مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
جلد شانزدهم، شماره اول، ۱۳۸۸
www.jasnr.info
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

اثر عرق نعناع بر قابلیت بقای باکتری‌های پروبایوتیک در نوشیدنی سنتی ایرانی (دوغ)

امیرصالح وثوق[۱]، *مرتضی خمیری[۲]، مهدی کاشانی‌نژاد[۳] و سیدمهدی جعفری[۲]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۲]استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۳]دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۸۶/۱۲/۲۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۷/۷/۱۶

چکیده

این پژوهش تلاشی برای بررسی امکان تولید یک محصول بومی حامل میکروارگانیسم‌های زنده و فعال پروبایوتیک با عنوان دوغ زیستی یا «بایودوغ» است. در این پروژه دو گونه از مهم‌ترین میکروارگانیسم‌های پروبایوتیک یعنی (La-5) *Lactobacilus acidophilus* و *Bifidobacterium lactis* (Bb12) به سه نوع دوغ بدون عرق نعناع (به‌عنوان شاهد)، دوغ حاوی ۱ درصد عرق نعناع، و دوغ حاوی ۲ درصد عرق نعناع تلقیح شدند و دوغ‌های تولیدشده در مدت زمان ۹ هفته نگهداری در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) به‌صورت هفتگی از نظر تغییرات در قابلیت بقا، pH، اسیدیته و عطر و طعم مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج این پژوهش نشان داد که عرق نعناع بسته به درصد عرق مورد استفاده و نوع میکروارگانیسم می‌تواند باعث کاهش یا افزایش قابلیت بقای میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش شود. بر این اساس در طی دوره نگهداری تعداد باکتری *B.lactis* نسبت به تعداد اولیه به‌طور متوسط ۲ سیکل لگاریتمی کاهش داشت این در حالی است که تعداد باکتری *L. acidophilus* در هفته هشتم نگهداری به صفر رسید. pH و اسیدیته نیز طی مدت زمان نگهداری تغییر معنی‌داری پیدا نکردند. نتایج حاصل از آنالیز آماری نشان داد که بین انواع دوغ از لحاظ عطر و طعم اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P<۰/۰۵$). مقایسه میانگین‌ها مشخص کرد که دوغ‌های حاوی عرق نعناع امتیاز بالاتری را نسبت به دوغ معمولی کسب کردند.

واژه‌های کلیدی: پروبایوتیک، بایودوغ، عرق نعناع، نوشیدنی لبنی، *Lactobacilus acidophilus*، *Bifidobacterium lactis*

مقدمه

واژه پروبایوتیک از واژه یونانی پروبایوس به معنای حیات‌بخش اقتباس شده است و از نظر مفهوم در مقابل واژه آنتی‌بیوتیک یا ضدحیات قرار دارد (ویندرولا و رینهیمر، ۲۰۰۰). اما در اصطلاح علمی طبق تعریف FAO[۲] پروبایوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای (باکتری یا مخمر) هستند که وقتی از طریق خوردن یا کارگذاری موضعی در تعداد مناسب به‌کار گرفته شوند باعث ایجاد یک یا چند اثر سلامت‌بخش بر بدن میزبان می‌شوند (فائو، ۲۰۰۱). با مشخص شدن پتانسیل

*- مسئول مکاتبه: mkhomeiri@yahoo.com

2- Food and Agricultural Organization

Archive of SID
www.SID.ir

میکروارگانیسم‌های پروبایوتیک برای بهبود و ارتقاء سلامت بدن میزبان دانشمندان علوم غذا و دارو تلاش کردند جنبه‌های مختلف اثرات مفید پروبایوتیک‌ها را بر بدن انسان و حیوانات کشف کنند. حاصل این تلاش‌ها را می‌توان در مواردی به این شرح خلاصه کرد: خواص ضدجهش‌زایی و ضدسرطانی (ردی و ریونسون، ۱۹۹۳)، تقویت وتنظیم سیستم ایمنی (دانت- هاجز و همکاران، ۱۹۹۹؛ سارلا و همکاران، ۲۰۰۰؛ زیمر و گیبسون، ۱۹۹۸)، خواص ضدمیکروبی (فولر، ۱۹۷۸)، کاهش کلسترول سرم (دوتویت و همکاران، ۱۹۹۸؛ تارانتو و همکاران، ۱۹۹۸)، بهبود تحمل نداشتن لاکتوز (های، ۱۹۹۳؛ نوه و جیلیلاند، ۱۹۹۳؛ سونسن و همکاران، ۱۹۹۰) و افزایش ارزش تغذیه‌ای (راسیک، ۱۹۸۳؛ شاناهان، ۲۰۰۲؛ تمیم و همکاران، ۱۹۹۵).

همگام با کشف اثرات مفید پروبایوتیک‌ها تلاش‌های فراوانی برای تولید و فرآوری محصولات تخمیری و حامل حاوی میکروارگانیسم‌های پروبایوتیک آغاز گردید، به‌طوری‌که امروزه بیش از ۹۰ فرآورده پروبایوتیک حاوی *Lactobacillu acidophilus* و *Bifidobacterium bifidum* در سرتاسر جهان تولید می‌شود (هویر، ۱۹۹۲؛ شاه، ۲۰۰۱).

