(مقاله پژوهشی)

بررسی اثر عصاره گیاه شنگ بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی ماست پروبیوتیک حاوی *لاکتو باسیلوس کازئی*

محمد ملکی[۱]، پیمان آریایی[۲*]، مهدی شریفی سلطانی[۳]

۱-دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت ا... آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران .

۲- استادیار،گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت ا... آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

۳-گروه دامپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد چالوس، چالوس، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۷/۲۱ تاریخ پذیرش:۱۳۹۹/۱۱/۰۴

DOI: 10.30495/jfst.2021.1911998.1678

چکیده

در این پژوهش اثر عصاره گیاه شنگ بر قابلیت زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک، خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی ماست پروبیوتیک بررسی شد. بدین منظور، عصاره گیاه شنگ با استفاده از روش اولتراسوند استخراج، مقادیر ترکیبات فنلی و ترکیبات شیمیایی عصاره سنجیده شد. نتایج نشان داد میزان ترکیبات فنلی کل در عصاره گیاه شنگ برابر با ۲/۱۸±۸۹۰/۰۴ میلی‌گرم اسیدگالیک برگرم بود و بیشترین ترکیبات عصاره شامل شامل ان-هگزادکونیک-اسید (۲۵/۴۵)، ۴-ونینیل گیایسول (۱۹/۷۸)، بتا-کاریوفیلن (۱۵/۵۵) و هینیکوسان (۹/۴۵) بوده است. به منظور بررسی اثر عصاره گیاه شنگ بر ویژگی‌های ماست پروبیوتیک طی‌دوره نگهداری ۱۵ روزه ۳ تیمار شامل شاهد، عصاره با غلظت ۷۵۰ppm، عصاره با غلظت ۱۰۰۰ ppm تولید و خصوصیات فیزیکوشیمیایی شامل pH، اسیدیته، آب اندازی، ویسکوزیته، زنده مانی باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* و خصوصیات حسی (رنگ، بو، مزه و پذیرش کلی) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد، افزودن عصاره شنگ به ماست، بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی تاثیر می‌گذارد. نمونه‌های دارای عصاره، pH، سینرزیس کمتر و اسیدیته، ویسکوزیته بیشتری در مقایسه با نمونه شاهد داشتند ($P<۰/۰۵$). همچنین در این نمونه‌ها روند کاهشی زنده مانی باکتری پروبیوتیک طی دوره نگهداری نسبت به تیمار شاهد کندتر شد و با وجود اثرگذاری عصاره بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ماست، ماست حاوی عصاره از نظر خصوصیات حسی، قابل پذیرش بود. به طور کلی، میتوان از عصاره گیاه شنگ به منظور ارتقا ویژگی‌های کیفی و ارگانولپتیکی فرآورده‌های لبنی فراسودمند استفاده نمود.

واژه های کلیدی: ماست، *لاکتوباسیلوس کازئی*، ترکیبات فنولی، گیاه شنگ، اولتراسوند.

* مسئول مکاتبات:p.aryaye@yahoo.com

۱- مقدمه

غذاهای فراسودمند[1] مواد غذایی حاوی یک یا چند ترکیب خاص هستند که تاثیرکاربردی بر ارتقا سطح سلامت و تندرستی مصرف‌کننده 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 و موجب ایجاد اثرات سلامت بخش نظیر تنظیم فعالیت‌های متابولیک، تناسب اندام، بهبود عملکرد دستگاه‌های گوارش، قلب و عروق و... شوند (۲۹). محصولات پروبیوتیک از متداولترین انواع غذاهای فراسودمند محسوب شده و در سال‌های اخیر تلاش روزافزونی برای استفاده از میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در تولید انواع مواد غذایی صورت‌گرفته است (۸). از معمول‌ترین کشت میکروبی که در تولید انواع فرآورده‌های پروبیوتیک به‌کار می‌روند می‌توان به باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی*[2] اشاره کرد (۱۱). *لاکتوباسیلوس کازئی* یکی از پروبیوتیک‌های مهم در فرآورده‌های غذایی است. این باکتری گرم مثبت، مزو فیل، میله‌ای شکل، میکروآئروفیل، کاتالاز منفی و بدون اسپوربوده و بیشترین قابلیت بقاء را در فرآورده‌های تخمیری لبنی به آن نسبت می‌دهند. اسید لاکتیک تولید شده توسط *لاکتوباسیلوس کازئی* از نوع +L است و به ونکومایسین مقاوم‌می‌باشد(۳).درحال‌حاضر،ماست پروبیوتیک مقبولترین وپرمصرفترین فرآوده پروبیوتیک‌درجهان است. اسید سازی کمترطی دوران نگهداری (طعم ملایم) و بیشتر بودن مقدار اسیدلاکتیک L(+) نسبت به D (-) در فرآورده (برخلاف ماست‌های‌سنتی‌یاساده) نیز در افزایش مقبولیت این ماست‌ها سهیم بوده است. لازم به ذکر است که فاکتورهایی از قبیل بافت، طعم و تولید اسید توسط باکتری‌های استارتر، در ماست در زمان تخمیر و حتی زمان نگهداری میتوانند با تغییر شرایط فرآیند یا افزودن مکمل‌هایی به ماست بهبود یابند. این عناصر و یا مکمل‌ها که ارزش تغذیه‌ای و یا ویژگی‌های کاربردی (و یا هر دو) را در ماست تعیین می‌کنند شامل پروتئین‌های شیر، پری بیوتیک‌ها و گیاهان می‌باشند (۴).

