تعیین قابلیت زنده مانی باکتری های پروبیوتیک دردوغ حاوی موسیر و غنی سازی شده با عصاره جینکو

کوروش اقبال طلب[۱]، وجیهه فدائی نوغانی[۲*]، حسن جودکی[۳]

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 به‌خصوص در داخل کشور محسوب می‌شود که جایگزین خوبی برای نوشابه‌ها در سبد غذایی جامعه است. گیاه جینکو، *Ginkgo biloba*، دارای خواص درمانی و تغذیه‌ای 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 ٤g/L بر قابلیت زنده مانی باکتری های پروبیوتیک دوغ حاوی۰/۲g/Lعصاره موسیر طی ۲۱ روز نگهداری در دمای ٤ °C مورد بررسی قرار گرفت. مطابق با این پژوهش، با افزایش درصد عصاره جینکو، اسیدیته، قابلیت زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* LA-5 و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* Bb-12 وفعالیت 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 معنی‌دار 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 حاوی۲ 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 ضداکسیدانی، زنده مانی باکتری های پروبیوتیک

*مسئول مکاتبات: vn.fadaei@gmail.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

۱-مقدمه

دوغ یکی از فرآورده های شیری پرمصرف و سلامتی‌بخش به‌خصوص 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 ودرسلامت 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 گونه‌های گیاهی درختی بر روی زمین می‌باشد که از آن به عنوان فسیل زنده نیز یاد می‌شود. از عمده ترکیبات این گیاه می توان به فلاوانون[۱]، فلاون گلیکوزیدها[۲]، مشتقات لاکتون (گینک‌گولید)[۳]، بیلوبالید[۴]، اسید آسکوربیک، کاتچین[۵]، سوپراکسیدهای بر پایه آهن، اسید ٦-هیدروکسی کینورنیک[٦]، اسید پروتوکاتچونیک[۷]، اسید شیکیمیک[۸]، استرول‌ها و اسید وانیلیک[۹] اشاره داشت[٤]. گیاه جینکو دارای طیف وسیعی از ترکیبات شیمیایی گیاهی از قبیل لیپیدها، استرول-ها، بنزوئیدها، کاروتنوئیدها، فنیل پروپانوئیدها، کربوهیدرات‌ها، فلاونوئیدها و ترپنوئیدها می‌باشد. اجزاء اصلی گیاه جینکو، فلاونوئیدها هستند که مونو، دی و تری گلیسریدها و استرهای کوماریک اسید، فلاونول های کامپفرول و کوئرستین غالب می باشند [۵]؛ مقادیر کمی هم گلیکوزیدهای ایزورامنتین، میریستین و ۳′-متیل میریستین وجود دارند. فرم‌های غیر گلیکوزیدی بی فلاونوئیدها۱۰، کاتچین‌ها و پروآنتوسیانین‌ها هم در عصاره این گیاه وجود دارند. از ترکیبات شاخص این گیاهمی توان به دی ترپن لاکتون‌های منحصر به فرد شامل جینگولیدها[۱۱] A، B، C، J وM و سزکوئی ترپن لاکتون بیلوبالید[۱۲] اشاره داشت [٦].

اثرات عصاره جینکو به دلیل اثرات هم افزایی بین ترکیبات مختلف آن از ترکیبات خالص شده ی آن بیش‌تر است [۷]. از اثرات مهم تأیید شده‌ی جینکو می‌توان به موارد زیر اشاره داشت: عصاره جینکو روند جریان خون را بهبود می‌بخشد و به درمان ناراحتی‌های گردش خون به‌ویژه 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 بیماری‌های قلبی و سکته مغزی مؤثر واقع می‌شود و با دارا بودن خواص ضد اکسیدانی قوی، از آسیب دیدگی سیستم عصبی مرکزی، قلب و عروق، و همچنین، از اثرات پیری جلوگیری می‌کند[۹]. عصاره این گیاه،کاهنده‌ی استرس و دلهره است[۱۰]؛افزایش حافظه[۱۱] وتحریک گردش خون عمومی به خصوص در افراد مبتلا به آسم را باعث می‌شود[۱۲]، نقش محافظت از اعصاب[۱۳، ١٤]؛ وتأثیر درمانی مثبت بر حالات جنون، حالاتی شبیه به آلزایمر دارد[۱۵] و ضد تجمع پلاکت‌ها است.[١٦]نشان دادند که جینکجتین[۱۳]، یک بی‌فلاونوئید استخراج شده از برگ‌های گیاه جینکو، دارای اثرات ضد سرطانی می‌باشد؛ برگ‌های این گیاه به‌عنوان یک داروی گیاهی ایمن در سازمان دارویی چین و اروپا ثبت شده است.آگروال و همکاران (۲۰۱۷) تأیید کردند که عصاره جینکو تأثیری بر آنزیم‌های کبدی وسطح بیلی روبین افراد مصرف کننده ندارد[۱۷].