با این حال یکی از مهم‌ترین چالش‌های موجود در زمینه تولید و فرآوری محصولات پروبایوتیک پایین بودن قابلیت بقای باکتری‌های پروبایوتیک به‌دلیل حساسیت به شرایط سخت و دشوار درون محصول غذایی و همچنین شرایط نامساعد دستگاه گوارشی است. و این درحالی است که طبق گزارش FAO محصول پروبایوتیک استاندارد، محصولی است که در لحظه مصرف حداقل 10^7-10^6 واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم[1] میکروارگانیسم زنده و فعال پروبایوتیک داشته باشد (فائو، ۲۰۰۲).

یکی از زمینه‌های مهم تحقیقات در این راستا تلاش برای تولید محصولاتی است که بتواند محیط مناسب‌تری را برای بقای میکروارگانیسم‌های پروبایوتیک فراهم کرده و در نتیجه مدت زمان طولانی‌تری تعداد میکروارگانیسم‌ها را در دامنه استاندارد حفظ کند. با این وجود متأسفانه در کشور ایران به‌رغم تمام کارهای آزمایشگاهی که در مورد تولید محصولاتی مانند ماست و پنیر پروبایوتیک انجام شده هنوز هیچ محصول پروبایوتیکی به‌صورت صنعتی تولید نشده است.

دوغ یکی از نوشیدنی‌های بومی کشور ایران است که مصرف آن پیشنه تاریخی طولانی دارد. این محصول از اختلاط آب، ماست، نمک و طعم‌دهنده‌های گیاهی به‌صورت گازدار و بدون گاز ساخته می‌شود. در گذشته پودر برگ گیاهانی مثل نعناع و کاکوتی را برای خوش‌طعم و معطرشدن دوغ به آن اضافه می‌کردند. اما امروزه در تولید صنعتی دوغ بیشتر از عرق این گیاهان استفاده می‌شود.

نعناع با اسم علمی *Mentha piperta* به خانواده *Leguminosae* تعلق دارد. خواص این گیاه از روزگاران قدیم شناخته شده و امروزه نیز برگ و اسانس روغنی آن در طب سنتی، در صنایع غذایی (به‌عنوان یک عامل طعم‌دهنده) و در ساخت مواد آرایشی به‌کار می‌رود (فوستر، ۱۹۹۶). روغن نعناع در بین سایر روغن‌های فرار کاربرد گسترده‌تری دارد (مورای، ۱۹۹۵) به‌طوری‌که سالانه بالغ بر ۸۰۰۰ تن روغن نعناع در سرتاسر جهان تولید می‌شود (اکلس، ۱۹۹۴). بیشترین ماده مؤثر موجود در اسانس نعناع منتول[2] نام دارد و حدود ۷۰-۳۰ درصد روغن فرار نعناع را منتول آزاد و استرهای منتول تشکیل می‌دهد (مورای، ۱۹۹۵). از خواص درمانی نعناع می‌توان به خواص ضدسرفه (موریس و همکاران، ۱۹۹۴)، ضدتهوع (تیت، ۱۹۹۷)، ضدگرفتگی عضلانی (لیکستر و هانت، ۱۹۸۲)، کمک به هضم غذا (دالوی و همکاران، ۱۹۹۱) و کمک به کاهش علایم سندرم روده تحریک‌پذیر[3] (IBS) (دیو و همکاران، ۱۹۸۴؛ کارلینگ و

1- Colony Form Unit

2- Menthol

3- Irritable Bowel Syndrome

Archive of SID

www.SID.ir

همکاران، ۱۹۸۹؛ می و همکاران، ۱۹۹۶؛ پیتلر و ارنست، ۱۹۹۸) اشاره کرد.

از خواص تغذیه‌ای دوغ می‌توان به افزایش ویتامین‌ها و متابولیت‌های مغذی، بهبود جذب کلسیم و قابلیت هضم بیشتر نسبت به شیر اولیه اشاره کرد. در دهه اخیر در راستای سیاست‌های تغذیه‌ای دولت ایران مبنی بر جایگزینی دوغ به‌جای نوشابه‌های گازدار صنعتی، تولید صنعتی دوغ رواج زیادی یافته و تا حد زیادی با استقبال مردم روبرو شده است تا آنجا که طی چند سال اخیر مصرف آن در ایران حدود ۴۰ درصد افزایش پیدا کرده است.

این تحقیق با توجه به اهمیت تولید محصولات پروبایوتیکی و جایگزینی دوغ به‌جای نوشابه در کشور ایران طراحی و اجرا شد. تولید «بایودوغ» می‌تواند به‌عنوان یک فرآورده با ارزش علاوه‌بر توسعه و ترویج مصرف محصولات پروبایوتیک به جایگزینی دوغ به‌جای نوشابه و ارتقاء سلامت عمومی جامعه کمک کند. در این پروژه دو گونه از مهم‌ترین میکروارگانیسم‌های پروبایوتیک یعنی *L. acidophilus* (La-5) و *B. lactis* (Bb12) به سه نوع دوغ بدون عرق نعناع (به‌عنوان شاهد)، دوغ حاوی ۱ درصد عرق نعناع و دوغ حاوی ۲ درصد عرق نعناع تلقیح شدند و دوغ‌های تولید شده طی مدت زمان نه هفته نگهداری در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) به‌صورت هفتگی از نظر تغییرات در قابلیت بقا، pH، اسیدیته و عطر و طعم مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

میکروارگانیسم‌های مورد استفاده: میکروارگانیسم‌های مورد استفاده دراین تحقیق شامل دو گونه (Bb12) *B.lactis* و (La-5) *L.acidophilus* بودند که به‌صورت تک‌سویه‌ای از شرکت کریستین هانسن[۱] خریداری شدند.

