

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گیلان

دانشکده صنایع غذایی

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد (M.Sc)
رشته مهندسی علوم و صنایع غذایی

ارزیابی اثرات ضدقارچی و حجم‌دهندگی عصاره رازک در خمیر و نان حجیم

پژوهش و نگارش

مرضیه محمدی

اساتید راهنما

دکتر مرتضی خمیری

دکتر سیده‌های رضوی

استاد مشاور

دکتر مهران اعلمی

بهمن‌ماه ۱۳۹۱

تعهدنامه پژوهشی

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان مبین بخشی از فعالیت های علمی- پژوهشی بوده و همچنین با استفاده از اعتبارات دانشگاه انجام می‌شود، بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش‌آموختگان این دانشگاه نسبت به موارد زیر متعهد می‌شوند:

۱) قبل از چاپ پایان‌نامه (رساله) خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه اطلاع داده و کسب اجازه نمایند.

۲) در انتشار نتایج پایان‌نامه (رساله) در قالب مقاله، همایش، اختراع و اکتشاف و سایر موارد ذکر نام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان الزامی است.

۳) انتشار نتایج پایان‌نامه (رساله) باید با اطلاع و کسب اجازه از استاد راهنما صورت گیرد.

اینجانب **مرضیه محمدی** دانشجوی رشته **مهندسی علوم و صنایع غذایی** مقطع **کارشناسی ارشد**، تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده و به آن ملتزم می‌شوم.

تقديم

تقدیر و شکر

حمد و سپاس بی‌کران خداوندی را که سخوران از ستودن او عاجز، حسابگران از شمارش نعمت‌های او ناتوان و تلاشگران از ادای حق او درمانده‌اند، و درود و صلوات بر خاتم انبیاء، حضرت محمد صلی الله علیه و آله و سلم و خاندان پاکش علیم السلام.

در آغاز بردستان مادر و پدرم که مراسم زندگی آموختند بوسه می‌زنم و از همسر مهربانم به پاس حمایت‌های بی‌دینش شکر می‌کنم، پس بر خود لازم می‌دانم مطابق فرمایش کعبه‌بار «من لم یسکر المخلوق، لم یسکر الخالق»، از بزرگوارانی که در انجام پژوهش حاضر مرایاری کرده‌اند، شکر و سپاسگزاری نموده و از درگاه احدیت توفیق روزافزون ایشان را مسئلت نمایم.

از جناب آقای دکتر مرتضی خمیری و جناب آقای دکتر سید مهدی رضوی، اساتید راهنمای بزرگوارم که با اخلاق نیکو و سعه صدر در تمام مراحل انجام پژوهش مرایاری نمودند، شکر و قدر دانی می‌نمایم.

از استاد مشاور ارجمندم جناب آقای دکتر مهران علمی به خاطر راهنمایی ارزنده‌شان سپاسگزارم.

از جناب آقای دکتر نجفی مقصود و جناب آقای دکتر علیرضا صادقی که داوری پایان نامه را پذیرفتند شکر می‌کنم.

از یارانه محترم تحصیلات تکمیلی، جناب آقای دکتر علیرزاده که زحمت هدایت جلسه را قبل فرمودند، کمال شکر را دارم.

از همه دوستان و بزرگوارانی که یافته‌های پژوهش حاصل به‌کارهای‌های دل‌سوزانه آنان است، و بدون به‌کاری آن‌ها انجام این پژوهش میسر نبود، به ویژه آقای دکتر محمد مهدی سلیمانی و آقای دکتر فرهاد نیک‌نژاد بسیار ممنونم.

