



دانشگاه گورگان و منابع طبیعی گورگان

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد بیستم، شماره چهارم، ۱۳۹۲
<http://jopp.gau.ac.ir>

تأثیر روش‌های مختلف خشک کردن بر سرعت کاهش وزن، میزان اسانس و بار میکروبی نعنای فلفلی

*سمیه میرمصطفائی^۱، مجید عزیزی^۲، معصومه بحرینی^۳، حسین آرویی^۴ و فاطمه عروجعلیان^۵
^۱دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد، ^۲دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد،
^۳استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه فردوسی مشهد، ^۴استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد،
^۵دانشجوی دکتری گروه نانویوتکنولوژی، دانشگاه تهران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۶/۱۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۸/۱۵

چکیده

امروزه توجه ویژه‌ای به کیفیت میکروبی گیاهان دارویی معطوف شده است. یکی از عملیاتی که به منظور حفظ کیفیت در این گیاهان صورت می‌گیرد روش خشک کردن آن‌هاست که مقدار و کیفیت اسانس را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد. به منظور بررسی روش‌های خشک کردن نعنای فلفلی آزمایشی در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با ۴ تیمار و در ۳ تکرار اجرا شد. تیمارها شامل: ۱- شاهد، ۲- خشک کردن در سایه، ۳- خشک کردن در آون ۴۵ درجه سانتی‌گراد و ۴- خشک کردن با مایکروویو توان ۴۵۰ وات بود. نمونه‌ها از نظر سرعت کاهش وزن، میزان اسانس و بار میکروبی (باکتری‌های مزوفیل هوازی و کلیفرم، کپک و مخمر و باکتری *E. coli*) بررسی شدند. نتایج بیانگر تأثیر معنی‌دار تیمارها بر صفات مورد بررسی بود ($P < 0/001$). براین اساس سریع‌ترین روش، روش استفاده از مایکروویو بود. بیش‌ترین مقدار اسانس از نمونه‌های خشک شده در سایه (۳/۷ درصد حجم/وزن) و کم‌ترین آن از نمونه‌های خشک شده با مایکروویو (۰/۲۳ درصد حجم/وزن) به دست آمد. کم‌ترین میزان آلودگی به باکتری‌های مزوفیل هوازی و کپک و مخمر مربوط به نمونه‌های خشک شده با مایکروویو بود (به ترتیب $4 \log \text{CFU/g}$ و $3/42 \log \text{CFU/g}$) و نمونه‌های خشک شده در سایه کم‌ترین آلودگی کلی فرمی را داشتند ($3/36 \log \text{CFU/g}$). بیش‌ترین آلودگی میکروبی در نمونه‌های تازه مشاهده شد.

*مسئول مکاتبه: smirmostafae@yahoo.com

آلودگی به *E. coli* در نمونه‌ها دیده نشد. طبق نتایج این پژوهش استفاده از مایکروویو بار میکروبی را در حد استاندارد کاهش داد اما موجب افت شدید مقدار اسانس شد، در حالی که میزان اسانس در روش‌های سایه و آون بهتر حفظ شد ولی این روش‌ها قادر به کاهش بار میکروبی در حد تمامی استانداردها نبودند.

واژه‌های کلیدی: ماده مؤثره، آلودگی، آون، مایکروویو، گیاهان دارویی

مقدمه

طب سنتی در ایران و جهان به‌طور عمده بر پایه استفاده از گیاهان دارویی استوار است. یکی از گیاهان بسیار مهم دارویی گیاه نعناع فلفلی است که در صنایع دارویی، غذایی و بهداشتی کاربرد دارد. نعناع فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* L. از خانواده نعناعیان (Lamiaceae)، گونه‌ای هیبرید است که از تلاقی دو گونه *M. aquatica* و *M. viridis* به‌دست آمده است (قهرمان، ۱۹۹۴). از برگ، پیکر رویشی و اسانس این گیاه در بیش‌تر کتاب‌های دارویی معتبر به‌عنوان دارو یاد شده است (امیدبیگی، ۲۰۰۷). یکی از عملیاتی که به‌منظور حفظ کیفیت گیاهان دارویی از جمله نعناع فلفلی پس از برداشت صورت می‌گیرد خشک کردن است، هدف اصلی آن کاهش رطوبت بافت تا حد مناسب است تا از فساد محصول جلوگیری شود و انبارداری در شرایط پایدارتری صورت گیرد (حسین، ۲۰۱۱). از آنجایی که مقدار و کیفیت اسانس بسیار تحت‌تأثیر نحوه خشک کردن قرار می‌گیرد باید با توجه به نوع مواد مؤثره گیاهی روش مناسبی را برای خشک کردن آن‌ها در نظر گرفت (ریتا و انیمش، ۲۰۱۱). در مطالعه‌ای بیش‌ترین میزان اسانس در نمونه‌های خشک شده بومادران در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و کم‌ترین میزان در روش آون ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به‌دست آمد (غنی و عزیزی، ۲۰۰۹). امروزه علاوه‌بر روش‌های متداول خشک کردن (در آفتاب، در سایه، در آون همراه یا بدون جریان هوا)، روش‌های جدیدی مانند مایکروویو نیز به‌دلیل سرعت بسیار بالای خشک کردن مورد توجه قرار گرفته‌اند. بررسی روش‌های خشک کردن در گیاه بابونه نشان داد کم‌ترین و بیش‌ترین زمان خشک کردن به‌ترتیب مربوط به روش مایکروویو و روش سایه بود، بیش‌ترین درصد اسانس در روش آون ۵۰ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد و سایه به‌دست آمد و کم‌ترین آن در روش مایکروویو با توان بالا و دمای بالای آون و روش آفتاب بود (عزیزی و همکاران، ۲۰۰۹). در این حال توجه زیادی به کیفیت،

