

## تعیین قابلیت زنده مانگی باکتری های پروبیوتیک در دوغ حاوی موسیر و غنی سازی شده با عصاره جینکو

کوروش اقبال طلب<sup>۱</sup>، وجیهه فدائی نوغانی<sup>۲\*</sup>، حسن جودکی<sup>۳</sup>

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۳- دکترای علوم و صنایع غذایی، شرکت لبنیات پگاه، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۷/۱۰/۰۲ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۲/۲۲)

### چکیده

دوغ یکی از فرآورده های شیری پر مصرف و سلامتی بخش به خصوص در داخل کشور محسوب می شود که جایگزین خوبی برای نوشابه ها در سبد غذایی جامعه است. گیاه جینکو، *Ginkgo biloba*، دارای خواص درمانی و تغذیه ای فراوان است؛ لذا دوغ غنی شده با این گیاه نیز از اهمیت تغذیه ای برخوردار است. در این پژوهش، تأثیر افزودن عصاره گیاه جینکو در سطوح ۰، ۱، ۲، ۳ و ۴ g/L بر قابلیت زنده مانگی باکتری های پروبیوتیک در دوغ حاوی ۰/۲g/L عصاره موسیر طی ۲۱ روز نگهداری در دمای ۴ °C مورد بررسی قرار گرفت. مطابق با این پژوهش، با افزایش درصد عصاره جینکو، اسیدیته، قابلیت زنده مانگی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5 و بیفیدوباکتریوم لاکتیس Bb-12 و فعالیت ضد اکسیدانی افزایش یافت (p<۰/۰۵)؛ و امتیاز ارزیابی حسی نمونه های دوغ به طور معنی داری کاهش پیدا کرد (p<۰/۰۵). نگهداری نمونه ها در طول ۲۱ روز سبب کاهش معنی دار جمعیت لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5 و بیفیدوباکتریوم لاکتیس Bb-12، فعالیت ضد اکسیدانی و مقبولیت از نظر بو، طعم و رنگ شد (p<۰/۰۵). به طور کلی، نمونه دوغ پروبیوتیک حاوی ۲ g/L عصاره جینکو به عنوان بهترین نمونه انتخاب گردید که می تواند به عنوان یک محصول سلامتی بخش در صنعت لبنیات تولید شود.

کلید واژگان: دوغ، عصاره جینکو، فعالیت ضد اکسیدانی، زنده مانگی باکتری های پروبیوتیک

\*مسئول مکاتبات: vn.fadaei@gmail.com

## ۱- مقدمه

دوغ یکی از فرآورده های شیری پرمصرف و سلامتی بخش به خصوص در داخل کشور محسوب می شود که به عنوان یک نوشیدنی سالم و مفید، تأمین کننده یک چهارم کلسیم مورد نیاز روزانه ی بدن و حاوی ویتامینهای گروه ب است و در سلامت و استحکام استخوان و دندانها مؤثر میباشد [۱]؛ و با دارا بودن باکتریهای مطلوب، اثرات مفیدی بر سلامت دستگاه گوارش دارد [۲].

گیاه موسیر (*Allium hiertifolium*) ارزش غذایی و دارویی بالایی دارد و مطابق با طب سنتی، ضدروماتیسم، هضم کننده غذا، اشتهاآور، مقوی معده، ضدکرم و انگل و مقوی قوای جنسی می باشد [۳].

گیاه جینکو، *Ginkgo biloba*، از قدیمی ترین گونه های گیاهی درختی بر روی زمین می باشد که از آن به عنوان فسیل زنده نیز یاد می شود. از عمده ترکیبات این گیاه می توان به فلاونون<sup>۱</sup>، فلاون گلیکوزیدها<sup>۲</sup>، مشتقات لاکتون (گینک گولید)<sup>۳</sup>، بیلوبالید<sup>۴</sup>، اسید آسکوربیک، کاتچین<sup>۵</sup>، سوپراکسیدهای بر پایه آهن، اسید<sup>۶</sup> - هیدروکسی کینورنیک<sup>۷</sup>، اسید پروتوکاتچونیک<sup>۸</sup>، اسید شیکیمیک<sup>۹</sup>، استرولها و اسید وانیلیک<sup>۹</sup> اشاره داشت [۴]. گیاه جینکو دارای طیف وسیعی از ترکیبات شیمیایی گیاهی از قبیل لیپیدها، استرولها، بنزوئیدها، کاروتنوئیدها، فنیل پروپانوئیدها، کربوهیدراتها، فلاونوئیدها و ترپنوئیدها می باشد. اجزاء اصلی گیاه جینکو، فلاونوئیدها هستند که مونو، دی و تری گلیسریدها و استرهای کوماریک اسید، فلاونول های کامپفول و کوئرستین غالب می باشند [۵]؛ مقادیر کمی هم گلیکوزیدهای ایزورامتین، میریستین و ۳-متیل میریستین وجود دارند. فرمهای غیر گلیکوزیدی بی فلاونوئیدها<sup>۱۰</sup>، کاتچینها و پروآنتوسیانینها هم در عصاره این گیاه وجود دارند. از ترکیبات شاخص این گیاهی می توان به دی

ترین لاکتونهای منحصر به فرد شامل جینگولیدها<sup>۱۱</sup>، J, C, B, A<sup>۱۱</sup> و M<sup>۱۱</sup> و سزکوئی ترین لاکتون بیلوبالید<sup>۱۲</sup> اشاره داشت [۶]. اثرات عصاره جینکو به دلیل اثرات هم افزایی بین ترکیبات مختلف آن از ترکیبات خالص شده ی آن بیش تر است [۷]. از اثرات مهم تأیید شده ی جینکو می توان به موارد زیر اشاره داشت: عصاره جینکو روند جریان خون را بهبود می بخشد و به درمان ناراحتی های گردش خون به ویژه نارسائی خون در مغز که سبب از دست دادن قدرت حافظه، وزوزگوش، اختلال در هوشیاری، سردرد و افسردگی به ویژه در افراد مسن می گردد، کمک می کند [۸]. این گیاه در پیشگیری یا درمان بیماری های قلبی و سکتة مغزی مؤثر واقع می شود و با دارا بودن خواص ضد اکسیدانی قوی، از آسیب دیدگی سیستم عصبی مرکزی، قلب و عروق، و همچنین، از اثرات پیری جلوگیری می کند [۹]. عصاره این گیاه، کاهنده ی استرس و دلهره است [۱۰]؛ افزایش حافظه [۱۱] و تحریک گردش خون عمومی به خصوص در افراد مبتلا به آسم را باعث می شود [۱۲]، نقش محافظت از اعصاب [۱۳، ۱۴]؛ و تأثیر درمانی مثبت بر حالات جنون، حالاتی شبیه به آلزایمر دارد [۱۵] و ضد تجمع پلاکتها است [۱۶]. نشان دادند که جینکجین<sup>۱۳</sup>، یک بی فلاونوئید استخراج شده از برگ های گیاه جینکو، دارای اثرات ضد سرطانی می باشد؛ برگ های این گیاه به عنوان یک داروی گیاهی ایمن در سازمان دارویی چین و اروپا ثبت شده است. آگروال و همکاران (۲۰۱۷) تأیید کردند که عصاره جینکو تأثیری بر آنزیم های کبدی و سطح بیلی روبین افراد مصرف کننده ندارد [۱۷].