چکیده

رازک (*Humulus lupulus L.*) متعلق به خانواده شاهدانه است. این گیاه به دلیل دارا بودن آلفا-هومولن و بتا-هومولن اثرات ضد میکروبی دارد، لذا کاربرد آن در فرمولاسیون نان می‌تواند ماندگاری نان را افزایش دهد. در این پژوهش، عصاره گل رازک به‌منظور مطالعه اثرات آن روی ماندگاری نان، در فرمولاسیون نان حجیم استفاده شد. نخست، اثرات ضد میکروبی عصاره در برابر *Bacillus cereus*، *Salmonella enteritidis*، *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*، *Bacillus subtilis*، *Aspergillus flavus*، *Aspergillus niger*، *Saccharomyces cerevisiae*، *Lactobacillus delbrueckii* در محیط کشت بررسی شد. طبق فعالیت ضد میکروبی آن، غلظت‌های مختلف عصاره به خمیر نان اضافه شد و اثرات آن روی ویژگی‌های تکنولوژیکی و میکروبی محصول مطالعه شد. نتایج نشان داد که تا غلظت ۱۵۰۰۰ ppm، هیچ‌گونه اثر بازدارندگی بر رشد *S. cerevisiae*، *S. aureus* و *E. coli* نداشته در حالی که از رشد همه کپک‌ها و دیگر باکتری‌ها جلوگیری شد. در آزمون فارینوگرافی، عصاره گل رازک جذب آب خمیر را افزایش داد. آزمون اکستنسوگرافی نشان داد که عصاره مقاومت به کشش را افزایش داد در حالی که کشش‌پذیری نمونه‌های خمیر کاهش یافت. حجم قرص نان با افزایش غلظت عصاره به‌طور مثبت تحت تأثیر قرار گرفت. البته غلظت‌های بالاتر عصاره سفتی نمونه‌های نان را افزایش داد. براساس آزمون‌های رنگ‌سنجی، نان‌های تیمار شده با عصاره رنگ سطح مقطع روشن‌تری نسبت به نمونه‌های شاهد داشتند. نتایج مطالعات میکروبی نمونه‌های نان نشان داد که غلظت ۰/۲۹٪ (براساس وزن آرد) از عصاره توانست ماندگاری نان را تا دو برابر نسبت به نمونه شاهد افزایش دهد. این نتیجه به‌دست آمد که غلظت‌های معین از عصاره گل رازک می‌تواند برای استفاده در فرمولاسیون نان حجیم مفید واقع شود.

واژه‌های کلیدی: عصاره گل رازک، اثرات ضد میکروبی، نان، رئولوژی، خمیر

.....	فصل اول- مقدمه و کلیات
.....	۱- مقدمه و کلیات
.....	۱-۱- گیاه‌شناسی گیاه رازک
.....	۲-۱- پراکندگی
.....	۳-۱- اکولوژی، شرایط کشت و برداشت
.....	۴-۱- ترکیبات شیمیایی
.....	۵-۱- خواص دارویی
.....	۶-۱- توکسیکولوژی
.....	۷-۱- احتیاط مصرف
.....	۸-۱- استفاده در طب سنتی
.....	۹-۱- موارد استفاده خوراکی
.....	۱۰-۱- نان
.....	۱۱-۱- مصرف و ارزش غذایی نان در ایران و جهان
.....	۱۲-۱- انواع نان
.....	۱۳-۱- فساد میکروبی نان
.....	۱۴-۱- فرضیه‌ها
.....	۱۵-۱- اهداف
.....	فصل دوم- مروری بر پژوهش‌های پیشین
.....	۲- بررسی منابع
.....	۱-۲- کلیات
.....	۲-۲- عوامل ضد میکروبی طبیعی
.....	۳-۲- روش‌های آزمایشگاهی تعیین فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌ها
.....	۴-۲- بررسی فعالیت ضد میکروبی در سیستم‌های غذایی
.....	۵-۲- مطالعات انجام شده بر روی رازک

فهرست مطالب

صفحه

عنوان

..... فصل سوم- مواد و روش ها	
..... ۳- مواد و روش ها	
..... ۳-۱- دستگاه ها و مواد مورد استفاده	
..... ۳-۲- آزمون های میکروبی	
..... ۳-۲-۱- فعال سازی سویه های میکروبی	
..... ۳-۲-۲- روش تهیه محیط کشت ها	
..... ۳-۲-۳- نگهداری سویه های میکروبی	
..... ۳-۲-۴- روش تهیه و نگهداری عصاره اتانولی گل رازک	
..... ۳-۲-۵- تهیه غلظت های مختلف عصاره	
..... ۳-۲-۶- تهیه کشت تازه (در فاز لگاریتمی) از میکروارگانیسم ها	
..... ۳-۲-۷- تهیه سوسپانسیون ۱ مک فارلند	
..... ۳-۲-۸- تهیه سوسپانسیون میکروبی	
..... ۳-۲-۹- ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره با استفاده از روش آزمون حساسیت رقت های مایع ...	
..... ۳-۲-۹-۱- فعالیت ضدباکتریایی	
..... ۳-۲-۹-۲- فعالیت ضدقارچی	
..... ۳-۳- بررسی اثر عصاره بر خمیر و نان حجیم	
..... ۳-۳-۱- مواد اولیه	
..... ۳-۳-۴- روش تهیه نمونه های مختلف نان	
..... ۳-۳-۵- آزمون های رئولوژیکی خمیر	
..... ۳-۳-۵-۱- آزمون فارینوگرافی خمیر	
..... ۳-۳-۵-۲- آزمون اکستنسوگرافی خمیر	
..... ۳-۳-۶- آزمون های نان	
..... ۳-۳-۶-۱- اندازه گیری رنگ	
..... ۳-۳-۶-۲- اندازه گیری حجم	
..... ۳-۳-۶-۳- ارزشیابی کیفیت نان	

