Archive of SID

سومین همایش ملی مباحث نوین در کشاورزی
3rd National Conference on New Concepts in Agriculture
دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه
دانشکده کشاورزی
پنج شنبه ۲۶ آذرماه ۱۳۹۴

مطالعه اثرات ضد کپکی اسانس مریم گلی و عصاره الکلی زردچوبه در شرایط محیط کشت و ماده غذایی رب گوجه فرنگی

مونا شفیعی صفا*[۱]،لیلا حکیمی[۱]، نوشین نوشیروانی[۲]،هادی فصیحی[۲]
۱-گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، ساوه، ایران
۲- مرکز آموزش جهاد کشاورزی واحد همدان،همدان،ایران
Email:m.shafiei200@gmail.com

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثرات ضد کپکی غلظتهای مختلف(۵۰۰، ۱۰۰۰ و۱۵۰۰) ppmاسا نس مریم گلی و عصاره زردچوبه بر روی میکروارگانیسم های طبیعی موجود در رب گوجه فرنگی در شرایط In vivo و In vitro به عنوان یک نگهدارنده طبیعی می باشد. برای بررسی اثرات ضد کپکی اسانس مریم گلی و عصاره الکلی زردچوبه، غلظت های مختلف اسانس و عصاره مورد بررسی قرار گرفت. روش رقیق سازی آگار برای تعیین حداقل غلظت مهار کننده رشد (MIC) و روش دیسک انتشاری برای بررسی اثرات ضد کپکی در محیط کشت مورد استفاده قرار گرفت.یافته ها نشان داد اسانس مریم گلی MIC کمتری نسبت به عصاره زردچوبه داشته. نتایج آزمون انتشار نشان داد که اسانس مریم گلی به ویژه در غلظت های بالاتر ویژگی های ضد کپکی بالاتری نسبت به عصاره زردچوبه نشان می دهد. نتایج کشت میکروبی و آزمون انقضا نیز نشان داد، عصاره زردچوبه اثرات ضد کپکی بسیار کمتری نسبت به اسانس مریم گلی دارد.

واژه های کلیدی: رب گوجه فرنگی،عصاره زردچوبه،اسانس مریم گلی،فعالیت ضدکپکی

مقدمه

درسالهای اخیر، موارد زیادی از فساد مواد غذایی و بیماریهای با منشا غذایی ناشی از رشدریزسازوارهها ،میکروارگانیسم ها درسراسر جهان گزارش شده است . تلاش های زیادی مانند استفاده از مواد شیمیایی سنتزی جهت کنترل رشد میکروبی و کاهش شیوع مسمومیت های غذایی و فساد صورت پذیرفته است. درهرحال، به دلیل اثرات سوء این ترکیبات مصرف کنندگان نگران بوده و لذا نیاز به مواد ایمن تر برای جلوگیری وکنترل ریزسازواره های بیماری زای مواد غذایی وجود دارد.[۱] افزایش مقاومت برخی میکروب های بیماری زای مواد غذایی در برابر آنتی بیوتیکها از دیگر دغدغه ها می باشد. لذا گرایش زیادی جهت استفاده از انواع جدید ترکیبات ضد میکروبی طبیعی مانند عصاره ی ادویه ها وگیاهان برای نگهداری مواد غذایی وجود دارد. تعدادی ازادویه ها و ترکیبات گیاهی که امروزه استفاده می شوند به دلیل فعالیت ضد میکروبی و اثرات دارویی و نیز کیفیت عطر و طعم ارزشمند هستند. ترکیب عصاره های بیشترگونه های گیاهی در سال های اخیر شناسایی شده و تلاش برای شناسایی اجزای زیست فعال آن ها برای مقاصد دارویی مختلف و عمل آوری مواد غذایی شتاب گرفته است. فعالیت های ضدمیکروبی عصاره های گیاهی، اساس کاربردهای مختلفی مانند نگهداری مواد غذایی خام و فرآوری شده، کاربردهای داروسازی، طب سنتی و درمان طبیعی را تشکیل می دهند ، اما مقایسه نتایج گزارش شده در این مطالعات معمولاً به دلیل تعداد کم نمونه های آزمایش شده، روش های متفاوت آزمایش و نژاد باکتریایی متنوع و منابع نمونه های ضد میکروبی مشکل است[۱] . در سالهای اخیر علاقه فزاینده ای جهت بکارگیری از عصاره های گیاهی برای بهبود

