

غنی سازی ماست با عصاره برگ گردو و بررسی خواص فیزیکوشیمیایی و حسی آن

معصومه شیروانی¹، سارا انصاری^{2*}

1- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.

2- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.

تاریخ پذیرش: 1397/10/16

تاریخ دریافت: 1397/07/29

چکیده

برگ گردو یک منبع بالقوه از ترکیبات سلامتی بخش شامل پلی فنول ها است که خاصیت آنتی اکسیدانی دارد. در این پژوهش غنی سازی ماست با عصاره برگ گردو و تاثیر آن بر خواص فیزیکوشیمیایی و حسی ماست مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور عصاره اتانولی برگ خشک گردو در سه سطح (1، 1/5 و 2 درصد) به شیر آماده شده جهت تهیه ماست بلافاصله پس از استارتر زنی اضافه و ماست تولیدی برای مدت 28 روز در دمای 4 درجه سانتی گراد و در فواصل زمانی معین مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان ماده جامد بدون چربی ماست های غنی شده نسبت به نمونه کنترل بیشتر و پروتئین و چربی آنها کمتر بود. افزودن عصاره برگ گردو در غلظت های مختلف موجب کاهش معنی دار pH و آب اندازی و افزایش معنی دار اسیدیته شد که گذشت زمان نیز بر میزان این شاخص ها تاثیر گذار بود ($p < 0.05$). غنی سازی ماست با عصاره برگ گردو موجب افزایش معنی دار ($p < 0.05$) خاصیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنولی گردید. کاهش معنی دار ($p < 0.05$) اندیس تیوباریتوریک اسید در ماست های غنی شده (نسبت به نمونه کنترل) تاییدی از خاصیت آنتی اکسیدانی قوی عصاره بود. از نظر ویژگی های رنگی با افزایش غلظت عصاره میزان شاخص های L^* و a^* بطور معنی دار کاهش و b^* افزایش یافت. زنده مانی باکتری های استارتر با افزودن عصاره و در طول دوره نگهداری بطور معنی داری ($p < 0.05$) کاهش یافت. افزودن عصاره در انتهای دوره نگهداری موجب کاهش معنی دار ویسکوزیته نسبت به نمونه کنترل گردید. بعلاوه با افزایش غلظت عصاره و در طی دوره نگهداری امتیاز ویژگی های حسی ماست نیز کاهش یافت. در مجموع با در نظر گرفتن بالاترین امتیاز از نظر ارزیابان حسی، همچنین کاهش میزان سینرسیس و بهبود ویژگی های فیزیکوشیمیایی غلظت 1/5 درصد عصاره برگ گردو جهت غنی سازی ماست معرفی می گردد.

واژه های کلیدی: عصاره برگ گردو، ماست، ویژگیهای فیزیکوشیمیایی، دوره نگهداری

1- مقدمه

ماست یک غذای مغذی و یکی از محبوب ترین محصولات شیری تخمیر شده در سراسر جهان است. در طول سال ها، اثرات مفید ماست بر سلامتی به مواد مغذی آن، باکتری های آغازگر ماست (استرپتوکوکوس ترموفیلوس¹ و لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس²) و باکتری های پروبیوتیک (در صورت اضافه شدن) نسبت داده شده است (1). گزارش شده از آنجا که سلول های تجزیه شده توسط باکتری های آغازگر ماست، برخی از عوامل رشد (نظیر ویتامین ها) مفید برای رشد میکروفلورای روده ای را آزاد می کنند مصرف منظم ماست موجب تحریک میکرو فلورای طبیعی روده می شود. گزارش هایی نیز مبنی بر فعالیت ضد سرطانی ماست وجود دارد (2). از دیدگاه تغذیه ای، ماست یک منبع عالی از مواد مغذی شیر مانند پروتئین، کلسیم، فسفر، ریوفلاوین، فولات، نیاسین، منیزیم و روی است. بعلاوه اغلب اسیدهای آمینه ضروری، مواد معدنی و ویتامین ها را در فرم های قابل دسترس از نظر زیستی فراهم می کند (1). از نظر صنعتی، دو نوع ماست بر اساس روش تولید و ساختار فیزیکی لخته³ وجود دارد. ماست قالبی⁴ دارای ساختار ژله ای پیوسته و غیر گسسته⁵ که در مقیاس خرده فروشی تولید می شود و ماست همزده⁶ که بصورت فله ای تولید شده و ساختار ژل قبل از مخلوط کردن گسیخته می شود (3). در سال های اخیر، ماست و سایر محصولات لبنی به عنوان حامل برای اجزای غذایی عملگر استفاده شده اند. این اجزای غذایی، فراتر از عملکرد تغذیه ای پایه خود، فواید فیزیولوژیکی نشان داده یا خطر بیماری های مزمن را کاهش می دهند (4، 5). مطالعات متعددی در زمینه غنی سازی ماست با اجزای غذایی عملگر نظیر ویتامین ها، مواد معدنی، فیبر، میوه ها و

سبزیجات، روغن های حاوی اسیدهای چرب اشباع نشده و فیتواستروئول ها صورت گرفته است (2). عصاره های گیاهی نیز می توانند به عنوان اجزای غذایی عملگر در صنایع لبنی بکار روند. استفاده از عصاره های گیاهی برای تولید ماست عملگر می تواند سبب کاهش خطر بیماری های مزمن مانند سرطان، پوکی استخوان، فشار خون، دیابت و بیماری های قلبی شوند. این عصاره ها شامل گلوکز اینولات، آنتی اکسیدان ها، آنتوسیانین ها، لیکوپن، کاروتنوئید و ترکیبات فنولیک مثل فلاونوئیدها هستند (6). عصاره و اسانس از لحاظ طعمی قبل از استفاده باید قابل پذیرش باشد چرا که فرآیند تخمیر تغییر اساسی روی طعم نمی گذارد (7). امروزه به منظور حفظ و افزایش سلامت مصرف کنندگان و نیز دستیابی به منابع جدید و ارزان قیمت از نظر آنتی اکسیدانهای طبیعی، نیاز به تحقیقات در این زمینه میباشد. درخت گردو با نام علمی *Juglans regia* گیاهی از خانواده Juglandaceae که در ایران بیشتر در نواحی شمالی - غربی و جنوبی کشور گسترش دارد (8). گردو علاوه بر مصارف تغذیه ای، در طب سنتی نیز کاربرد دارد و خواص درمانی آن از زمان های خیلی قدیم شناخته شده است. برگ گردو یک منبع بالقوه از ترکیب های محافظ سلامت می باشد و به طور وسیع در طب سنتی برای درمان نارسایی وریدی، علائم هموروئیدی و همچنین خواص ضداسهال، ضدکرم روده، ضدقارچ، کاهنده قند و فشارخون بکار می رود. در واقع برگ گردو حاوی مقادیر قابل توجهی از نظر ترکیب های پلی فنولی می باشد (9). ترکیبات عمده فنلی موجود در برگ گردو، اسیدهای فنلی و فلاونوئیدها می باشند کافئوئیلکوبینیک و کومارونیلکوبینیک اسید، مهم ترین اسیدهای فنلی و ژوگلون، کوئرستین و مشتقات آن، کامپفرول و مشتقات آن، مهم ترین فلاونوئیدهای موجود در برگ گردو می باشند. ژوگلون از لحاظ ساختمانی 5- هیدروکسی 1و 4- نفتوکینون بوده که تنها در بخش های سبز و تازه گردو یافت شده و در برگ های خشک، اثر آن از بین می رود (10). آلمدیا و

1- *Streptococcus thermophilus*2- *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*

3- Coagulum

4- Set yogurt

5- Undisrupted

6- Stirred Yogurt

لیتری ریخته شد و به آن حلال اتانول، به گونه ای که سطح آنرا بپوشاند اضافه گردید و بعد از 24 ساعت محلول صاف شد. در مرحله بعد به تفاله باقی مانده، الکل 75 درصد اضافه و بعد از 24 ساعت صاف گردید. محلول های صاف شده، مخلوط و با دستگاه اوبراتور روتاری تحت خلا (مدل Laborata4000Heidolph، ساخت آلمان) در دمای 50 درجه سانتیگراد و سرعت چرخش 70 دور در دقیقه تا یک سوم حجم اولیه تغلیظ گردید. به منظور جداسازی پروتئین، چربی و کلروفیل، محلول تغلیظ شده سه بار توسط کلروفرم 50 میلی لیتر دکانته شده و عصاره حاصل تا بریکس 100 درصد تغلیظ گردید (10). سپس عصاره تا زمان انجام آزمون در ظروف شیشه ای تیره در شرایط یخچال در دمای 4 درجه سانتی گراد نگهداری شد.

2-3- روش تهیه ماست و اضافه کردن عصاره

شیر معمولی گاو پس از تنظیم ماده خشک با افزودن 2 درصد شیر خشک و هموزن شدن با استفاده از همزن (گوسونیک مدل Ghm703، ساخت ترکیه)، به مدت سه دقیقه در دمای 90 درجه سانتیگراد حرارت داده شد تا پاستوریزه گردد. سپس تا دمای 45 درجه خنک و مخلوط استارتر لاکتیکی به میزان 2/5 درصد به آن تلقیح شد و مقادیر 1، 1/5 و 2 درصد (وزنی / وزنی) عصاره برگ درخت گردو رقیق شده با آب به نسبت یک به یک به آن اضافه گردید. یک نمونه بدون عصاره به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. شیر تلقیح شده پس از درب بندی در دمای 45 درجه سانتیگراد تا رسیدن به pH برابر 4/4 تقریباً به مدت 4 ساعت، گرمخانه گذاری شد. پس از رسیدن به pH مورد نظر، ماست ها در دمای 4 درجه سانتی گراد سرد شده و سپس در همین دما نیز به منظور گذراندن دوره ثانویه اسیدی شدن و تولید ترکیبات آروماتیک نگهداری شدند. آزمون های مورد نظر در طی 28 روز نگهداری نمونه های مختلف در یخچال در فواصل زمانی 7 روزه انجام شد.