سلامت و کارایی گیاهان دارویی می‌شود. سازمان بهداشت جهانی^۱، در دهه‌های اخیر با برگزاری کنگره‌های متعدد استانداردهای مشخصی را تعریف نموده است. یکی از موارد استاندارد، مربوط به کیفیت میکروبی گیاهان دارویی است. گیاهان دارویی بیش‌تر آلوده به میکروب‌هایی هستند که بیش‌تر منشاء خاکی دارند و شرایط نامناسب پس از برداشت باعث تکثیر و ازدیاد آن‌ها می‌شود. باید توجه داشت که روش‌های مورد استفاده برای کاهش بار میکروبی، نباید بر مواد مؤثره و خواص گیاه تأثیر نامناسبی داشته باشد. برای این منظور از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود مانند شستشو و ضدعفونی پس از برداشت محصول (بحرینی و همکاران، ۲۰۱۱)، بسته‌بندی مناسب (ابوعرب و همکاران، ۱۹۹۹) و استفاده از پرتودهی که موجب غیرفعال شدن میکروارگانیسم‌ها می‌شود (حسین، ۲۰۱۱).

تاکنون پژوهش‌های گسترده‌ای در خصوص خشک کردن گیاهان دارویی از جمله انواع گونه‌های نعناع انجام شده است (رادونز، ۲۰۰۴؛ یون و همکاران، ۲۰۱۱؛ سانگوان و همکاران، ۲۰۱۲)، اما مطالعات زیادی در مورد تأثیر روش‌های مختلف خشک کردن بر روی کاهش بار میکروبی گیاهان دارویی صورت نگرفته است. هدف از این پژوهش یافتن روش مناسب خشک کردن برای حفظ مواد مؤثره گیاهی و حذف آلودگی‌های میکروبی در گیاه دارویی نعناع فلفلی است.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر روش‌های مختلف خشک کردن بر سرعت کاهش وزن، میزان اسانس و بار میکروبی گیاه نعناع فلفلی، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با فاکتور روش‌های خشک کردن در ۳ تکرار اجرا شد. این طرح در سال ۱۳۹۰ اجرا گردید. برای این منظور پس از تسطیح و آماده‌سازی زمین، کوددهی با کود دامی پوسیده به مقدار ۲۵ تن در هکتار انجام شد، عملیات کاشت در اوایل اردیبهشت‌ماه انجام گرفت به‌منظور کاشت از استولون‌های نعناع فلفلی استفاده شد و با فاصله ۲۵×۴۰ سانتی‌متر کاشته شدند. برداشت محصول هم‌زمان با حداکثر گل‌دهی گیاه در نیمه مردادماه صورت گرفت. نمونه‌ها بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شده و تیمارهای مختلف بر روی آن‌ها اعمال گردید. تیمارها شامل: ۱- نمونه‌های تازه بدون خشک کردن (شاهد)، ۲- خشک کردن در سایه، ۳- خشک کردن در آون ۴۵ درجه سانتی‌گراد و ۴- خشک کردن با مایکروویو با توان ۴۵۰ وات در آون

1- World Health Organization

مایکروویو خانگی. برای هر تکرار حدود ۲۵ گرم نمونه گیاهی شامل برگ و سرشاخه‌ها در نظر گرفته شد. حد مطلوب خشک شدن در هر روش براساس ۱۱ درصد میزان رطوبت بر پایه وزن تر در نظر گرفته شد (روچا و همکاران، ۲۰۱۱):

$$100 \times [(وزن ماده خشک + وزن رطوبت) / وزن رطوبت] = \text{میزان رطوبت بر پایه وزن تر (درصد)}$$

وزن خشک نمونه + (۱۱ درصد \times میزان رطوبت برپایه وزن تر \times وزن تر نمونه) = وزن مطلوب پس از خشک شدن برای تعیین وزن تر و خشک، ۳ نمونه گیاهی بلافاصله پس از برداشت توزین شده و سپس در آن با دمای 2 ± 80 درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شد و بعد از آن نیز دوباره وزن آن‌ها اندازه‌گیری شد (تریودی، ۲۰۰۶).

مدت زمان و سرعت خشک شدن: زمان موردنیاز در هر روش تا رسیدن به وزن مطلوب نهایی اندازه‌گیری شد و برای بررسی سرعت کاهش وزن نمونه در هنگام خشک شدن، بسته به سرعت خشک شدن در هر روش در فواصل زمانی مشخص توزین انجام شد و با محاسبه محتوای رطوبتی نمونه‌ها بر پایه وزن خشک (db) و میزان حذف رطوبت به‌ازای ماده خشک در واحد زمان، سرعت خشک شدن در هر روش اندازه‌گیری شد. به‌منظور مقایسه در تمام روش‌ها از نمونه‌هایی با وزن یکسان استفاده گردید و برای ۳ نمونه در هر تکرار انجام شد.

وزن ماده خشک / وزن رطوبت = محتوای رطوبتی بر پایه وزن خشک

مدت زمان / (وزن ماده خشک / میزان کاهش رطوبت) = سرعت خشک شدن

نحوه استخراج اسانس: برای این منظور از روش تقطیر با آب استفاده شد. در این آزمایش، از قسمت سرشاخه برای اسانس‌گیری استفاده شد. به‌این ترتیب که نمونه‌های ۱۰ گرمی پس از خرد شدن با ۷۵۰ میلی‌لیتر آب، در بالن ۱۰۰۰ میلی‌لیتری مخلوط شد و ۳ ساعت بعد از جوش آمدن، میزان اسانس در کلونجر اندازه‌گیری شد و عملکرد اسانس براساس وزن خشک نمونه محاسبه گردید، از هر تکرار ۳ نمونه گیاه برای عمل اسانس‌گیری برداشت شد.

