

# مطالعه اثر عصاره‌های اتانولی زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) و رازک (*Humulus lupulus* L.) در جلوگیری از رشد استافیلوکوکوس اورئوس در دوغ

زهرا قلعه موسیانی<sup>a</sup>، رضوان پورا احمد<sup>b\*</sup>، پیمان رجایی<sup>c</sup>

<sup>a</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران  
<sup>b</sup> دانشیار گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران  
<sup>c</sup> استادیار گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۱۰/۱۳

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۴/۳

۴۵

## چکیده

**مقدمه:** امروزه با توجه به اثرات منفی استفاده از نگهدارنده‌های مصنوعی بر روی سلامت مصرف کنندگان، استفاده از ترکیبات ضد میکروبی طبیعی از جمله عصاره‌های گیاهی در نگهداری مواد غذایی از رشد چشمگیری برخوردار است. دوغ نوعی نوشیدنی لبنی است و در حال حاضر از مقبولیت بالا در ایران برخوردار است. استافیلوکوکوس اورئوس یکی از باکتری‌های ایجادکننده مسمومیت در محصولات لبنی می‌باشد. هدف از این تحقیق بررسی اثر عصاره‌های اتانولی زوفا و رازک در جلوگیری از رشد استافیلوکوکوس اورئوس در دوغ می‌باشد. **مواد و روش‌ها:** MIC (حداقل غلظت بازدارندگی) و MBC (حداقل غلظت کشندگی) عصاره‌های رازک و زوفا اندازه‌گیری شد. همچنین فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌ها به روش دیسک دیفیوژن و ویژگی‌های شیمیایی و حسی دوغ در روزهای ۱، ۷ و ۱۴ مورد بررسی قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** میزان MIC برای عصاره‌های زوفا و رازک به ترتیب ۱۲/۵ mg/mL و ۶/۲۵ mg/mL و مقدار MBC برای این عصاره‌ها به ترتیب ۲۵ mg/mL و ۱۲/۵ mg/mL بود. با افزودن عصاره‌های گیاهی، میزان اسیدیته نمونه‌ها کاهش و pH نمونه‌ها افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). لازم بذکر است که با گذشت زمان نگهداری در اکثر تیمارها قطر هاله‌های عدم رشد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). همچنین با افزودن عصاره‌های گیاهی، امتیازات ویژگی‌های حسی نمونه‌ها کاهش پیدا نمود ( $p < 0.05$ ). در بین نمونه‌های حاوی عصاره‌های گیاهی، نمونه حاوی ۱۲/۵ mg/mL عصاره زوفا دارای بهترین کیفیت حسی بود.

**نتیجه‌گیری:** عصاره‌های زوفا و رازک دارای خاصیت ضد میکروبی مطلوبی بر استافیلوکوکوس اورئوس هستند و می‌توانند به‌عنوان نگهدارنده در دوغ استفاده شوند. در بین نمونه‌های دوغ، نمونه حاوی ۱۲/۵ mg/mL عصاره زوفا با توجه به دارا بودن خاصیت ضد میکروبی مطلوب و همچنین بهترین کیفیت حسی می‌تواند به‌عنوان تیمار برتر انتخاب شود.

**واژه‌های کلیدی:** استافیلوکوکوس اورئوس، دوغ، رازک، زوفا، عصاره اتانولی

## مقدمه

با وجود استفاده از انواع مختلف روش‌های نگهداری هنوز فساد مواد غذایی یکی از نگرانی‌های اصلی برای مصرف کنندگان و تولید کنندگان صنعتی مواد غذایی، محققین امنیت غذایی و آژانس‌های قانون گذاری است که مرتبا با افزایش به روز ناشی از وجود میکروارگانسیم‌های بیماری‌زا و مسموم کننده در غذا درگیر هستند (Shan et al., 2007).

بیماری‌ها و مسمومیت‌های مرتبط با مصرف مواد غذایی همواره از مشکلات عمده جهانی بوده و گزارش‌های اخیر حاکی از آن است که باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در زمره عوامل مسمومیت‌زا در محصولات لبنی می‌باشد (Nunez et al., 1997; Rodulf and Schere, 2001).

شیر و فرآورده‌های آن دارای نقش بزرگی در تغذیه و سلامت انسان در تمام مراحل زندگی می‌باشند. دوغ از نوشیدنی‌های سنتی ایران است و این فرآورده تخمیری، پس از ایران در آمریکا، و سایر کشورهای خاورمیانه و آسیای مرکزی به مصرف می‌رسد. دوغ را از مخلوط کردن ماست، آب، نمک و دیگر افزودنی‌ها از جمله عصاره و پودر گیاهان طبیعی تهیه می‌کنند. این محصول، نوشیدنی سالم و مفیدی است که تأمین کننده یک چهارم نیاز روزانه به کلسیم و حاوی ویتامین‌های B<sub>2</sub>، B<sub>6</sub> و B<sub>12</sub> است (طباطبایی یزدی و همکاران، ۱۳۹۱).

باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، گرم مثبت و فاقد اسپور بوده و رشد آن در دامنه pH ۴ تا ۹/۸ می‌باشد. دمای مناسب برای رشد این باکتری °C ۳۷-۳۵ است. این باکتری توان تولید انتروتوکسین استافیلوکوکی را دارد که این سم مقاوم به حرارت بوده و یکی از مهم‌ترین عوامل مسمومیت غذایی در انسان می‌باشد. معمولا تعداد استافیلوکوکوس اورئوس تا ۱۰<sup>۳</sup> در ماده غذایی خطرناک محسوب نمی‌شود اما زمانی که تعداد باکتری‌ها به ۱۰<sup>۶</sup> تا ۱۰<sup>۱۰</sup> برسد انتروتوکسین تولید شده توسط آن‌ها موجب بروز مسمومیت می‌شود. میزانی از انتروتوکسین استافیلوکوکی که باعث مسمومیت‌زایی در انسان می‌شود بر حسب حساسیت افراد و نوع توکسین متغیر بوده و بین ۰/۱ تا ۱ می‌باشد (Su and Wong, 1997).

یکی از راه‌های نگهداری مواد غذایی افزودن مواد نگهدارنده به آن‌ها می‌باشد. سال‌هاست در بسیاری از کشورها از نگهدارنده‌های مصنوعی در مواد غذایی استفاده می‌شود (Sahin et al., 2004). با افزایش آگاهی مصرف کنندگان از اثرات منفی نگهدارنده‌های مصنوعی بر سلامتی (تبدیل شدن به مواد سمی و سرطان‌زا در بدن) آن‌ها نگران امنیت غذاهای حاوی این ترکیبات هستند و میزان پذیرش چنین محصولاتی کاهش یافته و تقاضا برای مواد طبیعی به عنوان نگهدارنده جدید در غذا رو به افزایش است (Zhang et al., 2009).

گیاهان دارویی از دوران باستان نه تنها به عنوان دارو و عوامل طعم‌دهنده بلکه به عنوان نگهدارنده به مواد غذایی اضافه می‌شدند. این مواد به دلیل استفاده تاریخی و طولانی مدت بدون گزارش اثرات مضر و همچنین به دلیل مطالعات اختصاصی سم‌شناسی مطمئن و سالم شناخته شده‌اند ادویه‌ها و گیاهان دارویی دو نقش عمده در مواد غذایی ایفا می‌کنند: یکی ایجاد طعم و مزه و دیگری به دلیل دارا بودن ویژگی‌های ضد میکروبی و ضد اکسیداسیونی موجب به تأخیر انداختن فساد مواد غذایی و نگهداری آن‌ها می‌شوند (Sahin et al., 2004; Zhang et al., 2009). تحقیقات جدید معلوم ساخته است که اثر گیاهان دارویی به خاطر وجود تعداد نسبتا کمی از ترکیبات شیمیایی است که به نام مواد موثره، گیاه تولید می‌کند. بعضی از مهم‌ترین ترکیبات فعال گیاهی عبارتند از ترکیبات معدنی مانند املاح کلسیم و پتاسیم، اسید سالیسیلیک، اسیدهای آلی نظیر (اسید مالیک، اسید تارتاریک، اسید سیتریک، اسید اگزالیک و ....)، موسیلاژ، گلیکوزیدها، ساپونین‌ها، فلاونوئیدها نظیر تانن‌ها، روغن‌های فرار یا اسانس‌ها، رزین‌ها، آلکالوئیدها، ترکیبات تلخ و آنتی بیوتیک‌ها (توکلی صابری و صداقت، ۱۳۷۹).

گیاه زوفا با نام علمی *Hyssopus officinalis* L. از تیره نعنائیان، گیاهی چندساله بوته‌ای با ساقه‌های متعدد به ارتفاع ۲۰ تا ۶۰ سانتی متر بدون دمبرگ بوده و گل‌های آن در ماه‌های تیر و مرداد ظاهر می‌شوند (Fathizad and Hamedyazdan, 2011). در عصاره استخراجی از برگ زوفا که از طبیعت جمع آوری شده بود، ۱۶ ترکیب شناسایی شدند که بیشترین درصد ترکیب‌ها شامل: ایزوپینوکامفن (۴۹/۴۳٪)، تیمول (۱۸/۹۵٪)، پینوکامفن (۱۸/۷۴٪)، بتا-پینن (۸/۹۴٪)، کارواکرول (۷/۷۳٪) و میرسن (۵/۷۹٪)

خطرترین روش‌ها استفاده از منابع طبیعی نظیر گیاهان دارویی می‌باشد (Ultee et al., 2002; Burt, 2004). در این تحقیق به بررسی اثر عصاره‌های اتانولی زوفا و رازک در جلوگیری از رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در دوغ پرداخته شد.