همکاران¹ (2008)، نشان دادند که عصاره برگ گردو می تواند به عنوان منبعی از آنتی اکسیدانهای طبیعی مورد استفاده قرار گیرد. همچنین عصاره آبی برگ این گیاه قادر است میزان چربی های بد خون نظیر تری گلیسرید، کلسترول تام و LDL را در موش های صحرایی دیابتی کاهش و در عین حال چربی مفید خون یعنی HDL را افزایش دهد (11). به علاوه پژوهش های انجام شده روی برگ گردو خاصیت آنتی باکتریال آن را نیز اثبات نموده است (8). با توجه به فراوانی برگ گردو در ایران و خواص بسیار زیاد دارویی و مفید آن، همچنین اهمیت اقتصادی و تغذیه ای ماست تصمیم به انجام این پژوهش گرفته شد. هدف از پژوهش حاضر تولید ماست غنی شده با عصاره برگ گردو و تاثیر آن بر خواص فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی ماست طی 28 روز نگهداری در دمای 4 درجه سانتی گراد می باشد.

2- مواد و روش ها

1-1- مواد اولیه

شیر خام تازه از بازار محلی تهیه شد. مایه ماست مورد استفاده جهت تولید ماست از کارخانه شیر پاستوریزه پگاه شیراز تهیه گردید. مایه ماست مورد استفاده که از شرکت بهین آزما (فارس، ایران) تهیه شده بود، حاوی باکتری های آغازگر استرپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس دلبروکوی وارپته بولگاریکوس به نسبت 1:2 بود. کلیه مواد شیمیایی و محیط های کشت مورد استفاده از شرکت مرک آلمان با درجه خلوص تجزیه ای تهیه شدند.

2-2- روش تهیه عصاره

برگ های گردو در تیرماه 1396 از منطقه قصرالدشت شهرستان شیراز جمع آوری خیر گردید. پس از شستشوی برگ ها برای جداسازی گرد و غبار و بقایای آفت کش ها، برگ ها به مدت دو روز در سایه خشک شدند. سپس نمونه ها آسیاب و از الک با مش 20 عبور داده شدند. حدود 100 گرم از پودر بدست آمده درون ارلن یک

4-2- آزمایش ها

2-4-1- آنالیز ترکیب شیمیایی ماست

اندازه گیری پروتئین به روش کلدال، چربی به روش ژربر، میزان ماده خشک به روش وزن سنجی و اندازه گیری خاکستر به روش سوزاندن در کوره در طی یک روز پس از تولید بر روی هر چهار نمونه انجام شد (12). میزان pH با استفاده از pH متر (مدل Metrohm 691، ساخت سوئیس) و میزان اسیدیته با سود 0/1 نرمال طبق استاندارد ملی ایران شماره 2852 اندازه گیری شد.

2-4-2- میزان آب اندازی ماست

جهت اندازه گیری میزان آب اندازی تیمارهای مختلف ماست، 25 گرم نمونه را روی کاغذ صافی واتمن شماره 41 توزین و روی قیف قرار داده شد. میزان آب خارج شده از قیف پس از 120 دقیقه در دمای 4 درجه سانتی گراد به عنوان آب اندازی بیان گردید (13).

2-4-3- اندازه گیری فنول کل و فعالیت آنتی

اکسیدانی

برای اندازه گیری میزان فنول کل و فعالیت آنتی اکسیدانی ابتدا عصاره گیری از ماست انجام شد. بدین ترتیب که حدود 5 گرم از نمونه ماست با 20 میلی لیتر متانول در دو نوبت مخلوط و هر بار به مدت 10 دقیقه در دمای 4 درجه سانتیگراد و دور 4500 سانتریفیوژ شد. عصاره متانولی حاصل با کاغذ واتمن شماره 1 فیلتر گردید و با عصاره مرحله بعد مخلوط و در نهایت مجموع دو عصاره مجدداً در دمای 4 درجه سانتیگراد، زمان 15 دقیقه و دور 6500 سانتریفیوژ (مدل SW14R، شرکت Froilabo، ساخت فرانسه) و فیلتر گردید. از این عصاره جهت اندازه گیری فعالیت فنولی و آنتی اکسیدانی استفاده گردید. اندازه گیری فنول کل طبق روش ژنگ و وانگ¹ (2001) به کمک معرف فولین سیوکالتیو² انجام گردید (14). بدین ترتیب که به حدود 200 میکرولیتر عصاره، 1 میلی لیتر محلول فولین 10 درصد و سپس 800 میکرولیتر محلول

کربنات سدیم 10 درصد اضافه گردید. سپس مخلوط برای مدت 1/5 ساعت در دمای اتاق در تاریکی نگه داشته شد. سپس جذب نمونه ها با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر (مدل Biotek-ELX-808، ساخت آلمان) در طول موج 765 نانومتر خوانده شد و میزان کل ترکیبات فنولی با توجه به منحنی استاندارد گالیک اسید تعیین شد. فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه های ماست از طریق ارزیابی میزان مهار رادیکال های آزاد به روش 2 و 2-دی فنیل-1-پیکریل هیدرازیل³ انجام گرفت. برای این منظور ابتدا 3 میلی لیتر از غلظت های مختلف عصاره در متانول 80 درصد با 1 میلی لیتر از محلول متانولی DPPH یک میلی مولار به شدت مخلوط شد؛ سپس مخلوط حاصل به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق و در مکانی تاریک نگهداری و در نهایت جذب آن در طول موج 517 نانومتر با اسپکتروفوتومتر (مدل UV-1650PC، شرکت Shimadzu، ساخت ژاپن) خوانده شد. فعالیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد نمونه ها بر حسب مقدار نمونه موردنیاز جهت مهار کردن 50 DPPH (IC50) بیان شده است که هرچه میزان آن بیشتر باشد فعالیت آنتی اکسیدانی کمتر است (14).

2-4-4- سنجش رنگ

رنگ سطح نمونه های ماست با دستگاه رنگ سنج هانترلب (مدل D25/DP9000، ساخت شرکت Huter Lab، آمریکا) بررسی گردید. اساس رنگ سنجی در این سیستم CIELAB و سنجش شاخص های *b (شاخص زردی-آبی)، *a (شاخص قرمز-سبزی) و *L (شاخص روشنایی) بود.

2-4-5- اندازه گیری اکسیداسیون لیپیدها در ماست

اندازه گیری اکسیداسیون لیپید در تیمارهای ماست بر اساس روش حکمت و مک ماهون⁴ (1997) انجام شد (15). نتایج بر اساس عدد 2- تیوباریتوریک اسید به

3-2,2-Diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH)
4- Hekmat and MCMahon

1- Zheng and Wang
2- Folin-Ciocalteu

دانکن در سطح احتمال 5 درصد و جهت ترسیم نمودارها از نرم افزار اکسل 2010 استفاده شد. لازم به ذکر است که کلیه آزمونها در سه تکرار انجام شده است.

3- نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی نمونه کنترل و نمونه های ماست حاوی مقادیر مختلف عصاره برگ گردو در جدول 1 نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می شود، افزودن عصاره برگ گردو بر میزان چربی و خاکستر تاثیر معنی داری نداشته است ($p < 0/05$). نمونه کنترل بیشترین میزان چربی را دارا بود که با نمونه حاوی 1 و 1/5 درصد عصاره اختلاف معنی داری نداشت. در حالی که کمترین میزان چربی متعلق به نمونه حاوی 2 درصد عصاره بود. بالاترین میزان پروتئین متعلق به نمونه کنترل بود و سایر نمونه ها اختلاف معنی داری با هم نداشتند. دلیل کاهش کم در میزان چربی و پروتئین با افزودن عصاره مربوط به میزان کمتر شیر خشک در ماست های حاوی عصاره بود. در تحقیقی مشابه علیرضالو و همکاران¹ (2015) بیان نمودند که میان ویژگیهای میزان چربی و پروتئین نمونه های ماست رنگی فراسودمند اختلاف معنی داری وجود داشت؛ بدین صورت که ماست کنترل دارای بیشترین میزان چربی و ماست حاوی عصاره گوجه فرنگی دارای کمترین میزان چربی بود (6). رشیدی نژاد و همکاران² (2016) بیان نمودند که کاتکین عصاره چای سبز تأثیر معنی داری بر میزان چربی و پروتئین پنی نداشت (17). اوسالیوان و همکاران³ (2016) نیز در بررسی اثر افزودن عصاره علف دریایی بر ترکیب شیمیایی ماست بیان داشتند که میزان چربی و خاکستر ماست های حاصل با کنترل تفاوت معنی داری نداشت. اما ماست کنترل بدلیل استفاده از پروتئین شیر به عنوان یک افزودنی در فرمولاسیون ماست کربوهیدرات و پروتئین بیشتری داشت (5). به علاوه همان طور که جدول 1 نشان می دهد با افزایش میزان عصاره مواد جامد بدون چربی ماست اندکی

صورت میکرومول مالون دی آلدئید به ازای هر کیلوگرم ماست بیان گردید.

