اثر عصاره‌های آبی ریحان و مرزه بر زنده‌مانـی لاکتوباسیلوس پاراکازئی و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ماست پروبیوتیک

زهره قلعه موسیانی[1]، رضوان پوراحمد[2*] و محمد رضا اسحاقی[3]

1- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد ورامین – پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.

2- دانشیار،گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ورامین – پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.

3- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، ، واحد ورامین – پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.

تاریخ دریافت: 1395/12/13 تاریخ پذیرش: 1396/06/25

چکیده

گیاهان دارویی و غذاهای فراسودمند، به جهت دارا بودن ویژگی‌های آنتی اکسیدانی، دارویی و تغذیه‌ای اثرات سلامت بخش بر روی مصرف کنندگان دارند. هدف از این تحقیق، بررسی اثر عصاره‌های آبی ریحان و مرزه بر روی زنده‌مانی لاکتوباسیلوس پاراکازئی و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ماست پروبیوتیک بود. اثر عصاره‌های ریحان (8 % و 10 % w/w) و مرزه (6 % و 8 % w/w)، هر کدام به صورت جداگانه در ماست پروبیوتیک کم چرب (1/5 % چربی) حاوی لاکتوباسیلوس پاراکازئی بررسی شد. زنده‌مانی لاکتوباسیلوس پاراکازئی و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نمونه‌های ماست در روزهای 1، 7، 14 و 21 مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد، افزودن عصاره‌های ریحان و مرزه به ماست پروبیوتیک، زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک را به طور معنی داری نسبت به ماست شاهد (فاقد عصاره) افزایش داد. همچنین با افزایش زمان نگهداری، جمعیت باکتری به طور معنی‌داری کاهش یافت. افزودن این عصاره‌ها، در افزایش اسیدیته و کاهش pH نسبت به ماست شاهد به طور معنی‌داری موثر بود. با گذشت زمان نگهداری، اسیدیته به طور معنی‌دار روند صعودی و pH رونـد نزولی داشت. میزان آب اندازی نمونه‌های ماست حاوی عصاره، نسبت به ماست شاهد به طور معنی‌داری کمتر بود و با گذشت زمان نگهداری این میزان به طـور معـنی‌داری کاهـش یافـت ($p<0/05$). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که افزودن عصاره‌های گیاهی تاثیر مثبتی بر زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ماست پروبیوتیک داشته است.

