



## اثر اسانس گیاهان مشکک *Ducrosia anethifolia* (DC.) Boiss. و کلپوره *Teucrium L. polium* بر روی خصوصیات فیزیکوشیمیایی، حسی و میکروبی ماست پروبیوتیک در طول زمان نگهداری

مهشید کشاورزی<sup>۱</sup>، انوشه شریفان<sup>۲\*</sup>، سید علی یاسینی اردکانی<sup>۳</sup>

۱- دکترای تخصصی میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

عضو هیئت علمی و دانشیار علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

عضو هیئت علمی و دانشیار علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، واحد یزد، دانشگاه آزاد اسلامی، یزد، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	امروزه استفاده از غذاهای کاربردی و فراسودمند مانند محصولات پروبیوتیک به دلیل مزایای سلامتی
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۲۱	بخش آنها در برابر بیماری ها بسیار مهم است. در این تحقیق اسانس گیاهان <i>Ducrosia anethifolia</i>
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۱۲	و <i>Teucrium polium</i> به ترتیب (DAEO و TPEO) به ماست پروبیوتیک اضافه شدند تا تأثیرات
کلمات کلیدی:	آنها را بر بقای باکتری های پروبیوتیک ( <i>Lactobacillus acidophilus</i> and <i>Bifidobacterium</i>
ماست پروبیوتیک،	<i>bifidum bacteria</i> ) طی ۲۱ روز بررسی کرده و ویژگی های فیزیکوشیمیایی، حسی و میکروبی آن ها
گیاه مشکک،	ارزیابی شوند. نتایج نشان داد با افزایش غلظت DAEO و TPEO، مقدار اسیدیته و ویسکوزیته
گیاه کلپوره،	تیمارهای ماست بطور معناداری افزایش یافت و pH و سینتریس روند کاهشی داشتند ( $P<0.05$ ).
خصوصیات فیزیکوشیمیایی،	همچنین زنده ماننی باکتری های پروبیوتیک در طی روزهای نگهداری روند کاهشی در تمام تیمارها
زنده ماننی پروبیوتیک ها.	نشان داد، اما درنهایت، تعداد باکتری های پروبیوتیک در تمام تیمارها به طور قابل توجهی بیشتر از
DOI: 10.52547/fsct.18.08.21	نمونه های شاهد بود. در آخر بر اساس نتایج همه آزمایشات انجام شده میتوان نتیجه گرفت افزودن
* مسئول مکاتبات:	۰.۰۳٪ DAEO نسبت به سایر تیمارها، بهترین روش برای تحقق اهداف است.
a_sharifan2000@yahoo.com	

## ۱- مقدمه

بیماری زا، رشد پروبیوتیک ها را به طور قابل توجهی افزایش می دهد [۹ و ۱۰].

*Ducrosia anethifolia* (DC.) Boiss پتریان<sup>۱</sup> است که یکی از سه گونه ایرانی است. *D. anethifolia* معمولاً در ایران با نام های مشکک، روشکک و مشکبو شناخته می شود. از تمام این گیاه به ویژه قسمت های هوایی آن در طب عامیانه ایران به عنوان مسکن و برای سردرد، کمردرد، قولنج و سرماخوردگی استفاده می شود. در برخی از مناطق ایران نیز برای درمان اضطراب و بی خوابی هم گزارش شده است. این گیاه همچنین به انواع غذاهای ایرانی برای طعم و خواص مفید آن اضافه می شود [۱۱].

*Teucrium polium* L. با نام محلی کلپوره بعنوان یک گیاه دارویی مهم در برخی از مناطق ایران شناخته شده است. *T. polium* L. عضو خانواده نعناعیان<sup>۲</sup> است، گیاهی علفی، بادوام، با ۳۰-۱۰ سانتی متر قد که معمولاً در مناطق صخره ای و ماسه ای مناطق اروپا، شمال آفریقا و جنوب غربی آسیا مانند ایران می روید [۱۲]. شهرت پزشکی این گیاه در طب سنتی مورد توجه قرار گرفته است. تحقیقات علمی نشان داده اند که این گیاه دارای اثرات ضددیابت، ضدکلسترول و تریگلیسرید سرم، ضداستهتا، ضدالتهاب، آنتی اکسیدان، ضدتب و ضد میکروب می باشد. با وجود این، اثرات ضددرد این گیاه در ایجاد التهاب کبدی و نارسایی های کلیوی نیز اخیراً گزارش شده است [۱۳].

این مطالعه با هدف بررسی تأثیر اسانس های *D. anethifolia* (مشکک) و *T. polium* (کلپوره) بر خصوصیات فیزیکی، میکروبی و حسی ماست پروبیوتیک و زنده ماندن باکتری های پروبیوتیک در مدت زمان نگهداری (۲۱ روز) انجام شد.

## ۲- مواد و روش ها

## ۲-۱- مواد و سویه های باکتریایی

باکتری های باسیلوس سوبتیلیس (PTCC 1720)، استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1112) و اشیریشیا کلی (PTCC 1330) از مرکز جمع آوری میکروارگانیسم های صنعتی (ایران) تهیه شدند. باکتری های استارتر ماست

پروبیوتیک ها میکروارگانیسم های زنده ای هستند که اگر به مقدار کافی استفاده شوند، خاصیت سلامتی بخش برای میزبان دارند [۱]. محبوبیت پروبیوتیک ها به طور مداوم افزایش یافته است و محصولات غذایی مختلف پروبیوتیک از جمله ماست های پروبیوتیک به بازار عرضه شده اند [۲].

ماست پروبیوتیک، محصولی با میکروارگانیسم های کمکی است و دارای خواص سلامتی بخش می باشد. مزایای بی شماری در رابطه با مصرف فرآورده های لبنی تخمیر شده حاوی باکتری های پروبیوتیک وجود دارد [۳]. با این حال، پروبیوتیک ها برای تأمین فواید سلامتی خود باید در زمان مصرف در محصولات غذایی بیش از حد آستانه خود ( $6 \log \text{ cfu g}^{-1}$ ) وجود داشته باشند تا با عبور از قسمت های بالا و پایین دستگاه گوارش زنده بمانند [۴]. با این وجود، در طول ذخیره سازی محصولات پروبیوتیک، بقای این باکتری ها روند کاهشی از خود نشان می دهد که به دلیل عوامل مختلفی از جمله pH پایین غذاهای تخمیر شده، پراکسید هیدروژن تولید شده توسط برخی لاکتوباسیل ها و مقدار اکسیژن زیاد می باشد [۲ و ۵]. مکمل های پروبیوتیکی متداول که مورد استفاده قرار می گیرند حاوی گونه های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم هستند و بخشی از میکروبیوتای روده سالم انسان هستند [۶].

محصولات گیاهی (ادویه جات، اسانس ها و عصاره ها) به عنوان منابع طعم دهنده کاربردی [۷]، آنتی اکسیدان های فعال و سایر ترکیبات مانند ترکیبات فنلی استفاده شده اند و می توانند به عنوان افزودنی های غیر سنتی ترکیب شوند. در محصولات شیری تخمیر شده، از جمله ماست [۸] چندین مطالعه در مورد فواید گیاهان برای سلامتی وجود دارد، از جمله خواص ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و ضد سرطانی [۷].