از منابع ترکیبات سلامتی بخشی که در غذاهای سلامتی بخش<sup>۱۴</sup> به کار می روند می توان به دانه های سویا، برگ های چای سبز، عصاره های گیاهی، جلبک های دریایی، باکتری های پروبیوتیک، روغن های دریایی، دانه های غلات، تخم مرغها، میوه ها و سبزیجات اشاره داشت [۱۸]. دریافت پروبیوتیکها از راه مصرف محصولات غذایی در مقایسه با سایر شیوه های دریافت نظیر مصرف خوراکی از طریق مکمل و دارو از مقبولیت بیشتری نزد مردم برخوردار استدر ضمن، رشد و زنده ماننی پروبیوتیکها در طول انتقال در دستگاه گوارش تحت تأثیر ویژگی های

11. Ginkgolides
12. Sesquiterpene lactone bilobalide
13. Ginkegetin
14. Functional foods

1. Flavanone
2. Flavone glycosides
3. Ginkgolide
4. Bilobalide
5. Catechin
6. 6-Hydroxykynurenic acid
7. Protocatechuic acid
8. Shikimic acid
9. Vanillic acid
10. Biflavonoids

## ۲-۲- روش تولید عصاره جینکو

۵kg از برگ های گیاه جینکو بیلوبا به مدت سه روز در سایه خشک گردید؛ برگ های خشک شده جینکو بیلوبا به داخل دستگاه عصاره گیری پرکوله (در ۲۵°C) منتقل شد و حدود پنج لیتر حلال آب و الکل به نسبت ۳۰ به ۷۰ اضافه گردید؛ بعد از ۴۸ ساعت، با کاغذ واتمن ۴۰ صاف شد و عصاره به دست آمده به دستگاه روتاری انتقال یافت تا بازیافت کامل الکل انجام پذیرد. در پایان عملیات، مقدار ۱L عصاره بدون الکل حاصل گردید [۲۳].

## ۲-۳- روش تولید نمونه های دوغ پروبیوتیک

### حاوی عصاره ی موسیر و غنی شده با جینکو

شیر خام بعد از دریافت و استاندارد شدن ماده خشک (۸/۳۲ درصد) و چربی (۳/۰۵ درصد)، تا دمای ۱۵°C به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده شد؛ و سپس تا دمای ۴۲°C خنک گردید. پس از افزوده شدن کشت آغازگر به آن، گرمخانه گذاری تا رسیدن به pH= ۴/۸ انجام پذیرفت؛ و سپس، محصول نهایی (ماست) سرد شد (۴°C). در مخزن فرمولاسیون، آب آشامیدنی (به میزان ۰/۵۰ W/W)، نمک خوراکی تصفیه شده (۷g/L)، عصاره جینکو (۰، ۱، ۲، ۳ و ۴g/L) و موسیر (۰/۲g/L) به ماست تهیه شده افزوده گردید. در نهایت، دوغ تولید شده در بطری های ۱/۵ لیتری از جنس پلی اتیلن ترفتالات بسته بندی و به سردخانه با دمای ۴°C انتقال داده شد.

لازم به ذکر است افزودن عصاره موسیر به میزان ۰/۲g/L، علاوه بر دارا بودن اثرات مفید، اثر نامطلوبی بر زنده مانی باکتری های پروبیوتیک نخواهد داشت [۲۴]، ضمن این که در پوشاندن طعم نامطلوب عصاره جینکو بسیار مؤثر است.

## ۲-۴- آزمون های نمونه های دوغ پروبیوتیک

### حاوی عصاره موسیر و غنی شده با عصاره جینکو

میزان فعالیت ضد اکسیدانی با استفاده از ارزیابی قابلیت مهار رادیکال آزاد ۱-۱ دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازین (DPPH) در

طول انتقال در دستگاه گوارش تحت تأثیر ویژگی های فیزیکوشیمیایی حامل های غذایی است [۱۹]. مهم ترین اثرات مفید پروبیوتیک ها مربوط به خاصیت ضد عفونت های دستگاه گوارش، کاهش کلسترول سرم، بهبود سیستم ایمنی بدن، ویژگی های ضد سرطانی، ضد جهش زاوی و ضد اسهال، بهبود التهاب روده و توقف رشد باکتری هلیکوباکتری پیلوری است [۲۰].

به طور کلی، مصرف ترکیبات گیاهی و یا عصاره آن ها، به تنهایی، کمتر مورد پذیرش عموم جامعه است؛ برای حل این مشکل می توان این ترکیبات را به محصولات غذایی از جمله نوشیدنی های طعم دار اضافه کرد. با افزودن عصاره جینکو به دوغ، هم می توان دسترسی به چنین ماده با ارزشی را افزایش داد و هم فرآورده ای سلامتی بخش تولید کرد. در نتیجه، با فرهنگ سازی و معرفی محصولاتی از این دسته می توان علاوه بر کاهش مصرف نوشیدنی های بی ارزش و غیر مغذی و جایگزین کردن آن ها با فرآورده های مفید، سبب افزایش سلامت عمومی جامعه شد. پژوهش های محدودی در ارتباط با کاربرد گیاه جینکو در تولید محصولات غذایی نظیر پودر نوشیدنی پری بیوتیک [۲۱] و کلوچه [۲۲] گزارش شده اند. لذا، در پژوهش حاضر، غنی سازی دوغ حاوی موسیر با عصاره هیدروالکلیرگ گیاه جینکو و تأثیر افزودن عصاره برگ جینکو بر روی زنده مانی باکتری های پروبیوتیک و برخی ویژگی های دوغ مورد بررسی قرار می گیرد.

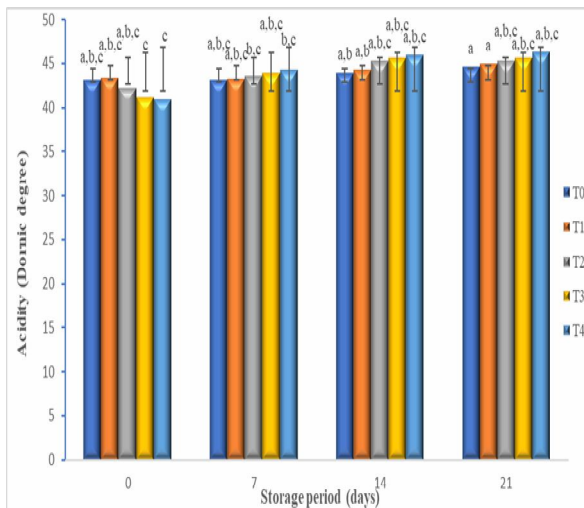
## ۲- مواد و روش ها

### ۲-۱- مواد مورد استفاده

شیرخام از شرکت پگاه تهران، ایران، و کشت منجمد شده تجاری DVS (شامل باکتری های پروبیوتیک آغازگر لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA۵ و بیفیدوباکتریوم لاکتیس Bb۱۲ و باکتری های ماستاسترپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس بولگاریکوسو با نام تجاری ABY1) از شرکت کریستین هنسن، دانمارک، تهیه شد. گیاه جینکو از کره جنوبی، عصاره موسیر از شرکت تک عصاره شرق، ایران، و نمک تصفیه شده خوراکی از شرکت گلها، ایران، خریداری گردید. کلیه مواد شیمیایی مورد نیاز جهت انجام آزمون ها از شرکت مرک آلمان تهیه شد.