## مواد و روش‌ها

### - مواد مصرفی

مواد اولیه شامل شیر خام از شرکت شیر ژال قم، استارتر ماست به صورت DVS از شرکت CHR-HANSEN دانمارک، محیط‌های کشت تربیتیکاز سوی آگار، تربیتیکاز سوی برات، مولر هینتون برات و مولر هینتون آگار از شرکت Merck آلمان، گیاه رازک به صورت plat از شرکت بهنوش و گیاه زوفا از باغ گیاهشناسی فیروز تهیه شدند. سوش باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC1113)، به صورت لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری شد.

### - تهیه عصاره الکلی

ابتدا گیاه زوفا در پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی شناسایی و با کد MPIH 4546 تعیین هویت گردید. پس از تأیید گونه گیاهی، برگ‌ها و گل گیاه به دور از نور خورشید و در دمای اتاق خشک شدند. عصاره برگ و گل‌های خشک شده زوفا به همراه گل گیاه رازک که به صورت plat تهیه شده بود در بخش عصاره‌گیری پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی تهیه شدند.

### - تولید دوغ

ابتدا شیر با چربی ۱/۵٪ در دمای ۹۰ °C به مدت ۵ دقیقه پاستوریزه شد و تا دمای ۴۳ °C سرد شد. سپس استارتر ماست (لاکتوباسیلوس *دلیروکی* زیرگونه *بولگاریکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*) به شیر پاستوریزه اضافه شد و عملیات گرمخانه‌گذاری در دمای ۴۳°C تا رسیدن به اسیدیته ۱۲۰ °D صورت گرفت سپس به ماست تولید شده به مقدار ۵۰٪ آب و ۰/۷٪ نمک اضافه گردید و مجدداً عمل پاستوریزاسیون در دمای ۷۴ °C به

بودند (نجف پور نوایی و میرزا، ۱۳۸۲). گیاه رازک با نام علمی *Humulus lupulus L.* گیاهی علفی، چندساله، دوپایه، بالارونده و متعلق به تیره شاهدانه با اعضای پوشیده از تارهای خشن است. عصاره استخراج شده از گل رازک شامل ترکیباتی نظیر هومولون یا آلفاسید و لوپولون یا بتاسیدهای تلخ و زانتوهومول، ایزوزانتوهومول، دیس متیل زانتوهومول، ۶- پرنیل نارنجین، ۸- پرنیل نارنجین، کولین و ترکیبات ترپنی می‌باشد که در این بین هومولون و لوپولون عامل اصلی خاصیت ضد میکروبی هستند (Zanolli and Zavatti, 2008).

زارعلی و همکاران، (۱۳۹۴) به ارزیابی تاثیر عصاره خوشاریزه و چای کوهی بر خصوصیات کیفی دوغ پرداختند و بیان کردند با افزودن عصاره‌های چای کوهی و خوشاریزه در دوغ، اسیدیته به طور معنی‌دار افزایش و pH کاهش یافت.

نصیرپور و همکاران، (۱۳۹۲) در پژوهشی به بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره زوفا بر باکتری‌های بیماریزا پرداختند و بیان کردند که حداقل غلظت بازدارندگی عصاره آبی زوفا علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* ۴۰ mg/mL بود.

همچنین محمدی ثانی و همکاران (۱۳۹۴)؛ به مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره آبی و هومولون رازک بر برخی از باکتری‌های بیماریزا از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC1431) پرداختند. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره هومولون رازک و عصاره آبی رازک روی *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب ۰/۳۹ mg/mL و ۰/۶۲۵ mg/mL بود اما عوامل مذکور در غلظت‌های مورد بررسی خاصیت کشندگی (MBC) نداشتند. هم چنین مشاهده شد که هومولون رازک اثر ضدباکتریایی قوی‌تری نسبت به عصاره آبی رازک داشت. این پژوهشگران بیان کردند که عصاره‌های مذکور دارای خاصیت ضد میکروبی می‌باشند و با افزایش غلظت عصاره‌ها خاصیت ضد میکروبی افزایش می‌یابد.

علی‌رغم پیشرفت‌هایی در روش‌های تهیه و تولید مواد غذایی، سلامت و ایمنی مصرف‌کننده به‌طور روز افزون در بهداشت عمومی اهمیت می‌یابد بنابراین هنوز هم نیاز به کاهش یا حذف میکروارگانیسم‌های غذایی با استفاده از روش‌های مختلف احساس می‌شود که یکی از کم

به داخل دوغ تلقیح گردید (دهداری و حاجی زاده، ۱۳۹۲).

#### - آماده سازی رزازورین

محلول رزازورین از طریق حل کردن ۲۷۰ میلی گرم از پودر رزازورین در ۴۰ میلی لیتر آب مقطر استریل تهیه شد. سپس جهت همگن شدن کامل این محلول از شیکر استفاده گردید (زارع و همکاران، ۱۳۹۰).

#### - تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC<sup>1</sup>) با روش

##### میکروتیتر - پلیت رزازورین

جهت تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از رشد باکتری به وسیله عصاره الکلی گیاه زوفا و رازک از روش اصلاح شده میکروتیتر - پلیت رزازورین استفاده گردید. در مرحله اول حجم ۱۰۰ میکرو لیتر از غلظت ۵۰ mg/mL از عصاره های زوفا و رازک به صورت جداگانه برداشته شد و در چاهک های A<sub>1</sub>، B<sub>1</sub> و C<sub>1</sub> ریخته شد. به تمام خانه های باقی مانده ۵۰ μL از محیط کشت مولر هینتون برات استریل اضافه گردید. رقت های سریالی از طریق انتقال ۵۰ μL از عصاره های مذکور از چاهک A<sub>1</sub> تا چاهک A<sub>6</sub> تهیه شدند و بدین ترتیب غلظت های ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۳/۱۲۵ و ۱/۵۶ میلی گرم بر میلی لیتر بدست آمدند. باید توجه داشت زمانی که محتویات یک چاهک به چاهک دیگر منتقل می شود می بایست سر سمپلر مورد استفاده کنار گذاشته شود هم چنین می بایست ۵۰ μL از محتویات چاهک A<sub>6</sub> نیز برداشته شود تا حجم آن با حجم سایر چاهک ها برابر شود. در ادامه به میزان ۱۰ μL از محلول رزازورین آماده شده به عنوان اندیکاتور به تمامی خانه های میکروپلیت اضافه گردید، در نهایت ۱۰ μL از سوسپانسیون باکتریایی (۱۰<sup>۶</sup> cfu/mL) به تمامی چاهک ها افزوده شد. لازم بذکر است که ردیف های B و C جهت تکرار آزمون استفاده شده اند. گروه های کنترل در انجام این آزمایش در ردیف های D و E در نظر گرفته شدند. (ردیف D حاوی تمامی محلول های بکاربرده شده در مراحل قبلی بدون ترکیب عصاره ها بود و ردیف E شامل تمامی محلول های ذکر شده به جز سوسپانسیون باکتریایی بود که به جای آن ۱۰ μL از محیط کشت مولر هینتون برات استریل استفاده شد) در پایان میکروپلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای

مدت ۱۵ ثانیه و هموژنیزاسیون در فشار ۱۲۰۰-۱۷۰۰ Bar انجام پذیرفت و در پایان عمل سرد کردن دوغ تا دمای ۱۳ °C انجام گردید (موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۷).

#### - تهیه استاندارد میکروبی با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر

برای تهیه سوسپانسیون میکروبی از باکتری کشت داده شده (استافیلوکوکوس اورئوس) بر روی محیط کشت تریپتیک سوی آگار به کمک آنس استریل کلنی برداشته شد و بر روی محیط کشت تریپتیک سوی آگار به صورت چهار قسمتی به منظور تشکیل کلنی تک کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در داخل انکوباتور قرار داده شد سپس بعد از گذشت ۲۴ ساعت ۳-۵ کلنی، از کلنی های تشکیل شده به وسیله سوآپ استریل برداشته شد و درون لوله آزمایش حاوی ۹ سی سی سرم فیزیولوژی استریل ضربه زده تا کلنی به طور کامل از سوآپ جدا شود و بعد به مدت ۳۰ ثانیه عمل ورتکس را انجام داده تا کلنی ها به خوبی و به طور یکنواخت در سرم فیزیولوژی استریل پخش شوند. سپس برای اندازه گیری طول موج از دستگاه اسپکتروفوتومتر استفاده گردید و مقدار ۳ سی سی از آن را درون کووت ریخته و در دستگاه قرار داده شد و بعد میزان جذب آن اندازه گیری گردید. لازم بذکر است که میزان جذب در طول موج ۶۲۵ نانومتر می بایست بین ۰/۱۳-۰/۸ باشد (Bauer et al., 1991).

#### - آماده سازی نمونه میکروبی

در این بخش از استاندارد میکروبی نیم مک فارلند (۱/۵×۱۰<sup>۶</sup> cfu/mL) که به وسیله اسپکتروفوتومتر بدست آمده بود برای آماده سازی نمونه میکروبی استفاده گردید. به این صورت که از لوله آزمایش حاوی نمونه میکروبی CC به ۱ با سمپلر برداشته شد و به لوله آزمایش حاوی ۹ CC سرم فیزیولوژی استریل منتقل گردید و بعد از آن عمل ورتکس انجام پذیرفت سپس مجدداً از همین لوله ۱ CC برداشته و به لوله آزمایش حاوی ۹ CC سرم فیزیولوژی منتقل کرده و ورتکس انجام شد و در این مرحله تراکم مورد نظر یعنی ۱۰<sup>۶</sup> بدست آمد و سپس نمونه میکروبی با رقت مورد نظر

<sup>1</sup> Minimum Inhibitory Concentration

شد. سپس دیسک‌های تهیه شده از عصاره‌ها با غلظت مشخص در فاصله مناسب از یکدیگر بر روی محیط کشت کاشته شدند. به طوریکه از روی محیط کشت جدا نشوند. سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه در انکوباتور نگهداری شدند. در پایان قطر هاله‌های عدم رشد با کولیس اندازه گیری شدند (Baron et al., 1994).

