بررسی اثر عصاره الکلی مفرا بر فعالیت آنتی اکسیدانی و خصوصیات میکروبی و حسی دوغ

علیرضا حاصلی[a]، رضوان پوراحمد[b]*، محمد رضا اسحاقی[c]، پیمان رجایی[c]، بهروز اکبری آدرگانی[d]

[a] دانشجوی دکتری تخصصی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین – پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.
[b] استاد گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین – پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.
[c] استادیار گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین – پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.
[d] استاد مرکز تحقیقاتی آزمایشگاهی غذا و دارو، آزمایشگاه های کنترل مرجع غذا و دارو، سازمان غذا و دارو، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۰۵/۱۴ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۰۵/۲۹
https://dorl.net/dor/20.1001.1.20080123.1402.20.2.8.8 DOI:10.30495/JFTN.2022.68863.11214

چکیده

مقدمه: دوغ به علت غنی بودن از مواد مغذی به خصوص در دمای محیط، مستعد آلودگی با بعضی از میکروارگانیسم‌ها می‌باشد که موجب تغییر طعم و عطر محصول و بادکردگی آن طی زمان نگهداری می‌شود. بنابراین استفاده از مواد ضد میکروبی طبیعی از جمله عصاره‌های گیاهی نظیر عصاره گیاه مفرا می‌تواند برای افزایش ماندگاری دوغ همگام با افزایش بازار پسندی آن، حائز اهمیت باشد. هدف از این تحقیق، بررسی اثر عصاره الکلی مفرا بر ویژگی‌های کیفی دوغ بود.

مواد و روش‌ها: ترکیبات عصاره مفرا با استفاده از دستگاه GC-MS شناسایی شدند. فعالیت آنتی اکسیدانی، خصوصیات فیزیکوشیمیایی (pH، اسیدیته و ویسکوزیته)، میکروبی (شمارش *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس*) و حسی (مزه، بو، بافت و پذیرش کلی) دوغ حاوی غلظت‌های مختلف عصاره مفرا (۱/۲۵، ۲/۵ و ۵ mg/ml) طی نگهداری مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) و آزمون دانکن انجام گردید.

یافته‌ها: تیمول (۵۳ ٪) بیشترین ترکیب شناسایی شده در عصاره مفرا بود. MIC (حداقل غلظت بازدارندگی) عصاره مفرا در برابر *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب ۲/۵ و ۱/۵ میلی‌گرم بر میلی لیتر بود. MBC (حداقل غلظت کشندگی) عصاره در برابر *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب ۵ و ۳ میلی‌گرم بر میلی لیتر بود. با افزودن عصاره گیاهی طی زمان نگهداری، میزان اسیدیته و ویسکوزیته نمونه‌ها افزایش و pH کاهش یافت ($p\leq$۰/۰۵). افزایش غلظت عصاره، موجب افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی دوغ گردید ($p\leq$۰/۰۵). نمونه حاوی ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی لیتر عصاره دارای بالاترین امتیاز پذیرش کلی بود، در نتیجه این نمونه به عنوان تیمار برتر انتخاب گردید.

نتیجه‌گیری: عصاره الکلی مفرا دارای فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی است و می‌تواند به عنوان نگهدارنده طبیعی در دوغ استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: *اثر ضد میکروبی، دوغ، خصوصیات فیزیکوشیمیایی، فعالیت آنتی اکسیدانی، مفرا.*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: rjpourahmad@yahoo.com, rezvanpourahmad@iauvaramin.ac.ir

مقدمه

مصرف فراورده‌های غذایی سالم و عملگرا در رژیم غذایی افراد رو به افزایش است. اخیراً تلاش‌هایی برای تولید محصولات عملگرا به دلیل ظرفیت این غذاها در فراهم آوردن مزیت‌های سلامتی خصوصاً در گروه خاصی از افراد، مانند افراد مسن افزایش یافته است. غذاهای عملگرا محصولات خوراکی غنی شده با ترکیبات و عوامل برتر با مزیت‌های سلامتی و حضور ترکیباتی از قبیل ویتامین‌ها، مواد معدنی و ترکیبات زیست فعال هستند (Delshadi *et al*., 2020). ترکیبات فنلی و پلی فنل گیاهی از جمله ترکیبات زیست فعالی هستند که در سبزیجات، میوه‌ها، سویا، غلات، چای، قهوه و عصاره‌های گیاهی یافت می‌شوند. عصاره‌های گیاهان دارویی منبع قوی از فعالیت آنتی اکسیدانی در محیط آزمایشگاهی هستند. فعالیت آنتی اکسیدانی به دلیل حضور ترکیبات فنلی موجود در گیاه است (Khaled *et al*., 2014). گیاهان دارویی از دوران باستان نه تنها به عنوان دارو و عوامل طعم دهنده بلکه به عنوان نگهدارنده به مواد غذایی اضافه می‌شدند (Ghaleh Mosiyani *et al*., 2018). ترکیبات آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی از جمله مهم ترین افزودنی‌های غذایی می‌باشند که نقش مهمی در طولانی شدن عمر نگهداری مواد غذایی دارند. ترکیبات موثر عصاره‌های گیاهان یکی از منابع با ارزش برای تولید افزودنی‌های طبیعی هستند (Azimi Mahalleh *et al*., 2020). شیر و فراورده‌های آن دارای نقش بزرگی در تغذیه و سلامت انسان در تمام مراحل زندگی هستند. دوغ از نوشیدنی‌های سنتی ایران است و این فراورده تخمیری، پس از ایران در آمریکا و سایر کشورهای خاورمیانه و آسیا مرکزی به مصرف می‌رسد. دوغ از مخلوط کردن ماست، آب، نمک و دیگر افزودنی‌ها از جمله عصاره و پودر گیاهان طبیعی تهیه می‌شود. این محصول، نوشیدنی سالم و مفیدی است که تامین کننده یک چهارم نیاز روزانه به کلسیم و حاوی ویتامین‌های B2، B6 و B12 است (Ghaleh Mosiyani *et al*., 2018). از معایب عمده دوغ که سبب کاهش زمان ماندگاری و بازارپسندی آن می‌گردد، تغییر طعم و بو و بادکردگی محصول در طول زمان نگهداری در اثر فعالیت میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. عمده ترین عوامل فساد دوغ شامل کپک‌ها و مخمرها هستند که بهتر می‌توانند در دوغ رشد کرده و در آن تولید گاز نمایند و موجب طعم نامطلوب دوغ شوند (Dinpajhooh *et al*., 2019). با توجه به آثار جانبی استفاده از نگهدارنده‌های سنتزی و به منظور کاهش مخاطرات سلامتی و هزینه‌های اقتصادی، استفاده از مواد طبیعی نظیر عصاره‌های گیاهی که دارای ترکیبات ضد باکتریایی برای کنترل عوامل بیماری زا و اثرات ضد قارچی و آنتی اکسیدانی هستند به منظور افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی بسیار مورد توجه هستند (Qussalah *et al*., 2005). مفرا، مفرح یا پونه سای مواج با نام علمی *Nepeta crispa* Willd است. جنس Nepeta متعلق به خانواده *Lamiaceae*، زیرخانواده *Nepetoideae* دسته *Mentheae* می‌باشد. جنس Nepeta شامل ۳۰۰ گونه است که در آفریقا، جنوب و مرکز آسیا و اروپا پخش شده است. این جنس، گل‌های زیبا و بوی مطبوع دارد (Sonboli *et al*., 2004). این گیاه در غرب ایران، نواحی کوهستان الوند در استان همدان رشد می‌کند. بر طبق گزارشات، ۶۹ گونه از این جنس در ایران رشد می‌کنند. گونه *N.Crispa* به عنوان آرام بخش، مقوی معده، ضد نفخ و ضد عفونی کننده در رفع اختلالات تنفسی و گوارشی مورد استفاده قرار می‌گیرد. به دلیل خواص دارویی و همچنین بوی معطر به عنوان طعم دهنده در غذاها و نوشیدنی‌ها و به خصوص در ماست و دوغ استفاده می‌شود. گونه های جنس Nepeta عموماً به واسطه دو ترکیب ۱، ۸-سینئول و مشتقات نپتالاکتونی شناخته می‌شوند. به طوری که در برخی از گونه‌ها مانند *Nepeta cataria* و *N. Caesarea*، *N. racemos* و *N. argolica* مشتقات نپتالاکتونی، ترکیبات عمده اسانس را تشکیل می‌دهند و در برخی از گونه‌های دیگر مانند *Nepeta menthoides*، *N.italica*، *N. hormozganica* ترکیب ۱، ۸-سینئول ترکیب عمده اسانس این گونه‌ها است. علاوه بر دو دسته ترکیبات عمده از دسته مونوترپنی مانند β-Pinene و (Z)-β-Ocimene و همچنین سسکوئی ترپن‌هایی مانند β-Caryophyllene و Caryophyllene oxide و Farnesene (E)-β- نیز در گونه‌های مختلف این جنس یافت شده است که نسبت به گروه‌های قبلی از میزان کمتری برخوردار است. ۱، ۸-سینئول اصلی ترین ترکیب در گونه *Nepeta crispa* است، اما مشتقات نپتالاکتونی نیز از فراوانی قابل قبولی در

این گونه برخوردار هستند (Salehi *et al*., 2012).