همچنین افزایش مقاومت برخی میکروب‌های بیماری‌زای مواد غذایی در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها از دیگر دغدغه‌ها می‌باشد، لذا گرایش زیادی جهت استفاده از انواع جدید ترکیبات ضد میکروبی و ضد اکسایش طبیعی که دارای اثر برابر و یکسان روی بازدارندگی اکسیداسیون بافت با نوع مصنوعی‌آن دارند سبب شده است که امروزه استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی‌مانند اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی به‌عنوان‌جایگزین‌آنتی‌اکسیدان‌های‌مصنوعی، برای نگهداری موادغذایی بسیار توصیه شود. اخیرا، تمرکز تحقیقات بر روی‌پیداکردن ترکیبات پری بیوتیک در عصاره‌های گیاهی قرارگرفته است اما مطالعات اندکی پیرامون ویژگی‌های کاربردی وپری‌بیوتیکی‌عصاره‌های‌گیاهی در ماست صورت گرفته است (۲۱). عصاره‌های گیاهی خواص سلامت بخش از قبیل اثرات آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی را نشان داده اند. از جمله این گیاهان، گیاه شنگ می باشد.گیاه شنگ[3] از خانواده آستراسه (کاسنی) و طایفه لاکتوسه یا شیکوریا است. ترکیبات شناسایی شده در گیاهان مختلف این جنس از دسته فلاونوئیدها، ترپن‌ها، ساپونین‌ها، بی بنزیل و هیدروایزوکومارین، ترکیبات فنلی، و استرول‌ها هستند که بسیاری از آن‌ها در طی مطالعات کموتاکسونومیک این گیاهان شناسایی شده‌اند. برخی از گیاهان جنس شنگ با دارا بودن اثرآنتی‌اکسیدانی قوی از آسیب التهابی به بافت‌ها جلوگیری‌کرده و در برخی‌غلظت‌ها مانع تخریب DNA می‌شوند (۳۱). استخراج ترکیبات زیست فعال مذکور از گیاه به عوامل متعددی بستگی دارد که مهم ترین آن ها حلال و روش استخراج می باشند. یکی از روش های نوین استخراج، استفاده از امواج فراصوت (اولتراسوند) است. این روش ارزان، ساده و موثر بوده و افزایش بازده عصاره گیری و افزایش سرعت واکنش از مهمترین محاسن آن به شمار می‌رود. در این روش دمای کمتری برای عصاره گیری لازم است در نتیجه به ترکیبات حساس به حرارت، کمتر آسیب می‌رسد. در مقایسه این روش با سایر روشهای جدید عصاره گیری، این روش آسانتر و ارزان تر بوده، با

1-Functional Foods
2-*Lactobacillus casei*
3-*Tragopogon collinus*

هرنوع حلالی نیز قابل انجام می‌باشد (۱). با توجه به مطالب بیان شده هدف از مطالعه حاضر ارزیابی اثر عصاره گیاه شنگ بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی ماست پروبیوتیک و قابلیت زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* زیرگونه کازئی درآن می‌باشد.

۲-مواد و روش ها

۲-۱-مواد اولیه

گیاه‌شنگ‌ازمناطق ییلاقی شهرستان چالوس، استان مازندران تهیه شد، سپس گیاه تهیه شده مورد تایید گروه کشت و توسعه انستیتو گیاهان دارویی تهران واقع شد. بعد از شناسایی، قسمت های زائد آن جدا و بلافاصله پس از شستشو خشک گردید. سپس در آون تحت خلأ با درجه حرارت ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه خشک شد. توسط خردکن کاملا پودر شد و تا زمان انجام آزمایش در درجه حرارت ۲۵درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت مرک آلمان تهیه شد و دارای درجه تجزیه ای بود.

۲-۲-استخراج عصاره با امواج التراسوند

۱۰گرم نمونه‌گیاه شنگ با ۱۰۰ میلی‌لیتر از اتانول: آب (۵۰:۵۰٪)دردمای (۴۵ درجه سانتی‌گراد) و زمان (۲۰ دقیقه) در حمام اولتراسوند در ۲۰ KHz عصاره‌گیری شد. سپس محلول‌ها با کاغذ واتمن شماره ۱ صاف و حلال‌ها توسط تبخیرکننده تحت خلاء تبخیر شد. عصاره حاصله تا زمان انجام آزمایش در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۱۶).

۲-۳-اندازه‌گیری ترکیبات فنولی‌کل

روش فولین‌سیوکالتیو از متداول‌ترین روش‌های اندازه‌گیری فنولی‌می‌باشد. اساس کار در این روش، احیای معرف فولین توسط ترکیبات فنولی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ است، که حداکثر جذب را در طول موج ۷۶۰ نانومتر نشان می‌دهد. ترکیبات فنولی کل بر اساس روش توضیح داده به وسیله Farzaei و همکاران (۱۶) با استفاده از اسپکتروفتومتر بر مبنای اسیدگالیک تعیین شد.

۲-٤- شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده عصاره

آنالیزعصاره توسط دستگاه گاز کروماتوگراف طیف نگار جرمی(MS/GC) HP-5973 (Packard Hewlett، آمریکا)، نوع ستون، HP-5MS به طول۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلیمتر و ضخامت فاز ساکن ۰/۳۲ میکرون صورت گرفت. برای این منظور ابتدا عصاره گیاه با سولفات سدیم بدون آب، آب‌گیری و پس از تزریق به دستگاه MS /GC با استفاده از ضرایب باز داری هریک از اجزای تفکیک شده و طیف جرمی آن‌ها و مقایسه با استاندارد، ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس شناسایی شد. دمای آون از ۴۰ درجه سانتی‌گراد تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۲/۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت. از گاز هلیوم با سرعت‌جریان ۱/۱ میلی‌لیتر در دقیقه و از انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت استفاده شد (۱۸).

۲-۵ -تهیه ماست پروبیوتیک فراسودمند

ابتداشیراستانداردشده(محتوی۱/۵درصدچربی و ۱۰/۵درصد ماده خشک بدون چربی) دردمای۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت۵دقیقه‌پاستوریزه گردید و تا دمای۴۳ درجه سانتی‌گراد سردشدودراین‌دما، استارترماست (*لاکتو باسیلوس دلبروکی* زیرگونه *بولگاریکوس واستریتوکوکوس ترموفیلوس*) به همراه استارتر پروبیوتیک (*لاکتو باسیلوس کازئی* زیر گونه *کازئی* (10^8 cfu/g))، به شیراضافه گردید. در همین مرحله عصاره‌ها با غلظت ۷۵۰ppm و۱۰۰۰اضافه شد (نمونه شاهد بدون‌افزودن‌عصاره‌درنظرگرفته شد). در مرحله بعد محصول بدست‌آمده در ظروف ۱۰۰گرمی بسته بندی گردید و سپس گرمخانه‌گذاری در دمای ۴۳ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به pH = ۴/۷ انجام شد. سپس نمونه ها در سردخانه ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و نهایتا آزمون‌های مورد نظر در فواصل زمانی ۱، ۷ و ۱۵ روز و با سه تکرار انجام شد (۷).

۲-٦- تعیین pH

جهت اندازه گیری pH از دستگاه pH متر براساس میزان یون‌های +H آزاد موجود در نمونه استفاده شد. برای اندازه‌گیری pH نمونه ها، قبل از هر کاری ابتدا دستگاه pH مترتوسط۲بافر۴و۷کالیبره شد. pH استاندارد ماست حداکثر

۴/۶ است. تغییرات pH در طول گرمخانه گذاری و پایان گرمخانه گذاری و در طول دوره‌ی نگهداری درسردخانه در ۳ تکرار بررسی شد (۶).

