

بررسی اثر ضد میکروبی عصاره آویشن باغی بر *Salmonella enteritidis* PT4 موجود در سس مایونز

فاطمه ضابطیان حسینی^{۱*} - سید علی مرتضوی^۲ - بی بی صدیقه فضل‌ی بزاز^۳ - آرش کوچکی^۴ - شادی بلوریان^۵

تاریخ دریافت: ۸۸/۶/۲۵

تاریخ پذیرش: ۸۹/۵/۲۳

چکیده

آویشن باغی گیاهی از تیره نعناعیان است که دارای ترکیباتی با اثر ضد میکروبی از جمله کارواکرول و تیمول می‌باشد. این ترکیبات در عصاره و اسانس حاصل از این گیاه وجود دارند. بنابراین می‌توان از این گیاه بعنوان یک ماده ضد میکروبی در فرآورده‌های غذایی بعنوان جایگزین نگهدارنده‌های شیمیایی استفاده کرد. در این بررسی اثر ضد میکروبی غلظت‌های مختلف (۰، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ درصد) عصاره آویشن باغی بر سالمونلا اینتریتیدیس PT4 موجود در سس مایونز در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد در طی زمان نگهداری مورد ارزیابی قرار گرفت. آزمایشات بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد و مدل‌های بدست آمده با استفاده از روش RSM نمایش داده شد. نتایج نشان داد که اثر ضد میکروبی عصاره آویشن در سس مایونز در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد نسبت به دمای ۴ درجه سانتیگراد بیشتر بود. این اثر با افزایش درصد عصاره در نمونه‌ها افزایش یافت. آزمون ارزیابی حسی نشان داد که در محدوده غلظت مورد نظر عصاره آویشن اثر نامطلوبی بر پارامترهای حسی سس مایونز نداشت.

واژه‌های کلیدی: سس مایونز، عصاره تیموس ولگاریس، سالمونلا اینتریتیدیس، مدل‌سازی

مقدمه ۶ ۵ ۴ ۳ ۲ ۱

شود که از این ترکیبات در میزان حداقل استفاده شود (۱۸).
آویشن (*Thymus vulgaris*) یکی از شناخته شده‌ترین گیاهان دارویی است و از تیره نعنا (Lamiaceae) می‌باشد. آویشن، درختچه‌ای کوتاه و پر شاخه است که برگ‌های نازک و متقابل دارد. دارای گل‌هایی سفید و چتری و منفرد است. گونه‌های مختلفی از آن در کوهستان‌های ایران می‌روید. آویشن در طب سنتی ایران و اروپا، مصرف دارویی دارد. این گیاه علفی و معطر، دارای خواص دارویی بسیاری است و از آن در صنایع غذایی، دارویی، بهداشتی و آرایشی استفاده‌های متنوعی می‌شود. قسمت‌های دارویی این گیاه، سرشاخه‌های آن و برگ خشک شده آن (اندام‌های هوایی) است (۲).
ترکیبات موثر ضد میکروبی در عصاره آویشن باغی حاوی فلاونوئیدهایی مانند اپی‌ژنین، نارین‌ژین، لوتولین و روغن‌های فرار محتوی تیمول و کارواکرول می‌باشد (۴).

ادویه جات و گیاهان دارویی، اسانس‌ها و عصاره‌های آنها درجات متنوعی از فعالیت بیولوژیکی را دارا هستند. از میان ۷۰ ادویه ای که رسماً به عنوان افزودنی غذایی معرفی شده اند، فعالیت ضد میکروبی تعداد زیادی از آنها به اثبات رسیده است (۱۴).
دسچاپر و همکاران (۷) مشخص کردند که روغن‌های ضروری

سس مایونز نوعی ماده غذایی نیمه جامد امولسیونه و یک سیستم کلوئیدی است که از ترکیب روغن‌های گیاهی، اسیدهای خوراکی مانند سرکه و آبلیمو، اسید سیتریک، اسیدمالیک، زرده تخم مرغ و برخی مواد افزودنی مجاز ساخته می‌شود. چون در فرآیند سس از دما برای سالم سازی فرآورده استفاده نمی‌شود، لازم است بوسیله ترکیبات شیمیایی نگهدارنده مانند اسید بنزوئیک و نمک‌های آن از رشد میکروارگانیسم‌ها در شرایط نگهداری سس ممانعت شود. باتوجه به اینکه مصرف این ترکیبات (بنزووات) در عین فوائد ذکر شده مضراتی را برای سلامتی انسان نیز به دنبال دارند. بنابراین بایستی سعی

