بررسی تأثیر ضد میکروبی عصاره‌های الکلی آلوئه‌ورا، بابونه آلمانی و نعناع فلفلی به‌عنوان نگهدارنده طبیعی شیر پاستوریزه

سید محمد احمدی[۱*]، سمیه نیک‌نیا[۱]، محمد امین میری[۱]، طیبه حدادی[۲]

۱- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۲- مربی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

دریافت مقاله: ۲۰ تیر ۱۳۹۹، بازنگری: ۲۵ مرداد ۱۳۹۹، پذیرش نهایی: ۳۰ شهریور ۱۳۹۹

چکیده

اخیراً تحقیقات در خصوص استفاده از ترکیبات گیاهی به‌عنوان نگهدارنده‌های طبیعی در غذاها مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این پژوهش، ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های متانولی و اتانولی سه گیاه دارویی آلوئه‌ورا، بابونه آلمانی و نعناع فلفلی کشت شده در پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل بر میکروب‌های عامل فساد و بیماری‌زای شیر پاستوریزه شامل *سودوموناس آئروژینوزا*، *باسیلوس سرئوس*، *میکروکوکوس لوتئوس*، *لیستریامنو سایتوژنز* و *اشرشیاکلی* و در مرحله بعد بررسی اثر عصاره‌های اتانولی آلوئه‌ورا و بابونه آلمانی بر ماندگاری شیر پاستوریزه بود. نتایج نشان داد که گیاه آلوئه‌ورا بیشترین اثر ضد میکروبی را داشت و گیاهان بابونه آلمانی و نعناع فلفلی به ترتیب بعد از آن قرار داشتند ($P\leq ۰/۰۵$). به طور کلی عصاره اتانولی گیاهان مورد آزمایش دارای اثر ضد میکروبی قوی‌تری نسبت به عصاره متانولی بود ($P\leq ۰/۰۵$). غلظت‌های ۰/۱۵، ۰/۳ و ۰/۶ (درصد حجمی/حجمی) از عصاره‌های اتانولی آلوئه‌ورا و بابونه آلمانی، به‌عنوان نگهدارنده طبیعی در شیر پاستوریزه مورد ارزیابی قرارگرفت. نتایج حاکی از آن بود که تیمار شیر پاستوریزه با ۰/۳ و ۰/۱۵ درصد بابونه آلمانی و همچنین آلوئه‌ورا با غلظت ۰/۳ درصد ضمن داشتن خصوصیات حسی قابل قبول، به‌طور معنی‌داری جمعیت میکروبی پایین‌تر و زمان ماندگاری طولانی‌تری در مقایسه با نمونه شاهد داشت. بنابراین استفاده از عصاره گیاهان مذکور به‌عنوان نگهدارنده در شیر پاستوریزه با خصوصیات مفید یک غذای عملگرا پیشنهاد می‌شود.

واژگان کلیدی: *آلوئه‌ورا، بابونه آلمانی، شیر پاستوریزه، عصاره اتانولی، فعالیت ضد میکروبی*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: smahmadi@uoz.ac.ir

مقدمه

فساد باکتریایی مهم‌ترین عامل محدودکننده عمر ماندگاری شیر پاستوریزه می‌باشد. متابولیسم و رشد میکروب‌ها به دلیل اثرات نامطلوبی که دارند، زمان نگهداری شیر را کوتاه می‌کنند (۱). پاستوریزاسیون، اغلب میکروب‌های بیماری‌زای شیر را نابود می‌کند اما تقریباً یک درصد فلور میکروبی شیر نظیر میکروب‌های ترموفیل متعلق به گونه‌های *میکروکوکوس*، *باسیلوس*، *کلستریدیوم* و گاهی اوقات باکتری‌های میله‌ای‌گرم منفی ممکن است در دمای پاستوریزاسیون زنده بمانند و سبب فساد محصول شوند، خصوصاً زمانی که تعداد آنها در شیر خام زیاد باشد (۱، ۲).

سایکروتروف‌ها گروه بسیار مهمی از میکروب‌هایی هستند که در شیر و محصولات لبنی حضور دارند که در بین آنها گونه‌های سودوموناس به‌عنوان مهم‌ترین میکروب‌های شرکت‌کننده در فساد شیر مورد توجه می‌باشند. این باکتری‌ها می‌توانند در دمای یخچال رشد و آنزیم‌ها، سموم و سایر متابولیت‌ها را تولید نمایند. اکثر این باکتری‌ها آنزیم‌های لیپولیتیک و پروتئولیتیک خارج سلولی تولید می‌کنند که تعدادی از این آنزیم‌ها به‌وسیله پاستوریزاسیون در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و یا فرایند UHT[۱۹] غیر فعال نمی‌شوند. فعالیت باقی‌مانده این آنزیم‌ها می‌تواند کیفیت ارگانولپتیکی و عمر ماندگاری محصولات لبنی فرآوری شده را کاهش دهد (۱). شیر پاستوریزه همچنین ممکن است بعد از فرایند پاستوریزاسیون تحت شرایط غیر بهداشتی دچار آلودگی میکروبی شود. یکی از میکروب‌هایی که ممکن است به واسطه آلودگی ثانویه وارد شیر شود، باکتری *اشرشیاکلی* است که یک میکروب انتروپاتوژن با منشأ غذایی می‌باشد و می‌تواند سبب اسهال و در شرایط حادتر منجر به مرگ شود (۲).

گزارشات متعددی درباره بیماری‌های ناشی از شیر پاستوریزه وجود دارد که از جمله آنها، بیماری *لیستریوزیس* می‌باشد. که سبب بیماری‌های مننژیت، انسفالیت و عفونت خونی می‌گردد. این بیماری دارای نرخ مرگ و میر بالا (۲۰ تا ۳۰ درصد) است. اگرچه پاستوریزاسیون HTST باعث حذف *لیستریا منوسایتوژنز* می‌شود، اما محصول ممکن است در مراحل بعد از فرایند حرارتی دچار آلودگی شود. بنابراین پاستوریزاسیون نمی‌تواند خطر حضور *لیستریامنوسایتوژنز* را در شیر حذف کند. شیوع بیماری لیستریوزیس در فنلاند در سال ۱۹۹۸ تا ۱۹۹۹ نشان می‌دهد که محصولات لبنی تهیه شده از شیر پاستوریزه ممکن‌است در مراحل بعد از تولید آلوده به *لیستریامنوسایتوژنز* شوند (۲، ۳).

