شیمیایی مصنوعی رایج معطوف شده است (۱). افزون بر این افزایش دانش عمومی جامعه تمایل مصرف کنندگان به سمت محصولات طبیعی را برانگیخته است و در این راستا، تقاضا برای محصولات غذایی فراوری شده عاری از مواد مصنوعی عاملی برای ترغیب تولید کنندگان به تولید این دسته از مواد غذایی افزایش یافته است (۲). ترکیبات طبیعی گیاهی با ماهیت نگهدارندگی همواره از جمله موارد مورد توجه در این زمینه بوده‌اند. بخصوص در کشور ما سابقه طولانی استفاده از برخی گونه‌های گیاهان به عنوان عوامل سلامتی بخش زمینه مناسبی برای استفاده از آنها به این منظور است. در علم امروز غذا چنین مواد غذایی، غذاهای عملکردی یا فراسودمند معرفی شده‌اند (۳،۴). همچنین بهبود طعم و طعم غذا و نزدیک شدن طعم به طعم غذاهای سنتی به دلیل وجود ترکیبات آروماتیک حلقوی به عنوان دسته‌ایی از ترکیبات ثانویه گیاهی در افزودنی‌های طبیعی منجر به افزایش رضایت مندی مصرف کنندگان امروزی خواهد شد. در منابع علمی، مثال‌های فراوانی از فعالیت زیستی ترکیبات ثانویه گیاهی و امکان استفاده از آنها به عنوان عوامل نگهدارنده برای جلوگیری از فساد، شکل‌گیری سموم و کاهش کیفیت مواد غذایی ارائه شده است (۵). از میان مواد غذایی مختلف، گوشت به دلیل قابلیت فساد بالا و امکان تولید فرآورده‌های آن به شکل‌های مختلف، قابلیت زیادی برای استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی داشته و در سال‌های اخیر برخی از مطالعات اثر ترکیبات ثانویه گیاهی افزودنی را در ثبات میکروبی و شیمیایی انواع گوشت در انبار سرد بررسی کرده‌اند (۶). رستنی ریحان با نام علمی *Ocimum basilicum* یا ریحان شیرین گیاهی یک ساله است و به عنوان

گیاه آشپزخانه‌ای و یکی از رایج‌ترین سبزیجات معطر پر کاربرد شناخته شده است (۷). همچنین این گیاه در طب سنتی به عنوان گیاه ضد عفونی کننده، نگهدارنده، مسکن و تنظیم کننده هضم معرفی شده است. علاوه بر این برای سردرد، عفونت سیستم تنفسی، سوء عملکرد کلیه و دفع سموم هم توصیه می‌شود (۸،۹). نتایج تحقیقات قبلی انجام شده بر ترکیبات مؤثره در این گیاه قابلیت استفاده از آن به عنوان ترکیب نگهدارنده و ضد فساد میکروبی را مشخص نموده است (۱۰-۱۳). در ایران، ریحان یکی از سبزیجات سبز رایج در غذای روزانه شمرده می‌شود و مصرف آن بخصوص در کنار مواد غذایی گوشتی مانند کباب عادتاً رایج برای بسیاری از افراد است لذا کاربرد دو شکل مختلف پودر خشک و یا عصاره آن در گوشت کاملاً با سنت و عادات غذایی مطابقت داشته و برای جامعه مصرف کنندگان به خوبی پذیرش است.

هدف از انجام این تحقیق بررسی قدرت ضد میکروبی اسانس روغنی ریحان سبز و ریحان بنفش در شرایط آزمایشگاهی و انتخاب نمونه‌ای واجد ترکیبات زیست فعال با پتانسیل کاربردی بیشتر در گوشت چرخ شده گاو به منظور افزایش مدت ماندگاری گوشت گاو بود. هدف بعدی، بررسی اثر دو حالت اسانس و پودر خشک نمونه انتخابی در جلوگیری از گسترش فساد میکروبی گوشت در دمای یخچال طی ۱۰ روز نگهداری آن تعیین شد.

