

اثر بازدارندگی اسانس سرسرم (*Mentha spicata*) بر قابلیت بقای باکتری‌های پروبیوتیک در کشک مایع صنعتی

لاله سیدیوسفی^۱، لیلا گلستان^{۲*}، حامی کابوسی^۲

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت الله آملی، آمل، ایران

^۲ استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت الله آملی، آمل، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۱۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۹/۲۱

چکیده

گیاه سرسرم (*Mentha spicata*) یکی از گونه‌های خانواده نعنائیان می‌باشد. خواص ضد میکروبی اسانس این گیاه بر روی انواع میکروب‌ها مورد آزمایش و تأیید قرار گرفته است. هدف از این مطالعه بررسی اثر بازدارندگی اسانس سرسرم بر قابلیت بقای باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس روتری و بیفیدوباکتریوم انیمالیس زیر گونه لاکتیس در کشک مایع صنعتی بود. بدین منظور اثر بازدارندگی اسانس سرسرم در دو غلظت ۱۵۰۰ و ۲۵۰۰ ppm بر قابلیت بقای باکتری‌های پروبیوتیک در کشک مایع صنعتی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و طی یک دوره ۲۰ روزه انبارمانی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد که در طی دوره نگهداری و در مقایسه با نمونه کنترل، باکتری لاکتوباسیلوس در هر دو غلظت اسانس حساس‌تر از بیفیدوباکتریوم بود. اثر بازدارندگی از رشد باکتری‌های مذکور در غلظت ۱۵۰۰ ppm اسانس کمتر از غلظت دیگر بود و بیشترین قابلیت بقای باکتری‌های پروبیوتیک بعد از نمونه کنترل برای بیفیدوباکتریوم انیمالیس در غلظت ۱۵۰۰ ppm اسانس سرسرم مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: اثر بازدارندگی، اسانس سرسرم، بیفیدوباکتریوم انیمالیس زیر گونه لاکتیس، کشک مایع صنعتی، لاکتوباسیلوس روتری.

۱- مقدمه

واژه پروبیوتیک^۱ از واژه یونانی پروبایوس به معنای حیات بخش (برای زندگی) اقتباس شده است. اما در اصطلاح علمی طبق تعریف سازمان غذا و کشاورزی^۲ و سازمان بهداشت جهانی^۳، پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای (باکتری یا مخمر) هستند که با بلعیدن آن‌ها در تعداد مناسب، اثرات مفیدی روی سلامت میزبان می‌گذارند و باعث بهبود میکروفلورای طبیعی میزبان می‌گردند. لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکتریوم‌ها^۴ باکتری‌های پروبیوتیک متداولی هستند و به عنوان ترکیبات ایمن و بی‌خطر^۵ شناخته شده‌اند (۱۳، ۲۱ و ۲۵).

همگام با کشف اثرات مفید پروبیوتیک‌ها تلاش‌های فراوانی برای تولید و فراوری محصولات تخمیری و حامل حاوی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک آغاز گردید، به طوری که امروزه بیش از ۹۰ فرآورده پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس / اسیدوفیلوس^۶ و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم^۷ در سرتاسر جهان تولید می‌شود (۱۳، ۲۰، ۳۴).

یکی از این محصولات تخمیری کشک است، کشک با حجم کم خود، دارای تمامی خواص شیر می‌باشد. دارای ارزش غذایی بالایی است و سرشار از پروتئین و کلسیم است و قادر است احتیاجات بدن را از نظر مواد معدنی موجود در شیر که شامل کلسیم، منیزیم، آهن، سدیم و پتاسیم بوده و همچنین از نظر دارا بودن اسیدهای آمینه ضروری و مواد پروتئینی تأمین نماید. کشک به عنوان طعم دهنده و گاهی مستقیماً به عنوان غذا بکار برده می‌شود. کلسیم و فسفر موجود در کشک، برای پیشگیری از بروز پوکی استخوان بسیار مؤثر است. میزان انرژی تولید شده از ۱۰۰ گرم کشک حدود ۱۰۵ تا ۱۲۰ کیلو کالری می‌باشد (۴، ۹ و ۱۶). از خواص درمانی کشک می‌توان به جلوگیری از ابتلا به اختلالات گوناگون عصبی، تنظیم جهاز هاضمه و جلوگیری از اسهال اشاره کرد (۴).

اضافه کردن اسانس‌ها به مواد غذایی هم از جهت نگهداری و هم تنوع در طعم می‌تواند اثر بخش بوده و مطالعات زیادی در این

جهت صورت گرفته است (۱، ۱۲، ۳۶ و ۳۸).

خانواده نعنائیان تیره بزرگی از گیاهان گل‌دار بوده و در این تیره طبق بررسی‌های جدیدی که به عمل آمده، ۴۰۰۰ گونه گیاه وجود دارد و در ۲۰۰ جنس جای داده شده‌اند که معمولاً دارای اسانس هستند. این گیاهان در اغلب نواحی کره زمین پراکنندگی دارند ولی بیشترین انتشار آن‌ها در منطقه مدیترانه است و گیاهان معروفی چون نعناع، اسطوخودوس، بادرنجبویه، پونه، مریم‌گلی، آویشن، مرزه، ریحان، مرزنجوش در این خانواده قرار دارند (۵).