#### - آزمون‌های شیمیایی

آزمون‌های شیمیایی شامل pH واسیدیته در نمونه‌های مورد بررسی، هر کدام در روزهای ۱، ۷ و ۱۴ که در دمای ۴۰°C نگهداری شده بودند، انجام گردید. pH توسط دستگاه pH متر بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۲۸۵۲ انجام شد (بی‌نام، ۱۳۸۶). همچنین اسیدیته با روش دورنیک بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۲۸۵۲ انجام شد (بی‌نام، ۱۳۸۶).

#### - ارزیابی حسی

ارزیابی حسی براساس استاندارد ملی ایران به شماره ۲۴۵۳ انجام پذیرفت. ۵ نفر ارزیاب آموزش دیده با استفاده از روش هدونیک ۵ امتیازی، نمونه‌های دوغ تهیه شده را به لحاظ مزه، بو، بافت، رنگ و پذیرش کلی ارزیابی نمودند. به این ترتیب که حداکثر نمره ۵ به منزله عالی بودن نمونه و ۱، کمترین نمره، نشان دهنده خیلی بد بودن نمونه است (بی‌نام، ۱۳۸۷).

#### - تجزیه و تحلیل آماری

به منظور ارزیابی داده‌ها از نرم‌افزار SAS 9.3، برای تجزیه واریانس از آزمون F و برای کلاس‌بندی میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده گردید. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

#### یافته‌ها

#### - بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های زوفا و رازک

مطابق با جداول ۱ و ۲، بالاترین میزان MIC و MBC مربوط به عصاره زوفا بود و با عصاره رازک که پایین‌ترین

در انکوباتور قرار داده شدند. تغییرات رنگی به وجود آمده به صورت چشمی ارزیابی گردید، به گونه‌ای که تغییر رنگ از بنفش به صورت یا بی رنگ نشانگر رشد باکتریایی بود. پایین‌ترین غلظتی که در آن تغییر رنگ صورت نگرفته بود به عنوان MIC در نظر گرفته شد (Sarkera et al., 2007).

#### - تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC<sup>1</sup>)

جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی از هر کدام از غلظت‌های که تغییر رنگ نداده بود، ۱۰ میکرولیتر بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار انتقال داده شد، سپس در پلیت‌ها را بسته و به صورت وارونه گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور انجام شد و بعد از گذشت زمان لازم پلیت‌ها از انکوباتور خارج شدند و سپس از نظر رشد باکتری بررسی شدند، غلظتی از عصاره که در آن ۹۹/۹٪ از سلول‌های میکروبی کاهش پیدا کرده بود و یا به عبارتی هیچ باکتری در آن رشد نکرده بود به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته شد (Duffy and Power, 2001).

#### - تعیین خاصیت ضد میکروبی با استفاده از روش انتشار در آگار یا دیسک دیفیوژن

جهت تهیه دیسک مورد آزمایش، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره‌ها با غلظت مشخص درون لوله آزمایش استریل وارد گردید. سپس دیسک با قطر ۶/۴ میلی متر درون لوله انداخته شد و با عصاره اشباع گردید. و بعد دیسک‌ها درون انکوباتور قرار داده شدند تا به خوبی جذب دیسک شوند. (اگر دیسک‌ها بعد از آغشته‌سازی مستقیماً درون پلیت گذاشته شوند مواد آغشته به دیسک در محیط کشت پخش می‌شوند و نتیجه مطلوبی بدست نمی‌آید) در هر سری آزمایش یک دیسک حاوی ۱۰۰ میکرولیتر اتانول ۸۰٪ به عنوان کنترل منفی به کار برده شد و هم چنین آنتی‌بیوتیک وانکوماپسین به عنوان کنترل مثبت مورد استفاده قرار گرفت. در این آزمایش از محیط کشت مولر هینتون آگار استفاده گردید. بعد از ریختن محیط کشت درون پلیت و سفت شدن آن ۱۰۰ میکرولیتر از دوغ حاوی سوسپانسیون با سوآپ به صورت چمنی بر روی محیط کشت، کشت داده

<sup>1</sup> Minimum Bactericidal Concentration

رازک با ایجاد قطر هاله‌های بیشتر نسبت به عصاره زوفا خاصیت ضد میکروبی بیشتری نشان داد.

میزان MIC و MBC را داشت دارای تفاوت معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ).

**بررسی ویژگی‌های شیمیایی در نمونه‌های حاوی عصاره‌های زوفا و رازک**

**- سنجش اسیدیته در نمونه‌های مورد بررسی**  
بر اساس جدول ۴ با گذشت زمان نگهداری، اسیدیته کلیه تیمارها به طور معنی‌دار افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). همچنین، بین کلیه تیمارها به جز تیمارهای B<sub>1</sub> و B<sub>2</sub> از نظر اسیدیته اختلاف معنی‌دار وجود داشت ( $p < 0.05$ ). به این ترتیب که با افزایش غلظت عصاره‌ها، اسیدیته کاهش یافت.

**- سنجش pH در نمونه‌های مورد بررسی**  
مطابق جدول ۵ با گذشت زمان نگهداری، pH کلیه تیمارها به طور معنی‌دار کاهش یافت ( $p < 0.05$ ). هم چنین بین تمامی تیمارها از نظر pH اختلاف معنی‌دار وجود داشت ( $p < 0.05$ ). بدین ترتیب که با افزایش غلظت عصاره‌های مذکور، pH افزایش یافت.

**جدول ۱- مقادیر MIC (mg/mL) در نمونه‌های مورد بررسی**

تیمار / ویژگی	MIC (mg/mL)
عصاره رازک	۶/۲۵
عصاره زوفا	۱۲/۵

**جدول ۲- مقادیر MBC (mg/mL) در نمونه‌های مورد بررسی**

تیمار / ویژگی	MBC (mg/mL)
عصاره رازک	۱۲/۵
عصاره زوفا	۲۵

مطابق جدول ۳، در پایان دوره نگهداری، اندازه قطر هاله‌های عدم رشد به جز تیمار شاهد ۲ به طور معنی‌دار افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). در حالیکه در تیمار شاهد ۲ اندازه قطر هاله‌های عدم رشد تفاوت معنی‌داری نداشت ( $p > 0.05$ ). بین تیمارهای مختلف از نظر قطر هاله عدم رشد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). بدین ترتیب که با افزایش غلظت عصاره‌ها اندازه قطر هاله عدم رشد افزایش پیدا کرد که در بین عصاره‌های گیاهی، عصاره

**جدول ۳- مقادیر قطر هاله عدم رشد (mm) در نمونه‌های مورد بررسی در طول زمان نگهداری\* (میانگین ± انحراف معیار)**

تیمار / بازه زمانی	روز اول	روز هفتم	روز چهاردهم
شاهد ۱	۳.۰ ± ۰.۰ <sup>Ca</sup>	۳.۵/۷.۷ ± ۰.۳۵ <sup>Ba</sup>	۴.۲ ± ۰.۰ <sup>Aa</sup>
شاهد ۲	۰.۰ ± ۰.۰ <sup>Ai</sup>	۰.۰ ± ۰.۰ <sup>Ah</sup>	۰.۰ ± ۰.۰ <sup>Ai</sup>
A <sub>1</sub>	۱.۵/۸.۳ ± ۰.۱۲ <sup>Bf</sup>	۲.۳/۷.۳ ± ۱.۲۵ <sup>Ae</sup>	۲.۵/۲.۲ ± ۲.۲ <sup>Aef</sup>
A <sub>2</sub>	۱.۷/۴.۰ ± ۰.۴ <sup>Cef</sup>	۲.۶ ± ۱.۷۳ <sup>Bd</sup>	۲.۸/۲.۲ ± ۱.۳ <sup>Ad</sup>
A <sub>3</sub>	۲.۰/۳.۷ ± ۰.۰۶ <sup>Cd</sup>	۲.۷/۹.۰ ± ۰.۴ <sup>Bd</sup>	۳.۰/۷.۰ ± ۱.۷ <sup>Ac</sup>
A <sub>4</sub>	۲.۳ ± ۰.۰ <sup>Bc</sup>	۳.۰/۷.۰ ± ۱.۸ <sup>Ac</sup>	۳.۱/۳.۳ ± ۳.۰۵ <sup>Ac</sup>
A <sub>5</sub>	۲.۶/۸.۷ ± ۰.۸۱ <sup>Cb</sup>	۳.۲ ± ۱.۳ <sup>Bbc</sup>	۳.۴ ± ۱.۰ <sup>Ab</sup>
A <sub>6</sub>	۳.۰ ± ۰.۴ <sup>ABa</sup>	۳.۳/۲.۳ ± ۱.۲۵ <sup>Ab</sup>	۳.۴/۷.۳ ± ۱.۰۵ <sup>Ab</sup>
B <sub>1</sub>	۷.۱/۳.۰ ± ۰.۱۲ <sup>Cg</sup>	۹.۸/۳.۰ ± ۰.۲۹ <sup>Bg</sup>	۱۴.۹/۳.۰ ± ۲.۴۵ <sup>Ah</sup>
B <sub>2</sub>	۱۱.۸ ± ۱.۵۶ <sup>Ch</sup>	۱۵.۷ ± ۱.۱۴ <sup>Bf</sup>	۱۹.۷/۳.۰ ± ۰.۲۵ <sup>Ag</sup>
B <sub>3</sub>	۱.۸/۹.۰ ± ۰.۰ <sup>Cde</sup>	۲.۳/۱.۳ ± ۱.۶۵ <sup>Be</sup>	۲.۴/۰.۳ ± ۰.۹۵ <sup>Af</sup>
B <sub>4</sub>	۱.۹/۹.۰ ± ۰.۰۶ <sup>Cd</sup>	۲.۴ ± ۰.۸۷ <sup>Be</sup>	۲.۶/۰.۶ ± ۰.۳ <sup>Ade</sup>
B <sub>5</sub>	۲.۴/۵.۰ ± ۰.۰ <sup>Bc</sup>	۲.۶/۱.۳ ± ۰.۵۵ <sup>ABd</sup>	۲.۷/۴.۳ ± ۰.۰۶ <sup>Ad</sup>
B <sub>6</sub>	۲.۶/۶.۰ ± ۰.۱ <sup>Bb</sup>	۲.۷/۳.۰ ± ۱.۳ <sup>Bd</sup>	۳.۰/۴.۳ ± ۰.۵۵ <sup>Ac</sup>

\* حروف بزرگ غیرمشابه در هر سطر نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ( $p < 0.05$ ), حروف کوچک غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار است ( $p < 0.05$ ).

