ماندگاری بیفیدوباکتریوم لاکتیس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در دوغ حاوی عصاره کاکوتی

امیرصالح وثوق[1]، مرتضی خُمیری[2]*، مهدی کاشانی نژاد[2]، سید مهدی جعفری[2]

1- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
2- عضو هیئت علمی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
(تاریخ دریافت: 87/5/5 تاریخ پذیرش:88/3/5)

چکیده

در این پژوهش قابلیت بقای دو گونه از مهم ترین باکتریهای پروبایوتیک یعنی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و بیفیدوباکتریوم لاکتیس در دوغ و همچنین اثر عرق کاکوتی که به عنوان یکی از طعم دهنده های رایج در تولید تجاری دوغ مورد استفاده قرار می گیرد بر قابلیت بقای میکروارگانیسم های فوق الذکر مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا باکتری های مذکور به نمونه های دوغ بدون عرق کاکوتی (به عنوان شاهد) و حاوی عرق کاکوتی (در سطوح 1 و 2%) تلقیح شدند و دوغهای تولید شده طی مدت زمان نه هفته نگهداری در یخچال (دمای $4\ ^{\circ}C$) به صورت هفتگی از نظر تغییرات در قابلیت بقا، pH، اسیدیته و طعم مورد بررسی قرار گرفتند. براین اساس در طی دوره نگهداری تعداد بیفیدوباکتریوم نسبت به تعداد اولیه به طور متوسط 2/5 سیکل لگاریتمی کاهش داشت این در حالی است که تعداد باکتری لاکتوباسیلوس در هفته هشتم نگهداری به صفر رسید. pH و اسیدیته نیز طی مدت زمان نگهداری تغییر جزئی داشتند. نتایج آنالیز آماری نشان داد که بین انواع دوغ از لحاظ طعم اختلاف معنی داری وجود دارد (p <0/05). مقایسات میانگین مشخص کرد که دوغ های حاوی عرق کاکوتی امتیاز بالاتری را از لحاظ طعم نسبت به دوغ معمولی کسب کردند.

کلید واژگان: دوغ، عرق کاکوتی، ماندگاری، *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*

1- مقدمه

طبق تعریف FAO پروبایوتیک ها میکروارگانیسم های زنده ای (باکتری یا مخمر) هستند که وقتی از طریق خوردن یا کارگذاری موضعی در تعداد مناسب به کار گرفته شوند باعث ایجاد یک یا چند اثر سلامت بخش بر بدن میزبان می شوند [1]. از اثرات سلامت بخش پروبایوتیک ها می توان به خواص ضد جهش زایی و ضد سرطانی [2]، تقویت و تنظیم سیستم ایمنی[3]، خواص ضد میکروبی [4]، کاهش کلسترول سرم [5، 6]، بهبود عدم تحمل لاکتوز[7] و افزایش ارزش تغذیه ای [2، 8] اشاره کرد. به منظور ایجاد اثرات سلامت بخش بر بدن میزبان لازم است که غلظت میکروارگانیسم های پروبایوتیک در محصول غذایی حامل تا حد معینی بالا باشد (10^5 cfu/ml) تا (10^7 cfu/ml) [1]. به دلیل خواص درمانی شناخته شده باکتری های پروبایوتیک، تحقیقات در مورد استفاده از آنها در تولید محصولاتی مثل ماست، پنیرهای نرم، نیمه سخت و سخت، بستنی و سایر محصولات تخمیری بصورت گسترده ای در سرتاسر جهان رو به افزایش است [9و10] . لازم به ذکر است که در بین میکروارگانیسم های پروبایوتیک شناخته شده تا امروز، لاکتوباسیلوس ها و بیفیدوباکتریوم ها معمول ترین گونه های باکتریایی مورد استفاده در تولید محصولات پروبایوتیک هستند[11و 12]. با این حال یکی از مهم ترین چالشهای موجود در زمینه تولید و فرآوری محصولات پروبایوتیک پایین بودن قابلیت بقای باکتریهای پروبایوتیک به

* مسئول مکاتبات: khomeiri@gau.ac.ir

دلیل حساسیت به شرایط سخت و دشوار درون محصول غذایی و همچنین شرایط نامساعد دستگاه گوارشی است.

در این راستا یکی از زمینه های مهم تحقیقات تلاش برای تولید محصولاتی است که بتواند محیط مناسب تری را برای بقای میکروارگانیسم های پروبایوتیک فراهم کرده و در نتیجه مدت زمان طولانی تری تعداد میکروارگانیسم ها را در دامنه استاندارد حفظ کند. با این همه متاسفانه در کشور ایران علی رغم انجام برخی کارهای آزمایشگاهی که در مورد تولید محصولاتی مانند ماست و پنیر پروبایوتیک انجام شده، به جز موارد معدود مثل تولید ماست پروبایوتیک با عنوان تجاری "بیوماس" و نوشیدنی پروبایوتیک کفیرتوسط شرکت فرآورده های لبنی پگاه و همچنین تولید ماست پروبایوتیک توسط شرکت فرآورده های لبنی پاک هنوز تولید و مصرف فرآورده های پروبایوتیک گسترش چشمگیری نداشته است.