جنس نعناع، مشکل از بیش ۲۵-۳۰ گونه است که در سراسر مناطق معتدل جهان به طور گسترده‌ای رشد می‌کند (۱۷). یکی از این گونه‌ها، گونه متنا اسپیکاتا^۸ از گیاهان آروماتیک با نام محلی سرسم و نام فارسی نعناع صحرائی و پونه سنبله‌ای است که اسانس آن خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی دارد. اسانس گونه‌های نعناع به طور گسترده‌ای در صنایع غذایی، داروسازی و آرایشی در سراسر جهان بکار برده می‌شود (۱، ۳، ۱۲، ۲۰ و ۲۵).

این گیاه چند ساله، علفی و پایا است (۳، ۵ و ۲۹) و بومی مدیترانه است که از زمان‌های قدیم شناخته شده است و در بعضی کتب منشأ اصلی آن را به مجارستان، رومانی، شوروی و چین نسبت می‌دهند ولی امروزه در اغلب نقاط دنیا یافت می‌شود. این گیاه در بیشتر نواحی شمال ایران (مازندران: بابل، بابلسر، تنکابن)، آذربایجان (تبریز، ارومیه، خوی) و جنوب شرقی (بلوچستان) می‌روید (۱۰، ۲۷ و ۳۱).

از جمله کاربردهای این گیاه می‌توان به استفاده از اسانس آن در صنایع غذایی به عنوان طعم دهنده غذاها و شیرینی جات و نیز در زمینه تهیه لوازم آرایشی، تهیه داروهای مسکن، در درمان تب، سردرد، آسم، سرما خوردگی و غیره استفاده می‌شود.

متنا اسپیکاتا هم اکنون تقریباً در تمام جهان به عنوان گیاه ادویه‌ای رشد داده می‌شود، بازار جهانی در مورد اسانس متنا اسپیکاتا تقریباً ۱۵۰۰ تن در سال است (۷، ۱۵ و ۲۹).

تا به حال قابلیت بقای باکتری‌های پروبیوتیک در کشک ساده و یا اسانس دار مورد مطالعه قرار نگرفته است و بیشتر کارهای انجام شده در محصولات لبنی دیگر مانند ماست و دوغ است. هدف از این تحقیق این بود که تأثیر غلظت اسانس سرسم و مدت زمان نگهداری را به عنوان متغیر مستقل بر قابلیت بقای باکتری‌های

- 1- Probiotic
- 2- Food and Agriculture Organization
- 3- World Health Organization
- 4- Bifidobacterium
- 5- GRAS
- 6- *Lactobacillus acidophilus*
- 7- *B. bifidum*

۲-۳- تهیه اسانس

جهت تولید اسانس از دستگاه تقطیر با آب^۳ طرح کلونجر^۴ (در دارو نامه بریتانیا) استفاده گردید و بدین منظور در هر بچ تولید اسانس ۱۰۰ گرم نعنای آسیاب شده در بالن ۳ لیتری دستگاه ریخته شده و مقداری آب در حدود دوسوم حجم بالن، برای نرم شدن بافت‌های گیاه به آن اضافه شد. اسانس گیری در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و حدوداً در مدت زمان ۲/۵ ساعت انجام شد، و اسانس تقطیر شده درون شیشه‌های تیره کوچک جمع آوری و تا زمان مصرف در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

۲-۴- روش آزمایش

اسانس سرسم در دو مقدار ۱۵۰۰ و ۲۵۰۰ ppm به مقدار ۱۰ گرم کشک مایع از شرکت کاله در شرایط کاملاً استریل اضافه شد. از نمونه‌های کشک حاوی اسانس به میزان ۱ گرم برداشته و به داخل لوله‌های آزمایش حاوی ۹ میلی لیتر سرم فیزیولوژی انتقال داده شد و بدین ترتیب رقت 10^{-1} تهیه شد.

با استفاده از استاندارد ۰/۵ مک فارلند (CFU/ml)^۵ $10^8 \times 1/5$ ، سوسپانسیونی از سویه‌های میکروبی *لاکتوباسیلوس روتری* و *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* تهیه نموده و به میزان ۱ میلی لیتر از هر سوسپانسیون میکروبی به داخل رقت‌های حاوی اسانس گیاهان مورد مطالعه و نمونه کشک، اضافه گردید (که در بالا ذکر شد) و پس از هم زدن توسط شیکر، از محتویات این لوله‌ها به میزان ۱ میلی لیتر برداشته و به داخل لوله‌های آزمایش حاوی ۹ میلی لیتر سرم فیزیولوژی اضافه شد و بدین ترتیب رقت 10^{-2} تهیه شد.

از نمونه شاهد نیز که فقط شامل کشک (بدون اسانس) و سوسپانسیون میکروارگانسیم های مذکور بود، به روش بالا رقت 10^{-2} تهیه شد. کلیه گروه‌های آزمایش در ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و در روزهای ۰، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰ از گروه‌های مورد آزمایش نمونه گیری به عمل آورده و تعداد کلنی‌های باکتری‌های مورد مطالعه بر روی محیط‌های کشت اختصاصی‌شان شمارش گردید، و نتایج (میانگین ۳ تکرار) به صورت واحدهای تشکیل دهنده کلنی^۵ در هر میلی لیتر از نمونه گزارش شد (۸، ۱۱، ۱۳ و ۳۶).

