Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 15:38 +0330 on Saturday February 3rd 2018

مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال دوازدهم، شماره 4، زمستان 1396، صفحات 82-73

خصوصیات ضد میکروبی عصاره اتانولی گیاه موسیر بر باکتری کلستریدیوم بوتولینوم و استافیلوکوکوس اورئوس در کشک مایع و ارزیابی خواص حسی

مسعود فرجی[1]، مهدی فرهودی[2]، لیلا روزبه نصیرایی[3]

1- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد نور، دانشگاه آزاد اسلامی، نور، ایران

2- نویسنده مسئول: استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. پست الکترونیکی: Farhoodi@sbmu.ac.ir

3- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی واحد نور، دانشگاه آزاد اسلامی، نور، ایران

تاریخ دریافت: 95/5/10 تاریخ پذیرش: 95/9/11

چکیده

سابقه و هدف: کشک یکی از فرآورده‌های فرعی شیر است که در بین منابع غذایی حاوی بالاترین پروتئین می‌باشد. بنابراین محیط مناسبی جهت رشد و ازدیاد میکروارگانسیم‌های مختلف است. با توجه به اثرات زیان‌آور نگهدارنده‌های شیمیایی، لزوم انجام پژوهش در خصوص اثرات ضد میکروبی نگهدارنده‌های طبیعی و اسانس‌های گیاهی بر رشد میکروارگانیسم‌های مهم موادغذایی در مدل‌های آزمایشگاهی و غذایی افزایش یافته است.

مواد و روش‌ها: این پژوهش شامل استخراج و تعیین ترکیبات شیمیایی عصاره موسیر و ارزیابی اثرات ضد میکروبی آن علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* و *کلستریدیوم بوتولینوم* در کشک است. ابتدا نمونه‌های از کشک مایع حاوی عصاره موسیر با غلظت‌های 0/5%، 0/75%، 1% و 2% تهیه گردید. سپس هر یک از نمونه‌ها با *استافیلوکوکوس اورئوس* با جمعیت میکروبی 10^7 cfu/ml و *کلستریدیوم بوتولینوم* با جمعیت میکروبی 10^7 cfu/ml به طور جداگانه آلوده شده و در یخچال 4 درجه سانتی‌گراد به مدت 21 روز نگهداری شد. نمونه‌برداری از کشک در روزهای صفر، هفت، چهارده و بیست و یک صورت گرفت.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که با افزایش مدت زمان نگهداری کشک میزان pH کاهش قابل توجهی داشته است، همچنین جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* در مقایسه با *کلستریدیوم بوتولینوم* با سرعت بیشتری از بین می‌رود، در پایان روز بیست و یکم نگهداری، جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* به صفر رسیده است.

نتیجه‌گیری: عصاره حاوی یک درصد موسیر هم به لحاظ کاهش رشد میکروبی و هم به لحاظ خصوصیات حسی و رنگ به عنوان مناسب‌ترین نمونه انتخاب شد.

واژگان کلیدی: کشک، عصاره موسیر، اثر ضد میکروبی، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *کلستریدیوم بوتولینوم*

• مقدمه

کشک یکی از فرآورده‌های فرعی شیر است که به روش سنتی از جوشاندن، تغلیظ و یا خشک کردن دوغی که پس از کره‌گیری باقی می‌ماند و یا از ماست بدون چربی تهیه می‌شود. در بین منابع غذایی بالاترین پروتئین در کشک خشک وجود دارد. کشک خشک معمولا بین 55 تا 75 درصد پروتئین دارد. با توجه به این‌که کشک یکی از غنی‌ترین منابع پروتئین حیوانی است، بنابراین محیط مناسبی جهت رشد و ازدیاد میکروارگانسیم‌های مختلف می‌باشد. این محصول عمدتاً در معرض فساد میکروبی از جمله آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* و *کلستریدیوم بوتولینوم* قرار می‌گیرد (1). *استافیلوکوکوس اورئوس* عامل اصلی مسمومیت غذایی *استافیلوکوکوس* و عفونت‌های خارج روده‌ای می‌باشد. *انتروتوکسین* یک میکروارگانسیم مقاوم به حرارت است و در صورت وجود در ماده غذایی در اثر حرارت از بین نمی‌رود. استافیلوکوکوس در مواد غذایی هیچ‌گونه تغییری در ظاهر، بو یا طعم ایجاد نمی‌کند بلکه توکسین آن در موادغذایی ایجاد

Archive of SID
www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 15:38 +0330 on Saturday February 3rd 2018

مسمومیت می‌نماید (2، 3). این میکروارگانیسم قادر به تحمل مقادیر زیاد نمک تا 15 درصد می‌باشد. به همین دلیل در مواد غذایی دارای نمک نظیر پنیر یا کشک سبب فساد می‌شود (4-6). *کلستریدیوم بوتولینوم* یک باکتری بی هوازی اجباری است. این باکتری قادر به تحمل مقادیر اندک اکسیژن به واسطه ی آنزیم سوپراکسیداز دسموتاز که خاصیت آنتی اکسیدانی دارد می باشد. فرایند تولید توکسین توسط *کلستریدیوم بوتولینوم* فقط در طی فرایند هاگ‌زایی که در محیط‌های بی‌هوازی رخ می‌دهد انجام می‌شود. به همین دلیل در غذاهای کنسرو شده و همچنین کشک کنسرو شده که فرآیند حرارتی اعمال شده بر روی آن ناقص بوده، محیطی مناسب جهت ترشح توکسین این باکتری است (7).