در مورد اثر عصاره‌های گیاهی بر پایداری دوغ مطالعات مختلفی انجام شده است که به اختصار به چند مورد اشاره می‌شود. Tavakoli (۲۰۱۷) تاثیر کاربرد عصاره آبی گیاه شکر تیغال در غلظت‌های مختلف (۰/۲۵ و ۰/۵ و ۰/۷۵ و ۱ درصد حجمی/حجمی) بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، حسی و میکروبی دوغ را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهش حاکی از آن بود که استفاده از عصاره آبی گیاه شکر تیغال تا غلظت ۱ درصد تاثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نمونه دوغ، اسیدیته، و pH نداشت. اما ویژگی‌های حسی را تحت تاثیر قرار داد. همچنین بررسی تاثیر عصاره آبی گیاه بر ویژگی‌های میکروبی حاکی از کاهش معنی‌دار کلی فرم و کپک و مخمر با افزایش غلظت تا ۰/۷۵ درصد بود، اما تاثیر افزایش غلظت تا ۱ درصد بر ویژگی‌های میکروبی معنی‌دار گزارش نشد. Dinpajhooh و همکاران (۲۰۱۹) تولید دوغ گرمادیده با استفاده از عصاره‌های شوید (۰/۰۵، ۰/۰۷۵ و ۰/۱ درصد) و سیر (۰/۰۴، ۰/۰۶ و ۰/۰۸ درصد) به صورت ترکیبی و به عنوان نگهدارنده طبیعی مورد بررسی قرار دادند. بر اساس نتایج حاصله افزایش سطح عصاره‌ها به طور معنی‌داری شمارش کلی باکتریایی و شمارش کپک و مخمر را در محصول کاهش داد، همچنین نتایج نشان داد با افزایش زمان نگهداری نمونه‌های دوغ به طور معنی‌داری میزان pH کاهش و میزان اسیدیته افزایش یافت اما میزان این تغییرات در تیمارهای حاوی غلظت‌های مختلف عصاره‌های سیر و شوید در مقایسه با شاهد از شدت کمتری برخوردار بود. همچنین افزایش سطح عصاره‌ها در تیمارها، امتیاز اغلب ویژگی‌های حسی (طعم، بو، احساس دهانی و پذیرش کلی) را افزایش داد. با توجه به نتایج کسب شده، نمونه دوغ حاوی ترکیب ۰/۱ درصد عصاره شوید و ۰/۰۸ درصد عصاره سیر به‌عنوان تیمار برتر معرفی گردید. Hamed و همکاران (۲۰۲۱) فعالیت آنتی‌اکسیدانی و خصوصیات کیفی ماست غنی شده با پودر عصاره پوست بادام زمینی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل نشان داد، غنی سازی ماست با پودر عصاره پوست بادام زمینی، ویسکوزیته ظاهری، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل، استالدئید و دی استیل را در مقایسه با شاهد افزایش می‌دهد، درحالیکه، سینرزیس کاهش می‌یابد. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر عصاره الکلی مفرا بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی دوغ بود.

مواد و روش‌ها

- مواد مصرفی

برگ گیاه مفرا از فروشگاه گیاهان دارویی در شهر همدان تهیه گردید. سپس در هرباریوم پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی بررسی و شناسایی شد. هیدروکسید سدیم، فنل فتالئین، متانول، DPPH و محیط کشت‌های مورد استفاده در این مطالعه از (Merck، آلمان)، همزن مغناطیستی (IKA, Germany)، دستگاه GC-MS (Agilent6890، آمریکا)، آون (Metrohm، سوئیس)، روتاری (Laborota، آلمان) و ویسکومتر (Brookfiled، آمریکا) مورد استفاده قرار گرفت.

- تهیه عصاره

ابتدا برگ گیاه مفرا، در سایه خشک شد، سپس با استفاده از یک هاون آزمایشگاهی به خوبی پودر گردید و با استفاده از یک الک با مش ۴۰ میلی‌متر عبور داده شد. پودر گیاه مفرا با نسبت ۴۰:۱ با حلال متانول ۸۰ درصد مخلوط، و با استفاده از یک همزن مغناطیسی (IKA, Germany) به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط به خوبی مخلوط شد. عصاره حاصل پس از صاف شدن با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ توسط دستگاه روتاری اواپراتور با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ و با دستگاه خشک کن تحت خلاء خشک گردید (Rafeii *et al*., 2012).

- شناسایی ترکیبات عصاره گیاه مفرا با دستگاه GC-MS

شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده عصاره با استفاده از دستگاه GC-MS (از نوع Agilent6890 با ستون مویینه به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS با برنامه دمایی ستون در ابتدا به صورت ۷۰ درجه سانتی‌گراد با توقف ۲ دقیقه در این دما سپس افزایش دما تا ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه و افزایش دمای ستون تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه) انجام شد (Rezaiyan Gharagozlu *et al*., 2018).

- تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC)

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی در پلیت ۹۶ خانه‌ای استریل با روش میکرودایلوشن انجام شد. ابتدا از محیط کشت استریل مولر هینتون براث به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به هر کدام از چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه ای ریخته شد. بعد به اولین چاهک هر ردیف مقدار ۱۰۰ میکرولیتر عصاره اضافه گردید. سپس از خانه اول به خانه دوم و از خانه دوم به خانه سوم به همین ترتیب تا خانه نهم ۱۰۰ میکرولیتر منتقل شد و کار رقیق سازی صورت گرفت. در مرحله بعد، از کشت ۲۴ ساعته باکتری *اشریشیا کلی* PTCC1330 و *استافیلوکوکوس اورئوس* PTCC1112 به صورت مجزا با کدورت نیم مک فارلند تهیه و در تمامی چاهک‌ها به غیر از چاهک‌های ۱۱ و ۱۲ مقدار ۱۰۰ میکرولیتر ریخته و سپس از معرف رزازورین به مقدار ۳۰ میکرولیتر به تمامی چاهک‌ها اضافه و پلیت‌ها گرمخانه گذاری شدند. سنجش میزان حداقل غلظت کشندگی عصاره با توجه به نتایج MIC تعیین گردید. میزان ۵ میکرولیتر از چاهک‌هایی که رشد باکتری در آن ها کاملا متوقف شده بود، به پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شدند. پس از ۲۴ ساعت کمترین غلظتی از عصاره که باکتری در آن رشد نکرده بود به عنوان حداقل غلظت کشندگی عصاره لحاظ شد (Bakhshi *et al*., 2017).

- روش تهیه دوغ

جهت تولید دوغ، شیر ۱/۵ ٪ چربی در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه پاستوریزه شد، سپس تا دمای ۴۳ درجه سانتی‌گراد سرد گردید. در این دما استارتر ماست (*استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیر گونه *بولگاریکوس*) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده به دوغ اضافه گردید. گرمخانه‌گذاری در دمای ۴۳ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به اسیدیته ۱۲۰ درجه دورنیک صورت گرفت. سپس به ماست تولید شده به مقدار ۵۰ درصد آب و ۰/۷ درصد نمک اضافه شد. باید متذکر شد که ظروف پیرکس آلمانی با گنجایش ۱۰۰ میلی لیتر برای بسته بندی استفاده گردید. در مرحله بعد در دمای ۷۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه پاستوریزه و در فشار ۱۲۰–۱۷۰ بار هموژنیزه شد. سپس تا دمای ۱۳ درجه سانتی‌گراد سرد گردید (ISIRI, 2852/2006). *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* هر یک با تراکم 10^5 cfu/ml اضافه شدند. سپس غلظت‌های مختلف عصاره (۱/۲۵، ۱/۵ و ۵) به دوغ اضافه شد. نمونه شاهد بدون افزودن عصاره در نظر گرفته شد. نمونه‌ها به مدت ۲ ماه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. ویژگی‌های میکروبی (شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی*) نمونه‌ها طی زمان نگهداری بررسی شد. همچنین ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی نمونه‌های ماست فاقد میکروب‌های تلقیحی *(استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی)* طی نگهداری مورد بررسی قرارگرفت.

- آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

pH و اسیدیته بر اساس استاندارد ملی ایران، به شماره ۲۸۵۲ (ISIRI, 2852/2006) اندازه گیری شدند. آزمون ویسکوزیته بر اساس روش Razzaghi و همکاران (۲۰۱۹) با استفاده از دستگاه ویسکومتر بروکفیلد سری RV مدل DV2T و اسپندل RV-2 با سرعت ۲۰۰ RPM انجام شد.

- فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس مهار رادیکال آزاد DPPH

برای سنجش فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH، یک میلی‌لیتراز یک محلول متانولی یک میلی مولار، با ۳ میلی لیتر از محلول عصاره در متانول مخلوط شد وسپس مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در جای تاریک نگهداری گردید. در نهایت جذب محلول حاصل در طول موج ۵۱۷ نانومتر و با استفاده از دستگاه UV-VIS قرائت شد. نمونه شاهد نیز در شرایطی مشابه و یکسان تهیه گردید، با این تفاوت که در آن به جای نمونه از آب مقطر استفاده شد و در نهایت جذب آن نیز در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد (Rafeii *et al*., 2012). IC_{50} (غلظتی از نمونه که برای به دام اندازی ۵۰ درصد رادیکال های آزاد DPPH مورد نیازاست) از روی منحنی کالیبراسیون از طریق رگرسیون خطی محاسبه و گزارش گردید.

- آزمون میکروبی

- شمارش استافیلوکوکوس اورئوس

برای شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* از محیط کشت

برد پارکرآگار استفاده شد. گرمخانه‌گذاری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت (ISIRI, 6806-3/2005).

- **شمارش اشریشیاکلی**

برای شمارش *اشریشیا کلی* محیط کشت مک کانگی آگار استفاده شد. گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت صورت گرفت (ISIRI, 5234/2015).

- **ارزیابی حسی**

ویژگی‌های حسی نمونه شامل مزه، بافت، بو، و پذیرش کلی در چارچوب آزمون امتیازدهی انجام گردید. در فرم ارزیابی، ۵ سطح (عالی، خوب، متوسط، ضعیف و خیلی ضعیف) در نظر گرفته شد. نمونه‌ها توسط ۳۰ ارزیاب حسی مورد بررسی قرار گرفتند (Karamooz *et al*., 2016).

- **تجزیه و تحلیل آماری**

نتایج به دست آمده در آزمایش‌ها برای داده‌های تجربی (آزمایشی) به صورت میانگین ± انحراف معیار در سه بار تکرار بیان شدند. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) انجام گردید. مقایسه و تفاوت‌های معنی‌دار آماری بین مقادیر میانگین‌ها با استفاده از آزمون تعقیبی چند دامنه‌ای دانکن تعیین شدند. نرم افزار SPSS نسخه ۲۶ مورد استفاده قرار گرفت. سطح معنی‌داری ۰/۰۵ $\geq p$ برای مقایسه داده‌ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

- **شناسایی ترکیبات عصاره گیاه مفرا با دستگاه GC-MS**

ترکیبات شناسایی شده در عصاره مفرا در جدول ۱ آورده شده است. ترکیبات موجود در عصاره مفرا، شامل تیمول ۵۳ درصد، کارواکرول ۹/۲ درصد، کامفین ۳/۸ درصد، تریپلال ۳/۷ درصد، اسپاتولینول[1] ۳/۳ درصد، سیس–آلفا بیسابولن ۳/۱ درصد، دلتا کادین ۳/۱ درصد، بتا–پینن ۲/۳ درصد، ترانس –کربوفیلن ۲/۲، دودسانول ۲/۱ درصد، آلفا–میرسین ۲ درصد، آلفا–تریپنین ۱/۵ درصد، ۱، ۸–سینول ۱/۲ درصد و سابینن[2] ۰/۹ درصد بود.

جدول ۱- ترکیبات عصاره متانولی مفرا شناسایی شده با GC-MS

Table 1. Compositions of metanolic extract of *Nepeta crispa* identified with GC-MS

Compound No.	Compound Name	Frequency (%) In sample
1	Alfa-Pinene	1.3
2	Sabinene	0.9
3	Beta-Pinene	2.3
4	Comphene	3.8
5	Alfa-Mirecene	2.0
6	Alfa-Tripnine	1.5
7	Cyclohexane	2.1
8	1,8-Cineol	1.2
9	Triplal	3.7
10	Carvacrol	9.2
11	Thymol	53.0
12	11-dodecanol	2.1
13	Spathulenol	3.3
14	Trans-Carbuphylene	2.2
15	Delta Cadinene	3.1
16	Spathulenol	3.0
17	Cis-Alfa Bizabulene	3.1
Total (%)		**97.8**

- **تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC)**

حداقل غلظت بازدارندگی عصاره مفرا در برابر *اشریشیا کلی* ۲/۵ mg/ml و در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* ۱/۵ mg/ml و میزان حداقل غلظت کشندگی عصاره در برابر *اشریشیا کلی* ۵ و در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* ۳ mg/ml تعیین شد.

- **بررسی اثر افزودن عصاره مفرا بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی دوغ**

نتایج بررسی اسیدیته در تیمارهای مختلف، حاکی از آن بود که در روز اول بین هیچ کدام از تیمارها اختلاف معنی دار وجود نداشت ($p>0/05$) پس از ۲۰ روز نگهداری نمونه شاهد نسبت به تیمارهای حاوی ۲/۵mg/ml و ۵ عصاره بطور معنی‌داری اسیدیته کمتری داشت ($p\leq0/05$) ولی با نمونه حاوی ۱/۲۵ mg/ml عصاره تفاوت معنی‌داری نداشت ($p>0/05$) در روز ۴۰ ام نگهداری بین شاهد و نمونه حاوی ۵ mg/ml عصاره تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ($p\leq0/05$) در حالیکه با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار نداشت ($p>0/05$). در روز ۶۰ ام نگهداری نمونه شاهد بطور معنی داری ($p\leq0/05$) اسیدیته کمتری را نسبت به تیمارهای حاوی عصاره مفرا داشت و بین تیمارهای حاوی عصاره تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p>0/05$). همچنین

در طی زمان نگهداری میزان اسیدیته همه نمونه‌ها از روز اول تا ۴۰ ام بطور معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۵) افزایش یافت در حالیکه بین روزهای ۴۰ و ۶۰ ام اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ($p>$۰/۰۵) (جدول ۲).

نتایج بررسی pH در تیمارهای مختلف، حاکی از آن بود که در روز اول بین هیچ کدام از تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود نداشت ($p>$۰/۰۵) پس از ۲۰ روز نگهداری نمونه حاوی ۵mg/ml عصاره بطور معنی‌داری pH کمتری داشت ($p\leq$۰/۰۵) در حالیکه بین سایر نمونه ها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($p>$۰/۰۵). در روزهای ۴۰ و ۶۰ ام نگهداری، pH نمونه شاهد بطور معنی داری($p\leq$۰/۰۵) بالاتر از سایر نمونه‌ها بود و کمترین pH متعلق به نمونه حاوی ۵ mg/ml عصاره بود و بین نمونه‌های حاوی ۲/۵mg/ml و ۱/۲۵ اختلاف معنی‌دار وجود نداشت ($p>$۰/۰۵). همچنین در طی زمان نگهداری میزان pH همه نمونه‌ها از روز اول تا ۲۰ ام بطور معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۵) کاهش یافت و بین روزهای ۲۰ و ۴۰ ام اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ($p>$۰/۰۵) در حالیکه روند کاهش معنی‌دار در روز ۶۰ ام نگهداری بطور معنی‌دار وجود داشت ($p\leq$۰/۰۵) (جدول ۳).

نتایج بررسی ویسکوزیته در تیمارهای مختلف، حاکی از آن بود که در روز اول نگهداری بین هیچ کدام از تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود نداشت ($p>$۰/۰۵). در روزهای ۴۰،۲۰ و ۶۰ ام نگهداری با افزایش عصاره مفرا، ویسکوزیته تیمارها به نسبت شاهد افزایش معنی‌دار داشتند ($p\leq$۰/۰۵) در حالیکه در روز ۲۰ ام و ۴۰ ام بین نمونه‌های حاوی ۲/۵mg/ml و ۵ عصاره اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ($p>$۰/۰۵) ولی در روز ۶۰ ام نگهداری بین تمامی تیمارها اختلاف معنی دار ($p\leq$۰/۰۵) وجود داشت. همچنین روند کاهشی معنی‌دار در میزان ویسکوزیته تمام تیمارها طی ۶۰ روز زمان نگهداری گزارش شد ($p\leq$۰/۰۵) (جدول ۴).

