

بررسی اثربخشی عصاره گل‌های رازک علیه مخمر نانوائی و گروهی از کپک‌های عامل فساد نان

مرضیه محمدی^۱، مرتضی خمیری^{۱*}، سید هادی رضوی^۲، مهران اعلمی^۱

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۲- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۲/۴/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۴/۶/۲۱)

چکیده

در راستای افزایش تقاضا برای استفاده از گیاهان دارویی در سال‌های اخیر، گیاه رازک توجه بسیاری از محققان را به خود جلب کرده است و از آن به عنوان یک ضدکپک قوی یاد می‌شود. رازک گیاهی دارویی است که در طب سنتی کاربردهای گوناگونی دارد. هدف از این مطالعه بررسی اثر ضد-قارچی عصاره اتانولی گل‌های رازک بر روی تعدادی از کپک‌های عامل فساد نان و مخمر نانوائی است. در این مطالعه تجربی-آزمایشگاهی از عصاره اتانولی گونه *Humulus lupulus* L. استفاده شد. خاصیت ضدقارچی عصاره با استفاده از آزمون حساسیت رقت‌های مایع^۱ در برابر میکروارگانیسم‌های *Penicillium Aspergillus flavus*، *Aspergillus niger*، *Saccharomyces cerevisiae*، *Rhizopus oryzae*، *Penicillium citrinum*، *chrysogenum* و *Rhizomucor* Spp. تعیین شد. نتایج نشان داد که عصاره اتانولی گل‌های رازک از رشد کلیه کپک‌های مورد آزمون جلوگیری می‌کند. غلظت مهارکننده رشد برای کپک‌ها از ۱/۸۷۰ mg/ml تا ۳/۳ mg/ml تغییر می‌کند. این عصاره بر روی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* در دامنه غلظت ۰ تا ۱۵ mg/ml مؤثر نبود. از یافته‌های این پژوهش نتیجه‌گیری می‌شود عصاره اتانولی گل‌های رازک بر رشد کپک‌های عامل فساد مواد غذایی و بویژه نان اثر قابل ملاحظه‌ای دارد و به منظور استفاده از این عصاره به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در مواد غذایی انجام تحقیقات بیشتر ضروری است.

کلید واژگان: فعالیت ضدقارچی، عصاره اتانولی رازک، *Humulus lupulus* L.، آزمون حساسیت رقت‌های مایع.

* مسئول مکاتبات: khomeiri@gau.ac.ir

1. Broth Dillution Susceptibility Test

۱- مقدمه

نان به عنوان مهم‌ترین غذای اکثر مردم به خصوص کشورهای در حال توسعه مطرح است [۱]. از نظر تغذیه‌ای نان، به عنوان رکن اصلی غذای روزانه در بین طبقات کم درآمد بیشتر از طبقات مرفه رایج است و به طور متوسط حدود ۶۵-۶۰ درصد کالری و پروتئین و ۲-۳ گرم از املاح معدنی مورد نیاز روزانه از طریق خوردن نان تامین می‌گردد [۲]. کپک‌ها مهم‌ترین عامل فساد نان و محصولات نانویی هستند. دمای مورد استفاده برای پخت، فرم رویشی باکتری‌ها و قارچ‌ها و اسپور آنها را غیرفعال می‌کند. فرایند پخت میزان فعالیت آبی را نیز کاهش می‌دهد و شرایط رشد را برای باکتری‌های پاتوژن نامساعد می‌سازد. فساد اغلب محصولات نانویی در اثر رشد کپک‌هایی مانند *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus* و *Aspergillus* به وجود می‌آید زیرا این گونه محصولات غنی از مواد مورد نیاز آنها می‌باشند [۳]. اسپور کپک‌ها در هوا، خاک، روی غلات و در آرد وجود دارند که معمولاً طی فرایند پخت از بین می‌روند ولی پس از پخت، هنگام سرد شدن و قبل از بسته بندی از طریق هوای آلوده سالن، واگن‌های آلوده و ... مجدداً آلوده شده و زمینه رشد کپک را فراهم می‌آورند [۴ و ۵].