گیاه موسیر (*Allium Ascalonicum*) گونه‌ای از خانواده‌ی بزرگ لاله‌سانان است، که گونه‌های مهم و شناخته شده‌ی دیگری از قبیل سیر، پیازها و تره‌فرنگی را در بر می‌گیرد. این گیاهان در سراسر دنیا کاربردهای غذایی و دارویی دارند و غنی از فلاونول‌ها و ترکیبات ارگانوسولفوری هستند (8). مطالعات فراوانی به نقش ضداکسیدانی ترکیبات ارگانوسولفوری شامل دی‌آلیل دی‌سولفید DADS (Diallyl Disulphide)، *تری-سولفید* و *آلیل‌سیستئین* و *فلاونول‌ها* در سیر اشاره دارد (9). بررسی شیمیایی موسیر نشان می‌دهد که این گیاه حاوی فلاون‌ها و ترکیبات پلی‌فنلی مانند کورستین‌ها است که خاصیت ضداکسیدانی دارند. ترکیبات ارگانوسولفور موسیر عبارتنداز: *دی‌آلیل دی‌سولفید DADS* و *دی‌آلیل‌سولفید DAS*، *دی‌آلیل تری‌سولفید* و *دی‌آلیل تتراسولفید* که خاصیت ضدمیکروبی دارند (10). در این تحقیق تأثیر عصاره گیاه موسیر در غلظت‌های مختلف بر روی رشد و بقای دو باکتری *کلستریدیوم بوتولینوم* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در کشک مایع و ارزیابی عمر ماندگاری این محصول، بررسی شد.

• مواد و روش‌ها

تهیه و استخراج عصاره موسیر: برای تهیه عصاره الکلی گیاه موسیر، گونه‌ی این گیاه که متعلق به شهر همدان بود با نام علمی (*Allium Ascalonicum*) در دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران تهیه گردید. با آسیاب پودر و سپس به نسبت 1 به 6 با حلال الکلی مخلوط شد. حلال مورد استفاده اتانول 75% انتخاب شد. فرآیند استخراج به مدت 3 ساعت در حمام آب گرم ارتعاشی (WNB-14 Memmert) در دمای 45 درجه سانتی‌گراد انجام و سپس با استفاده از فیلتر خلاء عصاره حاصل صاف شد. عصاره رقیق به دست آمده برای تغلیظ به یک تبخیر کننده گردان تحت خلأ (*Rotary evaporator DTT*) فرستاده شد تا حلال (الکل) آن جدا گردد و تا انجام آزمایشات بعدی در یخچال نگهداری شد. عصاره گیاه مورد نظر در این آزمون در غلظت‌های 0/5، 0/75، 1 و 2 درصد مورد استفاده قرار گرفت (11).

جدول 1. لیست مواد و دستگاه های مورد استفاده در تحقیق

نام ماده	شرکت سازنده	کشور
ارلن مایر 300-250سانتی متر مکعبی	حیان شیمی	ایران
بورت100 سانتی متر مکعبی	حیان شیمی	ایران
استوانه 50 سانتی متر مکعبی	حیان شیمی	ایران
بالن مخصوص کلدال (برای هضم ماده غذایی)	حیان شیمی	ایران
ترازوی دیجیتال	Sartorius	آلمان
هموژنیزاتور (همگن کننده)	APV 2000	دانمارک
pH متر Mettler Toledo	MA235	سوئیس
خرد کن	مدل SUNNY 310	آلمان
همزن دور متغییر	IKA Labor Technik RW16 basic	آمریکا
انکوباتور	Funke GERBER	آلمان
دستگاه تقطیر کلدال	PecoFood kjeldahl digestion unit	دانمارک
آون خشک	103-1050	آلمان
بلندر کلاسیک	PBI International	ایتالیا
ویسکومتر بروکفیلد	LV-DVII	آمریکا

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 15:38 +0330 on Saturday February 3rd 2018

تعیین ترکیبات عصاره موسیر: برای تعیین ترکیبات در آنالیز شیمیایی اسانس موسیر به کار رفته در این تحقیق از کروماتوگرافی گاز-مایع متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MAS Trace Germany) استفاده شد. روش انجام کروماتوگرافی بدین صورت بود که ابتدا 15 قطره در یک لوله آزمایش دربدار ریخته شد. سپس 7 سانتی‌متر مکعب n-هگزان با درجه کروماتوگرافی گازی و 2 سانتی‌متر مکعب پتاس متانولی 2 مولار با درجه کروماتوگرافی گازی به آن اضافه گردید. این مخلوط به مدت چند ثانیه به شدت تکان داده شد. سپس به مدت 15 تا 30 دقیقه در دمای 5±55 درجه سانتی‌گراد در داخل بن‌ماری قرار گرفت. بعد از این مدت، 3 سانتی‌متر مکعب از فاز رویی برداشته و از روی صافی حاوی سولفات سدیم خشک عبور داده شد. از نمونه صاف شده به مقدار 4 میکرولیتر به دستگاه تزریق گردید. عصاره پس از تزریق، توسط فاز متحرک وارد ستون شده و سپس در اثر حرارت، بین گاز و فاز ثابت پخش شد. بعد از پخش شدن ممکن است حل یا جذب گردد. با توجه به قطبی بودن ستون مورد استفاده هرچه ماده مورد نظر قطبی‌تر باشد، نمونه دیرتر خارج می‌شود. با در نظر گرفتن زمان لازم برای خارج کردن جسم از ستون و حجم گاز مورد نیاز برای خارج کردن جسم از ستون، نمونه‌ها به وسیله دتکتور ارزیابی و مشخص گردید (2).