۶ کارشناس ارشد علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار
(*) نویسنده مسئول: (Email: Fatemeh.zabetian@gmail.com)
۲ و ۴ به ترتیب استاد و استادیار گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳ استاد دانشکده داروسازی، دانشگاه فردوسی مشهد
۵ عضو هیئت علمی پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی مشهد

شده، بررسی قرار گرفت (۱۲ و ۱۳). آلودگی به سالمونلا از طریق پرندگان یا محصولات آنها بخصوص از طریق پوست تخم مرغ ایجاد می‌شود. شیوع مسمومیت غذایی توسط سالمونلا از طریق مصرف مایونز خانگی توسط رادرفورد و بورد گزارش شده است. سالمونلا به خانواده انتروباکتریاسه تعلق دارد. هوازی و گرم منفی است (۵).

در بررسی انجام گرفته توسط گراد و پراس در سال ۱۹۹۰ اثر دما و pH بر روی رفتار سالمونلا انتریتیدیس PT4 در مایونز خانگی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این بررسی نشان داد که نوع اسید مورد استفاده جهت کاهش pH و دمای نگهداری در کاهش سالمونلا موثر است، بطوری که در نمونه‌های سس حاوی سرکه، در مقایسه با نمونه‌های حاوی اسیدسیتریک (آب لیمو)، همچنین در نمونه‌های نگهداری شده در دماهای بالاتر، از بین رفتن میکروارگانیسم سریعتر بود.

در این پژوهش سعی داریم عصاره گیاه آویشن باغی را جایگزین نگهدارنده‌های شیمیایی نظیر (بنزوات و سوربات) در مایونز کرده و اثر ضد میکروبی آن بر سالمونلا انتریتیدیس در سس و در دماهای ۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد در طی زمان نگهداری مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

مواد

گیاه آویشن خشک از شرکت سها جی‌سا. اتانول ۹۹٪ از شرکت مرک آلمان. مواد اولیه جهت تهیه سس مایونز (تخم مرغ، روغن، سرکه، نمک، شکر و سوسپانسیون خالص *Salmonella enteritidis* PT4 از موسسه رازی حصارک کرج خریداری شد. محیط کشت اختصاصی SSA^{۱۱} از شرکت مرک آلمان.

عصاره‌گیری

عصاره‌گیری به روش خیسانیدن در اتانول ۸۰٪ انجام گرفت. ابتدا برگ‌های خشک شده گیاه آویشن را پودر کرده و ۱۵۰ گرم از پودر برای عصاره‌گیری استفاده شد. هر ۵۰ گرم پودر آویشن را با ۴۰۰ میلی لیتر اتانول ۸۰٪ مخلوط کرده و این مخلوط را طی ۱۲ ساعت بر روی شیکر با دور ۱۰۰rpm در دمای محیط خیس شد. بعد از ۱۲ ساعت مخلوط حاصل را توسط پمپ خلاء صاف شد. سپس باقی مانده روی صافی را در ازاء هر ۵۰ گرم در ۲۰۰ میلی لیتر الکل اتانول ۸۰٪، طی ۱۲ ساعت خیس کردیم. سپس آنرا صاف کرده و محلول زیر صافی را در روتاری تحت خلاء در دمای ۴۳ درجه سانتیگراد تغلیظ کردیم. سپس محلول تغلیظ شده را در پلیت‌های شیشه‌ای