در راستای افزایش تقاضا برای استفاده از گیاهان دارویی در سال‌های اخیر، گیاه رازک توجه بسیاری از محققان را به خود جلب کرده است. این گیاه به طور معمول *Hops* نامیده می‌شود و نام علمی آن *Humulus lupulus L.* می‌باشد. رازک تاریخچه طولانی در درمان بیماری‌ها دارد و به عنوان یک آرام‌بخش در پزشکی مطرح بوده و به طور سنتی در درمان بی‌قراری‌های همراه با سردرد، بهبود اشتها و معده درد، تسکین دندان‌درد و گوش‌درد استفاده می‌شود [۶]. رازک بومی اروپا و غرب آسیاست و در شمال آمریکا، جنوب آفریقا و همچنین استرالیا نیز کشت می‌شود [۷]. دامنه انتشار این گیاه در ایران در شمال ایران از جمله گرگان و سواحل دریای خزر (بندر گز)، گیلان و مازندران است [۸]. شروع مطالعات روی رازک به نیمه دوم قرن بیستم برمی‌گردد. در همین زمان چندین مطالعه فیتوشیمیایی برای بررسی ترکیبات مخروط و دیگر بخش‌های گیاه انجام شد و نتایج آنها منجر به جداسازی و تعریف چندین ترکیب فارماکولوژیکی از قبیل فلاونون، چالکون‌ها و مشتقات فلوروگلوکوسینول شد. در طی دهه گذشته تحقیقات فارماکولوژیکی متعددی در شرایط *in vivo* و *in vitro* روی

گیاه رازک انجام شده که در همه آن‌ها سعی بر این بوده که دلایل علمی برای استفاده‌های سنتی موجود برای رازک آورده شود [۶].

از جمله این مطالعات، مطالعه لنگرال و همکاران (۱۹۹۹) است که فعالیت ضد میکروبی عصاره رازک را بر روی گروهی از باکتری‌های گرم مثبت و بعضی از قارچ‌ها گزارش نمودند [۸]. همچنین ناوتو و همکاران (۲۰۰۹) فعالیت ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی رازک را بررسی کردند. در این مطالعه مشخص شد که بیشترین فعالیت ضد میکروبی مربوط به دو جزء لوپولون^۲ و زانتوهومول^۱ است و زانتوهومول بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را داشت [۹]. در ایران نیز نیک‌نژاد (۱۳۸۰) اثر عصاره رازک را بر روی قارچ‌های عامل کچلی بررسی کرد و نشان داد که عصاره رازک بر رشد میکروارگانیسم‌های فوق اثر مهارکنندگی دارد. همچنین عصاره رازک بر روی اسپورزایی *Aspergillus niger* نیز اثر بازدارندگی داشت ولی در مقابل مخمر *Candida albicans* هیچ‌گونه فعالیتی بازدارندگی رشد از خود نشان نداد [۸].

با توجه به این که کپک‌ها مهم‌ترین و عمده‌ترین عامل فساد نان و سایر فرآورده‌های تهیه شده از غلات هستند و همچنین وجود مواد فتوشیمیایی گوناگون با پتانسیل ضدقارچی قابل ملاحظه در گیاه رازک تصمیم گرفته شد تا مطالعات آزمایشگاهی در جهت تعیین کیفیت و گستره تأثیر مواد مذکور بر روی قارچ‌ها انجام پذیرد. مطالعه حاضر به منظور ارزیابی طیف اثر ضدقارچی عصاره گل رازک (تولید شده در شرکت گیاه-اسانس گرگان) بر علیه تعدادی از کپک‌های عامل فساد نان و همچنین مخمر نانویی صورت گرفت و کارایی ضد-قارچی **Minimum Inhibitory Concentration (MIC)** و **Minimum Fungicidal Concentration (MFC)** این عصاره تعیین گردید.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- فعالیت ضدقارچی

این مطالعه تجربی-آزمایشگاهی در آزمایشگاه بیوتکنولوژی گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه تهران انجام شد. عصاره اتانولی گل‌های رازک از شرکت گیاه-اسانس گرگان تهیه

1. lopolune
2. xanthohomol

جدول ۲ MFC عصاره رازک بر علیه کپک‌ها

غلظت مؤثر عصاره (mg/ml)	میکروارگانیزم
۳/۷۵	<i>Aspergillus niger</i> (ATCC 9029)
۳/۲۵	<i>Aspergillus flavus</i> (PTCC5006)
۳/۷۵	<i>Penicillium chrysogenum</i> (ATCC 11709)
۳/۷۵	<i>Penicillium citrinum</i> (ATCC 38065)
۵/۲۵	<i>Rhizopus oryzae</i> (ATCC 9363)
۳/۳	<i>Rhizomucor</i> (spp)

