

علمی پژوهشی

## اثر عصاره مارچوبه و عصاره چای سبز بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک، فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی و ویژگی‌های حسی کفیر

مریم رهایی<sup>۱</sup>، رضوان پوراحمد<sup>۲\*</sup>، بیژن خورشید پور<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

۲- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

۳- مربی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۹/۰۴/۰۱ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۶/۰۱)

### چکیده

کفیر یکی از فراورده‌های تخمیر شده شیر است که نقش مهمی در تغذیه و سلامت انسان دارد. هدف از این تحقیق، بررسی اثر افزودن عصاره مارچوبه و عصاره چای سبز بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک، فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی و ویژگی‌های حسی کفیر بود. مقادیر مختلف (۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد) هر یک از عصاره‌های مارچوبه و چای سبز به صورت مجزا در کفیر مورد استفاده قرار گرفت و نمونه‌های کفیر به مدت دو هفته در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نتایج نشان داد که افزودن عصاره‌های گیاهی منجر به کاهش pH همچنین افزایش اسیدیته و فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی در نمونه‌ها ( $p \leq 0/05$ ) شد. بالاترین فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی مربوط به نمونه حاوی ۱/۵ درصد عصاره چای سبز بود. طی زمان نگهداری، pH کاهش و اسیدیته افزایش معنی‌داری پیدا کرد ( $p \leq 0/05$ ). اختلاف آماری معنی‌داری در زنده‌مانی بیفیدوباکتریوم لاکتیس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در نمونه‌های مورد بررسی وجود نداشت. با گذشت زمان جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ( $p \leq 0/05$ ) ولی در تمام نمونه‌ها جمعیت این باکتری‌ها تا پایان دوره نگهداری بیش از  $10^8$  CFU/ml بود. بالاترین امتیاز پذیرش کلی حسی مربوط به نمونه حاوی ۱/۵ درصد عصاره مارچوبه بود بنابراین این نمونه به‌عنوان تیمار برتر انتخاب شد.

کلید واژگان: کفیر، باکتری‌های پروبیوتیک، عصاره مارچوبه، عصاره چای سبز

\* مسئول مکاتبات: rjpourahmad@yahoo.com

## ۱- مقدمه

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که تجویز مقادیر کافی آنها موجب بروز اثرات مفید بر سلامت میزبان می‌گردد. از جمله خواص سلامتی بخش باکتری‌های پروبیوتیک می‌توان به بهبود هضم لاکتوز، بهبود جذب کلسیم، سنتز ویتامین‌ها و پروتئین‌ها، تحریک و ارتقاء سیستم ایمنی بدن، کاهش سطح کلسترول خون، کاهش تظاهرات آلرژی، جلوگیری از انواع سرطان به‌ویژه سرطان روده بزرگ، بهبود تعادل میکروبی روده، جلوگیری از رشد و فعالیت میکروب‌های بیماری‌زا و افزایش ارزش تغذیه‌ای اشاره کرد. باکتری‌های پروبیوتیک غالباً شامل گونه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم می‌باشند [۱].

کفیر نوشیدنی لبنی طبیعی تهیه شده از شیر است که طعم ملایم اسیدی، بوی مخمری و غلظتی مانند ماست دارد [۲]. این محصول بسته به نوع مایه تلقیح، نوع شیر و مدت تخمیر دارای ۰/۱ تا ۳/۵ درصد دی‌اکسیدکربن، ۰/۱ تا ۲ درصد الکل، ۰/۶ تا ۱/۱ درصد اسیدپنه و کمتر از ۲/۷ درصد پروتئین است [۳]. کفیر دارای تأثیرات سلامتی بخش متعددی، هم چون خواص ضد میکروبی، ایمونولوژیکی، ضد تومور و کاهش کلسترول است [۴]. مارچوبه با نام علمی *Asparagus officinalis L* عضوی از خانواده لیلیاسه<sup>۱</sup> می‌باشد که منشاء آن در شرق مدیترانه و کوه‌های قفقاز بیان شده است. عصاره مارچوبه به طور سنتی به عنوان داروی مدر<sup>۲</sup>، ملین<sup>۳</sup>، ضد سرفه<sup>۴</sup> و... کاربرد داشته است. علاوه بر این، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدتوموری آن گزارش شده است. همچنین ریشه مارچوبه حاوی ساپونین‌های استروئیدی<sup>۵</sup>، آلکالوئیدها، پلی‌ساکاریدها، پلی‌فنل‌ها، فلاونوئیدها و ویتامین‌ها می‌باشد [۵]. فروکتوالیگوساکاریدها و دیگر پلی‌ساکاریدهای موجود در مارچوبه مسئول ایجاد اثرات مثبت بر فعالیت سیستم ایمنی هستند [۶]. علاوه بر این مارچوبه یک منبع شناخته شده از اسید آمینه اسپاراژین بوده که یک اسید آمینه غیرضروری برای انسان است. فروکتوالیگوساکاریدهای موجود در مارچوبه به‌عنوان ترکیبات پری بیوتیک شناخته شده‌اند [۷].

چای سبز از جوانه‌ها، برگ‌ها و ساقه‌های ترد و جوان رقم‌هایی از بوته چای با نام علمی *Camellia sinensis* تهیه می‌شود. مهمترین فلاونوئید موجود در چای فلاونول یا به‌طور دقیق‌تر کاتچین‌ها می‌باشند. کاتچین‌ها آنتی‌اکسیدان هستند و دارای اثرات مفیدی در بدن می‌باشند. مقدار ترکیبات فنولیک و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی چای سبز به شرایط استخراج و نوع حلال به کار رفته بستگی دارد. همچنین وابستگی میزان کاتچین‌های موجود در عصاره به دمای دم آوری به اثبات رسیده است [۸]. ۱۰-۵۰ درصد کاتچین کل در چای سبز اپی‌گالوکاتچین‌گالات تشکیل می‌دهد که خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن نسبت به بقیه انواع کاتچین‌ها بیشتر است. پلی‌فنل‌ها دارای خاصیت ضداکسیدکنندگی می‌باشند و پتانسیل اکسایش هر ترکیب پلی‌فنلی به تعداد گروه‌های هیدروکسیل آن بستگی دارد [۹].

در خصوص استفاده از عصاره‌های گیاهی در شیرهای تخمیر شده، بررسی‌هایی صورت گرفته است که از جمله می‌توان به بررسی انجام شده توسط مرحمتی زاده و همکاران اشاره کرد. این محققین تأثیر مکمل سازی ماست پروبیوتیک با عصاره چای سبز را بررسی نمودند و گزارش نمودند که ارتباط مثبت و مستقیم بین افزایش جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک و افزایش غلظت عصاره وجود دارد و در ضمن، نمونه‌های حاوی عصاره چای سبز امتیاز پذیرش حسی بالاتری نسبت به نمونه شاهد داشتند [۱۰]. همچنین قلعه موسیانی و همکاران [۱۱] به بررسی اثر عصاره‌های آبی ریحان و مرزه بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ویژگی‌های میکروبی ماست پروبیوتیک پرداختند و گزارش نمودند که عصاره‌های مذکور باعث افزایش زنده‌مانی لاکتوباسیلوس پاراکازئی زیرگونه پاراکازئی و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌گردد.

با توجه به خواص سلامت بخش عصاره‌های چای سبز و مارچوبه، هدف اصلی این تحقیق بررسی اثر افزودن این عصاره‌ها بر قابلیت زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ویژگی‌های حسی کفیر بوده است.

1. Liliaceae
2. Diuretics
3. Laxatives
4. Antitussives
5. Steroidal saponins

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۱-۲- مواد اولیه

مواد اولیه شامل شیر خام (شرکت جلال لبن، ایران)، استارتر کفیر (شرکت کریستین هانسن، دانمارک)، گیاه مارچوبه (شرکت شیان ویکتار، چین) و برگ چای سبز (شرکت گلستان، ایران) بودند.

### ۲-۲- عصاره‌گیری از برگ چای سبز و گیاه

#### مارچوبه

عصاره‌گیری از برگ چای سبز و گیاه مارچوبه طبق روش کالجا و همکاران [۱۲] انجام شد. بدین صورت که گیاه پس از دریافت، سورت و شستشو داده شد. سپس توزین شده و خرد گردید. در مرحله بعد به نسبت ۱:۷ با حلال (پروپیلن گلیکول) آمیخته شد، در حمام آب گرم ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت هم زده شد، پسماند گیاهی آن جدا گردید و از کاغذ صافی عبور داده شد.

### ۲-۳- تهیه کفیر

برای تهیه کفیر از روش شیبانی و همکاران [۱۳] اقتباس شد. بدین منظور استارتر DVS کریستین هانسن مخلوطی از CHN-22 (لاکتوکوکوس لاکتیس زیرگونه لاکتیس، لاکتوکوکوس لاکتیس زیرگونه لاکتیس کرموریس، لاکتوکوکوس لاکتیس زیرگونه لاکتیس واریته دی استی لاکتیس، لوکونوستوک مزانترونیئیس زیرگونه کرموریس)، LAF-4، (کلایورومایس مارکسیانوس زیرگونه مارکسیانوس) و ABT-2 (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ویفیدوباکتریوم لاکتیس) مورد استفاده قرار گرفت. استارتر طبق دستورالعمل شرکت سازنده به ۱ لیتر شیر اضافه گردید و به مدت ۴۵ - ۳۰ دقیقه در دور ۱۵۰ rpm و رتکس شد. ۸ میلی لیتر از مخلوط شیر و استارتر به ۴ لیتر شیر ۱/۵ درصد چربی پاستوریزه و هموژنیزه اضافه شد. عصاره های چای سبز و مارچوبه هرکدام در مقادیر ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد به شیر اضافه گشت. نمونه شاهد (فاقد عصاره های چای سبز و مارچوبه) نیز در نظر گرفته شد. گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد انجام گردید تا pH محصول به ۴/۷ برسد. پس از آن نمونه‌ها به یخچال انتقال داده شده و به مدت ۲ هفته در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی، میکروبی

و حسی در روزهای ۱، ۷ و ۱۴ طی نگهداری در سرما (۴ °C) مورد بررسی قرار گرفت.

### ۲-۴- آزمون‌ها

#### ۲-۴-۱- اندازه‌گیری اسیدیته و pH

اسیدیته و pH نمونه‌ها براساس روش استاندارد ملی ایران به شماره ۲۸۵۲ اندازه‌گیری شد [۱۴].

#### ۲-۴-۲- فعالیت آنتی‌اکسیدانی

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ۵۰ گرم نمونه با ۲۵ میلی لیتر متانول به مدت ۱۲ ساعت قرار داده شد سپس مخلوط با کاغذ واتمن ۴ صاف شده و سپس ۳ میلی لیتر از آن به ۱/۲ میلی لیتر متانول و ۱/۵ میلی لیتر رادیکال پایدار دی‌فنیل پیکریل هیدرازیل DPPH اضافه شد. محلول حاصل در دمای اتاق به مدت ۹۰ دقیقه قرار داده شد و جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (یونیکو، آمریکا) اندازه‌گیری گردید. درصد مهار از طریق رابطه ۱ محاسبه شد که  $A_{control}$  جذب محلول شاهد و  $A_{sample}$  جذب نمونه‌های کفیر حاوی درصد‌های مختلف عصاره‌های گیاهی بود [۱۵].

رابطه ۱:

$$\text{Inhibition \%} = (A_{control} - A_{sample} / A_{control}) \times 100$$

میزان  $IC_{50}$  از طریق رگرسیون خطی منحنی درصد مهار و غلظت بدست آمد.

#### ۲-۴-۳- شمارش باکتری‌های پروبیوتیک

برای شمارش باکتری‌های پروبیوتیک، محیط کشت MRS bile agar استفاده شد. گرمخانه‌گذاری در شرایط هوازی و بی‌هوازی در دمای ۳۷°C به مدت ۴۸ ساعت صورت گرفت [۱۶].

#### ۲-۴-۴- ارزیابی حسی

ویژگی‌های حسی نمونه‌های کفیر توسط ۱۰ نفر ارزیاب آموزش دیده از نظر پارامترهای طعم، بافت، رنگ و پذیرش کلی ارزیابی گردید. روش هدونیک ۵ نقطه‌ای مورد استفاده قرار گرفت. امتیازهای ۵، ۴، ۳، ۲، ۱ به ترتیب بسیار خوب، خوب، متوسط، بد و بسیار بد در نظر گرفته شد [۱۶].

#### ۲-۴-۵- روش آماری

به منظور بررسی ویژگی‌های کمی داده‌ها با توجه به وجود ۷ تیمار و ۳ تکرار از آنالیز واریانس یک طرفه و همچنین جهت

## ۳- نتایج و بحث

## ۳-۱- اسیدیته و pH

اسیدیته و pH نمونه‌های کفیر طی زمان نگهداری در جداول ۱ و ۲ مشخص گردیده است.

مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون دانکن در سطح معنی داری ۰/۰۵ استفاده شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری توسط نرم افزار ۱۶ SPSS انجام پذیرفت.

**Table 1** The acidity values (% lactic acid) of kefir samples during storage (mean  $\pm$ SD)

Sample	First day	7 <sup>th</sup> day	14 <sup>th</sup> day
1	0.54 $\pm$ 0.01 <sup>cC</sup>	0.57 $\pm$ 0.01 <sup>cB</sup>	0.60 $\pm$ 0.01 <sup>cA</sup>
2	0.67 $\pm$ 0.01 <sup>aB</sup>	0.68 $\pm$ 0.01 <sup>aAB</sup>	0.70 $\pm$ 0.00 <sup>bA</sup>
3	0.67 $\pm$ 0.00 <sup>aB</sup>	0.69 $\pm$ 0.01 <sup>aAB</sup>	0.70 $\pm$ 0.00 <sup>bA</sup>
4	0.68 $\pm$ 0.01 <sup>aB</sup>	0.69 $\pm$ 0.01 <sup>aB</sup>	0.71 $\pm$ 0.00 <sup>bA</sup>
5	0.63 $\pm$ 0.00 <sup>bC</sup>	0.65 $\pm$ 0.01 <sup>bB</sup>	0.68 $\pm$ 0.00 <sup>bA</sup>
6	0.63 $\pm$ 0.00 <sup>bC</sup>	0.69 $\pm$ 0.01 <sup>aB</sup>	0.76 $\pm$ 0.00 <sup>aA</sup>
7	0.63 $\pm$ 0.02 <sup>bB</sup>	0.63 $\pm$ 0.02 <sup>bB</sup>	0.70 $\pm$ 0.02 <sup>bA</sup>

Means with different capital letters in each row and means with different small letters in each column show significant differences ( $p < 0.05$ ).

