ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی اسانس زیره سیاه کرمانی (*Bunium persicum* Boiss.) در سامانه پنیر گودا

پگاه طاهرخانی[۱]، نگین نوری[۲*]، افشین آخوندزاده بستی[۳]، حسن گندمی نصرآبادی[۲]، محمود علی‌محمدی[٤]

۱- دستیار تخصصی، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۲- استادیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۳- استاد، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
٤- استادیار، گروه بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
*آدرس مکاتبه: تهران، خیابان آزادی، خیابان دکتر قریب، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، کدپستی: ۱٤۱۹۹-٦۳۱۱۱، تلفن: ٦٦۹۲۳٥۱۰ (۰۲۱)، نمابر: ٦٦۹۳۳۲۲۲ (۰۲۱)
پست الکترونیک: nnoori@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۳۱ **تاریخ تصویب:** ۹۳/۷/٦

چکیده

مقدمه: در سال‌های اخیر، تحقیقات بر روی ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی بخصوص با منشاء گیاهی بسیار مورد توجه قرار گرفته است و ارزیابی اثرات ضدمیکروبی گیاهان بومی ایران از جمله زیره سیاه کرمانی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. زیره سیاه کرمانی یکی از گیاهان دارویی در ایران است که از نظر اقتصادی حائز اهمیت می‌باشد و به صورت وحشی در مناطق دارای آب و هوای خشک رشد می‌کند.

هدف: در این مطالعه، اثر ضدمیکروبی و ویژگی‌های حسی پنیر گودای تهیه شده با غلظت‌های مختلف اسانس زیره سیاه کرمانی مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی: اسانس‌گیری با روش تقطیر با آب انجام شد. اجزای اسانس با استفاده از گاز کروموتوگرافی **(GC)** و گاز کروموتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی **(GC-MS)** مورد شناسایی قرار گرفت. گروه‌های میکروبی مختلف (باکتری‌های مزوفیل هوازی، آنتروکوک‌ها، لاکتوباسیل‌های مزوفیل، آنتروباکتریاسه، لاکتوکوکوس و مخمرها) با استفاده از محیط‌های کشت اختصاصی شمارش شدند. تست ارگانولپتیک شامل: بافت، طعم، بو، رنگ و پذیرش کلی نیز در پایان دوران رسیدن بررسی شد.

نتایج: بر طبق نتایج به دست آمده، بازده اسانس بذر زیره سیاه ٤/۱ درصد (وزنی/ وزنی) بود. ۲۱ ترکیب در اسانس زیره سیاه کرمانی مورد شناسایی قرار گرفت که ۹۸/۹۷ درصد اسانس را به خود اختصاص دادند. در بین اجزای شناسایی شده به ترتیب پروپانال ۲- متیل ۳- فنیل (۲٦/۰٥ درصد) و گاما تر پینن (۲۱/۸٦ درصد) بالاترین مقدار را داشتند. به طور کلی، افزایش غلظت اسانس زیره سیاه کرمانی سبب کاهش در تعداد گروه‌های میکروبی مختلف شد. همچنین بیشترین و کمترین کاهش در تعداد به ترتیب در مخمرها (کاهش ۲ لوگی نسبت به گروه کنترل در غلظت ۰/٤ درصد در روز ۹۰) و آنتروباکتریاسه‌ها (کاهش ۰/۷٥ لوگی نسبت به گروه کنترل در غلظت ۰/٤ درصد در روز ۹۰) مشاهده شد. به طور کلی افزودن اسانس زیره سیاه کرمانی باعث بهبود خواص حسی در پنیر گودا شد که بویژه در عطر و طعم محصول این اثر نمایان‌تر می‌باشد. در حالی‌که در هیچ‌یک از گروه‌های تیمار از نظر بافت و رنگ تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: اسانس زیره سیاه کرمانی می‌تواند نه تنها به عنوان یک طعم‌دهنده طبیعی بلکه به منظور یک ماده نگهدارنده در بعضی مواد غذایی مانند پنیر گودا استفاده شود و همچنین نقش مهمی در سلامت مصرف‌کننده داشته باشد.

گل‌واژگان: اسانس زیره سیاه کرمانی، اثر ضدمیکروبی، ارزیابی حسی، پنیر گودا

www.SID.ir

مقدمه

امروزه تقاضا برای مصرف غذای سالم و تمایل به استفاده از عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی به جای افزودنی‌های سنتتیک و شیمیایی در مواد غذایی رو به افزایش است. ایران به دلیل تنوع آب و هوایی یکی از غنی‌ترین منابع گیاهان دارویی در جهان محسوب می‌شود و استفاده از آنها در مواد غذایی یکی از راه‌های مناسب برای نیل به این خواسته عمومی جامعه می‌باشد [۱]. زیره سیاه یکی از مهم‌ترین و ارزشمندترین گیاهان دارویی است [۲] که به صورت وحشی در مناطقی از ایران که آب و هوای خشک دارند، مانند استان‌های کرمان، فارس، اصفهان و یزد می‌روید [۵، ٤، ۳، ۱]. زیره سیاه (*Bunium persicum* Boiss.) که در زبان انگلیسی (Black caraway) نامیده می‌شود، گیاهی چند ساله و خودگشن از خانواده چتریان (*Apiaceae*) است. دانه زیره سیاه در طب سنتی به عنوان ضدنفخ، ضداسهال، تب‌بر، کاهنده چربی و کلسترول خون، ضدآلرژی و برطرف‌کننده سوءهاضمه کاربرد دارد [٦، ۳].

اسانس‌ها (روغن‌های فرار یا روغن‌های اتری) مایعات روغنی معطری هستند که از اجزای مختلف گیاه به دست می‌آیند [۷]. اثر ضدمیکروبی اسانس‌ها در مطالعات مختلف به اثبات رسیده است. ترکیبات مختلف در اسانس زیره سیاه شامل کومین آلدهید، گاما ترپینن، پاراسایمن و مواد مؤثره دیگری است که اغلب از ترکیبات ترپنی هستند و کاربردهای فراوانی به عنوان مواد آنتی‌باکتریال و آنتی‌اکسیدان دارند [۸]. دانه زیره سیاه غنی از اسانس گیاهی است و از دیرباز به طور گسترده‌ای به عنوان چاشنی و طعم‌دهنده در انواع غذا مانند نوشابه، شکلات و پنیر استفاده شده است.

