مطالعه اثر عصاره آبی- الکلی میوه عناب بر کیفیت ماست پروبیوتیک و قابلیت زنده مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در آن

سحر غفاری[a]، عطااله اژدری[b*]، غلامرضا شریف‌زاده[c]

[a] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد بیرجند، دانشگاه آزاد اسلامی، بیرجند، ایران
[b] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد بیرجند، دانشگاه آزاد اسلامی، بیرجند، ایران
[c] استادیار اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی، بیرجند، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۲/۲۴ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۷/۱۵

چکیده

مقدمه: فرآورده‌های پروبیوتیک تأثیر شگرفی بر ارتقا سطح سلامت مصرف‌کنندگان داشته و انواع گیاهان دارویی نیز ویژگیهای مفیدی نظیر خواص ضدسرطان، آنتی‌اکسیدان و... دارند، لذا این پژوهش بمنظور مطالعه امکان تولید ماست با استفاده توام از عصاره آبی- الکلی میوه عناب و باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف این عصاره بر خواص ارگانولپتیک فرآورده و همچنین زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک در نمونه‌های ماست تولید شده انجام گردید.

مواد و روش‌ها: شیرخام کم چرب در دمای ۹۰ درجه سلسیوس بمدت ۵ دقیقه حرارت‌دهی و در دمای۴۰ درجه سلسیوس، استارتر سنتی ماست، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و همچنین غلظت های مختلف عصاره عناب (۰، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶ و ۰/۸ گرم در لیتر) به آن افزوده شد. همه تیمارها تا رسیدن به اسیدیته حدود ۸۵- ۸۰ درجه دورنیک، در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری و پس از آن بمدت ۲۱ روز در یخچال نگهداری شدند. تیمارها در روزهای۱، ۷، ۱۴و۲۱ مطابق روش استاندارد جهت شمارش تعداد باکتری پروبیوتیک و پس از ۲۱ روز نگهداری، با کمک تست پانل از نظر ویژگی های حسی مورد ارزیابی قرار گرفتند. داده‌های حاصل با استفاده از آزمون‌های آماری و با کمک نرم‌افزار SPSS-۱۹ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: در تمام تیمارها تعداد باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* طی ۲۱ روز نگهداری در یخچال روند کاهشی داشت اما از لحاظ آماری تاثیر غلظت های مختلف عصاره عناب بر کاهش تعداد این باکتری معنی‌دار نبود ($P>0/05$). همچنین در همه نمونه‌ها در پایان دوره نگهداری در یخچال تعداد باکتری پروبیوتیک بیش از 10^6 cfu/gr بود. نمونه حاوی ۰/۶ گرم در لیتر عصاره عناب هم به لحاظ زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک و هم از نظر خواص ارگانولپتیک بهترین نمونه ارزیابی شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان داد که می‌توان از غلظت ۰/۶ گرم در لیتر عصاره عناب به همراه باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در روند تولید ماست پروبیوتیک به عنوان یک فرآورده فراسودمند جدید استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: *عصاره عناب، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، ماست پروبیوتیک*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: Ataazhdari@yahoo.com

مقدمه

غذاهای فراسودمند[1] مواد غذایی حاوی یک یا چند ترکیب خاص هستند که تاثیر کاربردی بر ارتقا سطح سلامت و تندرستی مصرف کننده دارند. این اجزاء مفید ممکن است در ماده غذایی به طور طبیعی افزایش یافته و یا این‌که عمدا در روند تولید فرآورده به آن اضافه شوند (Villano *et al*., 2016) و موجب ایجاد اثرات سلامت‌بخش نظیر تنظیم فعالیت‌های متابولیک، تناسب اندام، بهبود عملکرد دستگاه‌های گوارش، قلب و عروق و... شوند. مردم کشورهای ژاپن، آمریکا و اروپا از بیش‌ترین مصرف‌کنندگان این‌گونه غذاها بشمار می‌روند و تحقیقات نشان داده که جنس، سن، سطح تحصیلات و وضعیت مالی از جمله عواملی هستند که در میزان مصرف غذاهای فراسودمند موثرند (Tur & Bibloni, 2016).

محصولات پروبیوتیک از متداول‌ترین انواع غذاهای فراسودمند محسوب شده و در سال‌های اخیر تلاش روز افزونی برای استفاده از میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در تولید انواع مواد غذایی صورت گرفته است (Akin *et al*., 2007). پروبیوتیک‌ها نه تنها در فرایند تولید فرآورده ایجاد اشکال نمی‌کنند بلکه در ارتقا میزان سودمندی آن محصول و نیز بهبود سطح سلامت مصرف‌کنندگان بسیار موثرند (Dols *et al*., 2011). از معمول‌ترین کشت‌های میکروبی که در تولید انواع فرآورده‌های پروبیوتیک به کار می‌روند می‌توان به باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*[2]، *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*[3] و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*[4] و ... اشاره کرد (Atallah *et al*., 2016). در این رابطه *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* یکی از موثرترین باکتری‌های پروبیوتیک است که برخی از فواید سلامت‌بخش آن عبارتند از کاهش بروز اسهال، افزایش سیستم ایمنی بدن، کاهش کلسترول خون، بهبود علائم عدم تحمل لاکتوز و اثرات ضد توموری (Noland& Aryana, 2012) . مطالعات نشان داده که استفاده از یک دوز مشخص از باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در موش‌ها، شمار سلول‌های سرطانی روده بزرگ را کاهش می‌دهد (Rao *et al*., 1999).

عناب[5] از جمله گیاهان دارویی متعلق به خانواده رامناسه[6] است (نوری احمدآبادی و همکاران، ۱۳۹۲). این گیاه دارویی در بیشتر استان‌های کشور به‌صورت پراکنده وجود داشته ولی در استان‌های خراسان جنوبی، اصفهان، گلستان، مازندران و فارس بیشتر کشت می‌شود. میوه عناب حاوی انواع مواد قندی، پروتئینی، املاح آلی و ویتامینC بوده و غنی از لینولئیک اسید است. ترکیباتی نظیر فلاوونوئیدها، تری‌ترپنوئیدها[7]، ساپونین‌ها، آلکالوئیدها، استرول‌ها و اسیدلوریک[8] نیز در آن شناسایی شده‌اند (ابراهیمی و همکاران، ۱۳۸۸). خواص درمانی متعددی از جمله خواص ضد التهابی (Taati *et al*., 2011)، ضد سرطانی، ضد صرعی، ضد دیابتی، کاهش دهنده چربی خون و همچنین خواص آنتی‌اکسیدانی‌برای آن به اثبات رسیده است (نوری احمدآبادی و همکاران، ۱۳۹۲).