www.SID.ir

Archive of SID

ماندگاری مواد غذایی تاخیر رشد قارچ و جلوگیری از تولید سموم قارچی به وجود آمده است. مطالعات متعددی بر روی کارایی ضد قارچی عصاره های گیاهی صورت گرفته [۲] .جستجو برای یافتن نگهدارنده های گیاهی وجایگزینی آنها به جای نگهدارنده های پر خطر شیمیایی در صنایع غذایی منجر به بررسی گیاهان مختلفی در این زمینه شده است و بسیاری از بررسی ها نشان داده که گیاهان فعالیت آنتی باکتریال و آنتی قارچی مناسبی را از خود نشان می دهند و توانایی این جایگزینی را در صنایع غذایی دارا می باشند[۳].

مواد و روش ها

در ابتدای اجرایی نمودن طرح اقدام به تهیه ی عصاره ی الکلی گیاه زردچوبه شد، همچنین گیاه مریم گلی را اسانس گیری نموده،مناسب ترین محیط کشت در این آزمایش محیط کشتSabouraud Dextrose Agar بوده و مورد استفاده قرار گرفته.

ایزولاسیون کپک: ۲۱,۸ گرم ازنمونه رب گوجه فرنگی کپک زده را وزن کرده سپس در۹۰سی سی محلول رینگر حل کرده ، بعدازآماده کردن محلول بالا ۵ سی سی از مایع بالاباستفاده ازپی پت برداشته ،درپلیت ریخته و سپس داخل دستگاه انکوباتوردردمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرارداده ،که بعداز ۱۵ روز نمونه کپک مشاهده گردید.

طریقه ساخت سوسپانسیون میکروبی: ۲۰ میلی لیترینگرراداخل کپک آسپرژیلوس ریخته سپس به وسیله اسپاچول به آرامی سطح آن راخراش داده، آن را برروی هیترمگنت قرارداده تاکاملا مخلوط شود.

آزمایشMIC : ٦ سطح باغلظت های ppm۳۰۰۰،۲٤۰۰،۱۲۰۰،۸۰۰،٤۰۰،۲۰۰ برای۲ گیاه در نظر گرفته شد. بااستفاده ازسمپلراسانس گیاه مریم گلی وعصاره الکلی زردچوبه را با مقادیرمشخص به صورت مجزا درون محیط کشت ریخته شد ، بعد از این مرحله ۱۸پلیت را چیده ،با استفاده ازسمپلر, ۳۰میکرون از محلول سوسپانسیون میکروبی رادر۳نقطه ازسطح پلیت تلقیح نموده، سپس از محیط کشتی که در٦غلظت تهیه کردیم ،استفاده نموده وهرکدام ازغلظت های بالا رادر۳تکراربرای هردوگیاه مریم گلی و زردچوبه انجام داده . برای ٦ پلیت دیگر ۳ پلیت آن را به عنوان نمونه کنترل انتخاب کرده و بعد از تلقیح سوسپانسیون میکروبی تنها محیط کشت را به آن افزوده و در ۳ پلیت آخر با غلظت ۱۰۰ ppm از سوربات پتاسیم استفاده نموده .

آزمایش انقضا: در۲٤عددقوطی در ۳ غلظت ppm۱۵۰۰،۱۰۰۰،۵۰۰ در۳ تکراربرای هردوگیاه مریم گلی و زردچوبه درنظرگرفته شد . ۳ قوطی را به عنوان نمونه کنترل تنها رب گوجه ریخته و کنا ر گذاشته ودر ۳ قوطی آخر ۱۰۰ ppm از سوربات پتاسیم را در هر قوطی تلقیح میکنیم ،وسپس تمام ۲٤ نمونه را داخل دمای ۲۵ درجه سانتی گراد انکوباتور قرار داده.

