بررسی اثر عصاره گیاهان تیره نعناع (آویشن، نعناع و کاکوتی) در جلوگیری از رشد استافیلوکوکوس اورئوس و ژئوتریکوم کاندیدوم در نمونه های دوغ صنعتی استان خراسان رضوی با استفاده از روش سطح پاسخ

فریده طباطبایی یزدی[1*]، بهروز علیزاده بهبهانی[2]، سید علی مرتضوی[2]

1- دانشیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی،دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
2- دانشجوی دکتری گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی،دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
3- استاد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(تاریخ دریافت: 93/2/23 **تاریخ پذیرش**: 93/7/8)

چکیده

در این پژوهش آزمایشگاهی اثر ضد میکروبی عصاره گیاهان تیره نعناع (آویشن، نعناع و کاکوتی) در جلوگیری از رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* و *ژئوتریکوم کاندیدوم* در نمونه های دوغ صنعتی استان خراسان رضوی بررسی شد. برای این منظور 3 سطح غلظت از هر عصاره (0/15 v/v و 0/075، 0) تهیه گردید. بقاء و یا کاهش جمعیت باکتری مذکور در 40 نمونه (در3 تکرار) برای نمونه های دوغ استریل حاوی سوسپانسیون مشخصی از سوش خالص *استافیلوکوکوس اورئوس* و *ژئوتریکوم کاندیدوم* به طور جداگانه در طی زمان 24 ساعت و 7 روز با اندازه گیری مرگ باکتری پاتوژن با استفاده از طرح رویه پاسخ (RSM) بررسی شد. پس از بررسی و مقایسه نتایج اثر عصاره ترکیبات بازدارنده طبیعی در جلوگیری از رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* و *ژئوتریکوم کاندیدوم* در نمونه های دوغ مشخص کرد که عصاره گیاهان تیره نعناع به میزان بیشتری بر کاهش جمعیت استافیلوکوکس تأثیر داشت، فرمول بهینه عصاره ها برای کاهش یا کینتیک مرگ باکتری پاتوژن با غلظت عصاره آویشن (v/v)0/14%، عصاره نعناع (v/v) 0/11 %و عصاره کاکوتی (v/v) 0% میزان تلقیح بدست آمده، که در این شرایط بیشترین میزان کاهش جمعیت استافیلوکوکوس اورئوس در 24 ساعت 2/84 عدد لگاریتمی، در 14 روز 1/63 عدد لگاریتمی می باشد.

کلید واژگان: عصاره، تیره نعناع، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *ژئوتریکوم کاندیدوم*، دوغ های صنعتی

* مسئول مکاتبات: tabatabai@um.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-16]

1- مقدمه

گیاهان تیره نعناع از زمان های گذشته در طب سنتی مورد استفاده بوده، و به طور معمول در درمان عفونت های دستگاه گوارش و یا نفخ شکم کاربرد داشته اند. از مهمترین محصولاتی که از گیاهان تیره نعناع بدست می آید می توان به عصاره آن اشاره نمود که مصرف زیادی در طب سنتی، صنایع غذایی، عطر سازی و دارو سازی دارد [1].

تولید اسانس ها و عصاره ها زمینه بسیار مناسبی برای صادرات به شمار می آید و در ارتقای ارزش افزوده حاصل از کشت گیاهان دارویی اهمیت به سزایی دارد. از سال 2000 میلادی براساس توافق جهانی و به دلایل زیست محیطی و بهداشتی مصرف اسانس ها و رنگ های شیمیایی (مصنوعی) در تهیه مواد غذایی و تولید مواد آرایشی به تدریج کاهش یافته و به جای آن ها مصرف اسانس ها و رنگ های طبیعی کاربرد بیشتری یافته است [2]. این مواد می توانند از طریق پایداری شیمیایی و به وسیله مهار رشد میکروبی باعث افزایش عمر نگهداری مواد غذایی شوند. به همین دلیل مواد غذایی فرآیند شده با نگهدارنده های طبیعی روز به روز بیشتر مورد توجه قرار می گیرند.

اسانس و عصاره ها دارای فعالیت ضد میکروبی طبیعی بر روی تعداد زیادی از باکتری های مولد فساد و بیماری زا هستند، بیشتر این ترکیبات در حضور گروههای فعال فنولیک در ساختارشان مشترک می باشند. در حقیقت آن‌ها به علت داشتن مقادیر زیادی از ترکیبات فرار آروماتیک که برخی از آن ها از عوامل مهم ایجاد کننده طعم در غذا به شمار می روند مورد توجه هستند [3]. این ترکیبات فرار دارای خاصیت ضد اکسایشی و ضد میکروبی ذاتی بوده و نقش مهمی در سیستم دفاعی گیاهان در مقابل بیماری ها در اثر میکروارگانیسم ها ایفا می کنند. بنابراین این ترکیبات می توانند به صورت یک جزء عملگر، یک طعم دهنده و نیز به عنوان نگهدارنده در ماده غذایی عمل نمایند [4].

استافیلو کوکوس اورئوس عامل اصلی مسمومیت غذایی و عفونت های خارج روده ای می باشد. انتروتوکسین این میکروارگانیسم مقاوم به حرارت است و در صورت وجود در ماده غذایی در اثر حرارت از بین نمی رود. مسمومیت غذایی استافیلوکوکی به وسیله دوره کمون کوتاه، معمولاً بین 2 تا 4 ساعت مشخص می گردد [5]. تهوع، استفراغ، دل پیچه، ضعف و نهایتاً اسهال علایم آن هستند. این دوره کمون کوتاه در نتیجه خوردن سم از قبل تولید شده در مواد غذایی ایجاد می شود. رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در مواد غذایی هیچگونه تغییری در ظاهر، بو یا طعم آن ایجاد نمی کند بلکه توکسین آن در مواد غذایی ایجاد مسمومیت می نماید [5].

ژئوتریکوم کاندیدوم در ابتدای رشد توده ای سفت و نمد مانند ایجاد کرده و به تدریج نرم و خامه ای می شود [6].

هدف از انجام این پژوهش بررسی و مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره گیاهان تیره نعناع (آویشن، نعناع و کاکوتی) در جلوگیری از رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* و *ژئوتریکوم کاندیدوم* در نمونه های دوغ صنعتی تولید شده در استان خراسان رضوی می باشد.

2- مواد و روش ها

2-1- مواد

عصاره های آویشن، نعناع و کاکوتی با درجه خلوص 60 درصد از (مجتمع و شرکت کشاورزی سبز ایران) خریداری شد.

دوغ استریل (دوغ از کارخانجات لبنی شهرک صنعتی مشهد تهیه گردید).

سوش میکروبی استافیلوکوکوس ارئوس (PTCC1113) و ژئوتریکوم کاندیدوم (ATTC12748) به صورت آمپول لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون قارچ ها و باکتری های صنعتی و عفونی سازمان علمی پژوهشی و صنعتی ایران بخش بیوتکنولوژی تهیه گردید.

جهت انجام آزمایشات از محیط کشت نوترینت آگار[1]، مانیتول سالت آگار[2] و سابرو دکستروز آگار[3] ساخت شرکت مرک آلمان استفاده شد.

