

## اثر اسانس گلپر بر پایداری باکتری لاکتوباسیلوس پلانٹاروم (PTCC ۱۰۵۸) در دوغ پروبیوتیک

شیما جهانفر<sup>۱</sup>، مریم بیگ محمدی<sup>۲</sup>، انوشه شریفان<sup>۳</sup>

۱. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۲. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۳. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

(نویسنده مسئول)\*

### چکیده

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌هایی هستند که اگر به میزان کافی به ماده غذایی اضافه شوند برای سلامتی میزبان مفید خواهند بود. بخش زیادی از پروبیوتیک‌ها متعلق به گونه‌های باکتری‌های لاکتیک هستند. به طور سنتی، محصولات لبنی سرد، روش برتر برای تولید و کشت پروبیوتیک‌ها است. دوغ یکی از نوشیدنی‌های بومی ایران است که مصرف آن پیشینه تاریخی طولانی دارد. گلپر به عنوان طعم دهنده در مواد غذایی و نیز به عنوان گیاه دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این پژوهش اسانس گیاه گلپر با روش تقطیر با آب استخراج شده و حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی اسانس گلپر به روش رقیق سازی در محیط آگار، بر باکتری لاکتوباسیلوس پلانٹاروم (PTCC ۱۰۵۸) در ۵ غلظت ۰، ۰/۵، ۱٪، ۲٪، ۳٪، ۴٪، ۵٪ در محیط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. اسانس گلپر در سه غلظت ۱٪، ۲٪ و ۳٪ همراه باکتری لاکتوباسیلوس پلانٹاروم به دوغ اضافه گردید و سپس اثر اسانس بر زنده ماندن باکتری لاکتوباسیلوس پلانٹاروم، اسیدیته، تغییرات pH و ویژگی‌های حسی بررسی و در نهایت نتایج در سه تکرار و با نرم افزار آماری ۱۶ SPSS بررسی شد. نتایج نشان داد که با افزایش زمان نگهداری، میزان این باکتری پروبیوتیک کاهش می‌یابد. این در حالی است که با افزایش غلظت اسانس گلپر، تعداد این باکتری افزایش می‌یابد. به علاوه اسانس گلپر، باعث افزایش pH و کاهش اسیدیته می‌گردد که این امر به نوبه خود باعث افزایش بقای لاکتوباسیلوس پلانٹاروم می‌شود. قابل ذکر است که این اسانس باعث تغییر معناداری در طعم، بو و پذیرش کلی نمی‌گردد.

**کلید واژگان:** حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)، پروبیوتیک، لاکتوباسیلوس پلانٹاروم، دوغ، گلپر.

\* [a\\_sharifan2000@yahoo.com](mailto:a_sharifan2000@yahoo.com)

## مقدمه

واژه پروبیوتیک از واژه یونانی پروبیوس به معنای حیات بخش اقتباس شده است و از نظر مفهوم در مقابل واژه آنتی بیوتیک یا ضد حیات قرار دارد (۲،۱). بر اساس گزارش سازمان جهانی بهداشت<sup>۱</sup>، پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌هایی هستند که اگر به میزان کافی به ماده غذایی اضافه شوند برای سلامتی میزبان مفید خواهند بود (۳). پروبیوتیک‌ها میکروفلور دستگاه گوارش را متعادل کرده و عملکرد سلول‌های اپیتلیال و فعالیت ایمنی لایه مخاطی را حفظ می‌کنند (۴). بخش زیادی از پروبیوتیک‌ها متعلق به گونه‌های باکتری‌های لاکتیک هستند. مصرف خوراکی پروبیوتیک‌ها به عنوان میکروارگانیسم‌هایی که در محیط زنده با عامل میکروبی پاتوژن مقابله می‌کنند، می‌توانند بدن را در برابر عوامل بیماری‌زا مصون کنند (۵،۶). محققان، بسیاری از مزایای ایمنی و پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس پلانتراروم را گزارش کردند. در یک بررسی در آزمایشگاه حیوانات، گزارش شد که برخی از گونه‌های کشته شده با حرارت لاکتوباسیلوس پلانتراروم دارای اثرات بالقوه مثبت بر سیستم ایمنی بدن تحریک ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک به منظور تولید سلول‌های کمکی است که در محافظت از عفونت آنفولانزایی مفید هستند (۷). به علاوه این باکتری باعث کاهش کلسترول و افزایش جذب مواد معدنی می‌گردد (۲). دوغ یکی از نوشیدنی‌های بومی ایران است که مصرف آن پیشینه تاریخی طولانی دارد. این محصول از اختلاط آب، ماست، نمک و طعم دهنده‌های گیاهی به صورت گازدار و بدون گاز ساخته می‌شود. در گذشته پودر گیاهانی مانند نعناع، آویشن، کاکوتی و... را برای خوش طعم و معطر شدن دوغ به آن اضافه می‌کردند. از خواص تغذیه‌ای دوغ می‌توان به افزایش ویتامین‌ها و متابولیت‌های مغذی، بهبود جذب کلسیم و قابلیت هضم بیشتر نسبت به شیر اولیه اشاره کرد (۸).

