مطالعه تاثیر روغن‌های فرار برخی از گیاهان سنتی بر روی باکتری استافیلوکوک اورئوس در پنیرهای صنعتی

مجتبی بنیادیان[1*]، حمداله مشتاقی[1]

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

*آدرس مکاتبه: شهرکرد، جاده سامان، دانشگاه شهرکرد، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی

صندوق پستی: ۱۱۵، تلفن و نمابر: ٤٤٢٤٤٢٧ (۰۳۸۱)

پست الکترونیک: boniadian@vet.sku.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸٤/۸/۹ **تاریخ تصویب:** ۸۵/۵/۱۰

چکیده

مقدمه: در این تحقیق تاثیر روغن‌های فرار گیاهان نعناع، زیره، ترخان، آویشن و پونه در دو غلظت (نزدیک به MIC هر روغن فرار) بر روی جمعیت باکتری استافیلوکوکوس ارئوس در پنیر سفید ایرانی بررسی شد.

روش بررسی: برای این منظور تعداد ۲۵ بسته ۱۰۰ گرمی پنیر برای هر غلظت روغن فرار در نظر گرفته شد و غلظت‌های ۰/۳ و ۰/٤ درصد روغن‌های فرار گیاهان نعناع، پونه، زیره و ترخان و غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲ درصد برای روغن‌های فرار گیاه آویشن استفاده شد، سپس به هر یک از بسته‌های پنیر باکتری استاف به تعداد 10^6 در هر گرم تلقیح شد. در کنار نمونه‌های مورد بررسی تعداد ۲۵ بسته پنیر بدون روغن‌های فرار به عنوان شاهد درنظر گرفته شد و به همان تعداد باکتری استاف در آنها تلقیح گردید. پنیرهای مورد استفاده پاستوریزه بوده و از نظر شرایط تولید یکسان بودند.

نمونه‌ها به همراه شاهدها در سردخانه ۱۲ درجه سانتی‌گراد (دمای مناسب برای رسیدن پنیر) برای مدت یک هفته نگهداری گردید و در زمان‌های صفر، ۲٤، ٤۸، ۷۲ و ۱٦۸ ساعت از نظر تعداد باکتری تلقیح شده شمارش شدند.

نتایج: نتایج این بررسی نشانگر این بود که پس از گذشت ۱٦۸ ساعت تعداد باکتری در گروه‌های شاهد افزایش یافته است ولی در گروه‌های تیمار روند کاهش باکتری مشاهده گردید، به طوری که روغن‌های فرار گیاه آویشن با بیشترین تاثیر به میزان ۲ و۳ Log به ترتیب در غلظت ۰/۱ و ۰/۲ درصد نسبت به گروه شاهد موجب کاهش باکتری تلقیح شده گردید. پس از روغن‌های فرار آویشن، روغن‌های گیاهان زیره، پونه و نعناع تاثیر متوسط در کاهش باکتری از خود نشان دادند، و در نهایت کمترین اثر را بر روی باکتری تلقیح شده روغن‌های فرار گیاه ترخان به میزان ۰/۸ و ۱/۲ Log به ترتیب در غلظت‌های ۰/۳ و ۰/٤ درصد از خود نشان داد.

نتیجه‌گیری: نتایج این بررسی نشان می‌دهد که از گیاهان مورد بررسی نه تنها به عنوان یک طعم‌دهنده طبیعی بلکه به منظور نگهدارنده در پنیر و یا سایر مواد غذایی می‌توان استفاده کرد.

گل‌واژگان: روغن‌های فرار، اثر ضد میکروبی، استافیلوکوکوس ارئوس، پنیر

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2007.6.21.3.4]

مقدمه

بشر از دیرباز در اثر نیاز و تجربه به خواص برخی از گیاهان در معالجه بیماری‌ها پی‌برده و به مرور زمان بر تعداد آن‌ها افزوده است. هم‌چنین برخی گیاهان به طور سنتی برای ایجاد طعم و بوی مطبوع استفاده می‌شده‌اند.