*کمیت: **mg عصاره / g ماده گیاهی خشک = ۱۵۰ mg**

در این مطالعه مشخص گردید که عصاره اتانولی گل‌های این گیاه در غلظت‌های کمتر از ۳/۳mg/ml از رشد کپک‌های عامل عمده فساد نان جلوگیری می‌کند و برای اثر بر *Sccharomyces cerevisiae* به غلظت‌های بالاتری از آن نیاز است. نتایج حاصل بیانگر خاصیت ضدقارچی عصاره اتانولی گونه *Humulus lupulus L.* بر ضد اغلب کپک‌های عامل فساد نان می‌باشد به طوری که اثر بازدارندگی از رشد این کپک‌ها از غلظت ۱/۸۷۵ mg/ml آغاز و تا غلظت ۳/۳mg/ml کل کپک‌های مورد آزمون مهار می‌شوند، در حالی که در هیچ یک از غلظت‌های مورد آزمون اثر بازدارندگی بر مخمر نانویی یعنی *Sccharomyces cerevisiae* مشاهده نشد. نتایج به دست آمده با نتایج سایر پژوهش‌های مرتبط مطابقت دارد[۸].

از ۱g ماده گیاهی خشک اولیه بر مقدار MIC محاسبه شده برای سویه‌های مورد آزمون به دست می‌آید[۱۲].

۳- نتایج و بحث

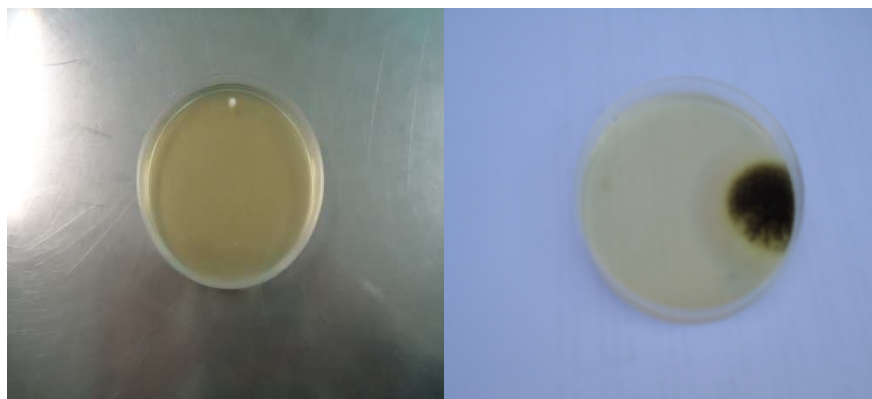
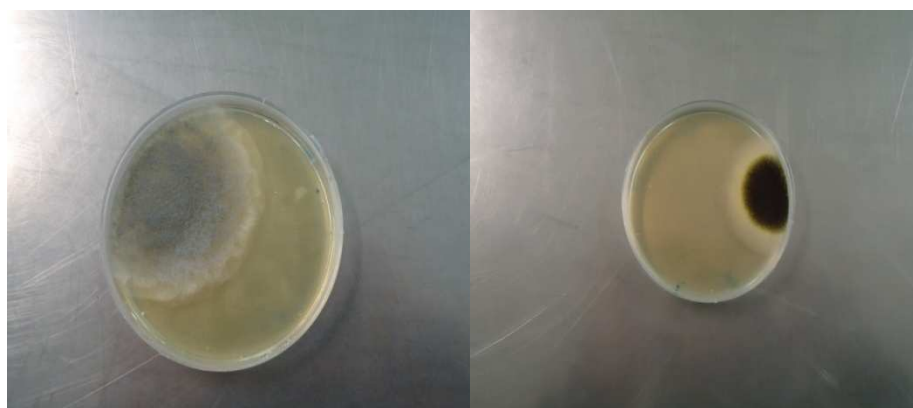
نتایج مقادیر مربوط به حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MFC) عصاره اتانولی گل‌های رازک علیه چند سویه قارچ منتخب به ترتیب در جداول ۱ و ۲ آورده شده‌اند. این نتایج نشان می‌دهند که غلظت ۳/۳mg/ml از عصاره اتانولی گیاه رازک بر کلیه کپک‌های مورد آزمون اثر مهارکنندگی دارد. غلظت کشندگی این عصاره برای کلیه کپک‌های فوق نیز ۵/۲۵mg/ml به دست آمد. همچنین نتایج حاصل از MIC نشان می‌دهند اثرات مهارکنندگی رشد عصاره اتانولی گل‌های رازک بر روی رشد *Sccharomyces cerevisiae* مورد آزمایش بسیار کم بوده است به گونه‌ای که هیچ گونه اثر ممانعت از رشد بر روی آن تا دامنه غلظت ۱۵mg/ml که حداکثر غلظت مورد آزمون بود، مشاهده نشد.