هراکلئوم پرسیکوم<sup>۲</sup> یا گیاه گلپر ایرانی که از خانواده آپیکاسه<sup>۳</sup> است یکی از ۱۰ گونه جنس هراکلوم در ایران است (۹). گلپر ایرانی گیاهی علفی، چند ساله و معطر از تیره چتریان است که در نیمه شمالی کشور در اراضی کوهستانی و ارتفاعات ۱۵۰۰ متر به بالا، آب و هوای معتدل، بارطوبت مناسب و زمستان سرد رشد می‌کند. مواد شیمیایی موجود در گلپر عبارتند از: استات هکسیلیک، استات استیلیک و بوتیرات متیلیک و بوتیرات اتیلیک و اسیدهای مختلف دیگر که بوی تند آن از آن‌هاست. از نظر ترکیب‌های شیمیایی، در گیاه گلپر اسانس روغنی و فرار وجود دارد که از گرد آن برای معطر ساختن بعضی غذاها استفاده می‌شود، از نظر خواص درمانی، گلپر ضد نفخ است و به هاضمه و رفع سوء هاضمه کمک می‌کند. بیشترین ماده موجود در این گیاه، انتول (۸۲/۸٪) می‌باشد. آنتول-۱-متوکسی-۴-ایزوپروپینیل-بنزن، ترکیبی معطر با کاربردهای تجاری فراوان در صنایع غذایی و عطرسازی است (۱۰). با وجودی که اثرات ضد میکروبی گیاه گلپر بر برخی باکتری‌های پاتوژن قبلا مورد مطالعه قرار گرفته است، تا کنون مطالعه‌ای در زمینه اثر اسانس این گیاه بر باکتری‌های پروبیوتیک در دوغ انجام نشده است. در این پژوهش از اسانس گلپر در غلظت‌های مناسب برای طعم دار کردن دوغ پروبیوتیک حاوی باکتری لاکتوباسیلوس پلانتراروم (PTCC ۱۰۵۸) استفاده شد. این پژوهش با توجه به اهمیت تولید محصولات پروبیوتیکی و جایگزینی دوغ به جای سایر نوشابه‌ها انجام شد.

## مواد و روش‌ها

در این پروژه یک گونه از مهم‌ترین میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک یعنی لاکتوباسیلوس پلانتراروم (PTCC ۱۰۵۸) به پنج نوع دوغ‌های بدون اسانس گلپر و باکتری پروبیوتیک (به عنوان شاهد)، دوغ‌های حاوی ۱٪، ۲٪ و ۳٪ اسانس گلپر و دوغ

<sup>2</sup> *Heracleum Persicum*<sup>3</sup> *Apiacea*<sup>1</sup> WHO

### تهیه سوسپانسیون میکروبی

جهت تهیه سوسپانسیون میکروبی از کشت جوان و فعال باکتری و روش استاندارد نیم مک فارلند استفاده شد. سوسپانسیون میکروبی حاوی تعداد  $10^8$  باکتری در هر میلی لیتر تهیه شد (۱۱).

### تعیین حداقل غلظت بازدارندگی MIC و کشندگی

#### MBC

جهت تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از غلظت‌های ۰٪، ۰/۵٪، ۱٪، ۲٪، ۳٪، ۴٪ و ۵٪ اسانس گلپر و رقیق سازی در سطح محیط جامد<sup>۲</sup> استفاده شد. بدین ترتیب که در هر پلیت ۱۴ ml از محیط کشت ام اس آگار به همراه غلظت مورد نظر از اسانس و حلال دی ام اس<sup>۳</sup> ریخته شد. از آنجا که این اسانس، روغنی است و بر روی سطح محیط کشت به صورت یکنواخت پخش نمی‌شود، حلال دی ام اس او مورد استفاده قرار گرفت به طوری که با توجه به غلظت اسانس، مجموع غلظت اسانس و دی ام اس او، ۱ ml شد. لکه گذاری از سوسپانسیون باکتری به صورت مضاعف بر روی پلیت‌ها انجام گرفت، هر لکه ۳ μl و حاوی  $10^8$  cfu/ml از باکتری بود. محیط کشت محتوی ۱٪ دی متیل سولفو کساید و فاقد اسانس به عنوان کنترل مثبت رشد و محیط کشت محتوی ۱٪ دی متیل سولفو کساید و دارای اسانس اما بدون باکتری به عنوان کنترل منفی رشد در نظر گرفته شد. در انتها پلیت‌ها به مدت ۴۸ h در دمای  $37^\circ\text{C}$  گرم خانه گذاری شدند و کمترین غلظت اسانس که مانع رشد باکتری شد به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی و غلظت پس از آن به عنوان حداقل غلظت باکتری<sup>۴</sup> در نظر گرفته شد. برای اطمینان از نتیجه، آزمایشات در ۳ تکرار انجام شد (۱۲).