تعیین بار میکروبی: برای این منظور از روش رقت‌سازی و کشت در محیط‌های کشت اختصاصی استفاده گردید. از هر تکرار، مقدار 2 ± 10 گرم از نمونه گیاهی در شرایط استریل وزن شده و با

۹۰ میلی لیتر محلول بافر پیتون نمکی همگن سازی شد و سپس از آن سری رقت تا 10^{-7} تهیه گردید. به منظور تعیین مزوفیل های هوازی از محیط کشت پلیت کانت آگار (PCA)^۱، برای تعیین میزان کولیفرم های مدفوعی از محیط کشت وایولت رد بایل لاکتوز آگار (VRBL)^۲ و برای تعیین میزان کپک و مخمر از محیط کشت یست گلوکز کلرامفنیکل آگار (YGCA)^۳ استفاده گردید. روش کشت نمونه به صورت مستقیم در پتری بوده و سپس در دمای مناسب انکوباسیون صورت گرفت (YGCA به مدت ۷۲-۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد، PCA به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد، VRBL به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد). برای شناسایی باکتری *E. coli* از رقت 10^{-1} هر نمونه در دو محیط کشت VRBL و کروم آگار ای سی سی^۴ کشت مستقیم صورت گرفت و پس از انکوباسیون در دمای مناسب (VRBL به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۴ درجه سانتی گراد و کروم آگار ای سی سی به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد) شمارش کلنی انجام شده و برای تأیید، از کلنی های موجود در محیط VRBL، در محیط کروم آگار ای سی سی کشت داده شد. در تمامی آزمون های میکروبی جمعیت ریزجانوران پس از شمارش براساس $\log CFU$ در گرم (وزن خشک) گزارش شد.

محاسبه های آماری مورد نیاز توسط نرم افزارهای Minitab، Jump و MSTATC انجام شد و مقایسه میانگین با آزمون Duncan صورت گرفت. برای ترسیم جدول ها و نمودارها نیز از نرم افزارهای Word و Excel استفاده گردید.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس بیانگر اثر معنی دار ($P < 0/01$) روش های خشک کردن بر تمامی صفات مورد مطالعه بود (جدول ۱).

-
- 1- Plate Count Agar
 - 2- Violet Red Bail Lactose Agar
 - 3- Yeast Glucose Chloramphenicol Agar
 - 4- Chorom Agar Ecc
 - 5- CFU (Colony-Forming Unit)

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی (۲۰)، شماره (۴) ۱۳۹۲

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی نعنای فلفلی تحت تأثیر روش‌های خشک کردن.

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		مدت زمان خشک شدن	سرعت خشک شدن
بلوک	۲	۶/۹۹ ^{ns}	۰/۰۰۰۱ ^{ns}
روش خشک کردن	۲	۱۷۳۹/۲۵ ^{**}	۲۵۱۱/۹۸ ^{**}

^{**} معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۱ درصد و ^{ns} غیرمعنی‌دار.

ادامه جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی نعنای فلفلی تحت تأثیر روش‌های خشک کردن

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		مقدار اسانس	آلودگی به مزوفیل‌های هوازی	آلودگی به کلیرمی	آلودگی به اشرشیاکلی
بلوک	۲	۰/۴۹ ^{ns}	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۰۷ ^{ns}	۰/۱۳ ^{ns}
روش خشک کردن	۳	۷/۰۵ ^{**}	۱/۵۵ ^{**}	۱/۹۹ ^{**}	۳/۱۷ ^{**}
خطا	۶	۰/۱۲	۰/۰۱	۰/۲۰	۰/۰۴

^{**} معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۱ درصد و ^{ns} غیرمعنی‌دار.

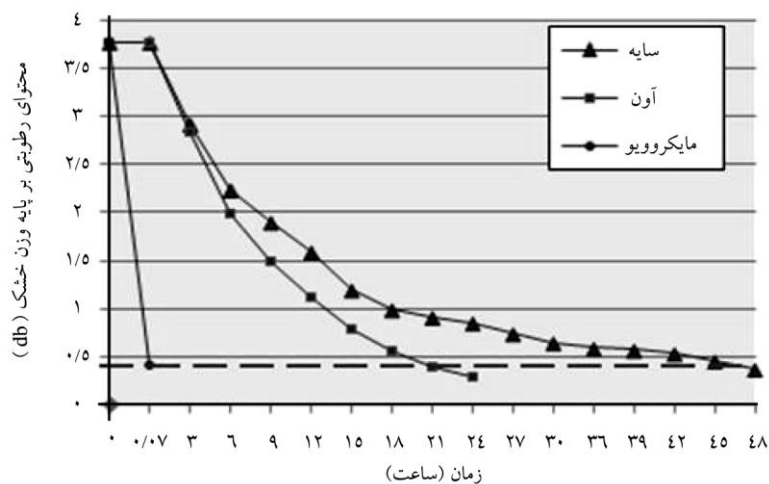
مدت زمان و سرعت خشک شدن: با توجه به جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ۲)، استفاده از مایکروویو کم‌ترین مدت زمان را برای خشک کردن لازم داشت (۰/۰۷ ساعت). بعد از آن روش آون ۴۵ درجه سانتی‌گراد در زمان کوتاه‌تری انجام شد (۲۰ ساعت) و بیش‌ترین مدت زمان مربوط به روش خشک کردن در سایه بود (۴۸ ساعت). از نظر سرعت خشک شدن بالاترین میانگین سرعت مربوط به روش استفاده از مایکروویو بود (۵۰/۲۳ کیلوگرم/کیلوگرم ساعت)، و روش‌های آون و سایه در مراتب بعدی قرار داشتند (به ترتیب ۰/۱۶ و ۰/۰۷ کیلوگرم/کیلوگرم ساعت).

جدول ۲- خلاصه نتایج بررسی صفات تحت تأثیر روش‌های مختلف خشک کردن.