تعیین MIC (Minimimum inhibitory Concenration) و MBC (Minimum Bactericidal Concenration) بر اساس وزن عصاره: به منظور تعیین دقیق MIC و MBC به وسیله‌ی ترازوی حساس، مقادیر وزنی معادل با MIC و MBC به روش سریال رقتی، از پودر عصاره‌ها توزین و در یک میلی‌لیتر از محیط مولر-هیلتون براث حل شد. تعداد 5×10^5 باکتری به هر لوله اضافه شد و پس از انکوباسیون 24 ساعته در 37 درجه سانتی‌گراد مقادیرMIC و MBC بر حسب میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره‌ها برای هر سویه تعیین گردید.

تعیین قطرهای عدم رشد MBC: برای ارزیابی فعالیت ضد میکروبی موسیر از تست دیگری به نام *Well diffusion Agar* استفاده شد. ابتدا محیط کشت *میکروکوکوس لوتئوس* تهیه کرده و سپس با یک لوله استیل تو خالی به قطرخارجی 7 میلی‌متر و قطر داخلی 5 میلی‌متر در ظروف پتری 4 چاهک ایجاد نمودیم. از هر غلظت محلول استاندارد عصاره موسیر نسبت‌های 0/5، 0/75، 1 و 2 درصد در 3 چاهک به میزان 100 میکرولیتر ریخته و در چاهک چهارم فقط محلول رقیق‌کننده اضافه می‌کنیم، سپس پلیت‌ها را به مدت 24 ساعت در یخچال (دمای 4-3 درجه سانتی‌گراد) نگهداری می‌کنیم و پس از این زمان در دمای 30 درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت انکوبه و سپس قطر هاله عدم رشد را، با کولیس دیجیتال اندازه‌گیری کردیم.

ارزیابی جمعیت میکروبی و مدت زمان ماندگاری: برای اندازه‌گیری میزان جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس*، مقدار معینی از نمونه‌ها را رقیق کرده و در پلیت سترون نمودیم. محیط کشت *رابیت‌پلاسمافیبرینوژن آگار* به پلیت اضافه شده و در دمای 37 درجه سانتی‌گراد به مدت زمان 18 ساعت گرمخانه‌گذاری شد. با در نظر گرفتن رقت‌ها و حجم‌های مورد استفاده، از شمارش کلنی مشخص موجود درپلیت‌ها، تعداد *استافیلوکوکوس اورئوس* در هر میلی‌لیتر یا هرگرم محاسبه شد. برای ارزیابی جمعیت کلستریدیوم بوتولینوم 10-5 گرم از هر نمونه با یک حجم معادل بافر فسفات ژلاتین (6/2- 6 =pH) و به مدت 10 دقیقه تکان داده شد. برای هر نمونه، دولوله‌ی آزمایش حاوی 5 میلی‌لیتر از محیط کشت برداشته شده و 5-3 گرم از نمونه هموژن به محیط کشت اضافه شد و در حمام آب 60 درجه سانتی‌گراد به مدت 10 دقیقه اضافه شد تا اسپورهای *کلستریدیوم بوتولینوم* فعال شود. سپس نمونه‌ها به طور بی‌هوازی در 30 درجه سانتی‌گراد به مدت 7 روز انکوبه شد. برای ادامه انکوباسیون محیط کشت غنی‌سازی شده درg 10000 و چهار درجه سانتی‌گراد به مدت 20 دقیقه سانتریفوژ شد. نمونه‌ها سپس به صورت پورپلیت کشت داده شده و پس از 48 ساعت انکوباسیون در 37 درجه سانتی‌گراد شمارش کلنی انجام شد (12).

ارزیابی pH: مطابق با استاندارد ملی 2452، pH نمونه‌ها با استفاده ازpH متر Mettler Toledo مدل MA235 ساخت کشور سوئیس در روزهای صفرم، هفتم، چهاردهم و بیست و یکم در سه تکرار اندازه‌گیری و بررسی شد (13). شکل 3 روند تغییرات pH نمونه‌ها را در طی روزهای صفر، هفتم، چهاردهم و بیست و یکم نگهداری نشان می‌دهد.

ارزیابی رنگ: ویژگی‌های رنگی نمونه‌های کشک شامل روشنی (L*)، زردی (b*)، قرمزی (a*) توسط دستگاه هانترلب (مدل دیتا کالر،آمریکا) تعیین و ابعاد با استفاده از کولیس اندازه گیری شد.

ارزیابی خواص حسی: ارزیابی توسط هفت داور تعلیم دیده موسسه تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی کرج انجام شد. با استفاده از روش هدونیک (5 نقطه‌ای)، نمونه‌های کشک تهیه شده از لحاظ بافت، طعم، بو، رنگ، پذیرش کلی مورد ارزیابی قرار گرفت (کمترین امتیاز=1، بیش‌ترین امتیاز=5). تمام

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 15:38 +0330 on Saturday February 3rd 2018

نمونه‌های کشک کدگذاری شدند و به صورت کاملاً تصادفی توسط ارزیاب‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند.

• یافته‌ها

بررسی ترکیبات عصاره موسیر: ترکیبات موجود در عصاره موسیر در جدول 2 آمده است. ترکیبات موجود با استفاده از روش کروماتوگرافی اندازه‌گیری شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود بیشترین میزان ترکیبات مربوط به 9-*اکتادکانوئیک اسید* است.

بررسی MIC و MBC براساس وزن عصاره: بررسی نتایج نشان داد اختلاف معنی‌داری میان نمونه‌های با غلظت‌های 0/5، 0/75، 1و 2 درصد در میزان حداقل کشندگی و مهارکنندگی وجود دارد.

بررسی قطرهای عدم رشد MBC: در جدول 4 قطر هاله عدم رشد را در تیمارهای با نسبت‌های وزنی مختلف نشان می‌دهد. نتایج بیانگر آن است که نمونه‌ها با افزایش درصد غلظت وزنی، قطر هاله عدم رشد افزایش نشان می‌دهد. نتایج حاصل از MBC و MIC که در جدول 3 آمده، نیز روندی مشابه نتایج قطر هاله عدم رشد را نشان داده است.

