

# تأثیر روغنهای فرار گیاهی بر روی جمعیت قارچی پنیر سفید صنعتی

مجتبی بنیادیان<sup>۱\*</sup>، گیتی کریم<sup>۲</sup>

۱- استادیار، گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد

۲- استاد، گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

## چکیده

این مطالعه به منظور ارزیابی اثر ضد قارچی روغنهای فرار استخراج شده از آویشن، پونه، ترخان، نعناع و پونه در پنیرهای سفید صنعتی طراحی و به اجرا گذارده شد. روغنهای فرار گیاهان مورد مطالعه در دو غلظت ۰/۳ و ۰/۴ درصد به پنیرهایی که جمعیت قارچ (کیک و مخمر) آن، مشخص گردیده بود اضافه شد و سپس در کنار گروههای تیمار گروه شاهدی نیز از همان پنیر در نظر گرفته شد که فاقد هر گونه روغنهای فرار گیاهی بود، بسته‌های پنیر در گروههای تیمار و شاهد مدت دو هفته در دمای ۱۲°C نگهداری شدند سپس در فاصله‌های زمانی ۷۲، ۱۶۸ و ۳۳۶ ساعت از نظر تعداد کلی قارچها مورد آزمون قرار گرفتند.

مطابق نتایج این مطالعه تمامی روغنهای فرار گیاهی مورد آزمون دارای اثر ضد قارچی در پنیر بودند، روغنهای فرار آویشن و ترخان بیشترین خاصیت ضد قارچی را دارا بودند و باعث مهار رشد جمعیت قارچ در پنیر شدند. اثر ضد قارچی سایر روغنهای فرار مورد مطالعه کمتر از دو گیاه ذکر شده بود، بطوری که جمعیت قارچ در پنیرهای حاوی این روغنها رشد اندکی را داشته ولی پس از دو هفته از حد استاندارد (۱۰۲ در هر گرم) تجاوز نکرد. ولی در گروه شاهد تعداد کیک و مخمر پس از دو هفته به ۱۰۴ در هر گرم رسید. بر این اساس روغنهای فرار گیاهان مورد آزمون می‌توانند به عنوان نگهدارنده طبیعی برای مهار رشد قارچها در پنیر مورد استفاده قرار گیرند.

کلیدواژگان: فعالیت ضد قارچی، روغنهای فرار گیاهی، پنیر سفید.

## ۱- مقدمه

قارچها<sup>۱</sup> گروهی از میکروارگانیسمها هستند که به وفور در طبیعت پراکنده می‌باشند، قارچها به دو گروه بزرگ کپکها<sup>۲</sup> و مخمرها<sup>۳</sup> تقسیم می‌شوند. این گروه از میکروارگانیسمها به سادگی قادرند از طریق جریان هوا به نقاط مختلف منتقل و موجب آلودگی مکانها و مواد غذایی مختلف در مراحل مختلف تولید و تهیه آنها شوند [۱].

تا چند دهه گذشته وجود قارچها در مواد غذایی معمولاً به عنوان یک مشکل حسی-چشایی تلقی می‌شد و کمتر به عنوان یک مشکل مهم بهداشتی مورد توجه قرار می‌گرفت.

در سال ۱۹۶۰ وجود متابولیت‌های سمی قارچها در غذای بوقلمون باعث بروز مسمومیت و تلفات بسیار بالا در این پرنده شد، بدنبال این واقعه موارد دیگری از مسمومیت ناشی از متابولیت‌های سمی قارچها در انسان و حیوانات مشاهده گردید و باعث باز شدن مبحث جدیدی به نام مایکوتوکسینها<sup>۴</sup> در بهداشت مواد غذایی شد [۲].

E-mail: mboniadian@yahoo.com

\* مسؤول مکاتبات:

1. Fungi
2. Moulds
3. Yeasts

4. Mycotoxins

اثرات ضد میکروبی ترکیبات مختلف گیاهان معطوف گردیده است و بر حسب منطقه جغرافیایی و نوع فلور گیاهی مناطق جغرافیایی مختلف این مطالعات بر روی گونه‌های متفاوتی از گیاهان صورت می‌پذیرد.

