

بررسی اثر روش استخراج بر ترکیب شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی اسانس گیاه زنیان (*Carum copticum*)

پرویز ابرومند آذر^a، زهرا متقیان پور^{b*}، انوشه شریفان^c، کامبیز لاریجانی^d

^a استادیار گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

^b دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

^c استادیار دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

^d مربی مجتمع آزمایشگاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

چکیده

مقدمه: روش استخراج اسانس‌های گیاهی می‌تواند راندمان استخراج، درصد و نوع ترکیبات شیمیایی موجود در آن را تغییر دهد.
مواد و روش‌ها: در این تحقیق اسانس حاصل از میوه‌های گیاه زنیان (*Carum copticum*)، با دو روش تقطیر با آب و استخراج با میکروویو بدون استفاده از حلال، استخراج گردیده و ترکیب شیمیایی اسانس‌های حاصل به کمک دستگاه کروماتوگرافی گازی-اسپکتروسکوپی جرمی (GC/MS) شناسایی شد. سپس جهت بررسی ویژگی ضد میکروبی اسانس‌ها حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) اسانس‌ها با روش رقیق نمودن در محیط آگار بر باکتری *Escherichia coli* مورد بررسی قرار گرفت.
یافته‌ها: در هر دو اسانس ۱۱ ترکیب استخراج شد. اجزای اصلی اسانس در روش تقطیر با آب شامل: گاما-تریپنین (۳۷/۴۰٪)، پارا-سایمن (۲۸٪)، تیمول (۲۴/۹۶٪) گزارش شدند. در روش استخراج با میکروویو بدون استفاده از حلال اجزای اصلی اسانس شامل: تیمول (۳۵/۲۸٪)، گاما-تریپنین (۳۲/۱۹٪)، پارا-سایمن (۲۳/۵۱٪)، کارواکرول (۲/۷۶٪) گزارش شدند.
نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان می‌دهد تفاوت در روش استخراج به ویژه از جهت درجه حرارت و زمان فرآیند سبب تغییر در ترکیبات شیمیایی به دست آمده می‌شود.

واژه‌های کلیدی

اسانس، ترکیب شیمیایی، حداقل غلظت بازدارندگی، گیاه زنیان، میکروویو

مقدمه

غیراشباع و استری تجزیه و انرژی و زمان زیادی تلف خواهد شد. در روش‌هایی نیز که برای استخراج نهایی از حلال‌های شیمیایی استفاده می‌کنند، خطر ایجاد مسمومیت توسط باقیمانده حلال وجود دارد.

به این دلیل که از اسانس‌های اکثر گیاهان آروماتیک در صنایع مختلف استفاده می‌شود، یافتن بهترین روش استخراج برای بهبود کیفیت اسانس‌ها در راستای رسیدن به مناسب‌ترین ترکیب شیمیایی مورد نظر، برای هر نوع کاربرد خاص که با قوانین سازگاری داشته باشد، ضروری است. برای مثال در صنایع غذایی علاوه بر این که کیفیت عطر و طعم اسانس مهم است، حلالیت آن در مواد غذایی نیز مطرح می‌باشد (Lucchei *et al.*, 2004).

در سال‌های اخیر یک روش ابتکاری برای استخراج تولیدات طبیعی گیاهان به وسیله انرژی میکروویو توسعه یافته است، نام این روش "استخراج با میکروویو بدون استفاده از حلال" است. اساس این روش حرارت دادن با آن میکروویو به همراه تقطیر در فشار اتمسفری می‌باشد.

SFME نه یک روش میکروویو اصلاح شده همراه با روش استخراج با حلال است که در نهایت از حلال‌های قطبی یا غیرقطبی برای جداسازی اسانس استفاده شده و نه یک روش تقطیر اصلاح شده که مقدار زیادی آب مصرف می‌کند، بلکه این روش تلفیقی از حرارت دادن توسط میکروویو به همراه تقطیر است (Lucchesi *et al.*, 2007).

چندین روش آزمایشگاهی برای تعیین قدرت آنتی باکتریال روغن‌های اسانس وجود دارد. از جمله روش تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی^۲ (MIC) که کاربرد زیادی دارد. این اصطلاح توسط اکثر محققان به عنوان معیاری برای تعیین فعالیت ضدباکتریایی اسانس‌ها استفاده می‌شود. البته برای MIC تعاریف متعددی ذکر شده است که از جمله این تعاریف می‌توان به سه مورد ذیل اشاره کرد:

۱. حداقل غلظت مورد نیاز که سبب بازداشتن یا کاهش دادن فعالیت‌های حیاتی میکروب‌های تلقیح شده شود.
۲. حداقل غلظت مورد نیاز که سبب کاهش قابل ملاحظه‌ای در قابلیت زنده ماندن بیش از ۹۰٪ حجم تلقیح شود.

ادویه‌ها و اسانس‌ها از گیاهان معطر تولید و از زمان‌های باستان نه تنها به عنوان طعم دهنده و نگهدارنده در مواد غذایی بلکه به عنوان دارو برای درمان بیماران استفاده می‌شده‌اند. این مواد مدت ذخیره و نگهداری مواد غذایی را با به تأخیر انداختن اکسیداسیون چربی‌ها، از طریق فعالیت آنتی‌اکسیدانی یا با کنترل رشد میکروارگانیسم‌ها، از طریق خواص باکتریواستاتیک و باکتریوسیدی افزایش می‌دهند.