ترکیب پروبیوتیک ها با محصولات گیاهی ممکن است خواص ضد میکروبی-درمانی بیشتری ایجاد کند. با این حال، از آنجا که گیاهان ضد میکروبی هستند، ممکن است روی زنده ماندن میکروارگانیسم های پروبیوتیک تأثیر بگذارند. مطالعات آزمایشگاهی با آزمایش گیاهان روی رشد پروبیوتیک های منتخب نشان داد که محصولات گیاهی ضمن مهار عوامل

1. Apiaceae  
2. Lamiaceae

از هر اسانس رقیق شده با DMSO در محیط کشت قرار گرفت. پس از آن، قطر هاله عدم رشد پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سلسیوس اندازه گیری شد. از دیسک تراسایکلین به عنوان دیسک کنترل استفاده شد [۱۶].

## ۲-۵-آزمون حداقل غلظت مهار کننده (MIC)

### و حداقل غلظت کشندگی (MBC)

آزمون MIC و MBC اسانس ها با روش رقت لوله ای برگرفته از روش طباطبایی یزدی و همکاران (۲۰۱۴) با برخی تغییرات تعیین شد. سوسپانسیون های باکتریایی همانند آزمایش انتشار دیسک تهیه شدند که به طور خلاصه برای هر اسانس از یک سری ۹ تایی لوله آزمایش استریل استفاده شد. ۸ لوله برای آزمایش رقت های مختلف از هر اسانس و یک لوله نیز به عنوان کنترل بکار رفت. تمام باکتری ها در مدت زمان ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شدند. پس از تلقیح، لوله ها از نظر کدورت ناشی از رشد میکروارگانیسم های تلقیح شده مورد بررسی قرار گرفتند. از کلیه لوله های بدون رشد برای تعیین MBC نمونه برداری و کشت داده شد. لوله های حاوی کمترین غلظت DAEO و TPEO که در آنها هیچ رشدی در پلیت مربوطه مشاهده نشد به عنوان MBC در نظر گرفته شدند [۱۷].

## ۲-۶-آنالیز ترکیبات تشکیل دهنده ی اسانس ها

### و عصاره ها

پس از انجام آزمون های اولیه ی میکروبی و انتخاب اسانس بهینه، آن ها به دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنخ جرمی (GC-Mass7) تزریق شدند تا راندمان استخراج و ترکیبات شیمیایی آن ها بررسی و شناسایی شود.

## ۲-۶-۱-مشخصات دستگاه گازکروماتوگرافی -

### اسپکترومتری جرمی

دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل Agilent 7890A همراه با اسپکترومتری جرمی مدل Agilent 5975 C با ستون مویینه به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه ۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. دستگاه با دمای ۴۵ °C فعالیت خود را آغاز نمود و پس از ۱ دقیقه توقف در این دما حرارت به میزان ۵°C در هر دقیقه افزایش یافت تا به

و Express 0/1 *Streptococcus thermophilus* و *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* و باکتری های پروبیوتیک (*Lactobacillus acidophilus*) (LA-5) و (*Bifidobacterium bifidum* (Bb-12)) بصورت لیوفلیزه از LTD، CHR Hansen، دانمارک تهیه و مستقیماً به شیر اضافه شدند. همچنین تمام محیط های کشت میکروبی و مواد شیمیایی از برند مرک آلمان خریداری شد.

## ۲-۲- جمع آوری گیاهان

قسمت های هوایی گیاهان مشکک و کلپوره در اواخر فصل بهار به ترتیب از کوه های راین و جوپاراستان کرمان، ایران، جمع آوری شدند و سپس توسط مرکز تحقیقات و ترویج کشاورزی کرمان شناسایی و احراز هویت شدند.

## ۲-۳- روش استخراج

برای استخراج اسانس (EO)، قسمت های هوایی گیاهان مشکک و کلپوره در دمای محیط در سایه خشک و سپس ۱۵۰ گرم از آن ها به مدت ۳ ساعت توسط دستگاه کلونجر تقطیر شدند، DAEO و TPEO استخراج و توسط روی سولفات سدیم دهیدراته خشک شد و تا زمان آنالیز در دمای ۴ درجه سلسیوس، در ظرف تیره و استریل نگهداری شدند [۱۴].

پس از آماده سازی اسانس ها، اثر آن ها بر روی باکتری های استارتر ماست و ۳ نوع پاتوژن (باسیلوس سوبتیلیس<sup>۳</sup>، استافیلوکوکوس اورئوس<sup>۴</sup> و اشیریشیا کلی<sup>۵</sup>) مورد بررسی قرار گرفت تا بعد از بررسی میکروبی و انجام پیش آزمایش بهترین درصد اسانس انتخاب گردد.

## ۲-۴- فعالیت ضد باکتری انتشار دیسک

فعالیت ضد باکتریایی نمونه ها در برابر باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس اورئوس و اشیریشیا کلی با روش انتشار دیسک ارزیابی شد [۱۵]. برای این منظور، از روش انتشار آگار استفاده شد. این باکتری ها به مدت ۲۴ ساعت روی آگار مولر هیتون کشت داده شدند و یک سوسپانسیون در رقت ۰.۵ مک فارلند (OD<sub>625 nm</sub> = 0.1) در آبگوشت مولر هیتون تهیه شد. سپس ۵ میلی لیتر از هر سوسپانسیون باکتریایی با روش سوآپ استریل با استفاده از روش گسترش صفحه<sup>۶</sup> کشت داده شد و دیسک های خالی حاوی ۲۵۶۰ میکروگرم در میلی لیتر

3. *Bacillus subtilis*
4. *Staphylococcus aureus*
5. *Escherichia coli*
6. spread plate method

7. gas chromatography-mass spectrometry

دمای  $30^{\circ}\text{C}$  رسید. قابل ذکر است سرعت جریان گاز هلیوم ورودی به ستون ۱ میلی لیتر در دقیقه است [۱۸].

## ۲-۷- تهیه ماست

ابتدا نمونه ی شیر با پودر شیر بدون چربی<sup>۸</sup> (۲٪) و کنساتره پروتئین شیر<sup>۹</sup> (۰.۵٪) مخلوط شد تا میزان چربی (۳.۲۰٪) و میزان پروتئین در حد مطلوب (۱۰.۵ وزنی بر وزن) استاندارد شود [۱۹]. سپس در دمای ۹۰ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه پاستوریزه شده و در دمای ۴۳ درجه سلسیوس سرد شد. بعد از آن استارتر ماست (۰.۶ گرم) و باکتری های پروبیوتیک (۰.۴ گرم) به شیر (۸۰۰ گرم) اضافه شدند [۲۰]. برای تهیه ماست پروبیوتیک گیاهی، دو غلظت مختلف از DAEO و TPEO (۰.۰۳ و ۰.۰۱٪) در ظروف ۱۰۰ گرمی به نمونه های شیر اضافه و سپس در دمای ۴۳ درجه سلسیوس انکوبه شدند تا زمانی که مقدار pH به ۴.۶ برسد. سپس تا دمای ۴ درجه سلسیوس سردسازی صورت گرفت [۱۳]. ماست پروبیوتیک بدون DAEO و TPEO به عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد. پس از تولید ماست های پروبیوتیک، نمونه ها در دمای یخچال نگهداری و در مدت نگهداری به مدت ۲۱ روز (با ۴ فاصله) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند [۲۱ و ۲۲].