نگرانی در خصوص بی‌خطر بودن ترکیبات ضد میکروبی شیمیایی سبب شده که تقاضای مصرف‌کننده برای تولید مواد غذایی فرآوری شده به طور طبیعی افزایش یابد. از این رو اخیراً تحقیقات در مورد استفاده از ترکیبات با منشأ گیاهی به‌عنوان نگهدارنده‌های طبیعی در غذاها مورد توجه قرار گرفته است (۴). گیاهان دارویی نظیر آلوئه‌ورا، نعناع فلفلی و بابونه برای هزاران سال در سرتاسر جهان برای اهداف دارویی و درمانی مختلفی مورد استفاده قرارگرفته‌اند. نعناع و بابونه بیشتر برای معطرکردن محصولات لبنی تخمیری استفاده می‌شوند (۵). گیاهان دارویی در مقایسه با ترکیبات شیمیایی ضد میکروبی برای انسان و محیط زیست بی‌خطر بوده، لذا می‌توانند به آسانی توسط عموم استفاده گردند (۶، ۷).

با توجه به این که میکروب‌های مختلفی در

[۱۹] Ultra high temperature

فساد مواد غذایی نظیر شیر پاستوریزه نقش دارند، بنابراین کاربرد عصاره‌های گیاهان دارویی به‌عنوان افزودنی‌های ضد میکروبی علاوه بر میزان فعالیت ضد میکروبی آنها مستلزم تأثیر این عصاره‌ها بر تمامی میکروب‌هایی است که در فسادشان نقش دارند. میزان فعالیت ضد میکروبی گیاهان دارویی به فاکتورهای مختلفی نظیر نوع گیاه، نوع عصاره و نوع میکروب بستگی دارد (۸). بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های هیدروالکی گیاهان دارویی گشنیز و بولاغ اوتی نشان داد که اگر چه عصاره‌های مذکور در برخی غلظت‌ها هاله عدم رشد بر علیه باکتری‌های گرم مثبت (*لیستریامنوسایتوژنز* و *استافیلوکوکوس‌اورئوس*) ایجاد کردند اما هیچ کدام از گیاهان مذکور اثر مهارکنندگی بر باکتری‌های گرم منفی نداشتند (۹).

مطالعه گلشنی و داوودی (۱۳۹۲) حاکی از آن بود که عصاره متانولی رزماری دارای اثر ضد میکروبی بر *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیاکلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* می‌باشد در حالی که بر *باسیلوس‌سرئوس* بی‌تأثیر است.

شرایط محیطی رشد نیز عامل مهم دیگری است که با تأثیر بر کمیت و کیفیت ترکیبات ضد میکروبی گیاهان دارویی بر فعالیت میکروبی آنها مؤثر است (۱۱، ۱۲). مقایسه تأثیر محل رویش گیاه گزنه بر محتوای تانن و اسید آسکوربیک نشان داد که میزان ترکیبات مذکور در مناطق مختلف به‌طور بسیار معنی‌داری متفاوت است (۱۳). همچنین مطالعات نشان داده است که به‌طور کلی عصاره‌های اتانولی و متانولی گیاهان دارویی، فعالیت ضد میکروبی قوی‌تری نسبت به سایر عصاره‌ها دارند که این ممکن است به حضور ترکیبات فنولیک و پلی‌فنولیک در محلول مرتبط باشد (۱۴).

در کشور ما به دلیل آلودگی میکروبی بالای شیر، عمر ماندگاری آن حدود ۳ -۲ روز است، در حالی که در سایر کشورها عمرماندگاری شیر پاستوریزه بیشتر است و از طرفی استفاده از ترکیبات شیمیایی به‌عنوان نگهدارنده در شیر ممنوع می‌باشد. لذا هدف از این تحقیق ابتدا ارزیابی آزمایشگاهی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های متانولی و اتانولی سه گیاه دارویی آلوئه‌ورا، بابونه آلمانی و نعناع فلفلی کشت شده در مزرعه گیاهان دارویی پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل بر میکروب‌های عامل فساد و بیماری‌زای شیر پاستوریزه و در مرحله بعد بررسی تأثیرگذاری عصاره اتانولی آلوئه‌ورا و بابونه به‌عنوان نگهدارنده طبیعی بر ماندگاری این محصول پرمصرف بود.

مواد و روش کار

مواد اولیه : باکتری‌های مورد استفاده در این تحقیق شامل *سودوموناس آئروژینوزا* (ATCC 27853)، *باسیلوس سرئوس*(ATCC 11778)، *لیستریا منوسایتوژنز*(ATCC 19115)، *میکروکوکوس لوتئوس* (CIPA 270)، و *اشرشیاکلی* (ATCC 10536) بودند که کشت خالص آنها از کلکسیون میکروبی مؤسسه پژوهش‌های علمی و صنعتی وزارت علوم، تحقیقات و فناوری تهیه شد.

آماده‌سازی عصاره‌های اتانولی و متانولی : گیاهان آلوئه‌ورا، بابونه آلمانی و نعناع فلفلی از مزرعه گیاهان دارویی واقع در پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل تهیه گردید. برای آماده‌سازی عصاره‌های اتانولی و متانولی گیاهان فوق، ژل تازه گیاه آلوئه‌ورا (*Aloe vera*) و برگ‌های گیاه بابونه آلمانی (*German chamomile*) و نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) ابتدا در سایه تحت خشک کردن اولیه قرار گرفتند و پس از آن در آون با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت کاملاً خشک گردیدند و سپس پودر شدند. ۲۰ گرم از این پودر در ۲۰۰ میلی‌لیتر از هر یک از حلال‌های

متانول و اتانول به مدت ۲۴ ساعت خیسانده شد. مایع رویی پس از استخراج به‌وسیله کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر گردید و در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد. برای استفاده‌های بعدی عصاره خشک‌شده در آب مقطر حل گردید (۱۵، ۱۶).

اندازه‌گیری فعالیت ضد میکروبی: به منظور بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های متانولی و اتانولی گیاهان مورد آزمایش از روش چاهک پلیت[۲۰] استفاده گردید. از تمامی باکتری‌ها در محیط نوترینت براث سوسپانسیون میکروبی تهیه و این سوسپانسیون به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شد. سپس سوسپانسیون فوق در محیط نوترینت آگار به صورت سطحی کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، به‌وسیله لوپ استریل چند کلنی از باکتری‌های رشد یافته به ۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل منتقل شدند، کدورت میکروبی لوله‌ها با اضافه‌کردن سرم فیزیولوژی با کدورت شاهد مک فارلند ۰/۵ (معادل $۱/۵\times۱۰^{۸}$ کلنی در میلی‌لیتر) استاندارد شد (۱۷، ۷، ۶، ۱۸).

بعد از تهیه مایه میکروبی، یک سوآپ استریل در لوله حاوی مایه میکروبی فرو برده و در سه جهت روی پلیت حاوی نوترینت آگار کشت شد. سپس به‌وسیله قسمت انتهایی یک پیپت پاستور استریل، چاهک‌هایی با قطر ۵ میلی‌لیتر روی محیط کشت ایجاد گردید. محلولی با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره‌های متانولی و اتانولی گیاهان مورد آزمایش تهیه شد. به منظور حل شدن بهتر عصاره‌ها در آب مقطر استریل از توئین ۸۰ به‌عنوان کمک حلال استفاده شد و محلول تهیه شده به‌وسیله فیلتر سرنگی ۰/۲۲ میکرون استریل گردید.