جهت تهیه کشت تازه و فعال سازی سوش های میکروبی از محیط کشت مانیتول سالت آگار (ساخت شرکت مرک آلمان) برای *استافیلوکوکوس اورئوس* و از محیط کشت سابرو دکستروز آگار(مرک آلمان) برای *ژئوتریکوم کاندیدوم استفاده* گردید.

1. Nutrient Agar
2. MSA
3. SDA

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-16]

2-2- روش ها

2-2-1- تهیه کشت تازه (در فاز لگاریتمی) از میکروارگانیسم

جهت تهیه کشت تازه و فعال سازی سوش های میکروبی از محیط کشت مانیتول سالت آگار باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و از محیط کشت سابرو دکستروز آگار برای کپک *ژئوتریکوم کاندیدوم* بر روی محیط کشت های مذکور کشت سطحی داده شد، تا میکروارگانیسم پس از 24 ساعت و 72 ساعت اینکوباسیون (برای باکتری و قارچ به ترتیب) در هنگام تهیه سوسپانسیون میکروبی در فاز لگاریتمی قرار داشته باشد.

2-2-2- تهیه نمونه های دوغ جهت تیمار با عصاره‌ها

نمونه های دوغ صنعتی بعد از تهیه از کارخانجات لبنی شهرک صنعتی مشهد، جهت انجام آزمایشات به آزمایشگاه میکروبیولوژی صنعتی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد انتقال یافت. بعد از استریل کردن دوغ ها در اتوکلاو، نمونه های استریل دوغ را درون 40 لوله 500cc ریخته شد و سپس غلظت های مختلف عصاره (0/15 v/v، 0/075 و0) براساس نتایج بدست آمده از گزارشات و تحقیقات انجام شده (7، 8، 9، 10، 11 و 12) به صورت امولسیون کردن مقدار معین هر یک از آن ها با آب و به کمک توئین 80 (از شرکت مرک آلمان) به میزان 30 درصد وزن عصاره با استفاده از یک میکسر هموژنایزر (IKA-T25-digital ultra turax) به مدت یک دقیقه در پانزده هزار دور در دقیقه تهیه شد.

2-2-3- تهیه سوسپانسیون 0/5 مک فارلند

سوسپانسیون استاندارد 0/5 مک فارلند با استفاده از اضافه کردن 99/5 میلی لیتر اسید سولفوریک 1% و 0/5 میلی لیتر کلرید باریم 1/175% به طور آهسته با هم زنی مداوم تهیه گردید.

کدورت ایجاد شده توسط این سوسپانسیون دانسیته سلولی تقریباً معادل $1/5\times10^8$ cfu/ml ایجاد می کند. سپس کدورت آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (SIGMA-3-30K) در طول موج 625 nm اندازه گیری شد.

2-2-4- تهیه سوسپانسیون میکروبی

یک لوپ از سوش میکروبی تحت شرایط استریل (بین دو شعله وجود) به 500cc محیط کشت N.B جهت تهیه سوسپانسیون غلیظ میکروبی اضافه گردید، سپس محیط کشت به اینکوباتور 18-22ċ منتقل شد. جهت تهیه کشت مادر[1]، محیط کشت های N.A، M.S.A و S.D.A به روش شیب دار[2]، در لوله های در پیچ داری که قبلاً استریل شده بودند تهیه شد و از محیط N.B (بعد از ایجاد کدورت) کشت سطحی به شکل زیکزاک داده شد.محیط کشت ها به مدت 24 ساعت در اینکوباتور 37ċ قرار گرفته، سپس لوله ها با پارافین استریل شده و در یخچال نگه داری شدند.

2-2-5- ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره ها با استفاده از طرح مرکب مرکزی در 3 فاکتور در 3 سطح

3 سطح غلظت از هر عصاره (0/15 v/v، 0/075 و0) براساس نتایج بدست آمده از گزارشات و تحقیقات انجام شده [13-18] تهیه شد. برای انجام آزمایش ها از طرح مرکب مرکزی در 3 فاکتور در 3 سطح تهیه گردید. 1-2% از *استافیلوکوکوس اورئوس* و *ژئوتریکوم کاندیدوم* با غلظت استاندارد شده به روش مک فارلند (1×10^5) که روش تهیه آن در بخش قبل ذکر شد به 40 لوله آزمایش درب دار حاوی نمونه های دوغ استریل و رقت های مشخص تهیه شده از عصاره های گیاهی اضافه گردید (جدول1).

یک لوله آزمایش فاقد ماده ضد میکروبی نیز به عنوان کنترل رشد (کنترل مثبت) در نظر گرفته شد، افزودن سوسپانسیون میکروبی به رقت های عصاره های گیاهی باعث رقیق شدن سوسپانسیون میکروبی و غلظت ماده ضد میکروبی خواهد شد، که این موارد طی آماده سازی نمونه ها در نظر گرفته شده است. پس از انجام این مراحل از لوله فاقد ماده ضد میکروبی (کنترل) 0/1cc از این مخلوط با استفاده از یک اتوسمپلر فوراً روی سطح پلیت حاوی محیط آگار کشت سطحی داده شد تا پس از یک شب گرمخانه گذاری تعداد کلونی های رشد کرده شمارش شوند [7]. سپس لوله های آزمایش حاوی دوغ و عصاره های گیاهی به مدت 7 روز در یخچال در دمای 6-8ċ (دمای یخچال های صنعتی)

1. Master culture
2. Slant

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-16]

نگهداری گردید و تعداد کلونی های رشد کرده مطابق روش ذکر شده بررسی گردید.

2-3- طراحی آزمایشات

در این پژوهش از طرح مرکب مرکزی[1] جهت طراحی آزمایشات استفاده شده است. هدف این پژوهش بهینه سازی اثر عصاره های طبیعی جهت کاهش کینتیک رشد باکتری پاتوژن در نمونه های دوغ صنعتی خراسان رضوی می باشد. سه پارامتر مورد بررسی شامل غلظت های عصاره آویشن، عصاره نعناع و عصاره کاکوتی می باشند. لذا جهت بهینه سازی اثرات عصاره های طبیعی سه پارامتر مذکور را با توجه به روش استفاده شده برای طراحی آزمایشات به عنوان متغیرهای مورد نظر و با سه سطح در مقادیر کد شده (1+، 0 و 1-) و مقادیر واقعی، مطابق جدول 1 در نظر گرفته شد.

جدول 1 مقادیر کد شده و واقعی متغیرهای مستقل در سطوح مختلف

متغیر های مستقل	علائم	مقادیر کد شده واقعی		
		-1	0	+1
غلظت عصاره آویشن (%v/v)	A	0	0/075	0/15
غلظت عصاره نعناع (%v/v)	B	0	0/075	0/15
غلظت عصاره کاکوتی (%v/v)	C	0	0/075	0/15

با استفاده از روش CCD و با کمک نرم افزار Design Expert (Version 6.0.2) و سطوح غلظت در نظر گرفته شده برای هر یک از متغیرها آزمایشات را طراحی کرده و چیدمان آنها را مطابق جدول3 و2 مشخص نمودیم. جدول 3و2 آرایش روش CCD را با 6 تکرار در نقطه مرکزی نشان می دهد. میانگین درصد مقادیر بدست آمده از سه مرتبه تکرار هر آزمایش به عنوان متغیر وابسته یا پاسخ (Y) در نظر گرفته می شود، در روش RSM برای هر متغیر وابسته مدلی تعریف می شود که آثار اصلی و همزمان فاکتورها را بر روی هر متغیر جداگانه بیان می نماید، مدل چند متغیره به صورت زیر می باشد

$$Y= \beta_0+ \beta_1 x_1+ \beta_2 x_2+ \beta_3 x_{3+} \beta_1 \beta_1 x_1^2+ \beta_2 \beta_2 x_2^2+ \beta_3 \beta_3 x_3^2 + \beta_1 \beta_2 x_1 x_2+ \beta_1 \beta_3 x_1x_3+ \beta_2 \beta_3 x_2x_3$$