در سالیان اخیر دانشمندان به خصوصیت ضد میکروبی برخی از گیاهان و عصاره‌های آنها علاقمند شده‌اند و طی بررسی‌های متعدد، خاصیت ضدمیکروبی برخی از گیاهان و یا ترکیبات به دست آمده از آنها مانند سیر، آویشن، مریم‌گلی و نظایر آن به اثبات رسیده است [۱،۲،۳،٤]. بنابراین با این رویکرد و با توجه به عوارض سوء مواد نگهدارنده و طعم‌دهنده شیمیایی که در مواد غذایی به طور بی‌رویه مورد استفاده قرار می‌گیرند محققان را بر آن داشت تا اثرات ضدمیکروبی گیاهان را بر روی باکتری‌های بیماریزا که قادر هستند از طریق مواد غذایی منتقل شوند بررسی کنند.

با توجه به اینکه باکتری استافیلوکوکوس ارئوس یکی از باکتری‌های مهم در بحث بهداشت مواد غذایی بوده و چون این باکتری قادر است غلظت نمک بالا را نیز تحمل نماید و در مواد غذایی رشد نموده و ایجاد انتروتوکسین مقاوم به حرارت نماید که منجر به مسمومیت مصرف‌کنندگان خواهد شد و نظر به اینکه از دیرباز مردم ایران گیاهانی مانند: نعناع، پونه، زیره، و نظایر آن را به عنوان طعم‌دهنده استفاده می‌کرده‌اند، ضرورت بررسی اثرات ضدمیکروبی این گیاهان و یا ترکیبات به دست آمده از آنها بیش از پیش مد نظر قرار گرفت.

در این بررسی نیز تلاش شده است تا اثر ضدمیکروبی گیاهان آویشن[1]، زیره[2]، پونه[3]، نعناع[4] و ترخان[5] بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در پنیر سفید ایرانی بررسی شود.

مواد و روش‌ها

روغن‌های فرار

روغن‌های فرار گیاهان مورد استفاده در این بررسی با همکاری پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی دانشگاه تهران به روش تبخیر با بخار آب[1] تهیه گردید [۵]، این روغن‌ها تا زمان مصرف در ظروف شیشه‌ای تیره و در دمای یخچال (صفر تا ٤ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شده و قبل از استفاده از استریل بودن آنها توسط کشت در محیط آگار مغذی و محیط آبگوشت مغذی اطمینان حاصل شد.

باکتری

باکتری مورد استفاده در این بررسی، استافیلوکوکوس آرئوس (PTCC 1113) تهیه شده از انستیتو پاستور ایران بود. ابتدا باکتری در محیط آبگوشت مغذی کشت داده شد و به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری گردید و سپس با تهیه رقت و کشت بر روی محیط آگار مغذی تعداد باکتری را در هر میلی‌لیتر محیط محاسبه نموده و رقتی که تعداد 10^6 باکتری در هر میلی‌لیتر آن باشد مشخص شده تا در آزمون‌ها استفاده شود.

پنیر

این بررسی در پنیر سفید ایرانی تولید شده در کارخانه پنیرسازی شاهد شهرکرد صورت گرفت.

روش کار

برای انجام این بررسی ابتدا «حداقل غلظت مهارکننده»[2] هر یک از روغن‌های فرار گیاهان برای باکتری مورد بررسی در محیط آبگوشت مغذی به روش رقیق‌سازی در لوله[3] محاسبه نموده [٦،۷]، و سپس بر اساس مقادیر به دست آمده، غلظت موردنظر روغن‌های فرار برای انجام مراحل بعدی آزمون‌ها استفاده شد.

بر این اساس غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲ درصد برای روغن‌های فرار آویشن و غلظت‌های ۰/۳ و ۰/٤ درصد برای روغن‌های فرار گیاهان نعناع، پونه، زیره و ترخان در نظر گرفته شد. سپس برای هر غلظت ۲۵ بسته پنیر ۱۰۰ گرمی انتخاب شد و غلظت مورد نظر روغن‌های فرار در آنها ایجاد گردید،

---

[1] *Thymus volgaris*
[2] *Carum carvi*
[3] *Mentha pulegium*
[4] *Mentha piperita*
[5] *Artemisia dracunculus*

[1] Steam Distillation
[2] MIC
[3] Tube Dilution Method

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2007.6.21.3.4]

پس از آن از کشت ۲٤ ساعته باکتری استافیلوکوک اورئوس که قبلاً تعداد آن در هر میلی لیتر محیط مشخص شده، به تعداد 10^{6} باکتری در هر گرم به پنیر تلقیح گردید. در کنار نمونه‌ها تعداد ۲۵ بسته پنیر نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد.

