DOI: 10.22059/ijbse.2021.314364.665365

مهندسی بیوسیستم ایران، دوره ۵۲، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰ (ص۲۲۱-۲۱۱)

(علمی – پژوهشی)

The Effects of Aqueous Extracts of Propolis Obtained from Different Extraction Methods as a Natural Preservative on Raw Milk

SIAMAK GHEIBI[1*], NARJES MALEK JANI[1], MAJID JAVANMARD DAKHELI[2]

1. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
2. Food Technologies Group, Department of Chemical Technologies, Iranian Research Organization for Science & Technology (IROST), Tehran-Iran

(Received: Nov. 28, 2020- Revised: Feb. 16, 2021- Accepted: Feb. 24, 20210

ABSTRACT

The effect of aqueous extracts of propolis gained using different extraction methods (soaking, Soxhlet, microwave and ultrasound) on the raw milk quality was investigated. Chemical (pH and acidity), microbial (total count, coliform, yeast and mold) and sensory (color and odor) properties were evaluated at 30 and 5℃ for 12 and 96 h, respectively. The highest amount of total phenolic compounds (7.4±0.1 (g/100g) and the antioxidant activity (52.0±1.8%) was observed in the Soxhlet extract. Despite the lowest amount of total phenolic compounds and antioxidant activity (2.6±0.6 g /100 g and 26±2.2%, respectively), soaking showed a more appropriate effect regarding growth inhibition of total bacterial counts (6.0±0.0 and 6.9±0.0 log cfu/ml), yeasts (4.5±0.0 and 4.0±0.0 log cfu/ml) and coliforms (5.1±0.1 and 4.1±0.0 log cfu/ml) at both temperatures of 5 and 30 ℃ compared to the control group showing the better performance of this methods in the extraction of the effective inhibiting compounds. The propolis extracts obtained from different extraction methods were effective in controlling pH and acidity in both temperatures during storage compared to the control samples. No organoleptic changes were observed during storage of the samples. Propolis extract (except extract gained by Soxhlet) extended the shelf life of milk at 30 and 5℃ for 3 and 24 h, respectively.

Keywords: Microbial count; Propolis; Total phenolic compounds; Extraction methods; Raw milk

*Corresponding Author’s Email: sgheibi@guilan.ac.ir

تاثیر عصاره آبی بره موم حاصل از روش‌های مختلف استخراج به‌عنوان نگهدارنده طبیعی در شیر خام

سیامک غیبی*[۱]، نرجس ملک جانی[۱]، مجید جوانمرد داخلی[۲]

۱. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۲. گروه صنایع غذایی و تبدیلی، پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی، سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۹/۸- تاریخ بازنگری: ۱۳۹۹/۱۱/۲۸- تاریخ تصویب: ۱۳۹۹/۱۲/۶)

چکیده

ویژگی‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی بره موم حاصل از روش‌های مختلف استخراج (خیساندن، سوکسله، مایکروویو و اولتراسونیک) بر کیفیت شیر خام مورد بررسی قرار گرفت. ویژگی‌های شیمیایی (pH و اسیدیته)، میکروبی (شمارش کلی، کلی‌فرم ، کپک و مخمر) و ارگانولپتیک (رنگ و بو) شیر حاوی عصاره ۶ درصد در طی مدت نگهداری (۱۲ و ۹۶ ساعت به ترتیب در دمای ۳۰ و ۵ درجه سلسیوس) مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین مقدار ترکیبات فنلی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره در روش سوکسله به ترتیب، ۰/۱±۷/۴ (گرم/۱۰۰گرم) و ۱/۸±۵۲/۰ درصد حاصل شد. روش خیساندن با وجود کمترین مقدار ترکیبات فنلی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۰/۶±۲/۶ گرم/۱۰۰گرم و ۲/۲±۲۶/۰ درصد) به ترتیب نسبت به مهار رشد تعداد کل باکتریایی (۰/۰±۶/۰ log cfu/ml و ۰/۰±۶/۹)، مخمرها (۰/۰±۵/۰ log cfu/ml و ۰/۰±۴/۰) و کلی‌فرم (۱/۱±۵/۰ log cfu/ml و ۰/۰±۴/۱) در پایان زمان نگهداری به ترتیب در دماهای ۵ و ۳۰ درجه سلسیوس نسبت به گروه کنترل، اثر مناسب‌تری از خود نشان داد که نشان‌دهنده عملکرد بهتر این روش در استخراج ترکیبات موثر در مهار میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. عصاره بره موم حاصل از روش‌های مختلف عصاره‌گیری در اکثر موارد مانع از کاهش pH و افزایش اسیدیته قابل تیتراسیون در طول زمان نگهداری در دو دما نسبت به کنترل شد. تاثیر منفی روی رنگ و بوی شیر خام در هیچ کدام از نمونه‌ها مشاهده نشد. افزودن عصاره ماندگاری نمونه‌ها را نسبت به کنترل در دمای ۳۰ و ۵ درجه سلسیوس، در کلیه روش‌های استخراج بجز روش سوکسله به ترتیب ۳ و ۲۴ ساعت افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: بار میکروبی، بره موم، ترکیبات فنلی کل، روش‌های استخراج، شیر خام

مقدمه

شیر خام با توجه به ترکیبات مغذی موجود در آن، آب آزاد بالا و pH مناسب، می‌تواند محیط مناسبی برای رشد باکتری‌ها و مخمرها باشد و به این دلیل فسادپذیری آن به عنوان یک ماده غذایی بالا می‌باشد. روند شیردوشی و جمع آوری شیر و ارسال آن به کارخانه‌های شیر پاستوریزه جهت فرآوری، به طوری است که در بیشتر موارد شیر ارسالی به کارخانه‌های شیر پاستوریزه، دارای ویژگی میکروبیولوژیکی درجه سه می‌باشد که این می‌تواند بر کیفیت شیر و فرآورده‌های حاصل از آن تاثیر منفی زیادی بگذارد. در شیر خام بر خلاف سایر نوشیدنی‌ها و مواد غذایی جهت افزایش ماندگاری از نگهدارنده استفاده نمی‌شود. تقاضای روز افزون فرآورده های شیر و ضرورت کاهش تلفات در این محصولات به دلیل کیفیت پایین، تلاش‌های فراوانی برای یافتن جایگزین‌های ضد میکروبی طبیعی به منظور جلوگیری از تکثیر باکتریایی و قارچی در این محصولات صورت گرفته است. اخیرا به علت آگاهی بالای مصرف‌کنندگان، استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی برای ممانعت از رشد میکروارگانیسم‌های ناخواسته در غذا بسیار محبوبیت پیدا کرده است. این مواد ضد میکروبی می‌توانند به طور مستقیم و یا به روش‌های دیگر به فرمولاسیون محصول اضافه شوند (El-Deeb, 2017).