در معادله ذکر شده Y پاسخ پیش بینی شده، β_0 ضریب ثابت، $\beta_1\beta_2\beta_3$ اثرات خطی، $\beta_1\beta_1$ $\beta_2\beta_2$ $\beta_3\beta_3$ اثر مربعات و $\beta_1\beta_2,\beta_1\beta_3,\beta_2\beta_3$ اثرات همزمان بوده و جهت برازش و محاسبه ضرایب معادله لازم است که داده های تجربی بدست آمده با استفاده از رگرسیون و آنالیز واریانس (ANOVA) تحلیل شود. بدین منظور رگرسیون و تحلیل واریانس با استفاده از نرم افزار Design Expert (Version 6.0.2) انجام گرفت.

جدول 2 چیدمان روش CCD برای تغییرات جمعیت استافیلوکوکوس

شماره آزمایش	آویشن (%v/v)	نعناع (%v/v)	کاکوتی (%v/v)	نتایج بدست آمده بعد از گذشت 24 ساعت (Log/ml)	نتایج بدست آمده بعد از گذشت 7 روز (Log/ml)
1	0.00	0.00	0.00	5.41	5.09
2	0.15	0.00	0.00	3.26	2.05
3	0.00	0.15	0.00	4.69	2.11
4	0.15	0.15	0.00	2.87	1.70
5	0.00	0.00	0.15	3.91	2.52
6	0.15	0.00	0.15	4.71	1.91
7	0.00	0.15	0.15	3.79	2.30
8	0.15	0.15	0.15	3.77	4.50
9	0.00	0.075	0.075	3.73	2.63
10	0.15	0.075	0.075	3.27	2.10
11	0.075	0.00	0.075	3.87	2.33
12	0.075	0.15	0.15	3.66	1.90
13	0.15	0.075	0.00	3.53	2.03
14	0.15	0.15	0.075	3.62	1.98
15	0.075	0.075	0.075	3.62	1.97
16	0.075	0.075	0.075	3.63	2.00
17	0.075	0.075	0.075	3.38	1.79
18	0.075	0.075	0.075	3.21	1.90
19	0.075	0.075	0.075	3.69	1.99
20	0.075	0.075	0.075	3.52	1.88

1. Central composite design

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-16]

جدول 3 چیدمان روش CCD برای تغییرات جمعیت ژئوتریکوم

شماره آزمایش	آویشن (%/۸)	نعناع (%/۸/۵)	کاکوتی (%/۸/۸)	نتایج بدست آمده بعد از گذشت 24 ساعت (Log/ml)	نتایج بدست آمده بعد از گذشت 7 روز (Log/ml)
1	0.00	0.00	0.00	4.47	5.29
2	0.15	0.00	0.00	5.10	3.69
3	0.00	0.15	0.00	4.61	3.60
4	0.15	0.15	0.00	5.09	4.19
5	0.00	0.00	0.15	5.16	3.59
6	0.15	0.00	0.15	4.99	3.317
7	0.00	0.15	0.15	5.43	3.22
8	0.15	0.15	0.15	5.54	4.13
9	0.00	0.075	0.075	5.29	4.00
10	0.15	0.075	0.075	5.40	4.00
11	0.075	0.00	0.075	5.36	4.00
12	0.075	0.15	0.15	5.29	3.98
13	0.15	0.075	0.00	5.00	3.62
14	0.15	0.15	0.075	5.34	3.12
15	0.075	0.075	0.075	5.34	3.93
16	0.075	0.075	0.075	5.30	3.96
17	0.075	0.075	0.075	5.27	3.81
18	0.075	0.075	0.075	5.21	3.74
19	0.075	0.075	0.075	5.37	3.96
20	0.075	0.075	0.075	5.34	3.94

با توجه به شرایط تعیین شده، 40 فرمولاسیون نهایی ترکیبات بازدارنده تهیه شد. به کمک ضرایب رگرسیون اثر سطوح مختلف آویشن، نعناع و کاکوتی بر روی متغیر های وابسته محاسبه شد.

3- نتایج و بحث

3-1- تحلیل آزمایشات و مدل سازی پارامتر های موثر بر کاهش جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* و ژئوتریکوم *کاندیدوم*

آزمایش ها طبق جدول طراحی شده روش CCD، با در نظر گرفتن سه متغیر عصاره آویشن، عصاره نعناع و عصاره کاکوتی برابر با 40 آزمایش همراه با 6 تکرار در نقطه مرکزی، برای کاهش خطا انجام داده شد. جدول آزمایشات طراحی شده با توجه به متغیرهای فرض شده و نتایج بدست آمده برای کاهش جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* و *ژئوتریکوم کاندیدوم* Log/ml مطابق جدول (3و2) آورده شده است. با توجه به نتایج بدست آمده به دنبال ارائه مدلی مناسب براساس مدل اولیه (معادله 2و1) برای کاهش جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* و *ژئوتریکوم کاندیدوم* با توجه به سه متغیر فرض شده عصاره آویشن، عصاره نعناع و عصاره کاکوتی می باشیم. مدل اولیه به صورت Full quadratic در نظر گرفته شد، به عبارت دیگر فرض اولیه و پیشنهادی، موکد بر موثر بودن تمامی ترم ها (متغیرها با توان اول، دوم و اثر متقابل متغیرها) و در نظر گرفتن آنها در مدل بود. ولی در عمل برخی از ترم های در نظر گرفته شده در مدل اضافی بوده و باید حذف شوند لذا احتیاج به یک تحلیل آماری جهت مشخص نمودن ترم های موثر از غیر موثر داریم. این تحلیل با استفاده از آزمون فرض و پارامتر p-value انجام می شود. محاسبات مربوطه توسط نرم افزار Design Expert 6.0.2 انجام شد و پس از حذف ترم های غیر موثر به جدول تحلیل آماری (5و 4) می رسیم.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-16]

جدول 4 نتایج آنالیز واریانس (ANOVA) مدل سطح پاسخ برای تغییرات جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه های دوغ.(A: آویشن، B: نعناع و C: کاکوتی)

Source	DF	Extracts 24h		Extracts 7 days	
		SS	P-Value	SS	P-Value
Model	9	3.67	0.0001	11.12	0.0001
Linear					
A	1	1.26	0.0001	1.22	0.0001
B	1	0.52	0.0015	0.48	0.0003
C	1	0.0019	0.7966	0.047	0.1222
Quadratic					
A^2	1	0.0039	0.7133	0.61	0.0001
B^2	1	0.15	0.0414	0.078	0.0540
C^2	1	0.0045	0.6928	0.032	0.1945
Interaction					
AB	1	0.26	0.0122	2.36	0.0001
AC	1	0.87	0.0002	1.94	0.0001
BC	1	0.48	0.0020	2.88	0.0001
Residual	10	0.28		0.16	
Lack of fit	5	0.22	0.0891	0.13	0.0765
Pure error	5	0.059		0.033	
Total	19	3.95		11.29	