2-4-6- آزمون میکروبی

روند تغییرات تعداد باکتریهای آغازگر در نمونه های ماست با استفاده از روش پورپلیت در محیط کشت MRS اسیدی پس از رقیق سازی بررسی شد. پلیت های MRS اسیدی در جاره های بی هوازی که از گازپک A برای ایجاد شرایط بی هوازی درون جار استفاده گردید قرار داده شدند. سپس جار بی هوازی به مدت 4 روز در انکوباتور 37 درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند و تعداد کلونی ها در هر پلیت شمارش و بر حسب CFU در هر گرم ماست گزارش گردید (5). هم چنین شمارش کپک و مخمر بصورت کشت پورپلیت در محیط کشت YGC آگار استریل مذاب با شرایط انکوباسیون 5 روز در 25 درجه سانتی گراد انجام شد (16).

2-4-7- اندازه گیری ویسکوزیته

ویسکوزیته نمونه های تولیدی با استفاده از ویسکومتر بروکفیلد (Brookfield, USA) با اسپیندل شماره CP51 و سرعت 21 دور در دقیقه، پس از گذشت 10 ثانیه از چرخش اسپیندل در دمای 21 درجه سانتیگراد اندازه گیری گردید (6).

2-4-8- ارزیابی حسی

ارزیابی حسی نمونه های مختلف ماست تولیدی طی دوره نگهداری توسط 10 نفر ارزیاب آموزش دیده با استفاده از تست هدونیک 5 نقطه ای از لحاظ ویژگی های ظاهر، قوام، بو، طعم و پذیرش کلی صورت گرفت. بیشترین نمره یعنی 5 به منزله عالی بودن نمونه و 1 کمترین نمره نشان دهنده خیلی بد بودن نمونه است.

2-5- تجزیه و تحلیل آماری

این مطالعه بر پایه طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم افزار SAS (2001) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه ای

1-Alirezalu et al.

2- Rashidinejad et al.

3- O'Sullivan et al.

افزایش یافته که همواره غلظت 2 درصد عصاره برگ گردو نسبت به نمونه شاهد افزایش معنی داری را نشان می داد.

جدول 1- ترکیب شیمیایی ماست حاوی مقادیر مختلف عصاره برگ گردو

نمونه	چربی (%)	پروتئین (%)	خاکستر (%)	ماده جامد بدون چربی (%)
کنترل	3/19 ± 0/05 ^a	3/52 ± 0/08 ^a	0/88 ± 0/10 ^{ab}	0/1 ± 9/74 ^c
1% عصاره	3/16 ± 0/04 ^{ab}	3/34 ± 0/04 ^b	0/03 ± 0/90 ^a	9/91 ± 0/07 ^b
1/5% عصاره	3/12 ± 0/02 ^{ab}	3/3 ± 0/05 ^b	0/05 ± 0/91 ^a	10/05 ± 0/05 ^b
2% عصاره	3/1 ± 0/05 ^b	3/28 ± 0/04 ^b	0/02 ± 0/90 ^a	10/24 ± 0/10 ^a

* اعداد جدول به صورت میانگین ± انحراف معیار هستند. اعداد دارای حروف مشترک در ستون با یکدیگر تفاوت معنی داری ندارند (p<0/05).

در جدول 2 نتایج آزمونهای تعیین pH و اسیدیته قابل تیر نمونه های مختلف طی دوره نگهداری در یخچال نشان داده شده است. محدوده pH و اسیدیته نمونه ها برتریب از 3/89 تا 4/64 و 78 تا 115 متغیر است. همانطور که مشاهده می شود در هر یک از تیمارها pH در طول زمان بطور معنی داری کاهش یافته است که علت این پدیده می تواند مربوط به تداوم فرایند تخمیر توسط باکتریهای استارتر بویژه لاکتوباسیلوس دلبروسکی زیرگونه بولگاریکوس باشد که موجب کاهش قابل ملاحظه pH ماست عملگر در طول دوره نگهداری می گردد (18). در طی دوره نگهداری همواره تیمار شاهد دارای بالاترین و تیمار حاوی 2 درصد عصاره برگ گردو دارای پایین ترین میزان pH بود. این مساله بدلیل تولید اسید بیشتر در نمونه های حاوی عصاره در مقایسه با کنترل در نتیجه تحریک رشد باکتریهای آغازگر می باشد. در روزهای مختلف نگهداری نیز اختلاف معنی داری میان تیمار شاهد و تیمارهای حاوی مقادیر بالای عصاره برگ گردو مشاهده شد، بطوری که افزودن عصاره برگ گردو موجب کاهش pH گردید که این اثر بویژه در غلظت های بالای عصاره (2درصد) معنی دار بود. همزمان با کاهش pH در تمامی تیمارهای ماست میزان اسیدیته نیز افزایش پیدا کرد که این افزایش تا اواسط دوره نگهداری (از روز 1 تا 14) شدت بیشتری داشته، سپس از شدت آن کاسته شده (از روز 14 تا 28) و در مجموع در پایان دوره نگهداری موجب افزایش معنی دار اسیدیته گردید. دلیل افزایش اسیدیته بخاطر

تولید اسید بیشتر در نتیجه تداوم فرایند تخمیر در طول دوره نگهداری می باشد. علیرضالو و همکاران¹ (2015) در مورد ماست حاوی عصاره های شاه توت و هویج، زینا و ابدل حامد² (2019) در مورد ماست حاوی عصاره برگ گواوا³ و جونگ و همکاران⁴ (2016) در مورد ماست حاوی دو نوع عصاره گیاه سنتی کشور کره طی 28 روز نگهداری به نتایج مشابهی در مورد تغییرات pH و اسیدیته دست یافتند (6، 18 و 19). لطفی زاده دهکردی و همکاران⁵ (2013) نیز بیان نمودند که افزودن عصاره شنگ به ماست موجب کاهش اسیدیته گردید و همچنین با گذشت زمان اسیدیته ماست افزایش یافت. آنها عنوان کردند که گیاه شنگ به واسطه داشتن ترکیبات ضد اسید، بر فعالیت باکتری های لاکتیک اسید تاثیر گذاشته و مانع افزایش زیاد اسیدیته و کاهش pH ماست می گردد (7). به منظور بررسی ویژگی های فیزیولوژیکی نمونه های ماست در طی نگهداری در یخچال آب اندازی مورد بررسی قرار گرفت. آب اندازی یک ویژگی نامطلوب طی نگهداری ماست بوده که افزایش آن موجب کاهش پذیرش مصرف کننده می گردد. آب اندازی ماست به طور قابل توجهی طی غنی سازی با عصاره های گیاهی و بسته به نوع عصاره متغیر است. همانطور که در جدول 2 مشاهده می شود آب اندازی ماست کنترل به

1- Alirezalu et al.

2- Ziena and Abdelhamid

3- Guava Leaf Extract

4- Joung et al.

5- Lotfizade Dehkordi et al.

روز 28 و روز اول نگهداری بوده است. کاهش آب اندازی در طی نگهداری می تواند به دلیل این باشد که در دماهای پایین تر، باندهای بین ذرات ژل قوی تر بوده و یا تعداد آن ها بیشتر هستند که می تواند ناشی از تورم ذرات یا متصل شدن به هم در یک منطقه بزرگتر باشد (22). تغییرات در میزان آب اندازی در طی دوره نگهداری مشابه با یافته ها در زمینه ماست حاوی عصاره آبی دارچین و سیر (23)، موسیلاژ دانه ریحان (24)، دانه به (25)، گوار یا صمغ دانه شاهی (26) بوده است. هر چند برخی محققین افزایش میزان آب اندازی در طول نگهداری در یخچال ماست غنی شده با عصاره های برگ گیاه چای سبز و مورینگا (20)، عصاره دو نوع گیاه سنتی کره ای (19) و عصاره شاه توت و هویج (6) را گزارش کرده اند. بنابراین می توان گفت که هرچه ترکیب اضافه شده به ماست هماهنگی بیشتری با ساختار آن داشته باشد، می تواند باعث کاهش میزان آب اندازی ماست گردند.

