مطالعه اثر ضدمیکروبی عصاره الکلی و اسانس زیره‌سیاه (*Bunium persicum* Boiss) بر برخی از باکتری‌ها و کپک‌ها در پنیر لاکتیکی

محمدرضا علی‌محمدزاده[۱]، محمدعلی علی‌دوست[۱] ، جلیل خندقی[۲*]

۱. دانش آموختگان کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد سراب، دانشگاه آزاد اسلامی، سراب، ایران.

۲. گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سراب، دانشگاه آزاد اسلامی، سراب، ایران.

***نویسنده مسئول:** *khandaghi@iausa.ac.ir*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۱/۰۹

چکیده

زیان‌آور بودن نگهدارنده‌های شیمیایی و تمایل مصرف‌کنندگان به استفاده از مواد غذایی بدون نگهدارنده یا حاوی نگهدارنده‌های طبیعی سبب افزایش کاربرد ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی ازجمله اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی در صنعت غذا شده‌است. با توجه به خواص متعدد ضدمیکروبی که برای زیره‌سیاه ذکر شده‌است این ماده می‌تواند ضمن افزایش زمان ماندگاری در پنیرلاکتیکی باعث تولید یک محصول با عطر و طعم قابل‌قبول نیز بشود. با درنظر گرفتن این‌نکته، در این پژوهش اثرات اسانس و عصاره الکلی زیره‌سیاه (*Bunium persicum* Boiss) در جلوگیری از رشد باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیاکلی* O_{157} و *لیستریا مونوسیتوژنز* و کپک‌های *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس نایجر* و همچنین شمارش کلی کپک و مخمر در پنیرلاکتیکی مورد بررسی قرارگرفت. به‌علاوه تاثیر آن بر شمارش‌کلی باکتری‌های لاکتیکی و ویژگی‌های حسی پنیر نیز مطالعه شد. نتـایج بدسـت آمده نشان‌داد که اسانس و عصاره این گیاه قادر است رشد میکروبی را به تأخیر بیاندازد. زیره‌سیاه اثر مهاری بیشتری بر میکروب‌های مورد مطالعه در پنیرلاکتیکی نشان داد و فعالیت ضدمیکروبی اسانس در مقایسه با عصاره بیشتر بود به‌طوریکه در پایان دوره نگهداری، تیمارهای حاوی یک درصد اسانس در پنیرلاکتیکی کمترین شمارش میکروب‌های هدف را دارا بودند. مقایسه تاثیر اسانس و عصاره زیره بر رشد میکروب‌های مورد مطالعه نشان داد که تیمارهای مورد مطالعه تاثیر بیشتری بر کنترل رشد کپک *آسپرژیلوس فلاووس* و *اشرشیاکلی* در پنیرلاکتیکی نشان دادند. در خصوص باکتری‌های لاکتیک، با افزایش دوره نگهداری تعداد باکتری‌ها در نمونه‌های پنیر کاهش یافت که این کاهش در تیمار شاهد بیشتر بود.

کلید واژه ها: پنیرلاکتیکی، زیره سیاه، باکتری، کپک.

مقدمه

امروزه تمایل به جایگزینی عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی با افزودنی‌های سنتزی 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 رسیدن به این خواسته عمومی جامعه می‌باشد (Azimzadeh,2009). زیره سیاه (*Bunium persicum* Boiss) یکی از ارزشمندترین گیاهان دارویی است که به‌صورت وحشی در مناطقی از ایران که آب و هوای خشک دارند می‌روید (Pour seyedi,1994) و مطالعات متعددی در مورد خواص و ترکیبات شـیمیایی آن صـورت گرفتـه اسـت. ترکیبات مختلف در اسانس زیره سیاه شامل کومین‌آلدهید[۱] گاما ترپینن[۲] پاراسایمن[۳] و مواد مؤثره دیگری است که اغلب از ترکیبات ترپنی[۴] هستند و دارای اثرات ضدقارچی، ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (Nadeem and Riaz, 2012; Bassole and Juliani, 2012; AL-Jabri and Hossain, 2014).

1 Cumin aldehyde
2 Gamma terpinene
3 Para cymene
4 Terpenes

پنیر دارای بیشترین میزان پروتئین در میان فراورده‌های لبنی است و پروتئین موجود در آن تقریباً دارای تمامی اسیدهای آمینه ضروری مورد نیاز بدن است (فدائی و پوراحمد، ۱۳۹۶). ارزش تغذیه‌ای بالای پنیر موجب شده است که مطالعات فراوانی برای بهبود خواص کمی و کیفی انواع گوناگون این فرآورده انجام پذیرد (وزیری و نوروزی، ۱۳۹۰). پنیر لاکتیکی پنیری است که برای تولید لخته آن از باکتری‌های مفید و سودمند لاکتیکی بصورت ماست یا دوغ استفاده می‌شود و ضمن آنکه مثل سایر پنیرها غنی از پروتئین، کلسیم و فسفر است به‌دلیل استفاده از باکتری‌های لاکتیکی جهت تخمیر شیر، حاوی ویتامین‌های A و املاح معدنی باارزش نیز می‌باشد. همچنین به‌دلیل تازگی و سرعت بالای فرآوری این پنیر، مواد مغذی آن به‌خوبی حفظ می‌شود (فدائی و پوراحمد، ۱۳۹۶). ازطرفی این فرآورده لبنی یک ماده‌غذایی دینامیک است و تغییرات بیوشیمیایی و میکروبی گسترده‌ای در طی دوران رسیدن در این فرآورده اتفاق می‌افتد که به‌دلیل داشتن مواد مغذی، رشد انواع میکروارگانیسم‌های پاتوژن نیز در آن امکان‌پذیر است به‌طوریکه مطالعات متعددی درخصوص آلودگی و کنترل باکتری‌های *استافیلوکوکوس*[1]، *لیستریا*[2]، *اشریشیاکلی*[3] و کپک‌های *آسپرژیلوس*[4] در پنیرهای گوناگون انجام گرفته‌است (Moghtader et al., 2009; Ataei; Kachouei, 2016 عزیزخانی و همکاران، ۱۳۹۵؛ صامتی و فدائی، ۱۳۹۴؛ طاهرخانی و همکاران، ۱۳۹۴؛ عطائی و همکاران، ۱۳۹۲؛ فضل‌آرا و همکاران، ۱۳۹۱). استافیلوکوکوس‌ها از نظر متابولیکی فعال بوده و قابلیت رشد در محیط‌های مختلف را دارند *استافیلوکوکوس اروئوس*[5] گواگولاز مثبت یک پاتوژن انسانی است که عوارض آن از مسمومیت غذایی تا عفونت‌های تهدیدکننده حیات متغییر است. این باکتری قادر به تحمل مقادیر زیاد نمک (تا ۱۵ درصد) می‌باشد و از این‌رو مواد غذایی حاوی نمک نظیر پنیر محیط مناسبی را برای رشد باکتری مهیا می‌سازد (Chan et al., 2012).

لیستریا مونوسیتوژنز[6] عامل شایع لیستریوزیس غذایی در انسان بوده و یک باکتری گرم مثبت میله‌ای کوتاه و سرمادوست می‌باشد که بطور وسیعی در طبیعت پراکنده بوده و غالباً در شیرخام و فراورده‌های آن یافت می‌شود (Robinson, 2002; حنیفیان و کلانتری‌پور،۱۳۹۶). موارد متعددی از انتقال این باکتری ناشی از مصرف انواع پنیر گزارش شده‌است و در این بین مقاومت نسبی باکتری به فرایند پاستوریزاسیون و نیز توانایی زنده ماندن آن در یخچال اهمیت موضوع را دوچندان کرده‌است (Millet et al., 2006).