در جدول (5و4)، DF[1]: به معنای درجه آزادی، SS[2]: به معنای مجموع مربعات و P-Valve مقادیر عددی تعیین کننده در پذیرش یا رد فرض آماری مورد نظر می باشند. مهم ترین قسمت در جدول تحلیل آماری در بخش آنالیز واریانس، پارامتری به نام آزمون ضعف برازش[3] می باشد. این پارامتر نشان دهنده مناسب بودن یا نا مناسب بودن مدل می باشد. مقدار P پارامتر ضعف برازش برای کاهش جمعیت باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در زمان های 24 ساعت و 7 روز به ترتیب P_{24h} =0/0891، P_{7D} =0/0765 بدست آمده است، همچنین مقدار P پارامتر ضعف برازش برای کاهش جمعیت کپک ژئوتریکوم در زمان های 24 ساعت و 7 روز به ترتیب P_{24h} =0/1008، P_{7D} =0/0700 بدست آمده که بیانگر این است که آزمون ضعف برازش مربوط به مدل برازش یافته (چند جمله ای درجه دوم) بر پاسخ معنی دار نبود. بنابراین، مدل توانسته به خوبی بر داده های مورد بررسی برازش شود.

جدول 5 نتایج آنالیز واریانس (ANOVA) مدل سطح پاسخ برای تغییرات جمعیت *ژئوتریکوم کاندیدوم* در نمونه های دوغ.(A: آویشن، B: نعناع و C:کاکوتی)

Source	DF	Extracts 24h		Extracts 7 days	
		SS	P-Value	SS	P-Value
Model	9	0.77	0.0003	3.63	0.0001
Linear					
A	1	0.0029	0.5255	0.013	0.4649
B	1	0.0015	0.6474	0.059	0.1401
C	1	0.14	0.0011	0.92	0.0001
Quadratic					
A^2	1	0.0009	0.7204	0.13	0.0390
B^2	1	0.000005	0.9777	0.12	0.0459
C^2	1	0.066	0.0112	0.46	0.0012
Interaction					
AB	1	0.16	0.0008	1.44	0.0001
AC	1	0.0039	0.4656	0.34	0.0034
BC	1	0.36	0.0001	0.34	0.0034
Residual	10	0.069		0.23	
Lack of fit	5	0.053	0.1008	0.19	0.0700
Pure error	5	0.016		0.044	
Total	19	0.84		3.86	

نتایج آنالیز آماری در جدول (4) نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می گردد، عبارت هایی از مدل که در آزمون عصاره بعد از 24 ساعت و معنی دار بودند شامل عبارت خطی آویشن ($p<0/0001$) و نعناع ($p<0/01$)، عبارت درجه دوم نعناع($p<0/05$) و عبارات برهم کنش آویشن، نعناع ($p<0/05$) و آویشن، کاکوتی ($p<0/001$) و نعناع، کاکوتی ($p<0/01$) می باشند و از آنجایی که عبارت خطی کاکوتی و روابط درجه دوم آویشن، کاکوتی معنی دار نبوده از مدل حذف شدند. همچنین براساس (Sum of square) بیشترین تأثیر مربوط به عصاره آویشن می باشد.

عبارت هایی از مدل که در آزمون عصاره بعد از 7 روز معنی دار بودند شامل عبارات خطی آویشن ($p<0/0001$)، نعناع ($p<0/001$)و رابطه درجه دوم آویشن ($p<0/0001$) و تمامی عبارات بر هم کنش می باشند ($p<0/0001$). روابط درجه دوم

1. DF: Degrees of freedom
2. SS: Sum of square
3. Lack of fit

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-16]

نعناع، کاکوتی و عبارت خطی کاکوتی معنی دار نبوده از مدل حذف شدند. همچنین براساس (Sum of square) بیشترین تأثیر مربوط به بر هم کنش عصاره نعناع، کاکوتی می باشد.

نتایج آنالیز آماری در جدول (5) نشان داده شده است همانطور که مشاهده می گردد، عبارت هایی از مدل که در آزمون عصاره بعد از 24 ساعت معنی دار بودند شامل عبارت خطی کاکوتی (p<0/01)، عبارت درجه دوم کاکوتی (p<0/05) و عبارات برهم کنش آویشن، نعناع (p<0/001) و نعناع، کاکوتی (p<0/0001) می باشند و از آنجایی که عبارات خطی آویشن، نعناع و روابط درجه دوم آویشن، نعناع و بر هم کنش آویشن، کاکوتی معنی دار نبوده از مدل حذف شدند. همچنین براساس (Sum of square) بیشترین تأثیر مربوط به برهم کنش عصاره های نعناع، کاکوتی می باشد.

عبارت هایی از مدل که در آزمون عصاره بعد از 7 روز معنی دار بودند شامل عبارات خطی کاکوتی (p<0/0001) و روابط درجه دوم آویشن، نعناع (p<0/05) و کاکوتی (p<0/01) و تمامی عبارات بر هم کنش می باشند (p<0/001). عبارات خطی آویشن، نعناع معنی دار نبوده از مدل حذف شدند. همچنین براساس (Sum of square) بیشترین تأثیر مربوط به بر هم کنش عصاره آویشن، نعناع می باشد.

برای اینکه مدل توانایی خوبی برای برازش اطلاعات داشته باشد لازم است که R^2 adjusted دارای بالاترین مقدار باشد؛ ضریب تبیین (R^2) به عنوان نسبت تغییرات توصیف شده توسط مدل به تغییرات کل بیان می شود که معیاری از درجه ی تناسب برازش می باشد. بنابراین هر چه مقدار R^2به یک نزدیک تر شود، قدرت مدل برازش یافته در توصیف تغییرات پاسخ به عنوان تابعی از متغیرات مستقل بیشتر می باشد. بتریز و همکاران چنین عنوان کردند که برای یک مدل با برازش خوب، مقدار R^2 بایستی حداقل 0/8 باشد (12)، همچنین ضریب تغییرات (C.V) نیز بیانگر خطاها در انجام آزمایشات است و هر چه این عدد پایین تر باشد دقت آزمایش را نشان می دهد.

جدول 6 پارامترهای آماری بدست آمده برای کاهش جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس*

پارامترهای آماری	Extracts 24h	Extracts 7days
R^2	0/9299	0/9854
Adj-R^2	0/8668	0/9723
CV	4/53	5/60

جدول 7 پارامترهای آماری بدست آمده برای کاهش جمعیت ژئوتریکوم

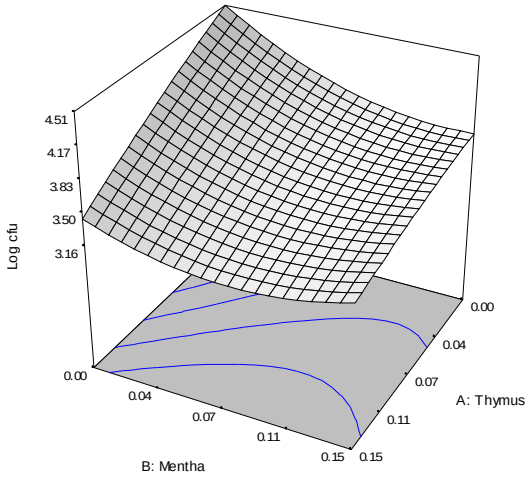
پارامترهای آماری	Extracts 24h	Extracts 7days
R^2	0/9176	0/9401
Adj-R^2	0/8434	0/8862
CV	1/58	3/94