شاهدها از نظر خصوصیات و باکتری تلقیح شده مشابه نمونه‌ها، ولی فاقد روغن‌های فرار گیاهان مورد آزمون بودند. نمونه‌ها به همراه شاهدها برای مدت هفت روز در سردخانه ۱۲ درجه سانتی‌گراد (شرایط مناسب برای رسیدن پنیر) نگهداری گردید و در زمان‌های صفر، ۲٤، ٤۸، ۷۲ و ۱٦۸ ساعت از نظر تعداد باکتری تلقیح شده به وسیله تهیه رقت و کشت بر روی محیط بردپارکر آگار[1] شمارش شدند.

نتایج به دست آمده از شمارش باکتری در زمان‌های مختلف در گروه‌های تیمار و شاهد توسط نرم‌افزار آماری Sigma stat و آزمون آنالیز واریانس تجزیه و تحلیل شد و نمودار تغییرات تعداد باکتری در گروه‌های مختلف توسط نرم‌افزار Excel رسم گردید.

نتایج

نتایج این بررسی نشانگر این بود که روغن‌های فرار گیاهان مورد بررسی در غلظت حدود MIC قادر هستند برروی باکتری استافیلوکوکوس در پنیر تاثیر گذارده و موجب کاهش تعداد باکتری در این فراورده شوند ولی قدرت تاثیر ضدمیکروبی روغن‌های فرار گیاهان مختلف با یکدیگر متفاوت است به نحوی که بیشترین اثر ضدمیکروبی بر علیه باکتری مورد آزمون را گیاه آویشن از خود نشان داد و پس از گذشت ۱٦۸ ساعت موجب کاهش تعداد باکتری به میزان ۲ و ۳ Log در غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲ درصد، نسبت به گروه شاهد گردید. (نمودار شماره ۳) براساس آزمون آنالیز واریانس اختلاف مشاهده شده بین گروه شاهد و غلظت‌های عصاره را پس از گذشت ۱٦۸ ساعت معنی‌دار بود ($p< ۰/۰۵$).

روغن‌های فرار گیاهان زیره، پونه و نعناع تاثیر کمتری نسبت به روغن‌های فرار آویشن برروی باکتری مورد آزمون از خود نشان دادند و در غلظت‌های ۰/۳ و ۰/٤ درصد به ترتیب موجب کاهش تعداد باکتری به میزان ۱/۵ و ۲ Log نسبت به گروه شاهد شدند. (نمودارهای شماره ۱، ۲ و ٤). براساس آزمون آماری داده‌ها، اختلاف بین گروه‌های تیمار و گروه شاهد پس از گذشت ۱٦۸ ساعت معنی‌دار بود ($p< ۰/۰۵$).

کمترین اثر ضدمیکروبی را برروی باکتری مورد بررسی روغن‌های فرار گیاه ترخان از خود نشان داد و در غلظت‌های ۰/۳ و ۰/٤ درصد به ترتیب موجب کاهش تعداد باکتری به میزان ۰/۸ و ۱/۲ Log نسبت به گروه شاهد شد (نمودار شماره ۵)، براساس آزمون آنالیز واریانس داده‌ها، اختلاف مشاهده شده در تعداد باکتری در گروه‌های تیمار و گروه شاهد پس از گذشت ۱٦۸ ساعت معنی‌دار بود ($p< ۰/۰۵$).

همچنین با توجه به آزمون آماری داده‌ها اختلاف مشاهده شده بین غلظت‌های پایین و بالای روغن‌های فرار مورد استفاده با یکدیگر پس از گذشت ۱٦۸ ساعت معنی‌دار بود، به این ترتیب بیشترین اثر ضدمیکروبی را روغن‌های فرار گیاه آویشن و کمترین اثر را روغن‌های فرار گیاه ترخان داشتند، روغن‌های فرار گیاهان زیره، نعناع و پونه اثر متوسطی بر روی باکتری استافیلوکوکوس آرئوس در پنیر از خود نشان دادند.

