اثر اسانس گیاه آویشن کوهی یا کهلیک اوتی (Thymus kotschyanus) روی ویژگی های فیزیکوشیمیایی و حسی دوغ

فواد محمودزاده[۱]، پیمان قجر بیگی[۲*]، رزاق محمودی[۳]، اصغر محمدپوراصل[۴]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بهداشت و ایمنی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، ایران
۲- استادیار بهداشت مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، ایران
۳- استادیار گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، ایران
٤- استادیار اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۳/٤/۱۹)

چکیده

نگهدارنده های شیمیایی معمولاً جهت کاهش یا حذف میکروارگانیسم های بیماریزا یا عامل فساد در مواد غذایی بکار می روند، استفاده بیش از حد آنها منجر به ایجاد باقی مانده های سمی و تاثیرات مضر در مصرف کنندگان می شود. بنابراین تحقیقات بسیاری جهت جایگزینی نگهدارنده های شیمیایی با انواع طبیعی آنها، خصوصا روی اسانس های گیاهی در حال انجام است.

در این مطالعه ترکیبات شیمیایی اسانس کهلیک اوتی با دستگاه GC-MS شناسایی شد. سپس خصوصیات ارگانولپتیکی، ضد میکروبی و فیزیکوشیمیایی نمونه های دوغ با غلظت های مختلف اسانس در طول یک دوره ١٤ روزه مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج آنالیز GC-MS نشان داد که تیمول (۵۱/۱٪)، پارا-سیمن (۱۳/۷۸٪) و گاما ترپینن(۹/۰۳٪) بیشترین درصد ترکیبات را تشکیل می دهند. اسانس درغلظت های پایین اضافه شده به دوغ در همان روزهای اولیه باکتری E.coli O157:H7 را از بین برد و همچنین MIC اسانس ٤٧٠ µg/ml بود. بر اساس نتایج بدست آمده اسانس تغییرات معنی داری در خواص فیزیکو شیمیایی دوغ ایجاد نمی کند جز در مورد مواد جامد کل که دوغ فاقد اسانس با دوغ دارای ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm اسانس از نظر این خصوصیت اختلاف معنی داری دارد($P<0.05$). دوغ دارای ppm ۵۰ اسانس قابلیت پذیرش بالاتری در بین داورها داشت.

اسانس مورد نظر اثر مضری بر خصوصیات ارگانولپتیکی و فیزیکوشیمیایی دوغ نداشته و مواد موثر آن میتوانند بعنوان یک عامل ضد باکتریایی قوی بصورت خالص تهیه و بصورت تنها و در کنار دیگر تکنیک های نگهداری برای افزایش عمر انباری مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرند.

کلید واژگان: اسانس کهلیک اوتی، فعالیت ضد میکروبی، خواص فیزیکو شیمیایی

* مسئول مکاتبات: pqajarbeigi@qums.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-18]

۱- مقدمه

علی رغم پیشرفت های نوین در روش های تهیه و تولید مواد غذایی، سلامت و ایمنی مصرف کننده به طور روز افزون در بهداشت عمومی اهمیت می یابد. تخمین زده شده است که ۳۰ درصد از مردم در کشورهای صنعتی، یکبار در سال از بیماری های غذایی رنج می برند. بنابراین هنوز هم نیاز به کاهش یا حذف میکروارگانیسم های پاتوژن غذازاد با استفاده از روش های مختلف احساس می شود[۱, ۲].

امروزه بروز مقاومت دارویی در انواع میکروارگانیسم های بیماریزا از یک سو و از طرف دیگر اثرات مضر نگهدارنده های غذایی شیمیایی و سنتزی از سوی دیگر به عنوان یک چالش مهم در هر دو زمینه بهداشت و درمان انسان و دام تبدیل گردیده است. بنابراین یک نیاز مستمر در زمینه شناسایی ترکیبات ضدمیکروبی جدید جهت به حداقل رسانیدن مقاومت دارویی میکروارگانیسم ها و استفاده از آنها به عنوان جایگزین نگهدارنده های شیمیایی احساس می شود[۳].

اسانس ها ترکیبات روغنی گیاهی هستند که از مخلوط ترکیبات شیمیایی آلی فرار سنگین و چربی تشکیل شده اند. اسانس ها در بسیاری از تیره های گیاهی شامل تیره ی کاج، برگ بو، نارنج، چتریان، نعنائیان و کاسنی ها و در قسمت های مختلف آن ها مثل شاخه، گل، غنچه، برگ، جوانه، پوست، ریشه، میوه و ... یافت می شود. برای به دست آوردن اسانس ها می توان از روش های مختلف شامل فشار، تبخیر یا عرق گیری استفاده کرد ولی روش معمول تجاری، تقطیر با بخار داغ (Steam distillation) می باشد[۱].

اسانس ها و عصاره های حاصل از گیاهان دارویی با داشتن ترکیبات ضدمیکروبی، ضدسرطانی، آنتی اکسیدانی و عوامل حذف کننده رادیکال های آزاد از توان بسیار بالایی جهت به کارگیریشان به عنوان ترکیبات نگهدارنده طبیعی جدید در محافظت غذاهای خام و فرآوری شده بر خوردار می باشند [٤, ٥].