پنیر به دلیل داشتن مواد مغذی، محیط مناسبی برای رشد انواع میکروارگانیسم‌ها است. بیش از ۱۰۰۰ نوع پنیر در دنیا وجود دارد که هر یک پروفایل میکروبی خاص خود را دارد. پنیر یک فرآورده لبنی دینامیک است و برخلاف بسیاری از مواد غذایی فرآوری شده که تغییرناپذیری آنها در طول زمان، اهمیت ویژه‌ای دارد، تغییرات بیوشیمیایی و میکروبی گسترده‌ای در طی دوران رسیدن در این فرآورده اتفاق می‌افتد. معمولاً لاکتوکوکوس‌های مولد اسید در مراحل اولیه رسیدن جزء باکتری‌های غالب هستند، اما به تدریج از تعداد آنها کاسته می‌شود و جای خود را به لاکتوباسیل‌ها می‌دهند. به غیر از باکتری‌های فوق، باکتری‌های دیگری نیز مانند باکتری‌های مولد اسید لاکتیک غیراستارتری مانند آنتروکوکوس‌ها و باکتری‌های غیرمولد اسید لاکتیک مانند استافیلوکوک، میکروکوک و باکتری‌های مولد اسید پروپیونیک به عنوان فلور میکروبی ثانویه، رشد می‌کنند و همگی مسئول تغییرات بیوشیمیایی در پنیر هستند [۹]. پنیر گودا یک پنیر نیمه سخت هلندی و از محبوب‌ترین پنیرها در دنیاست که پس از دوران رسیدن و ایجاد تغییرات میکروبی و شیمیایی بسیار در آن، قابل مصرف است. تاکنون مطالعه‌ای درباره ویژگی‌های میکروبی پنیر گودا در طی دوران رسیدن انجام نشده است. هدف از این مطالعه، ارزیابی حسی و بررسی اثر ضدمیکروبی غلظت‌های مختلف اسانس زیره سیاه کرمانی در پنیر گودا طی دوران رسیدن می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه و آنالیز اسانس زیره سیاه کرمانی

دانه‌های گیاه زیره سیاه (*Bunium persicum*) در خرداد ماه سال ۱۳۹۲ از استان کرمان جمع‌آوری شد و نام علمی آن توسط پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی تأیید شد. سپس بذرهای جمع‌آوری شده، در شرایط سایه و دمای محیط خشک شدند تا از هیدرولیز ترکیب‌های موجود در بذرها جلوگیری شود. آنگاه ۲۰۰ گرم از نمونه حاصله، با استفاده از دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آب به مدت سه ساعت، اسانس‌گیری و اسانس به دست آمده پس از آب‌گیری با سولفات سدیم بدون آب، به دستگاه گازکروماتوگرافی تزریق شد. دستگاه گاز کروماتوگرافی مورد استفاده از نوع Thermoquest 2000, UK مجهز به دتکتور FID و ستون موئینه DB_5 به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر بود و از برنامه دمایی ۵۰ تا ۲٦۵ درجه سانتی‌گراد (با افزایش تدریجی ۲/۵ درجه

Archive of SID
www.SID.ir

سانتی‌گراد در دقیقه) و نگهداری ستون در ۲۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه استفاده شد. دمای اتاقک تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت تزریق گاز حامل هلیم ۱/۵ میلی‌متر در دقیقه بود. همچنین آنالیز اسانس و شناسایی اجزای تشکیل‌دهنده اسانس با استفاده از دستگاه GC- MS، UKThermoquest Finnigan مجهز با ستون و برنامه دمایی مشابه GC و شناساگر EI با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و دمای یونیزاسیون ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد صورت پذیرفت. در نهایت اجزای اسانس با استفاده از مقایسه طیف‌های جرمی به دست آمده با طیف‌های جرمی استاندارد موجود و محاسبه اندیس بازداری استاندارد و مقایسه آنها با اعداد استاندارد موجود در مراجع شناسایی شدند [۱۰].

تولید پنیر گودا

پنیر گودا در یک کارخانه لبنی بزرگ در شمال ایران، تولید شد. به این منظور، ابتدا شیر گاو (در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ثانیه) پاستوریزه و به تانک پنیرسازی استیل دو جداره منتقل شد. پس از رسیدن دمای شیر به دمای مطلوب، کشت آغازگر مخصوص تولید پنیر گودا و ساخت شرکت (CHR Hansen/Horsholm, Denmark)، کلرید کلسیم و نیز رنگ آناتو (Annato) اضافه و مخلوط به دست آمده، به خوبی هم زده شد. پس از گذشت نیم ساعت، ۲ میلی‌لیتر رنت قارچی نیز به این مخلوط اضافه شد. همچنین به طور همزمان غلظت‌های مختلف اسانس زیره سیاه کرمانی (۰، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/٤ درصد) به این مخلوط اضافه شد (برای هر غلظت اسانس زیره سیاه کرمانی، ۲ بچ پنیر گودا تهیه شد). ٤۰ دقیقه بعد از اضافه کردن رنت، لخته‌ها به ابعاد ۱/۵ سانتی‌متر، بریده و سپس به قالب‌های مخصوص منتقل شدند تا آب پنیر اضافی نیز خارج شود. در ادامه، پنیر به مدت ٤ – ۳ ساعت در آب نمک اشباع قرار داده شد. پس از خروج پنیر از آب نمک، به پنیرها بیست و چهار ساعت فرصت داده شد تا سطحشان خشک شود. سپس، واکس مخصوصی به قالب‌های پنیر (حلقه‌های پنیر) زده شد و در نهایت به مدت ۹۰ روز به انبار مخصوص رسیدن با دمای ۲ ± ١٤ درجه سانتی‌گراد و ۵ ± ۸۵ درصد رطوبت منتقل شدند. شمارش میکروبی برای هر غلظت به صورت ۳ گانه در روزهای صفر (روز اول در انبار رسیدن)، ۱۵، ۳۰، ٤۵، ٦۰ و ۹۰ دوره رسیدن، انجام شد.