پروبیوتیک به عنوان متغیر وابسته، در کشک مایع صنعتی بررسی کنیم.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه سوسپانسیون میکروبی

بدین منظور محتویات ویال لیوفیلیزه سویه‌های میکروبی *لاکتوباسیلوس روتری*^۱ (PTCC 1655)، *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* زیرگونه *لاکتیس*^۲ (PTCC 1736)، به ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت اختصاصی آن‌ها (MRS Broth) که استریل شده بود، انتقال داده شد و به مدت ۷۲-۴۸ ساعت در انکوباتور شیکردار (مدل LSI- 3016R) با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا به کدورت مورد نظر برسد (۶).

پس از این مرحله، دو باکتری در محیط کشت MRS Agar کشت داده شد و سپس پلیت های حاوی *لاکتوباسیلوس روتری* به مدت ۴۸ ساعت و *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* در جار بی هوازی حاوی گاز پک به مدت ۷۲ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. بعد از رشد کلنی‌ها بر روی محیط کشت، پلیت‌ها با نوار پارافیلیم به منظور جلوگیری از خشک شدن محیط کشت، پوشش داده شده و در یخچال نگهداری شدند.

۲-۲- جمع آوری و نگهداری گیاه سرسم

مقدار ۱۰ کیلوگرم گیاه نعنای که در گویش محلی به آن سرسم گفته می‌شود در اردیبهشت و خرداد ماه سال ۱۳۹۰ از بازار محلی شهرستان آمل واقع در استان مازندران تهیه گردید. سپس برگ‌های این گیاهان پس از شستشو، ابتدا در شرایط مناسب در سایه خشک نموده به طوری که نور مستقیم خورشید به آن نتابد و از طرفی هوای اتاق هم در جریان باشد زیرا که دمای اتاق نباید زیاد باشد و پس از خشک شدن، جهت تهیه اسانس، برگ‌ها با آسیاب برقی (مدل Depose-Brevete SGD) خرد شدند.

3- Steam Distillation

4- Clevenger

5- Colony forming units (CFU)

1- *Lactobacillus reuteri*

2- *Bifidobacterium animalis subsp. lactis*

۲-۵- تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار آماری SPSS Ver.16 استفاده شد و با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) مورد آنالیز قرار گرفت. تمامی آزمایشات در سه تکرار انجام شد و مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح $P < 0.05$ انجام گرفت.

۳- نتایج و بحث

در این مطالعه اثر بازدارندگی اسانس سرسم در دو غلظت ۱۵۰۰ و ۲۵۰۰ ppm بر قابلیت بقای باکتری‌های پروبیوتیک در کشک مایع صنعتی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و در روزهای ۰، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰ بررسی شد. با توجه به شکل شماره ۱ با گذشت زمان در تیمارهای مختلف لگاریتم تعداد باکتری لاکتوباسیلوس روتری روند کاهشی کمی داشته است و نتایج آماری نشان داد که این کاهش در کلیه تیمارها نسبت به هم معنا دار است ($P < 0.05$). در تیمارهای حاوی اسانس، رشد باکتری در روز بیستم در مقایسه با سایر روزها کاهش بیشتری داشت.

در شکل شماره ۲ مشاهده می‌شود که با افزودن و افزایش غلظت اسانس کاهش معناداری در لگاریتم تعداد باکتری لاکتوباسیلوس روتری رخ می‌دهد به نحوی که میزان رشد باکتری در تمامی روزها در غلظت ۲۵۰۰ ppm اسانس سرسم پایین‌تر از غلظت ۱۵۰۰ ppm و آن هم پایین‌تر از نمونه کنترل بوده است.

با توجه به شکل شماره ۳ با گذشت زمان در نمونه کنترل و همچنین نمونه‌های حاوی اسانس (با غلظت ۱۵۰۰ و ۲۵۰۰ ppm) کاهش اندکی در لگاریتم تعداد باکتری به جزء روز شانزدهم در نمونه حاوی اسانس با غلظت ۱۵۰۰ ppm و روز بیستم در نمونه حاوی اسانس با غلظت ۲۵۰۰ ppm مشاهده شد و نتایج آماری نشان داد که این کاهش در کلیه تیمارها نسبت به هم معنا دار است ($P < 0.05$).

در شکل شماره ۴ مشاهده می‌شود که با افزودن و افزایش غلظت اسانس کاهش معناداری در لگاریتم تعداد باکتری رخ می‌دهد به نحوی که میزان رشد باکتری در تمامی روزها در غلظت ۲۵۰۰ ppm اسانس سرسم پایین‌تر از غلظت ۱۵۰۰ ppm و آن هم پایین‌تر از نمونه کنترل بوده است.

با توجه به شکل شماره ۵ و در مقایسه با نمونه کنترل بیشترین اثر بازدارندگی هر دو غلظت اسانس سرسم به ترتیب برای لاکتوباسیلوس روتری و بیفیدوباکتریوم انیمالیس مشاهده شد. همان‌طور که مشاهده می‌شود اثر بازدارندگی اسانس سرسم از رشد باکتری‌ها در تمامی روزها در غلظت ۲۵۰۰ ppm بیشتر از غلظت ۱۵۰۰ ppm و آن هم بیشتر از نمونه کنترل بوده است.

بر اساس نتایج این بررسی کاهش اندکی در لگاریتم تعداد باکتری‌ها طی روزهای مختلف دیده شد و در مقایسه با نمونه کنترل باکتری لاکتوباسیلوس در هر دو غلظت اسانس حساس‌تر از بیفیدوباکتریوم بود.