میوه عناب یکی از محصولات کشاورزی استراتژیک استان خراسان جنوبی بشمار می‌رود که متاسفانه به دلیل کمبود کارخانجات فرآوری در سطح استان و حتی کشور اغلب با حداقل سود، خام‌فروشی شده ضمن آنکه مقدار زیادی از این محصول با ارزش حین نگهداری و عرضه به روش‌های سنتی از چرخه مصرف خارج می گردد، از طرفی به نظر می‌رسد با توجه به طعم و مزه مطلوب و نیز خواص تغذیه‌ای و درمانی این میوه می‌توان از آن در فرمولاسیون انواع فرآورده‌های غذایی استفاده کرد لذا در این پژوهش تصمیم گرفته شد تا از عصاره میوه عناب در فرمولاسیون یکی از فرآورده‌های لبنی مفید و پرمصرف استفاده شود، در این رابطه از مهمترین فرآورده‌های لبنی تخمیری و پروبیوتیک می‌توان به ماست غنی‌شده با انواع باکتری‌های پروبیوتیک اشاره کرد. ماست یکی از قدیمی‌ترین محصولات لبنی تخمیری است که به دلیل خواص تغذیه‌ای فراوان، تنوع روزافزون در ارتباط با صنعتی شدن و قابلیت دسترسی آسان به عنوان یک غذای تخمیری مدرن، بسیار محبوب است (Corrieu & Beal, 2016).

مطالعات مختلفی در زمینه تاثیر انواع گیاهان دارویی بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در فرآورده‌های لبنی انجام شده است به عنوان مثال مرحمتی‌زاده و همکاران (۱۳۹۰) در بررسی اثر افزودن پودر آویشن بر زنده‌مانی

[1] Functional Foods [2] *Lactobacillus acidophilus* [3] *Bifidobacterium bifidum* [4] *Bifidobacterium lactis*
[5] *Ziziphus jujube* [6] Rhamnaceae [7] Triterpenoid [8] Lauric acid

باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در شیر و ماست نشان دادند که طی دوره ۱۵روزه تعداد باکتری‌ها کاهش یافته و همچنین بین نمونه شاهد و نمونه‌های حاوی غلظت‌های مختلف از آویشن اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت. در تحقیقی دیگر رضایی و همکاران (۱۳۹۲) به این نتیجه رسیدند که افزودن عصاره نعناع به ماست پروبیوتیک بدون چربی بر میزان *PH* و رشد باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* تأثیر معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵).

این تحقیق جهت بررسی امکان استفاده توام از عصاره آبی-الکلی میوه عناب و باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در روند تولید ماست پروبیوتیک و چگونگی تاثیر این عصاره بر زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک مورد نظر طی مدت زمان نگهداری فرآورده در یخچال (۲۱ روز) انجام گرفت و هدف اصلی تولید فرآورده‌ای جدید بود به‌گونه‌ای که محصول تولید شده علاوه بر دارا بودن خواص مفید یک فرآورده پروبیوتیک، تاحدی از خواص ارگانولپتیک جدید و اثرات سودمند ناشی از بکارگیری میوه عناب نیز برخوردار بوده و مورد قبول مصرف کنندگان قرار گیرد. لازم به ذکر است طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۱۱۳۲۵، در صورتی می‌توان یک فرآورده را پروبیوتیک دانست که حداقل تعداد باکتری پروبیوتیک در آن بیشتر از 10^6 cfu/gr باشد (بی نام، ۱۳۸۵).

مواد و روش‌ها

مواد اولیه مورد استفاده در این پژوهش شامل شیر حاوی ۲/۵ درصد چربی (تهیه شده از کارخانه لبنی نیمبلوک)، میوه عناب (خریداری شده ازبازار بیرجند)، استارتر سنتی ماست حاوی باکتری‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*[1] و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* تحت گونه *بولگاریکوس*[2] (OPTIFERM-آلمان)، باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (LAFTI-L10 DSL) بصورت خشک شده انجمادی و از نوع DVS[3] (خریداری شده از نمایندگی شرکت DSM هلند در ایران- شرکت آنزیم‌های صنعتی)، محلول رقیق کننده دی‌پتاسیم هیدروژن فسفات (Merck-آلمان)، گازپک (Merck-1.13829.0001-آلمان)، محیط کشت MRS-Agar (Merck-آلمان)، و محیط‌کشت YGC[4] (Merck- آلمان) بودند.

- تهیه عصاره آبی- الکلی عناب

جهت تهیه عصاره آبی-الکلی میوه عناب از روش ماسراسیون[5] استفاده گردید، بدین منظور ابتدا هسته عناب‌ها جدا و سپس میوه‌ها در دمای اتاق، در مجاورت هوا و در زیر سایه به طور کامل خشک و آسیاب شدند. مقدار ۷۵۰ گرم پودر عناب به مخلوط ۲ لیتری از آب مقطر دیونیزه (۳۰٪) و الکل اتانول۹۶ درجه (۷۰٪) اضافه و با کمک شیکر (IKA KS260 B. -آلمان) در دمای آزمایشگاه به مدت ۷۲ ساعت هم‌زده شد. محتویات با کاغذ صافی (با منافذ ۲۵µm)، صاف شده و با کمک تبخیر کننده دوار[6] (IKA RV10- آلمان) در دمای ۴۵ درجه سلسیوس تا حد امکان تغلیظ گردید. عصاره بدست آمده به مدت ۷۲ ساعت در آون (Memmert UM 400- آلمان) با دمای ۴۵ درجه سلسیوس قرار داده شد تا به وزن ثابت برسد. عصاره حاصل به عنوان عصاره مرجع تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد (زعیمی برواتی و همکاران، ۱۳۹۴).