تیمارها	مدت زمان خشک شدن (ساعت)	سرعت خشک شدن (کیلوگرم/کیلوگرم ساعت)	میزان اسانس (درصد حجم/وزن)	آلودگی میکروبی (log CFU/g)		
				باکتری‌های مزوفیل هوازی	باکتری‌های کلی‌فرم	کپک و مخمر
تازه (شاهد)	-	-	۳/۰۶ ^a	۶/۳۹ ^a	۵/۱۷ ^a	۵/۹۱ ^a
سایه	۴۸ ^a	۰/۰۷ ^c	۳/۷ ^a	۵/۰۵ ^c	۳/۳۶ ^c	۴/۳۸ ^b
آون ۴۵ درجه سانتی‌گراد	۲۰ ^b	۰/۱۶ ^b	۲/۹ ^a	۵/۴۴ ^b	۳/۸۹ ^b	۴/۷۳ ^b
مایکروویو	۰/۰۷ ^c	۵۰/۲۳ ^a	۰/۲۳ ^b	۴/۷۴ ^d	۳/۶۴ ^{bc}	۳/۴۲ ^c

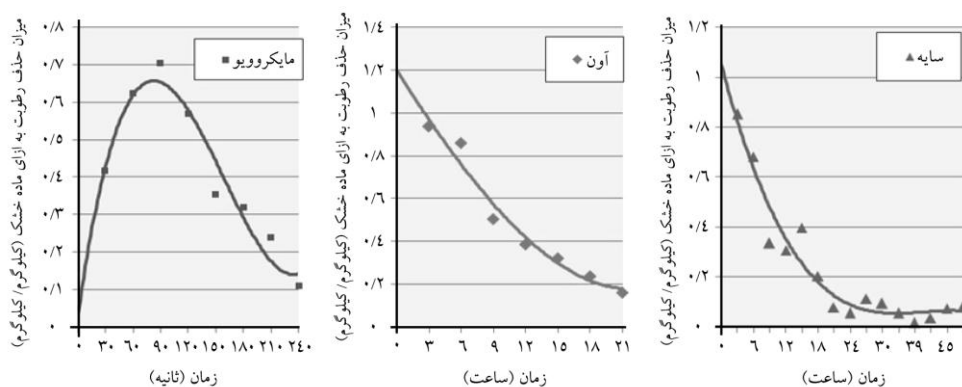
حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد است.

نتایج نشان داد خشک کردن نعناع فلفلی با مایکروویو در کوتاه‌ترین زمان و با بیش‌ترین سرعت صورت گرفت و پس از آن به ترتیب روش آون و سایه در جایگاه بعدی قرار داشتند (شکل ۱). در سایر پژوهش‌های انجام شده نیز نتایج مشابه بوده است: خشک کردن *M. cordifolia* با مایکروویو در مقایسه با آون ۶۰ و ۷۰ درجه سانتی‌گراد زمان خشک شدن را ۹۵-۸۰ درصد کاهش می‌دهد (تردتای و ویبیانو، ۲۰۰۹)، خشک کردن نعناع فلفلی در مایکروویو توان ۷۰۰ نسبت به روش آفتاب خشک و آون ۵۰ درجه سانتی‌گراد سریع‌تر بوده و بالاترین میزان مواد فنولی را داشته و از نظر رنگ ظاهری نیز کیفیت مطلوب‌تری داشت (ارسلان و همکاران، ۲۰۱۰). در بررسی میکروگراف‌های اسکن الکترونی مشخص شده که تعداد خلل و فرج در برگ‌های خشک شده با مایکروویو بیش‌تر است (تردتای و ویبیانو، ۲۰۰۹). در این آزمایش استفاده از آون نیز منجر به تسریع خشک شدن در مقایسه با روش سایه شد، در سایر مطالعات نیز نتایج مشابه بوده و سرعت خشک شدن *M×vilosa* با افزایش دمای آون از ۵۰ و ۶۰ به ۷۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت (دیاس و همکاران، ۲۰۱۱). نظر به این‌که تسریع خشک کردن در کاهش هزینه‌های مربوط به مصرف انرژی اهمیت زیادی دارد، روش‌های سریع‌تر مناسب‌تر هستند (کاسرس، ۲۰۰۰).



شکل ۱- مقایسه روند کاهش محتوای رطوبت در روش‌های مختلف خشک کردن (خط نقطه‌چین نشان‌دهنده حد مطلوب محتوای رطوبتی در پایان خشک شدن است).

براساس نمودار سرعت خشک شدن در روش‌های مختلف (شکل ۲)، سرعت در روش سایه در آغاز بیش‌ترین مقدار را دارد و در ادامه با شیب تندی کاهش می‌یابد و از زمان ۱۸ ساعت به بعد با حداقل سرعت تا پایان ادامه دارد. در روش آون با روند مشابهی در ابتدا بالاترین سرعت را داشته و سپس نمودار با شیب آهسته‌تر و به‌صورت خطی رو به کاهش می‌گذارد و از زمان ۱۵ ساعت به بعد حالت ثابت پیدا می‌کند، اما در روش مایکروویو، ابتدا فرآیند خشک شدن با بیشینه سرعت آغاز نمی‌شود بلکه روند رو به افزایش داشته و در زمان ۹۰ ثانیه به بالاترین سرعت رسیده و پس از آن رو به کاهش می‌گذارد.



شکل ۲- منحنی سرعت خشک شدن نعنای فلفلی در روش‌های مختلف.