۲-۷ -اندازه گیری اسیدیته

اندازه گیری اسیدیته به روش تیتراسیون با استفاده از بورت و سود ۰/۱ نرمال و معرف فنل فتالئین انجام شد. ابتدا نمونه ماست را کاملاً یکنواخت گردید ۱۰گرم ماست از ظرف برداشته و در یک بشر شیشه ای ۱۰۰ میلی لیتریخته شد.۱۰ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه شد تا رقیق شد. سپس۳-۴ قطره محلول فنل فتالئین به آن افزوده شد و با سود ۰/۱ نرمال تیتر شد. پس از ظهور اندازه رنگ صورتی کم رنگ، حجم سود مصرفی از روی بورت خوانده و در فرمول زیر وارد شد (۱۰).

$TA = \frac{V \times 0.9}{M}$ یا میزان اسیدیته بر حسب درصد

که در آن:V = حجم محلول هیدروکسید سدیم مصرفی برحسب میلی لیتر، M = وزن نمونه

۲-۸- آب‌اندازی (سینرزیس)

وزن مشخص از فنجان ماست در یک زاویه ۴۵ درجه به مدت ۲ساعت در ۵ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شد تا آب ماست جدا گردد. آب ماست جدا شده ازسطح، با استفاده ازیک سرنگ مکیده و وزن شد. سینرزیس به عنوان یک درصد وزن از آب ماست به وزن اولیه ماست محاسبه شود (۳۱).

$$y = \frac{a}{b} \times 100$$

y =درصد سینرزیس، a =آب ماست جدا شده، b = وزن اولیه ماست

۲-۹- اندازه گیری ویسکوزیته

ویسکوزیته‌ظاهری‌نمونه‌ها، بر اساس روش Ranadheera و همکاران(۲۴)، توسط‌دستگاه ویسکومتر بروکفیلد انجام شد. دمای نمونه به هنگام قرائت ویسکوزیته ۱۵ درجه سانتی گراد و حجم آن ۱۰۰ میلی لیتر بود. از اسپیندل شماره ۲ و دور ۰/۵ دور در دقیقه به مدت ۱ دقیقه استفاده گردید. این آزمون نیز برای هر نمونه در سه تکرار انجام شد. ویسکوزیته بر حسب سانتی پوز[1] (cP) گزارش شد.

۲-۱۰- شمارش باکتری *لاکتو باسیلوس کازئی* زیرگونه کازئی

شمارش باکتری‌های پروبیوتیک (*لاکتو باسیلوس کازئی* زیر گونه کازئی) بر اساس روش استاندارد ملی ایران به شماره ۱۱۳۲۵(۵) انجام شد. از محیط کشت MRS-Bile Agar استفاده گردید. گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت با روش پور پلیت[2] انجام شد.

۲-۱۱- تجزیه و تحلیل آماری

کلیه‌آزمایش‌هادرطرح‌آزمایشی کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد و نتیجه به صورت‌میانگین با انحراف معیار گزارش گردید. آنالیز آماری تیمارها توسط جدول آنالیز واریانس (ANOVA) با استفاده ازنرم افزار (SPSS version 18) صورت گرفت. برای بیان تفاوت معنی داری میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ استفاده شد و نمودارها با نرم افزار Microsoft Excel ترسیم شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مقادیر ترکیبات فنلی

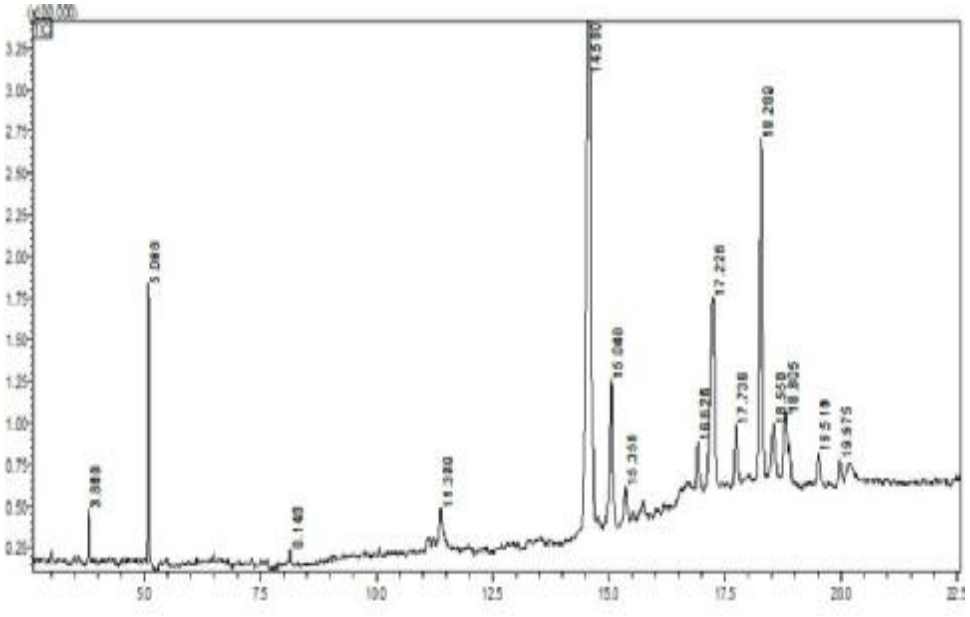
ترکیبات‌فنلی‌درمیوه‌ها و سبزیجات توجه بسیاری از محققین را به خود معطوف کردند که به علت پتانسیل بالای آن برای فعالیت آنتی اکسیدانی می باشد. ترکیبات فنلی با اهدای اتم هیدروژن از فعالیت رادیکال آزاد جلوگیری می‌کنند (۲۸). میزان ترکیبات فنلی کل عصاره گیاه شنگ (استخراجی توسط روش اولتراسوند) برابر با ۲/۱۸±۸۹۰/۰۴ میلی گرم گالیک اسید بر گرم عصاره بوده است. Farzaei و همکاران (۱۶) مقادیر ترکیبات فنلی بخش‌های مختلف گیاه شنگ با استفاده از روش سوکسله را ۲۹۲/۳-۵۶۰/۷ میلی گرم گالیک اسید بر گرم عصاره اعلام نمودند. علت بالاتر بودن مقادیر ترکیبات فنلی در این مطالعه ممکن است به

1-Centipoise
2-Pour palet

علت تفاوت در روش استخراج در این مطالعه ها باشد در مطالعه آن‌ها از روش حلال استفاده شد اما در این مطالعه از روش اولتراسوند استفاده شد. در واقع امواج اولتراسوند، هر دو مرحله فرآیند استخراج یعنی تورم بافت و نیز خروج ترکیبات از آن را از طریق ایجاد تخلخل و منافذ دردیواره سلول ها و بهبود انتشار و انتقال جرم تسهیل می کنند که این افزایش نفوذپذیری حلال دربافت های سلول به وسیله اثرات مکانیکی اولتراسوند به وجود می آید و به این ترتیب سلول های زنده تحت تاثیر این امواج، تخریب شده و مواد درون خود را بهتر و آسان تر رها می کنند (۱۲، ۱۹).

