بسم الله الرحمن الرحیم

تأییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

اعضای هیئت داوران نسخه نهائی پایان نامه آقای اسماعیل عبداله زاده
تحت عنوان: اثر باز دارندگی نایسین و اسانس آویشن بر باکتری در*Listeria monocytogenes*
درگوشت چرخ شده ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*)

را از نظر فرم و محتوی بررسی نموده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه کارشناسی‌ارشد پیشنهاد می-کنند.

اعضای هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضا
۱- استاد راهنمای اول	دکترمسعود رضایی	دانشیار	
۲- استاد راهنمای دوم	دکترهدایت حسینی	دانشیار	
۳-نماینده‌شورای‌تحصیلات‌تکمیلی	دکترامیررضا شویک لو	استادیار	
۴- استاد ناظر	دکترعلی جعفرپور	استادیار	
۵- استاد ناظر	دکترامیررضا شویک لو	استادیار	

دستور العمل حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی
دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست های پژوهشی دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسان‌ها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیات علمی، دانشجویان، دانش آموختگان و دیگر همکاران طرح در مورد نتایج پژوهش‌های علمی که تحت عناوین پایان نامه، رساله و طرح‌های تحقیقاتی که با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد ذیل را رعایت نمایند:

ماده ۱- حقوق مادی و معنوی پایان نامه ها/ رساله‌های مصوب دانشگاه متعلق به دانشگاه است و هر گونه بهره‌برداری از آن باید با ذکر نام دانشگاه و رعایت آیین‌نامه‌ها و دستورالعمل های مصوب دانشگاه باشد.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و استاد راهنما مسئول مکاتبات مقاله باشند.

ماده ۳- انتشار کتاب حاصل از پایان نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با مجوز کتبی صادره از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه و بر اساس آیین نامه‌های مصوب انجام می شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه در جشنواره‌های ملی، منطقه ای و بین المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با همهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این دستورالعمل در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۱۳۸۴/۴/۲۵ در شورای پژوهشی دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب لازم الاجرا است و هر گونه تخلف از مفاد این دستورالعمل، از طریق مراجع قانونی قابل پیگیری خواهد بود.

نام و نام خانوادگی:
اسماعیل عبداله‌زاده
تاریخ و امضا

آیین نامه چاپ پایان نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیت‌های علمی- پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله) خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به " دفتر نشر آثار علمی " دانشگاه اطلاع دهید.

ماده۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه) عبارت ذیل را چاپ کنید:

« کتاب حاضر، حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اسماعیل عبدالهزاده در رشته مهندسی منابع طبیعی، فراوری محصولات شیلاتی است که در سال ۱۳۹۰ در دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی جناب آقای دکتر مسعود رضایی و جناب آقای دکتر هدایت حسینی از آن دفاع شده است. »

ماده۳: به منظور جبران بخشی از هزینه‌های دانشگاه، یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به " دفتر نشر آثار علمی " دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰ ٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتاب های عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده۶: اینجانب اسماعیل عبدالهزاده دانشجوی رشته مهندسی منابع طبیعی فراوری محصولات شیلاتی مقطع کارشناسی ارشد تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملزم می‌شوم.

تاریخ و امضا

اسماعیل عبدالهزاده

دانشکده علوم دریایی
گروه فرآوری محصولات شیلاتی
پایان نامه کارشناسی ارشد فرآوری محصولات شیلاتی

اثر بازدارندگی نایسین و اسانس آویشن بر باکتری *Listeria monocytogenes* در سوریمی و گوشت چرخ شده ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*)

اسماعیل عبداله زاده

اساتید راهنما

دکتر مسعود رضائی* و دکتر هدایت حسینی**

* دانشیار گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس
** دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

دی ۱۳۹۰

تقدیم به

پدر و مادر

مهربانم

و

تمامی محققان

تشکر و قدردانی

بر خود لازم می دانم که از تمامی بزرگوارانی که در طی این مدت بنده را مورد عنایت خود قرار دادند، تشکر نمایم:

از

- جناب آقای دکتر مسعود رضایی استاد بزرگوارم که همیشه با روی گشاده زحمات راهنمایی و هموار نمودن مسیر حرکت علمی اینجانب را متقبل شده اند.
- جناب آقای دکتر هدایت حسینی دوست و استاد عزیزم که همیشه از اخلاق و راهنمایی های ارزشمندشان بهره های فراوان برده ام.
- جناب آقای مهندس سید محمود قاسمپوری استاد و دوست مهربانم، که در همه حال کلام زیبای ایشان امید بخش و مشوق اینجانب بوده است.
- جناب آقای رضا صفری و سرکار خانم زهرا یعقوب زاده که سهم به سزایی در به انجام رسیدن تحقیق حاضر داشتند.
- سرکار خانم سانی اسکای دوست و معلم زبانم که سهم به سزای در ارتقای کیفی دست نوشته های علمی ام داشته اند.
- و از دوستان عزیزم جناب آقای دکتر مهدی اجاق، مهندس مهدی عبداللهی، مهندس محمد خضری، مهندس شریف جورابیان شوشتری، مهندس حمید سالاری، مهندس مجتبی شیرود نجفی، مهندس امیر موتاب ساعی، جناب آقای نبی اله خیرآبادی، مهندس رضا عبده، مهندس سید حمزه حسینی کهنوج، مهندس رامین قربانی و جناب آقای دکتر آریا بلاخانی به سبب راهنمایی ها و همکاری های بی دریغشان.

سپاسگزارم.

چکیده

مسمومیت های غذایی ناشی از باکتری *Listeria monocytogenes* منجر به مرگ و میر ۳۰ ٪ از افراد مبتلا می شود. با توجه به احتمال بالای آلودگی ماهیان پرورشی به باکتری *L. monocytogenes*، هدف تحقیق حاضر، بررسی استفاده از اسانس آویشن و باکتریوسین نایسین به تنهایی و توأم با یکدیگر جهت مهار رشد باکتری لیستریا مونوسایتوژنز در گوشت چرخ شده ماهی فیتوفاگ بود. نتایج حاصل از بررسی اثر بازدارندگی اسانس آویشن بر باکتری *L. monocytogenes* با روش دیسک و چاهک نشان داد که اسانس آویشن در محیط آزمایشگاهی دارای فعالیت مهار کنندگی بالایی علیه باکتری *L. monocytogenes* است. در ادامه، فعالیت مهار کنندگی اسانس آویش در سه سطح ۰/۴، ۰/۸ و ۱/۲ % v/w و نایسین در دو سطح ۵۰۰ و ۱۰۰۰ IU/g و تیمارهای ترکیبی آنها (۰/۴ + ۵۰۰، ۰/۴ + ۱۰۰۰، ۰/۸ + ۵۰۰، ۰/۸ + ۱۰۰۰، ۱/۲ + ۵۰۰ و ۱/۲ (IU/g + % v/w) + ۱۰۰۰) در گوشت تلقیح شده با باکتری *L. monocytogenes* (به میزان 10^4 CFU/g) در طول ۲ هفته نگهداری در دمای یخچال (۴ ± ۱ °C) بررسی قرار گرفت. دو سطح نایسین مورد استفاده به تنهایی قادر به کاهش جمعیت باکتریایی *L. monocytogenes* به زیر حد مجاز (۱۰۰ سلول در هر گرم ماده غذایی) نبود. همچنین با گذر زمان از خاصیت ضد لیستریایی نایسین کاسته شد. از روز ششم نگهداری تا انتهای دوره نگهداری اسانس آویشن در دو سطح ۰/۸ و ۱/۲ % v/w موجب کاهش جمعیت باکتری *L. monocytogenes* به زیر حد مجاز شد. در حالیکه استفاده توام اسانس آویشن در دو سطح ۰/۸ و ۱/۲ % v/w و نایسین در دو سطح ۵۰۰ و ۱۰۰۰ IU/g موجب کاهش جمعیت باکتری *L. monocytogenes* به زیر حد مجاز از روز دوم نگهداری به بعد شد. همچنین عملکرد ضد لیستریایی نایسین در سوریمی و گوشت حرارت دیده ماهی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد فعالیت ضد باکتریایی نایسین در سوریمی و گوشت حرارت دیده اندکی بهتر از گروه شاهد است. بنابراین به عنوان

یک نتیجه گیری می توان اینگونه اظهار داشت که فعالیت ضد لیستریایی نایسین تحت تاثیر ترکیبات غذایی و شرایط فرآوری ماهی است.