### دوغ

ابتدا اجزاء اصلی تشکیل دهنده دوغ یعنی ماست با چربی ۵٪ (تهیه شده از شرکت فرآورده های لبنی کاله)، آب و نمک

حاوی لاکتوباسیلوس پلانٹاروم و بدون اسانس گلپر، تلقیح شد و دوغ‌های تولید شده طی مدت زمان ۳، ۷ و ۱۰ روز از نظر تعداد سلول پروبیوتیک، تغییرات pH، اسیدیته و نیز ارزیابی حسی مورد بررسی قرار گرفتند.

### تهیه اسانس از گیاه گلپر

پس از تهیه گیاه گلپر، استخراج اسانس از این گیاه به روش تقطیر با آب، با استفاده از دستگاه کلونجر انجام شد. به این ترتیب که ۱۰۰g از گلپر خشک شده را پس از آسیاب کردن در بالن تقطیر ریخته و تا زمانی که دیگر به حجم اسانس اضافه نشد، تقطیر ادامه یافت. پس از آن اسانس درون ظروف مخصوص جمع آوری و تا زمان آنالیز در یخچال در دمای  $4^\circ\text{C}$  نگهداری شد (۱۱).

### تهیه و آماده سازی میکروارگانسیم

آمپول لیوفیلیزه لاکتوباسیلوس پلانٹاروم (PTCC ۱۰۵۸) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران<sup>۱</sup> تهیه و در شرایط استریل و در زیر هود لامینار شکسته شد. سپس با استفاده از سمپلر حدود ۰/۵ ml از محیط کشت مایع استریل مناسب (ام آر اس برات) به آن اضافه شد تا سوسپانسیون باکتری حاصل شود. بخش اعظم سوسپانسیون حاصل شده از باکتری لاکتوباسیلوس پلانٹاروم (PTCC ۱۰۵۸) به محیط کشت مایع ام آر اس برات انتقال یافت و مقدار کمی از سوسپانسیون نیز به محیط کشت ام آر اس آگار که توسط سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران در مورد این سویه پیشنهاد شده بود، منتقل شد و در دمای  $37^\circ\text{C}$  به مدت ۴۸ h گرم خانه گذاری شد.

از کلنی‌های تشکیل شده پس از چندین مرحله جداسازی و خالص سازی با روش‌های کشت خطی و با به کارگیری محیط کشت اختصاصی باکتری (ام آر اس آگار)، کشت خالص تهیه شد و جهت اطمینان بیشتر، باکتری پس از رنگ آمیزی گرم در زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت.

<sup>2</sup> Agar Dilution

<sup>3</sup> Dimethylsulfoxide (DMSO)

<sup>4</sup> Minimum bacterial concentration

<sup>1</sup> Iran Industrial Scientific Organisation

## تجزیه و تحلیل آماری

در این آزمایش، ۵ تیمار (دوغ معمولی به عنوان شاهد، دوغ حاوی اسانس گلپر در غلظت‌های ۱٪، ۲٪ و ۳٪ و دوغ دارای باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتروم و فاقد اسانس) از جهت تعداد باکتری مورد نظر، در سه تکرار مورد آزمون قرار گرفت. نتایج حاصل از شمارش باکتری‌ها طی مدت زمان نگهداری با استفاده از نرم افزار آماری SPSS۱۶ تجزیه و تحلیل و نمودارها توسط نرم افزار اکسل رسم گردید.

## بحث

با توجه به تنوع در ترکیبات شیمیایی اسانس‌های گیاهی و نیز مقاومت ذاتی سلول‌های میکروبی در برابر این ترکیبات و همچنین اثر متقابل محیط‌های غذایی در اثربخشی اسانس‌ها و مقاومت میکروارگانیسم‌ها، قابلیت زنده ماندن سلول‌ها طی قرارگیری در معرض ترکیبات یاد شده متفاوت است. مشاهده پلیت‌های مربوط به درصد‌های مختلف اسانس نشان داد که در پلیت مربوط به غلظت ۴٪ اسانس، رشد باکتری مورد نظر کمتر شده اما در پلیت‌های مربوط به غلظت ۵٪ هیچ رشد مشاهده نشد. با توجه به نتایج، حداقل غلظت بازدارندگی اسانس گلپر برای باکتری لاکتوباسیلوس پلانتروم (PTCC ۱۰۵۸)، ۴٪ و حداقل غلظت کشندگی این اسانس ۵٪ است.

همان طور که در نمودار شماره (۱) مشاهده می‌شود تعداد باکتری لاکتوباسیلوس پلانتروم با گذشت زمان کم می‌شود و این کاهش در طول زمان، معنی‌دار است. بررسی مقایسه میانگین بوسيله آزمون چند دامنه‌ای دانکن ( $p < 0/05$ ) حاکی از معنی‌دار بودن این اختلاف است. علت این کاهش، رابطه آنتاگونیستی بین باکتری‌های سنتی ماست و لاکتوباسیلوس پلانتروم پروبیوتیک و هم چنین افزایش اسیدیت در طول دوره نگهداری می‌باشد (۱۵).