بره موم (Proplois) مخلوطی از مقادیر مختلف واکس و رزین جمع شده توسط زنبور عسل است که ترکیب آن بستگی به محیط جمع‌آوری، گل‌های موجود در منطقه و نوع زنبور دارد. زنبور بره موم را جهت ترمیم محل‌های آسیب دیده در کندو، به عنوان عایق و ساختن مناطق سترون در کندو مورد استفاده قرار می‌دهد (Mirzoeva et al., 1997). فلاونوئیدها، اسیدهای آروماتیک و ترکیب‌های فنلی موجود در بره موم، مانند پینوسمبرین، گلانژین، کوماریک اسید و بنزوئیک اسید مسئول اصلی فعالیت زیستی بره موم هستند (Sheikhi Koohsar et al., 2018). عصاره بره موم دارای ویژگی‌های فعال زیستی همانند ویژگی ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد ویروسی، آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و ضد توموری می‌باشد (Huang et al., 2014). بره

* نویسنده مسئول: sgheibi@guilan.ac.ir

موم در مقادیر معمول برای انسان سمی نیست و می‌تواند به‌عنوان نگهدارنده در مواد غذایی (آب میوه، انواع گوشت‌ها، میوه و لبنیات) و صنعت آرایشی و دارو استفاده شود. بره موم در مواد غذایی به عنوان عامل ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی استفاده می‌شود و می‌تواند جایگزین خوبی برای نگهدارنده‌های شیمیایی باشد (Kubiliene et al., 2015; Khezri et al., 2008). استفاده از عصاره الکلی و آبی بره موم با مقادیر ۳، ۵ و ۷ درصد در فیله ماهی در طی نه روز نگهداری در یخچال توانست زمان ماندگاری فیله ماهی را نسبت به نمونه کنترل بدون تاثیر بر خواص ارگانولپتیک، افزایش دهد (Sheikhi Koohsar et al., 2018). به کمک روش‌های اولتراسونیک و مایکروویو (بعنوان روش‌های سریع استخراج) در زمان کوتاه، دمای پایین و مقادیر کم حلال می‌توان بدون تخریب حرارتی در زمان کوتاه ترکیبات مختلف را استخراج نمود (Briones-Labarca et al.,2015; Chemat et al., 2017). روش‌های سنتی، سوکسله و خیساندن در مقایسه با روش‌های سریع روش‌هایی با مصرف بالای حلال و صرف زمان طولانی‌تری در استخراج عصاره هستند (Cunha et al., 2004; Woisky et al., 1998).

از آنجا که استفاده از عصاره الکلی در مواد غذایی در کشورهای اسلامی منع مصرف دارد و در مواد غذایی همچون شیر تاثیر منفی روی پروتئین‌ها دارد، هدف از این مطالعه در ابتدا بررسی اثر روش‌های مختلف عصاره‌گیری بره موم با استفاده از حلال آبی، بر میزان استخراج ترکیبات فنلی و آنتی اکسیدانی بود. در گام بعدی، تاثیر متغیرهای دما، زمان و روش‌های استخراج عصاره بره موم بر ویژگی‌های شیمیایی، حسی و میکروبی شیر خام حاوی بره موم مورد مطالعه قرار گرفت.

روش شناسی

نمونه شیر جهت آزمایش، از یک گاوداری سنتی در استان گیلان در اواخر فصل تابستان با ماده خشک ۱۲/۵۸ درصد (چربی۳/۷۱ درصد، پروتئین ۳/۱ درصد، لاکتوز ۴/۸۷ درصد) تهیه و همراه با یخ به آزمایشگاه ارسال شد و سریعا مورد ارزیابی شیمیایی و میکروبی قرار گرفت. بره موم مورد استفاده در این تحقیق از مناطق کوهستانی غرب گیلان تهیه شد و بعد از انتقال به آزمایشگاه تا زمان انجام آزمایش در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. جهت تهیه عصاره بره موم، ابتدا بره موم آسیاب شده و سپس به روش‌های خیساندن، سوکسله، اولتراسوند و مایکروویو با استفاده از حلال آب بصورت جداگانه عصاره‌گیری شد.

روش‌های استخراج

در روش خیساندن، ۱۰ گرم پودر بره موم را به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر با دمای ۶۵ درجه سلسیوس اضافه و به مدت ۲ ساعت در آن دما نگه داشته شد و در طول این مدت، چندین بار تکان داده شد. سپسعصاره حاصل به دمای اتاق رسانیده شد و با سرعت ۱۵۰۰rpm برای مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و در نهایت قسمت رویی جهت آزمایش به ظرف دیگری منتقل شد (Said et al., 2006). در روش سوکسله، ۱۰ گرم پودر بره موم را در کارتوش به همراه ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر در دستگاه سوکسله قرار داده و عمل عصاره‌گیری به مدت ۲۴ ساعت صورت گرفت و در نهایت توسط دستگاه روتاری با دمای ۶۵ درجه سلسیوس به نسبت یک به ده تغلیظ شده و به ظرف دیگری منتقل گردید (Cunha et al., 2004). در روش مایکروویو، ۵ گرم پودر بره موم در بشر با ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و به مدت ۲۰ دقیقه با توان ۲۰۰ وات در مایکروویو قرار داده شد به طوری که در این مدت دمای مخلوط از ۷۰ درجه سلسیوس تجاوز نکرد. مخلوط بدست آمده، با سرعت ۳۰۰۰rpm برای مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شد و در نهایت قسمت رویی جهت آزمایش به ظرف دیگری منتقل شد (Trusheva et al., 2007). در روش اولتراسوند، به ۵ گرم پودر بره موم موجود در یک بشر مقدار ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و بشر به یک بشر بزرگتر حاوی یخ منتقل شد تا در زمان ۳۰ دقیقه عصاره‌گیری دمای آن از ۷۵ درجه سلسیوس بالاتر نرود. قدرت دستگاه اولتراسوند در این آزمایش روی ۲۰۰ وات و فرکانس ۲۰ کیلو هرتز با تعداد پالس ۳ عدد در ثانیه تنظیم شد. عصاره حاصل به دمای اتاق رسانیده شد و با سرعت ۳۰۰۰ rpm برای مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شد و در نهایت قسمت رویی جهت آزمایش به ظرف دیگری منتقل شد (Cavalaro et al., 2019). تمام عصاره‌ها قبل از قرار گرفتن در فریزر توسط کاغذ واتمن شماره ۱ صاف شده و قبل از اضافه کردن به نمونه‌ها توسط فیلتر ۰/۴۵ میلی‌متر استریل شدند.

تعیین ترکیبات فنلی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های بره موم

تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی با استفاده از روش DPPH به‌وسیله روش لی و همکاران (۲۰۰۹) و غلظت ترکیبات فنلی موجود در عصاره به روش فولین سیوکالچو[1] و از طریق روش کالریمتریک انجام شد (Singleton et al., 1965).