حاصل از گیاهان می‌توانند به عنوان جایگزین آنتی بیوتیکها بکار روند. اثرات آنتی باکتریایی روغنهای ضروری یا ترکیبات حاصل از عصاره گیاهان بطور گسترده ای در بسیاری از مقالات مورد توجه قرار گرفته اند. برای مثال جامروز و همکاران (۱۰) اظهار کردند که عصاره گیاهان شامل سینامالدهید^۱، کاپسایسین^۲، کارواکرل^۳ تعداد کل اشرشیا کلی^۴ و کلستریدیوم پرفرنجنس^۵ را در ناحیه روده ای جوجه‌ها کاهش می‌دهد. اثرات آنتی باکتریایی و ضدقارچی و آنتی اکسیدانی اسانس آویشن^۶ مشتق شده از آویشن توسط هرتمارف (۹) گزارش شده است. همچنین مطالعات *in vitro* نشان داده اند که اسانس‌های روغنی دارای خاصیت آنتی باکتریایی در برابر لیستریا منوسایتوتنز^۷، سالمونلاتایفی موریوم^۸، اشرشیاکلی، باسیلوس سرئوس^۹ و استافیلوکوکوس اورئوس^{۱۰} می‌باشد (۶).

تیمول ترکیب اصلی اسانس روغنی حاصل از آویشن، دارای خاصیت آنتی میکروبی است. عملیات آنتی میکروبی اسانس‌های روغنی در اثر واکنش آنها با غشاء سلول میکروارگانیسم از طریق نفوذپذیری ترکیباتی چون یون پتاسیم و هیدروژن می‌باشد. اسمیت پالمرو و همکاران (۱۶) خصوصیات ضد میکروبی ۲۱ روغن ضروری گیاهی شامل میخک، سیر، زنجبیل در برابر پنج پاتوژن مهم غذایی از جمله سالمونلا انتریتیدیس و اشرشیا کلی را بررسی کردند. درمانعت از رشد این دو میکروارگانیسم میخک به نسبت سیر و زنجبیل موثرتر بود.

معمولا غلظت عصاره یا اسانس مصرفی به منظور فعالیت ضد میکروبی به حدی است که تأثیری روی ویژگی حسی ماده غذایی نمی‌گذارد. بنابراین می‌توان با استفاده از این ترکیبات از مصرف افزودنی‌های شیمیایی جلوگیری کرده و آنها را با نگهدارنده‌های گیاهی جایگزین کرد. تا به این وسیله در تامین سلامت بیشتر در جامعه نقش داشته باشیم.

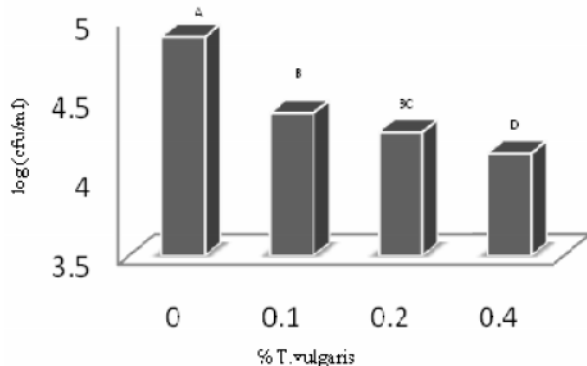
اشرشیا کلی O157 و سالمونلا انتریکا زیرشاخه انتریتیدیس از پاتوژن‌های غذایی هستند که در سال‌های اخیر بطور فزاینده‌ای شناسایی و ایزوله شده‌اند (۳). بقای سالمونلا انتریکا زیرشاخه انتریتیدیس PT4 در مایونز صنعتی آلوده شده توسط تخم مرغ آلوده

- 1- cinnamaldehyde
- 2- capsaicin
- 3- carvacrol
- 4- E.coli
- 5- *Clostridium perfringens*
- 6- Thyme oil
- 7- *Listeria monocytogenes*
- 8- *Salmonella typhimurium*
- 9- *Bacillus cereus*
- 10- *Staphylococcus aureus*

11- *Salmonella Shigella* Agar:(SSA)

نتایج و بحث

در این پژوهش اثر ضدباکتریایی عصاره آویشن باغی بر *S. enteritidis* موجود در سس مایونز در دو دمای نگهداری یخچال و محیط (۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد) طی مدت زمان ۳۰ روز نگهداری بررسی شد. روند تغییر تعداد سالمونلا انتریتیدیس در سس مایونز حاوی درصدهای مختلف عصاره در شکل (۱) نشان داده شده است. آنالیز داده‌ها نشان داد تعداد باکتری سالمونلا انتریتیدیس در نمونه‌های سس حاوی درصدهای مختلف عصاره با نمونه شاهد از نظر آماری اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p < 0.05$). درحالی‌که نمونه‌های حاوی ۰/۱ و ۰/۲ درصد عصاره اثربخشی بر میزان باکتری سالمونلا انتریتیدیس داشتند ($p < 0.05$).