از منابع ترکیبات سلامتی‌بخشی که در غذاهای سلامتی بخش١٤به کار می‌روند می توان به دانه‌های سویا، برگ های چای سبز، عصاره‌های گیاهی، جلبک‌های دریایی، باکتری‌های پروبیوتیک، روغن‌های دریایی، دانه‌های غلات، تخم مرغ‌ها، میوه-ها و سبزیجات اشاره داشت [۱۸]. دریافت پروبیوتیک‌ها از راه مصرف محصولات غذایی در مقایسه با سایر شیوه‌های دریافت نظیر مصرف خوراکی از طریق مکمل و دارو از مقبولیت بیشتری نزد مردم برخوردار استدر ضمن، رشد و زنده مانی پروبیوتیک‌ها در طول انتقال در دستگاه گوارش تحت تأثیر ویژگی‌های

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

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

طول انتقال در دستگاه گوارش تحت تأثیر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی حامل‌های غذایی است[۱۹]. مهم ترین اثرات مفید پروبیوتیک‌ها مربوط به خاصیت ضد عفونت‌های دستگاه گوارش، کاهش کلسترول سرم، بهبود سیستم ایمنی بدن، ویژگی‌های ضد سرطانی، ضد جهش زایی و ضد اسهال، بهبود التهاب روده و توقف رشد باکتری هلیکوباکترپیلوری است [۲۰].

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

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 آغازگرلاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA۵ وبیفیدوباکتریوم 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.

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 (در۲۵°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 به‌دست آمده به دستگاه روتاری انتقال یافت تا بازیافت کامل الکل انجام پذیرد. درپایان عملیات، مقدار L۱عصاره بدون الکل حاصل گردید [۲۳].

۲-۳- روش تولید نمونه‌های 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 دمای۸۵°Cبه‌مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده شد؛ و سپس تا دمای°C ۴۲خنک گردید. پس از افزوده شدن کشت آغازگر به آن، گرمخانه گذاری تا رسیدن به pH= ۴/۸انجام پذیرفت؛ و سپس، محصول نهایی (ماست) سرد شد (۴°C). در مخزن فرمولاسیون، آب آشامیدنی (به میزانW/W ۵۰٪)، 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 های۱/۵لیتری 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)[1]در

1. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

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

قابلیت زنده مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5 با استفاده از محیط کشت MRS-bile آگار مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۳۲٤ بررسیگردید[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 (ازخیلیبد، 0،تاخیلیخوب، ۹)توسط ۸ نفر ارزیاب آموزش دیده ارزیابی شدند[۲۹].

لازم به ذکر است که کلیه آزمون ها در روزهای ۰، ۷، ١٤ و ۲۱ پس از تولید طی نگهداری در دمای ٤°C انجام پذیرفت.