با نسبت مساوی (۵۰٪ ماست و ۵۰٪ آب) به همراه ۱٪ نمک بوسيله مخلوط کن مخلوط گردید و پس از کنترل و تنظیم ماده خشک در حدود ۱۲٪ درصد، در دمای  $80^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۰ min پاستوریزه شدند. پس از سرد شدن دوغ تا دمای  $37^{\circ}\text{C}$ ، اسانس استخراج شده در سطوح ۱٪، ۲٪ و ۳٪ حجمی- حجمی به نمونه‌های دوغ اضافه شد و سپس سوسپانسیون تهیه شده از باکتری لاکتوباسیلوس پلانتروم حاوی  $10^8$  cfu/ml از سلول‌های باکتری به دوغ اضافه گردید. سپس دوغ‌های تولیدی تحت شرایط استریل در بطری‌های شیشه‌ای تیره رنگ کوچک قرار گرفتند و در دمای یخچال ( $4^{\circ}\text{C}$ ) نگهداری شدند (۱۳).

## آنالیز میکروبی

جهت شمارش سلول‌های لاکتوباسیلوس پلانتروم در دوغ پروبیوتیک، با استفاده از محلول آب پیتونه استریل، رقیق‌سازی نمونه‌های دوغ صورت گرفت سپس کشت سلول‌ها در محیط کشت ام آر اس آگار<sup>۱</sup> در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  و به مدت ۷۲ h انجام شد (۱۴).

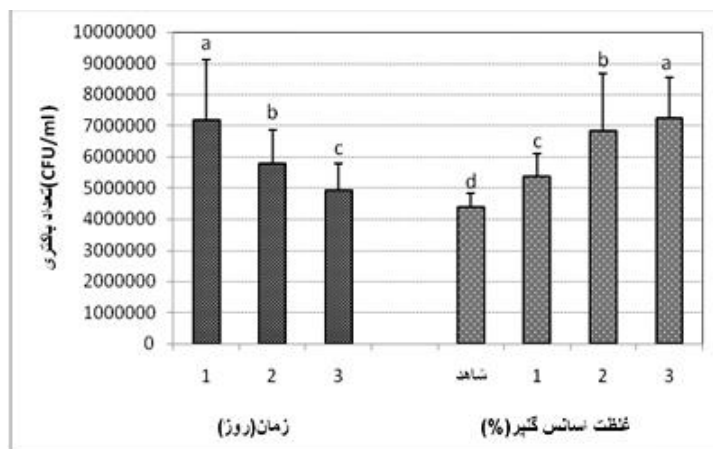
## اندازه گیری pH و اسیدیت

تغییرات pH به وسیله pH متر الکترونیکی ساخت شرکت متروم سوویس و تغییرات اسیدیت به روش دورنیک در روزهای نخست و طی دوره نگهداری اندازه‌گیری شد.

## ارزیابی حسی

به منظور ارزیابی حسی نمونه‌ها از روش هدونیک پنج نقطه‌ای استفاده شده، به نحوی که طعم، بو و پذیرش کلی محصول نهایی تهیه شده پس از تولید و در طی نگهداری در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  ارزیابی شد.

<sup>1</sup> MRS Agar



نمودار شماره (۱): اثرات مستقل زمان و غلظت بر تعداد باکتری

روز شانزدهم بر تعداد باکتری‌های آغازگر ماست معنی دار نبوده و از آن روز به بعد فقط در غلظت  $4000 \mu\text{g/l}$  اثر معنی داری بر تعداد باکتری‌های آغازگر در ماست داشته است. این در حالی است که غلظت‌های مختلف اسانس کاکوتی در طول زمان نگهداری تاثیر معنی داری بر تعداد باکتری‌های آغازگر ماست نداشته است (۱۳). سیمسک<sup>۶</sup> و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که تعداد استرپتوکوکوس ترموفیلوس<sup>۷</sup> و لاکتوباسیلوس بولگاریکوس<sup>۸</sup> در نمونه‌های دوغ محلی ترکیه، تولیدشده با ادویه‌های نعناع، آویشن و سیر و نمونه شاهد در طول زمان نگهداری بصورت معناداری کاهش می‌یابد ولی اثر ادویه‌های مذکور روی تعداد باکتری‌های آغازگر در مقایسه با نمونه‌های شاهد معنادار نمی‌باشد (۱۹).

نمودار شماره (۲) اثر متقابل زمان (۳، ۷ و ۱۰ روز) و غلظت اسانس را نشان می‌دهد. همان طور که در نمودار مشخص است با افزایش غلظت اسانس گلپر، مدت زمان ماندگاری لاکتوباسیلوس پلانتروم افزایش می‌یابد. این اثر سینرژیستی بین غلظت‌های مختلف اسانس و باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتروم در مقایسه با نمونه کنترل، معنی دار بود ( $p < 0.05$ ).

