



Combined effect of ethanolic extract of *Heracleum persicum* and cell-free supernatant (CFS) of *Lactobacillus plantarum* on the growth of *Salmonella typhimurium* and shelf-Life of ground chicken breast meat during refrigerated storage

Amirhossein Mahmoudi ¹, **Moslem Neyriz Naghadehi** ^{*1}, Shahram Aramideh ²

¹ Department of Veterinary Pathobiology, Ur.C., Islamic Azad University, Urmia, Iran

² Department of Plant Protection, Agriculture Faculty, Urmia University, Urmia, Iran

Received Date:2025.09.06 Accepted Date:2026.05.24

Abstract

Nowadays, the use of plant extracts and postbiotics as natural preservatives to enhance shelf-life and control foodborne pathogens has attracted attention from researchers. Poultry meat is considered one of the major sources of *Salmonella* serotypes. The present study investigated the combined effect of the ethanolic extract (EE) of *Heracleum persicum* and the cell-free supernatant (CFS) of *Lactobacillus plantarum* on the growth of *Salmonella typhimurium* and the shelf-life of ground chicken breast meat during refrigerated storage. Preparation of the EE, preparation of CFS, determination of minimum inhibitory concentration (MIC), standard plate count (SPC), enumeration of *Salmonella* (SC), and pH measurement of ground chicken meat on days 1, 3, 7, and 10 of storage, were the methods employed in this study. MIC results showed that the EE (64 mg/dl) and the CFS (512 mg/dl) individually exhibited antibacterial effects against *Salmonella*, while their combination demonstrated an enhanced antibacterial effect (32 mg/dl). Moreover, different concentrations of the EE and the CFS, either alone or in combination, significantly reduced SPC and SC (log cfu/g) in ground chicken meat across different storage days ($p < 0.05$). The overall mean values of SPC and SC in the combined treatments were significantly lower compared to the individual treatments throughout the storage period ($p < 0.05$). Similarly, the overall mean pH of ground chicken meat in the combined treatments was significantly lower compared to the individual treatments ($p < 0.05$). Therefore, the combined application of *H. persicum* EE and *L. plantarum* CFS is recommended for enhancing shelf-life and inhibiting *Salmonella* growth in ground chicken meat.

Keywords: Ethanolic extract of *Heracleum persicum*; Cell-free supernatant of *Lactobacillus plantarum*; *Salmonella typhimurium*; shelf life; Ground chicken meat

* Mo.Neyriz@iau.ac.ir

EXTENDED ABSTRACT

Background and objectives:

Food safety remains a global public health priority, with foodborne pathogens such as *Salmonella typhimurium* posing significant risks in poultry products. Chicken meat, particularly ground breast meat, is highly susceptible to microbial contamination due to its high nutrient content, large surface area, and tissue disruption during grinding. Among poultry pathogens, *Salmonella typhimurium* continues to be a major cause of outbreaks of foodborne illness worldwide, leading to significant economic losses and threatening consumer health. Conventional strategies for controlling microbial contamination in meat largely rely on synthetic preservatives and chemical additives. However, rising consumer demand for natural, safe, and eco-friendly alternatives, combined with growing concerns about antimicrobial resistance, has driven research toward biopreservation using plant-derived antimicrobials and postbiotics. *Heracleum persicum* (Persian Hogweed), a traditional medicinal and culinary herb native to Iran, is rich in phenolics, flavonoids, coumarins, and volatile oils, which have been shown to exhibit strong antioxidant and antimicrobial properties. In parallel, lactic acid bacteria, particularly *Lactobacillus plantarum*, produce organic acids, hydrogen peroxide, and bacteriocins, contributing to their antimicrobial activity. The cell-free supernatant (CFS) derived from *L. plantarum* cultures contains these metabolites and has been reported to inhibit several foodborne pathogens. This study aimed to evaluate the individual and combined effects of ethanolic extract (EE) of *H. persicum* and CFS of *L. plantarum* on the growth of *S. typhimurium* and on the shelf-life of ground chicken breast meat stored under refrigeration.

Materials and Methods

The ethanolic extract of *H. persicum* was prepared by Clevenger apparatus using 96% ethanol, followed by rotary evaporation to concentrate the extract. The CFS of *L. plantarum* (PTCC 1896) was obtained by culturing the bacterium in MRS broth, followed by centrifugation and filtration to remove cells, and lyophilization to obtain a dried supernatant. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of both EE and CFS, individually and in combination, against *S. typhimurium* were determined using the microdilution method in 96-well plates. Fractional inhibitory concentration index (FICI) values were calculated to evaluate synergistic or additive interactions. For in situ evaluation, ground chicken breast meat samples were inoculated with *S. typhimurium* (10^3 cfu/g) and subjected to four treatments: (1) control (no additives), (2) EE alone, (3) CFS alone, and (4) EE + CFS combined, at different concentrations (0.025%, 0.05%, 0.1%, 0.2% w/w). Samples were stored at 2 °C, and microbial counts (standard plate count, SPC; and *Salmonella* count, SC) and pH were measured on days 1, 3, 7, and 10. Statistical analyses included two-way ANOVA and Tukey's post hoc tests with significance set at $p < 0.05$.

Results

MIC testing revealed that EE of *H. persicum* inhibited *S. typhimurium* at 64 mg/dl, while CFS inhibited growth at 512 mg/dl. When combined, the MIC dropped to 32 mg/dl, with a calculated FICI of 0.562, indicating an additive effect. In ground chicken meat, both EE and CFS alone significantly reduced microbial counts (SPC and SC) compared to controls across all storage days. However, the combination of EE and CFS demonstrated superior efficacy, achieving significantly lower microbial counts at all concentrations and storage times. The reduction was dose-dependent, with the strongest effects observed at 0.2% concentration. Similarly, pH measurements showed that treated samples exhibited lower pH values than controls, with the most pronounced reduction in the combined treatments. Decreased pH correlated with inhibited microbial growth, likely due to the accumulation of organic acids from CFS and phenolic interactions from EE. Over 10 days of refrigerated storage, SPC and SC values increased in all samples but at a significantly slower rate in treated groups, particularly in the combination treatment. For example, on day 10, microbial counts in the combined EE + CFS samples remained substantially below spoilage thresholds, suggesting an extension of shelf-life.

Discussion

The findings of this study reinforce the growing evidence supporting plant extracts and postbiotics as natural biopreservatives in meat products. EE of *H. persicum* exhibited notable antibacterial activity, consistent with previous reports attributing its efficacy to phenolic and flavonoid compounds with membrane-disruptive and oxidative mechanisms. Similarly, CFS of *L. plantarum* demonstrated antimicrobial activity likely due to the combined effects of lactic acid, bacteriocins, and hydrogen peroxide. Importantly, the combination of EE and CFS produced an additive effect, lowering MIC values and enhancing microbial inhibition in chicken meat. This synergy can be explained by complementary mechanisms: EE disrupts cell walls and interferes with bacterial metabolism, while CFS acidifies the environment and delivers bacteriocins that further inhibit pathogen growth.

Comparable studies have reported synergistic antimicrobial effects when combining plant extracts with probiotic metabolites or bacteriocins. For instance, oregano essential oil and nisin have been shown to enhance microbial control in minced meat. Similarly, the application of *L. plantarum* CFS in meat systems has been reported to significantly reduce *Salmonella* populations. Our results align with these findings, while introducing *H. persicum* EE as a novel and culturally relevant option. The observed reduction in pH across treated samples is consistent with organic acid production and further contributes to growth inhibition. Lower pH environments are less favorable for *Salmonella* survival, highlighting the importance of this mechanism in biopreservation. Nevertheless, variations in efficacy across studies may result from differences in plant extract composition, bacterial strains, and food matrix effects. This underscores the need for further validation under industrial processing conditions and across diverse meat systems.

Conclusion

This study demonstrated that both EE of *Heracleum persicum* and CFS of *Lactobacillus plantarum* independently inhibited *Salmonella typhimurium* growth in vitro and in ground chicken breast meat. More importantly, their combination showed additive antimicrobial effects, reducing MIC values, lowering pH, and significantly decreasing microbial loads throughout refrigerated storage. The application of this natural combination presents a promising strategy to extend the shelf-life of poultry meat and enhance its microbial safety, addressing consumer demand for natural preservatives and reducing reliance on synthetic additives. Future research should focus on sensory evaluations, consumer acceptance, and pilot-scale industrial trials to assess feasibility in commercial meat production. The integration of plant-based antimicrobials and postbiotics could represent a sustainable and effective approach to biopreservation in the global food industry



مطالعه اثر ترکیبی عصاره اتانولی گیاه گلپر (*Heracleum persicum*) و پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلاتناروم بر روی رشد سالمونلا تیفی موریوم و ماندگاری گوشت چرخ شده مرغ در طول نگهداری در شرایط یخچال

امیرحسین محمودی^۱، مسلم نیریز نقدهی^{۱*}، شهرام آرمیده^۲

^۱ گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران

^۲ گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۳/۰۳

چکیده

امروزه استفاده از عصاره گیاهان و پستیوتیک‌ها به عنوان نگهدارنده‌های طبیعی برای افزایش ماندگاری و کنترل عوامل بیماری‌زای غذایی مورد نظر محققین قرار گرفته‌اند. گوشت طیور از منابع مهم سروتیپ‌های سالمونلا می‌باشد. در تحقیق حاضر، اثر ترکیبی عصاره اتانولی گیاه گلپر و پالیده عاری از سلول (CFS) لاکتوباسیلوس پلاتناروم بر روی میزان رشد سالمونلا تیفی موریوم و ماندگاری گوشت چرخ شده سینه مرغ در مدت نگهداری در دمای یخچال مطالعه شدند. تهیه عصاره اتانولی گیاه گلپر، تهیه CFS لاکتوباسیلوس پلاتناروم، تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)، شمارش پلیت استاندارد (SPC)، شمارش سالمونلا (SC) و اندازه‌گیری pH گوشت چرخ شده در روزهای یک، ۳، ۷ و ۱۰ نگهداری از روش‌های به کاررفته در این تحقیق بودند. نتایج تعیین MIC نشان داد که عصاره (۶۴ mg/dl) و پالیده (۵۱۲ mg/dl) به تنهایی دارای اثر ضدباکتریایی روی سالمونلا می‌باشند و ترکیب همزمان این دو، اثر ضدباکتریایی افزایشی (۳۲ mg/dl) نشان می‌دهد. هم‌چنین غلظت‌های مختلف عصاره و پالیده در حالات به تنهایی و ترکیبی، SPC و SC (log cfu/g) را در گوشت چرخ شده در روزهای مختلف نگهداری به صورت معنی‌داری کاهش دادند ($p < 0.05$). میانگین کلی SPC و SC در حالت ترکیب همزمان غلظت‌های مختلف عصاره و پالیده در کل روزهای نگهداری در مقایسه با حالات به تنهایی، به صورت معنی‌داری پایین‌تر بود ($p < 0.05$). از سویی، میانگین کلی pH گوشت چرخ شده در حالت ترکیب همزمان غلظت‌های مختلف عصاره و پالیده در کل روزهای نگهداری در مقایسه با حالات به تنهایی به صورت معنی‌داری پایین‌تر بود ($p < 0.05$). بنابراین ترکیب عصاره اتانولی گلپر و CFS لاکتوباسیلوس پلاتناروم برای افزایش ماندگاری و مهار سالمونلا در گوشت چرخ شده مرغ پیشنهاد می‌گردد.