۱ Folin-Ciocalteu

طراحی پروژه

با توجه به تحقیقات Sheikhi Koohsar et al. (2018)، El-Deeb (2017) و غیبی و همکاران. (۱۳۹۹)، آزمایشات اولیه جهت تعیین غلظت مناسب برای بره موم به منظور افزودن به شیر خام انجام شد. غلظت بهینه به نحوی تعیین شد که علاوه بر حفظ ویژگی-های حسی شیر خام (عدم تاثیر روی طعم، رنگ و بو) حداکثر فعالیت ضد میکروبی در شیر خام ایجاد شود. غلظت ۶ درصد عصاره آبی ۱۰ درصد، به عنوان غلظت بهینه در شیر خام انتخاب شد. غلظت ۶ درصد عصاره آبی به روش‌های خیساندن، سوکسله، اولتراسوند و مایکروویو برای دو دمای نگهداری ۵ و ۳۰ درجه سلسیوس از شیر خام تهیه شد و در یخچال و انکوباتور به همراه کنترل قرار داده شد و در دمای ۳۰ درجه سلسیوس هر سه ساعت به مدت ۱۲ ساعت و برای دمای ۵ درجه سلسیوس هر ۲۴ ساعت برای چهار روز به همراه کنترل، مورد ارزیابی شیمیایی (pH و اسیدیته قابل تیتراسیون بر اساس استاندارد ملی شماره ۲۸۵۲ سال ۱۳۸۵ به ترتیب با اندازه گیری به وسیله pH متر و به روش تیتراسیون با هیدروکسید سدیم) و میکروبی (شمارش بار کلی میکروبی بر اساس استاندارد ۱-۵۲۷۲ سال ۱۳۹۳ به روش کشت آمیخته، شمارش کلی مخمر بر اساس استاندارد ۱۰۱۵۴ سال ۱۳۷۱ به روش کشت آمیخته و شمارش کلی کلی‌فرم بر اساس استاندارد ۹۲۶۳ سال ۱۳۸۶ به روش کشت آمیخته در محیط کشت VRBL[1]) قرار گرفت.

آنالیز حسی نمونه‌های شیر خام توسط ۷ پانلیست آموزش دیده در گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان انجام شد. هر نمونه شامل ۵۰ میلی‌لیتر شیر خام حاوی عصاره آبی بره موم تهیه شده به روش‌های مختلف و کنترل بود که در لیوان پلاستیکی شفاف و در دمای اتاق در اختیار پانلیست‌ها قرار گرفت. رنگ و بوی نمونه‌ها توسط یک مقیاس ۴ امتیازی آنالیز شد. امتیازهای ۱ و ۴ به ترتیب مربوط به نمونه‌های دارای کم‌ترین و بیش‌ترین مطلوبیت بود. میانگین امتیازات حاصل برای هر یک از ویژگی‌های حسی محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۶ استفاده شد. داده‌های حاصل در سه تکرار، با استفاده از تجزیه واریانس یک طر فه[2] مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همچنین، برای انجام مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای مشخص کردن وجود تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد ($p<۰/۰۵$).

تحلیل نتایج

جدول (۱)، مقادیر ترکیبات فنلی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی استخراج شده به روش‌های مختلف عصاره‌گیری را نشان می‌دهد. مقدار ترکیبات فنلی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در روش‌های مختلف عصاره‌گیری با یکدیگر تفاوت معنی‌داری دارند. عصاره‌گیری به روش سوکسله نسبت به سه روش دیگر عصاره‌گیری عملکرد بهتری از لحاظ استخراج ترکیبات فنلی داشته است و مقدار ترکیبات فنلی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن به ترتیب ۰/۱ ± ۷/۴ گرم/۱۰۰گرم و ۱/۸ ± ۵۲/۰ درصد است.

جدول ۱- مقایسه بین ترکیبات فنلی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی بره موم بدست آمده از روش‌های مختلف استخراج

روش استخراج	فعالیت آنتی اکسیدانی (درصد)	ترکیبات فنلی (گرم در هر صدگرم)
خیساندن	۲۶/۰±۲/۲ ^{d}	۲/۶±۰/۶ ^{d}
اولتراسوند	۳۸/۰±۳/۱ ^{c}	۵/۰±۰/۲ ^{c}
مایکروویو	۴۷/۶±۲/۶ ^{b}	۵/۴±۰/۲ ^{b}
سوکسله	۵۲/۰±۱/۸ ^{a}	۷/۴±۰/۱ ^{a}

*داده‌های مشخص شده با حروف متفاوت (.. ,a, b,c) در هر ستون نمایانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد است ($p<۰/۰۵$).

استفاده از دمای بالای استخراج به روش سوکسله که بدلیل نوع عملکرد این سیستم می‌باشد، ممکن است عامل این افزایش باشد. نتایج حاصل با نتایج بدست آمده از تحقیق Hamzah et al. (2015)، مبنی بر اینکه افزایش دما و زمان استخراج بر مقدار استخراج ترکیبات فنلی از بره موم به روش سوکسله تاثیر می‌گذارد، هم‌خوانی دارد. در مقابل عصاره استخراج شده به روش خیساندن، پایین‌ترین مقدار استخراج را نشان داد. این موضوع که عصاره‌گیری به روش خیساندن نسبت به سه روش دیگر

۱ Violet Red Bile Lactose Agar

۲ One-Way ANOVA

عصاره‌گیری میزان استخراج ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی-اکسیدانی پایین‌تری دارد، در تحقیقات Cunha et al. (2004) ، Trusheva et al. (2007) ، Hamzah et al. (2015) و Pobiega et al. (2019) گزارش شده است. مقادیر استخراج ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش خیساندن و اولتراسونیک با مقادیر استخراج شده با تحقیقات به ترتیب Trusheva et al. (2007) و Al-Ani et al. (2018) همخوانی دارد. مقدار استخراج ترکیبات فنلی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش مایکروویو نسبت به اولتراسونیک بیشتر است. نتایج بدست آمده از تحقیق Trusheva et al. (2007) با استفاده از حلال الکل عکس این موضوع را نشان می‌دهد که ممکن است به دلیل نوع حلال مورد استفاده باشد. با این وجود فاکتورهای همچون، درجه حرارت، مدت زمان و نسبت حلال به بره موم، همزدن و منشا منبع بره موم بر غلظت ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره حاصل موثر می‌باشد.

جدول ۲- مقادیر اسیدیته قابل تیتراسیون (درصد) شیر خام حاوی عصاره بره موم بدست آمده از روش‌های مختلف و کنترل در طی زمان نگهداری

زمان (ساعت)	روش استخراج (نگهداری در دمای ۵ درجه سلسیوس)				
	کنترل	سوکسله	مایکروویو	اولتراسوند	خیساندن
۰	۰/۱۴±۰/۰۰ Uc	۰/۱۵±۰/۰۲ Tc	۰/۱۵±۰/۰۰ Tc	۰/۱۵±۰/۰۰ Tc	۰/۱۵±۰/۰۰ Td
۲۴	۰/۱۷±۰/۰۰ Tb	۰/۱۵±۰/۰۰ Uc	۰/۱۵±۰/۰۰ Uc	۰/۱۵±۰/۰۰ Uc	۰/۱۶±۰/۰۱ Td
۴۸	۰/۲۱±۰/۰۱ Ta	۰/۱۹±۰/۰۱ TUb	۰/۱۸±۰/۰۱ Ub	۰/۱۸±۰/۰۱ Ub	۰/۱۸±۰/۰۰ Uc
۷۲	۰/۲۲±۰/۰۰ Ta	۰/۲۱±۰/۰۰ Ua	۰/۲۰±۰/۰۱ Uab	۰/۲۰±۰/۰۱ Ua	۰/۲۰±۰/۰۰ Ub
۹۶	۰/۲۲±۰/۰۰ Ta	۰/۲۱±۰/۰۱ TUa	۰/۲۱±۰/۰۰ Ua	۰/۲۱±۰/۰۰ Ua	۰/۲۲±۰/۰۰ Ta