آزمایش کشت انتشار(Disc diffuison test): ۱ عدد دیسک بلانک در وسط محیط کشت هر پلیت قرار داده ازسوربات واسانس مریم گلی در ۳سطح ۵۰۰ ،۱۰۰۰، ppm۱۵۰۰ بر روی دیسک بلانک مورد نظر ریخته ،در گیاه زردچوبه از غلظتهای ۵۰۰،۱۰۰۰،۱۵۰۰،٦۰۰۰،۸۰۰۰ و۱۰۰۰۰ ppm از عصاره الکلی برداشته و بر روی دیسک بلانک مربوط به هر غلظت در۳ تکرار ریخته شد،

آزمایش کشت میکروبی: در۸ ظرف کاملا استریل شده به طور مجزا٦۰ گرم ازرب گوجه فرنگی را وزن کرده ودرهرکدام به شرح زیراسانس ها را افزوده: کنترل:٦۰گرم رب گوجه فرنگی، سوربات در غلظت۱۵۰۰،**گیاه مریم گلی در**

www.SID.ir

Archive of SID

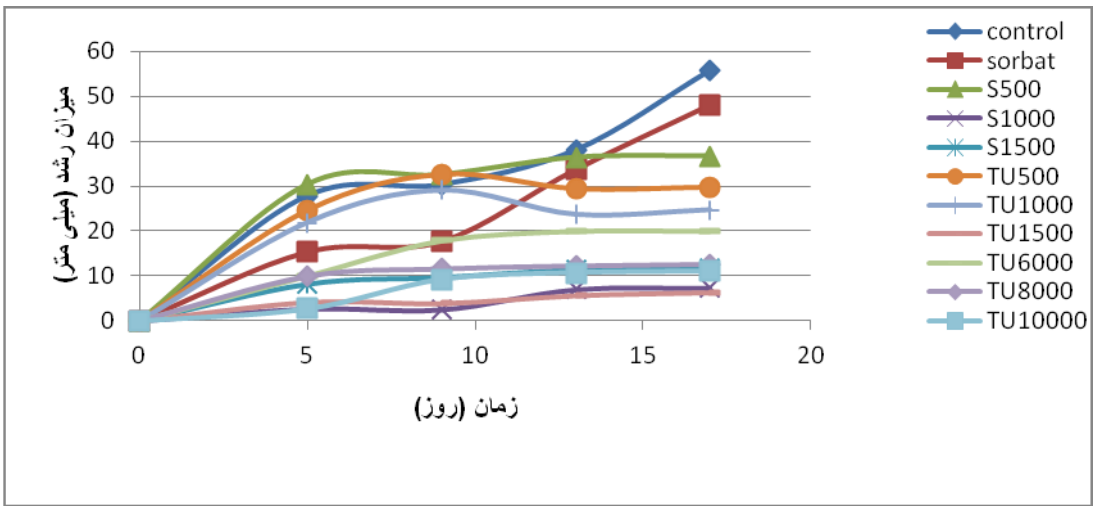
غلظت های ۱۰۰۰،۵۰۰ ،۱۵۰۰ ،گیاه زردچوبه را نیز با همین غلظت ها آماده کرده ،۸ عدد ارلن حاوی ۹۰سی سی رینگراستریل شده ۱۰ گرم ازنمونه رب گوجه فرنگی های بالا ریخته.(رقت 10^{-1})

۱۶عددلوله آزمایش راکه هرکدام حاوی ۹ سی سی رینگراست را آماده کرده. یکی ازارلن های حاوی ۹۰ سی سی رینگر+۱۰ گرم رب گوجه فرنگی راکه به عنوان نمونه کنترل قرارداده رابرداشته، سپس بااستفاده ازپی پت ۱سی سی از آن برداشته،ودرلوله آزمایش بارقت 10^{-2}ریخته سپس با پی پت دیگری از آن ۳ سی سی برداشته و ۱سی سی از آن رادرلوله آزمایش دوم 10^{-3}ریخته و۲سی سی از آن را در دو پلیت 10^{-2} ودر هرکدام ۱سی سی ریخته,مجددا ۲ سی سی از لوله آزمایش برداشته ودر دو پلیت 10^{-3}ودر هرکدام ۱ سی سی ریخته سپس روی آن محیط کشت ریخته .تمامی غلظت ها را به همین ترتیب آماده کرده ودردمای ۲۵ درجه دستگاه انکوباتور قرار داده این آزمایش را در٤ مرحله به فاصله هر ۱۰ روز یکبار انجام داده شد.

