

بررسی تأثیر عصاره قاصدک بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و میکروبی ماست کم کالری پروبیوتیک

الهه کارگذار¹، سید علی مرتضوی¹، اکرم شریفی^{2*}

1-دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سبزوار، گروه علوم صنایع غذایی، سبزوار، ایران.

2- گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی صنایع و مکانیک، واحد قزوین، دانشگاه آزاد اسلامی، قزوین، ایران

تاریخ پذیرش: 96/06/12

تاریخ دریافت: 96/02/14

چکیده

در این تحقیق اثر افزودن عصاره حاصل از گیاه قاصدک به ترتیب در سه سطح 0/02، 0/03 و 0/04 درصد در سه تکرار بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنولی و زنده‌مانی باکتری‌های بیفیدو باکتریوم بیفیدوم و لاکتو باسیلوس اسیدوفیلوس در ماست کم کالری مورد بررسی قرار گرفت و تغییرات آن در طی 21 روز نگهداری با نمونه شاهد مقایسه گردید. نتایج مربوط به ترکیبات فنولی نشان داد، با افزایش مقدار عصاره قاصدک در فرمولاسیون ماست پروبیوتیک تولیدی مقدار ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش پیدا کرد. لگاریتم تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در هر گرم تیمار حاوی 0/04 درصد عصاره قاصدک در طول مدت نگهداری به طور معنی‌داری از 7/26 به 6/89 کاهش یافت. همچنین لگاریتم تعداد این میکروارگانیسم در هر گرم تیمار 0/03 درصد، هرچند با شیب کمتری نسبت به تیمار 0/04 درصد، اما باز هم به طور معنی‌دار از 7/9 به 6/73 کاهش یافت ($p < 0/05$). لگاریتم تعداد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در هر گرم تیمار 0/02 درصد ماست پروبیوتیک حاوی عصاره قاصدک در طول دوره نگهداری به تدریج و با شیبی ملایم اما از نظر آماری معنی‌دار از 8/21 به 7/92 رو به کاهش گذاشت ($p < 0/05$)؛ اما با این حال هنوز هم قابلیت زنده‌مانی میکروارگانیسم‌ها در کل زمان نگهداری در حد استاندارد 10^6 cfu/g حفظ شده بود. نتایج نشان داد می‌توان از عصاره قاصدک به عنوان یک عصاره عمل‌گرا در ماست پروبیوتیک استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های پروبیوتیک، ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، قاصدک، ماست.

1-مقدمه

امروزه ایجاد مقاومت دارویی در انواع میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا از یک سو و از طرف دیگر اثرات مضر نگه‌دارنده‌های غذایی شیمیایی و سنتزی و عوارض آن‌ها از سوی دیگر به‌عنوان یک چالش مهم در هر دو زمینه بهداشت و درمان انسان تبدیل گردیده است. بنابراین یک نیاز مستمر در زمینه شناسایی ترکیبات ضد میکروبی جدید جهت به حداقل رساندن مقاومت دارویی میکروارگانیسم‌ها و استفاده از آن‌ها به‌عنوان جایگزین نگه‌دارنده‌های شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌های مصنوعی احساس می‌شود (2,5). شیر در بین غذاهای مختلف با منشأ حیوانی یا گیاهی از جایگاه خاصی برخوردار بوده و جهت دارا بودن مقدار کافی پروتئین و اسیدآمینه‌های ضروری بدن، چربی، قند لاکتوز، انواع ویتامین‌ها و مواد معدنی منبع غذایی بسیار عالی برای تمامی رده‌های سنی محسوب می‌شود. شیر و فرآورده‌های آن همچنین کمک شایانی به تعادل رژیم غذایی سالمندان می‌کنند به این دلیل که در این رده سنی نیاز به پروتئین به دلیل کاهش ظرفیت پروتئین‌سازی افزایش می‌یابد (10). ماست پروبیوتیک¹ یکی از انواع ماست‌های موجود در بازار است که سهم این نوع ماست در اروپا بین 5 تا 20 درصد بازار برآورد می‌شود. در فرانسه نیز 10 درصد ماست‌های عرضه‌شده از نوع پروبیوتیکی است و تولید این محصولات سالانه 3 درصد افزایش می‌یابد (13). محصولات لبنی پروبیوتیکی خواص عملکردی دارند، فواید درمانی از قبیل تعدیل سیستم ایمنی، کاهش کلسترول، بهبود عدم تحمل لاکتوز، درمان سریع‌تر اسهال و ترمیم مجدد جمعیت میکروبی سالم بدن را فراهم می‌کنند (3). پروبیوتیک‌ها می‌توانند عوارض سوء هضم لاکتوز را که یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده مصرف شیر است، کاهش دهند. میزان آنزیم تجزیه‌کننده لاکتوز (قند شیر) در روده برخی افراد ناکافی است به همین علت نمی‌توانند لاکتوز را هضم و جذب کنند. این موضوع باعث می‌شود در این افراد پس از مصرف شیر، نفخ، گرفتگی عضلات شکم و اسهال به وجود