اشریشیاکلی به‌عنوان شاخص آلودگی‌مدفوعی در موادغذایی شناخته می‌شود و برخی از سروتیپ‌های آن مانند O_{157} موجب عفونت و اسهال می‌شوند. میزان پایداری *اشریشیاکلی* O_{157} در برخی فرآیندها بالاست مثلا این باکتری قادر است تا ۸/۵ درصد نمک را تحمل کرده و زنده بماند (Oksuz et al., 2004). راه انتقال این سویه از طریق موادغذایی به‌خصوص غذاهای با منشاء دامی از جمله شیر و گوشت و فرآورده‌های آن‌ها می‌باشد (بنیادیان و همکاران، ۱۳۸۶).

دربین انواع کپک‌ها جنس *پنی‌سیلیوم* و *آسپرژیلوس* رایج‌ترین عوامل ایجادکننده فساد در اکثر مواد غذایی به‌شمار می‌آیند (Tharmaraj and Shah, 2009). *آسپرژیلوس فلاووس*[7] و *آسپرژیلوس نیجر*[8] جزو قارچ‌های ساپروفیت هستند که گونه فلاووس از این کپک قادر است ایجاد آفلاتوکسین نماید و سرطانزایی آن اثبات شده‌است (Hedayati et al., 2007).

1 *Staphylococcus*
2 *Listeria*
3 *Escherichia coli*
4 *Aspergillus*
5 *Staphylococcus aureus*
6 *Listeria monocytogenes*
7 *Aspergillus flavus*
8 *Aspergillus niger*

از آنجائیکه زیره‌سیاه یکی از افزودنی‌های سنتی غذاهای ایرانی است و در مناطق مختلف کشورمان موجود بوده و بنابراین دسترسی به آن آسان است، احتمالا استفاده از این گیاه در پنیرلاکتیکی موجب تولید یک محصول با عطر و طعم قابل‌قبول شده و باعث تولید یک محصول با زمان‌ماندگاری بالا نیز می‌شود. این پژوهش با هدف استفاده از عصاره الکلی و اسانس زیره‌سیاه در تولید پنیرلاکتیکی و معمولی و بررسی اثرات ضدمیکروبی آن در جلوگیری از رشد باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیاکلی* O_{157} و *لیستریا مونوسیتوژنز* و کپک‌های *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس نایجر* انجام‌شد.

روش‌کار

تهیه اسانس

برای استخراج اسانس حدود ۱۰۰ گرم اندام خشک‌شده گیاه زیره‌سیاه در مخزن دستگاه کلونجر (IKA,Germany) قرارگرفت و به مدت سه ساعت اسانس‌گیری شد. اسانس‌های حاصل بعد از جداسازی فاز اتری (که جهت خشک‌شدن کامل زیره به‌آن اضافه شده‌بود) و آبگیری بااستفاده از سولفات‌سدیم تا زمان مصرف در ظروف شیشه‌ای تیره دربسته و در دمای ۴درجه سلسیوس نگهداری شدند (صادقی و همکاران، ۱۳۸۹).

استخراج عصاره

۱۰گرم پودر زیره‌سیاه با نسبت یک به ده با اتانول ۵۰ درصد مخلوط شده و پس از طی زمان ۲۴ ساعت در دمای محیط، عصاره‌ها با کاغذ صافی فیلتر شدند. عصاره‌های الکلی در تبخیرکننده چرخشی تا خروج کامل حلال استخراج‌کننده تغلیظ شدند (بنیادیان و همکاران، ۱۳۹۳).

فعال‌سازی و تلقیح باکتری‌ها در پنیر

باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC ۱۱۸۹) و *لیستریا مونوسیتوژنز* (PTCC ۱۳۰۶) از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران بصورت لیوفیلیزه و باکتری *اشرشیاکلی* O_{157} (۲۵۹۲۲ ATCC) از گروه میکروب‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه‌شدند. ابتدا باکتری‌های مورد مطالعه به‌مدت ۲۴ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس در محیط Trypticase Soy Broth کشت‌شده و سپس تعداد باکتری در هر میلی‌لیتر از محیط کشت به‌روش سنجش جذب نوری با استفاده از اسپکتروفتومتر (Cecil aquarius, England) محاسبه شد. تعداد 10^5 باکتری در هر میلی‌لیتر، جهت انجام آزمون‌ها مورد استفاده قرار گرفت (بنیادیان و همکاران، ۱۳۹۳).

تهیه پنیر

نمونه‌های پنیرلاکتیکی در کارخانه مواد لبنی پگاه کرمان تهیه شدند. بطور خلاصه پس از استاندارد کردن چربی شیرخام (۳-۲/۵ درصد) دمای شیر تا ۹۶درجه سلسیوس افزایش یافت. به‌منظور اطمینان از عدم آلودگی به باکتری‌های هدف، ۲۴ساعت قبل از آغاز آزمایشات، یک نمونه کشت میکربی بر روی آن انجام‌گرفت و پس از اطمینان از منفی بودن نتایج کشت و رسیدن دمای شیر به ۳۵ درجه سلسیوس، غلظت‌های صفر، ۰/۵، یک و ۲/۵ درصد اسانس و عصاره زیره‌سیاه و متعاقب آن حدود ۳-۲ درصد دوغ ترش اضافه و بخوبی حل‌شد. در مورد باکتری‌های هدف، تعداد 10^5 از هر باکتری در هر میلی‌لیتر تلقیح شد. پس از تشکیل لخته، آبگیری انجام‌شده و پس از ۷-۶ دقیقه پرس آنها، برش پنیر انجام‌گرفت. (عزیز خانی و همکاران، ۱۳۹۵).

برای تهیه پنیر معمولی نیز ابتدا شیر خام (۱/۵ درصد چربی) در دمای۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ ثانیه پاستوریزه و سپس تا دمای۴ درجه سرد و کلریدکلسیم به میزان ۰/۱۵گرم به ازای هر کیلوگرم شیر به آن افزوده شد. سپس کشت آغازگر به غلظت ۰/۴ گرم به ازای هر کیلوگرم شیر تلقیح و به مدت ۵۵ دقیقه در دمای۳۵ درجه سلسیوس نگهداری شد. بعد از

گذشت این مدت زمان، رنـت بـه میـزان ۰/۲۵ گرم به ازای هر کیلوگرم شیر افزوده و پس از ۵۰ دقیقـه، آب پنیر از لخته‌های تشکیل‌شده خارج شد. در این مرحله غلظت‌های صفر، ۰/۵، یک و ۲/۵ درصد اسانس و عصاره زیره‌سیاه افزوده شده و بعد از فرایند پرس‌کردن، لخته بـه انـدازه دلخـواه بریده شد (لشکری و همکاران، ۱۳۸۷). در مورد باکتری‌های هدف، متعاقب افزودن زیره تعداد 10^5 از هر باکتری در هر میلی‌لیتر تلقیح شد.

لازم به توضیح است جهت آزمون‌های حسی تیمارهای بدون باکتری از هر دو نوع پنیر نیز تهیه شد.

شمارش کپک‌ها

برای ارزیابی رشد کپک‌های هدف یک ورقه از پنیر به ضخامت حدود یک سانتی‌متر در شرایط استریل، بریده و در مرکز یک پلیت قرار داده شد. سپس به میزان ۵ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپور کپک‌های *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس نیجر* (10^6 اسپور در هر میلی‌لیتر) به مرکز قطعات پنیر اضافه شده و به‌مدت یک ماه در دمای یخچال نگهداری و هر ۱۰ روز قطر رشد کپک‌ها اندازه‌گیری شد (Gandomi et al., 2009). شمارش تعدادکل کپک و مخمر نیز با استفاده از محیط‌کشت YGC آگار مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۱۰۱۵۴ انجام شد (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۶).