کهلیک اوتی یا آویشن کوهی گیاهی با نام علمی Thymus kotschyanus یکی از گونه های Thymus و از تیره نعنا Labiatae می باشد [٦]. آنالیز ترکیبات تشکیل دهنده ی گونه های مختلف آویشن بیانگر وجود ترکیبات فنولی مانند تیمول، کارواکرول، اسید کافئیک، ایگنول، ترپنوئیدها، ساپونین، فلاونوئیدها و غیره در آن هاست که از این ترکیبات بطور گسترده در صنعت غذا و مواد آرایشی و بهداشتی استفاده می شود و دارای خاصیت ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد درد، آنتی اکسیدانی و حشره کشی می باشند [۷-۱۱]. علاوه بر این در بخش های مختلف ایران از گل های انواع گونه های آویشن نوشیدنی های ضد نفخ، ضد اسپاسم، ضد سرفه، ضد خلط و هضم کننده غذا در دستگاه گوارش تهیه و استفاده می شود [۱۲].

Escherichia coli O157:H7 یکی از باکتری های مهم پاتوژن می باشد که با تولید توکسین می تواند عامل بیماری های گوارشی و دستگاه ادراری همچون کولیت هموراژیک (colitis hemorrhagic) و نیز سندوم اورمیک همولیتیک (syndrom hemolytic uremic) محسوب شود. این باکتری بعنوان یک عامل بیماریزای food-borne مطرح است و می تواند از طریق شیر و سایر مواد لبنی ، آب آلوده و نیز گوشت به انسان منتقل شود . در آمریکا سالیانه حدود ٦٣٠٠٠ نفر با این باکتری آلوده شده و مرگ و میر ناشی از آن ٦١ نفر می باشد[۱۳].

نتایج مطالعه دینن و همکاران (۱۹۹۸) بر روی حضور باکتری E.coli O157:H7 در محصولات لبنی تخمیری، نشان داد که این باکتری قادر به زنده ماندن و رشد در این محصولات تخمیری که pH پایین داشته و برای باکتری مساعد نبوده نیستند اما حضور این باکتری در محصولات لبنی تخمیری آماده مصرف نشان دهنده آلودگی ثانویه این محصولات است[١٤]. هر چند Ogwaro و همکارانش در سال ۲۰۰۲ نشان دادند که E.coli O157:H7 می تواند در طول یک دوره تخمیر در دماهای مختلف زنده مانده و کاملا از محیط غذایی حذف نگردد [١٥].

با توجه به اهمیت گیاهان دارویی خصوصا گیاهان دارویی بومی کشورمان در این تحقیق بر آن شدیم که اجزای تشکیل دهنده و خواص کاربردی اسانس کهلیک اوتی را مورد بررسی قرار دهیم تا بدین طریق با توجه به غنای کشورمان از نظر گیاهان دارویی امکان استفاده از یک منبع سهل الوصول و مقرون به صرفه را فراهم آورده و همچنین از هدر رفتن مواد غذایی و خسارت های ناشی از آن جلوگیری کرده و در نهایت گامی جهت پیشرفت بهداشت و ایمنی مواد غذایی جامعه برداشته شود.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-18]

۲- مواد و روش کار

۲-۱- تهیه اسانس

گیاه کهلیک اوتی بصورت خشک شده از عطاری های شهرستان تبریز تهیه و نام علمی گیاه توسط هرباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تایید گردید. جهت تهیه اسانس، گیاه خرد شده و با استفاده از یک دستگاه کلونجر اسانس روغنی و فرار گیاه به روش تقطیر با آب استخراج گردید. اسانس بدست آمده به کمک سولفات سدیم خشک، آبگیری و پس از عبور از میکروفیلتر ۰/٤٥µm در ظرف شیشه ای تیره به دور از نور خورشید در دمای ٤ درجه سانتیگراد تا زمان شناسایی و تعیین ترکیبات شیمیایی، تعیین خواص ضد باکتریایی و خصوصیات حسی در دوغ نگه داری شد(١٦).

۲-۲- آنالیز ترکیبات تشکیل دهنده اسانس با استفاده از دستگاه GC-MS[1]

شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس با استفاده از شاخص های بازداری (Retention indices) و بررسی طیف های جرمی ترکیبات و مقایسه ی آنها با طیف های جرمی استاندارد صورت گرفت [۱۷]. برای این کار ابتدا نمونه آماده شده اسانس به دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف نگار جرمی نیز تزریق شد و طیف جرمی ترکیب ها بدست آمد. سپس با استفاده از شاخص بازداری، بررسی طیف های جرمی و مقایسه آنها با طیف های مرجع شناسایی هر یک از اجزای اسانس صورت گرفت. در این مطالعه دستگاه GC-MS از نوع Agilent6890 با ستون مویینه به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵میلیمتر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS با برنامه دمایی ستون در ابتدا بصورت ۷۰ درجه سانتیگراد با توقف ۲ دقیقه در این دما سپس افزایش دما تا ۲۲۰ درجه سانتیگراد با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، و افزایش دمای ستون تا ۳۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲ دقیقه استفاده شد.