آید. باکتری‌های پروبیوتیکی می‌توانند با تجزیه لاکتوز و تولید آنزیم تجزیه‌کننده آن، از بروز این عوارض جلوگیری کنند (13). تأثیر سلامت بخشی ماست به دلیل دارا بودن مقادیر قابل توجهی از اسیدهای آلی به همراه سایر مواد موثر در درمان بیماری‌هایی همچون اسهال و کلسترول بالا، کاملاً مشخص شده است (16). ماست یکی از محصولات مهم لبنی است، تولید ماست و همچنین افزودن ترکیبات مختلف به آنچه به‌منظور تولید ماستی جدید و چه به‌منظور بهبود خواص تغذیه‌ای آن انجام گیرد، پذیرش آن توسط مصرف‌کنندگان به مقدار زیادی بستگی به بافت و خواص حسی ماست دارد. در نتیجه ارزیابی استفاده از عصاره‌های استخراج‌شده از منابع گیاهی در تهیه ماست و بررسی تأثیر آن بر خواص فیزیکی شیمیایی و حسی ماست ضرورت پیدا می‌کند (7). گیاه قاصدک با نام علمی تراکساکوم آفیسینالیس² در قرن دهم، به‌عنوان گیاه دارویی معرفی شد (4). قاصدک از قدیم در معالجات گیاهی، برای بیماری قند و اختلالات کبدی و به‌عنوان ملین و مقوی بکار می‌رفته است. آب برگ گیاه برای درمان بیماری‌های پوستی، بی‌اشتهایی و تحریک جریان صفرا استفاده می‌شده است (4). سینگ³ و همکاران (2003) بیان کردند که عوامل متعددی در اثرات ضد میکروبی یک گیاه مؤثر است. عواملی چون میزان اسانس گیاه، روش عصاره‌گیری و نوع حلال، نوع محیط کشت و مواد موجود در آن و غلظت عصاره می‌تواند بر اثرات ضد میکروبی گیاه اثر بگذارد. آن‌ها همچنین اثر آنتی‌باکتریال عصاره آویشن و میخک را بر علیه باکتری لیستریا⁴ ثابت کردند (23). لطفی زاده و همکاران (1392)، طی تحقیقی بیان کردند که افزودن عصاره شنگ به ماست روی خواص شیمیایی ماست تأثیرگذار بوده و باعث کنترل اسیدیت ماست می‌شود. سبب افزایش ماندگاری ماست می‌گردد و ظرفیت نگهداری آب را افزایش و میزان آب اندازی ماست را کاهش می‌دهد. هم‌چنین تیمارهای مورد بررسی تأثیر منفی و نامطلوبی بر

²Taraxacum officinalis³ Singh⁴ Listeria¹ Probiotic

2-2-1-2 استخراج عصاره قاصدک

برگ‌های خشک شده با آب مقطر به نسبت 1 به 15 در دمای محیط مخلوط و سپس توسط کاغذ صافی واتمن صاف گردید. این عمل چندین بار تکرار شد. سپس عصاره باقیمانده توسط روتاری اوپراتور (BuchI waterbath B 480-، سوئد) مجهز به پمپ خلأ در 40 درجه سانتی‌گراد تحت فشار تغلیظ شد. در ادامه در آن تحت خلأ (VO200، آلمان) و در همان دما تا رسیدن به وزن ثابت خشک شد (6).

2-2-2 روش تهیه ماست پروبیوتیک

برای آماده‌سازی تیمارهای مورد نظر، فرایند تهیه ماست طبق روش پیشنهادی تیمم و راینسون³ (1999)، انجام گرفت (24). بدین منظور شیر اولیه تا دمای 85-90 درجه سانتی‌گراد به مدت 5 دقیقه حرارت دید و هم زده شد، سپس شیر به دمای 43 درجه سانتی‌گراد رسانده شد و در ظروف استریل یک لیتری تقسیم‌بندی گردید. سپس تحت شرایط استریل 0/01 درصد وزنی- وزنی از استارتر حاوی باکتری لیوفلیزه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و به همان مقدار استارتر حاوی باکتری لیوفلیزه بیفیدوباکتریوم بیفیدوم به صورت مستقیم و جداگانه و ترکیب دو باکتری به نسبت (1-1) با ترازوی دیجیتال دقت 0/001 گرم (مدل GF-300، ژاپن) به نمونه‌ها افزوده شد. به گونه‌ای که شمارش باکتریایی مورد نظر طبق توصیه شرکت تولیدکننده برای به دست آوردن ماده غذایی پروبیوتیکی در محدوده غلظت‌های مشخص وزنی (0/02، 0/03، 0/04) به ظروف استریل یک لیتری حاوی شیر مایه زده به منظور تولید ماست اضافه شد، نمونه شاهد فاقد عصاره بود. نمونه‌ها درب بندی شده و به انکوباتور 43 درجه سانتی‌گراد انتقال یافت. پس از رسیدن اسیدپته نمونه‌ها به 0/6 درصد بر حسب اسیدلاکتیک، دمای انکوباتور یخچال دار روی 4 درجه سانتی‌گراد تنظیم شد و به مدت 24 ساعت در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. با توجه به اینکه فرآورده‌های