۱- Christain Hansen

آماده‌سازی مایه تلقیح: با توجه به این که در محصولات حامل، تعداد باکتری تلقیح شده به محصول باید برابر تعداد نهایی مورد نظر باشد. بنابراین در این تحقیق ابتدا کل کشت آغازگر در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر شیر پس چرخ استریل حل شد و پس از تقسیم شدن در حجم‌های کوچک‌تر با ازت مایع منجمد گردید و در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد، سپس با توجه به اینکه در هر میلی‌لیتر از شیر پس‌چرخ حاوی کشت آغازگر ۴×۱۰^{۹} میکروارگانیسم پروبایوتیک وجود داشت، ۱۰ میلی‌لیتر از این مایه تلقیح به ۳ لیتر نمونه دوغ اضافه شد. به این ترتیب در هر میلی‌لیتر از دوغ تولیدی حدود ۱×۱۰^{۷} میکروارگانیسم پروبایوتیک وجود داشت. لازم به ذکر است که مایه تلقیح قبل از اضافه شدن به نمونه‌های دوغ به‌منظور فعال‌سازی به‌مدت ۲ ساعت در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری شد.

آماده‌سازی محصول: ابتدا اجزاء اصلی تشکیل‌دهنده دوغ یعنی ماست، آب و نمک با نسبت مناسب (۵۰ درصد ماست، ۵۰ درصد آب دارای نمک به غلظت نهایی ۱ درصد) به‌وسیله مخلوط‌کن مخلوط شدند و پس از کنترل و تنظیم ماده‌خشک در حد ۶/۵ درصد در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه پاستوریزه شدند. پس از سرد شدن دوغ تا دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد میکروارگانیسم‌های پروبایوتیک فعال‌سازی شده (La-5 و Bb12) به نسبت مساوی به دوغ اضافه شدند. پس از انجام مرحله فوق عرق نعناعی [تهیه شده از کارخانجات گلچکان زمانی (واحد نمونه کیفیت سال ۱۳۸۵)] که قبلاً با فیلتر استریل شده بود در سطوح ۱ درصد و ۲ درصد به نمونه‌های دوغ حاوی میکروارگانیسم اضافه شد. سپس دوغ‌های تولیدی تحت شرایط استریل در بطری‌های پلی‌اتیلن تترا فتالات[۲] (PET) بسته‌بندی و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. لازم به ذکر است که

2- Polyethylene Terephthalate

Archive of SID

www.SID.ir

عرق نعنای استفاده شده از نعنا فلفلی[1] تهیه شده و اسانس‌های موجود در آن طبیعی است.

آنالیز شیمیایی: تغییرات pH به‌صورت هفتگی به‌وسیله pH متر[2] مجهز به الکترود اندازه‌گیری دما و pH به‌طور هم‌زمان اندازه‌گیری شد. اسیدیته نیز به روش دورنیک طی دوره نگهداری به‌صورت هفتگی مورد ارزیابی قرار گرفت. ماده‌خشک نیز پس از تولید به روش پیشنهادی AOAC (۲۰۰۰) اندازه‌گیری و کنترل گردید.

آنالیز میکروبی: ۱ میلی‌لیتر از دوغ به ۹ میلی‌لیتر از محلول بافری آب پپتونه اضافه شده و با مخلوط‌کن گردابی لوله به‌صورت یکنواخت مخلوط شد. سپس رقیق‌سازی به روش سریالی[3] انجام شده و سلول‌های زنده به روش ریختن در پلیت کشت داده شده و شمارش شدند. برای شمارش Bb12 از محیط کشت اختصاصی MRS-NNLP (دیو و شاه، ۱۹۹۶) و اینکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ ساعت در شرایط بی‌هوازی استفاده شد. برای شمارش La-5 نیز از محیط کشت MRS-IM با محلول مالتوز (پیشنهاد شده توسط شرکت کریستین هانسن) و اینکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و مدت زمان ۷۲ ساعت در شرایط هوازی استفاده شد.

آنالیز خواص حسی: خواص حسی نمونه‌های دوغ، یک‌بار پس از تولید برای تعیین بهترین دوغ از لحاظ عطر و طعم و یک‌بار پس از انتهای آزمایش‌ها به‌منظور بررسی تغییرات عطر و طعم طی دوره نگهداری مورد سنجش قرار گرفت. برای این منظور از آزمون هدونیک پنج نقطه‌ای استفاده شد. ابتدا داده‌های کیفی حاصل از اعلام نظر پانلیست‌ها به داده‌های کمی تبدیل شد (لاولس و هایمان، ۱۹۹۸) و سپس توسط نرم‌افزار آماری SAS (۲۰۰۱) مورد بررسی قرار گرفت.

آنالیز آماری: به‌طورکلی در این آزمایش از ۳ تیمار (دوغ معمولی، دوغ نعناعی ۱ درصد و دوغ نعناعی ۲ درصد) و هر تیمار در سه تکرار انجام شد. نتایج حاصل از شمارش باکتری‌ها طی مدت زمان نگهداری به درصد بقا نسبت به تعداد اولیه تبدیل و سپس با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (۲۰۰۱) تجزیه و تحلیل شد. برای ارزیابی نمونه‌های دوغ از ۵ پانلیست که آموزش‌های لازم را برای این کار دیده بودند استفاده شد. نمونه‌های مورد ارزیابی از لحاظ پذیرش کلی با هم مقایسه شد و از آنجایی که ارزیابی داوران به‌صورت کیفی است, با استفاده از آزمون هدونیک پنج نقطه‌ای ارزیابی‌های کیفی به داده‌های کمی تبدیل شد (SAS، ۲۰۰۱).