## مواد و روش‌ها

## مواد گیاهی و شیمیایی، وسایل و محلول‌های مورد نیاز

ریحان سبز و ریحان بنفش، اتانل مطلق، محیط کشت نوترینت براث، محیط کشت نوترینت آگار، سدیم سولفات (آبگیری اسانس)، دستگاه کلونینجر، دیسک بلانک، دیسک‌های حاوی آنتی بیوتیک اریترومایسین و تتراسایکلین.

**آماده سازی اسانس و پودر خشک گیاه**

ریحان سبز و بنفش در فصل تابستان از مزارع کشت ریحان واقع در منطقه نازوان اصفهان جمع‌آوری شدند. قسمت برگ و ساقه گیاهان جدا گردید و برگ‌ها تا خشک شدن کامل در هوای خشک و سایه به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد. نمونه های خشک غربال شده و جهت استخراج اسانس روغنی در دستگاه کلونینجر به مدت ۴ ساعت فراوری شدند. روغن استخراجی در یخچال و دور از نور تا انجام آزمایشات نگهداری شد (۱۴). پودر خشک گیاه انتخابی یک روز پیش از افزودن به گوشت توسط اشعه ماوراء بنفش ضد عفونی گردید.

**تعیین قابلیت ضد میکروبی اسانس ریحان سبز و بنفش**

در این مرحله از روش انتشار دیسک استفاده شد و از باکتری *Sodomonas* آئروژینوزا به عنوان شاخص آلودگی گوشت به این منظور استفاده گردید. برای کشت باکتری در محیط نوترینت آگار از سوسپانسیون میکروبی به میزان ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و روی محیط جامدی که از قبل تهیه گردیده بود، کشت داده شد. پس از آن، داخل هر پلیت سه دیسک آنتی بیوگرام خالی به صورت مثلثی قرار داده شد که یکی از آن‌ها دیسک آزمون و دو دیسک دیگر تکرار بودند. هر پلیت به یک غلظت اسانس گیاه اختصاص داده شد سپس از هر کدام از غلظت‌های اسانس‌ها (۲۰۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، ۱۰۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و ۵۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) مقدار ۲۰ میکرولیتر به دیسک‌های اختصاص یافته اضافه شد. دیسک‌های آنتی‌بیوتیک اریترومایسین و تتراسایکلین نیز به عنوان کنترل مثبت همزمان داخل پلیت‌های مشخص قرار داده شد. بعد از آن مقدار ۲۰ میکرولیتر حلال دی متیل سولفوکساید (DMSO) بر روی هر یک از دیسک‌ها ریخته شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در تحت شرایط بی‌هوای (۵٪ دی اکسید کربن) و دمای ۳۷

درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شدند و در نهایت قطر هاله‌ها اندازه‌گیری شد. قدرت ضد میکروبی اتانول ۷۰٪ نیز در مقابل باکتری *Sodomonas* آئروژینوزا بررسی گردید (۱۵).

**آماده سازی و آزمایشات اولیه نمونه گوشت**

گوشت راسته گوساله یک ساله با مشخصات تغذیه‌ای، منطقه‌ای و نژادی مشخص خریداری و به آزمایشگاه مرکز تحقیقات امنیت غذایی دانشکده تغذیه و علوم غذایی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انتقال یافت. نمونه گوشت بارعایت شرایط استریل قطعه قطعه و توسط چرخ گوشت چرخ شد.

**تهیه نمونه‌های آزمایشی**

در این تحقیق تیمارهای آزمایشی شامل ۳ تیمار بود، تیمار شاهد (فاقد افزودنی)، تیمار حاوی اسانس ریحان سبز (۱/۰٪) و تیمار حاوی پودر خشک ریحان سبز (۲۲٪). بلافاصله بعد از تزریق اسانس و افزودن پودر خشک گیاه بسته‌ها به یخچال با دمای ۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شده و دوره نگهداری ۱۰ روزه برای آزمایشات آغاز شد. گوشت چرخ شده در نظر گرفته شده برای هر تیمار در ۹ قطعه ۵۰ گرمی در بسته‌های پلی اتیلنی زیپ‌دار توزیع شد. البته کیسه‌های پلی اتیلنی مورد استفاده بیشتر به مدت ۲۴ ساعت تحت تابش اشعه ماوراء بنفش قرار گرفته بودند.