زمان (ساعت)	روش استخراج (نگهداری در دمای ۳۰ درجه سلسیوس)				
	کنترل	سوکسله	مایکروویو	اولتراسوند	خیساندن
۰	۰/۱۵±۰/۰۰ Zd	۰/۱۵±۰/۰۱ TUc	۰/۱۵±۰/۰۰ Td	۰/۱۴±۰/۰۰ Ud	۰/۱۵±۰/۰۰ Tc
۳	۰/۱۷±۰/۰۰ Yc	۰/۱۵±۰/۰۰ Uc	۰/۱۶±۰/۰۱ TUc	۰/۱۵±۰/۰۰ Uc	۰/۱۵±۰/۰۰ Uc
۶	۰/۱۹±۰/۰۰ Xb	۰/۱۵±۰/۰۱ Uc	۰/۱۵±۰/۰۰ Ud	۰/۱۵±۰/۰۰ Uc	۰/۱۶±۰/۰۱ Ubc
۹	۰/۲۱±۰/۰۱ Ta	۰/۱۸±۰/۰۰ Ub	۰/۱۷±۰/۰۰ Xb	۰/۱۷±۰/۰۰ Xb	۰/۱۷±۰/۰۰ Xb
۱۲	۰/۲۳±۰/۰۱ Ta	۰/۲۰±۰/۰۰ Ua	۰/۱۸±۰/۰۰ Ya	۰/۱۹±۰/۰۰ Xa	۰/۱۸±۰/۰۰ Ya

*داده‌های مشخص شده با حروف کوچک متفاوت (a, b,c, ..) در هر ستون نمایانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵٪ است ($p<0.05$).

**داده‌های مشخص شده با حروف بزرگ متفاوت (T, U, X,Y,Z) در هر سطر نمایانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵٪ است ($p<0.05$).

تغییرات در اسیدیته قابل تیتراسیون نمونه‌های شیر خام طی نگهداری در دمای ۳۰ و ۵ درجه سلسیوس در حضور عصاره‌های حاصل از روش‌های مختلف (خیساندن، سوکسله، مایکروویو و اولتراسونیک) به عنوان نگهدارنده طبیعی در جدول (۲) ارائه شده است. اسیدیته نمونه کنترل، در طول مدت نگهداری در دو دمای ۳۰ و ۵ درجه سلسیوس به‌صورت معنی‌داری به ترتیب از ۰/۱۵±۰/۰۰ به ۰/۲۳±۰/۰۱ و از ۰/۱۴±۰/۰۰ به ۰/۲۲±۰/۰۰ افزایش پیدا کرد ($p<0.05$). اسیدیته قابل تیتراسیون شیر خام حاوی عصاره‌های استخراج شده به روش‌های مختلف، همانند کنترل در طول زمان نگهداری در دو دمای ۳۰ و ۵ درجه سلسیوس روند افزایشی و معنی‌داری را نشان دادند، با این تفاوت که میزان افزایش اسیدیته قابل تیتراسیون در روزهای نگهداری در بیشتر موارد با روند کندتری در شیر خام حاوی عصاره افزایش یافت و مقدار نهایی در پایان زمان نگهداری در هر دو دما، نیز نسبت به کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد. این روند در دمای ۳۰ درجه سلسیوس مشهودتر بود. نتایج بدست امده توسط El-Deeb (2017) که از عصاره آبی بره موم ۲۰ و ۴۰ درصد به مقدار ۲ درصد (۴ و ۸ درصد) در شیر خام به منظور افزایش زمان نگهداری استفاده کرد، نیز روند مشابهی را نشان داد. بین روش‌های مختلف استخراج به منظور کاهش روند افزایش اسیدیته قابل تیتراسیون اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>0.05$). با توجه به استاندار ملی ایران به شماره ۱۶۴ مبنی بر اسیدیته قابل تیتراسیون شیر خام قابل پذیرش (۰/۱۶درصد – ۰/۱۴درصد بر حسب لاکتیک)، نتایج نشان داد که اسیدیته شیر خام حاوی عصاره نگهداری شده در دماهای ۳۰ و ۵ درجه سلسیوس به ترتیب ۶ و ۲۴ ساعت به زمان پذیرش شیر خام افزوده‌اند.

جدول ۳- مقادیر pH شیر خام حاوی عصاره بره موم بدست آمده از روش‌های مختلف و کنترل در طی زمان نگهداری

زمان (ساعت)	روش استخراج (نگهداری در دمای ۵ درجه سلسیوس)				
	کنترل	سوکسله	مایکروویو	اولتراسوند	خیساندن
۰	۶/۷۵±۰/۰۲ Ta	۶/۷۴±۰/۰۱ Ta	۶/۷۰±۰/۰۲ Ta	۶/۷۲±۰/۰۳ Ta	۶/۷۲±۰/۰۳ Ta
۲۴	۶/۷۲±۰/۰۱ Ta	۶/۵۵±۰/۰۷ UXb	۶/۶۲±۰/۰۳ Ub	۶/۵۵±۰/۱۰ Xb	۶/۶۲±۰/۰۲ Ua
۴۸	۶/۶۸±۰/۰۱ Tb	۶/۵۸±۰/۰۱ UXb	۶/۶۰±۰/۰۲ Ub	۶/۶۰±۰/۰۱ Ub	۶/۵۶±۰/۰۱ Xb
۷۲	۶/۶۸±۰/۰۱ Tb	۶/۵۳±۰/۰۱ Xb	۶/۶۰±۰/۰۱ Ub	۶/۵۹±۰/۰۲ Ub	۶/۵۵±۰/۰۱ Xb
۹۶	۶/۶۸±۰/۰۱ Tb	۶/۵۲±۰/۰۳ Xb	۶/۵۹±۰/۰۱ Ub	۶/۵۳±۰/۰۴ Xb	۶/۵۴±۰/۰۱ Xb

زمان (ساعت)	روش استخراج (نگهداری در دمای ۳۰ درجه سلسیوس)				
	کنترل	سوکسله	مایکروویو	اولتراسوند	خیساندن
۰	۶/۷۵±۰/۰۲ Ta	۶/۷۶±۰/۰۱ Ta	۶/۷۳±۰/۰۲ Ta	۶/۷۲±۰/۰۳ Ta	۶/۷۴±۰/۰۱ Ta
۳	۶/۶۲±۰/۰۲ Tb	۶/۶۰±۰/۰۲ Tb	۶/۶۲±۰/۰۲ Tb	۶/۶۰±۰/۰۳ Tb	۶/۶۲±۰/۰۳ Tb
۶	۶/۵۸±۰/۰۱ Tc	۶/۵۹±۰/۰۱ Tb	۶/۶۱±۰/۰۱ Tb	۶/۵۵±۰/۰۷ Tb	۶/۶۲±۰/۰۱ Tb
۹	۶/۳۷±۰/۰۳ Ud	۶/۴۰±۰/۰۲ Uc	۶/۵۵±۰/۰۱ Tc	۶/۵۵±۰/۰۶ Tb	۶/۵۶±۰/۰۱ Tc
۱۲	۵/۹۶±۰/۰۶ Xe	۶/۲۵±۰/۰۵ Ud	۶/۴۴±۰/۰۵ Td	۶/۴۰±۰/۰۲ Tc	۶/۴۲±۰/۰۳ Td

*داده‌های مشخص شده با حروف کوچک متفاوت (a, b,c, ..) در هر ستون نمایانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد است ($p<۰/۰۵$).