نتایج

بررسی قابلیت بقای La-5 در دوغ و اثر عرق نعناع بر آن: نتایج تجزیه و تحلیل آماری حاکی از معنی‌دار بودن اختلاف درصد بقای باکتری La-5 بین دوغ معمولی و دوغ‌های حاوی عرق نعناع بود ($P<0/001$). بررسی مقایسه‌های میانگین از آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($\alpha=0/05$) نشان داد که درصد بقای باکتری فوق در دوغ حاوی ۲ درصد عرق نعناع نسبت به دوغ معمولی و دوغ حاوی ۱ درصد عرق نعناع بیشتر است. با این حال بین دوغ حاوی ۱ درصد عرق نعناع و دوغ معمولی اختلافی وجود نداشت. شکل ۱ روند کاهش تعداد باکتری La-5 را طی مدت زمان ۹ هفته نشان می‌دهد.

با بررسی نتایج بالا می‌توان به این جمع‌بندی رسید که عرق نعناع در سطح ۲ درصد باعث افزایش قابلیت بقای باکتری فوق در دوغ سنتی می‌شود اما در سطح ۱ درصد اثر معنی‌داری بر قابلیت بقا ندارد.

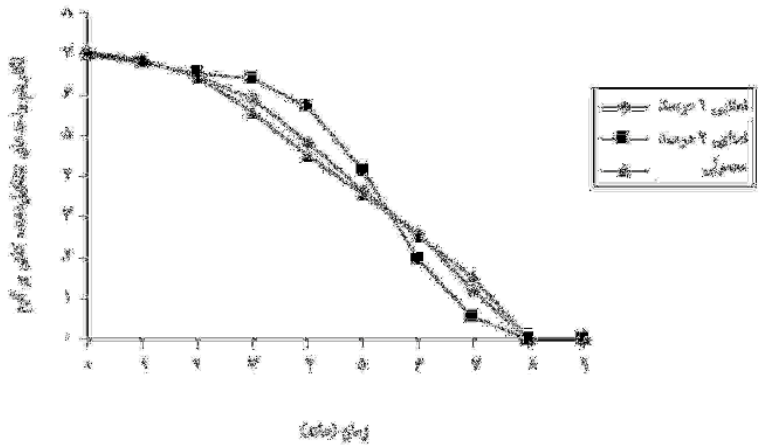
1- Peppermint

۲- مدل 766 ساخت شرکت Knick آلمان

3- Serial Silution

Archive of SID

www.SID.ir



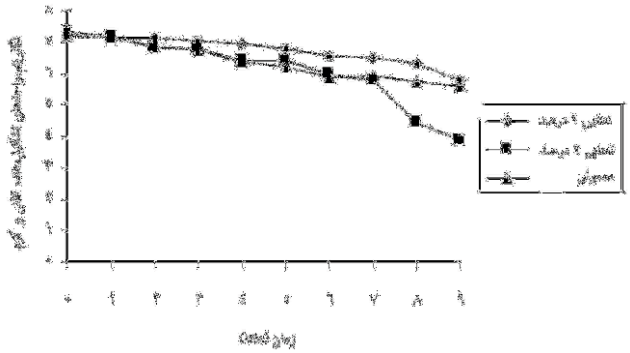
شکل ۱- مقایسه روند کاهش باکتری La-5 طی مدت زمان نگهداری.

هر دو نتیجه فوق به‌صورت کلی‌تر در کارهایی که قبلاً در مورد اثر روغن‌های اسانسی و ادویه‌ها بر رشد و بقای بعضی از باکتری‌های اسید لاکتیک انجام شده به اثبات رسیده است. تحقیقات انجام شده توسط زایکا و کیسینجر (۱۹۷۸ و ۱۹۷۹) در مورد اثر برخی از ادویه‌ها و اسانس‌های روغنی بر کشت‌های آغازگر لاکتیک از جمله آزمایش‌هایی است که نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر را تأیید می‌کند به آنها طی آزمایش‌هایی نشان دادند که برخی از ادویه‌ها بر رشد و تولید اسید در بعضی از کشت‌های آغازگر لاکتیک اثر تحریک‌کنندگی دارند (زایکا و همکاران، ۱۹۷۸). همچنین طی پژوهش دیگری همین نتیجه را برای چند ادویه دیگر به اثبات رسانیدند (زایکا و کیسینجر، ۱۹۷۹). آنها در سال ۱۹۸۱ نیز طی آزمایش دیگری نتیجه گرفتند که پونه کوهی برحسب مورد می‌تواند باعث تحریک، تأخیر یا جلوگیری از رشد باکتری‌های لاکتیک شود (زایکا و کیسینجر، ۱۹۸۱). نتایج آزمایش‌ها کیوانس نیز نشان داد که اسانس زیره سبز و پونه کوهی در غلظت‌های پایین باعث تحریک رشد و تولید اسید و در غلظت‌های بالا باعث جلوگیری از رشد باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم می‌شود (کیوانس و همکاران، ۱۹۹۱) سیمسک نیز اثبات کرد اسانس نعناع طی مدت زمان نگهداری اثر معنی‌داری بر قابلیت بقای باکتری‌های سنتی ماست ندارد (سیمسک و همکاران، ۲۰۰۷).