کلمات کلیدی: عصاره اتانولی گلپر ایرانی، پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلاتناروم، سالمونلا تیفی موریوم، ماندگاری، گوشت چرخ شده مرغ

* Mo.Neyriz@iau.ac.ir

مقدمه

ایمنی مواد غذایی از مهم ترین دغدغه های سلامت عمومی در جهان است. فرآورده های گوشتی، به ویژه گوشت مرغ، به دلیل ارزش تغذیه ای بالا، میزان پروتئین مناسب و قیمت اقتصادی، جایگاه ویژه ای در رژیم غذایی انسان دارند (۱). گونه های سالمونلا از مهم ترین عوامل باکتریایی بیمارزایی منتقله از غذا در سطح جهان محسوب می شوند که بیش از ۲۵۰۰ سروتیپ شناخته شده دارد (۲ و ۳). این باکتری گرم منفی، میله ای شکل، غیر اسپورزا و متعلق به خانواده انتروباکتریاسه بوده و توانایی رشد در طیف وسیعی از شرایط محیطی را دارد، به طوری که می تواند در محدوده وسیعی از pH دما زنده بماند و در محیط های غذایی به ویژه در صورت رعایت نشدن اصول بهداشتی تکثیر یابد (۲ و ۴). ویژگی هایی نظیر توانایی تحمل شرایط نامطلوب و بقا در محیط های خشک، سبب افزایش احتمال انتقال آن در طول زنجیره تولید و فرآوری مواد غذایی می شود (۲). این باکتری عامل بیماری سالمونلوز در انسان و حیوانات است و مواد غذایی خام با منشأ دام و طیور به عنوان منابع اصلی آلودگی شناخته می شود (۳). براساس گزارش سازمان جهانی بهداشت، سالمونلوز همچنان یکی از اصلی ترین علل بیماری های ناشی از غذاست و تهدیدی جدی برای سلامت عمومی به شمار می رود (۵). در انسان، سالمونلا می تواند موجب بیماری های مختلفی از اسهال خفیف تا گاستروآنتریت شدید، تب تیفوئید و سپسیس^۱ شود. سروتیپ های غیر تیفوئیدی^۲ عمدتاً باعث گاستروآنتریت و عفونت های سیستمیک می شوند، در حالی که سروتیپ های تیفوئیدی مانند سالمونلا تایفی^۳ سبب تب تیفوئید می شوند. علائم بالینی عفونت NTS معمولاً ظرف ۶ تا ۴۸ ساعت پس

از مصرف غذای آلوده آغاز شده و شامل درد شکمی، اسهال، تب و استفراغ است (۶).

از نظر ویژگی های بیماری زایی^۴، سالمونلا دارای مجموعه ای از عوامل ویرولانسی است که به آن امکان می دهد به سلول های اپیتلیال روده متصل شده، به داخل آنها نفوذ کند و در نهایت پاسخ التهابی شدیدی ایجاد نماید. یکی از مهم ترین مکانیسم های بیماری زایی سالمونلا وجود جزایر بیماری زایی سالمونلا^۵ به ویژه SPI-1 و SPI-2 است (۲ و ۷). همچنین سالمونلا دارای عوامل چسبندگی مانند فیمبریاهای و نیز لیپوپلی ساکراید (LPS) به عنوان یک اندوتوکسین قوی است که می تواند پاسخ های التهابی شدید و آسیب بافتی را تحریک کند (۷). از دیگر ویژگی های مهم بیماری زایی این باکتری، توانایی تشکیل بیوفیلم روی سطوح تجهیزات و محیط های صنعتی است که موجب افزایش مقاومت در برابر مواد ضد عفونی کننده و بقا در خطوط فرآوری مواد غذایی می شود و خطر آلودگی ثانویه گوشت مرغ و به ویژه گوشت چرخ شده را افزایش می دهد (۴ و ۸).

از نظر راه های انتقال، سالمونلا می تواند از طریق انتقال عمودی (از مرغ مادر به تخم و جوجه) و نیز انتقال افقی (از طریق خوراک، آب، بستر، فضولات، حشرات، جوندگان، کارکنان و تجهیزات آلوده) در مرغداری ها گسترش یابد (۹). علاوه بر این، مرحله کشتار و فرآوری یکی از نقاط بحرانی در انتشار سالمونلا محسوب می شود، زیرا آلودگی متقاطع ناشی از تماس لاشه ها، ابزارهای آلوده و عدم رعایت اصول بهداشت فردی می تواند منجر به انتقال گسترده سالمونلا به محصولات نهایی از جمله گوشت چرخ شده مرغ گردد (۹). بنابراین کنترل سالمونلا در تمام مراحل زنجیره تولید طیور، از پرورش تا عرضه محصول، برای کاهش خطر بیماری های منتقله از غذا ضروری است (۴ و ۹).

گوشت مرغ به ویژه گوشت چرخ شده مرغ یکی از مهم ترین منابع بالقوه آلودگی به سالمونلا به شمار می رود، زیرا فرآیند

^۳ - *Salmonella typhi*

^۴ - Pathogenicity

^۵ - *Salmonella pathogenicity islands*; SPIs

^۱ - Sepsis

^۲ - Non-typhoidal salmonella, NTS

پوشش‌های خوراکی و بسته‌بندی‌های زیست‌فعال برای افزایش ماندگاری فرآورده‌های گوشتی پیشنهاد شده است (20).

از سوی دیگر، باکتری‌های اسیدلاکتیک به ویژه لاکتوباسیلوس پلانتاروم، به دلیل تولید اسیدهای آلی، پراکسید هیدروژن و باکتریوسین‌ها، نقش مهمی در کنترل رشد پاتوژن‌های غذایی ایفا می‌کنند (۲۱). پالیده عاری از سلول^۳ حاصل از رشد لاکتوباسیلوس پلانتاروم، به دلیل وجود متابولیت‌های فعال زیستی، فعالیت ضدباکتریایی قابل توجهی علیه سالمونلا تیفی‌موریوم از خود نشان داده است (۲۲ و ۲۳). هم‌چنین استفاده از سویه‌های باکتریوسین‌زای لاکتوباسیلوس پلانتاروم در محصولات گوشتی به عنوان نگه‌دارنده زیستی طبیعی گزارش شده است (۲۴).

با توجه به خواص ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره الکلی گیاه گلپر ایرانی و فعالیت مهار زیستی پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلانتاروم، ترکیب این دو می‌تواند یک راهبرد نوین و کارآمد برای کنترل رشد سالمونلا تیفی‌موریوم در گوشت چرخ کرده سینه مرغ باشد. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر همزمان عصاره الکلی گلپر ایرانی و پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلانتاروم بر رشد سالمونلا تیفی‌موریوم در طول نگهداری در دمای یخچال طراحی شد.

مواد و روش‌ها:

تهیه عصاره اتانولی گیاه گلپر:

تحقیق حاضر یک مطالعه تجربی می‌باشد و با شناسه IR.IAU.URMIA.REC.1404.058 در کارگروه اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه به تصویب رسیده است. در این پژوهش، خشک شده کامل گیاه گلپر ایرانی (*Heracleum persicum*) با کد A140100301FP از عطاری‌های محلی و معتبر واقع در شهرستان ارومیه تهیه شد (۲۵). استخراج عصاره در دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه انجام شد. ابتدا با استفاده از دستگاه آسیاب، گیاه به صورت پودر آماده شد. سپس برای تهیه عصاره، ۱۰۰ گرم پودر

چرخ کردن موجب افزایش سطح تماس، توزیع یکنواخت آلودگی در کل محصول و افزایش احتمال آلودگی متقاطع از تجهیزات و سطوح آلوده می‌شود (۴). مطالعات متعدد در کشورهای مختلف نشان داده‌اند که درصد قابل توجهی از نمونه‌های گوشت مرغ عرضه‌شده در بازارهای خرده‌فروشی آلوده به سالمونلا هستند و این موضوع خطر انتقال بیماری به مصرف‌کننده را افزایش می‌دهد (۴ و ۱۰).

از دیدگاه بهداشت عمومی، سالمونلوز یکی از شایع‌ترین عفونت‌های گوارشی ناشی از غذا است و علاوه بر تحمیل هزینه‌های درمانی، کاهش بهره‌وری اقتصادی و افزایش بار بیماری، تهدید جدی برای گروه‌های حساس مانند کودکان، سالمندان و افراد دارای نقص ایمنی ایجاد می‌کند (۱۰). یکی از چالش‌های مهم در کنترل سالمونلا، ظهور سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و به‌ویژه سویه‌های چند دارویی مقاوم است که اغلب در زنجیره تولید طیور گزارش شده‌اند و می‌توانند درمان موارد شدید بیماری را دشوارتر کنند (۱۱).

برای افزایش ماندگاری مواد غذایی، استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی رایج است؛ اما پیامدهای منفی این ترکیبات شامل بروز مقاومت میکروبی و آثار نامطلوب بر سلامت مصرف‌کنندگان، سبب افزایش تمایل به استفاده از ترکیبات طبیعی با خاصیت ضدباکتری و آنتی‌اکسیدان شده است (۱۲ و ۱۳). در این میان، گیاهان دارویی به دلیل داشتن متابولیت‌های ثانویه با فعالیت زیستی، مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته‌اند. یکی از گیاهان مهم بومی ایران، گلپر ایرانی^۱ است که از تیره چتریان^۲ بوده و به‌طور سنتی در طب عامیانه و نیز به عنوان ادویه مصرف می‌شود (۱۴). این گیاه به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی، کومارینی و اسانس‌های فرار، دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی قابل توجهی است (۱۵ و ۱۶). مطالعات نشان داده‌اند که عصاره‌های الکلی و اسانس گیاه گلپر ایرانی توانایی مهار رشد طیف وسیعی از باکتری‌ها از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس*، *شریشیاکلی* و *سالمونلا انتریکا* را دارند (۱۷، ۱۸ و ۱۹). هم‌چنین کاربرد عصاره این گیاه در

^۳ - Cell-free supernatant (CFS)

^۱ - *Heracleum persicum*

^۲ - Apiaceae

خالص گلپر در داخل کاغذ صافی بسته بندی و در دستگاه کلونجر قرار داده شد. فرآیند استخراج با استفاده از اتانول ۹۶ درصد و در چهار نوبت تکرار انجام شد تا بیشینه ترکیبات مؤثر استخراج گردد. پس از اتمام مرحله استخراج، جهت حذف حلال، عصاره اتانولی حاصل توسط دستگاه تبخیر چرخان در دمای پایین تغلیظ شده و عصاره خالص گلپر به دست آمد (۲۶).