1: Control sample, 2: Kefir containing 0.5% green tee extract, 3: Kefir containing 1% green tee extract, 4: Kefir containing 1.5% green tee extract, 5: Kefir containing 0.5% asparagus extract, 6: Kefir containing 1% asparagus extract, 7: Kefir containing 1.5% asparagus extract

**Table 2** pH of kefir samples during storage (mean  $\pm$ SD)

Sample	First day	7 <sup>th</sup> day	14 <sup>th</sup> day
1	4.69 $\pm$ 0.01 <sup>aA</sup>	4.48 $\pm$ 0.00 <sup>aB</sup>	4.44 $\pm$ 0.00 <sup>aC</sup>
2	4.39 $\pm$ 0.01 <sup>bA</sup>	4.38 $\pm$ 0.01 <sup>bA</sup>	4.35 $\pm$ 0.00 <sup>bB</sup>
3	4.36 $\pm$ 0.00 <sup>cA</sup>	4.34 $\pm$ 0.00 <sup>eA</sup>	4.32 $\pm$ 0.01 <sup>bcB</sup>
4	4.34 $\pm$ 0.01 <sup>dA</sup>	4.31 $\pm$ 0.00 <sup>eAB</sup>	4.30 $\pm$ 0.01 <sup>bcB</sup>
5	4.36 $\pm$ 0.00 <sup>cA</sup>	4.34 $\pm$ 0.00 <sup>dB</sup>	4.31 $\pm$ 0.02 <sup>bcC</sup>
6	4.35 $\pm$ 0.01 <sup>cdA</sup>	4.30 $\pm$ 0.00 <sup>eB</sup>	4.24 $\pm$ 0.02 <sup>dcC</sup>
7	4.35 $\pm$ 0.01 <sup>cdA</sup>	4.36 $\pm$ 0.00 <sup>cA</sup>	4.30 $\pm$ 0.01 <sup>eB</sup>

Means with different capital letters in each row and means with different small letters in each column show significant differences ( $p < 0.05$ ).

1: Control sample, 2: Kefir containing 0.5% green tee extract, 3: Kefir containing 1% green tee extract, 4: Kefir containing 1.5% green tee extract, 5: Kefir containing 0.5% asparagus extract, 6: Kefir containing 1% asparagus extract, 7: Kefir containing 1.5% asparagus extract

کمترین اسیدیته مربوط به نمونه ۱ (شاهد) بود ( $p \leq 0/05$ ). در روز چهاردهم، بالاترین اسیدیته مربوط به نمونه ۶ (کفیر حاوی ۱ درصد عصاره مارچوبه) و کمترین اسیدیته مربوط به نمونه ۱ (شاهد) بود ( $p \leq 0/05$ ). براساس جدول ۲، در روز اول بالاترین pH متعلق به نمونه ۱ (شاهد) و پائین‌ترین pH متعلق به نمونه‌های ۴، ۶ و ۷ بود ( $p \leq 0/05$ ). در روز هفتم، بالاترین pH متعلق به نمونه ۱ (شاهد) و پائین‌ترین pH مربوط به به نمونه‌های ۳، ۴ و ۶ بود ( $p \leq 0/05$ ). در روز چهاردهم، بالاترین

بر اساس جدول ۱ در روز اول بالاترین اسیدیته مربوط به نمونه‌های ۲ (کفیر حاوی ۰/۵ درصد عصاره چای سبز)، ۳ (کفیر حاوی ۱ درصد عصاره چای سبز)، ۴ (کفیر حاوی ۱/۵ درصد عصاره چای سبز)، و کمترین اسیدیته مربوط به نمونه ۱ (شاهد) بود ( $p \leq 0/05$ ). در روز هفتم نمونه‌های ۲ (کفیر حاوی ۰/۵ درصد عصاره چای سبز)، ۳ (کفیر حاوی ۱ درصد عصاره چای سبز)، ۴ (کفیر حاوی ۱/۵ درصد عصاره چای سبز) و ۶ (کفیر حاوی ۱/۰ درصد عصاره مارچوبه) بالاترین اسیدیته را داشتند و

همکاران [۲۳] در خصوص بررسی اثر افزودن عصاره چای سبز بر ویژگی‌های کیفی دوغ بود که بیان نمودند غلظت عصاره چای سبز و زمان اثر معنی‌داری بر اسیدیته دوغ داشته و سبب افزایش آن شده است و pH با گذشت زمان کاهش و با افزایش غلظت عصاره افزایش یافت. محققین دیگر [۲۴] نیز در بررسی تاثیر به‌کارگیری چای سبز، سفید و سیاه بر تولید اسید لاکتیک و زنده‌مانی استرپتوکوکوس ترموفیلوس و گونه‌های لاکتوباسیلوس در ماست طی ۳ هفته و در شرایط انجماد بیان نمودند که تولید اسید در ماست های حاوی چای (۰/۷۸-۰/۹۹) درصد اسید لاکتیک) بالاتر از ماست ساده (۰/۷۰-۰/۹۱) درصد اسید لاکتیک) بود. نتایج حاصل از تحقیق حاضر مطابق با نتایج وینا و همکاران [۲۵] بود که در بررسی اثر مارچوبه واریته راسموسوس شاتاوارای<sup>۱</sup> بر خواص فیزیوشیمیایی و عملکردی شیر و همچنین تعامل عصاره مذکور با پروتئین های شیر، بیان نمودند که افزودن عصاره خشک شده به روش انجمادی در غلظت (۱g/۱۰۰ ml)، منجر به کاهش pH و افزایش اسیدیته گشت.

### ۳-۲- فعالیت آنتی‌اکسیدانی

بر اساس جدول ۳، در تمام روزهای مورد بررسی بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (کمترین IC<sub>50</sub>) مربوط به نمونه ۴ و کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (بیشترین IC<sub>50</sub>) مربوط به نمونه ۱ (شاهد) بود (p≤۰/۰۵). با افزایش درصد چای سبز، میزان (IC<sub>50</sub>) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها به ترتیب کاهش و افزایش یافت که افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی را می‌توان به ترکیبات پلی فنلی موجود در چای سبز نسبت داد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی تمام نمونه‌ها با گذشت زمان به‌طور معنی‌داری کاهش و IC<sub>50</sub> آنها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (p≤۰/۰۵). طبق یافته‌های محققان مارچوبه غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نظیر اسید آسپارتیک، فلاونوئید، گلوکاتیون و همچنین ویتامین‌های C، B و E می‌باشد که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند [۲۶ و ۲۷]. همچنین نتایج حاصل با نتایج وینا و همکاران [۲۸] مطابقت داشت که در بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی شیر غنی شده با عصاره مارچوبه خشک شده به روش انجمادی اذعان نمودند شیر غنی سازی شده با مارچوبه دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. و ویژگی‌های