دوغ یکی از نوشیدنیهای بومی کشور ایران است که پیشینه تاریخی طولانی مصرف دارد. از خواص تغذیه ای دوغ می توان به افزایش ویتامین ها و متابولیت های مغذی، بهبود جذب کلسیم و قابلیت هضم بیشتر نسبت به شیر اولیه اشاره کرد. از طرف دیگر نتایج بعضی از تحقیقات انجام شده نشان داده اند که نوشیدنیهای لاکتیکی یکی از محصولات مناسب برای حمل میکروارگانیسم های پروبایوتیک به بدن انسان است [13]. در دهه اخیر در راستای سیاستهای تغذیه ای دولت ایران مبنی بر جایگزینی دوغ به جای نوشابه های گازدار موجود، تولید صنعتی دوغ رواج زیادی یافته وتا حد زیادی با استقبال مردم روبرو شده است.

عرق گیاهی مورد استفاده در این پژوهش عرق گیاه کاکوتی است که گیاهی از جنس Ziziphora متعلق به خانواده نعناعیان[1] است و شامل چهار گونه (*Z. clinopodioides*, *Z. tenuior*،*Z. capitata*, *Z.persica*) می باشد که در سرتاسر کشور ایران پراکنده است[15،14]. *Z. clinopodioides* با نام فارسی ((کاکوتی کوهی)) حاوی مواد ضد باکتری و آنتی اکسیدانی است و از قدیم الایام در طب سنتی کاربرد داشته است. از خواص درمانی این گیاه می توان به فعالیت ضد توموری و ضد سرطانی آن اشاره کرد [16،15].

این پژوهش با توجه به اهمیت تولید محصولات پروبایوتیکی و جایگزینی دوغ به جای نوشابه در کشور ایران طراحی و اجرا شد. تولید "بایودوغ" می تواند به عنوان یک فرآورده با ارزش علاوه بر توسعه و ترویج مصرف محصولات پروبایوتیک به جایگزینی دوغ به جای نوشابه و ارتقاء سلامت عمومی جامعه کمک کند.

2- مواد و روش ها

دراین پروژه دو گونه از مهم ترین میکروارگانیسمهای پروبایوتیک یعنی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و*بیفیدوباکتریوم لاکتیس* به سه نوع دوغ بدون عرق کاکوتی (به عنوان شاهد)، دوغ حاوی 1% عرق کاکوتی و دوغ حاوی 2% عرق کاکوتی تلقیح شدند و دوغهای تولید شده طی مدت زمان نه هفته نگهداری در یخچال(دمای$4\ ^{\circ}C$) به صورت هفتگی از نظر تغییرات در قابلیت بقا، pH، اسیدیته و طعم مورد بررسی قرار گرفتند.

میکرو ارگانیسم های مورد استفاده

میکروارگانیسم های مورد استفاده دراین تحقیق به صورت تک سویه ای از شرکت شرکت کریستین هانسن[2] خریداری شدند.

آماده سازی مایه تلقیح

با توجه به اینکه در محصولات حامل تعداد باکتری تلقیح شده به محصول باید برابر تعداد نهایی مورد نظر باشد. لذا در این تحقیق ابتدا کل کشت آغازگر در 1000 میلی لیتر شیر پس چرخ استریل حل شد و پس از تقسیم شدن در حجم های کوچکتر با ازت مایع منجمد و در فریزر $-80^{\circ}C$ نگهداری شد سپس با توجه به تعداد تقریبی میکروارگانیسم پروبایوتیک در هر میلی لیتر از شیر بدون چربی حاوی کشت آغازگر، میزانی از مایه تلقیح به نمونه دوغ اضافه شد که هر میلی لیتر از دوغ تولیدی حاوی حدود 1×10^{7} میکروارگانیسم پروبایوتیک باشد. لازم به ذکر است که مایه تلقیح قبل از اضافه شدن به نمونه های دوغ به منظور فعال سازی به مدت 2 ساعت در دمای $42\ ^{\circ}C$ گرمخانه گذاری شد.

1. Lamiaceae

2. Christain Hansen

آماده سازی محصول

ابتدا اجزاء اصلی تشکیل دهنده دوغ یعنی ماست(تهیه شده از شرکت فرآورده های لبنی پگاه گلستان)، آب و نمک با نسبت مناسب (50% ماست، 50%آب دارای نمک به غلظت نهایی 1%) بوسیله مخلوط کن مخلوط شدند و پس از کنترل و تنظیم ماده خشک در حد 6/5% در دمای 80°C به مدت 30 دقیقه پاستوریزه شدند. پس از سرد شدن دوغ تا دمای 42 °C میکروارگانیسم های پروبایوتیک فعال سازی شده (La5 و Bb12) به نسبت مساوی به دوغ اضافه شدند. پس از انجام مرحله فوق عرق کاکوتی(تهیه شده از کارخانجات گلچکان زمانی واحد نمونه کیفیت سال1385 استان خراسان رضوی) که قبلا با فیلتر استریل شده بود در سطوح 1% و 2% (حجمی-حجمی) به نمونه های دوغ حاوی میکروارگانیسم اضافه شد. سپس دوغهای تولیدی تحت شرایط استریل در بطری های پلی اتیلن(PET) بسته بندی شده و در دمای 4 °C قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل شیمیایی