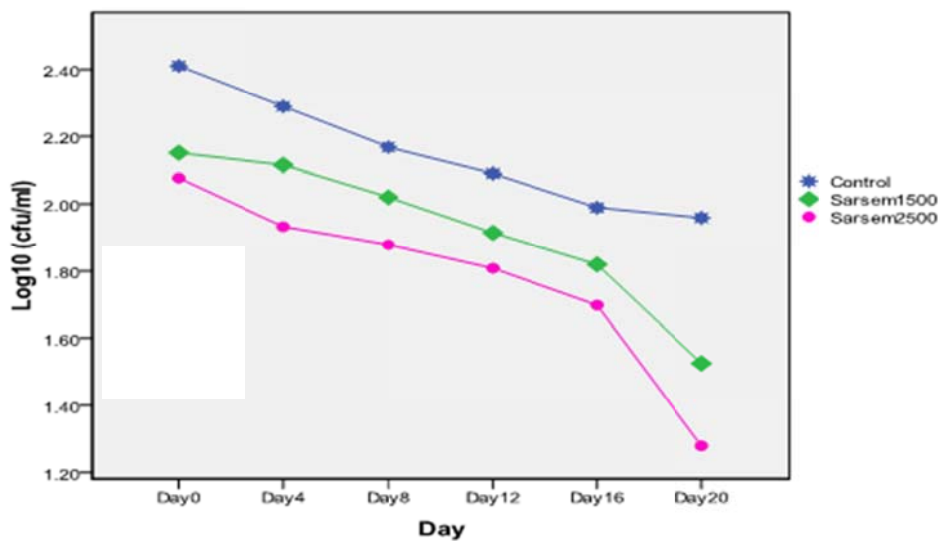
اثر بازدارندگی از رشد باکتری‌های مذکور در غلظت ۱۵۰۰ ppm اسانس کمتر از غلظت دیگر بود و بیشترین قابلیت بقای باکتری‌های پروبیوتیک بعد از نمونه کنترل برای بیفیدوباکتریوم انیمالیس در غلظت ۱۵۰۰ ppm اسانس سرسم مشاهده شد.

گونه متا اسپیکاتا از لحاظ ترکیب اسانس تفاوت‌هایی با دیگر گونه‌های نعنای دارد که اصلی‌ترین این تفاوت‌ها عدم وجود منتول^۱ و تشکیل شدن ترکیبی به نام کاروون^۲ است، که درصد بالایی از اسانس را شامل می‌شود. در مطالعاتی که روی شناسایی ترکیب‌های مختلف تشکیل دهنده اسانس متا اسپیکاتا انجام گرفته است، مشخص شده است که میزان ترکیب‌های این گونه در دو یا چند منطقه مجاور نیز تفاوت‌هایی وجود دارد (۲۲، ۱۲).

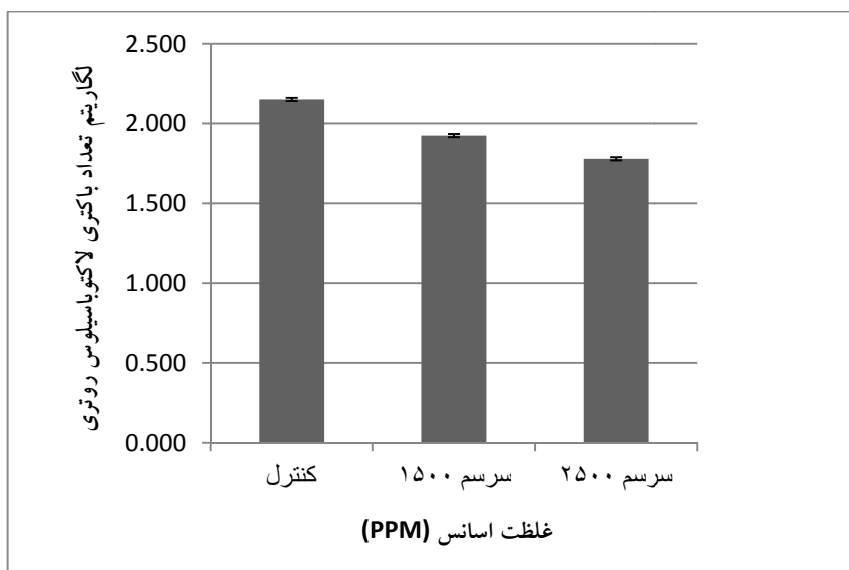
در مطالعات دیگری نیز نشان داده شد که کاروون ترکیب اصلی گیاه متا اسپیکاتا است و به طور گسترده‌ای به عنوان ادویه و چاشنی غذاها استفاده می‌شود، که ۵۰-۶۵ درصد از کل مونوترپن موجود را در بردارد.

دیگر ترکیبات اصلی این گیاه لیمون^۳، منتون^۴ و ۸،۱- سینئول^۵ می‌باشد (۳۷، ۲۵، ۲۰)، و به میزان کمی هیدروکربن‌های سزکویی ترپن^۶ و سزکویی ترپن‌های اکسیژنه شده^۷ دارد (۲۲) و تمام این ترکیبات خواص ضد میکروبی از خود نشان می‌دهند (۱۴، ۱۹، ۳۲ و ۳۹).