pH متعلق به نمونه ۱ (شاهد) بود و پائین‌ترین pH در نمونه ۶ ملاحظه شد (p≤۰/۰۵). افزودن عصاره‌های گیاهی باعث افزایش اسیدیته و pH نمونه‌های تست در مقایسه با شاهد شد. علت می‌تواند افزایش فعالیت متابولیکی باکتری‌ها و تولید اسیدهای آلی توسط باکتری‌های اسید لاکتیک به دنبال افزودن عصاره‌های گیاهی به محصول باشد [۱۷]. طی زمان نگهداری اسیدیته به‌صورت معنی‌داری افزایش و pH به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت (p≤۰/۰۵) زیرا باکتری‌های لاکتیک حتی در دمای یخچال هم فعال هستند و با تخمیر لاکتوز، اسید لاکتیک تولید نموده و اسیدیته را افزایش و pH را کاهش می‌دهند [۱۸]. نتایج مشابهی توسط محققین دیگر [۱۹ و ۲۰] گزارش شده است که در راستای نتایج این تحقیق است. مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۱۱۱۷۷ در ارتباط با ویژگی‌های فیزیوشیمیایی نوشیدنی کفیر، pH نوشیدنی کفیر نباید بیشتر از ۴/۵ و اسیدیته آن نباید از ۰/۶ درصد (وزنی/وزنی) بر حسب اسید لاکتیک کمتر باشد [۲۱] که در تحقیق حاضر نیز pH و اسیدیته تمامی نمونه‌ها در محدوده استاندارد قرار داشت. با افزایش درصد پودر چای سبز، pH نمونه‌ها کاهش و اسیدیته آنها یافت. کاهش pH نمونه‌ها با افزودن پودر چای سبز را می‌توان به pH پایین پودر چای سبز نسبت داد. از طرفی آنالیز شیمیایی چای سبز نشان داده است که محتوی پروتئین (۱۵-۲۰ درصد)، آمینو اسیدها (۱-۴٪) مثل تانین یا N-۵- اتیل گلوتامین، گلوتامیک اسید، تریپتوفان، گلیسین، سرین، اسید آسپارتیک، تیروزین، والین، لوسین، تروئین، آرژینین و لیزین، کربوهیدرات‌ها (۵-۷٪) مثل سلولز، پکتین، گلوکز، فروکتوز، ساکارز، املاح و عناصر کم مقدار (۰/۵٪) مثل کلسیم، منیزیم، کروم، منگنز، آهن، مس، روی، مولیبدن، سلنیم، فسفر، کبالت، استرانتیم، نیکل، پتاسیم، فلورین و آلومینیوم، مقادیر ناچیز از لیپیدها (لینولئیک و آلفالینولئیک اسید)، استرول‌ها (استیگما استرول)، ویتامین‌ها (E، C، B)، بازهای زانیک (کافئین، تئوفیلین)، رنگدانه‌ها (کلروفیل، کارتنوئید) و ترکیبات فرار (آلدیدها، الکل‌ها، استرها، لاکتون‌ها و هیدروکربن‌ها) می‌باشد [۲۲] و اسیدیته ایجاد شده در محصول توسط چای سبز را می‌توان به ترکیبات اسیدی آن مانند گلوتامیک اسید، اسید آسپارتیک، لینولئیک و آلفالینولئیک اسید نسبت داد. نتایج حاصل از تحقیق حاضر همراستا با نتایج مسعودی تنکابنی و

6. *Racemosus shatavari*

آنتی‌اکسیدانی به ویتامین‌های آنتی‌اکسیدان، پلی‌فنل و فلاونوئیدها موجود در عصاره نسبت داده شد.

**Table 3** IC<sub>50</sub> (µg/L) of kefir samples during storage (mean ±SD)

Sample	First day	7 <sup>th</sup> day	14 <sup>th</sup> day
1	718.75 ± 1.30 <sup>aC</sup>	782.99 ± 1.00 <sup>bb</sup>	1127.70 ± 0.00 <sup>aA</sup>
2	280.49 ± 2.10 <sup>cC</sup>	428.67 ± 3.00 <sup>eB</sup>	490.50 ± 0.00 <sup>eA</sup>
3	192.12 ± 2.00 <sup>fC</sup>	296.00 ± 4.00 <sup>fB</sup>	333.00 ± 1.85 <sup>fA</sup>
4	157.84 ± 3.10 <sup>gC</sup>	226.00 ± 0.00 <sup>gB</sup>	221.00 ± 1.75 <sup>gA</sup>
5	600.75 ± 4.00 <sup>bC</sup>	786.84 ± 2.90 <sup>bb</sup>	896.30 ± 3.00 <sup>bA</sup>
6	516.75 ± 2.00 <sup>cb</sup>	729.22 ± 4.10 <sup>cA</sup>	744.00 ± 1.50 <sup>cA</sup>
7	468.00 ± 3.9 <sup>dc</sup>	646.49 ± 2.75 <sup>db</sup>	703.90 ± 4.25 <sup>da</sup>

Means with different capital letters in each row and means with different small letters in each column show significant differences ( $p < 0.05$ ).

1: Control sample, 2: Kefir containing 0.5% green tee extract, 3: Kefir containing 1% green tee extract, 4: Kefir containing 1.5% green tee extract, 5: Kefir containing 0.5% asparagus extract, 6: Kefir containing 1% asparagus extract, 7: Kefir containing 1.5% asparagus extract

که بیان نمودند که تعداد باکتری‌های آغازگر، با افزایش غلظت چای سبز و در طول زمان کاهش یافت که علت تفاوت در نتایج را می‌توان به غلظت‌های متفاوت عصاره به کار برده نسبت داد. همچنین نتایج حاصل از تحقیق حاضر با نتایج احمدیان و نجفی [۲۹] در بررسی تاثیر آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی چای سبز بر روی فلور میکروبی ماست در طول فرآیند تخمیر و نگهداری آن در یخچال هم‌راستا بود که بیان نمودند چای سبز تاثیری بر جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک در محصول نداشت. در تحقیق حاضر نیز عصاره چای سبز اثر مهارکنندگی بر باکتری‌های پروبیوتیک نداشت. به طور مشابه امیردیوانی و بابا [۳۰] در بررسی قدرت تخمیر شیر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنولیک و رشد باکتری‌های لاکتیکی ماست در حضور چای سبز بیان نمودند که افزودن چای سبز می‌تواند در جهت ارتقاء رشد باکتری‌های مفید ماست و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی موثر واقع شود. محققین دیگر [۲۴] نیز در بررسی تاثیر به کارگیری چای سبز، سفید و سیاه بر تولید اسید لاکتیک و زنده‌مانی استرپتوکوکوس ترموفیلوس و گونه‌های لاکتوباسیلوس در ماست طی ۳ هفته و در شرایط انجماد بیان نمودند که اختلاف معنی‌داری در زنده‌مانی استرپتوکوکوس ترموفیلوس و گونه‌های لاکتوباسیلوس نسبت به ماست‌های ساده طی دوره نگهداری مشاهده نشد.