**داده‌های مشخص شده با حروف بزرگ متفاوت (T, U, X,Y,Z) در هر سطر نمایانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد است ($p<۰/۰۵$).

تغییرات در pH نمونه‌های شیر خام طی نگهداری در دمای ۳۰ و ۵ درجه سلسیوس در حضور عصاره‌های حاصل از روش‌های مختلف (خیساندن، سوکسله، مایکروویو و اولتراسونیک) به عنوان نگهدارنده طبیعی در جدول (۳) ارائه شده است. pH نمونه کنترل، در طول مدت نگهداری در دو دمای ۳۰ و ۵ درجه سلسیوس به ترتیب از ۶/۷۵±۰/۰۲ به ۵/۹۶±۰/۰۶ و از ۶/۷۵±۰/۰۲ به ۶/۶۸±۰/۰۱ تغییر کرد. pH شیر خام حاوی عصاره‌های استخراج شده به روش‌های مختلف، همانند کنترل در طول زمان نگهداری در دو دمای ۳۰ و ۵ درجه سلسیوس روند کاهشی را نشان دادند، با این تفاوت که میزان کاهش pH در روزهای نگهداری در شیر خام حاوی عصاره نگهداری شده در دمای ۳۰ درجه سلیسیوس با روند کندتری کاهش یافته و مقدار نهایی در پایان زمان نگهداری نسبت به کنترل معنی‌دار بود. نتایج بدست امده توسط El-Deeb. (2017) که از عصاره آبی بره موم ۲۰ و ۴۰ درصد به مقدار ۲ درصد (۴ و ۸ درصد) در شیر خام به منظور افزایش زمان نگهداری استفاده کرد نیز روند مشابهی را در دمای ۳۰ درجه سلسیوس نشان داد. روند کاهش pH در شیر خام در دمای ۵ درجه سلسیوس با نتایج تحقیق Schmidt et al. (1996) همخوانی و با تحقیقات El-Deeb (2017) همخوانی ندارد که دلیل آن ممکن است بدلیل تعداد میکروارگانیسم‌های اولیه شیر خام باشد که در پژوهش اول ۲/۷۴ (log cfu/ml) و در پژوهش دوم ۵/۸ (log cfu/ml) بوده است. عملکرد عصاره‌ها استخراج شده به روش‌های مختلف در کنترل کاهش pH نسبت به یکدیگر تفاوت معنی‌داری را در بیشتر موارد نشان ندادند ($p>0.05$). عملکرد نگهدارنده طبیعی محدود کردن رشد میکروبی، اکسیداسیون و برخی واکنش‌های آنزیمی در شیر است.

تعداد کل باکتری، کلی‌فرم ، کپک و مخمر (log cfu/ml) تحت تاثیر افزودن عصاره‌های آبی بره موم بدست آمده از روش-های مختلف (خیساندن، سوکسله، مایکروویو و اولتراسونیک) به عنوان نگهدارنده‌ی طبیعی (۶ میلی لیتر/۱۰۰ میلی لیتر شیر) در زمان نگهداری ۱۲ و ۹۶ ساعت در دماهای ۳۰ و ۵ درجه سلسیوس در جداول (۴)، (۵) و (۶) ارائه شده است.

مقادیر تعداد باکتری کل بدست آماده از شیر خام تیمار نشده (کنترل) در در زمان ابتدا و انتهای نگهداری در دماهای ۳۰ و ۵ درجه سلسیوس به ترتیب ۵/۲±۰/۱ به ۷/۹±۰/۰ و ۵/۲±۰/۱ به ۶/۷±۰/۰ (log cfu/ml) بوده است. تعداد کل باکتری در دمای ۳۰ و ۵ درجه سلسیوس در روزهای نگهداری روندی افزایشی همانند کنترل را نشان دادند با این تفاوت که روند افزایشی در شیر خام حاوی عصاره‌ها در بیشتر موارد روند رشدی کندتری از کنترل نشان دادند. روند رشد باکتری کل در دمای ۳۰ و ۵ درجه سلسیوس به ترتیب در سه ساعت و ۲۴ ساعت اول (به استثناء عصاره سوکسله در ۵ درجه سلسیوس) روندی کاهشی نسبت به زمان صفر نگهداری داشته‌اند و در ساعات بعدی نمونه‌برداری روند افزایشی همانند کنترل از خود نشان داد که این می‌تواند نشان

دهنده این باشد که عصاره‌های آبی بره موم در ساعات اولیه علاوه بر ممانعت از رشد باعث کاهش بار باکتریایی اولیه نیز شدند. این روند کاهشی در تحقیقات El-Deeb (2017) نیز مشاهده شد با این تفاوت که در کل زمان نگهداری بار باکتریایی روند افزایشی از خود نشان نداد که این می‌تواند به دلیل استفاده از غلظت بالاتر عصاره آبی بره موم (۸ درصد) در آن تحقیق باشد. تعداد باکتری کل در پایان زمان نگهداری در هر دو دما در شیر خام حاوی عصاره در بیشتر موارد کمتر از کنترل بود این روند در دمای ۳۰ درجه سلسیوس مشهودتر است.

جدول ۴- تعداد کلی‌فرم (log cfu/ml) شیر خام حاوی عصاره بره موم بدست آمده از روش‌های مختلف و کنترل در طی زمان نگهداری

زمان (ساعت)	روش استخراج (نگهداری در دمای ۵ درجه سلسیوس)				
	کنترل	سوکسله	مایکروویو	اولتراسوند	خیساندن
۰	۳/۲±۰/۰ Te	۳/۲±۰/۰ Te	۳/۲±۰/۰ Td	۳/۲±۰/۰ Te	۳/۲±۰/۱ Te
۲۴	۴/۳±۰/۰ Td	۳/۵±۰/۰ Xd	۳/۳±۰/۰ Yc	۳/۵±۰/۰ Xd	۳/۸±۰/۰ Ud
۴۸	۴/۶±۰/۰ Tc	۴/۴±۰/۰ Uc	۳/۳±۰/۰ Zc	۳/۷±۰/۰ Yc	۴/۱±۰/۰ Xc
۷۲	۴/۹±۰/۰ Ub	۵/۳±۰/۰ Tb	۴/۵±۰/۰ Yb	۴/۶±۰/۰ Xb	۴/۴±۰/۰ Zb
۹۶	۵/۶±۰/۱ Ta	۵/۵±۰/۰ Ta	۵/۴±۰/۱ Ta	۵/۱±۰/۰ Ua	۵/۱±۰/۱ Ua

زمان (ساعت)	روش استخراج (نگهداری در دمای ۳۰ درجه سلسیوس)				
	کنترل	سوکسله	مایکروویو	اولتراسوند	خیساندن
۰	۳/۲±۰/۰ Te	۳/۲±۰/۰ Te	۳/۲±۰/۰ Td	۳/۲±۰/۰ Td	۳/۲±۰/۰ Td
۳	۳/۶±۰/۱ Td	۳/۳±۰/۰ Ud	۳/۲±۰/۰ Xd	۳/۲±۰/۰ Xd	۳/۲±۰/۱ UXd
۶	۴/۰±۰/۱ Tc	۳/۹±۰/۰ Tc	۳/۶±۰/۰ Xc	۳/۷±۰/۰ Uc	۳/۵±۰/۰ Yc
۹	۴/۷±۰/۱ Tb	۴/۲±۰/۰ Ub	۳/۸±۰/۰ Yb	۳/۹±۰/۰ Xb	۳/۹±۰/۰ Xb
۱۲	۴/۹±۰/۰ Ta	۴/۶±۰/۰ Ua	۴/۰±۰/۰ Ya	۴/۱±۰/۰ Xa	۴/۱±۰/۰ Xa

*داده‌های مشخص شده با حروف کوچک متفاوت (a, b,c, ..) در هر ستون نمایانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵٪ است (p<۰/۰۵).