اغلب مطالعات انجام شده در محیطهای کشت آزمایشگاهی صورت گرفته و اثرات قابل قبول ضد میکروبی از ترکیبات گیاهان مشاهده شده است [۴، ۵، ۶ و ۷]، ولی اثرات ترکیبات گیاهی در محیط غذا و بخصوص مواد غذایی صنعتی کمتر مورد ارزیابی قرار گرفته است. اثر ضد قارچی گیاه سیر نیز بر روی گونه‌های مختلف قارچ اسپرژیلوس مورد مطالعه قرار گرفته و مشخص گردیده است که عصارهای مختلف این گیاه تأثیر ضد قارچی مطلوبی بر روی این گونه‌ها داشته است [۸].

بر همین اساس مطالعه حاضر طراحی شد تا اثر ضد قارچی روغنهای فرار گیاهان آویشن، نعنای، پونه، زیره سیاه و ترخان را در پنی‌های سفید صنعتی بررسی و امکان استفاده از آنها را بعنوان یک نگهدارنده طبیعی مورد توجه قرار داد.

## ۲- مواد و روشها

### ۲-۱- روش تهیه پنیر

پنیر سفید مورد استفاده در این مطالعه در کارخانه پنیر شاهد شهرکرد تولید گردید، میزان آب نمک مورد استفاده برای نگهداری پنیر ۱۲ درصد بود، پس از تولید پنیر جمعیت اولیه قارچی آن مورد شمارش قرار گرفت و به عنوان مبنای جمعیت مورد مطالعه در شاهد‌ها و تیمارها در نظر گرفته شد.

### ۲-۲- روش استخراج روغنهای فرار

روغنهای فرار گیاهان مورد مطالعه در پژوهشکده گیاهان

اکنون بخوبی مشخص گردیده است که سموم قارچی مسبب همه‌گیریهای بزرگی در انسان و حیوانات در سالهای گذشته بوده است، از بارزترین آنها به مسمومیت ناشی از سم ارگوتیسم<sup>۱</sup> که موجب مرگ صدها هزار نفر از مردم اروپا در قرون گذشته گردید، مسمومیت ATA<sup>۲</sup> که موجب مرگ حداقل صد هزار نفر در کشور شوروی در بین سالهای ۱۹۴۲ تا ۱۹۴۸ شد و مسمومیت ناشی از آفلاتوکسین<sup>۳</sup> که باعث مرگ صد هزار بوقلمون در سال ۱۹۶۰ و احتمالاً مرگ بسیاری از انسانها گردیده است، میتوان اشاره نمود [۱].

از طرف دیگر قارچها به عنوان عوامل مهم فساد مواد غذایی مطرح می‌باشند، که به دلیل ترشح آنزیمهای متفاوت (پروتئاز، لیپاز و....) قادرند اغلب ترکیبات موجود در مواد غذایی را تجزیه نموده و در نتیجه باعث تغییر رنگ، طعم و مزه مواد غذایی شوند که از جمله نشانه‌های فساد در مواد غذایی محسوب می‌گردند [۲].

از جنبه دیگر مواد غذایی به عنوان حامل برخی از قارچهای بیماریزا به انسان نیز می‌توانند محسوب شوند، بخصوص در بین عوامل قارچی میتوان به قارچهایی که عفونتهای احشایی ایجاد می‌کنند مانند کاندیدا<sup>۴</sup> و هیستوپلاسما<sup>۵</sup> اشاره کرد، این قارچها را می‌توان در خاک، مواد غذایی و بر روی مواد آلی در حال تخریب یافت [۳].

قارچها در مواد غذایی نسبتاً خشک با آب فعال<sup>۶</sup> پایین، مواد غذایی اسیدی، نمکی و مواد غذایی که در سرما نگهداری می‌شوند بخوبی رشد می‌کنند و موجب بروز اختلالات ذکر شده در ماده غذایی و مصرف کننده می‌شوند، پنیر از جمله مواد غذایی است که شرایط مناسب برای رشد قارچها را داراست.

اثر دارویی گیاهان و عصاره‌های آنها از دیرباز مورد توجه بشر بوده است، در سالهای اخیر بیشتر مطالعات بر روی

1. Ergotism
2. Alimentary Toxic Aleokia
3. Aflatoxin
4. Candida
5. Histoplasma
6. Water activity

مورد شمارش قرار گرفت.