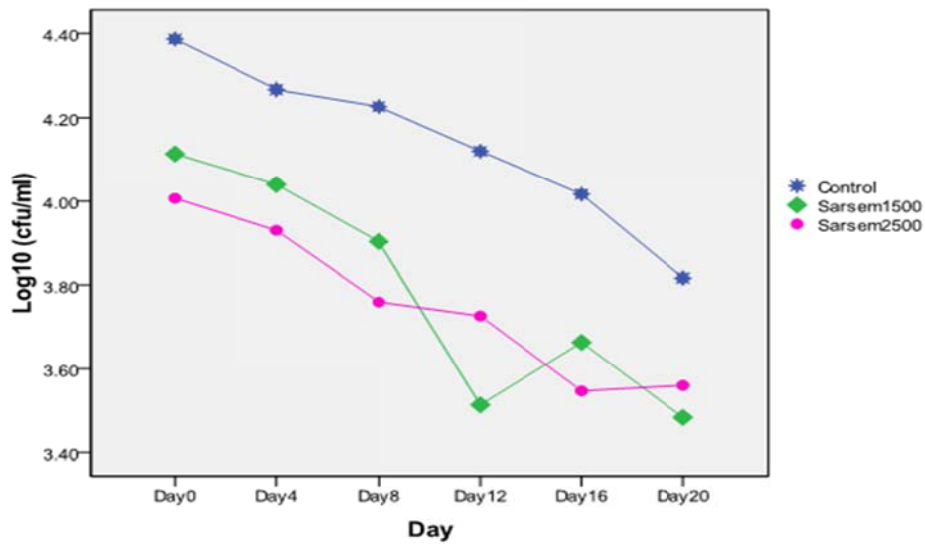
- 1- Menthol
- 2- Carvone
- 3- Limonene
- 4- Menthone
- 5- 1,8-cineole
- 6- Sesquiterpene hydrocarbons
- 7- Oxygenated sesquiterpenes



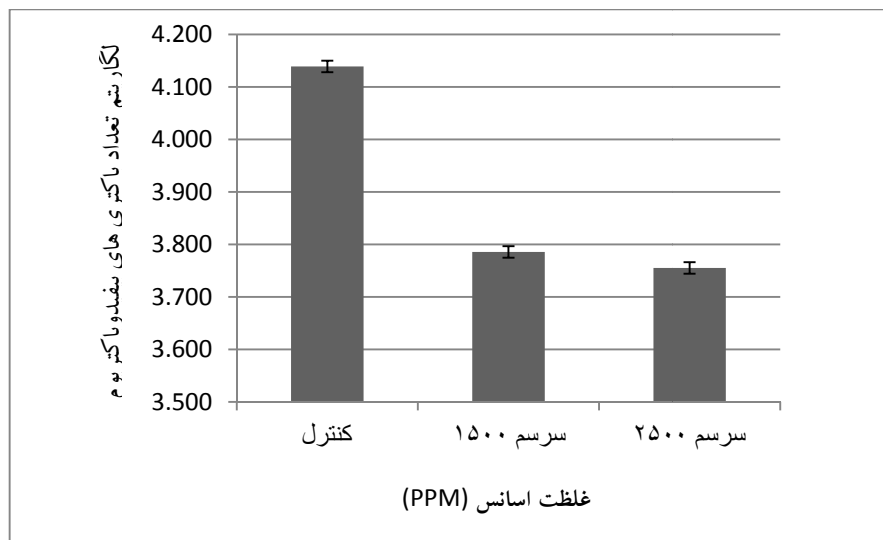
شکل ۱- اثر ضد میکروبی غلظت‌های مختلف اسانس سرسم بر روی رشد باکتری لاکتوباسیلوس روتیری در کشک طی یک دوره زمانی ۲۰ روزه



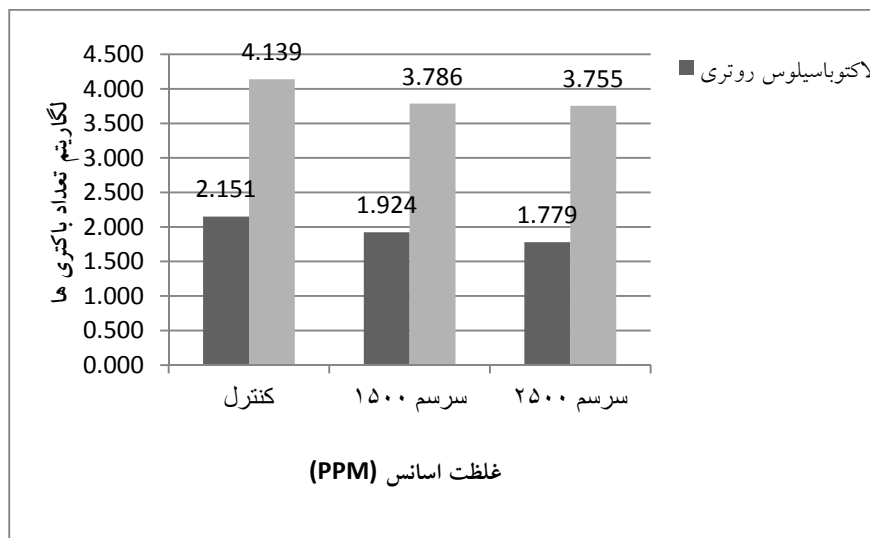
شکل ۲- روند کاهشی لگاریتم (Log₁₀) تعداد باکتری لاکتوباسیلوس روتیری در طول روزهای ۱۶، ۱۲، ۸، ۴، ۰ و ۲۰ با غلظت‌های مختلف اسانس سرسم



شکل ۳- اثر ضد میکروبی غلظت‌های مختلف اسانس سرسم بر روی رشد باکتری بیفیدوباکتریوم انیمالیس زیر گونه لاکتیس در کشک طی یک دوره زمانی ۲۰ روزه