۲-۵-روش آماری

طرح آماری به کار رفته در این پژوهش، طرح آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی (برای داده‌های 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)[1]و برای مقایسه میانگین داده ها از آزمونحداقل میانگین مربعات[2] استفاده شد و از طریق نرم افزار آماری SPSS[3]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<۰/۰۵، شکل ۱)؛ به این دلیل که با گذشت زمان، باکتری های لاکتیکی موجود در نمونه‌ها 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 داری دارند و هرچه دما بالاتر باشد سرعت افزایش اسیدیته نیزبیشتر خواهد بود [۳۱]. سان-واترهوسو 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 (۲۰۱٦)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<۰/۰۵) 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. جونگ و همکاران (۲۰۱۷) نیز افزایش اسیدیته را در اثر تخمیر عصاره جینسینگ توسط لاکتوباسیلوس پلانتاروم تایید کردند که در این فرآیند، جینسنوزیدهای[4]جینسینگ توسط لاکتوباسیلوس پلانتاروم تجزیه می شوند[۳٤]. مطابق با نتایج حاضر،ارسلان و پکر (۲۰۱۷) نیز افزایش اسیدیته را با افزودن عصاره برگ زیتون به ماست طعم دار کم چرب تأیید کردند[۳۵].

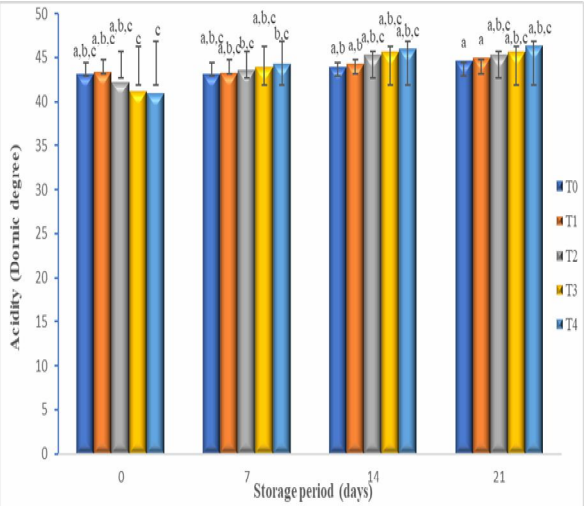


Fig 1 Changes in acidity (dornic degree) of the probiotic doogh samples containing Gingko and shallot extracts during storage at 4 °C

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

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

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

۳-۲-فعالیت ضداکسیدانی

مدت زمان نگهداری تأثیر معناداری بر فعالیت ضد اکسیدانی نمونه های دوغ پروبیوتیک داشت (p<۰/۰۵). در ۷ روز اول فعالیت ضداکسیدانی 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 کامپفرول[1]، جینکگتین[2]، کوئرستین[3] و بیلوبتین[4] 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-طورکلی 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 گذاشت زمان ۸-۵ هفته، فعالیت ضد اکسیدانی ماست میوه ای با طعم توت[5] 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<۰/۰۵). بیشترین فعالیت ضد اکسیدانی مربوط به نمونه حاوی ٤٪ 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 (داده‌های 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].پلی‌فنل 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 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[6] 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[٤٠].

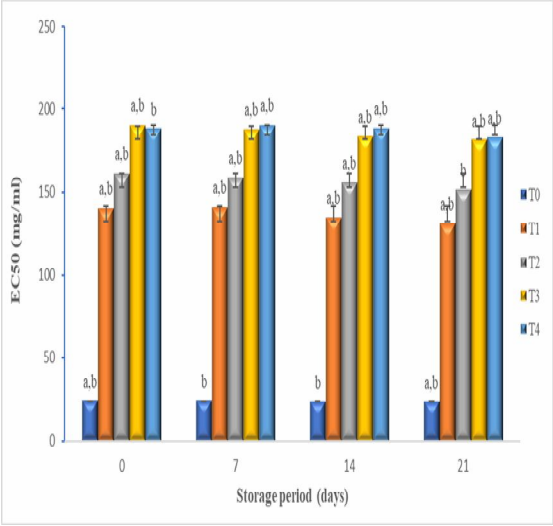


Fig 2 Changes in the antioxidant activity EC50 (mg/ml) of the probiotic doogh samples containing Gingko and shallot extracts during storage at 4°C
G=Percentage of Gingko extract
T0: G=0; T1: G=1; T2: G=2; T3: G=3; T4: G=4