- بررسی اثر افزودن عصاره مفرا بر فعالیت آنتی اکسیدانی دوغ

نتایج بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تیمارهای مختلف نشان داد، افزودن عصاره مفرا، سبب کاهش معنی‌دار IC_{50} شد ($p<$۰/۰۵). از آنجاییکه IC_{50} نسبت معکوسی با فعالیت آنتی رادیکالی عصاره دارد. بدیهی است که هرچه عدد IC_{50} کوچک‌تر باشد قدرت آنتی‌اکسیدانی یا مهار رادیکال‌های آزاد بیشتر می‌باشد. بیشترین فعالیت

جدول ۲- مقدار اسیدیته (درصد بر حسب اسید لاکتیک) نمونه‌های دوغ در طول زمان نگهداری*(میانگین ± انحراف معیار)

Table 2- The amount of acidity (percentage in terms of lactic acid) of dough samples during the storage time* (mean ± standard deviation)

Treatment	Day 1	Day 20	Day 40	Day 60
C	0.454±0.006^{AC}	0.526±0.003^{Bb}	0.578±0.003^{Ba}	0.573±0.003^{Ba}
EF1	0.454±0.006^{AC}	0.529±0.003^{ABb}	0.580±0.003^{Ba}	0.584±0.003^{Aa}
EF2	0.452±0.003^{AC}	0.535±0.003^{Ab}	0.584±0.003^{ABa}	0.584±0.003^{Aa}
EF3	0.454±0.006^{AC}	0.535±0.003^{Ab}	0.590±0.003^{Aa}	0.586±0.003^{Aa}

* different lowercase letters indicate a significant difference in the row ($p < 0.05$), unlike uppercase letters indicate a significant difference in the column ($p < 0.05$).
C: control, EF1: containing 1.25 mg/ml of extract, EF2: containing 2.5 mg/ml of extract, EF3: containing 5 mg/ml of extract

جدول ۳- مقدار pH نمونه‌های دوغ در طول زمان نگهداری*(میانگین ± انحراف معیار)

Table 3- pH value of dough samples during the storage time* (mean ± standard deviation)

Treatment	Day 1	Day 20	Day 40	Day 60
C	3.99±0.01^{Aa}	3.82±0.00^{Ab}	3.83±0.00^{Ab}	3.80±0.00^{Ac}
EF1	3.99±0.01^{Aa}	3.81±0.00^{Ab}	3.82±0.00^{Bb}	3.79±0.00^{Bc}
EF2	3.99±0.01^{Aa}	3.81±0.00^{Ab}	3.81±0.00^{Bb}	3.78±0.00^{Bc}
EF3	4.00±0.01^{Aa}	3.79±0.00^{Bb}	3.80±0.00^{Cb}	3.77±0.00^{Cc}

* different lowercase letters indicate a significant difference in the row ($p < 0.05$), unlike uppercase letters indicate a significant difference in the column ($p < 0.05$).
C: control, EF1: containing 1.25 mg/ml of extract, EF2: containing 2.5 mg/ml of extract, EF3: containing 5 mg/ml of extract

آنتی‌اکسیدانی در تمامی روزهای مورد بررسی در نمونه دوغ حاوی ۵mg/ml عصاره مفرا و کمترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نمونه شاهد مشاهده شد ($p\leq$۰/۰۵). همچنین با افزایش زمان نگهداری در تمامی تیمارها IC_{50} بطور معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۵) افزایش یافت که نشان دهنده کاهش قدرت آنتی اکسیدانی در طی زمان می‌باشد (جدول ۵).

- بررسی اثر عصاره مفرا بر ویژگی‌های میکروبی دوغ

بر اساس جدول ۶، بالاترین تعداد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در تمامی روزهای آزمایش متعلق به نمونه شاهد بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت ($p\leq$۰/۰۵). در روز اول نگهداری بین تعداد باکتری *استافیلوکوکوس* اورئوس نمونه‌های حاوی ۱/۲۵ mg/ml و ۲/۵ اختلاف معنی‌دار وجود نداشت ($p>$۰/۰۵) همچنین بین تعداد باکتری *استافیلوکوکوس* اورئوس نمونه‌های حاوی ۲/۵ mg/ml و ۵ نیز اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید ($p>$۰/۰۵). در حالیکه در روزهای ۲۰،۴۰ و ۶۰ ام نگهداری با افزایش عصاره مفرا، تعداد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بطور معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۵) کاهش یافت. تعداد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه‌های شاهد و تیمارهای حاوی ۱/۲۵mg/ml و ۲/۵ عصاره مفرا، از روز اول تا ۲۰ ام نگهداری بطور معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۵) افزایش یافت در حالیکه از روز ۲۰ ام تا ۶۰ ام نگهداری روند کاهش معنی دار($p\leq$۰/۰۵) مشاهده گردید. در نمونه حاوی ۵mg/ml عصاره مفرا نیز این روند افزایشی بطور معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۵) بین روزهای اول و ۲۰ ام نگهداری وجود داشت اما بین روزهای ۲۰ و ۴۰ ام اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ($p>$۰/۰۵) در حالیکه روند کاهشی در این نمونه نیز بطور معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۵) بین روزهای ۴۰ و ۶۰ ام نگهداری وجود داشت.

بر اساس جدول ۷، بالاترین تعداد باکتری *اشریشیا کلی* در تمامی روزهای آزمایش متعلق به نمونه شاهد بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت ($p\leq$۰/۰۵). در روز اول نگهداری بین تعداد باکتری *اشریشیا کلی* نمونه‌های حاوی ۱/۲۵ mg/ml و ۲/۵ اختلاف معنی‌دار وجود نداشت ($p>$۰/۰۵) همچنین بین تعداد باکتری *اشریشیاکلی* نمونه‌های حاوی ۲/۵ mg/ml و ۵ نیز اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید ($p>$۰/۰۵). در حالیکه در روزهای ۲۰، ۴۰ و ۶۰ ام نگهداری با افزایش عصاره مفرا، تعداد باکتری *اشریشیا کلی* بطور معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۵) کاهش یافت. تعداد باکتری *اشریشیا کلی* در نمونه های شاهد و تیمارهای حاوی ۲/۵mg/ml و ۵ عصاره مفرا، از روز اول تا ۲۰ ام نگهداری بطور معنی داری ($p\leq$۰/۰۵) افزایش یافت در حالیکه از روز ۲۰ ام تا ۶۰ ام نگهداری روند کاهش معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۵) مشاهده گردید. در نمونه حاوی ۱/۲۵mg/ml عصاره مفرا نیز این روند افزایشی بطور معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۵) بین روزهای اول و ۲۰ ام نگهداری وجود داشت اما بین روزهای ۲۰ و ۴۰ ام اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ($p>$۰/۰۵) در حالیکه روند کاهشی در این نمونه نیز بطور معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۵) بین روزهای ۴۰ و ۶۰ ام نگهداری وجود داشت.

- بررسی اثر عصاره مفرا بر ویژگی‌های حسی دوغ

نتایج بررسی ارزیابی حسی مزه در تیمارهای مختلف، حاکی از آن بود که در روزهای اول، ۲۰ ام و ۴۰ ام نگهداری بین هیچ کدام از تیمارها اختلاف معنی دار وجود نداشت ($p>$۰/۰۵). پس از ۶۰ روز نگهداری با

جدول ٤- مقدار ویسکوزیته (cp) نمونه‌های دوغ در طول زمان نگهداری*(میانگین ± انحراف معیار)

Table 4-Viscosity value (cp) of dough samples during storage* (mean± standard deviation)

Treatment	Day 1	Day 20	Day 40	Day 60
C	125.66±1.52^{Aa}	106.33±1.15^{Cb}	84.66±0.06^{Cc}	70.00±1.00^{Dd}
EF1	127.00±1.00^{Aa}	109.33±0.57^{Bb}	92.00±0.06^{Bc}	82.00±1.00^{Cd}
EF2	127.33±2.08^{Aa}	111.33±0.57^{Ab}	94.00±0.06^{ABc}	84.00±1.00^{Bd}
EF3	128.33±1.52^{Aa}	112.00±1.00^{Ab}	96.33±0.06^{Ac}	87.33±0.57^{Ad}

* different lowercase letters indicate a significant difference in the row ($p < 0.05$), unlike uppercase letters indicate a significant difference in the column ($p < 0.05$).

C: control, EF1: containing 1.25 mg/ml of extract, EF2: containing 2.5 mg/ml of extract, EF3: containing 5 mg/ml of extract

جدول ۵- IC_{50} نمونه‌های دوغ در طول زمان نگهداری*(میانگین ± انحراف معیار)

Table 5- IC_{50} of dough samples during storage* (mean ±standard deviation)

Treatment	Day 1	Day 20	Day 40	Day 60
C	14.76±0.28 ^{Ad}	25.82±0.28 ^{Ac}	36.94±0.55 ^{Ab}	45.00±0.90 ^{Aa}
EF1	13.85±0.12 ^{Bd}	23.07±0.30 ^{Bc}	33.91±0.46 ^{Bb}	40.00±1.39 ^{Ba}
EF2	11.34±0.16 ^{Cd}	19.44±0.21 ^{Cc}	27.81±0.31 ^{Cb}	31.64±0.85 ^{Ca}
EF3	9.04±0.15 ^{Dd}	14.06±0.11 ^{Dc}	20.29±0.33 ^{Db}	21.33±0.00 ^{Da}

* different lowercase letters indicate a significant difference in the row ($p < 0.05$), unlike uppercase letters indicate a significant difference in the column ($p < 0.05$).
C: control, EF1: containing 1.25 mg/ml of extract, EF2: containing 2.5 mg/ml of extract, EF3: containing 5 mg/ml of extract

جدول ٦- تعداد *استافیلوکوکوس اورئوس* (log cfu/ml) نمونه‌های دوغ در طول زمان نگهداری*(میانگین ± انحراف معیار)

Table 6- The number of *Staphylococcus aureus* (log cfu/ml) of doogh samples during the storage time* (mean ±standard deviation)