بحث

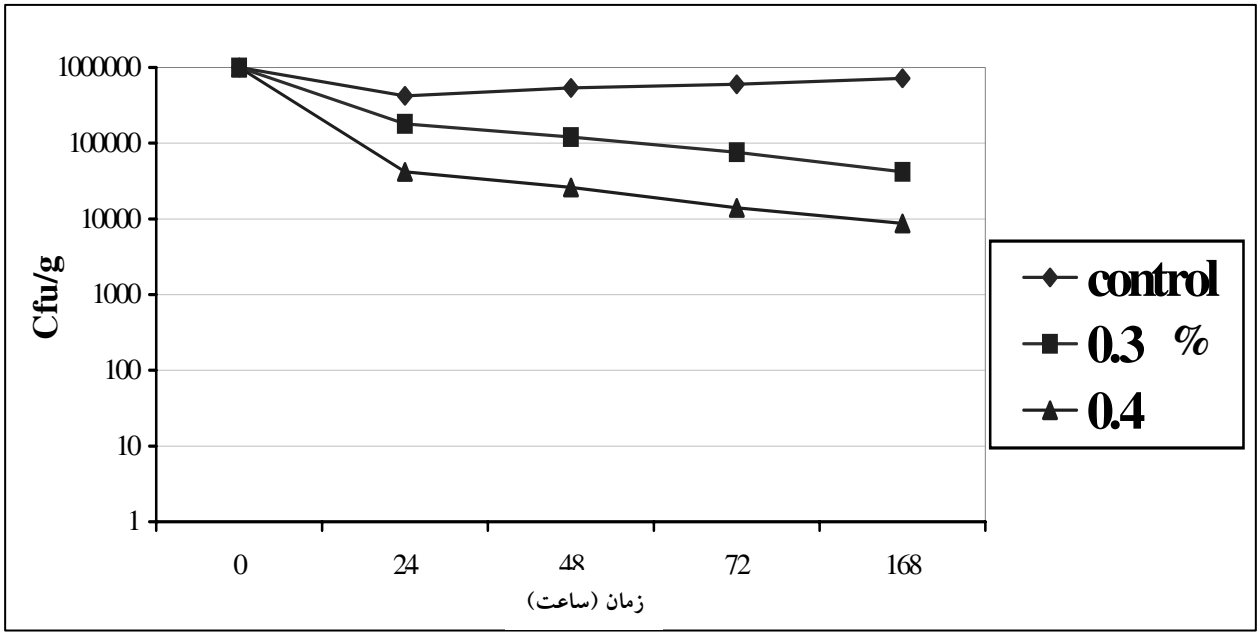
روغن‌های فرار گیاهان در این بررسی به درجات متفاوت اثر ضدمیکروبی بر روی باکتری استافیلوکوکوس آرئوس در پنیر از خود نشان دادند، در این میان روغن‌های فرار گیاه آویشن بیشترین تاثیر را بر روی باکتری مورد بررسی داشتند به نحوی که پس از گذشت ۱٦۸ ساعت باعث کاهش تعداد باکتری به میزان ۲ و ۳ Log در غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲ درصد گردید، این در حالی است که روغن‌های فرار این گیاه با غلظت کمتری نسبت به سایر روغن‌های فرار استفاده شد.