ادویه‌ها و روغن‌های اسانسی حاصل از آن‌ها، به دلیل استفاده در درمان بسیاری از بیماری‌ها برای قرن‌های متمادی، همچنین سمیت کم و عوارض جانبی نادر به عنوان یک ماده سالم و کم‌خطر تلقی می‌شوند (Shan *et al.*, 2007).

امکان سمی بودن و اثرات جانبی منفی افزودنی‌های سنتزی، افزایش مقاومت میکروبی میکروب‌های پاتوژنیک در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها، همچنین افزایش تقاضای مصرف‌کنندگان برای غذاهای طبیعی‌تر، موجب شده است که مردم تمایل کم‌تری نسبت به استفاده از مواد سنتزی پیدا کنند و در نتیجه زمینه تحقیقات گسترده‌ای برای جایگزین کردن آن‌ها با مواد طبیعی فراهم شود.

در این میان مواد طبیعی ایزوله شده از گیاهان به عنوان منابع امیدبخشی در جهت جایگزینی با مواد سنتزی به شمار می‌آیند که در این رابطه گیاهان آروماتیک دارای ترکیبات بسیار موثری هستند.

روغن‌های اسانسی حاصل از گیاهان آروماتیک مانع تغییرات نامطلوب در غذا می‌شوند، همچنین در کیفیت تغذیه‌ای طعم و بافت غذا هم اثر می‌گذارند (Singh *et al.*, 2004).

قبل از شناسایی و استفاده از روغن‌های اسانسی گیاهان، بایستی به طریقی اسانس را از زمینه‌هایشان خارج کرد، برای استخراج عصاره‌ها و اسانس‌ها روش‌های متعددی وجود دارد (Ferhat *et al.*, 2006).

در روش‌های قدیمی مثل تقطیر با بخار یا آب، با توجه به مدت زمان طولانی حرارت دادن برای رسیدن به دمای لازم جهت تبخیر ترکیبات فرار، بسیاری از این ترکیبات از دست می‌روند، ترکیبات

۳. حداقل غلظت مورد نیاز برای مهار کامل ارگانیسم مورد آزمایش تا ۴۸ ساعت پس از تلقیح (Murdock et al., 1999).

زنیان گیاهی است که در تهیه غذا به روش سنتی به عنوان ادویه مصرف می شود. نام دیگر این گیاه به فارسی نان خواه (به دلیل استفاده از آن در پخت نان) بوده است. این گیاه جزو خانواده *Apiaceae* می باشد. نام علمی آن *Carum copticum* و یا *Trachyspermum copticum* می باشد.

میوه گیاه دارای اسانسی است که مقدار نسبی آن بر حسب محل رویش تفاوت دارد، میزان آن بین ۲ تا ۹ (v/w) گزارش شده است. اسانس گیاه با نام "Ajowan oil" شناخته می شود. این اسانس ظاهری بیرنگ یا مایل به قهوه ای و بویی شبیه تیمول دارد. ترکیبات آن تیمول کارواکرول، آلفا و بتا - پینن، ترپینن، پارا-سیمن و ... گزارش شده است (Aktug & Karapikar, 1987). به طور کلی بیشتر اجزای این اسانس از ترکیبات فنلی هستند که هم خواص آنتی اکسیدانی و هم خواص ضد میکروبی و در نتیجه قابلیت استفاده به عنوان نگهدارنده در مواد غذایی را دارند. اسانس گیاه مذکور کاربردهای متنوعی در پزشکی و صنایع داروسازی دارد (Bown, 1996).

در این تحقیق اثر روش استخراج بر ترکیب شیمیایی اسانس گیاه زنیان و اثر ضد میکروبی اسانس استخراج شده با دو روش متفاوت بر باکتری *شرشیا کلی* که در مواد غذایی موجود می باشد، مورد آزمایش قرار گرفته و حداقل غلظت بازدارندگی اسانس زنیان حاصل از دو روش بر باکتری مذکور تعیین شده است.

مواد و روش ها

- تهیه گیاه مورد نظر

زنیان (*Carum Copticum*) در شهریور ماه از منطقه ابرقو جمع آوری و سپس در دانشکده داروسازی دانشگاه تهران شناسایی گردید.

- استخراج اسانس با روش تقطیر با آب^۱

استخراج روغن اسانسی از گیاه زنیان در این

روش با استفاده از دستگاه کلونجر انجام شد. روش کار به این صورت بود که ۱۰۰ گرم از گیاه خشک شده را پس از کمی آسیاب کردن در بالن تقطیر ریخته و تقطیر تا زمانی که دیگر به حجم اسانس اضافه نشود ادامه یافت. بعد از آن اسانس درون ظرف مخصوص جمع آوری شد. سپس اسانس تا زمان آنالیز در یخچال نگهداری گردید.