تغییرات pH به صورت هفته در میان بوسیله pH متر Knick (مدل 766 ساخت آلمان) مجهز به الکترود اندازه گیری همزمان دما و pH اندازه گیری شد. اسیدیته نیز به روش دورنیک طی دوره نگهداری به صورت هفته در میان مورد ارزیابی قرار گرفت. ماده خشک نیز پس از تولید به روش پیشنهادی AOAC اندازه گیری و کنترل گردید(17).

آنالیز میکروبی

رقیق سازی نمونه های دوغ به منظور شمارش با استفاده از محلول بافری آب پپتونه و به روش سریالی انجام شد. پس از انجام رقیق سازی سلولهای زنده به روش ریختن در پلیت[1] کشت داده شده و شمارش شدند.برای شمارش Bb12 از محیط کشت اختصاصی MRS-NNLP و گرمخانه گذاری در دمای37 °C به مدت 72 ساعت در شرایط بی هوازی استفاده شد(18). برای شمارش La5 نیز از محیط کشت MRS-IM با محلول مالتوز (پیشنهاد شده توسط شرکت کریستسن هانسن) و گرمخانه گذاری در دمای37 °C و مدت زمان 72 ساعت در شرایط هوازی استفاده شد.

تجزیه و تحلیل خواص حسی

خواص حسی نمونه های دوغ یکبار پس از تولید برای تعیین بهترین دوغ از لحاظ طعم و یکبار پس از انتهای آزمایشات به منظور بررسی تغییرات طعم طی دوره نگهداری مورد سنجش قرار گرفت. برای این منظور از آزمون هدونیک پنج نقطه ای استفاده شد. ابتدا داده های کیفی حاصل از اعلام نظر پانلیست ها به داده های کمی تبدیل شد(19) و سپس توسط نرم افزار آماری SAS مورد بررسی قرار گرفت(20).

تجزیه و تحلیل آماری

به طور کلی در این آزمایش 3 تیمار (دوغ معمولی، دوغ کاکوتی 1% و دوغ کاکوتی 2%) و هر تیمار در سه تکرار انجام شد. نتایج حاصل از شمارش باکتریها طی مدت زمان نگهداری به درصد بقا نسبت به تعداد اولیه تبدیل شده و سپس با استفاده از نرم افزار آماری SAS تجزیه و تحلیل شد(20).

3- نتایج

قبل از بررسی نتایج ذکر این نکته ضروری به نظر می رسد که به دلیل تفاوت در تحمل ذاتی میکروارگانیسم های مختلف در برابر ترکیبات گیاهی و همچنین ماهیت و ساختار این مواد، قابلیت بقای میکروارگانیسم ها طی قرارگیری در معرض ترکیبات یاد شده ممکن است متفاوت باشد(16).

3- 1- بررسی قابلیت بقای La5 در دوغ و اثر عصاره کاکوتی بر آن

نتایج تجزیه و تحلیل آماری حاکی از معنی دار بودن اختلاف درصد بقای باکتری La5 بین دوغ معمولی و دوغهای حاوی عرق کاکوتی بود (p <0/05). بررسی مقایسات میانگین بوسیله آزمون چند دامنه ای دانکن (α=0/05) نشان داد که درصد بقای باکتری فوق در دوغ حاوی عرق کاکوتی بالاتر از دوغ معمولی است. با این حال بین دوغ حاوی 1%عرق کاکوتی با دوغ حاوی 2% عرق کاکوتی از این لحاظ تفاوت معناداری وجود ندارد. شکل1 روند کاهش تعداد باکتری La5 را طی مدت زمان 9 هفته نشان می دهد.

با بررسی نتایج فوق می توان به این جمع بندی رسید که به طور کلی عرق کاکوتی باعث افزایش قابلیت بقای باکتری فوق در دوغ سنتی می شود اما قابلیت بقای باکتری La5 در دو سطح عرق کاکوتی مورد استفاده تفاوت معناداری ندارد. هر چند تا به حال تحقیقات زیادی در مورد تاثیر عرقیات گیاهی بر