۰/۱ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده در چاهک‌ها ریخته و پلیت‌های تلقیح شده به مدت نیم ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا عصاره‌ها به خوبی جذب محیط شوند. نهایتاً پس از گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ها با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد تعیین گردید. در این تحقیق همچنین کلرامفنیکل به‌عنوان کنترل مثبت و آب مقطر استریل حاوی ۱۵ درصد توئین جهت اثبات عدم تأثیر ضد میکروبی آب و توئین ۸۰ به‌عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد (۱۸، ۷، ۶، ۱۹).

برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC[۲۱])، غلظت‌های ۱۰۰، ۵۰، ۲۵ و ۱۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر ازعصاره‌های گیاهان مذکور تهیه و فعالیت ضد میکروبی آنها به روش فوق بررسی شد. پائین‌ترین غلظتی که از رشد میکروب‌ها جلوگیری کرده بود به‌عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی در نظر گرفته شد (۱۸، ۱۹). کلیه آزمایشات در سه تکرار انجام شد.

آماده‌سازی نمونه‌های شیر حاوی عصاره: به منظور بررسی اثر نگهدارندگی عصاره‌های اتانولی بابونه آلمانی و آلوئه‌ورا بر ماندگاری شیر پاستوریزه، در ابتدا نمونه‌های شیر تحت تیمار حرارتی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه قرار گرفتند. سپس غلظت‌های ۰/۱۵، ۰/۳ و ۰/۶ درصد حجمی/حجمی عصاره‌های فوق با استفاده از فیلتر سرنگی استریل شد (اندازه منافذ ۰/۲۲ میکرومتر) و عصاره‌های به دست آمده تحت خلأ برداشت شد. در نهایت عصاره‌های استریل شده به نمونه‌های شیر حرارت دیده اضافه‌گردید. همچنین یک نمونه شیر فاقد عصاره به‌عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد.

[۲۰] Agar-well diffusion

[۲۱] Minimum inhibitory concentration

نمونه‌های شیر حاوی عصاره (۱۰۰ میلی‌لیتر) به بطری‌های پلاستیکی استریل منتقل شد و پس از دربندی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. ارزیابی حسی در زمان صفر و تغییرات میکروبی در فواصل زمانی صفر، ۲۴، ۴۸، ۷۲ ، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت بر روی نمونه‌های مذکور طبق روش‌های ذیل انجام شد (۲۰).

ارزیابی حسی: ویژگی‌های حسی نمونه‌های شیر با استفاده از یک گروه ارزیاب ۱۲ نفره آموزش‌دیده مورد ارزیابی قرار گرفت. به این صورت که آنها به ویژگی‌های مورد بررسی یعنی آروما، رنگ، مزه و قابلیت پذیرش با استفاده از سیستم نمره‌دهی هدونیک ۵ نقطه‌ایی (۵ (عالی)، ۴ (خوب)، ۳ (نه خوب نه بد)، ۲ (بد) و ۱ (بسیار بد)) امتیاز دادند (۲۱).

آنالیز میکروبی نمونه‌های شیر حاوی عصاره: شمارش کلی باکتری[۲۲] نمونه‌های شیر به‌وسیله روش پور تعیین شد. ابتدا، رقت‌های سریالی (۱-۱۰ تا ۶-۱۰) از نمونه‌های شیر آماده شد و سپس ۱ میلی‌لیتر از رقت‌های تهیه شده به پلیت اضافه گردید سپس محیط کشت نوترینت آگار به پلیت‌ها اضافه و در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. پس از گرمخانه‌گذاری کلنی‌ها شمارش و نتایج بر اساس لگاریتم تعداد کلنی بر میلی‌لیتر گزارش گردید (۲۲، ۲۳).

طرح آماری: این آزمایش بر اساس طرح کاملاً تصادفی و با ۳ تکرار انجام و آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ و مقایسه میانگین صفات کمی با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت (۲۳).

نتایج

قطر هاله عدم رشد و حداقل غلظت مهارکنندگی: نتایج مربوط به قطر هاله عدم رشد و حداقل غلظت مهارکنندگی (جدول ۱) نشان داد که میزان فعالیت ضد میکروبی گیاهان دارویی مورد بررسی به‌طور معنی‌داری به نوع گیاه، نوع عصاره و نوع میکروب بستگی دارد ($p<0/05$). همان طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، بیشترین فعالیت ضد میکروبی و کمترین حداقل غلظت مهارکنندگی به عصاره گیاه آلوئه‌ورا تعلق داشت.

قطر هاله عدم رشد عصاره اتانولی آلوئه‌ورا برای باکتری‌های *لیستریامنوسایتوژنز*، *باسیلوس‌سرئوس*، *میکروکوکوس‌لوتئوس*، *سودوموناس‌آئروژینوزا* و *اشرشیاکلی* به ترتیب ۳۴، ۳۰، ۳۰، ۲۵ و ۲۲ میلی‌متر اندازه‌گیری گردید. در صورتی که بیشترین و کمترین اثر ضد میکروبی عصاره متانولی آن به ترتیب بر باکتری باسیلوس سرئوس (۲۴ میلی‌متر) و باکتری‌های *میکروکوکوس‌لوتئوس* و *سودوموناس‌آئروژینوزا* (۲۰میلی‌متر) بود. به عبارت دیگر ترتیب حساسیت باکتری‌های گرم‌مثبت و گرم‌منفی بسته به نوع عصاره آلوئه‌ورا متفاوت بود به‌طوری‌که *لیستریامنوسایتوژنز* حساس‌ترین به عصاره اتانولی و *باسیلوس سرئوس* حساس‌ترین به نوع متانولی این گیاه بود.

[۲۲] Total plate count

جدول۱- میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) و حداقل غلظت مهارکنندگی (میلی‌گرم در میلی‌لیتر) عصاره‌های اتانولی و متانولی گیاهان آلوئه‌ورا، بابونه آلمانی و نعناع فلفلی بر میکروب‌های عامل فساد و بیماری‌زای شیر پاستوریزه*