- استخراج با استفاده از میکروویو بدون استفاده از حلال

ابتدا ۱۰۰ گرم از زنیان (*Carum copticum*) کمی آسیاب گردید، سپس با روش غوطه وری حدود یک ساعت در آب خیسانده شد (این مرحله برای ایجاد رطوبت اولیه در گیاه ضروری است). بعد از یک ساعت آب اضافی موجود گرفته شد و گیاه درون رآکتور میکروویو قرار گرفت.

در حدود ۶ دقیقه، با قدرت ۸۵۰ W و در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد اسانس گیری انجام گرفت. در طول فرآیند، زمان، دما، فشار و قدرت کنترل شد. پس از استخراج اسانس، تا زمان آنالیز در یخچال نگهداری گردید.

- جداسازی و شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس ها به کمک دستگاه GC/MS

حجم یک میکرولیتر از هر یک از اسانس های استخراج شده به دستگاه GC/MS در مجتمع آزمایشگاهی واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تزریق شد. مشخصات این دستگاه بدین شرح می باشد:

دستگاه GC: مدل دستگاه Hewlett Packard 6890 (HP)، درجه حرارت محل تزریق: ۲۵۰ درجه سانتی گراد، برنامه ریزی حرارتی: ۲۲۰-۶۰ درجه سانتی گراد، نوع ستون: HP-5MS، گاز حامل: هلیوم، سرعت جریان گاز: ۱/۰ میلی لیتر در دقیقه، سرعت افزایش دما: ۶ درجه سانتی گراد در دقیقه، طول ستون: ۳۰ متر، قطر داخلی: ۲۵۰ میکرون

دستگاه MS: مدل HP-5973، انرژی یونیزاسیون 70 eV

با توجه به الگوی خروج آلکان های نرمال، شاخص بازدارندگی و اندیس کوآتس و تطبیق آنها با

تمام قسمت‌های محیط کشت یکنواخت گردید. لازم به توضیح است که به علت فرار بودن اسانس‌ها پس از سرد شدن و بستن محیط‌های کشت حاوی اسانس بلافاصله عمل تلقیح میکروارگانیسم مورد نظر صورت گرفت.

یافته‌ها

بعد از تزریق اسانس به دست آمده به دستگاه GC/MS، با توجه به الگوی خروج آلکان‌های نرمال، شاخص بازدارندگی و ضریب کوآتس ترکیبات و در نهایت مقایسه آن‌ها با شاخص‌های مرجع طیف‌های مربوط به هر جسم تفسیر و ترکیبات عمده تشکیل‌دهنده اسانس شناسایی شدند. طیف کروماتوگرام نمونه اول (نمونه حاصل از روش تقطیر با آب) در نمودار ۱ و ترکیبات شیمیایی تشکیل‌دهنده آن همراه با درصد فراوانی هر جز در جدول ۱ ارائه گردیده است.

در این نمونه، ۱۱ ترکیب که ۱۰۰٪ کل اسانس را تشکیل می‌دادند استخراج و شناسایی شدند. عمده‌ترین ترکیبات شیمیایی تشکیل‌دهنده اسانس گاما-ترپینن (۳۷/۴۰٪)، پارا-سایمن (۲۸٪) و تیمول (۲۴/۹۶٪) گزارش شدند.

طیف کروماتوگرام نمونه دوم (نمونه حاصل از روش SFME) در نمودار ۲ و ترکیبات شیمیایی تشکیل‌دهنده آن همراه با درصد فراوانی هر جز در جدول ۲ ارائه گردیده است.

در این نمونه، ۱۱ ترکیب استخراج شد. ۹ عدد از آن‌ها که ۹۹/۱۳٪ از کل اسانس را تشکیل می‌دادند شناسایی گردیدند.

عمده‌ترین ترکیبات شیمیایی تشکیل‌دهنده آن نیز همان ترکیبات موجود در نمونه قبلی هستند. اما مقادیر نسبی آن‌ها با هم تفاوت قابل توجهی دارند. بدین ترتیب که تیمول (۳۵/۲۸٪)، گاما-ترپینن (۳۲/۱۹٪)، پارا-سایمن (۲۳/۵۱٪) گزارش شدند. ترکیب مهم دیگری که در نمونه دوم گزارش شد کارواکرول می‌باشد. این ترکیب یک آنتی‌اکسیدان و یک ماده ضد میکروبی قوی است.

الگوهای کتابخانه‌ای، طیف‌های مربوط به هر جسم تفسیر و ترکیبات عمده تشکیل‌دهنده اسانس‌ها شناسایی شدند.

- بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس‌ها

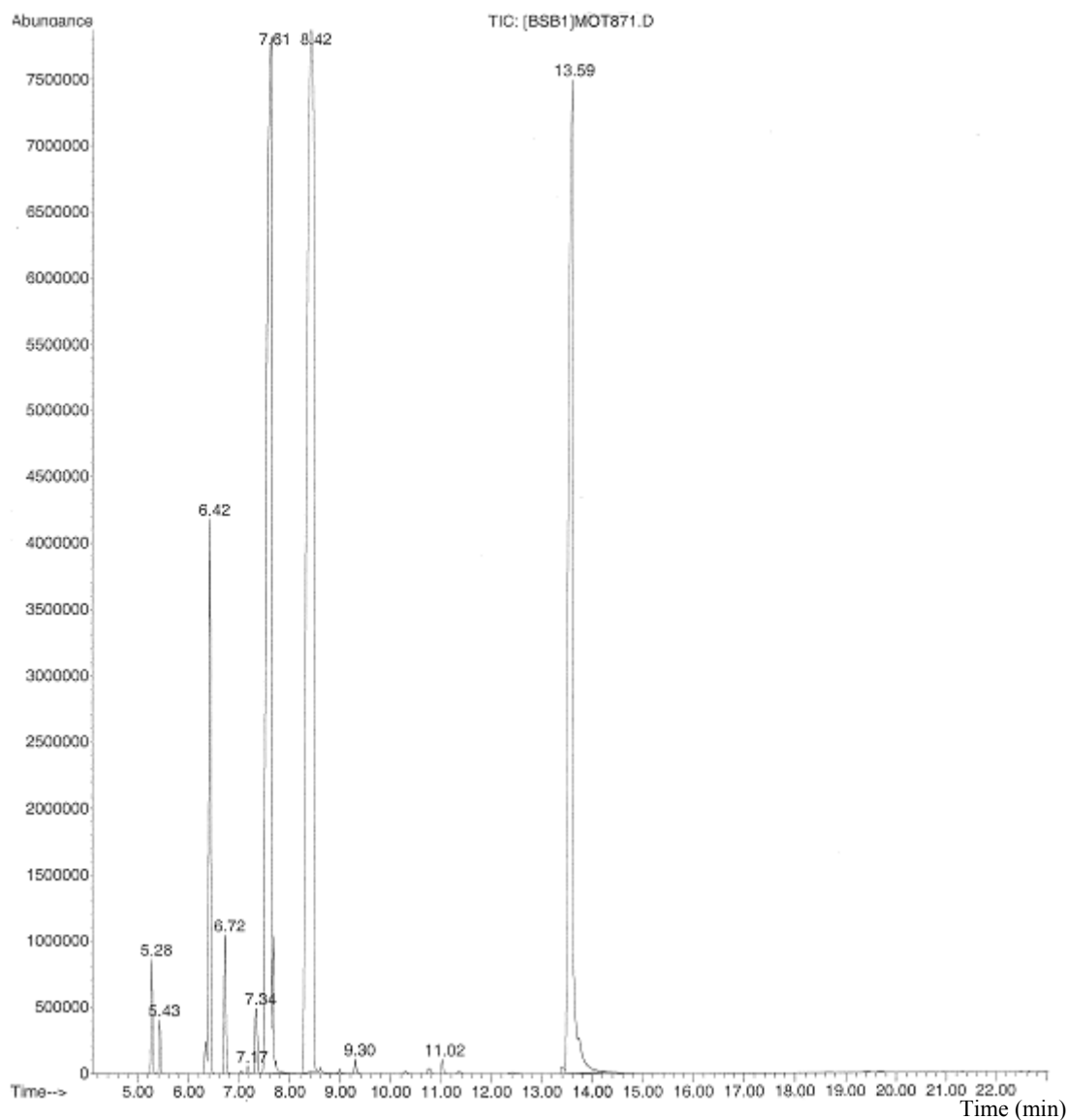
به منظور بررسی اثر ضد میکروبی هر یک از اسانس‌های استخراج شده، سویه استاندارد میکروبی (*Escherichia coli* (PTCC1330) از آزمایشگاه مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد.

به منظور دستیابی به کشت تازه و فعال از میکروارگانیسم مورد نظر، از محیط کشت ذخیره میکروارگانیسم (کشت slant) در مجاورت شعله توسط لوپ سترون تعدادی کلنی برداشته و به صورت چهار منطقه‌ای در محیط کشت SCDA، کشت داده شد. سپس پلیت‌ها ۲۴ ساعت در درجه حرارت ۳۵-۳۰ قرار داده شدند (Pauli, 2001).

سپس سوسپانسیون میکروبی برابر با استاندارد نیم مک فارلند تهیه گردید. از این سوسپانسیون ۳ به محیط‌های کشت حاوی اسانس تلقیح شد (۴ لکه ۳μl).

پس از تلقیح میکروارگانیسم مورد نظر محیط‌های کشت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵-۳۰ گرمخانه‌گذاری می‌شوند تا هر یک از اسانس‌های استخراج شده از جهت خاصیت ضد میکروبی مورد مقایسه قرارگیرند (شریفان، ۱۳۸۴؛ Brul & Coode, 1999).