کلمات کلیدی: *Listeria monocytogenes*، ماهی فیتوفاگ، اسانس آویشن، نایسین

فهرست مطالب

بخش	عنوان	صفحه
فصل اول	مقدمه	۱
۱-۱	مقدمه	۲
۱-۱-۱	کاربرد اسانس های گیاهی در مواد غذایی	۲
۱-۱-۲	کارآیی باکتریوسین ها در ایمنی غذایی	۶
۱-۱-۳	باکتری لیستریا مونوسایتوژنز	۱۰
۱-۲	اهداف و فرضیه های پژوهش	۱۳
فصل دوم	مروری بر مطالعات انجام شده	۱۵
۲-۱	مطالعات انجام شده در خارج از کشور	۱۶
۲-۲	مطالعات انجام شده در داخل کشور	۲۱
فصل سوم	مواد و روش ها	۲۳
۳-۱	مواد مورد استفاده در تحقیق	۲۴
۳-۱-۱	مواد مصرفی	۲۴
۳-۱-۲	تجهیزات و وسایل	۲۴
۳-۲	روش انجام پژوهش	۲۵
۳-۲-۱	آماده سازی باکتری، اسانس و تیمار بندی	۲۵
۳-۲-۱-۱	آماده سازی سویه باکتری	۲۵
۳-۲-۱-۲	آماده سازی محلول نایسین	۲۶
۳-۲-۱-۳	آماده سازی عصاره ها و اسانس های گیاهی	۲۶
۳-۲-۱-۴	تهیه تیمارهای گوشت چرخ شده ماهی	۲۶
۳-۲-۱-۵	تهیه سوریمی و تیماربندی	۲۷

۳-۲-۱-۶	تهیه تیمار حرارتی	۲۷
۳-۲-۲	آزمایش های شیمیایی	۲۸
۳-۲-۲-۱	آنالیز تقریبی	۲۸
۳-۲-۲-۱-۱	اندازه گیری رطوبت	۲۸
۳-۲-۲-۱-۲	اندازه گیری خاکستر	۲۸
۳-۲-۲-۱-۳	اندازه گیری pH و چربی گوشت	۲۹
۳-۲-۲-۱-۴	سنجش درصد پروتئین	۲۹
۳-۲-۳	آزمایش های میکروبی	۲۹
۳-۲-۳-۱	آزمایش دیسک و چاهک	۲۹
۳-۲-۳-۲	شمارش جمعیت باکتری لیستریا مونوسایتوژنز	۳۱
۳-۲-۴	ارزیابی حسی	۳۱
۳-۲-۵	تجزیه و تحلیل آماری	۳۲
فصل چهارم	نتایج	۳۳
۴-۱	نتایج آنالیز تقریبی و pH	۳۴
۴-۲	نتایج آزمایش دیسک و چاهک	۳۴
۴-۳	نتایج شمارش جمعیت لیستریا مونوسایتوژنز در گوشت چرخ شده	۳۵
۴-۴	نتایج شمارش جمعیت لیستریا مونوسایتوژنز در سوریمی	۳۸
۴-۵	نتایج شمارش جمعیت لیستریا مونوسایتوژنز در تیمار حرارتی	۴۰
۴-۶	نتایج ارزیابی حسی	۴۱
فصل پنجم	بحث، نتیجه گیری کلی و پیشنهادها	۴۳
۵-۱	آنالیز تقریبی و pH	۴۴
۵-۲	فعالیت ضد لیستریایی اسانس آویشن و سایر ترکیبات گیاهی	۴۵
۵-۳	فعالیت بازدارندگی اسانس آویشن و نایسین در گوشت چرخ شده	۴۶

۴-۵	فعالیت بازدارندگی نایسین در سوریمی	۵۰
۵-۵	فعالیت بازدارندگی نایسن در تیمار حرارتی	۵۲
۶-۵	ارزیابی حسی	۵۲
۷-۵	نتیجه گیری کلی	۵۳
۸-۵	آزمون فرضیه های تحقیق	۵۴
۹-۵	پیشنهادهای پژوهشی	۵۴
۱۰-۵	پیشنهادهای اجرایی	۵۵
منابع		۵۶