نوع گیاه	عصاره	نوع میکروب									
		لیستریامونوسایتوژنز		*میکروکوکوس‌لوتئوس*		*باسیلوس‌سرئوس*		*اشرشیاکلی*		*سودوموناس‌آئروژینوزا*	
		DGI	MIC	DGI	MIC	DGI	MIC	DGI	MIC	DGI	MIC
آلوئه‌ورا	اتانولی	۳۴^{a}	۱۲/۵	۳۰^{b}	۱۲/۵	۳۰^{b}	۱۲/۵	۲۲^{d}	۱۲/۵	۲۵^{c}	۲۵
	متانولی	۲۲^{b}	۱۲/۵	۲۰^{c}	۲۵	۲۴^{a}	۱۲/۵	۲۲/۵^{ab}	۵۰	۲۰^{c}	۲۵
بابونه‌آلمانی	اتانولی	۱۶ ^{b}	۲۵	۱۴^{c}	۵۰	۱۸^{a}	۱۲/۵	۱۷/۵^{a}	۱۰۰	۱۳^{d}	۱۰۰
	متانولی	۱۶^{a}	۲۵	۸^{b}	۲۵	۱۶^{a}	۱۲/۵	۱۷^{a}	۵۰	۱۶^{a}	۵۰
نعناع‌فلفلی	اتانولی	۰^{c}	۰†	۱۴^{a}	۱۰۰	۹^{b}	۵۰		۵۰	۱۰^{b}	۵۰
	متانولی	۰^{d}	۰†	۱۲/۵ ^{a}	۵۰	۱۳/۵^{a}	۵۰	۱۴/۵^{a} ۱۰^{b}	۵۰	۸^{c}	۱۰۰
کنترل‌مثبت		۵۰		۲۸/۵		۴۰		۳۳/۵		۱۷	
کنترل‌منفی		-		-		-		-		-	

*مقادیر برای هر عصاره گیاهی با حروف مشابه اختلاف معنی‌داری با هم ندارند. † فاقد اثر مهارکنندگی

کنترل‌مثبت (کلرامفنیکل ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر)، کنترل‌منفی (آب مقطر حاوی ۱۵ درصد توئین)

حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)، میانگین قطر هاله عدم رشد (DGI)

حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره اتانولی آلوئه‌ورا بر باکتری‌های *لیستریامنوسایتوژنز*، *میکروکوکوس‌لوتئوس*، *باسیلوس‌سرئوس*، *اشرشیاکلی* ۱۲/۵ و برای *سودوموناس آئروژینوزا* ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به دست آمد. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره متانولی آن بر باکتری‌های مذکور به ترتیب ۱۲/۵، ۲۵، ۱۲/۵، ۵۰ و ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. در واقع همان‌طور که قبلاً اشاره گردید پائین‌ترین میزان حداقل غلظت مهارکنندگی به گیاه آلوئه‌ورا تعلق داشت.

این نتایج با یافته‌های لورنس و همکاران (۲۰۰۹) مشابهت داشت، آنها گزارش کردند که عصاره اتانولی آلوئه‌ورا از فعالیت ضد میکروبی بالاتری در مقایسه با عصاره متانولی برخوردار است، همچنین عصاره متانولی آن در مقایسه با اتانولی اثر ضد میکروبی بیشتری بر اشرشیاکلی دارد. علاوه بر آن آنها قطر هاله عدم رشد عصاره اتانولی و متانولی گیاه آلوئه‌ورا را بر باکتری *سودوموناس ائروژینوزا* به ترتیب ۲۳ و ۱۰/۶ میلی‌متر گزارش کردند (۱۵). در تحقیقی دیگر قطر هاله عدم رشد عصاره آبی آلوئه‌ورا بر *سودوموناس آئروژینوزا* ۲۰ میلی‌متر گزارش شده است در حالی که عصاره مذکور هیچ‌گونه تأثیری بر باکتری گرم‌منفی اشرشیاکلی نداشته است (۲۵). Takon و همکاران (۲۰۱۵) عصاره اتانولی ژل آلوئه‌ورا کشت شده در نیجریه را بر میکروب‌های مختلف ارزیابی کردند. آنها گزارش نمودند که عصاره مذکور بر *سودوموناس آئروژینوزا* تأثیری ندارد (۲۴). اختلاف بین فعالیت ضد میکروبی آلوئه‌ورا در این تحقیق و مطالعات دیگر می‌تواند به تفاوت میزان ترکیبات بیواکتیو آنها نظیر مانان‌ها[۲۳]، پلی‌مانان[۲۴]،

[۲۳] Mannans

[۲۴] Polymannans

آنتـرون‌هـا[۲۵]، آنتراکوئینـون[۲۶] و لکتـین‌هـا[۲۷] (۲۵) مـرتبط باشـد کـه بـه شـدت متـأثر از نـوع عصـاره و همچنین محیط کشت مـی‌باشد. عصاره اتـانولی بابونـه بیشـترین و کمتـرین اثـر مهارکننـدگی را بـه ترتیـب بـر بـاکتری باسـیلوس سـرئوس (۱۸ میلـی‌متـر) و *سـودوموناس آئروژینـوزا* (۱۳ میلـی‌متـر) نشـان داد در حـالی کـه عصـاره متـانولی آن بیشـترین اثـر مهارکنندگی را بـر بـاکتری *اشرشـیاکلی* (۱۷ میلـی‌متـر) و کمتـرین فعالیـت ضـد میکروبـی را بـر *میکروکـوس‌لوتئـوس* (۸ میلـی‌متـر) داشـت. بـه عبـارت دیگـر *باسـیلوس‌سـرئوس* و *اشرشـیاکلی* حسـاس‌تـرین و *میکروکـوس‌لوتئـوس* و *سـودوموناس‌آئروژینـوزا* مقـاوم‌تـرین بـاکتری‌هـا نسـبت بـه عصـاره‌هـای بابونـه بودند.

نتـایج اتـانولی بابونـه در تحقیـق حاضـر بـا نتـایج معصـومیان و زنـدی (۱۳۹۶) از نظـر ترتیـب فعالیـت ضد میکروبی مشابهت داشت. آنها اثـر هالـه عـدم رشـد عصـاره هیـدروالکلی بابونـه را بـر *اشرشـیاکلی* و *سـودوموناس آئروژینـوزا* بـه ترتیـب ۱۳ و ۱۰ میلـی‌متـر انـدازه‌گیـری کردنـد، اگرچـه عصـاره آبـی بابونـه بـر *سودوموناس* بی‌اثر بـود. گزارشـاتی نیـز مبنـی بـر بـی‌اثـر بـودن بابونـه بـر اشرشـیاکلی منتشـر شـده اسـت (۵). مکانیسم فعالیـت ضـد میکروبـی بابونـه ممکـن اسـت بـه ترکیب بیسـابولول[۲۸] مـرتبط باشـد کـه در غلظـت پـائین بـر میکـروب‌هـایی نظیـر *اسـتافیلوکوکوس‌اورئـوس*، *باسـیلوس سـوبتیلیس* و *سـودوموناس‌آئروژینـوزا* مـؤثر اسـت و همچنـین دی سـایکلواترها[۲۹] کـه فعالیـت باکتریواستاتیکی در غلظـت‌هـای بـالاتر نشـان مـی‌دهنـد (۱۰۰ میلـی‌گـرم بـر میلـی‌لیتـر). ایـن ترکیبـات بـا افـزایش نفوذپـذیری غشـای سـلول باکتریـایی و ممانعـت از فعالیـت آنـزیم‌هـای غشـای سـلولی نقـش ضـد میکروبی دارند (۲۶).