آزمایش‌های میکروبی

۱۰ گرم از پنیر تولیدی در شرایط استریل، برداشته و همراه با ۹۰ میلی‌لیتر سیترات سدیم (وزنی/ حجمی ۲ درصد) در استوماکر 400 Lab- Belender (steward medical, London, UK)، هموژنیزه و رقت‌های متوالی از آن تهیه شد. به منظور تعیین اثر ضدمیکروبی در پنیر گودای تهیه شده با غلظت‌های مختلف اسانس زیره سیاه کرمانی، میکروارگانیسم‌ها با روش اختصاصی به شرح زیر، شمارش شدند. لازم به ذکر است که کلیه محیط‌ها متعلق به شرکت Biolife, Milan, Italy بودند. شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی در محیط PCA به مدت ۲ روز در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. لاکتوباسیل‌های مزوفیل در محیط MRS آگار با pH تنظیم شده در ۵/۵ به مدت ۲ روز در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در شرایط بی‌هوازی شمارش شدند. همچنین آنتروباکتریاسه‌ها در محیط VRBGA پس از کشت و گرمخانه‌گذاری به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد شمارش شدند. کلی فرم‌ها نیز در محیط VRBA پس از کشت و گرمخانه‌گذاری به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد شمارش شدند. جهت شمارش مخمرها از محیط PDA و گرمخانه‌گذاری به مدت ۵ روز در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. آنتروکوک‌ها در محیط Kenner Fecal Agar پس از کشت و گرمخانه‌گذاری به مدت ٤۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد شمارش شدند. لاکتوکوک‌ها با کشت در محیط M17 آگار و گرمخانه‌گذاری به مدت ٤۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در شرایط هوازی شمارش شدند [۱۱].

ارزیابی حسی

ویژگی ارگانولپتیک پنیر گودای تهیه شده با غلظت‌های مختلف اسانس زیره سیاه کرمانی با استفاده از آزمون پذیرش

Archive of SID
www.SID.ir

حسی، در انتهای دوران رسیدن (روز ۹۰) تخمین زده شد. این ارزیابی در پارامترهای بافت و قوام، طعم و مزه، رنگ، عطر و بو و همچنین پذیرش کلی با استفاده از مقیاس حسی ۹ نمره‌ای (9-point hedonic scale) توسط یک پانل هفت نفره از کارکنان و اعضای هیأت علمی گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انجام گرفت. به این صورت که نمره ۹ «بسیار 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 «بسیار بد» و نهایتاً نمره ۱ «فوق‌العاده بد»، در نظر گرفته شد [۱۲].

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج حاصل از تأثیر ضدمیکروبی غلظت‌های مختلف اسانس زیره سیاه کرمانی در پنیر گودا طی دوران رسیدن به روش آنالیز واریانس (ANOVA)، ارزیابی و برای مقایسه بین میانگین‌ها از تست tukey استفاده شد. همچنین تفاوت در ویژگی‌های ارگانولپتیک با استفاده از آنالیز واریانس و روش Fishers Least Significant Difference ارزیابی شد. لازم به ذکر است تمام تحلیل‌های آماری با نرم‌افزار SPSS 18.00، انجام و نتایج معنی‌دار به صورت $p<۰/۰۵$ گزارش شد.

نتایج

ترکیبات اسانس زیره سیاه کرمانی

بازده استخراج اسانس از دانه گیاه ٤/۱ درصد (وزنی/وزنی) بود. نتایج حاصل از آنالیز اسانس زیره سیاه کرمانی توسط دستگاه گازکروماتوگرافی متصل به طیف نگار جرمی (GC/MS) در جدول شماره ۱ آمده است. بر اساس این نتایج، پروپانال ۲- متیل ۳- فنیل (۲٦/۰۵ درصد)، گاما تر پینن (۲۱/۸٦ درصد) و ۱- فنیل ۱- بوتانول (۲۰/۷۲ درصد) بیشترین ترکیبات موجود در اسانس مورد مطالعه بودند. سایر ترکیبات اصلی اسانس شامل: آلفا توجنال (۱۱/٦٦ درصد)، پی‌سیمن (۷/۱۱ درصد) و لیمونن (۳/۵۳ درصد).

جدول شماره ۱- ترکیبات شناسایی شده اسانس زیره سیاه کرمانی با استفاده از GC/MS

نام ترکیب	درصد	زمان بازداری*
۱- فلاندرن	۰/۲۷	۸/۰۵
آلفا پینن	۰/۷٤	۸/۳۸
سابینن	۰/۷۵	۱۰/۰٦
۲- بتا پینن	۱/۳۲	۱۰/۰۳
بتا میرسن	۰/۵٦	۱۰/۷٦
آلفا ترپینن	۰/۲۵	۱۲/۰۷
پی سیمن	۷/۱۱	۱۲/٤۹
لیمونن	۳/۵۳	۱۲/٦۹
۱ و ۸ سینئول	۰/۱	۱۲/۸۲
گاما ترپینن	۲۱/۸٦	۱٤/۱٦
آلفا ترپینولن	۰/۳۸	۱۵/۳٤
ترانس سابینن هیدرات	۰/۱٤	۱٦/۱۸
لینالول	۰/۱	۱٦/۰۸
٤- ترپینئول	۰/۸٦	۲۰/۳۵
تیمول	۰/۱	۲۰/۸۱
۳- سیکلوپنتیل سیکلو پنتان- ۱- ان	۲/۲	۲۱/۱٦
پروپانال ۲- متیل ۳- فنیل	۲٦/۰۵	۲۳/۷۳
فلاندرال	۰/۱۷	۲۵/۱۳
آلفا توجنال	۱۱/٦٦	۲۵/٦۵
۱- فنیل ۱- بوتانول	۲۰/۷۲	۲۵/۹۲
۱و٤- سیکلوهگزادین ۱- متانول	۰/۱	۱۲۷۲
جمع کل	۹۸/۹۷	