۲-۳- ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس علیه باکتری E.coli O157:H7

ارزیابی حداقل غلظت ممانعت کننده رشد (MIC)[2] روی باکتری E.coli O157:H7، به روش گولوس و همکاران و بر اساس میکروول دایلوشن[3] انجام شد[۱۸]. ابتدا کشت باکتریایی در محیط آبگوشت قلب و مغز[4] (BHI) به مدت ۱۲ ساعت انجام شد. اسانس گیاه مذکور در محلول دی متیل سولفوکساید ۱۰ درصد در بالاترین غلظت مورد استفاده در این تحقیق حل گردید و سپس رقت های متوالی از این اسانس به صورت two-fold در لوله های آزمایش استریل حاوی ۱۰ میلی لیتر براث تهیه شد. بطوری که در هر چاهک ۸۰ میکرولیتر محیط کشت BHI استریل، ۱۰۰ میکرولیتر از رقت های متوالی اسانس آماده شده و ۲۰ میکرو لیتر کشت باکتریایی حاوی حدود 10^6 cfu/ml از باکتری E.coli O157:H7 اضافه گردید. در ادامه میکروپلیت ها بمدت ۲۰ ثانیه با دور ۱۰۰rpm شیک شده و در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد بمدت ٢٤ ساعت گرمخانه گذاری شدند. حداقل غلظتی که ایجاد حالت عدم رشد یا عدم کدورت مشهود در مقایسه با گروه کنترل کرد بعنوان MIC تعیین گردید.

۲-٤- ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس در مدل غذایی

برای ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس در مدل غذایی، ابتدا دوغ را به صورت زیر تهیه شد. شیر پاستوریزه را حرارت داده تا دمایش به ٤٣ درجه سانتی گراد افزایش یافت و در این دما ۲ درصد استارتر شامل باکتری های استرپتوکوکوس ترموفیلوس، لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و گونه های مختلف لاکتوباسیلوس و کمتر از ۱ درصد نمک اضافه کرده در دمای ٤٢ درجه سانتی گراد تا رسیدن به pH: ٤/٦ گرم خانه گذاری شد [۱۹]. دوغ حاصل به ٦ بچ جداگانه تقسیم و به هر یک از بچ ها تعداد 10^6 cfu/mlباکتری مورد آزمایش از قبل آماده شده اضافه گردید. سپس غلظت های صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ ppm از اسانس را اضافه به مدت دو هفته در شرایط یخچالی نگهداری و طی روزهای یک، سه، پنج، هفت، ده و چهارده از لحاظ خصوصیات باکتریایی یعنی ماندگاری

1. Gas chromatography- Mass specterometry

2. Minimum inhibition concentration
3. Micro-well dilution assay
4. Brain Heart Infusion

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-18]

اشرشیا مورد ارزیابی قرار داده شد[۲۰]. (هر کدام از تیمارها در سه تکرار انجام شد.)

۲-۵- آنالیز فیزیکوشیمیایی دوغ اسانس دار شده

برای هر یک از بچ های دوغ حاوی غلظت های مختلف اسانس نگهداری شده در دمای یخچال، در روزهای یک، سه، پنج، هفت، ده و چهارده آزمایشات فیزیکو شیمیایی زیر را انجام گردید(هر تیمار در ۳ تکرار انجام شد) :

pH دوغ با یک pH متر دیجیتالی (Nick, 776, Jena, Germany) مجهز به یک الکترود استاندارد شیشه ای اندازه گیری گردید و pH متر قبل از استفاده ابتدا با محلول های بافری با pH ، ۹ و ٤ کالیبره شد.

اسیدیته قابل تیتراسیون[5] دوغ با مخلوط کردن ۲۵ میلی لیتر دوغ با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر و تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال انجام گردید و اسیدیته بر حسب درصد اسید لاکتیک محاسبه گردید[۱۹].

مواد جامد کل[6] دوغ از طریق حرارت دادن دوغ در دمای ۱۰٤درجه سانتی گراد تا ثابت شدن وزن آن و اندازه گیری وزن باقیمانده انجام گردید[۱۹].

اندازه گیری چربی دوغ با استفاده از روش ژربر انجام گردید[۲۱]. بطوری که ۱۱ میلی لیتر دوغ را با ۱۰ میلی لیتر اسید سولفوریک ۸٤ درصد و ۱ میلی لیتر الکل ایزوآمیلیک در درون بوتیرومتر ریخته هم زده و در داخل بن ماری ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه قرار داده و از روی ستون مندرج بوتیرومتر مقدار چربی را قرائت گردید.

۲-٦-ارزیابی خصوصیات حسی

برای ارزیابی ویژگی های حسی دوغ حاوی غلظت های مختلف اسانس از آزمون پذیرش حسی[7] استفاده گردید(۲۲). بدین منظور دوغ آماده شده به ٦ قسمت (شامل ۵۰۰ میلی لیتر دوغ در فلاسک های با حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر) تقسیم شد، سپس اسانس مورد مطالعه در غلظت های صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ ppm به هر فلاسک اضافه گردید.

ارزیابی حسی بوسیله یک پانل پنج نفره صورت گرفت. اعضای پانل معیار خود از ارزیابی حسی دوغ حاوی اسانس را با استفاده از یک مقیاس حسی ۹ نمره ای[8] مشخص نمودند. در این مقیاس نمره ۹ خیلی عالی، نمره ۸ عالی، نمره ۷ خوب، نمره ٦ نسبتاً خوب، نمره ۵ نه خوب نه بد، نمره ٤ نسبتاً بد، نمره ۳ بد، نمره ۲ خیلی بد و نهایتاً نمره ۱ فوق العاده بد، برای ارزیابی ویژگی های حسی لحاظ گردید.

۲-۷- آنالیز آماری

برای آنالیز داده های جمع آوری شده از نرم افزار آنالیز آماری SPSS، که از آنالیز واریانس برای داده های تکراری و از تست توکی[9] برای مقایسه های دو تایی متغییرها استفاده گردید و سطح معنی دار بصورت ($p<0.05$) در نظر گرفته شد.