طور معنی داری بیشتر از ماست غنی شده با عصاره برگ گردو است و افزودن عصاره برگ گردو به طور معنی داری میزان آب اندازی را کاهش داده است. به طوری که در طی دوره مطالعه تا پایان دوره همواره تیمار حاوی 2 درصد عصاره دارای کمترین میزان آب اندازی و تیمار شاهد دارای بیشترین میزان آب اندازی بوده است. فرآیند اسیدی شدن ماست طی غنی سازی با عصاره های گیاهی موجب ایجاد ژل با استحکام بالا، نفوذپذیری پایین تر، شبکه های پروتئین ریز و کاهش آب اندازی می شود. بطور مشابه گزارش شده که افزودن عصاره شاه توت و هویج (6)، عصاره دو نوع گیاه سنتی کره ای (19)، عصاره های برگ گیاه چای سبز و مورینگا (20) و عصاره برگ زیتون (21) و عصاره گیاه شنگ (7) میزان آب اندازی ماست را کاهش داده است. همچنین نتایج نشان داد که درصد آب اندازی در تمامی نمونه ها با گذشت زمان به طور معنی داری ($p < 0/05$) کاهش یافته است به طوری که کمترین و بیشترین میزان آب اندازی بترتیب مربوط به

جدول 2- تأثیر مقادیر مختلف عصاره برگ گردو بر تغییرات pH، اسیدیته و آب اندازی ماست طی دوره نگهداری

ویژگیها	تیمار	زمان نگهداری (روز)				
		28	21	14	7	1
pH	کنترل	4/19 ± 0/06 ^{dA}	4/23 ± 0/03 ^{dA}	4/38 ± 0/06 ^{Ac}	4/50 ± 0/04 ^{bA}	4/64 ± 0/04 ^{aA}
	1% عصاره	4/14 ± 0/04 ^{cA}	4/2 ± 0/10 ^{bcAB}	4/31 ± 0/06 ^{bAB}	4/50 ± 0/02 ^{aA}	4/54 ± 0/05 ^{aB}
	1/5% عصاره	4 ± 0/05 ^{dB}	4/18 ± 0/02 ^{cAB}	4/23 ± 0/03 ^{cBC}	4/39 ± 0/08 ^{bB}	4/48 ± 0/02 ^{aB}
	2% عصاره	3/89 ± 0/08 ^{eb}	4/12 ± 0/02 ^{dB}	4/21 ± 0/02 ^{cC}	4/31 ± 0/04 ^{bB}	4/40 ± 0/05 ^{aC}
اسیدیته	کنترل	104/00 ± 1/00 ^{aC}	102/00 ± 2/00 ^{aB}	99/33 ± 2/02 ^{bB}	89/00 ± 1/00 ^{Cc}	78/00 ± 0/5 ^{Cd}
	1% عصاره	110/00 ± 1/50 ^{aB}	108/00 ± 1/00 ^{aA}	101/00 ± 2/00 ^{bB}	92/00 ± 1/50 ^{Bc}	80/00 ± 0/1 ^{dBC}
	1/5% عصاره	112/00 ± 2/00 ^{aAB}	109/00 ± 2/00 ^{abA}	108/00 ± 1/50 ^{Ab}	94/00 ± 1/60 ^{cAB}	82/00 ± 1/80 ^{dB}
	2% عصاره	115/00 ± 2/50 ^{aA}	111/00 ± 1/00 ^{bA}	109/00 ± 0/50 ^{bA}	96/00 ± 1/10 ^{Ac}	85/00 ± 0/80 ^{dA}
آب اندازی (%)	کنترل	19/34 ± 0/09 ^{eA}	20/89 ± 0/10 ^{dA}	24/44 ± 0/05 ^{cA}	31/16 ± 0/07 ^{bA}	35/04 ± 0/10 ^{aA}
	1% عصاره	18/22 ± 0/20 ^{eB}	19/71 ± 0/21 ^{dB}	23/21 ± 0/11 ^{cB}	28/77 ± 0/17 ^{bB}	33/23 ± 0/25 ^{aB}
	1/5% عصاره	17/44 ± 0/20 ^{eC}	18/14 ± 0/15 ^{dC}	22/14 ± 0/10 ^{cC}	27/25 ± 0/15 ^{bC}	30/42 ± 0/20 ^{aC}
	2% عصاره	15/64 ± 0/50 ^{eD}	16/73 ± 0/10 ^{dD}	19/33 ± 0/07 ^{cD}	23/15 ± 0/10 ^{bD}	27/04 ± 0/09 ^{aD}

اعداد جدول به صورت میانگین ± انحراف معیار هستند. حروف غیرمتشابه کوچک در هر ردیف و حروف غیرمتشابه بزرگ در هر ستون در سطح احتمال 5% دارای اختلاف معنی دار هستند.

همکاران⁵ (2015) نیز بیان کردند که ماست شاه توت دارای بیش ترین میزان ترکیبات فنولیکی (563 میلی گرم در 100 گرم) بترتیب در مقایسه با ماست هویج و کنترل بود (6). هم چنین گنج پزیران و همکاران⁶ (2014) طی تولید ماست حاوی پودر گردو اذعان کردند که وجود ترکیبات فنولیک موجود در گردو می تواند باعث بهبود ویژگی های تغذیه ای و حسی محصولات لبنی گردد (27). بطور مشابه شوکری و همکاران⁷ (2017) بیان داشتند که غنی سازی ماست با عصاره چای سبز و عصاره مورینگا به طور معنی داری، فنول های کل را به ترتیب به میزان 254 و 103 درصد در مقایسه با نمونه کنترل (23) معادل گالیک اسید در 100 گرم) افزایش می دهد (20). در تحقیق حاضر مقدار فنل کل تمامی تیمارهای ماست (بجز کنترل) در طول دوره ذخیره سازی به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0/05$) و پس از 28 روز نگهداری در 4 درجه سانتی گراد به کمترین مقدار رسید. این در حالی است که جونگ و همکاران⁸ (2016) گزارش کردند که محتوای فنول کل برای تمامی تیمارهای ماست طی نگهداری بطور تدریجی افزایش یافت و در انتهای دوره نگهداری 28 روزه، ماست حاوی عصاره برگ *Nelumbo nucifera* (88/4) معادل گالیک اسید در میلی لیتر) و پس از آن ماست حاوی عصاره *Diospyros kaki* (77/8) معادل گالیک اسید در میلی لیتر) بیشترین میزان فنول کل را داشتند (19). کاهش فنول کل طی ذخیره سازی را می توان به فعالیت متابولیکی باکتری در ارتباط با کاهش یا تغییر ترکیبات غیر فنولیک که قادر به واکنش با معرف فولین سیوکالتیو بودند نسبت داد.

محتوای فنول کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی در عصاره برگ گردو و ماست های حاوی عصاره اندازه گیری شد. در تحقیق حاضر میزان فنول کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره برگ گردو بر حسب IC50 بترتیب معادل 552/5 میلی گرم در لیتر گالیک اسید و 542 میلی گرم معادل گالیک اسید در لیتر عصاره بود. این یافته ها حاکی از آن است که عصاره برگ گردو می تواند به عنوان اجزای آنتی اکسیدانی پایدار در محصولات لبنی تخمیری نظیر ماست استفاده شوند. بطور مشابه میرزاپور و همکاران¹ (2010) نشان دادند که میزان EC50² عصاره برگ گردو بر مبنای تست های توانایی احیاکنندگی و فعالسازی رهاسازی رادیکال DPPH بترتیب برابر با 0/143 و 0/08 میلی گرم بر میلی لیتر بود، در نتیجه فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی داشته و می تواند به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی در روغن آفتابگردان (قابل قیاس با آنتی اکسیدان های مصنوعی³ TBHQ و⁴ BHA) استفاده شود (9). در شکل 1 محتوای فنول کل ماست های غنی شده با عصاره در مقایسه با نمونه کنترل طی 28 روز نگهداری در 4 درجه سانتی گراد نشان داده شده است. نتایج نشان داد که در همه روزهای مورد مطالعه بین همه تیمارهای مورد بررسی از لحاظ میزان ترکیبات فنلی اختلاف معنی داری وجود دارد و با افزایش میزان عصاره برگ گردو میزان ترکیبات فنلی به طور معنی داری افزایش می یابد. همانطور که مشخص است نمونه ماست حاوی 2 درصد عصاره برگ گردو با میزان 928/6 میکروگرم معادل گالیک اسید بر میلی گرم دارای بیشترین و نمونه کنترل با میزان 147/23 میکروگرم معادل گالیک اسید بر میلی گرم دارای کمترین میزان این ترکیبات بود. علیرضالو و

1- Mirzapour et al.

2- غلظتی از عصاره که تامین کننده 50% ممانعت کنندگی فعالیت رادیکال های آزاد است.

3- Tertiary butylhydroquinone

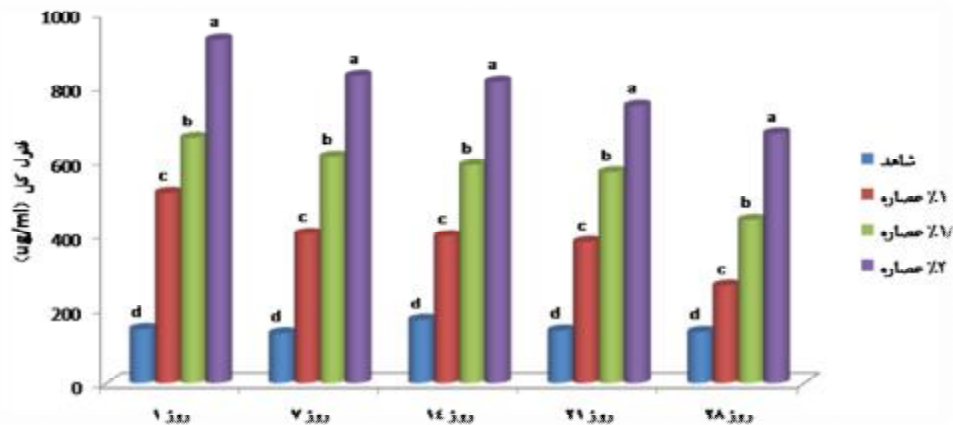
4- Butylated hydroxyanisole

5- Alirezalu et al.

6- Gachpazian et al.

7- Shokery et al.

8- Joung et al.