A<sub>1</sub>: ۵۰ mg/mL عصاره رازک، A<sub>2</sub>: ۱۰۰ mg/mL عصاره رازک، A<sub>3</sub>: ۲۵۰ mg/mL عصاره رازک، A<sub>4</sub>: ۴۰۰ mg/mL عصاره رازک، A<sub>5</sub>: ۵۵۰ mg/mL عصاره رازک، A<sub>6</sub>: ۶۵۰ mg/mL عصاره رازک، B<sub>1</sub>: ۵۰ mg/mL عصاره زوفا، B<sub>2</sub>: ۱۰۰ mg/mL عصاره زوفا، B<sub>3</sub>: ۲۵۰ mg/mL عصاره زوفا، B<sub>4</sub>: ۴۰۰ mg/mL عصاره زوفا، B<sub>5</sub>: ۵۵۰ mg/mL عصاره زوفا، B<sub>6</sub>: ۶۵۰ mg/mL عصاره زوفا، شاهد ۱: ۳۰ mg و آنکومایسین، شاهد ۲: اتانول ۸۰٪

جدول ۴- مقادیر اسیدیته (درجه دورنیک) در نمونه‌های مورد بررسی در طول زمان نگهداری\* (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

تیمار / بازه زمانی	روز اول	روز هفتم	روز چهاردهم
شاهد	$1.06 \pm .Ca$	$10.9/3 \pm .58^{Ba}$	$111/3 \pm .58^{Aa}$
A <sub>1</sub>	$78/67 \pm .57^{Cg}$	$82/67 \pm .57^{Bg}$	$84 \pm .Ah$
A <sub>2</sub>	$83/67 \pm .57^{Cf}$	$85/67 \pm .57^{Bf}$	$88/67 \pm .57^{Ag}$
A <sub>3</sub>	$86/67 \pm .57^{Ce}$	$88/33 \pm .57^{Be}$	$91/33 \pm .57^{Af}$
A <sub>4</sub>	$89/67 \pm .57^{Cd}$	$92 \pm .Bd$	$94 \pm .Ae$
B <sub>1</sub>	$91/3 \pm .58^{Cc}$	$93/7 \pm .58^{Bc}$	$97/3 \pm .58^{Ad}$
B <sub>2</sub>	$92/3 \pm .58^{Cc}$	$94 \pm .Bc$	$99 \pm .Ac$
B <sub>3</sub>	$94/3 \pm .58^{Cb}$	$97/7 \pm 1/15^{Bb}$	$101/7 \pm .58^{Ab}$

\* حروف بزرگ غیر مشابه در هر سطر نشان دهنده اختلاف معنی دار است ( $p < 0.05$ ), حروف کوچک غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار است ( $p < 0.05$ ).

A<sub>1</sub>: ۵۰ mg/mL عصاره رازک، A<sub>2</sub>: ۲۵ mg/mL عصاره رازک، A<sub>3</sub>: ۱۲/۵ mg/mL عصاره رازک، A<sub>4</sub>: ۶/۲۵ mg/mL عصاره رازک، B<sub>1</sub>: ۵۰ mg/mL عصاره زوفا، B<sub>2</sub>: ۲۵ mg/mL عصاره زوفا، B<sub>3</sub>: ۱۲/۵ mg/mL عصاره زوفا، شاهد: فاقد عصاره

#### - بررسی ویژگی‌های حسی در نمونه‌های حاوی عصاره های زوفا و رازک

##### - سنجش امتیازات مزه در نمونه‌های مورد بررسی

مطابق جدول ۶ در تمامی تیمارها با گذشت زمان نگهداری، تفاوت معنی‌داری در امتیازات مزه مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ) و بین کلیه تیمارها به جز تیمارهای A<sub>1</sub>، A<sub>2</sub>، A<sub>3</sub> و B<sub>1</sub> اختلاف معنی‌داری در امتیازات مزه وجود داشت ( $p < 0.05$ ). بدین ترتیب که با کاهش غلظت عصاره‌های گیاهی شاهد افزایش امتیازات مزه در نمونه‌های مورد بررسی بودیم. لازم بذکر است که بالاترین امتیاز مزه مربوط به تیمار شاهد و پایین‌ترین امتیاز مربوط به تیمار A<sub>1</sub> بود.

##### - سنجش امتیازات بو در نمونه‌های مورد بررسی

مطابق جدول ۷ با گذشت زمان نگهداری، بین امتیازات بو به جز تیمار B<sub>1</sub> تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بین تیمارهای شاهد، A<sub>3</sub>، A<sub>4</sub> و B<sub>1</sub> با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری وجود داشت ( $p < 0.05$ ). تیمارهای A<sub>1</sub> و A<sub>2</sub> با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند ( $p > 0.05$ ) در حالیکه با سایر تیمارها از این نظر دارای تفاوت معنی‌دار بودند ( $p < 0.05$ ). تیمارهای B<sub>2</sub> و B<sub>3</sub> نیز با هم تفاوت معنی‌داری نداشتند ( $p > 0.05$ ) اما با سایر تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بودند ( $p < 0.05$ ). با کاهش غلظت عصاره‌ها در نمونه‌های مورد بررسی امتیازات بو افزایش یافت. لازم بذکر است که بالاترین امتیاز بو در نمونه‌های مورد بررسی مربوط به تیمار شاهد و پایین‌ترین امتیاز مربوط به تیمار A<sub>1</sub> بود.

#### - سنجش امتیازات رنگ در نمونه‌های مورد بررسی

بر اساس جدول ۸ با گذشت زمان نگهداری بین امتیازات رنگ در تمامی تیمارها به جز تیمارهای A<sub>4</sub>، B<sub>2</sub> و B<sub>3</sub> تفاوت معنی‌داری ایجاد نشد ( $p < 0.05$ ). بین تیمارهای شاهد، A<sub>1</sub> و A<sub>4</sub>، با سایر تیمارها از لحاظ امتیازات رنگ تفاوت معنی‌داری وجود داشت ( $p < 0.05$ ). در حالیکه تیمارهای A<sub>2</sub>، A<sub>3</sub> و B<sub>3</sub> با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند ( $p > 0.05$ ) اما با سایر تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بودند ( $p < 0.05$ ). تیمارهای B<sub>1</sub> و B<sub>2</sub> نیز با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند ( $p > 0.05$ ) اما با سایر تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بودند ( $p < 0.05$ ). لازم بذکر است که بالاترین امتیاز رنگ در نمونه‌های مورد بررسی مربوط به تیمار شاهد و پایین‌ترین امتیاز مربوط به تیمار A<sub>1</sub> بود.

#### - سنجش امتیازات پذیرش کلی در نمونه‌های مورد بررسی

مطابق با جدول ۹ با گذشت زمان نگهداری بین امتیازات پذیرش کلی در تمامی تیمارها به جز تیمار B<sub>1</sub> تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ( $p > 0.05$ ). کلیه تیمارها به جز تیمارهای A<sub>2</sub> و A<sub>3</sub> با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند ( $p < 0.05$ ). لازم بذکر است که بالاترین امتیاز پذیرش کلی در نمونه‌های مورد بررسی مربوط به تیمار شاهد و پایین‌ترین امتیاز مربوط به تیمار A<sub>1</sub> بود.

جدول ۵- مقادیر pH در نمونه‌های مورد بررسی در طول زمان نگهداری\* (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

تیمار / بازه زمانی	روز اول	روز هفتم	روز چهاردهم
شاهد	4 $\pm$ 0.1 <sup>Ah</sup>	3/95 $\pm$ 0.1 <sup>Bh</sup>	3/92 $\pm$ 0.1 <sup>Ch</sup>
A <sub>1</sub>	4/44 $\pm$ 0.1 <sup>Aa</sup>	4/36 $\pm$ 0.1 <sup>Ba</sup>	4/32 $\pm$ 0.1 <sup>Ca</sup>
A <sub>2</sub>	4/35 $\pm$ 0.1 <sup>Ab</sup>	4/32 $\pm$ 0.1 <sup>Bb</sup>	4/27 $\pm$ 0.1 <sup>Cb</sup>
A <sub>3</sub>	4/3 $\pm$ 0.1 <sup>Ac</sup>	4/28 $\pm$ 0.1 <sup>Bc</sup>	4/24 $\pm$ 0.1 <sup>Cc</sup>
A <sub>4</sub>	4/26 $\pm$ 0.1 <sup>Ad</sup>	4/23 $\pm$ 0.1 <sup>Bd</sup>	4/17 $\pm$ 0.1 <sup>Cd</sup>
B <sub>1</sub>	4/24 $\pm$ 0.1 <sup>Ae</sup>	4/18 $\pm$ 0.1 <sup>Be</sup>	4/12 $\pm$ 0.1 <sup>Ce</sup>
B <sub>2</sub>	4/2 $\pm$ 0.1 <sup>Af</sup>	4/17 $\pm$ 0.1 <sup>Bf</sup>	4/1 $\pm$ 0.1 <sup>Cf</sup>
B <sub>3</sub>	4/15 $\pm$ 0.1 <sup>Ag</sup>	4/11 $\pm$ 0.1 <sup>Bg</sup>	4/0.7 $\pm$ 0.1 <sup>Cg</sup>

\* حروف بزرگ غیر مشابه در هر سطر نشان دهنده اختلاف معنی دار است ( $p < 0.05$ ), حروف کوچک غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار است ( $p < 0.05$ ).