روغن‌های فرار گیاهان زیره، نعناع و پونه تاثیر متوسطی

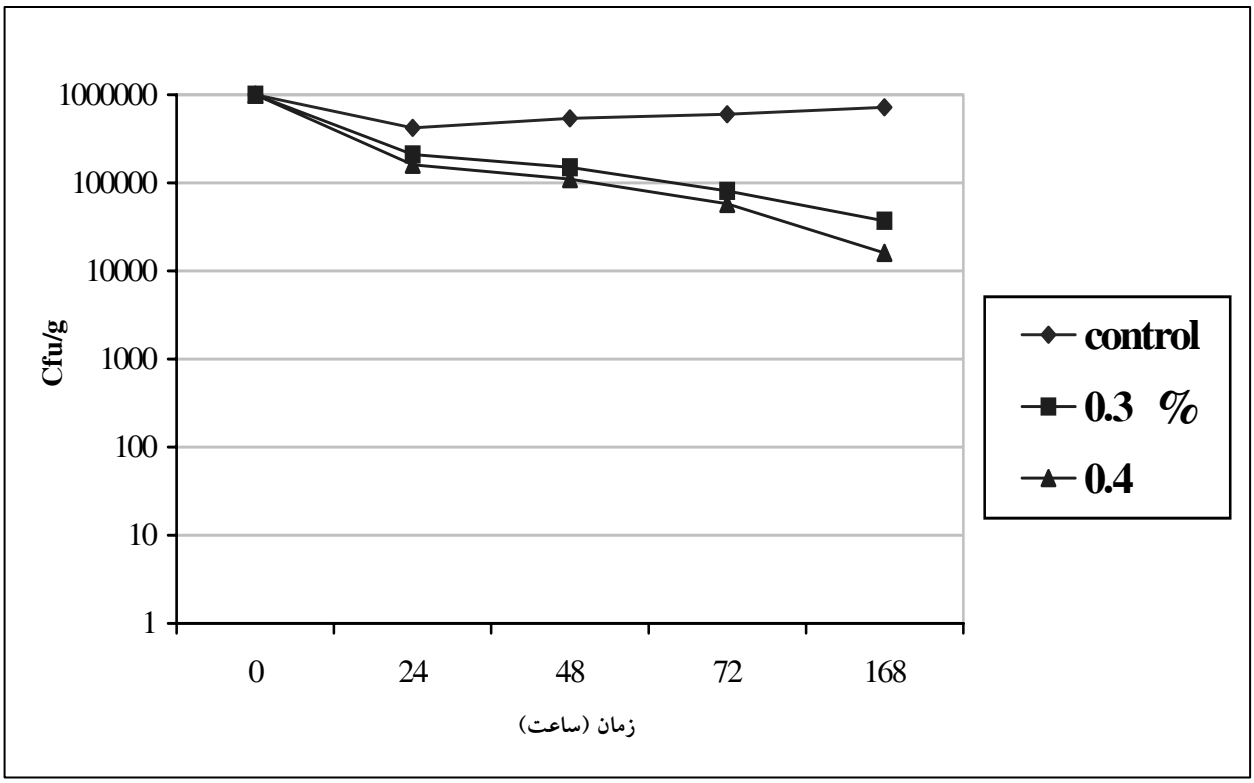
[1] Baird Parker Agar

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2007.6.21.3.4]



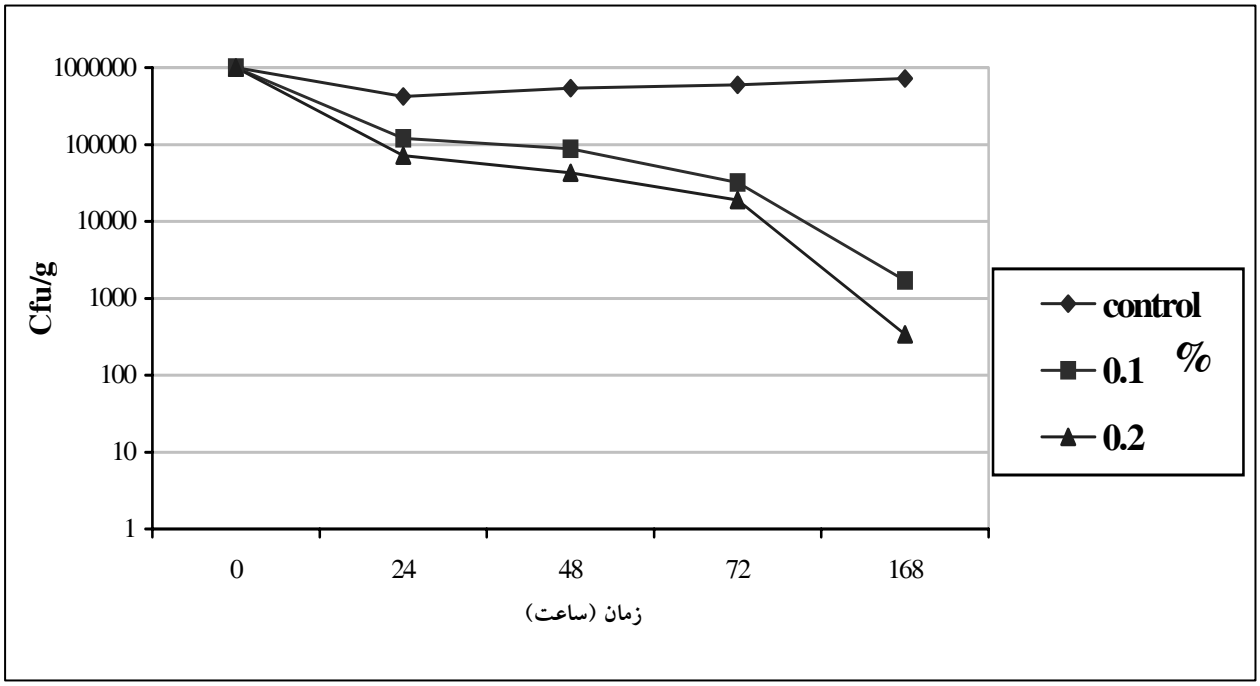
نمودار شماره ۱- تاثیر روغن‌های فرار گیاه زیره بر روی باکتری استاف ارئوس در پنیر