فهرست اشکال و نمودارها

شکل	عنوان	صفحه
۱-۱	ساختار ترکیب تیمول (آ) و کارواکرول (ب) در اسانس گیاه آویشن	۳
۱-۲	مقایسه ساختار شیمیایی تیمول، کراواکرول و منتول	۵
۱-۳	ساختار شیمایی باکتریوسین نایسین	۷
۱-۴	باکتری لیستریا مونوسایتوژنز	۱۲
۴-۱	تغییرات جمعیت باکتری لیستریا مونوسایتوژنز تلقیح شده به گوشت چرخ شده و سوریمی ماهی فیتوفاگ تحت تیمار نایسین با غلظت های ۵۰۰ IU/g در دمای ۴ ± ۱ °C	۳۹
۴-۲	تغییرات جمعیت باکتری لیستریا مونوسایتوژنز تلقیح شده به گوشت چرخ شده و سوریمی ماهی فیتوفاگ تحت تیمار نایسین با غلظت های ۱۰۰۰ IU/g در دمای ۴+۱ °C	۳۹
۴-۳	تغییرات جمعیت باکتری لیستریا مونوسایتوژنز در تیمار نایسین (سطح IU/g ۵۰۰) اعمال شده بر روی تیمار حرارتی در مقایسه با گروه شاهد و تیمار حرارت ندیده در طی ۱۲ روز نگهداری در دمای ۴ °C	۴۰
۴-۴	شکل ۴-۴ ارزیابی حسی غلظت های صفر (شاهد)، ۰/۴ ، ۰/۸ و ۱/۲ (٪ v/w) اسانس آویشن در گوشت چرخ شده ماهی فیتوفاگ طی ۱۲ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد (**آ:** بو، **ب:** مزه، **ج:** پذیرش کلی).	۴۲

فهرست جداول

جدول	عنوان	صفحه
۱-۱	ترکیب درصد Nisaplin® (پودر تجاری نایسین)	۸
۱-۴	فعالیت مهارکنندگی اسانس آویشن در مقایسه با سایر ترکیبات گیاهی علیه ۵ باکتری در آزمایش چاهک	۳۴
۲-۴	فعالیت مهارکنندگی اسانس آویشن در مقایسه با سایر ترکیبات گیاهی علیه ۵ باکتری در آزمایش دیسک	۳۵
۳-۴	فعالیت ضد لیستریایی سطوح مختلف آویشن در گوشت چرخ شده ماهی فیتوفاگ طی ۱۲ روز نگهداری در دمای یخچال (۴ °C).	۳۶
۴-۴	تغییرات جمعیت باکتری لیستریا مونوسایتوژنز در گوشت چرخ شده ماهی فیتوفاگ تیمار شده با باکتریوسین نایسین در دو سطح ۵۰۰ و ۱۰۰۰ IU/g در دمای ۴ °C	۳۷
۵-۴	تغییرات باکتری لیستریا مونوسایتوژنز در گوشت چرخ شده فیتوفاگ تیمار شده با سطوح مختلف آویشن (۰/۴، ۰/۸ و ۱/۲ % v/w) و باکتریوسین نایسین (۵۰۰ و ۱۰۰۰ IU/g) طی ۱۲ روز نگهداری در دمای ۴ °C	۳۷

فصل اول

مقدمه

۱-۱ مقدمه

۱-۱-۱ کاربرد اسانس های گیاهی در مواد غذایی

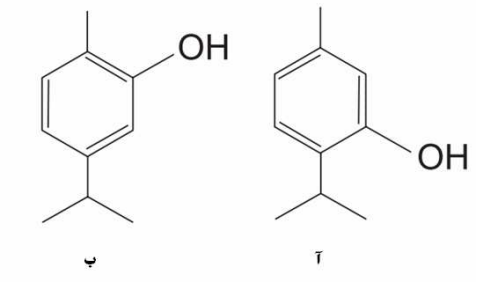
امروزه مردم با توجه به اثرات مضر نگهدارنده های غذایی شیمیایی تمایل بیشتری به استفاده از نگهدارنده های طبیعی نظیر اسانس های گیاهی پیدا کرده اند. معمولاً اسانس های گیاهی به منظور ارتقا ایمنی غذایی و افزایش دوره ماندگاری و همچنین بهبود خصوصیات حسی محصول غذایی بکار می روند (Bakkali و همکاران، ۲۰۰۸؛ Burt، ۲۰۰۴؛ Gutierrez و همکاران، ۲۰۰۸؛ Govaris و همکاران، ۲۰۱۰).