۳-۳-قابلیت زنده مانی باکتری های پروبیوتیک

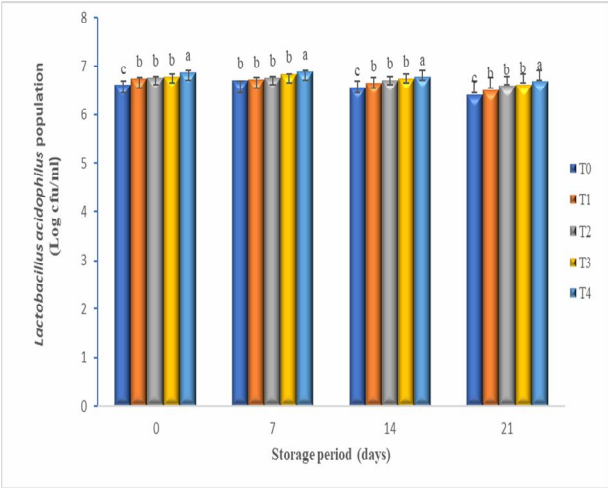
مدت زمان نگهداری سبب کاهش زنده مانیلاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5 (شکل ۳-الف) وبیفیدوباکتریوم لاکتیس Bb-12(شکل ۳-ب) می‌شود(p<۰/۰۵) که علت این امر، بالا رفتن اسیدیته و کاهش مقاومت بیفیدوباکتریوم لاکتیس در برابر تغییرات pH می باشد؛ اما در این خصوص، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5 در برابر این تنش اسیدی مقاوم تر می باشد.

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

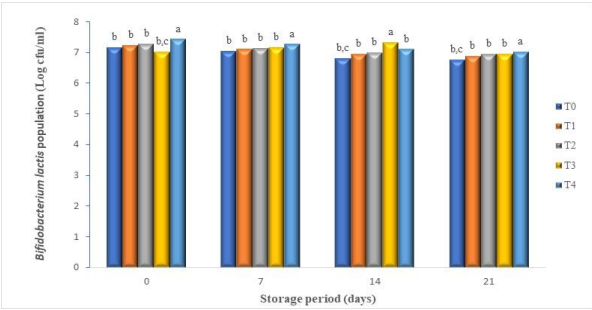
[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

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 [٤١] 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 pHداخلی، شرایط محیطی برای ادامه رشد باکتری ها نامساعد می شود و مرگ سلولی رخ می دهد [٤٢و ٤٣]. شاه و همکاران (١٩٩٥) وایلوپاپالایام و همکاران (٢٠١٤) 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[٤٤, ٤٥].

غلظت عصاره جینکو بر قابلیت زنده مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوسLA-5 و بیفیدوباکتریوم لاکتیس Bb-12 تأثیر معناداری داشت (p<٠/٠٥)؛ بیشترین قابلیت زنده‌مانیمربوط به غلظت عصاره ٤٪ و روز اول نگهداری می‌باشد که به دلیل استفاده این باکتری ها از گلیکوزیدهای فلاونوئیدی به عنوان ترکیبات پری‌بیوتیک می باشد [٤٦]؛ این ترکیبات یکی از مواد عمده در عصاره برگ جینکو می باشند که حدود ٢٦٪ کل ترکیبات برگ گیاه را تشکیل می دهند. باکتری های پروبیوتیک با متابولیسم این گلیکوزیدها، رشد خود را افزایش می دهند؛ همچنین افزایش زنده مانی 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 (٢٠١٠)، 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[٤٧]. ساه و همکاران (٢٠١٦) افزایش رشد باکتری های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس را در نمونه های ماست حاوی پودر پوست و ضایعات آناناس با فیبر بالا را نتیجه گیری نمودند[٤٨]. همچنین، لیم و همکاران (٢٠١٧)، افزایش خواص پروبیوتیکی نمونه های ماست پروبیوتیک غنی شده با عصاره چای سبز را تأیید نمودند[٤٩].



(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

٣-٤-خواص حسی

٣-٤-١-قوام

نگهداری در طی ٢١ روز (شکل ٤-الف)، تأثیر معناداری بر روی قوام نمونه های دوغ پروبیوتیک نداشت (p>٠/٠٥). با افزودن غلظت بیشتر عصاره جینکو، قوام محصول افزایش پیدا می کند (p <٠/٠٥) که با توجه به افزایش مقدار ماده خشک کل نمونه ها

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

(داده های گزارش نشده) قابل توجیه می باشد.یائو و همکاران (۲۰۱۷) نیز افزایش قوام ماست را با افزودن عصاره قاصدک[1]گزارش کردند [۵۰]. مغایر با پژوهش حاضر،ال سعید و همکاران (۲۰۱٤) کاهش ویسکوزیته ماست هم‌زده را با افزایش غلظت عصاره پوست انار تأیید کردند؛ که می توان نتیجه گرفتپروتئین 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].