A<sub>1</sub>: 50 mg/mL عصاره رازک، A<sub>2</sub>: 25 mg/mL عصاره رازک، A<sub>3</sub>: 12/5 mg/mL عصاره رازک، A<sub>4</sub>: 6/25 mg/mL عصاره رازک، B<sub>1</sub>: 50 mg/mL عصاره زوفا، B<sub>2</sub>: 25 mg/mL عصاره زوفا، B<sub>3</sub>: 12/5 mg/mL عصاره زوفا، شاهد: فاقد عصاره

جدول ۶- امتیازات مزه در نمونه‌های مورد بررسی در طول زمان نگهداری\* (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

تیمار / بازه زمانی	روز اول	روز هفتم	روز چهاردهم
شاهد	5 $\pm$ 0.1 <sup>Aa</sup>	5 $\pm$ 0.1 <sup>Aa</sup>	4/33 $\pm$ 0.1 <sup>Aa</sup>
A <sub>1</sub>	1/33 $\pm$ 0.1 <sup>Ad</sup>	1/67 $\pm$ 0.1 <sup>Ae</sup>	2 $\pm$ 0.1 <sup>Ad</sup>
A <sub>2</sub>	2 $\pm$ 0.1 <sup>Ac</sup>	2 $\pm$ 0.1 <sup>Ad</sup>	2/67 $\pm$ 0.1 <sup>Ac</sup>
A <sub>3</sub>	2/33 $\pm$ 0.1 <sup>Abc</sup>	2/33 $\pm$ 0.1 <sup>Acde</sup>	2/67 $\pm$ 0.1 <sup>Ac</sup>
A <sub>4</sub>	2/33 $\pm$ 0.1 <sup>Abc</sup>	2/67 $\pm$ 0.1 <sup>Abcd</sup>	3 $\pm$ 0.1 <sup>Abc</sup>
B <sub>1</sub>	2 $\pm$ 0.1 <sup>Ac</sup>	2/33 $\pm$ 0.1 <sup>Acde</sup>	2/67 $\pm$ 0.1 <sup>Ac</sup>
B <sub>2</sub>	2/67 $\pm$ 0.1 <sup>Abc</sup>	3 $\pm$ 0.1 <sup>Abc</sup>	3/33 $\pm$ 0.1 <sup>Abc</sup>
B <sub>3</sub>	3 $\pm$ 0.1 <sup>Ab</sup>	3/33 $\pm$ 0.1 <sup>Ab</sup>	3/67 $\pm$ 0.1 <sup>Ab</sup>

\* حروف بزرگ غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطر است ( $p < 0.05$ ), حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در ستون است ( $p < 0.05$ ).

A<sub>1</sub>: 50 mg/mL عصاره رازک، A<sub>2</sub>: 25 mg/mL عصاره رازک، A<sub>3</sub>: 12/5 mg/mL عصاره رازک، A<sub>4</sub>: 6/25 mg/mL عصاره رازک، B<sub>1</sub>: 50 mg/mL عصاره زوفا، B<sub>2</sub>: 25 mg/mL عصاره زوفا، B<sub>3</sub>: 12/5 mg/mL عصاره زوفا، شاهد: فاقد عصاره

جدول ۷- امتیازات بودر نمونه‌های مورد بررسی در طول زمان نگهداری\* (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

تیمار / بازه زمانی	روز اول	روز هفتم	روز چهاردهم
شاهد	5 $\pm$ 0.1 <sup>Aa</sup>	5 $\pm$ 0.1 <sup>Aa</sup>	5 $\pm$ 0.1 <sup>Aa</sup>
A <sub>1</sub>	1/33 $\pm$ 0.1 <sup>Ad</sup>	1/33 $\pm$ 0.1 <sup>Ad</sup>	1/67 $\pm$ 0.1 <sup>Ac</sup>
A <sub>2</sub>	1/33 $\pm$ 0.1 <sup>Ad</sup>	1/67 $\pm$ 0.1 <sup>Ac</sup>	2 $\pm$ 0.1 <sup>Ac</sup>
A <sub>3</sub>	1/67 $\pm$ 0.1 <sup>Ac</sup>	2 $\pm$ 0.1 <sup>Ac</sup>	2 $\pm$ 0.1 <sup>Ac</sup>
A <sub>4</sub>	2 $\pm$ 0.1 <sup>Ac</sup>	2/33 $\pm$ 0.1 <sup>Ac</sup>	2/33 $\pm$ 0.1 <sup>Ac</sup>
B <sub>1</sub>	2/33 $\pm$ 0.1 <sup>Bc</sup>	2/33 $\pm$ 0.1 <sup>Bc</sup>	3/33 $\pm$ 0.1 <sup>Ab</sup>
B <sub>2</sub>	3/33 $\pm$ 0.1 <sup>Ab</sup>	3/33 $\pm$ 0.1 <sup>Ab</sup>	3/67 $\pm$ 0.1 <sup>Ab</sup>
B <sub>3</sub>	3/33 $\pm$ 0.1 <sup>Ab</sup>	3/67 $\pm$ 0.1 <sup>Ab</sup>	4 $\pm$ 0.1 <sup>Ab</sup>

\* حروف بزرگ غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطر است ( $p < 0.05$ ), حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در ستون است ( $p < 0.05$ ).

A<sub>1</sub>: 50 mg/mL عصاره رازک، A<sub>2</sub>: 25 mg/mL عصاره رازک، A<sub>3</sub>: 12/5 mg/mL عصاره رازک، A<sub>4</sub>: 6/25 mg/mL عصاره رازک، B<sub>1</sub>: 50 mg/mL عصاره زوفا، B<sub>2</sub>: 25 mg/mL عصاره زوفا، B<sub>3</sub>: 12/5 mg/mL عصاره زوفا، شاهد: فاقد عصاره



جدول ۸- امتیازات رنگ در نمونه‌های مورد بررسی در طول زمان نگهداری\* (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

تیمار / بازه زمانی	روز اول	روز هفتم	روز چهاردهم
شاهد	۵ $\pm$ . Aa	۵ $\pm$ . Aa	۵ $\pm$ . Aa
A <sub>1</sub>	۱/۳۳ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Ad</sup>	۱/۳۳ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Ad</sup>	۱/۶۷ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Ad</sup>
A <sub>2</sub>	۲ $\pm$ ۱ <sup>Abcd</sup>	۱/۶۷ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Acd</sup>	۲ $\pm$ . <sup>Acd</sup>
A <sub>3</sub>	۲/۳۳ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Abc</sup>	۲/۳۳ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Abc</sup>	۲/۶۷ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Ac</sup>
A <sub>4</sub>	۲/۶۷ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Bb</sup>	۲/۶۷ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Bb</sup>	۳/۶۷ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Ab</sup>
B <sub>1</sub>	۱/۳۳ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Ad</sup>	۱/۳۳ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Ad</sup>	۲ $\pm$ . <sup>Acd</sup>
B <sub>2</sub>	۱/۳۳ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Bd</sup>	۱/۶۷ $\pm$ . / ۵۸ <sup>ABcd</sup>	۲/۳۳ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Acd</sup>
B <sub>3</sub>	۱/۶۷ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Bcd</sup>	۲ $\pm$ . <sup>ABbcd</sup>	۲/۶۷ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Ac</sup>

\* حروف بزرگ غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطر است ( $p < 0.05$ ), حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در ستون است ( $p < 0.05$ ).

A<sub>1</sub>: ۵۰ mg/mL عصاره رازک، A<sub>2</sub>: ۲۵ mg/mL عصاره رازک، A<sub>3</sub>: ۱۲/۵ mg/mL عصاره رازک، A<sub>4</sub>: ۶/۲۵ mg/mL عصاره رازک، B<sub>1</sub>: ۵۰ mg/mL عصاره زوفا، B<sub>2</sub>: ۲۵ mg/mL عصاره زوفا، B<sub>3</sub>: ۱۲/۵ mg/mL عصاره زوفا، شاهد: فاقد عصاره

جدول ۹- امتیازات پذیرش کلی در نمونه‌های مورد بررسی در طول زمان نگهداری\* (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

تیمار / بازه زمانی	روز اول	روز هفتم	روز چهاردهم
شاهد	۵ $\pm$ . Aa	۵ $\pm$ . Aa	۴/۳۳ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Aa</sup>
A <sub>1</sub>	۱/۳۳ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Ac</sup>	۱/۶۷ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Ad</sup>	۲ $\pm$ . <sup>Ad</sup>
A <sub>2</sub>	۲ $\pm$ . <sup>Ac</sup>	۲/۳۳ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Acd</sup>	۲/۶۷ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Acd</sup>
A <sub>3</sub>	۲ $\pm$ ۱ <sup>Ac</sup>	۲/۳۳ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Acd</sup>	۲/۶۷ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Acd</sup>
A <sub>4</sub>	۲/۳۳ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Ac</sup>	۲/۶۷ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Abc</sup>	۳ $\pm$ . <sup>Abc</sup>
B <sub>1</sub>	۱/۶۷ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Bc</sup>	۲/۳۳ $\pm$ . / ۵۸ <sup>ABcd</sup>	۲/۶۷ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Acd</sup>
B <sub>2</sub>	۳ $\pm$ . <sup>Ab</sup>	۳ $\pm$ . <sup>Ab</sup>	۳/۳۳ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Abc</sup>
B <sub>3</sub>	۳/۳۳ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Ab</sup>	۳/۳۳ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Ab</sup>	۳/۶۷ $\pm$ . / ۵۸ <sup>Aab</sup>

\* حروف بزرگ غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطر است ( $p < 0.05$ ), حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در ستون است ( $p < 0.05$ ).