Treatment	Day 1	Day 20	Day 40	Day 60
C	5.34±0.00 ^{Ad}	6.10±0.01 ^{Aa}	6.06±0.00 ^{Ab}	5.77±0.02 ^{Ac}
EF1	5.33±0.00 ^{Bd}	6.04±0.01 ^{Ba}	5.97±0.01 ^{Bb}	5.56±0.02 ^{Bc}
EF2	5.32±0.00 ^{BCd}	6.00±0.01 ^{Ca}	5.92±0.01 ^{Cb}	5.39±0.00 ^{Cc}
EF3	5.31±0.00 ^{Cb}	5.78±0.02 ^{Da}	5.80±0.04 ^{Db}	5.30±0.00 ^{Db}

* different lowercase letters indicate a significant difference in the row ($p < 0.05$), unlike uppercase letters indicate a significant difference in the column ($p < 0.05$).
C: control, EF1: containing 1.25 mg/ml of extract, EF2: containing 2.5 mg/ml of extract, EF3: containing 5 mg/ml of extract

جدول ۷- تعداد باکتری *اشریشیا کلی* (log cfu/ml) نمونه‌های دوغ در طول زمان نگهداری*(میانگین ± انحراف معیار)

Table 7- Number of *Escherichia coli* bacteria (log cfu/ml) of dough samples during the storage time* (mean± standard deviation)

Treatment	Day 1	Day 20	Day 40	Day 60
C	5.39±0.00 ^{Ad}	6.26±0.00 ^{Aa}	6.23±0.00 ^{Ab}	6.14±0.02 ^{Ac}
EF1	5.37±0.00 ^{Bc}	6.20±0.01 ^{Ba}	6.19±0.00 ^{Ba}	5.97±0.01 ^{Bb}
EF2	5.37±0.00 ^{BCd}	6.14±0.02 ^{Ca}	6.06±0.00 ^{Cb}	5.76±0.01 ^{Cd}
EF3	5.36±0.00 ^{Cd}	6.04±0.02 ^{Da}	5.97±0.01 ^{Db}	5.57±0.01 ^{Dc}

* different lowercase letters indicate a significant difference in the row ($p < 0.05$), unlike uppercase letters indicate a significant difference in the column ($p < 0.05$).
C: control, EF1: containing 1.25 mg/ml of extract, EF2: containing 2.5 mg/ml of extract, EF3: containing 5 mg/ml of extract

جدول ۸- امتیازات مزه نمونه‌های دوغ در طول زمان نگهداری*(میانگین ± انحراف معیار)

Table 8- Taste scores of dough samples during storage* (mean ±standard deviation)

Treatment	Day 1	Day 20	Day 40	Day 60
C	4.00±1.00 ^{Aa}	4.00±1.00 ^{Aa}	4.00±1.00 ^{Aa}	3.67±0.57 ^{Ba}
EF1	5.00±0.00 ^{Aa}	4.67±0.57 ^{Aa}	4.33±0.57 ^{Aa}	4.33±0.57 ^{Aa}
EF2	4.67±0.57 ^{Aa}	4.67±0.57 ^{Aa}	4.00±1.00 ^{Aa}	4.00±1.00 ^{Aa}
EF3	4.33±0.57 ^{Aa}	4.00±0.00 ^{Aa}	4.67±0.57 ^{Aa}	4.00±0.00 ^{Aa}

* different lowercase letters indicate a significant difference in the row ($p < 0.05$), unlike uppercase letters indicate a significant difference in the column ($p < 0.05$).
C: control, EF1: containing 1.25 mg/ml of extract, EF2: containing 2.5 mg/ml of extract, EF3: containing 5 mg/ml of extract

افزودن عصاره مفرا، امتیازات ارزیابی حسی مزه تیمارها به نسبت شاهد افزایش معنی‌دار داشتند ($p\leq$۰/۰۵) در حالیکه بین تیمارهای حاوی عصاره مفرا تفاوت معنی‌دار مشاهده نگردید ($p>$۰/۰۵). همچنین در طی زمان نگهداری در امتیازات ارزیابی حسی مزه نمونه‌ها اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ($p>$۰/۰۵) (جدول ۸).

نتایج بررسی ارزیابی حسی بو در تیمارهای مختلف، حاکی از آن بود که در روزهای اول، ۲۰ ام و ۴۰ ام نگهداری با افزودن عصاره مفرا، امتیازات ارزیابی حسی بو تیمارها به نسبت شاهد افزایش معنی‌دار داشتند ($p\leq$۰/۰۵) در حالیکه بین تیمارهای حاوی عصاره مفرا تفاوت معنی دار مشاهده نگردید ($p>$۰/۰۵). در روز ۶۰ ام نگهداری بین هیچ کدام از تیمارها تفاوت معنی‌دار بین مشاهده نشد ($p>$۰/۰۵). امتیازات ارزیابی حسی بو شاهد و نمونه حاوی ۵ mg/ml عصاره مفرا در طی زمان های مختلف نگهداری اختلاف معنی دار نداشتند ($p>$۰/۰۵). بین امتیازات ارزیابی حسی بو نمونه حاوی ۱/۲۵ mg/ml عصاره مفرا در روزهای اول، ۲۰ ام ۴۰ ام نگهداری تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد ($p>$۰/۰۵) ولی در روز ۶۰ ام نگهداری کاهش معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۵) فقط به نسبت روز ۴۰ ام مشاهده گردید این در حالی بود که امتیازات ارزیابی حسی بو نمونه حاوی ۲/۵ عصاره مفرا در روز ۶۰ ام نگهداری کاهش معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۵) به نسبت روزهای دیگر بررسی داشت (جدول ۹).

نتایج بررسی ارزیابی حسی بافت در تیمارهای مختلف، حاکی از آن بود که در روز اول نگهداری بین هیچ کدام از تیمارها تفاوت معنی‌دار بین مشاهده نشد ($p>$۰/۰۵) و در روز ۲۰ ام نگهداری فقط بین دو تیمار حاوی ۲/۵ mg/ml و ۵ عصاره مفرا اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($p\leq$۰/۰۵) و در روز ۴۰ ام نگهداری با افزودن عصاره مفرا، امتیازات ارزیابی حسی بافت تیمارها به نسبت شاهد افزایش معنی‌دار داشتند ($p\leq$۰/۰۵) در حالیکه بین تیمارهای حاوی مقادیر مختلف عصاره مفرا در این روز تفاوت معنی‌دار مشاهده نگردید ($p>$۰/۰۵) همچنین در روز ۶۰ ام نگهداری تفاوت معنی داری بین تیمارها وجود نداشت ($p>$۰/۰۵). امتیازات ارزیابی حسی بافت شاهد و نمونه حاوی ۱/۲۵ mg/ml عصاره مفرا در طی زمان‌های مختلف نگهداری اختلاف معنی‌دار نداشتند ($p>$۰/۰۵) بین امتیازات ارزیابی حسی بافت نمونه حاوی ۲/۵ mg/ml عصاره مفرا در روزهای اول، ۲۰ ام ۴۰ ام نگهداری تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد ($p>$۰/۰۵) ولی در روز ۶۰ ام نگهداری کاهش معنی دار ($p\leq$۰/۰۵) نسبت به روزهای ۲۰ ام و ۴۰ ام مشاهده گردید این در حالی بود که امتیازات ارزیابی حسی بافت نمونه حاوی ۵ mg/ml عصاره مفرا در روز ۴۰ ام نگهداری افزایش معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۵) به نسبت روزهای دیگر بررسی داشت ولی در روزهای اول، ۲۰ ام و ۶۰ ام نگهداری اختلاف معنی‌دار وجود نداشت ($p>$۰/۰۵) (جدول ۱۰).

جدول ۹- امتیازات بو نمونه‌های دوغ در طول زمان نگهداری*(میانگین ± انحراف معیار)

Table 9- Odor scores of dough samples during storage* (mean ±standard deviation)

Treatment	Day 1	Day 20	Day 40	Day 60
C	3.67±0.57 ^{Ba}	4.00±0.00 ^{Ba}	4.00±0.00 ^{Ba}	4.00±1.00 ^{Aa}
EF1	4.67±0.57 ^{Aab}	4.67±0.57 ^{Aab}	5.00±0.00 ^{Aa}	4.00±0.00 ^{Ab}
EF2	5.00±0.57 ^{Aa}	5.00±0.00 ^{Aa}	5.00±0.00 ^{Aa}	4.33±0.57 ^{Ab}
EF3	4.67±0.57 ^{Aa}	5.00±0.00 ^{Aa}	4.33±0.57 ^{Ba}	4.00±1.00 ^{Aa}

* different lowercase letters indicate a significant difference in the row ($p < 0.05$), unlike uppercase letters indicate a significant difference in the column ($p < 0.05$).
C: control, EF1: containing 1.25 mg/ml of extract, EF2: containing 2.5 mg/ml of extract, EF3: containing 5 mg/ml of extract

جدول ۱۰- امتیازات بافت نمونه‌های مورد بررسی در طول زمان نگهداری*(میانگین ± انحراف معیار)

Table 10– The texture scores of the examined samples during the storage time* (mean± standard deviation)