### ۳-۳- زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک

بر اساس جدول ۴، در تمام نمونه‌های مورد بررسی، اختلاف آماری معنی‌داری در زنده‌مانی باکتری بیفیدوباکتریوم لاکتیس وجود نداشت. در نمونه‌های کفیر، جمعیت باکتری‌ها تا روز هفتم ثابت و پس از آن به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ( $p \leq 0.05$ ). همچنین بر اساس جدول ۵، در تمام نمونه‌های مورد بررسی اختلاف معنی‌داری در زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس وجود نداشت. در نمونه‌های کفیر جمعیت این باکتری‌ها تا روز هفتم ثابت و پس از آن به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ( $p \leq 0.05$ ). برای داشتن اثرات سلامتی بخش بر روی میزبان، زنده‌مانی سلول‌های پروبیوتیک بسیار مهم است. به طور مشابه، مرحمتی زاده و همکاران [۱۰] در بررسی تاثیر مکمل سازی شیر پروبیوتیک با عصاره چای سبز، بیان نمودند در ساعات اولیه تولید، شیر حاوی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و درصد‌های بالاتر عصاره چای سبز (۶/۰ و ۹/۰ درصد) سریعتر به اسیدیته مورد نظر رسید و از طرفی ارتباط مثبت و مستقیم بین افزایش جمعیت باکتریایی و افزایش غلظت عصاره وجود داشت که به ترکیبات پلی‌فنلی موجود در عصاره و نقش رادیکال گیرندگی آن‌ها نسبت داده شد. نتایج حاصل از تحقیق حاضر با نتایج تحقیق مسعودی تنکابنی و همکاران [۲۳] در بررسی اثر افزودن عصاره چای سبز بر ویژگی‌های کیفی دوغ هم‌راستا نبود

**Table 4** The number of *Bifidobacterium lactis* (log CFU/mL) in kefir samples during storage (mean  $\pm$ SD)

Sample	First day	7 <sup>th</sup> day	14 <sup>th</sup> day
1	8.87 $\pm$ 0.09 <sup>aA</sup>	8.65 $\pm$ 0.53 <sup>aAB</sup>	8.04 $\pm$ 0.04 <sup>aB</sup>
2	8.89 $\pm$ 0.06 <sup>aA</sup>	8.58 $\pm$ 0.51 <sup>aAB</sup>	8.04 $\pm$ 0.05 <sup>aB</sup>
3	8.81 $\pm$ 0.11 <sup>aA</sup>	8.80 $\pm$ 0.10 <sup>aA</sup>	8.36 $\pm$ 0.54 <sup>aB</sup>
4	8.85 $\pm$ 0.07 <sup>aA</sup>	8.83 $\pm$ 0.08 <sup>aA</sup>	8.33 $\pm$ 0.52 <sup>aB</sup>
5	8.62 $\pm$ 0.50 <sup>aA</sup>	8.59 $\pm$ 0.51 <sup>aA</sup>	8.11 $\pm$ 0.03 <sup>aB</sup>
6	8.63 $\pm$ 0.51 <sup>aA</sup>	8.62 $\pm$ 0.51 <sup>aA</sup>	8.10 $\pm$ 0.03 <sup>aB</sup>
7	8.94 $\pm$ 0.04 <sup>aA</sup>	8.65 $\pm$ 0.52 <sup>aAB</sup>	8.12 $\pm$ 0.04 <sup>aB</sup>

Means with different capital letters in each row and means with different small letters in each column show significant differences ( $p < 0.05$ ).

1: Control sample, 2: Kefir containing 0.5% green tee extract, 3: Kefir containing 1% green tee extract, 4: Kefir containing 1.5% green tee extract, 5: Kefir containing 0.5% asparagus extract, 6: Kefir containing 1% asparagus extract, 7: Kefir containing 1.5% asparagus extract

**Table 5** The number of *Lactobacillus acidophilus* (log CFU/mL) in kefir samples during storage (mean  $\pm$ SD)

Sample	First day	7 <sup>th</sup> day	14 <sup>th</sup> day
1	8.89 $\pm$ 0.07 <sup>aA</sup>	8.87 $\pm$ 0.09 <sup>aA</sup>	8.11 $\pm$ 0.05 <sup>aB</sup>
2	8.90 $\pm$ 0.06 <sup>aA</sup>	8.65 $\pm$ 0.51 <sup>aAB</sup>	8.07 $\pm$ 0.08 <sup>aB</sup>
3	8.63 $\pm$ 0.51 <sup>aA</sup>	8.60 $\pm$ 0.52 <sup>aA</sup>	8.09 $\pm$ 0.03 <sup>aB</sup>
4	8.88 $\pm$ 0.05 <sup>aA</sup>	8.86 $\pm$ 0.06 <sup>aA</sup>	8.06 $\pm$ 0.02 <sup>aB</sup>
5	8.94 $\pm$ 0.03 <sup>aA</sup>	8.92 $\pm$ 0.03 <sup>aA</sup>	8.13 $\pm$ 0.03 <sup>aB</sup>
6	8.66 $\pm$ 0.51 <sup>aA</sup>	8.64 $\pm$ 0.51 <sup>aA</sup>	8.10 $\pm$ 0.03 <sup>aB</sup>
7	8.60 $\pm$ 0.60 <sup>aA</sup>	8.23 $\pm$ 0.62 <sup>aA</sup>	8.04 $\pm$ 0.04 <sup>aB</sup>

Means with different capital letters in each row and means with different small letters in each column show significant differences ( $p < 0.05$ ).

1: Control sample, 2: Kefir containing 0.5% green tee extract, 3: Kefir containing 1% green tee extract, 4: Kefir containing 1.5% green tee extract, 5: Kefir containing 0.5% asparagus extract, 6: Kefir containing 1% asparagus extract, 7: Kefir containing 1.5% asparagus extract

### ۳-۴- ویژگی های حسی

عصاره مذکور منجر به افزایش مولفه های رنگی \*a (قرمزی) و \*b (زردی) و کاهش مولفه رنگی \*L (روشنی) شد. مطابق با جدول ۷ طی زمان نگهداری، اختلاف معنی داری در امتیاز طعم نمونه ها وجود نداشت و در تمام بازه های زمانی بالاترین امتیاز طعم در نمونه های ۶ (کفیر حاوی ۱/۰ درصد عصاره مارچوبه) و ۷ (کفیر حاوی ۱/۵ درصد عصاره مارچوبه) و پایین ترین امتیاز طعم در نمونه ۱ (شاهد) مشاهده شد ( $p \leq 0.05$ ). طعم یکی از مهم ترین جنبه های کیفی غذاها و نوشیدنی هاست که پذیرش مصرف کننده را در پی خواهد داشت.