شکل ۱ اثر غلظت‌های مختلف عصاره تیموس ولگاریس بر سالمونلا انتریتیدیس

کاهش جمعیت سالمونلا در دو دمای ۴°C و ۲۵°C درجه سانتیگراد اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.05$). باکتری‌ها در دمای ۲۵°C در روز یازدهم بعد از تلقیح به حداقل مقدار خود رسیدند درحالی‌که در دمای ۴°C، باکتری‌ها بعد از ۳۰ روز همچنان رشد داشتند (شکل ۲). برزگر و همکاران، نیز طی آزمایشات خود به نتایج مشابهی دست یافتند. پیرالس و گارسیا (۱۹۹۰) اثر pH و دما را بر *S. enteritidis* در سس مایونز مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که نمونه سس با $pH = 4$ در دمای ۴°C پس از ۱۲۰ روز حاوی 10^6 CFU/g *S. enteritidis* بود در حالی‌که در دمای ۲۴°C و ۳۵°C به ترتیب بعد از ۷۲ و ۲ روز به حداقل مقدار خود رسید. لاک و بورد (۱۳) نیز بقای *S. enteritidis* را در انواع مختلف سس مایونز (پرچرب، کم کالری و کم چرب) بررسی کردند. نامبردگان دریافتند که دمای ۴°C نسبت به ۲۴°C اثر کمتری بر کاهش *S. enteritidis* داشت.

ریخته و در آن تحت خلاء در دمای ۴۳ درجه سانتیگراد قرار داده شد، تا اینکه حلال بطور کامل تبخیر شود و پودر عصاره حاصل را تا زمان مصرف در فریزر نگهداری کردیم (۱۸).

تهیه سوسپانسیون میکروبی

برای تهیه سوسپانسیون میکروبی از کشت ۲۴ ساعته در محیط کشت نوترینت آگار شیبدار استفاده شد. بعد از کشت و ۲۴ ساعت انکوباتور گذاری در ۳۷ درجه سانتیگراد، سوسپانسیون میکروبی (3×10^8 CFU/g) به روش مک فارلند^۱ تهیه شد.

تهیه تیمارها

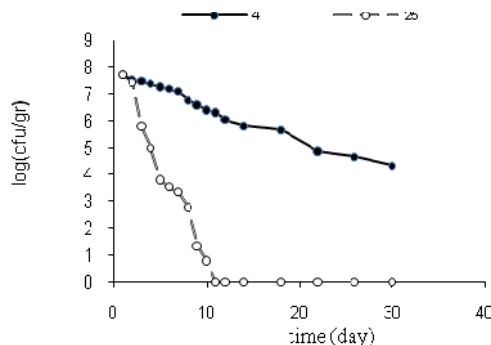
سس مایونز در شرایط آزمایشگاهی بطور کاملاً استریل تهیه شد. سپس به بیج‌های مساوی تقسیم شد. سپس در هر یک از ظروف وزن مشخصی از عصاره خشک شده حل شد. سوسپانسیون میکروبی نیز به آنها اضافه شد تا در نهایت جمعیت میکروبی در هر نمونه مورد آزمایش سس $1/5 \times 10^8$ CFU/g رسید. نمونه‌ها شامل نمونه سس حاوی ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ درصد عصاره تهیه شد. نمونه‌ها در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. همچنین نمونه سس فاقد میکروارگانیزم و عصاره نیز بعنوان شاهد در این دو دما نگهداری شد. کشت میکروبی از روز اول و بلافاصله بعد از تهیه تیمارها انجام شد. مدت زمان گرمخانه گذاری ۳۰ روز بود. کشت میکروبی بصورت روزانه انجام گرفت.