3-2- نمودار های سه بعدی[1]

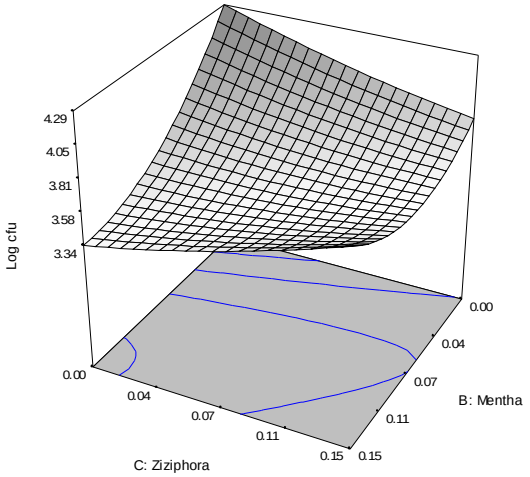
این نمودار ها میزان کاهش جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* و *ژئوتریکوم کاندیدوم* را در برابر متغیرها به صورت سه بعدی نشان می دهد. این اشکال فضایی با استفاده از نقاط آزمایش شده و همچنین درون یابی سایر نقاط با استفاده از مدل محاسباتی صورت می گیرد. در شکل (4و1) نمودار سه بعدی و مسطح اثر همزمان دو متغیر آویشن- نعناع، و شکل (5و2) اثر همزمان آویشن- کاکوتی و شکل (6و3) اثر همزمان نعناع، کاکوتی بر تغییرات جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه های دوغ حاوی عصاره بعد از 24 ساعت و 7 روز نشان داده شده است. همچنین در شکل (10و7) نمودار سه بعدی و مسطح اثر همزمان دو متغیر آویشن- نعناع، و شکل (11و8) اثر همزمان آویشن- کاکوتی و شکل (12و9) اثر همزمان نعناع، کاکوتی بر تغییرات جمعیت ژئوتریکوم کاندیدوم در نمونه های دوغ حاوی عصاره بعد از 24 ساعت و 7 روز نشان داده شده است.

1. 3D- Surface

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-16]

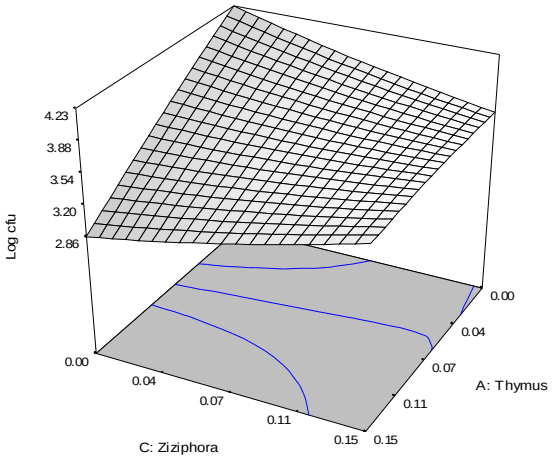


شکل 1 نمایش نمودار سه بعدی: اثر همزمان دو متغیر آویشن- نعناع بر تغییرات جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه های دوغ حاوی عصاره بعد از گذشت 24 ساعت



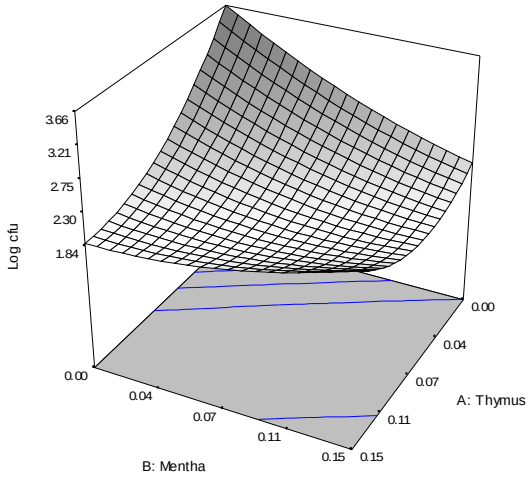
شکل 3 نمایش نمودار سه بعدی: اثر همزمان دو متغیر نعناع- کاکوتی بر تغییرات جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه‌های دوغ حاوی عصاره بعد از گذشت 24 ساعت

در شکل 1 نمودار سه بعدی اثر همزمان دو متغیر آویشن- نعناع، در شکل 2 نمودار اثر همزمان آویشن- کاکوتی و شکل 3 اثر همزمان نعناع- کاکوتی بر تغییرات جمعیت استافیلوکوکوس اورئوس در نمونه های دوغ حاوی عصاره بعد از 24 ساعت نشان داده شده است. بر این اساس در شکل 2 قابل ملاحظه است که با افزایش غلظت عصاره آویشن، در تمامی غلظت های عصاره کاکوتی جمعیت استافیلوکوکوس اورئوس به صورت خطی کاهش می یابد. همچنین، اثر همزمان نعناع- کاکوتی در شکل 3 نشان داده شده است. با توجه به شکل در پی افزودن عصاره نعناع در غلظت های پایین کاکوتی جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* به صورت نمایی کاهش می یابد.

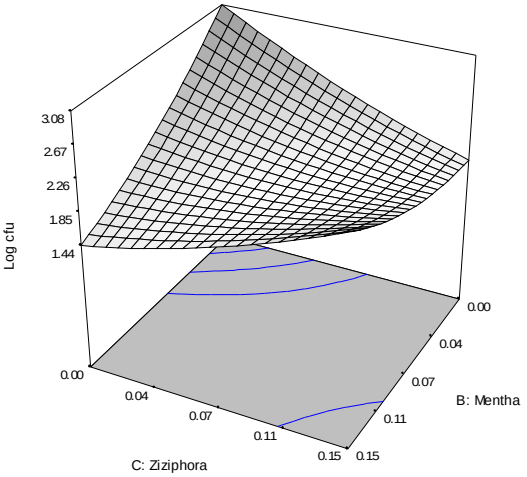


شکل 2 نمایش نمودار سه بعدی: اثر همزمان دو متغیر آویشن- کاکوتی بر تغییرات جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه های دوغ حاوی عصاره بعد از گذشت 24 ساعت

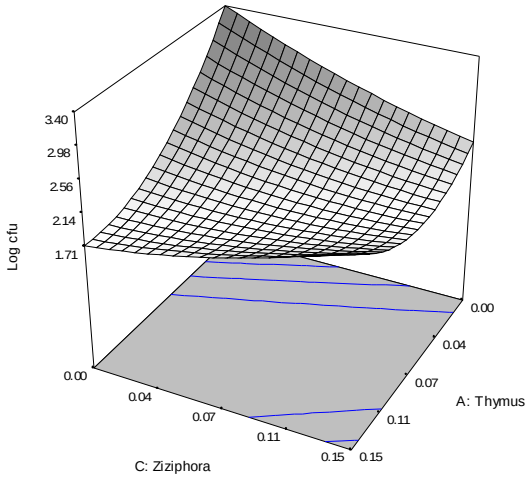
[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-16]



شکل 4 نمایش نمودار سه بعدی: اثر همزمان دو متغیر آویشن- نعناع بر تغییرات جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه های دوغ حاوی عصاره بعد از گذشت 7 روز