آزمون‌های حسی

ارزیابی حسی با استفاده از آزمون چشایی به روش هدونیک پنج امتیازی (۱: خیلی بد، ۵: خیلی خوب) توسط ۱۲ نفر ارزیاب نیمه‌ماهر و در روز نخست و پایان دوره نگهداری انجام شد. شرایط سنجش برای داوران کاملاً یکسان بود و برای افزایش دقت از آنها خواسته‌شد بین هر دو نمونه آب معدنی بنوشند. آنها در هر جلسه هشت نمونه مکعبی ۱۵ گرمی پنیر را از لحاظ طعم ومزه، رنگ، بو و پذیرش‌کلی ارزیابی کردند (حسینی و همکاران، ۱۳۹۲).

لازم به توضیح است که با توجه به عدم پذیرش تیمارهای پنیر حاوی ۲/۵ درصد زیره از نظر خواص حسی، در مطالعه اثرات ضدباکتریایی، تیمار ۲/۵ درصد از مطالعه حذف شد.

شمارش باکتری‌ها

پنیرهای لاکتیکی و معمولی به مدت یک ماه در دمای یخچالی نگهداری و در فواصل زمانی۷ روز، از محیط‌های کشت اختصاصی مربوط به هر باکتری پس از تهیه رقت سریال ده برابر در محلول پپتون ۰/۱درصد استفاده شد. برای شمارش باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* از محیط برد پارکر آگار[1] (Merck, Germany) و گرمخانه‌گذاری به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷درجه سلسیوس استفاده شد (داردرفشی و همکاران، ۱۳۹۲). برای شمارش باکتری‌های *اشرشیاکلی* O_{157} نمونه‌ها به‌مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای۳۷ درجه سلسیوس و در محیط سوربیتول-مک‌کانگی آگار[2] (Merck, Germany) گرمخانه‌گذاری شدند (Church et al., 2007). برای شمارش باکتری‌های *لیستریا مونوسیتوژنز* نیز از محیط پالکام آگار[3] (Merck, Germany) در دمای۳۶ درجه سلسیوس و به‌مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت استفاده شد (عزیز خانی و همکاران، ۱۳۹۵).

برای شمارش باکتری‌های لاکتیکی، نمونه‌ها در محیط‌کشت MRS آگار (Merck, Germany) بصورت پورپلیت کشت داده شدند. پلیت‌ها در جار بی‌هوازی و در انکوباتور (Memert, Germany) ۴۲درجه سلسیوس به مدت۷۲ساعت گرمخانه‌گذاری شده و تعداد پرگنه‌ها شمارش گردید (Dave and Shah, 1996).

- تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این پژوهش، کلیه آزمون‌ها در سه تکرار انجام گرفت. داده‌های حاصل از آزمایش‌ها با استفاده از طرح کاملا تصادفی در قالب فاکتوریل، با استفاده از نرم افزار

1 Baird parker agar
2 Sorbitol-Mac conkey agar
3 Palcam agar

SPSS:20 تجزیه و تحلیل شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح‌احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج

تاثیر اسانس و عصاره زیره‌سیاه بر رشد باکتری‌ها در پنیر

چنانکه از جداول ۱و۲ پیداست در هر دو نوع پنیر با افزایش دوره نگهداری تعداد باکتری‌ها در همه تیمارها افزایش یافت اما این افزایش در تیماهای حاوی اسانس و عصاره کمتر از تیمار شاهد بود. تیمارهای حاوی اسانس زیره‌سیاه عملکرد ضدمیکروبی بهتری نسبت به عصاره نشان دادند بطوریکه تیمار حاوی یک درصد اسانس زیره کمترین میزان باکتری‌های هدف را در هر دو نوع پنیر نشان دادند. همچنین با مقایسه نتایج جدول‌های ۱و۲ مشاهده می‌شود که رشد باکتری‌های مورد مطالعه در پنیرلاکتیکی کمتر از پنیرمعمولی بود. مقایسه تاثیر اسانس و عصاره زیره‌سیاه بر رشد سه باکتری مورد مطالعه در هر دو نوع پنیر نشان داد که تیمارهای مورد مطالعه تاثیر بیشتری بر کنترل رشد *اشرشیاکلی* نسبت به دو باکتری دیگر در پنیرلاکتیکی نشان دادند. با افزایش دوره نگهداری میزان باکتری‌های لاکتیکی کاهش یافت و در پایان دوره نگهداری کمترین تعداد باکتری‌های لاکتیکی در تیمار شاهد و بالاترین مقدار آن در نمونه حاوی ۰/۵ درصد عصاره زیره‌سیاه مشاهده شد.

تاثیر اسانس و عصاره زیره‌سیاه بر رشد قارچ‌ها در پنیر

با افزایش دوره نگهداری قطر هاله رشد کپک‌های *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس نایجر* و همچنین شمارش‌کلی کپک و مخمر در کلیه تیمارهای مورد مطالعه در هر دو نوع پنیرلاکتیکی و معمولی افزایش یافت. در پایان دوره نگهداری، بیشترین و کمترین افزایش قطر رشد کپک‌های هدف و شمارش‌کلی کپک و مخمر در هر دو نوع پنیر به‌ترتیب در تیمار شاهد و ۲/۵ درصد اسانس زیره‌سیاه مشاهده‌شد. تیمارهای مورد مطالعه تاثیر بیشتری بر کنترل رشد کپک *آسپرژیلوس فلاووس* نسبت به *آسپرژیلوس نایجر* در پنیرلاکتیکی نشان دادند. با مقایسه نتایج جدول های ۳و۴ مشاهده می‌شود که نمونه‌های پنیرلاکتیکی میزان کپک و مخمر کمتری در طول دوره نگهداری نسبت به نمونه‌های پنیرمعمولی دارا هستند.

جدول ۱: تاثیر اسانس و عصاره زیره‌سیاه بر رشد باکتری‌ها (cfu/g) در هفته چهارم در پنیرلاکتیکی

	درصد تیمار	استافیلوکوکوس اورئوس	اشرشیاکلی O_{157}	لیستریا منوسیتوژنز	باکتری‌های لاکتیکی
شاهد	۰	$۸/۶\times۱۰^{۷}$ aC	$۶/۶\times۱۰^{۹}$ aB	$۸/۴\times۱۰^{۹}$ aA	$۱/۲\times۱۰^{۵}$ dD
اسانس زیره	۰/۵	$۱/۷\times۱۰^{۶}$ d AB	$۳/۹\times۱۰^{۵}$ cD	$۲/۲\times۱۰^{۶}$ cA	$۷/۸\times۱۰^{۵}$ c C
	۱	$۹/۸\times۱۰^{۵}$ e A	$۵/۷\times۱۰^{۳}$ eD	$۶/۶\times۱۰^{۴}$ eC	$۲/۳\times۱۰^{۵}$ dB
عصاره زیره	۰/۵	$۱/۲\times۱۰^{۷}$ bA	$۶/۵\times۱۰^{۶}$ bD	$۸/۳\times۱۰^{۶}$ bB	$۷/۲\times۱۰^{۶}$ aC
	۱	$۷/۵\times۱۰^{۶}$ cA	$۱/۶\times۱۰^{۴}$ dD	$۲/۶\times۱۰^{۵}$ dC	$۳/۱\times۱۰^{۶}$ bB

در هر ستون اعداد با حروف کوچک مشابه اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری ندارند ($p>0.05$).

در هر سطر اعداد با حروف بزرگ مشابه اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری ندارند ($p>0.05$).