*Retention Time

Archive of SID
www.SID.ir

اثرات ضدمیکروبی

اثر ضدمیکروبی غلظت‌های مختلف اسانس زیره سیاه کرمانی بر میانگین لگاریتمی شمارش گروه‌های میکروبی مختلف در پنیر گودا طی ۹۰ روز دوران رسیدن در جدول شماره ۲ ارائه شده است. در گروه شاهد، جمعیت آنتروکوک‌ها در طول زمان نگهداری افزایش یافته به طوری که لگاریتم شمارش باکتریایی از ۳/٤٤ در روز صفر به ۸/۳٦ در روز ۹۰ رسید. اسانس زیره سیاه کرمانی در غلظت ۰/۰۵ درصد تأثیر معنی‌داری بر شمارش آنتروکوک‌ها نداشته ولی با افزایش غلظت اسانس به بالاتر از ۰/۰۵ درصد، سرعت رشد باکتری نسبت به گروه کنترل کاهش یافته و این کاهش رشد با غلظت اسانس رابطه مستقیمی دارد به طوری که شمارش آنتروکوک‌ها در گروه حاوی ۰/۲ و ۰/٤ درصد اسانس در روز ۹۰، به ترتیب ۰/۸ و ۱/۲ لوگ کمتر از گروه کنترل بود ($p<0/05$). همان‌طور که در جدول شماره ۲ مشاهده می‌شود، در تمام گروه‌های مورد مطالعه حداکثر شمارش میکروبی در روز ۱۵ دوره رسیدن مشاهده شد. در گروه کنترل لگاریتم تعداد لاکتوباسیل‌ها از ۵/۵ در روز صفر به ۸/۵ در روز ۱۵ رسید و بعد از آن کاهش جمعیت میکروبی مشاهده شد. اسانس زیره سیاه کرمانی در غلظت ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر تعداد باکتری‌ها نداشته، در حالی که رشد لاکتوباسیل‌های مزوفیل در غلظت ۰/۲ و ۰/٤ درصد نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد به گونه‌ای که در غلظت ۰/٤ درصد، شمارش باکتریایی در روز ۹۰ به ۵/۷ رسید که کاهش ۱/۵ لوگی را نسبت به گروه کنترل نشان داد ($p<0/05$). روند ذکر شده در مورد گروه‌های باکتریایی فوق، درخصوص شمارش باکتری‌های هوازی مزوفیل نیز صدق می‌کند، با این تفاوت که تنها غلظت ۰/٤ درصد اسانس اثر معنی‌داری در شمارش این دسته باکتریایی نسبت به گروه کنترل نشان داد ($p<0/05$). اگرچه جمعیت آنتروباکتریاسه‌ها نیز روند افزایشی در طول دوران رسیدن نشان داد ولی این افزایش از سرعت کمتری برخوردار بوده به طوری که لگاریتم شمارش باکتریایی در گروه کنترل از ۱/۲ در روز صفر به ۲/۹ در روز ۹۰ رسید که تنها ۱/۷ لوگ افزایش یافت. به طورکلی غلظت‌های ۰/۲ و ۰/٤ درصد اسانس توانست رشد آنتروباکتریاسه را نسبت به گروه شاهد کاهش دهد اما تفاوت معنی‌داری بین گروه ۰/۲ و ۰/٤ درصد اسانس دیده نشد ($p>0/05$). لگاریتم شمارش لاکتوکوکوس‌ها در گروه کنترل از ۳/۵ در روز صفر به ۷/۳ در روز ۹۰ رسید. که افزایش ۳/۸ لوگی را داشته است. افزودن اسانس زیره سیاه کرمانی در غلظت ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد تأثیر معنی‌داری در شمارش لاکتوکوکوس‌ها نداشته اما اختلاف معنی‌داری در تعداد این باکتری در گروه‌های ۰/۲ و ۰/٤ درصد اسانس نسبت به گروه کنترل یافت شد. همچنین شمارش لاکتوکوکوس‌ها در گروه ۰/۲ با گروه ۰/٤ درصد اسانس اختلاف آماری معنی‌داری را با یکدیگر نشان دادند ($p<0/05$). آخرین گروه این مطالعه مخمرها بودند، اسانس زیره سیاه کرمانی در غلظت ۰/۲ و ۰/٤ درصد سبب کاهش معنی‌داری در تعداد آنها نسبت به گروه شاهد شد به گونه‌ای که در غلظت ۰/٤ درصد تعداد مخمرها در روز ۹۰، ٤/۳ لوگ بوده که کاهش ۲ لوگی را نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد.

ارزیابی حسی

نتایج حاصل از ارزیابی ویژگی‌های ارگانولپتیکی پنیر گودا متأثر از غلظت‌های مختلف اسانس زیره سیاه کرمانی در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است. افزودن زیره سیاه کرمانی در هیچ یک از غلظت‌ها اثر معنی‌داری بر بافت و رنگ نداشته است، همچنین افزودن غلظت اسانس زیره سیاه کرمانی نه تنها اثر نامطلوبی بر عطر ندارد بلکه باعث بهبود عطر محصول نیز می‌شود و این اثر مثبت بخصوص در غلظت ۰/۱ درصد اسانس نسبت به گروه کنترل از نظر آماری معنی‌دار بود ($p<0/05$). این مسأله در مورد فاکتور طعم نیز صدق می‌کند به طوری که در گروه حاوی ۰/۱ و ۰/۲ درصد اسانس زیره سیاه کرمانی طعم مطلوب‌تری نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. به طور کلی افزودن اسانس زیره سیاه کرمانی در غلظت ۰/۱ و ۰/۲ درصد باعث بهبود خواص حسی و پذیرش کلی نمونه‌های پنیر گودا شد و غلظت‌های ۰/۰۵ و ۰/٤ درصد تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نشان نداد.