میزان اسانس: با توجه به جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ۲)، میزان اسانس به‌شدت تحت‌تأثیر روش خشک کردن قرار گرفت. بالاترین میزان آن مربوط به روش سایه بود (۳/۷ درصد حجم/ وزن) و سپس نمونه‌های تازه شامل مقدار اسانس بیش‌تری بودند (۳/۰۶ درصد حجم/ وزن)، و بعد از آن نمونه‌های خشک شده در آون میزان اسانس بالایی داشتند (۲/۹ درصد حجم/ وزن). کم‌ترین مقدار اسانس مربوط به روش مایکروویو بود (۰/۲۳ درصد حجم/ وزن). میزان اسانس نمونه تازه و نمونه‌های خشک شده در آون و در سایه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند. مقدار معمول اسانس قابل استخراج از نعنای فلفلی در روش تقطیر با آب بین ۰/۱-۱ درصد است (ریتا و انیمش، ۲۰۱۱)، که در این آزمایش مقدار آن بین ۳/۵۳-۰/۲۳ درصد بود و از این نظر کمیت

مطلوبی دارد. نتایج این آزمایش نشان می‌دهد روش‌های مختلف خشک کردن می‌تواند تأثیر معنی‌داری در میزان استخراج اسانس داشته باشد و اگرچه مقدار اسانس در نمونه تازه در سطح برابری در مقایسه با نمونه‌های خشک شده در آون و در سایه قرار می‌گیرد، اما اسانس‌گیری به‌صورت تازه نیازمند سرعت کار بالاتر و تجهیزات اسانس‌گیری پیش‌تری بوده و در صورت نیاز به نگهداری ماده گیاهی به‌مدت طولانی به انبار و سردخانه نیاز خواهد بود و ممکن است منجر به کاهش میزان استخراج اسانس شوند.

در این آزمایش روش‌های سایه و آون بهترین روش به‌منظور حفظ مواد مؤثره گیاهی بود. میزان اسانس در روش مایکروویو دچار افت شدید شد که مشابه سایر پژوهش‌ها صورت گرفته است: در مطالعه صورت گرفته در مورد تعیین دمای مطلوب برای خشک کردن *M×vilosa* مشخص شد در محدوده ۵۰-۷۰ درجه سانتی‌گراد، دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد برای حفظ اسانس مناسب‌تر بوده است (رادونز، ۲۰۰۴)، میزان اسانس و DPPH در *M. spicata* و *Origanum marjorana* در روش سایه بیش‌تر از روش‌های آفتاب و آون ۳۵ و ۵۰ درجه سانتی‌گراد بود و پس از آن روش آون ۳۵ درجه سانتی‌گراد بیش‌ترین مقدار اسانس را حفظ نمود (حسین، ۲۰۱۱). کاهش مقدار اسانس در روش استفاده از آون می‌تواند مربوط به دمای بالاتر آن و تبخیر اسانس به‌همراه رطوبت در هنگام خشک شدن باشد. در روش استفاده از مایکروویو هر چند سرعت خشک شدن بیش‌تر از سایر روش‌ها است و نمونه‌های خشک شده نیز از نظر ظاهری دارای کیفیت بهتری هستند اما این روش منجر به کاهش شدید مقدار اسانس می‌شود.

بار میکروبی: با توجه به جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ۲)، از نظر باکتری‌های مزوفیل هوایی بیش‌ترین آلودگی مربوط به نمونه‌های تازه بود ($6/39 \log \text{CFU/g}$) و تمامی روش‌های خشک کردن میزان آلودگی را کاهش داد. در نمونه‌های خشک شده کم‌ترین میزان آلودگی مربوط به روش مایکروویو بود ($4/74 \log \text{CFU/g}$)، بعد از آن به‌ترتیب روش سایه ($5/05 \log \text{CFU/g}$) و روش آون ($5/44 \log \text{CFU/g}$) موجب کاهش این آلودگی شدند. میزان آلودگی کلی‌فرمی نیز در تمامی روش‌های خشک کردن کاهش یافت، بیش‌ترین آلودگی مربوط به نمونه تازه بود ($\log \text{CFU/g}$) و در بین نمونه‌های خشک شده کم‌ترین مقدار آلودگی به روش سایه و روش مایکروویو مربوط می‌شد (به‌ترتیب $3/36$ و $3/55 \log \text{CFU/g}$) و روش استفاده از آون بیش‌ترین آلودگی را داشت ($3/89 \log \text{CFU/g}$). در مورد آلودگی قارچی، نمونه تازه بیش‌ترین مقدار آلودگی را داشت

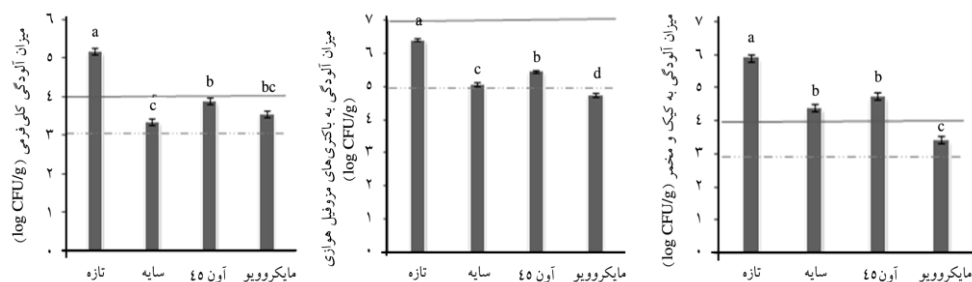
($5/91 \log \text{CFU/g}$) و در بین روش‌های خشک کردن، روش مایکروویو کم‌ترین مقدار آلودگی را داشت ($3/42 \log \text{CFU/g}$) و روش‌های سایه و آون آلودگی بیش‌تری را نسبت به روش استفاده از مایکروویو نشان دادند (به‌ترتیب $4/38$ و $4/73 \log \text{CFU/g}$). از نظر آلودگی به باکتری *E. coli*، با وجود این‌که آزمون میکروبی در برخی کشت‌های صورت گرفته در محیط VRBL مثبت بود، اما آزمون در محیط کشت کروم آگار ای‌سی‌سی منفی بود. بنابراین وجود این باکتری در هیچ‌یک از نمونه‌ها به تأیید نرسید.