ارزیابی حسی

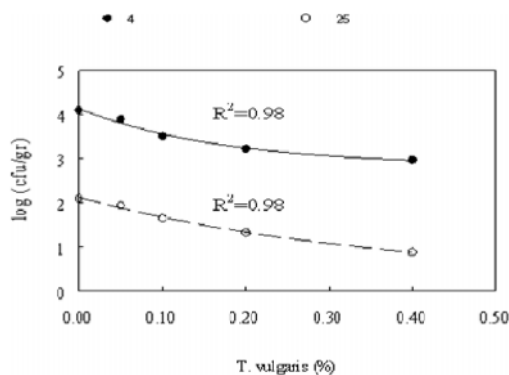
برای بررسی ارزیابی حسی، نمونه‌های سس حاوی درصدهای مختلف عصاره آویشن خشک شده (۰، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴) تهیه شده و توسط ۱۰ نفر پنلیست از نظر خصوصیات طعم، رنگ، بو، بافت و پذیرش کلی به روش هدونیک ۵ نقطه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفت.

طرح آماری و آنالیز داده‌ها

تیمارهای آزمایش شامل سس مایونز حاوی عصاره تیموس ولگاریس در ۴ سطح برای سالمونلا انتریتیدیس، در دو دمای نگهداری ۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد بود. این پژوهش در قالب فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. آنالیز داده‌ها توسط نرم‌افزار Minitab و میانگین داده‌ها توسط آزمون LSD در نرم‌افزار MSTATC مورد بررسی قرار گرفت. نمودارها نیز توسط نرم‌افزار Excel و slide write ترسیم شدند.



شکل ۴ اثر دما بر جمعیت سالمونلا انتریتیدیس PT4 در طول زمان نگهداری



شکل ۵ بررسی اثر دما و درصد غلظت عصاره تیموس ولگاریس بر جمعیت سالمونلا انتریتیدیس PT4 در سس مایونز

در این مدل x غلظت عصاره و y نشان دهنده زمان نگهداری می باشد.

این مدل بخوبی توانسته است اثرات تغییر دما و غلظت بر تعداد باکتری سالمونلا انتریتیدیس در دمای ۴ درجه سانتیگراد را نشان دهد ($R^2=0.98$). در این مدل اثر خطی زمان و غلظت، اثر متقابل و اثرات درجه دوم آنها معنی دار بود.

در روز اول، افزایش درصد عصاره تأثیری بر روند کاهش سالمونلا انتریتیدیس نداشت. اما با گذشت زمان با افزایش درصد عصاره، تعداد باکتری سالمونلا انتریتیدیس بصورت خطی کاهش یافت. در روز سی ام بعد از تلقیح تعداد باکتری سالمونلا انتریتیدیس بین نمونه شاهد و سایر نمونه های حاوی عصاره بخصوص نمونه حاوی ۰/۴ درصد عصاره اختلاف چشمگیری مشاهده شد. این امر احتمالاً به این دلیل است که با افزایش غلظت عصاره میزان ترکیبات تیمول و کارواکرول افزایش می یابد که باعث اثربخشی بهتر عصاره در غلظت های بالاتر می شود.

روند کاهش سالمونلا انتریتیدیس در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در شکل ۴(b) نشان داده شده است. مدلی که برای این داده ها برآزش

در هر دو دمای نگهداری ۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد متناسب با افزایش غلظت آویشن خشک شده، تعداد باکتری *S. enteritidis* در سس مایونز کاهش یافت (شکل ۳). دمای ۲۵°C نسبت به ۴°C اثر چشمگیرتری بر کاهش بار میکروبی داشت. این امر ممکن است به دلیل تغییر در جایگاه فعال مواد ضدباکتریایی عصاره، یا به دلیل تغییر در غشاء باکتری در دمای ۴ درجه سانتیگراد باشد بطوریکه میزان نفوذ مواد ضدباکتریایی عصاره را در دمای پایین تر کمتر می کند (۱۶). هاتکوکس و همکاران (۸) نیز در آزمایش خود به نتایج مشابهی دست یافتند. این دانشمندان مشاهده کردند که افزایش دمای نگهداری از ۵ به ۲۲ درجه سانتیگراد و از ۲۰ به ۳۰ درجه سانتیگراد منجر به افزایش چشمگیری در سرعت غیرفعالسازی میکروارگانیسم ها شد.