Treatment	Day 1	Day 20	Day 40	Day 60
C	4.67±0.57 ^{Aa}	4.33±0.57 ^{ABa}	4.00±0.00 ^{Ba}	4.00±1.00 ^{Aa}
EF1	4.67±0.57 ^{Aa}	4.67±0.57 ^{ABa}	5.00±0.00 ^{Aa}	4.33±0.57 ^{Aa}
EF2	4.33±0.57 ^{Aab}	5.00±0.00 ^{Aa}	4.67±0.57 ^{Aa}	3.67±0.57 ^{Ab}
EF3	4.33±0.57 ^{Ab}	4.00±0.00 ^{Bb}	5.00±0.00^{Aa}	4.00±0.00 ^{Ab}

* different lowercase letters indicate a significant difference in the row ($p < 0.05$), unlike uppercase letters indicate a significant difference in the column ($p < 0.05$).
C: control, EF1: containing 1.25 mg/ml of extract, EF2: containing 2.5 mg/ml of extract, EF3: containing 5 mg/ml of extract

نتایج بررسی ارزیابی حسی پذیرش کلی در تیمارهای مختلف، حاکی از آن بود که در روز اول با افزودن عصاره مفرا، نمونه‌های حاوی ۱/۲۵ mg/ml و ۲/۵ به نسبت شاهد بطور معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۵) امتیاز بالاتری داشتند در حالیکه نمونه حاوی ۵ ml تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت ($p>$۰/۰۵). در روزهای ۲۰ و ۴۰ ام نگهداری امتیازات ارزیابی حسی پذیرش کلی تیمارهای حاوی عصاره مفرا به نسبت شاهد افزایش معنی‌دار داشتند ($p\leq$۰/۰۵) در حالیکه بین تیمارهای حاوی عصاره مفرا تفاوت معنی دار مشاهده نگردید ($p>$۰/۰۵). همچنین در روز ۶۰ ام نگهداری بین هیچ کدام از تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود نداشت ($p>$۰/۰۵) و در طی مدت زمان نگهداری ۶۰ روزه در امتیازات ارزیابی حسی پذیرش کلی نمونه‌ها اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ($p>$۰/۰۵) (جدول ۱۱).

بحث

- ترکیبات عصاره مفرا

بیشترین ترکیب شناسایی شده در عصاره مفرا، تیمول (۵۳ درصد) بود. نتایج حاصل نشان دهنده وجود مقادیر بالا ترکیبات ترپنی است که این ترکیبات دارای خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی هستند. نتایج بدست آمده تا حدودی با سایر بررسی‌های انجام گرفته در این راستا همخوانی دارد و ترکیبات مشابهی در بررسی‌های مختلف صورت گرفته شناسایی شده‌اند و اختلاف ترکیبات تشکیل دهنده را می‌توان به ژنتیک، آب و هوا، شرایط رشد، برداشت گیاه نسبت داد (Mahmoudzadeh *et al.*, 2016) Abdoli و همکاران (۲۰۱۶) با بررسی اسانس روغنی حاصل از گیاه مفرا در مرحله گل دهی و رویش، گزارش نمودند، در مرحله رویش ۳۲ ترکیب جداسازی شدند که ترکیبات عمده شامل ۱، ۸ سینول (۴۳/۸ درصد)، آلفا–ترپینئول (۱۱/۳ درصد)، a۴ آلفا، ۷ آلفا، a۷ الفا–نپتالاکتون (۱۰/۳۶ درصد)، دلتا–ترپینئول (۴/۹۵)، آلفا–بیسابولن (۵۵/ ۴)، a۴ آلفا، ۷ بتا، a۷ آلفا–نپتالاکتون (۳/۶۷) و ۴–ترپینوئل (۳/۶۵) و در مرحله رشد، ۳۱ ترکیب شناسایی شد در حالیکه، ۱، ۸ سینول (۴۴/۲۵ درصد)، a۴ آلفا، ۷ آلفا، a۷ آلفا–نپتالاکتون (۲۴/۷۲ درصد)، آلفا–ترپینئول (۶/۳ درصد)، دلتا–ترپینئول (۲/۹۹) بیشترین مقدار بودند. بر اساس پژوهش Ashrafi و همکاران (۲۰۱۹) بیشترین ترکیب در اسانس روغنی *N. cataria* شامل 4a-α,7-α,7a-β- Nepetalactone (۵۳/۸۷ درصد)، 4a-α,7-β,7a-α- Nepetalactone (۸/۶۷ درصد)، Crypton (۴/۳۱ درصد) بود. بر اساس گزارش Zomorodian و همکاران (۲۰۱۲)، نپتالاکتون ۲، در محدوده ۵۵–۵۸ درصد و نپتالاکتون ۳ در محدوده ۳۰–۳۱/۲ درصد در گونه N.cataria حضور داشتند. همچنین Safaei-Ghomi و همکاران (۲۰۰۹) نپتالاکتون ۱ را به میزان ۸۷/۱ درصد در اسانس این گونه شناسایی نمودند.

- MIC وMBC عصاره مفرا

حداقل غلظت بازدارندگی عصاره مفرا در برابر *اشریشیا کلی* ۲/۵ mg/ml و در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* ۱/۵ mg/ml بود و میزان حداقل غلظت کشندگی عصاره در برابر *اشریشیا کلی* ۵ و در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* ۳ mg/ml تعیین شد. نتایج حاصل از مطالعه Mahalleh Azimi و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد، حداقل غلظت بازدارندگی عصاره پونه سای بینالودی در غلظت ۴ درصد

جدول ۱۱- امتیازات پذیرش کلی نمونه‌های دوغ در طول زمان نگهداری*(میانگین ± انحراف معیار)

Table 11- Overall acceptance scores of doogh during the storage time* (mean± standard deviation)

Treatment	Day 1	Day 20	Day 40	Day 60
C	3.33±0.57 ^{Ba}	3.33±0.57 ^{Ba}	3.00±0.00 ^{Ba}	3.33±0.57 ^{Aa}
EF1	4.67±0.57 ^{Aa}	4.67±0.57 ^{Aa}	4.67±0.57 ^{Aa}	3.67±0.57 ^{Aa}
EF2	4.67±0.57 ^{Aa}	5.00±0.00 ^{Aa}	4.67±0.57 ^{Aa}	4.00±1.00 ^{Aa}
EF3	4.33±0.57 ^{ABa}	4.67±0.57 ^{Aa}	4.66±0.57 ^{Aa}	3.67±0.57 ^{Aa}

* different lowercase letters indicate a significant difference in the row ($p < 0.05$), unlike uppercase letters indicate a significant difference in the column ($p < 0.05$).

C: control, EF1: containing 1.25 mg/ml of extract, EF2: containing 2.5 mg/ml of extract, EF3: containing 5 mg/ml of extract

برای *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* و *آسپرژیلوس نایجر* به ترتیب ۴۴، ۳۰/۵۶ و ۴۲ میلی‌گرم بر میلی لیتر بود. بر اساس پژوهش Ashrafi و همکاران (۲۰۱۹) میزان MIC و MBC اسانس روغنی *N.cataria* در برابر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* به ترتیب ۳۲۰، ۱۲۸۰ و ۶۴۰ و ۱۲۸۰ میکروگرم بر میلی لیتر تعیین شد. گیاهان مواد خاصی تولید می‌کنند، که بر پاتوژن‌ها یا رشد آن‌ها اثر گذاشته و یا آن‌ها را از بین می‌برند. ترکیبات فنلی با منشا گیاهی ممکن است خواص ضد میکروبی داشته باشند. اگرچه یک جز فنلی خالص به تنهایی می‌تواند برای نشان دادن فعالیت ضد میکروبی موثر باشد (Koksal *et al.*, 2017).

- ویژگی های فیزیکوشیمیایی دوغ طی نگهداری

با افزودن عصاره مفرا طی زمان نگهداری، میزان اسیدیته نمونه‌های تست در مقایسه با نمونه شاهد افزایش یافت. در پایان نگهداری، کمترین میزان اسیدیته در نمونه شاهد مشاهده شد و بین تیمارهای حاوی عصاره تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. به‌طور مشابه، در مطالعه Amirdivani و Baba (۲۰۱۱) میزان اسیدیته ماست های حاوی عصاره‌های گیاهی در طول تخمیر و زمان نگهداری بیشتر از نمونه شاهد بود. با افزایش زمان نگهداری و نیز ادامه فرایند تخمیر لاکتوز توسط باکتری‌های استارتر به خصوص *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس*، اسیدیته به دلیل تجمع اسیدهایی نظیر اسید لاکتیک، استالدهید، اسید فرمیک، اسید لاکتیک و غیره افزایش می یابد (Ghaleh Mosiyani *et al.*, 2018). افزودن عصاره‌های گیاهی سبب تحریک رشد *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و رهاسازی اسیدهای آمینه آزاد شده و اسیدیته قابل تیتراسیون را افزایش می‌دهد (Sendra *et al., 2008*).