۳-٤-۲-عطر و بو

نگهداری در طی ۲۱ روز، تأثیر معناداری بر روی عطر و بو نمونه های دوغ پروبیوتیک حاوی عصاره موسیر داشت (p<۰/۰۵) اثر روز نگهداری سبب کاهش pH می گردد بوی محصول تغییر می‌کند که اثر منفی بر پذیرش محصول دارد. اثر غلظت عصاره جینکو بر روی عطر و بو نمونه های دوغ معنی دار می باشد (p <۰/۰۵). به طور کلی، از نظر خاصیت حسی عطر و بو، بهترین نمونه ها مربوط به غلظت ۲٪ عصاره جینکو بود.

۳-٤-۳-طعم و مزه

نگهداری در طی ۲۱ روز، تأثیر معناداری بر روی طعم و مزه نمونه های دوغ پروبیوتیک حاوی عصاره موسیر داشت (<۰/۰۵ p) 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 <۰/۰۵). به طور کلی، از نظر خاصیت عطم و مزه، بهترین نمونه مربوط به غلظت ۲٪ عصاره جینکو بود اما در غلظت ٤٪ 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 (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].

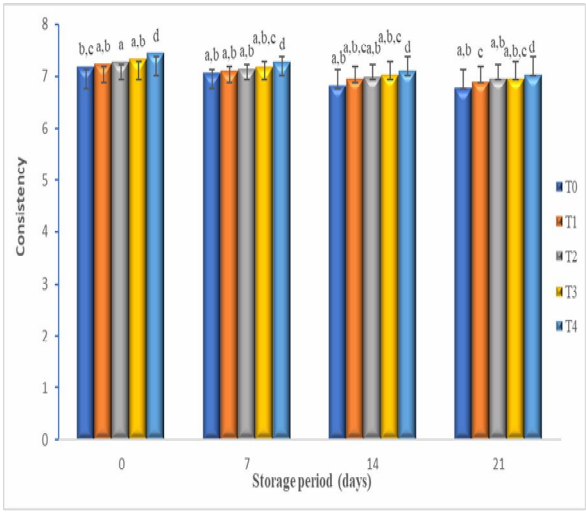
۳-٤-٤-رنگ

در اثر گذشت زمان (شکل ٤-ج)، امتیاز رنگ نمونه های دوغ کاهش می یابد (p <۰/۰۵) که احتمالاً علاوه بر وجود رنگدانه ی طبیعی در عصاره، به دلیل وقوع واکنش قهوه ای شدن غیر آنزیمی نیز می باشد[٥٤]. 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 جینسنگ 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 جینسینگ قرمز با افزایش مدت زمان نگهداری را افزودنβ- کاروتن به ترکیب شیر دانستند[۵۳].