1. Pour Plate

قابلیت بقای باکتریهای پروبایوتیک طی مدت زمان نگهداری در یخچال انجام نشده است. با این حال اثرمثبت برخی از عصاره های گیاهی و ادویه جات بر باکتریهای اسید لاکتیک در برخی از تحقیقات به اثبات رسیده است. از جمله می توان به آزمایشات زایکا و همکاران (1978) اشاره کرد. آنها نشان دادند که برخی از ادویه ها بر رشد و تولید اسید در بعضی از کشتهای آغازگر لاکتیکی اثر تحریک کنندگی دارند. آنها همچنین در سال 1979 همین نتیجه را برای چند ادویه دیگر به اثبات رسانیدند. در سال 1981نیز طی آزمایش دیگری نتیجه گرفتند که پونه کوهی بر حسب مورد می تواند باعث تحریک، تاخیر یا جلوگیری از رشد باکتریهای لاکتیک شود (21، 22 و 23). نتایج آزمایشات کیوانس و همکاران (1991) نیز نشان داد که اسانس زیره سبز و پونه کوهی در غلظتهای پایین باعث تحریک رشد و تولید اسید و در غلظتهای بالا باعث جلوگیری از رشد باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم می شود(24). همانطور که ملاحظه می شود این نتایج تا حد زیادی داده های به دست آمده از آزمایشات ما را تایید می کند. طبق مطالعات انجام شده به نظر می رسد که یکی از علل اثر مثبت ادویه جات و عصارهای گیاهی بر رشد و بقای باکتریهای آغازگر لاکتیکی غلظت بالای یونهای فلزی به خصوص منیزیم و منگنز در این مواد باشد. لازم به ذکر است که منیزیم و منگنز جزء عناصر کمیابی است که در رشد و بقای لاکتوباسیلوسها نقش مهمی ایفا می کند (23، 25)

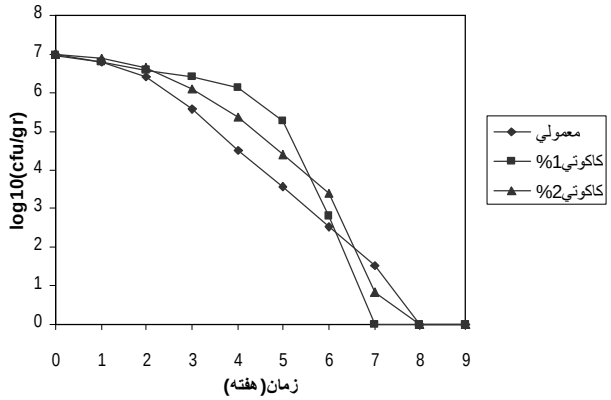
3- 2- بررسی قابلیت بقای Bb12 دردوغ و اثر عصاره کاکوتی بر آن

در این مورد نیز نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری نشان دهنده معنادار بودن اختلاف بین درصد بقای باکتری Bb12 در انواع دوغ مورد آزمایش است ($p < 0/01$). مقایسه میانگین های درصد بقا با آزمون چند دامنه ای دانکن ($\alpha=0/05$) نشان داد که درصد بقای باکتری فوق در دوغ معمولی نسبت به دوغ حاوی عرق کاکوتی بالاتر است. اما بین دوغ حاوی 1% عرق کاکوتی با دوغ حاوی 2% عرق کاکوتی از لحاظ قابلیت بقا تفاوت معناداری وجود ندارد (شکل2). همانطور که از نتایج بر می آید عرق کاکوتی بر روی قابلیت بقای باکتری Bb12 در طی نگهداری در یخچال اثر منفی به جا می گذارد با این حال از لحاظ آماری این اثر منفی بین سطوح عرق کاکوتی مورد استفاده در این آزمایش تفاوت معناداری وجود ندارد. لازم به ذکر است که آزمایشات انجام شده توسط برخی از دانشمندان نتایج ما را تایید می کند. برای مثال اثر منفی برخی از عصاره های گیاهی و ادویه جات بر باکتریهای لاکتیکی در آزمایشات انجام شده توسط کیووانس و همکاران (1991) و بایومی (1992) به اثبات رسیده (26،24).در مورد مکانیسم اثر منفی کاکوتی نتایج حاصل از برخی مطالعات انجام شده نشان می دهد که ترکیبات ضد میکروبی موجود در کاکوتی مثل پولگون[1] و تیمول[2] با بر هم زدن گرادیان pH و پتانسیل غشایی باعث اختلال در عمل غشاء برخی از میکرو ارگانیسم ها می شود(27). با این حال تا به امروز تحقیقی راجع به اثر کاکوتی بر بیفیدوباکتریوم ها انجام نشده است.

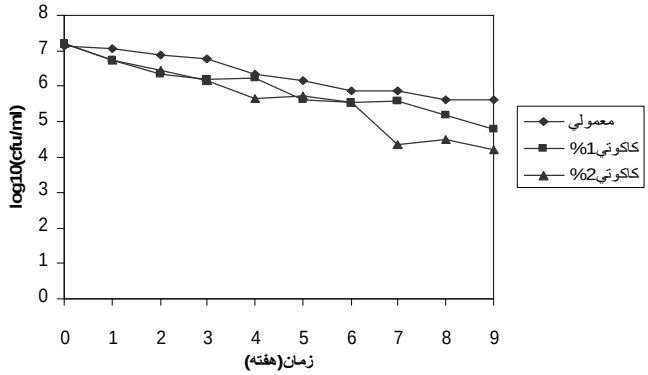
3- 3- مقایسه قابلیت بقای Bb12 و La5 در انواع دوغ