.....	۱-۳-۶-۳-۳	روش ارزیابی حسی
.....	۲-۳-۶-۳-۳	سنجش میزان سفتی نان (بیاتی)
.....	۴-۶-۳-۳	بسته‌بندی نان
.....	۷-۳-۳	بررسی اثر نگهدارندگی عصاره در نان
.....	۸-۳-۳	روش آماری تحلیل داده‌ها

فصل چهارم- نتایج و بحث

.....	۴-۴	نتایج و بحث
.....	۱-۴-۴	نتایج تعیین MIC
.....	۲-۴-۴	آزمون‌های نان
.....	۱-۲-۴-۴	اثر عصاره رازک بر ویژگی‌های رئولوژیکی خمیر
.....	۱-۱-۲-۴-۴	اثر عصاره رازک بر ویژگی‌های فارینوگرافی خمیر
.....	۲-۱-۲-۴-۴	اثر عصاره رازک بر ویژگی‌های اکستنسوگرافی خمیر
.....	۲-۲-۴-۴	اثر عصاره رازک بر ویژگی‌های فیزیکی نان
.....	۱-۲-۲-۴-۴	اثر عصاره رازک بر ویژگی‌های رنگ‌سنجی
.....	۲-۲-۲-۴-۴	حجم نان
.....	۳-۲-۲-۴-۴	ارزیابی حسی نان‌ها
.....	۴-۲-۲-۴-۴	سنجش میزان سفتی نان (بیاتی)
.....	۳-۲-۴-۴	آزمون‌های میکروبی نان
.....	۳-۴-۴	نتیجه‌گیری کلی
.....	۴-۴-۴	پیشنهادات
.....	۱-۴-۴-۴	پیشنهادات اجرایی
.....	۲-۴-۴-۴	پیشنهادات پژوهشی
.....		منابع

فهرست جداول

صفحه

عنوان

جدول ۳-۱- دستگاه‌های مورد استفاده در آزمایشات.....	
جدول ۳-۲- مواد شیمیایی مصرفی برای انجام آزمون‌های میکروبی.....	
جدول ۴-۱- MIC رقت‌های مختلف عصاره رازک بر باکتری‌ها.....	
جدول ۴-۲- MIC رقت‌های مختلف عصاره رازک بر کپک‌ها.....	
جدول ۴-۳- MFC عصاره رازک بر روی کپک‌ها.....	
جدول ۴-۴- مقایسه میانگین نتایج آزمون فارینوگرافی خمیر حاوی غلظت‌های مختلف عصاره رازک.....	
جدول ۴-۵- مقایسه میانگین نتایج آزمون اکستنسوگرافی خمیر حاوی از غلظت‌های مختلف عصاره رازک....	
جدول ۴-۶- مقایسه میانگین رنگ‌سنجی نان‌های حاوی غلظت‌های مختلف عصاره رازک.....	
جدول ۴-۷- مقایسه میانگین نتایج جرم، حجم و ویژه نان‌های حاوی غلظت‌های مختلف عصاره رازک ...	
جدول ۴-۸- مقایسه میانگین نتایج جرم، حجم و ویژه نان‌های حاوی درصدهای مختلف عصاره رازک....	
جدول ۴-۹- مقایسه میانگین ارزیابی حسی نان‌های حاوی غلظت‌های مختلف عصاره رازک.....	
جدول ۴-۱۰- مقایسه میانگین ارزیابی حسی نان‌های حاوی درصدهای مختلف عصاره رازک.....	
جدول ۴-۱۱- مقایسه میانگین نتایج بیاتی نان‌های حاوی غلظت‌های مختلف عصاره رازک.....	
جدول ۴-۱۲- مقایسه میانگین نتایج بیاتی نان‌های حاوی درصدهای مختلف عصاره رازک.....	
جدول ۴-۱۳- نتایج حاصل از کشت نمونه‌های نان مورد آزمون.....	
جدول ۴-۱۳- نتایج حاصل از کشت نمونه‌های نان مورد آزمون.....	

فهرست اشکال

صفحه

عنوان

-
- شکل ۱-۴- منحنی‌های فارینوگرافی خمیر.....
- شکل ۲-۴- منحنی‌های اکستنسوگرافی خمیر نان.....