۳-۲- تعیین ترکیبات تشکیل‌دهنده عصاره شنگ

با توجه به نتایج مربوط به ترکیبات شیمیایی عصاره شنگ، در مجموع ۱۹ ترکیب با مجموع ۸۹/۸۶ درصد شناسایی شد. بیشترین ترکیبات عصاره شامل ان-هگزادکونیک اسید[1] (۲۵/۴۵)، ۴-ونینیل گیایسول[2] (۱۹/۷۸)، بتا-کاریوفیلن[3] (۱۵/۵۵) و هینیکوسان[4] (۹/۴۵) بوده است. Farzaei و همکاران (۱۶) نیز اعلام نمودند اصلی‌ترین ترکیبات برای عصاره شنگ را شامل n- هگزادکونیک-اسید (۲۲/۰۰)، بتا-کاریوفیلن (۷/۵۰)، هینیکوسا ن(۶/۶ درصد)، نونانال[5] (۵/۲ درصد) بود. در مجموع در مقدار و نوع ترکیبات عصاره در مطالعات متنوع تفاوت هایی وجود دارد، به طور کلی ترکیبات تشکیل دهنده عصاره‌های گیاهی بر حسب منطقه جغرافیایی رویش، زمان برداشت گیاه، شرایط محیطی و فصلی، روش خشک کردن و استخراج عصاره، عصاره گیری از اندام های مختلف و درنهایت تفاوت ژنتیکی گیاه می‌تواند تغییرکند (۱۸، ۲۱).



نمودار۱- کروماتوگرام GC-MS عصاره گیاه شنگ

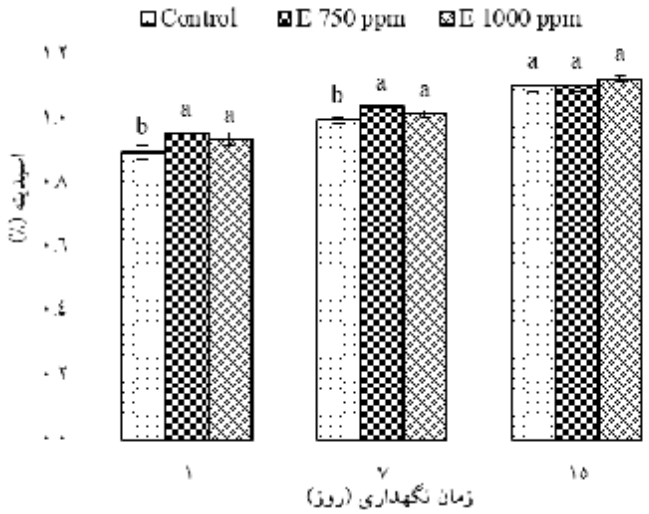
1-n-Hexadecanoic Acid
2-4-Vinyl guaiacol
3-β -Caryophyllene
4-Heneicosane
5-Nonanal

جدول۱- ترکیبات شیمیایی عصاره گیاه شنگ

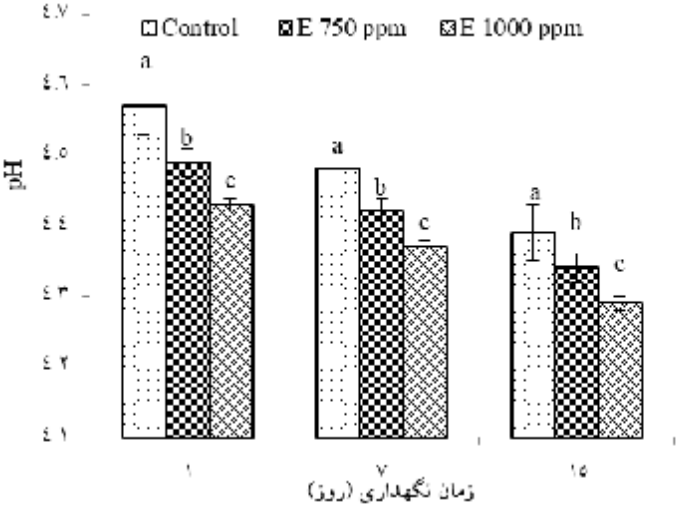
ردیف	ترکیبات	درصد
۱	n-Hexadecanoic acid	۲۵/٤۵
۲	4-vinyl guaiacol	۱۹/۷۸
۳	β -Caryophyllene	۱۵/۵۵
٤	Heneicosane	۹/٤۵
۵	δ-cadinene	٤/۸٤
٦	nonanal	٤/۲۷
۷	caryophyllene oxide	۳/۱۱
۸	manool	۱/۷۸
۹	Hentriacontane	۱/۱۱
۱۰	Hexahydrofarensylaceton	۰/۹۵
۱۱	α-cadinene	۰/۷۳
۱۲	1-Pentadecene	۰/۵۵
۱۳	Phytol	۰/۵۲
۱٤	Linoleic acid	۰/٤۹
۱۵	1,8-Cineole	۰/٤۱
۱٦	2,4-Decadienal	۰/٤۱
۱۷	β -Damascenone	۰/۳۹
۱۸	β -Elemene	۰/۲۵
۱۹	n-Pentadecene	۰/۲۳
مجموع	-	۸۹/۸٦

۳-۳-بررسی مقادیرpH و اسیدیته ماست

میزان pH واسیدیته، از عوامل مهم در تهیه یک فرآورده پروبیوتیکی محسوب می شوند؛ زیرا کاهشpH در مدت زمان‌نگهداری‌محصول، باافزایش تولید اسید توسط باکتریها همراه است و بیشترین اسید تولید شده، اسید لاکتیک می باشد. اگر مقدار این اسید بیش از حد باشد در طعم و مزه فرآورده تأثیر گذاشته و شرایط نامطلوبی را برای محصول ایجاد می کند (۱۳). نتایج مربوط به مقادیر اسیدیته (نمودار ۲) وpH (نمودار۳) در طی مدت نگهداری نشان داد، مقادیر pHدرتمامی‌تیمارهاباافزایش زمان، کاهش و مقادیر اسیدیته افزایش یافت ($P<۰/۰۵$)، علت این پدیده بیشتر مربوط به تولید اسید لاکتیک توسط باکتری‌های اسید لاکتیک باشد که می تواند از دو مولکول لاکتوز، چهار مولکول اسید لاکتیک‌تولیدکنند(۱۵). روند کاهش pH و افزایش اسیدیته درطی‌نگهداری‌امری‌قابل‌انتظارمی‌باشد که در اکثر تحقیقات مرتبط به آن اشاره گردیده است (۱۵، ۳۰). نتایج مربوط به مقادیرpH واسیدیته ماست نشان داد، با افزودن عصاره مقادیرکاهش و مقادیر اسیدیته افزایش یافت ($P<۰/۰۵$)، به نظر می‌رسد حضور عصاره فعالیت متابولیکی باکتری‌های ماست را افزایش داد است(۹). در ساعات‌های اولیه گرمخانه‌گذاری، با افزایش سوبسترای در دسترس جهت رشد میکروارگانیسم‌ها فعالیت متابولیکی باکتری‌ها افزایش یافته و موجب کاهش pH و افزایش اسیدیته در نمونه‌های حاوی عصاره می شود (۳۰).