نتایج فوق، مطابق با داده‌های حاصل از سنج آتش<sup>۱</sup> و همکاران (۱۳۸۵)، می‌باشد. به علاوه در این تحقیق مشخص شد که تعداد باکتری لاکتوباسیلوس پلانتروم با افزایش غلظت اسانس گلپر تا غلظت ۳٪ (کمتر از حداقل غلظت بازدارندگی محاسبه شده)، افزایش می‌یابد. اگرچه در ارتباط با اثر بازدارندگی اسانس گیاه گلپر بر باکتری لاکتوباسیلوس پلانتروم تا کنون مطالعه‌ای انجام نشده است، اما تحقیقاتی در مورد سایر اسانس‌های گیاهی و باکتری‌های پروبیوتیک نتیجه این تحقیق را تایید می‌کند (۱۶). داوودی<sup>۲</sup> و همکاران (۱۳۹۲) به نتایج مشابهی دست یافتند به طوری که افزایش غلظت اسانس کاکوتی باعث افزایش تعداد لاکتوباسیلوس کارژی<sup>۳</sup> شد (۱۷). زایکا<sup>۳</sup> و همکاران (۱۹۸۳) نیز در مطالعه مشابهی هیچ گونه اثر مهاری در غلظت‌های مختلف (۴۰-۲۰۰ ppm) اسانس پونه کوهی بر باکتری‌های مولد اسید لاکتیک نظیر لاکتوباسیلوس پلانتروم و پدیوکوکوس اسیدولاکتیس<sup>۴</sup> در محیط کشت مایع مشاهده نمودند (۱۸). کاراژیان<sup>۵</sup> (۱۳۸۴) نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف عصاره کاکوتی تا

<sup>1</sup> Sang Atash

<sup>2</sup> Davoodi

<sup>3</sup> Zaika

<sup>4</sup> *Pediococcus Acidolactis*

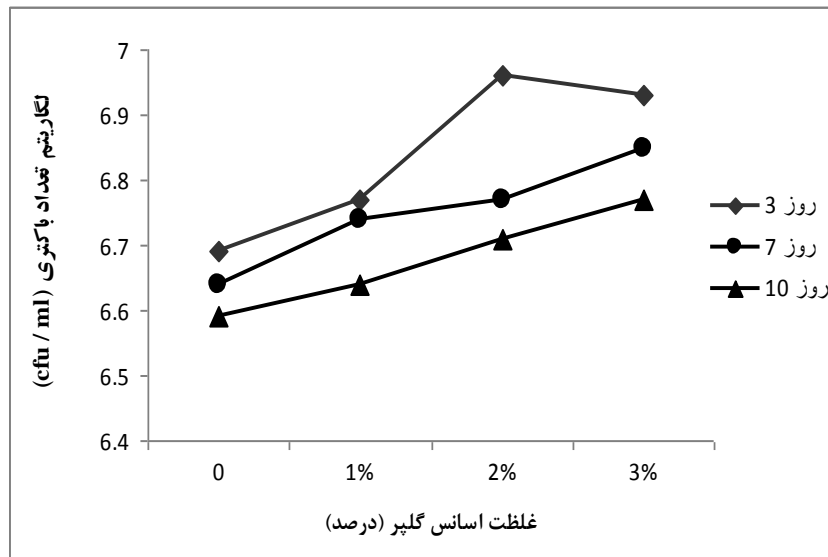
<sup>5</sup> Karagian

<sup>6</sup> Simsek

<sup>7</sup> *Streptococcus Thermophilus*

<sup>8</sup> *Lactobacillus Bulgaricus*

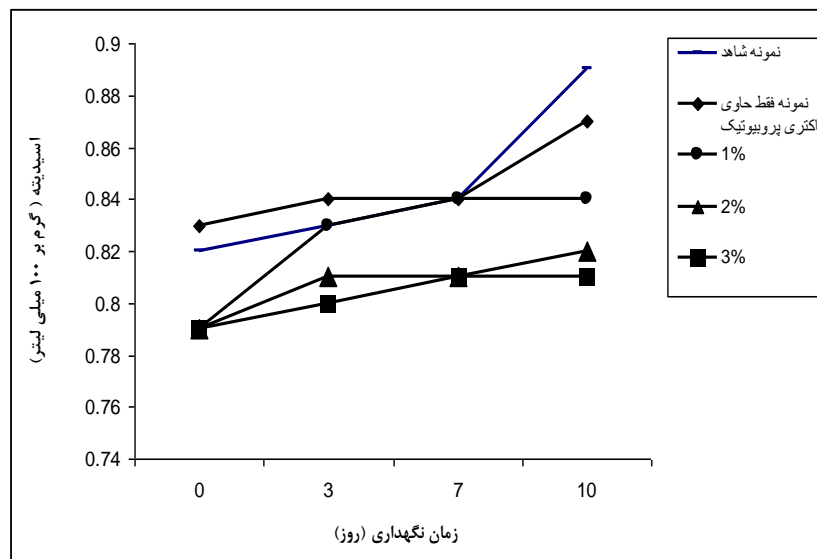
اثر اسانس گلپر بر پایداری باکتری لاکتوباسیلوس پلانتروم (PTCC ۱۰۵۸) ...