**آزمایشات میکروبی**

نمونه برداری در روزهای اول، سوم، پنجم، هفتم و دهم نگهداری صورت گرفت. در هر بار انجام آزمایشات میکروبی ۵ گرم از هر تیمار نمونه برداری و با ۴۵ میلی‌لیتر آب پیتونه استریل مخلوط و به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. از فاز رویی یک میلی‌لیتر جدا شد و عمل رقیق سازی تا رقت‌های  $10^{-8}$  -  $10^{-5}$  ادامه یافت به منظور شمارش جمعیت میکروبی کل از محیط کشت نوترینت آگار استفاده شد. کشت میکروبی به شکل سطحی از ۱۰۰ میکرولیتر از

### نتایج شمارش کلی میکروبی در گوشت طی دوره یخچال گذاری

بر اساس نتایج جدول ۲ استفاده از هر دو تیمار حاوی اسانس و پودر خشک گیاه ریحان سبز در کاهش جمعیت میکروبی مؤثر بوده است و اثر بازدارندگی دو تیمار فوق با گذشت زمان نسبت به تیمار شاهد بیشتر شد. بطوریکه علی رغم کاهش نسبی جمعیت باکتری در روز اول (۲۴ ساعت پس از زمان تلقیح اسانس) ( $P=0/117$ ) و سوم ( $P=0/69$ ) با گذشت زمان در روزهای پنجم ( $P=0/21$ )، هفتم ( $P=0/004$ ) و دهم ( $P=0/004$ ) اختلاف معنی داری در جمعیت میکروبی کلیه نمونه‌های تیمار شده با اسانس یا پودر خشک نسبت به نمونه شاهد دیده شد.

مقایسه بین میانگین نتایج با آزمون LSD نشان داد که اگر چه در روز سوم یخچال گذاری گوشت اسانس افزوده شده با قدرت بازدارندگی قوی‌تری نسبت به پودر خشک ریحان سبز در کاهش جمعیت میکروبی عمل کرده است، اما این اثر در نوبت‌های بعدی نمونه برداری قابل مشاهده نبود. در مقابل، در آخرین روز، نمونه‌های حاوی پودر خشک نسبت به نمونه‌های تیمار شده با اسانس جمعیت میکروبی کمتری نشان دادند ( $P=0/004$ ).

رقت‌های مناسب بر سطح پلیت جامد انجام و پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شدند (۱۶).

### روش محاسبات آماری

جهت تجزیه و تحلیل اطلاعات از نرم افزار آماری SPSS استفاده شد. آزمون مقایسه جفتی جهت مقایسه اثر بازدارندگی از رشد میکروارگانیزم سودوموناس آئروژینوزا توسط دو گیاه ریحان سبز و بنفش با سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد. جهت مقایسه اثر بازدارندگی پودر خشک و اسانس ریحان سبز از رشد جمعیت کلی باکتریایی، از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد و مقایسه میانگین نتایج بدست آمده با آزمون LSD با سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

### یافته‌ها

#### نتایج حاصل از قدرت بازدارندگی اسانس ریحان سبز و بنفش در شرایط آزمایشگاهی

در جدول ۱ اثر بازدارندگی اسانس ریحان سبز و بنفش بر میکروب سودوموناس آئروژینوزا به عنوان شاخص میکروبی گوشت نشان داده شده است. بر اساس این جدول، دو اسانس مورد بررسی در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اثر متفاوتی در جلوگیری از رشد این باکتری داشته‌اند. بطوریکه ریحان بنفش با قدرت کمتری از رشد آن جلوگیری کرده است. این نتیجه در دو غلظت ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از هر دو نمونه نیز به بطور نسبی قابل مشاهده بود. از نتایج قابل توجه در این قسمت، مشاهده اثر دوز-پاسخ، با افزایش غلظت از هر دو نمونه ریحان مورد آزمایش بود.