داری دارند و هرچه دما بالاتر باشد سرعت افزایش اسیدیته نیز بیشتر خواهد بود [۳۱]. سان-واتر هوسو همکاران (۲۰۱۲) نیز با اضافه کردن پلی فنول های استخراج شده از سیب به دوغ، افزایش اسیدیته را طی زمان نگهداری محصول گزارش کردند [۳۲]. نتایج این پژوهش با یافته های شریفی راد و همکاران (۲۰۱۶) مبنی بر روند افزایشی اسیدیته نمونه های ماست حاوی غلظت های متفاوت از مواد افزودنی بر پایه میوه در طی نگه داری همخوانی دارد [۳۳].

افزایش غلظت عصاره جینکو تأثیری معنی داری بر افزایش اسیدیته نمونه ها داشت ( $p < 0/05$ ) علت این امر فعالیت باکتری های لاکتیکی و تجزیه گلیکوزیدهای موجود در عصاره می باشد که در نتیجه ی تولید اسید لاکتیک، اسیدیته نیز افزایش می یابد. چونگ و همکاران (۲۰۱۷) نیز افزایش اسیدیته را در اثر تخمیر عصاره جینسینگ توسط لاکتوباسیلوس پلاتناروم تأیید کردند که در این فرآیند، جینسنوزیدهای جینسینگ توسط لاکتوباسیلوس پلاتناروم تجزیه می شوند [۳۴]. مطابق با نتایج حاضر، ارسال و پکر (۲۰۱۷) نیز افزایش اسیدیته را با افزودن عصاره برگ زیتون به ماست طعم دار کم چرب تأیید کردند [۳۵].



**Fig 1** Changes in acidity (dornic degree) of the probiotic doogh samples containing Gingko and shallot extracts during storage at 4 °C

G=Percentage of Gingko extract  
T0: G=0; T1: G=1; T2: G=2; T3: G=3; T4: G=4

4. Ginsenosides

محلول تعیین شد [۲۵]. اندازه گیری اسیدیته قابل تیر طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۲۸۵۲ انجام پذیرفت [۲۶].

قابلیت زنده مانگی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5 با استفاده از محیط کشت MRS-bile آگار مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۳۲۴ بررسی گردید [۲۷]. بیفیدوباکتریوم لاکتیس Bb12 طبق روش استاندارد ملی ایران شماره ۱۳۷۷۲ شمارش شد [۲۸].

ویژگی های حسی نظیر طعم، رنگ، بو و قوام مطابق با روش کاکس و همکاران (۱۹۹۹) در محدوده دمایی ۸-۱۰ درجه سانتی گراد و در چارچوب آزمون هدونیک ۹ نقطه ای (ازخیلید، ۰ تاخیلیخوب، ۹) توسط ۸ نفر ارزیاب آموزش دیده ارزیابی شدند [۲۹].

لازم به ذکر است که کلیه آزمون ها در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از تولید طی نگهداری در دمای ۴°C انجام پذیرفت.

## ۲-۵- روش آماری

طرح آماری به کار رفته در این پژوهش، طرح آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی (برای داده های حسی) و آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی (برای سایر داده ها) با سه تکرار بود. برای بررسی وجود اختلاف آماری معنی دار بین تیمارهای مختلف، از آنالیز واریانس (ANOVA) و برای مقایسه میانگین داده ها از آزمون حداقل میانگین مربعات<sup>۱</sup> استفاده شد و از طریق نرم افزار آماری SPSS<sup>۳</sup> نسخه ۱۹ انجام پذیرفت. نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel 2016 رسم شدند.

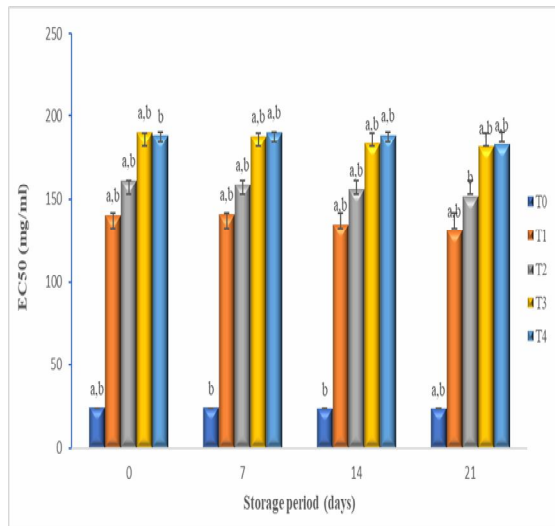
## ۳- نتایج و بحث

### ۳-۱- اسیدیته

طی زمان، اسیدیته افزایش پیدا می کند ( $p < 0/05$ ، شکل ۱)؛ به این دلیل که با گذشت زمان، باکتری های لاکتیکی موجود در نمونه ها هرچند در دمای پایین به رشد خود ادامه می دهند؛ لاکتوز موجود را تخمیر کرده و به اسید لاکتیک و دیگر متابولیت ها تبدیل می کنند [۳۰] که البته این واکنش ها رابطه مستقیمی با دمای نگه

1. Analysis of variance  
2. Least Square Means  
3. Statistical Package for the Social Sciences

داده می شود. بنابراین، مکانیسم اصلی عمل ضد اکسیدانی پلی فنول ها شامل جاروب کردن رادیکال های آزاد و خصوصیات شلاته کنندگی فلز است [۳۸]. مطابق با نتایج حاضر، سیتا و همکاران (۲۰۱۷) افزایش فعالیت ضد اکسیدانی ماست میوه ای با طعم توت<sup>۶</sup> را گزارش کردند [۳۷]؛ جونگو همکاران (۲۰۱۶) نیز افزایش فعالیت ضد اکسیدانی دوغ های تهیه شده از شیر بز را با به کار گیری عصاره جینسینگ قرمز تأیید نمودند [۳۹]. رشیدی نژاد و همکاران (۲۰۱۵) نیز گزارش کردند که با افزایش غلظت کاتچین در پنیر سخت کم چرب، میزان پلی فنل کل افزایش یافت [۴۰].