**داده‌های مشخص شده با حروف بزرگ متفاوت (T, U, X,Y,Z) در هر سطر نمایانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵٪ است (p<۰/۰۵).

جدول ۵- تعداد کل باکتری (log cfu/ml) شیر خام حاوی عصاره بره موم بدست آمده از روش‌های مختلف و کنترل در طی زمان نگهداری

زمان (ساعت)	روش استخراج (نگهداری در دمای ۵ درجه سلسیوس)				
	کنترل	سوکسله	مایکروویو	اولتراسوند	خیساندن
۰	۵/۲±۰/۱ Td	۵/۲±۰/۱ Td	۵/۲±۰/۱ Tc	۵/۲±۰/۱ Tc	۵/۲±۰/۱ Tc
۲۴	۵/۶±۰/۰ Tc	۵/۴±۰/۰ Uc	۴/۸±۰/۰ Yd	۵/۰±۰/۰ Xd	۵/۱±۰/۱ Xc
۴۸	۵/۷±۰/۰ Tb	۵/۵±۰/۰ Ub	۴/۷±۰/۰ Ye	۵/۲±۰/۰ Xc	۵/۲±۰/۰ Xc
۷۲	۶/۱±۰/۶ Tabc	۶/۷±۰/۰ Ta	۵/۷±۰/۰ Xb	۵/۸±۰/۰ Ub	۵/۴±۰/۱ Yb
۹۶	۶/۷±۰/۰ Ta	۶/۷±۰/۰ Ta	۵/۹±۰/۰ Ya	۶/۴±۰/۰ Ua	۶/۰±۰/۰ Xa

زمان (ساعت)	روش استخراج (نگهداری در دمای ۳۰ درجه سلسیوس)				
	کنترل	سوکسله	مایکروویو	اولتراسوند	خیساندن
۰	۵/۲±۰/۱ Td	۵/۲±۰/۱ Td	۵/۲±۰/۱ Td	۵/۲±۰/۱ Td	۵/۲±۰/۱ Td
۳	۵/۳±۰/۱ Td	۴/۶±۰/۰ Ue	۴/۶±۰/۰ Ue	۴/۵±۰/۰ Xe	۴/۶±۰/۰ Ue
۶	۶/۱±۰/۱ Uc	۶/۳±۰/۰ Tc	۵/۹±۰/۱ Xc	۵/۹±۰/۰ Xc	۵/۸±۰/۱ Xc
۹	۷/۶±۰/۱ Tb	۷/۰±۰/۰ Ub	۶/۵±۰/۰ Yb	۶/۷±۰/۰ Xb	۶/۳±۰/۱ Zb
۱۲	۷/۹±۰/۰ Ta	۷/۱±۰/۰ Ua	۶/۹±۰/۰ Ya	۷/۰±۰/۰ Xa	۶/۹±۰/۰ Ya

*داده‌های مشخص شده با حروف کوچک متفاوت (a, b,c, ..) در هر ستون نمایانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵٪ است (p<۰/۰۵).

**داده‌های مشخص شده با حروف بزرگ متفاوت (T, U, X,Y,Z) در هر سطر نمایانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵٪ است (p<۰/۰۵).

جدول ۶- تعداد مخمر (log cfu/ml) شیر خام حاوی عصاره بره موم بدست آمده از روش‌های مختلف و کنترل در طی زمان نگهداری

زمان (ساعت)	روش استخراج (نگهداری در دمای ۵ درجه سلسیوس)				
	کنترل	سوکسله	مایکروویو	اولتراسوند	خیساندن
۰	۳/۳±۰/۰ Td	۳/۳±۰/۰ Te	۳/۳±۰/۰ Td	۳/۳±۰/۰ Td	۳/۳±۰/۰ Te
۲۴	۴/۳±۰/۱ Tc	۳/۸±۰/۱ Ud	۳/۳±۰/۰ Yd	۳/۲±۰/۲ Yd	۳/۶±۰/۰ Xd
۴۸	۴/۳±۰/۱ Tc	۴/۱±۰/۱ Tc	۳/۵±۰/۰ Yc	۳/۸±۰/۰ Uc	۳/۷±۰/۰ Xc
۷۲	۴/۸±۰/۰ Tb	۴/۵±۰/۱ Ub	۴/۲±۰/۰ Xb	۴/۳±۰/۱ Xb	۴/۰±۰/۱ Yb
۹۶	۵/۷±۰/۰ Ta	۴/۹±۰/۰ Ua	۴/۶±۰/۰ Xa	۴/۹±۰/۰ Ua	۴/۵±۰/۰ Ya

زمان (ساعت)	روش استخراج (نگهداری در دمای ۳۰ درجه سلسیوس)				
	کنترل	سوکسله	مایکروویو	اولتراسوند	خیساندن
۰	۳/۳±۰/۰ Td	۳/۳±۰/۰ Td	۳/۳±۰/۰ Tc	۳/۳±۰/۰ Tc	۳/۳±۰/۰ Tc
۳	۳/۳±۰/۱ Td	۳/۳±۰/۰ Td	۳/۲±۰/۰ Td	۳/۲±۰/۱ TUc	۳/۱±۰/۰ Ud
۶	۳/۹±۰/۰ Tc	۳/۶±۰/۰ Uc	۳/۲±۰/۰ Yd	۳/۳±۰/۰ Xc	۳/۳±۰/۱ XYc
۹	۴/۱±۰/۱ Tb	۳/۸±۰/۰ Ub	۳/۵±۰/۰ Yb	۳/۷±۰/۰ Xb	۳/۷±۰/۰ Xb
۱۲	۴/۶±۰/۰ Ta	۴/۰±۰/۰ Ua	۳/۹±۰/۰ Xa	۴/۰±۰/۰ Ua	۴/۰±۰/۰ Ua

*داده‌های مشخص شده با حروف کوچک متفاوت (a, b,c, ..) در هر ستون نمایانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵٪ است ($p<۰/۰۵$).

**داده‌های مشخص شده با حروف بزرگ متفاوت (T, U, X,Y,Z) در هر سطر نمایانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵٪ است ($p<۰/۰۵$).