شکل ۴- روند کاهشی لگاریتم (Log10) تعداد باکتری بیفیدوباکتریوم انیمالیس زیر گونه لاکتیس در طول روزهای ۱۶، ۱۲، ۸، ۴، ۰ و ۲۰ با غلظت‌های مختلف اسانس سرسم



شکل ۵- مقایسه روند کاهش لگاریتم (Log_{10}) تعداد دو باکتری بیفیدوباکتریوم انیمالیس زیر گونه لاکتیس و لاکتوباسیلوس روتیری در طول روزهای ۲۰ و ۱۲، ۸، ۴، ۰ با غلظت‌های مختلف اسانس سرسم

در تحقیق حاضر در طول ۲۰ روز نگهداری تیمارها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، تعداد هر دو باکتری پروبیوتیک در هر دو غلظت اسانس نسبت به تعداد اولیه کمتر از ۱ سیکل لگاریتمی کاهش داشت که این مقدار با کاهش مشاهده شده در نمودارهای تحقیق وثوق (۱۳۸۸) در همین مدت زمان یعنی سه هفته نگهداری هم‌خوانی دارد، و قابلیت بقای بهتر بیفیدوباکتریوم نسبت به لاکتوباسیلوس در این تحقیق نیز با تحقیق وثوق مطابقت دارد. نتایج تحقیق وثوق نشان داد که عرق نعناع (متا پیریتا) در سطوح ۱ درصد و ۲ درصد به ترتیب باعث افزایش بقای بیفیدوباکتریوم و لاکتوباسیلوس می‌شود (۱۳).

در مطالعات مختلفی اثر اسانس گیاهان دیگر نیز بر ماندگاری باکتری‌های پروبیوتیک مورد آزمایش قرار گرفته از آن جمله اووه‌هند و همکاران در سال ۲۰۱۰، اثر ضد میکروبی اسانس‌های آویشن، رزماری و مرزنجوش نسبت به بیفیدوباکتریوم انیمالیس زیر گونه لاکتیس ۴۲۰ Danisco, Niebull و غلظت بالای آویشن بر باکتری لاکتوباسیلوس روتیری ATCC ۲۳۲۷۲ را نشان دادند و مشخص شد که همانند این تحقیق باکتری بیفیدوباکتریوم از قابلیت بقای بیشتری نسبت به لاکتوباسیلوس برخوردار بود.

در همین مطالعه باکتری بیفیدوباکتریوم برو^۳ ۲۰۲۱۳ DSMZ نسبت به اسانس‌های آویشن، رزماری، باکتری بیفیدوباکتریوم

حساسیت میکروارگانیزم‌ها نسبت به اسانس‌ها، به ویژگی‌های خود اسانس و میکروارگانیزم بستگی دارد. بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس‌ها به خاطر فراریت‌شان، غیر محلول بودن در آب و پیچیدگی ساختار شیمیایی‌شان با مشکل روبرو است (۲۴).

به طور کلی اثرهای ضد باکتریایی عصاره و اسانس نعناع بر میکروارگانیزم‌های مختلف به غلظت نعناع، ترکیب ماده غذایی، درجه حرارت نگهداری ماده غذایی و سرشت و طبیعت متابولیت‌های ارگانیزم بستگی دارد (۱۲، ۲۳).

به نحوی که در تحقیق سرابی و نیازمند در سال ۲۰۰۹، قابلیت بقای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در یو ماست حاوی غلظت‌های مختلفی از متا پیریتا^۱ و کاکوتی^۲ (موجود در خانواده نعناعیان) بعد از ۷ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به طور قابل توجهی کاهش یافت (۳۳). همچنین رسولی در سال ۲۰۰۷ گزارش کرد که اسانس نعناع می‌تواند از رشد گونه‌های کشت آغازگر (کشت‌های لاکتیک اسید) در ماست طعم دار شده جلوگیری کند (۳۰).

اما در مطالعات دیگری نشان داده شده است که اسانس نعناع طی مدت زمان نگهداری اثر معناداری بر قابلیت بقای باکتری‌های سنتی ماست ندارد (۱۳، ۳۵).

1- *Mentha piperita*

2- *Ziziphora clinopodioides*

3- *Bifidobacterium breve*

باکتری‌های پروبیوتیک بعد از نمونه کنترل برای بیفیدوباکتریوم /نیمالیس در غلظت ۱۵۰۰ ppm اسانس سرسم مشاهده شد.