- آماده‌سازی ماست پروبیوتیک حاوی عصاره عناب

شیرخام حاوی ۲/۵ درصد چربی در دمای ۸۵-۹۰ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه حرارت دهی شد، پس از آن دمای شیر تا۴۰ درجه سلسیوس خنک گردید. تعداد ۶ ظرف استریل تهیه و در هر یک به میزان یک لیتر شیر حرارت دیده ریخته شد. جهت آماده سازی تیمارهای مورد نیاز در این تحقیق به هر یک از۶ ظرف حاوی یک لیتر شیر حرارت دیده ترکیبات ذیل اضافه گردید:

شاهد ۱: ۰/۰۳gr باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و ۰/۰۲۴gr استارتر سنتی ماست (فاقد عصاره عناب).

شاهد ۲: ۰/۰۳gr باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (فاقد استارتر سنتی ماست و عصاره عناب).

تیمارهای یک تا چهار: به ترتیب ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶و ۰/۸gr/Lit عصاره عناب، ۰/۰۲۴gr استارتر سنتی ماست و ۰/۰۳gr باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس.

[1] *Streptococcus thermophilus* [2] *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* [3] Direct Vat Set
[4] *Yeast Extract Glucose Chloramphenicole Agar* [5] Maceration [6] Rotary Evaporator

لازم به ذکر است که نمونه شاهد ۲ جهت ارزیابی توان باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در افزایش اسیدیته شیر (در غیاب باکتری‌های لاکتیک استارتر سنتی ماست) در روند گرمخانه‌گذاری و تولید ماست و نیز بررسی میزان زنده مانی آن در حین نگهداری فرآورده در یخچال انتخاب گردید.

گرمخانه‌گذاری در شرایط هوازی و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس صورت پذیرفت. طی دوره گرمخانه‌گذاری هر دو ساعت آزمون اسیدیته و pH تا رسیدن به اسیدیته حدود۸۵-۸۰ درجه دورنیک و pH حدود ۴/۴-۴/۲ انجام گردید. pH نمونه‌ها توسط دستگاه pH متر (Hanna-pH211- پرتقال) اندازه‌گیری شده و برای محاسبه اسیدیته از روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال در حضور معرف فنل فتالئین استفاده شد (بی‌نام، ۱۳۸۵). پس از رسیدن به اسیدیته و pH نهایی، نمونه‌ها به یخچال با دمای۴ درجه سانتی‌گراد انتقال داده شدند.

- شمارش باکتری پروبیوتیک

طی مدت زمان نگهداری در یخچال، هریک از نمونه‌های ماست عناب پروبیوتیک تولید شده در روزهای ۱، ۷، ۱۴ و ۲۱ جهت شمارش باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به روش شمارش مستقیم مورد ارزیابی قرار گرفتند (بی‌نام، ۱۳۸۵). جهت انجام کشت میکروبی ابتدا از هر یک از نمونه‌ها رقت‌های اعشاری (10^{-3}و10^{-4}) تهیه گردید. بدین منظور از دی‌پتاسیم‌هیدروژن‌فسفات به‌عنوان محلول رقیق‌کننده استفاده شد (بی‌نام، ۱۳۹۰). کشت باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در محیط‌کشت MRS-Agar حاوی آنتی‌بیوتیک‌های کلیندامایسین هیدروکلراید[1] و سیپروفلوکساسین‌هیدروکلراید[2] (MRS/CL/CIP)، به صورت کشت سطحی انجام شد، گرمخانه‌گذاری به صورت هوازی و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت صورت گرفت. بعد از طی مدت زمان گرمخانه‌گذاری، کلنی‌های شاخص در هر رقت شمارش شده و تعداد باکتری‌ها در هرگرم از نمونه محاسبه گردید (بی‌نام، ۱۳۸۵).

- شمارش کپک و مخمر

به منظور شمارش تعداد کپک و مخمر، پس از ۲۱ روز نگهداری در یخچال، از هر یک از نمونه‌های ماست پروبیوتیک تولید شده، در محیط‌کشت YGC کشت میکروبی انجام شده و پلیت‌ها به صورت هوازی در انکوباتور یخچال‌دار (UELP FTC 90E- ایتالیا) در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۵-۳ روز گرمخانه گذاری شدند. بعد از این مدت کلنی‌ها شمارش شده و تعداد کپک و مخمر در هر گرم از نمونه‌های مورد آزمون محاسبه گردید (بی نام، ۱۳۸۶).

- ارزیابی حسی

در روز ۲۱ تمامی تیمارها با استفاده از تست پانل از نظر ویژگی‌های حسی ارزیابی شدند، بدین منظور در پرسش‌نامه مورد استفاده هر یک از عوامل عطر و بو، طعم و مزه، قوام، شکل ظاهری و پذیرش کلی در ۵ سطح خیلی خوب، خوب، متوسط، ضعیف و خیلی ضعیف مورد سوال قرار گرفت (بی نام، ۱۳۷۷) و نتایج با استفاده از آزمون‌های آماری توسط نرم‌افزار SPSS -۱۹ مورد تحلیل و بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها

میزان میانگین اسیدیته و pH تیمارها در روند تولید ماست پروبیوتیک حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و غلظت‌های مختلف عصاره عناب طی دوره گرمخانه‌گذاری در جدول ۱ نشان داده شده است، در این رابطه تغییرات pH و اسیدیته نمونه‌های حاوی غلظت‌های مختلف عصاره عناب مشابه نمونه شاهد ۱ (فاقد عصاره) بوده و از این لحاظ تمامی تیمارها (به جز شاهد ۲) طی ۶ ساعت گرمخانه‌گذاری به حد مطلوب رسیدند. در نمونه شاهد۲ به دلیل عدم استفاده از استارتر سنتی ماست که نقش اصلی تخمیر، کاهشpH و افزایش اسیدیته را در روند تولید فرآورده به‌عهده دارد، بعد از ۱۵ساعت گرمخانه‌گذاری، pH و اسیدیته به حد مطلوب رسید. بر اساس نتایج آزمون کروسکال‌والیس اختلاف آماری معنی‌داری در هیچ یک از تیمارها مشاهده نشد ($P>0/05$).