جدول ۲: تاثیر اسانس و عصاره زیره‌سیاه بر رشد باکتری‌ها (cfu/g) در هفته چهارم در پنیرمعمولی

	درصد تیمار	استافیلوکوکوس اورئوس	اشرشیاکلی O_{157}	لیستریا منوسیتوژنز
شاهد	۰	$۶/۴\times۱۰^{۹\ aB}$	$۹/۶\times۱۰^{۹\ aA}$	$۶/۵\times۱۰^{۱۰\ aB}$
اسانس زیره	۰/۵	$۳/۴\times۱۰^{۷\ dA}$	$۵/۷\times۱۰^{۵\ dC}$	$۸/۴\times۱۰^{۶\ cB}$
	۱	$۹/۵\times۱۰^{۶\ eA}$	$۳/۵\times۱۰^{۴\ eC}$	$۴/۸\times۱۰^{۵\ eB}$
عصاره زیره	۰/۵	$۶/۰\times۱۰^{۸\ bA}$	$۸/۲\times۱۰^{۶\ bC}$	$۶/۲\times۱۰^{۷\ bB}$
	۱	$۹/۷\times۱۰^{۷\ cA}$	$۷/۹\times۱۰^{۵\ cC}$	$۵/۲\times۱۰^{۶\ dB}$

در هر ستون اعداد با حروف کوچک مشابه اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری ندارند ($p>0.05$).

در هر سطر اعداد با حروف بزرگ مشابه اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری ندارند ($p>0.05$).

جدول ۳: تاثیر اسانس و عصاره زیره بر قطر رشد کپک‌ها (سانتی‌متر) و شمارش‌کلی کپک و مخمر (log cfu/g) در پنیرلاکتیکی

	درصد تیمار	آسپرژیلوس نیجر	آسپرژیلوس فلاووس	تعداد کل کپک و مخمر
شاهد	۰	$۸/۹^{aA}$	$۸/۹^{aA}$	$۸/۵^{a}$
اسانس زیره	۰/۵	$۳/۵^{eA}$	$۲/۹^{deB}$	$۴/۵^{cd}$
	۱	$۴/۴^{cdA}$	$۱/۴^{fB}$	$۳/۶۶^{d}$
	۲/۵	$۰/۰^{fA}$	$۰/۰^{gA}$	$۲/۳^{e}$
عصاره زیره	۰/۵	$۶/۰^{bA}$	$۵/۱^{bB}$	$۶/۳^{b}$
	۱	$۴/۹^{cA}$	$۴/۲^{cAB}$	$۴/۹^{c}$
	۲/۵	$۳/۴^{eA}$	$۳/۲^{dAB}$	$۴/۱^{cd}$

در هر سطر و ستون از قطر رشد کپک‌ها اعداد با حروف کوچک مشابه اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری ندارند ($p>0.05$).

در ستون تعدادکل کپک و مخمر اعداد با حروف کوچک مشابه اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری ندارند ($p>0.05$).

جدول ۴: تاثیر اسانس و عصاره زیره بر قطر رشد کپک‌ها (سانتی‌متر) و شمارش‌کلی کپک و مخمر (log cfu/g) در پنیرمعمولی

	درصد تیمار	آسپرژیلوس نیجر	آسپرژیلوس فلاووس	تعداد کل کپک و مخمر
شاهد	۰	$۹/۵^{aA}$	$۹/۵^{aA}$	$۹/۱^{a}$
اسانس زیره	۰/۵	$۶/۰^{dA}$	$۵/۵^{cB}$	$۶/۵^{c}$
	۱	$۴/۸^{fA}$	$۳/۴^{eB}$	$۵/۹^{de}$
	۲/۵	$۰/۰^{gA}$	$۰/۰^{fA}$	$۵/۰^{f}$
عصاره زیره	۰/۵	$۸/۴^{bA}$	$۶/۸^{bB}$	$۷/۴^{b}$
	۱	$۷/۳^{cA}$	$۵/۲^{cB}$	$۶/۱۶^{d}$
	۲/۵	$۵/۸^{deA}$	$۴/۶^{dB}$	$۵/۵۵^{e}$

در هر سطر و ستون از قطر رشد کپک‌ها اعداد با حروف کوچک مشابه اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری ندارند ($p>0.05$).

در ستون تعدادکل کپک و مخمر اعداد با حروف کوچک مشابه اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری ندارند ($p>0.05$).

تاثیر اسانس و عصاره زیره‌سیاه بر خواص حسی نمونه‌های پنیر

اعداد گزارش شده در جدول۵ میانگین امتیازات ویژگی-های حسی نمونه‌ها در روز نخست و پایان دوره نگهداری می‌باشد. بیشترین امتیاز رنگ مربوط به تیمارهای شاهد بود و با افزایش میزان عصاره زیره‌سیاه در فرمولاسیون پنیرها امتیاز رنگ کاهش یافت. بیشترین امتیاز بو مربوط به تیمار ۰/۵ درصد اسانس زیره در پنیر لاکتیکی بوده و کمترین امتیاز نیز به پنیر معمولی حاوی ۲/۵ درصد اسانس زیره تعلق داشت. تیمارهای آزمایشی طعم و مزه نمونه‌ها را نیز تحت تاثیر قرار دادند بطوریکه بیشترین و

کمترین امتیازات طعم و مزه به‌ترتیب مربوط به نمونه-های حاوی ۰/۵ و یک درصد عصاره زیره در پنیر لاکتیکی و تیمارهای حاوی ۱ و ۲/۵ درصد اسانس زیره در هر دو پنیر لاکتیکی و معمولی بود. پنیر لاکتیکی حاوی ۰/۵ درصد عصاره زیره و پنیر معمولی و لاکتیکی حاوی ۲/۵ درصد اسانس زیره به ترتیب بیشترین و کمترین امتیازات پذیرش کلی را دریافت کردند.

جدول ۵ : تاثیر سطوح مختلف اسانس و عصاره زیره‌سیاه بر خواص حسی نمونه‌های پنیر لاکتیکی و معمولی

	درصد تیمار	رنگ	بو	طعم و مزه	پذیرش کلی
پنیر لاکتیکی شاهد	۰	۵/۰^{a}	۴/۴^{b}	۴/۵^{b}	۴/۵^{b}
پنیر معمولی شاهد	۰	۵/۰^{a}	۴/۲^{b}	۴/۱^{b}	۴/۳^{b}
اسانس زیره در پنیر لاکتیکی	۰/۵	۵/۰^{a}	۵/۰^{a}	۲/۶^{d}	۴/۸^{ab}
	۱	۵/۰^{a}	۴/۵^{b}	۰/۰^{f}	۲/۵^{d}
	۲/۵	۵/۰^{a}	۴/۰^{bc}	۰/۰^{f}	۲/۱^{d}
عصاره زیره در پنیر لاکتیکی	۰/۵	۵/۰^{a}	۵/۰^{a}	۴/۹^{ab}	۵^{a}
	۱	۴/۷^{ab}	۵/۰^{a}	۴/۷^{ab}	۴/۸^{ab}
	۲/۵	۴/۳^{b}	۴/۷^{ab}	۳/۶^{c}	۴/۵^{b}
اسانس زیره در پنیر معمولی	۰/۵	۵/۰^{a}	۴/۸^{ab}	۲/۰^{e}	۴/۴^{b}
	۱	۵/۰^{a}	۴/۰^{b}	۰/۰^{f}	۲/۶^{d}
	۲/۵	۵/۰^{a}	۳/۱^{c}	۰/۰^{f}	۲/۰^{e}
عصاره زیره در پنیر معمولی	۰/۵	۴/۶^{ab}	۵/۰^{a}	۴/۴^{b}	۴/۵^{b}
	۱	۴/۳^{b}	۴/۹^{ab}	۴/۳^{b}	۴/۳^{b}
	۲/۵	۴/۰^{b}	۴/۸^{ab}	۴/۱^{b}	۴/۵^{b}

* در هر ستون اعداد با حروف کوچک مشابه اختلاف معنی داری از لحاظ آماری ندارند ($p>0.05$).