با افزودن عصاره مفرا طی زمان نگهداری، pH نمونه‌های تست در مقایسه با نمونه شاهد کاهش یافت. با گذشت زمان نگهداری، pH کلیه تیمارها به طور معنی‌داری کاهش یافت به این علت که با افزایش زمان نگهداری، باکتری *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* موجود در دوغ برخلاف *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* که در pH کمتر از ۴/۵ فعالیتش متوقف می‌شود، حتی تا pH های پایین‌تر می‌تواند تولید اسید را ادامه دهد (Ghaleh Mosiyani *et al.*, 2018). در پژوهش Joung و همکاران (۲۰۱۶) در بررسی خصوصیات ماست گیاهی تخمیر شده با عصاره گیاهان سنتی گزارش نمودند، pH تمام تیمارها به طور معنی‌داری کاهش یافت و همچنین ماست‌های غنی شده با عصاره‌های گیاهی در مقایسه با ماست شاهد pH کمتری نشان دادند.

با افزودن عصاره مفرا طی زمان نگهداری، ویسکوزیته نمونه‌های تست در مقایسه با نمونه شاهد افزایش یافت. بر اساس گزارش Lotfizade Dehkordi و همکاران (۲۰۱۳) افزودن سطوح مختلف عصاره شنگ، نسبت به نمونه شاهد تاثیر نامطلوبی بر میزان ویسکوزیته نمونه‌های ماست نداشت، بلکه سبب افزایش کم ویسکوزیته نمونه‌های تیمار شده نسبت به نمونه شاهد گردید.

- فعالیت آنتی اکسیدانی دوغ طی نگهداری

بر اساس نتایج IC50، کمترین میزان در تیمار EF3 (حاوی ۵ درصد عصاره مفرا)، و بیشترین میزان در نمونه شاهد مشاهده شد. با افزایش زمان نگهداری، IC50 نمونه‌ها کاهش یافت که علت آن کاهش ترکیبات فنلی طی نگهداری می‌باشد. در یک بررسی مشابه توسط Azimi Mahalleh و همکاران (۲۰۲۰)، میزان ترکیبات فنلی در همه نمونه‌های دوغ حاوی عصاره آزاد پونه سای بینالودی طی نگهداری کاهش یافت. به طور مشابه نتایج حاصل از بررسی Maio و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد، محتوی فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی شیر غنی شده با عصاره انگور برزیلی افزایش می‌یابد.

- ویژگی های میکروبی دوغ طی نگهداری

بالاترین تعداد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در تیمار شاهد مشاهده شد. تعداد باکتری در نمونه حاوی ۵ درصد عصاره کمتر از سایر تیمارها بود. میزان اثر ترکیبات فنلی موجود در عصاره گیاهی به مقدار غلظت به کاربرده شده بستگی دارد که هر چه این غلظت بالاتر باشد، به دلیل بالا بودن مواد موثره منجر به افزایش نابودی میکروارگانیسم‌ها می‌شود، در نتیجه برای ایجاد اثر ضد باکتریایی مشابه در دوزهای پایین باید از زمان بیشتری استفاده نمود (Ghaleh Mosiyani *et al.*, 2018). ماهیت آب گریز ترکیبات تشکیل دهنده عصاره‌ها و

اسانس‌ها توانایی نفوذ آنها به لیپیدهای غشای سلولی و میتوکندری را فراهم نموده و سبب بهم ریختگی ساختار و افزایش نفوذپذیری غشا و در نتیجه نشت یون‌ها، ATP و سایر ترکیبات سلولی می‌شود، و با برهم کنش آنها با آنزیم هایی که بر دیواره سلول قرار دارند، مکانیسم اصلی برای فعالیت ضد میکروبی می‌باشند (Cheraghali *et al.*, 2016). بر اساس مطالعه Tabatabaie yazdi و همکاران (۲۰۱۲) با افزایش غلظت عصاره آویشن در دوغ جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* کاهش یافت که یافته های این محققین با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد

در تمامی روزها، بالاترین و کمترین تعداد باکتری *اشریشیا کلی* به ترتیب در تیمار شاهد و نمونه حاوی ۵ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره مشاهده شد. روند کاهشی معنی‌دار باکتری *اشریشیا کلی* طی ۶۰ روز زمان نگهداری در تمامی تیمارها گزارش شد ($p<۰/۰۵$)، که علت آن را می توان به کاهش pH و افزایش اسیدیته در طی نگهداری نسبت داد. افزایش غلظت عصاره مفرا، سبب کاهش تعداد باکتری‌های *اشریشیا کلی* گردید.علت این پدیده، می‌تواند مربوط به وجود ترکیبات فنلی موجود در عصاره باشد که از رشد باکتری‌ها جلوگیری می‌کند (Alirezalo *et al.*, 2015).

- ویژگی های حسی دوغ طی نگهداری

نمونه‌های حاوی عصاره مفرا در پایان نگهداری امتیاز مزه بیشتری نسبت به شاهد نشان دادند. بر اساس مطالعه Azimi Mahalleh و همکاران (۲۰۲۰) نمونه دوغ حاوی عصاره پونه سای بینالودی ریزپوشانی شده با غلظت ۱ درصد با کسب امتیاز خوب، بیشترین امتیاز را برای خصوصیات عطر و طعم داشت. Joung و همکاران (۲۰۱۶) با بررسی خصوصیات ماست گیاهی تخمیر شده با عصاره گیاهان سنتی گزارش نمودند، میزان امتیازات عطر و طعم در ماست حاوی عصاره گیاهی در مقایسه با ماست شاهد بالاتر بود. بر اساس نتایج تحقیق حاضر، افزایش زمان نگهداری منجر به کاهش امتیاز مزه شد، که موافق با نتایج Dinpajhooh و همکاران (۲۰۱۹) بود.

در بین تیمارهای حاوی عصاره مفرا، تفاوت معنی‌داری در امتیاز بو مشاهده نشد. بطورکلی روند کاهش معنی‌دار امتیازات بو در تیمارها طی مدت زمان نگهداری گزارش شد. بر اساس مطالعه Dinpajhooh و همکاران (۲۰۱۹) افزایش زمان نگهداری منجر به کاهش امتیاز حسی بو نمونه‌های دوغ و افزایش درصد به کارگیری عصاره سیر و شوید نیز به طور معنی‌داری امتیاز بو را افزایش داد. بر اساس مطالعه Azimi Mahalleh و همکاران (۲۰۲۰) نمونه دوغ حاوی عصاره ریزپوشانی شده پونه‌سای بینالودی با غلظت ۱ درصد با کسب امتیاز خوب، بیشترین امتیاز را برای خصوصیات بو داشت.

امتیاز بافت نمونه‌ها طی نگهداری کاهش یافت که می‌تواند به دلیل تاثیر اسیدیته بالا بر استحکام بافت دوغ باشد. تیمارهای حاوی عصاره مفرا امتیاز پذیرش کلی بیشتری نسبت به نمونه شاهد نشان دادند. در پایان نگهداری، تیمار حاوی ۲/۵ میلی گرم عصاره مفرا دارای بالاترین امتیاز پذیرش کلی بود و تفاوت معنی داری با سایر تیمارهای حاوی عصاره نداشت. پایین آمدن مقبولیت نمونه‌های دوغ در طی نگهداری می‌تواند به دلیل افزایش اسیدیته بیش از حد و تاثیر نامطلوب آن بر خصوصیات حسی باشد. در واقع این امر را می‌توان به رابطه مستقیم فعالیت باکتری‌های لاکتیک اسید نسبت داد (Zarali *et al.*, 2015). بر اساس گزارش Ghaleh Mosiyani و همکاران (۲۰۱۸) بالاترین امتیاز پذیرش کلی در نمونه شاهد و پایین ترین امتیاز مربوط به نمونه دوغ حاوی ۵۰ میلی‌گرم عصاره رازک بود. بر اساس مطالعه Dinpajhooh و همکاران (۲۰۱۹) امتیاز پذیرش کلی دوغ به طور معنی‌داری وابسته به درصد بکارگیری عصاره سیر و شوید و مدت زمان نگهداری بود. افزایش سطح عصاره سیر و شوید در فرمولاسیون دوغ به طور معنی‌داری امتیاز پذیرش کلی را افزایش داد.

نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد، عصاره حاصل از گیاه مفرا دارای خصوصیات آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی بوده و می‌تواند به عنوان یک نگهدارنده طبیعی و ترکیب فراسودمند در دوغ مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

Abdoli, P., moradkhani, S. & Dastan, D. (2016). Comparative Analysis of Nepeta Crispa Essential Oil Composition in Flowering and Vegetative Stages. American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics, 4 (4), 106-112.

Alirezalu, K., Hesari, J., Sadeghi, M. & Bak-Mohammadpour, M. (2016). Production of functional colored yoghurts incorporating with blackberry and carrot extracts. Innovative Food Technologies, 3 (2), 53-64 [In Persian]

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.

Anon. (1992). Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Doogh – Specifications ans test method. ISIRI No. 2453 [In Persian].

Anon. (2005). Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of positive Staphylococci –coagulase (Staphylococcus aureus and other species)-Part 3:Detection and MPN technique for low Numbers. ISIRI No 6806-3 [In Persian].

Anon. (2006). Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Milk and milk products-Determination of titratable acidity and value pH-Test method. ISIRI No. 2852 [In Persian].

Anon. (2015). Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Milk and Milk Products-Enumeration of Presumptive Esherichia coli-Most probable number (MPN). ISIRI No. 5234 [In Persian].