نتایج و بحث

نتایج به دست آمده از آزمایشMIC نشان داد که گیاه مریم گلی در سطح ۲٤۰۰ پاسخگو بوده واز رشد کپک جلوگیری نمود اما در گیاه زردچوبه در هیچ یک از این سطوح جوابگو نبود با افزایش سطح، رشد کم می گردد، اما متوقف نمی شود . آزمایش انتشاردر یک دوره ۱۷ روزه اندازه گیری شده وطبق نمودار به مرور زمان میزان رشد کپک را نشان داد. نمونه کنترل و سوربات به همان صورت که در آزمایش MIC هم مشخص شد بیشترین میزان کپک را داشته . نمونه زردچوبه با افزایش میزان غلظت ،رشد کپک کاهش پیدا کرد نمونه مریم گلی به همین ترتیب می باشد در مقایسه ٤ نمونه کنترل ،سوربات ،مریم گلی و زردچوبه مشاهده می شود که مریم گلی بهترین تاثیر را بر رشد کپک گذاشته اما غلظتهای بالای زردچوبه نیز تاثیر به سزایی روی رشد کپک گذاشت.در نهایت بهترین نمونه ها (مریم گلی)S۱۵۰۰،۱۰۰۰، TU(زردچوبه) ۸۰۰۰،۱۰۰۰۰ می باشد.

میزان انتشار برای گیاهان زردچوبه و مریم گلی وهمچنین سوربات



www.SID.ir

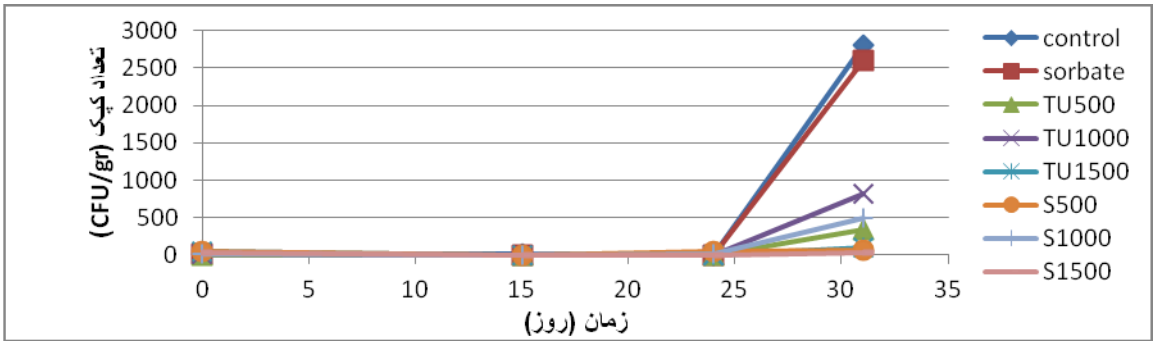
Archive of SID

نمودار تجزیه واریانس آزمایش کشت انتشار

SOV	Df	SS	Ms	Fs
کل	۱۹۱	۱۶۷,۸۱	–	–
مریم گلی	۳	۲۲,۱٤	۷,۳۸	۱۹,٤۷
زردچوبه	۳	۲٤,۲٦	۸,۰۹	۲۱,٦۳
سوربات	۳	۱٦,۲۷	۵,٤۲	۱٤,٦٤
مریم گلی*زردچوبه	۹	۲۳,۲۹	۲,۵۹	٦,۹۲
مریم گلی*سوربات	۹	۱۵,۱	۱,٦۷	٤,٤۸
زردچوبه*سوربات	۹	۱۲,۳٦	۱,۳۷	۳,٦۷
مریم گلی*زردچوبه*سوربات	۲۷	٦,۵٤	۰/۲٤	۰/٦٤
خطا	۱۲۸	٤۷,۸۵	۰/۳۷	–
درصد ضریب تغییرات(CV)	۹,٤۱			

آزمایش انقضا در بازه ی زمانی ۳۰ روزه انجام گشته همانطور که در آزمایش انتشار MIC نشان داده شد، در این نمودار نیز مشخص شد که مریم گلی بیشترین تاثیر را در رب گوجه داشته و دیرتر از سوربات وزردچوبه کپک زده. درصد ضریب تغییرات برابر ۹,٤۱ بوده که نشان دهنده ی درستی انجام آزمایش است.