نمودار۲- تغییرات اسیدیته در تیمارهای مختلف طی فرآیند نگهداری



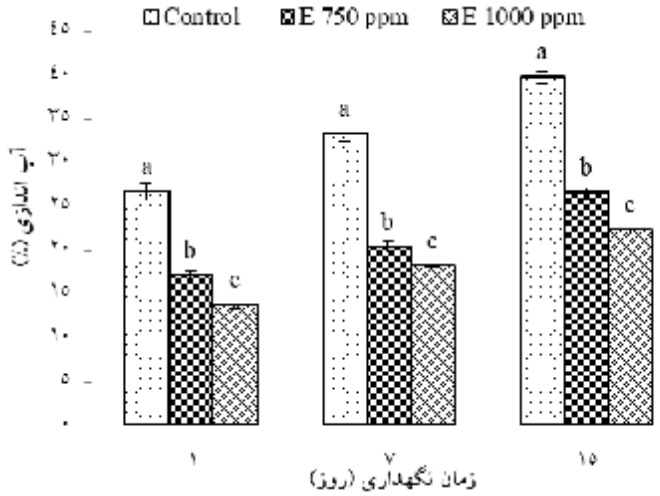
نمودار۳- تغییرات pH در تیمار های مختلف طی فرآیند نگهداری

Esfandiari و Moslehishad، (۱۵) اعلام نمودند افزودن سبوس برنج و عصاره کاهو به ماست سبب کاهشpH و افزایش اسیدیته ماست شد.

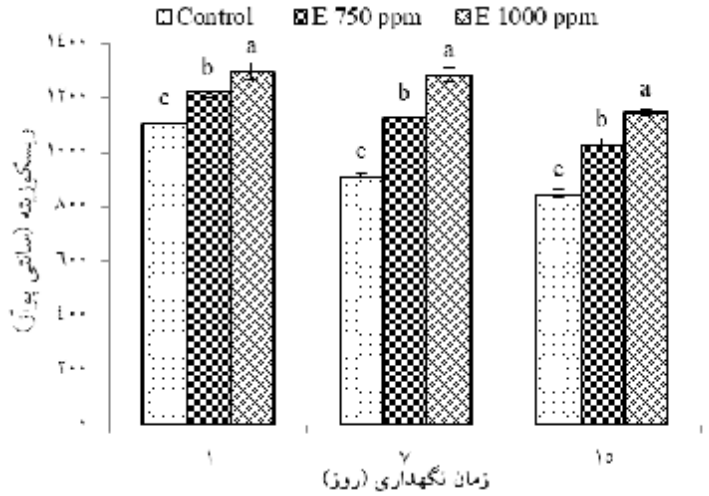
۳-٤- بررسی مقادیر آب اندازی و ویسکوزیته ماست

یکی از معایب عمده ماست آب اندازی است که در واقع به‌ظهورسرم‌یاآب پنیر در سطح ماست اطلاق و چروکیدگی ساختار سه بعدی شبکه پروتئینی pH می‌شود. آب اندازی در ماست به دلیل تغییرات رخ می‌دهد که منجر به کاهش قدرت اتصال پروتئین های آب پنیر و خروج آن از ماست می گردد. نتایج مربوط به تغییرات آب اندازی (نمودار۴) در طول زمان در همه تیمارها افزایش یافت (P<۰/۰۵). پدیده‌ی رخ‌داده در طول آب اندازی به طور کامل مشخص نشده است، اما مورد توافق است که آب اندازی افزایش یافته با زمان نگهداری مرتبط با بازآرایی های شدید شبکه‌ی کازئینی است که خروج سرم را زیاد می کند، بازآرایی‌ها منجر به افزایش اتصال‌های ذره ذره می شود، بنابراین شبکه تمایل به فشرده و جمع شدن و در نتیجه جدا شدن سرم دارد (۲۵). بیشترین مقادیر آب‌اندازی در تیمار شاهد مشاهده شد

کمترین مقادیر آب اندازی در تیمارهای حاوی عصاره با غلظتppm ۱۰۰۰ مشاهده شد (P<۰/۰۵)، هیدروکلوئیدها که دارای خاصیت جذب آب بالایی می باشد و این جذب آب با افزایش غلظت عصاره افزایش می یابد (۲۸). خروج آب پنیر از ماست تحت تاثیر ویژگی‌های فیزیکی ماست طی دروه نگهداری می‌باشد، افزودن عصاره سبب افزایش ماده خشک ودرنتیجه سفت‌شدن بافت و کاهش‌آب اندازی می‌شود (۱۴). ویسکوزیته ماست یک خصوصیت مهم است که بر کیفیت آن اثر می‌گذارد. ماست همزده به صورت یک ماده همگن و ویسکوزته می‌باشد که این ویسکوزیته تحت‌تأثیرعوامل مختلف ازجمله‌دمای انکوباسیون، محتوای چربی و کازئین، تیمار حرارتی شیر، اسیدیته شیر، نوع استارترکالچر و ترکیبات افزودنی قرار می‌گیرد. نتایج مربوط به تغییرات ویسکوزیته (نمودار ۵) در تمامی تیمارها در طول زمان کاهش یافت (P<۰/۰۵). کاهش میزان ویسکوزیته در طول دوره نگهداری می‌تواند به علت ایجاد تغییرات در اتصال پروتئین-پروتئین موجود در شبکه سه بعدی پروتئینی نمونه های ماست باشد (۱۴).افزودن عصاره به ماست سبب افزایش ویسکوزیته شد و در روز پانزدهم نگهداری بیشترین مقادیر ویسکوزیته در تیمار عصاره با غلظتppm۱۰۰۰ و کمترین مقادیر در تیمار شاهد مشاهده شد(P<۰/۰۵)، به طور کلی می‌توان گفت اکثریت هیدروکلوئیدها به دلیل خاصیت جذب آب خود سبب افزایش ویسکوزیته‌می‌شوند (۲۷). این نتایج با نتایج Won-Young و همکاران، (۳۰) هم خوانی داشت، آن‌ها نیز اعلام نمودند با افزودن عصاره برگ زیتون به ماست سبب کاهش‌آب‌اندازی وافزایش ویسکوزیته‌ماست شد و همچنین با افزایش زمان نگهداری مقادیر آب‌اندازی افزایش و ویسکوزیته کاهش یافت.