شکل ۴(a) اثر غلظت های مختلف عصاره آویشن (تیموس ولگاریس) بر جمعیت سالمونلا انتریتیدیس موجود در سس مایونز در دمای ۴ درجه سانتیگراد و در طی زمان نگهداری را نشان می دهد.

مدل برازش داده شده بر این داده ها بصورت ذیل است.

$$z=8.05-1.47x-0.15y-0.09xy+3.11x^2+0.001y^2$$

داده شد بصورت ذیل می‌باشد.

$$z=9.24-0.22x-0.95y-0.48xy+0.024y^2$$

در این مدل x غلظت عصاره آویشن و y نمایانگر زمان می‌باشد. ضریب تبیین این مدل ($R^2=0.8$) نشان می‌دهد که مدل مورد نظر توانسته است بخوبی اثر تغییرات زمان و غلظت بر جمعیت باکتری سالمونلا انتریتیدیس را نشان دهد. در این مدل اثر خطی زمان و غلظت به همراه اثر متقابل آنها معنی‌دار بود در حالیکه در بین اثرات درجه دوم تنها اثر درجه دوم زمان معنی‌دار بود.

در روز اول با افزایش درصد عصاره تغییر چندانی در تعداد میکروارگانیسم‌ها مشاهده نشد. اما با گذشت زمان تا روز یازدهم افزایش غلظت عصاره آویشن باعث کاهش باکتری‌ها بصورت خطی شد. تعداد باکتری پس از ۱۱ روز در نمونه حاوی ۰/۴ درصد عصاره به حداقل مقدار خود رسید. در تمامی غلظت‌های مورد بررسی، با گذشت زمان تعداد باکتری‌ها بصورت نمایی کاهش یافت. با مقایسه شکل‌های ۴ (a) و (b) مشاهده می‌شود که در غلظت‌های مساوی عصاره آویشن، نمونه‌های نگهداری شده در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد نسبت به دمای ۴ درجه سانتیگراد طی زمان کوتاه‌تری (۱۱ روز) به صفر رسید.

افزودن غلظت‌های مختلف عصاره آویشن علی‌رغم کاهش بار میکروبی سس مایونز اثر چشمگیری بر طعم، بو، بافت و پذیرش کلی نمونه‌ها نداشت (شکل ۵). این امر به این دلیل است که غلظت بکار رفته در نمونه‌های سس در حدی است که تأثیر نامطلوبی بر این خصوصیات نمی‌گذارد. تنها رنگ نمونه حاوی ۰/۴ درصد عصاره با

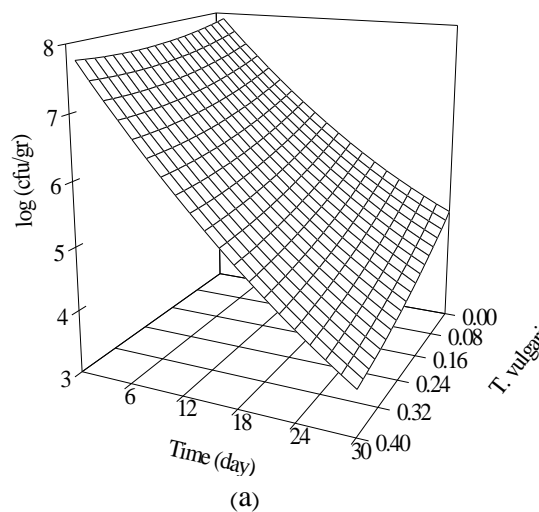
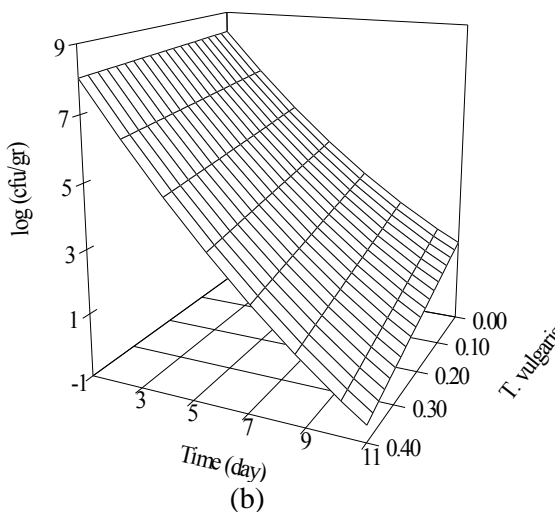
سایر نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری داشت ($p<0.05$).