بحث

در این پژوهش تاثیر عصاره الکلی و اسانس زیره‌سیاه برعده‌ای از باکتری‌ها و کپک‌های رایج مورد بررسی قرارگرفت و مشاهده شد که اسانس و عصاره این گیاه اثرات ضد میکروبی قابل توجهی بر مهار این آنها در نمونه‌های پنیر نشان دادند. اسانس‌ها از ساخت DNA ، RNA، پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها در سلول‌های قارچی و باکتریایی جلوگیری می‌کنند (Bakkali et al., 2008; Atanda et al., 2007).

خصوصیات ضد میکروبی ترکیبات گیاهی بر طیف وسیعی از میکروب‌ها به اثبات رسیده است. ازجمله مطالعات انجام‌شده بر روی کپک‌ها و مخمرها می‌توان به‌موارد زیر اشاره‌کرد. توکلی‌پور و همکاران تأثیر عصاره مریم‌گلی و زیره‌سبز در جلوگیری از توکسین زایی قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* در مغزپسته بررسی کردند که نتایج آنها نشان داد برای عصاره مریم‌گلی مقادیر بالاتر از غلظت ۴۵۰۰ پی‌پی‌ام و برای عصاره زیره‌سبز غلظت‌های بیشتر از ۶۰۰۰ پی‌پی‌ام باعث جلوگیری از رشد کپک و تولید آفلاتوکسین در مغزپسته می‌شود (توکلی پور و همکاران، ۱۳۹۷). تحقیق دیگری نشان داد که تمام غلظت های مورد استفاده اسانس‌های مریم‌گلی و ریحان دارای اثر مهارکنندگی بر رشد *آسپرژیلوس فلاووس* بودنـد و این تاثیر دارای الگوی وابسته به دوز بـوده و با افزایش غلظت اسانس ها اثر مهارکنندگی افزایش می یابـد (عزیزخانی و همکاران، ۱۳۹۵). در بررسی دیگری که به‌منظور مقایسه اثر ضد قارچی ۵۲ گونه گیاهی علیه آفات قارچی گیاهی صورت‌پذیرفت، بیشترین اثر ضد قارچی، مربوط به زیره‌سیاه بود (Sekine et al., 2007).

تحقیقات مختلفی نیز بر اثرات ضدباکترائی ترکیبات گیاهی تاکیددارد ازجمله سلیمانی و همکاران اثرات مهاری زیره‌سیاه بر باکتری‌های استاندارد *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیاکلی*، *باسیلوس سرئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* را بررسی و مشاهده نمودند این اسانس بر ضد سویه‌های مورد بررسی اثر مهاری بسیار خوبی داشت و در مورد باکتری *اشرشیاکلی* حتی کمترین غلظت مورد استفاده (۰/۰۰۱۵ میلی گرم در میلی‌لیتر) هم اثر مهارکنندگی نشان‌داد (سلیمانی و همکاران، ۱۳۸۹). در مطالعه دیگری، اسانس سه گیاه دارویی شامل زنیان، زیره‌سیاه و زیره‌سبز برضد برخی از باکتری-های آلوده کننده موادغذایی مانند *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا منوسیتوژنز*، *باسیلوس سرئوس*، *اشرشیاکلی* $O_{157:H7}$ و *سالمونلا اینتریتیدیس* بررسی‌شد. نتایج نشان‌داد که اسانس زیره‌سیاه و زیره‌سبز وجود فعالیت سینرژیستی علیه باکتری‌های گرم مثبت و فعالیت افزایشی علیه باکتری‌های گرم منفی دارند (عروجعلیان و همکاران، ۱۳۸۹). همچنین در بررسی اثر ضدمیکروبی اسانس زیره‌سیاه بر روی ۹ سویه باکتری، به استثنای باکتری‌های *سودوموناس ائروجینوزا* و *سالمونلا تیفوموریوم*، اثر ضدمیکروبی قابل‌توجه اسانس زیره سیاه بر روی باکتری‌های گرم‌مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*) و باکتری‌های گرم‌منفی (*شیگلا فلکسنری*، *کلبسیلا پنومونی*، *سراشیا مارسسنس* و *اشرشیاکلی*) ثبت شد (Moghtader et al., 2009). مطالعه صورت‌گرفته توسط عطائی‌کاچوئی نیز مؤید اثرات ضدمیکروبی اسانس گیاهی زیره‌سیاه بر سویه‌های استاندارد *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیاکلی* و *سالمونلا تیفی موریوم* بود. نتایج آزمون‌های میکروبی نشان داد که اسانس و عصاره زیره سیاه باعث کاهش تعداد باکتری‌های *اشرشیا کلی* O_{157} بعد از ۲۸ روز نگهداری در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد شدند که این کاهش با غلظت اسانس و عصاره نسبت مستقیم داشت (Ataie Kachouei, 2016).

حضور بالای کومین‌آلدهید در زیره‌سیاه می‌تواند فعالیت ضد باکتریایی آن را توضیح‌دهد. همچنین اجزای فرعی اسانس و عصاره زیره سیاه مانند آلفا پینن و سابینن هم دارای فعالیت ضد میکروبی هستند. از طرفی عمل متوقف‌سازی رشد قارچ‌ها توسط اسانس‌ها به دلیل واکنش گروه آلدئیدی با گروه‌های سولفیدریل موثر در رشد قارچ‌ها صورت می‌گیرد (Iacobellis et al., 2005). بر اساس نتایج، اسانس زیره فعالیت ضدباکتریایی بیشتری در مقایسه با عصاره الکلی دارد که می‌توان اینطور توجیه‌کرد که اسانس نسبت به عصاره مواد موثره بیشتری دارا می‌باشد.

مقایسه تاثیر اسانس و عصاره زیره‌سیاه بر رشد سه باکتری مورد مطالعه در هر دو نوع پنیر نشان داد که تیمارهای مورد مطالعه تاثیر بیشتری بر کنترل رشد *اشرشیاکلی* نسبت به دو باکتری دیگر در پنیرلاکتیکی نشان‌دادند. درکل، گزارش شده که باکتری‌های گرم‌منفی حساسیت کمتری در مقایسه با باکتری‌های گرم‌مثبت در برابر اسانس‌ها دارند اما در این مطالعه بیشترین خاصیت ضد میکروبی اسانس زیره بر علیه باکتری *اشرشیاکلی* O_{157} در پنیرلاکتیکی بود. در مطالعه چلبیان و همکاران (۲۰۰۳) نیز اسانس بومادران اثر مهاری قوی‌تری بر باکتری *اشرشیاکلی* نسبت به *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان‌داد (Chalabian et al., 2003).

براساس نتایج این مطالعه، اسانس و عصاره زیره از خاصیت ضد لیستریایی برخوردار بوده‌است. نتایج مشابه از مطالعات مختلف در این خصوص حاصل شده‌است ازجمله پالمر و همکاران اثرات اسانس برگ بو، میخک، دارچین و آویشن را در غلظت های ۰/۱ و ۱ درصد در پنیرهای نرم علیه *لیستریا مونوسیتوژنز* در طی ۱۴ روز بررسی کردند که هر چهار اسانس در غلظت ۰/۱ درصد سبب کاهش تعداد باکتری شد (Smith et al., 2001). مشاک و همکاران نیز با کاربرد اسانس آویشن شیرازی در پنیر، کاهش معنی‌داری در تعداد باکتری *لیستریا* در