۵- منابع

۱. بنیادیان، م. و کریم، گ. ۱۳۸۴. تأثیر روغن‌های فرار گیاهی بر روی جمعیت فارچی پنیر سفید صنعتی. فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران، دوره ۲، شماره ۳، ۸-۱.
۲. جایمند، ک. و رضایی، م. ۱۳۸۵. اسانس، دستگاه‌های تقطیر، روش‌های آزمون و شاخص‌های بازداری در تجزیه اسانس. انجمن گیاهان دارویی ایران. چاپ اول، صفحات ۳۰۵، ۶۷، ۵۸.
۳. جمشیدی، م. احمدی آشتیانی، ح. رضازاده، ش. فتحی آزاد، ف. مازندرانی، م. و خاکی، آ. (۱۳۸۹) بررسی و مقایسه ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی چند گونه گیاهی بومی مازندران. فصلنامه گیاهان دارویی، سال نهم، دوره دوم، شماره مسلسل سی و چهارم، ۱۸۳-۱۷۷.
۴. رضانی، ح. ۱۳۶۵. کشک، چگونگی تهیه و ارزش غذایی آن. سازمان تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی. مؤسسه تحقیقات دامپروری، نشریه فنی شماره ۲۵، ۲۳، ۷.
۵. زرگری، ع. ۱۳۷۶. گیاهان دارویی. مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، جلد چهارم، چاپ ششم، صفحات ۱۵۴-۱.
۶. سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران.
۷. صمصام شریعت، ه. ۱۳۸۹. تکثیر و پرورش گیاهان دارویی. چاپ سوم، انتشارات مانی. صفحات ۴۰۸-۴۰۷.
۸. فدائی، س.، آبرومند آذر، پ.، شریفیان، ا. و لاریجانی، ک. ۱۳۸۹. اثر ضد میکروبی اسانس نعنای فلفلی و مقایسه آن با بنزوات سدیم. مجله علوم غذایی و تغذیه، سال هشتم، شماره ۱، ۴۱-۳۴.
۹. قربان شیروودی، س. ۱۳۸۹. مقایسه اثر دو گونه مختلف کنترلی ایرانی بر خصوصیات رئولوژیک و برخی ویژگی‌های میکروبی و شیمیایی کشک. پایان نامه ارشد مهندسی کشاورزی- علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات.
۱۰. قهرمان، ا. ۱۳۶۳. فلور ایران. جلد ششم، انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، شماره انتشار ۱۰۶۵، صفحه ۳۳۰.
۱۱. کریم، گ. ۱۳۸۲. آزمون‌های میکروبی مواد غذایی. چاپ چهارم، انتشارات دانشگاه تهران، صفحات ۲۹۰-۱.

لانگوم^۱ DSMZ ۲۰۲۱۹ نسبت به غلظت بالای اسانس‌های آویشن و مرزنجوش و باکتری لاکتوباسیلوس فرمنتوم^۲ ATCC ۱۴۹۳۱ نسبت به اسانس‌های آویشن و مرزنجوش حساس بودند (۲۸).

در تحقیقی رولدان و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان دادند که اسانس متا اسپیکاتا نسبت به اسانس پیریتا اثر بازدارندگی بیشتری بر روی بیفیدوباکتریوم برو^۱ ATCC ۱۵۷۰۰ داشت و اسانس‌های مرزنجوش و آویشن بیشترین اثر بازدارنده بر روی باکتری‌های مفید لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم برو از خود نشان دادند. فعالیت بازدارندگی آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین بر روی این باکتری‌ها از همه اسانس‌های ذکر شده بیشتر بود (۳۲).

زایکا و کیسینجر در سال ۱۹۸۱ نشان دادند که مرزنجوش بر حسب مورد می‌تواند باعث تحریک، تأخیر یا جلوگیری از رشد باکتری‌های لاکتیک شود (۱۳ و ۴۰).

اسانس‌ها، هم از نظر مقدار و هم از نظر ترکیب‌های سازنده تحت تأثیر عوامل مختلف محیطی (دما، رطوبت، نور، موقعیت جغرافیایی، خاک و غیره) و درونی (عوامل ژنتیکی) هستند و اما ترکیب اسانس در مناطق مختلف اکولوژی یکسان نیست. این پدیده علاوه بر اینکه از نظر مقدار تولید اسانس حائز اهمیت است، بلکه از جنبه‌های مختلف دیگر نظیر تغییراتی که در نوع اسانس و مقدار برخی از اجزای آن به وجود می‌آید نیز قابل توجه است (۲۴، ۲۵). از جمله فاکتورهای دیگر که بر ترکیب شیمیایی اسانس تأثیر گذار است می‌توان به زمان جمع‌آوری گیاه، شرایط خشک کردن، شیوه تقطیر اسانس، شرایط نگهداری اسانس و غیره اشاره کرد (۲۴ و ۲۵).

۴- نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که اسانس سرسم بسته به غلظت‌های مورد استفاده و نوع میکروارگانیسم‌ها باعث کاهش اندکی در قابلیت بقای میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش شد. البته در طی دوره نگهداری و در مقایسه با نمونه کنترل، باکتری لاکتوباسیلوس در هر دو غلظت اسانس حساس‌تر از بیفیدوباکتریوم بود. اثر بازداری از رشد باکتری‌های مذکور در غلظت ۱۵۰۰ ppm اسانس کمتر از غلظت دیگر بود و بیشترین قابلیت بقای