خصوصیات رئولوژیکی ماست‌های تولیدی از جمله ویسکوزیته نداشت (9). مهربان سنگ آتش و همکاران (1385)، بیان کردند که پس از افزودن گیاه کاکوتی به ماست، تعداد باکتری‌های آغازگر در همه نمونه‌های ماست در طول نگهداری کاهش معناداری داشت همچنین زنده‌مانی باکتری‌های آغازگر در نمونه‌های حاوی اسانس کاکوتی با نمونه‌های شاهد اختلاف معناداری نشان داد (11). هدف از این تحقیق بررسی اثر افزودن عصاره حاصل از گیاه قاصدک بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنولی و رشد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس¹ و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم² در ماست کم کالری پروبیوتیک بود.

2- مواد و روش‌ها

1-2- مواد

شیر گاو از شرکت پالود پارسین نیشابور با ویژگی ماده خشک بدون چربی $8/29 \pm 0/29$ درصد، چربی $1/5 \pm 0/16$ درصد، پروتئین $3/24 \pm 0/05$ درصد، اسیدپته $0/05 \pm 0/16$ درصد، $pH = 6/71 \pm 0/03$ تهیه شد. استارتر حاوی باکتری لیوفلیزه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، استارتر حاوی باکتری لیوفلیزه بیفیدوباکتریوم بیفیدوم از شرکت کریستین هانسن کشور دانمارک (CHR Hansen) خریداری شد.

2-2 روش‌ها

1-2-2 روش تهیه عصاره قاصدک

1-1-2-2 آماده‌سازی گیاه

ابتدا گیاه قاصدک در ابتدای بهار از سطح مزارع و باغات شهرستان نیشابور جمع‌آوری شد و پس از شستشو و جداسازی سایر بخش‌ها به جز برگ، در دمای اتاق و دور از نور خورشید به‌طور کامل خشک گردید. سپس توسط آسیاب برقی پودر و از الکی با مش 40 عبور داده شد و برای آزمایش‌های بعدی در محلی تاریک، سرد و خشک نگهداری گردید.

1 Lactobacillus acidophilus
2 Bifidobacterium bifidum

³ Tamime & Robinson

0/45 میکرون صورت گرفت. برای شمارش تعداد باکتری‌های بیفیدو باکتریوم بیفیدوم به‌اندازه 2 سی‌سی از محلول استریل‌ال سیستمین هیدروکلراید و 1 سی‌سی از محلول استریل مویروسین به 100 میلی‌لیتر محیط کشت استریل MRS آگار افزوده شد. سپس پلیت‌ها به‌صورت مخلوط کشت داده شدند و با قرار دادن در جار بی‌هوازی، عمل گرمخانه‌گذاری در انکوباتور 37 درجه سانتی‌گراد به مدت زمان 72 ساعت صورت گرفت. بعد از مدت زمان 72 ساعت شمارش پرگنه‌ها با استفاده از روش شمارش مستقیم انجام شد و همین روش بدون وجود دو محلول استریل‌ال سیستمین هیدروکلراید و مویروسین برای شمارش لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس انجام گرفت (12).

2-2-5- طرح آماری

کلیه آزمایش‌ها به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. آنالیز آماری با نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح 5 درصد و رسم نمودارها با اکسل انجام شد.

3- نتایج و بحث

3-1- ارزیابی ترکیبات فنولی موجود در ماست پروبیوتیک تولیدی
نتایج مربوط به ترکیبات فنولی موجود در نمونه‌های ماست تولیدی نشان داد (شکل 1)، از نظر مقدار ترکیبات فنولی ماست، بین نمونه‌های 0/02، 0/03 و 0/04 درصد عصاره قاصدک اختلاف معنی‌دار آماری وجود داشت. با افزایش مقدار عصاره قاصدک در فرمولاسیون ماست پروبیوتیک تولیدی میزان ترکیبات فنولی افزایش پیدا کرد. بیشترین تغییرات در روز بیست یکم اتفاق افتاد. زینولدین و بابا (2009)، نیز ترکیبات فنولی محلول در آب ماست حاوی 10 درصد عصاره میوه پیتایا و ماست ساده به ترتیب 36/44 و 20/25 میلی‌گرم در هر گرم ماست گزارش کردند و ضمن بیان معنی‌دار بودن این اختلاف، افزودن عصاره این میوه را موجب بهبود میزان ترکیبات فنولی ماست ساده بیان

تخمیری مانند ماست معمولاً بین یک هفته تا ده روز پس از تولید مصرف می‌شوند نمونه‌های ماست پروبیوتیک به مدت سه هفته در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و در طول نگهداری مورد آزمون قرار گرفتند.