## ۲-۸- آزمایشات فیزیکوشیمیایی

۲-۸-۱- تعیین pH و اسیدیته قابل تیتراژ شدن ماست ها  
pH ماست ها با استفاده از pH متر ۷۶۶ اندازه گیری شد و اسیدیته قابل تیتراژ با استفاده از تیتراسیون با استفاده از NaOH  $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  و فنل فتالین به عنوان شاخص تعیین شد و به صورت گرم اسید لاکتیک در هر ۱۰۰ گرم ماست بیان شد [۴].

## ۲-۸-۲- اندازه گیری سینتریزس

بیست و پنج گرم ماست هم نرده به طور مساوی روی کاغذ فیلتر Whatman شماره ۱ در یک قیف ریخته شد و بعد از ۲ ساعت در دمای ۴ درجه سلسیوس، حجم سرم جدا شده از ماست با واحد میلی لیتر، به عنوان میزان سینتریزس بیان شد [۲۳].

## ۲-۸-۳- اندازه گیری ویسکوزیته

ویسکوزیته نمونه های ماست با استفاده از ویسکومتر بروکفیلد (RDVD) و با اسپیندل شماره ۵ با سرعت برشی ۶۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس تعیین شد [۲۳].

## ۲-۹- ارزیابی حسی

ارزیابی حسی از طریق پنل های چشایی مصرف کننده با استفاده از مقیاس هدونیک ۵ امتیازی انجام شد (۱ = حداقل قابل قبول، ۵ = بسیار خوب). برای انجام این ارزیابی حسی، از یک پنل هشت نفره استفاده شد که در آن ارزیابی حسی ماست با استفاده از روش امتیازدهی کلی به دست آمده از ضرب نمرات داده شده به شاخص های حسی در ضرایب مربوطه انجام شد. با توجه به استاندارد ملی ایران، شماره ۶۹۵، شاخص نهایی ارزیابی، ارزیابی و امتیاز کلی است [۲۴].

## ۲-۱۰- آزمون های میکروبی

### ۲-۱۰-۱- بررسی زنده ماننی باکتری های پروبیوتیک

شمارش باکتری های پروبیوتیک در روزای ۱، ۷، ۱۴ و ۲۱ انجام می شود که برای اینکار از نمونه های ماست در شرایط استریل، مقدار ۵ گرم توزین و با ۴۵ میلی لیتر پپتون واتر ۰/۱ درصد استریل همگن و سری رقت ها با اضافه نمودن یک میلی لیتر از هر رقت به ۹ میلی لیتر آب پپتون استریل تهیه می گردد [۲۵]. محیط کشت MRS / CL / CIP آگار حاوی کلیندامایسین و سیپروفلوکساسین برای شمارش انتخابی *Lactobacillus acidophilus* استفاده شد و پس از کشت سطحی به مدت ۷۲ ساعت بصورت بی هوازی در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شدند. برای شمارش باکتری های بیفیدوباکتریوم نیز از محیط TOS-agar محتوی MUP به روش پورپلیت، کشت انجام شد و سپس در شرایط بی هوازی در در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت گرم خانه گذاری و در نهایت بعد از گرم خانه گذاری، کلنی ها شمارش شدند [۲].

### ۲-۱۰-۲- تست کپک و مخمر

برای شمارش تعداد کپک ها و مخمرها، پس از ۲۱ روز نگهداری در یخچال، هر نمونه ماست پروبیوتیک در محیط YGC کشت داده شد و پلیت ها به صورت هوازی در انکوباتور یخچال در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۳-۵

8. skim milk powder

9. Milk protein concentrate

## ۳- نتایج و بحث

## ۳-۱- تجزیه و تحلیل GC-MS

بازده اسانس مشکک ۰.۶٪ و کلپوره ۰.۴٪ بر اساس وزن خشک نمونه ها بدست آمد. ترکیبات شیمیایی DAEO و TPEO در جدول ۱ و ۲ گزارش شده است. برای DAEO، ۱۵ ترکیب (۵۲.۳۹٪) و برای TPEO، ۱۴ ترکیب (۷۵.۹۰٪) مشخص شد. ترکیبات اصلی DAEO دکانول (۱۶.۸۸٪) و بوتنئیک اسید (۸.۱۵٪) و برای TPEO آلفا پینن (۱۴.۳۲٪) و لینالول (۱۰.۴۶٪) بودند.

روز انکوبه شدند. پس از این دوره، کلنی ها شمارش شدند [۲۰].

## ۲-۱۱- تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۷ استفاده شد. همچنین از تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) برای مقایسه میانگین و از آزمون دانکن برای بررسی تفاوت میانگین در  $P < 0.05$  استفاده شد. نرم افزار Excel برای ترسیم منحنی ها و روش کیفی هدونیک ۵ امتیازی برای تجزیه و تحلیل داده های حسی نیز به کار گرفته شدند.

Table 1 Components of DAEO

Components	RI*	percent	Components	RI*	percent
Decanol	1194	16.88	Alpha-humulene	1450	0/3
Decenal	1199	0.74	Germacrene D	1489	0.75
Chrysanthenyl Acetate	1260	3.84	Alpha-selinene	1496	0.97
Bornyl acetate	1285	0.85	Methyl dodecanoate	1525	2.3
Thymol	1289	9.6	Caryophyllene oxide	1582	1/7
Butenoic acid	1306	8.15	Diethyl Phthalate	1591	1.2
Undecanal	1309	1/61	Butyl dodecanoate	1782	1.6
Decanoic acid	1352	1.9			

\*RI = retention indices, DAEO: *Ducrosia anethifolia* essential oil

Table 2 Components of TPEO

Components	RI*	percent	Components	RI*	percent
Alpha-pinene	929	14.32	linalool	1127	10/46
Alpha-camphene	954	5.75	Bornyl acetate	1142	5/85
Sabinene	986	0.81	Terpinen-4-ol	1195	0/6
1-octen-3-ol	980	3.23	Carvacrol	1272	5.89
Beta-pinene	984	7/66	Germacrene D	1497	4/94
Myrcene	995	2.64	spathulenol	1552	1/02
Limonene	1037	1.93	caryophyllene oxide	1577	10/8