[1] *Clindamycin hydrochloride*

[2] *Ciprofloxacin hydrochloride*

در جدول ۲ میانگین اسیدیته و pH در هر یک از تیمارهای مورد مطالعه در روز تولید (روز اول) و نیز پایان دوره نگهداری در یخچال(روز بیست‌ویکم) مقایسه شده است. بر اساس داده‌های این جدول در روز تولید در میزان اسیدیته و همچنین pH هیچ یک از تیمارها اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). پس از ۲۱ روز نگهداری در یخچال میزان اسیدیته نمونه‌ها افزایش یافته و میزان pH کاهش یافت، در این رابطه درنمونه شاهد ۱ و همچنین تیمارهای ۱تا ۴ اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵) ولی در نمونه شاهد۲ (فاقد استارتر سنتی ماست) میزان اسیدیته بطور معنی‌داری کمتر از سایر نمونه‌ها بود (P<۰/۰۵).

- بقای باکتری‌های پروبیوتیک

طی مدت نگهداری نمونه‌ها در یخچال رشد باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در تمامی تیمارهای حاوی عصاره و همچنین در نمونه شاهد۱ از روز ۱ تا ۲۱ روند کاهشی داشت با وجود این، در پایان دوره ۲۱ روزه سردخانه‌گذاری در تمام تیمارها تعداد باکتری مورد مطالعه از حداقل توصیه شده در فرآورده‌های پروبیوتیک ($۱۰^{۶}$cfu/gr) بیش‌تر بود (بی‌نام، ۱۳۸۵). در نمونه شاهد ۲ که فاقد عصاره عناب و باکتری‌های استارتر سنتی ماست بود تعداد باکتری پروبیوتیک از روز ۱ تا روز ۱۴روند افزایشی داشته و پس از آن کاهش یافت ولی با این حال باز هم در روز ۲۱ این میزان از $۱۰^{۶}$cfu/gr بیش‌تر بود.

در جدول ۳ میانگین تعداد باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در یک گرم از هر یک از تیمارها طی مدت ۲۱ روز نگهداری دریخچال با هم مقایسه شده است. بر این اساس مشخص گردید که استفاده از ۰/۶گرم در لیتر عصاره عناب تاثیر مثبتی بر زنده مانی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* داشته ولی افزایش میزان عصاره اختلاف آماری معنی‌داری در میانگین باکتری مورد نظر در۶ گروه مورد مطالعه ایجاد نکرد (P =۰/۰۹۳).

جدول۱- مقایسه میانگین اسیدیته(درجه دورنیک) و pH تیمارها در روند تولید ماست پروبیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و غلظت‌های مختلف عصاره میوه عناب طی دوره گرمخانه‌گذاری

گروه مورد مطالعه	PH $\bar{X}$±SD	اسیدیته $\bar{X}$±SD
شاهد۱ (فاقد عصاره عناب)	۵±۰/۹۷	۵۶±۳۹/۹
تیمار یک (حاوی ۰/۲gr/Lit)	۵/۰۳±۰/۹۶	۵۹/۳±۲۹/۹
تیمار دو (حاوی ۰/۴gr/Lit)	۴/۸۴±۰/۹۵	۶۲/۷±۲۸/۹
تیمار سه (حاوی ۰/۶gr/Lit)	۴/۷۸±۱/۰۴	۶۲±۲۷/۹
تیمار چهار (حاوی ۰/۸gr/Lit)	۴/۹۲±۱/۱۱	۵۹/۳±۳۳/۶
شاهد۲ (فاقد استارتر ماست و عصاره)	۵/۸۵±۰/۸۸	۳۴±۲۷/۷
نتیجه آزمون کروسکال والیس	X^2= ۵/۶۲	X^2 =۳/۱
	df= ۵	df= ۵
	P=۰/۳۴	P=۰/۶۹

جدول ۲- مقایسه میانگین اسیدیته و pH در هریک از تیمارهای مورد مطالعه در روز تولید و نیز روز بیست ویکم

گروه مورد مطالعه	روز اول		روز بیست ویکم	
	اسیدیته (درجه دورنیک)	PH	اسیدیته (درجه دورنیک)	PH
	$\bar{X}$±SD	$\bar{X}$±SD	$\bar{X}$±SD	$\bar{X}$±SD
شاهد۱ (فاقد عصاره عناب)	۸۱±۱/۱۸ [a]	۴/۴۵±۰/۳ [a]	۹۱/۲±۱/۵۲[a]	۴/۲۸±۰/۲۴[a]
تیمار یک (حاوی ۰/۲gr/Lit عصاره عناب)	۸۰/۲±۲/۶۳ [a]	۴/۴۲±۰/۲۱ [a]	۹۲/۶±۰/۹۳[a]	۴/۲۵±۰/۳۶[a]
تیمار دو (حاوی ۰/۴gr/Lit عصاره عناب)	۸۵±۲/۹۱ [a]	۴/۲۳±۰/۲۳ [a]	۹۴±۲/۱۸[a]	۴/۱۸±۰/۴۱[a]
تیمار سه (حاوی ۰/۶gr/Lit عصاره عناب)	۸۱/۲۳±۰/۹۷ [a]	۴/۱۲±۰/۱۸ [a]	۹۳/۱±۱/۱۲[a]	۴/۱۰±۰/۳۷[a]
تیمار چهار (حاوی ۰/۸gr/Lit عصاره عناب)	۸۴±۲/۱ [a]	۴/۱۵±۰/۲۰ [a]	۹۳/۴±۰/۸۶[a]	۴/۱۱±۰/۳۹[a]
شاهد۲ (فاقد استارتر ماست و عصاره عناب)	۸۰/۶±۱/۶ [a]	۴/۴۳±۰/۴۰ [a]	۸۴/۸±۱/۹۴[b]	۴/۴۵±۰/۲۱[a]

حروف کوچک متفاوت در هر ستون بیانگر اختلاف معنی دار در سطح۰/۰۵=α یعنی ۰/۰۵ >Pمی باشد.