با مقایسه شکل1 و شکل2 به خوبی مشخص می شود که در دوغ سنتی باکتری Bb12 از قابلیت بقای خیلی بالاتری نسبت به با کتری La5 برخوردار است. و این موضوع در تمامی نمونه های دوغ (معمولی، کاکوتی 1% و کاکوتی 2%) به خوبی مشخص است. به طوری که تعداد باکتریهای La5 در هفته هشتم در تمامی نمونه ها به صفر رسید در حالی که تعداد با کتری Bb12 پس از طی همان مدت در دوغ کاکوتی 2% که از پایین ترین قابلیت بقا برخوردار بود به $4/2\times10^4$ cfu/ml رسید. این به آن معناست که باکتری Bb12 در طول مدت زمان نگهداری قابلیت بقای خود را تقریبا به میزان 4 سیکل لگاریتمی بهتر از La5 حفظ می کند. لازم به ذکر است که در مورد مقاومت گونه های بیفیدوباکتر و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس نتایج گوناگونی در دست است. برای مثال آزمایش نشان داده که در ماست ABT تعداد باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* سریعتر از بیفیدوباکتریوم کاهش می یابد (28). اما آزمایش دیگری حاکی از آن بود که در ماست ABT تعداد بیفیدوباکتریوم در دوره نگهداری سریع تر از *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* کاهش می یابد (29). مثال های یاد شده گویای این واقعیت هستند که تفاوت در خصوصیات هر سوش و شرایط خاص هر فرآورده، موجب می شود که ویژگی های مقاومتی یک گونه باکتری یکسان نباشد.

1. Pulegone
2. Thymol



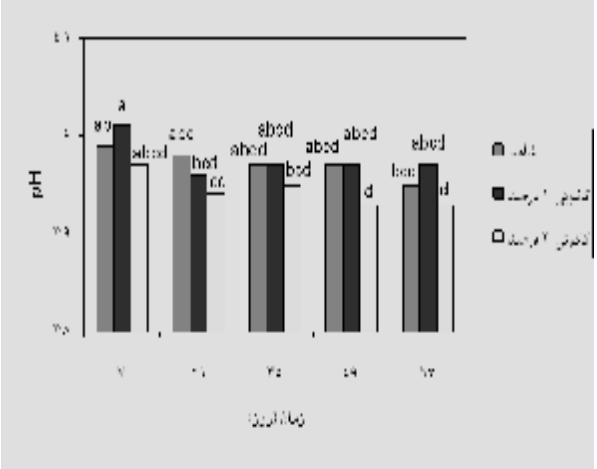
شکل1 مقایسه روند کاهش با کتری La5 طی مدت زمان نگهداری



شکل2 مقایسه روند کاهش باکتری Bb12 طی مدت زمان نگهداری

بررسی تغییرات pH واسیدیته طی دوره نگهداری

در این مورد اثرات متقابل زمان و نوع دوغ در جدول حاکی از عدم تغییرات معنی دار pH و اسیدیته طی مدت نگهداری است (p>0/05). بنابر این می توان نتیجه گرفت که روند تغییرات pH و اسیدیته بین انواع دوغ های شاهد و کاکوتی طی 2 ماه نگهداری تفاوتی ندارد. شکل3 مقایسات میانگین pH دوغهای شاهد و کاکوتی طی مدت زمان نگهداری را نشان می دهد. همانطور که درشکل مشخص است حروف شاخص مقایسات میانگین نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار بین انواع دوغ طی مدت زمان نگهداری است. در مورد اسیدیته نیز مقایسات میانگین عدم معنی دار بودن تفاوت اسیدیته در دوغ های مورد مقایسه طی دوره نگهداری را تایید می کند (شکل3).



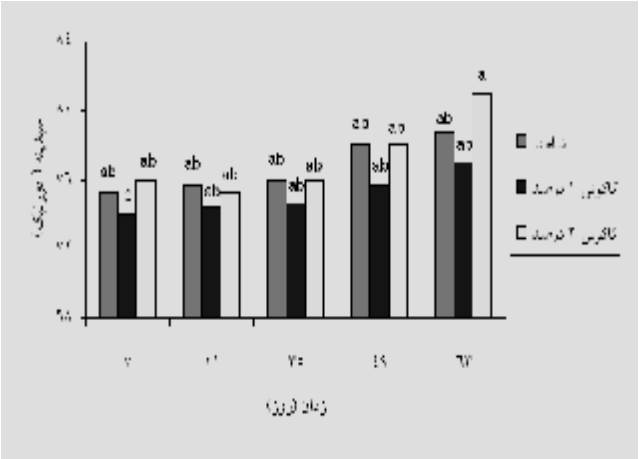
شکل3 مقایسه تغییرات pH در دوغهای شاهد و کاکوتی طی مدت زمان نگهداری