مقایسه با نمونه‌های فاقد اسانس آویشن مشاهده نمودند. در مطالعه ایشان نیز میزان رشد باکتری همگام با افزایش غلظت اسانس به‌کار برده شده کاهش‌یافت (مشاک و همکاران، ۱۳۸۷). در بررسی دیگری، تاثیر چهار اسانس زیره، میخک، دارچین و آویشن به‌عنوان یک نگهدارنده غذایی طبیعی در پنیرهای نرم با چربی‌کم و زیاد علیه *لیستریا منوسیتوژنز* و *سالمونلا انتریتیدیس* در دماهای ۴ و ۱۰ درجه سانتی‌گراد در طی ۱۴ روز مورد بررسی قرارگرفت. در پنیر با چربی کم هر چهار اسانس طبیعی در غلظت یک درصد باعث کاهش رشد *لیستریا منوسیتوژنز* تا کمتر از یک کلنی در هر گرم شدند، در مقابل در پنیر با چربی زیاد اسانس میخک تنها اسانسی بود که باعث کاهش مشابه شد (Smith et al., 2001). تعداد باکتری‌های هدف و همچنین شمارش‌کلی کپک‌ومخمر در پایان دوره در پنیرلاکتیکی حاوی عصاره و اسانس زیره نسبت به پنیرمعمولی کمتر بود. علت جمعیت کپک و مخمر کمتر در نمونه های پنیر لاکتیکی نسبت به پنیر معمولی، وجود باکتری های لاکتیکی در این نمونه ها می باشد که با رقابت کردن با کپک و مخمر جلوی رشد آنها را می گیرند. به‌علاوه این موضوع نشانگر اثر تجمعی خاصیت ضدمیکروبی زیره‌سیاه و باکتری‌های‌لاکتیک می‌باشد. عباسی‌فر و همکاران (۲۰۰۹) اثرات سینرژیستی بین اسانس آویشن‌شیرازی و باکتری‌های استارتر علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا مونوسیتوژنز* در پنیر سفید ایرانی را مشاهده‌کردند (Abbasifar et al., 2009). در مطالعه رودریگز و همکاران (۲۰۰۵) نیز اثر ضدمیکروبی باکتری‌های *لاکتوکوکوس لاکتیس* موجود در استارتر پنیر، بر مهار رشد باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *اشرشیاکلی* در مقایسه با پنیرهای فاقد استارتر آورده شده است (Rodriguez et al., 2005). همچنین فعالیت ضد میکروبی استارترها به‌واسطه توانایی کاهش مقادیرpH ناشی‌از تولید اسیدلاکتیک، رقابت برای مصرف ماده‌غذایی و تولید مواد باکتریوسیدال یا باکتریواستاتیک ازجمله باکتریوسین‌ها یا پراکسید هیدروژن به اثبات رسیده‌است (Rodriguez et al., 2009).

تیمارهای حاوی ۰/۵درصد عصاره زیره از نظر طعم و مزه، همه غلظت‌های اسانس، غلظت ۰/۵ درصد عصاره و تیمار شاهد از لحاظ رنگ، تیمارهای ۰/۵ درصد اسانس، ۰/۵ و یک درصد عصاره از لحاظ بو بالاترین امتیازات را کسب کردند و از نظر پذیرش کلی تیمار حاوی ۰/۵ درصد عصاره زیره بیشتر مورد پذیرش قرار گرفت. نتایج به‌دست آمده از آزمون حسی نشان داد که هر چند غلظت‌های ۲/۵ درصد زیره دارای خاصیت ضدقارچی بسیار خوبی بودند اما غلظت‌های بالا امتیازات اندکی در ارزشیابی خواص حسی کسب نمودند و اکثر ارزیاب‌ها غلظت‌های بالای اسانس را به‌دلیل تلخ‌مزه بودن و بوی تند نپذیرفتند. نتایج مشابه در این خصوص در مطالعه دیگر انواع اسانس‌ها قابل مشاهده است به‌عنوان مثال عباسی فر و همکاران (۱۳۸۶) گزارش کردند حداقل غلظت مورد نیاز جهت ایجاد اثرات ضدمیکروبی و ضدقارچی باید مورد استفاده قرار گیرد زیرا استفاده از اسانس‌ها در غلظت‌های بالا بر روی کیفیت پنیر تأثیر گذاشته و نگرانی‌هایی را در مورد تغییر در خواص حسی به وجود می آورد (عباسی فر و همکاران، ۱۳۸۶). در مطالعه احسانی و همکاران نیز، نتایج ارزیابی حسی نمونه های پنیر حاوی اسانس‌های موسیر و بادیان رومی نشان‌داد که تیمار ۰/۲۵ درصد اسانس موسیر از بالاترین قابلیت پذیرش حسی برخوردار بود و با افزایش غلظت اسانس‌ها پذیرش حسی محصول کاهش یافت (احسانی و همکاران، ۱۳۹۰). همچنین ارزیابی تاثیر اسانس دو نوع لیمو و اسانس مریم‌گلی و نیز ترکیب اسانس‌ها (کمتر از ۰/۵ درصد) با هم بر پذیرش‌کلی پنیر موزارلا نشان‌داد که زمانی‌که اسانس‌های گیاهی در مدل‌های غذایی مثل پنیر به‌کار می‌روند مقدار اسانس مورد نیاز جهت بهره‌گیری از

فعالیت ضدقارچی آن قابل توجه است ولی می‌تواند بر خصوصیات حسی فرآورده نیز اثر نامطلوب بگذارد به‌طوری‌که غلظت‌های بکارگرفته‌شده در این تحقیق هرچند دارای خاصیت ضدقارچی بسیارخوبی بودند اما غلظت‌های بالا، امتیازات اندکی در ارزشیابی خواص‌حسی کسب نمودند و اکثر ارزیاب‌ها غلظت‌های بالای اسانس را به‌دلیل تلخ مزه بودن و بوی تند و شدید نپذیرفتند (Gammariello et al., 2010).

نتیجه‌گیری کلی

در مطالعه حاضر نشان داده‌شد که اسانس و عصاره الکلی زیره‌سیاه ضمن ایجاد اثرات مهاری بر رشد سه باکتری رایج بیماریزا در پنیر یعنی *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *اشرشیاکلی* و همچنین کنترل رشد کپک‌های ساپروفیت معمول موادغذایی یعنی *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس نایجر* در این فراورده لبنی پرمصرف، موجب حمایت از رشد و زنده‌مانی طولانی‌تر باکتری‌های‌لاکتیک در پنیرلاکتیکی به‌عنوان یک محصول غذایی فراسودمند می‌شود. باوجود اینکه اثرات ضدمیکروبی با افزایش غلظت زیره‌سیاه افزایش یافت، خواص حسی پنیر در غلظت‌های بالاتر از یک درصد زیره نامطلوب بود لذا درکل استفاده از غلظت یک‌درصد اسانس زیره سیاه به‌عنوان جایگزین نگهدارنده‌های سنتزی برای کنترل رشد میکروب‌های مورد مطالعه بخصوص *اشرشیاکلی* O_{157} و *آسپرژیلوس فلاووس* در پنیرلاکتیکی، پیشنهاد می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان هیچگونه تعارض منافعی ندارند.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از سرکار خانم دکتر صالحی‌مقدم که در مراحل آزمایشگاهی و فنی این تحقیق یاری نموده‌اند تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

۱. احسانی، علی.، محمودی، رزاق.، زارع، پیمان. و حسنی، عباس. (۱۳۹۰). ترکیب شیمیایی و اثرات ضدمیکروبی اسانس های روغنی گیاهان موسیر و بادیان رومی علیه لیستریا مونوسیتوژنز در پنیر سفید آب نمکی. پژوهش های صنایع غذایی، دوره۲۱، شماره۳، صفحه: ۳۲۸ – ۳۱۷.

۲. بنیادیان، مجتبی.، مشتاقی، حمدالله.، شمس اسفندآبادی، ناصر.، زهرایی صالحی، تقی. و فردیپور، آزاده. (۱۳۸۶). مطالعه میزان آلودگی شیرهای خام استان چهارمحال و بختیاری به باکتری اشریشیا کلی O_{157}، مجله دامپزشکی ایران، دوره ۳، شماره ۲، صفحه ۱۱-۵.