جدول ۱. مقایسه میانگین قطر هاله بازدارنده رشد سودوموناس آئروژینوزا ناشی از اثر عصاره روغنی ریحان سبز و ریحان بنفش.

۲۰mg/ml	۱۰mg/ml	۵mg/ml	
۲۳/۵۵ ± ۱/۹۴	۲۰/۲۲ ± ۲/۳۳	۱۸/۴ ± ۲/۶	ریحان سبز
۱۸/۷۷ ± ۲/۵	۱۸ ± ۲/۴	۱۷/۶۶ ± ۲/۰۸	ریحان بنفش
p=۰	p=۰/۰۶۶	p=۰/۰۶۵	اثر معنی داری

نتایج بر اساس میانگین ۶ تکرار ± انحراف از میانگین در دو آزمایش مستقل بیان شده است.

جدول ۲. روند رشد جمعیت میکروبی کل (لگاریتم کلنی در هر گرم) در تیمارهای مختلف طی ۱۰ روز نگهداری.

روز اول	روز سوم	روز پنجم	روز هفتم	روز دهم	شاهد
۳/۴۵±۰/۳۲ <sup>a</sup>	۳/۹۶±۰/۴۴ <sup>b</sup>	۵/۶۶±۰/۶۲ <sup>b</sup>	۶/۹۶±۰/۴۳ <sup>b</sup>	۸/۸۷±۰/۲۹ <sup>a</sup>	تیمار حاوی اسانس (۰/۱)
۳/۳۲±۰/۲۵ <sup>a</sup>	۳/۲۵±۰/۲۴ <sup>a</sup>	۴/۷۸±۰/۱۲۷ <sup>a</sup>	۵/۹۷±۰/۳۹ <sup>a</sup>	۸/۶۸±۰/۳۳ <sup>a</sup>	تیمار حاوی پودر خشک (۰/۲۳)
۳/۲۲±۰/۶۳ <sup>a</sup>	۳/۵۱±۰/۰۹ <sup>ab</sup>	۴/۴۱±۰/۲۷ <sup>a</sup>	۵/۴±۰/۰۳۲ <sup>a</sup>	۷/۵۲±۰/۳۳ <sup>b</sup>	

نتایج بر اساس میانگین ۳ تکرار ± انحراف از میانگین بیان شده است.

حروف لاتین غیر یکسان در هر ستون نشانه اختلاف آماری معنی دار با سطح اطمینان ۹۵ درصد می باشد.

## بحث و نتیجه گیری

دو گونه گیاه ریحان مورد استفاده در این تحقیق، ریحان سبز و بنفش هر دو از سبزیجات معطر و شناخته شده در میان مصرف کنندگان ایرانی هستند. خصوصاً مصرف آنها به همراه گوشت امری پذیرفته شده در رژیم غذایی رایج در کشور است. در تحقیق حاضر، ضمن مقایسه قدرت ضد میکروبی اسانس این دو گیاه، استفاده از دو شکل پودر خشک و اسانس ریحان سبز در نگهداری گوشت خام چرخ شده گاو مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج بخش اول این مطالعه گویای برتری اسانس ریحان سبز در بازدارندگی از رشد باکتری شاخص آلودگی در گوشت نسبت به ریحان بنفش بود. در تأیید با نتیجه بدست آمده در مطالعه حاضر و در رابطه با اثر بخشی و قابلیت ضد باکتریایی عصاره روغنی ریحان سبز، آدئولا و همکاران قدرت ضد میکروبی این عصاره را بر محیط اختصاصی باکتری *Sodomonas آئروژینوزا* با ایجاد هاله عدم رشد با قطر حدود ۲۰ میلی متر گزارش کردند (۱۷). مقدم و همکاران نیز اثر بخشی قابل توجه عصاره روغنی ریحان سبز بر باکتری فوق را گزارش نمودند (۱۸).