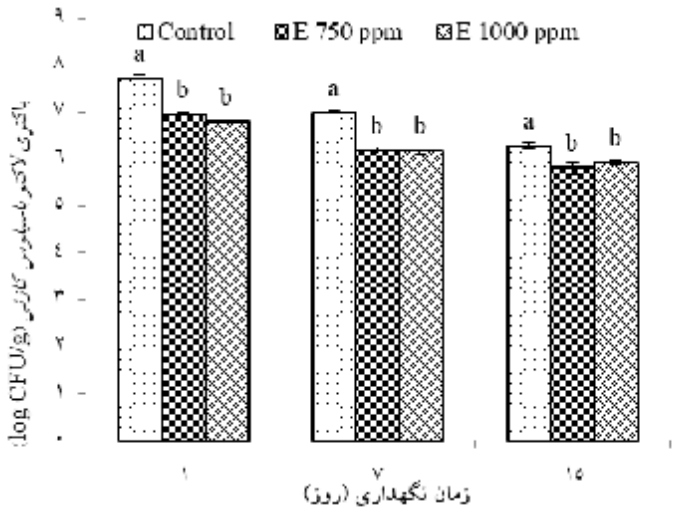
نمودار٤- تغییرات آب اندازی در تیمار های مختلف طی فرآیند نگهداری



نمودار۵- تغییرات ویسکوزیته در تیمار های مختلف طی فرآیند نگهداری

۳-۵- بررسی بقای باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی*

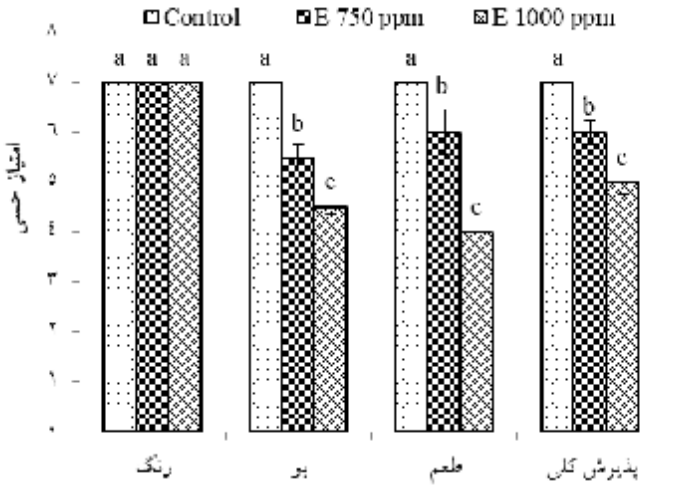
به‌منظورتاثیر باکتری پروبیوتیک بر سلامت انسان، این باکتری باید به تعداد لازم تا زمان مصرف در محصول وجود داشته باشند لذا تعداد باکتریهای زنده طی دوره نگهداری مورد بررسی قرار گرفت. بنابر نظر اکثر دانشمندان حداقل تعداد 10^6 سلول در هر گرم محصول جهت ایجاد اثرات سلامت بخش پروبیوتیک ها لازم است (۲). مقادیر زنده مانی باکتری *لاکتو باسیلوس کازئی* (نمودار۶) در تمامی تیمارها با افزایش زمان نگهداری کاهش یافت ($P<0/05$)، این کاهش در تیمار شاهد بیشترشد. در واقع افزودن عصاره سبب کند شدن روند کاهشی باکتری طی دوره نگهداری شد. تمامی تیمارها تا انتهای دوره نگهداری ازمقادیر بالای 10^6سلول در هر گرم برخوردار بودند. مقادیر زنده مانی باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* در تمامی تیمارها به طور معنی داری کاهش یافت ($P<0/05$)، بیشترین مقادیر زنده مانی باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* در ابتدای دوره نگهداری در تیمار شاهد مشاهده شد و در انتهای دوره نگهداری در تیمارهای حاوی عصاره مشاهده شد ($P<0/05$). همچنین درانتهای دوره نگهداری کمترین مقادیر در تیمار شاهد مشاهده شد. تحقیقات گسترده نشان داده است که تعداد باکتری های پروبیوتیک طی نگهداری یخچالی، به ویژه در محیط های اسیدی، به طور معنی‌دار کاهش می یابد. در فرآورده‌های تخمیری نظیر ماست،pH پایین و اسیدیته بالای فرآورده‌از یک سو، و هم‌کشت‌کردن باکتری‌های‌لاکتیک غیر پروبیوتیک با آغازگرهای پروبیوتیک از سوی دیگر، سبب مرگ سریع تر پروبیوتیک ها در طول دوره نگهداری به ویژه در مراحل پایانی می شود (۲۶). اما همان‌طورکه در بالا ذکر شد افزودن عصاره تاثیر مثبتی بر زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک داشت. علت آن ترکیبات فنولی موجوددر عصاره‌های گیاهی است که نقش تحریک کنندگی داشته و باعث بهبود رشد باکتری‌های‌آغازگر ماست (۲۳) و باکتریهای پروبیوتیک می‌گردند (۲۱). نتایج مشابهی توسط Novzari و همکاران، (۲۲) گزارش شد، آن‌ها نیز اعلام نمودند افزودن عصاره مرزه به ماست سبب کند شدن روند کاهشی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* طی دوره نگهداری‌در ماست شد. Marhamatizadeh و همکاران (۲۲) به بررسی تأثیر عصاره برگ گیاه زیتون بر روی رشد و زنده مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در شیر و ماست پروبیوتیک در طی ۲۱ روز نگهداری در یخچال پرداختند و به نتایج مشابهی دست یافتند. نتایج این گونه نشان داد که تعداد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در نمونه‌های حاوی عصاره برگ گیاه زیتون به طور قابل توجهی بالاتر از نمونه کنترل بود. هم چنین رابطه مثبتی بین رشد باکتری و افزایش غلظت عصاره برگ زیتون مشاهده شد



نمودار ٦- تغییرات زنده مانی باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* در تیمار های مختلف طی فرآیند نگهداری

۳-٦- ارزیابی‌حسی در روز اول

خواص‌حسی‌از عوامل اساسی پذیرش یا رد بسیاری از فرآورده‌ها و کسب رضایت از مصرف آن‌ها است. با توجه به نتایج‌آنالیزآماری(نمودار۶) با افزودن نگهدارنده‌ها تغییری بر رنگ ماست ایجاد نکرد. در ارتباط با طعم، بو و پذیرش کلی با افزودن عصاره‌ها امتیاز حسی به طور معنی‌داری کاهش یافت و با افزایش غلظت عصاره امتیاز حسی پایین تری مشاهده شد، در مجموع تمامی تیمارها مورد تایید ارزیاب‌ها بوده است. Won-Young و همکاران، (۳۰) نیز اعلام نمودند با افزودن عصاره برگ زیتون به ماست امتیاز حسی ماست کاهش یافت و افزودن عصاره برگ زیتون تا غلظت ۲درصد مورد تایید ارزیاب‌ها بود، اما غلظت ۴درصد موردتاییدارزیاب‌های‌حسی‌نبود..Esfandiari و Moslehishad، (۱۵) اعلام نمودند افزودن سبوس‌برنج و عصاره کاهو به ماست سبب کاهش امتیاز حسی ماست شد.