جدول 2. آنالیز ترکیبات عصاره‌ی موسیر با استفاده از کروماتوگرافی GC/MS

نام ترکیبات	زمان توقف (دقیقه)	درصد
گلایسین	4/33	1/69
هپتانوئیک اسید	10/47	1/18
تری دکانال	52/63	1/23
هگزودکانوئیک اسید	65/78	18/69
هگزادکانوئیک اسید، اتیل استر	66/64	1/66
9- اکتادکانوئیک اسید	73/75	33/17
اتیل لینولئات	74/03	1/43
اتیل اولئات	74/32	3/69
4 –s – 4 هیدرو	80/16	1/12
پایپریدینو -5-4 – هیدروکسی فنوکسی	80/46	9/18
هگزادکانوئیک اسید – Z - هیدروکسی	66/64	1/66
اولئیک اسید – 3 – هیدروکسی پروپیل	94/68	6/07
2و2 بیس تری دوتریومتیل	94/97	4/45
استیگماسترول 22و 23 دی هیدرو	101/30	10/99

جدول 3. بررسی حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی برای MIC و MBC برای استافیلوکوکوس اورئوس و کلستریدیوم بوتولینوم

نوع آزمون	استافیلوکوکوس اورئوس	کلستریدیوم بوتولینوم
حداقل غلظت مهارکنندگی MIC	4 میلی لیتر	6 میلی لیتر
حداقل غلظت کشندگی MBC	7 میلی لیتر	9 میلی لیتر

جدول 4. بررسی قطرهاله عدم رشد در غلظت‌های وزنی مختلف در حضور کلستریدیوم بوتولینوم و استافیلوکوکوس اورئوس

غلظت عصاره موسیر برحسب گرم	0/5	0/75	1	2
قطر هاله عدم رشد کلستریدیوم بوتولینوم	10 میلی متر	15میلی متر	19 میلی متر	30 میلی متر
قطرهاله عدم رشد استافیلوکوکوس اورئوس	12 میلی متر	17میلی متر	21 میلی متر	33 میلی متر

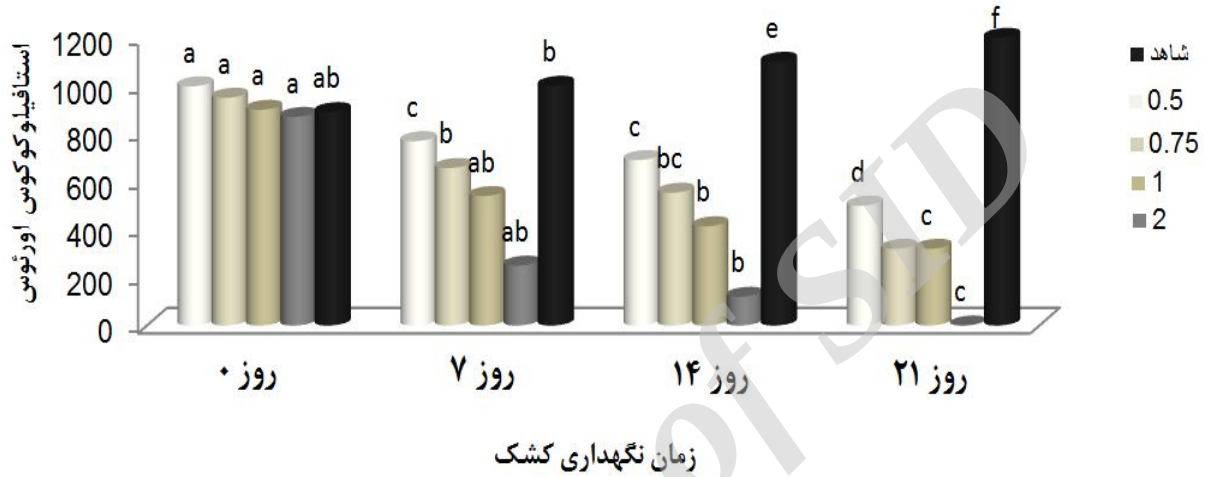
Archive of SID

www.SID.ir

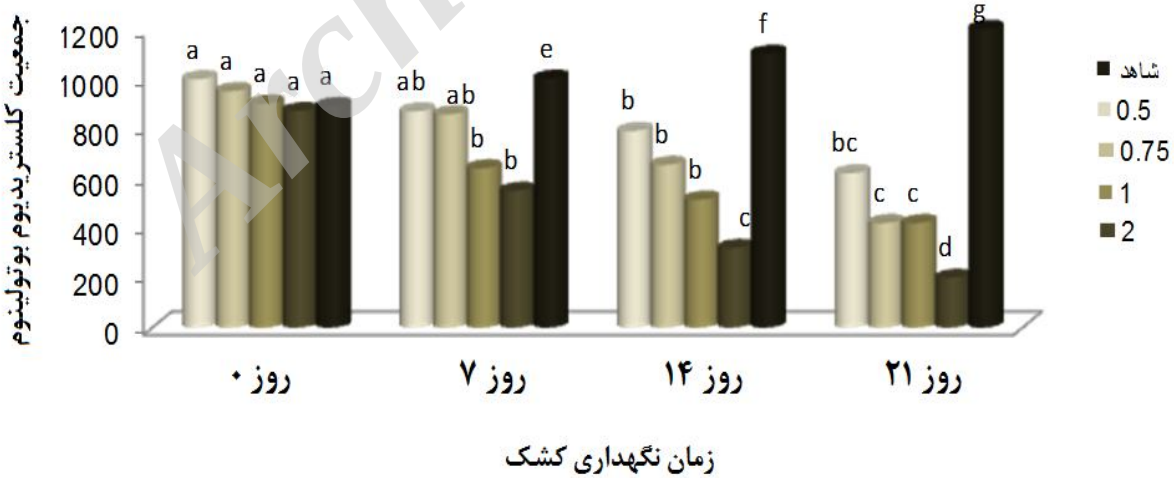
Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 15:38 +0330 on Saturday February 3rd 2018