2-2-3- روش‌های آزمون ماست

2-2-3-1- بررسی میزان ترکیبات فنولی

در روزهای یک، چهاردهم و بیست و یکم، ترکیبات فنولی بر اساس روش زینولدین و بابا¹ (2009) با استفاده از محلول فولین سیوکالتیو (مرک آلمان) و کربنات سدیم مورد آزمون قرار گرفت. سپس جذب‌های به‌دست‌آمده از هر یک از نمونه‌ها در طول موج 765 نانومتر توسط اسپکتوفتومتر (JENWAY 6305، انگلستان) قرائت گردید. جهت رسم منحنی استاندارد از رقت‌های 100-700 میلی‌گرم بر لیتر اسید گالیک استاندارد به صورت هفت نقطه‌ای استفاده شد (26).

2-2-3-2- بررسی قدرت آنتی‌اکسیدانی

اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی نمونه ماست‌های پروبیوتیک تولید شده توسط محلول Alorich DPPH (D913-2، آلمان) با وزن مولکولی 394/32 و متانول انجام گرفت و جذب هر یک از نمونه‌ها در طول موج 517 نانومتر قرائت گردید (12).

2-2-4- شمارش باکتری‌های بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و

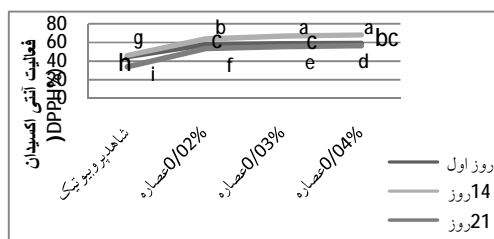
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس

10 گرم از هر نمونه ماست به 90 میلی‌لیتر محلول بافر فسفات استریل که در دمای 45 درجه سانتی‌گراد خنک شده بودند اضافه شد و عمل هم‌زدن برای یکنواخت شدن صورت گرفت. سپس رقت‌سازی نمونه‌های ماست در لوله‌های استریل حاوی بافر فسفات تا 10^{-6} انجام شد. آماده‌سازی و استریل‌ال سیستمین هیدروکلراید و مویروسین² در اتاق کشت که طی 24 ساعت قبل توسط لامپ UV استریل شده بود با عبور دادن از فیلتر سرنگی

¹Zainoldin & Baba

²L-cysteine hydrochloride & mupirocin

همان‌طور که در شکل 2 نشان شده است با گذشت زمان تا روز چهاردهم میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش و تا روز بیست یکم کاهش فعالیت مشاهده شد که مطابق با نتایج رضایی و همکاران (1392) با افزایش غلظت عصاره میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت اما در اثر گذر زمان بیست‌ویک روزه میزان فعالیت کاهش می‌یابد، این مطلب ممکن است به دلیل کاهش ترکیبات فنولی طی دوره نگهداری و فعالیت باکتری لاکتیکی ماست باشد (6).



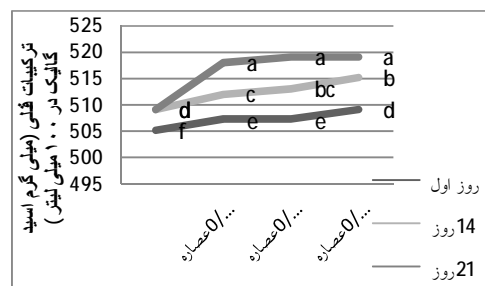
شکل 2 تأثیر مقدار عصاره قاصدک در ماست پروبیوتیک بر درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی طی نگهداری

3-3 نتایج آزمون‌های میکروبی ماست پروبیوتیک تولیدی

3-3-1 زنده‌مانی میکروارگانیسم‌ها

شکل 3 میکروارگانیسم‌های زنده پروبیوتیک به همراه میکروارگانیسم‌های سنتی ماست که در روزهای 1، 14 و 21 را نشان می‌دهد. در روز اول پس از تخمیر، لگاریتم تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در هر گرم تیمار ماست پروبیوتیک حاوی 0/04 درصد عصاره قاصدک، 8/22 بود. این تعداد در طول مدت نگهداری به‌طور معنی‌داری رو به کاهش گذاشت ($P < 0/05$) تا در نهایت در روز چهاردهم به میزان 7/9 در گرم رسید. بیشترین لگاریتم تعداد میکروارگانیسم زنده مربوط به تیمار ماست پروبیوتیک در روز اول نگهداری به میزان 8/25 در هر گرم بود. کمترین لگاریتم تعداد میکروارگانیسم زنده در هر گرم، مربوط به تیمار ماست حاوی 0/02 در عصاره قاصدک در روز بیست و یکم نگهداری به میزان 6/69 بود. اژدری و همکاران (1395) مشاهده کردند که با افزودن عصاره زعفران به ماست زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس

کردند (26). گاد¹ و همکاران (2010) مقدار ترکیبات فنولی محلول در آب ماست حاوی 10 درصد عصاره پالم خرما و ماست ساده را به ترتیب 3/06 و 2/48 میلی‌گرم در هر گرم ماست برحسب اسید گالینگ گزارش دادند و علاوه بر بیان معنی‌دار بودن این اختلاف از کاهش معنی‌دار این ترکیبات در طول دوره نگهداری ماست خبر دادند (17).



شکل 3 تغییرات مربوط به ترکیبات فنولی عصاره قاصدک در طول مدت نگهداری ماست پروبیوتیک

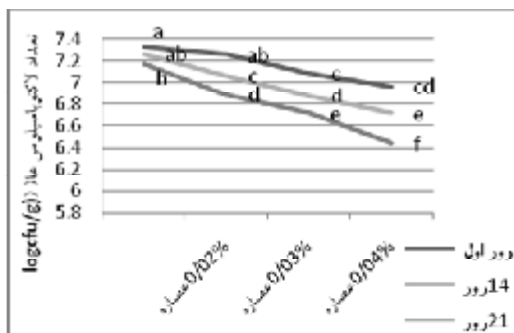
2-3 ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی موجود در ماست پروبیوتیک تولیدی

نتایج نشان داد از نظر مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی ماست بین کلیه نمونه‌های حاوی عصاره قاصدک و شاهد اختلاف معنی‌داری در سطح مورد بررسی مشاهده شد ($p < 0/05$). با افزایش مقدار عصاره در فرمولاسیون ماست تولیدی فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش پیدا کرد. با توجه به نتایجی که لیند مارک² و همکاران، (2000) در این زمینه دست آورده‌اند، می‌توان ثابت کرد که آنزیم کاتالاز، پروتئین‌های سرمی و اسیدلاکتیک موجود در شیر و باکتری‌های لاکتیکی ماست پروبیوتیک فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهند که موجب می‌شود در ماست چنین ویژگی مشاهده شود (20). زینولدین و بابا (2009)، اختلاف فعالیت آنتی‌اکسیدانی ماست حاوی 10 درصد عصاره پیتایا نسبت به ماست شاهد را معنی‌دار گزارش کردند، اما دلیل مشخصی برای آن بیان نکردند (26).

¹ Gad

² Lindmark- Mansson

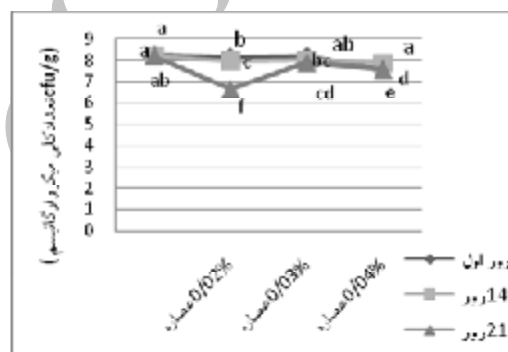
کاهش یافت ($P < 0/05$). در مقایسه نتایج این آزمون با آزمون قبل، تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس شمارش شده با استفاده از محیط کشت MRS-IM در تمام روزهای مورد بررسی در طول نگهداری نسبت به تعداد همین باکتری در محیط کشت MRS-آگار، حدود یک سیکل لگاریتمی کمتر بود، اما در عوض کلونی‌ها در محیط کشت MRS-IM واضح‌تر و ستاره‌ای شکل بودند.



شکل 4 تعداد لاکتوباسیلوس شمارش شده با استفاده از محیط کشت MRS-IM در طول مدت 21 روز نگهداری در یخچال

شاه و جلن¹ (1991) همچنین بیان کردند که لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به علت داشتن ظرفیت بافری سیتوپلاسمی بالا ($pH=3/72 - 7/74$)، نسبت به بیفیدوباکتریوم در برابر تغییرات pH سیتوپلاسمی در شرایط اسیدی مقاوم تر هستند (22). هویر² (1992) با استفاده از سویه‌های مختلف لاکتوباسیلوس و کشت‌های آغازگر متفاوت در ماست، نشان داد که برخی از سویه‌ها بهتر رقابت می‌کنند و در طول نگهداری ماست به مدت 28 روز در دمای $7^{\circ}C$ بیشتر زنده مانده‌اند (18). هول و مایز³ (1984) مشاهده کردند که لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در صورتی که هم‌زمان با باکتری‌های سنتی ماست اضافه شود، پایداری محصول در طول زمان نگهداری را بهبود می‌بخشد، اما در صورتی که پس از تولید ماست اضافه شود، به سرعت از بین می‌رود و میزان ماندگاری پس از 4 روز در دمای $5^{\circ}C$ تنها به 1%