واژه‌های کلیدی: ریحان، مرزه، عصاره، لاکتوباسیلوس پاراکازئی، ماست پروبیوتیک

*مسوول مکاتبات: rjpourahmad@yahoo.com

1- مقدمه

امروزه توجه خاصی به مواد غذایی فراسودمند معطوف شده است . فرآورده‌های غذایی فراسودمند علاوه بر ارزش تغذیه‌ای دارای اثراتی مثبت بر روی سلامت انسان می باشند. پروبیوتیک ها، میکروارگانیسم‌هایی هستند که تعادل میکروبی روده را بهبود می‌بخشند و غالبا شامل گونه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم می‌باشند (14). لاکتوباسیلوس پاراکازئی، یک باکتری گرم مثبت، مزوفیل، میکروآئروفیل، کاتالاز منفی و فاقد اسپور بوده و جز باکتری‌های هتروفرمانتاتیو اختیاری می‌باشد و ظرفیت بالایی در تولید اسید دارد (25). درحال حاضر، ماست پروبیوتیک مقبول‌ترین و پرمصرف‌ترین فرآورده پروبیوتیک در جهان است. اسید سازی کمتر طی دوران نگهداری (طعم ملایم) و بیشتر بودن مقدار اسیدلاکتیک L(+) نسبت به D(-) در فرآورده (بر خلاف ماست‌های سنتی یا ساده) نیز در افزایش مقبولیت این ماست ها سهیم بوده است (10). 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 (29)، پری بیوتیک‌ها (16) و گیاهان (15) می‌باشند. اخیرا، تمرکز تحقیقات بر روی پیدا کردن ترکیبات پری بیوتیک در عصاره‌های گیاهی قرار گرفته است اما مطالعات اندکی پیرامون ویژگی‌های کاربردی و پری بیوتیکی عصاره‌های گیاهی در ماست صورت گرفته است. عصاره‌های گیاهی خواص سلامت بخش از قبیل اثرات آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی را نشان داده اند. بنابراین ترکیبات پری بیوتیک جدید که از عصاره‌های گیاهی مشتق شده اند جهت رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک مورد نیاز می‌باشند (26). تحقیقات جدید مشخص نموده که اثر گیاهان دارویی به خاطر وجود تعداد نسبتا کمی از ترکیبات شیمیایی است. بعضی از مهم ترین ترکیبات فعال گیاهی عبارتند از ترکیبات معدنی مانند گلیکوزیدها، ساپونین ها، فلاونوئیدها نظیر تانن ها، روغن‌های فرار یا اسانس ها، رزین ها، آلکالوئیدها، ترکیبات تلخ و آنتی بیوتیک‌ها (1). گیاه ریحان با نام علمی اوسیمیوم باسیلیکوم[1] گیاهی ازخانواده نعنائیان (10) و حاوی ترکیباتی از قبیل مونوترپن هایی نظیر سینئول، فنچون، گرانیول، لینانول، میرسن، بتا- پینن ،سیس-اسیمین، کافور، اوژنول، متیل-اوژنول و سزکوئی ترپنوئیدهایی مانند کاریوفیلین، آلفا-فارنسول، دی- جرماکرن می‌باشد (31).گیاه مرزه تابستانه با نام علمی سچورجا هورتنسیس[2] گیاهی است یکساله و علفی که به خانواده نعنائیان تعلق دارد (19). مطالعات فیتوشیمیایی نشان داده اند که روغن‌های فرار، تانن ها، ترکیبات فنولی، استرول‌ها، اسیدها، صمغ، موسیلاژ و پیروکاتیکول ترکیبات اصلی گونه های مرزه می-باشند (6). که این ترکیبات دارای خاصیت آنتی اکسیدانی و آنتی میکروبی هستند (27). برخی محققین تأثیر عصاره زرشک در مقادیر 4 % و 5 % بر زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ماست پروبیوتیک طعم دار قالبی و همزده و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن را مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از آزمایشات نشان داد که افزودن عصاره زرشک تأثیر معنی‌داری بر زنده مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس طی مدت زمان نگهداری داشته است و افزایش تعداد این باکتری در ماست پروبیوتیک با 5 % عصاره زرشک بیشتر از 4 % عصاره بود. علاوه بر آن افزایش معنی‌دار اسیدیته با افزایش مدت زمان نگهداری تا روز هفتم و سپس کاهش آن تا روز بیست و یکم با افزودن عصاره زرشک قابل مشاهده بود. هم چنین بالاترین میزان سینرزیس در نمونه‌های ماست پروبیوتیک قالبی (ماست قالبی با 4 % عصاره زرشک) نسبت به نمونه‌های ماست پروبیوتیک همزده قابل ملاحظه بود (2). در پژوهش دیگری محققین به بررسی ویژگی‌های عملکردی و میکروبی ماست گیاهی تخمیر شده با عصاره گیاهان سنتی کره جنوبی نلومبو

1- OcimumBacilicum L.
2- Satureja Hortensis L.

نوسیفرا لیف[1] و دیوسپیروس کاکی[2] پرداختند. عصاره‌های گیاهی و زمان نگهداری بر روی ویژگی‌های ماست تأثیر داشته و موجب افزایش زنده‌مانی استارتر ماست و ترکیبات فنولیک موجود شدند. ماست‌های غنی شده با عصاره‌های گیاهی در مقایسه با ماست شاهد pH کمتری را نشان دادند. از طرف دیگر اسیدیته ماست در طول زمان نگهداری افزایش داشت و گفتنی است که تمامی ماست‌های حاوی عصاره گیاهی اسیدیته بالاتری نسبت به ماست شاهد داشتند. ضمنا میزان آب اندازی ماست شاهد به مراتب بالاتر از ماست‌های حاوی عصاره‌های گیاهی بود و با گذشت زمان نگهداری این میزان در هر دو نوع ماست شاهد و حاوی عصاره‌های گیاهی افزایش یافت (21). هدف از این پژوهش، بررسی اثر عصاره‌های آبی ریحان و مرزه بر روی زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پاراکازئی زیرگونه پاراکازئی و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ماست پروبیوتیک بوده است.

2-مواد و روش‌ها

2-1-مواد مصرفی

استارتر لاکتوباسیلوس پاراکازئی زیرگونه پاراکازئی و استارتر ماست (Express 1.0) به صورت DVS از شرکت کریستین- هنسن[3] دانمارک، شیر کم چرب (1/5 % چربی) از شرکت میهن، شیر خشک بدون چربی از شرکت Saya اوکراین، محیط کشت MRS-Agar از شرکت Merck آلمان و Bile از شرکت Sigma-Aldrich آمریکا خریداری شد.