مطابق با جدول ۶ طی زمان نگهداری، اختلاف معنی داری در امتیاز رنگ هیچ کدام از نمونه ها مشاهده نشد و در تمام بازه های زمانی بالاترین امتیاز رنگ مربوط به نمونه های ۶ (کفیر حاوی ۱/۰ درصد عصاره مارچوبه) و ۷ (کفیر حاوی ۱/۵ درصد عصاره مارچوبه) بود و نمونه ۱ (شاهد) پایین ترین امتیاز رنگ را داشت ( $p \leq 0.05$ ). نتایج حاصل با یافته های وینا و همکاران [۲۵] تطابق داشت که در بررسی اثر مارچوبه واریته راسموسوس شاتاوا<sup>۷</sup> بر خواص فیزیکی شیمیایی و عملکردی شیر، بیان نمودند که

7. *Racemosus shatavari*

**Table 6** The score of color of kefir samples during storage (mean  $\pm$ SD)

Sample	First day	7 <sup>th</sup> day	14 <sup>th</sup> day
1	3.00 $\pm$ 1.00 <sup>cA</sup>	3.00 $\pm$ 1.00 <sup>cA</sup>	3.00 $\pm$ 1.00 <sup>cA</sup>
2	4.00 $\pm$ 1.00 <sup>bA</sup>	4.00 $\pm$ 1.00 <sup>bA</sup>	4.00 $\pm$ 1.00 <sup>bA</sup>
3	4.00 $\pm$ 1.00 <sup>bA</sup>	4.00 $\pm$ 1.00 <sup>bA</sup>	4.00 $\pm$ 1.00 <sup>bA</sup>
4	4.00 $\pm$ 0.00 <sup>bA</sup>	4.00 $\pm$ 0.00 <sup>bA</sup>	4.00 $\pm$ 0.00 <sup>bA</sup>
5	4.00 $\pm$ 0.01 <sup>bA</sup>	4.00 $\pm$ 0.44 <sup>bA</sup>	4.00 $\pm$ 0.01 <sup>bA</sup>
6	5.00 $\pm$ 0.00 <sup>aA</sup>	5.00 $\pm$ 0.00 <sup>aA</sup>	5.00 $\pm$ 0.00 <sup>aA</sup>
7	5.00 $\pm$ 0.00 <sup>aA</sup>	5.00 $\pm$ 0.00 <sup>aA</sup>	5.00 $\pm$ 0.00 <sup>aA</sup>

Means with different capital letters in each row and means with different small letters in each column show significant differences ( $p < 0.05$ ).

1: Control sample, 2: Kefir containing 0.5% green tee extract, 3: Kefir containing 1% green tee extract, 4: Kefir containing 1.5% green tee extract, 5: Kefir containing 0.5% asparagus extract, 6: Kefir containing 1% asparagus extract, 7: Kefir containing 1.5% asparagus extract

این مطلب بود که تمامی نمونه‌های حاوی عصاره چای سبز امتیاز بالاتری نسبت به نمونه شاهد داشتند [۱۰]. در یک بررسی مشابه، احمدیان و نجفی [۲۹] گزارش نمودند که افزودن چای سبز در سطح ۲ درصد سبب بهبود طعم ماست، بدون گذاشتن هیچگونه تاثیر مهارکنندگی بر روی باکتری‌های آغازگر در آن می‌شود.

نتایج حاصل از تحقیق حاضر با یافته‌های مرحمتی زاده و همکاران همخوانی داشت که در بررسی تاثیر مکمل سازی شیر و ماست پروبیوتیک با عصاره چای سبز بیان نمودند که افزایش غلظت عصاره چای سبز طعم مطلوبی را در شیر و ماست مذکور ایجاد نمود و نتایج حاصل از آزمون های ارگانولپتیک نیز بیانگر

**Table 7** The score of flavor of kefir samples during storage (mean  $\pm$ SD)

Sample	First day	7 <sup>th</sup> day	14 <sup>th</sup> day
1	3.00 $\pm$ 1.00 <sup>bA</sup>	3.00 $\pm$ 1.00 <sup>bA</sup>	3.00 $\pm$ 1.00 <sup>bA</sup>
2	4.00 $\pm$ 1.00 <sup>abA</sup>	4.00 $\pm$ 1.00 <sup>abA</sup>	4.00 $\pm$ 1.00 <sup>abA</sup>
3	4.00 $\pm$ 1.00 <sup>abA</sup>	4.00 $\pm$ 1.00 <sup>bA</sup>	4.00 $\pm$ 0.44 <sup>abA</sup>
4	4.00 $\pm$ 1.00 <sup>abA</sup>	4.00 $\pm$ 1.00 <sup>abA</sup>	4.00 $\pm$ 1.00 <sup>abA</sup>
5	4.00 $\pm$ 0.44 <sup>abA</sup>	4.00 $\pm$ 1.00 <sup>abA</sup>	4.00 $\pm$ 1.00 <sup>abA</sup>
6	5.00 $\pm$ 0.00 <sup>aA</sup>	5.00 $\pm$ 0.00 <sup>aA</sup>	5.00 $\pm$ 0.00 <sup>aA</sup>
7	5.00 $\pm$ 0.00 <sup>aA</sup>	5.00 $\pm$ 0.00 <sup>aA</sup>	5.00 $\pm$ 0.00 <sup>aA</sup>

Means with different capital letters in each row and means with different small letters in each column show significant differences ( $p < 0.05$ ).

1: Control sample, 2: Kefir containing 0.5% green tee extract, 3: Kefir containing 1% green tee extract, 4: Kefir containing 1.5% green tee extract, 5: Kefir containing 0.5% asparagus extract, 6: Kefir containing 1% asparagus extract, 7: Kefir containing 1.5% asparagus extract

عصاره چای سبز بر ویژگی‌های کیفی دوغ بیان نمودند که نمونه شاهد بیشترین امتیاز بافت، و بین دوغ‌های فراسودمند، دوغ با عصاره حاوی ۵۰ گرم پودر چای سبز بیشترین امتیاز بافت را دارا بود. دزیانی و همکاران [۳۱] نیز در بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف ژل آلوهورا در دوغ سین‌بیوتیک گزارش نمودند که نمونه حاوی غلظت ۱۰ درصد ژل آلوهورا دارای امتیاز بافت بالاتری بود.

مطابق با جدول ۸ در تمام بازه های زمانی امتیاز بافت نمونه‌های ۴ (کفیر حاوی ۱/۵ درصد عصاره چای سبز) و ۷ (کفیر حاوی ۱/۵ درصد عصاره مارچوبه) به طور معنی‌داری بالاتر از دیگر تیمارها بود ( $p \leq 0/05$ ). با گذشت زمان، امتیاز بافت نمونه‌های ۱ (شاهد) و ۲ (کفیر حاوی ۰/۵ درصد عصاره چای سبز) به طور معنی‌داری کاهش یافت ( $p \leq 0/05$ ). به طور مشابه مسعودی تنکابنی و همکاران [۲۳] نیز در بررسی تاثیر افزودن



**Table 8** The score of texture of kefir samples during storage (mean  $\pm$ SD)

Sample	First day	7 <sup>th</sup> day	14 <sup>th</sup> day
1	4.00 $\pm$ 0.40 <sup>bA</sup>	3.00 $\pm$ 0.40 <sup>cB</sup>	2.00 $\pm$ 0.40 <sup>dC</sup>
2	4.00 $\pm$ 0.40 <sup>bA</sup>	4.00 $\pm$ 0.40 <sup>bA</sup>	3.00 $\pm$ 0.44 <sup>cB</sup>
3	4.00 $\pm$ 0.40 <sup>bA</sup>	4.00 $\pm$ 0.40 <sup>bA</sup>	4.00 $\pm$ 0.40 <sup>bA</sup>
4	5.00 $\pm$ 0.00 <sup>aA</sup>	5.00 $\pm$ 0.00 <sup>aA</sup>	5.00 $\pm$ 0.00 <sup>aA</sup>
5	4.00 $\pm$ 1.00 <sup>bA</sup>	4.00 $\pm$ 1.00 <sup>bA</sup>	4.00 $\pm$ 0.00 <sup>bA</sup>
6	4.00 $\pm$ 1.00 <sup>bA</sup>	4.00 $\pm$ 1.00 <sup>aA</sup>	4.00 $\pm$ 1.00 <sup>bA</sup>
7	5.00 $\pm$ 0.00 <sup>aA</sup>	5.00 $\pm$ 0.00 <sup>aA</sup>	5.00 $\pm$ 0.00 <sup>aA</sup>

Means with different capital letters in each row and means with different small letters in each column show significant differences ( $p < 0.05$ ).