جدول ۱- MIC عصاره رازک بر علیه قارچ‌ها

غلظت مؤثر عصاره (mg/ml)	میکروارگانیزم
رشد در همه غلظت‌ها	<i>Sccharomyces cerevisiae</i> (PTCC 5052)
۳/۲۵	<i>Aspergillus niger</i> (ATCC 9029)
۳/۲۵	<i>Aspergillus flavus</i> (PTCC5006)
۱/۸۷۵	<i>Penicillium chrysogenum</i> (ATCC 11709)
۲/۲۵	<i>Penicillium citrinum</i> (ATCC 38065)
۳	<i>Rhizopus oryzae</i> (ATCC 9363)
۳/۳	<i>Rhizomucor</i> (spp)

جدول ۳ کمیت و شاخص فعالیت کل عصاره رازک

گیاه	بخش مورد استفاده	فعالیت کل (ml/g) *						
<i>Humulus lupulus L.</i>	گل	<i>A.niger</i>	<i>A.flavus</i>	<i>P.chrysogenum</i>	<i>P.citrinum</i>	<i>R.oryzae</i>	<i>Rhizomucor</i> (spp)	
		۱۵۳۸	۱۵۳۸	۲۶۷۰	۲۲۲۲	۱۶۶۶	۱۵۱۵	

*Aspergillus flavus**Aspergillus niger**Penicillium chrysogenum**Penicillium citrinum**Rhizomucor(spp)**Rhizopus oryzae*

شکل ۲ نمونه‌های کپک مورد آزمون

در مورد اثرات ضدباکتریایی گونه *Humulu slupulus* L مطالعات مختلفی انجام شده است. در مطالعه نیک‌نژاد در سال ۱۳۸۰ مشخص شد که عصاره گل رازک در غلظت ۳mg/ml از رشد *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporium canis*, *Epidermophyton floccosum* جلوگیری می‌کند، همچنین غلظت ۲mg/ml این عصاره از رشد *Trichophyton verrucosum*, *rubrum* در برابر مخمر *Candida albicans* مشاهده نشد [۸].

در مورد اثرات ضدباکتریایی گونه *Humulu slupulus* L مطالعات مختلفی انجام شده است. در مطالعه نیک‌نژاد در سال ۱۳۸۰ مشخص شد که عصاره گل رازک در غلظت ۳mg/ml از رشد *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporium canis*, *Epidermophyton floccosum* جلوگیری می‌کند، همچنین غلظت ۲mg/ml این عصاره از رشد *Trichophyton verrucosum*, *rubrum* در برابر مخمر *Candida albicans* مشاهده نشد [۸].

به وسیله GC-MS نشان داد که این عصاره حاوی آلفا-پینن^۱، آلفا-هومولن^۲، بتا-میرسن^۳، آلفا-لیمونن^۴ می‌باشد. آلفا-هومولن از جمله مهم‌ترین ترکیب ضدقارچ رازک می‌باشد [۱۷]. با مقایسه ترکیبات فعال جدا شده از عصاره گل‌های رازک و نتایج حاصل از این مطالعه در راستای اثبات خواص ضدقارچی این گیاه همسویی دارد.

نتایج این کار نشان داد که انتخاب عصاره های گیاهی از طبیعت می‌تواند منجر به تولید محلول های فعال زیستی شود که در صنعت غذا به عنوان جایگزین مواد شیمیایی نگهدارنده استفاده شوند. علاوه بر این نتایج به دست آمده در این پژوهش زمینه را برای تحقیق بیشتر بر روی این عصاره گیاهی و استفاده از آن به عنوان یک غذای کاربردی فراهم می‌آورد.