### ۲-۳- تجزیه و تحلیل آماری

نتایج بدست آمده از شمارش قارچها در زمانهای مختلف در تیمارها و شاهدها، توسط نرم افزار آماری Sigma stat و آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

### ۳- نتایج و بحث

نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان می‌دهند که روغنهای فرار گیاهان مورد مطالعه دارای اثرات ضد قارچی مطلوبی می‌باشند، بطوری که در پنی‌های شاهد تعداد جمعیت قارچ در طی مدت نگهداری رو به افزایش گذارد و پس از دو هفته به ۱۰۴ در هر گرم افزایش یافت ولی جمعیت قارچ در پنی‌های حاوی روغنهای فرار گیاهان مورد مطالعه پس از گذشت دو هفته از حد استاندارد (۱۰۲ در هر گرم) [۱۰] تجاوز نکرد.

مطالعات دیگری نیز تاثیر ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی را نشان داده است، در افریقای جنوبی تاثیر گیاهان ترخان و مریم گلی بر روی ۴۱ گونه باکتری و مخمر مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که ترخان و مریم گلی خواص ضد میکروبی مشابه دارند و عصاره این گیاهان میتواند به عنوان نگهدارنده در غذا مورد استفاده قرار گیرند [۱۱].

در مطالعه دیگری تاثیر عصاره‌های بدست آمده از گیاه سنتی در کشور اتیوپی بر روی ۶ گونه باکتری و قارچ کاندیدا آلبیکنس<sup>۴</sup> مورد بررسی قرار گرفت و همه عصاره‌ها اثرات ضد قارچی بر علیه کاندیدا از خود نشان دادند [۱۲].

در بررسی دیگری اثر ضد قارچی عصاره آبی ۱۰ گیاه بر علیه قارچهای میکروسپوروم کنیس<sup>۵</sup> و تریکوفیتون روبروم<sup>۶</sup> به اثبات رسید [۱۳].

دارویی جهاد دانشگاهی، به روش تقطیر با بخار آب<sup>۱</sup> در دستگاه کلونجر<sup>۲</sup> تهیه گردید [۹]. برای این منظور برگ گیاهان مورد نظر ابتدا در سایه خشک شد و سپس در دستگاه تقطیر با استفاده از بخار آب روغنهای فرار گیاهان استخراج گردید سپس این روغن‌ها در شیشه‌های تیره و سترون تا زمان مصرف در دمای ۴°C نگهداری شدند. روش تیمار نمونه‌های پنیر با روغنهای فرار گیاهی ابتدا جمعیت اولیه قارچی موجود در پنیر مورد آزمون به روش تهیه رقت و کشت بر روی محیط آگار سیب زمینی<sup>۳</sup> مورد شمارش قرار گرفت [۲] و به عنوان مبنای جمعیت مورد مطالعه در نظر گرفته شد.