Archive of SID
www.SID.ir

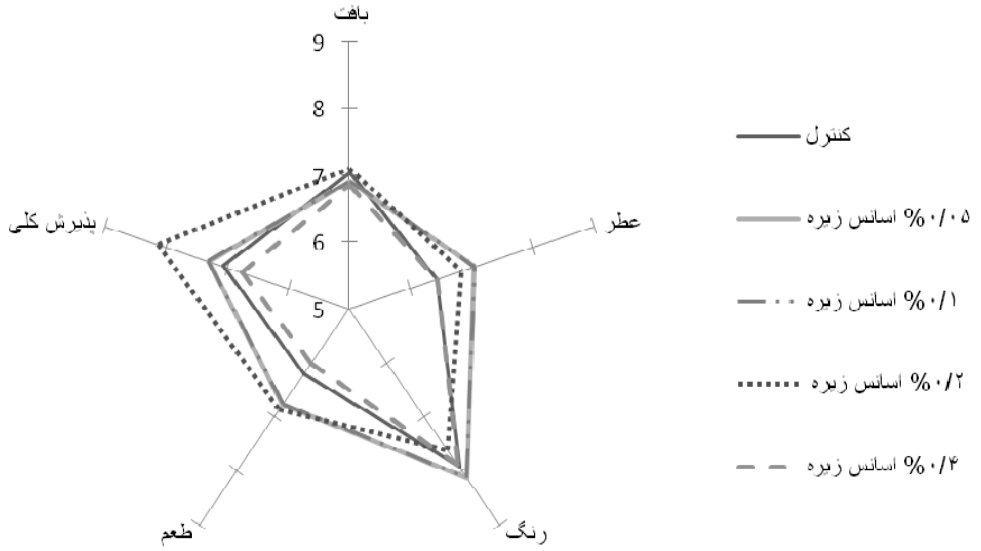
جدول شماره ۲- اثر ضدمیکروبی غلظت‌های مختلف اسانس زیره سیاه کرمانی بر میانگین لگاریتم شمارش گروه‌های باکتریایی مختلف در پنیر گودا طی ۹۰ روز دوران رسیدن

گروه باکتریایی	غلظت اسانس (درصد)	شمارش باکتریایی (log cfu/g)*					
		روز صفر	روز ۱۵	روز ۳۰	روز ٤٥	روز ٦٠	روز ۹۰
آنتروکوکوس	۰	۳/٤٤±۰/۱۹^{a**}	۵/۰۷±۰/۲۵^{a}	٦/٦۳±۰/۱۸^{a}	۷/۲٤±۰/۱۲^{a}	۸/۲±۰/۱٤^{a}	۸/۳٦±۰/۱٦^{a}
	۰/۰۵	۳/٤۰±۰/۱۵^{a}	۵/۱۱±۰/۱۱^{a}	٦/۵۷±۰/۱۲^{a}	۷/۳۰±۰/۱٤^{a}	۸/۱۸±۰/۲۳^{a}	۸/۱٦±۰/۱۳^{a}
	۰/۱	۳/٤۱±۰/۲۵^{a}	٤/۸۷±۰/۱۵^{a}	٦/٤۵±۰/۲۱^{ab}	۷/۱۰±۰/۲۱^{a}	۸/۰۸±۰/۱۸^{ab}	۷/۹۳±۰/۲٤^{ab}
	۰/۲	۳/۳۱±۰/۱۱^{a}	٤/۷۷±۰/۱٦^{ab}	٦/۰٤±۰/۲۹^{b}	٦/۷۳±۰/۱٤^{b}	۷/٤۸±۰/۳٤^{bc}	۷/۵٤±۰/۱٤^{b}
لاکتوباسیل‌های مزوفیل	۰	۵/٤۸±۰/۳۲^{a}	۸/۵٤±۰/۱۱^{a}	۸/۱٦±۰/۲۱^{a}	۷/۸۳±۰/۱٦^{a}	۷/٦٤±۰/۰۷^{a}	۷/۲۰±۰/۳۸^{a}
	۰/۰۵	۵/۳٤±۰/۲۰^{a}	۸/۳۹±۰/۲٤^{ab}	۸/۱۷±۰/۰۹^{a}	۷/۹۳±۰/۲۸^{a}	۷/۵۸±۰/۲٦^{a}	۷/۳۷±۰/۱۸^{ab}
	۰/۱	۵/٤۱±۰/۳۳^{a}	۷/۹۸±۰/۱۱^{bc}	۷/۹۵±۰/۱٤^{ab}	۷/۵۷±۰/۰۸^{a}	۷/۳۱±۰/۰۹^{ab}	٦/۹٤±۰/۰۵^{ab}
	۰/۲	۵/۲۲±۰/۱۲^{a}	۷/۸۳±۰/۲۳^{c}	۷/۵۹±۰/۱۷^{b}	۷/۰۷±۰/۲۲^{b}	٦/۸۳±۰/۱۹^{bc}	٦/٦۳±۰/۲۷^{b}
باکتری‌های هوازی مزوفیل	۰	٤/۵۷±۰/۲۱^{a}	۵/۳۳±۰/۳۵^{a}	۵/۲۵±۰/۲۸^{a}	٦/۹٦±۰/۱۸^{a}	۸/۰۸±۰/۱٤^{a}	۷/٦٤±۰/۲۹^{a}
	۰/۰۵	٤/۵۱±۰/۱۷^{a}	۵/۲۲±۰/۱۳^{a}	۵/۱۲±۰/۱۰^{ab}	٦/۷۷±۰/۳۷^{a}	۸/۲۰±۰/۲۸^{ab}	۷/٤۹±۰/۳۵^{a}
	۰/۱	٤/۵٦±۰/٤۰^{a}	۵/۱۳±۰/۳۸^{ab}	۵/۰۸±۰/۳۱^{ab}	٦/۵٦±۰/۱۵^{ab}	۸/۰٤±۰/۰۷^{ab}	۷/۲٤±۰/۲۲^{ab}
	۰/۲	٤/۵٤±۰/۱۱^{a}	٤/۵۸±۰/۱۷^{bc}	٤/۹۱±۰/۰۹^{ab}	٦/۰٤±۰/۱۹^{bc}	۷/٦۸±۰/۰۷^{bc}	۷/۰۰±۰/۰۷^{ab}
آنتروباکتریاسه	۰	۱/۲۳±۰/۰۹^{a}	۱/۷۸±۰/۵۱^{a}	۲/۳۰±۰/۱۷^{a}	۲/۷۳±۰/۲٤^{a}	۲/۷۸±۰/۱۵^{a}	۲/۹٦±۰/۱۱^{a}
	۰/۰۵	۱/۱۵±۰/۱٦^{a}	۱/٦۵±۰/۱٦^{ab}	۲/۳۱±۰/۰٦^{a}	۲/٦٦±۰/۱۵^{ab}	۲/۸٤±۰/۰۹^{ab}	۲/۷٦±۰/۱۸^{a}
	۰/۱	۱/۲۸±۰/۱۱^{a}	۱/٦۱±۰/۱۷^{ab}	۲/۲۱±۰/۱٦^{a}	۲/۵٦±۰/۱۷^{ab}	۲/۷٦±۰/۱٤^{ab}	۲/۷۰±۰/۲۰^{a}
	۰/۲	۱/۱۹±۰/۱۲^{a}	۱/۵۸±۰/۱٦^{ab}	۱/۹۱±۰/۱۹^{ab}	۲/۲٦±۰/۰۹^{bc}	۲/٤۸±۰/۱٤^{b}	۲/۲۸±۰/۱۲^{b}
لاکتوکوکوس	۰	۳/٤۸±۰/۱۹^{a}	٤/۵۵±۰/۱۸^{a}	۵/۱۳±۰/۲۱^{a}	٦/۲۱±۰/۲٤^{a}	٦/۵۵±۰/۱٦^{a}	۷/۳۵±۰/۲۲^{a}
	۰/۰۵	۳/۳٦±۰/۱۱^{a}	٤/٤۸±۰/۱۲^{a}	۵/۰۸±۰/۱۸^{a}	٦/٤۳±۰/٤۵^{a}	٦/۳۵±۰/۱۲^{a}	۷/۲۸±۰/۲۱^{a}
	۰/۱	۳/٤۱±۰/۱۵^{a}	٤/۳۰±۰/۱۹^{a}	٤/۷۳±۰/۱۷^{ab}	۵/۹۲±۰/۱۸^{ab}	٦/۱۹±۰/۱۸^{ab}	۷/۰۵±۰/۰٤^{ab}
	۰/۲	۳/٤٤±۰/۰۸^{a}	٤/۱۹±۰/۱٦^{ab}	٤/۵۵±۰/۱۹^{bc}	۵/۵٦±۰/۱۳^{bc}	۵/۹۲±۰/۲۹^{bc}	٦/۸٤±۰/۱٤^{b}
مخمر	۰	۲/۹۸±۰/۱۸^{a}	۳/۳۱±۰/۱٤^{a}	۳/۵۲±۰/۱۷^{a}	٤/۸۵±۰/۱٤^{a}	۵/۲٦±۰/۱۸^{a}	٦/۳۱±۰/۳۹^{a}
	۰/۰۵	۲/۹٦±۰/۲۷^{a}	۳/۱۹±۰/۱۱^{ab}	۳/۳٦±۰/۰٦^{ab}	٤/۷۲±۰/۱۱^{a}	۵/۱۷±۰/۱۲^{a}	٦/۰۷±۰/۱۹^{a}
	۰/۱	۲/۸۱±۰/۱٦^{a}	۳/۰۷±۰/۱۱^{ab}	۳/۲۷±۰/۲۳^{ab}	٤/٦۲±۰/۱٦^{a}	۵/۰۹±۰/۱۵^{a}	۵/۹۱±۰/۱۹^{ab}
	۰/۲	۲/۸۵±۰/۱۸^{a}	۲/۹۲±۰/۲۰^{b}	۳/۲۰±۰/۲۸^{ab}	۳/۸٦±۰/۲۸^{b}	٤/٤٦±۰/۲۱^{b}	۵/٤۷±۰/۱۸^{b}