۳- نتایج

نتایج بدست آمده از GC-MS نشان داد که بیشترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس را ۱و۸ سینئول (۳/۳۵٪)، آلفا پینن(۷/٤۲٪)، گاما ترپینن(۹/۰۳٪)، پارا-سیمن (۱۳/۷۸٪) و تیمول (۵۱/۱٪) تشکیل می دهند. ترکیبات عمده تشکیل دهنده اسانس کهلیک اوتی همراه با زمان بازداری و درصد هر ترکیب در جدول شماره یک نشان داده شده است که این ۱۸ترکیب شناسایی شده در مجموع ۹۷/٤٤ درصد کل ترکیبات تشکیل دهنده اسانس را شامل می شوند.

۳-۱- فعالیت ضد باکتریایی اسانس کهلیک اوتی

اثر ضدباکتریایی اسانس کهلیک اوتی با استفاده از تعیین حداقل غلظت مهاری مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس یافته های این مطالعه حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد (MIC) برای اسانس مذکور برابر است با ٤۷۰ میکروگرم بر میلی لیتر. همچنین نتایج شمارش کشت باکتریایی E.coli O157:H7 در ماده غذایی دوغ در بازه زمانی ١٤ روزه بصورت جدول زیر بود. آنالیز نتایج بدست آمده نشان داد که افزایش غلظت اسانس تاثیر معنی داری بر کاهش تعداد باکتری ها دارد ($p<۰/۰۵$) و همانطور که انتظار داشتیم با افزایش غلظت شناسایی و شمارش باکتریای غیر ممکن شد.

۳-۲- آنالیز فیزیکوشیمیایی دوغ اسانس دار شده

بررسی نتایج بدست آمده از آزمایشات فیزیکوشیمیایی نشان می دهد که با گذشت زمان اختلاف معنی داری ($P<0.001$) در خصوصیات فیزیکوشیمیایی همه گروه های مورد مطالعه

5. The titratable acidity
6. Total solid
7. Sensory acceptance test
8. Nine point hedonic scale
9. Tukey

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-18]

ایجاد می شود. افزودن اسانس تغییرات معنی داری ($P<0.05$) در مقدار مواد جامد کل در بین گروه فاقد اسانس(F) با دو گروه (B) و (C) که به ترتیب دارای غلظت های ۱۰۰و ۲۰۰ ppm اسانس هستند، ایجاد می کند. همچنین اختلاف معنی داری از نظر اسیدیته قابل تیتراسیون بین گروه (F) و (C) وجود دارد ولی در بقیه موارد افزودن اسانس در غلظت های مختلف تغییرات معنی داری در خصوصیات فیزیکوشیمیایی ایجاد نمی کند. در کل می توان گفت که تغییرات ایجاد شده به وسیله غلظت های بالای اسانس محسوس نبوده و اسانس تغییرات معنی داری در خصوصیات فیزیکوشیمیایی ایجاد نمی کند.

جدول ۱ آنالیز ترکیبات اسانس کهلیک اوتی با استفاده از GC/MS

شماره	ترکیبات	زمان بازداری(دقیقه)	درصد
۱	آلفا توجن	٤/۳۸	۰/٦٥
۲	آلفا پینن	٤/٥۲	۷/٤۲
۳	کامفن	٤/۷۸	۰/۹٥
٤	بتا میرسن	٥/٤٤	۰/۷٥
٥	آلفا ترپنین	٥/۹۲	۱/۸۷
٦	پارا-سیمن	٦/۰۸	۱۳/۷۸
۷	بتا فلاندرن	٦/۱٥	۱/۰٥
۸	۱و۸ سینئول	٦/۱۹	۳/۳٥
۹	گاما ترپینن	٦/٦۷	۹/۰۳
۱۰	کامفور	۸/۱٤	۰/٥۸
۱۱	سیکلو هگزان	۸/۷۲	۱/٥۸
۱۲	ایزوبورنیل پروپیونات	۹/۱۱	۰/۹۳
۱۳	کارواکرول	۱۱/۰٦	۱/٤۱
۱٤	تیمول	۱۱/۱٦	٥۱/۱
۱٥	ترانس کاریوفیلن	۱۳/٦۰	۱/۹۳
۱٦	جرماکرنD	۱٤/۸۸	۰/۲۹
۱۷	دلتا کادینن	۱٥/۷۹	۰/۳۸
۱۸	سیس آلفا بیزابولن	۱٦/۱۷	۰/۳۹
جمع			۹۷/٤٤

جدول ۲ شمارش باکتری E.coli در نمونه های دوغ با غلظت های مختلف اسانس در طی بازه زمانی ۱٤ روزه (log CFU/ml)

	دوره نگهداری (روز)					
نمونه دوغ	۱	٥	۳	۷	۱۰	۱٤
A	3.13±0.05	2.03±0.08	ND	ND	ND	ND
B	2.92±0.21	1.30±0.12	ND	ND	ND	ND
C	1.69±0.07	ND	ND	ND	ND	ND
D	ND	ND	ND	ND	ND	ND
E	ND	ND	ND	ND	ND	ND
F	3.18±0.17	3.02±0.23	1.60±0.13	1.02±0.09	ND	ND

ND: غیر قابل شناسایی

A: دوغ با ۵۰ppm اسانس، B: دوغ با ۱۰۰ ppm اسانس، C: دوغ با ۲۰۰ppm اسانس، D: دوغ با ۳۰۰ppm اسانس، E: دوغ با ۵۰۰ ppm اسانس و F: دوغ فاقد اسانس