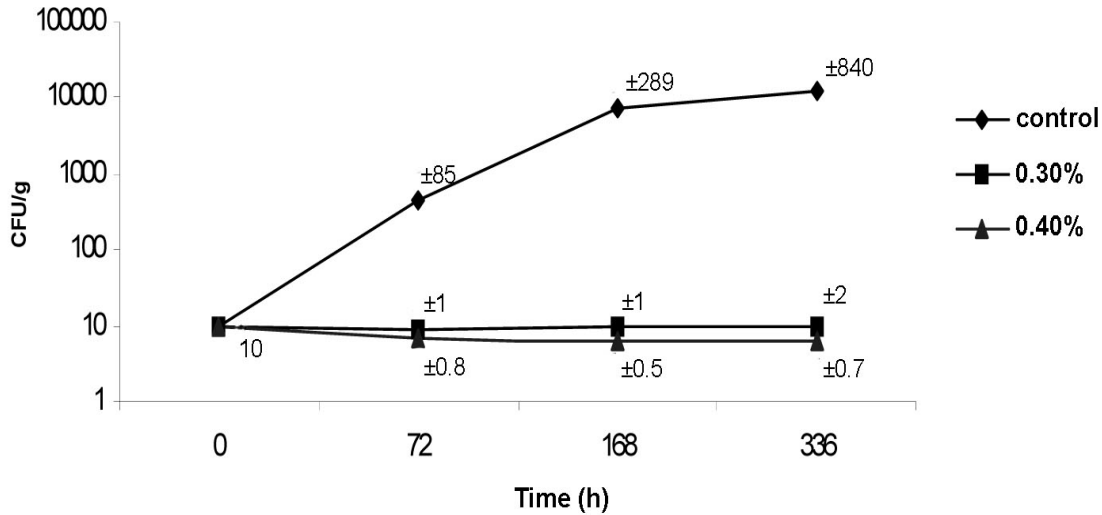
برای ارزیابی اثر روغنهای فرار مورد مطالعه، دو غلظت ۰/۳ و ۰/۴ درصد وزنی از این روغن‌ها مورد استفاده قرار گرفت، بر اساس مطالعات قبلی، در این دو غلظت علاوه بر طعم مناسب در پنیر ویژگی ضد باکتریایی مناسبی نیز از این روغن‌ها مشاهده شده است [۵]. براین اساس برای هر سطح غلظتی از روغنهای فرار ۳۰ بسته پنیر ۱۰۰ گرمی در نظر گرفته شد و غلظت مورد نظر در آنها ایجاد گردید به نحوی که ابتدا روغنهای فرار در سطح پنیر ریخته شد و پس از درب بندی پنیر در بسته پلاستیکی بخوبی مالش داده شد تا روغن فرار نسبتاً بطور یکنواخت در تمامی نقاط پخش گردد، در کنار بسته‌های تیمار ۳۰ بسته پنیر نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد که فاقد روغنهای فرار بودند. به دلیل اینکه قارچها اجرام هوازی می‌باشند بسته‌های پنیر بطور کامل درز بندی نشدند و یک گوشه آنها باز گذاشته شد. بسته‌های پنیر برای مدت دو هفته در سردخانه ۱۲°C نگهداری شدند و در زمانهای ۷۲، ۱۶۸ و ۳۳۶ ساعت، ۱۰ بسته پنیر از هر غلظت روغن‌ها و ۱۰ بسته از پنی‌های شاهد از سردخانه خارج گردید و پس از تهیه رقت و کشت بر روی محیط آگار سیب زمینی (Merck) و گرمخانه گذاری پلیت‌ها در دمای ۲۲°C جمعیت قارچ در بسته‌های تیمار و شاهد

4. Candida albicans  
5. Microsporum canis  
6. Trichophyton rubrum

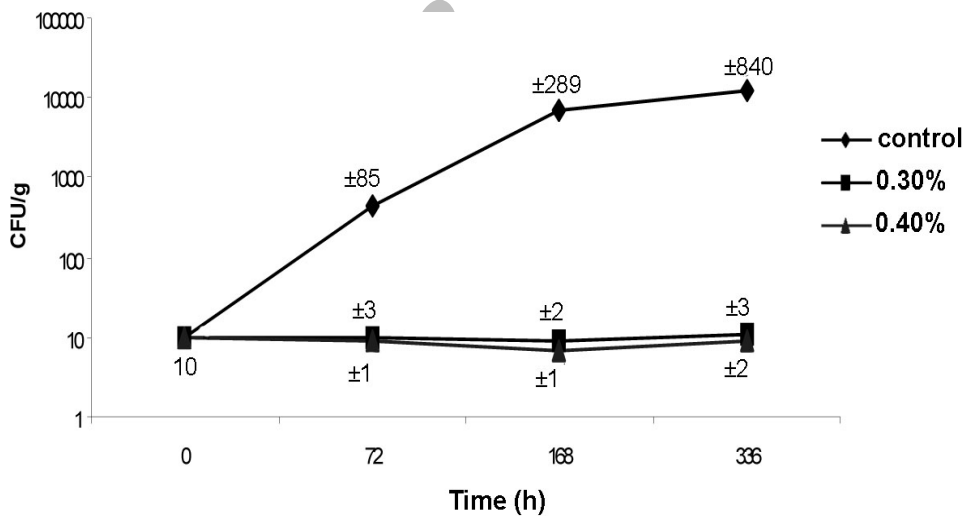
1. Steam Distillation  
2. Kelevenger  
3. Potato Agar

بلکه، موجب کاهش جمعیت قارچ در این فرآورده نیز شدند، آزمون آنالیز واریانس داده‌ها نیز نشانگر اختلاف معنادار بین جمعیت قارچی در پنیرهای شاهد و پنیرهای حاوی روغنهای فرار گیاهان آویشن و ترخان بود ( $P < 0.05$ )، (نمودارهای ۱ و ۲).