نتایج به‌دست آمده در خصوص میزان آلودگی بیانگر تأثیر فرآیند خشک کردن در کاهش بار میکروبی است و مشخص شد که تمامی روش‌های خشک کردن توانسته موجب کاهش آلودگی بین $0/95-1/28$ سیکل لگاریتمی شود. در سایر پژوهش‌های انجام شده نیز نتایج مشابهی به‌دست آمده است؛ با بررسی میزان آلودگی در ۶ گیاه دارویی خشک شده در آفتاب مشخص شد میزان آلودگی به کل باکتری‌های هوازی 10^7-10^4 ، فرم اسپور باکتری‌ها 10^6-10^3 ، کلی‌فرم‌ها 10^5-10^2 و آلودگی به قارچ‌ها 10^4-10^2 براساس CFU/g بود (عبدالخیر و همکاران، ۲۰۰۴). در مطالعه دیگری با بررسی نمونه‌های زعفران از نظر قدرت رنگ‌دهی، شدت عطر، طعم و میزان آلودگی میکروبی، مشخص شد با استفاده از مایکروویو می‌توان ضمن افزایش راندمان خشک کردن زعفران، یکی از اساسی‌ترین مشکلات مربوط به این فرآورده مهم صادراتی یعنی آلودگی را نیز تا حدود زیادی برطرف نمود (حسینی‌نژاد و همکاران، ۲۰۰۳).

روش مایکروویو بیش‌ترین تأثیر را در کاهش آلودگی قارچی و باکتری‌های مزوفیل هوازی داشت. نتایج مشابهی در سایر پژوهش‌ها به‌دست آمده است؛ در آزمایشی مشخص شد پرتودهی نمونه‌های آلوده پساب مورد استفاده برای آبیاری مزارع با مایکروویو در مدت ۹۰ ثانیه موجب کاهش رشد بیش از ۸۰ درصد میکروارگانیسم‌ها و افزایش مدت زمان تا ۱۸۰ ثانیه توقف کامل ریزجانوران را منجر می‌شود (المجدی و همکاران، ۲۰۰۹)، نمونه شیر آلوده نیز در معرض تشعشع مایکروویو به‌مدت ۴۵ ثانیه، حدود ۴ سیکل لگاریتمی کاهش آلودگی نشان داد و در مدت ۶۰ ثانیه آلودگی کاملاً از بین رفت (آنکا و همکاران، ۲۰۰۸). علت کاهش و توقف رشد ریزجانوران در این شرایط این است که تشعشعات مایکروویو می‌تواند سبب تخریب غشاء سلولی (شین و پیون، ۱۹۹۷) و تغییر ساختار پروتئین‌ها می‌گردد (کوزمپل و همکاران، ۱۹۹۸)، که این تغییرات در اثر ایجاد نقاط پرفشار (توربولانت) در مواد تحت تابش رخ می‌دهد. استفاده از این روش خشک کردن به‌دلیل سرعت بالای آن، شرایط

مطلوب برای ریزجانوران را به سرعت تغییر می‌دهد و مانع رشد آن‌ها می‌شود. در مقایسه روش آون و سایه به‌جز در آلودگی قارچی که تقریباً مشابه بودند در تمامی آلودگی‌های باکتریایی روش آون آلودگی بیش‌تری داشت.

علت کارآمدی روش سایه در مقایسه با آون در خصوص کاهش آلودگی باکتریایی را شاید بتوان به‌این ترتیب توضیح داد که آون دارای محیط بسته، با تهویه بسیار محدود، و بدون جریان هوا بود که این امر موجب افزایش تجمع بخار آب در داخل دستگاه در ساعات ابتدایی خشک شدن در آون گردید و به‌این ترتیب با کندانسه شدن آب شرایط مساعدی برای رشد و تکثیر باکتری‌ها فراهم شد (طاهری، ۲۰۰۱) و با توجه به رشد سریع باکتری‌ها احتمالاً جمعیت آن‌ها در ساعات اولیه افزایش یافته و به مرور با خشک‌تر شدن محیط در ساعات بعدی باکتری‌ها دچار پلاسمولیز شده‌اند و از طرف دیگر دمای ۴۵ درجه آون در حدی بالا نبوده که مانع رشد باکتری‌ها شود و بیش‌تر به انکوبه شدن آن‌ها کمک کرده است. در صورتی‌که در روش سایه که در محیط وسیع‌تری صورت گرفت، شرایط رطوبتی مناسبی برای باکتری‌ها ایجاد نشده و پلاسمولیز آن‌ها از ابتدای خشک شدن انجام شده است. اما با توجه به کند رشد بودن کپک و مخمرها در مقایسه با باکتری‌ها، شرایط ساعات اولیه آون منجر به رشد و تکثیر آن‌ها نشده در نتیجه جمعیت قارچی در مقایسه با روش سایه اختلاف معنی‌داری نداشته است. به‌این ترتیب شاید خشک کردن در آون زمانی بتواند در کاهش جمعیت باکتریایی محصول مؤثر باشد که یا تهویه به‌خوبی صورت گیرد و همراه با جریان هوا باشد و یا این‌که دما تا حدی بالا باشد که موجب توقف رشد باکتری‌ها گردد.



شکل ۳- مقایسه میزان آلودگی نعنای فلفلی در روش‌های مختلف خشک کردن

(خطوط ممتد نشان‌دهنده حد مجاز آلودگی برای مصارف گیاه پس از عملیات آماده‌سازی و یا مصارف موضعی است، خطوط نقطه‌چین نشان‌دهنده حد مجاز آلودگی برای مصارف گیاه به‌صورت خام و بدون عملیات آماده‌سازی است).