تهیه پالیده عاری از سلول (CFS) لاکتوباسیلوس پلانتاروم:

باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم تحت گونه پلانتاروم (A7) PTCC 1896 از کلکسیون میکروبی مرکز پژوهش های علمی صنعتی ایران تهیه شد. باکتری مورد نظر در آبگوشت MRS کشت و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور بی هوازی گرمخانه گذاری شدند. سپس کشت ها با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه ساترifiوژ و محل رویی جداسازی و پس از عبور از فیلتر سرنگی با قطر منافذ ۰/۲۲ میکرومتر، لیوفیلیزه شدند (۲۷).

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره اتانولی گیاه گلپر و پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلانتاروم در حالات به تنهایی و ترکیبی بر روی سالمونلا تیفی موریوم:

باکتری سالمونلا تیفی موریوم از کلکسیون میکروبی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه تهیه شد. ابتدا با استفاده از استاندارد کدورت نیم مک فارلند تعداد تقریبی 10^8 cfu/ml $\times 1/5$ از باکتری سالمونلا تهیه شد. سپس در سالین سترون تا 10^6 cfu/ml $\times 1/5$ برای تعیین MIC استفاده شد. برای تعیین MIC، از روش

میکرودايلوشن و میکروپلیت های سترون ۹۶ چاهکی استفاده شد. برای این منظور، ابتدا یک غلظت اولیه ۱۰۲۴۰ میلی گرم بر دسی لیتر از عصاره و پالیده به ترتیب در حلال های دی متیل سولفو کساید ۱۰ درصد و آب مقطر سترون تهیه شد. سپس رقت های دوبرابر تا ۱۰ میلی گرم بر دسی لیتر از غلظت اولیه عصاره و پالیده در آبگوشت مولر هیتون تهیه شدند. در مرحله بعد، برای آزمایش عصاره و پالیده به تنهایی، مقدار ۱۶۰ میکرو لیتر از آبگوشت مولر هیتون، ۲۰ میکرو لیتر از غلظت های آماده شده عصاره یا پالیده و ۲۰ میکرو لیتر از اینوکولوم باکتریایی به چاهک ها افزوده شدند. در حالت ترکیبی، ۱۴۰ میکرو لیتر از آبگوشت مولر هیتون، ۲۰ میکرو لیتر از غلظت های آماده شده عصاره، ۲۰ میکرو لیتر از غلظت های آماده شده پالیده و ۲۰ میکرو لیتر از اینوکولوم باکتریایی به چاهک ها افزوده شدند. کنترل های لازم به منظور بررسی استریل بودن میکروپلیت ها (کنترل منفی) و رشد باکتری مورد آزمایش (کنترل مثبت) تنظیم شدند. میکروپلیت ها توسط دستگاه تکان دهنده گردابی میکروپلیت، به مدت ۱-۲ دقیقه مخلوط و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۱۸-۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شدند. چاهک های شفاف و کدر با مقایسه کنترل های مثبت و منفی به صورت چشمی مشخص شدند. دو چاهک شفاف اول و دو چاهک کدر آخر برای تعیین مقادیر MIC و MBC در پلیت کانت آگار کشت سطحی داده شدند. غلظتی که ۹۰ درصد از اینوکولوم اولیه را از بین ببرد، MIC و غلظتی که ۹۹/۹ درصد از اینوکولوم اولیه را از بین ببرد، MBC در نظر گرفته شدند. برای ارزیابی برهم کنش متقابل و اثر ضدباکتریایی تلفیقی بین ترکیبات مورد مطالعه، شاخص غلظت مهارکنندگی کسری^۱ با استفاده از فرمول زیر محاسبه و براساس معیارهای جدول ۱ تفسیر شد (۲۸، ۲۹ و ۳۰).

$$\text{MIC ماده ضد میکروب به صورت ترکیبی} \\ \text{MIC ماده ضد میکروب به صورت تنهایی} = \text{شاخص غلظت مهار کنندگی کسری (FICI)}$$

¹ - Fractional inhibitory concentration index (FICI)

جدول ۱: تفسیر مقادیر FICI

ردیف	مقدار	برهم کنش
۱	$\leq 0/5$	سینرژسم
۲	$0/5 > 1$	افزایشی
۳	$1 > 4$	بدون تاثیر
۴	> 4	آنتاگونیسم

تحلیل آماری داده‌های حاصله با استفاده از نرم‌افزار IBM SPSS Statistics 25 (SPSS25، شرکت شیکاگو، IL، USA) انجام شد. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف-اسمیرنوف^۱ و سپس همگنی واریانس داده‌ها با آزمون لون^۲ بررسی شد. در مرحله بعد برای داده‌های با توزیع نرمال جهت بررسی تأثیر تعاملی غلظت پالیده لاکتوباسیلوس پلانتاروم (صفر تا ۰/۲ درصد)، غلظت عصاره الکلی گلپر (صفر تا ۰/۲ درصد)، غلظت ترکیب همزمان پالیده لاکتوباسیلوس پلانتاروم و عصاره الکلی گلپر با روزهای نگهداری در شرایط یخچال (۱، ۳، ۷ و ۱۰) روی شمارش پلیت استاندارد و سالمونلا تیفی موریوم (log cfu/g) و pH گوشت چرخ‌شده سینه مرغ از تحلیل واریانس دوطرفه^۳ برای گروه‌های مستقل استفاده شد. همچنین با استفاده از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه^۴ و آزمون تکمیلی توکی^۵، اختلاف میانگین شمارش پلیت استاندارد و سالمونلا تیفی موریوم و pH گوشت چرخ‌شده سینه مرغ برحسب تیمارهای مورد مطالعه و روزهای مختلف نگهداری در شرایط یخچال، بررسی گردید. لازم به ذکر است در تمامی مراحل تجزیه و تحلیل، خطای مجاز برای رد فرض صفر (H_0)، ۵ درصد در نظر گرفته شد و برای کاهش خطا، آزمایشات در ۳ تکرار انجام گردید. همچنین رسم نمودارها بصورت میانگین $\pm$ انحراف معیار (Mean $\pm$ SD) با استفاده از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۹ صورت گرفت.

نتایج:

مقایسه نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره اتانولی

ارزیابی اثر عصاره اتانولی گیاه گلپر و پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلانتاروم در حالات به‌تنهایی و ترکیبی بر روی رشد سالمونلا تیفی موریوم و ماندگاری گوشت چرخ‌شده سینه مرغ:

برای این منظور ۴ تیمار شاهد (بدون عصاره و پالیده و دارای باکتری)، تیمار عصاره (دارای عصاره و باکتری)، تیمار پالیده (دارای پالیده و باکتری) و تیمار ترکیبی (دارای عصاره و پالیده و باکتری) تهیه شد. تیمارها در ۳ تکرار تهیه و آزمایش شدند. برای تهیه اینوکولوم سالمونلا از روش استاندارد کدورت نیم مک فارلند ($10^4 \times 1/5$) استفاده شد. سپس برای افزودن به گوشت چرخ‌کرده به‌میزان 10^4 برابر رقیق و به ۱۰ گرم گوشت چرخ‌کرده افزوده شده و در نهایت تعداد اینوکولوم باکتریایی در گوشت چرخ‌کرده به cfu/g 10^3 رسید. گوشت سینه مرغ از محصولات تولید به روز کشتارگاه مرغ خانگی شهرستان ارومیه تهیه و در آزمایشگاه با رعایت شرایط سترون چرخ‌کرده و برای تهیه تیمارها استفاده شد. غلظت‌های مورد آزمایش عصاره و پالیده در تیمارها ۰/۲۵ و ۰/۱ و ۰/۰۵ و ۰/۲ درصد (وزنی/وزنی) بود. پس از تهیه، تیمارها در دمای ۲ درجه سلسیوس در یخچال نگهداری و آزمایش‌های شمارش سالمونلا، شمارش پلیت استاندارد و اندازه‌گیری pH در روزهای ۱، ۳، ۷ و ۱۰ نگهداری انجام شد (۳۱، ۳۲ و ۳۳).

روش انجام آزمون آماری (تجزیه و تحلیل اطلاعات):

^۴ . Oneway Anova

^۵ . Tukey HSD

^۱ . Kolomogorav – Smirnov

^۲ . Leven

^۳ . Univariate Analysis of Variance

گیاه گلپر و پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلاتناروم در حالات به تنهایی و ترکیبی بر روی سالمونلا تیفی موریوم:

نتایج آزمایش تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی نشان داد عصاره اتانولی گلپر به تنهایی توانست با حداقل غلظت 64 mg/dl از رشد باکتری سالمونلا تیفی موریوم جلوگیری کند. حداقل غلظت بازدارندگی از رشد سالمونلا متأثر از پالیده لاکتوباسیلوس پلاتناروم به تنهایی غلظت 512 mg/dl به دست آمد. هم چنین نتایج حاکی است ترکیب همزمان پالیده و عصاره توانست با حداقل غلظت 32 mg/dl از رشد سالمونلا

ممانعت کند که نسبت به حداقل غلظت بازدارندگی از رشد سالمونلا متأثر از پالیده و عصاره به تنهایی کمتر بوده و با توجه به نتایج محاسبه شاخص غلظت مهارکنندگی کسری (FICI=0/562)، ترکیبات مذکور در حالت تلفیقی اثر افزایشی داشتند. نتایج مربوط به تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد و حداقل غلظت کشندگی عصاره اتانولی گیاه گلپر و پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلاتناروم در حالات به تنهایی و ترکیبی در مقابل سالمونلا تیفی موریوم در جدول ۲ نشان داده شده است.

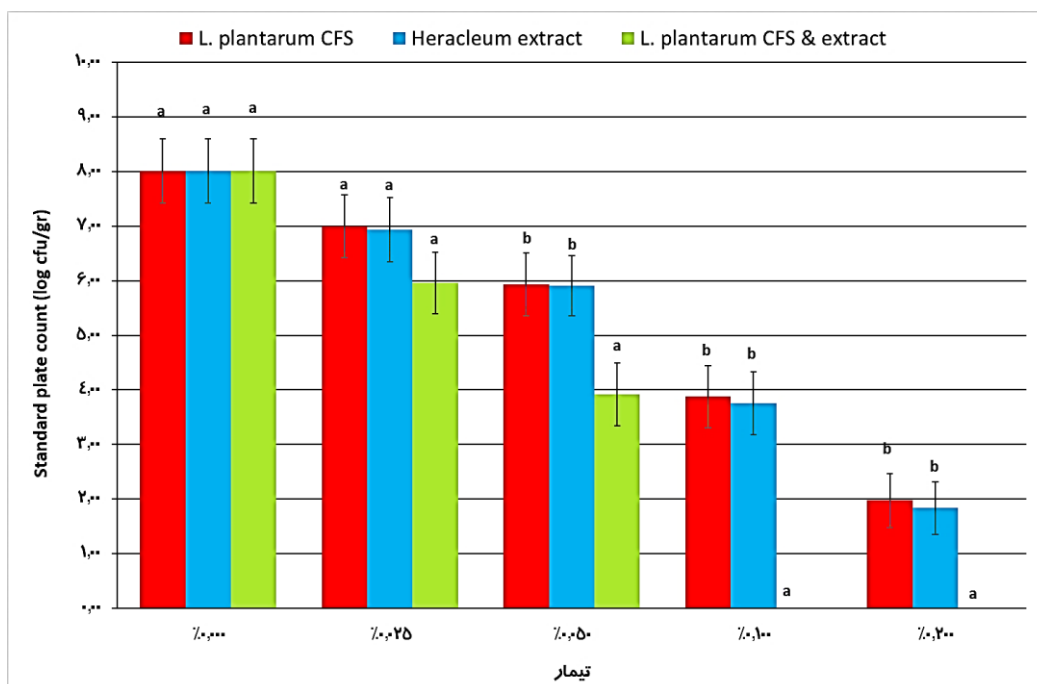
جدول ۲: مقایسه حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) (برحسب میلی گرم بر دسی لیتر) عصاره اتانولی گیاه گلپر و پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلاتناروم در حالات به تنهایی و ترکیبی بر روی سالمونلا تیفی موریوم