بررسی جمعیت میکروبی و مدت زمان مانـدگاری: نتـایج نشان می‌دهد که جمعیت استافیلوکوکوس اورئوس نسـبت بـه کلستریدیوم بوتولینوم در طـی روزهـای مختلـف نگهـداری بـا میزان کاهش بیشتری مواجـه اسـت ($P<0/05$). همچنـین بـا افزایش میزان غلظت عصـاره موسـیر میـزان کـاهش جمعیـت استافیلوکوکوس اورئوس نیـز بـا کـاهش بیشـتری از جمعیـت کلسـتریدیوم بوتولینـوم مواجـه اسـت. در روز بیسـت و یکـم نگهداری در نمونه موسیر با غلظت 2 درصد، جمعیت میکروبی اسـتافیلوکوکوس بـه صـفر رسـید، در حـالی کـه در نمونـه کلستریدیم بوتولینوم همچنان جمعیت میکروبی وجود دارد.

بررسی pH: بررسی‌ها نشان داد که با افـزایش میـزان غلظـت عصاره، میزان pH نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری بـا یکـدیگر و بـا نمونه کنترل در سطح احتمال ($P<0/05$) نشان می‌دهند.



شکل 1. میزان جمعیت استافیلوکوکوس اورئوس در نمونه‌های با غلظت‌های 0/5، 0/75، 1 و 2 کشک در طی روزهای صفرم، هفتم، چهاردهم و بیست و یکم نگهداری

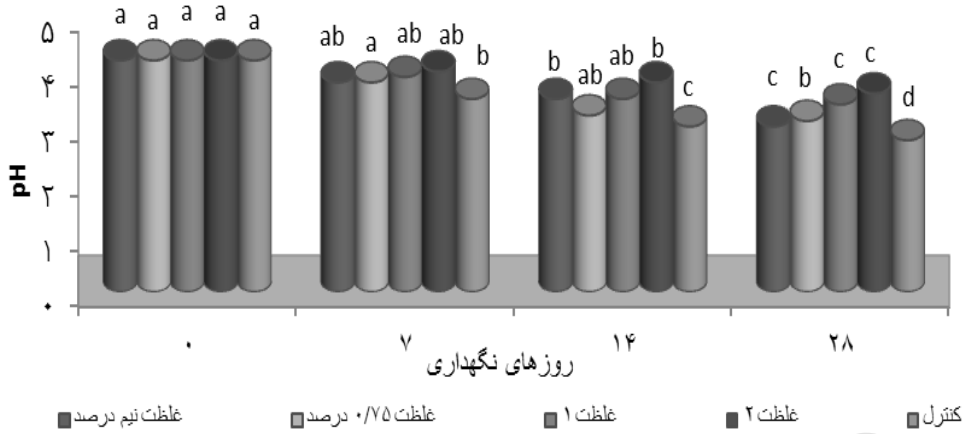


شکل 2. میزان جمعیت کلستریدیوم بوتولینوم در نمونه‌های با غلظت‌های 0/5%، 0/75%، 1و 2 % کشک در طی روزهای صفر، هفتم، چهاردهم و بیست و یکم نگهداری

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 15:38 +0330 on Saturday February 3rd 2018



شکل 3. روند تغییرات pH نمونه‌ها در طی روزهای صفر، هفتم، چهاردهم و بیست و یکم نگهداری

بررسی رنگ: بررسی نتایج نشان می‌دهد که با افزایش مدت زمان نگهداری شاخص a* به مرور افزایش پیدا کرد که بیان‌گر میزان افزایش زردی نمونه‌ها می‌باشد. اختلاف معنی‌داری در هریک از روزهای نگهداری در نمونه شاهد مشاهده می‌شود (P<0/05). در نمونه‌های با غلظت‌های مختلف موسیر 0/5، 0/75، 1و 2 نیز اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های a* و L* در روز اول مشاهده نشد. اما بین روز اول و بیست و یکم اختلاف معنی‌داری داشت. این در حالی است که، در روزهای صفر و هفتم و چهاردهم و بیست و یکم اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. شاخص رنگ سنجی روشنی با افزایش a* در نمونه کنترل اختلاف معنی‌داری نشان داد (P<0/05).

بررسی خواص حسی: بررسی‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌ها در غلظت‌های مختلف با نمونه شاهد وجود دارد. نتایج نشان داد که نمونه کشک با 2 درصد وزنی عصاره موسیر در روز بیست و یکم نگهداری از نظر ظاهری بالاترین امتیاز ارزیاب‌ها را به خود اختصاص داده است. روند تغییرات رنگ نمونه‌ها نیز مشابه روند تغییرات ظاهری نمونه‌ها بوده و تغییرات رنگ در نمونه شاهد با گذشت زمان مشهودتر شده و در روز بیست و یکم بیشترین اختلاف معنی‌دار را با نمونه حاوی عصاره موسیر 2 درصد نشان داده است. پایداری نمونه‌ها نیز در روزهای صفر و هفتم معنی‌دار نبوده اما از روز چهاردهم اختلافات معنی‌داری در مورد خواص پایداری نمونه‌ها با یکدیگر و با نمونه شاهد وجود دارد. نمونه شاهد از لحاظ بو نیز پایین‌ترین امتیاز را از داوران کسب نمود. این اختلافات با افزایش مدت زمان نگهداری بارزتر بوده به طوری که در روز بیست و یکم نگهداری در حداکثر میزان معنی‌داری خود قرار داشت.