* (انحراف معیار ± میانگین)

** در هر گروه باکتریایی، حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار است (p<۰/۰۵).

Archive of SID
www.SID.ir



نمودار شماره ۱- اثر اسانس زیره سیاه کرمانی بر ویژگی‌های حسی پنیر گودا

بحث

در سال‌های اخیر، به دلیل افزایش توجه به استفاده از ترکیبات طبیعی و گیاهی در مواد غذایی به عنوان نگهدارنده، بررسی‌های متعددی در ارتباط با اثر نگهدارندگی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی مختلف مانند آویشن شیرازی، دارچین، زیره سیاه و سبز در مواد غذایی گوناگون انجام شده است [۱۳]. در تحقیق حاضر از مجموع ۲۱ ترکیب شناسایی شده در اسانس زیره سیاه کرمانی با ۹۸/۹۷ درصد، پروپانال ۲- متیل ۳- فنیل (۲۶/۰۵ درصد) و گاما تر پینن (۲۱/۸۶ درصد) بالاترین درصد اسانس را تشکیل می‌دهند. کمیت و کیفیت مواد تشکیل‌دهنده اسانس زیره سیاه استان کرمان با موارد گزارش شده از دیگر مناطق جغرافیایی رویش این گیاه در هند، پاکستان و تاجیکستان [۱۶-۱۴] تفاوت‌هایی دارد. قابل ذکر است که اجزای تشکیل‌دهنده هر اسانس متأثر از عوامل گوناگونی مانند موقعیت جغرافیایی، آب و هوا، فصل، تنوع گیاهی، سن گیاه، روش خشک کردن و استخراج اسانس متفاوت است [۱۷]. به طورکلی، جدول شماره ۲ نشان می‌دهد که در همه تیمارها آنتروکوک‌ها بیشترین رشد را در ۳۰ روز اول دوران رسیدن داشتند که با نتایج مطالعات صورت گرفته روی پنیرهای مشابه مطابقت دارد [۲۱-۱۸]. بعضی آنتروکوک‌ها به پاستوریزاسیون مقاوم هستند و می‌توانند بعد از حرارت سالم‌سازی نیز رشد نمایند [۲۲]. آنتروکوک‌ها میکروارگانیسم‌های اصلی در پروفایل میکروبی پنیرهای نیمه‌سخت و سخت هستند و دلیل حضورشان در شیر آلوده، شرایط بهداشتی تولید و مقاومت آنها به نمک و حرارت است [۲۴، ۲۳]. اگر چه آنتروکوک‌ها به دلیل داشتن فعالیت لیپولیتیک و پروتئولیتیک، مسئول ایجاد خواص منحصر به فرد حسی و بیوشیمیایی در پنیر گودا می‌باشند ولی از آنجایی‌که برخی از سویه‌های آنتروکوک قادر به ایجاد معضلات سلامتی جدی هستند، تعداد بالای آنتروکوک‌ها می‌تواند یک معضل بهداشتی محسوب شود. جای (Jay) و همکاران (۲۰۰۵) اظهار کردند که آنتروکوک‌ها، لاکتوباسیل‌ها و لاکتوکوک‌ها در مقایسه با سایر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به اسانس‌های گیاهی مقاوم هستند [۲۵]. نتایج ارائه شده در جدول شماره ۲ حاکی از آن است که لاکتوباسیل‌های مزوفیل گروه باکتری غالب در روزهای نخستین دوران رسیدن هستند. این امر می‌تواند به دلیل تهیه پنیر از شیر پاستوریزه و اضافه کردن کشت آغازگر حاوی لاکتوباسیل باشد. به علاوه بیشترین شمارش لاکتوباسیل‌ها در ۱۵ روز اول دوره رسیدن مشاهده شد که نشان‌دهنده قدرت رشد بیشتر این گروه در رقابت با سایر میکروارگانیسم‌های