نمودار شماره (۲): اثرات متقابل زمان و غلظت بر تعداد باکتری

کاکوتی باعث افزایش بقای لاکتوباسیلوسها<sup>۱</sup> در مواد غذایی می شود (۲۰). در تحقیقی بر روی ماست، مشخص گردید که در زمان‌های نخست نگهداری با افزایش مقدار عصاره نعناع و به دنبال آن افزایش سوپسترای در دسترس جهت رشد میکروارگانیسم‌ها، فعالیت متابولیکی باکتری افزایش یافته است (۲۱).

با توجه به غلظت مورد استفاده از اسانس گیاه گلپر (کمتر از میزان حداقل غلظت بازدارندگی برای باکتری لاکتوباسیلوس پلانتروم)، اثر بازدارندگی اسانس گیاه گلپر بر سایر میکروارگانیسم‌های موجود و کاهش رقابت می‌تواند از عوامل تقویت کننده رشد باکتری مورد بررسی باشد. در مطالعه‌ای مشابه وثوق و همکاران (۱۳۸۷) دریافتند که اسانس



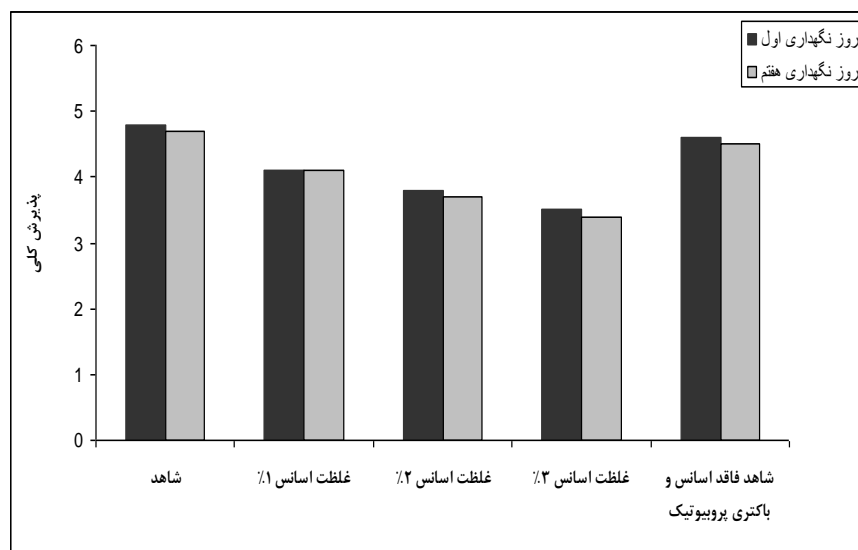
نمودار شماره (۳): اثرات متقابل زمان و اسانس بر اسیدیته

<sup>1</sup> Lctobacill

کیوانس<sup>۱</sup> و همکاران (۱۹۹۱) نیز مشاهده نمودند که اسانس زیره سبز در غلظت‌های بالا ( ۳۰۰ و ۶۰۰ ppm ) از رشد و تولید اسید به وسیله لاکتوباسیلوس پلانتروم جلوگیری می‌کند (۲۳).

در این تحقیق محصول با مقادیر متفاوت اسانس گلپر (۰، ۱٪، ۲٪، ۳٪) از لحاظ عطر، بو و پذیرش کلی بررسی شد که در نمودار شماره (۴) نشان داده شده است. همان طور که در نمودار مشخص است با گذشت زمان، میزان پذیرش محصول تغییری نکرده است. این بدان معناست که در طول زمان قابلیت پذیرش محصول، کاهش نیافته است. این در حالی است که با افزایش غلظت اسانس گلپر، میزان پذیرش دوغ حاوی باکتری پروبیوتیک، کاهش یافته است که البته این کاهش پذیرش، معنی دار نبود. علت این امر، وجود ترکیب انتول در اسانس گلپر است که بوی نسبتاً تندی دارد و با افزایش غلظت اسانس گلپر، محسوس تر می‌گردد و میزان پذیرش محصول را کاهش می‌دهد.

نمودار شماره (۳)، اثر متقابل زمان و اسانس بر اسیدیته را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج، مشخص گردید استفاده از اسانس گلپر و باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتروم باعث کاهش pH و افزایش اسیدیته می‌گردد. همان طور که در نمودار، مشخص است در طول زمان انبارداری، میزان اسیدیته افزایش و در پی آن pH کاهش می‌یابد. در نمونه بدون اسانسی که فقط باکتری پروبیوتیک اضافه شده، میزان اسیدیته در روزهای نخست نگهداری، در سطح بالاتری قرار دارد که علت آن افزایش فعالیت متابولیکی باکتری‌های ماست می‌باشد. این در حالی است که با افزایش غلظت اسانس گلپر، میزان اسیدیته کاهش می‌یابد. با توجه به این که بقای باکتری‌های پروبیوتیک در اسیدیته کمتر، افزایش می‌یابد، اسانس گلپر در این زمینه موثر می‌باشد (۲۲). در واقع اسانس گلپر و باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتروم از افزایش سریع اسیدیته و کاهش سریع pH جلوگیری می‌کند. علت این امر را می‌توان، عدم فعالیت آنزیمی یا فعالیت آنزیمی بسیار ضعیف این باکتری در دمای نگهداری ۴°C دانست.