اسیدوفیلوس و بیفید و باکتریوم لاکتیس در ماست پروبیوتیک کاهش می‌یابد ولی همچنان در حد استاندارد 10^6 حفظ می‌شود (1). در روز چهاردهم نگهداری، تعداد میکروارگانیسم‌ها در تیمارهای 0/03 در صد و 0/04 درصد تفاوت معنی‌داری نداشتند ($P < 0/05$)؛ اما در روزهای اول و بیست و یکم تعداد میکروارگانیسم‌ها در تیمار 0/04 درصد نسبت به تیمار 0/03 درصد به‌طور معنی‌داری کمتر بود ($P < 0/05$). وظیفه دوست و همکاران (1395) نیز با بررسی که بر روی افزایش عصاره و فیبر ساقه نعنای بر ماست پروبیوتیک داشتند به این نتیجه رسیدند که با افزایش غلظت زنده‌مانی باکتری‌ها کاهش می‌یابد و دلیل آن را نیز با توجه به مطالعات سینگ و همکاران، (2011) وجود ترکیبات ضد میکروبی مثل منتول بیان کردند (14).



شکل 3 تعداد کل میکروارگانیسم‌ها شمارش شده با استفاده از محیط کشت MRS-آگار در طول مدت 21 روز نگهداری در یخچال

3-3-2- زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس

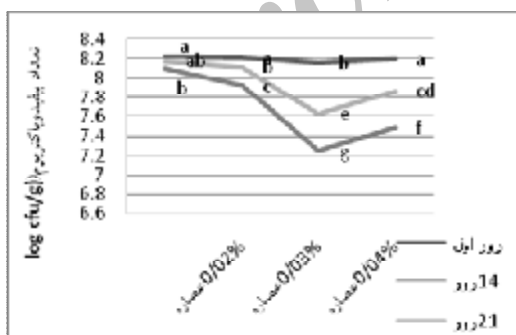
شکل 3 نشان داد، در روز اول پس از تخمیر، لگاریتم تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در هر گرم تیمار حاوی 0/04 درصد عصاره قاصدک، 7/26 بود. به تدریج در طول مدت نگهداری تعداد میکروارگانیسم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت تا در روز بیست و یکم لگاریتم تعداد به 6/89 در هر گرم رسید. لگاریتم تعداد این میکروارگانیسم در هر گرم تیمار 0/03 درصد، هرچند با شیب کمتری نسبت به تیمار 0/04 درصد، اما باز هم به‌طور معنی‌داری از 7/09 به 6/73

1- Shah and Jelen

2- Hoier

3- Hull & Mayes

نسبت به تعداد همین باکتری در محیط کشت MRS-آگار، حدود یک سیکل لگاریتمی بیشتر بود. با توجه به اینکه محیط کشت MRS-NNL محیط کشت اختصاصی برای رشد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم است، اما محیط MRS-آگار برای رشد تمام پروبیوتیک‌ها طراحی شده، بنابراین به دست آوردن چنین نتیجه‌ای منطقی به نظر می‌رسد. شکل 5، تعداد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم، زنده در تیمارهای 0/03 و 0/04 درصد را که با استفاده از محیط کشت MRS-NNL اندازه‌گیری شده است، در طول مدت 21 روز نگهداری در یخچال نشان می‌دهد. اسکولر-مالیوتین و مولر³ (1968) نیز در توضیح نتایج بررسی خود بیان کردند که رشد بسیاری از سویه‌های بیفیدوباکتریوم در ماست، تحت تأثیر افزایش تنوع گونه‌ها و به عبارت دیگر در کشت‌های مخلوط، متوقف می‌شود. همچنین با توجه به میزان رشد بیفیدوباکتری‌ها، غلظت اسیدلاکتیک می‌تواند بسیار مهم باشد؛ زیرا بیفیدوباکتریوم نسبت به لاکتوباسیلوس در برابر تغییرات pH سیتوپلاسمی در شرایط اسیدی مقاوم کمی دارد؛ بنابراین علت کاهش شدید و ناگهانی تعداد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم زنده در روز هفتم می‌تواند به افزایش اسیدیته نسبت داده شود به این صورت که میزان اسیدیته به حدی رسیده که توسط میکروارگانیزم قابل تحمل نبوده است (21).



شکل 5 تعداد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم شمارش شده با استفاده از محیط کشت MRS-NNL در طول مدت 21 روز نگهداری در یخچال.