پـائین‌تـرین اثـر ضـد میکروبـی گیاهـان دارویـی مـورد بررسی بـرای نعنـاع فلفلـی انـدازه‌گیـری شـد. عـلاوه بـر این، بـر خـلاف عصـاره‌هـای دو گیـاه قبلـی عصـاره‌هـای گیـاه مـذکور در کلیـه غلظـت‌هـای مـورد اسـتفاده بـر بـاکتری *لیسـتریامنوسـایتوژنز* بـی‌اثـر بودنـد (۰ میلـی‌متـر). ایـن نتـایج بـا نتـایج Bayoub و همکـاران (۲۰۱۰) متفاوت بـود کـه بـرای عصـاره نعنـاع تیمیجا[۳۰] فعالیـت ضـد میکروبـی عـالی در برابـر لیسـتریامنوسـایتوژنز در مقایسـه بـا بابونـه گـزارش کردنـد (۲۶ در برابـر ۱۵ میلـی‌متـر). در مطالعـه‌ای کـه توسـط معصـومیان و زنـدی (۱۳۹۶) انجـام شـد عصـاره هیـدروالکلی نعنـاع بـر *اشرشـیاکلی* و *سـودوموناس‌آئروژینـوزا* بـی‌تـأثیر بـود در حـالی کـه عصـاره آبـی آن بـر *اشرشـیاکلی* و *سـودوموناس‌آئروژینـوزا* بـه ترتیـب هالـه عـدم رشـد ۱۷و ۱۵ میلی‌متری ایجاد نمود.

همان‌طور کـه نتـایج جـدول ۱ نشـان مـی‌دهـد بـالاترین مقـادیر حـداقل غلظـت مهارکننـدگی بـه نعنـاع فلفلـی تعلـق داشـت. بـه عنـوان مثـال ایـن شـاخص بـرای بـاکتری *میکروکوکـوس لوتئـوس* ۱۰۰ و بـرای *باسـیلوس‌سـرئوس*، *اشرشـیاکلی* و *سـودوموناس‌آئروژینـوزا* ۵۰ میلـی‌گـرم در میلـی‌لیتـر انـدازه‌گیـری شـد. ابوحسـین تبـری و همکـاران اثـر ضعیف نعناع را بر بـاکتری‌هـای گـرم‌مثبـت و گـرم‌منفـی گزارش کردند (۲۵).

آنالیز میکروبـی نمونـه‌های شـیر حـاوی عصـاره :

نتـایج آنـالیز میکروبـی (جـدول ۲) نشـان داد کـه بسـته بـه نـوع و غلظـت عصـاره اخـتلاف معنـی‌داری در

[۲۵] Anthrones

[۲۶] Anthraquinones

[۲۷] Lectins

[۲۸] Bisabolol

[۲۹] Dicycloethers

[۳۰] Mint timija

شمارش‌کلی نمونه‌های شیر در طول نگهداری وجود دارد. به‌طوری‌که نمونه‌های شیر تیمار شده با عصاره اتانولی بابونه آلمانی به‌طور معنی‌داری دارای شمارش میکروبی پائین‌تری در مقایسه با نمونه‌های حاوی عصاره آلوئه‌ورا بودند. بجز نمونه شیر حاوی ۰/۱۵ درصد عصاره آلوئه‌ورا، بقیه تیمارهای حاوی عصاره اتانولی گیاهان مورد بررسی دارای شمارش‌کلی کمتری در مقایسه با نمونه شاهد بودند. به عبارت دیگر غلظت ۰/۱۵ درصد عصاره آلوئه‌ورا نه تنها قادر به کاهش شمارش‌کلی میکروب نبود بلکه میزان آن را در مقایسه با نمونه شاهد افزایش داد.

نتایج هاله عدم رشد نشان داد (جدول ۱) که عصاره اتانولی آلوئه‌ورا فعالیت ضد میکروبی قوی بر باکتری‌های *سودوموناس آئروژینوزا*، *لیستریامنوسایتوژنز*، *میکروکوکوس لوتئوس*، *باسیلوس سرئوس* و *اشرشیاکلی* موجود در شیر پاستوریزه دارد. از این رو افزایش شمارش‌کلی نمونه‌های تیمار شده با عصاره اتانولی ۰/۱۵ درصد آلوئه‌ورا در مقایسه با نمونه کنترل در تمامی طول زمان نگهداری ممکن‌است مربوط به تحریک رشد تعدادی از میکروارگانیسم‌ها نظیر باکتری‌های اسیدلاکتیک در شیر حرارت دیده به‌وسیله این عصاره باشد.

جدول ۲- تغییرات در شمارش‌کلی نمونه‌های شیر حرارت دیده حاوی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی آلوئه‌ورا و بابونه آلمانی در طول نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲۰ ساعت

نوع گیاه	غلظت عصاره (درصد)	زمان (ساعت)					
		صفر	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶	۱۲۰
آلوئه‌ورا	۰/۱۵	۲/۴۸^{Ca}±۰/۱	۵/۶۴$^{C a}$±۰/۲	۶/۴۳^{ABa}±۰/۳	۶/۷۳^{Aa}±۰/۴	۶/۰۲^{BCa}±۰/۲	۵/۸۱^{BCa}±۰/۲
	۰/۳	۲/۵۴^{Ca}±۰/۱	۳/۸۵^{Bb}±۰/۲	۴/۷^{ABc}±۰/۴	۴/۹۱^{Ac}±۰/۴	۴/۴۸^{ABc}±۰/۲	۴/۸۰^{Ab}±۰/۲
	۰/۶	۲/۷۴$^{C a}$±۰/۳	۳/۵۴^{Bbc}±۰/۱	۴/۴۸^{Ac}±۰/۱	۴/۸۹^{Ac}±۰/۱	۴/۷۸^{Ac}±۰/۱	۴/۴۰^{Ab}±۰/۲
بابونه‌آلمانی	۰/۱۵	۲/۵۴^{Ca}±۰/۰۱	۳/۰۰^{Bcd}±۰	۳/۵۴^{Ad}±۰/۰۵	۲/۹۵^{Bd}±۰/۰۷	۰/۹۵^{Dd}±۰	۰/۹۵^{Dc}±۰
	۰/۳	۲/۴۸^{Ba}±۰/۰۵	۲/۹۵^{Acd}±۰/۰۷	۲/۹۵^{Ad}±۰	۲/۰۰^{Ce}±۰/۳	۰/۹۵^{Dd}±۰	۰/۹۵^{Dc}±۰
	۰/۶	۲/۳۰^{Aa} ±۰/۱	۲/۵۴^{Ad} ±۰/۲	۲^{ABe}±۰/۲	۱/۴۸^{BCe}±۰/۴	۰/۹۵^{Cd}±۰	۰/۹۵^{Cc}±۰
کنترل	٪۰	۲/۴۸^{Ca}±۰/۴	۳/۹۰^{Bb}±۰/۱	۵/۶۰^{Ab} ±۰/۲	۶/۰۰^{Ab}±۰/۳	۵/۴۰^{Ab}±۰/۱	۵/۴۸^{Aa}±۰.۱

اعداد با حروف انگلیسی بزرگ مشابه در هر سطر و حروف انگلیسی مشابه کوچک در هر ستون اختلاف معنی‌داری با هم ندارند

تحقیقات نشان داده‌اند که باکتری‌های اسیدلاکتیک نسبتاً به اثرات سمی ادویه‌جات و مشتقات آنها مقاومند و برخی از این ادویه‌ها اثرات تحریک‌کنندگی بر این دسته از میکروارگانیسم‌ها اعمال می‌کنند (۲۹، ۲۸، ۲۳، ۲۷).