در برخی از مطالعات اخیر، عصاره های بدست آمده از گونه های مختلف ریحان از حیث قابلیت ضد اکسایشی بررسی و مورد مقایسه قرار گرفته اند (۱۹، ۲۰). در مطالعه ونگ کاروئن و مورا سوک، با به کارگیری سه روش بررسی قابلیت آنتی

اکسیدانی، مقایسه دو گونه ریحان قرمز و ریحان سفید (*Ocimum Sanctum*) نشان داد که ریحان قرمز علاوه بر غلظت ترکیبات فنلیک بیشتر، واجد خواص آنتی اکسیدانی بیشتری نیز نسبت به ریحان سفید می باشد (۲۱). در برخی مطالعات قبلی، خواص زیست فعال ریحان علاوه بر ترکیبات فنلیک به مقادیر بالای روی در برخی از گونه های ریحان نسبت داده شده است (۲۲، ۲۳). در صورتیکه قابلیت ضد میکروبی گونه های ریحان را ناشی از ترکیبات فنلیک آنتی اکسیدان و عنصر روی بدانیم، نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعات فوق در این زمینه متفاوت است. در این رابطه، تأکید شده است که تفاوت در منطقه جغرافیایی و شرایط کشت گونه های مختلف ریحان می توانند عامل بوجود آورنده تفاوت های موجود از نظر ترکیبات ثانویه گیاهی و زیست فعال باشند (۲۴).

در مقابل، رامش و ساتاکوپان در تحقیقی مشابه با تحقیق فوق نتایج متفاوتی را نسبت به مطالعه ونگ کاروئن و مورا سوک گزارش نمودند. در مطالعه آنها عصاره اتانولی ریحان سبز نسبت به ریحان بنفش خواص آنتی اکسیدانی بالاتری را در شرایط آزمایشگاهی نشان داد (۲۵).

در مطالعه دیگری، خواص آنتی اکسیدانی و قابلیت ضد میکروبی اسانس ریحان سبز به ترکیبات ترپنوئیدی موجود نسبت داده شده است. بطوریکه، بخش عمده ایی از قدرت ضد میکروبی اسانس استخراجی از این گونه ناشی از وجود ترکیب لینالول، متابولیت ثانویه غالب در این گونه با قدرت ضد

گیاهی بر جمعیت کلی فلور طبیعی فرآورده غذایی پیگیری می شود.

در مطالعات مشابه در منابع علمی، مطالعه‌ای با موضوع اثر افزودن پودر خشک گیاه ریحان بر ثبات میکروبی آن منتشر نشده است، اما از آنجایی که عادت به مصرف سبزیجات خشک در تهیه غذاهای گوشتی در ایران رایج است در این تحقیق، معادل با درصد اسانس روغنی مورد استفاده، از پودر خشک سبزی نیز استفاده شد. نتایج بدست آمده از کنترل میکروبی از این تیمار حتی نشان دهنده تأثیر بیشتر آن در اواخر دوره نگهداری گوشت در یخچال بود. افزایش ماده خشک، وجود پکتین و سایر ترکیبات پلی ساکاریدی احتمالاً در این نتیجه مثبت مؤثر بوده است. از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به عدم بررسی غلظت‌های مختلف اسانس و پودر خشک اشاره نمود. علاوه بر این، عدم بررسی ارگانولپتیک تیمارهای آزمایش از دیگر نقاط ضعف این مطالعه بوده که در مطالعات آتی به آنها پرداخته خواهد شد.

در این پژوهش مقایسه قدرت ضد میکروبی اسانس ریحان سبز و ریحان بنفش در مقابل شاخص میکروبی گوشت، سودمونس *آئروژینوزا* نشان داد که اسانس ریحان سبز از این نظر نسبت به ریحان بنفش مؤثرتر است. در مرحله دوم تحقیق، هر دو تیمار حاوی اسانس و پودر ریحان سبز نسبت به شاهد پایداری میکروبی بیشتری را در گوشت طی دوره یخچال گذاری نشان دادند و در انتهای دوره یخچال گذاری، پودر گیاه تأثیر بیشتری در جلوگیری از افزایش جمعیت میکروبی گوشت داشت. می‌توان انتظار داشت که افزودن پودر گیاه ریحان به انواع فرآورده‌های غذایی گوشتی، علاوه بر فراهم آوردن فرصت تهیه فرمولاسیون‌های متفاوت، می‌تواند در افزایش ثبات میکروبیولوژیک آنها طی دوره انبارداری سرد مؤثر واقع گردد.