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱- مقدمه

۱-۱- گیاه‌شناسی گیاه رازک

رازک با نام علمی *Humulus lupulus L.* که به‌طور معمول Hops نامیده می‌شود، متعلق به خانواده شاهدانه^۱، گیاهی علفی، چندساله (۲۰-۱۰ سال عمر می‌کند)، بالارونده و دوپایه با ریشه‌های عمودی و افقی می‌باشد. ریشه‌های افقی در عمق ۲۰-۳۰ سانتی‌متری خاک پراکنده می‌شوند و میزان ریشه‌های فیبری در سطح خاک را افزایش می‌دهند. ریشه‌های عمودی تا عمق ۱/۵ متر توسعه پیدا می‌کنند و عمده‌تاً غیرفیبری هستند. در اوایل بهار برگ‌های جدید آن می‌رویند و اواخر پاییز خشک شده و ریزوم‌های آن باقی می‌ماند. ارتفاع گیاه تا ۲۵ فوت نیز می‌رسد (مادروشن، ۲۰۰۰).

رازک با اعضای پوشیده از تارهای خشن، به حالت خودرو در جنگل‌ها و اماکن مستور از درختچه‌ها و انبوه بوته‌ها می‌روید. این گیاه به سهولت تحت‌تأثیر عوامل محیط قرار می‌گیرد و شکل متفاوت پیدا می‌کند. مثلاً در مناطق معتدله، ساقه گیاه دارای تارهای فیبری فراوان می‌شود و از این نظر در صنعت مورد استفاده قرار می‌گیرد. در آب و هوای گرم و خشک، تارهای فیبری آن کاهش پیدا کرده و به‌صورت غیرقابل استفاده در می‌آید ولی ماده رزینی ساقه گیاه افزایش می‌یابد. رازک دارای برگ‌های متقابل، دنداندار و مرکب از ۳ تا ۵ لوب نامساوی است. پایه نر آن گل‌های کوچکی به‌صورت خوشه‌های مخصوص دارد. هر گل نر آن را پوششی مرکب از ۵ کاسبرگ آزاد فرا می‌گیرد و در داخل پوشش، ۵ پرچم به وضع منطبق بر کاسبرگ‌ها جای دارند. در پایه‌های ماده رازک، گل‌هایی به رنگ سفید مایل به حنایی، به حالت مجتمع به‌صورت مخروط‌های تقریباً کروی ظاهر می‌شوند. این مخروط‌ها از فلس‌های نازکی تشکیل شده‌اند (شکل الف- ۲). میوه این گیاه فندقه‌هایی است که در سطح و قاعده آنها، تارهای ترش‌حی فراوان وجود می‌آید، در این تارها ماده‌ای به نام لوپولون جمع می‌شود. بوی آن در صورت تازه بودن، معطر و مطبوع و مشابه بوی والرین است و طعم آن تلخ و با احساس گرما همراه است (زرگری، ۱۳۶۹).

۱-۲- پراکندگی

گیاه رازک بومی اروپا و غرب آسیاست و در شمال آمریکا، جنوب آفریقا و همچنین استرالیا نیز کشت می‌شود (دوک، ۱۹۸۳). دامنه انتشار این گیاه در ایران در شمال ایران از جمله گرگان و سواحل دریای خزر (بندرگز)، گیلان و مازندران است (نیک‌نژاد، ۱۳۸۰).

۱-۳- اکولوژی، شرایط کشت و برداشت

دامنه رشد رازک از نواحی مرطوب تا جنگل‌های خشک استوایی گزارش شده است. از لحاظ نیازهای اکولوژیکی به آب و هوایی نسبتاً خنک و متوسط دمای ۱۵ تا ۱۸ درجه سانتی‌گراد نیاز دارد. رازک در مناطقی می‌روید که دارای حداقل ۵۵۰ تا ۶۰۰ میلی‌متر بارندگی می‌باشند. دامنه pH از ۴/۵ تا ۸ را تحمل می‌کند. در زمان خواب زمستانی انجماد را نیز تحمل می‌کند اگرچه ساقه‌های ترد و جوان آن در بهار از بین خواهند رفت. هوای خشک اواخر تابستان تا اوایل پاییز بهترین زمان برداشت آن می‌باشد. رازک در انواع خاک‌های حاصلخیز با قابلیت نگهداری رطوبت به خوبی رشد می‌کند ولی خاک‌های لومی سبک تا سنگین بهترین خاک برای رشد آن محسوب می‌شوند (دوک، ۱۹۸۳).