نتیجه‌گیری

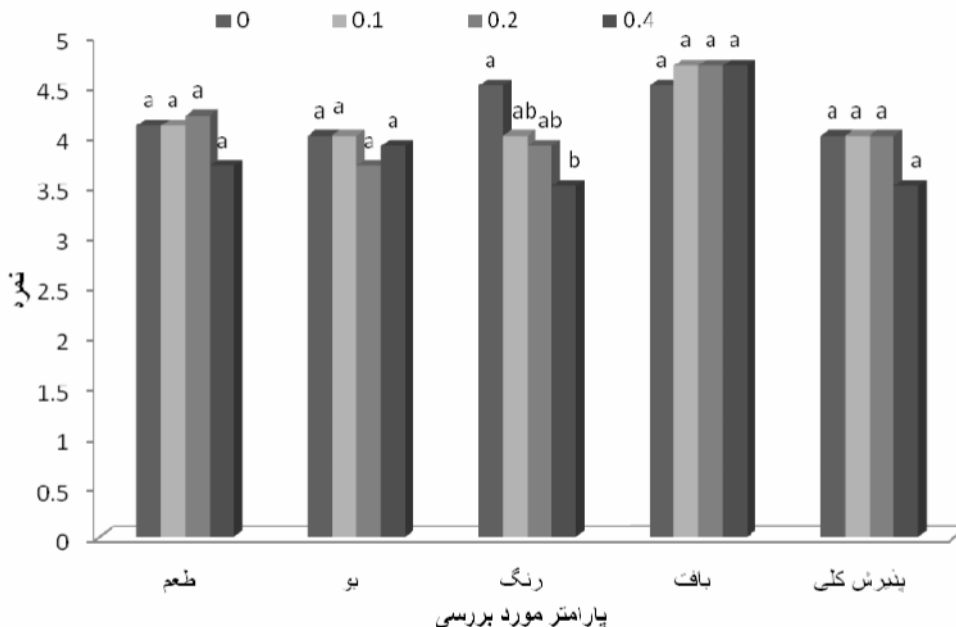
در این پژوهش اثر ضد باکتریایی عصاره آویشن باغی بر سالمونلا انتریتیدیس موجود در سس مایونز در دو دمای نگهداری یخچال و محیط (۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد) طی مدت زمان ۳۰ روز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از این بود که افزایش درصد عصاره آویشن از صفر به ۰/۴ درصد در سس مایونز منجر به کاهش معنی‌دار در تعداد باکتری سالمونلا انتریتیدیس در طی زمان نگهداری شد. تعداد باکتری‌ها در سس نگهداری شده در ۲۵ درجه سانتیگراد پس از ۱۱ روز کاهش یافت در حالیکه در نمونه نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتیگراد تا روز سی‌ام پس از تولید همچنان رشد سالمونلا ادامه داشت. مدل‌های ارائه شده به روش RSM با توجه به اینکه ضریب تبیین بالایی داشتند ($R^2>0.8$) برای برآزش اطلاعات مورد نظر مناسب می‌باشند.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از مسئولین پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی مشهد که امکانات آزمایشگاهی جهت انجام این طرح را فراهم نمودند کمال تشکر را داریم.