می‌رسد (19). این یافته‌ها با یافته جیلیند و اسپک¹ (1977) مطابقت داشت. زنده‌مانی بهتر در هنگام کشت هم‌زمان، به افزایش قدرت تجزیه هیدروژن پر اکسید نسبت داده می‌شود (19). در پژوهشی که ویندرولا و رین هیمر² (1999) انجام دادند، تعداد باکتری‌های زنده لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس نسبت به بیفیدوم در روز چهاردهم نگهداری حدود دو سیکل لگاریتمی بیشتر بود و این اختلاف تا روز بیست و هشتم حفظ شد (25).

3-3-3- زنده‌مانی بیفیدوباکتریوم بیفیدوم

زنده‌مانی بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در روزهای 1، 14، 21 در طول نگهداری محصول در یخچال با استفاده از محیط کشت MRS-NNL مورد بررسی قرار گرفت. در روز اول پس از تخمیر، لگاریتم تعداد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در گرم تیمار 0/02 ماست پروبیوتیک حاوی عصاره قاصدک 8/21 بود. این تعداد در طول دوره نگهداری به تدریج و با شیبی ملایم اما از نظر آماری معنی‌دار رو به کاهش گذاشت تا در روز بیست و یکم به 7/92 رسید ($P < 0/05$). لگاریتم تعداد این میکروارگانیزم در هر گرم تیمار 0/03 درصد که از روز اول به طور معنی‌داری کمتر از تیمار 0/04 درصد بود، بعد از یک هفته با کاهش چشمگیری مواجه گردید و از 8/16 به 7/63 رسید. در نهایت پس از 21 روز نگهداری در دمای یخچال، لگاریتم تعداد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در هر گرم تیمار 0/03 درصد، 7/25 شمارش شد. همان‌طور که مشخص است، گرچه کاهش تعداد باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم زنده نسبت به گونه لاکتوباسیلوس به طور معنی‌داری کمتر است ($P < 0/05$)، اما با این حال هنوز هم قابلیت زنده‌مانی میکروارگانیزم‌ها در حد استاندارد 10^6 cfu/g در کل زمان نگهداری حفظ شده است. در مقایسه نتایج این آزمون با آزمون قبل، تعداد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم شمارش شده با استفاده از محیط کشت MRS-NNL در تمام روزهای مورد بررسی در طول نگهداری

1- Gilliland and Speck
2- Vinderola & Reinheimer

3. دولت‌آبادی، الف. 1392. اثر جایگزینی ماست و ماست پروبیوتیک به‌جای شیر بر عملکرد و سلامت گوساله‌های شیرخوار هلشتاین. پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.
4. زرگری، ع. 1371. گیاهان دارویی، جلد سوم، انتشارات دانشگاه تهران.
5. ازگلی، گ. آریامنش، ز. مجاب، ف. علوی مجد، ح. 1392. تأثیر استنشاق رایحه نعناع فلفلی بر درد و اضطراب مرحله اول زایمان در زنان نخست‌زا. کار آزمایشی بالینی تصادفی شده. مجله دانشگاه علوم پزشکی قم، 7(3):21-27.
6. صمام شریعت، ه. 1371. عصاره گیری و استخراج مواد مؤثره گیاهان دارویی و روش‌های شناسایی و ارزشیابی آن‌ها، چاپ اول، انتشارات مانی
7. قزی، م. 1393. تاثیر عصاره آبی و اسانس بذر گیاه زیره سبز بر روی خواص فیزیکی شیمیایی، حسی و پایداری ماست، پایان نامه‌ی کارشناسی ارشد رشته مهندسی کشاورزی، علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد - واحد سبزوار.
8. کریم، گیتی. 1374. شیر و فرآورده‌های آن، انتشارات دانشگاه تهران
9. لطفی زاده دهکردی، س. شاکریان، ا. محمدیان، ع. 1392. تاثیر عصاره گیاه شنگ بر خواص حسی، ماندگاری و میزان ویسکوزیته ماست، داروهای گیاهی دوره 4 شماره 1 صفحات 49-57.
10. مرتضوی، ع. قدس روحانی، م. جوینده، ح. 1384. تکنولوژی شیر و فرآورده‌های لبنی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.
11. مهربان سنگ آتش، م. گاراژیان، ع. حدادخداپرست، م. حبیبی نجفی، م. بیرقی دیو و شاه¹ (1997) گزارش کردند که تعداد بیفیدوباکتریوم ها پس از 35 روز نگهداری در دمای 4°C در یکی از چهار کشت آغازگر ارزیابی شده به‌طور چشمگیری (حدود 4 سیکل لگاریتمی) نسبت به مقدار اولیه کاهش یافت. این کاهش در نتیجه‌ی حضور اسیدهای آلی یا هیدروژن پر اکسید نبود. بازدارندگی رشد این ارگانیسم به ناسازگاری با باکتری‌های استارتر نسبت داده شد (15).
- #### 4- نتیجه‌گیری
- طبق نتایج به‌دست‌آمده، با افزایش مقدار عصاره قاصدک در فرمولاسیون ماست پروبیوتیک تولیدی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی افزایش یافت. همچنین در مورد فعالیت باکتری‌های بیفیدو باکتریوم بیفیدوم و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس هرچند لگاریتم تعداد کلی میکروارگانیسم‌ها در هر گرم ماست پروبیوتیک حاوی عصاره قاصدک در طول مدت نگهداری به‌طور معنی‌داری کاهش یافت؛ اما باین‌حال هنوز هم قابلیت زنده‌مانی میکروارگانیسم‌ها در حد استاندارد 10^6 cfu/g حفظ‌شده بود. در نتیجه می‌توان این محصول را به‌عنوان یک غذای فراسودمند در نظر گرفت. ترویج مصرف این محصولات سبب ارتقا سطح سلامت جامعه خواهد شد.
- #### 5- منابع
1. اژدری، ع. رحیمی، ن. قلعه نوی، م. 1395. بررسی تاثیر عصاره زعفران برزنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ویفید و باکتریوم لاکتیس درماست پروبیوتیک. دومین کنگره سراسری در مسیر علوم کشاورزی و منابع طبیعی.
2. ایزدی، ع. اثنی عشری، م. احمدوند، گ. داودی، پ. پیری، خ. 1388. شناسایی ترکیب‌های شیمیایی و بررسی اثر ضد باکتری اسانس گیاه نعناع فلفلی بر تعدادی از سویه‌های میکروبی. مجله ارمنان، دوره 14، شماره 3.