\*RI = retention indices, TPEO: *Teucrium polium* essential oil

## ۳-۲- قطر هاله عدم رشد

نتایج در جدول ۳ نشان می دهد که TPEO بالاترین اثر ضد میکروبی بر روی *S. aureus* دارد ( $P < 0.05$ ) و اثر ضد باکتریایی آن تفاوت چندانی با تتراسایکلین ندارد ( $P \geq 0.05$ ). هیچ اثر ضد باکتریایی قابل توجهی از TPEO و تتراسایکلین بر *B. subtilis* مشاهده نشد ( $P \geq 0.05$ ). بیشترین تأثیر ضد میکروبی را بر روی *B. subtilis* نشان داد ( $P < 0.05$ ). اثر ضد باکتریایی DAEO و TPEO بر *E. coli* بیشتر از تتراسایکلین بود و TPEO با قطر هاله عدم رشد  $0.5 \pm 11$  میلی متر بیشترین اثر ضد باکتری را داشت. تتراسایکلین با قطر هاله عدم رشد  $0.58 \pm 20.33$  میلی متر و  $0.58 \pm 24$  میلی متر بیشترین اثر ضد باکتریایی را بر روی *L.*

متقی پیشه و همکاران (۲۰۱۴) در مورد ترکیب شیمیایی اسانس *Ducrosia anethifolia* (DC.) Boiss آوری شده از نی ریز تحقیق کردند و یافتند عمده ترین ترکیبات شناسایی شده با روش GC / MS عبارتند از: آلفا پینن (۷۰/۳ درصد)، بتا میرسن (۶/۹ درصد)، بتا پینن (۶/۳ درصد) و لیمونن (۴/۹ درصد).

همچنین در تحقیقی که توسط محمودی و همکاران (۲۰۱۲)، انجام شد، اجزای اصلی *T. polium* به عنوان اسپاتولون (۱۵/۰۶ درصد)، بتا پینن (۱۱/۰۲ درصد)، بتا میرسن (۱۰/۰۵ درصد)، جرماکرن B (۱۰/۱۱ درصد)، جرماکرن D (۸/۱۵ درصد) بیسیکلوجرماکرن (۸/۲۵ درصد) و لینالول (۴/۰۲ درصد) شناخته شد.

*S. aureus* و *bulgaricus* داشت. بیشترین اثر ضد میکروبی DAEO و TPEO و تتراسایکلین بر باکتری *S. aureus* بود و *E. coli* مقاوم ترین باکتری نسبت به آنها بود.

**Table 3** The diameters of inhibitory zones (mm) of plant essential oils and tetracycline against the bacterial strains

Treatments	Bacterial strain				
	<i>S. t.</i>	<i>L. b.</i>	<i>E. c.</i>	<i>B. s.</i>	<i>S. a.</i>
DAEO	10.33±0.58 aA	9±0.58 aA	9±1 bA	16±1 bB	23±1 aC
TPEO	12±0 bAB	12±1 bAB	11±0.5 cA	13±1 aB	25±0.58 bC
Tetracycline	20.33±0.58 cD	17.33±0.58 cC	7±0.45 aA	13.67±0.58 aB	24±0.58 bE

bacterial strain: *S.a.*, *Staphylococcus aureus*; *B.s.*, *Bacillus subtilis*; *E.c.*, *Escherichia coli*; *L.b.*, *Lactobacillus bulgaricus*; *S.t.*, *Streptococcus thermophilus*

The columns with different lowercase letters mean statistically different in the same bacteria ( $p<0.05$ ).

The rows with different capital letters mean statistically different in the same treatment ( $p<0.05$ ).

The results are shown as mean±standard deviation.

### ۳-۳- تجزیه و تحلیل MIC و MBC

نتایج آزمایشات MIC و MBC که در جدول ۴ آورده شده است، نشان می دهد که در همه باکتری های مورد آزمایش، TPEO حساسیت ضد میکروبی بیش از DAEO دارد. مقادیر MIC و MBC اسانس کلپوره از ۸۰ تا ۶۴۰ میکروگرم در میلی لیتر و ۱۶۰ تا ۱۲۸۰ میکروگرم در میلی لیتر بود در حالی که مقادیر MIC و MBC اسانس مشکک به ترتیب از ۸۰ تا ۱۲۸۰ میکروگرم در میلی لیتر و ۱۶۰ تا ۱۲۸۰ میکروگرم در میلی لیتر بود. درکل بیشترین تاثیر این اسانس ها بر روی *S. aureus* و *B. subtilis* بوده و کمترین میزان بازدارندگی *E. coli* و *L. bulgaricus* *S. thermophilus* در مشاهده شد.

نتایج مطالعه اثرات ضد باکتریایی اسانس *T. polium* در گزارش مقتدر و همکاران (۲۰۱۳) نشان داد که اسانس این گیاه بر روی باکتری های گرم مثبت *Staphylococcus aureus epidermidis* و *Streptococcus faecalis* به ترتیب هاله عدم رشدی با قطرهای ۲۸، ۲۵ و ۱۲ میلی متر ایجاد می کند و در باکتری های گرم منفی *Pseudomonas aeruginosa*، *Klebsiella pneumoniae*، *Shigella flexneri* و *Serachia marcensis*، *Salmonella typhi* و *Escherichia coli* به ترتیب قطری معادل ۲۶، ۲۳، ۱۵، ۲۲، ۲۱ و ۱۲ میلی متر را در منطقه بازدارنده رشد ایجاد کردند.

**Table 4** Minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of plant essential oils on bacterial strains

Treatments	MIC (µg/ml)				MBC (µg/ml)					
	<i>S.t</i>	<i>L.b</i>	<i>E.c</i>	<i>B.s</i>	<i>S.a</i>	<i>S.t</i>	<i>L.b</i>	<i>E.c</i>	<i>B.s</i>	<i>S.a</i>
DAEO	1280	1280	1280	80	80	2560	2560	2560	160	160
TPEO	640	640	640	80	80	1280	1280	1280	160	160

bacterial strain: *S.a.*, *Staphylococcus aureus*; *B.s.*, *Bacillus subtilis*; *E.c.*, *Escherichia coli*; *L.b.*, *Lactobacillus bulgaricus*; *S.t.*, *Streptococcus thermophilus*

MIC: Minimum inhibitory concentration; MBC: Minimal Bactericidal Concentration; E.O: Essential Oil

دارای ترکیب موکوپیتیدی هستند، در حالی که باکتری های گرم منفی فقط یک لایه نازک از موکوپیتید دارند و بیشتر دیواره ساختمانی آنها لیپوپروتئین و لیپوبلی ساکارید است. بنابراین، باکتری های گرم منفی به دلیل وجود غشاهای تقریباً غیر قابل نفوذ فسفولیپیدی بیرونی خود مقاومت بیشتری دارند [۱۷].