**Fig 2** Changes in the antioxidant activity EC50 (mg/ml) of the probiotic dough samples containing Ginkgo and shallot extracts during storage at 4°C  
G=Percentage of Ginkgo extract  
T0: G=0; T1: G=1; T2: G=2; T3: G=3; T4: G=4

### ۳-۳-قابلیت زنده مانی باکتری های پروبیوتیک

مدت زمان نگهداری سبب کاهش زنده مانیاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5 (شکل ۳-الف) و بیفیدوباکتریوم لاکتیس-Bb (شکل ۳-ب) می شود ( $p < 0.05$ ) که علت این امر، بالا رفتن اسیدیته و کاهش مقاومت بیفیدوباکتریوم لاکتیس در برابر تغییرات pH می باشد؛ اما در این خصوص، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5 در برابر این تنش اسیدی مقاوم تر می باشد.

### ۳-۲-فعالیت ضد اکسیدانی

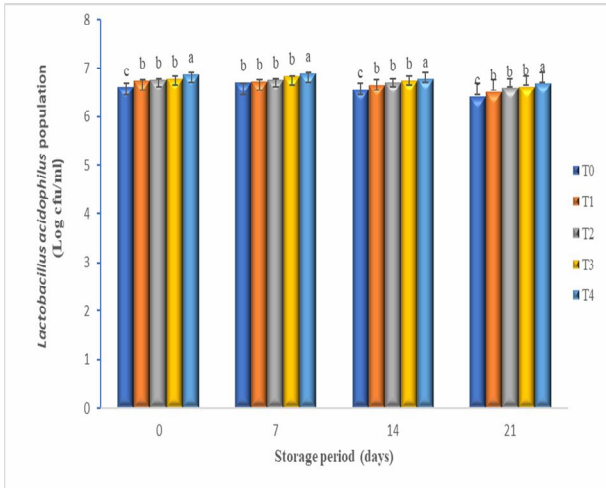
مدت زمان نگهداری تأثیر معناداری بر فعالیت ضد اکسیدانی نمونه های دوغ پروبیوتیک داشت ( $p < 0.05$ ). در ۷ روز اول فعالیت ضد اکسیدانی افزایش و سپس کاهش یافت (شکل ۲). در ابتدا، خواص مهار کردن رادیکال ها توسط پلی فنول های موجود در عصاره جینکو بالا می باشد اما به مرور زمان مهار رادیکال های آزاد توسط پلی فنول ها کاهش می یابد که به دلیل واکنش پلی فنول ها نظیر کامپرفول<sup>۱</sup>، جینگتین<sup>۲</sup>، کوئرستین<sup>۳</sup> و بیلوبتین<sup>۴</sup> با رادیکال های آزاد است؛ از آن جا که عصاره به صورت ریز پوشانی شده و محافظت شده به محلول اضافه نشده است لذا کاهش فعالیت ضد اکسیدانی در طول زمان مشاهده گردید [۵]. به-طور کلی با افزایش مدت زمان نگهداری، کاهش pH به همراه سایر عوامل محیطی و واکنش های ناخواسته ترکیبات پلی فنولی با سایر مواد سبب کاهش مقدار کل این ترکیبات می شود [۳۶]. سیتا و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که بعد از گذاشتن زمان ۵-۸ هفته، فعالیت ضد اکسیدانی ماست میوه ای با طعم توت<sup>۶</sup> کاهش پیدا کرد اما بعد از این مدت تا ۹ هفته، افزایش در فعالیت ضد اکسیدانی مشاهده گردید [۳۷].

افزایش غلظت عصاره جینکو تأثیر معناداری بر افزایش فعالیت ضد اکسیدانی نمونه های دوغ پروبیوتیک داشت ( $p < 0.05$ ). بیشترین فعالیت ضد اکسیدانی مربوط به نمونه حاوی ۴٪ عصاره در هفت روز نگهداری می باشد (شکل ۲) که به دلیل افزایش مقدار کل پلی فنول ها با افزایش میزان عصاره جینکو می باشد (داده های گزارش نشده)؛ بدیهی است که هرچه غلظت عصاره افزایش یابد میزان ترکیباتی نظیر کاتچین، فلاونول، گلیکوزیدهای فلاونولی نیز بالاتر خواهد رفت و این ترکیبات فنلی، خواص ضد اکسیدانی دارند که، در نهایت، سبب بالا رفتن مقدار کل پلی فنول های نمونه می شوند [۵]. پلی فنل ها از ترکیبات بسیار مهم در گیاهان هستند چون توانایی جاروب کردن رادیکال های آزاد را دارند و این توانایی به وجود گروه هیدروکسیل در آن ها نسبت

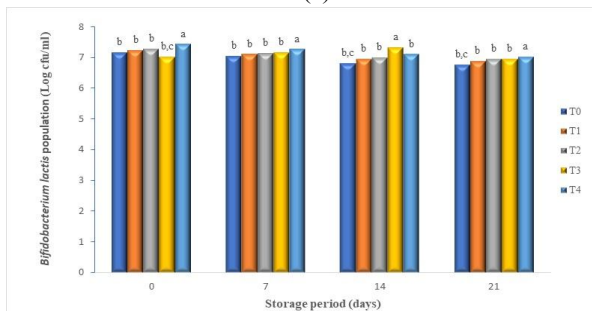
1. Kaempferol
2. Ginkgetin
3. Quercetin
4. Bilobetin
5. Berry

6. berry

نمودند [۴۸]. همچنین، لیم و همکاران (۲۰۱۷)، افزایش خواص پروبیوتیکی نمونه های ماست پروبیوتیک غنی شده با عصاره چای سبز را تأیید نمودند [۴۹].



(a)



(b)

**Fig 3** Changes in the survival rate of Lactobacillus acidophilus (cfu/ml) (a) and Bifidobacterium lactis (cfu/ml) (b) of the probiotic doogh samples containing Gingko and shallot extracts during storage at 4 °C  
G=Percentage of Gingko extract  
T0: G=0; T1: G=1; T2: G=2; T3: G=3; T4: G=4

### ۴-۳- خواص حسی

#### ۴-۱- قوام

نگهداری در طی ۲۱ روز (شکل ۴-الف)، تأثیر معناداری بر روی قوام نمونه های دوغ پروبیوتیک نداشت ( $p > 0.05$ ). با افزودن غلظت بیشتر عصاره جینکو، قوام محصول افزایش پیدا می کند ( $p < 0.05$ ) که با توجه به افزایش مقدار ماده خشک کل نمونه ها

علت کاهش جمعیت باکتریایی مربوط به تأثیر اسید حاصل بر دیواره باکتری ها و هضم آن می باشد که در نتیجه، مقاومت باکتری ها کاهش می یابد [۴۱] و همچنین، در ارتباط با ترشح مواد قلیایی توسط باکتری ها جهت خنثی شدن و تطبیق خود با محیط اسیدی بیرون می باشد اما در نهایت، با ترشح بیش از حد این مواد و بالا رفتن pH داخلی، شرایط محیطی برای ادامه رشد باکتری ها نامساعد می شود و مرگ سلولی رخ می دهد [۴۲ و ۴۳]. شاه و همکاران (۱۹۹۵) و ایلوپاپالایم و همکاران (۲۰۱۴) نیز کاهش جمعیت باکتری های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم را با افزایش زمان نگهداری در سرما و کاهش pH به ترتیب در ماست پروبیوتیک و ماست های پروبیوتیک حاوی عصاره های ترکیبی هل، دارچین و جوز هندی گزارش کردند [۴۴، ۴۵].