طبق استاندارد مجاز آلودگی میکروبی سازمان بهداشت جهانی (سازمان بهداشت جهانی، ۲۰۰۷)، حد مجاز آلودگی به باکتری‌های مزوفیل هوازی برای مصرف به‌صورت خام و بدون عملیات آماده‌سازی با آب جوش (جوشانده یا دم کرده) حداکثر $5 \log \text{CFU/g}$ و برای مصرف موضعی یا پس از عملیات آماده‌سازی با آب جوش حداکثر $7 \log \text{CFU/g}$ ، حد مجاز آلودگی کلی فرمی و قارچی برای مصرف به‌صورت خام و بدون عملیات آماده‌سازی با آب جوش حداکثر $3 \log \text{CFU/g}$ و برای مصرف موضعی یا پس از عملیات آماده‌سازی با آب جوش حداکثر $4 \log \text{CFU/g}$ عنوان شده است. با توجه به این مطلب در این آزمایش، همان‌طور که در شکل ۳ نمایش داده شده است برای مصرف این محصول به شکل دم کرده یا جوشانده و یا مصارف موضعی، از نظر آلودگی باکتریایی تمام نمونه‌های خشک در حد استاندارد قرار داشتند، اما از نظر آلودگی قارچی تنها روش مایکروویو موجب کاهش بار میکروبی در حد استاندارد شد. در صورت مصرف این محصول به شکل ماده خام و بدون فرآوری، تنها در مورد باکتری‌های مزوفیل هوازی روش مایکروویو توانست آلودگی را در حد استاندارد کاهش دهد و در خصوص سایر آلودگی‌ها هیچ‌کدام از روش‌ها کارآمد نبودند. نمونه‌های تازه فقط برای مصرف به شکل فرآوری شده و مصارف موضعی و تنها در مورد آلودگی به باکتری‌های مزوفیل هوازی استاندارد بودند (شکل ۳). در خصوص آلودگی به باکتری *E. coli* به دلیل این که هیچ موردی از آلودگی تأیید نشد، تمام نمونه شرایط استاندارد داشتند.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این پژوهش، می‌توان بیان نمود که خشک کردن سبب کاهش بار میکروبی نعناع فلفلی می‌شود و روش استفاده از مایکروویو هر چند سریع‌ترین روش بوده و بار میکروبی را در حد استاندارد به‌ویژه برای مصارف دم کرده یا جوشانده و یا برای مصارف موضعی کاهش می‌دهد اما موجب افت شدید اسانس می‌شود. در حالی که مقدار اسانس در روش‌های سایه و آون بهتر حفظ می‌شود و هر چند روش سایه در مقایسه با آون در کاهش آلودگی‌های باکتریایی مؤثرتر بوده ولی به‌طور کلی این روش‌ها قادر به کاهش بار میکروبی در حد استاندارد (به‌جز در مورد آلودگی باکتریایی برای مصارف دم کردنی) نیستند.

منابع

1. Abd-El-Khair, H., Seif-El-Nasr, H.I. and Karima, H.E.H. 2004. Microbial contamination of sun-dried medicinal plants. Arab Univ. J. Agric. Sci. 12: 1. 459-468.
2. Abou-Arab, A.A.K., Kawther, M.S., El-Tantawy, M.E., Badeaa, R.I. and Khayria, N. 1999. Quantity estimation of some contaminants in commonly used medicinal plants in the Egyptian market. Food Chem. 67: 4. 357-363.
4. Almajhdi, F.N., Albrithen, H., Alhadlaq, H., Farrag, M.A. and Abdel-Megeed, A. 2009. Microorganisms inactivation by microwaves irradiation in Riyadh sewage treatment water plant. World Appl. Sci. J. 6: 5. 600-607.
5. Arslan, D., Özcan, M.M. and Mengeş, H.O. 2010. Evaluation of drying methods with respect to drying parameters, some nutritional and colour characteristics of peppermint (*Mentha×piperita* L.). Energy Conver. Manag. 51: 12. 2769-2775.
6. Anca, D., Rotaru, O., Giurgiulescu, L., Boltea, F. and Crisan, L. 2008. Microwaves effects on microorganisms existing cow milk. Bulletin UASVM, Agriculture, 65: 2. 463.
7. Azizi, M., Rahmati, M., Ebadi, T. and Hasanzadeh-Khayyat, M. 2009. The effects of different drying methods on weight loss rate, essential oil and chamazulene contents of chamomile (*Matricaria recutita*) flowers C.V (Bodegold). Iran. J. Med. Aromatic. Plants Res. 25: 2. 182-192. (In Persian)
8. Bahreini, M., Habibi Najafi, M.B., Bassami, M.R., Abbaszadegan, M., Bahrami, A.R. and Ejtehadi, H. 2011. Microbial load evaluation of fresh-cut vegetables during processing steps in a vegetable processing plant using minimally processing approach. Iran. Food Sci. Technol. Res. J. 7: 3. 242-253. (In Persian)
9. Caceres, A. 2000. Calidad de la material prima para la elaboracion de productos fitofarma ceuticas. Primer Congreso Internacional FITO 2000 "Por la investigacion, conservacion diffusion del conocimiento de las plantas medicinals". 27-30 de septiembre, 2000, Lima, Peru.
10. Dias, R.A., Souza, P.S. and Alsin, O.L.S. 2011. Drying and total tannins extraction of Spearmint (*Mentha x vilosa Hudson*). Revista Agrarian Dourados, 4: 12. 123-133.
11. Ghahreman, A. 1994. Plant systematic: Chormophyts of Iran. Iran University Press, 2nd Ed. 34p. (In Persian)
12. Ghani, A. and Azizi, M. 2009. The effects of different drying methods on quantity and quality characteristics of five yarrow species (*Achillea*). J. Plant Prod. 32: 1. 1-12. (In Persian)
13. Hamed Mousavian, M.T. and Basiri, S. 2008. Evaluation of effects of temperature and speed of air flow on essential oils content in Thyme industrial drying. 18th National Congress of Food Science and Technology, 15-16 Oct, 2008, Mashhad, Iran. (In Persian)