نتایج حاصل از قطر هاله عدم رشد و MIC و MBC اسانس های گیاهی بر روی باکتری های بیماریزا و استارترهای ماست نشان داد که باکتری های گرم مثبت مقاومت کمتری در برابر اسانس ها از خود نشان می دهند. این به دلیل تفاوت ساختاری دیواره باکتری های گرم مثبت در مقایسه با باکتریهای گرم منفی است. باکتری های گرم مثبت در دیواره سلولی خود

## ۳-۴-آزمایشات فیزیکوشیمیایی

## ۳-۴-۱-اندازه گیری pH، اسیدیته قابل تیتراسیون،

## ویسکوزیته و سینرزیس ماست

قابل توجهی روند کاهشی داشت ( $P < 0.05$ ). ویسکوزیته تیمارهای مختلف در روز ۱ تفاوت معنی داری نداشت ( $P \geq 0.05$ ) به جز تیمار 0.01 TPEO و افزودن اسانس به ماست نسبت به نمونه شاهد در روز ۲۱ باعث افزایش ویسکوزیته شد ( $P < 0.05$ ). ویسکوزیته تمام ماست های پروبیوتیک حاوی اسانس با گذشت زمان به طور قابل توجهی کاهش یافت ( $P < 0.05$ ). تیمار حاوی DAEO و شاهد به ترتیب کمترین و بالاترین سینرزیس را در روزهای ۱ و ۲۱ داشتند ( $P < 0.05$ ) ولی در همه تیمارها سینرزیس با گذشت زمان به طور قابل توجهی افزایش یافت ( $P < 0.05$ ).

طبق جدول ۵، pH تیمارهای مختلف ماست پروبیوتیک گیاهی از روز ۱ تا ۲۱ تفاوت معنی داری نداشت ( $P \geq 0.05$ ). ولی در نمونه شاهد، pH با گذشت زمان از  $4.25 \pm 0.1$  به  $4.1 \pm 0.1$  کاهش یافت ( $P < 0.05$ ) میزان اسیدیته با افزایش DAEO و TPEO از  $0.01\%$  به  $0.03\%$  افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). ولی در تمام تیمارها به مدت ۲۱ روز به طور

Table 5 Comparison of pH, acidity, viscosity and syneresis in control and herbal probiotic yogurts

Treatments	pH		Acidity(Dornic degree)		viscosity (pas)		syneresis(cc)	
	Day1	Day21	Day1	Day21	Day1	Day21	Day1	Day21
Control	4.25±0.1aB	4±0.1aA	120±1aB	126±2bcA	0.37±0.05aB	0.18±0.03aA	1.55±0.07dA	4.25±0.07cB
001%ofDAEO	4.23±0.1aA	4.07±0.07aA	121±3aA	124±1abA	0.45±0.05aA	0.35±0.06bA	0.5±0.02aA	2.50±0.04aB
003%ofDAEO	4.16±0.09aA	4.04±0.05aA	125±2bA	127±2cA	0.40±0.07aA	0.33±0.03bA	0.8±0.04bA	2.50±0.05aB
001%ofTPEO	4.25±0.12aA	4.10±0.12aA	121±1aA	123±1aA	0.36±0.04aB	0.20±0.05aA	1.45±0.03cA	3.90±0.10bB
0.03%ofTPEO	4.16±0.11aA	4.09±0.09aA	125±1bB	130±1dA	0.35±0.06aB	0.20±0.03aA	1.50±0.03cdA	4±0.07bB

The columns with different lowercase letters mean statistically different in the same day ( $p < 0.05$ ).

The rows with different capital letters mean statistically different in the same treatment ( $p < 0.05$ ).

The results are shown as mean±standard deviation.

این نتیجه رسیدند که وقتی پودر برگ نیلوفر به ماست اضافه می شود، ویسکوزیته حداقل ۴ برابر افزایش می یابد ( $P < 0.05$ ). زیرا پلی فنول ها می توانند به پروتئین ها متصل شده و مجموعه های پروتئین-پلی فنول را تشکیل دهند. ترکیبات فنلی فراوان موجود در برگ نیلوفر با پروتئین های شیر مانند کازئین در ماتریس ماست تداخل می کنند و در نتیجه ویسکوزیته بالاتری نسبت به شاهد ایجاد می کنند.

به گفته اشرفی یورقانلو و غیبی (۲۰۱۹)، افزایش دنا توره شدن پروتئین های آب پنیر باعث بهبود ظرفیت نگهداری آب و در نتیجه کاهش سینرزیس می شود. سینرزیس تابعی از غلظت پروتئین های آب پنیر است و با افزایش نسبت پروتئین های آب پنیر همراه با کاهش میسل های کازئین، سینرزیس افزایش می یابد. آنها همچنین گزارش کردند که با افزودن ۵ و ۱۰٪ عصاره شوید به ماست، میزان سینرزیس به ترتیب در مقایسه با نمونه شاهد، کاهش و افزایش می یابد.

## ۳-۵-تجزیه و تحلیل ارزیابی حسی

نتایج نشان داد، افزودن TPEO باعث کاهش طعم، بافت دهانی، ظاهر و مقبولیت کلی ماست پروبیوتیک گیاهی در مقایسه با ماست شاهد شد ( $P < 0.05$ ) ولی DAEO تأثیر

افزودن اسانس های گیاهی به ماست پروبیوتیک منجر به افزایش قابل توجهی در اسیدیته در مقایسه با نمونه شاهد می شود، زیرا تخمیر ماست با اسانس های گیاهی به دلیل تولید اسیدهای آلی باکتری های اسید لاکتیک باعث افزایش فعالیت متابولیکی باکتری های ماست و اسیدیته آن می شود. علاوه بر این، با گذشت زمان، اسیدیته همه تیمارها به میزان قابل توجهی افزایش می یابد، که به دلیل افزایش زمان نگهداری و ادامه روند تخمیر لاکتوز توسط باکتری های استارتر و پروبیوتیک و در نتیجه افزایش اسیدیته به دلیل تجمع اسیدهای مانند لاکتیک و اسید فرمیک می باشد [۲۶]. در این مطالعه، رابطه بین pH و اسیدیته در تیمارهای مختلف ماست پروبیوتیک معکوس شد. به عبارت دیگر، با افزایش pH، اسیدیته کاهش می یابد.

طبق نتایج محمودی و همکاران (۲۰۱۲)، مقادیر pH اولیه برای انواع مختلف ماست با TPEO از ۴/۴۵ تا ۴/۶۰ متغیر بود. علاوه بر این، به نظر نمی رسد غلظت متفاوت اسانس کلپوره به طور قابل توجهی بر pH نمونه ها تأثیر بگذارد.