Archive of SID
www.SID.ir

فلور می‌باشد. این نتایج با یافته‌های تاواریا (Tavaria) و همکاران (۲۰۰۰) نیز مطابقت دارد [۲۶]. گروه باکتریایی دیگری که مورد مطالعه قرار گرفتند، باکتری‌های مزوفیل هوازی بودند. اسانس زیره سیاه کرمانی به دلیل داشتن ترکیبات ترپیننی توانست در روزهای مختلف دوران رسیدن از جمعیت باکتری‌های مزوفیل هوازی بکاهد و با افزایش غلظت اسانس این اثر نیز افزایش می‌یابد. اگرچه تعداد آنتروباکتریاسه در تمام دوره رسیدن در تمام گروه‌های متأثر از غلظت‌های مختلف اسانس زیره سیاه کرمانی پایین بود، اما بین تمام گروه‌های باکتریایی مورد مطالعه کمترین کاهش در تعداد بعد از افزودن اسانس، در آنتروباکتریاسه مشاهده شد. علت این امر می‌تواند آب‌دوست بودن غشای بیرونی آنتروباکتریاسه‌ها و دفع ترکیبات چربی دوست مانند اسانس زیره باشد که در نهایت منجر به مقاومت باکتری‌های گرم منفی در برابر خاصیت آنتی‌باکتریال اسانس‌ها در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت می‌شود [۲۷]. آنتروباکتریاسه به عنوان معیاری جهت قضاوت درخصوص شرایط بهداشتی تولید پنیر محسوب می‌شود. پایین بودن تعداد این باکتری‌ها در پنیر گودا را می‌توان به پاستوریزاسیون شیر و حساسیت به pH پایین و غلظت بالای نمک نسبت داد. در مطالعه حاضر اگر چه تعداد مخمرها در ابتدای دوره رسیدن پایین بود ولی در طول دوره رسیدن تعداد آنها افزایش یافت که می‌تواند ناشی از مقاومت زیاد آنها به کاهش آب، کاهش pH و میزان نمک باشد. همچنین مخمرها می‌توانند در درجات حرارتی پایین در طی مدت زمان نگهداری زنده بمانند و در دوران رسیدن رشد کنند [۲۸]. در کنار نقش مثبت مخمرها در ایجاد طعم و عطر مطلوب در پنیر، تعداد بالای آنها می‌تواند باعث فساد شود. بر طبق جدول شماره ۲ بیشترین کاهش (۲ لوگ) در تعداد مخمرها در پنیر گودای حاوی غلظت‌های مختلف زیره سیاه کرمانی مشاهده شد و همان‌طورکه دهکردی ساعی (Dehkordisaei) و همکاران (۲۰۱۰) بیان نموده‌اند، مخمرها بسیار به اسانس‌های گیاهی حساس هستند [۲۹]. بر طبق نتایج آنالیز حسی ارائه شده در نمودار شماره ۱، هیچ‌یک از غلظت‌های اسانس زیره سیاه کرمانی اثر نامطلوبی بر ویژگی‌های ارگانولپتیک پنیر گودا نداشتند و این نتیجه استفاده از این اسانس به عنوان طعم‌دهنده در پنیر گودا را تأیید می‌کند. علاوه بر این آنتروباکتریاسه‌ها و باکتری‌های اسید لاکتیک غیراستارتری از جمله میکروارگانیسم‌هایی هستند که در تولید آمین‌های بیوژن نقش دارند [۱۱]. این آمین‌ها علاوه بر داشتن نقش در فساد محصول و ایجاد طعم نامطلوب، دارای اثرات زیان‌باری برای سلامت انسان می‌باشند. از آنجایی‌که اسانس زیره سیاه باعث مهار و کنترل رشد این میکروارگانیسم‌ها شده، بنابراین نقش مهمی در تأمین سلامت مصرف‌کننده دارد. به طورکلی نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از این اسانس به علت داشتن اثر ضدمیکروبی سبب کاهش رشد گروه‌های مختلف باکتریایی شد که باعث ایمنی و سلامت این گونه پنیرها می‌شود. در ضمن استفاده از اسانس‌های گیاهی می‌تواند به عنوان جایگزینی برای نمک در تولید پنیر باشد تا بتوان همراه با ایجاد تنوع در طعم محصول، گام مثبتی در جهت سلامت افراد در معرض بیماری‌های قلبی عروقی برداشته شود.