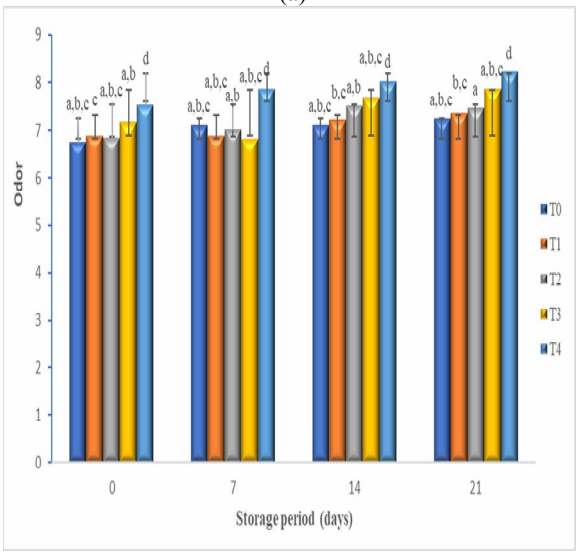
افزایش غلظت عصاره جینکو سبب کاهش روشنایی و امتیاز رنگ و افزایش کدورت در نمونه ها می شود (p <۰/۰۵)؛ که به دلیل رنگ طبیعی قهوه ای عصاره جینکومی باشد. بهترین نمونه از لحاظ رنگ و نزدیک بودن به نمونه شاهد، نمونه حاوی g/L۱عصاره جینکو (نمونهT1) می باشد. مطابق با نتایج حاضر، دوگان و همکاران (۲۰۱۸) کاهش روشنایی را در نمونه های شیر حاوی غلظت های مختلف عصاره گیاه .Rumexcrispus L (کالموک) مشاهده کردند[٥٦]. شکل ٤ الف، ب و ج تغییرات قوام، بو وطعم و رنگ نمونه های دوغ پروبیوتیک حاوی عصاره جینکو و موسیر طی نگهداری در ٤°Cرا نشان می دهد.

1. *Taraxacumofficinale*

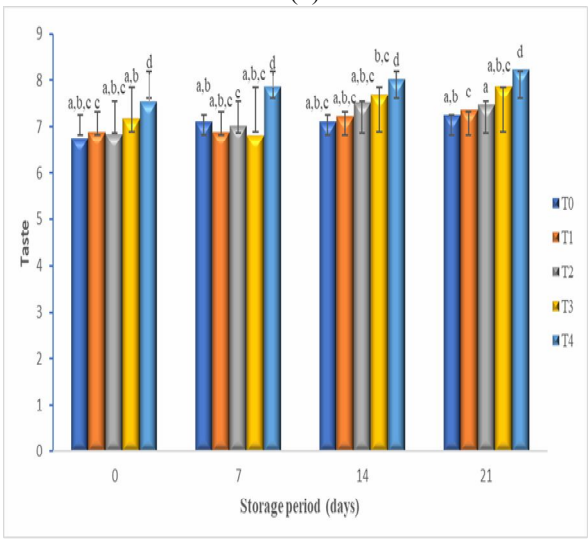
[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]



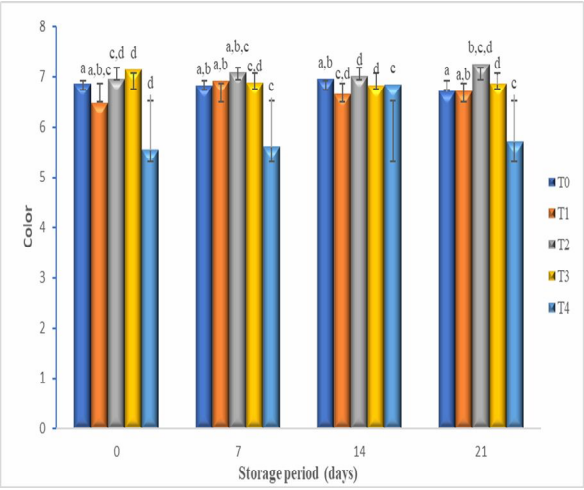
(a)



(b)



(C)



(d)

Fig 4 Changes in consistency (a), odor (b), taste (c) and color (d) (sensory test) 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

٤- 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 ٤°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 دوغکاهش پیدا کرد. افزودن عصاره جینکو سبب افزایش قابلیت زنده مانی باکتری های پروبیوتیک در دوغ پروبیوتیک حاوی عصاره موسیر شد. به طور کلی، نمونه دوغ پروبیوتیک حاوی ٢g/L عصاره جینکو، بیشترین امتیاز ارزیابی حسی را به خود اختصاص داد و به عنوان تیمار برتر انتخاب شد.

٥- تشکر و قدردانی

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

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

٦- منابع

[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 Preparations1, Planta medica, 59 (1993) 2-11.

[7] C. Ude, M. Schubert-Zsilavecz, 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.

[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.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

[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.

[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

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

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, 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.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

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

Eghbaltalab, K. [1], Fadaei-Noghani, V. [2*], Joudaki, H. [3]

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 Tecgnology, 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

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]