رازک از نظر بیولوژیکی گیاهی بالارونده است و در صورت عدم استفاده از داربست، کاهش چشمگیر محصول مشاهده خواهد شد. رشد گیاه در پرچین‌ها و با وجود قیم به حداکثر رشد خود می‌رسد. گل‌های پایه ماده در اوایل پاییز برداشت و در دمای پایین خشک می‌شوند (فلمینگ، ۱۹۹۸). روش‌های تکثیر رازک عبارتند از بذر، قلمه ساقه و قلمه ریشه (ریزوم‌ها). گیاهانی که از طریق دانه تکثیر می‌یابند به یک دوره خواب زمستانی برای جوانه‌زنی نیازمند هستند. کشت قلمه‌ها در فصل پاییز یا بهار صورت می‌گیرد. زمان رشد از اوایل بهار آغاز می‌شود. میزان حاصلخیزی مورد نیاز برای رازک بسته به نوع خاک و وارپته آن متفاوت است. کود سبز اغلب در اواسط پاییز پاشیده شده و شخم زده می‌شود تا مواد آلی مورد نیاز گیاه را فراهم کند. رشد رویشی و زایشی بوته‌های رازک که عمر آنها به سه سال یا بیشتر می‌رسد با هرس کردن بهبود می‌یابد. آبیاری نیز در صورت نیاز ممکن است انجام شود (دوک، ۱۹۸۳).

رازک معمولاً با دست برداشت می‌شود، اما اخیراً از ماشین‌های برداشت که قادرند ۱۰-۸ کیلوگرم در ساعت مخروط رازک را برداشت کنند نیز استفاده می‌شود. حدود ۵۰۰ الی ۷۰۰ کیلوگرم از مخروط

گل رازک را می‌توان از ۱۰ تا ۱۴ هکتار زمین برداشت کرد. مخروط‌های گل رازک در اوایل پاییز زمانی که خوب رسیده‌اند برداشت شده و به دقت توسط حرارت مصنوعی خشک و سپس بسته‌بندی می‌شوند. از زمان شکوفه‌زنی تا برداشت حدود ۴۰ روز به طول می‌انجامد (دوک، ۱۹۸۳).

۴-۱- ترکیبات شیمیایی

طبق گزارش مؤسسه (C.S.I.R) در هند رازک حاوی ۶-۱۲٪ رطوبت، ۱۱-۱۲٪ رزین، ۲/۰-۵/۰٪ روغن فرار، ۲-۴٪ تانین، ۱۳-۲۴٪ پروتئین، ۳-۴۵٪ گلوکز و فروکتوز، ۱۲-۱۴٪ پکتین و ۷-۱۰٪ خاکستر می‌باشد.

رازک حاوی روغن فرار، مواد تلخ رزینی شامل اسیدهای تلخ آلفا (هومولون، کوهومولون، آدهومولون و پر هومولون) و اسیدهای تلخ بتا (لوپولون، کولوپولون و آدلوپولون در غلظت بیشتر)، محصولات حاصل از اکسیداسیون اسیدهای آلفا و بتا و زانتوهومول (یک چالکون) است. دیگر ترکیبات رازک شامل فلاونوئیدهای گلیکوسید شامل (۸- پرنیل نارنجین، آستراگالین، کوئرستین، ایزو کوئرستین، روتین، کامپفرول و...)، اسیدهای فنولیک (شامل فرولیک اسید و کافئیک اسید و نیز مشتقات آنها از قبیل کلروژنیک اسید)، تانین‌ها (شامل اولیگومریک پروآنتوسیانیدین‌ها)، لیپیدها، آمینواسیدها، مواد استروژنیک و دیگر مواد می‌باشد. روغن‌های فرار ساختاری پیچیده دارند و ترکیبات عمده آنها میرسین، آلفا- کاریوفیلن (هومولن)، بتا- کاریوفلن و فارنسن می‌باشند که حدود ۹۰٪ روغن‌های فرار را تشکیل می‌دهند. ترکیبات دیگر که تعداد آنها به بیش از ۱۰۰ ترکیب می‌رسد شامل آلفا- سلینس، بتا- سلینس، آلفا- پینس، بتا- پینس، آلفا- کوپن، لیمونن، پارا- سیمن، لینالول، نرول، گرانول، نرولیدول، سیترال، متیل نونیل کتون و دیگر ترکیبات اکسیژنه می‌باشند (مادروشن، ۲۰۰۰؛ فلمینگ، ۱۹۹۸).

۵-۱- خواص دارویی

رازک تاریخچه طولانی در درمان بیماری‌ها دارد و به‌عنوان یک آرام‌بخش در جامعه پزشکی مطرح است. به‌طور سنتی در درمان بی‌قراری‌های همراه با سردرد، بهبود اشتها و معده درد، تسکین دندان‌درد و گوش‌درد استفاده می‌شود (زانولی و زاواتی، ۲۰۰۸).