منابع

1. Azimzadeh M. Genetic assessment of Iranian *Bunium persicum* Boiss. using ITS, (In Persian). University of Tehran press. Tehran. 2009, pp: 81.

2. Pour- seyedi S. Assessment of germination and cytology of three Iranian caraway genus*: Bunium, Carum and Cuminum*, (In Persian). University of Tehran press. Tehran. 1994, pp: 89.

3. Abduganiew BE, Abdullaev UA, Aripov KN, Baser KHC and Oezek T. Compositionof theessential oil of *Bunium persicum* (Boiss.) B. Fedtsch. from Tajikistan. *J. Essent. Oil Res.* 1997; 9: 597 - 8.

4. Dehkhoda AA. Dictionary of Persian words, (In

Archive of SID
www.SID.ir

Persian).University of Tehran press. Tehran. 1957, pp: 264 - 75.

5. Zeinali N. Recognition, cultivation and culturing of Caraway, (In Persian). Vadiat. Kerman. 2007, pp: 56.

6. Pourmortazavi SM, Ghadiri M and Hajimirsadeghi SS. Supercritical fluid extraction of volatile components from *Bunium persicum* Boiss. (black cumin) and *Mespilus germanica* L. (medlar) seeds. *J. Food Compos. Anal*. 2005; 18: 439 - 46.

7. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. *Int. J. food Microbiol*. 2004; 94 (3): 223 - 53.

8. Shankaracharya NB and Shankaracharya ML. Research note on the essential oils of *Cuminum cyminum* L. and *Bunium persicum.* Boiss. *Pafai J*. 1988; 10 (4): 33 - 5.

9. Zora Mand Snezana B. Sensory evaluation and microbiological characterization of autochthonous sombor cheese. *Acta Vet.* 2008; 58: 531 - 41.

10. Adams RP. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy. Illinois Allured Publication Corporation. 2001, pp: 456.

11. Schirone M, Tofalo R, Mazzone G, Corsetti A and Suzzi G. Biogenic amine content and microbiological profile of Pecorino di Farindola cheese. *Food Microbiol.* 2011; 28: 128 - 36.

12. Sipahioglu O, Alvarez VB and Solano- Lopez C. Structure, physico-chemical and sensory properties of feta cheese made with tapioca starch and lecithin as fat mimetics. *Int. Dairy J*. 1999; 9 (11): 783 - 9.

13. Sadeghi E, Akhondzadeh Basti A, Noori N, Khanjari A and Partovi R. Effect of *cuminum cyminum* L. essential oil and *Lactobacillus Acidophilus* (a probiotic) on *Staphylococcus aureus* during the manufacture, ripening and storage of white brined cheese. *J. Food Process. Preserv*. 2013; 37: 449 - 45.

14. Narayan VK and Giridhar KR. The in vitro efficacy of essential oils of some umbellifera Plants. *Indian Drugs*. 1980; 17 (12): 394 - 6.

15. Karim A and Pervez M. Studies on the essential oil of the Pakistan species of the family umbelliferae part *X. Bunium persicum* Boiss. (Siah zira) seed. *Pakistan J. Sci. Ind. R.* 1977; 20 (2): 106 - 8.

16. Baser KHC, Oezek T, Abduganiev BE, Abdullaev UA and Aripov KN. Composition of the essential oil of *Bunium persicum* (Boiss.) B. Fedtsch from Tajikistan. *J. Essent. Oil Res.* 1977; 9: 597 - 8.

17. Bagamboula CF, Uyttendaele M and Debevere J**.** Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiol.* 2004; 21: 33 - 42.

18. Nunez M. Microflora of Cabrales cheese: changes during maturations. *J. Dairy Res*. 1978; 45: 501 - 8.

19. Schneller R, Good P and Jenny M. Influence of pasteurised milk, raw milk and different ripening cultures on biogenic amine concentrations in semi-soft cheeses during ripening. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 1997; A. 204: 265 - 72.

20. Litopoulou-Tzanetaki E and Tzanatakis N. Microbiological study of white-brined cheese made from raw goat milk. *Food Microbiol*. 1992; 9: 9 - 13.

21. Suzzi G, Caruso M, Lombardi A, Vannini L, Guerzoni ME and Andrighetto C. A survey of the *enterococci* isolated from an artisanal Italian goat's cheese (semicotto caprino). *Int. J. Food Microbiol*. 2000; 89: 267 - 74.

22. Ladero V, Sánchez-Llana E, Fernández M and Alvarez MA. Survival of biogenic amine-producing dairy LAB strains at pasteurisation conditions. *Int. J. food Sci. Technol.* 2011a; 46: 516 - 21.

23. Galgano F, Suzzi G, Favati F, Caruso M, Martuscelli M, Gardini F and Salzano G. Biogenic amines during ripening in 'Semicotto Caprino'cheese: role of *enterococci*. *Int. J. Food*

Archive of SID
www.SID.ir

Sci. Technol. 2001b; 36: 153 - 60.

24. Mundt JO. Gram Positive *Cocci Enterococci*. In: Butler, JP (Ed.), 6th ed. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Willams and Wilkins, Baltimore. 1986, pp: 1063 - 65.

25. Jay MJ, Loessner JM and Golden AD. Modern Food Microbiology. 7th ed. Springer Science and Business Media. NewYork. 2005.

26. Tavaria FK and Malcata FX. On the microbiology of Serra da Estrela cheese: geographical and chronological considerations. *Food Microbiol*. 2000; 17: 293 - 304.

27. Ozturk S and Ercisli S. The chemical composition of essential oil and in vitro antibacterial activities of essential oil and methanol extract of *Ziziphora persica* Bunge. *J. Ethnopharmacol.* 2006; 106, 372 - 6.

28. Ferreira A and Viljoen B. Yeasts as adjunct starters in matured Cheddar cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 2003; 86: 131 - 40.

29. Saei-DehkordiS S, Tajik H, Moradi M and Khalighi- Sigaroodi F. Chemical composition of essential oils in *Zataria multiflora* Boiss. from different parts of Iran and their radical scavenging and antimicrobial activity. *Food Chem. Toxicol.* 2010; 48: 1562 - 7.

Archive of SID

www.SID.ir