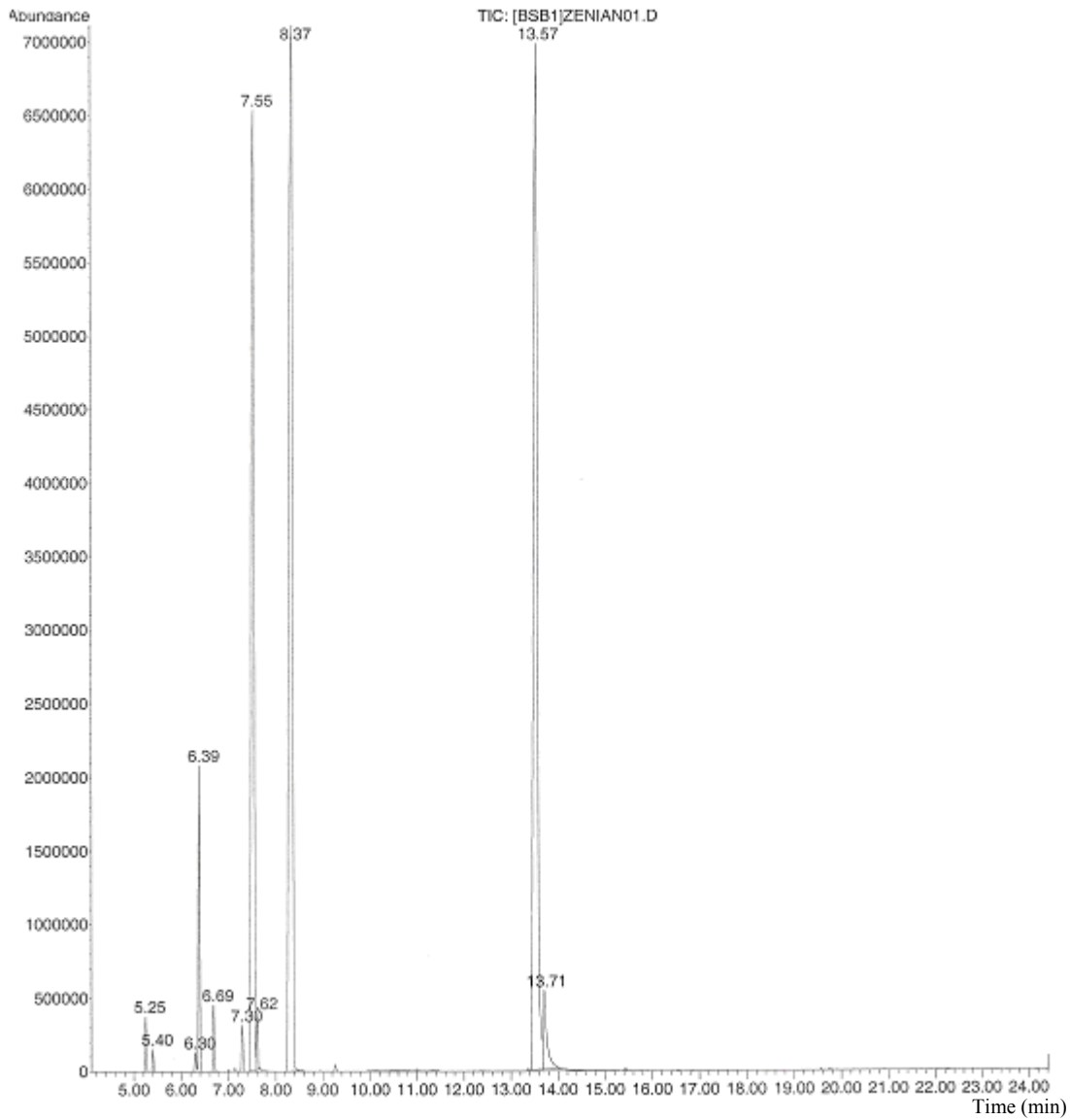
جهت تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) اسانس مورد نظر از روش استاندارد رقیق‌سازی بر محیط آگار^۱ استفاده شد. با توجه به عدم حلالیت اسانس‌ها در محیط کشت محتوی آب لازم است به کمک حلال آلی مناسب اسانس را در محیط کشت تثبیت و یکنواخت نمود. به این منظور از حلال آلی اتانل استفاده می‌شود (Dillon & Board, 1994; Murdock et al., 1999). اسانس‌های استخراج شده با روش‌های مختلف، در اتانل رقیق شده، غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ ppm از آن‌ها تهیه شده و به محیط کشت Muller-Hinton agar انتقال یافته و به خوبی در



نمودار ۱- طیف GC/MS ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه زنیان حاصل از روش تقطیر با آب

جدول ۱- ترکیبات شناسایی شده اسانس گیاه زنیان با روش تقطیر با آب

KI	درصد	اجزای تشکیل دهنده اسانس
۹۳۰	۰ / ۹۳	آلفا- توجن
۹۳۹	۰ / ۴۳	آلفا- پینن
۹۷۹	۵ / ۷۸	بتا- پینن
۹۹۱	۱ / ۳۱	میرسن
۱۰۰۲	۰ / ۰۷	۲- کارن
۱۰۱۷	۰ / ۸۵	آلفا- ترپینن
۱۰۲۵	۲۸	پارا- سایمن
۱۰۶۰	۳۷ / ۴۰	گاما- ترپینن
۱۰۹۸	۰ / ۱۳	ترانس- سایینن هیدرات
۱۱۷۳	۰ / ۱۵	۴- ترپینول
۱۲۹۰	۲۴ / ۹۶	تیمول



نمودار ۲- طیف GC/MS ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه زنیان با روش SFME

جدول ۲- ترکیبات شناسایی شده اسانس گیاه زنیان با روش SFME

KI	درصد	اجزای تشکیل دهنده اسانس
۹۳۰	۰ / ۵۹	آلفا- توچن
۹۳۹	۰ / ۲۴	آلفا- پینن
۹۷۹	۳ / ۴۷	بتا- پینن
۹۹۱	۰ / ۷۵	میرسن
۱۰۱۷	۰ / ۶۴	آلفا- ترپینن
۱۰۲۵	۲۳ / ۵۱	پارا- سایمن
۱۰۶۰	۳۲ / ۱۹	گاما- ترپینن
۱۲۹۰	۳۵ / ۲۸	تیمول
۱۲۹۹	۲ / ۴۶	کارواکرول