2-2-تهیه عصاره آبی

گیاهان مورد بررسی از باغ گیاهشناسی دارویی فیروزه تهیه شدند. سپس در پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی شناسایی و به ترتیب با کدهای MPIH 4543، 4544MPIH تعیین هویت گشتند. پس از تأیید گونه‌های گیاهی به دور از نور مستقیم خورشید و در دمای اتاق خشک شدند. سپس برگ‌های خشک شده توسط آسیاب برقی پودر شدند. در مرحله بعد به ازای هر گرم پودر گیاه خشک، 10 میلی لیتر آب مقطر استریل اضافه شد. سپس مخلوط داخل ارلن که با فویل پوشانده شده بود داخل بن ماری 60-70°C به مدت 24 ساعت قرار داده شد (30). در نهایت با استفاده از سانتریفیوژ (2000 rpm، 15 دقیقه) عصاره آبی بدست آمد که در واقع همان فاز رویی تمیز بود (3) سپس عصاره بدست آمده با فیلتر سر سرنگی 0/45µm استریل شد (17).

2-3-تهیه ماست پروبیوتیک

ابتدا شیر استاندارد شده (محتوی 1/5 % چربی و 10/5 % ماده خشک بدون چربی) در دمای 90°C به مدت 5 دقیقه پاستوریزه گردید، سپس دمای آن به 43 °C رسانده شد و در این دما، استارتر ماست (لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس) به همراه استارتر پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس پاراکازئی)، به شیر اضافه شد. در همین مرحله عصاره آبی ریحان در دو سطح 8 % و 10 % و عصاره آبی مرزه در دو سطح 6 % و 8 % اضافه شدند (نمونه شاهد بدون افزودن عصاره‌های آبی ریحان و مرزه در نظر گرفته شد). در مرحله بعد محصول بدست آمده در ظروف 100 گرمی بسته بندی گردید و سپس گرمخانه گذاری در دمای 43 °C تا رسیدن به pH=4/7 انجام شد. سپس نمونه‌ها در سردخانه 4°C نگهداری شدند و نهایتا آزمون‌های مورد نظر در فواصل زمانی 1، 7، 14 و 21 روز و با سه تکرار انجام شدند.

2-4-شمارش باکتری لاکتوباسیلوس پاراکازئی

شمارش باکتری پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس پاراکازئی) بر اساس روش استاندارد ملی ایران به شماره 11325 انجام گرفت. از محیط کشت MRS-Bile Agar استفاده گردید.گرمخانه‌گذاری در دمای 37°C به مدت 72 ساعت در شرایط بی‌هوازی صورت گرفت (12).

1- Nelumbo Nucifera leaf (NN)
2-Diospyros Kaki THUNB (DK)
3-CHR-HANSEN

2-5-آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

آزمون‌های فیزیکوشیمیایی شامل pH، اسیدیته و آب اندازی در نمونه‌های مورد بررسی، انجام گردید. اندازه گیری pH توسط دستگاه pH متر بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره 2852 انجام شد (11). اسیدیته با روش دورنیک بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره 2852 اندازه گیری گردید (11). اندازه گیری آب اندازی نیز با استفاده از سانتریفیوژ بر اساس روش گونزالز-مارتینز و همکاران (2002) انجام پذیرفت (20).

2-6-آنالیز آماری

آزمایش در قالب یک طرح کاملا تصادفی انجام شد. 5 تیمار با سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز واریانس و آزمون دانکن برای تجزیه و تحلیل داده‌ها به کار برده شد. نرم افزار آماری SAS 9.3 مورد استفاده قرار گرفت.