به طور کلی باکتری های پروبایوتیک از جمله باکتری های لاکتیکی هستند که در مراحل نگهداری یخچالی میزان ناچیزی اسید تولید می کنند. اما باکتری های سنتی ماست از جمله *L. bulgaricus* و *S. thermophilus* بر خلاف پروبایوتیک ها حتی در طی نگهداری یخچالی نیز فعالیت دارند و از طریق تخمیر لاکتوز مقداری اسید لاکتیک تولید می کنند که باعث کاهش pH قابل توجهی در حین نگهداری می شوند (30). این مسئله باعث پدیده بیش اسیدی شدن[1] در محصولات حاوی باکتری های سنتی ماست طی نگهداری می شود. بیش اسیدی شدن یکی از دلایل افت شدید پروبایوتیک ها طی نگهداری در ماست و محصولات مشابه است. برای مثال مودلر و همکاران، 1994 گزارش کردند که تعداد باکتری های پروبایوتیک درحضور باکتریهای سنتی ماست طی 14 روز به صفر می رسد[31] شاید بتوان دلیل عدم تغییر pH و اسیدیته در نمونه های دوغ را به از بین رفتن باکتریهای سنتی ماست در اثر فرآیند حرارتی و در نتیجه جلوگیری از اسید سازی طی دوره نگهداری [32] و همچنین تولید مقادیر ناچیز اسید توسط باکتری های پروبایوتیک طی نگهداری در یخچال نسبت داد [33].

نتایج به دست آمده از این پژوهش در بعضی از آزمایشات که توسط دیگر دانشمندان انجام شده نیز به اثبات رسیده است. برای مثال النمر و همکاران در سال 2004 طی آزمایشی بر روی قابلیت بقای گونه ای از بیفیدوباکتریوم ها در لبنه[2] حاوی برخی از اسانسهای گیاهی متوجه شدند که در طی نگهداری

1. Post acidification
2. Labneh

pH و اسیدیته نمونه های حاوی اسانس با نمونه شاهد تفاوت معنی داری ندارد(34). همچنین در طی آزمایش دیگری در سال 2004 بر روی یک نوشیدنی بر پایه آب پنیر و حاوی اسانس های گیاهی نتیجه فوق را اثبات کردند[35] .



شکل 4 مقایسه تغییرات اسیدیته در دوغهای شاهد و کاکوتی طی مدت زمان نگهداری

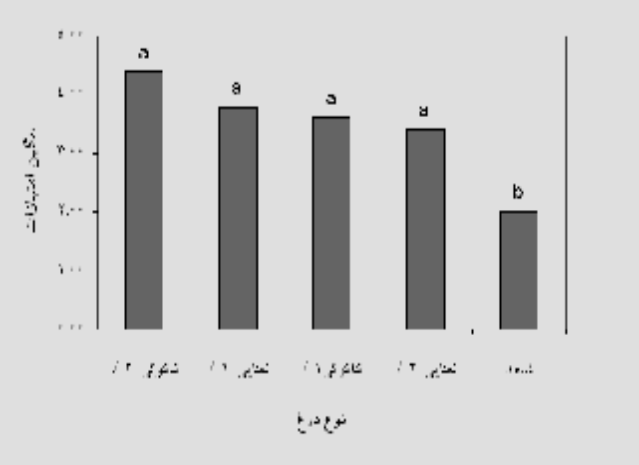
بررسی خصوصیات حسی

در این مرحله مقایسات بین انواع دوغ از لحاظ طعم بوسیله آزمون هدونیک پنج نقطه ای صورت گرفت. به منظور بررسی اثر گذشت زمان بر طعم، دوغهای مورد آزمایش یکبار پس از تولید و یکبار پس از اتمام مدت نگهداری مورد آزمایش قرار گرفتند. به دلیل اینکه تفاوت بین انواع دوغ از لحاظ خواص ارگانولپتیکی بین طعم آنهاست لذا در آزمون پانل این فاکتور مورد ارزیابی قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل داده های حاصل از ارزیابی طعم نشان دهنده معنی دار بودن اختلاف طعم دوغ های تولیدی بود (p<0/05). با دقت به شکل 4 متوجه می شویم تفاوت معنی دار فقط بین دوغهای حاوی عرقیات گیاهی و دوغ بدون عرقیات گیاهی است به طوری که دوغهای حاوی عرقیات گیاهی امتیاز نسبتا خوبی گرفته و می توان گفت که از نظر پانلیست ها مورد قبول گرفته است در حالی که عکس این نتیجه در مورد دوغ بدون عرقیات گیاهی صادق است.

علت این امر را شاید بتوان به عادت کردن ذائقه مصرف کنندگان به دوغهای حاوی طعم دهنده های گیاهی که امروزه به طور صنعتی تولید می شوند نسبت داد. آزمایشات النمر و همکاران، 2004 بر لبنه و نوشیدنی آب پنیر حاوی اسانس گیاهی نتیجه فوق را تایید می کند[35] .

نتایج تجزیه و تحلیل آماری داده های حاصل از بررسی تغییرات طعم طی مدت زمان نگهداری نشان داد که زمان اثر معنی داری بر طعم دوغهای تولیدی ندارد (p>0/05). به طور کلی علت تغییر طعم ماست و دوغ طی نگهداری، فعالیت و تولید متابولیت توسط میکروارگانیسم های سنتی ماست است. لذا دلیل تغییر نکردن طعم دوغهای مورد آزمایش در طی دوره نگهداری را می توان به از بین رفتن این میکروارگانیسم ها در اثر فرآیند حرارتی و همچنین عدم تولید اسید لاکتیک و سایر متابولیت ها توسط میکروارگانیسم های پروبایوتیک در حین نگهداری یخچالی نسبت داد[32].