۴- تشکر و قدر دانی

از آقای دکتر محمدهادی سلیمانی و آقای دکتر فرهاد نیک‌نژاد که یافته‌های پژوهش حاصل همکاری‌های دلسوزانه آنان است، و بدون همکاری آن‌ها انجام این پژوهش میسر نبود، کمال تشکر و قدردانی را دارم.

۵- منابع

- [1] Izad bar.J, Samaei. M, 1372, Wheat, flour, bread, core self-sufficiency, Researchs of flourandbreadIndustry, p: 2 [in Persian].
- [2] Payan. R, 1374, Technical Conference Proceedings of bread, Press Institute of Nutrition and Food Technology[in Persian].
- [3] Vytrasova.J ,Pribanva. P, 2002, Occurrence of xerophilic fungi in bakery gingerbread production,International Journal of Food Microbial,[72], 91-96.
- [4] Guynot.M, Romas. A, 2005, Study of benzoate, propionate and sorbat salts as mould spoilage inhibitors on intermediate moisture bakery products of low pH (4.5-5), International Journal of Food Microbial, [101], 161-168.
- [5] Feng. W, Zheng. X, 2006, Essential oils to control *Alternaria alternate* iv vitro and in vivo, Food control, [18], 1126-1130.

1. α -pinene
2. α -Humulen
3. β -myrcene
4. α -Limonene

همچنین کسری کرمانشاهی و همکاران (۱۳۸۶) نیز به این نتیجه دست یافتند که عصاره اتانولی رازک از رشد باکتری‌های گرم مثبت جلوگیری می‌کند، به طوری که رشد *Bacillus subtilis* در 125mg/ml و رشد *Staphylococcus aureus* در $62/5\text{mg/ml}$ متوقف شد. با توجه به نتیجه این تحقیق و نتایج حاصل از پژوهش حاضر مشخص می‌شود که اثر ضدقارچی گل‌های رازک نسبت به اثر ضدباکتریایی آن به مراتب قوی‌تر بوده و این عصاره بیشتر به عنوان یک ضدقارچ مطرح می‌باشد [۱۳].

فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی و اثر ممانعت‌کنندگی آنها به طور گسترده متغیر است و به نوع عصاره، روش استخراج و روش آزمایش به کار رفته جهت بررسی اثر ضد میکروبی بستگی دارد [۱۴]. همه عصاره‌های گیاهی در کاهش تعداد میکروارگانیسم‌ها مؤثر می‌باشند. اثر ضد میکروبی این ترکیبات طبیعی علت اثر آنها در تخریب غشا سلول میکروبی می‌باشد. ترکیب شیمیایی عصاره‌های گیاهی می‌تواند بر روی فعالیت ضد میکروبی آنها اثر بگذارد. هیدروکربن‌های مونوترپن فعالیت ضدقارچی و ضدباکتریایی کمتری نسبت به ترکیبات اکسیژن‌دار دارند. به طور کلی عصاره‌هایی محتوای بالاتر ترکیبات اکسیژنه دارای فعالیت ضدقارچی بالاتری هستند [۱۵ و ۱۶]. فینگ و ژنگ (۲۰۰۶) اثر عصاره‌های گیاهی بر رشد میکروبی را ناشی وجود ترکیبات فنولیک گزارش کردند که به وسیله واکنش با پروتئین‌ها سبب تغییر در نفوذپذیری سلول میکروبی می‌شوند. این امر سبب تغییر شکل در ساختمان و عملکرد سلول شده و اجازه می‌دهد که ماکرومولکول‌ها از داخل سلول خارج شوند [۵].

مقدار عصاره جدا شده از 1g گل خشک شده رازک و همچنین شاخص فعالیت کل محاسبه و در جدول ۳ گزارش شده‌اند. فعالیت کل، حجمی از عصاره رقیق شده را نشان می‌دهد که توانایی کشتن میکروارگانیسم مورد آزمون را دارد. حداکثر فعالیت کل محاسبه شده 2670 ml/g ، در برابر *Penicillium chrysogenum* و حداقل فعالیت کل محاسبه شده 1515 ml/g ، در برابر *Rhizomucor(spp)* می‌باشند.