شکل ۴ اثر غلظت‌های مختلف عصاره آویشن (*T. vulgaris*) بر جمعیت *S. enteritidis* در سس مایونز در طی زمان نگهداری که از طریق پاسخ سطح برآزش شده است ($a=4^{\circ}\text{C}$ و $b=25^{\circ}\text{C}$)



شکل ۵ نمودار بررسی ارزیابی حسی نمونه‌های سس حاوی درصدهای مختلف عصاره

منابع

- ۱- برزگر، ح.، ا. کرباسی، ج. جمالیان، و م. امین لاری. ۱۳۷۸. بررسی امکان استفاده از کیتوزان به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در سس مایونز، علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، شماره ۴۳، ص ۳۶۱-۳۷۰.
- ۲- نقدی بادی، ح. و م. مکی زاده تفتی. ۱۳۸۲. مروری بر گیاه آویشن (*Thymus vulgaris* L.). فصل نامه گیاهان دارویی. شماره هفتم
- 3- Altkruse, S. F., Cohen, M. L., & Swerdlow, D. L. 1997. Emerging foodborne diseases. *Emerging Infectious Diseases*, 3, 285–293.
- 4- Behnia, M., Haghighi, A., Komeylizadeh, H., Seyyed Tabaei, S. J. and Abadi, A. 2008. Inhibitory Effects of Iranian *Thymus vulgaris* Extracts on in Vitro Growth of *Entamoeba histolytica*, *Korean J Parasitol*. Vol. 46, No. 3: 153-156.
- 5- Caroline Butler, J., 2009. The effects of electrostatic polarization ultra-violet light filters on the bioaerosols of a commercial broiler processing plant hang room,
- 6- Cosentino, S., C. I. G., Tuberoso, B., Pisano, M., Satta, V., Mascia, E., Arzedi, & F. Palmas. 1999. In vitro antimicrobial activity and composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Letters in Applied Microbiology*, 29, 130–135.
- 7- Deschepper, K, M., Lippens, G., Huyghebaert, & Molly, K. 2003. The effect of aromabiotic and GALI D'OR on technical performances and intestinal morphology of broilers. In: Proc. 14th European Symp. on Poultry Nutrition, August, Lillehammer, Norway, pp. 189.
- 8- Hathcox, A., Beuchat, L. R., & Doyle, M.P. 1995. Death of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in Real Mayonnaise and Reduced-Calorie Mayonnaise Dressing as Influenced by Initial Population and Storage Temperature. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 4172–4177.
- 9- Hertrampf, J. W. 2001. Alternative antibacterial performance promoters. *Poultry International*, 40, 50-52.
- 10- Jamroz, D, T. J., Wertlecki, J., Orda, A. Wiliczkiwicz, & J. Skorupi ska, 2003. Influence of photogenic extracts on gut microbial status in chickens. In: Proc. 4th European Symp. on Poultry Nutrition, August, Lillehammer, Norway. pp.176.
- 11- Lawless, H.T., and H. Hymann. 1998. *Sensory evaluation of Food: principles and practices*, 1st ed., Chapman and Hall, New York, NY.
- 12- Lock, J. L. & R. G. Board, 1994. The fate of *Salmonella enteritidis* PT4 in deliberately infected commercial mayonnaise. *Food Microbiology*, 11, 499–504.
- 13- Lock, J. L. & R. G. Board, 1995. The fate of *Salmonella enteritidis* PT4 in home-made mayonnaise prepared from

- artificially inoculated eggs. *Food Microbiology*, 12, 181–186.
- 14- Nguefack, J., Budde, B.B., Jakobsen, M., 2004. Five essential oils from aromatic plants of Cameroon: their antibacterial activity and ability to permeabilize the cytoplasmic membrane of *Listeria innocua* examined by flow cytometry. *Letters in Applied Microbiology*. 39, 359-400.
 - 15- Perales, I. & M. I. Garc, 1990. The influence of pH and temperature on the behaviour of *Salmonella enteritidis* phage type 4 in home-made mayonnaise. *Letters in Applied Microbiology*, 10, 19-22 GWGJ59.
 - 16- Smith-Palmer, A., J. Stewart, & L. Fyfe. 1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Letters in Food Microbiology*. 26, 118–122.
 - 17- Ward, L. R., Threlfall, J., Smith, H. R. & O'Brian, S. J. 2000. *Salmonella enteritidis* epidemic. *Science*, 287, 175–176.
 - 18- Zhang, H., B., Kong, Y. Xiong, & X. Sun, 2009. Antimicrobial activity of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4°C. *Journal of Meat science*. 81, 686-692.