شکل 5 مقایسات میانگین دوغهای تولیدی از لحاظ طعم

4- نتیجه گیری

با توجه به فاکتور قابلیت بقا اگر بخواهیم بایودوغ حاوی باکتری La5 تولید کنیم باید دوغ حاوی عرق کاکوتی را پیشنهاد دهیم چرا که از قابلیت بقای بیشتری نسبت به دوغ معمولی حاوی La5 برخوردار است که براساس نتایج حاصل از قانون FAO تاریخ انقضای این دوغ حدود 25 روز (سه هفته) تعیین می شود چرا که پس از این مدت تعداد میکروارگانیسم های زنده و فعال آن از حد پیشنهاد شده (10^6 cfu/gr) پایین تر می آید (شکل-1). از لحاظ مشتری پسندی نیز دوغ حاوی عرق کاکوتی امتیاز بهتری را از جنبه طعم نسبت به دوغ معمولی کسب کرد و مورد پسند پانلیست ها قرار گرفت.

اگر بخواهیم بایودوغ حاوی باکتری Bb12 تولید کنیم از جنبه قابلیت بقا دوغ معمولی از بیشترین قابلیت بقا نسبت به دو نوع دوغ دیگر برخوردار است. البته لازم به ذکر است که دوغ معمولی در آزمون پانل امتیاز کمتری را نسبت دوغهای حاوی عرق کاکوتی به دست آورده است. با این همه چون اختلاف درصد ماندگاری بین دوغ معمولی و دوغهای حاوی عرق کاکوتی خیلی زیاد نیست می توان دوغهای حاوی عرق کاکوتی را برای تولید صنعتی مورد استفاده قرار داد.

مسلم است با توجه به قابلیت بقای بهتر باکتری Bb12 نسبت به La5 بهترین انتخاب اضافه کردن باکتری Bb12 به دوغ حاوی عرق کاکوتی است.

5- منابع

[1] FAO/WHO Experts' Report. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. 2001

[2] Rasic, J. L. The role of dairy foods containing bifido and *acidophilus* bacteria in nutrition and health? North European Dairy Journal 1983; 4: 1-5

[3] Donnet-Hughes, A., Rochat, F., Serrant, P., Aeschlimann, J. M., Schiffrin, J.E. Modulation of nonspecific mechanisms of defense by lactic acid bacteria: Effective dose. Journal of Dairy Science 1999; 82: 863–869

[4] Fuller, R. (Ed.). *Probiotics: the scientific basis*. London: Chapman & Hall 1992. p. 40-111

[5] Du Toit, M., Franz, C. M. A. P., Dicks, L. M. T., Shillinger, U., Haberer, P., Warlies, B., et al. Characterization and selection of probiotic lactobacilli for a preliminary mini pig feeding trial and their effect on serum cholesterol levels, feces pH and feces moisture content. International Journal of Food Microbiology 1998; 40: 93–104

[6] Taranto, M. P., Medici, M., Perdigon, G., Ruiz Holgado, A. P., Valdez, G. F. Evidence for hypocholesterolemic effect of *lactobacillus reuteri* in hypercholesterolemic mice. Journal of Dairy Science 1998; 81: 2336–2340

[7] Hui, Y.H. Dairy science and technology handbook,Vol. 2. VCH Publishers, Inc.New York 1993 .p.128-173

[8] Tamime, A. Y., Marshall, V. M. E., Robinson, R. K. Microbiological and technological aspects of milks fermented with bifidobacteria. Journal of Dairy Research 1995; 62: 151–187

[9] Farnworth, E.R. The beneficial health effects of fermented foods — potential probiotics around the world. Journal of Nutraceuticals, Functional & Medical Foods 2005; 493–117

[10] Desmond, C. B., Corcoran, M., Coakley, M., Fitzgerald, G. F., Ross, R. P., Stanton, C. Development of dairy-based functional foods containing probiotics, and prebiotics. Australian Journal of Dairy Technology 2005; 60: 121-126

[11] Sanders, M.E.,. Lactic acid bacteria as promoters of human health. In: Goldberg, L. (Ed.), Functional Foods. Chapman and Hall Co., New York 1997. p. 294–322.

[12] Isolauri, E. The role of probiotics in paediatrics. Current Paediatrics 2004; 14: 104–109.

[13] Gardiner, G.E., Bouchier, P., O'Sullivan, E., Kelly, J., Collins, J.K., Fitzgerald, G., et al. A spray-dried culture for probiotic Cheddar cheese manufacture. International Dairy Journal 2002; 12: 749– 756.

[14] Mozafarrian, V. Dictionary of Iranian plants names. Tehran, Farhange moaser Publication. 1996

[15] Salehi, P., Sonboli, A., Eftekhar, F., Nejad-Ebrahimi, S., Yousefzadi, M. Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of *Ziziphora clinopodioides* subsp. rigida (BOISS.) RECH. f. from Iran. Biol. Pharm 2005;Bull 28: 1892-1896.