آمار نشان می دهد بیش از ۳۰ ٪ مردم در کشورهای صنعتی هر ساله از مسمومیت های غذایی رنج می برند (Burt، ۲۰۰۴). بنابراین هنوز نیاز به روش های جدید برای کاهش و یا حذف پاتوژن های غذایی احساس می شود (Rahman و همکاران، ۲۰۰۹). علاوه بر این گروهی موسوم به مصرف کنندگان سبز[1] خواهان استفاده از غذاهای طبیعی و بدون افزودنی های شیمیایی هستند. از سوی دیگر سازمان بهداشت جهانی[2] برای کاهش بیماری های قلبی عروقی توصیه می کند که از میزان نمک کمتری در صنعت غذا استفاده شود (Burt، ۲۰۰۴). بنابراین با کاهش میزان استفاده از نمک در فرآوری محصولات غذایی، معرفی جایگزین های جدید جهت حفظ ایمنی غذایی اهمیت خاصی پیدا می کنند.

اسانس های گیاهی ترکیبات آروماتیک روغنی اند که از مواد گیاهی (نظیر گل، غنچه، دانه، برگ، ساقه ریشه و میوه گیاه) به دست می آیند. حدود ۳۰۰۰ نوع اسانس شناسایی شده است که تقریباً ۳۰۰ نوع آنها دارای اهمیت تجاری بوده که برخی از آنها دارای خواص ضد باکتریایی، ضد انگلی و ضد قارچی هستند (Burt، ۲۰۰۴؛ Bakkali و همکاران، ۲۰۰۸). روش های مختلف اسانس گیری بر خواص ضد میکروبی اسانس اثر گذار است. در حال حاضر سیستم تقطیر با بخار به صورت خیلی رایج به منظور تولید تجاری اسانس های گیاهی استفاده می شود. از آنجایکه اسانس ها فرار هستند بایستی

[1] Green consumerism
[2] World Health Organization

در ظرف های نفوذ ناپذیر نگهداری شوند همچنین به منظور پیشگیری از تغییر در ترکیبات اسانس، می بایست آنها را در مکانی تاریک نگهداری نمود. ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس حدود ۸۵ ٪ اسانس را شامل می شوند و سایر ترکیبات موجود در اسانس در مقادیر بسیار کمی حضور دارند. ترکیبات تشکیل دهنده یک اسانس می تواند بسته به فصل برداشت و مکان برداشت تغییر کند (Burt، ۲۰۰۴). به طور عمده ترکیبات فنلی مسئول خواص ضد باکتریایی اسانس ها هستند. ترکیب اصلی موجود در اسانس گیاه آویشن کارواکرول، تیمول، گاماترپنین و آلفاپنین است (مشاک و همکاران، ۱۳۸۷؛ شکل ۱-۱). حداقل غلظت ممانعت کننده (MIC[1]) توسط اکثر محققان به عنوان معیاری برای تعیین فعالیت ضد میکروبی اسانس ها بیان شده است. همچنین از آزمایشات دیسک[۲] و چاهک[۳] به وفور جهت بررسی پتانسیل ضد میکروبی اسانسها استفاده می شود.



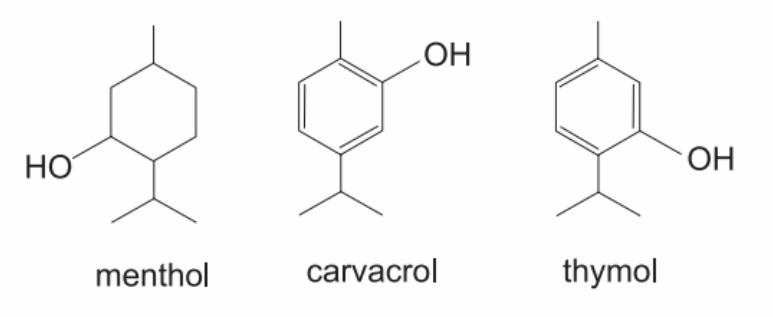
شکل۱-۱ ساختار ترکیب تیمول (آ) و کارواکرول (ب) در اسانس گیاه آویشن