باکتریایی وسیع مرتبط دانسته شده است. در مطالعه فوق همچنین، فصل کاشت و رویش یکی از مهمترین عوامل مؤثر در میزان اسانس‌های روغنی و قدرت و فعالیت آن‌ها معرفی شده اند (۲۶).

بررسی منابع در تحقیق حاضر نشان داد که علی‌رغم تعدد مطالعات مربوط به بررسی قابلیت ضد میکروبی اسانس، عصاره آبی ویا عصاره الکلی بدست آمده از گونه‌های مختلف ریحان، مطالعات معدودی اثر این ترکیبات مؤثره را در محیط غذا مورد بررسی قرار داده‌اند.

در یکی از این مطالعات در سال ۲۰۱۰ در تایلند، اسانس روغنی ریحان سبز نسبت به ۸ گونه گیاهی در جلوگیری از رشد سویه‌های استاندارد و کلینیکی *سالمونلا انتریتیدیس* برتری قابل توجهی نشان داد. محققان در این تحقیق با مشخص کردن ترکیبات اصلی در اسانس روغنی بدست آمده با روش کروماتوگرافی لینالول را به عنوان عامل اصلی و بازدارنده میکروبی در عصاره ریحان سبز معرفی کردند. کاربرد ۵۰ میلی گرم در لیتر از عصاره مذکور در سوسیس تخمیری خوک در ادامه تحقیق آنها منجر به کاهش ۲ تا ۵ سیکل لگاریتمی از میکروارگانیسم *سالمونلا انتریتیدیس* در فرآورده مذکور طی دوره یخچال گذاری گردید (۱۲).

مطالعاتی که اثر ترکیبات ثانویه گیاهی را در ثبات میکروبیولوژیکی فرآورده‌های غذایی بررسی می‌کنند را می‌توان از نظر نحوه اثر ترکیب زیست فعال برگروه باکتری-های هدف به دو دسته تقسیم نمود. در برخی از مطالعات مانند مطالعه فوق در تایلند باکتری شاخص با غلظت مشخصی به فرآورده غذایی تلقیح شده و اثر افزودنی گیاهی بر جمعیت بسیار بالایی از باکتری مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. اما در برخی دیگر از مطالعات، مانند مطالعه حاضر اثر ماده مؤثره

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله از اساتید و کارشناسان محترم مرکز پژوهش‌های گیاهان دارویی و دام پزشکی سنتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد و اساتید محترم مرکز تحقیقات و امنیت غذایی دانشکده تغذیه و علوم غذایی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تقدیر و تشکر می‌گردد.