[16] Ozturk, S., Ercisli, S.Antibacterial activity and chemical constitutions of *Ziziphora clinopodioides*. Food Control 2007; 18: 535-540

[17] AOAC. Official methods of Analysis, Association of official analytical chemists, Washington DC, USA. 2000

[18] Dave, R.I., Shah, N.P. Evaluation of media for selective enumeration of Streptococcus thermophilus, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, and bifidobacteria. Journal of Dairy Science 1996; 79: 1529– 1536.

[19] Lawless, H. T., Hymann, H. Sensory evaluation of Food: principle and practice. 1Ed., Chapman and Hall, New york, NY 1998. 820p

[20] SAS. 2001. SAS user's guide: Statistics. Statistical Analysis System Institue Inc., Carry, NC

[21] Zaika, L.L., Zell, T.E., Palumbo, S.A., Smith, J.L. Effect of spices and salt on fermentation of Lebanon bologna-type sausage. Journal of Food Science 1978; 43: 186-189

[22] Zaika, L.L., Kissinger, J.C. Effects of some spices on acid production by starter cultures. Journal of Food Protection1979; 42 : 572-576

[22] Zaika, L.L., Kissinger, J.C. Inhibitory and stimulatory effects of oregano on *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus cerevisiae*. Journal of Food Science 1981; 46:1205-1210.

[23] Kivanc, M., Akgule, A., Dogan, A. Inhibitory and stimulatory effects of cumin, oregano and their essential oil on growth and acid production of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc mesenteroides*. International Journal of Food Microbiology 1991; 13: 81-85

[24] Sabine D.B., Vaselekos, J. Trace element requirements of Lactobacillus acidophilus. Nature 1967; 214: 508-520

[25] Bayoumi, S. Bacteriostatic Effect of some spices and their utilization in the manufacture of yoghurt. Chemie - Microbiologie-Technologie-der LebenSmittel 1992; 14: 21-26

[26] Burt S., Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review.Int. J. Food Micro 2004; 94: 223-253

[27] Kurman, J. A., Rasic, R. L. The health potential of products containing bifidobacteria. In R. K. Robinson (Ed.), *Theraputic properties of fermented milks*). London: Elsevier Applied Food Science Series 1991. p. 117–158

[28] Kneifel, W., Jaros, D., Erhard, F. Microflora and acidification of yogurt and yogurt-related products fermented with commercially available starter cultures, International Journal of Food Microbiology 1993; 18:179-189

[29] Shah, N. P., Lankaputhra, W. E. V., Britz, M., Kyle, W. S. A. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in commercial yoghurt during refrigerated storage. International Dairy Journal 1995; 5(5): 515–521.

[30] Modler, H. W. Bifidogenic factors, sources, metabolism and application. International Dairy Journal 1994.; 4: 383–407.

[31] Marshall, V. M. Inoculated ecosystems in a milk environment. Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement 1992; 73:127-135.

[32] Marshall, V. M., Tamime, A. Y. Starter cultures employed in the manufacture of biofermented milks. International Dairy Journal 1997; 50: 35–39.

[33] El-Nemr, T. M., Ali, A. H., Awad, S. A. Introducing of some herb oils in the manufacture of Probiotic Labneh. Alexandria Journal of Agricultural Research 2004; 49 (2): 49-58

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

Survival of *Bifidobacterium lactis* and *Lactobacillus acidophilus* in Iranian doogh flavored by ziziphora extract

Voosogh, A. S. [1], Khomeiri, M. [2 *], Kashani Nijad, M. [3], Jafari, S. M. [2]

1- M.Sc. Student in Department of Food Science and Technology Faculty of Agriculture, Gorgan University
2- Assistant Professor in Department of Food Science and Technology Faculty of Agriculture, Gorgan University
3-Associate Professor in Department of Food Science and Technology Faculty of Agriculture, Gorgan University

In the present work, survival of two most important commercial strains of probiotic bacteria, i.e., *Lactobacillus acidophilus* (La5) and *Bifidobacterium lactis* (Bb12), during production and cold storage of Iranian Doogh, containing Ziziphora extract was studied. The bacteria inoculated into three types of Doohg, a plain sample as the control one, and two samples containing 1% and 2% Ziziphora extract. Survival of probiotic bacteria, pH, acidity and organoleptic characteristics of bio- Doogh were examined during a nine-week cold storage time (4°C). Our results revealed that the population of viable *B. lactis* reduced by 2.5 log cfu/ml, while *L. acidophilus* count reduced to zero after eight weeks at 4°C. The pH and acidity of bio-Doogh were not changed significantly (p>0.05) during cold storage period. Also, the organoleptic characteristics of the studied samples changed significantly (p<0.05). Bio-Doogh with Ziziphora extract had higher flavor scores than bio-Doogh without Ziziphora extract.

Key words: Doogh, Ziziphora extract, Survival, *Bifidobacterium lactis, Lactobacillus acidophilus.*

* Corresponding author E- Mail address: khomeiri@gau.ac.ir