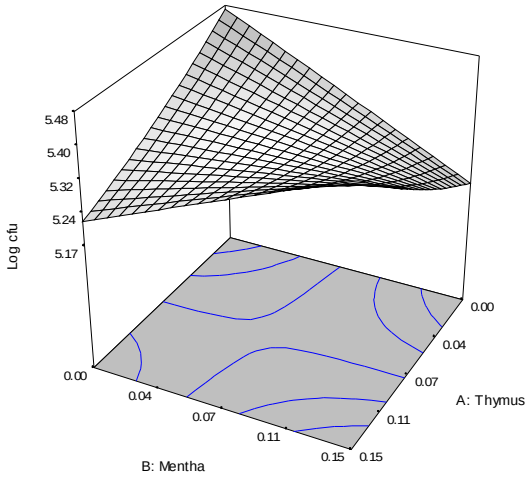
شکل 6 نمایش نمودار سه بعدی: اثر همزمان دو متغیر نعناع- کاکوتی بر تغییرات جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه‌های دوغ حاوی عصاره بعد از گذشت 7 روز



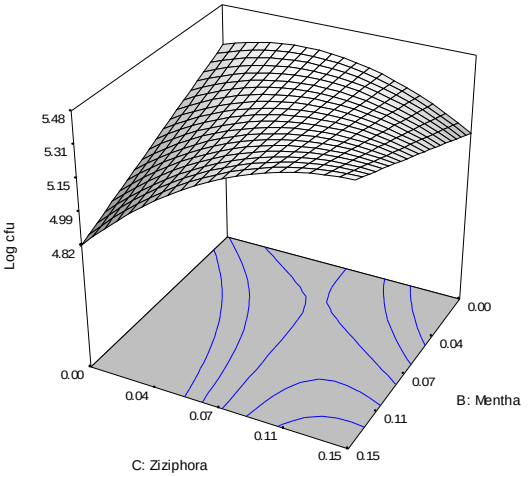
شکل 5 نمایش نمودار سه بعدی: اثر همزمان دو متغیر آویشن- کاکوتی بر تغییرات جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه‌های دوغ حاوی عصاره بعد از گذشت 7 روز

در شکل 4 نمودار سه بعدی اثر همزمان دو متغیر آویشن- نعناع، در شکل 5 نمودار اثر همزمان آویشن- کاکوتی و شکل 6 اثر همزمان نعناع- کاکوتی بر تغییرات جمعیت استافیلوکوکوس در نمونه های دوغ حاوی عصاره بعد از 7 روز نشان داده شده است. بر این اساس در شکل 4 قابل ملاحظه است که با افزایش غلظت عصاره نعناع، در غلظت های پایین عصاره آویشن جمعیت استافیلوکوکوس اورئوس به صورت نمایی کاهش می یابد اما با افزایش غلظت عصاره آویشن یک روند افزایشی پیدا می کند.

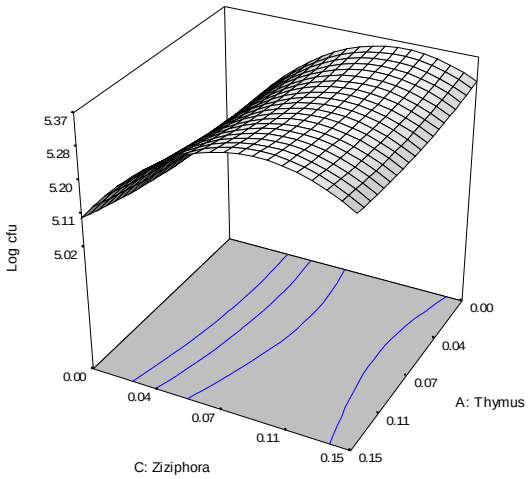
[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-16]



شکل7 نمایش نمودار سه بعدی: اثر همزمان دو متغیر آویشن- نعناع بر تغییرات جمعیت *ژئوتریکوم کاندیدوم* در نمونه های دوغ حاوی عصاره بعد از گذشت 24 ساعت



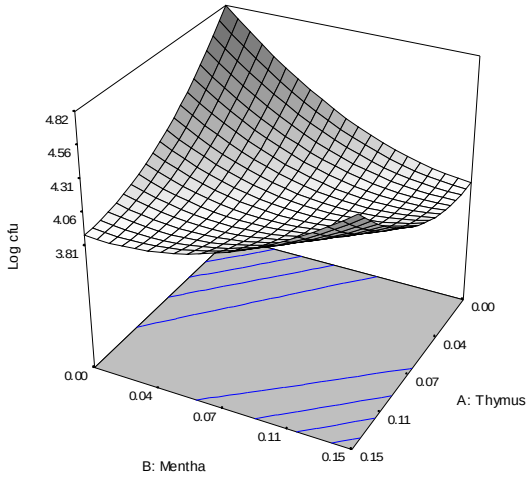
شکل 9 نمایش نمودار سه بعدی: اثر همزمان دو متغیر نعناع- کاکوتی بر تغییرات جمعیت *ژئوتریکوم کاندیدوم* در نمونه های دوغ حاوی عصاره بعد از گذشت 24 ساعت



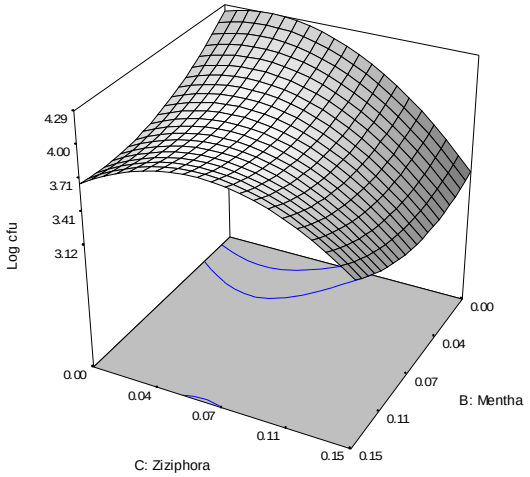
شکل 8 نمایش نمودار سه بعدی: اثر همزمان دو متغیر آویشن- کاکوتی بر تغییرات جمعیت *ژئوتریکوم کاندیدوم* در نمونه های دوغ حاوی عصاره بعد از گذشت 24 ساعت

در شکل 7 نمودار سه بعدی اثر همزمان دو متغیر آویشن- نعناع، در شکل 8 نمودار اثر همزمان آویشن- کاکوتی و شکل 39 اثر همزمان نعناع- کاکوتی بر تغییرات جمعیت ژئوتریکوم کاندیدوم در نمونه های دوغ حاوی عصاره بعد از 24 ساعت نشان داده شده است. بر این اساس در شکل 7 قابل ملاحظه است که با افزایش غلظت عصاره آویشن، در غلظت های پایین عصاره نعناع جمعیت ژئوتریکوم کاندیدوم به صورت خطی کاهش می یابد. همچنین، اثر همزمان نعناع- کاکوتی در شکل 9 نشان داده شده است. با توجه به شکل در پی افزودن عصاره نعناع در غلظت های پایین کاکوتی جمعیت *ژئوتریکوم کاندیدوم* به صورت خطی کاهش می یابد.