بررسی قابلیت بقای Bb12 در دوغ و اثر عرق نعناع بر آن: در این مورد نیز نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلاف بین درصد بقای باکتری Bb12 در انواع دوغ مورد آزمایش است ($P<۰/۰۰۱$). مقایسه میانگین‌های درصد بقا با آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($\alpha=۰/۰۵$) نشان داد که درصد بقای باکتری فوق در دوغ حاوی ۱ درصد بیشتر از دوغ معمولی و در دوغ معمولی بیشتر از دوغ حاوی ۲ درصد عرق نعناع است (شکل ۲). همان‌طور که از نتایج بر می‌آید عرق نعناع در سطح ۱ درصد باعث افزایش درصد بقای باکتری Bb12 در دوغ می‌شود در حالی‌که در سطح ۲ درصد اثر بازدارندگی از خود نشان می‌دهد.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل۲- مقایسه روند کاهش باکتری Bb12 در انواع دوغ طی مدت زمان نگهداری.

البته لازم به ذکر است که این اثر بازدارندگی بیشتر در دو هفته پایانی دوره نگهداری خودنمایی می‌کند. اثر مثبت نعناع بر رشد و بقای بیفیدوباکترها پیش از این نیز طی تحقیقی که عده‌ای از دانشمندان روی «لبنه» پروبایوتیک حاوی عصاره‌های گیاهی انجام دادند به اثبات رسیده است (النمر و همکاران، ۲۰۰۴). همچنین طی تحقیق دیگری نشان داده شد که عصاره‌های گیاهی از جمله نعناع بر رشد و بقای بفیدوباکترهای تلقیح شده به آب پنیر و شیر پس‌چرخ اثر مثبت دارند (النمر و همکاران، ۲۰۰۴). طبق مطالعات انجام شده به‌نظر می‌رسد که علت اثر مثبت ادویه‌جات و عصاره‌های گیاهی بر رشد و بقای باکتری‌های آغازگر لاکتیک غلظت بالای یون‌های فلزی به‌خصوص منیزیم و منگنز در این مواد باشد (زایکا و کیسینجر، ۱۹۸۴؛ سابین و واسیلیکوس، ۱۹۶۷).

مقایسه قابلیت بقای Bb12 و La-5 در انواع دوغ: با مقایسه شکل‌های ۱ و ۲ به‌خوبی مشخص می‌شود که در دوغ سنتی باکتری Bb12 از قابلیت بقای خیلی بالاتری نسبت به با کتری La-5 برخوردار است. و این موضوع در تمامی نمونه‌های دوغ (معمولی، نعناعی ۱ درصد و نعناعی ۲ درصد) به خوبی مشخص است. به‌طوری‌که تعداد باکتری‌های La-5 در هفته هشتم در تمامی نمونه‌ها به صفر رسید در حالی‌که تعداد با کتری Bb12 پس از طی همان مدت در دوغ نعناعی ۲ درصد که از پایین‌ترین قابلیت بقا برخوردار بود به $۲/۷۳\times۱۰^{۴}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی بر میلی‌لیتر رسید. این به آن معناست که باکتری Bb12 در طول مدت زمان نگهداری قابلیت بقای خود را تقریباً به‌میزان ۴ سیکل لگاریتمی بهتر از La-5 حفظ می‌کند. لازم به ذکر است قابلیت بقای بهتر بیفیدوباکتریوم انیمالیس نسبت به لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در آزمایش‌های انجام شده توسط مدینا و جوردانو به اثبات رسیده است (مدینا و جوردانو، ۱۹۹۵).

بررسی تغییرات اسیدیته و pH طی دوره نگهداری: جدول ۱ روند تغییرات اسیدیته و pH نمونه‌های دوغ را در طی دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نشان می‌دهد. همان‌طور که دراین جدول مشاهده می‌شود طی این دوره زمانی تقریباً در تمامی نمونه‌ها افزایش اسیدیته و کاهش pH دیده می‌شود. این تغییرات به‌دلیل توانایی کم میکروارگانیسم‌های پروبایوتیک در مورد تولید اسید طی نگهداری در یخچال جزئی می‌باشد (مارشال و تمیم، ۱۹۹۷). با این حال مقایسه pH نمونه‌های دوغ تولیدی حاکی از تفاوت نداشتن روند کاهش pH بین نمونه‌های دوغ است چرا که دوغ معمولی طی دوره نگهداری ۰/۰۷، دوغ نعنایی ۱ درصد، ۰/۰۶ و دوغ نعنایی ۲ درصد نیز ۰/۰۶ کاهش pH داشته است. اما در مورد اسیدیته روند افزایش بین نمونه‌های دوغ متفاوت است به‌طوری‌که طی مدت زمان نگهداری دوغ معمولی ۴ درجه دورنیک افزایش اسیدیته داشته در حالی‌که دوغ نعنایی ۱ درصد و دوغ نعنایی ۲ درصد به‌ترتیب ۸ درجه و ۷ درجه دورنیک افزایش اسیدیته داشته‌اند. بنابراین می‌توانیم نتیجه بگیریم که تولید اسید توسط میکروارگانیسم‌های پروبایوتیک در نمونه‌های دوغ حاوی عرق نعناع در طی دوره نگهداری در یخچال بیشتر از دوغ معمولی بوده است.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- تغییرات **pH** و اسیدیته طی دوره نگهداری.