در این مطالعه با افزودن اسانس، ویسکوزیته محصول افزایش یافت. همچنین، Kim و همکاران (۲۰۱۹) در تحقیق خود به

مثبتی بر طعم، بافت دهانی، شکل ظاهری، بافت غیر دهانی و مقبولیت کلی ماست داشت ( $P < 0/05$ )، اما با افزایش غلظت آن امتیازات طعم و بافت دهانی کاهش یافت. امتیاز مقبولیت کلی ماست شاهد و ماست پروبیوتیک گیاهی حاوی DAEO تفاوت معنی داری داشت و این تیمارها بعنوان مطلوب ترین تیمار انتخاب شدند ( $P < 0/05$ ). عزیزخانی و پارسایی مهر (۲۰۱۸) به بررسی اثربخشی پروبیوتیک ها، فعالیت آنی اکسیدانی و خواص ارگانولپتیکی ماست پروبیوتیک حاوی عصاره های نعناع فلفلی و ریحان و آویشن شیرازی پرداختند و نتیجه گرفتند که نمونه های نعناع فلفلی و ریحان هم فعالیت ضد رادیکالی و هم مقبولیت حسی خوبی را از خود نشان می دهند. در آزمایش های حسی، نمونه های ماست از نظر شکل ظاهری، طعم، بافت و مقبولیت کلی مورد ارزیابی قرار گرفتند. میانگین امتیازات ظاهری ماست تیمار شده با ریحان و نعناع بالاتر از ماست شاهد بود. میانگین امتیازات ظاهری ماست پروبیوتیک با ریحان و نعناع فلفلی در حد قابل قبولی بود، اما تفاوت معنی داری بین انواع ماست وجود نداشت

### ۳-۶-آزمایشات میکروبی

#### ۳-۶-۱-زنده مانی باکتری های پروبیوتیک

تجزیه و تحلیل میکروبیولوژیکی نمونه های ماست در جداول ۶ و ۷، زنده مانی باکتری های پروبیوتیک را در زمان نگهداری نشان می دهد.

کمترین میزان زنده مانی باکتری *L. acidophilus* در نمونه شاهد در تمام روزهای نگهداری اندازه گیری شد ( $P < 0/05$ ). دوام کل نمونه های مختلف در غلظت ۰/۰۱٪ TPEO کمتر از ۰/۰۱٪ DAEO بود و با افزایش غلظت هر دو اسانس کاهش یافت ( $P < 0/05$ ). با افزایش غلظت هر دو اسانس (۰/۰۳٪)، میزان زنده ماندن باکتری های پروبیوتیک در روزهای ۱ و ۷ کاهش و در روزهای ۱۴ و ۲۱ افزایش می یابد ( $P < 0/05$ ) همچنین زنده مانی کل با گذشت زمان کاهش یافت ( $P < 0/05$ ) (جدول ۶).

**Table 6** Comparison of total viability of *Lactobacillus acidophilus* (CFU/g) in probiotic yogurts for 21 days

Treatments	Day 1	Day 7	Day 14	Day 21
Control	$1.92 \times 10^8 \pm 1.5 \times 10^6$ aC	$4.45 \times 10^6 \pm 8 \times 10^3$ aB	$8.10 \times 10^3 \pm 9 \times 10^3$ aA	$1.14 \times 10^3 \pm 1 \times 10^3$ aA
0.01% of DAEO	$3.17 \times 10^8 \pm 1.6 \times 10^6$ eD	$3.27 \times 10^7 \pm 1.5 \times 10^5$ dC	$2.78 \times 10^6 \pm 8 \times 10^4$ dB	$7.58 \times 10^5 \pm 2 \times 10^3$ cA
0.03 % of DAEO	$3.04 \times 10^8 \pm 1 \times 10^6$ cD	$1.54 \times 10^7 \pm 7 \times 10^4$ cC	$2.90 \times 10^6 \pm 5 \times 10^4$ eB	$8.11 \times 10^5 \pm 1 \times 10^3$ eA
0.01% of TPEO	$3.08 \times 10^8 \pm 1 \times 10^6$ dD	$3.36 \times 10^7 \pm 1.5 \times 10^5$ eC	$1.94 \times 10^6 \pm 1 \times 10^4$ bB	$7.20 \times 10^5 \pm 2 \times 10^3$ bA
0.03% of TPEO	$2.40 \times 10^8 \pm 2 \times 10^6$ bC	$1.27 \times 10^7 \pm 2 \times 10^5$ bB	$2.40 \times 10^6 \pm 1 \times 10^5$ cA	$7.61 \times 10^5 \pm 3 \times 10^3$ dA

The columns with different lowercase letters mean statistically different in the same day ( $p < 0.05$ ).

The rows with different capital letters mean statistically different in the same treatment ( $p < 0.05$ ).

The results are shown as mean±standard deviation.

از DAEO در روزهای ۱، ۱۴ و ۲۱ بود ( $P < 0/05$ ). ولی با این حال زنده مانی باکتری های پروبیوتیک در طول زمان ماندگاری روند کاهشی داشت ( $P < 0/05$ ) (جدول ۷).

کمترین میزان زنده مانی باکتری *B. Bifidum* در نمونه شاهد در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ اندازه گیری شد ( $P < 0/05$ ). به طور کلی، زنده مانی باکتری *B. Bifidum* با افزودن TPEO کمتر

**Table 7** Comparison of total viability of *bifidobacterium bifidum* (CFU/g) in probiotic yogurts for 21 days

Treatments	Day 1	Day 7	Day 14	Day 21
Control	$2.08 \times 10^8 \pm 1 \times 10^6$ cD	$6 \times 10^7 \pm 1 \times 10^6$ aC	$1.21 \times 10^7 \pm 9 \times 10^4$ aB	$6.93 \times 10^5 \pm 1.5 \times 10^3$ aA
0.01% of DAEO	$3.6 \times 10^8 \pm 3 \times 10^6$ dD	$6.8 \times 10^7 \pm 1.3 \times 10^6$ bC	$2.6 \times 10^7 \pm 5 \times 10^5$ dB	$2.73 \times 10^6 \pm 7.57 \times 10^4$ dA
0.03 % of DAEO	$3.82 \times 10^8 \pm 1 \times 10^6$ eD	$7 \times 10^7 \pm 9 \times 10^5$ cC	$2.78 \times 10^7 \pm 8 \times 10^5$ eB	$2.94 \times 10^6 \pm 9 \times 10^3$ eA
0.01% of TPEO	$1.67 \times 10^8 \pm 1 \times 10^6$ aD	$7.2 \times 10^7 \pm 1.2 \times 10^6$ dC	$2.3 \times 10^7 \pm 1.5 \times 10^6$ cB	$1.64 \times 10^6 \pm 2 \times 10^4$ bA
0.03% of TPEO	$1.84 \times 10^8 \pm 1 \times 10^6$ bD	$7.6 \times 10^7 \pm 1 \times 10^6$ eC	$2.15 \times 10^7 \pm 4 \times 10^5$ bB	$2.11 \times 10^6 \pm 1 \times 10^4$ cA

The columns with different lowercase letters mean statistically different in the same day ( $p < 0.05$ ).

The rows with different capital letters mean statistically different in the same treatment ( $p < 0.05$ ).

The results are shown as mean±standard deviation.



داده شده است که این عصاره ها نقش محرکی در بهبود رشد باکتری های آغازگر ماست و پروبیوتیک دارند. همچنین اشاره شد که با کاهش میزان اکسیژن محلول در محیط محصول، زنده مانی پروبیوتیک ها افزایش می یابد. علاوه بر این، ترکیبات فنلی، رشد باکتری های پروبیوتیک را در غیاب اکسیژن بهبود می بخشند.

همچنین تحقیقات نشان می دهد، به طور کلی، میزان کاهش یافتن باکتری *B. bifidum* بیشتر از *L. acidophilus* و سایر پروبیوتیک های اسید لاکتیکی است و میزان رشد و تکثیر آن در محصول کمتر است. که این موضوع را می توان به حساسیت بالاتر این باکتری نسبت به اکسیژن، اسیدیته بالا و pH پایین نسبت داد [۲۸].