جدول ۳- مقایسه میانگین تعداد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در یک گرم ماست عناب پروبیوتیک طی مدت نگهداری تیمارها در یخچال

گروه مورد مطالعه	تعداد باکتری ($\times 10^6$/ gr) $\bar{X}\pm SD$
شاهد۱ (فاقد عصاره عناب)	۲/۹۴±۰/۴۷
تیمار یک (حاوی ۰/۲gr/Lit عصاره عناب)	۲/۱±۰/۸۲
تیمار دو (حاوی ۰/۴gr/Lit عصاره عناب)	۱/۴۸±۱/۲۱
تیمار سه (حاوی ۰/۶gr/Lit عصاره عناب)	۳/۱۹±۰/۳۵
تیمار چهار (حاوی ۰/۸gr/Lit عصاره عناب)	۱/۹۹±۰/۹۸
شاهد۲ (فاقد استارتر ماست و عصاره عناب)	۲/۱۴±۰/۵۸
نتیجه آزمون کروسکال والیس	X^2 = ۹/۴۳ df=۵ P=۰/۰۹۳

به طور معمول قابلیت نگهداری انواع ماست۲۱ روز در نظر گرفته می‌شود. با توجه به اسیدیته بالای ماست، کپک‌ها از جمله مهم‌ترین عوامل میکروبی هستند که می‌توانند در این فرآورده تکثیر یافته و باعث فساد آن شوند، در این رابطه حد مجاز استاندارد حداکثر ۱۰۰cfu/gr تعیین شده است (بی‌نام، ۱۳۸۵) ، لذا پس از ۲۱ روز نگهداری در یخچال، تمامی نمونه‌های مورد مطالعه از این نظر نیز ارزیابی شدند که نتایج در جدول ۴ ذکر شده است. بر اساس داده‌های جدول ۴ میزان آلودگی به کپک و مخمر در تمامی تیمارها در حد مجاز استاندارد بوده و اختلاف بین نمونه‌ها از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

جدول ٤- مقایسه میانگین تعداد کپک و مخمر در هریک از تیمارهای مورد مطالعه پس از ۲۱ روز نگهداری در یخچال

گروه مورد مطالعه	تعداد کپک و مخمر (cfu/gr) $\bar{X}\pm SD$
شاهد۱ (فاقد عصاره عناب)	۸۲±۵/۱۳[a]
تیمار یک (حاوی ۰/۲gr/Lit عصاره عناب)	۷۹±۲/۹۳[a]
تیمار دو (حاوی ۰/۴gr/Lit عصاره عناب)	۷۶±۱/۴۲[a]
تیمار سه (حاوی ۰/۶gr/Lit عصاره عناب)	۷۵±۲/۸۱[a]
تیمار چهار (حاوی ۰/۸gr/Lit عصاره عناب)	۷۳±۳/۹۴[a]
شاهد۲ (فاقد استارتر ماست و عصاره عناب)	۷۵±۳/۳۲[a]

- ارزیابی حسی

بر اساس جدول شماره ۵، از لحاظ ویژگی‌های عطر و بو، طعم و مزه، قوام، شکل ظاهری (آب انداختگی) و پذیرش کلی بین تیمارهای مورد مطالعه اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵). نتایج ارزیابی حسی که با استفاده از تست پانل انجام شد نشان داد نمونه حاوی باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و gr/Lit ۰/۶ عصاره عناب از لحاظ ویژگی‌های عطر و بو، طعم و مزه، قوام، شکل ظاهری (آب انداختگی) و پذیرش‌کلی بهتر از سایر نمونه‌ها بود(P<۰/۰۰۱). لازم به ذکر است ویژگی‌های یاد شده در فرآورده حاوی gr/Lit ۰/۶ عصاره آبی- الکلی عناب نسبت به نمونه شاهد۱(فاقد عصاره) نیز بهتر بود (P<۰/۰۵).

جدول ۵- مقایسه میانگین شاخص های ارزیابی حسی در ماست پروبیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و غلظت‌های مختلف عصاره آبی- الکلی عناب در پنج گروه مورد مطالعه در روز ۲۱ نگهداری در یخچال

شاخص ارزیابی	عطر و بو	طعم و مزه	قوام	ظاهر (آب انداختگی)	پذیرش کلی
شاهد ۱ (a)	۳/۱۳ ±۰/۶۹	۳/۱۷± ۰/۷۱	۳/۲۶± ۰/۷۱	۳/۳۹ ±۰/۶۹	۳/۳۳ ±۰/۶۱
عصاره ۰/۲ gr/Lit (b)	۲/۳ ±۰ /۶۶	۲/۳۳ ±۰/۷	۲/۸۹± ۰/۶۱	۲/۶۱± ۰/۶۸	۲/۵۲ ±۰/۶۲
عصاره ۰/۴ gr/Lit (c)	۲/۰۹ ±۰/۶۳	۲/۰۸ ±۰/۹۱	۲/۷۶ ±۰/۶۴	۲/۳۹ ±/۶۸	۲/۲۲ ۰±/۶۶
عصاره ۰/۶ gr/Lit (d)	۳/۳۷ ± ۰/۷۴	۳/۲۶ ±۰/۸۵	۳/۶۱ ±۰/۵۸	۳/۳۹ ±۰/۶۸	۳/۳۳± ۰/۷۳
عصاره ۰/۸ gr/Lit (e)	۱/۸۵ ±۰/۸۶	۱/۸۳ ±۰/۹	۲/۵۶± ۰/۷۵	۲/۲۲ ±/۸۴	۲/۰۲ ±۰/۷۷
نتیجه آزمون کروسکال والیس	X^2=۹۵/۷ df=۴ P<۰/۰۰۱	X^2=۸۲/۷ df=۴ P<۰/۰۰۱	X^2=۵۷/۱ df=۴ P<۰/۰۰۱	X^2=۷۲/۲ df=۴ P<۰/۰۰۱	X^2=۹۱/۱ df=۴ P<۰/۰۰۱
نتیجه آزمون من ویتنی *	(a با b، e با a، c با a، b با a، d با b، e با b، c با d، e با d، e با)	(a با b، c با a، b با a، e با b، d با b، e با d، d با c، e با)	(a با b، c با a، b با a، d با b، e با a، d با c، d با b، e با)	(a با b، e با a، c با a، b با a، d با b، e با b، d با c، e با b، d با c، e با)	(a با b، e با a، c با a، b با a، d با b، e با b، d با c، e با b، d با c، e با)
	P< ۰/۰۰۱	P< ۰/۰۰۱ و e با b، P< ۰/۰۴	P< ۰/۰۰۱	P< ۰/۰۰۱	P< ۰/۰۰۱ و c با b P< ۰/۰۰۹