به طور کلی حساسیت باکتری ها به اسانس های گیاهی با کاهش pH، اکسیژن و کاهش درجه حرارت افزایش می یابد. در pH پایین خاصیت هیدروفوبیستی اسانس ها افزایش یافته و اسانس را قادر می سازد به راحتی در لیپیدهای غشای سلولی باکتری هدف حل گردد. همچنین میزان چربی و یا پروتئین بالا در مواد غذایی، باکتری ها را از تاثیر بازدارندگی اسانس مصون نگه می دارد. چرا که وقتی اسانس در فاز چربی ماده غذایی حل می گردد، اسانس کمتری جهت ممانعت از رشد باکتری موجود

[1] Minimum Inhibitory Concentration
[2] Agar Disk Diffusion Assay
[3] Agar Well Diffusion Assay

در فاز آبی در دسترس خواهد بود. بنابراین پارامترهای درونی (چربی، پروتئین، میزان رطوبت، آنتی اکسیدان ها، نگهدارنده ها، pH، نمک و دیگر افزودنی ها) و بیرونی (دما، نوع بسته بندی، ویژگی های میکروارگانیسم ها) غذا نیز می توانند بر میزان حساسیت باکتری ها نسبت به اسانس تاثیر گذار باشند. اگرچه سطوح بالای چربی و پروتئین در غذا موجب حفاظت از باکتری در برابر اثر ضد میکروبی اسانس می شود، اما این مطلب در مورد کربوهیدارت های موجود در غذا زیاد صادق نیست. غلظت لازم اسانس در غذا برای تاثیر معنی دار روی باکتری ها بین ۰/۵ تا ۲۰ میکرولیتر بر گرم است (Burt، ۲۰۰۴).

از آنجاییکه یک اسانس از ترکیبات و اجزای شیمیایی متفاوتی تشکیل شده است، با یک مکانیسم خاص نمی توان طریقه عملکرد ضد باکتریایی اسانس آویشن را توضیح داد. اما مهمترین خاصیتی که در اسانس و اجزای آن وجود دارد خاصیت هیدروفوبی آنهاست که به این ترکیبات اجازه می دهد در لیپید های غشای سلولی باکتری ها و میتوکندری اختلال بوجود آورده و باعث افزایش تراوایی آنها شود و در پی آن یونها و دیگر محتویات سلولی به بیرون تراوش کند که اگر این تراوش از حدی فراتر رود به مرگ سلول خواهد انجامید(Burt، ۲۰۰۴). ساختار شیمیایی اجزای اسانس بر نحوه عملکرد اسانس اثرگذار است، در این زمینه مطالعاتی انجام شده است که اهمیت گروه هیدرواکسیل (OH) را در اجزای فنولی اسانس (نظیر تیمول و کارواکرول) نشان می دهد (شکل ۱-۲). موقعیت نسبی گروه هیدرواکسیل بر روی حلقه فنولی بر روی میزان خاصیت ضد باکتریایی اثر چندان زیادی ندارد، بطوریکه خاصیت ضد باکتریایی تیمول (با داشتن گروه هیدرواکسیل در موقعیت متا) علیه باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس ارئوس، سودوموناس آئروجینوزا در مقایسه با کارواکرول تفاوت چندانی نداشته است(Ultee و همکاران، ۲۰۰۲). همچنین اهمیت خود حلقه فنولی مورد بررسی قرار گرفت، تحقیقات نشان داده اند که منتول در مقایسه با کارواکرول فعالیت ضد باکتریایی ندارد (Ultee و همکاران، ۲۰۰۲).



شکل ۱-۲ مقایسه ساختار شیمیایی تیمول، کراواکرول و منتول

تیمول از نظر ساختاری بسیار شبیه کارواکرول است بطوریکه تنها تفاوت آن با کارواکرول موقعیت گروه هیدروکسیل بر روی حلقه فنولی است. تحقیقات نشان می دهد که هر دو جزء ذکر شده غشای سلولی را نشت پذیر می سازند(Burt، ۲۰۰۴). از سوی دیگر کارواکرول و تیمول قادراند غشای خارجی باکتری های گرم منفی را متلاشی نموده و موجب رهاسازی لیپوپلی ساکارید های(LPS) سلول باکتریایی شوند. همچنین این ترکیبات قادر اند تراوای غشای سیتوپلاسمی را نسبت به ATP افزایش دهند.