عصاره‌های بدست آمده از روش‌های استخراج (خیساندن، اولتراسونیک و مایکروویو)، نسبت به هم عملکردی مشابه را در کنترل باکتری کل نشان دادند و در عملکرد آن‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. عصاره استخراج شده توسط روش سوکسله نسبت به روش‌های دیگر استخراج عملکرد ضعیف‌تری نسبت به کنترل باکتری کل از خود نشان داد که ممکن است بدلیل تخریب حرارتی ترکیبات ضد میکروبی در زمان استخراج باشد. بر اساس تعداد قابل پذیرش باکتری کل در استاندارد ملی ایران به شماره ۲۴۰۶ ($۱۰^۶$/میلی لیتر)، نتایج حاصل نشان داد که در دمای ۳۰ و ۵ درجه سلسیوس شیرهای حاوی عصاره (خیساندن، اولتراسونیک و مایکروویو) به ترتیب ۳ و ۲۴ ساعت به مدت زمان نگهداری افزوده‌اند. روند رشد کلی‌فرم و کپک و مخمر در دمای ۳۰ و ۵ درجه سلسیوس در روزهای نگهداری روندی افزایشی همانند کنترل را نشان دادند با این تفاوت که روند افزایشی در شیر خام حاوی عصاره‌ها در بیشتر موارد روندی کندتری از کنترل نشان دادند. تعداد کلی‌فرم و کپک و مخمر در پایان زمان نگهداری در هر دو دما در شیر خام حاوی عصاره در بیشتر موارد کمتر از کنترل بود. این روند در دمای ۳۰ درجه سلسیوس مشهودتر بود. در تحقیقات El-Deeb (2017) در کل زمان نگهداری جمعیت کلی‌فرم و کپک و مخمر روند افزایشی از خود نشان ندادند که این می‌تواند به دلیل استفاده از غلظت بالاتر عصاره آبی بره موم (۸درصد) در آن تحقیق باشد. عصاره استخراج شده به روش سوکسله در کنترل رشد کلی‌فرم و کپک و مخمر نسبت به روش‌های دیگر عملکردی ضعیف‌تر از خود نشان داد که این امر می‌تواند به دلیل تخریب حرارتی ترکیبات ضد میکروبی در زمان استخراج باشد. این نتایج با نتایج اشاره شده توسط محققان دیگر در خصوص اثر ضد باکتریایی و ضد قارچی بره موم تطبیق دارد.

نتایج حاصل از ارزیابی حسی نمونه‌های حاوی عصاره بره موم بدست آمده از روش‌های استخراج مختلف (خیساندن، سوکسله، مایکروویو و اولتراسونیک) در جداول (۷) و (۸) آمده است. این نتایج نشان داد که مقدار مورد استفاده (۶ میلی‌لیتر در هر ۱۰۰ میلی‌لیتر شیر) تاثیری بر رنگ و بوی نمونه‌ها در زمان نگهداری ۱۲ و ۹۶ ساعت در دماهای ۳۰ و ۵ درجه سلسیوس، ندارد. نتایج بدست آمده با نتایج El-Deeb (2017) که مقادیر ۲، ۴ و ۸ درصد از عصاره آبی بره موم را جهت افزایش ماندگاری در شیر خام استفاده کرده بود، همخوانی دارد. با این تفاوت که غلظت ۸ درصد عصاره بره موم بررنگ و بو شیر خام تاثیر منفی داشته و پذیرش کلی آن مورد قبول واقع نشد.

جدول ۷- تاثیر دما و زمان بر رنگ نمونه های شیر خام در طی زمان نگهداری

زمان (ساعت)	روش استخراج (نگهداری در دمای ۵ درجه سلسیوس)				
	کنترل	سوکسله	مایکروویو	اولتراسوند	خیساندن
۰	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۴/۰ ±۰/۰ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}
۲۴	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}
۴۸	۳/۸ ±۰/۲ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۸ ±۰/۱ ^{a}
۷۲	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۸ ±۰/۲ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۸ ±۰/۲ ^{a}
۹۶	۳/۸ ±۰/۲ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۰ ^{a}

زمان (ساعت)	روش استخراج (نگهداری در دمای ۳۰ درجه سلسیوس)				
	کنترل	سوکسله	مایکروویو	اولتراسوند	خیساندن
۰	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۸ ±۰/۲ ^{a}	۳/۸ ±۰/۱ ^{a}
۳	۳/۸ ±۰/۲ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۸ ±۰/۱ ^{a}
۶	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۸ ±۰/۲ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}
۹	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}
۱۲	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۸ ±۰/۲ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۸ ±۰/۱ ^{a}

*داده‌های مشخص شده با حروف کوچک متفاوت (a, b,c, ..) در هر ستون نمایانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵٪ است ($p<۰/۰۵$).

جدول۸- تاثیر دما و زمان بر بو نمونه های شیر در طی زمان نگهداری

زمان (ساعت)	روش استخراج (نگهداری در دمای ۵ درجه سلسیوس)				
	کنترل	سوکسله	مایکروویو	اولتراسوند	خیساندن
۰	۳/۸ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۸ ±۰/۲ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}
۲۴	۳/۸ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۸ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}
۴۸	۳/۹ ±۰/۱^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۸ ±۰/۲ ^{a}	۳/۸ ±۰/۲ ^{a}
۷۲	۳/۹ ±۰/۰^{a}	۳/۸ ±۰/۲ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۸ ±۰/۲ ^{a}	۳/۸ ±۰/۲ ^{a}
۹۶	۴/۰ ±۰/۰^{a}	۳/۹ ±۰/۱^{a}	۳/۹ ±۰/۱^{a}	۳/۹ ±۰/۰^{a}	۳/۹ ±۰/۱^{a}

زمان (ساعت)	روش استخراج (نگهداری در دمای ۳۰ درجه سلسیوس)				
	کنترل	سوکسله	مایکروویو	اولتراسوند	خیساندن
۰	۳/۹ ±۰/۱^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}
۳	۳/۸ ±۰/۱^{a}	۳/۸ ±۰/۲ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}
۶	۳/۹ ±۰/۱^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۸ ±۰/۲ ^{a}	۳/۸ ±۰/۲ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}
۹	۳/۹ ±۰/۱^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۸ ±۰/۱ ^{a}	۳/۸ ±۰/۲ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}
۱۲	۳/۸ ±۰/۱^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۸ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}	۳/۹ ±۰/۱ ^{a}

*داده‌های مشخص شده با حروف کوچک متفاوت (a, b,c, ..) در هر ستون نمایانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵٪ است ($p<۰/۰۵$).