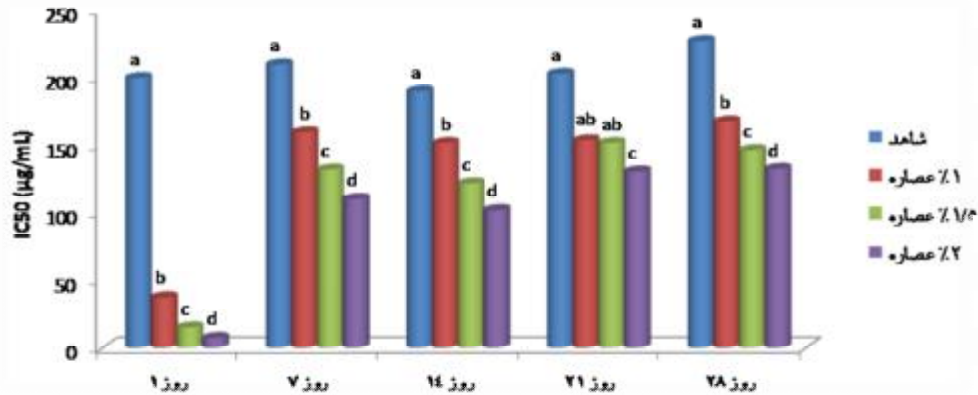


شکل 1- تأثیر مقادیر مختلف عصاره برگ گردو بر ترکیبات فنلی (میکروگرم معادل گالیک اسید/میلی لیتر) ماست در طی دوره نگهداری (ستون های دارای حروف مشترک در سطح احتمال 5% با یکدیگر اختلاف معنی داری ندارند).

قابلیت واکنش با معرف DPPH و در نتیجه افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی را دارند. همچنین رشد میکروبی در طی ذخیره سازی ممکن است برخی از ترکیبات فنلی را تغییر داده و فعالیت های آنتی اکسیدانی را افزایش دهد (29). در نتیجه، مصرف ماست حاوی عصاره های گیاهی دارای مزایای سلامتی بالقوه مرتبط با فعالیت آنتی اکسیدانی بالا و محتوای باکتری های زنده است. بطور مشابه شوکری و همکاران¹ (2017) بدین نتیجه دست یافتند که ماست غنی شده با عصاره چای سبز IC50 کمتر از ماست حاوی عصاره مورینگا و ماست کنترل بیشترین میزان IC50 را داشت (20). اوسالیوان و همکاران² (2016)، کاراسلان و همکاران³ (2011) و اسماعیلی⁴ (2015) نیز بترتیب گزارش کردند که ماست غنی شده با دو نوع عصاره علف دریایی (درغلظت های 0/25 و 0/5 درصد)، عصاره انگور قرمز و عصاره کالوس⁵ و عصاره برگ زیتون فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به نمونه کنترل داشتند (5، 30 و 21).

بر اساس شکل 2 میزان IC50 نمونه های ماست تیمار یافته از 7/5 تا 37/5 در روز اول نگهداری متغیر است که مقادیر پایین IC50 نشانگر فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر است. در کلیه روزهای نگهداری میان همه تیمارها از نظر میزان IC50 اختلاف معنی داری مشاهده شد و افزودن عصاره برگ گردو میزان IC50 ماست را به طور معنی داری کاهش داد. در همه زمان ها تیمار حاوی 2 درصد عصاره برگ گردو و تیمار شاهد بترتیب دارای پایین ترین و بالاترین میزان IC50 بود. زمان نگهداری نیز بطور معنی داری بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد اثر گذاشته، بطوری که در کلیه تیمارها با گذشت زمان میزان IC50 افزایش یافته که این افزایش در پایان دوره مطالعه نسبت به روز اول معنی دار بود. افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی ماست غنی شده با عصاره های گیاهی به احتمال زیاد در نتیجه محتوای فیتوشیمیایی عصاره های گیاهی و فعالیت های متابولیکی میکروبی می باشد (28). فعالیت متابولیکی میکروبی احتمالاً موجب تخریب ماکرومولکول ها و تولید ترکیباتی می شود که

1- Shokery et al.
2- O'Sullivan et al.
3- Karaaslan et al.
4-Esmaili
1-Callus



شکل 2- تأثیر مقادیر مختلف عصاره برگ گردو بر غلظت بازدارندگی 50% (میکروگرم / لیتر) ماست طی دوره نگهداری (ستون های دارای حروف مشترک در سطح احتمال 5% با یکدیگر اختلاف معنی داری ندارند).

تیمارهای حاوی عصاره برگ گردو از لحاظ اندیس TBA اختلاف معنی داری مشاهده شد، اما بین غلظتهای مختلف عصاره اختلاف معنی داری مشاهده نشد. اما در طی دوره نگهداری اختلاف معنی داری میان غلظت های مختلف عصاره وجود داشت. این مساله ممکن است مربوط به فعالیت متابولیکی میکروب ها و تولید ترکیباتی با خاصیت آنتی اکسیدانی باشد. بطورمشابه اسالیوان و همکاران² (2016) گزارش کردند که میزان اکسیداسیون لیپیدها در ماست های دارای غلظت بالاتر (0/5 درصد) عصاره علف دریایی در مقایسه با نمونه کنترل کمتر بود (5).

نتایج حاصل از بررسی تأثیر غلظتهای مختلف عصاره برگ گردو بر میزان اندیس تیوباربتوریک اسید¹ ماست در طی دوره نگهداری در سطح احتمال $p < 0.05$ در جدول 3 آورده شده است. همانطور که مشاهده می شود در هر یک از تیمارها اکسیداسیون لیپیدها در طول زمان بطورمعنی داری افزایش می یابد. در روز اول مطالعه بالاترین میزان این اندیس در نمونه شاهد و پایین ترین میزان در نمونه حاوی 2 درصد عصاره برگ گردو مشاهده شد. این مساله مربوط به خاصیت آنتی اکسیدانی قوی در عصاره می باشد. در این روز بین تیمار شاهد و

جدول 3- تأثیر مقادیر مختلف عصاره برگ گردو بر اندیس تیوباربتوریک اسید (میکرو مولهای مالون آلدئید در کیلوگرم) ماست طی دوره نگهداری

تیمار	زمان نگهداری (روز)				
	28	21	14	7	1
کنترل	2/87 ± 0/01 ^{aA}	1/82 ± 0/005 ^{bA}	1/67 ± 0/02 ^{cA}	1/54 ± 0/03 ^{cdA}	1/48 ± 0/17 ^{dA}
1% عصاره	2/53 ± 0/005 ^{aB}	1/62 ± 0/01 ^{bB}	1/54 ± 0/03 ^{bcB}	1/40 ± 0/07 ^{dB}	1/24 ± 0/01 ^{eB}
1/5% عصاره	2/30 ± 0/00 ^{aC}	1/40 ± 0/03 ^{bC}	1/36 ± 0/01 ^{bcC}	1/33 ± 0/03 ^{cBC}	1/29 ± 0/01 ^{dB}
2% عصاره	2/24 ± 0/05 ^{aD}	1/34 ± 0/01 ^{bD}	1/32 ± 0/02 ^{bc}	1/30 ± 0/04 ^{bc}	1/22 ± 0/11 ^{CB}

* اعداد جدول به صورت میانگین ± انحراف معیار هستند. حروف غیرمتشابه کوچک در هر ردیف و حروف غیرمتشابه بزرگ در هر ستون در سطح احتمال 5% دارای اختلاف معنی دار هستند.

اختلاف معنی داری با تیمار شاهد وجود نداشت، هرچند تیمارهای حاوی 1/5 و 2 درصد عصاره از همان ابتدای دوره اختلاف معنی داری با نمونه کنترل داشتند. با گذشت زمان نیز میزان شاخص L^* و a^* در غالب نمونه ها افزایش و b^* کاهش داشته است. این تغییر پارامترهای رنگی در طول زمان برای a^* و b^* معنی دار بود، هرچند در رابطه با L^* در تمامی تیمارها این اختلاف میان اول و آخر دوره نگهداری معنی دار بود. مشابه با تحقیق حاضر گزارش شده که افزودن عصاره چای برگ سبز و برگ مورینگا (20) و عصاره برگ زیتون (21) بطور معنی داری و بسته به غلظت موجب کاهش روشنایی، افزایش b^* و افزایش a^* (قرمزتر شدن) در ماست حاوی عصاره برگ چای سبز و کاهش a^* (سبزتر شدن) در ماست های حاوی عصاره برگ مورینگا و عصاره برگ زیتون می شد.