عصاره اتانولی		پالیده عاری از سلول		پالیده عاری از سلول + عصاره اتانولی	
MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC
۱۲۸/۰±۰/۰	۵۱۲/۰±۰/۰	۱۰۲۴/۰±۰/۰	۳۲/۰±۰/۰	۶۴/۰±۰/۰	۶۴/۰±۰/۰

مقایسه نتایج تأثیر غلظت های مختلف پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلاتناروم و عصاره اتانولی گیاه گلپر در حالات به تنهایی و ترکیبی بر روی میانگین شمارش پلیت استاندارد (log cfu/g) متأثر از کل روزهای نگهداری در گوشت چرخ شده سینه مرغ:

همان گونه که در نمودار ۱ نشان داده شده است میانگین شمارش پلیت استاندارد (log cfu/g) در غلظت های مختلف متأثر از کل روزهای نگهداری به استثنای غلظت ۰/۰۲۵ درصد، در حالت ترکیب همزمان پالیده عاری از سلول و

عصاره نسبت به پالیده عاری از سلول و عصاره به تنهایی به صورت معنی داری پایین تر بود ($p < 0/05$). از سویی، میانگین شمارش پلیت استاندارد (log cfu/g) در غلظت های مختلف متأثر از کل روزهای نگهداری بین پالیده عاری از سلول و عصاره به تنهایی تفاوت آماری معنی داری نداشتند ($p > 0/05$). هم چنین میانگین شمارش پلیت استاندارد در بین تیمارهای مختلف متأثر از کل روزهای نگهداری به صورت وابسته به غلظت کاهش یافت؛ به طوری که در غلظت ۰/۰۲۵ درصد بالاترین شمارش و در غلظت ۰/۲ درصد پایین ترین شمارش مشاهده گردید (نمودار ۱).

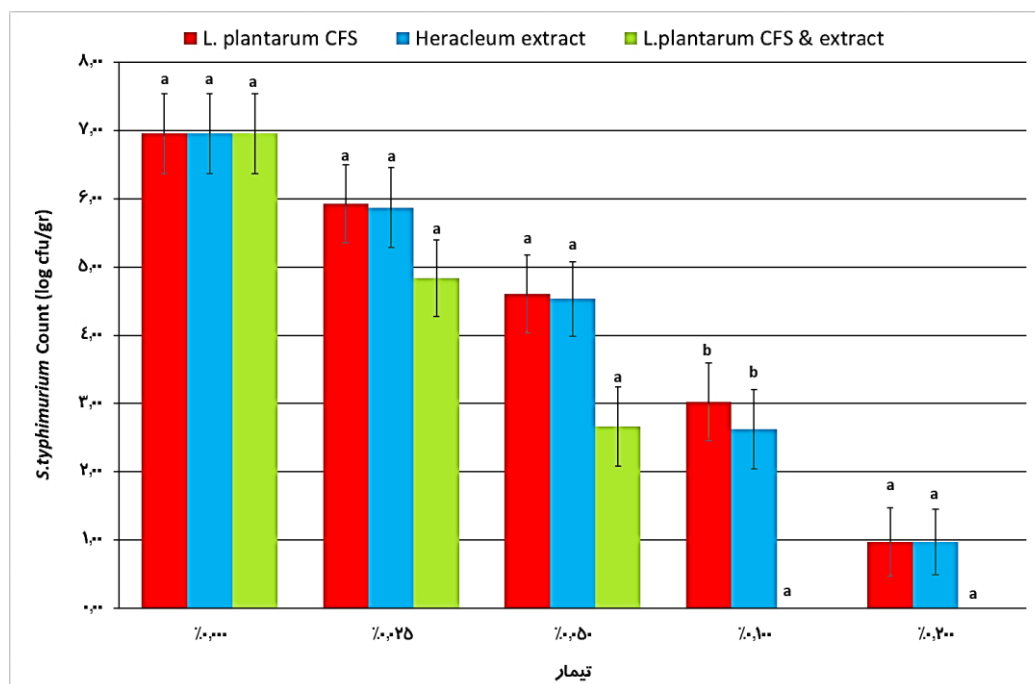


نمودار ۱: مقایسه میانگین $\pm$ انحراف معیار شمارش پلِت استاندارد (log cfu/g) در غلظت‌های مختلف پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلاتناروم و عصاره اتانولی گلپر در حالات به‌تنهایی و ترکیبی متاثر از کل روزهای نگهداری (حروف نامشابه در ستون‌ها نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0/05$ می‌باشد).

عصاره به‌تنهایی پایین‌تر بود؛ این تفاوت به استثنای غلظت ۰/۱ درصد در سایر غلظت‌ها معنی‌دار نبود. از سویی، میانگین شمارش سالمونلا (log cfu/g) در غلظت‌های مختلف متاثر از کل روزهای نگهداری بین پالیده عاری از سلول و عصاره به‌تنهایی تفاوت آماری معنی‌داری نداشتند ($p > 0/05$). هم‌چنین میانگین شمارش سالمونلا در بین تیمارهای مختلف متاثر از کل روزهای نگهداری به‌صورت وابسته به غلظت کاهش یافت؛ بطوری‌که در غلظت ۰/۰۲۵ درصد بالاترین شمارش و در غلظت ۰/۲ درصد پایین‌ترین شمارش مشاهده گردید (نمودار ۲).

مقایسه نتایج تأثیر غلظت‌های مختلف پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلاتناروم و عصاره اتانولی گیاه گلپر در حالات به‌تنهایی و ترکیبی بر روی میانگین شمارش سالمونلا تیفی‌موریوم (log cfu/g) متاثر از کل روزهای نگهداری در گوشت چرخ شده سینه مرغ:

همان‌گونه که در نمودار ۲ نشان داده شده است میانگین شمارش سالمونلا (log cfu/g) در غلظت‌های مختلف متاثر از کل روزهای نگهداری در حالت ترکیب همزمان پالیده عاری از سلول و عصاره نسبت به پالیده عاری از سلول و

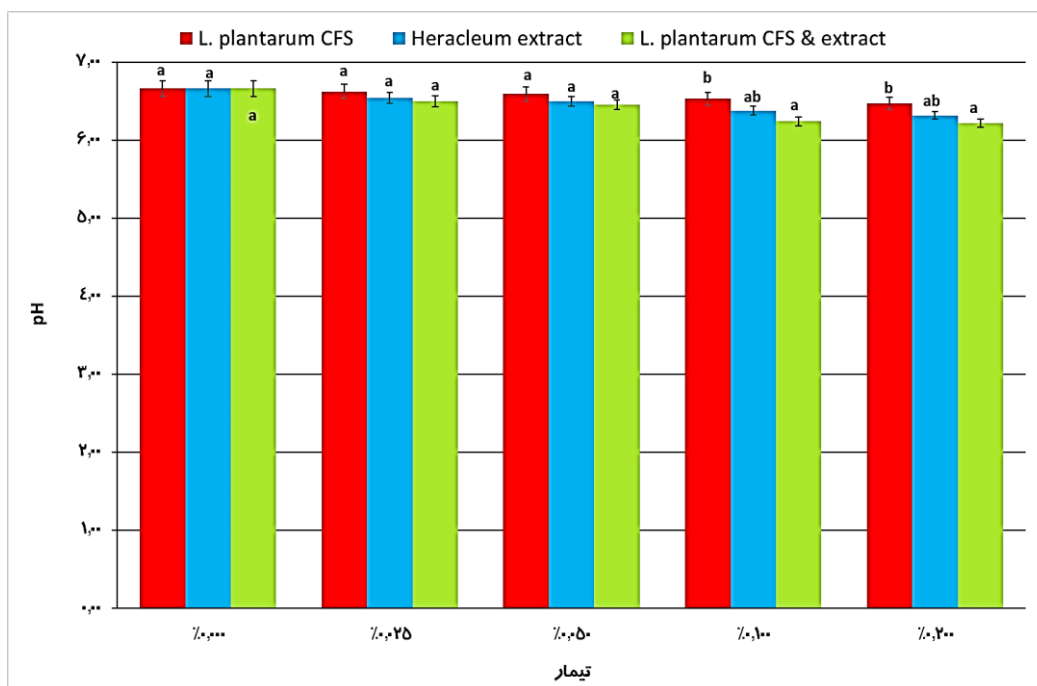


نمودار ۲: مقایسه میانگین $\pm$ انحراف معیار شمارش سالمونلا (log cfu/g) در غلظت‌های مختلف پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلانتاروم و عصاره اتانولی گلپر در حالات به‌تنهایی و ترکیبی متاثر از کل روزهای نگهداری (حروف نامشابه در ستون‌ها نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0/05$ می‌باشد).

عصاره اتانولی به‌تنهایی پایین‌تر بود؛ این تفاوت در غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲ درصد بین تیمارهای ترکیب همزمان پالیده عاری از سلول و عصاره اتانولی و پالیده عاری از سلول به‌تنهایی معنی‌دار بودند ($p < 0/05$). هم‌چنین میانگین pH گوشت چرخ شده در بین تیمارهای مختلف متاثر از کل روزهای نگهداری به‌صورت وابسته به غلظت کاهش یافت؛ بطوری‌که در غلظت ۰/۲۵ درصد بالاترین pH و در غلظت ۰/۲ درصد پایین‌ترین pH مشاهده گردید (نمودار ۳).

مقایسه نتایج تأثیر غلظت‌های مختلف پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلانتاروم و عصاره اتانولی گیاه گلپر در حالات به‌تنهایی و ترکیبی بر روی میانگین pH گوشت چرخ شده سینه مرغ متاثر از کل روزهای نگهداری:

همان‌گونه که در نمودار ۳ نشان داده شده است میانگین pH گوشت چرخ شده در غلظت‌های مختلف متاثر از کل روزهای نگهداری در حالت ترکیب همزمان پالیده عاری از سلول و عصاره اتانولی نسبت به پالیده عاری از سلول



نمودار ۳: مقایسه میانگین $\pm$ انحراف معیار pH گوشت چرخ شده سینه مرغ در غلظت‌های مختلف پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلاتناروم و عصاره اتانولی گلپر متاثر در حالات به تنهایی و ترکیبی از کل روزهای نگهداری (حروف نامشابه در ستون‌ها نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0/05$ می‌باشد).