غلظت عصاره جینکو بر قابلیت زنده ماندن لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5 و بیفیدوباکتریوم لاکتیس Bb-12 تأثیر معناداری داشت ( $p < 0.05$ )؛ بیشترین قابلیت زنده ماندن مربوط به غلظت عصاره ۴٪ و روز اول نگهداری می باشد که به دلیل استفاده این باکتری ها از گلیکوزیدهای فلاونوئیدی به عنوان ترکیبات پری بیوتیک می باشد [۴۶]؛ این ترکیبات یکی از مواد عمده در عصاره برگ جینکو می باشند که حدود ۲۶٪ کل ترکیبات برگ گیاه را تشکیل می دهند. باکتری های پروبیوتیک با متابولیسم این گلیکوزیدها، رشد خود را افزایش می دهند؛ همچنین افزایش زنده ماندن را می توان به افزایش سطح پلی فنول ها نسبت داد که به طور مستقیم، جمعیت میکروبی باکتری های پروبیوتیک را افزایش می دهند. طبق گزارش حدادین (۲۰۱۰)، افزودن عصاره برگ زیتون غنی از مواد پلی فنولی نظیر اولئوروپین به دوغ سبب مهار شدن گونه های فعال اکسیژن می شود، که در نهایت، از پراکسیداسیون فسفولیپیدهای چند غیر اشباعی غشاء سلولی باکتری ها و به دنبال آن نشت مواد به بیرون سلول و مرگ آن ها جلوگیری می کند [۴۷]. ساه و همکاران (۲۰۱۶) افزایش رشد باکتری های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس را در نمونه های ماست حاوی پودر پوست و ضایعات آناناس با فیبر بالا را نتیجه گیری

(۲۰۱۵)، نوشیدنی شیری حاوی ۲٪ عصاره جنسینگ قرمز را تولید کردند و ترکیباتی نظیر الیگوساکارید و سیکلودکسترین را برای پوشاندن تلخی محصول نهایی، کاهش پس طعمی و ایجاد طعم شیرینی مطلوب پیشنهاد دادند [۵۳].

### ۳-۴-۴-رنگ

در اثر گذشت زمان (شکل ۴-ج)، امتیاز رنگ نمونه های دوغ کاهش می یابد ( $p < 0/05$ ) که احتمالاً علاوه بر وجود رنگدانه ی طبیعی در عصاره، به دلیل وقوع واکنش قهوه ای شدن غیر آنزیمی نیز می باشد [۵۴]. اردلانیان و فدایی (۲۰۱۸) نیز گزارش کردند که طی نگهداری، در اثر واکنش پروتئین های شیر با پلی فنول های عصاره و همچنین واکنش های پلی فنول ها، شاخص روشنایی در نمونه های دوغ حاوی عصاره جنسینگ کاهش یافت؛ همچنین عامل دیگر که در تغییر روشنایی دخالت داشت را به کاهش مقدار pH نسبت دادند [۵۵]. جونگ و همکاران (۲۰۱۵)، عامل اصلی افزایش کدورت شیر خام حاوی مقادیر بیشتر عصاره جنسینگ قرمز با افزایش مدت زمان نگهداری را افزودن  $\beta$ -کاروتن به ترکیب شیر دانستند [۵۳].

افزایش غلظت عصاره جینکو سبب کاهش روشنایی و امتیاز رنگ و افزایش کدورت در نمونه ها می شود ( $p < 0/05$ )؛ که به دلیل رنگ طبیعی قهوه ای عصاره جینکومی باشد. بهترین نمونه از لحاظ رنگ و نزدیک بودن به نمونه شاهد، نمونه حاوی ۱g/L عصاره جینکو (نمونه T1) می باشد. مطابق با نتایج حاضر، دوگان و همکاران (۲۰۱۸) کاهش روشنایی را در نمونه های شیر حاوی غلظت های مختلف عصاره گیاه *Rumex crispus L.* (کالموک) مشاهده کردند [۵۶]. شکل ۴ الف، ب و ج تغییرات قوام، بو و طعم و رنگ نمونه های دوغ پروبیوتیک حاوی عصاره جینکو و موسیر طی نگهداری در  $4^{\circ}\text{C}$  را نشان می دهد.

(داده های گزارش نشده) قابل توجه می باشد. یائو و همکاران (۲۰۱۷) نیز افزایش قوام ماست را با افزودن عصاره قاصدک گزارش کردند [۵۰]. مغایر با پژوهش حاضر، ال سعید و همکاران (۲۰۱۴) کاهش ویسکوزیته ماست همزده را با افزایش غلظت عصاره پوست انار تأیید کردند؛ که می توان نتیجه گرفت پروتئین های موجود در دوغ توانایی جذب آب در خود را دارند و خواص عملکردی خود را در اثر واکنش با عصاره جینکو از دست نداده اند [۵۱].

### ۳-۴-۲-عطر و بو

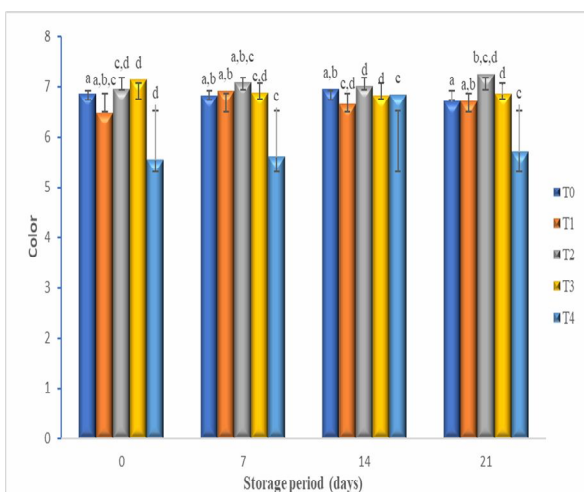
نگهداری در طی ۲۱ روز، تأثیر معناداری بر روی عطر و بو نمونه های دوغ پروبیوتیک حاوی عصاره موسیر داشت ( $p < 0/05$ ) اثر روز نگهداری سبب کاهش pH می گردد بوی محصول تغییر می کند که اثر منفی بر پذیرش محصول دارد. اثر غلظت عصاره جینکو بر روی عطر و بو نمونه های دوغ معنی دار می باشد ( $p < 0/05$ ). به طور کلی، از نظر خاصیت حسی عطر و بو، بهترین نمونه ها مربوط به غلظت ۲٪ عصاره جینکو بود.