تأثیر ضد قارچی روغنهای مورد استفاده در این مطالعه بسته به نوع و میزان غلظت آنها متفاوت بود، بطوری که روغنهای فرار گیاهان آویشن و ترخان بیشترین اثر ضد قارچی را در پنیر از خود بروز دادند و در غلظتهای ۰/۳ و ۰/۴ درصد نه تنها از رشد قارچ در پنیر ممانعت نمودند



نمودار ۱ تأثیر روغنهای فرار گیاه آویشن بر روی جمعیت قارچ در پنیر سفید



نمودار ۲ تأثیر روغنهای فرار گیاه ترخان بر روی جمعیت قارچ در پنیر سفید

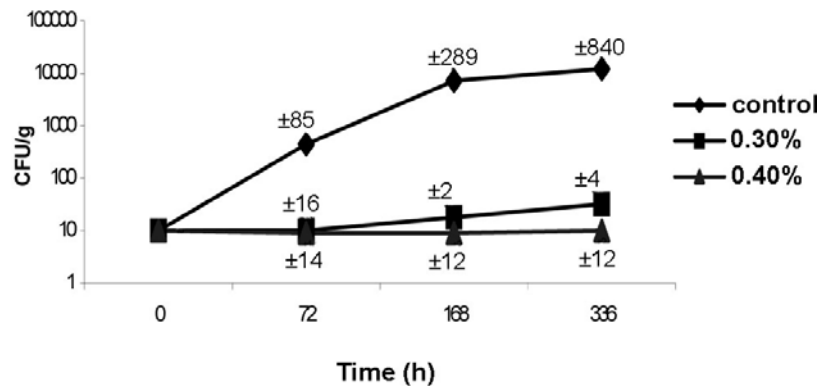
تا اندازه‌ای رشد این قارچها را تحریک میکند ولی ترشح افلاتوکسین را بطور معنی داری کاهش میدهد [۱۴]. روغن فرار گیاه زیره سیاه در غلظت ۰/۴ درصد نیز پس از آویشن و ترخان قرار داشت به نحوی که پس از گذشت دو هفته کاملاً از رشد قارچها ممانعت بعمل آورد و آزمون آماری اختلاف را با شاهد در این غلظت

در کشور اسپانیا اثر گیاه آویشن بر روی قارچهای آسپرژیلوس پارازیتیکوس<sup>۱</sup> و فلاووس<sup>۲</sup> مورد بررسی قرار گرفت، نتایج نشانگر این بود که علی رغم اینکه این گیاه

1. *Aspergillus parasiticus*
2. *Aspergillus flavus*

فرار گیاه زیره با گروه شاهد معنی دار نبود ( $P > 0.05$ )، (نمودار ۳).

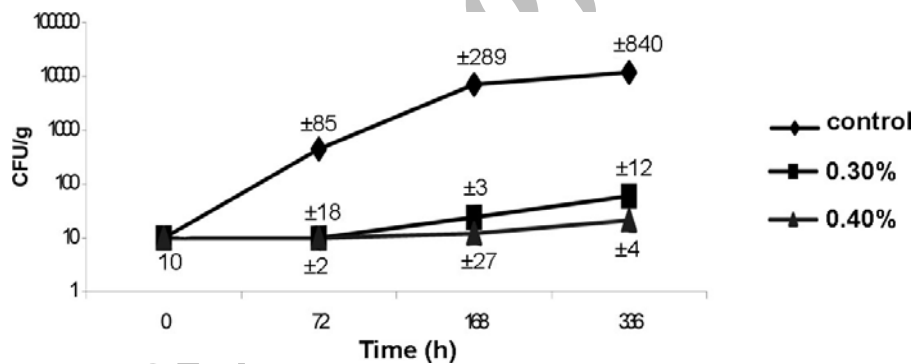
معنی دار دانست ( $P < 0.05$ )، ولی در غلظت ۰/۳ درصد قارچها رشد اندکی در پنیر داشتند، در آزمون آماری اختلاف مشاهده شده بین غلظت ۰/۳ در صد روغنهای