۳. بنیادیان، مجتبی.، خلیلی صدرآباد، الهام.، عسکری، الهه. و پورمقدس، محسن. (۱۳۹۳). بررسی تأثیر عصاره روغنی گیاه نعنا بر روی رشد و بقای برخی از باکتری‌های بیماری زای غذایی، بهداشت مواد غذایی، دوره ۴، شماره۲، صفحه ۶۱-۵۳.

۴. توکلی پور، حمید.، جوانمرد داخلی، مجید. و زبرجانی، لیلا. (۱۳۹۷). مقایسه تأثیر عصاره مریم گلی و زیره سبز در جلوگیری از توکسین زایی قارچ آسپرژیلوس فلاووس در مغز پسته. نشریه‌ی نوآوری در علوم وفناوری غذایی، دوره۱۰، شماره۲، صفحه: ۴۲-۳۷.

۵. حسینی، مرضیه.، نجفی، محمدباقر. و محبی، محبت. (۱۳۹۲). ارزیابی ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و حسی پنیر تقلیدی حاوی کنسانتره‌ی پروتئینی آب پنیر و پنیر اصلاح شده‌ی آنزیمی لیقوان. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، دوره۸، شماره۲، صفحه ۱۰۲-۹۱.

۶. داردرفشی محمدجواد.، بهرامی غلامرضا.، صادقی احسان.، خان احمدی معصومه.، محمدی، میترا. و محمدی رضا. (۱۳۹۲). تأثیر اسانس گیاه چویر بر رشد استافیلوکوکوس اورئوس در طی تولید و نگهداری پنیر سفید ایرانی. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، دوره۸، شماره۴، صفحه ۲۰-۱۳.

۷. سلیمانی، ندا.، ستاری، مرتضی.، سپهری سرشت، سعید.، دانشمندی، سعید. و درخشان، صفورا. (۱۳۸۹). ارزیابی اثرات متقابل داروئی و اثرات ضدباکتریایی زیره سیاه بر ضد تعدادی از باکتری های گرم مثبت و گرم منفی. مجله میکروب شناسی پزشکی ایران، دوره۴، شماره۱، صفحه: ۳۴-۲۶.

۸. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۶). شمارش واحدهای تشکیل دهنده کلنی کپک/ و یا مخمر- شمارش کلنی در پلیت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد. استاندارد شماره ۱۰۱۵۴

۹. صادقی، احسان.، آخوندزاده بستی، افشین.، میثاقی، علی.، زهرایی صالحی، تقی. و بهلولی اسگویی، سمیه. (۱۳۸۹). ارزیابی آثار اسانس زیره سبز وپروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بر رشد استافیلوکوکوس اورئوس در پنیر سفید ایرانی. فصلنامه گیاهان دارویی، دوره ۲، شماره ۳۴، صفحه ۱۴۱-۱۳۱.

۱۰. صامتی، صدریه. و فدایی نوغانی، وجیهه. (۱۳۹۴). مطالعه اثر پودر کرفس کوهی بر برخی از ویژگی‌های میکروبی و حسی پنیر محلی بروجرد. مجله بهداشت مواد غذایی. دوره ۵، شماره۲، صفحه ۷۰-۶۱.

۱۱. طاهرخانی، پگاه.، نوری، نگین.، آخوندزاده بستی، افشین.، گندمی نصرآبادی، حسن.، علی محمدی، محمود. (۱۳۹۴). ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی اسانس زیره سیاه کرمانی در سامانه پنیر گودا. نشریه گیاهان دارویی، دوره ۲، شماره۵۴، صفحه ۸۵-۷۶.

۱۲. عباسی فر، آرش.، آخوند زاده بستی، افشین.، کریم، گیتی.، میثاقی، علی.، بکایی، سعید.، گندمی، حسن.، جبلی جوان، اشکان.، حامدی، حسن. و ساری، عباسعلی. (۱۳۸۶). ارزیابی اثر اسانس آویشن شیرازی بر رفتار استافیلوکوکوس اورئوس در پنیر فتا. فصلنامه گیاهان دارویی، دوره۵، شماره۱، صفحه: ۱۱۵-۱۰۵.

۱۳. عروجعلیان، فاطمه.، کسری کرمانشاهی، روحا.، عزیزی باسامی، محمدرضا. (۱۳۸۹). بررسی اثر ضد باکتریایی و خاصیت سینرژیستی اسانس سه گیاه دارویی علیه برخی از پاتوژن‌های مهم مواد غذایی به روش میکرودایلوشن. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، دوره۲۶، شماره۲، صفحه: ۱۴۶-۱۳۳.

۱۴. عزیزخانی، مریم.، توریان، فهیمه. و بریری مریم. (۱۳۹۵). بررسی تاثیر اسانس‌های ریحان و مریم‌گلی کبیر بر رشد لیستریا مونوسیتوژنز و آسپرژیلوس فلاووس در پنیر سفید ایرانی. نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، دوره۱۲، شماره۲، صفحه ۲۹۵-۲۸۶.

۱۵. عطایی، مریم.، آخوندزاده بستی، افشین.، زهرایی صالحی، تقی.، حسینی، هدایت.، گندمی نصرآبادی، حسن.، نوری، نگین.، خنجری، علی.، طاهری میرقائد، علی.، محمدخان، فاطمه. و فقیه فرد، پیمان. (۱۳۹۲). بررسی اثر ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی بر منحنی رشد و تولید شیگا توکسین۲ باکتری اشرشیا کلی O_{157}. مجله گیاهان دارویی، دوره ۱۲، شماره ۴، صفحه ۷۱-۶۲.

۱۶. فاکس، پاتریک.، گاینی، تیموتی.، کوگان، تیبوتی. و سوییینی، پائول. (۱۳۹۶). مبانی علم پنیر. ترجمه: فدائی، وجیهه و پوراحمد، رضوان. چاپ اول، انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس، صفحه ۲۱۶-۱۷۲.

۱۷. فضل آرا، علی.، صادقی، احسان. و رستمی سلیمانی، پگاه. (۱۳۹۱). مطالعه تاثیر ضد باکتریایی اسانس گیاه زیره سبز بر باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در پنیر سفید ایرانی. مجله علوم و صنایع غذایی، دوره ۳۵، شماره ۳، صفحه ۴۴-۳۵.

۱۸. کلانتری پور، آیدا. و حنیفیان، شهرام. (۱۳۹۶). لیستریاهای جداسازی شده از پنیرهای سنتی منطقه تبریز: فراوانی، تنوع گونه ای و ویژگی های فنوتیپی. نشریه میکروب شناسی مواد غذایی، دوره ۴، شماره۲، صفحه ۹۶-۸۳.

۱۹. لشگری، حنان.، خسروشاهی اصل، اصغر.، گلکاری، حجت اله.، اشرفی یورقانلو، رقیه. و ظهری، مریم.

(۱۳۸۷). بررسی امکان تولید پنیر سفید ایرانی کم چربی و بهینه سازی ویژگی های آن با استفاده از صمغ عربی و گوار. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، دوره۳، شماره۳، صفحه ۱۰-۱.

۲۰. مشاک، زهره.، مرادی، بیژن.، آخوندزاده‌بستی، افشین.، عباسی‌فر، آرش. و گندمی، حسن. (۱۳۸۷). مطالعه رفتار باکتری لیستریامونوسیتوژنز در طی روند تولید پنیر سفید ایرانی تحت تاثیر اسانس آویشن شیرازی. فصلنامه علمی پژوهشی گیاهان دارویی، دوره۲۹، شماره۴، صفحه ۱۲۲-۱۱۴.

۲۱. وزیری، سمیرا و نوروزی، مرضیه. (۱۳۹۰). بررسی میزان آلودگی پنیرهای محلی لیقوان تبریز به کلی فرم ها و اشرشیاکلی در شهر مراغه. مجله میکروب شناسی پزشکی ایران، دوره ۷، شماره ۲، صفحه ۲۸-۲۳.