### ۳-۴-۳-طعم و مزه

نگهداری در طی ۲۱ روز، تأثیر معناداری بر روی طعم و مزه نمونه های دوغ پروبیوتیک حاوی عصاره موسیر داشت ( $p < 0/05$ ) اثر روز نگهداری سبب کاهش pH می گردد و طعم نمونه کمی ترش تر می شود که اثر منفی بر پذیرش محصول دارد. اثر غلظت عصاره جینکو بر روی طعم و مزه نمونه های دوغ معنی دار می باشد ( $p < 0/05$ ). به طور کلی، از نظر خاصیت عظم و مزه، بهترین نمونه مربوط به غلظت ۲٪ عصاره جینکو بود اما در غلظت ۴٪ مطلوبیت از نظر طعم و بو به شدت کاهش یافت که علت آن ظاهر شدن طعم تلخ به دلیل مقدار بالای ترکیبات پلی فنولی می باشد [۵۲]. مطابق با نتایج حاضر، جونگ و همکاران

1. *Taraxacum officinale*





(d)

**Fig 4** Changes in consistency (a), odor (b), taste (c) and color (d) (sensory test) of the probiotic dough samples containing Gingko and shallot extracts during storage at 4 °C

G=Percentage of Gingko extract

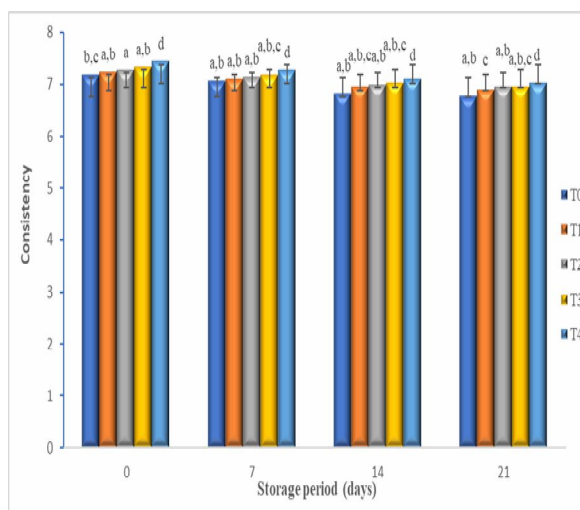
T0: G=0; T1: G=1; T2: G=2; T3: G=3; T4: G=4

#### ۴- نتیجه گیری

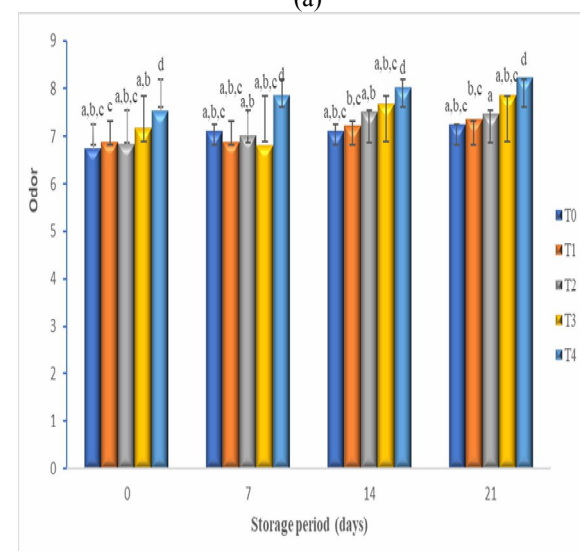
در این پژوهش، برای تولید دوغ پروبیوتیک حاوی عصاره موسیر از گیاه جینکو (که دارای خواص تغذیه‌ای بسیار ارزشمند و تأیید شده‌ای است) استفاده شد و برخی ویژگی‌های دوغ تولیدی طی نگهداری در دمای ۴°C مورد ارزیابی قرار گرفت. با افزایش درصد عصاره جینکو در نمونه های دوغ تولیدی، اسیدیته و فعالیت ضداکسیدانی افزایش یافت؛ و امتیاز ارزیابی حسی نمونه های دوغ کاهش پیدا کرد. افزودن عصاره جینکو سبب افزایش قابلیت زنده ماننی باکتری های پروبیوتیک در دوغ پروبیوتیک حاوی عصاره موسیر شد. به طور کلی، نمونه دوغ پروبیوتیک حاوی ۲g/L عصاره جینکو، بیشترین امتیاز ارزیابی حسی را به خود اختصاص داد و به عنوان تیمار برتر انتخاب شد.

#### ۵- تشکر و قدردانی

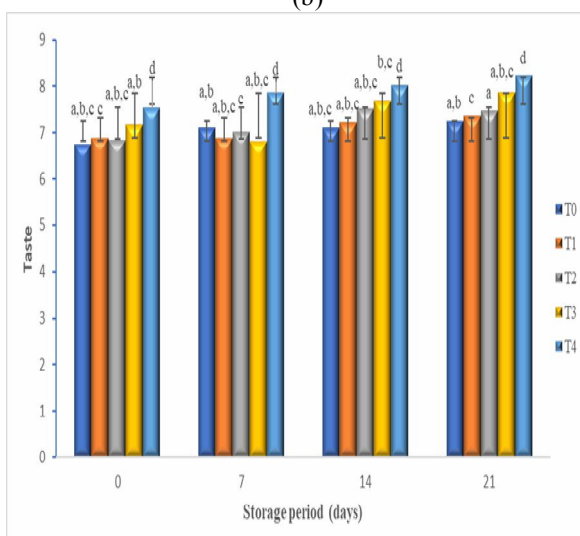
نگارندگان مقاله مراتب تشکر و سپاس خود را از شرکت شیر پاستوریزه پگاه تهران جهت در اختیار قرار دادن امکانات لازم برای انجام این پژوهش اعلام می دارند.



(a)



(b)



(c)