زمان	معمولی		نعنایی ۱ درصد		نعنایی ۲ درصد	
روز	pH	اسیدیته	pH	اسیدیته	pH	اسیدیته
۱	۴/۰۲	۷۶	۴/۱۰	۶۷	۴/۰۴	۶۸
۷	۳/۹۹	۷۶	۴/۱۰	۶۷	۴/۰۴	۷۲
۲۱	۳/۹۸	۷۶	۴/۰۸	۶۷	۴/۰۴	۷۳
۳۵	۳/۹۸	۷۶	۴/۰۷	۶۸	۴/۰۲	۷۳
۴۹	۳/۹۷	۷۹	۴/۰۷	۶۹	۴/۰۰	۷۴
۶۳	۳/۹۵	۸۰	۴/۰۴	۷۵	۳/۹۸	۷۵

بررسی خصوصیات حسی: نتایج حاصل از آنالیز آماری نشان داد که بین انواع دوغ از لحاظ عطر و طعم اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P<۰/۰۵$). مقایسه میانگین‌ها مشخص کرد که دوغ‌های حاوی عرق نعناع امتیاز بالاتری (در حد خوب و خیلی‌خوب) را نسبت به دوغ معمولی کسب کردند. اما بین دوغ حاوی ۱ درصد عرق نعناع با دوغ حاوی ۲ درصد عرق نعناع از این لحاظ تفاوتی وجود نداشت. دلیل این امر نیز علاقه مردم کشور ایران به نوشیدنی‌های طعم‌دار است چنان‌که از روزگاران قدیم به طعم‌دار کردن فرآورده‌های لبنی به‌خصوص ماست و دوغ به‌وسیله پودر گیاهان معطر مبادرت می‌ورزیدند. همچنین اکثر نوشیدنی‌های سنتی کشور ما از مواد گیاهی معطر تولید می‌شوند. این نتیجه یعنی اثر مثبت عصاره‌های گیاهی مثل نعناع بر طعم فرآورده‌های لبنی در برخی آزمایش‌هایی که قبلاً انجام شده نیز به اثبات رسیده است (النمر و همکاران، ۲۰۰۴).

نتیجه‌گیری

هدف از این مطالعه بررسی امکان تولید دوغ حاوی میکروارگانیسم‌های زنده (دوغ زیستی) و همچنین بررسی امکان استفاده از عرق نعناع به‌منظور بهبود عطر و طعم دوغ پروبایوتیک بود. از طرف دیگر همان‌طور که می‌دانیم برای تولید صنعتی یک محصول باید سه فاکتور اساسی را در نظر گرفت که عبارت‌اند از: ۱- رعایت قوانین و استانداردها ۲- مشتری‌پسندی ۳- صرفه اقتصادی. بنابراین در این آزمایش این سه فاکتور می‌توانند معیاری را برای انتخاب و معرفی یکی از انواع دوغ تولیدی به صنعت به‌منظور تولید صنعتی دوغ زیستی پروبایوتیک ارائه کنند. مهم‌ترین و کلیدی‌ترین قانون موجود در زمینه پروبایوتیک‌ها که تاریخ انقضای آنها را نیز تعیین می‌کند تعداد میکروارگانیسم‌های زنده و فعال در لحظه مصرف است. طبق گزارش FAO محصول پروبایوتیک استاندارد محصولی است که در لحظه مصرف حدود $۱۰^{۷}$-$۱۰^{۶}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم میکروارگانیسم زنده و فعال داشته باشد. بدیهی است از این دیدگاه محصولی برای استفاده در صنعت مناسب‌تر است که بتواند محیط مناسب‌تری را برای بقای میکروارگانیسم‌های پروبایوتیک فراهم کرده و در نتیجه تاریخ انقضاء محصول را افزایش دهد. پس با توجه به فاکتور فوق اگر بخواهیم بایودوغ حاوی باکتری La-5 تولید کنیم باید دوغ حاوی ۲ درصد عرق نعناع را پیشنهاد دهیم چرا که از بیشترین قابلیت بقا نسبت به سایر انواع دوغ حاوی La-5 برخوردار است. البته باید به این نکته توجه داشت که براساس نتایج حاصل از قانون FAO تاریخ انقضای این دوغ حدود ۲۵ روز (سه هفته) تعیین می‌شود چرا که پس از این مدت تعداد میکروارگانیسم‌های زنده و فعال آن از حد پیشنهاد شده ($۱۰^{۶}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم) پایین‌تر می‌آید (شکل ۱). از لحاظ مشتری‌پسندی نیز دوغ حاوی ۲ درصد عرق نعناع امتیاز خوبی را از جنبه خواص عطر و طعم کسب کرد و مورد پسند پانلیست‌ها قرار گرفت. در مورد فاکتور اقتصادی نیز چون تفاوت بین انواع دوغ در میزان عرق نعناع مورد استفاده است و با توجه به این که عرق نعناع محصولی ارزان و در دسترس است و سهم

Archive of SID

www.SID.ir

کمی را در هزینه‌های تولید دوغ دارد خیلی در انتخاب ما اثرگذار نیست.

اگر بخواهیم بـایودوغ حـاوی بـاکتری Bb12 تولیـد کنیم از جنبه قابلیت بقا دوغ حاوی ۱ درصد عرق نعناع از بیشترین قابلیت بقا نسبت به دو نوع دوغ دیگر برخـوردار است. ضمن این که این دوغ در آزمـون پانـل نیـز امتیـاز خوبی را به‌دست آورده است. تاریخ انقضای ایـن دوغ بـا توجه به قانون FAO حدود هشت هفته تعیین می‌شود.