- British Journal of Nutrition, 84: 103-110.
22. Schuler-Malyoth, R. R. A. and aMuller, F. 1968. The microorganisms of the bifidus group (Lactobacillus and bifidus). IIFTechnology of bifidus culture in dairy plant. Milchwissenschaft, 23(9), 554-558.
 23. Shah, N. and Jelen, P. 1990. Survival of lactic acid bacteria and their lactases under acidic conditions. food science, 55(2), 506-509
 24. Singh, A. Singh, R.K, Bhunia, A.K. and Singh, N. 2003. Efficacy of plant essential oils as antimicrobial agents against, *Listeria monocytogenes* in hotdogs. Lebensmittel wissenschaft uan Technologic.; 36(8): 787-799.
 25. Tamime, A.Y. and Robinson, R.K. 1977. Yoghurt science and technology Translated by: M. B. Habibi, M. Mazaheri and M. A. Razavi.
 26. Vinderola, C. G. and Reinheimer, J. A. 1999. Culture media for the enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria. International Dairy Journal, 9(8), 497-505.
 27. Zainoldin, K.H. and Baba, A.S. 2009. The effect of *Hyllocereus polyrhizus* and *Hyllocereus undatus* on physicochemical, proteolysis, and antioxidant activity in yogurt. World Academy of Science, Engineering and Technology 76:361-336.
 12. طوسی، ش. 1385. تأثیر اسانس و عصاره کاکوتی کوهی بر فعالیت باکتری‌های آغازگر ماست، مجله علوم و صنایع غذایی دوره 3 شماره 4 از صفحه 47-55.
 13. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. 1387. ماست پروبیوتیک - ویژگی‌ها و روش آزمون. استاندارد شماره 11325.
 14. واحدی، ن. مظاهری، م. 1387. بهینه سازی فرمولاسیون ماست معمولی میوه ای و بررسی کیفیت آن در طی زمان نگهداری. ششمین کنگره ملی صنایع غذایی. ارومیه.
 15. وظیفه دوست، م. 1395. اثر افزودن عصاره و فیبر ساقه نعنای بر زنده‌مانی بیفیدوباکتریوم لاکتیس در ماست هم زده به روش سطح پاسخ. مجله میکروبی‌شناسی مواد غذایی. سال سوم، شماره 1، صفحات 43-53.
 16. Dave, R. I. and Shah, N. P. 1997. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made form commercial starter cultures. International Dairy Journal, 7, 31-41.
 17. Ferna'ndez-Garci'a, E. and McGregor, J. U. 1997. Fortification of weetened plain yogurt with insoluble dietary fiber. European Food Research and Technology, 204: 433-437.
 18. Gad, A.S. Kholif, A.M. and Sayed, A.F. 2010. Evaluation of the nutritional value of functional yogurt resulting from combination of Date palmsyrup and skim milk. American Journal of Food Technology, 5: 250-259.
 19. Hoier, E. 1992. Use of probiotic starter cultures in dairy products. Food Australia, 44(9), 418-420.
 20. Hull, R. R. Roberts, A. V. and Mayes, J. J. 1984. Survival of *Lactobacillus acidophilus* in yoghurt. The Australian Journal of Dairy Technology, 39, 164-166.
 21. Lindmark- Mansson, H. and Akesson, B. 2000. Antioxidant facrors in milk.