* تیمارها با حروف کوچک مشخص شده اند و بر اساس آزمون من ویتنی در موارد ذکر شده اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار است (P<۰/۰۵)

بحث

ارزیابی اسیدیته و pH تیمارها طی دوره گرمخانه‌گذاری و تولید ماست پروبیوتیک نشان داد که غلظت‌های مختلف عصاره میوه عناب بر رشد باکتری‌های استارتر سنتی ماست که عمده‌ترین عوامل تولیدکننده اسید و در نتیجه کاهش pH در فرآورده هستند تاثیر منفی ندارد چراکه نمونه شاهد ۱ (فاقد عصاره عناب) و هر یک از تیمارهای ۱ تا ۴ که حاوی غلظت‌های مختلف عصاره عناب بودند همگی تقریبا پس از ۶ ساعت گرمخانه‌گذاری به pH و اسیدیته مطلوب رسیدند و از این لحاظ اختلاف آماری معنی‌داری بین این ۵ نمونه وجود نداشت (P>۰/۰۵)، در این رابطه نتایج مطالعات محققین دیگر نیز نشان داده که اسانس گیاه دارویی نعناع طی مدت زمان نگهداری اثر معنی‌داری بر قابلیت بقای باکتری‌های سنتی ماست ندارد (Simsek *et al.*, 2007)، لازم به ذکر است که در نمونه شاهد۶ (فاقد عصاره و فاقد استارتر سنتی ماست) پس از ۱۵ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، اسیدیته و pH مورد نظر حاصل شد که این امر نیز موید تاثیر بیشتر استارتر سنتی ماست در روند تخمیر ، تولید اسید و در نتیجه کاهش pH است.

میانگین اسیدیته در نمونه‌های مورد مطالعه پس از ۲۱ روز نگهداری در یخچال نسبت به روز ۱ (روز تولید فرآورده) افزایش و میزان pH کاهش یافت. در این رابطه پس از ۲۱ روز نگهداری در یخچال اختلاف میزان اسیدیته در نمونه شاهد ۱ و همچنین تیمارهای ۱ تا ۴ از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵) ولی در نمونه شاهد ۲ (فاقد استارتر سنتی ماست) میزان اسیدیته بطور معنی‌داری کمتر از سایر نمونه‌ها بود (P< ۰/۰۵) که این امر را می‌توان به نقش بیشتر باکتری‌های استارتر سنتی ماست در روند تخمیر و تولید اسید لاکتیک نسبت داد.

در نمونه شاهد ۱ و همچنین تیمارهای ۱ تا ۴ مورد مطالعه رشد باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* طی ۲۱ روز نگهداری در یخچال روند کاهشی داشت ولی آزمون آماری کروسکال والیس نشان داد که افزایش غلظت عصاره عناب اختلاف معنی‌داری در میانگین باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در گروه‌های مورد مطالعه ایجاد نکرده است (P> ۰/۰۵)، با این وجود در تمامی نمونه‌های مذکور تعداد باکتری پروبیوتیک بیش‌تر از حداقل توصیه شده برای یک فرآورده پروبیوتیک ($۱۰^{۶}$cfu/gr) بوده (بی‌نام، ۱۳۸۵) و بر این اساس می‌توان ماندگاری فرآورده حاوی غلظت‌های مختلف عصاره عناب را نیز همانند ماست پروبیوتیک فاقد عصاره حداقل۲۱ روز در نظر گرفت. یکی از دلایل کاهش در شمار سلول‌های پروبیوتیک که در همه نمونه‌های ماست اتفاق افتاد را می‌توان به تجمع اسیدهای آلی به عنوان نتیجه رشد و تخمیر نسبت داد (Shah, 2000) در جدول شماره ۲ افزایش اسیدیته در روز ۲۱ نسبت به روز تولید مشهود است که این امر به دلیل فعالیت باکتری‌های لاکتیک می‌باشد. تولید متابولیت‌هایی نظیر پراکسید هیدروژن توسط باکتری‌های سنتی ماست (بویژه *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس*) و همچنین محدودیت دسترسی به مواد مغذی در محیط از جمله سایر عوامل موثر بر کاهش تعداد باکتری‌های پروبیوتیک طی مدت زمان نگهداری در یخچال هستند (Dave & Shah, 1997). مطالعات Smith و همکاران (۲۰۱۴) همانند نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که ادویه‌های هل، دارچین و جوزهندی بر روی جمعیت پروبیوتیک‌ها در طول ۴ هفته نگهداری ماست در یخچال تاثیری نداشت. در تحقیق دهداری و همکاران (۱۳۹۴) نیز تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در ماست حاوی غلظت‌های مختلف آویشن در مدت۲۱ روز، روند کاهشی داشت و تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن بر کاهش تعداد باکتری موردنظر معنی‌دار نبود. مرحمتی‌زاده و همکاران (۱۳۹۰) در بررسی اثر افزودن پودر آویشن بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در شیر و ماست نشان دادند که طی دوره ۱۵روزه تعداد باکتری‌ها کاهش یافته و همچنین بین نمونه شاهد و نمونه‌های حاوی غلظت‌های مختلف از آویشن اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت.