میانگین شمارش پلیت استاندارد در روز اول و بالاترین شمارش در روز دهم نگهداری در شرایط یخچالی مشاهده شد. هم‌چنین در بین روزهای مختلف نگهداری، پایین‌ترین شمارش پلیت استاندارد در تیمار ترکیب همزمان پالیده عاری از سلول و عصاره اتانولی مشاهده گردید؛ ولی تفاوت میانگین شمارش پلیت استاندارد در روزهای اول، سوم، هفتم و دهم نگهداری در تیمارهای مختلف معنی‌دار نبود ($p > 0/05$) (جدول ۲).

مقایسه نتایج تاثیر روزهای مختلف نگهداری گوشت چرخ شده سینه مرغ بر روی میانگین شمارش پلیت استاندارد (log cfu/g) در حالات به تنهایی و ترکیبی پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلاتناروم و عصاره اتانولی گلپر متاثر از کل غلظت‌ها:

همان گونه در جدول ۲ نشان داده شده است میانگین شمارش پلیت استاندارد (log cfu/g) متاثر از کل غلظت‌ها در تیمارهای مختلف با افزایش روزهای نگهداری از روز اول تا روز دهم نگهداری افزایش می‌یابد؛ به‌طوری‌که پایین‌ترین

جدول ۲: مقایسه میانگین $\pm$ انحراف معیار شمارش پلیت استاندارد (log cfu/g) در روزهای مختلف نگهداری گوشت چرخ شده سینه مرغ در حالات به تنهایی و ترکیبی پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلاتناروم و عصاره اتانولی گلپر متاثر از کل غلظت‌ها

روز نگهداری				تیمار
اول	سوم	هفتم	دهم	
۲/۴۵±۱/۹۳ ^a	۴/۴۵±۲/۰۹ ^a	۵/۴۸±۲/۰۸ ^a	۶/۳۸±۲/۱۴ ^a	پالیده عاری از سلول
۲/۴۲±۱/۹۳ ^a	۴/۳۱±۲/۱۶ ^a	۵/۳۶±۲/۱۸ ^a	۶/۳۲±۲/۱۵ ^a	عصاره اتانولی
۱/۳۱±۱/۶۱ ^a	۲/۳۴±۲/۶۳ ^a	۲/۸۸±۳/۱۷ ^a	۳/۳۳±۳/۶۴ ^a	پالیده عاری از سلول + عصاره اتانولی
۰/۳۸۶	۰/۱۵۰	۰/۰۹۰	۰/۰۶۰	معنی داری

حروف نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0/05$ می‌باشد.

مقایسه نتایج تاثیر روزهای مختلف نگهداری گوشت چرخ شده سینه مرغ بر روی میانگین شمارش سالمونلا تیفی موریوم (log cfu/g) در حالات به تنهایی و ترکیبی پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلاتناروم و عصاره اتانولی گلپر متاثر از کل غلظت ها:

همان گونه در جدول ۳ نشان داده شده است میانگین شمارش سالمونلا (log cfu/g) متاثر از کل غلظت ها در تیمارهای مختلف با افزایش روزهای نگهداری از روز اول تا روز دهم

نگهداری افزایش می یابد؛ بطوری که پایین ترین میانگین شمارش سالمونلا در روز اول و بالاترین شمارش در روز دهم نگهداری در شرایط یخچالی مشاهده شد. هم چنین در بین روزهای مختلف نگهداری، پایین ترین شمارش سالمونلا در تیمار ترکیب همزمان پالیده عاری از سلول و عصاره اتانولی مشاهده گردید ولی تفاوت میانگین شمارش سالمونلا در روزهای اول، سوم، هفتم و دهم نگهداری در تیمارهای مختلف معنی دار نبود ($p > 0.05$) (جدول ۳).

جدول ۳: میانگین $\pm$ انحراف معیار شمارش سالمونلا تیفی موریوم (log cfu/g) در روزهای مختلف نگهداری گوشت چرخ شده سینه مرغ در حالات به تنهایی و ترکیبی پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلاتناروم و عصاره اتانولی گلپر متاثر از کل غلظت ها

تیمار	روز نگهداری			
	اول	سوم	هفتم	دهم
پالیده عاری از سلول	1.70 ± 1.41^a	3.21 ± 2.30^a	4.34 ± 2.16^a	5.27 ± 2.11^a
عصاره اتانولی	1.28 ± 1.59^a	3.13 ± 2.26^a	4.30 ± 2.13^a	5.26 ± 2.12^a
پالیده عاری از سلول + عصاره اتانولی	0.62 ± 1.14^a	1.75 ± 2.02^a	2.29 ± 2.58^a	2.83 ± 3.11^a
معنی داری	۰/۳۱۷	۰/۳۴۸	۰/۱۵۱	۰/۱۰۳

حروف نامشابه در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح $p < 0.05$ می باشد.

مقایسه نتایج تاثیر روزهای مختلف نگهداری بر روی میانگین pH گوشت چرخ شده سینه مرغ در حالات به تنهایی و ترکیبی پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلاتناروم و عصاره اتانولی گلپر متاثر از کل غلظت ها:

همان گونه که در جدول ۴ نشان داده شده است در تیمارهای مختلف با افزایش روزهای نگهداری گوشت چرخ کرده تحت تاثیر تیمارهای مختلف، میانگین pH افزایش می باید؛ بطوری که پایین ترین pH در روز اول نگهداری و بالاترین pH در روز دهم نگهداری مشاهده شد. هم چنین میانگین pH گوشت چرخ شده در روزهای مختلف نگهداری تحت تاثیر

تیمارهای مختلف، در روزهای اول و سوم نگهداری تفاوت معنی داری نداشتند؛ ولی میانگین pH گوشت چرخ شده در روزهای هفتم و دهم نگهداری در تیمار پالیده عاری از سلول به تنهایی نسبت به سایر تیمارها به صورت معنی داری بالاتر بود ($p < 0.05$). از سویی، میانگین pH گوشت چرخ شده تحت تاثیر تیمارهای مختلف در روزهای مختلف نگهداری در تیمار ترکیب همزمان پالیده عاری از سلول و عصاره اتانولی در مقایسه با سایرین پایین تر بود؛ که به نظر می رسد این تیمار می تواند در افزایش ماندگاری گوشت چرخ شده در مقایسه با سایر تیمارها موثرتر باشد.

جدول ۴: مقایسه میانگین $\pm$ انحراف معیار pH گوشت چرخ شده سینه مرغ در روزهای مختلف نگهداری در حالات به نهایی و ترکیبی پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلاتاروم و عصاره اتانولی گلپر متاثر از کل غلظت ها

تیمار	روز نگهداری			
	اول	سوم	هفتم	دهم
پالیده عاری از سلول	۶/۳۳±۰/۱۱ ^a	۶/۳۵±۰/۱۰ ^a	۶/۷۲±۰/۱۱ ^b	۶/۸۲±۰/۰۹ ^b
عصاره اتانولی	۶/۲۹±۰/۱۲ ^a	۶/۳۰±۰/۱۱ ^a	۶/۵۳±۰/۱۴ ^a	۶/۶۱±۰/۱۲ ^a
پالیده عاری از سلول + عصاره اتانولی	۶/۲۰±۰/۱۵ ^a	۶/۲۳±۰/۱۵ ^a	۶/۴۵±۰/۱۵ ^a	۶/۵۲±۰/۱۶ ^a
معنی داری	۰/۱۵۷	۰/۱۶۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰۱

حروف نامشابه در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح $p < 0/05$ می باشد.

بحث:

عوامل بیماریزای غذایی به ویژه *سالمونلا تیفی* موریوم یکی از عوامل اصلی عفونت های غذایی در سطح جهان محسوب می شوند و حضور آن در فرآورده های گوشتی نگرانی جدی ایجاد می کند (۳۴ و ۳۵) به طور کلی، کنترل عوامل بیماریزای غذایی در صنایع غذایی غالباً بر رعایت موازین بهداشتی و استفاده از افزودنی های شیمیایی متکی است؛ با این حال، افزایش تمایل مصرف کنندگان به ترکیبات طبیعی و فشارهای ناشی از مقاومت آنتی بیوتیکی، پژوهش های گسترده ای را بر استفاده از ترکیبات گیاهی و متابولیت های پروبیوتیک متمرکز کرده است (۳۶ و ۳۷).

نتایج این مطالعه نشان داد عصاره اتانولی گلپر دارای فعالیت ضدباکتریایی قابل توجه علیه *سالمونلا تیفی* موریوم می باشد ($MIC = 64 \text{ mg/dl}$) که این یافته با بسیاری از گزارش های پیشین در مورد اثرات ضدباکتریایی اسانس و عصاره گیاه گلپر سازگار است. در یک بررسی نشان داده شد که اسانس گلپر ایرانی دارای خصوصیت ضدباکتریایی خوبی می باشد و بیشترین مقدار MIC (۳۲ درصد) بر روی *سالمونلا تیفی* و کمترین مقدار (۸ درصد)، بر روی *ویبریو کلرا* گزارش شد (۱۷). در بررسی دیگر، رضائیان و احسانی ترکیب شیمیایی و خواص ضدباکتریایی اسانس گلپر ایرانی را مطالعه نمودند. هگزیل بوتانوات (۲۵/۹۸ درصد)، اکلیل ایزوبوتیرات

(۱۷/۸۲ درصد)، اکلیل ۲-متیل بوتیرات (۱۴/۳۷ درصد) و پنتیل سیکلوپروپان (۱۲/۷۷ درصد) به عنوان اجزای اصلی اسانس شناخته شدند. مقادیر MIC برای باکتری های مورد بررسی *اشریشیا کلی* و *لیستریا مونوسیژنوز* به ترتیب ۵ و ۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد (۳۸). کوشا و بیات در یک بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره متانولی بخش های برگ و گل گیاه گلپر ایرانی را بر روی ۴ باکتری بیماریزای گرم مثبت و ۴ باکتری بیماریزای گرم منفی نشان دادند (۳۹). در مطالعه ای دیگر، استرهای آلیفاتیک، الکل های آلیفاتیک، استرهای مونوترپن عمده ترکیبات شناسایی شده در اسانس دانه های رسیده و نرسیده گلپر ایرانی بودند (۴۰). اساساً اثرات ضد میکروبی و سایر خواص بیولوژیکی یک اسانس و یا عصاره در ارتباط با ترکیبات عمده موجود در آن می باشد؛ اما گاهی اوقات، اثر سینرژیستی و آنتاگونیستی یکی از اجزایی که به مقدار بسیار کم در ترکیب اسانس وجود دارد، نقش کلیدی در ارتباط با خواص اسانس ایفا می کند (۴۱). از طرفی، ترکیبات موجود در اسانس یا عصاره حاصل از قسمت های مختلف گیاه متفاوت بوده و در مراحل مختلف رسیدن گیاه نیز تغییرات گسترده ای می یابد. شرایط اقلیمی، زمان برداشت، مدت زمان نگهداری، نحوه استخراج عصاره و یا اسانس و تفاوت های ژنتیکی گیاه، بر روی نوع و میزان

ترکیبات موجود در عصاره یا اسانس گیاهان تاثیر گذار است (۴۲).

همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد که پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلاتناروم به تنهایی نیز دارای اثر ضدباکتری بر روی سالمونلا تیفی موریوم می باشد ($MIC=512 \text{ mg/dl}$). این یافته، با نتایج مطالعات گذشته در این زمینه سازگار می باشد. Kim و همکاران نشان دادند CFS سویه NIBR97 لاکتوباسیلوس پلاتناروم که از کیمچی (یک نوع غذای تخمیر شده کره ای) جداسازی شده بود؛ فعالیت ضد باکتریایی بالاتری نسبت به سایر سویه های لاکتوباسیلوس پلاتناروم در برابر باکتری *Salmonella enteritidis*^۲ دارد. همچنین این محققین نشان دادند این سویه دارای فعالیت های ضد باکتریایی در برابر طیف وسیعی از باکتری های بیماری زا است. تیمار CFS با پروتئیناز K منجر به کاهش قابل توجه فعالیت ضدباکتریایی آن علیه سالمونلا شد. بنابراین، این نتایج تأیید می کند که فعالیت های ضد باکتریایی CFS حاصل از NIBR97 عمدتاً توسط پروتئین ها یا پپتیدهای آن که به عنوان AMP^۳ عمل می کنند، انجام می شود (۴۳). در مطالعه دیگر، Çobur و همکاران اثرات ضدباکتریایی پست بیوتیک^۴ لیوفیلیزه لاکتی پلاتناتی باسیلوس پلاتناروم^۵ (نام جدید لاکتوباسیلوس پلاتناروم) را بر روی طیف وسیعی از باکتری های بیماریزا بویژه سالمونلا تیفی موریوم را با MIC برابر ۱۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر گزارش کردند (۴۴). Arrioja-Bretón و همکاران در یک مطالعه، گزارش نمودند که CFS لاکتوباسیلوس پلاتناروم سویه NRRL B-4496 در مقایسه با CFS سایر لاکتوباسیلوس های مورد آزمایش بیشترین قطر منطقه مهار را در برابر سالمونلا تیفی موریوم (۲۴/۹۸ میلی متر) دارد. همچنین این محققین نشان دادند هنگامی که pH برای اکثر CFS های آزمایش شده روی ۶/۵ تنظیم شد، خواص ضد میکروبی آن ها از بین رفت، در حالی که تنها CFS

باسیلوس پلاتناروم فعالیت ضد میکروبی خود را حفظ کرد، که هنگام تیمار با پروتئیناز K از بین رفت. بنابراین فعالیت ضد میکروبی CFS های مورد آزمایش به غیر از لاکتوباسیلوس پلاتناروم عمدتاً به اسیدهای آلی نسبت داده شد (۴۵). Xi و همکاران در یک مطالعه، فعالیت های ضد باکتریایی و ضد بیوفیلمی CFS مشتق شده از لاکتوباسیلوس پلاتناروم X (سویه ای جدا شده از کیمچی تخمیر شده) را در برابر پاتوژن های لیستریا مونوسیژنر و سالمونلا انتریتیدیس ارزیابی کردند. CFS این سویه اثر ضدباکتریایی و ضدبیوفیلمی قوی نشان داد. سنجش های پایداری حرارتی نشان داد که CFS حتی پس از غیرفعال سازی در دمای بالا (۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه) فعالیت ضدباکتریایی قابل توجهی را حفظ می کند که نشان دهنده وجود ترکیبات زیست فعال مقاوم در برابر حرارت است. مطالعات مقایسه ای با بافرهای اسید هیدروکلریک در سطوح pH معادل تأیید کرد که اسیدهای آلی عامل اصلی فعالیت CFS نیستند، که نشان دهنده دخالت باکتریوسین ها یا سایر پپتیدهای ضدباکتریایی است (۴۶). بنابراین تفاوت در غلظت و نوع ترکیبات CFS (باکتریوسین ها، اسیدهای آلی، پپتیدهای AMPs)، مکانیسم اثر مولکولی مختلف CFS (تخریب غشای سالمونلا، کاهش بیان ژن های ویروالانس، تاثیر بر تشکیل بیوفیلم) و شرایط آزمایشی و محیطی مختلف (pH و خنثی سازی، نوع سالمونلا و شرایط کشت) سبب شده است که اثر ضدباکتریایی CFS لاکتوباسیلوس پلاتناروم روی سالمونلا در مطالعات مختلف، متفاوت گزارش گردد (۴۳، ۴۶، ۴۷ و ۴۸).

یکی از نتایج قابل توجه این تحقیق، اثر افزایشی^۶ تلفیق عصاره گلپر و پالیده لاکتوباسیلوس پلاتناروم بود ($FICI=0/562$)، که در مقایسه با اثرات مستقل هر عامل، MIC ترکیبی به ۳۲ mg/dl کاهش یافت. این کاهش در MIC بدین معناست که

^۵ - *Lactiplantibacillus plantarum*

^۶ - Additive

^۱ - Kimchi

^۲ - *Salmonella enteritidis*

^۳ - Antimicrobial peptides (AMPs)

^۴ - Postbiotics

ترکیب عصاره گلپر و CFS قادر است مقدار ماده مورد نیاز برای رسیدن به اثر ضدباکتریایی را کاهش دهد؛ این امر می‌تواند عوارض جانبی کمتر، بهره‌وری بالاتر و کاهش خطر مقاومت‌های نوظهور را همراه داشته باشد، موضوعی که در ادبیات علمی درباره تلفیق پروبیوتیک‌ها و سایر عوامل طبیعی به صورت کلی مورد حمایت قرار گرفته است (۴۹). اگرچه بررسی‌های مستقیم درباره عصاره گلپر در ترکیب با CFS لاکتوباسیلوس پلاتناروم در مقالات منتشرشده (تا زمان جستجو) یافت نشد؛ ولی مطالعات مختلف در حوزه تلفیق CFS لاکتوباسیلوس با ترکیبات گیاهی یا آنتی‌بیوتیک‌ها نشان داده‌اند که این نوع تعاملات می‌تواند اثر ضدباکتریایی را به صورت افزایشی یا هم‌افزا^۱ تقویت کنند. Aminnezhad و همکاران گزارش نمودند که تلفیق CFS لاکتوباسیلوس پلاتناروم با آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و آزیترومایسین باعث کاهش MIC بر روی سودوموناس آیزوژینوزا^۲ و برهم‌کنش هم‌افزایی شد (۵۰). Fadare و همکاران نشان دادند که تلفیق CFS لاکتوباسیلوس پلاتناروم سویه NG6 با عصاره آبی سیر اثر ضد میکروبی هم‌افزایی بر روی سالمونلا تیفی و تیفی‌موریوم دارد (۵۱). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که مشاهده برهم‌کنش افزایشی در تلفیق‌ها به نوع عصاره گیاهی، نوع متابولیت‌های CFS و شرایط آزمایشگاهی (pH، دوز، نوع باکتری) بستگی دارد (۵۱). مکانیسم احتمالی این اثر ترکیبی می‌تواند به افزایش نفوذپذیری غشای باکتری توسط ترکیبات فنولی عصاره گیاهی، عمل به صورت چند مسیر مهار همزمان (ترکیب عصاره و CFS ممکن است به صورت همزمان ساختار بیوفیلم، مسیرهای ویروالانس و روندهای متابولیک را مختل کند) و جلوگیری از افزایش pH حفظ تعادل ضدباکتریایی (اسیدهای تولیدشده در CFS می‌توانند pH محیط را پایین آورده و اثر عصاره‌ها را تقویت کنند) بازگردد که منجر به مهار بهتر رشد سالمونلا می‌شود (۵۳-۵۱).

^۱ - Synergism

در حالت ترکیبی موجب کاهش معنی‌دار SPC و SC در گوشت چرخ‌شده طی نگه‌داری سرد شدند. گرچه مطالعات محدودی در زمینه تاثیر استفاده مستقیم از عصاره یا اسانس گلپر بر روی عوامل بیماری‌زای منتقله از غذا در گوشت چرخ‌شده وجود دارد؛ ولی مطالعاتی به اثرات ضدباکتریایی فرم نانومولسیون و نیز ترکیب آن با پوشش‌های مختلف پرداخته‌اند. Hamzehie و Roomiani در یک مطالعه نشان داده‌شد که تیمار ۲ درصد نانومولسیون اسانس گلپر ماندگاری ناگت مرغ را در مقایسه با گروه کنترل ۳ روز افزایش می‌دهد (۵۴). Mohammadpourfard و همکاران اثر ضدباکتریایی کیتوزان پوشش داده‌شده با اسانس گلپر را بر کیفیت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی نمودند. این محققین نشان دادند که با افزایش مقدار کیتوزان شمارش کلی باکتری‌های زنده، شمارش باکتری‌های سرما دوست و مواد از ته فرار تام در مقایسه با گروه کنترل کاهش می‌یابد (۵۵). Burt نشان داد که ترکیبات فنولی موجود در اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی با تخریب غشای سلولی و افزایش نفوذپذیری، موجب نشت محتویات سلولی باکتری‌های گرم منفی از جمله سالمونلا می‌شوند (۴۱).

همچنین در تحقیقات متعدد به اثر ضدباکتریایی CFS لاکتوباسیلوس پلاتناروم و نیز تاثیر آن در افزایش ماندگاری ماتریکس غذایی اشاره شده است. Arrioja-Bretón و همکاران نشان دادند که CFS لاکتوباسیلوس پلاتناروم در کاهش بار میکروبی باکتری‌های تلقیح‌شده در گوشت گاو عمدتاً سالمونلا تیفی‌موریوم و لیستریا مونوسیژنر مؤثر می‌باشد (۴۵). Liang و همکاران گزارش نمودند که استفاده از CFS لاکتی‌پلاتنتی‌باسیلوس پلاتناروم سویه SHY96 (LCFS96) به طور قابل توجهی تعداد باکتری‌های زنده لیستریا مونوسیژنر سویه ۰۲ را ۸۴/۹۳ درصد کاهش می‌دهد؛ درحالی‌که pH، مواد از ته بازی فرار تام (TVB-N) و خواص ارگانولپتیک گوشت مرغ را در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ روز حفظ می‌کند. این یافته‌ها، مکانیسم ضد میکروبی و کاربرد بالقوه LCFS96 را در