3-نتایج و بحث

3-1- زنده‌مانی لاکتوباسیلوس پاراکازئی

در جدول1، جمعیت باکتری پروبیوتیک در طول زمان نگهداری در نمونه‌های ماست مشخص شده است. پس از گذشت 21 روز از دوره نگهداری بالاترین میزان زنده‌مانی لاکتوباسیلوس پاراکازئی زیرگونه پاراکازئی مربوط به تیمارA_4 بود که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت و کمترین تعداد این باکتری پروبیوتیک مربوط به تیمار شاهد بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت. در واقع می‌توان گفت، در پایان دوره نگهداری، در کلیه تیمارها جمعیت باکتری پروبیوتیک به طور معنی‌دار کاهش یافته است. افزودن عصاره‌های گیاهی به ماست پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس پاراکازئی موجب افزایش معنی‌دار زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک نسبت به ماست شاهد (ماست پروبیوتیک فاقد عصاره) شد ($p<0/05$). علت آن ترکیبات فنولی موجود در عصاره‌های گیاهی است که نقش تحریک کنندگی داشته و باعث بهبود رشد باکتری‌های آغازگر ماست (26) و باکتری پروبیوتیک (22) می‌گردند. لازم به ذکر است که همگام با کاهش مقدار اکسیژن محلول در محیط فرآورده قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها افزایش می‌یابد (10). در همین راستا ترکیبات فنولی عصاره‌های گیاهی که به عنوان مهار کننده اکسیژن شناخته می‌شوند، منجر به کاهش پتانسیل اکسیداسیون-احیا در محیط رشد باکتری می‌گردند و موجب بهبود رشد باکتری‌های پروبیوتیک در غیاب اکسیژن می‌شوند (22). افزایش پتانسیل اکسیداسیون احیا (E_h) و نیز افزایش غلظت هیدروژن پراکسید حاصل از فعالیت متابولیکی باکتری‌ها (18) از عوامل کاهش جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک در ماست در طول زمان نگهداری می‌باشد. حسنی و همکاران (1393) تأثیر عصاره زرشک بر زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ماست پروبیوتیک طعم دار قالبی و همزده را مورد بررسی قرار دادند و به نتایج مشابهی دست یافتند. نتایج حاصل از آزمایشات نشان داد که افزودن عصاره زرشک تأثیر معنی‌داری در روند افزایشی رشد باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در طی مدت زمان نگهداری داشته است و افزایش تعداد این باکتری در ماست پروبیوتیک با 5 % عصاره زرشک بیشتر از 4 % عصاره بود (2). مرحمتی زاده و همکاران (2013) به بررسی تأثیر عصاره برگ گیاه زیتون بر زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی در شیر و ماست پروبیوتیک در طی 21 روز نگهداری در یخچال پرداختند و به نتایج مشابهی رسیدند (22). به طور مشابه، میکائیل و همکاران (2015) به بررسی اثر عصاره‌های گیاهی در افزایش زنده‌مانی لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ماست پروبیوتیک بدون چربی پرداختند. بر اساس نتایج محققین فوق، در پایان دوره نگهداری تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ماست‌های غنی شده با عصاره‌های گیاهی بالاتر از ماست شاهد بود و در طی زمان نگهداری، تعداد لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ماست شاهد و ماست حاوی عصاره گیاهی به‌طور قابل توجهی در 29 روز نگهداری کاهش پیدا کرد (24).

جدول 1- جمعیت لاکتوباسیلوس پاراکازئی زیرگونه پاراکازئی (cfu/mL) در نمونه‌های مورد بررسی در طول زمان نگهداری*

بازه زمانی / تیمار	روز اول	روز هفتم	روز چهاردهم	روز بیست و یکم
شاهد	$2\times10^{7}\pm0^{Ad}$	$1/3\times10^{7}\pm0/2^{Bd}$	$1/09\times10^{7}\pm0/003^{Be}$	$5/1\times10^{6}\pm0/001^{Cd}$
A_1	$3\times10^{7}\pm0/16^{Ac}$	$2/65\times10^{7}\pm0/2^{Ac}$	$2/33\times10^{7}\pm0/08^{Bd}$	$1/97\times10^{7}\pm0/02^{Bc}$
A_2	$4\times10^{7}\pm0/22^{Ab}$	$3/7\times10^{7}\pm0/11^{ABb}$	$3/3\times10^{7}\pm0/06^{Bc}$	$2/7\times10^{7}\pm0/16^{Cb}$
A_3	$6\times10^{7}\pm0/23^{Aa}$	$5/18\times10^{7}\pm0/04^{Ba}$	$4/36\times10^{7}\pm0/01^{Cb}$	$3/89\times10^{7}\pm0/07^{Da}$
A_4	$6/35\times10^{7}\pm0/25^{Aa}$	$5/23\times10^{7}\pm0/05^{Ba}$	$4/97\times10^{7}\pm0/02^{Ba}$	$3/89\times10^{7}\pm0/05^{Ca}$

* حروف بزرگ غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطر است ($p<0/05$)، حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در ستون است ($p<0/05$). A_1: 8 % عصاره ریحان، A_2: 10 % عصاره ریحان، A_3: 6 % عصاره مرزه، A_4: 8 % عصاره مرزه، شاهد: فاقد عصاره