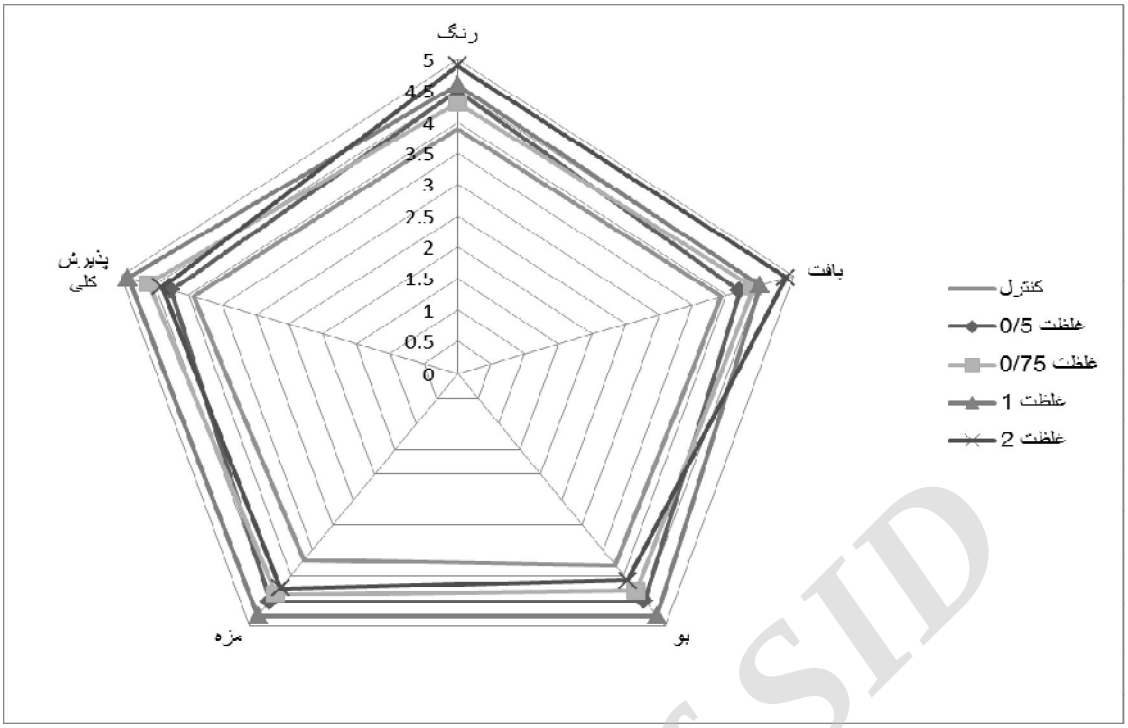
جدول 5. بررسی نتایج شاخص‌های رنگ سنجی نمونه‌های کشک حاوی مقادیر 0/5، 0/75، 1 و 2 درصد عصاره موسیر در طی روزهای صفرم، هفتم، چهاردهم و بیست و یکم نگهداری

روزها و صفات	غلظت	غلظت 0/5	غلظت 0/75	غلظت 1	غلظت 2	نمونه کنترل (بدون عصاره)
روز صفرم	a*	3/54 a	3/55 a	3/49 a	3/54 a	3/52a
	b*	17/05 a	17/15 a	17/09 a	17/11 a	17/03 a
	L*	3/53 a	3/50 a	3/50 a	3/51 a	3/52 a
روز هفتم	a*	3/54 a	3/54 a	3/54 a	3/55 a	3/52 a
	b*	17/05 a	17/05 a	19/06 b	21/02 b	25/12 c
	L*	3/54 a	3/34 ab	3/24 ab	3/22 ab	3/17 ab
روز چهاردهم	a*	3/54 a	3/57 a	3/56 a	3/43 a	3/47 a
	b*	17/05 a	29 /09 b	35/32 c	39/34 d	44/56 e
	L*	3/54 a	3/05 b	3/56 b	3/67 bc	2/79 c
روز بیست و یکم	a*	3/54 a	3/55 a	3/56 a	3/43 a	3/47 a
	b*	17/05 a	32/09 c	35/32 c	49/34 e	49/56 f
	L*	3/04 a	3/06 bc	3/06 b	3/07 bc	2/70 c

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 15:38 +0330 on Saturday February 3rd 2018



شکل 4. میزان محبوبیت خواص حسی در نمونه های کشک با غلظت های 0/5%، 0/75%، 1%، 2% عصاره موسیر از نظر داوران

• بحث

ترکیبات عصاره موسیر: ترکیبات موجود در عصاره موسیر در جدول 2 آمده است. همان طور که ملاحظه می‌شود بیشترین میزان ترکیبات مربوط به 9-*اکتادکانوئیک اسید* است. پس از آن هگزادکانوئیک اسید و سپس استیگما استرول دی هیدرو می‌باشد که اکتادکانوئیک اسید میزان کلسترول مضر LDL و تری گلیسرید و نمک‌های آلی حاصل از ترکیب گلیسرین و اسیدهای چرب را کاهش می‌دهد. هگزودکانوییک اسید یک اسید چرب می‌باشد که خاصیت ضد میکروبی دارد و در عصاره و اسانس و دانه های گیاهان دارویی یافت می‌شود (14).