رنگ یکی از مهمترین ویژگی های بصری در محصولات لبنی است. در جدول 4 نتایج آزمون فیزیکی رنگ سنجی (شاخص های L^* ، a^* و b^*) نمونه های مختلف در دوره نگهداری در یخچال نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می شود غنی سازی ماست با عصاره برگ گردو موجب کاهش شاخص L^* و افزایش شاخص b^* می شد بطوری که در طول دوره نگهداری همواره تیمار شاهد بالاترین L^* / پایین ترین b^* و تیمار حاوی 2 درصد عصاره پایین ترین L^* / بیشترین b^* را بطور معنی داری ($p < 0.05$) داشتند. این مساله حاکی از آن است که ماست های غنی شده در مقایسه با نمونه کنترل تیره تر و زردتر بودند. این مساله بدلیل رنگ عصاره بود که کمی ته رنگ زرد مایل به سبز داشت. آنالیز پارامتر a^* نیز حاکی از روند افزایشی این شاخص با افزودن عصاره بود. در تیمار حاوی 1 درصد عصاره تا روز چهاردهم نگهداری

جدول 4- تأثیر مقادیر مختلف عصاره برگ گردو بر شاخص های رنگ ماست طی دوره نگهداری

ویژگیها	تیمار	زمان نگهداری (روز)				
		28	21	14	7	1
L^*	کنترل	65/00 ± 1 ^{cA}	66/16 ± 0/76 ^{bcA}	67/00 ± 1/00 ^{ba}	67/66 ± 0/57 ^{ba}	70/16 ± 0/76 ^{aA}
	1% عصاره	64/66 ± 2/08 ^{ba}	65/33 ± 1/52 ^{abA}	66/33 ± 0/57 ^{abA}	66/83 ± 0/28 ^{abAB}	67/50 ± 0/50 ^{ab}
	1/5% عصاره	63/66 ± 1/15 ^{ba}	64/33 ± 1/15 ^{abA}	65/00 ± 1/00 ^{abA}	65/50 ± 1/32 ^{abB}	66/00 ± 1/00 ^{ab}
	2% عصاره	59/33 ± 2/08 ^{bb}	60/66 ± 2/08 ^{abB}	61/33 ± 1/52 ^{abB}	62/33 ± 0/57 ^{abC}	63/66 ± 1/52 ^{aC}
a^*	کنترل	-2/33 ± 0/15 ^{cA}	-2/13 ± 0/15 ^{bcA}	-1/91 ± 0/10 ^{ba}	-1/63 ± 0/15 ^{aA}	-1/55 ± 0/05 ^{aA}
	1% عصاره	-2/76 ± 0/05 ^{dB}	-2/40 ± 0/10 ^{cB}	-2/05 ± 0/05 ^{ba}	-1/90 ± 0/20 ^{abA}	-1/70 ± 0/10 ^{aA}
	1/5% عصاره	-2/90 ± 0/10 ^{dB}	-2/63 ± 0/05 ^{cC}	-2/46 ± 0/11 ^{bcB}	-2/30 ± 0/20 ^{bb}	-1/98 ± 0/07 ^{ab}
	2% عصاره	-3/16 ± 0/20 ^{cC}	-2/95 ± 0/05 ^{bcD}	-2/80 ± 0/10 ^{bc}	-2/40 ± 0/10 ^{ab}	-2/30 ± 0/10 ^{aC}
b^*	کنترل	11/20 ± 0/20 ^{aD}	10/50 ± 0/50 ^{bc}	9/80 ± 0/10 ^{cD}	9/16 ± 0/15 ^{dD}	8/50 ± 0/10 ^{eC}
	1% عصاره	11/90 ± 0/10 ^{aC}	11/20 ± 0/2 ^{bcB}	10/36 ± 0/41 ^{cC}	9/70 ± 0/10 ^{dC}	8/73 ± 0/25 ^{eC}
	1/5% عصاره	12/80 ± 0/20 ^{ab}	11/83 ± 0/76 ^{abAB}	11/06 ± 0/11 ^{bb}	10/60 ± 0/10 ^{cB}	10/06 ± 0/30 ^{dB}
	2% عصاره	13/60 ± 0/40 ^{aA}	12/50 ± 0/50 ^{aA}	11/96 ± 0/05 ^{ba}	11/20 ± 0/20 ^{ba}	11/00 ± 0/20 ^{cA}

* اعداد جدول به صورت میانگین ± انحراف معیار هستند. حروف غیرمتشابه کوچک در هر ردیف و حروف غیرمتشابه بزرگ در هر ستون در سطح احتمال 5% دارای اختلاف معنی دار هستند.

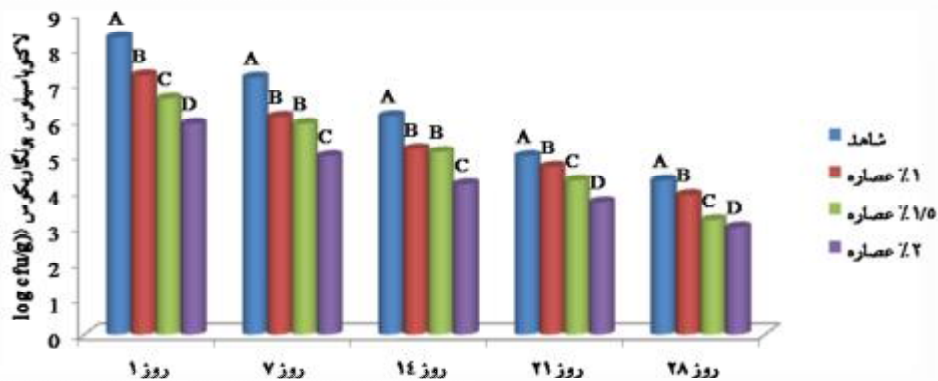
شکل 3 تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره برگ گردو بر قابلیت زنده ماننی باکتری لاکتوباسیلوس بولگاریکوس در ماست در طی دوره نگهداری 28 روزه را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که در همه نمونه‌ها با گذشت زمان تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس بولگاریکوس به طور معنی داری ($p < 0.05$) کاهش یافت. کاهش تعداد باکتری‌های استارتر در طی زمان نگه‌داری قبلاً نیز توسط سایر محققین (6، 19 و 31) گزارش شده بود که تولید اسید طی دوره نگهداری می‌تواند در این زمینه موثر باشد. بعلاوه در کلیه روزهای نگهداری اختلاف معنی داری میان تیمارهای مختلف ماست‌های حاوی عصاره و کنترل وجود داشت بطوری که کاربرد عصاره گردو موجب کاهش معنی دار تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس بولگاریکوس گردید. مزایای سلامتی ماست به ترکیبات مغذی ماست، باکتری‌های استارتر و پروبیوتیک نسبت داده می‌شود که برای بهره‌گیری از این منافع سلامتی توصیه شده که تعداد باکتری‌های استارتر و پروبیوتیک بایستی در میزان توصیه شده 6 تا 8 CFU/g باشد (32). البته در اغلب محصولات ماست زنده ماننی کالچرها بدلیل تغییر در شرایط محیطی نظیر کاهش pH و پتانسیل اکسایش کاهش، همچنین تجمع پراکسید هیدروژن طی نگهداری کاهش می‌یابد. در تحقیق حاضر تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس بولگاریکوس در ماست غنی شده با 1، 1/5 و 2 درصد عصاره بترتیب پس از 7، 7 و 1 روز به مقدار کمتر از توصیه شده 6 CFU/ml رسید، در حالی

که در ماست کنترل تا روز 14 بیشتر از 6 CFU/ml بود. علت این پدیده می‌تواند مربوط به وجود ترکیبات فنولیک موجود در عصاره‌های گیاهی باشد که از رشد باکتری‌های استارتر جلوگیری می‌کنند (33). کمترین میزان تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس بولگاریکوس مربوط به ماست حاوی 2 درصد عصاره در روز 28ام نگهداری بود که این نتیجه با pH پایین تر و میزان بالای ترکیبات فنولی این ماست طی دوره نگهداری منطبق بود. بعلاوه رضایی ارمی و همکاران¹ (1392) بیان نمودند که عصاره برگ و پوسته سبز گردو دارای خاصیت ضد میکروبی بر روی اشرفیادکلاهی، باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد (34). مسعودی تنکابنی² (1392)، مهربان سنگ آتش و همکاران³ (1385) و علیرضالو و همکاران (1394) نیز گزارش کردند که کاربرد عصاره‌های چای سبز در دوغ، غلظت بالای عصاره کاکوتی در ماست و عصاره شاه توت و هویج در ماست میتواند موجب کاهش تعداد باکتری‌های آغازگر گردد (35، 31 و 6). نتایج حاصل از بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره برگ گردو بر کپک و مخمر ماست در طی دوره نگهداری نشان داد که در هیچ یک از تیمارهای مورد مطالعه و در هیچ یک از زمان‌ها آلودگی کپک و مخمر یافت نشد. این مساله به دلیل وجود مواد موثره با فعالیت ضدقارچی در عصاره الکلی برگ گردو می‌باشد.

1- Rezai Erami et al.

2- Masudi Tonkaboni

3- Mehraban-Sangatah



شکل 3- تأثیر مقادیر مختلف عصاره برگ گردو بر قابلیت زنده ماندن لاکتوباسیلوس بولگاریکوس ماست طی دوره نگهداری (ستون های دارای حروف مشترک در سطح احتمال 5% با یکدیگر اختلاف معنی داری ندارند).

ویسکوزیته احتمالاً به دلیل تأثیر عصاره بر تجمع شبکه کازئینی ماست از طریق فعل و انفعالات الکترواستاتیک و نیز تأثیر عصاره بر مقاومت ماست در برابر جریان می باشد. در تایید نتایج این تحقیق السید و همکاران (2014) بیان نمودند که افزایش غلظت عصاره پوست انار در ماست موجب کاهش ویسکوزیته گردید. (36). لطفی زاده دهکردی و همکاران (1392) بیان نمودند که افزودن عصاره گیاه شنگ موجب اندکی افزایش در ویسکوزیته ماست گردید. این مشاهدات حاکی از آن است که اثر عصاره های گیاهی وابسته به نوع گیاه و غلظت آن متفاوت است (7).