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-18]

جدول ۳ میانگین داده های مواد جامد کل دوغ حاوی غلظتهای مختلف اسانس در طول دوره ١٤ روزه

روز / نمونه دوغ	١	٣	٥	٧	١٠	١٤
A	٧/٤٤	٧/٥٠	٧/٥٥	٧/٤٠	٧/٣٥	٧/٤٠
B	٧/٤٤	٧/٣٣	٧/٣٠	٧/٣٥	٧/٣٠	٧/٢٥
C	٧/٥٣	٧/٤٠	٧/٣٥	٧/٣٠	٧/٣٥	٧/٣٥
D	٧/٥٣	٧/٥٠	٧/٥٥	٧/٥٠	٧/٣٣	٧/٤٠
E	٧/٥٣	٧/٥٠	٧/٤٥	٧/٥٥	٧/٥٠	٧/٤٠
F	٧/٥٣	٧/٥١	٧/٥٠	٧/٤٦	٧/٤٠	٧/٤٠

جدول٤ میانگین داده های اسیدیته دوغ حاوی غلظت های مختلف اسانس در طول دوره ١٤روزه

روز / نمونه دوغ	١	٣	٥	٧	١٠	١٤
A	٠/٧٩٦	٠/٨١٠	٠/٨١٣	٠/٨١٥	٠/٨٢٣	٠/٨٦٦
B	٠/٧٦٦	٠/٧٨٠	٠/٧٨٦	٠/٧٩٣	٠/٨٠٠	٠/٨٩٠
C	٠/٧٦٨	٠/٨١٤	٠/٨٢٣	٠/٨٤٦	٠/٨٧٦	٠/٨٩٥
D	٠/٧٦٣	٠/٧٧٦	٠/٨٠٠	٠/٨١٦	٠/٨٢٠	٠/٨٧٠
E	٠/٧٤٦	٠/٧٧٨	٠/٧٩٦	٠/٧٩٨	٠/٨٤٣	٠/٨٦٠
F	٠/٧٣٣	٠/٧٦٣	٠/٧٦٨	٠/٧٧٠	٠/٨٠٣	٠/٨٧٦

٣-٣-آنالیز حسی دوغ اسانس دار

آنالیز داده های بدست آمده از نمره دهی داورها به قابلیت پذیرش و طعم و مزه دوغ با نرم افزار spss و آنالیز واریانس یک طرفه نشان می دهد که دوغ های حاوی غلظت های مختلف اسانس از نظر قابلیت پذیرش با هم اختلاف معنی داری داشته ($p<0.05$) و غلظت های بالاتر اسانس بر طعم و مزه دوغ اثر منفی دارد و دوغ با ۵۰ppm اسانس بهترین طعم و مزه را در بین همه گروه ها دارد.

جدول ۵ قابلیت پذیرش دوغ حاوی غلظت های مختلف اسانس

نمونه دوغ	A	B	C	D	E	F
قابلیت پذیرش	٨/٠١	٧/٤٨	٧/٠٥	٦/١٣	٥/٢١	٧/٧٥

٤- بحث

اسانس ها و عصاره های حاصل از گیاهان هزاران سال است که به صورت طعم دهنده و دارو در همه دنیا مورد استفاده قرار می گیرند. گزارش های متعددی مبنی بر خواص ضدمیکروبی اسانس و عصاره برخی گیاهان دارویی وجود دارد بنابراین از آنجایی که گیاهان می توانند نقش موثری در کنترل بیماری های میکروبی داشته باشند ارزیابی دقیق گیاهان دارویی امری ضروری است از این رو در این مطالعه به ارزیابی خواص مختلف گیاه کهلیک اوتی در مدل غذایی دوغ پرداختیم[۲۳]. نتایج حاصل از بررسی ترکیب شیمیایی اسانس کهلیک اوتی با GC-MS نشان دهنده وجود مقادیر بالای ترکیبات مونو ترپنی، که این ترکیبات دارای خواص ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی بالایی هستند می باشد. همچنین نتایج بدست آمده تا حدودی با سایر بررسی های انجام گرفته در این راستا همخوانی داشته و ترکیبات مشابهی در بررسی های مختلف

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-18]

صورت گرفته شناسایی شدند[۲٤, ۲۵] ولی از نظر درصد ترکیبات تشکیل دهنده اختلافاتی وجود دارد که به ژنتیک، آب و هوا، شرایط رشد، برداشت گیاه بستگی دارد[۲٦].

بطور کلی داشتن خواص ضد باکتریایی قوی بر علیه باکتری های بیماری زا در اسانس های گیاهی به علت حضور درصد بالای ترکیبات تیمول، کارواکرول و غیره می باشد که به نظر می رسد مانند دیگر ترکیبات فنولیک با اختلال در غشای پلاسمایی، نیروی محرکه پروتونی، جریان الکترونی، انتقال فعال و انعقاد محتویات سلولی اثرات خود را بر سلول باکتریایی می گذارند که در مطالعه ما هم درصد تیمول اسانس بسیار بالاست[۲۸،۲۷].

در مطالعه ای که توسط بدیا و همکاران (۲۰۰۵) بروی بقا E.coli O157:H7 در نمونه های دوغ حاوی اسانس های گیاهی نعنا، سیر، آویشن و نمک انجام گرفت نتایج نشان داد که در دوغ حاوی اسانس آویشن با دمای نگهداری ٤ درجه سانتی گراد، تعداد باکتری ها در ۷ روز اول با شیب تندی کاهش پیدا کرد و در انتهای دوره (روز چهاردهم) دوغ عاری از باکتری اشرشیاکلای بود که با نتایج مطالعه ما همخوانی دارد ولی در مطالعه ما سرعت کاهش در روزهای اول و سوم بیشتر بود [۲۹].