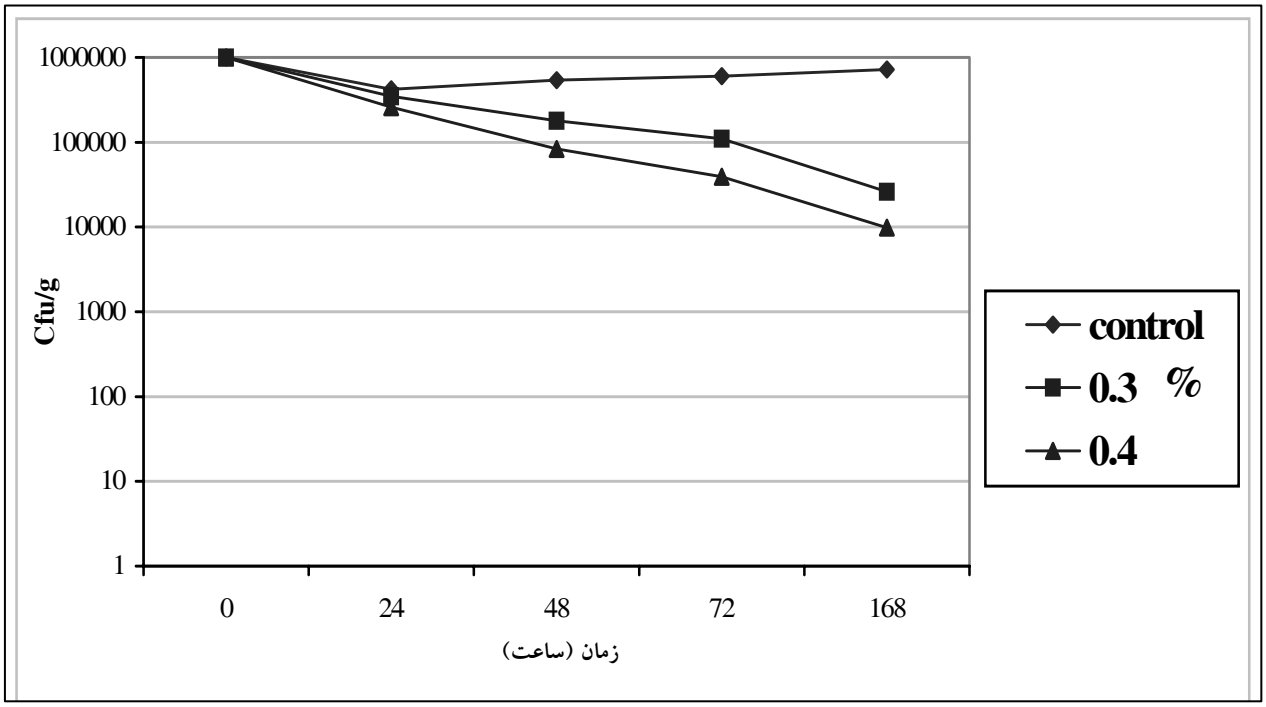
نمودار شماره ۲- تاثیر روغن‌های فرار گیاه پونه بر روی باکتری استاف ارئوس در پنیر

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2007.6.21.3.4]