اثر نگهداری بر تعداد باکتری‌های *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در ماست پروبیوتیک غنی‌شده با آلوئه‌ورا در ابتدا با افزایش در تعداد دو باکتری فوق‌الذکر و در ادامه با کاهش ناچیزی همراه بوده است (۱۷).

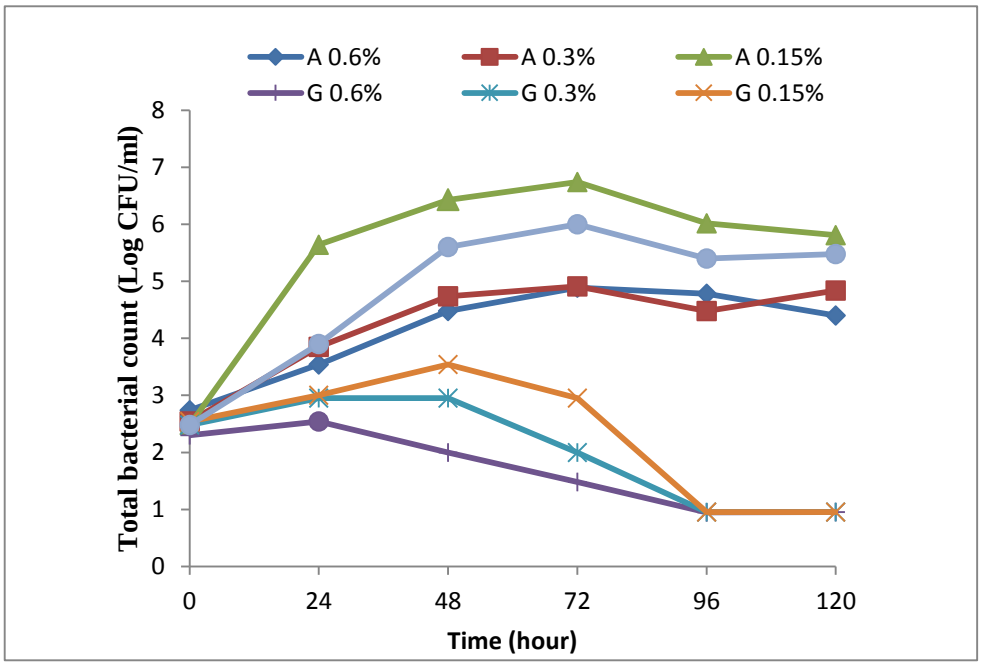
با افزایش غلظت عصاره اتانولی آلوئه‌ورا کاهش معنی‌داری در شمارش میکروبی مشاهده شد به‌طوری‌که نمونه‌های شیر حاوی ۰/۳ و ۰/۶ درصد آلوئه‌ورا، دارای شمارش‌کلی پائین‌تری در مقایسه با نمونه شاهد بودند.

بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری نمود که ترکیبات فعال عصاره اتانولی آلوئه‌ورا در غلظت پائین (۰/۱۵درصد) رشد برخی از میکروارگانیسم‌ها نظیر باکتری‌های اسیدلاکتیک را تحریک می‌کند که به افزایش در شمارش‌کلی نمونه‌های تیمار شده منجر

شده است در صورتی که با افزایش غلظت عصاره مذکور اثر ضد میکروبی آن بر میکروب‌های شیر بیشتر شده است. به‌طوری‌که نمونه‌های شیر حاوی ۰/۶ درصد عصاره آلوئه‌ورا دارای کمترین شمارش میکروبی بودند.

کوسنیاتی و یانتیاتی (۲۰۰۸) گزارش کردند که یک دلیل کاهش در شمارش کلی نمونه‌های شیر حاوی ۰/۳ و ۰/۶ درصد عصاره می‌تواند به کاهش تولید باکتری‌های سایکروتروف نسبت داده شود.

نتایج آنالیز میکروبی (جدول۲) همچنین نشان داد که اگرچه کمترین مقدار شمارش‌کلی (تا زمان ۷۲ ساعت) به نمونه‌های شیر حاوی ۰/۶ درصد بابونه تعلق داشت اما به‌طور کلی بر خلاف نمونه‌های شیر حاوی آلوئه‌ورا اختلاف معنی‌داری در شمارش‌کلی بین نمونه‌های شیر حاوی غلظت‌های مختلف عصاره بابونه وجود نداشت. این نتایج نشان می‌دهد که ماده مؤثره عصاره اتانولی بابونه در غلظت پائین قادر به تأثیرگذاری بر طیف وسیعی از میکروب‌هایی است که در شیر وجود دارد.



شکل ۱- تغییرات شمارش‌کلی نمونه‌های شیر پاستوریزه حاوی غلظت‌های مختلف عصاره‌های اتانولی در دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد و ۱۲۰ ساعت انبارداری (A, *Aloe vera* –G, *German chamomile*)

علاوه بر این منحنی روند تغییرات شمارش‌کلی و همچنین زمان تأثیرگذاری عصاره اتانولی گیاهان مورد بررسی نیز با هم متفاوت بود به‌طوری‌که منحنی‌های شمارش‌کلی نمونه‌های شیر حاوی عصاره آلوئه‌ورا صعودی بودند و همچنین این افزایش در کلیه غلظت‌های عصاره آلوئه‌ورا تا زمان ۴۸ ساعت معنی‌دار و بعد از این زمان غیر معنی‌دار بود در حالی که به‌طور کلی منحنی‌های شمارش‌کلی تیمارهای حاوی عصاره اتانولی بابونه آلمانی از شیب کاهشی ملایمی برخوردار بودند و از زمان ۹۶ ساعت به بعد تعداد میکروب‌های آنها غیر قابل شمارش بود (شکل۱).

نتایج مشابهی از آنالیز میکروبی نمونه‌های پنیر نرم وارا تیمار شده با عصاره کارسیا پاپایا و ترمینالیا

کاتاپا که تحت خلا در دمای ۱۵ درجه‌سانتی‌گراد بسته‌بندی شده بودند، پس از ۳ هفته انبارداری گزارش شده‌است (۳۱).