A<sub>1</sub>: ۵۰ mg/mL عصاره رازک، A<sub>2</sub>: ۲۵ mg/mL عصاره رازک، A<sub>3</sub>: ۱۲/۵ mg/mL عصاره رازک، A<sub>4</sub>: ۶/۲۵ mg/mL عصاره رازک، B<sub>1</sub>: ۵۰ mg/mL عصاره زوفا، B<sub>2</sub>: ۲۵ mg/mL عصاره زوفا، B<sub>3</sub>: ۱۲/۵ mg/mL عصاره زوفا، شاهد: فاقد عصاره

## بحث

### - بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های زوفا و رازک

بالاترین میزان MIC و MBC مربوط به عصاره زوفا بود و با عصاره رازک که پایین ترین میزان MIC و MBC را داشت دارای تفاوت معنی دار بود ( $p < 0.05$ ). در عصاره‌های گیاهی هر چه MIC و MBC در غلظت‌های پایین تر به دست آیند نشان دهنده این است که عصاره دارای خاصیت ضد میکروبی بیشتری می‌باشد (زارع و همکاران، ۱۳۹۰). بنابراین در این پژوهش، از آنجائیکه

MIC عصاره رازک در غلظت پایین تر نسبت به عصاره زوفا باکتری استافیلوکوکوس اورئوس را مهار کرده و همچنین موجب کشندگی آن شده؛ به همین جهت دارای خاصیت ضد میکروبی بیشتر نسبت به عصاره زوفا می‌باشد. در پژوهشی محمد زرین آبادی و همکاران، (۱۳۹۰) به بررسی ترکیب شیمیایی و خواص ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی روغن‌های اسانسی گیاه دارویی آویشن زوفایی پرداختند و به نتایج مشابهی دست یافتند. در این آزمون میزان MIC و MBC برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در ۵ غلظت ۰/۲، ۰/۴، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر میلی

لیتر مورد بررسی قرار گرفت و مقدار MIC و MBC برای این باکتری به ترتیب ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر بدست آمد.

با گذشت زمان نگهداری، قطر هاله‌های عدم رشد افزایش یافت که این نشان می‌دهد که احتمالاً با گذشت زمان نگهداری، از تعداد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس موجود در نمونه به دلیل قرار گرفتن در فاز سکون و یا فاز مرگ کاسته شده است. با افزایش غلظت عصاره‌ها اندازه قطر هاله‌های عدم رشد افزایش پیدا کرد که در بین عصاره‌های گیاهی، عصاره رازک با ایجاد قطر هاله‌های بیشتر نسبت به عصاره زوفا خاصیت ضد میکروبی بیشتری نشان داد. علت ایجاد خاصیت ضد میکروبی گیاهان دارویی به دلیل وجود ترکیبات موثره در آن‌ها می‌باشد. در عصاره رازک ترکیبات فنولی و اسیدهای تلخ و هومولون و لوپولون، زانتوهومول و ۸-پرنیل نارنجینین از عوامل عمده خاصیت ضد میکروبی می‌باشند (Naoto *et al.*, 2009) و همچنین عصاره زوفا دارای ترکیبات فنولی بسیاری می‌باشد که در این بین دو ترکیب کارواکرول و تیمول، عامل اصلی خاصیت ضد میکروبی این عصاره هستند. میزان اثر این ترکیبات به مقدار غلظت به کار برده شده بستگی دارد که هر چه این غلظت‌ها بالاتر باشند به دلیل بالا بودن مواد موثره منجر به افزایش نابودی میکروارگانیسم‌ها می‌شوند در نتیجه برای ایجاد اثر ضد باکتریایی مشابه در دوزهای پایین باید از زمان بیشتری استفاده کرد (Burt, 2004).

یک ویژگی مهم عصاره‌های گیاهی و ترکیباتشان خاصیت آبریزی‌شان است که می‌توانند در حد فاصل لیبیدهای غشای سلولی میکروارگانیسم‌ها و میتوکندری آن‌ها قرار بگیرند (Burt, 2004). بدین ترتیب خاصیت ضد میکروبی خود را از طریق سازوکارهایی چون تجزیه دیواره سلولی (Hammer *et al.*, 1991)، افزایش اسیدیته سیتوپلاسمی، آسیب غشای سلولی، آسیب به غشای پروتئین‌ها (Ultee and Smide, 2001)، نشت محتویات سلول به خارج، اختلال در نقل و انتقال پروتون و اختلال در فعالیت آنزیم حیاتی نظیر ATPase و جلوگیری از متابولیسم باکتری (Lambert *et al.*, 2001) اعمال می‌کنند. در تحقیقی محمدی ثانی و همکاران، (۱۳۹۴) به مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره آبی و هومولون رازک بر برخی از باکتری‌های بیماریزا پرداختند و به نتایج مشابهی

دست یافتند. در این آزمون خاصیت ضد میکروبی عصاره آبی و هومولون رازک از طریق روش دیسک دیفیوژن در پنج غلظت مورد بررسی قرار گرفت و بیشترین اندازه قطر هاله رشد در بالاترین غلظت (۵۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر) توسط هومولون رازک که مقدار آن ۱۷ میلی متر بود بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بدست آمد.

#### - بررسی ویژگی‌های شیمیایی در نمونه‌های حاوی عصاره‌های زوفا و رازک

##### - سنجش اسیدیته در نمونه‌های مورد بررسی

با گذشت زمان نگهداری، اسیدیته کلیه تیمارها به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). علت آنست که با افزایش زمان نگهداری و نیز ادامه فرآیند تخمیر لاکتوز توسط باکتری‌های استارتر به خصوص لاکتوباسیلوس بولگاریکوس (مهبجوریان و همکاران، ۱۳۹۳) اسیدیته به دلیل تجمع اسیدهایی نظیر اسیدلاکتیک، استالدهید، اسیدفرمیک، اسیدلاکتیک و غیره افزایش می‌یابد (Joung *et al.*, 2016).

با افزایش غلظت عصاره‌ها، اسیدیته کاهش یافت که احتمالاً علت این امر به توانایی بافری بالاتر این عصاره‌ها در غلظت‌های بالاتر مربوط می‌باشد. در پژوهشی کلانتری، (۱۳۹۰) تأثیر دو نوع اسانس گیاهی شوید و ترخون بر ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی (pH، اسیدیته، ویسکوزیته و سینرسیس)، میکروبی (شمارش لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس، شمارش بیفیدوباکتریوم لاکتیس، شمارش کپک و شمارش مخمر) و حسی (عطر و طعم، بافت و ویژگی‌های ظاهری) ماست پروبیوتیک، طی روزهای اول، هفتم، چهاردهم و بیست و یکم از طول دوره نگهداری، مورد ارزیابی قرار دادند و به نتایج مشابهی دست یافتند و گزارش کردند که در مورد هر دو نوع اسانس شوید و ترخون با افزایش غلظت، میزان اسیدیته به طور معنی‌داری کاهش یافت ( $p < 0.05$ ). در تحقیقی به بررسی تغییر در ویژگی‌های تخمیری ماست، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مهار آنزیم تبدیل‌کننده آنزیم آنژیوتنسین-۱ حاوی نعناع، شوید و ریحان پرداخته شد و به نتایج غیر مشابهی دست یافتند و بیان کردند که میزان اسیدیته ماست‌های تیمار شده با عصاره‌های گیاهی در طول تخمیر و زمان نگهداری بالاتر از ماست شاهد دیگر بود (Amirdivani and Baba, 2011).

طعم، بافت و ویژگی های ظاهری) ماست پروبیوتیک در روزهای اول، هفتم، چهاردهم و بیست و یکم از طول دوره نگهداری مورد ارزیابی قرار دادند و به نتایج مشابهی دست یافتند. طبق نتایج حاصله در نمونه های حاوی اسانس شوید امتیاز حسی (عطر و طعم) از نمونه های حاوی اسانس ترخون به طور معنی داری کمتر بود ( $p < 0.05$ ). به طور کلی با افزایش غلظت اسانس ها در مورد هر دو نوع اسانس شوید و ترخون امتیاز حسی (عطر و طعم) به طور معنی داری کاهش یافت ( $p < 0.05$ ). هم چنین با گذشت زمان نگهداری امتیاز حسی (عطر و طعم) به طور معنی داری کاهش یافت ( $p < 0.05$ ).

Joung و همکاران (۲۰۱۶) به بررسی ویژگی های حسی ماست گیاهی تخمیر شده با عصاره گیاهان سنتی *Diospyros* (DK) و *Nelumbo nucifera leaf* (NN) *kaki THUNB* کره جنوبی پرداختند و به نتایج غیر مشابهی رسیدند. نمونه های ماست یک روز پس از تولید مورد ارزیابی حسی قرار گرفتند. میزان امتیازات عطر و طعم در ماست های حاوی عصاره های گیاهی در مقایسه با ماست ساده بالاتر بود و ماست های حاوی عصاره های گیاهی نسبت به ماست ساده امتیازات بالاتری را کسب کردند.