نتایج حاصل از بررسی تأثیر غلظت های مختلف عصاره برگ گردو بر ویسکوزیته ماست در طی دوره نگهداری در سطح احتمال $p < 0.05$ در جدول 5 آورده شده است. در روز اول نگهداری تمامی نمونه های غنی شده (بدون در نظر گرفتن اندازه غلظت) مقدار ویسکوزیته بیشتری را نسبت به نمونه کنترل نشان دادند. هر چند در روز 28 نگهداری مقادیر پایین تر ویسکوزیته در نمونه های غنی شده در مقایسه با کنترل دیده شد، بطوری که در نمونه حاوی 2 درصد عصاره مقدار ویسکوزیته با نمونه کنترل اختلاف معنی داری نداشت ($p < 0.05$). ذخیره سازی در یخچال نیز موجب کاهش معنی دار ویسکوزیته در طول دوره نگهداری گردید. کاهش

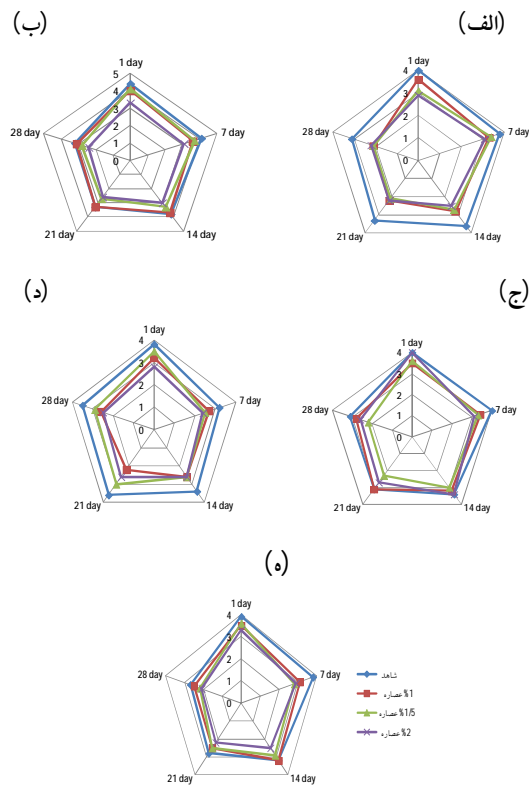
جدول 5- تأثیر مقادیر مختلف عصاره برگ گردو بر ویسکوزیته (میلی پاسکال ثانیه) ماست طی دوره نگهداری

تیمار	زمان نگهداری (روز)				
	28	21	14	7	1
کنترل	254/22 ± 3/72 ^{aA}	254/22 ± 3/72 ^{aA}	254/22 ± 3/72 ^{aA}	254/22 ± 3/72 ^{aA}	144/68 ± 2 ^{bB}
1% عصاره	254/22 ± 3/72 ^{aA}	254/22 ± 3/72 ^{aA}	254/22 ± 3/72 ^{aA}	254/22 ± 3/72 ^{aA}	254/22 ± 3/72 ^{aA}
1/5% عصاره	200/37 ± 4/5 ^{bC}	254/22 ± 3/72 ^{aA}	254/22 ± 3/72 ^{aA}	254/22 ± 3/72 ^{aA}	254/22 ± 3/72 ^{aA}
2% عصاره	212/39 ± 2 ^{bB}	159/47 ± 2/5 ^{cB}	254/22 ± 3/72 ^{aA}	254/22 ± 3/72 ^{aA}	254/22 ± 3/72 ^{aA}

* اعداد جدول به صورت میانگین ± انحراف معیار هستند. حروف غیرمتشابه کوچک در هر ردیف و حروف غیرمتشابه بزرگ در هر ستون در سطح احتمال 5% دارای اختلاف معنی دار هستند.

درصد عصاره برگ گردو در پایان دوره آزمایش امتیاز بو نسبت به روز اول به طور معنی داری کاهش یافت. از بین تیمارهای حاوی عصاره تیمار حاوی 1 درصد عصاره از نظر بو دارای وضعیت بهتری بود. از نظر قوام نیز گرچه بین هیچ یک از تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی داری وجود نداشت. اما در پایان دوره نگهداری تیمار حاوی 1/5 درصد عصاره پایین ترین و تیمار شاهد دارای بالاترین امتیاز قوام بود. با گذشت زمان نیز امتیاز قوام کلیه تیمارها (بجز 1 درصد عصاره) به طور معنی داری نسبت به روز اول کاهش یافت. به لحاظ ظاهری اگرچه نمونه کنترل و نمونه حاوی 2 درصد بترتیب بیشترین و کمترین امتیاز را کسب کردند اما اختلاف بین تیمارها در سطح 1/5 درصد معنی دار ارزیابی نشد. بعلاوه تا پایان دوره مطالعه نیز تیمار حاوی 1/5 درصد عصاره از وضعیت بهتری برخوردار بود. گذشت زمان نیز تاثیر معنی داری بر وضعیت ظاهری نداشت.

در شکل 4 نتایج مربوط به ارزیابی ویژگیهای حسی نمونه های ماست تولید شده در این پژوهش نشان داده شده است. امتیاز طعم نمونه های ماست با افزایش میزان عصاره برگ گردو نسبت به نمونه شاهد بطور معنی داری کاهش یافت. بدین صورت که تیمار حاوی 2 درصد عصاره و نمونه کنترل بترتیب پایین ترین و بالاترین مقبولیت طعم را داشتند. هرچند از روز هفتم اختلاف معنی داری میان درصدهای مختلف عصاره وجود نداشت. با گذشت زمان نیز امتیاز طعم کاهش یافته به طوری که بالاترین امتیاز طعم مربوط به نمونه های روز اول و پایین ترین امتیاز طعم مربوط به پایان دوره نگهداری بود. در روز اول نگهداری تیمار شاهد دارای بالاترین امتیاز بو و تیمار حاوی 2 درصد عصاره برگ گردو با اختلاف معنی داری نسبت به تیمار شاهد دارای پایین ترین امتیاز بو بود. هرچند از روز چهاردهم نگهداری این اختلاف چندان معنی دار نبود. در همه تیمارها به جز تیمار حاوی 2



شکل 4- تاثیر عصاره برگ گردو بر (الف) بو، (ب) طعم، (ج) قوام، (د) ظاهر و (ه) پذیرش کلی ماست در طی دوره نگهداری.

گردو در غلظت 1/5 درصد را به عنوان یک جز غذایی عملگر جهت بهبود ویژگی های تغذیه ای، فیزیکوشیمیایی و حسی ماست با زمان ماندگاری بالاتر توصیه کرد. هرچند تولید این محصول با ارزش در مقیاس صنعتی نیاز به تحقیقات بیشتری دارد.

5- منابع

1. McKinley, MC. The nutrition and health benefits of yoghurt. *International Journal of Dairy Technology* 2005; 58 (1): 1-12.
2. Hashemi Gahruie, H., Eskandari, MH., Mesbahi, Gh., Hanifpour, MA. Scientific and technical aspects of yogurt fortification: A review. *Food Science and Human Wellness* 2015; 4: 1-8.
3. Tamime, AY., Deeth, HC. Yogurt: Technology and Biochemistry. *Journal of Food Protection* 1980; 43(12): 939-977.
4. Shah, NP. Functional foods from probiotics and prebiotics. *Food Technology* 2001; 55: 46-53.
5. O'Sullivan, AM., O'Grady, MN., O'Callaghan, YC., Smyth, TJ., O'Brien, NM. Kerry, JP. Seaweed extracts as potential functional ingredients in yogurt. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 2016; 37 (1): 293-299.
6. Alirezalu, K., Hesari, J., Sadeghi, MH., Rezaei, A. Evaluation of quality properties and shelf life of functional colored yoghurt incorporating containing beetroot, spinach and tomato extract. *Journal of Food Research* 2015; 25(2): 283-297. (In Persian)
7. Lotfizade Dehkordi, S., Shakerian, A., Mohammadi Nafchi, A. Effect of extract from *Tragopogon graminifolius* DC on properties sensory, shelf life and the viscosity rate yogurt. *Journal of Herbal Drugs (An International Journal on Medicinal Herbs)* 2013; 4(1): 49-57. (In Persian)
8. Pereira, JA., Oliveira, I., Sousa, A., Valentão, P., Andrade, P.B., Ferreira, IC., Ferreres, F., Bento,

از نظر میزان پذیرش کلی بین تیمارهای حاوی عصاره اختلاف معنی داری مشاهده نشد. هرچند از روز هفتم به بعد تا پایان دوره نگهداری بالاترین پذیرش کلی در تیمار شاهد و پایین ترین پذیرش کلی در تیمار حاوی 2 درصد عصاره برگ گردو وجود داشت. درمیان تیمارهای حاوی عصاره برگ گردو، تیمار حاوی 1 درصد عصاره برگ گردو پذیرش کلی بالاتری داشته که با تیمار شاهد اختلاف معنی داری نداشت.