3-2- ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی

3-2-1- اسیدیته

نتایج به دست آمده از اسیدیته نمونه‌های مورد بررسی در طول زمان نگهداری در جدول 2 آمده است. در طول زمان نگهداری، بالاترین مقدار اسیدیته مربوط به تیمار A_2 بود که با سایر تیمارها بجز تیمار A_1 تفاوت معنی‌دار داشت. پایین‌ترین مقدار آن نیز مربوط به تیمار شاهد بود که با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار بود. افزودن عصاره‌های گیاهی به ماست پروبیوتیک منجر به افزایش معنی‌دار اسیدیته نسبت به نمونه شاهد شد ($p<0/05$). علت این امر، آن است که تخمیر ماست با عصاره‌های گیاهی، منجر به افزایش فعالیت متابولیک باکتری‌های ماست و افزایش اسیدیته به دلیل تولید اسید های آلی توسط باکتری‌های اسید لاکتیک می‌گردد (15). علاوه بر این، با گذشت زمان نگهداری اسیدیته کلیه تیمارها به طور معنی‌دار افزایش یافت ($p<0/05$). علت آن است که با افزایش زمان نگهداری و نیز ادامه فرآیند تخمیر لاکتوز توسط باکتری‌های استارتر و پروبیوتیک(13) اسیدیته به دلیل تجمع اسیدهایی نظیر اسید لاکتیک، اسید فرمیک و غیره افزایش می‌یابد (24). کنعانی و همکاران (1393) به غنی سازی ماست پروبیوتیک با عصاره گزنه، اسانس بابونه و اسانس نعناع و اثر آن بر اسیدیته ماست در دوران نگهداری پرداختند و به نتایج مشابهی دست یافتند(9). حسنی و همکاران (1393) تأثیر عصاره زرشک بر زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ماست پروبیوتیک طعم‌دار قالبی و همزده و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن را مورد بررسی قرار دادند و به نتایج غیر مشابهی دست یافتند. نتایج حاصل از آزمایشات نشان داد که با افزایش مدت زمان نگهداری تا روز هفتم، اسیدیته افزایش و سپس تا روز بیست و یکم با افزودن عصاره زرشک کاهش می‌یابد(2). جونگ و همکاران (2016) به بررسی ویژگی‌های عملکردی و میکروبی ماست گیاهی تخمیر شده با عصاره گیاهان سنتی کره جنوبی نلومبو نوسیفرا لیف(NN) و دیوسپیروس کاکی (DK) پرداختند و به نتایج مشابهی دست یافتند. اسیدیته ماست در طول زمان نگهداری افزایش داشت و تمامی ماست‌های حاوی عصاره گیاهی اسیدیته بالاتری نسبت به ماست شاهد داشتند و ماست حاوی عصاره NN اسیدیته بالاتری نسبت به ماست حاوی DK داشت (24).

جدول2- مقادیر اسیدیته (درجه دورنیک) نمونه‌های مورد بررسی در طول زمان نگهداری*

بازه زمانی	روز اول	روز هفتم	روز چهاردهم	روز بیست و یکم
تیمار				
شاهد	78±1/15 Cb	80±1 BCd	83±0/58 ABc	84±1/15 Ac
A_1	82±0/58 Ca	89±1 Bab	93±1/15 Aa	94±2 Aa
A_2	83±1/15 Ca	91±1/73Ba	94±1/15ABab	95±1/15 Aa
A_3	81±1/15Bab	84±0 Bc	89±1 Ab	89±1/15 Ab
A_4	80±1 Bab	88±2/31Aab	90±0/58 Aab	91±0/58Ab

*حروف بزرگ غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطر است (p<0/05)، حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در ستون است (p<0/05). A_1: 8% عصاره ریحان، A_2: 10% عصاره ریحان، A_3: 6% عصاره مرزه، A_4: 8% عصاره مرزه، شاهد: فاقد عصاره

3-2-2- اندازه گیری pH

نتایج به دست آمده از pH نمونه‌های مورد بررسی در طول زمان نگهداری، در جدول 3 نشان داده شده است. پس از گذشت 21 روز از زمان نگهداری، بیشترین مقدار pH مربوط به تیمار شاهد بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی-دار داشت و کمترین مقدار آن مربوط به تیمار A_2 بود که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار داشت. افزودن عصاره‌های گیاهی به ماست پروبیوتیک، سبب کاهش معنی‌دار pH نسبت به ماست شاهد گردید (p<0/05). علت می‌تواند افزایش فعالیت متابولیکی باکتری‌ها و تولید اسیدهای آلی توسط باکتری‌های اسید لاکتیک به دنبال افزودن عصاره‌های گیاهی به ماست باشد (15). همچنین با گذشت زمان نگهداری نیز، pH تمامی تیمارها به طور معنی‌داری کاهش یافت. علت این امر، ادامه فرآیند تخمیر لاکتوز توسط باکتری‌های استارتر ماست و استارتر پروبیوتیک و تولید و تجمع اسید می‌باشد (13). پس از گذشت 21 روز از زمان نگهداری، pH تیمارها به جز تیمار A_4 با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند (p<0/05) که این اختلاف معنی‌دار به علت افزایشpH تیمارها به‌دنبال افزایش غلظت عصاره‌ها می‌باشد در حقیقت با افزایش مقدار عصاره‌های گیاهی و به دنبال آن افزایش سوبسترای در دسترس جهت رشد میکروارگانیسم‌ها، فعالیت متابولیکی باکتری افزایش یافته و موجب کاهش pH می‌گردد (4). میکائیل و همکاران (2010) به بررسی تأثیر عصاره‌های گیاهی بر روی زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس در ماست بدون چربی پرداختند و به نتایج مشابهی دست پیدا کردند. نتایج نشان داد که در طی 50 روز نگهداری، pH نمونه‌ها کاهش یافت (23). امیردیوانی و بابا (2011) به بررسی تغییر در ویژگی‌های تخمیری ماست حاوی نعناع، شوید و ریحان پرداختند و به نتایج مشابهی رسیدند. سرعت کاهش pH در ماست‌های گیاهی بالاتر از ماست شاهد بود (p<0/05). همچنین pH ماست‌های حاوی عصاره‌های گیاهی پایین‌تر از ماست شاهد بود (15).