14. Hosseini Nejad, M., Shahidi, F. and Malekzadeh, Gh. 2003. Study on microbial contamination and quality of dried microwave saffron samples. *Agric. Sci. Technol. J.* 16: 2. 51-57. (In Persian)
15. Hussein, E.H. 2011. Effect of different drying methods on essential oil and antioxidants activity of *Mentha spicata* and *Origanum marjorana*. *J. Agric. Res.* 37: 2. 385-394.
16. Kozempel, M.F., Annous, B., Cook, A.R., Schullen, O.J. and Whiting, R.C. 1998. Inactivation of microorganisms with microwaves at reduced temperatures. *J. Food Protect.* 61: 582-585.
17. Omidbaigi, R. 2007. Production and processing of medicinal plants. Astan-e-Ghods Razavi Press, 4th Ed. 347p. (In Persian)
19. Radünz, L.L., Melo, E.C., Berbert, P.A., Barbosa, L.C.A., Rocha, R.P., Martins, P.M., Santos, R.H.S. and Grandi, A.M. 2002. Effects of drying air temperature on the quality of essential oil of rosemary, peppermint (*Lippia sidoides Cham.*). *J. Storage Viçosa*, 27: 9-13.
20. Radünz, L.L. 2004. Dried rosemary pepper, and mint together on guaco different temperatures and its influence on the quantity and quality of active ingredients. PhD dissertation, University of Viçosa, Viçosa, Brazil.
21. Rita, P. and Animesh, D.K. 2011. An updated overview on peppermint (*Mentha piperita L.*). *Inter. Res. J. Pharmacy.* 2: 8. 1-10.
22. Rocha, R.P., Melo, E.C. and Radunz, L.L. 2011. Influence of drying process on the quality of medicinal plants: A review. *J. Med. Plants Res.* 5: 33. 7076-7084.
23. Sangwan, A., Kawatra, A. and Sehgal, S. 2012. Nutrient composition of mint powder prepared from various drying methods. *Nut. Food Sci.* 42: 1. 21-25.
24. Shin, J.K. and Pyun, Y.R. 1997. Inactivation of *Lactobacillus plantarum* by pulsed-microwave irradiation. *J. Food Sci.* 62: 163-166.
25. Taheri, R. 2001. Biological factors affecting corrosion of steel by sulfate-reducing bacteria. M.Sc. Thesis, Faculty of Science, University of Tehran, Tehran, Iran. (In Persian)
26. Therdthai, N. and WeiBiao, Z. 2009. Characterization of microwave vacuum drying and hot air drying of mint leaves (*Mentha cordifolia Opiz ex Fresen.*). *J. Food Eng.* 91: 3. 482-489.
27. Trivedi, P.C. 2006. *Advances in Plant Physiology*. I.K. International Pvt Ltd, 300p.
28. World Health Organization. 2007. WHO guidelines for assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues, 118p.
29. Yun, L., Cheng, J., Dan, Y., Qiang, W. and XiaoHe, X. 2011. Effect of different drying methods on active components in water extracts from *Isatidis Radix*. *Chin. Trad. Herb. Drugs*, 42: 8. 1532-1536.



The effects of different drying methods on speed of drying, essential oil and microbial load in Peppermint (*Mentha × piperita* L.)

*S. Mirmostafae¹, M. Azizi², M. Bahreini³, H. Arouiee⁴ and F. Oroojalian⁵

¹M.Sc. Student, Dept. of Horticulture Science, Ferdowsi University of Mashhad, Iran,

²Associate Prof., Dept. of Horticulture Science, Ferdowsi University of Mashhad, Iran,

³Assistant Prof., Dept. of Biology, Ferdowsi University of Mashhad, Iran,

⁴Assistant Prof., Dept. of Horticulture Science, Ferdowsi University of Mashhad, Iran,

⁵Ph.D. Student, Dept. of Nano-Biotechnology, University of Tehran, Iran

Received: 09/04/2012 ; Accepted: 11/06/2013

Abstract

Today special attention is paid to the microbial quality of medicinal plants. One of the operations in order to maintain the quality of plants is drying which may also affect the quantity and quality of the essential oil. In order to evaluate drying process effect in Peppermint, an experiment was conducted in randomized complete blocks design with 4 treatments and 3 replications. The treatments included: 1- Control, 2- Shade drying, 3- Oven drying at 45 °C, 4- Microwave drying at 450 W power. Samples were analyzed for their drying rate, essential oil content and microbial load (mesophilic aerobic bacteria, total coliforms, yeasts and moulds and *E. coli*) according to the standard guideline. Results indicated that the treatments significantly affected on all traits ($P < 0.01$). Accordingly the fastest method was using the microwave. The maximum essential oil content was obtained from the shade dried samples (3.7% V/W) and the minimum one was obtained from the microwave dried samples (0.23% V/W). Microbial contamination in mesophilic aerobic bacteria and yeasts and moulds was at the lowest level in microwave dried samples (4.47 log CFU/g and 3.42 log CFU/g, respectively); and total coliforms contamination was the lowest in samples which were dried in shade (3.36 log CFU/g). The maximum microbial contamination was observed in fresh samples. The existence of *E. coli* was not proved in any of the treatments. According to these results we can conclude that drying in microwave oven could reduce microbial load under standard levels, however it reduced essential oil content; whereas oil content could be maintained in higher levels in shade method, but this methods could not decrease microbial load.

* Corresponding Author; Email: smirmostafae@yahoo.com