22. Abbasifar, A. Akhondzadeh Basti, A., Karim, G. Bokaie, S., Abbasifar, R., Villa, A.A., Misaghi, A., Jamshidi, A.H., Gandomi, H. and Jebelli Javan, A. 2009. Effect of Zataria multiflora Boiss. essential oil and starter culture on Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes during the manufacture, ripening, and storage of white brined cheese. Milchwissenschaft. 64(4): 438-442.

23. AL-Jabri, N.N. and Hossain, M.A. 2014. Comparative chemical composition and antimicrobial activity study of essential oils from two imported lemon fruits samples against pathogenic bacteria. Beni-Suef Univ J. Basic Appl. Sci. 3(4): 247-253.

24. Ataie Kachouei, M. 2016. Study the antimicrobial effects of the essential oils of Origanum vulgare, Mentha piperita and Carum carvi on the bacteria isolates from food stuffs. Food Microbiol. 3(1): 1-10.

25. Atanda, O.O. Akpan, I. and Oluwafemi, F. 2007. The potential of some spice essential oils in the Control of A. parasiticus and aflatoxin production. Food Control. 18:601-608.

26. Azimzadeh, M. 2009. Genetic assessment of Iranian Bunium persicum Boiss. using ITS. Iranian journal of rangelands and forests plant breeding and genetic research, 22(1): 1-10.

27. Bakkali, f., Daomar, D. Averbeck, S. and Averbeck, B. 2008. Biological effects of essential oils- A review. Food Chem. Toxicol. 46: 446-457.

28. Bassole, I.H. and Juliani, H.R. 2012. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. Molecules. 17(4): 3989-4006.

29. Chalabian, F. Norouzi, A.H. and Moosavi, S. 2003. A study of growth inhibitory effect of essential oils of seven species from different families on some kinds of microbes. J. Med. Plant. 2(7): 37-42.

30. Chan, C.X., Beiko R.G. and Ragan M.A. 2011. Lateral transfer of genes and gene fragments in Staphylococcus extends beyond mobile elements. J. Bacteriol., 193(15): 3964–3977.

31. Church, D.L., Emshey, D., Semeniuk, H., Lloyd, T. and Pitout, J.D. 2007. Evaluation of BBL CHROMagar O_{157} versus Sorbitol-MacConkey Medium for Routine Detection of Escherichia coli O_{157} in a Centralized Regional Clinical Microbiology Laboratory. J. clin. Microbiol. 45(9): 3098-3100.

32. Dave, R.I. and Shah, N.P. 1998. Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. J. dairy sci. 81: 2804-2816.

33. Gammariello, D., Conte, A., Attanasio, M. and Alessandro, M. 2010. Study on the combined effects of essential oils on microbiological quality of Fior di Latte cheese. J. Dairy Res. 77(2): 144-150.

34. Gandomi, H., Misaghi, A., Akhondzadeh Basti, A., Bokae, H., Abasifar, A. and Jebelli Javan, A. 2009. Effect of zataria moltiflora boiss essential oil on growth and aflatoxin formation by Aspergilus flavus in media and cheese. Food Chem. Toxicol. 47(1): 2397-2400.

35. Hedayati, M.T., Pasqualotto, A.C., Warn, P.A., Bowyer, P. and Denning, D.W. 2007. Aspergillus flavus: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. Microbiology. 153(6): 1677-1692.

36. Iacobellis, N.S., Cantore, P.L, Capasso, F. and Senatore, F. 2005. Antibacterial activity of Cuminum cyminum L. and Carum carvi L. essential oils. J. Agric. Food Chem. 53(1): 57-61.

37. Millet, L., Saubusse, M., Didienne, R., Tessier, L. and Montel, M.C. 2006. Control of Listeria monocytogenes in raw-milk cheeses. Int. J. Food Microbiol. 108(1):105-114.

38. Moghtader, M., Mansori, A., Salari, H. and Farahmand, A. 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Bunium persicum Boiss. Seed. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 25(1): 20 -28.

39. Nadeem, M. and Riaz, A. 2012. Cumin (Cuminum cyminum) as a potential source of antioxidants. Pakistan J. Food Sci. 22(2): 101-107.

40. Oksuz O., Arici M., Kurultay S. and Gumus T. 2004. Incidence of Escherichia coli O157 in raw milk and white pickled cheese manufactured from raw milk in Turkey. Food Control. 15: 453-456.

41. Pour seyedi, S. 1994. Assessment of germination and cytology of three Iranian caraway genus: Bunium, Carum and Cuminum. Iranian journal of biotechnology. 6(1): 11-19.

42. Robinson, R.K. 2002. Microbiology of Soft Cheeses. In: Dairy Microbiology Handbook. 3rd Edition, Jon Wiley and Sons, New York, pp. 479-510.

43. Rodriguez, E., Calzada, J., Arques, J.L., Rodriguez, J.M., Nunez, M. and Medina, M. 2005. Antimicrobial activity of pediocin-producing Lactococcus lactis on Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus and Escherichia coli O157:H7 in cheese. Int. Dairy J. 15: 51-57.

44. Rodriguez, E., Gaya, P., Nunez, M. and Medina, M. 2009. Inhibitory activity of a nisin-producing starter culture on Listeria innocua in raw ewe's milk Manchego cheese. Int. J. Food Microbiol. 39: 129- 132.

45. Sekine, T., Sugan, O.M., Azizi, M. and Fujii, Y. 2007. Antifungal effect of volatile compounds from Buninum persicum and other species and herbs. J. Chem. Ecol. 33: 2123-2132.

46. Smith, P., Stewart, J. and Fyfe, L. 2001. The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. Food Microbiol. 18: 463-470.

47. Tharmaraj, N. and Shah, N.P. 2009. Antimicrobial effects of probiotic bacteria against selected species of yeasts and molds in cheese-based dips. Int. J. Food Sci. Technol. 44: 1916-1926.

A study of antimicrobial effects of alcoholic extract and essential oil of caraway (*Bunium persicum* Boiss) on selected species of bacteria and molds in lactic cheese

Ali Mohammad Zadeh M[1], Ali Doust M[1], Khandaghi J[2*]

1. Graduates of Food Science and Technology, Sarab Branch, Islamic Azad University, Sarab, Iran.

2. Department of Food Science and Technology, Sarab Branch, Islamic Azad University, Sarab, Iran.

[*]**Corresponding author:** *khandaghi@iausa.ac.ir*

Received: 30 December 2019 Accepted: 28 March 2020

Abstract

The detrimental effects of chemical preservatives and the tendency of consumers to use foods without preservatives or with natural preservatives have increased the use of natural antimicrobial compounds, including plant essential oils and extracts in food industries. Considering the numerous antimicrobial properties of Caraway (*Bunium persicum* Boiss) and the assumption that its use in lactic cheese increases the shelf life of a product with an acceptable aroma and flavor, in this study the effects of essential oil and alcoholic extract of Caraway on the growth of *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O_{157}, *Aspergillus flavus*, and *Aspergillus niger* as well as total counts of mold and yeast were evaluated. Also, its effect on total counts of LABs and sensory properties of cheese was studied. Results showed that this plant was able to delay microbial growth. Caraway showed a more inhibitory effect on the studied microbes in lactic cheese and the antimicrobial activity of the essential oil was higher than the extract so that at the end of storage samples containing 1% essential oil had the lowest count of the target microbes. Comparison of the effect of essential oil and extract on the growth of the studied microbes showed that the Caraway had more effect on the growth control of *Aspergillus flavus* and *Escherichia coli* O157 in lactic cheese. In the case of lactic acid bacteria, as the shelf life increased, the number of bacteria decreased in the cheese, and decreasing was greater in the control samples.

Keywords: lactic cheese, caraway, bacteria, mold.