## ۶- منابع

- [11] L.-E. Chen, F. Wu, A. Zhao, H. Ge, H. Zhan, Protection Efficacy of the Extract of Ginkgo biloba against the Learning and Memory Damage of Rats under Repeated High Sustained, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2016 (2016).
- [12] T.K. Mohanta, Y. Tamboli, P. Zubaidha, Phytochemical and medicinal importance of Ginkgo biloba L, Natural product research, 28 (2014) 746-752.
- [13] C. Rojas, J. Rojas-Castaneda, E. Ruiz-Sanchez, P. Montes, P. Rojas, Antioxidant properties of a Ginkgo biloba leaf extract (EGb 761) in animal models of Alzheimer's and Parkinson's diseases, Current Topics in Nutraceuticals Research, 13 (2015) 105.
- [14] K.M. Nash, Z.A. Shah, Current perspectives on the beneficial role of Ginkgo biloba in neurological and cerebrovascular disorders, Integrative medicine insights, 10 (2015) 1.
- [15] X. Liu, W. Hao, Y. Qin, Y. Decker, X. Wang, M. Burkart, K. Schötz, M.D. Menger, K. Fassbender, Y. Liu, Long-term treatment with Ginkgo biloba extract EGb 761 improves symptoms and pathology in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease, Brain, behavior, and immunity, 46 (2015) 121-131.
- [16] J.S. Lou, C. Bi, G. Chan, T. Dong, K. Tsim, Ginkgetin, a biflavonoid derived from leaves of Ginkgo biloba, induces autophagic cell death in non-small cell lung cancer via p62, AACR, 2017.
- [17] S. Agarwal, H.R. Lieberman, V.L. Fulgoni, Effects of Ginkgo biloba Intake on Markers of Liver Function in a Large Representative Sample of the US Population, The FASEB Journal, 31 (2017) 647.647-647.647.
- [18] G. Álvarez, L. Montero, L. Llorens, M. Castro Puyana, A. Cifuentes, Recent advances in the application of capillary electromigration methods for food analysis and Foodomics, Electrophoresis, 39 (2018) 136-159.
- [19] R. Ranadheera, S. Baines, M. Adams, Importance of food in probiotic efficacy, Food Research International, 43 (2010) 1-7.
- [20] K.Y. Yoon, E.E. Woodams, Y.D. Hang, Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria, Bioresource technology, 97 (2006) 1427-1430.
- [1] S.M.B. Hashemi, F. Shahidi, S.A. Mortazavi, E. Milani, Z. Eshaghi, Effect of Lactobacillus plantarum LS5 on oxidative stability and lipid modifications of Doogh, International Journal of Dairy Technology, 69 (2016) 550-558.
- [2] A. Tamime, M. Saarela, A.K. Sondergaard, V. Mistry, N. Shah, Production and maintenance of viability of probiotic microorganisms in dairy products, Probiotic dairy products, (2005) 39-72.
- [3] A. Karunanidhi, E. Ghaznavi-Rad, J. Jeevajothi Nathan, Y. Abba, A.v. Belkum, V. Neela, Allium stipitatum Extract Exhibits In Vivo Antibacterial Activity against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus and Accelerates Burn Wound Healing in a Full-Thickness Murine Burn Model, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2017 (2017).
- [4] E. Pereira, L. Barros, I.C. Ferreira, Chemical characterization of Ginkgo biloba L. and antioxidant properties of its extracts and dietary supplements, Industrial crops and products, 51 (2013) 244-248.
- [5] T.A. van Beek, Chemical analysis of Ginkgo biloba leaves and extracts, Journal of Chromatography a, 967 (2002) 21-55.
- [6] O. Sticher, Quality of Ginkgo Preparations 1, Planta medica, 59 (1993) 2-11.
- [7] C. Ude, M. Schubert-Zsilavec, M. Wurglics, Ginkgo biloba extracts: a review of the pharmacokinetics of the active ingredients, Clinical pharmacokinetics, 52 (2013) 727-749.
- [8] K. Saki, H. Hassanzad-Azar, N. Naghdi, M. Bahmani, Ginkgo biloba; an effective medicinal plant on neurological disorders, Journal of Preventive Epidemiology, 1 (2016).
- [9] D.O.L. Teik, X.S. Lee, C.J. Lim, C.M. Low, M. Muslima, L. Aquili, Ginseng and ginkgo biloba effects on cognition as modulated by cardiovascular reactivity: a randomised trial, PloS one, 11 (2016) e0150447.
- [10] A.F. Ismail, S.M. El-Sonbaty, Fermentation enhances Ginkgo biloba protective role on gamma-irradiation induced neuroinflammatory gene expression and stress hormones in rat brain, Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 158 (2016) 154-163.

- [32] D. Sun-Waterhouse, J. Zhou, S.S. Wadhwa, Effects of adding apple polyphenols before and after fermentation on the properties of drinking yoghurt, *Food and Bioprocess Technology*, 5 (2012) 2674-2686.
- [33] J. Sharifi-Rad, D. Mnayer, G. Tabanelli, Z. Stojanović-Radić, M. Sharifi-Rad, Z. Yousaf, L. Vallone, W. Setzer, M. Iriti, Plants of the genus *Allium* as antibacterial agents: From tradition to pharmacy, *Cellular and Molecular Biology*, 62 (2016) 57-68.
- [34] J. Jung, H.J. Jang, S.J. Eom, N.S. Choi, N.-K. Lee, H.-D. Paik, Fermentation of red ginseng extract by the probiotic *Lactobacillus plantarum* KCCM 11613P: ginsenoside conversion and antioxidant effects, *Journal of Ginseng Research*, (2017).
- [35] H. Peker, S. Arslan, Effect of Olive Leaf Extract on the Quality of Low Fat Apricot Yogurt, *Journal of Food Processing and Preservation*, 41 (2017) e13107.
- [36] J. Ronowicz, B. Kupcewicz, E. Budzisz, Chemometric analysis of antioxidant properties of herbal products containing *Ginkgo biloba* extract, *Open Life Sciences*, 8 (2013) 374-385.
- [37] A. Citta, A. Folda, V. Scalcon, G. Scutari, A. Bindoli, M. Bellamio, E. Feller, M.P. Rigobello, Oxidative changes in lipids, proteins, and antioxidants in yogurt during the shelf life, *Food science & nutrition*, 5 (2017) 1079-1087.
- [38] V.S. Neergheen, T. Bahorun, L.-S. Jen, O.I. Aruoma, Bioefficacy of Mauritian endemic medicinal plants: Assessment of their phenolic contents and antioxidant potential, *Pharmaceutical biology*, 45 (2007) 9-17.
- [39] J. Jung, H.-D. Paik, H.J. Yoon, H.J. Jang, R.K.C. Jeewanthi, H.-S. Jee, X. Li, N.-K. Lee, S.-K. Lee, Physicochemical characteristics and antioxidant capacity in yogurt fortified with red ginseng extract, *Korean journal for food science of animal resources*, 36 (2016) 412.
- [40] A. Rashidinejad, E. Birch, D. Sun-Waterhouse, D. Everett, Total phenolic content and antioxidant properties of hard low-fat cheese fortified with catechin as affected by *in vitro* gastrointestinal digestion, *LWT-Food Science and Technology*, 62 (2015) 393-399.
- [41] R. Mohammadi, S. Sohrabvandi, A. Mohammad Mortazavian, The starter culture characteristics of probiotic microorganisms in
- [21] T.-y. Xiong, H.-j. Sun, M.-y. Huang, J. Wang, H. Lei, L. Yang, X.-l. Wang, F. Yang, Technology of Prebiotic *Ginkgo* Breakfast Powder [J], *Academic Periodical of Farm Products Processing*, 2 (2013) 016.
- [22] M. Zhang, Q. FU, Study on the processing technology of *Ginkgo* Leaf powder cookies, (2015).
- [23] S. Howerton, C.A. Rimmer, L.C. Sander, Comparison of Extraction Methods for the Analysis of *Ginkgo biloba* Leaves and *Ginkgo*-Containing Tablets, *Journal of Chromatography A*, (2016).
- [24] Y.-J. Kim, A. Bostami, M. Islam, H.S. Mun, S. Ko, C.-J. Yang, Effect of fermented *ginkgo biloba* and *camelia sinensis*-based probiotics on growth performance, immunity and caecal microbiology in broilers, *Int J Poult Sci*, 15 (2016) 62-71.
- [25] B. Jiang, H. Zhang, C. Liu, Y. Wang, S. Fan, Extraction of water-soluble polysaccharide and the antioxidant activity from *Ginkgo biloba* leaves, *Medicinal chemistry research*, 19 (2010) 262-270.
- [26] Iranian National Standards Organization, 1986, total acidity and pH determination in milk and its products, no. 2852
- [27] Iranian National Standards Organization, 1995, probiotic doogh: test methods and attributes, no. 11324.
- [28] Iranian National Standards Organization, 1995, milk products: colony counting of *Bifidobacterium* at the temperature of 37 C°, no. 13772.
- [29] D. Cox, L. Perry, P. Moore, L. Vallis, D. Mela, Sensory and hedonic associations with macronutrient and energy intakes of lean and obese consumers, *International Journal of Obesity*, 23 (1999) 403.
- [30] W. Ding, C. Shi, M. Chen, J. Zhou, R. Long, X. Guo, Screening for lactic acid bacteria in traditional fermented Tibetan yak milk and evaluating their probiotic and cholesterol-lowering potentials in rats fed a high-cholesterol diet, *Journal of Functional Foods*, 32 (2017) 324-332.
- [31] T. Berhe, R. Ipsen, E. Seifu, M.Y. Kurtu, M. Eshetu, E.B. Hansen, Comparison of the acidification activities of commercial starter cultures in camel and bovine milk, *LWT-Food Science and Technology*, 89 (2018) 123-127.