میزان رشد کپک با گذشت زمان در آزمایش کشت میکروبی



در این نمودار تا روز ۲٤ هیچ گونه رشدی مشاهده نگشت اما از روز ۲٤ به بعد افزایش فراوانی در رشد کپک مشاهده شد نمونه سوربات و کنترل تفاوت معنی داری با سایر تیمار ها داشتند در نهایت بهترین تیمارهای ما ۱۵۰۰TU، ۱۰۰۰،۱۵۰۰S بوده که در این بین مریم گلی بهترین تاثیر را نسبت به زردچوبه داشته.

www.SID.ir

Archive of SID

نمودار تجزیه واریانس آزمایش کشت میکروبی

SOV	Df	SS	Ms	Fs
کل	۸۰	۱۱۰,۲٤	–	–
مریم گلی	۲	۱٥,۷۰	۷,۸٥	۱۳,۱۸
زردچوبه	۲	۱٤,۲٥	۷,۱۳	۱۱,۹٦
سوربات	۲	۸,۲٦	٤,۱۳	٦,۹۳
مریم گلی*زردچوبه	٤	۱۳,۲٥	۳,۳۱	٥,٥٦
مریم گلی*سوربات	٤	۹,۷٥	۲,٤۳	٤/۰۹
زردچوبه*سوربات	٤	۹,٦٤	۲,٤۱	٤/۰٥
مریم گلی*زردچوبه*سوربات	۸	۷,۲۲	۰/۹۰	۱,٥۱
خطا	٥٤	۳۲,۱٦	۰/٥۹	–
درصد ضریب تغییرات) CV)		٦,۹۷		

جدول آزمایش کشت میکروبی بیانگر آن بود که مریم گلی وزردچوبه اثر معنی داری بر میزان کشت میکروبی داشتند . درصد ضریب تغییرات برابر ٦,۹۷ بوده که نشان دهنده ی درستی انجام آزمایش است.

بحث و نتیجه گیری:

نتایج نشان داد که در آزمایش کشت MIC در گیاه مریم گلی حداقل میزان غلظت رشد برای این گیاه غلظت ppm۲٤۰۰ می باشد زیرا در غلظت های پایین تر سطح پلیت ها را کپک پوشانده است ،که هماهنگی بین نتایج این آزمایش و تحقیقات به عمل آمده از رقیه فتوت وهمکاران که میزان مواد موثره در برگ گیاه مریم گلی بسیار بیشتر از ریشه آن می باشد و همچنین گونه Salvia officinalis از میزان مواد موثره چشمگیری در مقایسه با سایر گونه های دیگر مریم گلی دارا می باشد را نشان می دهد [4]. در گیاه زردچوبه مقدار MIC های تعیین شده پاسخگو نبوده و باید در سطوح بالاتری مورد آزمایش قرار بگیرد،این در حالی بود که در تحقیقات انجام شده توسط اشیتا چاتوپاتهیا در هندوستان ، نشان داده شد که عصاره الکلی زردچوبه دارای خاصیت ضد باکتریایی می باشد، همچنین کورکومین موجود در زردچوبه در این آزمایش نشان داد که زردچوبه فعالیت ضد میکروبی دارد و سبب سرکوب رشد باکتریهای مختلفی مانند استرپتوکوک،استافیلو کوکو و لاکتو باسیلوس می شود [5]. هم چنین در نتایج آزمایش کشت انتشار در پلیت های حاوی نمونه های کنترل و سوربات بعداز۲٤ روز از زمان کشت کل سطح پلیت ها حاوی کپک شد,ولی در پلیت های حاوی گیاه مریم گلی در ۲ غلظت ppm۱٥۰۰،۱۰۰۰ هیچ گونه کپکی مشاهده نگردید.در بررسی فعالیت ضد میکروبی آویشن ،رزماری ومریم گلی توسط جاسنا ایوانویک و همکاران خاصیت ضد میکروبی مریم گلی به اثبات رسید . همچنین این مقاله نشان داد که استفاده از اسانس مریم گلی در محصولات غذایی به پیشگیری از فساد کمک کرده وسبب مهار تکثیر برخی از باکتریهای مرتبط با مواد غذایی می شود ،که تاییدی بر این آزمایش می باشد [6].در گیاه زردچوبه نیز فقط در غلظت های ۸۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ مقدار جزیی نمونه کپک مشاهده شد.در آزمایش انقضا نیز نمونه شاهد زودتر از سایر نمونه ها شروع به کپک زدن کرد و غلظت