^۲ - *Pseudomonas aeruginosa*

افزایش ماندگاری محصولات گوشتی برجسته می کند (۵۶). Wang و همکاران نشان دادند که استفاده از CFS لاکتوباسیلوس پلانتاروم سویه ۹۰ در غلظت ۰/۵ درصد رشد میکروارگانیسم ها را در ژل گوشت چرخ کرده گاو مهار کرده و ماندگاری آن را بدون تأثیر بر pH، افت پخت، رنگ و ویژگی های بافت محصول افزایش می دهد (۵۷). هم چنین، Tenea گزارش کرد که CFS لاکتوباسیلوس پلانتاروم سویه UTNCys5-4 در پوشش دهی گوشت توانست کاهش ۱/۵۵-۱/۹۱ لگاریتم cfu را در بار میکروبی تا روز ۹ ایجاد کند (۵۸). CFS حاصل از لاکتوباسیلوس پلانتاروم حاوی اسیدهای آلی، باکتریوسین ها نظیر پلانتاریسین^۱ و سایر متابولیت های ضد میکروبی است؛ Yang و همکاران نشان دادند که باکتریوسین های تولید شده توسط لاکتوباسیلوس پلانتاروم توانایی مهار پاتوژن های گرم منفی را در شرایط غذایی دارند (۵۹). این داده ها یافته های ما در زمینه کاهش SPC و SC و افت معنی دار pH نمونه ها را تأیید می کند. در تحقیق حاضر، میانگین کلی pH گوشت چرخ شده در تیمار حاوی ترکیب همزمان عصاره اتانولی گلپر و پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلانتاروم در مقایسه با کاربرد جداگانه هر یک از این ترکیبات، در کل دوره نگهداری به طور معنی داری پایین تر بود. این یافته نشان دهنده وجود یک اثر هم افزای احتمالی میان ترکیبات زیست فعال گیاهی و متابولیت های حاصل از باکتری های اسید لاکتیک است. کاهش pH در محصولات گوشتی تیمار شده با عصاره های گیاهی پیش تر نیز گزارش شده است. در یک متآنالیز جامع، Zhou و همکاران نشان دادند که استفاده از عصاره های طبیعی گیاهی در فرآورده های گوشتی به طور معنی داری موجب کاهش pH، مهار رشد میکروبی و بهبود پایداری اکسیداتیو می شود (۶۰). این اثر عمدتاً به حضور ترکیبات فنولیک، فلاونوئیدها و اسیدهای آلی نسبت داده شده است که از طریق اختلال در دیواره سلولی میکروارگانیسم ها و تغییر نفوذپذیری غشاء، رشد میکروب های فسادزا را محدود

می کنند (۶۴). همچنین گزارش شده است که آنتی اکسیدان های طبیعی می توانند با مهار اکسیداسیون لیپیدها، شرایط محیطی نامطلوب تری برای رشد باکتری های هوازی ایجاد کنند که این امر به طور غیرمستقیم در کاهش pH مؤثر است (۶۵). از سوی دیگر، نقش لاکتوباسیلوس پلانتاروم در کاهش pH محصولات گوشتی به خوبی مستند شده است. این باکتری از طریق تولید اسید لاکتیک و سایر متابولیت های آلی، سبب اسیدی شدن محیط و مهار رقابتی فلور فسادزا می شود (۶۱). در مطالعه ای بر گوشت تخمیری، استفاده از لاکتوباسیلوس پلانتاروم منجر به کاهش معنی دار pH و بهبود شاخص های ایمنی میکروبی شد (۶۱). همچنین کاربرد پوشش های زیستی حاوی این باکتری در نگهداری گوشت تازه، کاهش pH و بهبود پایداری طی دوره ذخیره سازی را نشان داد (۶۲). این کاهش pH نه تنها ناشی از تولید اسیدهای آلی است، بلکه می تواند حاصل تولید باکتریوسین ها و ترکیبات ضد میکروبی ثانویه نیز باشد که رشد باکتری های مولد آمین های بیوژن را محدود می کنند (۶۱). نکته قابل توجه در نتایج حاضر، شدت بیشتر کاهش pH در تیمار ترکیبی نسبت به تیمارهای منفرد است. این موضوع می تواند بیانگر اثر سینرژیک بین ترکیبات فنولیک موجود در عصاره گلپر و متابولیت های حاصل از لاکتوباسیلوس پلانتاروم باشد. گزارش شده است که ترکیب نگهدارنده های طبیعی گیاهی با سیستم های نگهدارنده زیستی^۲ مبتنی بر باکتری های اسید لاکتیک می تواند اثر ضد میکروبی قوی تری نسبت به کاربرد مجزا ایجاد کند (۶۴). ترکیبات فنولیک ممکن است با تضعیف غشاء سلولی باکتری های هدف، حساسیت آن ها را به اسیدهای آلی افزایش دهند و در نتیجه اثر کاهشی بر pH تشدید شود (۶۰ و ۶۴). علاوه بر این، کاهش pH یکی از مهم ترین عوامل مهار رشد باکتری های بیماری زا مانند اتر و باکتریاسه و باکتری های هوازی مزوفیل است. طبق مطالعات پیشین، افت pH در محدوده زیر ۵/۵ می تواند رشد بسیاری از

¹ - Plantaricin

² - Bio preservation

کاهش MIC، افت pH و کاهش بار میکروبی کلی (SPC و SC) در گوشت چرخ شده مرغ طی نگهداری در شرایط یخچالی مشهود بود. این نتایج حاکی از پتانسیل بالای این ترکیب به عنوان یک راهکار طبیعی و ایمن برای افزایش ماندگاری و ایمنی مواد پروتئینی است. با این وجود، بررسی ویژگی های حسی، پذیرش مصرف کننده و آزمون های مقیاس صنعتی برای تأیید قابلیت کاربردی آن در زنجیره غذایی ضروری است.

تشکر و قدردانی:

بدین وسیله نویسندگان مقاله از زحمات و تلاش های مهندس ناصر باقری مسئول محترم آزمایشگاه کنترل کیفی و بهداشتی مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه در طول اجرای این پایان نامه تشکر و قدردانی می گردد.

تعارض منافع:

نویسندگان مقاله هیچ گونه تعارض منافع ندارند.

میکروارگانیزم های فسادزا را به طور قابل توجهی محدود کند (۶۵ و ۶۱). بنابراین، کاهش معنی دار pH مشاهده شده در تیمار ترکیبی احتمالاً به بهبود طول عمر نگهداری و ایمنی میکروبی گوشت چرخ شده کمک می نماید. در مجموع، یافته های این مطالعه با نتایج تحقیقات پیشین هم راستا بوده و نشان می دهد که استفاده همزمان از عصاره های گیاهی غنی از ترکیبات فنولیک و پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلاتناروم می تواند به عنوان یک راهکار طبیعی، ایمن و مؤثر در کاهش pH و افزایش پایداری میکروبی محصولات گوشتی مطرح شود (۶۰، ۶۳، ۶۴ و ۶۵). این رویکرد با روند جهانی کاهش مصرف نگهدارنده های سنتتیک و گرایش به سیستم های نگهداری طبیعی نیز همسو است.

نتیجه گیری:

بر اساس نتایج این پژوهش، عصاره اتانولی گلپر ایرانی و CFS تولید شده توسط لاکتوباسیلوس پلاتناروم هر یک به طور مستقل توانایی مهار رشد سالمونلا تیفی موریم را دارا بودند، اما ترکیب آن ها اثر افزایشی قوی نشان داد که در

منابع

1. Mead GC. Microbiological quality of poultry meat: a review. Rev Bras Cienc Avic. 2004; 6(3):135-42.
2. Shaji S, Selvaraj RK, Shanmugasundaram R. Salmonella Infection in Poultry: A Review on the Pathogen and Control Strategies. Microorganisms. 2023 Nov 20;11(11):2814.
3. Teklemariam AD, Al-Hindi RR, Albiheyri RS, Alharbi MG, Alghamdi MA, Filimban AAR, et al. Human Salmonellosis: A Continuous Global Threat in the Farm-to-Fork Food Safety Continuum. Foods. 2023;12(9):1756.
4. Ferrari RG, Rosario DK, Cunha-Neto A, Mano SB, Figueiredo EE, Conte-Junior CA. Worldwide epidemiology of Salmonella serovars in animal-based foods: a meta-analysis. Applied and environmental microbiology. 2019;85(14): e00591-19.
5. World Health Organization. Salmonella (non-typhoidal). WHO Fact sheet. 2023.
6. Tan SJ, Nordin S, Esah EM, Mahror N. Salmonella spp. in Chicken: Prevalence, Antimicrobial Resistance, and Detection Methods. Microbiology Research. 2022;13(4):691-705.
7. Galán JE. *Salmonella Typhimurium* and inflammation: a pathogen-centric affair. Nature Reviews Microbiology. 2021;19(11):716-25. (6)
8. Steenackers H, Hermans K, Vanderleyden J, De Keersmaecker SC. Salmonella biofilms: an overview on occurrence, structure, regulation and eradication. Food research international. 2012;45(2):502-31.
9. Wang J, Vaddu S, Bhumanapalli S, Mishra A, Applegate T, Singh M, Thippareddi H. A systematic review and meta-analysis of the sources of Salmonella in poultry production (pre-harvest) and their relative contributions to the microbial risk of poultry meat. Poult Sci. 2023 May;102(5):102566. doi: 10.1016/j.psj.2023.102566. Epub 2023 Feb 9.
10. Crim SM, Iwamoto M, Huang JY, Griffin PM, Gilliss D, Cronquist AB, et al. Incidence and trends of infection with pathogens transmitted commonly through food—Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 US sites, 2006–2013. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2014;63(15):328–32.
11. Antunes P, Mourão J, Campos J, Peixe L. Salmonellosis: the role of poultry meat. Clinical microbiology and infection. 2016;22(2):110–21.
12. Tajkarimi MM, Ibrahim SA, Cliver DO. Antimicrobial herb and spice compounds in food. Food Control. 2010;21(9):1199-218.
13. Gyawali R, Ibrahim SA. Natural products as antimicrobial agents. Food Control. 2014; 46:412-29.
14. Mozaffarian V. Flora of Iran. Tehran: Institute of Forests and Rangelands; 1996. p. 234-236. [In Persian]
15. Majidi Z, Lamardi SS. Phytochemistry and biological activities of *Heracleum persicum*: A review. Journal of integrative medicine. 2018;16(4):223–35.
16. Asgarpanah J, Dadashzadeh Mehrabani G, Ahmadi M, Ranjbar R, Safi-Aldin Ardebily M. Chemistry, pharmacology and medicinal properties of *Heracleum persicum* Desf. Ex Fischer: A review. J Med Plants Res. 2012;6(10):1813–20.
17. Shariatifar N, Mostaghim T, Afshar A, Mohammadpourfard I, Sayadi M, Rezaei M. Antibacterial properties of essential oil of *Heracleum persicum* (Golpar) and foodborne pathogens. Int J Enteric Pathog. 2017 May;5(2):41-44.
18. Alvani A, Mazarei Z, Mokhtari B. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activity of *Trachyspermum copticum*, *Cuminum cyminum* and *Heracleum persicum* essential oils. Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products. 2025;20(20): e161641.
19. Hajati A, Mahdavi Fikjvar E, Mohammadi Jonaghani M, Satvat P, Amini N. Chemical