- physico-chemical, and functional properties of yogurt, 53 (2017) 103-117.
- [50] S. Yao, S. Xie, L. Jiang, L. Li, Effect of dandelion extract, sucrose and starter culture on the viscosity, water-holding capacity and pH of plain yogurt, *Mljekarstvo/Dairy*, 67 (2017).
- [51] M.M. El-Said, H. Haggag, H.M.F. El-Din, A. Gad, A.M. Farahat, Antioxidant activities and physical properties of stirred yoghurt fortified with pomegranate peel extracts, *Annals of Agricultural Sciences*, 59 (2014) 207-212.
- [52] J. Kobus-Cisowska, E. Flaczyk, M. Jeszka, Antioxidant activities of Ginkgo biloba extracts: application in freeze stored meat dumplings, *ACTA Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 9 (2010) 161-169.
- [53] J. Jung, H. Yoon, H. Yu, N.-K. Lee, H.-S. Jee, H.-D. Paik, Physicochemical and antioxidant properties of milk supplemented with red ginseng extract, *Journal of dairy science*, 98 (2015) 95-99.
- [54] P.D. Sawale, R. Singh, S. Arora, Stability and quality of herb (*Pueraria Tuberosa*)-milk model system, *Journal of food science and technology*, 52 (2015) 1089-1095.
- [55] F. Ardalanian, V. Fadaei, Production of Probiotic Doogh Enriched with Red Ginseng Extract, *Journal of Agricultural Science and Technology*, 20 (2018) 277-287.
- [56] M. Dogan, D. Aslan, A. Ozgur, Bioactive and sensorial characteristics of the milk based herbal (*Rumex crispus* L.) tea: multi-criteria decision making approach, *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12 (2018) 535-544.
- fermented milks, *Engineering in Life Sciences*, 12 (2012) 399-409.
- [42] V. Jayamanne, M. Adams, Determination of survival, identity and stress resistance of probiotic bifidobacteria in bio-yoghurts, *Letters in applied microbiology*, 42 (2006) 189-194.
- [43] N. Shah, Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods, *Journal of dairy science*, 83 (2000) 894-907.
- [44] V.V. Illupapalayam, S.C. Smith, S. Gamlath, Consumer acceptability and antioxidant potential of probiotic-yogurt with spices, *LWT-Food Science and Technology*, 55 (2014) 255-262.
- [45] N.P. Shah, W.E. Lankaputhra, M.L. Britz, W.S. Kyle, Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in commercial yoghurt during refrigerated storage, *International Dairy Journal*, 5 (1995) 515-521.
- [46] B.-H. Lee, H.-J. You, M.-S. Park, B. Kwon, G.-E. Ji, Transformation of the glycosides from food materials by probiotics and food microorganisms, *Journal of microbiology and biotechnology*, 16 (2006) 497-504.
- [47] M. Haddadin, Effect of olive leaf extracts on the growth and metabolism of two probiotic bacteria of intestinal origin, *Pakistan Journal of Nutrition*, 9 (2010) 787-793.
- [48] B. Sah, T. Vasiljevic, S. McKechnie, O. Donkor, Effect of pineapple waste powder on probiotic growth, antioxidant and antimutagenic activities of yogurt, *Journal of food science and technology*, 53 (2016) 1698-1708.
- [49] E.-S. Lim, Effect of green tea supplementation on probiotic potential,

## Determination of the survival rate of probiotic bacteria in doogh enriched with shallot and ginkgo extract

Eghbaltalab, K. <sup>1</sup>, Fadaei-Noghani, V. <sup>2\*</sup>, Joudaki, H. <sup>3</sup>

1. MSc Graduated from Department of Food Science and Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Associate professor, Department of Food Science and Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3. PhD of Food Science and Tegnology, PeghahDairy Company, Tehran, Iran.

(Received: 2018/12/23 Accepted:2019/05/12)

Doogh is widely used as a healthy dairy product in Iran which is a suitable alternative to soft drinks in the society. *Ginkgo biloba* is an ancient plant species on earth which is also known as the living fossil. The leaves of these tree have several nutritional and therapeutic properties and therefore the *Ginkgo*-enriched doogh has a high nutritional value. In this study, the impact of the addition of *Ginkgo* extract at the levels of 0, 1, 2, 3 and 4 percent on some attributes plus the survival rate of probiotic bacteria containing 0.2 g/l shallot extract during 21 days of storage at the temperature of 4°C was explored. According to the results, by enhancing the concentration of *Ginkgo* extract, acidity, population of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium lactis* Bb-12 plus the antioxidant activity and total phenol level were significantly enhanced ( $p < 0.05$ ). Also, with the increase in the level of *Ginkgo* extract, the sensorial score of the samples were reduced considerably ( $p < 0.05$ ). Storage of the samples during 21 days resulted in the reduction of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium lactis* Bb-12 population as well as antioxidant activity, total phenol content and sensory acceptability considering odor, taste and color ( $p < 0.05$ ). Overall, the sample containing 2 g/l *Ginkgo* extract was selected as the best sample and can be prepared as a healthy product in the dairy industry.

**Key words:** Doogh, *Ginkgo* extract, Antioxidant activity, Survival of probiotic bacteria

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: vn.fadaei@gmail.com