بطور کلی مطالعه ای که اثر اسانس کهلیک اوتی را بر روی باکتری E.coli O157:H7 در شرایط آزمایشگاهی و حتی مدلهای غذایی مورد بررسی قرار دهد وجود ندارد. کریم و بنیادیان (۲۰۰٤) تا ثیر ضد میکروبی روغن های فرار گیاهان نعناء، ترخون، زیره، پونه و آویشن بر باکتری اشریشیاکلی در پنیر سفید ایرانی را مورد مطالعه قرار دادند که در مطالعه آنان پس از آویشن که دارای بیشترین تاثیر ضد میکروبی بر باکتری اشریشیاکلی بود، نعناء، زیره و پونه تقریباً تاثیر مشابه داشته به طوری که پس از گذشت ۱٦۸ ساعت (۷ روز) در غلظت های ۰/۳ و ۰/٤ درصد به ترتیب منجربه کاهش ۲ تا ۲/۵ لگاریتم از بار باکتریایی اشرشیا کلای نسبت به گروه شاهد شدند این محققین کمترین تاثیر را مربوط به گیاه ترخون اعلام داشتند[۳۰].

طی مطالعه ای که اثر ضد باکتریایی اسانس نعناع را بر روی باکتری های اشرشیا O157:H7 و استافیلوکوکوس اورئوس CECT 4459 در شرایط آزمایشگاهی و گوشت مورد بررسی قرار دادند، مشخص گردید که غلظت مهارکنندگی اسانس نعناع برای باکتری اشرشیا کلی۵۰۰ میکروگرم در میلی لیتر بوده و در گوشت نیز باعث کاهش رشد این باکتری میشود که نتایج این مطالعه نشان از اثر ضدباکتریایی قویتر اسانس ما بر علیه باکتری اشرشیا در مقایسه با اسانس نعنا دارد[۳۱].

در بررسی دیگری از سوی smith و همکاران (۲۰۰۱)، اثرات چهار اسانس طبیعی گیاهی یعنی اسانس برگبو، میخک، دارچین و آویشن، بعنوان یک نگهدارنده غذایی طبیعی در غلظت های صفر، ۰/۵ و ا درصد در پنیرهای نرم با چربی کم و زیاد، بر علیه لیستریا مونوسیتوژنز و سالمونلا انتریتیدیس در دماهای ٤ و ۱۰ درجه سانتیگراد در طی ۱٤ روز انجام گرفت. در پنیر با چربی کم هر چهار اسانس درغلظت ۱ درصد باعث کاهش رشد باکتری ها تا کمتر از یک کلنی در هر گرم شدند، در مقابل در پنیر با چربی زیاد اسانس میخک تنها اسانس بود که باعث کاهش مشابه گردید[۳۲].

در مطالعه شاکریان و همکاران (۲۰۱۲) روی اثر اسانس و پودر کرفس بختیاری بر خصوصیات حسی و ماندگاری ماست که با افزودن غلظت های ۲۰، ٤۰ و ٦۰ ppm اسانس بعد از استارترزنی و آنالیز فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی ماست در یک دوره معین انجام گرفت. نتایج آنالیز فیزیکوشیمیایی نشان داد که اسانس کرفس بر روی خواص فیزیکوشیمیایی ماست تاثیر گذار بوده و باعث کنترل افزایش اسیدیته ماست می شود. هم چنین این اسانس خواص حسی را افزایش داده و بیشترین تاثیر را بر طعم و عطر دارد و باعث افزایش ماندگاری ماست می شود[۳۳].

مطالعات زایکا و همکاران (۱۹۷۹) و کیوانس و همکاران (۱۹۹۱) نشان دادند که برخی اسانس ها و عصاره های گیاهی در غلظت های معین بر روی باکتری های اسید لاکتیک اثر مثبت دارند و رشد و فعالیت آنها را در طی فرآیند تخمیر افزایش میدهند[۳۵,۳٤].

هر چند مطالعات سیمک و همکاران (۲۰۰۵) نیز نشان دادند که اثر ادویه نعناع، آویشن و سیر بر تعداد باکتر یهای آغازگر دوغ در مقایسه با نمونه شاهد معنا دار نمی باشد و البته اختلاف در اسیدیته نمونه فاقد اسانس با نمونه ی دوغ حاوی ppm ۲۰۰ اسانس ما فقط معنی دار بود و شاید بتوان گفت که اسانس مورد مطالعه نه اثر مثبت و نه اثر منفی بر باکتریهای اسید لاکتیک دوغ ندارد[۱۹].

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-18]

تاکنون پژوهش های زیادی بر روی اثرات ضدمیکروبی اسانس های گیاهی مختلف و اثر ممانعت از رشد این اسانس ها صورت گرفته است که اکثریت این بررسی ها در محیط های کشت آزمایشگاهی بوده است و پژوهش های محدودی در مدل های غذایی نظیر محصولات لبنی و غیره انجام شده است. اکثر تحقیقات انجام شده نشان می دهد که حساسیت باکتری های گرم منفی در مقابل ترکیبات ضدمیکروبی در مقایسه با باکتری های گرم مثبت کمتر است که ممکن است به خاطر وجود غشای خارجی در ساختمان دیواره سلولی باکتری های منفی باشد. پس با توجه به گرم منفی بودن باکتری مورد مطالعه می توان قدرت میکروب کشی قویتری برای اسانس کهلیک اوتی در مواجهه با باکتریهای گرم مثبت متصور بود [۳۶].