نمودار شماره (۴): بررسی پذیرش کلی دوغ حاوی اسانس گلپر و باکتری لاکتوباسیلوس پلانتروم در

طول زمان نگهداری

<sup>1</sup> Kivance

## نتیجه گیری

با توجه به اهمیت زنده ماندن باکتری‌های آغازگر در فرآورده‌های لبنی به خاطر اثرات سلامتی بخش این میکروارگانیسم‌ها در بدن مصرف کننده، می‌توان غلظتی از ادویه و مشتقات آن‌ها را به عنوان طعم دهنده در فرآورده‌های لبنی تخمیری استفاده کرد که تأثیر معناداری بر زنده‌مانی باکتری‌های آغازگر نداشته باشد. نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان دادند که به طور کلی اسانس گلپر باعث افزایش قابلیت بقای باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانٹاروم در دوغ پروبیوتیک می‌شود. با توجه به خصوصیات مفید اسانس گلپر از جمله خاصیت آنتی‌اکسیدانی و اثر عدم بازدارندگی که بر روی لاکتوباسیلوس مزبور داشت می‌توان ضمن بهره‌مندی از ویژگی‌های مفید این اسانس از آن به عنوان یک طعم دهنده مناسب به خصوص در محصولات پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس پلانٹاروم استفاده کرد.

## تشکر و قدردانی

بدینوسیله از زحمات سرکار خانم قاسمی و دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان، که ما را در انجام این تحقیق، یاری کردند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایم.

## منابع

- Nikkhah A. Yogurt the Most Natural and Healthy Probiotic: History Reveals. 2014. J Prob Health 2014, 2(3):2-12.
- Tizfahm Tikmehdash H, Nasiri Semnani Sh, Tajabadi Ebrahimi M, Alizadeh H, Javadzade Y, Hamed Yazdan S. Synergistic Antimicrobial Effects of *Satureia hortensis* and *Anethum geravolens* on *salmonellas typhimurium*; in vitro and in Animal Model. ISSN:1735-0344 Quarterly of the Horizon of Medical Science. 2013; 19(2): 89-95.
- Satheesh N and Prasad N.B.L. Production of virgin coconut oil by induced fermentation with *Lactobacillus Plantarum* NDRI Strain 184. Coroatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition. 2014; 9(1-2):37-42.
۸. وثوق ا. اثر عرق نعناع بر قابلیت بقای باکتری‌های پروبیوتیک در نوشیدنی سنتی ایرانی (دوغ). مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. جلد شانزدهم، ش اول، ۱۳۸۸.
- Mandenova I. Heracleum. In: Rechinger KH, editor. Flora Iranica, Umbelliferae, 1987; (162)3: 492-502.
- Kazem Alvandi R, Sharifan A, Aghazadeh Meshghi M. Study of chemical Composition and antimicrobial activity of peppermint essential oil. Journal of comparative pathobiology. 2011; 7 (4): 355-64.
۱۱. رنجبر، م. شریفان، ا. شعبانی، ش. امین افشار، م. بررسی اثر ضد میکروبی عصاره سیر بر باکتری‌های *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* در مدل غذایی گوشت مرغ آماده طبخ. مجله علوم و صنایع غذایی و تغذیه. سال یازدهم، ش ۴، ۱۳۹۳.
۱۲. ناظمی، ع. هاشمی، م. نژاد خاتمی، م. پورشمسیان. اولین بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های آبی *Heracleum Persicum* و متانولی گیاه. مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی دوره ۱۵، ش ۲، ۱۳۸۴.
۱۳. کاراژیان ر، بررسی اثر اسانس و عصاره کاکوتی کوهی بر باکتری‌های پاتوژن و امکان افزایش زمان ماندگاری ماست در اثر افزودن آن‌ها، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد؛ ۱۳۸۴.
- Bujalance C, Vallera M, Moreno E. A selective different mediums for *lactobacillus plantarum*.
- Chiquette J. The Role of Probiotics in Promoting Dairy Production. WCDS Advances in Dairy Technology. 2009; 21(4): 143-157.
- Vinderola C.G, Reinheimer J.A. Enumeration of *L.case* in presence of *L.acidophilus*, *bifidobacterium* and Lactic starter bacteria in fermented dairy product. International Dairy J.2000; 10(3): 271-275.
- Jai Kaushik K, Ashutosh Kumar K, Duary Ashok K, Virender K. Functional and Probiotic Attributes of an Indigenous Isolate of *Lactobacillus Plantarum*. Journal.pone. 2009; Vol: 10(4): 1:1371.
- Baron Mira MD. A patented Strain of Bacillus coagulans Increased Immune Response to viral challenge.2009(8); 222-234.