### ۳-۶-۲- تجزیه و تحلیل شمارش کپک و مخمر

با توجه به جدول ۸، بیشترین تعداد کپک و مخمر (CFU / g)  $1.9 \times 10^3 \pm 5 \times 10^2$  و در تیمار شاهد اندازه گیری شد و با افزایش غلظت اسانس میزان کپک و مخمر ماست پروبیوتیک کاهش یافت. کمترین میزان کپک و مخمر (CFU / g)  $4.6 \times 10^2 \pm 4 \times 10^1$  در ماست های پروبیوتیک حاوی ۰.۰۳٪ DAEO اندازه گیری شد ( $P < 0.05$ ).

**Table 8** Comparison of mold-yeast count in control and herbal probiotic yogurts

Treatments	Mold-yeast count (CFU/g)
Control	$1.9 \times 10^3 \pm 5 \times 10^1$ e
0.01% of DAEO	$1.2 \times 10^3 \pm 6 \times 10^1$ b
0.03 % of DAEO	$4.6 \times 10^2 \pm 4 \times 10^1$ a
0.01% of TPEO	$1.5 \times 10^3 \pm 1.3 \times 10^2$ d
0.03% of TPEO	$1.1 \times 10^3 \pm 1 \times 10^2$ c

The columns with different lowercase letters letter indicates significant differences in treatments ( $p < 0.05$ ).

نمونه شاهد بود و با افزایش غلظت اسانس های گیاهی به طور معنی داری کاهش یافت.

ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی نشان داد که افزودن اسانس های گیاهی باعث پایداری pH می شود. DAEO ویسکوزیته و سینرزیس را به ترتیب افزایش و کاهش داد. در ارزیابی صفات حسی، افزودن DAEO به ماست پروبیوتیک گیاهی مطلوب تر از TPEO بود.

به طور کلی، با توجه به نتایج آزمایشات فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی ماست های پروبیوتیک گیاهی، می توان نتیجه گرفت که افزودن ۰.۰۳٪ DAEO بهترین تیمار است و

با توجه به جداول، می توان نتیجه گرفت که بهترین زمان مصرف ماست پروبیوتیک گیاهی تا روز ۱۴ ام است، زیرا تعداد باکتری های پروبیوتیک پس از آن به زیر  $10^6$  CFU / ml می رسد.

مرحمتی زاده و همکاران (۲۰۱۳) اثر عصاره برگ زیتون را در رشد و بقای باکتری های پروبیوتیک *L. acidophilus* و *B. bifidum* در ماست طی ۲۱ روز و در محیط یخچال بررسی کردند و به نتایج مشابهی دست یافتند. در این مطالعه عصاره برگ زیتون با غلظت های ۲، ۴ و ۶ درصد به نمونه ها اضافه شد. نتایج نشان داد که تعداد *L. acidophilus* و *B. bifidum* در نمونه های حاوی عصاره برگ زیتون به طور قابل توجهی بیشتر از نمونه شاهد بود. همچنین بین رشد باکتری و افزایش غلظت عصاره برگ زیتون رابطه مثبتی وجود داشت [۲۷].

همچنین، قلعه موسیانی و همکاران (۲۰۱۷) در مطالعات خود دریافتند که افزودن عصاره های گیاهی به ماست پروبیوتیک حاوی *Lactobacillus paracasei* به دلیل ترکیبات فنلی موجود در عصاره های گیاهی، بقا و زنده مانی باکتری های پروبیوتیک را به میزان قابل توجهی در مقایسه با ماست کنترل (ماست پروبیوتیک بدون عصاره) افزایش می دهد و نیز نشان

### ۴- نتیجه گیری

نتایج فعالیت ضد میکروبی نشان داد که DAEO و TPEO بالاترین اثر ضد میکروبی را روی *S. aureus* دارند و مقاوم ترین باکتری *E. coli* شناخته شد. در تمامی باکتری ها، TPEO خاصیت ضد میکروبی بیشتری نسبت به DAEO از خود نشان داد. اثر ضد میکروبی TPEO روی باکتری های *S. aureus* و *B. subtilis* مشابه تتراسایکلین بود. افزودن DAEO و TPEO به ماست پروبیوتیک به طور قابل توجهی باعث افزایش زنده مانی *L. acidophilus* و *B. bifidum* در مقایسه با نمونه شاهد شد. بیشترین تعداد کپک و مخمر در

- herbal essential oils. *International Food Research Journal* 25(3), 921-927.
- [8] Mahmoudi, R., Bajalanlou, F., Ghajarbeygi, P. & Pakbin, B. (2016). Chemical Properties and Sensory Evaluation of Probiotic Yoghurt Manufactured with Aqueous Extract of Aloe vera. *J. Biol. Today's World*, 5(11), 197-202.
- [9] Be, K., Gamlath, S. & Smith, S.C. (2009). In-vitro antimicrobial effect of spices on probiotic bacteria. *Australasian Medical Journal*, 1, 113-140.
- [10] Sutherland, J., Miles, M., Hedderley, D., Li, J., Devoy, S., Sutton, K. & Lauren, D. (2009). In vitro effects of food extracts on selected probiotic and pathogenic bacteria. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60, 717-727.
- [11] Mottaghipisheh, J., Maghsoudlou, M. T., Valizadeh, J. & Arjomandi, R. (2014). Antioxidant Activity and Chemical Composition of the Essential oil of *Ducrosia anethifolia* (DC.) Boiss. from Neyriz. *Journal of Medicinal Plants and By-products*, 2, 215-218.
- [12] Mahmoudi, R., Zare, P., Hassanzadeh, P. & Nosratpour, S. (2012). Effect of *Teucrium Polium* Essential Oil on the Physicochemical and Sensory Properties of Probiotic Yoghurt. *Journal of Food Processing and Preservation* 38(2014), 880-888.
- [13] Sadeghi, A. R., Pourahmad, R. & Mokhtare, M. (2017). Enrichment of Probiotic Yogurt with Broccoli Sprout Extract and its Effect on *Helicobacter pylori*. *Applied Food Biotechnology*, 4(1), 55-59.
- [14] Javidnia, K., Miri, R., Edraki, N., Khoshneviszadeh, M. & Javidnia, A. (2006). Constituents of the Volatile Oil of *Ferulago angulate* (Schlecht.) Boiss. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 18, 548-550.
- [15] Azarbani, F., Saki, Z., Zareei, A. & Mohammadi, A. (2014). Phenolic Contents, Antibacterial and Antioxidant Activities of Flower, Leaf and Stem Extracts of *Ferulago Angulata* (Schlecht) Boiss. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(10), 123-125.
- [16] Moghtader, M., Salari, F. & Farahmand, A. (2013). Anti-bacterial effects of the essential oil of *Teucrium polium L.* on human pathogenic bacteria. *Iran J Med Microbiol*, 7(2), 1-7.
- با توجه به میزان زنده مانده باکتری های پروبیوتیک، بهترین زمان مصرف این محصول، تا روز چهاردهم است.
- ### ۵- سپاسگزاری
- از کارخانه شیر پاستوریزه پگاه و آزمایشگاه ایرانیان غذاآزما به خاطر همکاری صمیمانه ای که داشتند، قدردانی می گردد.
- ### ۶- منابع
- [1] FAO/WHO. (2001). Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. Cordoba, Argentina, 1-4.
- [2] Sarvari, F., Mortazavian, A.M. & Fazeli, M.R. (2014). Biochemical Characteristics and Viability of Probiotic and Yogurt Bacteria in Yogurt during the Fermentation and Refrigerated Storage. *Food Biotechnology*, 1(1), 55-61.
- [3] Aswal, P., Shukla, A. & Priyadarshi, S. (2011). Yoghurt: Preparation, Characteristics & Recent Advancements. *Journal of BioProtocols*, 1(2), 32-44.
- [4] Marinaki, E., Kandylis, P., Dimitrellou, D., Zakyntinos, G. & Varzakas, Th. (2016). Probiotic Yogurt Production with *Lactobacillus casei* and Prebiotics. *1st International Multidisciplinary Conference on Nutraceuticals and Functional Foods Current Research in Nutrition and Food Science*, SI. 1, 48-53.
- [5] Kim, D-H., Cho, W-Y., Yeon, S-J., Choi, S-H. & Lee C-H. (2019). Effects of lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf on quality and antioxidant activity of yogurt during refrigerated storage. *Food Sci Anim Resour*, 39(5), 792-803.
- [6] Nashaat AL-Saadi, Z. (2016). Estimation of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of Cell-Free Extracts of *Bifidobacterium* Species Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in vitro. *American Journal of Biomedical and Life Sciences*, 4(5), 75-80.
- [6] Azizkhani, M. & Parsaeimehr, M. (2018). Probiotics survival, antioxidant activity and sensory properties of yogurt flavored with