ارزیابی حسی: همان‌طور که جدول ۳ نشان می‌دهد، نمونه‌های شیر حاوی عصاره‌های اتانولی گیاهان آلوئه‌ورا و بابونه آلمانی از امتیاز حسی کمتری در مقایسه با نمونه شاهد برخوردار بودند. همچنین نتایج نشان داد که با افزایش غلظت عصاره مورد بررسی میزان رضایتمندی ارزیاب‌ها از ویژگی‌های حسی نمونه‌های حاوی عصاره کاهش یافته است به‌طوری‌که نمونه‌های شیر حاوی ۰/۶ درصد از عصاره اتانولی هر دو گیاه دارای مزه تلخ، رنگ تیره و بوی نامطلوب بودند و ارزیاب‌ها آنها را با امتیاز کمتر از ۳ به‌عنوان نمونه‌های غیر قابل قبول معرفی نمودند. با کاهش غلظت عصاره بهبودی معنی‌داری در ویژگی‌های حسی نمونه‌های شیر حاوی عصاره هر دو گیاه مشاهده گردید به‌طوری‌که ارزیاب‌ها، نمونه‌های حاوی ۰/۱۵ و ۰/۳ درصد عصاره را از نظر ویژگی‌های حسی مورد بررسی قابل قبول ارزیابی نمودند.

جدول۳- نتایج آزمون حسی نمونه‌های شیر تیمار شده با عصاره اتانولی آلوئه‌ورا و بابونه آلمانی در زمان صفر انبارداری

نوع گیاه	غلظت عصاره	ویژگی‌های حسی			
		مزه	بو	رنگ	پذیرش کلی
آلوئه‌ورا	۰/۱۵	۳/۳b	۳/۶b	۳/۴b	۴ab
	۰/۳	۳/۱۶b	۳/۲b	۳/۲b	۳/۶۶b
	۰/۶	۳b (غ.ق.ق)	۲/۸ c (غ.ق.ق)	۲/۶c (غ.ق.ق)	۲/۸c (غ.ق.ق)
بابونه‌آلمانی	۰/۱۵	۳/۶b	۳/۵b	۳/۴b	۴ab
	۰/۳	۳/۲b	۳/۵b	۳/۴b	۳/۵b
	۰/۶	۲/۴c (غ.ق.ق)	۲/۸c (غ.ق.ق)	۲/۳c (غ.ق.ق)	۳c (غ.ق.ق)
کنترل	۰	۴/۶۶a	۴/۸۳a	۴/۵a	۴/۸۳a

اعداد با حروف مشابه انگلیسی برای هر ویژگی حسی مربوط به هر یک از عصاره‌ها گیاهی اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

بحث و نتیجه‌گیری

در پایان نتایج این تحقیق نشان داد که دو عصاره آلوئه‌ورا و بابونه آلمانی فعالیت ضد میکروبی بر تمامی میکروب‌های مورد بررسی در این مطالعه شامل میکروب‌هایی که عامل فساد در شیر هستند و از نظر اقتصادی و تکنولوژیکی اهمیت دارند مثل *باسیلوس‌سرئوس*، *میکروکوس‌لوتئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* و موارد بیماری‌زا نظیر *لیستریامنوسایتوژنز* و *اشرشیاکلی* دارند.

بر اساس نتایج حاصل عصاره اتانولی بابونه آلمانی به‌عنوان یک ترکیب طبیعی به‌دست‌آمده از گیاهان دارویی، پتانسیل خوبی برای استفاده به‌عنوان نگهدارنده در مواد غذایی دارد. بر پایه ارزیابی حسی و شمارش‌کلی صورت گرفته در این تحقیق تیمار شیر پاستوریزه با عصاره اتانولی بابونه آلمانی (۰/۳ و ۰/۱۵ درصد) و آلوئه‌ورا (۰/۳ درصد) در کنار خصوصیات مفید به عنوان غذای عملگرا سبب کاهش بسیار معنی‌داری در جمعیت میکروبی، افزایش زمان ماندگاری با طعم قابل قبول در شیر پاستوریزه خواهد شد. بنابراین استفاده از عصاره‌های گیاهان مذکور به‌عنوان نگهدارنده در شیر پاستوریزه پیشنهاد می‌گردد.

References

1- Torkar, K. G., & Teger, S. G. The microbiological quality of raw milk after introducing the two day's milk collecting system. *Acta agriculturae Slovenica*, 2008; 92(1): 61-74.

2- Valik, L., Goerner, F., & Laukova, D. Growth dynamics of Bacillus cereus and shelf-life of pasteurised milk. *Czech Journal of Food Sciences*, 2003-UZPI (Czech Republic).

3- Lundén, J., Tolvanen, R., & Korkeala, H. Human listeriosis outbreaks linked to dairy products in Europe. *Journal of Dairy Science*,2004; 87: E6-E12.

4- Owen, R. J., & Palombo, E. A. Anti-listerial activity of ethanolic extracts of medicinal plants, Eremophila alternifolia and Eremophila duttonii, in food homogenates and milk. *Food Control*, 2007; 18(5): 387-390.

5- Bayoub, K., Baibai, T., Mountassif, D., Retmane, A & ,.Soukri, A. (2010). Antibacterial activities of the crude ethanol extracts of medicinal plants against Listeria monocytogenes and some other pathogenic strains. *African Journal of Biotechnology*, 2010; 9(27): 4251-4258.

6- Ehsan, B., Vital, A., & Bipinraj, N. Antimicrobial activity of the ethanolic extract of Bryonopsis laciniosa leaf, stem, fruit and seed. *African Journal of Biotechnology*, 2009; 8(15).

7- Ertürk, Ö. Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice plants. *Biologia*, 2006; 61(3): 275-278.

8- Mahesh, B., Satish, S. Antimicrobial activity of some important medicinal plant against plant and human pathogens. World Journal of Agricultural Sciences, 2008; 4: 839-843.

9- Farshbaf Derhami, S., Ghiami Rad, M., Mahmoudi, R., Asadi Nadari, M. R. Comparative studies of antibacterial activity of extracts nasturtium officinale and coriandrum sativum against some of pathogenic bacteria. Journal of Veterinary Microbiology, 2017; 13(2): 47-55. [In Persian]

10- Golshani, Z., Dawoodi, V. In vitro study of antimicrobial effects of Rosmarinus officinalis leaf extract against some pathogens. Arak Medical University Journal, 2013; 16(77): 82-89. [In Persian]

11- Ağaoğlu, S., Dostbil, N., & Alemdar, S. Antimicrobial activity of some spices used in the meat industry. *Bull Vet Inst Pulawy*, 2007; 51: 53-57.

12- Ashrafpour, M., Rezaei, h., sefidgar, a., Baradaran, M., & Sharifi, H. Survey of the Antibacterial Properties of Aqueous Ethanolic and Methanolic Extraction of Artemisia Annua Around the City of Babol. *journal of ilam university of medical sciences*, 2016; 23(6): 129-141.