22. Hussain, A.I., Anwar, F., Nigam, P.S., Ashraf, M. and Gilani, A.H. 2010. Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha* species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90: 1827-1836.
23. Imai, H., Osawa, K., Yasuda, H., Hamashima, H., Arai, T. and Sasatsu, M. 2001. Inhibition by the essential oils of peppermint and spearmint of the growth on pathogenic bacteria. *Microbes Journal*, 106(1): 31-39.
24. Kalemba, D. and Kunicka, A. 2003. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10: 813-829.
25. Kizil, S., Hasimi, N., Tolan, V., Kilinc, E., Yuksel, U. 2010. Mineral content, essential oils components and biological activity of two mentha species (*M. piperita* L., *M. spicata* L.). *Turkish Journal of Field Crops*, 15(2): 148-153.
26. Korhonen, J. 2010. Antibiotic Resistance of *Lactic Acid Bacteria*. Publications of the University of Eastern Finland Dissertations in Forestry and Natural Sciences. 25.
27. Lewis, K. 1998. Peppermint and spearmint, *the oxford review*: 1-6.
28. Ouwehand, A.C., Tiihonen, K., Kettunen, H., Peuranen, S., Schulze, H. and Rautonen, N. 2010. In vitro effects of essential oils on potential pathogens and beneficial members of the normal microbiota, *Veterinarni Medicina*, 55(2): 71-78.
29. Patra, N. K. and Kumar. B. 2006. *Spearmint*. in: *Handbook of herbs and spices* (Editor: K.V. Peter). Cambridge, England, *Woodhead publishing Limited*, 3: pp. 502-517.
30. Rasooli, I. 2007. Food Preservation – A Biopreservative Approach. *Global Science Books*. Food 1(2): 111-136.
31. Rechinger, K.H. 1982. *Flora Iranica*. Akademische Druck-u. Verlagsanstalt, Graz-Austria, 150: 557, 569.
32. Roldan, L.P., Diaz, G.J., Durringer, J.M. 2010. Composition and antibacterial activity of essential oils obtained from plants of the *Lamiaceae* family against pathogenic and beneficial bacteria. *Rev Colomb Cienc Pecua*, 23: 451-461.
33. Sarabi-Jamab, M. and Niazmand, R. 2009. Effect of Essential Oil of *Mentha piperita* and *Ziziphora clinopodioides* on *Lactobacillus acidophilus* Activity as Bioyogurt Starter Culture, *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sci*, 6(2): 129-131.
34. Shah, N.P. 2001. Functional foods, probiotics and prebiotics. *Food Tech*, 55: 46-53.
35. Simsek, B., Sagdic, O., and Ozcelik, S. 2007. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 during the
۱۲. مشتاقی، ح. و بنیادیان، م. ۱۳۸۷. اثرات ضد لیستریایی عصاره روغنی نعناع (*Mentha spicata* L.) در یک مدل غذایی. فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، جلد ۲۴، شماره ۳، ۳۳۲-۳۲۶.
۱۳. وثوق، ا.ص.، خمیری، م.، کاشانی نژاد، م. و جعفری، م. ۱۳۸۸. اثر عرق نعناع بر قابلیت بقای باکتری‌های پروبیوتیک در نوشیدنی سنتی ایرانی (دوغ). مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، جلد ۱۶، شماره ۱، ۱۶۴-۱۵۶.
14. Davies, N. W. 1990. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20M phases. *Journal of Chromatography*. 503 (1): 1-24.
15. Diaz Marota, M.C., Perez-Coello, M.S., Gonzalez Vinas, M.A., Cabezudo, M.D. 2003. Influence of drying on the flavor quality of spearmint (*Mentha spicata* L.). *Agricultural Food chemistry journal*, 51: 1265-1269.
16. Golpayegani, M.A. 2007. Asian Indigenous Dairy Products, Technology of Indigenous Iranian Dairy Products, *Bulletin of the International Dairy Federation*. 29-31.
17. Gulluce, M., Shain, F., Sokmen, M., Ozer, H., Daferera, D., Sokmen, A., Polissiou, M., Adiguzel, A., Ozcan, H. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. spp. *longifolia*. *Food Chemistry*, 103: 1449-1456.
18. Hadjiakhoondi, A., Aghel, N., Zamanizadeh Nadgar, N., Vatandoost, H. 2000. Chemical and biological study of *Mentha spicata* L. essential oil from iran. *Daru*, 8. No 2&3: 19-21.
19. Hafedh, H., Fathi, B.A., Mejd, S., Emira, N. and Amina, B. 2010. Effect of *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia* essential oil on the morphology of four pathogenic bacteria visualized by atomic force microscopy. *African journal of microbiology Research*, 4(11): 1122 -1127.
20. Hajlaoui, H., Snoussi, M., Ben jannet, H., Mighri, Z., and Bakhrouf, A. 2008. Comparison of chemical composition and antimicrobial activities of *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia* essential oil from two Tunisian localities (Gabes and Sidi Bouzid). *Annals of Microbiology*, 58(3): 513-520.
21. Hori, T. 2010. *Probiotics: Recent Human Studies Using Lactobacillus casei strain Shirota*. , Vol. 9. in: *Handbook of prebiotics and probiotics ingredients Health Benefits and Food Applications* (Editors: S. Sungsoo Cho and E.T. Finocchiaro). Boca, Raton, London, New York. CRC Press Taylor & Francis Group, LLC, pp. 194.

- storage of ayran produced with different spices. *Journal of Food Engineering*, 79(2): 679-680.
36. Smith-Palmer, A., Stewart, J., and Fyfe, L. 2001. The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiology*, 18: 463-470.
37. Sokovic, M.D., Vukojevic, J., Marin, P.D., Brkic, D.D., Vajs, V and Van Griensven, L.J.L.D. 2009. Chemical composition of essential oils of *Thymus* and *Mentha* Species and their antifungal activities. *Molecules*, 14: 238-249.
38. Tajkarimi, M. M, Ibrahim, S. A., Cliver, D. O. 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, 21: 1199–1218.
39. Tassou, C.C., Nychas, G.J.E. and Skandamis, P.N. 2004. Herbs and spices and antimicrobials. Part I. in: Handbook of herbs and spices (Editor: K.V. peter). Cambridge, England, CRC Press Woodhead publishing Limited, 2: pp. 25.
40. Zaika, L.L., and Kissinger, J.C. 1981. Inhibitory and stimulatory effects of oregano on *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus cerevisiae*. *Journal of Food Science*, 46(4): 1205-1210.