- Profile, Antioxidant Potential, and Antibacterial Activity of *Heracleum persicum* Essential Oil against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Studies in Medical Sciences. 2025; 36(3):195-202.
20. Bisht SS, Sarkhel B, Bachheti RK, Mishra BB, Pandey SK. Plant Extract in Active and Intelligent Food Packaging Systems. Natural Additives in Food and Sustainable Packaging: Jenny Stanford Publishing; 2025. p. 353–85.
 21. Stiles ME. Biopreservation by lactic acid bacteria. Antonie van Leeuwenhoek. 1996;70(2):331–45.
 22. Danilova T, Adzhieva A, Mezentseva M, Suetina I, Danilina G, Minko A, et al. The inhibitory activity of *Lactobacillus plantarum* supernatant against Enterobacteria, Campylobacter, and tumor cells. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2023;176(1):64–7.
 23. Kim SW, Kang SI, Shin DH, Oh SY, Lee CW, Yang Y, et al. Potential of cell-free supernatant from *Lactobacillus plantarum* NIBR97, including novel bacteriocins, as a natural alternative to chemical disinfectants. Pharmaceuticals. 2020;13(10):266.
 24. Cho G-S, Hanak A, Huch M, Holzapfel WH, Franz CM. Investigation into the potential of bacteriocinogenic *Lactobacillus plantarum* BFE 5092 for biopreservation of raw turkey meat. Probiotics and antimicrobial proteins. 2010;2(4):241–9.
 25. Afrisham R, Aberomand M, Ghaffari MA, Siahpoosh A, Jamalan M. Inhibitory Effect of *Heracleum Persicum* and *Ziziphus Jujuba* on Activity of Alpha-Amylase. Journal of Botany. 2015;2015(1):824683.
 26. Amani Z, Gandomi H, Akhondzadeh Basti A, Derakhshandeh A, Noori N. Cytotoxicity, genotoxicity, and mutagenicity potential of ethanolic extract of *Heracleum persicum* Desf. ex-Fischer. Journal of Food Safety. 2019 Jun;39(3): e12640.
 27. Moradi, M Mardani, K and Tajik, H. Characterization and application of postbiotics of *Lactobacillus* spp. on *Listeria monocytogenes* in vitro and in food models. LWT. 2019; 111: 457-464.
 28. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 33rd ed. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2023.
 29. Dehkordi NH, Tajik H, Moradi M, Kousheh SA, Molaei R. Antibacterial interactions of colloid nanosilver with eugenol and food ingredients. Journal of food protection. 2019 Oct 1;82(10):1783-92.
 30. Te Dorsthorst DT, Verweij PE, Meletiadis J, Bergervoet M, Punt NC, Meis JF, Mouton JW. In vitro interaction of flucytosine combined with amphotericin B or fluconazole against thirty-five yeast isolates determined by both the fractional inhibitory concentration index and the response surface approach. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2002 Sep;46(9):2982-9.
 31. Govaris A, Solomakos N, Pexara A, Chatzopoulou PS. The antimicrobial effect of oregano essential oil, nisin and their combination against *Salmonella Enteritidis* in minced sheep meat during refrigerated storage. International journal of food microbiology. 2010 Feb 28;137(2-3):175-80.
 32. Hayouni EA, Chraief I, Abedrabba M, Bouix M, Leveau JY, Mohammed H, Hamdi M. Tunisian *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essential oils: Their chemical compositions and their preservative effects against *Salmonella* inoculated in minced beef meat. International Journal of Food Microbiology. 2008 Jul 31;125(3):242-51.
 33. Downes FP. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods: APHA; 2001.
 34. Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson MA, Roy SL, Jones JL, Griffin PM. Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens. Emerging infectious diseases. 2011 Jan;17(1):7.
 35. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific opinion on monitoring and assessment of the public health risk of “*Salmonella Typhimurium*”

- like” strains. EFSA Journal. 2010 Oct;8(10):1826.
36. Gyawali R, Ibrahim SA. Natural products as antimicrobial agents. Food control. 2014 Dec 1; 46:412-29.
37. Gaggia F, Mattarelli P, Biavati B. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. International journal of food microbiology. 2010 Jul 31;141: S15-28.
38. Rezayan A, Ehsani A. Evaluation of the chemical compounds and antibacterial properties of the aerial parts of Persian *Heracleum persicum* essence. Journal of Babol University of Medical Sciences. 2015 Jun 10;17(6):26-32.
39. Kousha A, Bayat M. Bactericidal and fungicidal activity of methanolic extracts of *Heracleum persicum* Desf. ex-Fischer against some aquatic and terrestrial animal pathogens. Int Jf Pharm. 2012;8(7):652-656.
40. Sefidkon F, Dabiri M, Mohammad N. Analysis of the Oil of *Heracleum persicum* L (Seeds and Stems). J Essent Oil Res. 2004;16(4):296-8.
41. Burt S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods—A review. Int J Food Microbiol 2004;94(3):223-53.
42. Reichert S, Wust M, Beck T, Masandl A. Stereoisomeric flavor compounds LXXXI: dill ether and its cis-stereoisomers: synthesis and enantioselective analysis. J High Resol Chromatogr. 1998;21(3):185-9.
43. Kim SW, Kang SI, Shin DH, Oh SY, Lee CW, Yang Y, et al. Potential of Cell-Free Supernatant from *Lactobacillus plantarum* NIBR97, Including Novel Bacteriocins, as a Natural Alternative to Chemical Disinfectants. Pharmaceuticals. 2020;13(10):266.
44. Çobur H, Löker N, Dışhan A, Vurmaz M, Karatepe P, Hızlısoy H, Akçay A, İncili GK, Hayaloğlu AA, Al S. *Lactiplantibacillus Plantarum* Postbiotics Suppress Salmonella Typhimurium Invasion and Modulate Innate Responses in Human Intestinal Epithelial Cells. Probiotics Antimicrob Proteins. 2025 Nov 3. doi: 10.1007/s12602-025-10824-8. Epub ahead of print.
45. Arrijoja-Bretón D, Mani-López E, Palou E, López-Malo A. Antimicrobial activity and storage stability of cell-free supernatants from lactic acid bacteria and their applications with fresh beef. Food control. 2020; 115:107286.
46. Xi D, Dong X, Hao G, Hu Q, Shami A, Al-Asmari F, et al. Potent antibacterial and antibiofilm effects of *Lactobacillus plantarum* X cell-free supernatant against foodborne pathogens and its application in aquatic product preservation. Food Bioscience. 2025:107349.
47. Hu A, Huang W, Shu X, Ma S, Yang C, Zhang R, Xiao X, Wu Y. *Lactiplantibacillus plantarum* Postbiotics Suppress *Salmonella* Infection via Modulating Bacterial Pathogenicity, Autophagy and Inflammasome in Mice. Animals (Basel). 2023 Oct 14;13(20):3215.
48. Danilova TA, Adzhieva AA, Mezentseva MV, Suetina IA, Danilina GA, Minko AG, Dmitrieva ML, Zhukhovitsky VG. The Inhibitory Activity of *Lactobacillus plantarum* Supernatant against Enterobacteria, Campylobacter, and Tumor Cells. Bull Exp Biol Med. 2023 Nov;176(1):64-67.
49. Ekechukwu C, Umeh S, Iheukwumere I, Iheukwumere C. Synergistic Effects of Medicinal Plant Extracts and *Lactobacillus* Species against Bacterial Pathogens from Smoked Fish and Chicken: An In Vitro Study. IPS Journal of Natural Products. 2025;1(1):13–8.
50. Aminnezhad S, Rahimifard N, Kermanshahi R, Ranjbar R, Bagheri O, Bagheri F. Synergistic effects of supernatant from *Lactobacillus plantarum* cultured medium and conventional antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa*. Biosciences Biotechnology Research Asia. 2016;9(2).
51. Fadare O, Singh V, Enabulele O, Shittu O, Pradhan D. In vitro evaluation of the synbiotic effect of probiotic *Lactobacillus*

- strains and garlic extract against *Salmonella* species. *LWT*. 2022; 153:112439.
52. Li M, Xiao H, Su Y, Cheng D, Jia Y, Li Y, et al. Synergistic Inhibitory Effect of Honey and *Lactobacillus plantarum* on Pathogenic Bacteria and Their Promotion of Healing in Infected Wounds. *Pathogens*. 2023;12(3):501.
 53. Elebeedy D, Ghanem A, El-Sayed M, Fayad E, Abu Ali OA, Alyamani A, Sayed Abdelgeliel A. Synergistic Antimicrobial Effect of *Lactiplantibacillus plantarum* and *Lawsonia inermis* Against *Staphylococcus aureus*. *Infect Drug Resist*. 2022 Feb 19; 15:545-554.
 54. Hamzehie M, Roomiani L. Antimicrobial and Antioxidant Effects of Essential Oil Nanoemulsion of *Heracleum persicum* on Quality and Shelf-life of Shrimp Nuggets. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*. 2023;18(2):97–110.
 55. Mohammadpourfard I, Shamloo Anbardan MM, Eshghi N, Jahanbakhsh M, Akbarzadeh A, Ghorbani Bejandi S, et al. Assessment of the antibacterial effect of chitosan coated with *Heracleum persicum* oil on rainbow trout quality. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 2017; 26(6):756–68.
 56. Liang M, Wang H, Zhou Z, Huang Y, Suo H. Antibacterial mechanism of *Lactiplantibacillus plantarum* SHY96 cell-free supernatant against *Listeria monocytogenes* revealed by metabolomics and potential application on chicken breast meat preservation. *Food Chemistry: X*. 2025; 25:102078.
 57. Wang J, Xu L, Gu L, Lv Y, Li J, Yang Y, et al. Cell-free supernatant of *Lactiplantibacillus plantarum* 90: A clean label strategy to improve the shelf life of ground beef gel and its bacteriostatic mechanism. *Foods*. 2023;12(22):4053
 58. Tenea GN. Inhibitory substances produced by native *L. plantarum* UTNCys5-4 control microbial growth in meat. *J Food Qual*. 2019; 2019:9516981.
 59. Yang E, Fan L, Yan J, Jiang Y, Doucette C, Fillmore S, et al. Influence of culture media, pH and temperature on growth and bacteriocin production of bacteriocinogenic lactic acid bacteria. *AMB express*. 2018; 8(1):10.
 60. Zhou T, Wu J, Zhang M, Ke W, Shan K, Li C. Effect of natural plant extracts on the quality of meat products: a meta-analysis. *Food Materials Research*. 2023; 3:15.
 61. Shang H, Yue Y, Guo B, Ji C, Zhang S, Dong L, et al. The effects of *Lactiplantibacillus plantarum* 3-19 and *Pediococcus pentosaceus* 18-1 on preventing the accumulation of biogenic amines and promoting the production of volatile organic compounds during sour meat fermentation. *International Journal of Food Microbiology*. 2024; 421:110806.
 62. Jiang L-S, Li Y-C, Zheng F-X, et al. Application of *Lactiplantibacillus plantarum* hydrogel coating in combination with ice temperature for the preservation of fresh yak meat. *Food Chem X*. 2024;101735.
 63. Wang H, Zhu P, Yu F, Han Z, Liu W, Zhu Y, et al. Effects of *Lactiplantibacillus Plantarum* fermented feed on meat quality and lipid metabolism of broilers. *Poultry Science*. 2025:106099.
 64. Oulahal N, Degraeve P. Phenolic-rich plant extracts with antimicrobial activity: an alternative to food preservatives and biocides? *Frontiers in microbiology*. 2022; 12:753518.
 65. Horbańczuk OK, Kurek MA, Atanasov AG, Brnčić M, Brnčić SR. The effect of natural antioxidants on quality and shelf life of beef and beef products. *Food technology and biotechnology*. 2019;57(4):439.