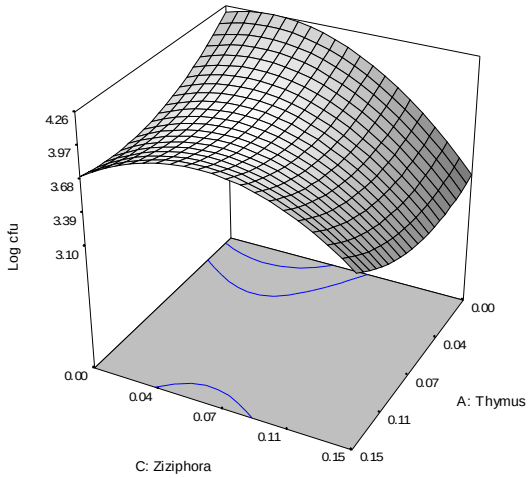
[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-16]



شکل10 نمایش نمودار سه بعدی: اثر همزمان دو متغیرآویشن- نعناع بر تغییرات جمعیت *ژئوتریکوم کاندیدوم* در نمونه های دوغ حاوی عصاره بعد از گذشت 7 روز



شکل 12 نمایش نمودار سه بعدی: اثر همزمان دو متغیرنعناع- کاکوتی بر تغییرات جمعیت *ژئوتریکوم کاندیدوم* در نمونه های دوغ حاوی عصاره بعد از گذشت 7 روز



شکل11 نمایش نمودار سه بعدی: اثر همزمان دو متغیرآویشن- کاکوتی بر تغییرات جمعیت *ژئوتریکوم کاندیدوم* در نمونه های دوغ حاوی عصاره بعد از گذشت 7 روز

در شکل 10 نمودار سه بعدی اثر همزمان دو متغیر آویشن- نعناع، در شکل 11 نمودار اثر همزمان آویشن- کاکوتی و شکل 12 اثر همزمان نعناع- کاکوتی بر تغییرات جمعیت ژئوتریکوم کاندیدوم در نمونه های دوغ حاوی عصاره بعد از 7 روز نشان داده شده است. بر این اساس در شکل10 قابل ملاحظه است که با افزایش غلظت عصاره نعناع، در غلظت های پایین عصاره آویشن جمعیت *ژئوتریکوم کاندیدوم* صورت نمایی کاهش می یابد اما با افزایش غلظت عصاره آویشن یک روند افزایشی پیدا می کند. همچنین، اثر همزمان آویشن- کاکوتی در شکل 11 نشان داده شده است. با توجه به شکل در پی افزودن عصاره آویشن در غلظت های پایین عصاره کاکوتی جمعیت *ژئوتریکوم کاندیدوم* به صورت نمایی پایین می رود، اما با فزایش غلظت کاکوتی یک روند ثابت پیدا می کند.

پس از بررسی نتایج اثر ضد میکروبی ترکیبات بازدارنده طبیعی در نمونه های دوغ مشخص گردید با گذشت زمان تاثیر عصاره های گیاهی بر کاهش جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* و *ژئوتریکوم کاندیدوم* افزایش می یابد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-16]

گودرزی و همکاران (1385) تاثیر عصاره های آبی و الکلی گیاه آویشن شیرازی را روی *اشرشیاکلی* انتروهموراژیک مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که عصاره آبی در هیچ کدام از غلظت های مورد آزمون بر سویه های استاندارد و بالینی موثر نبود در حالیکه در غلظت های معینی، عصاره الکلی دارای خواص ضد باکتری قابل توجهی بود و با افزایش غلظت، تاثیر مهاری آن افزایش می یافت [19].

شریفی فر و همکاران (2007) فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس روغنی و عصاره متانولی آویشن بومی را در آزمایشگاه مورد سنجش قرار دادند. نتایج این سنجش نشان می دهد که عصاره روغنی و عصاره متانولی آویشن دارای فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی هستند و بنابراین می‌تواند به عنوان افزودنی نگهدارنده طبیعی در مواد غذایی و یا صنایع دارویی به کار رود [20].

فاضلی و همکارانش (2007) فعالیت ضد میکروبی سماق ایرانی و آویشن شیرازی بر بعضی از باکتری های عامل فساد غذایی را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج این بررسی نشان می دهد هر دو ادویه معروف ایرانی که به طور سنتی به عنوان عامل قابض و طعم دهنده تند به کار می رود اثرات بازدارندگی بر باکتری عامل فساد غذایی نشان می دهند و می توانند به عنوان افزودنی طبیعی غذایی مورد توجه قرار گیرند [21].

موسوی و همکاران (2008)، اثر آویشن شیرازی و نایسین را بر سالمونلا تیفی موریوم و استافیلوکوکوس اورئوس در یک سیستم غذایی و بر غشاء سلولی باکتریایی مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق مشاهدات میکروسکوپی الکترونیکی آشکار می کند که غشاء سلولی سالمونلا تحت اعمال اسانس روغنی و ترکیب اسانس روغنی با نایسین به طور معنی دار آسیب دید. در حالی که وضعیت سلول های تحت اثر نایسین به تنهایی مشابه با وضعیت سلول هایی بود که هیچگونه اعمالی روی آنها انجام نگرفته بود [22].

4- نتیجه گیری

پس از بررسی نتایج اثر عصاره های طبیعی در نمونه های دوغ مشخص شد که عصاره های گیاهان تیره نعناع بر کاهش جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* در مقایسه با *ژئوتریکوم کاندیدوم* تأثیر بیشتری داشتند. فرمول بهینه عصاره ها برای کاهش باکتری پاتوژن *استافیلوکوکوس اورئوس* با غلظت عصاره آویشن (v/v)0/14%، عصاره نعناع (v/v)0/11% و عصاره کاکوتی (v/v) 0% می باشد. در این غلظت ها بیشترین میزان کاهش جمعیت *اشرشیاکلی* در 24 ساعت Log/ml 2/84 و در 7 روز Log/ml 1/63 می باشد. همچنین فرمول بهینه عصاره ها برای کاهش کپک ژئوتریکوم با غلظت عصاره آویشن (v/v) 0%، عصاره نعناع (v/v)0/15% و عصاره کاکوتی (v/v) 0% می باشد. در این غلظت ها بیشترین میزان کاهش جمعیت *اشرشیاکلی* در 24 ساعت Log/ml 4/66 و در 7 روز Log/ml 3/69 می باشد اثر خوب باکتری کشی عصاره ها را می توان به ترکیبات آروماتیک اگینول، کارواکرول و سینوموآلدهید مربوط دانست، این ترکیبات در طبیعت به صورت فنولیک هستند مطالعات بر روی مکانیسم فنولیک نشان داد که این ترکیبات بر روی غشاء سلولی تأثیر می گذارند و نفوذ پذیری را مختل می کنند، سپس منجر به اختلال فعالیت غشاء سلولی در پذیرش انتقال الکترونی، برداشت مواد مغذی، سنتز اسید نوکلئیک و ATPase می شوند. این نتیجه مشابه نتایج محققین دیگر می باشد [23-25.]

5- منابع

[1] Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., and Polissiou, M.2005.Alntimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of Salvia tomentosa miller (Lamiaceae). Food Chemistry. 90(1): 333-340.

[2] Singh, A., Singh, R.K., Bhunia, A.K. and Singh, N. 2003. Efficacy of plant essential oils as antimicrobial agents against Listeria monocytogenes in hotdogs. Lebensm wisss u.-Technol. 36(1):787-794.