جدول 3- مقادیر pH نمونه‌های مورد بررسی در طول زمان نگهداری*

بازه زمانی / تیمار	روز اول	روز هفتم	روز چهاردهم	روز بیست ویکم
شاهد	4/45±0 Aa	4/38±0 Ba	4/36±0/02 BCa	4/34±0 Ca
A_1	4/35±0/01 Ab	4/27±0/01 Bcd	4/18±0/01 Cc	4/16±0/01 Cd
A_2	4/34±0/01 Ab	4/22±0 Bd	4/16±0 Cc	4/15±0/01 Cd
A_3	4/42±0 Aa	4/32±0/01 Bb	4/27±0/02 Cb	4/27±0/01 Cb
A_4	4/4±0/01 Aa	4/26±0 Bc	4/25±0/01 Bb	4/25±0/01 Bbc

*حروف بزرگ غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطر است (p<0/05)، حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در ستون است (p<0/05). A_1 : 8 % عصاره ریحان، A_2: 10 % عصاره ریحان، A_3: 6 % عصاره مرزه، A_4: ۸ % عصاره مرزه، شاهد: فاقد عصاره

3-2-3-آب اندازی

نتایج به دست آمده از آب اندازی نمونه‌های مورد بررسی در طول زمان نگهداری، در جدول 4 نشان داده شده است. در طول زمان نگهداری، بیشترین میزان آب اندازی مربوط به تیمار شاهد بود که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت وکمترین میزان آب اندازی مربوط به تیمار A4 بود که با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار بود. در حقیقت می‌توان گفت میزان آب اندازی در اکثر تیمارها به طور معنی‌داری کاهش یافته است. افزودن عصاره‌های گیاهی به ماست پروبیوتیک، منجر به کاهش معنی‌دار آب اندازی نسبت به ماست شاهد گردید (p<0/05). علت این امر آن است که روند اسیدی شدن ماست‌های حاوی عصاره‌های گیاهی در طول تخمیر، ژل های با استحکام بالا، نفوذ پذیری پایین، شبکه پروتئینی ظریف و جذب آب بالا را بوجود می‌آورد که باعث کاهش آب اندازی ماست‌های گیاهی نسبت به ماست ساده می‌شود (28). ضمنا با گذشت زمان نگهداری میزان آب اندازی در اکثر تیمارها به طور معنی‌داری کاهش یافت (p<0/05). علت آن است که با هیدرولیز پروتئین‌ها در طول زمان اسیدهای آمینه و پلی پپتیدهای کوتاه زنجیر تولید می‌شوند که هیدروفیلیک بوده و باعث بهبود ظرفیت نگهداری آب و کاهش سینرزیس می‌گردند (4). کلانتری و همکاران (1390) تأثیر دو نوع اسانس گیاهی شوید و ترخون را بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی (pH، اسیدیته، ویسکوزیته و سینرسیس)، ماست پروبیوتیک، در طی روزهای اول، هفتم، چهاردهم و بیست و یکم از طول دوره نگهداری، مورد ارزیابی قرار دادند و به نتایج غیرمشابهی دست یافتند. به طور کلی با افزایش غلظت اسانس‌ها در مورد هر دو نوع اسانس شوید و ترخون، میزان سینرزیس به طور معنی‌داری (p<0/05) افزایش یافت (8). عباس زاده و همکاران (1392) در پژوهشی اثر افزودن اسانس و عصاره حاصل از گیاه نعناع فلفلی را بر میزان آب اندازی ماست غلیظ شده و تغییرات آن طی 21 روز نگهداری مورد بررسی قرار دادند و به نتایج مشابهی دست پیدا کردند (7).