در نمونه شاهد ۲ تعداد باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* از روز ۱ تا ۱۴ روند افزایشی داشته و پس از آن تا روز ۲۱ روند کاهشی یافت ولی باز هم این میزان از حداقل توصیه شده برای یک فرآورده پروبیوتیک بیش‌تر بود. به‌نظر می‌رسد عدم وجود استارتر سنتی ماست در نمونه شاهد ۲ موجب دسترسی بیشتر باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به مواد غذایی شده و از طرفی روند تغییرات اسیدیته و تولید متابولیت‌های مضر را به تاخیر انداخته به

همین دلیل تا روز۱۴ نگهداری در یخچال این باکتری از فرصت رشد مناسبی برخوردار بوده است ولی نهایتا در هفته سوم نگهداری در یخچال به دلیل کاهش مواد غذایی و ... روند رشد باکتری مذکور کاهش یافته است. رهبری و همکاران (۱۳۹۴) در بررسی تاثیر فیبرگیاه گشنیز بر رشد باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در ماست پروبیوتیک نشان دادند که افزایش غلظت فیبرگشنیز اثر مثبت بر رشد باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* داشته و از فیبر گشنیز می‌توان برای تولید ماست سین‌بیوتیک[1] بهره گرفت.

با توجه به اسیدیته بالای ماست، کپک‌ها از جمله مهم‌ترین عوامل میکروبی هستند که می‌توانند در این فرآورده تکثیر یافته و باعث فساد آن شوند، در این رابطه حد مجاز آلودگی به کپک در ماست پروبیوتیک، حداکثر ۱۰۰cfu/gr تعیین شده است (بی‌نام، ۱۳۸۵). بر اساس آزمون میکروبی انجام شده در تمامی نمونه‌ها تعداد کپک و مخمر در هر گرم از فرآورده در حد مجاز استاندارد بود بنابراین از این لحاظ نیز می‌توان ادعا نمود که تمامی تیمارهای حاوی غلظت‌های مختلف عصاره آبی- الکلی عناب همانند نمونه شاهد ۱ که فاقد عصاره بود حداقل به مدت ۲۱ روز قابلیت نگهداری در یخچال را دارند.در این زمینه اختلاف بین نمونه‌ها از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

براساس نتایج حاصل از تست پانل انجام شده، نمونه حاوی ۰/۶ gr/Lit عصاره عناب از نظر عطر و بو، طعم و مزه ، قوام، شکل ظاهری (میزان آب انداختگی) و همچنین از لحاظ پذیرش کلی مطلوب‌تر از سایر تیمارها (حتی نمونه شاهد۱) بود. همانگونه که در جدول ۵ نیز اشاره شده وضعیت ظاهری (آب انداختگی) نمونه حاوی ۰/۶gr/Lit عصاره بطور معنی‌داری از نمونه‌های حاوی مقادیر کمتر عصاره (۰/۴ gr/Lit و ۰/۲) بهتر بود (P< ۰/۰۵) ضمن آن که افزودن ۰/۸ gr/Lit عصاره از لحاظ تمامی خواص ارگانولپتیک فوق الذکر باعث کاهش کیفیت فرآورده شد که در تمامی موارد این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار بود (P< ۰/۰۵) بنابراین مصرف همزمان عصاره عناب به میزان ۰/۶gr/Lit به‌همراه باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، مطلوب مصرف کنندگان بوده و آن‌ها را از مزایای سلامت بخش این محصول فراویژه برخوردار می‌کند. در سال‌های اخیر مطالعات متعددی در زمینه بررسی تاثیر اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی بر پروبیوتیک‌ها انجام شده است به عنوان مثال Smith و همکاران (۲۰۱۴) در بررسی تاثیر ادویه‌های هل، دارچین و جوزهندی بر فعالیت باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم انیمالیس*[2] تحت‌گونه لاکتیس و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ماست پروبیوتیک نشان دادند که تولید ماست پروبیوتیک شامل این ادویه‌ها ویژگی‌های حسی خوبی داشته و بهترین نتیجه ارزیابی حسی‌مربوط به نمونه حاوی ادویه هل و باکتری‌های پروبیوتیک بود. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ماست تولید شده نیز حتی بیش از دوره ذخیره سازی نیز حفظ شد. دهداری و همکاران (۱۳۹۴) در بررسی تأثیر اسانس آویشن بر فعالیت باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در ماست پروبیوتیک به این نتیجه رسیدند که نمونه حاوی هر دو باکتری از لحاظ حسی و ماندگاری از سایر نمونه‌ها بهتر بود.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که می‌توان از عصاره میوه عناب برای تولید ماست پروبیوتیک حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به عنوان یک ماده غذایی فراویژه جدید استفاده کرد و با افزودن ۰/۶gr/lit از این عصاره در فرمولاسیون ماست، محصول نهایی همانند ماست معمولی حداقل به مدت۲۱ روز قابلیت نگهداری داشته و از طرفی تعداد باکتری پروبیوتیک در هرگرم از ماست تولید شده حتی پس از ۲۱ روز نگهداری در یخچال از حداقل توصیه شده برای یک فراورده پروبیوتیک بیش‌تر خواهد بود، ضمن آن‌که خواص ارگانولپتیک محصول حاوی عصاره میوه عناب از نظر عطر و بو، طعم و مزه، قوام، شکل ظاهری و همچنین از لحاظ پذیرش‌کلی در مقایسه با ماست معمولی بهبود خواهد یافت. بدین ترتیب در راستای اجرای سیاست‌های اقتصاد مقاومتی و جلوگیری از خام فروشی محصولات، امکان استفاده از میوه عناب در تهیه مواد غذایی فراسودمند نظیر ماست پروبیوتیک وجود دارد.

[1] *Synbiotic yoghurt*

[2] *Bifidobacterium animalis*

سپاسگزاری

مقاله حاضر برگرفته از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد، رشته مهندسی صنایع غذایی، مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد بیرجند بوده و در محل آزمایشگاه میکروبیولوژی آن دانشگاه انجام شده است، لذا بدین‌وسیله از عزیزانی که در انجام این تحقیق ما را یاری کردند تقدیر و تشکر می‌گردد.

منابع

ابراهیمی، ص.، پورمحمدی، ع.، محمدحسینی، م.، نصراللهی، ح. و اشکانی، س. (۱۳۸۸). تعیین تاثیر عصاره گیاه عناب همراه با فتوتراپی در کاهش بیلی روبین در یرقان نوزادی. مجله ارمغان دانش، دوره ۱۴، شماره۴، صفحات ۴۷-۴۰.

بی‌نام. (۱۳۷۷). اصول کلی ارزیابی حسی شیر و فرآورده‌های آن با روش نمره‌دهی. استاندارد ملی شماره ۴۶۹۱. چاپ اول.