مقادیر قطر هاله عدم رشد و MIC و MBC: بررسی نشان داد که در مقایسه با *استافیلوکوکوس اورئوس*، *کلستریدیم بوتولینوم* مقاومت بیشتری نسبت به عصاره موسیر نشان می‌دهد. اسپورهای *کلستریدیوم بوتولینوم* نسبت به عوامل فیزیکی و شیمیایی نیز مقاومت زیادی دارند (15).

در یکی از پژوهش های انجام شده، قطر هاله عدم رشد اسانس سه گونه مریم‌گلی بر روی باکتری *کلستریدیوم پرفرینجنس* Kukens-Turkey را به ترتیب 9، 11و 13 میلی-لیتر گزارش شد (16). در غلظت‌های بالای عصاره موسیر قطر هاله عدم رشد افزایش پیدا می کند. در تحقیق Chen و همکاران (1985) نیز فعالیت ضدباکتریایی موسیر بر اثر حرارت دیدن کاهش یافته است. قطر هاله عدم رشد با 100 میکرولیتر از غلظت 50 میلی‌گرم / میلی‌لیتر عصاره موسیر با قطر هاله عدم رشد دیسک 10 میکروگرمی از جنتامایسین و نوبرامایسین مطابقت دارد و در واقع قدرت عصاره موسیر با غلظت 50 میلی-گرم بر میلی‌لیتر معادل با قدرت دو آنتی بیوتیک فوق الذکر می‌باشد (17).

pH: در نمونه با غلظت 2 درصد، حداقل میزان تغییرات مشاهده گردید. بیشترین افت pH در نمونه کنترل مشاهده شد و سایر نسبت‌ها نیز در حد بینابینی قرار داشتند. (حروف معنی داری بر حسب زمان نگهداری تعیین شده اند.)

نتایج نشان داد که با افزایش مدت زمان نگهداری کشک، میزان pH کاهش قابل توجهی نشان داد. نمونه‌های تیمارها در روزهای مختلف اختلاف معنی‌داری با یکدیگر و با نمونه شاهد داشتند. در نمونه‌های با غلظت پایین اختلافات کمتر از نمونه‌های موسیر با غلظت بالاتر بود ($p<0/05$). ویژگی کشک این است که به نسبت شیر و پنیر میزان پروتئین بالاتری دارد. از نظر سایر مواد مغذی نظیر کلسیم، ویتامین‌های گروه B، آهن و روی نیز کشک غنی است. هر ماده غذایی که از نظر مواد مغذی غنی باشد به شدت در معرض خطر آلودگی قرار می‌گیرد.

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 15:38 +0330 on Saturday February 3rd 2018

جمعیت میکروبی و مدت زمان ماندگاری: بررسی نتایج نشان می‌دهد که جمعیت استافیلوکوکوس اورئوس در مقایسه با کلستریدیوم بوتولینوم با سرعت بیشتری از بین می‌رود. در پایان روز بیست و یکم نگهداری، جمعیت استافیلوکوکوس اورئوس به صفر رسیده ولی جمعیت کلستریدیوم بوتولینوم به صفر نمی‌رسد. در روزهای صفر، هفتم، چهاردهم و بیست و یکم نگهداری نیز اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌های کشک وجود داشت ($P<0/05$). در بررسی که توسط حسامی و همکاران در سال 1999 بر روی عصاره کلروفرمی موسیر انجام دادند، مشخص شد که غلظت‌های کمتر از بازدارنده رشد موجب تغییرات مورفولوژیکی، افزایش قدرت هیدرولیز سویه، کاهش تولید رنگ دانه پیوسیانین در مقایسه با شاهد و عدم تغییر در توانایی هیدرولیز ژلاتین در زمان‌های 12، 18و 24 ساعت در مقایسه با شاهد شده است که با نتایج بررسی این مطالعه بر روی رشد جمعیت میکروبی مطابقت دارد (14).

رنگ: رنگ محصول تحت شرایط مختلفی مانند اکسیژن، اتواکسیداسیون لیپیدها و همچنین مدت زمان ماندگاری تغییر می‌کند. حداکثر میزان تغییرات رنگ مربوط به نمونه شاهد گزارش گردید که اختلاف معنی‌داری با تمامی نمونه ها داشت ($P<0/05$).

ارزیابی حسی: به نظر می‌رسد نمونه با غلظت 1 درصد موسیر در مقایسه با سایر غلظت‌ها و نمونه شاهد از وضعیت بهتری برخوردار بود و در روزهای مختلف نگهداری دارای بالاترین امتیاز از داوران بود.

نظر به اهمیت تغذیه‌ای و اثرات سلامتی بخش، آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی عصاره موسیر و همچنین تمایل مصرف‌کنندگان امروزی به فرآورده‌های طبیعی و اجتناب از نگهدارنده‌های مصنوعی ضرورت مطالعه و گسترش در این حوزه امری بدیهی می‌نماید. تحقیق حاضر نشان داد که با استفاده از غلظت مناسب و صحیح عصاره‌ی موسیر هم می‌توان خواص حسی کشک را در طی نگهداری حفظ و هم می‌توان زمان ماندگاری آن را بهبود بخشید. در این تحقیق عصاره یک درصد موسیر از لحاظ خصوصیات حسی و رنگ به عنوان مناسب‌ترین نمونه انتخاب شد. استفاده از درصدهای بالاتر عصاره موسیر اثرات بهتری بر روی نگهداری دارد، ولی خصوصیات حسی محصول را تحت تأثیر قرار می‌دهد. همچنین خواص ظاهری و ویسکوزیته محصول نیز از عوامل مهم در جایگزینی استفاده از نگهدارنده طبیعی در فرمولاسیون‌های مواد غذایی می‌باشد.