## References

1. Lee KG, Shibamoto T. Determination of antioxidant potential of volative extracts isolated from various herbs and spices. *J Agric Food Chem.* 2002; 50: 4947-4952.
2. Farnsworth NR. In *Biodiversity* Wislson. National Academy Press Washington, DC. 1988; 83-97.
3. Deans SG and Ritchie GA. *Int J Food Microbiol.* 1987; 5: 165-180.
4. Dorman HJD, Deans SG. *J Appl Microbiol.* 2000; 88: 308-316.
5. Celiktas OY, Kocabas EEH, Bedir E, Sukan FV, Ozek T, Baser KHC. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chem.* 2007; 100(2): 553-559.
6. Vernozy-Rozand C, Ray-Gueniot S, Ragot C, Bavai C, Mazuy C, Montet MP. Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 industrial minced beef. *Lett in Appl Microbil.* 2002; 35: 7-11 .
7. Javanmardi J, Stushnoff C, Locke E, Vivanco JM. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food Chem.* 2003; 83: 547-550.
8. Unnithan CR, Dagnaw W, Undrala S, Subban Ravi. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Ocimum basilicum* of Northern Ethiopia. *Int Res J Biological Sci.* 2013; 2(9): 1-4.
9. Sajjadi SE. Analysis of the essential oils of two cultivated basil (*Ocimum basilicum* L.) from Iran *Daru.* 2006; 14(3): 128-130.
10. Patil DD, Mhaske DK, Wadhawa GC. Antibacterial and Antioxidant study of *Ocimum basilicum* Labiatae (sweet basil). *J Adv Pharma Edu & Res.* 2011; 2: 104-112.
11. Bokhari FM. Antifungal activity of some medicinal plants used in Jeddah, Saudi Arabia. *Mycopathologia.* 2009; 7(1): 51-57.
12. Rattanachaiakunsopon P, Phumkhachorn P. Antimicrobial activity of basil (*Ocimum basilicum*) oil against *Salmonella enteritidis* in vitro and in food. *Biosci, Biotech and Biochem.* 2010; 74(6): 1200-1204.
13. Mbata T, Saikia A. Antibacterial activity of Essential Oil from *Ocimum gratissimum* on *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Safety.* 2005; 5(7): 15-19.
14. *British pharmacopoeia* London: HMSO. 1988; 2: 137-138.
15. Iennette EH. *Manual of clinical microbiology.* American Assoc Microbiol, Washington, DC. 1985; 978-987.
16. Careaga M, Fernandez E, Dorantes L, Mota L, Jaramillo ME and Hernandez Sanchez H. Antibacterial activity of *Capsicum* extract against *Salmonella typhimurium* and *Pseudomonas aeruginosa* inoculated in raw beef meat. *Int J Food Microbiol.* 2003; 83: 331-335.
17. Adeola S, Folorunso O, Amisu K. Antimicrobial Activity of *Ocimum basilicum* and its Inhibition on the Characterized and Partially Purified Extracellular Protease of *Salmonella typhimurium*. *Res J of Biology.* 2012; 2(5): 138-144.
18. Moghaddam AMD, Shayegh J, Mikaili P, Sharaf JD. Antimicrobial activity of essential oil extract of *Ocimum basilicum* L.



- leaves on a variety of pathogenic bacteria. *J Med Plant Res.* 2011; 5(15): 3453-3456.
19. Gülçin I, Elmasta M, Aboul - Enein HY. Determination of antioxidant and radical scavenging activity of Basil (*Ocimum basilicum* L. Family Lamiaceae) assayed by different methodologies. *Phytother Res.* 2007; 21(4): 354-361.
20. Juliani H, Simon J. Antioxidant activity of basil. *Trends in new crops and new uses.* Alexandria, VA: ASHS press. 2002: 575-579.
21. Wangcharoen W, Morasuk W. Antioxidant capacity and phenolic content of holy basil. *Songklanakarin J Sci Technol.* 2007; 29(5): 1407-1415.
22. Kelm M, Nair M, Strasburg G, DeWitt D. Antioxidant and cyclooxygenase inhibitory phenolic compounds from *Ocimum sanctum* Linn. *Phytomed.* 2000; 7(1): 7-13.
23. Samudralwar DL, Garg AN. Minor and trace elemental determination in the Indian herbal and other medicinal preparations. *Biol Trace Elem Res.* 1996; 54(2): 113-121.
24. Kicel A, Kurowska A, Kalemba D. Composition of the essential oil of *Ocimum sanctum* L. grown in Poland during vegetation. *J EO Res.* 2005; 17(2): 217-219.
25. Ramesh B, Satakopan V. In vitro antioxidant activities of *Ocimum* species: *Ocimum basilicum* and *Ocimum sanctum*. *Cell Tissue Res.* 2010; 10: 2145-2150.
26. Hussain AI, Anwar F, Hussain Sherazi ST, Przybylski R. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chem.* 2008; 108(3): 986-995.