- extract (Anethume graveolens) using on the Antioxidant and Physicochemical properties of Set Yogurt. *JFST*, 84(15), 203-215.
- [24] Sekhavatizadeh, S., Karami, M., Savand Roomi, A. & Sadeghi Sarvestani, M.V. (2015). Industrial Production and Sensory and Chemical Analysis of Chavil Yogurt. *Journal of Food Technology and Nutrition*, 12(1), 59-70.
- [25] Zomorodi, Sh., Aberoon, N. & Khosrowshahi Asl, A. (2015). Increase the survival of *Lactobacillus acidophilus* and improved quality properties of senbiotic yogurt using apple and wheat fibers. *JFST*, 48(12), 203-214
- [26] Ghalemousiani, Z., Pourahmad, R., & Eshaghi, M.R. (2017). Effect of aqueous extracts of *Ocimum basilicum* and *Satureia montana* L. on the survival of *Lactobacillus paracasei* and physicochemical properties of probiotic yogurt. *JFST*, 10(4), 55-63.
- [27] Marhamatizadeh, M.H., Ehsandoost, E., Gholami, P. & Davanyanmohaghegh, M.(2013). Effect of olive leaf Extract on Growth and viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* for production of probiotic Milk and Yogurt. *International Journal of farming and Allied Sciences*, 2(17), 572-578.
- [28] Marhamatizadeh, M.H., Rezazadeh, S., Nezafat kazerroni, Z. & Jafari, E. (2010). Determination of soy milk as carrier of probiotic microbe *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum*. *et.J.of Islamic.Azad.Univ.,Garmsar Branch*, 5(2), 99-103.
- [17] Tabatabaei Yazdi, F., Alizadeh Behbahani, B., Heidari Sureshjani, M. & Mortazavi, S.A. (2014). The In vitro Study of Antimicrobial Effect of *Teucrium polium* Extract on Infectious Microorganisms. *Scientific Journal of Hamadan University of Medical Sciences*, 21(1), 16-24.
- [18] Sodeifian, GH., Ansari, K., Bamoniri, A. & Mirjalili, F. (2011). Study of Chemical Composition of The Essential Oil of *Ferulago Angulata* (Schelcht) Boiss. From Iran Using Supercritical Fluid Extraction and Nano Scale Injection. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 6(1), 161-168.
- [19] Lee, W. J. & Lucey, J. A. (2010). Formation and Physical Properties of Yogurt. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 23(9), 1127-1136.
- [20] EL Omari, K., AL Kassaa, I., Farraa, R., Najib, R., Alwane, S., Chihib N. & Hamze M. (2020). Using the Essential Oil of *Micromeria barbata* Plant as Natural Preservative to Extend the Shelf Life of Lebanese YogurtPak. *J. Biol. Sci.*, 23(6), 848-855
- [21] Simon, H. P., Chandra, R., Shukla, S. & Singh, Sh. S. (2018). Sensory evaluation of probiotic herbal yoghurt with ginger and garlic extract. *The Pharma Innovation Journal*, 7(4), 605-607.
- [22] Ertem, H. & Cakmakci, C. (2018). Shelf life and quality of probiotic yogurt produced with *Lactobacillus acidophilus* and *Gobdin*. *International Journal of Food Science and Technology*, 53, 776-783.
- [23] Ashrafi yourghanloo, R., Gheybi, N. (2019). Investigation the effect of Dill



## Effect of the essential oil of *Ducrosia anethifolia* (DC.) Boiss. and *Teucrium polium* L. on physicochemical, sensory, and microbial characteristics of probiotic yogurt during storage time

Keshavarzi, M. <sup>1</sup>, Sharifan, A. <sup>2\*</sup>, Yasini Ardakani, S. A. <sup>3</sup>

1. PhD Student in Food Microbiology, Faculty of Agricultural Sciences and Food Industry, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.
2. Academic Member and Associate Professor, Department of Food Science & Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3. Academic Member and Associate Professor, Department of Food Science & Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Yazd, Iran.

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received 2021/ 03/ 11  
Accepted 2021/ 07/ 03

#### Keywords:

Probiotic yogurt,  
*Ducrosia anethifolia*, *Teucrium polium*,  
physicochemical characteristics,  
Survival of probiotics.

**DOI:** 10.52547/fsct.18.08.21

\*Corresponding Author E-Mail:  
a\_sharifan2000@yahoo.com

### ABSTRACT

Today use of functional food, such as probiotic products, is important due to their health benefits against diseases. In this study the essential oil of *Ducrosia anethifolia* and *Teucrium polium* (DAEO and TPEO, respectively) were added to probiotic yogurt to investigate their effects on the survival of probiotic bacteria (*Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* bacteria) during 21 days and assess its various properties. The results showed upon increasing the concentration of DAEO and TPEO, the value of acidity and viscosity of yogurt treatments increased, and the pH and syneresis showed a decreasing trend ( $P < 0.05$ ). The survivability of the investigated probiotic bacteria demonstrated a decreased trend during storage in all treatments, but finally, the number of probiotic bacteria in all treatments was significantly higher than that of the control samples. Finally based on the results of all tests, the addition of 0.03% of DAEO is the best way to realize the goals of the research.