بحث

در هر دو روش استخراج ترکیبات غالب اسانس‌ها از نوع ترکیبات اکسیژنه هستند، ولی مقدار این ترکیبات در SFME خیلی بیشتر می‌باشد. ترکیبات اکسیژنه هم از لحاظ ایجاد عطر و بو، هم از لحاظ قدرت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس ارزش بیشتری نسبت به ترکیبات دیگر مثل مونوترپن‌ها دارند.

مقدار بیشتر ترکیبات اکسیژنه در SFME را به حرارت دادن سریع ترکیبات قطبی به وسیله مایکروویو (در نتیجه کاهش زمان استخراج اسانس) و مقدار کم‌تر آب مورد استفاده در این روش نسبت می‌دهند. عوامل فوق‌الذکر باعث کاهش تجزیه ترکیبات اکسیژنه اصلی به ترکیبات جزئی دیگر به وسیله واکنش‌های حرارتی و هیدرولیتیکی میشوند، در نتیجه درصد ترکیبات اکسیژنه اصلی افزایش یافته، درصد و تعداد ترکیبات جزئی کاهش می‌یابد. در این روش ترکیباتی مثل تیمول که یک ماده ضد عفونی‌کننده قوی (از ترکیبات اکسیژنه عمده اسانس) و کارواکرول که یک آنتی‌اکسیدان فعال می‌باشد، بیشتر دیده می‌شوند. به طوری که SFME به عنوان روشی برای تولید تیمول محسوب می‌شود.

به طور کلی فواید استفاده از انرژی مایکروویو به عنوان یک منبع گرمایی غیرتماسی، برای استخراج اسانس از مواد گیاهی شامل حرارت موثره بیشتر، افت حرارتی کم‌تر، حرارت دادن انتخابی، کاهش اندازه وسایل، پاسخ سریع‌تر به فرآیندهای کنترل حرارتی، افزایش تولید و حذف مراحل از فرآیند، رفع خطر مسمومیت ناشی از باقی ماندن حلال، کاهش زمان و انرژی مصرفی و در نتیجه کاهش هزینه‌های تولید می‌باشد (Bendahou et al., 2008). به منظور تعیین میزان MIC برای اسانس‌ها، روند رشد میکروارگانیسم در محیط‌های کشت حاوی غلظت‌های مختلف اسانس پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری مورد بررسی قرار گرفت. نتیجه حاصل بدین ترتیب بود که از غلظت ۵۰۰ ppm در هیچ یک از دو نمونه رشدی مشاهده نشد.

در نتیجه می‌توان گفت که با وجود افزایش مقدار تیمول در SFME قدرت میکروب‌کشی

اسانس در مورد این باکتری افزایش قابل ملاحظه‌ای نداشته است.

بررسی‌ها نشان داده‌اند که ترکیبات فنولیک نقش مهمی در خواص آنتی‌میکروبیال ادویه‌ها و گیاهان معطر ایفا می‌کنند.

ترکیبات فنولیک خواص ضد میکروبی خود را با روش‌های متفاوتی اعمال می‌کنند. برای مثال اسانس‌ها با تخریب دیواره سلولی و پروتئین‌ها، تداخل در کار آنزیم‌های غشایی، اثر روی ساخت DNA و RNA و غیره باعث نابودی میکروارگانیسم‌ها می‌شوند.

روغن‌های اسانسی از گروه‌های شیمیایی متعددی تشکیل شده‌اند که این گروه‌ها مکانیسم‌های متفاوتی در نابودی میکروارگانیسم‌ها دارند. مهم‌ترین خاصیت این گروه‌ها هیدروفوب بودن آن‌ها می‌باشد.

این مواد به لیپیدهای غشاء سلول باکتری و میتوکندری وارد می‌شوند. این مسئله سبب اختلال در ساختمان سلول‌ها و ایجاد نفوذپذیری بیشتر آن‌ها و در نتیجه خروج یون‌ها و دیگر محتویات سلولی اتفاق می‌افتد.

اگر چه خروج مقادیر مشخص از مواد داخلی باکتری می‌تواند برای سلول قابل تحمل باشد ولی خروج مقادیر زیاد محتویات سلولی و یا خروج مولکول‌ها و یون‌های حیاتی سبب مرگ سلول می‌شود (Pauli, 2001).

اسانس‌هایی که دارای خواص آنتی‌باکتریال قوی بر علیه پاتوژن‌های غذایی هستند، حاوی مقادیر زیادی کارواکرول، تیمول، اوژنول می‌باشند.

ساختمان شیمیایی هر اسانس بر میزان فعالیت ضد میکروبی آن تاثیر مستقیم دارد.