[3] Settineri, R. A. and Krassner, S. M. 2003. Antimicrobial effects of plant-derived essential oil formulation on pathogenic bacteria. The Journal of The American Nutraceutical Association. 3(6): 27-32.

[4] Marino, M., Barsani, C. and Comi, G. 2001. Impedence measurments of study the antimicrobial activity of essential oil from lamiaceae and Compositae.International Journal of Food Microbiology. 67:187-195.

[5] Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Shahidi F, Mohebbi M, Hossein Zanganeh. 2014. Investigation of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of the Aqueous and

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-16]

Shaffiee, A., Javidnia, K. and Tabatabai, M .(1999). Volatile Constituents and Antimicrobial Activity of Zataria Multiflora, Population Iran.J.Chem & Chem.Eng. 18(1): 1-5.

[17] Smith-Palmer, A., Stewart, J.and Fufe, L. (1998). Antimicrobial Properties of Plant Essential oils and Essences Against Five Important Foodborne pathogens.Letters in Applied Microbiology. 26(2):112-118.

[18] Holley. R. A.and Patel, D. (2005). Improvement in Shelf-Life and Safety of Perishable Foods by Plant Essential Oils and Smoke Antimicrobials. Food Microbilogy. 22:273-292.

[19] Goudarzi M, Sattari M, Goudarzi GH, Bigdeli M. (2006). The effect of aqueous and alcoholic extracts of thyme herb on enterohemorrhagic Escherichia coli, Journal - Lorestan University of Medical Sciences. 8(3): 69-63.

[20] Sharififar, F ., Moshafi, M. H., Mansouri, S.H. Khodashenas, M., & Khoshnood, M., 2007, In Vitro Evaluation of Antibacterial and Antioxidant Activity of the Essential Oil and Methanol Extract of Endemic Zataria Multiflora Boiss, Food Control, 18(1): 800-805.

[21] Moosavi, M. H., Akhondzadeh Basti, A., Misaghi, A., Zahraei salehi, T., & Abbasifar, R., 2008, Effect of Zataria Multiflora Boiss Essential Oil and Nisin on Salmonella typhimurium and Staphylococcus aurous in a Food Model System and on The Bacterial Cell Membranes, Food Research International.41(1): 1050-1057.

[22] Fazeli, M. R., Armin, Gh., Ahmadian Attari, M. M., Ashtiani, H., Jamalifar, H., & Samadi, N.,2007, Antimicrobial Activites of Iranian Sumac and Avishane Shirazi Against Some Food Born Bacteria, Food Control. 18(1):646-649.

[23] Denyer, S.P., & Hugo, W. B. (1991). Biocide induced damage to the bacterial cytoplasmic membrane. In S.P. Denyer & W.B. Hugo, Mechanisms of action of chemical biocides; their study and exploitation (pp. 171-188). The Society for Applied Bacteriology, technical Series No 27. Oxford Blackwell Scientific Publication.

Ethanolic *Avicennia Marina* Extracts on Gram Positive and Gram Negative Bacteria "*in vitro*". Sadra Med Sci J. 2(2): 123-134.

[6] Alizadeh Behbahani B, Shahidi F, Tabatabaei Yazdi F, Mohebbi M. Antifungal effect of aqueous and ethanolic mangrove plant extract on pathogenic fungus "in vitro". Inter Agro Plant Produc 2013; 4(7): 1652-8.

[7] Burt, S. (2004) .Essential oils: Their Antibacterial Properties and Potentiona Applications in foods, a Review. Internationa Journal of food Microbiology. 94:223-253

[8] Marino, M., Barsani, C. and Comi, G. (2001).Impedence Measurments of Study the Antimicrobial Activity of Essential Oil from Lamiaceae and Compositae.International Journal of Food Microbiology. 67:187-195

[9] Negueruela, A. V. and Mata, R.M .(1986). The Volatile Oil of Ziziphora hispanica, L.Flavour and Fragnance Journal. 1(3): 111-113.

[10] Simonetti, G. (1991). The MacDonald E ncyclopedia of Herbs and Spices.Macdonald and Co. (Pub). Ltd. London, pp.255.

[11] Barnon, E.J., Fineg Old, S.M. (1990). Method fir Testing Antimicrobial Effectiveness. In: Diagnostic Microbiology, 8 th ed. The Mosby Company. pp, 172-184.

[12] Beatriz, H. Benrnal, Jario Calle, Elcy Q. Duarte, Roberto Pinzon, Mario Velasa/quez. (2005). Inulin from tubers of Dahlia imperialis Roetz Rev. Col. Cienc. Quim. Farm. 34(2): 122-125.

[13] Beuchat, L. R. (2001). Control of foodborne Pathogens and Spoilage Microoganisms by Naturally Occurring Antimicrobials. Microbial Food Contamination. CRC Press, London.

[14] Bullerman, L. B., Lieu, Y. and Seier, S. A. (1977). Inhibition of Growth and Aflatoxin Production by Cinnamon and Clove oils, Cinnamic Aldehyd and Eugenol.Journal of Food Science. 42(4): 1107-1116.

[15] Chachoyan, A. A. and Oganesyan, G. B. (1996). Antitumor Activity of Some Spices of The Family Lamiaceae.Rastitelnye Resursy. 32(4):59-64.

[16] Tranter, H. S., Tassou, C.C., & Nychas, G.J. (1993). The effect of the olive phenolic compounds, oleuropein, on growth and enterotoxin B production by Staphylococcus aureus. Journal of Applied Bacterialogy, 74, 253-260.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-16]

Investigation Effects of Lamiaceae plants (Thymus vulgaris L., Mentha spp. and Ziziphora tenuir L.) Inhibitory *Staphylococcus aureus and Geotrichum candidium* in Razavi Khorasan Province Industrial Doogh Samples with Response Surface Method (RSM)

Tabatabaie yazdi, F. [1*], Alizadeh Behbahani, B. [2], Mortazavi, S. A. [3]

1-Associate Prof, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi university of Mashhad
2-Ph.D. Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi university of Mashhad
3-Prof, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad
(Received: 93/2/23 Accepted: 93/7/8)

The aim of the study was to evaluate antimicrobial effect of extract of Lamiaceae plants (Thymus vulgaris L., Mentha spp. and Ziziphora tenuir L.) to prevent growth of pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus* , *Geotrichum candidium*) was studied industrial Doogh samples. For this purpose, three levels of concentration of extract that containing (0, 0.075, 0.15 v/v) was prepared. Survival or decrease in the bacterial population in 40 treatments (3 times repeated) in the samples of sterilized Doogh, which that contain a suspension of pure specific strains of *Staphylococcus* and *Geotrichum* in the during 24 hours and 14 days by measuring the kinetics of bacterial pathogens was investigated using response surface design. Analysis Results in the inhibition effects of natural antibiotic agent in the Doogh samples revealed that concentrations of thymus extract % 0.14 (v/v) , Mentha oil % 0.11 (v/v) and Ziziphora oil % 0(v/v) is the inoculation rate, which in most circumstances Reduction *Staphylococcus aureus* in 24 h 2.84Log/ml, 7 days in the 1.63 Log/ml

Keywords: Extract, Lamiaceae plants, *Staphylococcus aureus*, *Geotrichum candidium*, Industrial Doogh.

[*] Corresponding Author E-Mail Address: tabatabai@um.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-16]