References

1. Rahbar M, Taghavi A. The antibacterial effect of extracts of shallot. Journal of Medicinal Plants. 2003; 13: 26-29 [In Persian].
2. Faid M, Bakhy K, Anchad M, TANTAOUI-ELARAKI A. Almond paste: physicochemical and microbiological characterization and preservation with sorbic acid and cinnamon. Journal of Food Protection. 1995;58(5):547-50.
3. Majhenič L, Škerget M, Knez Ž. Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. Food chemistry. 2007;104(3):1258-68.
4. Karim G.A. Text book of Milk and Dairy Products, Tehran University Press;. 1992:179-81 [In Persian].
5. Ruhnavaz Sh, Jafarian P. Antioxidant effects of methanol extract of garlic on chemical characteristics of soybean oil. Quchan National Conference on Food Industry. 2011;3(1):1-10 [in Persian].
6. Tabatabayi F, Mortazavi A. Evaluate and compare the effects of natural inhibitor compounds to inhibit the growth of Staphylococcus aureus in industrial dough samples using the Response Surface Methodology. Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology. 2010;3(1):175-86 [In Persian].
7. Pezeshk SA, Rezaei M. Antibacterial and Antioxidant shallot extract on the shelf life of rainbow trout in cold storage conditions. International Journal of Food Industry. 2013; 2:11-9 [In Persian].
8. Avato P, Tursi F, Vitali C, Miccolis V, Candido V. Allylsulfide constituents of garlic volatile oil as antimicrobial agents. Phytomedicine. 2000;7(3):239-43.
9. Leelarungrayub N, Rattanapanone V, Chanarat N, Gebicki JM. Quantitative evaluation of the antioxidant properties of garlic and shallot preparations. Nutrition. 2006;22(3):266-274.
10. Rattanachaikunsopon P, Phumkhachorn P. Diallyl sulfide content and antimicrobial activity against food-borne pathogenic bacteria of chives (Allium schoenoprasum). Bioscience, biotechnology, and biochemistry. 2008;72(11):2987-91.
11. Karim G.A. Text book of Milk Quality. 1977:185-189 [In Persian].
12. Tavakoli H, Meshgi MA, Jafari NJ, Izadi M, Ranjbar R, Fooladi AI. A survey of traditional Iranian food products for contamination with toxigenic Clostridium botulinum. Journal of infection and public health. 2009;2(2):91-95 [In Persian].
13. Institute of Standard and Industrial Research of Iran, properties of liquid whey. ISIRI no. 2452, 3rd revision, Tehran: ISIRI; 1983 [In Persian].

Archive of SID

www.SID.ir

14. Hesami Sh. Effect of garlic extract (Allicin) on morphological and biochemical properties, Pseudomonas Aeruginosa, Tehran: Tarbiat Modarres University, M. Sc, Bacteriology Thesis; 1999 [In Persian].

15. Akhavan Sepahi A, Khanafari A. The effect of shallot and push on physiology and morphology properties of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) and Pseudomonas. Journal of Medicinal Plants. 2003:1-8 [In Persian].

16. Malekzadeh F. Text book of Microbiology.Tehran: Tehran University Press: 2002. P. 51-70 [In Persian].

17. Chen H, Chang M, Chang T. Antibacterial properties of some spice plants before and after heat treatment. Zhonghua Minguo wei sheng wu ji mian yi xue za zhi= Chinese journal of microbiology and immunology. 1985;18(3):190-195.

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 15:38 +0330 on Saturday February 3rd 2018

Archive of SID

www.SID.ir

Antibacterial Effect of Ethanolic Extract Shallot (Allium Hirtifolium) on the *Clostridium botulinum* & *Staphylococcus aureus* and Orgoanoleptic Propertise of Liquid Curd

Farajii M[1], Roozbeh Nasiraie L[2], Farhoodi M[3]*

1- M.Sc. in Food Science and Technology, Dept. of Food Science & Technology, Azad University of Nour, Nour, Iran

2- Assistant Professor, Dept. of Food Science & Technology, Faculty of Agriculture, Azad University of Nour, Nour, Iran

*3-*Corresponding Author: Assistant Professor, Dept. of Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran, Email: farhoodi@sbmu.ac.ir*

Received 31 Jul, 2016 **Accepted 1 Dec, 2016**

Background and Objectives: Liquid curd is one of the milk byproducts and a rich source of protein among the food products. So it is a suitable environment for the growth and reproduction of different microorganisms. According to the harmful effects of chemical preservatives, the need for studies on antimicrobial effects of natural preservatives on the growth of microorganisms in food and laboratory models are growing.

Materials & Methods: This study includes extraction and determination of chemical composition of shallot (Allium Hirtifolium) and evaluation of their antibacterial effects against Staphylococcus aureus and Clostridium botulinum. First liquid curds containing 0.5%, 0.75%, 1% and 2% shallots extract were prepared. Then each sample was contaminated individually with Staphylococcus aureus (10^7 cfu/ml) and Clostridium botulinum (10^7 cfu/ml) and stored at 4ºC refrigerator for 21 days. Sampling of curd took place on day zero, seven, fourteen and twenty-one.

Results: The results of this study showed that the pH of liquid curd was considerably reduced during the storage time. Also the population of Staphylococcus aureus decreased more quickly than Clostridium botulinum. After 21 days of storage, there was no sign of survival of Staphylococcus aureus.

Conclusion: The sample containing 1% shallot (Allium Hirtifolium) extract was preferred in both terms of reducing microbial growth and suitable sensory properties.

Keywords: Liquid curd, Shallot (Allium Hirtifolium), Antimicrobial effect, Clostridium botulinum, Staphylococcus aureus

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 15:38 +0330 on Saturday February 3rd 2018

Archive of SID

www.SID.ir