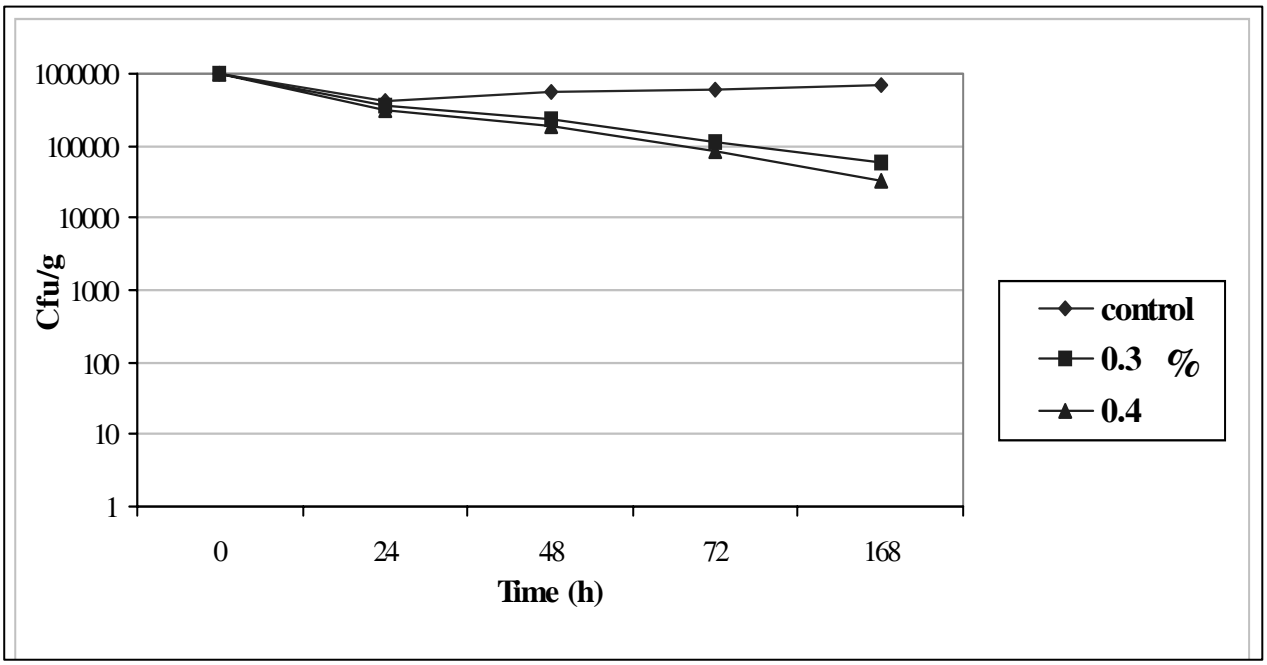
نمودار شماره ۳- تاثیر روغن‌های فرار گیاه آویشن بر روی باکتری استاف ارئوس در پنیر



نمودار شماره ٤- تاثیر روغن‌های فرار گیاه نعناع بر روی باکتری استاف ارئوس در پنیر

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2007.6.21.3.4]



نمودار شماره ۵- تاثیر روغن‌های فرار گیاه ترخان بر روی باکتری استاف ارئوس در پنیر

نسبت به سایر روغن‌های فرار به کار گرفته بر روی باکتری مورد بررسی از خود نشان دادند و باعث کاهش تعداد باکتری به میزان ۱/۵ و ۲ Log در غلظت‌های ۰/۳ و ۰/٤ درصد نسبت به گروه شاهد شدند و کمترین اثر ضدمیکروبی مربوط به روغن‌های فرار گیاه ترخان بود و باعث کاهش تعداد باکتری به میزان ۰/۸ و ۱/۲ Log در غلظت‌های ۰/۳ و ۰/٤ درصد شد.

فاراگ[1] و همکاران نیز در بررسی‌ای نشان دادند که تاثیر عصاره گیاه آویشن بر روی باکتری‌های مولد فساد و بیماری‌زا در مواد غذایی بیشتر از عصاره گیاهان زیره سبز و سیاه است [۸].

در ارتباط با اثر ضدمیکروبی ترکیبات گیاهان بررسی‌های متعددی صورت گرفته است که اغلب آنها در محیطهای آزمایشگاهی هستند [۹،۱۰،۱۱،۱۲] ولی بر روی تاثیر این فراورده‌ها در مدل‌های غذایی تحقیقات بسیاری انجام نشده است. Dong-jin-know و همکاران تاثیر ضدمیکروبی عصاره گیاه ترخان را بر روی باکتری *C. perfringens* در غذای حاوی گوشت بررسی کردند و مشاهده نمودند که این عصاره قادر است از رشد این باکتری در غذا جلوگیری نماید [۱۳].

در بررسی دیگری، Cutter از عصاره گیاهان مختلف تحت عنوان Protecta در سطح و عمق عضلات گوساله اضافه نمود و تاثیر ضدمیکروبی این ترکیب را روی باکتری‌های *E. coli*، *S. typhimurium* و *L. monocytogenes* بررسی کرد، نتایج نشان داد عصاره‌های به کار رفته به طور معنی‌داری باعث کاهش جمعیت باکتری‌های ذکر شده در سطح گوشت می‌گردد ولی در عمق عضلات، اثر ضدمیکروبی این عصاره‌ها کاهش می‌یابد [۱٤].