مطالعات در محیط آزمایشگاهی نشان می دهد که کارواکرول به غشای سیتوپلاسمی *Bacillus cereus*آسیب زده و همچنین به عنوان یک مبادله گر پروتونی عمل می کند که به موجب آن گرادیان pH دو سمت غشای سیتوپلاسمی را کاهش می دهد. در نتیجه نیروی محرک پروتونی (proton motive force) مختل و ذخیره ATP کاسته شده که نهایتاً به مرگ سلول می انجامد(Ultee و همکاران، ۲۰۰۲). مطالعات نشان می دهد در اثر این ترکیب فنولی ATP درون سلولی بدون هیچ افزایشی در میزان ATP برون سلولی کاهش می یابد. برای توجیه این پدیده دو فرضیه را می توان مد نظر قرار داد: ۱- سنتز ATP سلولی کاهش یافته است ۲- هیدرولیز ATP افزایش یافته است. شیب pH بین غشای سلولی در اثر حضور کارواکرول کم شده و در حضور مقادیر mM ۱ یا بیشتر به طور کامل از بین می رود. بعلاوه سطوح یون های پتاسیم درون سلولی افت می کند درحالی که میزان این یون ها در بیرون از سلول به همین نسبت افزایش می یابد. در توجیه این مورد گفته می شود کارواکرول کانال هایی را از طریق کنار زدن زنجیرهای اسید چرب فسفولیپیدهای غشا حفر می کند

که به یون ها اجازه خروج از سیتوپلاسم سلولی را می دهد. به طور خلاصه می توان گفت کارواکرول غشای سیتوپلاسمی را نسبت به یون K و H نفوذپذیر ساخته و مطابق آن از طریق از هم پاشیدن نیروی محرک پروتونی، سنتز ATP را مختل می سازد(Ultee و Smid، ۲۰۰۱). اسانس پونه که دارای مقادیر زیادی کارواکرول درون خود است - مشابه اسانس آویشن- موجب خروج یون های فسفات از باکتری های استافیلوکوکوس ارئوس و سدوموناس آئروجینوزا شده است(Burt، ۲۰۰۴). در کنار همه این موارد بعضاً مشاهده شده که کارواکرول دارای اثرات سم زدایی نیز می باشد. بطوریکه در مطالعه Ultee و Smid (۲۰۰۱) مشخص گردید این ترکیب قادر است تولید سم اسهالی توسط باسیلوس سرئوس را در محیط براث و سوپ مهار کند. تیمول نیز می تواند با پروتئین های غشایی پیوند هیدروژنی برقرار نموده و به واسطه آن خصوصیات تراوایی غشا باکتری را تحت تاثیر خود قرار دهد(Burt، ۲۰۰۴).

۱-۱-۲ کارآیی باکتریوسین ها در ایمنی غذایی

باکتریهای اسید لاکتیک (LAB[1]) سالهاست که در تخمیر غذا مورد استفاده قرار می گیرند. تخمیر توسطLAB ها علاوه بر ایجاد تغییر در بافت، مزه و بوی غذا موجب آزاد شدن برخی ترکیبات ضد میکروبی به غذا می شود که از فساد غذا جلوگیری به عمل می آورند. خواص نگهدارندگی باکتریهای اسید لاکتیک به واسطه تولید متابولیت های با خاصیت آنتاگونیستی نظیر اسید های آلی، پراکسید هیدروژن، دی استیل، دی اکسید کربن و باکتریوسین ها است. علاوه بر این موضوع باکتری های لاکتیک اسید قادراند با میکروارگانیسم های عامل فساد رقابت کنند (Yinو همکاران، ۲۰۰۷).

باکتریوسین ها ترکیبات بیواکتیو پپتیدی هستند که توسط باکتری های مختلف تولید می شوند. باکتریوسین ها اغلب به عنوان ابزارهای بیولوژیکی با ارزشی جهت ارتقاء ایمنی غذایی و کاهش شیوع بیماری های ناشی از غذاهای فاسد مطرح هستند.

[1] lactic acid bacteria