نمودار ٦- ارزیابی حسی در تیمار های مختلف در ابتدای دوره نگهداری

٤- نتیجه‌گیری

با افزایش‌تقاضا برای مصرف فرآورده‌های لبنی از جمله ماست پروبیوتیک‌که مقبول‌ترین و پرمصرف‌ترین فرآوده پروبیوتیک در جهان است، توجه به کیفیت ماست اهمیت بیشتری پیدا کرده است. اخیرا، تمرکز تحقیقات بر روی پیدا کردن‌ترکیبات‌پری‌بیوتیک در عصاره‌های‌گیاهی قرار گرفته است اما مطالعات اندکی پیرامون ویژگی‌های کاربردی و پری‌بیوتیکی عصاره‌های گیاهی در ماست صورت گرفته است. بنابراین در این پژوهش اثر عصاره گیاه شنگ بر قابلیت زنده مانی باکتری *لاکتو باسیلوس کازئی* زیر گونه کازئی‌وخصوصیات‌فیزیکوشیمیایی،حسی ماست پروبیوتیک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد، افزودن عصاره شنگ به ماست، بر ویژگی های فیزیکوشیمیایی تاثیر می گذارد. نمونه‌های دارای عصاره،pH، سینرزیس‌کمتر و اسیدیته، ویسکوزیته و زنده مانی باکتری پروبیوتیک بیشتری در مقایسه با نمونه شاهد داشتند. همچنین تمامی‌تیمارها از نظر خصوصیات حسی، قابل پذیرش بود. بنابراین تولید ماست حاوی عصاره شنگ یک غذای فراسودمند، انتخاب جدیدی برای مصرف کنندگان محصولات لبنی فراهم نمود که علاوه بر طعم مطلوب، خواص تغذیه ای مناسبی را نیز از مصرف آن احراز نمایند.

٥- منابع

١. ذوالفقاری، ب. و یکدانه، ا. ١٣٨٩.پیشرفت‌های اخیر در زمینه روش‌های استخراج ترکیب های گیاهی، *داروهای گیاهی*، جلد١، ٥٥-٥١.

٢. رضایی، ر.، خمیری، م.، اعلمی، م. و کاشانی نژاد، م. ١٣٩١. بررسی اثرصمغ عربی و صمغ گوار بر زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (La5) و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*(Bb12) در ماست منجمد پروبیوتیک. *نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران*، دوره٨، شماره٤، ٣٧١-٣٧٧.

٣. شیرپور، م.، هاشمی‌روان، م. و پوراحمد، ر. ١٣٩٦. ارزیابی زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس کازئی* در مارمالاد پالپ لیمو تخمیری. *علوم و صنایع غذایی*، دوره١٤، شماره٦٧،٢٧٣-٢٦٥.

٤. قلعه‌موسیانی،ز.، پوراحمد، ر. و اسحاقی، م. ر.١٣٩٧. اثر عصاره‌های آبی ریحان و مرزه بر زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* و ویژگی-های فیزیکوشیمیایی ماست پروبیوتیک. *نشریه ی نوآوری در علوم وفناوری غذایی*، دوره١٠، شماره٤، ٦٤-٥٥.

٥. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ١٣٨٧. فرآورده‌های شیری- شمارش باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* زیر گونه پلانتاروم. استانداردملی ایران، ١١٣٢٥، چاپ اول.

٦. موسسه استاندارد وتحقیقات‌صنعتی‌ایران، ١٣٨٧. ماست پروبیوتیک- ویژگی ها و روش های آزمون. استاندارد ملی ایران، ٢٨٥٢، چاپ اول.

٧. وحید مقدم، ف.، مرتضوی، س. ع. و قلعه موسیانی، ز.١٣٩٧. بررسی‌فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره آبی‌مرزنگوش وآثرآن بر زنده مانی *لاکتو باسیلوس‌پلانتاروم* زیر گونه پلانتاروم در ماست پروبیوتیک کم چرب. *نشریه‌ی نوآوری در علوم وفناوری غذایی*، دوره١٠، شماره١، ١٠٧-٩٧.

8. Akin, M. B., Akin, M. S. and 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.
9. Amirdivani, S. and Baba, A. 2012. Herbal yogurt as a functional food to manage hyper tension & diabetes, LAP Lambert Academic Publishing, 124 pages
10. AOAC. 2005. Official Method of Analgsis (17th ed). Washington, DC: Association of Official Analytical chemists.
11. 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.