۵- نتیجه گیری کلی

با توجه به بومی بودن گیاه کهلیک اوتی و مصرف غذایی و دارویی آن از زمان های دور در کشورمان، این بررسی می تواند مقدمه ای جهت بکارگیری عملی از اسانس گیاه کهلیک اوتی باشد که با توجه به ترکیب شیمیایی، خصوصیات ضدمیکروبی و حسی مطلوبی که ایجاد می کند علاوه بر استفاده از یک منبع مقرون به صرفه از هدر رفتن مواد غذایی و خسارتهای ناشی از آن جلوگیری می شود و در نهایت گامی جهت اعتلای بهداشت و ایمنی غذایی جامعه برداشته شود.

۶- تشکر و قدردانی

این پژوهش حاصل بخشی از پایانامه کارشناسی ارشد مصوب دانشگاه علوم پزشکی قزوین می باشد که عملیات آزمایشگاهی آن با همکاری دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز انجام شد.

۷- منابع

[1] Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a- review. International Journal of Food Microbiology. Aug 1;94(3):223-53.

[2]Ultee, A, Bennik, H.J and Moezelaar, R. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the foodborne pathogen Bacillus cereus. Applied And Environmental Microbiology; 68: 1561-8.

[3] Celiktas, O.Y, Kocabas, E.H, Bedir, E, Sukan, F.V, Ozek, T and Baser, K.H.C. 2007. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of Rosmarinus officinalis, depending on location and seasonal variations. Food Chemistry; 14:323-8.

[4] Bozin, B, Mimica-Dukic, N, Simin, N and Anackov, G. 2006. Characterization of the volatile composition of essential oils of some lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. Journal of agricultural and food chemistry. Mar 8; 54(5):1822-8.

[5] Hussain, AI, Anwar, F, Sherazi, STH and Przybylski, R. 2008. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (Ocimum basilicum) essential oils depends on seasonal variations. Food Chemistry; 108:986-95.

[6] Mozafarian, V. 1996. Dictionary of Iranian plant names. Tehran, Farhang Moasser .

[7] Ultee, A and Smid, E.J. 2001. Influence of carvacrol on growth and toxin production by Bacillus cereus. International Journal of Food Microbiology. Mar 20; 64(3):373-8.

[8] Puertas-Mejia, M, Hillebrand, S, Stashenko, E and Winterhalter, P. 2002. In vitro radical scavenging activity of essential oils from Columbian plants and fractions from oregano (Origanum vulgare L.) essential oil. Flavour and Fragrance Journal; 17(5):380-4.

[9] Aydin, S, Öztürk, Y, Beis, R and Baser, K.H.C. 1996. Investigation of Origanum onites, Sideritis congesta and Satureja cuneifolia essential oils for analgesic activity. Phytotherapy Research; 10:342-4.

[10] Blumenthal ,M, Goldberg, A and Brinckmann, J. 2000. Herbal Medicine, Expanded Commission E Monographs. Newton.376-378

[11] Didry, N, Dubreuil, L, Pinkas, M. 1994. Activity of thymol, carvacrol, cinnamaldehyde and eugenol on oral bacteria. Pharm Acta Helv. Jul;69(1):25-8.

[12] Zargari, A. 1993. Medicinal Herbs. 4th edition, tehran: Tehran University Publications.

[13] Kasimoglu, A and Akgun, S. 2004. Survival of Escherichia coli O157:H7 in the processing and post processing stages of acidophilus yogurt. International Journal of Food Science and Technology; 39:563–568.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-18]

Agriculture and Food Chemistry; 51(8):2200-5.

[25] Bagci, E and Baser, K. 2005. Study of the essential oils of Thymus haussknechtii Velen. and Thymus kotschyanus Boiss. et Hohen var. kotschyanus (Lamiaceae) taxa from the eastern Anatolilian region in Turkey. Flavour and Fragrance Journal Science Food and Agriculture; 20(2):199-202.

[26] Muret, K, Sevgi, K, Sengul, K, Esra, U, Cemalettin, B and Fedra, V. 2007. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. Food Chemistry; 100:534-26.

[27] Sikkema, J, Debont, J.A and Poolman, B. 1995. Mechanismsof Microbiological Reviews membrane toxicity of hydrocarbons. Microbiological Reviews; 59:201-22.

[28] Lambert, R.J, Skandamis, P, Coote, P and Nychas, G.E. 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. Journal of Applied Microbiology; 91: 453–62.

[29] Bedia, S, Osman, S and Sami, O. 2005. Survival of Escherichia coli O157:H7 during the storage of Ayran produced with different spices. Journal of Food Engineering; 78: 676-680.

[30] Karim, G. and Bonyadian, M. 2004. Study on the antimicrobial effect of the volatile oils of some herbs on *E.coli* in Iranian white cheese. Iranian Journal of Food Science and Technology; 1(1): 17-24.

[31] Deegan, L.H, Cotter, P.D, Hill, C and Ross, P. 2006. biological tools for biopreservation and shelf-life extension. International Dairy Journal; 9: 1058-71.

[32] Smith, P, Stewart, J and Fyfe, L. 2001. The poten tial appliction of plant essental oils as natrural food preservatives in soft cheese. Food Microbiology; 18: 463-70.