#### - سنجش امتیازات بو در نمونه های مورد بررسی

نتایج حاکی از آن است که افزودن عصاره های گیاهی به دوغ امتیازات بو را نسبت به دوغ شاهد به طور معنی داری کاهش می دهد ( $p < 0.05$ ). احتمالاً شدت عوامل موثر بر عطر و بو در این عصاره ها با گذشت زمان تغییر چندانی نکرده و اثر نامطلوب آن ها تا آخرین روز نگهداری نمونه ها بر امتیازات بو اثر منفی خود را حفظ کرده است و به همین خاطر با کاهش غلظت عصاره ها در نمونه های مورد بررسی امتیازات بو افزایش یافته است. اطهری و همکاران، (۱۳۹۳) به ارزیابی حسی دوغ تولیدی توسط عصاره اتانولی مرزنجوش در شرایط آزمایشگاهی در طول زمان نگهداری پرداختند و به نتایج مشابهی دست یافتند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت عصاره مرزنجوش و نیز افزایش دمای نگهداری میزان مقبولیت پذیرش بو در محصول کاهش پیدا کرد. در مطالعه دیگری صالح وثوق و همکاران، (۱۳۸۸) اثر عرق نعناع بر قابلیت بقای باکتری های پروبیوتیک در نوشیدنی سنتی ایرانی (دوغ) را مورد بررسی

#### - سنجش pH در نمونه های مورد بررسی

با گذشت زمان نگهداری، pH کلیه تیمارها به طور معنی داری کاهش یافت ( $p < 0.05$ ). علت آنست که با افزایش زمان نگهداری، باکتری لاکتوباسیلوس بولگاریکوس موجود در دوغ بر خلاف استرپتوکوکوس ترموفیلوس که در pH کمتر از ۴/۵ فعالیتش متوقف می شود؛ حتی تا pH های پایین تر (۳-۳/۵) می تواند تولید اسید را ادامه دهد (Dini et al., 2013).

با افزایش غلظت عصاره ها، pH افزایش یافت که احتمالاً دلیل این امر، مربوط به توانایی بافری بالاتر این عصاره ها در غلظت های بالاتر می باشد. در پژوهشی به بررسی اثر عصاره های گیاهی در افزایش زنده مانده لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ماست پروبیوتیک بدون چربی پرداختند و به نتایج مشابهی دست یافتند و گزارش کردند که افزودن عصاره های گیاهی به ماست منجر به افزایش pH نسبت به ماست شاهد گردید (Michael et al., 2015).

در پژوهشی دیگر Joung و همکاران (۲۰۱۶) به بررسی بهبود ویژگی های حسی، عملکردی و میکروبی ماست گیاهی تخمیر شده با عصاره گیاهان سنتی *Diospyros* (DK) و *Nelumbo nucifera leaf* (NN) *kaki THUNB* کره جنوبی پرداختند و به نتایج غیر مشابهی دست یافتند و بیان کردند که pH تمامی تیمارها به طور معنی داری کاهش یافت ( $p < 0.05$ ) و همچنین ماست های غنی شده با عصاره های گیاهی در مقایسه با ماست شاهد pH کمتری را نشان دادند.

#### - سنجش ویژگی های حسی

##### - سنجش امتیازات مزه در نمونه های مورد بررسی

بر اساس نتایج به دست آمده افزودن عصاره های گیاهی به دوغ، امتیازات مزه را نسبت به تیمار شاهد به طور معنی داری کاهش داد ( $p < 0.05$ ). احتمالاً ترکیبات موثر بر طعم در این عصاره ها اثر منفی بر مزه نمونه های مورد نظر داشته که با کاهش غلظت این عصاره ها امتیازات افزایش یافته است. کلانتری و همکاران، (۱۳۹۰) تأثیر دو نوع اسانس گیاهی شوید و ترخون در چهار سطح (۰، ۱۰۰، ۴۰۰ و ۷۰۰ میکرولیتر در لیتر) بر ویژگی های حسی (عطر و

عصاره‌های گیاهی به دوغ، امتیازات پذیرش کلی نسبت به تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد ( $p < 0.05$ ). احتمالاً با توجه به اینکه امتیازات مزه، بو و رنگ در نمونه‌های مورد بررسی نسبت به تیمار شاهد کمتر بود امتیازات پذیرش کلی سایر تیمارها نسبت به تیمار شاهد نیز کاهش یافته‌است. اطهری و همکاران، (۱۳۹۳) به ارزیابی حسی دوغ تولیدی توسط عصاره اتانولی مرزنجوش در شرایط آزمایشگاهی در طول زمان نگهداری پرداختند و به نتایج مشابهی دست یافتند. نتایج حاکی از آن بود که تأثیر مدت زمان نگهداری و همچنین غلظت عصاره مرزنجوش بر روی میزان تغییرات پذیرش کلی نمونه‌های دوغ تولیدی در سطح ۵٪ معنی‌دار بود به طوری‌که با افزایش مقدار عصاره مرزنجوش به کار رفته در فرمولاسیون نمونه‌های دوغ تولیدی و نیز افزایش دمای نگهداری مقبولیت پذیرش کلی محصول کاهش پیدا کرد.

### نتیجه‌گیری

عصاره‌های زوفا و رازک دارای خاصیت ضد میکروبی مطلوبی بر استافیلوکوکوس اورئوس هستند و می‌توانند به‌عنوان نگهدارنده در دوغ استفاده شوند. در بین نمونه‌های حاوی عصاره‌های گیاهی، نمونه حاوی ۱۲/۵mg/mL عصاره زوفا با توجه به دارا بودن خاصیت ضد میکروبی مطلوب و همچنین بهترین کیفیت حسی می‌تواند به‌عنوان تیمار برتر معرفی شود.

### منابع

اطهری، م.، سعیدی اصل، م.ر. و الهامی راد، ا.ح. (۱۳۹۳). بررسی تأثیر عصاره اتانولی مرزنجوش بر خواص فیزیکی‌وشیمیایی دوغ در شرایط آزمایشگاهی در طول زمان نگهداری. همایش ملی علوم و فناوری‌های نوین در صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تربت حیدریه. بی‌نام. (۱۳۸۶). تعیین اسیدیته قابل تیتر و pH. استاندارد ملی ایران، شماره ۲۸۵۲. بی‌نام. (۱۳۸۷). دوغ ساده - ویژگی‌ها و روش آزمون. استاندارد ملی ایران، شماره ۲۴۵۳. توکلی صابری، م. ر. و صداقت، م. ر. (۱۳۷۹). گیاهان دارویی. چاپخانه گلشن، تهران، صفحات ۲۴-۲۵.

قرار دادند و به نتایج غیر مشابهی دست یافتند و نشان دادند که بین انواع دوغ حاوی ۱٪ عرق نعناع و دوغ حاوی ۲٪ عرق نعناع و دوغ بدون عرق نعناع اختلاف معنی‌داری وجود دارد ( $p < 0.05$ ). مقایسه میانگین‌ها مشخص کرد از نظر عطر و طعم دوغ حاوی عرق نعناع امتیاز بالاتری را نسبت به دوغ معمولی کسب کرد.

### - سنجش امتیازات رنگ در نمونه‌های مورد بررسی

نتایج حاصل از تحقیق حاکی از آن است که افزودن عصاره‌های گیاهی به دوغ منجر به کاهش معنی‌دار مقبولیت رنگ در نمونه‌ها نسبت به نمونه شاهد می‌گردد ( $p < 0.05$ ). احتمالاً وجود رنگدانه‌های گیاهی در عصاره‌های مذکور موجب کاهش مقبولیت رنگ در محصولی مانند دوغ شده است که رنگ سفید آن مورد توجه مصرف‌کنندگان می‌باشد. اطهری و همکاران، (۱۳۹۳) به ارزیابی حسی دوغ تولیدی توسط عصاره اتانولی مرزنجوش در شرایط آزمایشگاهی در طول زمان نگهداری پرداختند و به نتایج مشابهی دست یافتند. نتایج حاکی از آن بود که تأثیر مدت زمان نگهداری و هم‌چنین غلظت عصاره گیاه دارویی مرزنجوش به کار رفته و نیز تأثیر دما بر روی میزان تغییرات رنگ نمونه‌های دوغ تولیدی در سطح ۵٪ معنی‌دار می‌باشد به طوری‌که با افزایش غلظت عصاره مرزنجوش و نیز دما مقبولیت رنگ محصول کاهش پیدا کرد. حیاتی نژاد و همکاران، (۱۳۹۲) تغییرات ارگانولپتیکی ماست طعم‌دار غنی سازی شده با عصاره *Spinacia oleracea* در طول دوره نگهداری (۲۱ روز) را مورد بررسی قرار دادند و به نتایج غیر مشابهی دست یافتند. در این پژوهش سطوح مختلفی از عصاره اسفناج (۱/۲۵ - ۲/۵ و ۴٪) و طعم دهنده کیوی در سه سطح ۱، ۲ و ۴٪ به فرمولاسیون ماست حاوی ۰، ۲/۵ و ۴/۲٪ چربی افزوده شد. داوران حسی بیشترین امتیاز پذیرش کلی را به نمونه ماست پرچرب حاوی ۴٪ طعم دهنده کیوی و ۴٪ عصاره اسفناج و کمترین میزان پذیرش مربوط به ماست پرچرب فاقد طعم و رنگ دهنده اسفناج اختصاص دادند.

### - سنجش امتیازات پذیرش کلی در نمونه‌های مورد

بررسی نتایج حاصل از تحقیق حاکی از آن است که با افزودن

هفتمین کنگره علوم باغبانی ایران، صفحات ۵۷-۴۳. محمدی ثانی، ع.، اعظمی، م. و یاورمنش، م. (۱۳۹۴). مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره آبی و همولون رازک بر استافیلوکوکوس، لیستریا مونوسیتوزنز، سالمونلا انتریکا و انتروباکتر آئروژنز. نشریه پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران، سال یازدهم، شماره ۲، صفحات ۲۴۴-۲۱۸.

مهبجوریان، ع.، توکلی پور، ح. و مختاریان، م. (۱۳۹۳). مطالعه برخی خصوصیات ماست پروبیوتیک غنی شده با ریتینیت و کنسانتره پروتئین آب پنیر. نشریه فرآوری و نگهداری مواد غذایی، سال ششم، شماره ۱، صفحات ۱۰۳-۱۱۸.