www.SID.ir

Archive of SID

ppm۱۵۰۰ دیرتر از سایر نمونه ها کپک زد. در آزمایش کشت میکروبی مناسب ترین تیمارها از لحاظ رشد کپک S۱۵۰۰Tu,۱۵۰۰،۱۰۰۰ بوده است (نمودار۲-٤).به طور کلی مجموع یافته ها در این پژوهش نشان داد، که عصاره گیاه زردچوبه و اسانس گیاه مریم گلی می توانند به عنوان مواد نگهدارنده طبیعی در صنایع غذایی مورد استفاده قرار بگیرند .

قدر دانی:ازاساتید عزیزم سرکار خانم دکتر نوشین نوشیروانی،و سرکار خانم دکتر لیلا حکیمی و همچنین جناب آقای دکتر هادی فصیحی که با راهنمایی های خود مرا یاری نمودند کمال سپاس را دارم.

منابع:

۱ -اجاق،م.رضایی،م. رضوی،ه.حسینی،م.،تابستان ۱۳۹۱ .،مطالعه ی اثر ضد باکتریایی اسانس پوست دارچین در شرایط آزمایشگاهی در برابر پنج باکتری عامل فساد غذایی.،فصلنامه علوم وصنایع غذایی.،شماره ۳۵ .،دوره۹

۲ -جوانمرد.م،پاییز۱۳۸۹ .،بکار گیری پوشش خوراکی حاوی عصاره الکلی مریم گلی در جلوگیری از رشد قارچ آسپرزیلوس فلاووس روی مغز پسته.،پژوهشکده فناوریهای شیمیایی

۳-عبدالهی،م.سالاری،م. بهرام نژاد،ص.پنجه که،ن.عباسی،س.،پاییز ۱۳۸۷.،اثرات ضد قارچی عصاره ی خام گیاه دارچین روی برخی قارچهای بیماریزای گیاهی .،بیماریهای گیاهی.،شماره ٤٤ .،صفحه ۲٦۱-۲۵۵

٤-فتوت.م،رجبیان.ط،صبوراع،رنجبر.م،اجتهد.ر.،۱۳۹۳.،بررسی مقایسه ای رزمارینیک اسید و سالویانولیک اسیدهایA وB در چهار گونه مریم گلی خودرو ایران.،شماره۵.،جلد ۲۷

۵ -I. Chattopadhyay, K. Biswas Uday Bandyopadhyay and Ranajit K. Banerjee., Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications., Department of Physiology, Indian Institute of Chemical Biology, ٤, Raja S.C. Mullick Road, Kolkata ۰۳۲ ۷۰۰, India Deptartment of Biochemistry, Central Drug Research Institute, Chhattar Manzil Palace, Lucknow ۰۰۱ ۲۲٦, India

٦ -j.Ivanovic, D.Misic, I.zizovic and M.Ristic., invitro control of some food-essociated bacteria by thyme rozmary and suge is olates. Department of Organic Chemical Technology, Faculty of Technology and Metallurgy, University of Belgrade, Karnegijeva ٤, ۱۱۰۰۰ Belgrade, Serbiab Department for Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade,Bulevar Oslobodjenja ۱۸, ۱۱۰۰۰Belgrade, Serbiac Institute for Medicinal Plant Research “Dr JosifPancic”, Tadeusa Koscuska ۱, ۱۱۰۰۰Belgrade, Serbia.

www.SID.ir