تحقیقات نشان داده‌اند که در مورد بسیاری از گیاهان تیمول و کارواکرول و در مواردی پارا-سایمن مهم‌ترین اجزا موثر در فعالیت ضد میکروبی اسانس گیاهان می‌باشند. از آنجا که نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تیمول و پارا-سایمن اجزا اصلی تشکیل‌دهنده اسانس گیاه زنیان می‌باشند، می‌توان فعالیت ضد میکروبی اسانس را به این ترکیبات نسبت داد (شریفان، ۱۳۸۴).

نتیجه گیری

ضرورت استفاده از روش‌های علمی تر برای به دست آوردن روغن‌های اسانسی با کیفیت بالاتر به دلیل استفاده کلان از آن‌ها در صنعت یک امر مهم می باشد. امروزه با شیوه‌های جدید استخراج روغن‌های اسانسی دانشمندان به دنبال افزایش پایداری اسانس‌ها، افزایش حلالیت آن‌ها در الکل‌هایی با درصد پایین، در مواد غذایی و آب و همچنین کاهش هزینه‌های ذخیره و انتقال روغن‌های اسانسی می باشند (Gastro & Jimenez, 1998).

به هر حال باتوجه به نتایج این تحقیق و تحقیقات مشابه می توان نتیجه‌گیری کرد که در روش SFME تنوع ترکیبات اسانس کاهش یافته و غلظت ترکیبات اکسیژنه افزایش می یابد و در نتیجه به این دلیل که میزان ترکیبات اکسیژنه، یعنی ترکیبات فعال و مهم اسانس‌ها افزایش می یابد اسانس‌های با ارزش تری تولید می شوند. به طور کلی علاوه بر مورد ذکر شده مزایای این روش عبارتند از کاهش مصرف آب، کاهش زمان و انرژی مصرفی در نتیجه کاهش هزینه‌ها، کاهش ورود دی اکسید کربن به محیط اطراف به عنوان یک عامل آلوده کننده محیط زیست و افزایش بازده استخراج می باشند (Bendahou et al., 2008).

به هر حال ادویه‌ها و روغن‌های اسانسی حاصل از آن‌ها قرن‌های متمادی به منظور عطر و طعم دادن و افزایش زمان ماندگاری انواع گسترده ای از مواد غذایی استفاده می شده اند. از زمان‌های باستان این موضوع که ادویه‌ها و روغن‌های اسانسی آن‌ها دارای درجات مختلفی از فعالیت‌های ضد میکروبی هستند مشخص شده است. به همین دلیل از آن‌ها برای تأخیر انداختن در رشد یا ممانعت از رشد میکروب‌ها در مواد غذایی استفاده می شده است. فعالیت ضدباکتریایی ادویه‌ها به وجود روغن‌های اسانسی موجود در آن‌ها نسبت داده می شود (Kivance & Akguel, 1998).

اسانس‌ها به عنوان عوامل ضد میکروبی طبیعی استفاده می‌شوند و قادر هستند که زمان ماندگاری مواد غذایی را افزایش دهند. این مواد می توانند جایگزین‌های مناسبی برای بعضی افزودنی‌های غذایی مثل نیتريت، که اثرات نامطلوبی روی

سلامتی انسان دارند، باشند.

گیاه زنیان به عنوان یکی از گیاهان بومی ایران در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت و نتیجه نشان داد که اسانس حاصل از آن دارای اثر ضد میکروبی مشخصی می باشد. این گیاه حاوی مقدار قابل توجهی تیمول و پارا-سایمن بوده که وجود این ترکیبات و نیز اثر سینرژیستی آن‌ها با سایر ترکیبات موجود در اسانس می تواند عامل فعالیت ضد میکروبی اسانس باشد.

سپاسگزاری

از همکاری صمیمانه مدیریت و پرسنل مجتمع آزمایشگاهی واحد علوم و تحقیقات که ما را در پیشبرد این پایان نامه یاری داده‌اند تقدیر و تشکر می‌گردد.

منابع

- زرگری، ع. (۱۳۷۱). گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه تهران. ۵۱۶-۵۱۸.
- شریفان، ا. (۱۳۸۴). اثر اسانس گیاهان آویشن، آویشن باریک و آویشن شیرازی بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس. پایان نامه دکتری رشته مهندسی کشاورزی - علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران.
- همتی، ف. (۱۳۸۴). بررسی فیتوشیمیایی مقدماتی، خرده‌نگاری و شناسایی ترکیبات و بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس گیاه *Salvia spinosa*، دانشکده داروسازی، دانشگاه تهران.
- Aktug, S. E., Karapikar, M. (1987). Inhibition of food borne pathogens by thymol, eugenol, menthol and ethanol. *International Journal of Food Microbiology*, 4, 161-166.
- Bown, D. (1996). *The royal horticultural society encyclopedia herbs theiruses*. London: Dorling Kindersley Distributed by Houghton Mifflin, 363-364.
- Bendahou, M., Muselli, A., Grignon-dubois, M., Benyoucef, M., Desjobert, J. M. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *origanum glandulosum* Desf. essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation. *Food Chemistry*, 106, 132-139.
- Brul, S. & Coode, P. (1999). Preservative agents in foods mode of action and microbial resistance mechanisms. *International Journal*

of Food Microbiology, 50, 1-17.

Castro, M. D. & Jimenez, M. M. (1999). Towards more rational techniques for the isolation of valuable essential oils from plants. Trends in Analytical Chemistry, 18, 708-716.