1: Control sample, 2: Kefir containing 0.5% green tee extract, 3: Kefir containing 1% green tee extract, 4: Kefir containing 1.5% green tee extract, 5: Kefir containing 0.5% asparagus extract, 6: Kefir containing 1% asparagus extract, 7: Kefir containing 1.5% asparagus extract

به طور معنی داری کاهش یافت ( $p \leq 0/05$ ). مسعودی تنکابنی و همکاران [۲۳] نیز در بررسی تاثیر افزودن عصاره چای سبز بر ویژگی‌های کیفی دوغ اظهار داشتند که نمونه شاهد بیشترین مقبولیت حسی، و بین دوغ‌های فراسودمند، دوغ با عصاره حاوی ۵۰ گرم پودر چای سبز بیشترین مقبولیت را دارا بود که البته با نمونه حاوی ۲۵ گرم پودر چای سبز اختلاف معنی داری نداشت ( $p < 0/05$ ). همچنین دوغ با عصاره حاوی ۷۵ گرم پودر چای سبز کمترین مقبولیت حسی را داشت.

مطابق با جدول ۹ در روز اول نگهداری، امتیاز پذیرش کلی نمونه‌های ۶ (کفیر حاوی ۱/۰ درصد عصاره مارچوبه) و ۷ (کفیر حاوی ۱/۵ درصد عصاره مارچوبه) به طور معنی داری بالاتر و نمونه ۱ (شاهد) به طور معنی داری پائین‌تر بود ( $p \leq 0/05$ ). در روزهای هفتم و چهاردهم، نمونه ۷ (کفیر حاوی ۱/۵ درصد عصاره مارچوبه) بالاترین امتیاز پذیرش کلی را داشت. با گذشت زمان، امتیاز پذیرش کلی نمونه‌های کفیر بجز نمونه‌های ۳، ۴ و ۷

**Table 9** The score of overall acceptance of kefir samples during storage (mean  $\pm$ SD)

Sample	First day	7 <sup>th</sup> day	14 <sup>th</sup> day
1	3.16 $\pm$ 0.40 <sup>cA</sup>	3.00 $\pm$ 0.40 <sup>cB</sup>	2.00 $\pm$ 0.40 <sup>dC</sup>
2	4.16 $\pm$ 0.40 <sup>bA</sup>	4.00 $\pm$ 0.40 <sup>bA</sup>	3.00 $\pm$ 0.44 <sup>cB</sup>
3	4.00 $\pm$ 0.01 <sup>bA</sup>	4.00 $\pm$ 0.40 <sup>bA</sup>	4.00 $\pm$ 0.40 <sup>bA</sup>
4	4.00 $\pm$ 0.10 <sup>bA</sup>	4.00 $\pm$ 0.00 <sup>bA</sup>	4.00 $\pm$ 0.00 <sup>bA</sup>
5	5.00 $\pm$ 0.01 <sup>bA</sup>	4.00 $\pm$ 1.00 <sup>bB</sup>	4.00 $\pm$ 0.00 <sup>aB</sup>
6	5.00 $\pm$ 0.10 <sup>aA</sup>	4.00 $\pm$ 1.00 <sup>bB</sup>	4.00 $\pm$ 1.00 <sup>bB</sup>
7	5.00 $\pm$ 0.01 <sup>aA</sup>	5.00 $\pm$ 0.00 <sup>aA</sup>	5.00 $\pm$ 0.00 <sup>aA</sup>

Means with different capital letters in each row and means with different small letters in each column show significant differences ( $p < 0.05$ ).

1: Control sample, 2: Kefir containing 0.5% green tee extract, 3: Kefir containing 1% green tee extract, 4: Kefir containing 1.5% green tee extract, 5: Kefir containing 0.5% asparagus extract, 6: Kefir containing 1% asparagus extract, 7: Kefir containing 1.5% asparagus extract

مربوط به نمونه حاوی ۱/۵ درصد عصاره چای سبز بود. افزودن عصاره‌های گیاهی اثر معنی داری برزنده‌مانی بیفیدوباکتریوم لاکتیس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس نداشت. نمونه ۷ (۱/۵ درصد عصاره مارچوبه) بالاترین امتیاز پذیرش کلی حسی را کسب نمود. با گذشت زمان نگهداری، pH کاهش ولی مقادیر اسیدیته و IC<sub>50</sub> افزایش یافت. جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک

#### ۴- نتیجه گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن عصاره‌های گیاهی منجر به کاهش pH و افزایش اسیدیته و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نمونه‌های کفیر گردید. بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (کمترین IC<sub>50</sub>)

- [9] Noori, Sh., Mizani, M., Gerami, A. and Forghani, M. 2012. Investigation of effect of antioxidants of green tea on physical properties of package of black tea bag and product shelf life. *Journal of Food Technology and Nutrition*, 10 (1), 29-42 (in Persian).
- [10] Marhamatizadeh, M.H., Ehsandoost, E. and Gholami, P. 2013. The influence of Green Tea (*Camellia sinensis L.*) Extract on characteristic of probiotic bacteria in milk and yoghurt during fermentation and refrigerated storage. *International Journal of Farming and Allied Sciences*, 17, 599-606.
- [11] Ghaleh Mosiyani, Z., Pourahmad, R. and Eshaghi, M.R. 2017. Investigating the effect of aqueous extracts of basil and savory on antioxidant activity, microbial and sensory properties of probiotic yogurt. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 16(3), 311-320.
- [12] Caleja, C., Barros, L. Antonio, A. L. Márcio Caroch, M. Beatriz.P.P and Sabel, O. 2016. Ferreira. Fortification of yogurts with different antioxidant preservatives: a comparative study between natural and synthetic additives. *Food Chemistry*, 16 (2), 1-25.
- [13] Sheybani, M., Pourahmad, R. and Eshaghi, M. R. 2018. Effect of sucrose replacement with rebaudioside A and isomalt on viability of probiotic bacteria and physicochemical and sensory properties of kefir ice cream. *Journal of Food Research*, 28 (4), 143-155.
- [14] Anonymous, 2006. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Milk and milk products- Determination of acidity and pH. National standard No. 2852 (in Persian).
- [15] Najgebauer-Lejko, D., Sady, M., Grega, T. and Walczykca, M. 2011. The impact of tea supplementation on microflora: pH and antioxidant capacity of yoghurt. *International Dairy Journal* 21(6), 568-574.
- [16] Sabooni, P., Pourahmad, R. and Adeli, H. R. M. 2018. Improvement of Viability of Probiotic Bacteria, Organoleptic Qualities and Physical Characteristics in Kefir Using Transglutaminase and Xanthan. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 17(2), 141-148.
- [17] Amirdivani, S. and Baba, A.S. 2011. بعد از ۱۴ روز نگهداری کاهش یافت ولی در تمام نمونه‌ها تعداد این باکتری‌ها بالاتر از  $10^4$  CFU/ml بود. با توجه به زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک و کیفیت حسی، تیمار ۷ (۱/۵ درصد عصاره مارچوبه) به عنوان تیمار برتر انتخاب شد.