4- نتیجه گیری

علاقه فراوان به اصلاح خواص تغذیه ای و تکنولوژیکی محصولات لبنی نظیر ماست امکان توسعه محصولات جدید را فراهم کرده است. بنابر نتایج این تحقیق عصاره برگ گردو که غنی از ترکیبات پلی فنولی، فلاوونوئیدی و آنتی اکسیدانی است می تواند خواص فیزیکوشیمیایی و حسی ماست را تغییر دهد. افزودن عصاره برگ خاکستر و چربی ماست تاثیر معنی داری نداشت، هرچند میزان پروتئین را کمی کاهش داد. نتایج آزمون ها حاکی از کاهش pH و افزایش اسیدیته ماست با افزودن عصاره بود که این اثر بویژه در غلظت های بالای عصاره (2درصد) معنی دار ($p < 0.05$) بود. میزان سینرسیس در طول دوره نگهداری در تمامی تیمارها بطور معنی داری ($p < 0.05$) کاهش یافت که در این رابطه ماست های غنی شده با عصاره میزان آب اندازی کمتری داشتند. بعلاوه ماست های حاوی عصاره فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری را نسبت به ماست کنترل نشان دادند که در این میان نمونه حاوی 2درصد عصاره برگ گردو کمترین میزان IC50 و بیشترین محتوای فنولی را داشت. از نظر ویژگی های کیفی، ماست های حاوی عصاره میزان کمتر اکسیداسیون چربی را نشان دادند، هر چند این اختلاف میان غلظت های مختلف عصاره معنی دار نبود. ماست های غنی شده با عصاره به ویژه در غلظت های بالاتر تیره تر، زردتر و قرمزتر بودند. از نظر ارزیابان نیز بهترین نمونه به لحاظ پذیرش کلی غلظت 1/5 درصد عصاره بود. در مجموع بر اساس نتایج این پژوهش میتوان عصاره برگ

- and antioxidant activity of full-fat cheese during ripening and recovery of (+)-catechin after simulated in vitro digestion. *Antioxidants* 2016; 5 (29): 1-18.
18. Ziena, H., Abdelhamid, AM. Production of Functional Yogurt: Effect of natural Antioxidant from Guava (*Psidium guajava*) leaf extract. *Journal of Agriculture Environmental Science, Alexandria University of Egypt* 2019; 8 (1): 112-116.
 19. Joung, JY., Lee, JY., Ha, YS., Shin, YK., Kim, Y., Kim, Sh Oh NS. Enhanced microbial, functional and sensory properties of herbal yogurt fermented with Korean traditional plant extracts. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources* 2016; 36(1): 90-99.
 20. Shokery, ES., El-Ziney, MG., Yossef, AH., Mashaly, RI. Effect of green tea and moringa leave extracts fortification on the physicochemical, rheological, sensory and antioxidant properties of set-type yoghurt. *Journal of Advanced Dairy Research* 2017; 5: 179-183.
 21. Esmaili, F. 2015. Production of fortified yoghurt with Olive leaf extract and investigation of its physicochemical and Antioxidant properties. MS thesis, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Sabzevar. (In Persian)
 22. Walstra, P., Geurts, TJ., Noomen, A., Jellema, A., Van, Boekel MAJS. 1999. *Dairy Technology: Principles of Milk Properties and Processes*. Marcel Dekker, Inc., New York, USA.
 23. Shori, AB., Baba, AS., Misran, M., Ta, HW. Influence of *Allium sativum* or *Cinnamomum verum* on Physicochemical Characteristics of Yogurt. *International Journal of Dairy Science* 2014; 9 (2): 45-55.
 24. Amiri Aghdaei, SS., Aalami, M., Khomeiri, M., Rezaei, R. Effect of Basil seed mucilage (*Ocimum basilicum* L.) on the physicochemical and sensory characteristics of low fat A., Seabra, R., Estevinho, L. Walnut (*Juglans regia*) leaves: phenolic compound, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. *Food and Chemical Toxicology* 2007; 45(11): 2287 – 2295.
 9. Mirzapour, M., Hamed, M., Rahimipana, M. Sunflower oil stabilization by persian walnut leaves extract during oven storage test. *Food Science and Technology Research* 2010; 16 (5): 443 – 446.
 10. Asgari, S., Rahimi, P., Mahzouni, P., Kabiri, N. Hypoglycemic effect of extract of *Juglans regia* l. leaves on alloxan-induced diabetic rats. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 2010; 26(1/47): 30- 39. (In Persian)
 11. Almeida, IF., Fernandes, E., Lima, JLFC., Costa, PCF., Bahia, M.F. Walnut (*Juglans regia*) leaf extracts are strong scavengers of prooxidant reactive species. *Food Chemistry* 2008; 106(3): 1014-1020.
 12. AOAC. 2005. *Official methods for analysis Vol. II, 15th ed.* Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists.
 13. Tamime, AY., Barrantes, E., Sword, AM. The effects of starch based fat substitutes on the microstructure of set-style yogurt made from reconstituted skimmed milk powder. *Journal of the Society of Dairy Technology* 1996; 49: 1–10.
 14. Zheng, W., Wang, SY. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 2001; 49: 5165–5170.
 15. Hekmat, S., MCmahon, DJ. Manufacture and quality of ironfortified yogurt. *Journal of dairy science* 1997; 81: 3114-3122.
 16. Fallahi, F., Madani, M. Study of contamination of different dairy products distributed in Isfahan to saprophytic fungi. *Biological Journal of Microorganism* 2014; 11: 59-70. (In Persian)
 17. Rashidinejad, A., John Birch, E., Everett, DW. Effects of (+)-catechin on the composition, phenolic content

- Food Science and Technology 2006; 3(4): 47-55. (In Persian)
32. Ross, R P., Desmond, C., Fitzgerald, G F., Stanton, C. Overcoming the technology hurdles in the development of probiotic foods. *Journal of Applied Microbiology* 2005; 98 (6), 1410-1417.
 33. Tamime, AY. 2006. *Fermented Milks*. Blackwell Publishing, UK, pp. 65-78.
 34. Rezai Erami, S., Jafari, SM., Khomeiri, M., Bayat, H. Extraction of walnut leaves extracts with microwave assisted extraction and evaluation of antioxidant properties of phenolic compounds. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 2013; 29(4): 879-898.
 35. Masudi Tonkaboni, P. 2013. Effect of adding green tea extract on dough quality. MS Thesis, Agricultural University of Tabriz, Iran. (In Persian)
 36. El-Said, M.M., Haggag, H.F., Fakhr El-Din, M., Gad, A.S. and Farahat, A.M. 2014. Antioxidant activities and physical properties of stirred yoghurt fortified with pomegranate peel extracts. *Annals of Agricultural Science*, 59 (2): 212-217.
 - yogurt. *EJFPP* 2011; 2 (4): 1-17. (In Persian)
 25. Nikoofar, E., Hojjatoleslami, M., Shariaty, MA. Surveying the effect of quince seed mucilage as a fat replacer on texture and physicochemical properties of semi fat set yoghurt. *International Journal of Farming and Allied Sciences* 2013; 2: 861-865.
 26. Hassan, LK., Haggag, HF., ElKalyoubi, MH., EL-Aziz, MA., El-Sayed, MM., Sayed, AF. Physicochemical properties of yoghurt containing cress seed mucilage or guar gum. *Annals of Agricultural Sciences* 2015; 60(1): 21-28.
 27. Gachpazian, A., Hesari, J., peighambardus, SH., Nemati, M., Alijani, S., Ahmadi Aghdam, E. Production of yogurt enriched with walnut powder. *Iranian Food Science and Technology Research Journal* 2014; 9(4): 366-373. (In Persian)
 28. Thompson, JL., Lopetchara,t K., Drake, MA. Preferences for commercial strawberry drinkable yogurts among African American, Caucasian, and Hispanic consumers in the United States. *Journal of Dairy Science* 2007; 90: 4974-4987.
 29. Blum, U. Effects of microbial utilization of phenolic acids and their phenolic acid breakdown products on allelopathic interactions. *Journal of Chemical Ecology* 1998; 24: 685-708.
 30. Karaaslan, M., Ozden, M., Vardin, H., Turkoglu, H. Phenolic fortification of yogurt using grape and callus extracts. *LWT - Food Science and Technology* 2011; 44: 1065-1072.
 31. Mehraban-Sangatash, M., Garajian, R., Hadad-Khodaparast, M., Habibi-Najafi, M., Beiraghi-Toosi, Sh. Effect of Ziziphora essential oil and extract on the activity of yogurt starter bacteria. *Iranian Journal of*

Yogurt Fortification with Walnut Leaf Extract and Investigation of its Physicochemical and Sensory Properties

Masumeh Shiravani¹, Sara Ansari^{2*}

1- M.Sc. Graduated student of Food Science and Technology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.

2-Assistant Professor., Department of Food Science and Technology Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.

Received:21/10/2018

Accepted:06/01/2019

Abstract

Walnut leaves contain high amounts of polyphenols and antioxidant compounds which exhibited potentially health benefits. In this research, the effect of incorporation walnut leaf extract into yogurt on its physicochemical and sensory properties was examined. For this purpose, ethanolic extracts of dried walnut leaves were added at three concentrations (1, 1.5 and 2 %) to the milk prepared for yogurt production immediately after adding starter culture. The produced yogurts were evaluated at definite time intervals during 28 days storage at 4 °C. According to the results the non-fat solid content of yoghurts enriched with extracts was higher than control while their protein and fat content was lower. The acidity of yoghurts was significantly enhanced in the presence of walnut leaf extract, while their pH and syneresis was decreased and, in this regard, the effect of storage time was significant. During the storage, the total phenolic contents and antioxidant activity of the yogurts were both reduced. Significant decrease ($p < 0.05$) in the thiobarbituric acid (TBA) index of the enriched yoghurts, compared to the control sample, was indicative of the strong antioxidant properties of the extract. In terms of color properties, with increasing concentration of extract the value of L^* and a^* of yogurts decreased while their b^* increased. The viability of starter cultures decreased significantly ($p < 0.05$) with incorporation of extracts and during the storage period. At the end of storage, significant reduction in viscosity of yogurt fortified with extract was observed compared with the control sample. In addition, the sensory scores of different yogurts decreased with increasing concentrations of the extract and during the storage time. Generally, considering the highest score in terms of sensory evaluators, also reduction of syneresis and improvement of the physicochemical characteristics, the walnut leaf extract at concentration of 1.5% was introduced for enrichment of yogurt.

Keywords: Walnut Leaf Extract; Yogurt; Physicochemical Properties; Storage.

*Corresponding Author: ansari.fse@gmail.com