13- Mirzaee, M., Aghdasi, M., Mianabadi, M., Khalfi, M. Survey the amount of tannins and ascorbic acid of differnt organs of the nettle plant (Urtica dioica L) in Golestan province. National Conference on Medicinal Plants.Tehran, 2012; 319-323.

14- Igbinosa, O., Igbinosa, E., & Aiyegoro, O. Antimicrobial activity and phytochemical screening of stem bark extracts from Jatropha curcas (Linn). *African journal of pharmacy and pharmacology*, 2009; 3(2): 058-062.

15- Lawrence, R., Tripathi, P., & Jeyakumar, E. Isolation, purification and evaluation of antibacterial agents from Aloe vera. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2009; 40(4): 906-915.

16- Olaleye, M., & Bello-Michael, C. Comparative antimicrobial activities of Aloe vera gel and leaf. *African Journal of Biotechnology*, 2005; 4(12).

17- Alemdar, S., & Agaoglu, S. Investigation of in vitro antimicrobial activity of aloe vera juice. *Journal of animal and veterinary advances*, 2009; 8(1): 99-102.

18- Dildar, A., Muhammad, M., Abdul, H., Muhammad, B., & Nazia, B. Antibacterial activity of Ballota limbata against potential multidrug resistant human pathogens (running head: antibacterial activity of B. limbata against potential Mdr pathogens). *Journal of Applied Sciences Research*(October), 2009; 1611-1614.

19- Komeilizadeh, H., Hakemi vala, M., Kamalinejad, M., & Neshat ashofteh, S. Study of Antimicrobial Effects of Organic and Aqueous Extracts of Grains of Triticum sativum Lam. on Gram – positive and Gram-negative Bacteria. *Journal of Medicinal Plants*, 2008; 7(28): 105-111. [In Persian]

20- Adesokan, I., Abiola, O., & Ogundiya, M. Influence of ginger on sensory properties and shelf-life of ogi, a Nigerian traditional fermented food. *African Journal of Biotechnology, 2010; 9*(12).

21- Krumov, K., Ivanov, G., Slavchev, A., & Nenov, N. Improving the processed cheese quality by the addition of natural spice extracts. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 2010; 2(6): 335-339.

22- Abid, H., Ali, J., Waqas, M., Anwar, Y., &

Ullah, J. Microbial quality assessment study of branded and unbranded milk sold in Peshawar City, Pakistan. *Pakistan J Nut*, 2009; 8(5): 704-709.

23- Khusniati, T., & Yantyati ,W. Antibacterial Effects of Aromatic Materials Produced in Indonesia on the Preservation of Skimmed and Whole Milk in Storage, 2008.

24- Takon, I. A., Ekei Victor, I., Ochegbe, O. Comparative study of the antimicrobial properties of Aloe Vera juice and gel (leaf) extracts against selected clinical isolates. International Journal of Technical Research and Applications, 2015; 3(6): 108-111.

25- Masoumian, M., & Zandi, M. (2017). Antimicrobial Activity of Some Medicinal Plant Extracts against Multidrug Resistant Bacteria. *Zahedan J Res Med Sci*, 2017; 1(11) ,9e10080. doi: 10.5812/zjrms.10080

26- Alkuraishy, H. M., Al-Gareeb, A. I., Albuhadilly, A. K., & Alwindy, S. In vitro assessment of the antibacterial activity of Matricaria chamomile alcoholic extract against pathogenic bacterial strains. *Microbiology Research Journal International*, 2015; 55-61.

27- Belewu, M., Belewu, K., & Nkwunonwo, C. Effect of biological and chemical preservatives on the shelf life of West African soft cheese. *African Journal of Biotechnology*, 2005; 4(10).

28- Masibo, M., & He, Q. (2009). In vitro antimicrobial activity and the major polyphenol in leaf extract of Mangifera indica L. *Malaysian Journal of Microbiology*, 2009; 5(2): 73-80.

29- Mocanu, G. D., Botez, E., Nistor, O. V., & Andronoiu, D. G. Characterization of probiotic yoghurt obtained with medicinal plant extracts and modelling of bacteria cell growth during its production. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 2011; 17: 65-71 .

30- Souza, E. L. d., Stamford, T. L. M., Lima, E. d. O., Trajano, V. N., & Barbosa Filho, J. M. Antimicrobial effectiveness of spices: an approach for use in food conservation systems. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 2005; 48(4): 549-558.

31- Adetunji, V. O. Comparative assessment of the effect of crude extracts of Carica papaya and Terminalia cattapa, and a bacteriocin on vacuum-packed West African soft cheese (wara). *African Journal of Microbiology Research, 2008; 2*(10): 272-276.

Survey of antibacterial activity of alcoholic extracts of *Aloe vera*, *German chamomile* and *Mentha piperita L* as natural preservative of pasteurized milk

Seyed mohammad Ahmadi[1*], Somayeh niknia[1], Mohammad amin Miri[1], Tayebeh Hadadi[2]

1- Assistant Professor, Department of food science and Technology, University of Zabol, Zabol, Iran.
2- Instructor, Department of food science and Technology, University of Zabol, Zabol, Iran.

Receive: July 10, 2020; Revise: August 15, 2020; Accept: September 20, 2020

Summary

Recently, studies have been conducted to use plant compounds as natural preservatives in foods. So, the objective of this study was first to evaluate antimicrobial activity of ethanolic and methanolic extracts of *Aloe vera*, *German chamomile* and *Mentha piperita L* cultivated in Medicinal plants farm of agricultural research institute of Zabol university, against spoilage and pathogenic microorganisms associated with pasteurized milk including *Pseudomonas aeruginosa, Bacillus cereus, Micrococcus luteus, listeria monocytogenes* and *Escherichia* coli and the next stage was to investigate the impact of ethanolic extracts of aloe vera and *German chamomile* on the shelf life of pasteurized milk. The results indicated that *Aloe vera* had the most antimicrobial activity followed by *German chamomile* and *Mentha piperita L*, respectively ($P<0.05$). In general, the ethanolic extract of studied plants was found to possess more powerful antibacterial activity than methanolic one ($P<0.05$). Ethanolic extracts of *Aloe vera* and *German chamomile* were evaluated as natural preservatives at concentrations of 0.15, 0.3 and 0.6 (% v/v). The results revealed that the treatments of pasteurized milk with 0.3% and 0.15% of *German chamomile* and also *Aloe vera* with a concentration of 0.3% with acceptable sensory properties had a significantly lower total microbial count and longer shelf life compared to the control sample. Therefore, this study confirmed the possibility of using the extract of mentioned plants as a preservative in pasteurized milk besides its beneficial properties of a functional food.

***Key words**: Antibacterial activity, Aloe vera, German chamomile, Ethanolic extract, Pasteurized milk*