Ashrafi, B., Ramak, P., Ezatpour, B. & Talei, G. (2019). Biological activity and chemical composition of the essential oil of *Nepeta cataria* L. Journal of Research in Pharmacy, 23(2), 336-343.

Azimi Mahalleh, A., Mortazavi, S.A., Sharayeei, P., Azar Pazhooh, E. & Niazmand, R. (2020). Antioxidative and Antimicrobial Properties of Free and Microencapsulated Extracts of Nepeta (*Nepeta Binaludensis).* Journal of Innovation in Food Science and Technology, 12 (2), 15-29 [In Persian].

Bakhshi, F., Mirzaei, H. & Asefi, N. (2017). Evaluation of antibacterial effects of basil essential oil against *Escherichia colii, Rhodotorula rubra Staphylococcus aureus*. Journal of Food Microbiology, 4 (3), 73-81 [In Persian].

Cheraghali, F., Mirmoghtadaie, L., Shojaee-Aliabadi, S. & Hosseini, SM. (2016). A Comprative Study of Antimicrobial and Antioxidant Properties of Walnut Green Husk Aqueous Extract before and after Microencapsulation. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 11 (2), 113-124 [In Persian].

Delshadi, R., Bahrami, A., Tafti, A., Barba, F. & Williams, L. (2020). Micro and nano-encapsulation of vegetable and essential oils to develop functional food products with improved nutritional profiles. Trend in Food Scence and Technology, 104, 72-83.

Dinpajhooh, F., Khani, M.R. & Fadaei-Noghani, V. (2019). Investigating the effect of dill and garlic extracts on shelf-life and sensory properties of heat treated non-carbonated doogh. Journal of Food Hygiene, 8 (33), 97-112 [In Persian].

Ghaleh Mosiyani, Z., Pourahmad, R. & Rajaei, P. (2019). Investigation of the Effect of Hop (*Hyssoupus officinalis* L.) and Hyssop (*Humulus lupulus* L.) Ethanolic Extracts on the Prevention of *Staphylococcus aureus* Growth in Doogh. Food Technology & Nutrition, 16 (3), 45-58 [In Persian].

Hamed, A., Taha, S., Darwish, A. & Aly, E. (2021). Antioxidant activity and some quality characteristics of buffalo yoghurt fortified with peanut skin extract powder. Journal of Food Science and Technology, 58(6), 2431–2440.

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.

Khaled, F.M., Khaled, M.A. & Ashoush, I.S. (2014). Nanoencapsulation and nanoemulsion of bioactive compounds to enhance their antioxidant activity in food. International Journal of Food Science and Technology, 4 (3), 1-22.

Karamooz, N., Mohamadi Sani, A. & Rashidi, H. (2016). Effect of the addition of Gellan, Tragacanth and High-Methoxyl Pectin on the Stabilization of Doogh. Journal of Food Science and Technology, 52 (13), 91-99 [In Persian].

Köksal, E., Tohma, H., Kılıç, Ö., Alan, Y., Aras, A., Gulcin, I. & Bursal, E. (2017). Assessment of Antimicrobial and Antioxidant Activities of Nepeta Trachonitica: Analysis of Its Phenolic Compounds Using HPLC-MS/MS. Scientia Pharmaceutica, 85(2), 1-14.

Lotfizade Dehkordi, S.F., Shakerian, A. & Mohammadi Nafchi, A. (2013). Effect of Extract from Tragopogon Graminifolius Dc. On Properties Sensory, Shelf Life and The Viscosity Rate Yogurt. Journal of Herbal Drugs, 4 (1), 49-57 [In Persian].

Mahmoudzadeh, F., Qajarbeigi, P., Mahmoudi, R. & Mohammadpoorasl, A. (2016). Effect of thymus kotschyanus essential oil on the physicochemical and sensory properties of doogh. Journal of Food Science and Technology, 55 (13), 91-101 [In Persian].

Maio, G., Pittia, P., Mazzarino, L., Maraschin, M. & Kuhnen, S. (2019). Cow milk enriched with nanoencapsulated phenolic extractof jaboticaba (Plinia peruviana). Journal of Food Science Technology, 56(3), 1165–1173.

Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L. & Lacroix, M. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157: H7, *Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes*. Food Control, 18(5), 414-420.

Rafeii, Z., Jafari, S. M., Alami, M. & Khomeiri, M. (2012). Antioxidant Effect of Microwave-assisted Extracts of Olive Leaves on Sunflower Oil. Journal of Agriculture and Science Technology, 14, 1497- 1509.

Rezaiyan Gharagozlu, N., Baghbani-Arani, F. & Sadat Shandiz, S.A. (2018). Identification of the chemical constituents of aqueous and alcoholic *Glycyrrhiza glabra* root extracts and its comparative apoptotic study against human hepatocarcinoma cell line. Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, 26 (11), 978-988.

Safaei-Ghomi, J., Djafari-Bidgoli, Z. & Batooli, H. (2009). Volatile constituent analysis of Nepeta cataria from central Iran. Chemistry of Natural Compounds, 45(6), 913-915.

Salehi, P., Sonboli, A., Khaligh, P. & Mirzajani, F. (2012). Essential Oil Composition and Antioxidant Activity of Different Extracts of Nepeta Betonicifolia C.A. Meyer and Nepeta Saccharata Bunge. Natural Product Research, 26, 736-43.

Sendra, E., Fayos, F., Lario, Y., Ferna´ndez-Lo´pez, J., Sayas-Barbera,´ E. & Pe´rez Alvarez, J.A. (2008). Incorporation of citrus fibers in fermented milk containing probiotic bacteria. Food Microbiology, 25, 13-21.

Sonboli, A., Salehi, P. & Yousefzadi, M. (2004). Antimicrobial Activity and Chemical Composition of the Essential Oil of Nepeta crispa Willd. from Iran. Zeitschrift fur Naturforschung C, 59 (9-10), 653-6.

Tabatabaie yazdi, F., Mortazavi, A., Koochaki, A. & Afsharian, S. (2012). Investigation and comparison of effects of natural composition inhibitory *Staphylococcus aureus* in industrial Doogh samples with response surface method (RSM). Research and Innovation in Food Science and Industry, 1 (3), 175-186 [In Persian].

Tavakoli, M. (2018). Investigating the effect of Echinops plant aqueous extract on the physicochemical, sensory and microbial properties of Doogh, The second international congress and the 25th national congress of food sciences and industries of Iran. Sari [In Persian].

Zarali, M., Hojjati, M., Tahmouzi Didehban, S. & Jooynadeh, H. (2015). Investigation effects of Echinophora cinerea Boiss and Stachys lavandulifolia Vahl extracts on quality and sensory attributes of Doogh. Iranian Journal of Biosystem Engineering, 46 (3), 327-337 [In Persian].

Food Technology & Nutrition / Spring 2023 / Vol. 20 / No. 2

Investigating the Effect of Alcoholic Extract of *Nepeta crispa* on the Antioxidant Activity and Microbial and Sensory Properties of Doogh

A. Haseli [a], R. Pourahmad [b*], M. R. Eshaghi [c], P. Rajaei [c], B. Akbari-Adergani [d]

[a] Ph.D. Student in Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.
[b] Professor of the Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.
[c] Assistant Professor of the Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.
[d] Professor of the Food and Drug Laboratory Research Center, Food and Drug Administration, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran.

Received: 5 August 2022 Accepted: 20 August 2022

Abstract

Introduction: Due to the richness of nutrients, especially at ambient temperature, doogh is prone to contamination with some microorganisms, which causes changes in the product flavor and its bloating during storage. Therefore, the use of natural antimicrobials such as *Nepeta crispa* exract to increase doogh shelf life while increasing its marketability can be important. The aim of this research was to investigate the effect of *Nepeta crispa* alcoholic extract on the qualitative properties of doogh.
Materials and Methods: The compounds of *Nepeta crispa* extract were identified using GC-MS. Antioxidant activity, physicochemical (pH, acidity and viscosity), microbial (*Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* count) and sensory (taste, odour, texture and overall acceptance) characteristics of doogh containing different concentrations of *Nepeta crispa* extract (1.25, 2.5 and 5 mg/ml) were investigated during storage. ANOVA and Duncan test were used for statistical analysis.
Results: Thymol (53%) was the most identified compound in the extract of *Nepeta crispa*. The MIC of *Nepeta crispa* extract against *E.coli* and *S.aureus* was 2.5 and 1.5 mg/ml, respectively. The MBC of the extract against *E.coli* and *S.aureus* was 5 and 3 mg/ml, respectively. During storage, by adding plant extract, the acidity and viscosity of the samples increased and the pH decreased. Increasing the concentration of the extract increased the antioxidant and antimicrobial activity of doogh. The sample containing 2.5 mg/ml extract had the highest overall acceptance score, therefore, this sample was selected as the best treatment.
Conclusion: *Nepeta crispa* extract has antimicrobial and antioxidant activities and might be used as a natural preservative in doogh.

***Keywords**: Antimicrobial Effect, Antioxidant Activity, Doogh, Nepeta crispa, Physicochemical Properties.*

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

علوم غذایی و تغذیه / بهار ۱۴۰۲ / سال بیستم / شماره ۲