12. Bahrami Feridoni, S. and Khademi Shurmasti, D. 2020. Effect of the nanoencapsulated sour tea (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract with carboxymethylcellulose on quality and shelf life of chicken nugget. *Food science and nutrition*, 8: 3704–3715
13. Bruno, F. A., Lankaputhra, W. E. V. and Shah, N. P. 2002. Growth Viability and Activity of Bifidobacterium spp. in Skim Milk Containing Prebiotics. Journal of Food Science, 67(7): 2740-2744.
14. Coda, R., Lanera, A., Trani, A., Gobbetti, M. and Di Cagno, R. 2012. Yogurtlike beverages made of a mixture of cereals, soy and grape must: Microbiology, texture, nutritional and sensory properties. *International Journal of Food Microbiology*, 155(3): 120–127.
15. Esfandiari, H. and Moslehishad, M. E. 2019. valuation of Physicochemical, Sensory and Rheological Properties of Stirred Yogurt Fortified with Rice Bran and Lettuce Extract during Shelf-Life. *FSCT (Food Science and Technology)*, 16 (90): 245-258.
16. Farzaei, M. H., Khanavi, M., Moghaddam, G., Dolatshahi, F., Rahimi, R., Shams-Ardekani, M R., Amin, G R. and Hajimahmoodi, M. 2014. Standardization of Tragopogon graminifolius DC. Extract Based on Phenolic Compounds and Antioxidant Activity. *Journal of Chemistry*. 425965: 6.
17. Fidan, H., Stefanova, G., Kostova, L., Stankov, S., Damyanova, S., Stoyanova, A. and Zheljazkov, V. 2019. Chemical Composition and Antimicrobial Activityof Laurus nobilis L. Essential Oils from Bulgaria. Molecules, 24, 804; doi:10.3390.
18. Jalali, M., Ariiai, P. and Fattahi, E. 2016. Effect of alginate/carboxyl methyl cellulose composite coating incorporated with clove essential oil on the quality of silver carp fillet and *Escherichia coli* O157:H7 inhibition during refrigerated storage. *Journal of Food Science and Technology*, 53 (7): 757-765.
19. Kadam, S. U., Tiwari, B. K., Smyth, T. J. and Donnell. C. P. O. 2015. Optimization of ultrasound assisted extraction of bioactive components from brown seaweed *Ascophyllum nodosum* using response surface methodology. Ultrason. *Sonochem*. 23: 308-316.
20. Mahdavi, V., Hosseini, E. and Sharifian, A. 2018. Effect of edible chitosan film enriched with anise (*Pimpinella anisum* L.) essential oil on shelf life and quality of the chicken burger. *Food science and nutrition*, 6 (2): 269- 279.
21. Marhamatizadeh, M. H., Ehsandoost, E., Gholami, P. and Davanyan Mohaghegh, M. 2013. Effect of olive leaf Extract on Growth and viabiolity of Lactobacillus acidophilus and Bifido bacterium bifidum for production of probiotic Milk and Yogurt. *International Journal of farming and Allied Sciences*, 2(17): 572-578.
22. Novzari, F., Mortazavi, S. A., Sharifi, A. and Kargozar, E. 2019. Effect of Satureja extract on physicochemical and microbial properties of probiotic low calorie yogurt. *Journal of Neyshabur University of Medical Sciences*, 7 (1) :1-13
23. Oh, N. S., Lee, J. Y., Joung, J. Y., Kim, K. S., Shin, Y. K. and Lee, K. W. 2016. Microbiological chavacterization and functionality of set-type yogurt fermented with potential prebiotic substrates Cudraniatricuspidata and Morus alba L. leaf extracts. *Journal of Dairy Science*, 99: 1-12.
24. Ranadheera, C. S., Evans, C., Adams, S. and Baines, K. 2012. Probiotic viability and physico-chemical and sensory properties of plain and stirred fruit yogurts made from goat's milk. *Food Chemistery*, 135: 1411-1418.
25. Ramirz-Santiago, C., Ramos-Solis, L., Lobato-Calleros, C., Peña-Valdivia, C., Vernon- Carter, E.J. and Alvarez-Ramírez, J. 2010. Enrichment of stirred yogurt with soluble dietary fiber from Pachyrhizus erosus L.

Urban: Effect on syneresis, microstructure and rheological properties. *Journal of Food Engineering*, 101: 229-235.

26. Sendra, E., Kuri, V., Fernandez-Lopez, J., Sayas-Barbera, E., Navraro, C. and Perez-Alvarez, J. A. 2010. Viscoelastic probiotic of orange fiber enriched yoghurt as function of fiber dose, size and thermal treatment. . *Journal of Food Science and Technology*, 43:708-14.
27. Temiz. H, Z. Tarakçı, A. Islam, 2014, Effect of cherry laurel marmalade on physico-chemical and sensorial characteristics of the stirred yogurt during storage time. *GIDA: Journal of Food*, 39 (1): 1-8.
28. Tometri, S.S., Ahmady, M., Ariaii, P. 2020. Extraction and encapsulation of *Laurus nobilis* leaf extract with nano-liposome and its effect on oxidative, microbial, bacterial and sensory properties of minced beef. *Food Measure*. https://doi.org/10.1007/s11694-020-00578-y
29. Villaño, D., Gironés-Vilapana, A., García-Viguera, C. and Moreno, DA. 2016. Development of Functional Foods. *Innovation Strategies in the Food Industry*, 191–210.
30. Won-Young, C., Da-Hee, K., Ha-Jung, L., Su-Jung, Y. and Chi-Ho, L. 2020. Quality characteristic and antioxidant activity of yogurt containing olive leaf hot water extract, *CyTA - Journal of Food*, 18(1): 43-50.
31. Zainoldin, K. H. and Baba, AS. 2009. The effect of hylocereus polyrhizus and hylocereus undatus on physicochemical, proteolysis and antioxidanat activity in yogurt. World Academy of science, *Engineering and Technology*, 60:361-366.

(Original Research Paper)

The Effect Ef *Tragopogon Collinus* Extract On Physicochemical, Microbial And Sensory Properties Of Probiotic Yogurt Containing *Lactobacillus Casei*

Mohammad Maleki[1], Peiman Ariayi[2*], Mahdi Sharifi Soltani [3]

1-PhD student of Food Science and Technology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.
2- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.
3- Department of Veterinary, Agriculture Faculty, Islamic Azad University, Chalous Branch, Chalous, Iran.

Received:12/10/2020 Accepted:23/01/2021

Abstract

In this study, the effect of *Tragopogon collinus* extract on the viability of probiotic bacteria, physicochemical and sensory properties of probiotic yogurt was investigated. For this purpose, *Tragopogon collinus* plant extract was extracted using ultrasound method and the amounts of phenolic compounds and chemical compounds of the extract were measured. The results showed that the amount of total phenolic compounds in *Tragopogon collinus* plant extract was equal to 890.04±2.18 mg gallic acid per gram and most of the extract compounds included n-Hexadecanoic acid (24.25), 4-vinyl guaiacol (19.78).), B -Caryophyllene (15.55) and Heneicosane (9.45). In order to investigate the effect of *Tragopogon collinus* extract on the properties of probiotic yogurt during the 15-day storage period, 3 treatments including control, extract with a concentration of 750 ppm, extract with a concentration of 1000 ppm and physicochemical properties including pH, acidity, synergy, viscosity, viability probiotic bacteria and sensory properties (color, odor, taste and general acceptance) were examined. The results showed that the addition of *Tragopogon collinus* extract to yogurt affects the physicochemical properties. Samples with extract had lower pH and synergy and higher acidity and viscosity compared to the control sample ($P < 0.05$). Also, in these samples, the process of reducing the survival of probiotic bacteria during the storage period was slower than the control treatment, and despite the effect of the extract on the physicochemical properties of yogurt, yogurt containing the extract was acceptable in terms of sensory properties. In general, *Tragopogon collinus* extract can be used to enhance the quality and organoleptic properties of beneficial dairy products.

Keywords: Yogurt, *Lactobacillus Casei*, Phenolic Compounds, *Tragopogon Collinus* Extract, Ultrasound

*Corresponding Author: p.aryaye@yahoo.com