[33] Shakerian A, Sohrabi M.J, Ghasemi pirbalooti A. 2012. Effect of Kelussia odoratissma Mozaff essential oils and powders on the sensory properties and Sustainability Yogurt. Journal of Herbal Medicines; 3(1): 41-48.(in Persian).

[34] Zaika, L.L and Kissinger, J.C. 1979. Effects of some spices on acid production by starter cultures. Journal of Food Protection; 42(7): 572-6.

[35] Kivanc, M, Akgule, A and Dogan, A. 1991. Inhibitory and stimulatory effects of cumin, oregano and their essential oil on

[14] Dineen, S.S, Tackeuchi, K, Soudah, I.E and Boor, K.I. 1998. Persistence of E. coli O157:H7 in dairy fermentation systems. Journal of Food Protection; 61:1602-8.

[15] Ogwaro, B.A, Gibson, H, Whitehead, M and Hill, D.J. 2002. Survival of Escherichia coli O157:H7 in traditional African yogurt fermentation. International Journal of Food Microbiology; 79: 105–112.

[16] Sefid kon, F and Rahimi Bidgoli, A. 2002. Quantitative and qualitative variation assessment of Thymus kotschyanus essence in plant growth duration and using several instillation methods. Journal of Medicinal and Aromatics Plant Research; 15(0):1-22.

[17] Adams, R.P. 2001. Identification of essential oil Components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Carol Stream, IL.

[18] Gulluce, M, Sahin, F, Sokman, M, Ozer, H, Daferera, D and Sokman, A. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from Mentha longifolia L. longifolia. Food Chemistry; 103: 1449-56.

[19] Simsek, B, Sagdic, O and Ozcelik, S. 2007. Survival of Escherichia coli O157:H7 during the storage of Ayran produced with different spices. Food Engineering;79(2):676-80.

[20] Aligiannis, N, Kalpoutzakis, E, Mitaku, S and Chinou, I. 2001. Composition and antimicrobial activity of the essential oils two Origanum species. Journal of Agriculture and Food Chemistry; 49:4168–70.

[21] Iranian National Standards Organization. 2010. Measuring fat dairy products . The Standard 384: (http://www.isiri.org/portal/files/std/384.PDF . 1389). (in Persian).

[22] Meilgaard, M.C, Civille, G.V and Carr, B.T. 1999. Sensory Evaluation Techniques. 2nd Edition, Florida, Boca Raton.123-133

[23] Ghasemi Pirbalouti, A, Ghasemi, M, Momtaz, H, Golparvar, A, Hamedi, B and Shahgholian, L. 2010. The effect of some of the Iranian medicinal plants on Brucella abortus on in-vitro and in-vivo. Journal of Herbal Drugs; 1(1):21-8.

[24] Rasooli, I and Mirmostafa, S.A. 2003. Bacterial susceptibility to and chemical composition of essential oils from Thymus kotschyanus and Thymus persicus. Journal of

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-18]

growth and acid production of Lactobacillus plantarum and Leuconostoc mesenteroides. International Journal of Food Microbiology; 13:81-5.

[36] Oussalah, M, Caillet, S, Saucier, L and Laroix, M. 2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E. coli O157:H7, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes. Journal of Food Control; 18: 414-420.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-18]

Effect of thymus kotschyanus essential oil on the physicochemical and sensory properties of doogh

Mahmoudzadeh, F. [1], Qajarbeigi, P. [2*], Mahmoudi, R. [3], Mohammadpoorasl, A.[4]

1. Msc. Student of Health and Food Safety, Department of Health, Qazvin University of Medical Sciences, Iran.
2. Assistant Professor of Food Hygiene, Department of Human Nutrition and food Safety, Qazvin University of Medical Sciences, Iran.
3. Assistance Professor, Department of Food Hygiene and Aquatics, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
4. Assistant Professor of Epidemiology, Department of Human Nutrition and food Safety, Qazvin University of Medical Sciences, Iran.

(Received: 93/2/18 Accepted: 93/4/19)

Chemical preservatives are usually used to reduce or eliminate pathogenic or spoilage microorganisms but their inordinate applications have resulted in toxigenic residuals and adverse effects on consumers, So many researches have been done to substitute the chemicals with naturally occurring compounds, especially plant essential oils.

In this study, the chemical compositions of essential Thymus kotschyanus were identified with set GC-MS. Then organoleptic properties, microbial and physicochemical quality of Doogh sample prepared with adding different concentration Thymus kotschyanus essential oil were investigated during 14 day storage.

Results of GC-MS analysis indicated that thymol (51.1 %), p-cymene (13.78 %) and γ-terpinene (9.03 %) comprised the highest amount of this EO. T. kotschyanus EO destroyed E.coli O157:H7 in addetive low concentrations to Doogh in same the early days and the MIC that determined by the micro dilution method was 470µg/ml. Based on the results, essential oil doesn't have significant changes in Doogh physico-chemical properties excepion total solid that essentail Doogh free comparsion with Doogh contain 100 and 200 ppm make significant changes($p<0.05$), the Doogh that contain 50 ppm was accepted by panelist.

The addition of this EO has no adverse effect on the physicochemical and organoleptic properties of Doogh, also this EO effective substances could be purified and used as natural antibacterial agent, solely or along with others techniques, to prolong food shelf life.

Keywords: Thymus kotschyanus, Antimicrobial activity, Physico-chemical properties

* Corresponding Author E-Mail Address: pqajarbeigi@qums.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-18]