بدیهی است که اگر بخواهیم از بین دو میکروارگانیسم فوق یکی را برای اضافه کردن به دوغ انتخاب کنیم عامـل تعیین‌کننده در این زمینه قابلیت بقای میکروارگانیسم مورد استفاده است. که باتوجه به ایـن فـاکتور بهتـرین انتخـاب اضافه کردن باکتری Bb12 به دوغ حاوی ۱ درصد عـرق نعناع است.

منابع

1.AOAC. 2000. Official methods of Analysis, Association of official analytical chemists, Washington DC, USA.

2.Bayoumi, S. 1992. Bacteriostatic effects of some spices and their utilization in the manufacture of yoghurt Chemie-Microbiologie-Technologie-der LebenSmittel, 14: 1-2. 21-26.

3.Carling, L., Svedberg, L., and Hultsen, S. 1989. Short term treatment of the irritable bowel syndrome: a placebo controlled trial of peppermint oil againt hyoscyamine. Opusc Med. 34:55-57.

4.Chevallier, A. 1996. The Encyclopedia of Medicinal Plants. Dorling Kindersley. London. 336p.

5.Dalvi, S.S., Nadkarni, P.M., Pardesi, R., and Gupta, K.C. 1991. Effect of peppermint oil on gastric emptying in man: a preliminary study using a radiolabelled solid test meal. Indian Journal of Phys. & Pharm. 35:212-214.

6.Dave, R.I., and Shah, N.P. 1996. Evaluation of media for selective enumeration of Streptococcus thermophilus, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, and bifidobacteria. Journal of Dairy Sci. 79:1529-1536.

7.Dew, M.J., Evans, B.K., and Rhodes, J. 1984. Peppermint oil for the irritable bowel syndrome: a multicentre trial. British Journal of Clinical Prac. 38:394-398.

8.Donnet-Hughes, A., Rochat, F., Serrant, P., Aeschlimann, J.M., and Schiffrin, J.E. 1999. Modulation of nonspecific mechanisms of defense by lactic acid bacteria: Effective dose. Journal of Dairy Sci. 82: 863-869.

9.Du Toit, M., Franz, C.M.A.P., Dicks, L.M.T., Shillinger, U., Haberer, P., Warlies, B., Ahrens, F., and Holzapfel, W.H. 1998. Characterization and selection of probiotic lactobacilli for a preliminary mini pig feeding trial and their effect on serum cholesterol levels, feces pH and feces moisture content. International Journal of Food Micro. 40:93-104.

10.Eccles, R. 1994. Menthol and related cooling compounds. J. Pharm Pharm. 46:618-30.

11.El-Nemr, T.M., Ali, A.H., and Awad, S.A. 2004. Introducing of some herb oils in the manufacture of Probiotic Labneh. Alexandria. Journal of Agricultural Research. 49: 2. 49-58.

12.El-Nemr, T.M., Awad, S.A., and Ali, A.H. 2004. Cheese whey and skimmed milk as a base for probiotic dairy fermented products supplemented with some herb oils. 9th Egyptian conference for dairy science and technology, International Agriculture Centre, Cairo, Egypt. 9-11 Octobr.

13.FAO/WHO Experts' Reports. 2001. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria.

14.FAO/WHO. 2002. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Retrieved August 23, 2006.

15.Foster, S. 1996. Peppermint: Mentha piperita. American Botanical Council- Botantical Series. 306: 3-8.

16.Fuller, R. 1978. Epithelial attachment and others factor controlling the persistence of the intestine of the gnotobiotic chicken by lactobacilli. Journal of Applied Bacter., 45: 147-154.

17.Hoier, E. 1992. Saure und Gallentoleranz von *Lactobacillus acidophilus* und Bifidobackterien. Lebensmittelindustrie und Milchwirtschaft, 26: 769-772.

18.Hui, Y.H. 1993. Dairy science and technology handbook, Vol. 2. VCH Publishers, Inc New York, NY. 493p.

19.Kivanc, M., Akgule, A., and Dogan, A. 1991. 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. 13: 1. 81-85.