اثر ضدمیکروبی عصاره آبی برخی از گیاهان بر روی سطح لاشه‌های مرغ کشتار شده نیز بررسی شده است، نتایج این بررسی نشانگر این است که در مقایسه با لاشه‌هایی که با آب به تنهایی شستشو شده‌اند تعداد کل باکتری‌ها، کلیفرم‌ها، *E. coli* و *Campylobacter* در لاشه‌هایی که با آب حاوی عصاره گیاهان شستشو شده‌اند، به مراتب کاهش بیشتری داشته است [۱۵].

با توجه به نتایج به دست آمده در این بررسی و سایر بررسی‌ها، عصاره گیاهان از جمله روغن‌های فرار آنها اثرات ضدمیکروبی مناسبی را هم در محیطهای آزمایشگاهی و هم در مواد غذایی دارا هستند بر این اساس امکان آن وجود دارد که بتوان از این ترکیبات به عنوان یک نگهدارنده طبیعی[1] در مواد

[1] Farag

[1] Natural Preservative

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2007.6.21.3.4]

غذایی استفاده کرد و به میزان زیادی از عوارض ناشی از به کارگیری ترکیبات شیمیایی نگهدارنده در مواد غذایی کاست.

منابع

1. Beuchat LR, Sensitivity of Vibrio parahaemolyticus to spice and organic acids. *J. Food. Sci*. 1976; 41: 899-902.

2. Delcampo J, Amiot MJ and Nguyen C, Antimicrobial effect of Rosmary extracts. *J. Food. Protec*. 2000; 63 (10): 1359-68.

3. Elgayar M, Draughon FA and Golden DA, Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. *J. Food. Protec*. 2001; 64 (7): 1019-24.

4. Won. Dae. Ji, Min. Seon. Jeon and Hyun. Chae. Chung, Antimicrobial activity and distilled components of garlic and ginger. *Agri. Chem and Biochem*. 1997; 40 (6): 514-18.

5. Walton MG, Brown DE, Chemical from plants. Imperial College Press. 1999, pp: 106-108.

٦. بنیادیان مجتبی، کریم گیتی. بررسی تاثیر روغن‌های فرار برخی گیاهان بر روی باکتری‌های *E. coli* و *S. aureus* در محیط کشت مایع. *مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران*. ۱۳۸۱، دوره ۵۷ (٤): صفحات ۸۳-۸۱.

7. Baron EJ, Diagnostic microbiology. Mosby Com. 1990, pp: 110-111.

8. Naganawa R, Iwata N and Ishikawa K, Inhibition of microbial growth by ajoene, a sulfur-containing compound derived from Garlic. *Appl. Enviro. Microbiol*. 1996; 62 (11): 4238-42.

Angulo R, Gomez E, The antimicrobial effect of garlic. *Alimentaria*, 1998; 296: 95-98.

9. Farag RS, Taha SH, Use of some essential oils as natural preservative for butter. *J. Americ. Oil. Chem. Soc*. 1990; 67 (3): 188-191.

10. Soon Im Kim, Hye Jin Park and Young Sil Han. Inhibitory effect of *Artemisia asiatica* on the growth of food spoilage microorganisms and identification of antimicrobial compounds. *J. Food. Sci. Nutr*. 1996; 1 (1): 59-63.

11. Yoyng Sook Kim, Mu Nam Kim and Jeon Ok Kim. The effect of hot water-extract and flavor compounds of *Artemisia asiatica* on microbial growth. *J. Korean. Soc. Food and Nutri*. 1994; 23 (6): 994-1000.

12. Dong Jin Know and Jong Hyun Park. Optimal extracting condition of growth inhibitory component of Artemisia princeps against C. perfringens. *Agri. Chem. Biotech*. 1997; 40 (4): 267-70.

13. Cutter CN, Antimicrobial effect of herb extracts against *E. coli* O157: H7, *L. monocytogenes* and *S. typhimurium* associated with beef. *J. Food. Protec*. 2000; 63 (5): 601-7.

14. Dickens JA, Berrang ME and Cox N. Efficacy of an herbal extract on the microbiological quality of broiler carcasses during a simulated chill. *Poultry Sci*. 2000; 79 (8): 1200-3.

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2007.6.21.3.4]