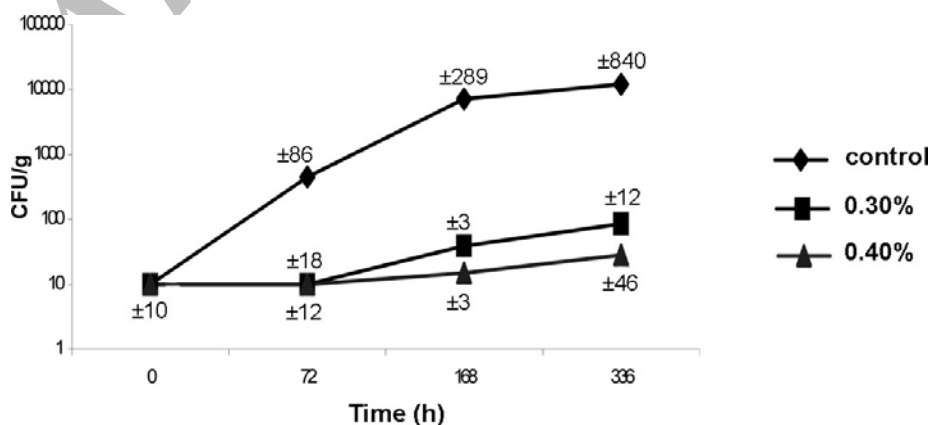
نمودار ۳ تأثیر روغنهای فرار گیاه زیره سیاه بر روی جمعیت قارچ در پنیر سفید

ولی پس از دو هفته جمعیت قارچ موجود در پنیرها از حد استاندارد تجاوز نکرد (نمودارهای ۴ و ۵).

روغنهای فرار گیاهان نعنا و پونه اثر ضد قارچی یکسانی را در پنیر سفید نشان دادند، و بطوری که در دو غلظت روغنهای فرار رشد اندکی در جمعیت قارچ مشاهده شد



نمودار ۴ تأثیر روغنهای فرار گیاه نعنا بر روی جمعیت قارچ در پنیر سفید



نمودار ۵ تأثیر روغنهای فرار گیاه پونه بر روی جمعیت قارچ در پنیر سفید

طعم و بو در اینگونه مواد غذایی می‌شوند که خود قدمی در ایجاد تنوع در تولید اینگونه فراورده‌ها می‌باشد.

#### ۴- منابع

[1] رضوی‌لر، و. ۱۳۷۸. میکروبیهای بیماریزا در مواد غذایی، انتشارات دانشگاه تهران، ص: ۱۹۷.

[2] Jay, J.M. 1996. *Modern Food Microbiology*. Chapman & Hall, Inc., New York: 641

[3] اینگولر، سی. تی ۱۳۷۵. بیولوژی قارچها، ترجمه ذکایی، محمود، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، ص: ۲۲۹.

[4] بنیادیان، م. و کریم، گ. ۱۳۸۱. مطالعه تأثیر روغنهای فرار برخی گیاهان بر باکتریهای E.coli و S.aureus در محیط کشت مایع، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران؛ دوره ۵۷، شماره ۴: ۳۱-۳۳.

[5] Montes, M.A. 1998. Antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants growing in Chile. *Phitotrapia*, 69(2): 170-172.

[6] Beuchat, L.R. 1976. Sensitivity of *Vibrio parahemolyticus* to spices and organic acids. *Journal of Food Science*, 41, 899-902.

[7] Farag, R.S. 1989. Antimicrobial activity of some Egiptian spice essential oils. *Journal of Food Protection*, 52(4): 665-667.

[8] Pia, S.T., and Platt, M.W. 1995. Antifungal effects of *Allius sativum* (Garlic) extract against the *Aspergillus* species involved in otomycosis. *Applied Microbiology*, 20(1): 8-14.

آزمون آماری نیز اختلاف معناداری در جمعیت قارچی در پنیرهای شاهد و پنیرهای حاوی روغنهای فرار گیاهان پونه و نعناع نشان نداد ( $P > 0/05$ ). در یک مطالعه اثر مهارکننده رشد روغنهای فرار گیاه نعناع بر روی قارچ *آسپرژیلوس نیجرا*<sup>۱</sup> نیز به اثبات رسیده است [۱۵]. همچنین تأثیر روغنهای فرار گیاهان آویشن، نعناع، ریحان و دارچین بر رشد قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* در ذرت مورد بررسی قرار گرفته است، نتایج این بررسی نشان داد که روغنهای فرار گیاه دارچین بیشترین اثر ضد قارچی را دارا میباشد [۱۶].