نتیجه گیری

مقایسه مقادیر ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی موجود در بره موم استخراج شده از روش‌های خیساندن، سوکسله، مایکروویو و اولتراسونیک با استفاده از حلال آب نشان داد که استخراج به روش سوکسله در مقایسه با روش‌های دیگر بالاترین و خیساندن پایین‌ترین مقدار استخراج ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی را دارند. شیر خام حاوی عصاره بره موم ۱۰ درصد استخراج شده به روش‌های مختلف به میزان ۶ درصد می‌تواند به عنوان یک نگهدارنده طبیعی و بدون تاثیر محسوس بر خصوصیات حسی، به منظور جلوگیری از فساد شیرخام مورد استفاده قرار گیرد. همچنین بین روش‌های مختلف استخراج (خیساندن، سوکسله، مایکروویو و اولتراسونیک) عصاره‌گیری به روش سوکسله، با وجود مقادیر بالای استخراج ترکیبات فنلی، عملکردی مناسب به عنوان نگهدارنده نسبت به روش‌های دیگر نشان نداد که این ممکن است

بدلیل استفاده از حرارت بالا و تخریب ترکیبات ضد میکروبی باشد. عصاره‌های استخراج شده با روش‌های خیساندن، مایکروویو و اولتراسونیک عملکردی مشابه در کنترل میکروارگانیسم‌ها از خود نشان دادند. عصاره بره موم به روش‌های مختلف عصاره‌گیری در کنترل pH و اسیدیته قابل تیتراسیون شیر خام موثر بوده بطوری که در بیشتر موارد مانع از کاهش pH و افزایش اسیدیته قابل تیتراسیون در طول زمان نگهداری در دو دما نسبت به کنترل شد. نتایج این تحقیق پتانسیل استفاده از عصاره بره موم را به عنوان یک ماده نگهدارنده در افزایش زمان نگهداری شیر خام نشان می‌دهد. تحقیقات بیشتر جهت بررسی کاربرد این ماده در کارخانجات فرآوری شیر خام و یا فرآورده های شیری پیشنهاد می‌شود. در صورت انکپسوله کردن عصاره بره موم می‌توان از مقادیر بالاتر آن جهت افزایش ماندگاری بیشتر شیر خام بدون تاثیر بررنگ و بو محصول استفاده کرد. از طرفی با توجه به خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالای این عصاره، می‌توان از آن در تولید محصولات فراسودمند حاصل از شیر خام استفاده شود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از پارک علم و فناوری گیلان، واحد خلاقیت و شکوفایی که حمایت مالی این طرح پژوهشی با عنوان "مقایسه عصاره‌های آبی بره موم حاصل از روش‌های مختلف استخراج به عنوان نگهدارنده طبیعی در شیر خام" را تقبل نموده‌اند و همچنین از آزمایشگاه تخصصی ویرومد استان گیلان که در اجرای طرح همکاری نموده‌اند، قدردانی می‌شود.

هیچگونه تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد.

REFERANCES

AL-Ani, I., Zimmermann, S., Rechling, J. & Wink M. (2018). Antimicrobial activities of European propolis collected from various geographic origins alone and in combination with antibiotics. *Medicines*, 5(1), 2-19.

Briones-Labarca, V., Plaza-Morales, M., Giovagnoli-Vicuna, C. & Jamett, F. (2015). High hydrostatic pressure and ultrasound extractions of antioxidant compounds, sulforaphane and fatty acids from Chilean papaya (*Vasconcellea pubescens*) seeds: Effects of extraction conditions and methods. *LWT-Food Science and Technology*, 60(1), 525–534.

Cavalaro, R.I., Cruz, R.G., Dupont, S., Bell, J.M.L.N.M. & Vieira T.M.F.S. (2019). In vitro and in vivo antioxidant properties of bioactive compounds from green propolis obtained by ultrasounds-assisted extraction. *Journal of Food Chemistry*, 4, 100054- 100062.

Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S. & Abert- Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540–560.

Cunha, I.B.S., Sawaya, A.C.H.F., Caetano, F.M., Shimizu, M.T., Marcucci, M.C., Drezza, F.T., Povia, G.S. & Carvalho, P.O. (2004). Factors that influence the yield and composition of Brazilian propolis extracts. *Journal of Brazilian Chemical Society*, 15,964-970.

EI-Deeb, A.M. (2017). Utilization of propolis extract as a natural preservative in raw milk. *Journal of Food and Dairy Science*, 8(8), 315-321.

Gheibi, S., Pourfarzad, A. & Mehregan Nikoo, A. (2020). Extraction of propolis extract and investigation of its effect on quality and shelf life of unpasteurized Doogh. *Animal Production Research*, 9(3), 99-111. (In Farsi).

Hamzah, N. & Leo, Ch.P. (2015). Microwave-Assisted Extraction of Trigona Propolis: The Effects of Processing Parameters. *International Journal of Food Engineering*, 11(6), 43-54.

Huang, S., Zhang, C., Wang, K., Li, G.Q. & Hu, F. (2014). Recent advances in the chemical composition of propolis. *Journal of Molecules*, 19, 19610-19632.

Institute of standards and industrial research of Iran. (2006) Milk and milk products- Determination of titrable acidity and pH value- Test method. National standard No: 2852, 1st.Edition. Retrieved Februrary 13, 2021, from http://isom.isiri.gov.ir/nst.

Institute of standards and industrial research of Iran. (2007). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony-count technique. National standard No: 9263, 1st.Edition. Retrieved February 13, 2021, from http://isom.isiri.gov.ir/nst.

Institute of standards and industrial research of Iran. (2007). Milk and milk products –Enumeration of colony-forming units of yeasts and/or molds-colony-count technique at 25°C. National standard No: 10154, 1st.Edition. Retrieved February 13, 2021, from http://isom.isiri.gov.ir/nst.

Institute of standards and industrial research of Iran. (2015). Microbiology of food and animal feed- a Comprehensive method for searching for and total count method of the most probable detection. National standard No: 5272, 1st.Edition. Retrieved February 13, 2021, from http://isom.isiri.gov.ir/nst.

Khezri, M., Rostami, S., Riseh, R.S. & Alizadeh, A. (2008). Effect of propolis and clotrimazole on controlling aflatoxin in pistachio. *International Journal of Agriculture and Biology*, 8(5), 606-608.

Kubiliene, L., Laugaliene, V., Pavilonis, A., Maruska, A., Majiene, D., Barcauskaite, K. & Savickas, A. (2015). Alternative preparation of propolis extracts: Comparison of their composition and

Sheikhi Koohsar, A. A., Sayyed-Alangi, S. Z., Shamloofar, M. & Sharifian, S. (2018). Effect of different extracts of Iranian propolis on shelf-life of silver crap (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillet in the refrigerator. *Journal of Iranian Food science and Technology*, 15(3), 51-65.

Singleton, V.L. & Rossi, J.R. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.

Trusheva, B., Trunkova, D. & Bankova, V. (2007). Different extraction methods of biologically active components from propolis: a preliminary study. *Chemistry Central Journal*, 1(13), 1-13.

Woisky R.G. & Salatino A. (1998). Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal of Apicultural Research*, 37, 99-105.

biological activities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(1), 156- 166.

Mirzoeva, O.K., Grishanin, R.N. & Colder, P.C. (1997). Antimicrobial action of propolis and some of its components. *Microbiological Research*, 152, 239-246.

Pobiega, K., Krasniewska, K., Derewiaka, D. & Gniewosz M. (2019). Comparison of the antimicrobial activity of propolis extracts obtained by means of various extraction methods. *Journal of Food Science Technology*, 56(12), 5386-5395.

Said, S.A., Khan, S.A., Ahmed, I. & Ali, H.S. (2006). Chemical composition of Egyption and UAE propolis. Pakistan *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 19, 58-61.

Schmidt, K., Stupar, J., Shirley, J., Adapa, S. & Sukup, D. (1996). Factors affecting titratable acidity in raw milk. *Dairy Day*, 340, 1984-2014.