بی‌نام. (۱۳۸۵). شیر و فرآورده‌های آن. تعیین اسیدیته و PH- روش آزمون، استاندارد ملی شماره ۲۸۵۲. چاپ اول

بی‌نام. (۱۳۸۵). فرآورده‌های شیری شمارش *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* احتمالی در محیط کشت انتخابی- روش شمارش کلنی در ۳۷°C. استاندارد ملی شماره ۹۶۱۶. چاپ اول.

بی‌نام. (۱۳۸۶). شیر و فرآورده‌های آن- شمارش واحدهای تشکیل دهندهٔ کلنی کپک و/ یا مخمر شمارش کلنی در پلیت در دمای ۲۵°C. استاندارد ملی شماره ۱۰۱۵۴. چاپ اول.

بی‌نام. (۱۳۸۵). ماست پروبیوتیک-ویژگی‌ها و روش‌های آزمون. استاندارد ملی شماره ۱۱۳۲۵

بی‌نام. (۱۳۹۰). میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- آماده‌سازی آزمایه، سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمون میکروبیولوژی- قسمت ۵: مقررات ویژه برای آماده سازی شیر و فراورده‌های آن. استاندارد ملی شماره ۵-۸۹۲۳. چاپ اول.

دهداری، ل.، ضیازاده، ا. و دهداری، م. (۱۳۹۴). اثرعصاره آویشن بر زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک در ماست پروبیوتیک. کنفرانس بین‌المللی علوم و مهندسی، امارات - دبی، موسسه ایده پرداز پایتخت ویرا.

رضایی، ع.، خسرو شاهی اصل، ا.، زمردی، ش. و ملکی نژاد، ح. (۱۳۹۲). تأثیر افزودن کازئینات سدیم و عصاره نعناع فلفلی بر زنده مانی *لاکتوباسیلوس کازئی* و ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و آنتی اکسیدانی ماست پروبیوتیک بدون چربی. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، دوره ۳۲ ، شماره ۲، صفحات ۴۳۴-۴۲۳

رهبری، ا.، جلالی، ح.، نجفی، ع. و محمدی نافچی، ع. (۱۳۹۴). بررسی ویژگی‌های میکروبی ماست پروبیوتیک حاوی فیبر گشنیز. چهارمین همایش سراسری کشاورزی و منابع طبیعی پایدار؛ تهران: موسسه آموزش عالی مهر اروند- گروه ترویجی دوستداران محیط زیست.

زعیمی برواتی، ش.، شاهانی‌پور، ک. و منجمی، ر. (۱۳۹۴). بررسی خاصیت سیتوتوکسیک عصاره‌های آبی و هیدروالکلی میوه گواوا (Psidium guajava L.) بر رده سلولی DU-۱۴۵. فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری، دوره ۸، شماره ۳، صفحات ۷۷- ۶۹ .

مرحمتی زاده ،م. ح.، عباسی، م. و رضازاده، س. (۱۳۹۰). بررسی اثر افزودن پودر آویشن بر زنده‌مانی باکتری پروبیوتیکی *لاکتو باسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدو باکتریوم بیفیدوم* در شیر و ماست. مجله علمی پژوهشی زیست فناوری میکروبی. دوره ۳، شماره ۸، صفحات ۶-۱

نوری احمد آبادی، م.، حجتی، م. و صدیقی هفشجانی، م. (۱۳۹۲). اثر عصاره هیدرو الکلی میوه عناب بر سلول‌های خون محیطی در موش آزمایشگاهی نژاد Balb/c، انجمن فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران.

Akin, M. B., Akin, M. S. & Kirmaci, Z. (2007). Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice-cream. Food Chemistry, 104, 93-99.

Atallah, A. A. (2016). The production of bio-yoghurt with probiotic bacteria, Royal jelly and Bee pollen grains. Journal of Nutrition & Food Sciences, 6 (3), 510.

Corrieu, G. & Béal, C. (2016). Yogurt: The Product and its Manufacture. Encyclopedia of food and health. 617–624.

Davem R. I. & Shah, N. P. (1997). Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. International Dairy Journal, 7, 31-4.

Dols, J. A. M., Boon, M. E., Monachese, M., Changalucha, J., Butamanya, N., Varriano, S., Vihant, O., Van Tienen, A., Hummelen, R., & Reid, G.(2011) The impact of probiotic yogurt on HIV positive women in Tanzania. International Dairy Journal, 21, 575–577.

Noland, E. & Aryana, K. J. (2012). Influence of Micro-Encapsulated Probiotic Lactobacillus acidophilus R0052 on the Characteristics of Plain Yogurt. Advances in Microbiology, 2, 364-367.

Rao, C. V., Sanders, M. E., Indranine, C., Simi, B. & Reddy, B. S. (1999). Preservation of Colonic Preneoplastic Lesions by the Probiotic *Lactobacillus acidophilus* NCFMTM in F344 Rats. International Journal of Oncology, 14, 939.

Shah, N. P.(2000). Probiotic bacteria, Selective enumeration and survival in dairy foods. Journal of Dairy Science, 63, 694–909.

Simsek, B., Sagdic, O. & Ozcelik, S. (2007). Survival of *Escherichia coli* O157:H7 during the storage of ayran produced with different spices. Journal of Food Engineering, 79 (2), 679-680.

Smith, S. C., Illupapalayam, V. V. & Gamlath, S. (2014). Consumer acceptability and antioxidant potential of probiotic yogurt with spices. LWT- Food Science and Technology, 55, 255–262.

Taati, M., Alirezaei, M., Moshkatalsadat, M.H., Rasoulian, B., Moghadasi, M. & Sheikhzadeh, F. (2011). Protective effects of Ziziphus jujuba fruit extract against ethanol induced hippocampal oxidative stress and spatial memory impairment in rats. Journal of Medicinal Plants Research, 5, 915-921.

Tur, J. A. & Bibiloni, M. M. (2016). Functional Foods. Encyclopedia of Food and Health, 157–161.

Villaño, D., Gironés-Vilapana, A., García-Viguera, C. & Moreno, D. A. (2016). Development of Functional Foods. Innovation Strategies in the Food Industry, 191–210.