Dillon, V. M. & Board, R. G. (1994). Natural antimicrobial systems and food preservation International, 167, 175-190.

Ferhat, M. A., Meklati, B. Y., Smadja, J. & Chemat, F. (2006). An W microwave Clevenger apparatus for distillation of essential oil from orange peel. Journal of chromatography A, 1112, 121-0126.

Kivanc, M. & Akguel, A. (1998). Antimicrobial activities of essential oils from Turkish spices citrus. J. Flavour and Fragrance, 11, 175-179.

Lucchesi, M. E., Chemat, F. & Smadja, J. (2004). An original solvent free microwave extraction of essential oils from spices. J. Flavoure and Fragrance journal, 19, 134-138.

Lucchesi, M. E., Smadja, J., Bradshaw, S., Louw, W. & Chemat, F. (2007). Solvent free microextraction of Elletaria cardamomum L: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. Journal of Food Engineering, 79, 1079-1086.

Lucchesi, M. E., Chemat, F. & Smadja, J. (2004). Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: Comparison with conventional hydro-distillation. Journal of chromatography A, 1043, 323-327.

Murdock, K., Pauli, A., Iberl, B., Weigand, H. & Weis, N. (1999). Antimicrobial properties of essential oil components. Journal of Essential Oil Research, 1, 119-128.

Pauli, A. (2001). Antimicrobial properties of essential oils constituents. International Journal Aromatherap, 11 (3), 126-133.

Shan, B., Cai, Y. Z., Brooks, J. D. & Crke, H. (2007). The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. International Journal of food microbiology, 117, 112-119.

Singh, G., Maurya, S. & Catalan, C. (2004). Chemical constituents, antifungal and antioxidative effects of ajwain essential oil and its acetone extract. J. Agric. Food Chem, 52, 3292-3296.

Singh, G., Kapoor, I. P. S. & Pandey, S. K. (2002). Studies on essential oils: Part 10; Antibacterial activity of volatile oils of some spices. Phytotherapy Research, 16, 680-682.

Studies on the Effect of Extraction Method on Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Carum copticum* Essential Oil

P. Aberoomand Azar^a, Z. Mottaghianpour^{b*}, A. Sharifan^c, K. Larijani^d

^a Assistant Professor of Chemistry Department, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

^b M. Sc. Student of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

^c Assistant Professor of the College of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

^d Academic Member of Laboratory Complex, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

3

۸۲

Abstract

Introduction: By application of different methods of extraction, variations in the extraction rate and chemical composition of the extracted essential oils might be observed.

Materials & Methods: Essential oil of *Carum copticum* cultivated in Iran was obtained by hydrodistillation (HD) and microwave free solvent (SFME). Oils were analyzed by GC/MS and a firm identification of the components were performed by comparison of relative retention indices and mass spectra with authentic reference(1).

Results: Eleven components 99.31% were identified in the oil which was isolated by hydrodistillation. The major components of oil of *C. copticum* were γ -terpinene (37.40%), *p*-cymene (28%), thymol (24.96%), β -pinene (5.78 %), myrcene (1.31%). Eleven components (96.91%) were characterized in the oil which was obtained by free-solvent microwave extraction. The major components of the oil were thymol (35.28), γ -terpinene (32.49%), *p*-cymene (23.51%), β -pinene (3.47%), carvacrol (2.46).

Conclusion: Antimicrobial activity of the essential oils were examined against *Escherichia coli*, using Agar dilution method and minimum inhibitory concentration (MIC) was performed at 500ppm.

Keywords: *Carum copticum*, Chemical Composition, Essential Oil, MIC, Microwave.

Contents

Title	Authors	Page
<i>Abstracts of Persian Articles:</i>		
Evaluation of Acetaldehyde Content in Yogurts Produced by Native Microbial Strains	R. Pourahmad M. Mazaheri Assadi	2
Studies on the Effect of Extraction Method on Chemical Composition and Antimicrobial Activity of <i>Carum copticum</i> Essential Oil	P. Aberoomand Azar Z. Mottaghianpuor A. Sharifan K. Larijani	3
Chemical Evaluation of Oil Extracted from Different Varieties of Colza	Sh. Kadivar M. Ghavami M. Gharachorloo B. Delkhosh	4
Production of High Glucuronic Acid Level in Kombucha Beverage under the Specific Environmental Condition	F. Beigmohammadi A. Karbasi Z. Beigmohammadi	5
Optimization of Osmo-Convective Drying of Edible Button Mushroom Using Response Surface Methodology	Z. Asghari Beiram A. R. Bassiri	6
The Assessment and Comparison of the Quality of Iranian Commercial Flours Glutens by Alveograph and Farinograph Methods	V. Moradi B. Ghiassi Tarzi S. M. Seyyedain Ardebili R. Azizinejad	7
Inhibitory Effect of <i>Saccharomyces cerevisiae</i> on G ₁ and G ₂ Aflatoxins in Culture Media and Kilka Fish Meal	M. R. Saeidi Asl R. Safari	8
Evaluation of Fatty Acid Composition and Stability of Rose Hip Oil	O. Eyvazzadeh S. M. Seyyedain Ardebili M. Chamani F. Darvish	9