Archive of SID

www.SID.ir

20.Lawless, H.T., and Hymann, H. 1998. Sensory evaluation of Food: principle and practice. 1Ed., Chapman and Hall, New york, NY.
21.Leicester, R.J., and Hunt, R.H. 1982. Peppermint oil to reduce colonic spasm during endoscopy. Lancet. 2: 989.
22.Marshall, V.M., and Tamime, A.Y. 1997. Starter cultures employed in the manufacture of biofermented milks. International Dairy Journal. 50:35-39.
23.May, B., Kuntz, H.D., Kieser, M., and Kohler, S. 1996. Efficacy of a fixed peppermint oil/caraway oil combination in nonulcer dyspepsia. Arzneimittel-Forschung, 46: 1149-53.
24.Medina, L.M., and Jordano, R. 1995. Population Dynamics of Constitutive Microbiota in BAT Type Fermented Milk Products. Journal of Food Protection, 58:70-75.
25.Morice, A.H., Marshall, A.E., Higgins, K.S., and Grattna T.J. 1994. Effect of inhaled menthol on citric acid induced cough in normal subjects, Thorax. 49: 1024-1026.
26.Murray, M.T. 1995. The healing power of herbs: the enlightened person's guide to the wonders of medicinal plants. Rocklin, CA: Prima Pub. 410p.
27.Noh, D.O., and Gilliland, S.E. 1993. Influence of bile on cellular integrity and beta-galactosidase of *Lactobacillus acidophilus*. Journal Dairy Science. 76: 5. 1253-1259.
28.Pittler, M.H., and Ernst, E. 1998. Peppermint oil for irritable bowel syndrome: a critical review and metaanalysis. Am J Gastroenterol. 93: 1131-5.
29.Rasic, J.L. 1983. The role of dairy foods containing bifido and acidophilus bacteria in nutrition and health? North European Dairy Journal, 4:1-5.
30.Reddy, B.S., and Rivenson, A. 1993. Inhibitory effect of *Bifidobacterium longum* on colon, mammary, and liver carcinogenesis induced by 2-amino-3 methylimidazo [4,5-f] quinoline, a food mutagen. Cancer Res. 53:3914-3918.
31.Saarela, M., Mogense, G., Fondlen, R., Matt, O.J., and Mattila-Sandholm, T. 2000. Probiotic bacteria: Safety, functional and technological properties. Journal of Biotechnology. 84:197-215.
32.Sabine, D.B., and Vaselekos, J. 1967. Trace element requirements of Lactobacillus acidophilus. Nature. 214:508-520.
33.SAS. 2001. SAS user's guide: Statistics. Statistical Analysis System Institue Inc., Carry, NC.
34.Shah, N.P. 2001. Functional foods, probiotics and prebiotics. Food Tech. 55: 46-53.
35.Shanahan, F. 2002. Probiotics and inflammatory bowel disease: from fads and fantasy to facts and future. Br. J. Nutr. 88: 5-9.
36.Simsek, B., Sagdic, O., and Ozcelik, S. 2007. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 during the storage of ayran produced with different spices. Journal of Food Engineering. 79: 2. 679-680.
37.Swenson, J.M., Facklam, R.R., and Thornsberry, C. 1990. Antimicrobial susceptibility of vancomycin-resistant *Leuconostoc, Pediococcus,* and *Lactobacillus* species. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 34: 4. 543-549.
38.Tamime, A.Y., Marshall, V.M.E., and Robinson, R.K. 1995. Microbiological and technological aspects of milks fermented with bifidobacteria. Journal of Dairy Research. 62: 151-187.
39.Taranto, M.P., Medici, M., Perdigon, G., Ruiz Holgado, A.P., and Valdez, G.F. 1998. Evidence for hypocholesterolemic effect of *lactobacillus reuteri* in hypercholesterolemic mice. J. Dairy Sci. 81: 2336-2340.
40.Tate, S. 1997. Peppermint oil: a treatment for postoperative nausea. Journal of Advanced Nursing, 26:543-9.
41.Vinderola, C.G., and Reinheimer, J.A., 2000. Enumeration of L.casei in presence of L.acidophilus, bifidobacterium and lactic starter bacteria in fermented dairy product. International Dairy J. 10: 271-275.
42.Zaika, L.L., and Kissinger, J.C. 1984. Fermentation Enhancement by Spices: Identification of Active Component. Journal of Food Sci. 49: 1. 5-9.
43.Zaika, L.L., and Kissinger, J.C. 1981. Inhibitory and stimulatory effects of oregano on Lactobacillus plantarum and *Pediococcus cerevisiae*. Journal of Food Science. 46: 4. 1205-1210.
44.Zaika, L.L., and Kissinger, J.C. 1979. Effects of some spices on acid production by starter cultures. Journal of Food Protection. 42: 7. 572-576.
45.Zaika, L.L., Zell, T.E., Palumbo, S.A., and Smith, J.L. 1978. Effect of spices and salt on fermentation of Lebanon bologna-type sausage. Journal of Food Science. 43: 1. 186-189.
46.Ziemer, C.J., and Gibson, G.R., 1998. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. International Dairy Journal. 8:473-479.

Archive of SID

www.SID.ir

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 16(1), 2009
www.jasnr.info
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

Effects of mint extract on the viability of probiotic bacteria in a native Iranian dairy drink (Doogh)

A.S. Voosogh[1], *M. Khomeiri[2], M. Kashani Nijad[3] and S.M. Jafari[2]
[1]M.Sc. Student, Dept. of Food Sciences and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, [2]Assistant Prof., Dept. of Food Sciences and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, [3]Associate Prof., Dept. of Food Sciences and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran

Abstract

In this work, production of a native Iranian dairy drink containing active probiotic bacteria, so-called (bio-) doogh, was studied. Two commercial strains of probiotic bacteria, *Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium lactis*, inoculated into three types of doohg, including plain doogh as control, and samples containing 1% or 2% mint extract. Survival of probiotic bacteria, pH, acidity and flavor of bio- doogh was examined weekly during nine-week storage in 4°C. The results obtained showed mint extract depending on its concentration can reduce or increase survival of the bacteria. After storing at 4°C, viable *B. lactis* reduced by 2 logCFU/ml, while *L. acidophilus* reduced to zero after eight weeks at 4°C. There was no significance difference (P<0.05) between pH and acidity of bio-doogh during storage period. Statistical result revealed that there was no significant difference betwee n flavors of various samples of bio-doogh. Bio-doogh with mint extract had a higher flavor score than bio-doogh without mint extract.

Keywords: Probiotics; Bio-Doogh; Mint extract; Dairy drink; *Lactobacilus acidophilus*; *Bifidobacterium lactis*

Archive of SID

*- Corresponding Author; Email: mkhomeiri@yahoo.com

www.SID.ir