۲۰. وثوق، ا.ص. جعفری، م. نژاد کاشانی، م. خمیری. ماندگاری بیفیدوباکتریوم لاکتیسو لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در دوغ حاوی عصاره کاکوتی. فصلنامه علوم و صنایع غذایی. دوره ۶، ش ۴، ۱۳۸۷.
21. Amirdivani Sh and Salihin Baba A. Change in yogurt fermentation characteristic and antioxidant potential and in vivo inhibition of angiotensin-1 converting enzyme upon the inclusion of peppermint, dill and basil. Food Science and Technology. 2011; 44(8):1458-1464.
۲۲. مرسلی، پ. ۱۳۸۷. نقش پروبیوتیک ها در سلامت. مجله دانشکده پیراپزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران. سال سوم ش ۲ تابستان ۱۳۸۷.
23. Kivanc M, Akgule A. Dogan A. Inhibitory and stimulatory effects of cumin, oregano and their essential oil on growth and acid production of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc mesenteroides*. International Journal of Food Microbiology. 1991; 13(1): 81-85.
- Journal of microbiological methods. 2006; 66(15):572-575.
15. Sahan N, Yasar K, Hayaloglu A.A. Physical, chemical and flavor quality of non-fat yogurt as affected by a  $\beta$ -glucan hydrocolloidal composite during storage. Food Hydrocolloids. 2008; 22, 1291-1297.
۱۶. مهربان سنگ آتش، م. کاراژیان، ر. حداد خداپرست، م.ح. حبیبی نجفی، م.ب. بیرقی طوسی. تاثیر اسانس و عصاره کاکوتی کوهی بر فعالیت باکتری های آغازگر ماست. فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران. دوره ۳، ش ۴، ۱۳۸۵.
۱۷. داوودی، س. زمردی. بررسی تاثیر اسانس کاکوتی بر میزان زنده مانده لاکتوباسیلوس کازئی در دوغ پروبیوتیک ایرانی. دومین همایش ملی علوم و صنایع غذایی، ۱۳۹۲.
18. Zaika LL, Kissinger JC and Wasserman AE. Inhibition of *Lactic Acid Bacteria* by Herb. Journal of Food Science. 1983; 48: 1445-9.
19. Simsek B, Sagdic O, Ozcelik S. Survival of *Escherichia coli O157:H7* during the storage of ayran produced with different spices. Journal of Food Engineering. 2007; 79(2):679- 680.

## The Effect *Heracleum persicum* Essence on *Plantarum Lactobacillus* in Probiotic Diluted Yoghurt

Shima Jahanfar<sup>1</sup>, Maryam Beik Mohammadi<sup>2</sup>, Anousheh Sharifan<sup>3</sup>

1. Department of Food Science and Technology, Faculty of Food Science and Engineering, Islamic Azad University of Science and Research Branch, Tehran, Iran.
2. Department of Food Science and Technology, Faculty of Food Science and Engineering, Islamic Azad University of Science and Research Branch, Tehran, Iran.
3. Department of Food Science and Technology, Faculty of Food Science and Engineering, Islamic Azad University of Science and Research Branch, Tehran, Iran (Correspond author)\*.

### Abstract

Probiotics are microorganisms that will be useful for host healthy, if sufficiently add to food products. Great part of probiotics belong to lactic bacterias. Traditionally, cold dairy product is superior way for production and cultivation of probiotics. Diluted yoghurt is one of the native drinkable in Iran that has long historical antecedent. *Heracleum Persicum* is usable as flavouring and also as pharmaceutical herb. In this investigation, *Heracleum Persicum* herb essence has extracted with distillation way by water and studied minimum inhibitory concentration (MIC) and *Heracleum Persicum* herb fatality with dilution method in agar medium on *Plantarum Lactobacillus* (PTCC 1058), in five concentration 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 in laboratory. *Heracleum Persicum* herb essence in three concentration 3, 2, and 1% accompanied by *Plantarum Lactobacillus* added to diluted yoghurt. Then evaluated essence effect on *Plantarum Lactobacillus* bacteria survival, acidity, pH changes, sensory properties. Finally, results assessed in three replication by SPSS. The results distinguished that probiotic bacteria decreased when storage time increased. Nevertheless, the number of *Plantarum Lactobacillus* significantly ( $P < 0.05$ ) increased accompanied by increased *Heracleum Persicum* herb essence concentration. Also, *Heracleum Persicum* herb essence caused increase pH and decrease acidity that this caution resulted in increase survive of *Plantarum Lactobacillus*. It should mention, this essence was no significant on flavour, odor and total acceptable.

**Key word:** minimum inhibitory concentration (MIC), Probiotic, *Lactobacillus Plantarum*, diluted yoghurt

---

\* [a\\_sharifan2000@yahoo.com](mailto:a_sharifan2000@yahoo.com)