## ۵- منابع

- [1] Conto, F., Del Nobile, M.A., Faccia, M., Zambrini, A.V. and Conte, A. 2017. *Advances in Dairy Products*, John Wiley & Sons Ltd., pp. 38-39.
- [2] Bensmira, M. and Jiang, B. 2011. Organic acids formation during the production of a novel peanut-milk kefir beverage. *Journal of Dairy Science*, 2 (1), 18-22.
- [3] Kok-Tas, T., Seydim, A.C., Ozer, B and Guzel-Seydim, Z.B. 2013. Effects of different fermentation parameters on quality characteristics of kefir. *Journal of Dairy Science*, 96(1), 780-789.
- [4] Irigoyen, A., Arana, I., Castiella, M., Torre, P. and Ibanez, F.C. 2005. Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. *Food Chemistry*, 90 (3), 613-620.
- [5] Visavadiya, N.P. and Narasimhacharya, R.L. 2005. Hypolipidemic and antioxidant activities in *Asparagus racemosus* in hypercholesteremic rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 37 (6), 376-380.
- [6] Thakur, M., Connellan, P., Deseo, M.A., Morris, C., Praznik, W., Loeppert, R. and Dixit, V.K. 2012. Characterization and immunomodulatory screening of fructooligosaccharides of *Asparagus racemosus* Willd. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50 (1), 77-81.
- [7] Sangeetha, P.T., Ramesh, M.N., and Prapulla, S.G. 2005. Recent trends in the microbial production, analysis and application of fructooligosaccharides. *Trends in Food Science and Technology*, 16(2), 442-457.
- [8] Labbe, D., Tremblay A and Bazinet, L. 2006. Effect of brewing temperature and duration on green tea catechin solubilization: Basis for production of EGC and EGCG-enriched fractions. *Separation and Purification Technology*, 49, 1-9.

- (6), 1-5.
- [25] Veena, N., Arora, S., Singh, R.R., Katara, A., Rastogi, S. and Rawat, A.K. 2015. Effect of *Asparagus racemosus* (shatavari) extract on physicochemical and functional properties of milk and its interaction with milk proteins. *Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 1176-81.
- [26] Lee E.J., Yoo, K.S. and Patil, B.S. 2010. Development of a rapid HPLC-UV method for simultaneous quantification of protodioscin and rutin in white and green asparagus spears. *Journal of Food Science*, 75 (9), 703 -9. [27] Mozaffarian, V.A. 2003. *Dictionary of Iranian Plant Names* (3ed.). Farhang Moaser Press. Iran, pp. 59 - 60.
- [28] Veena, N., Arora, S., Kapila, S., Singh, R.R., Antariksh, K., Mohan Pandey, M., Rastogi, S. and Singh R.A.K. 2014. Immunomodulatory and antioxidative potential of milk fortified with *Asparagus racemosus* (Shatavari). *Journal of Medicinal Plants Studies*, 2 (6), 13-19.
- [29] Ahmadian, F. and Najafi, A. 2008. Investigation of antioxidant and antimicrobial effect of green tea on yogurt microbial flora during fermentation and refrigerated storage. 18<sup>th</sup> National congress on Food Science and Technology, Research Institute of Food Science and Technology, Razavi Khorasan, Mashhad (in Persian).
- [30] Amirdivani, S. and Baba, A.S. 2015. Green tea yogurt: major phenolic compounds and microbial growth. *Journal of Food Science and Technology*, 52(7), 4652-4660.
- [31] Dezyani, M., Khosroshahi Asl, A. and Zomorodi, Sh. 2017. Effect of different concentrations of aloe vera gel on qualitative characteristics and viability of probiotic bacteria in synbiotic doogh. *Iranian Nutrition Science and Food Technology*, 12 (3), 121-128 (in Persian).
- Changes in yogurt fermentation characteristics, and antioxidant potential and invitro inhibition of angiotensin-1 converting enzyme upon the inclusion of peppermint, dill and basil. *LWT-Food Science and Technology*, 44 (6), 1458-1464.
- [18] Kailasapathy, K., Harmstorf, I. and Philipps, M. 2008. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* in stirred fruit yogurts. *LWT-Food Science and Technology*, 41, 1317-1322.
- [19] Ozer, D., Akin, S. and Ozer, B. 2005. Effect of inulin and lactose on survival of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-02 in acidophilus bifidus yogurt. *Food Science and Technology International*, 11(1), 19-24.
- [20] Ramchandran, L. and Shah, N. 2010. Characterization of functional, biochemical and textural properties of synbiotic low-fat yogurts during refrigerated storage. *LWT-Food Science and Technology*, 43(5), 819-827.
- [21] Anonymous, 2008. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Fermented milks-Kefir-Characteristics and methods of test. National standard No. 11177 (in Persian).
- [22] Chaturvedula, V.S.P. and Prakash, I. 2011. The aroma, taste, color and bioactive constituents of tea. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(11), 2110-2124.
- [23] Masoudi Tonekaboni, P. 2013. Effect of adding green tea extract on qualitative characteristics of doogh. M.Sc. Thesis of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tabriz University (in Persian).
- [24] Muniandy, P., Bakr Shori, A. and Salihin Baba, A. 2015. Comparison of the effect of green, white and black tea on *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus* spp. in yogurt during refrigerated Storage. *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences*, 2

## Effect of asparagus extract and green tea extract on viability of probiotic bacteria, antioxidant activity and sensory properties of kefir

Rahaei, M. <sup>1</sup>, Pourahmad, R. <sup>2\*</sup>, Khorshidpour, B. <sup>3</sup>

1. M.Sc. Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran
2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran
3. Academic Member, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

(Received: 2020/06/21 Accepted: 2020/08/22)

Kefir is one of the fermented milk products that plays a major role in nutrition and human health. The aim of this study was to investigate the effect of adding asparagus extract and green tea extract on survival of probiotic bacteria, antioxidant activity and sensory properties of kefir. Different concentrations (0.5, 1 and 1.5%) of asparagus extract and green tea extract were used in kefir and the samples were stored at 4°C for two weeks. The results showed that addition of herbal extracts decreased pH and increased acidity and antioxidant activity of the samples ( $p \leq 0.05$ ). The highest antioxidant activity was related to the sample containing 1.5% green tea extract. During storage time, pH of the samples decreased, but acidity increased significantly ( $p \leq 0.05$ ). There was no significant difference between samples in terms of viability of *Bifidobacterium lactis* and *Lactobacillus acidophilus* ( $p > 0.05$ ). The viability of probiotic bacteria decreased significantly ( $p \leq 0.05$ ) during storage but in all samples, the number of bacteria was more than  $10^8$  CFU/ml until the end of the storage period. The sample containing 1.5% asparagus extract had the highest score of overall acceptance. Therefore, this sample was selected as the best treatment.

**Key words:** Kefir, Probiotic bacteria, Asparagus extract, Green tea extract

---

\*Corresponding Author E-Mail Address: rjpourahmad@yahoo.com