براساس نتایج این مطالعه روغنهای فرار گیاهان آویشن، ترخان، زیره سیاه، نعناع و پونه دارای اثرات ضد قارچی می‌باشند و اثر آنها بر روی جمعیت قارچی موجود در پنیرهای سفید صنعتی بسیار مطلوب میباشد، بنحوی که در طی مدت دو هفته جمعیت قارچ موجود در پنیرهای حاوی روغنهای فرار گیاهان مورد مطالعه با وجود اینکه در شرایط هوازای قرار گرفته بودند از حد استاندارد تجاوز نکرد، ولی در پنیرهای شاهد که فاقد روغنهای فرار بودند پس از دو هفته جمعیت قارچ  $\log 3$  افزایش یافت. در بین روغنهای فرار مورد آزمون، روغنهای فرار گیاهان آویشن و ترخان اثر ضد قارچی قویتری از خود نشان دادند و بطور کامل از رشد قارچها در پنیر ممانعت نمودند ولی سایر روغنهای فرار روند رشد قارچها را کند نموده ولی پس از دو هفته جمعیت قارچ در پنیرها از  $10^2$  در هر گرم که حد استاندارد قارچ در پنیرهای صنعتی در نظر گرفته شده است تجاوز نکرد. با توجه به نتایج بدست آمده از این مطالعه و بررسیهای سایر پژوهشگران اثر ضد قارچی ترکیبهای مختلف گیاهان بخصوص روغنهای فرار آنها هم در محیط کشت آزمایشگاهی و هم در محیط غذا بسیار قابل توجه بوده و میتوان از اینگونه ترکیبها به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در مواد غذایی که مستعد به فساد توسط قارچها می‌باشند استفاده نمود، در مورد برخی از این روغنها به دلیل اینکه طعم مناسبی در فراورده غذایی ایجاد می‌کنند باعث بهبود

1. *Aspergillus niger*

- extracts on the fungi *M.canis* and *T. rubrum* and on three bacterial species. *Applied Microbiology*, 26(3): 61-63.
- [14] Salmeron, J. 1990. Antimicrobial and antiaflatoxic activity of *Oregano* and *Thyme*. *Journal of Food Protection*, 53(5): 697-700.
- [15] Marotti, M., Piccaglia, R., and Giovanelli, E. 1994. Effects of planting time and mineral fertilization peppermint essential oil composition and its biological activity. *Flavor and Fragrance Journal*, 9(3): 125-129.
- [16] Montes, B.R., and Carvajal, M. 1998. Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components. *Journal of Food Protection*, 61(5): 616-19.
- [9] Walton, M.G., and Brown D.E. 1999. *Chemical From Plants*. Imperial College Press, London 106-108.
- [۱۰] استاندارد شماره ۲۳۴۴ : پنیر و ویژگیها، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.
- [11] Mangena, T., and Muyima, N.Y.O. 1999. Comparative evaluation of the antimicrobial activity of essential oils of *Artemisia afra*, *Pteron incona* and *Rosmarinnus affinalis* on selected bacteria and yeast strains. *Applied Microbiology*, 28(4): 291-296.
- [12] Desta, B. 1993. Antimicrobial activity of 63 medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacol*, 39(2): 29-39.
- [13] Maoz, M., and Neeman, I. 1998. Antimicrobial effect of aqueous plant

Archive of SID

## Effect of some plant essential oils on the fungal population of industrial white cheese

Mojtaba Bonyadian<sup>1\*</sup>, Giti Karim<sup>2</sup>

1- Assistant Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Iran.

2- Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Iran.

This study carried out to determine the antifungal effect of some plant essential oils (Thyme, Tarragon, Caraway seed, Peppermint and Pennyroyal) on industrial white cheese. Two concentrations (0.3 & 0.4 %) were added in white cheese, which their fungal population was determined previously. For comparison purpose, identical cheese sample without any essential oils were chosen as control groups.

All of the samples and controls were kept in 12 oC for 2 weeks, and checked for fungal population at 72, 168 and 336 h intervals.

The results showed that the population of fungi grew in control groups and reached to a level of 104 cfu/g after 336 h, but in treatment groups the essential oils of the examined plants showed desirable antifungal effect. The essential oils of the Thyme and Tarragon showed the most effective antifungal activity and inhibited the growth of fungal population completely, where as the others could not control the growth of fungi completely, although the final fungal population after 336 h were within the standard range (102 cfu/g).

With regard to our finding, the essential oils of the examined plants have desirable antifungal effect on cheese and can probably be used as a natural preservative in foods.

**Keywords:** Plant essential oils, Anti fungal activity, White Cheese.

\* Corresponding author E-mail: mboniadian@yahoo.com