جدول 4- مقادیر آب اندازی(گرم در صد گرم) نمونه‌های مورد بررسی در طول زمان نگهداری*

بازه زمانی / تیمار	روز اول	روز هفتم	روز چهاردهم	روز بیست ویکم
شاهد	39/92±0/74 Aa	40/46±0/7 Aa	38/55±0/41Aa	38/45±0/69 Ba
A_1	37/56±0/55 ABb	38/69±0/03 Aab	36/63±0/18 Bab	34/8±1/3Cb
A_2	35±0/68 Bc	38/57±0/88 Aab	35/18±0/38 Bb	33/15±0/79 Bc
A_3	39/81±0/11 Aa	36/76±0/09 Bbc	35/87±0/21 Bb	31/6±0/83Ccd
A_4	37/1±0/03 Ab	34/49±0/34Bc	35/26±0/39ABb	30/86±1/22Ccd

*حروف بزرگ غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطر است (p<0/05)، حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در ستون است (p<0/05). A_1: 8 % عصاره ریحان، A_2: 10 % عصاره ریحان، A_3: 6 % عصاره مرزه، A_4: 8 % عصاره مرزه، شاهد: فاقد عصاره

4-نتیجه‌گیری

از آنجایی که بالا بودن جمعیت اولیه باکتری‌های پروبیوتیک، منجر به حفظ خواص سلامت بخش فرآورده های پروبیوتیک تا آخرین روز انقضای محصول می‌گردد، استفاده از عصاره‌های گیاهی به عنوان محرک رشد پروبیوتیک‌ها بسیار توصیه می‌شود. نمونه حاوی 8 % عصاره مرزه بیشترین تأثیر را بر افزایش رشد باکتری‌های پروبیوتیک و کاهش آب اندازی در محصول نسبت به سایر نمونه‌ها داشت. همچنین با گذشت زمان نگهداری، نمونه حاوی 6 % عصاره مرزه پس از نمونه شاهد کمترین تأثیر را بر روند اسیدی شدن ماست در زمان نگهداری داشت و پس از نمونه شاهد دارای پایین ترین اسیدیته و بالاترین pH بود. علت آن احتمالا مربوط به میزان و نوع ترکیبات فنولی موجود در عصاره مرزه می‌باشد که بر بهبود رشد پروبیوتیک‌ها از طریق کاهش پتانسیل اکسیداسیون-احیا، تأثیر گذار بوده و میزان آب اندازی را از طریق ایجاد یک ژل با ساختار محکم کاهش داده و روند اسیدی شدن آن نسبت به سایر نمونه‌ها احتمالا به‌واسطه اثر کمتر این عصاره بر فعالیت باکتری‌های آغازگر و پروبیوتیک ماست، کند تر بوده است.

5- منابع

1. توکلی صابری، م.ر. و صداقت، م.ر. 1379. گیاهان دارویی. چاپخانه گلشن، تهران، صفحات 5-2.

2. حسنی، م.، محمدی ثانی، ع.، شریفی، ا. و حسنی، ب. 1393. تأثیر عصاره زرشک بر زنده‌مانی باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ماست پروبیوتیک طعم دار قالبی و همزده با عصاره زرشک و بررسی ویژگی-های فیزیکوشیمیایی آن. سومین همایش ملی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان.

3. دهداری، ل. و حاجی زاده، م. 1392. بررسی اثر گیاهان دارویی بر زنده ماندن باکتری‌های پروبیوتیک در ماست پروبیوتیک. بیست و یکمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی ایران، دانشگاه شیراز.

4. رضایی، ع.، خسرو شاهی اصل، ا.، ملکی نژاد، ح. و زمردی، ش. 1391. بررسی تأثیر افزایش سدیم کازئینات و عصاره نعناع بر قابلیت ماندگاری لاکتوباسیلوس کازئی در ماست پروبیوتیک بدون چربی. سومین همایش ملی بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (گیاهی، دامی و صنعتی)، دانشگاه ارومیه.

5. زرگری، ع. 1371. گیاهان دارویی. جلد اول، انتشارات دانشگاه تهران، صفحات 45-32.

6. طباطبایی رئیسی، ع. 1386. فعالیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات شیمیایی اسانس بخش‌های هوایی گیاه Satureja sahendica Barnm. مجله علوم دارویی تبریز، 3: 6-1.

7. عباس زاده، ش.، مرتضوی، ع.، شریفی، ا. و حسنی، م.1392. بررسی تغییرات سینرزیس در ماست حاوی

اسانس و عصاره نعناع فلفلی در طول دوره نگهداری. همایش پدافند غیرعامل در بخش کشاورزی، جزیره قشم.

8. کلانتری، س.، خسرو شاهی اصل، ا. و زمردی، ش. 1390. تأثیر اسانس‌های روغنی ترخون و شوید بر ویژگی‌های کیفی ماست پروبیوتیک. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی دانشکده پردیس بین المللی ارس تبریز.

9. کنعانی، ب.، خسرو شاهی اصل، ا.، علیزاده، م. و پور احمد، ر. 1393. غنی سازی ماست پروبیوتیک با عصاره گزنه، اسانس‌های بابونه و نعناع و اثر آن بر اسیدیته ماست در زمان نگهداری. بیست و دومین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه.

10. مرتضویان، ا.م. و سهراب وندی، س. 1385 . مروری بر پروبیوتیک‌ها و فرآورده‌های غذایی پروبیوتیک (با تأکید بر فرآورده های لبنی). انتشارات آتا، تهران، صفحات 130-74.

11. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.1386. تعیین اسیدیته قابل تیتر و pH. استاندارد ملی ایران ، شماره 2852.

12. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. 1387. ماست پروبیوتیک- ویژگی‌ها و روش‌های آزمون. استاندارد ملی ایران، شماره 11325.

13. مهجوریان، ع.، توکلی پور، ح. و مختاریان، م. 1393. مطالعه برخی خصوصیات ماست پروبیوتیک غنی شده با ریتنتیت و کنسانتره پروتئین آب پنیر. نشریه فرآوری و نگهداری مواد غذایی، 6 (1): 118-103.

14. Alizadeh, A. and Ehsani, M.R. 2008. Probiotic Survival in yogurt made from ultrafiltered skim milk during refrigeration storage. Research Journal of Biological Sciences, 3(10): 1163-1165.

15. Amirdivani, S. and Baba, A.S. 2011. Changes in yogurt fermentation characteristics, and antioxidant potential and invitro inhibition of angiotensin-1 converting enzyme upon the inclusion of peppermint, dill and basil. LWT-Food Science and Technology, 44: 1458-1464.

16. Bruno, F.A., Lankaputhra, W.E.V. and Shah, N.P. 2000. Growth, Viability and activity of Bifidobacterium spp. in skim milk containing prebiotics. Journal of Food Science, 67(7): 2740-2744.

17. Das, K., Tiwari, R.K.S. and shrivastava, D.K. 2010. Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: current methods and future trends. Journal of Medicinal Plants Research, 4(2): 104-111.

18. Dave, R.I. and Shah, N.P. 1997. Viability of yogurt and probiotic bacteria in yogurts made from commercial starter cultures. International Dairy Journal, 7(1): 31-41.

19. Dorman, H. and Hiltunen, R. 2004. Fe(III) reductive and free radical-scavenging properties of summer savory (Satureja hortensis L.) extract and sub-fractions. Food Chemistry, 88: 193-199.

20. Gonzalez-Martinez, C., Becerra, M., Chafer, M., Albors, A., Carot, J.M. and Chiralt, A. 2002. Influence of substituting milk powder for whey powder on yogurt quality. Trends Food Science and Technology, 13: 334-340.

21. Joung, J.Y., Lee, J.Y., Ha, Y.S., Shin, Y.K., Kim, S.H. and Oh, N.S. 2016. Enhanced Microbial, Functional and Sensory Properties of Herbal Yogurt Fermented with Korean Traditional Plant Extracts. Korean Journal for Food Science of Animal Resources, 36(1): 90-99.

22. 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.

23. Michael, M., Phebus, R.K. and Schmidt, K.A. 2010. Impact of a plant extract on the viability of Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus and Streptococcus thermophiles in nonfat yogurt. International Dairy Journal, 20(10): 665-672.

24. Michael, M., Phebus, R.K. and Schmidt, K.A. 2015. Plant extract enhances the viability of Lactobacillusdelbrueckii subsp. Bulgaricus and Lactobacillus acidophilus in probiotic nonfat yogurt. Food Science & Nutrition, 3(1): 48-55.

25. Mishra, V. and Prasad, D.N. 2005. Application of invitro methods for selection of Lactobacillus casei strains as potential

probiotics. Intenational Journal of Food Microbiology, 103(1): 109-115.
26.Oh, N.S., Lee, J.Y., Joung, J.Y., Kim, K.S., Shin, Y.K. and Lee, K.W. 2016. Microbiological characterization and functionality of set-type yogurt fermented with potential prebiotic substrates Cudrania tricuspidata and Morus alba L. leaf extracts. Journal of Dairy Science, 99(8): 1-12.
27. Oke, F., Aslim, B., Ozturk, S. and Altunday, S. 2009. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of Satureja cuneifolia Ten. Food Chemistry, 112: 874-879.
28. Ozer, B., Kirmaci, H.A., Oztekin, S., Hayaloglu, A. and Atamer, M. 2007. Incorporation of microbial transglutaminase in to non-fat yogurt production. International Dairy Journal, 17: 199-207.
29. Peng, Y., Horne, D.S. and Lucey, J.A. 2009. Impact of preacidification of milk and fermentation on the properties of yogurt. Journal of Dairy Science, 92(7): 2977-2990.
30. Shori, A.B. and Baba, A.S. 2011. Viability of lactic acid bacteria and sensory evaluation in Cinnamomum verum and Allium stavium bioyogurts made from camel and cow milk. Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Science, 11(1): 50-55.
31. Telci, I., Bayram, E., Yilmaz, G. and Avci, B. 2006. Viability in essential oil composition of Turkish basils (Ocimum basilicum L.). Biochemical Systematics and Ecoogyl, 34: 489-497.