نجف پور نوایی، م. و میرزا، م. (۱۳۸۲). مقایسه ترکیب های شیمیایی اسانس برگ گیاه زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) در شرایط کشت و رویشگاه طبیعی. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، سال دوم، شماره ۱۸، صفحات ۴۱-۵۳.

نصیرپور، م.، یاورمنش، م. و عدالتیان، م. ح. (۱۳۹۲). بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره درمنه کوهی (*Artemisia aucheri*)، درمنه دشتی (*Sieberi artemisia*) و زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) بر باکتری های بیماری زا با منشأ غذایی. سومین همایش ملی امنیت غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سواد کوه.

Amirdivani, S. & Baba, A. S. (2011). Changes in yogurt fermentation characteristics, and antioxidant potential and invitro inhibition of angiotensin-1 converting enzyme upon the inclusion of peppermint, dill and basil. *LWT-Food Science and Technology*, 44, 1458-1464.

Baron, E. J., Peterson, L. R. & Finegold, S. M. (1994). Methods for testing antimicrobial effectiveness. In: Bailey and Scotts Diagnostic Microbiology, 168-193.

Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C. & Turck, M. (1991). Antibiotic Susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45(4), 493-496.

Burt, S. (2004). Essential oil: their antibacterial properties and potential application in food-a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253.

Dini, A., Razavi, S. H. & Mousavi, S. M. (2013). Effect of incubation and storage temperatures and final pH on the viability of probiotic bacteria and sensory characteristics

حیاتی نژاد، ج.، محمدی ثانی، ع. و حجت الاسلامی، م. (۱۳۹۲). تغییرات فیزیکی شیمیایی و ارگانولپتیکی ماست طعم دار غنی سازی شده با عصاره (*Spinacia oleracea*) در طول دوره نگهداری. دومین همایش ملی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان.

دهداری، ل. و حاجی زاده، م. (۱۳۹۲). بررسی اثر گیاهان دارویی بر زنده ماندن باکتری های پروبیوتیک در ماست پروبیوتیک. بیست و یکمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی ایران، دانشگاه شیراز.

زارع، پ.، محمودی، ر. و احسانی، ع. (۱۳۹۲). بررسی آنالیز شیمیایی سنجش اثرات ضد باکتریایی اسانس گیاه کلپوره (*Teucrium polium*) با استفاده از رزازورین به عنوان اندیکاتور رشد سلولی. مجله علوم دارویی، سال هفدهم، شماره ۳، صفحات ۱۸۳-۱۸۸.

زارعلی، م.، حجتی، م.، تهموزی دیده بان، س. و جوینده، ح. (۱۳۹۴). ارزیابی تاثیر عصاره خوشاریزه (*Echinophoraciner boiss*) و چای کوهی (*Stachys lavandulif*) بر خصوصیات کیفی و حسی دوغ. مجله مهندسی بیوسیستم ایران، سال سوم، شماره ۴۶، صفحات ۳۲۷-۳۳۷.

صالح وثوق، ا.، خمیری، م.، کاشانی نژاد، م. و جعفری، س. (۱۳۸۸). اثر عرق نعناع بر قابلیت بقای باکتری های پروبیوتیک در نوشیدنی سنتی ایرانی (دوغ). مجله علوم و کشاورزی و منابع طبیعی، سال شانزدهم، شماره ۱، صفحات ۳۶-۳۸.

طباطبایی یزدی، ف.، مرتضوی، ع.، کوچکی، آ. و افشاریان، ش. (۱۳۹۱). بررسی مقایسه اثر ترکیبات بازدارنده طبیعی در جلوگیری از رشد استافیلوکوکوس اورئوس در نمونه های دوغ صنعتی با استفاده از روش سطح پاسخ. نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی، سال اول، شماره ۲، صفحات ۱۸۶-۱۷۵.

کلانتری، س. (۱۳۹۰). تأثیر اسانس های روغنی ترخون و شوید بر ویژگی های کیفی ماست پروبیوتیک. پایان نامه کارشناسی ارشد مهندسی کشاورزی-علوم و صنایع غذایی، دانشکده پردیس بین المللی ارس تبریز.

محمدزین آبادی، م.، صیدی، م. و موحدی، خ. (۱۳۹۰). بررسی ترکیب شیمیایی و خواص ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی روغن های اسانسی گیاه دارویی زوفا.

in probiotic Doogh. Journal Research of Food Science, 23(3), 367-380.

Duffy, C. F. & Power, R. F. (2001). Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extract. International Journal of Food Microbiology, 17, 527-529.

Fathiazad, F. & Hamedeyazdan, S. (2011). A review on *HyssopusOfficinalis* L.: Composition and biological activities. African Journal Pharmacy and Pharmacology, 5(17), 1959-1966.

Hammer, K. A., Carson, C. F. & Riley, T. V. (1991). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. Journal of Applied Microbiology, 86, 985-990.

Joung, J. Y., Lee, J. Y., Ha, Y. S., Shin, Y. K., Kim, S. H. & Oh, N. S. (2016). Enhanced Microbial, Functional and Sensory Properties of Herbal Yogurt Fermented with Korean Traditional Plant Extracts. Korean Journal for Food Science of Animal Resources, 36(1), 90-99.

Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. J. & Nychas, G. J. E. (2001). A study of minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. Journal of Applied Microbiology, 91, 446-453.

Michael, M., Phebus, R. K. & Schmidt, K. A. (2015). Plant extract enhances the viability of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus* in probiotic non fat yogurt. Food Science & Nutrition, 3(1), 48-55.

Naoto, Y., Keiko, S. Y. & Mitsunori, O. (2009). In vitro evaluation of antibacterial, anticollagenase and antioxidant activities of hops (*Humulus lupulus*) components. Phytomedicine, 16, 396-376

Nunez, M., Rodriguez, J. L., Garcia, E., Gaya, P. & Medina, M. (1997). Inhibition of *Staphylococcus aureus* in dairy products in the bologna area. International Journal Food Microbiology, 35, 267-270.

Rodulf, M. & Schere, S. (2001). High incidence of *Listeria monocytogenes* in

European red smear cheese. International Journal of Food Microbiology, 63, 61-98.

Sahin, F., Gulluce, M., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., Polission, M., Agar, G. & Ozer, H. (2004). Biological activities of the essential oil and methanol extract of *organum vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. Food Control, 15(2), 549-557.

Sarkera, S. D., Naharb, L. & Kumarasamy, Y. (2007). Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial Screening of phytochemicals. Methods, 2(4), 321-324.

Shan, B., Cai, Y., Brooks, J. & Croke, H. (2007). The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. International Journal of Food Microbiology, 117, 112-119.

Su, Y. C. & Wong, A. C. L. (2003). Current perspectives on detection of Staphylococcal Enterotoxins. Journal of Food Protection, 60, 195-202.

Ultee, A. & Smide, E. G. (2001). Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus*. International Journal of Food Microbiology, 64, 373-378.

Ultee, A., Bennik, H. J. & Moezelaar, R. (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. Applied and Environmental Microbiology, 68, 1561-1568.

Zanoli, P. & Zavatti, M. (2008). Pharmacognostic and pharmacological profile of (*Humulus lupulus* L.). Journal of Applied Bacteriology, 35, 327-334.

Zhang, H., Kong, B., Xiong, Y. & Sun, X. (2009). Antimicrobial activity of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4°C. Meat science, 81, 686-689.

# Investigation of the Effect of Hop (*Hyssopus officinalis* L.) and Hyssop (*Humulus lupulus* L.) Ethanolic Extracts on the Prevention of *Staphylococcus aureus* Growth in Doogh

Z. Ghaleh Mosiyani<sup>a</sup>, R. Pourahmad<sup>b\*</sup>, P. Rajaei<sup>c</sup>

<sup>a</sup> M. Sc. Student of the Department of Food Science and Technology, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

<sup>b</sup> Associate Professor of the Department of Food Science and Technology, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

<sup>c</sup> Assistant Professor of the Department of Food Science and Technology, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

Received: 24 June 2017

Accepted: 3 January 2018

## Abstract

**Introduction:** Nowadays with regard to the harmful effects of synthetic preservatives on consumers' health, the use of natural antimicrobial compounds such as herbal extracts in food preservation is considerably increasing. Doogh or drinking yogurt is a kind of dairy drink made of yoghurt and water which is highly favored in Iran. *Staphylococcus aureus* is a bacterium causing toxicity in dairy products. The purpose of this study is to investigate the effect of hop and hyssop ethanolic extracts on the prevention of *Staphylococcus aureus* growth in doogh.

**Materials and Methods:** Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of hop and hyssop ethanolic extracts were calculated. Moreover, the antibacterial activity of those extracts was examined using diffusion disk method, and chemical and sensory properties of doogh were also tested on the 1<sup>st</sup>, 7<sup>th</sup>, and 14<sup>th</sup> days.

**Results:** MIC of hop and hyssop extracts were respectively 12.5 mg/mL and 6.25 mg/mL, whereas MBC of those extracts were respectively 25 mg/mL and 12.5 mg/mL. By adding herbal extracts, acidity of the samples decreased and pH increased ( $p < 0.05$ ). Moreover, by adding herbal extracts, the scores of sensory properties of the samples decreased ( $p < 0.05$ ). Among the samples containing herbal extracts, sample containing 12.5 mg/mL hyssop extract had the best sensory quality.

**Conclusion:** Hop and hyssop extracts had antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and they can be used as natural preservatives in doogh. Among doogh samples, sample containing 12.5 mg/mL hyssop extract can be selected as the best sample regarding its suitable antimicrobial activity and sensory quality.

**Keywords:** Ethanolic Extract, Doogh, Hyssop, Hop, *Staphylococcus aureus*.

\* Corresponding Author: rjpourahmad@yahoo.com, rezvanpourahmad@iauvaramin.ac.ir