ترکیبات فنولیک و اسیدهای تلخ موجود در گل‌های ماده رازک شامل هومولن، لپولن، زانتوهومول و ۸-پرنیل نارنجین عوامل عمده فعالیت ضد میکروبی عصاره آن می‌باشند [۹]. شناسایی ترکیبات مؤثره عصاره اتانولی گل‌های خشک رازک

- International Journal of Applied Research in Natural Products, [4], 5-12.
- [13] Kasra.K. R, Nasr E. B, Poorbabaei. A, Asghari.Gh, Esmi. S. G, 2008, Effect of alcoholic extract of hop (*Humulus lupulus*) on the number of Gram-negative bacteria and Gram-positive bacteria, Iranian J Medicinal Plants, p:92-97[in Persian].
- [14] Rota. M , Herra. A, 2008, Antimicrobial activity and chemical composition of *thymus vulgaris*, *thymus zygis* and *thymus hymalis* essential oils, Food control, [19], 681-687.
- [15] Aligiannis. N, Kalpoutzakis. E, 2001, Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two organum species, Journal Agriculture Food Chemistry, [49], 4168-4170.
- [16] Guynot. M, Romas. A, 2003, Antifungal activity of volatile compounds generated by essential oils against fungi commonly causing deterioration of bakery products, Journal App. Microbial, [94], 893-899.
- [17] Ataei. S, 2007, Comparison of chemical composition of volatile oils in fresh and dried hop cones analyzed by GC-MS[dissertation], Tehran University, of Medical Sciences, Faculty of pharmacy, 45 [in Persian].
- [6] Zanolì. P, Zavatti. M, 2008, Pharmacognostic and pharmacological profile of *Humulus lupulus* L, Journal of Ethnopharmacology, [116], 383-396.
- [7] Duke. J. A, 1983, Handbook of energy crops, Unpublished, URL: <http://Google.com>, Accessed 2011 May 15.
- [8] Nik.N. F, 2001, Antifungal effects of hop plants [dissertation], Tehran University of Medical Sciences, Faculty of Public Health [in Persian], 34-38.
- [9] Naoto. Y, Keiko. S. Y, Mitsunori. O, 2009, In vitro evaluation of antibacterial, anticollagenase and antioxidant activities of hop components (*Humulus lupulus*), Phytomedicine, [16], 369-376.
- [10] Boruomand. A, 2006, Research and production of anti microbial films [dissertation], Tehran University, Faculty of agriculture, 39 [in Persian].
- [11] Institute of Standards and Industrial Research of Iran Preservations - The determination of MIC - Microbiology Test, 2003, ISIRI no 5875, First revision [in Persian].
- [12] Sharma. B, Kumar. P, 2008, Extraction and Pharmacological Evaluation of Some Extracts of *Tridax procumbens* and *Capparis decidua*,

Antifungal effect of flowers hops extract on bakery yeast and a group of moulds in bread spoilage

Mohammadi, M. ¹, Khomeiri, M. ^{1*}, Razavi, S. H. ², Alami, M. ¹

1. Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran,
 2. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran
- (Received: 92/4/12 Accepted: 94/6/21)

There is currently a very high demand for all forms and preparations of medicinal plants worldwide. Accordingly, hops has been drawing significant attention in recent years. Hops is a medicinal plant with various applications in traditional medicine. In the present research work, antifungal effect of hops flower ethanolic extract on *S. cerevisiae* and some bread spoilage molds (*Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Penicillium chrysogenum*, *P. citrinum*, *Rhizopus oryzae* and *Rhizomucor* spp.) was investigated. The antifungal effect was determined by using broth dilution susceptibility test. Results showed that the ethanolic extract of hops flower had the ability to prevent mold growth on bread samples. Inhibitory concentration of the extract was in the range of 1.875 to 3.3 mg/ml. The extract had no effect on *Saccharomyces cerevisiae* in the concentrations of 0-15 mg/ml. It was concluded that ethalonic extract of hops flower has remarkable negative effects on food spoilage mold growth, especially bread spoilage molds. To apply this extract as a natural food preservative, further researches are required.

Keywords: Antifungal activity, Ethanolic extract of hops, *Humulus lupulus L.*, Broth Dillution Susceptibility Test.

* Corosponding Author E-Mail Address: khomeiri@gau.ac.ir