

# پتانسیل عصاره آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) و پونه کوهی (*Mentha longifolia L.*) در بهبود ویژگی‌های کیفی ماست پروبیوتیک تولیدی از ترکیب شیر گاو – شیر بز

حمیدرضا مهدوی عادل<sup>1</sup>، امید سهرابی<sup>2</sup>، عبدالرضا آقاجانی<sup>3\*</sup>، محمدعلی داوودی<sup>4</sup>،  
معصومه امیری<sup>2</sup>

1- مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج، ایران.

2- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد محلات، دانشگاه آزاد اسلامی، محلات، ایران.

3- گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده مهندسی صنایع و مکانیک، واحد قزوین، دانشگاه آزاد اسلامی، قزوین، ایران.

4- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، ایران.

(تاریخ دریافت: 98/04/13 تاریخ پذیرش: 98/12/03)

## چکیده

به دلیل وجود برخی مشکلات نظیر واکنش‌های آلرژیک و چربی بالا، امروزه جایگزینی نسبی شیر گاو با شیر حیوانات دیگر نظیر بز با به‌کارگیری روش‌هایی جهت بهبود کیفیت با هدف تولید ماست حائز اهمیت است. هدف از این پژوهش، ارزیابی تأثیر عصاره آویشن شیرازی و پونه کوهی (صفر، 0/02، 0/03 و 0/05%) بر روی خواص کیفی ماست پروبیوتیک تولیدی از شیر گاو-شیر بز در نسبت‌های 10:90، 30:70، 50:50 و 100:0 بود. پس از یک روز نگهداری با انجام آزمون‌حسی، نمونه‌های برتر انتخاب شدند و آزمایشات کیفی طی 28 روز انجام گردید. نتایج نشان داد که با گذشت زمان، اسیدیته و آب‌اندازی افزایش و pH، ویسکوزیته و شمارش باکتری پروبیوتیک کاهش یافت. بیشترین ویسکوزیته مربوط به تیمار حاوی نسبت برابر شیر گاو – شیر بز و 0/05% عصاره آویشن شیرازی بود. روند فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز نامنظم، اما نزولی بود و عصاره‌های مذکور، تأثیر معنی‌داری بر این فعالیت داشتند. تیمار شیر گاو – شیر بز (10:90%) و 0/03% عصاره آویشن شیرازی، بالاترین تعداد باکتری پروبیوتیک را داشت. از نظر آزمون حسی، تیمار شیر گاو (100%) حاوی غلظت‌های مشترک (0/02%) عصاره آویشن شیرازی – پونه کوهی بالاترین امتیازات رنگ، طعم، قوام و پذیرش کلی را از نظر ارزیاب‌ها کسب نمود. نتایج نشان داد که برای دستیابی به بهترین کیفیت در مورد ویژگی‌های مختلف مربوط به ماست پروبیوتیک، می‌بایست سطوح مختلفی از عصاره آویشن شیرازی و پونه کوهی و نسبت‌های بهینه‌ای از شیر بز شیر گاو مورد استفاده قرار گیرد.

کلید واژگان: آویشن شیرازی، پروبیوتیک، پونه کوهی، شیر بز، ماست.

## 1- مقدمه

در سال‌های اخیر، افزایش هزینه‌های درمان، مردم را به سمت یافتن راه‌های ارزان‌تر و مؤثرتر برای حفظ سلامت تشویق کرده است. بنابراین، تمایل به مواد غذایی فراسودمند<sup>1</sup> نظیر مواد غذایی حاوی پروبیوتیک‌ها<sup>2</sup> و پری‌بیوتیک‌ها<sup>3</sup> و نیز آگاهی مصرف‌کنندگان از ارتباط بین غذا و سلامتی افزایش یافته است. پروبیوتیک‌ها به عنوان میکروارگانیسم‌هایی که در تعداد کافی، خواص سلامتی‌بخشی برای میزبان به همراه دارند، تعریف شده‌اند [1] و مرسوم‌ترین آنها به جنس‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم تعلق دارند [3]. از خواص سلامتی‌بخش پروبیوتیک‌ها می‌توان به بهبود هضم لاکتوز، بهبود جذب کلسیم، سنتز ویتامین‌ها و پروتئین‌ها، تحریک و ارتقاء سیستم ایمنی بدن، کاهش سطح کلسترول سرم خون، کاهش تظاهرات آلرژیک، جلوگیری از انواع سرطان به ویژه سرطان روده بزرگ، بهبود تعادل میکروبی روده، جلوگیری از رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و افزایش ارزش تغذیه‌ای اشاره کرد [5].

شیر و فرآورده‌های آن به دلیل دارا بودن بسیاری از مواد مغذی ضروری نظیر پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی، محیط مناسبی جهت رشد باکتری‌های پروبیوتیک است [5]. شیر بز به واسطه قابلیت هضم بالا (به دلیل گلبول‌های چربی با قطر کوچک‌تر و توزیع برابر چربی و پروتئین) و ویژگی‌های رژیمی [6]، کیفیت بیولوژیکی و تغذیه‌ای قابل توجهی دارد. حضور پروتئین‌های با ارزش بیولوژیکی بالا، اسیدهای چرب ضروری، ویتامین‌ها [7] و املاح به ویژه کلسیم، آهن، سدیم، منیزیم، پتاسیم و فسفر [8]، شیر بز را به ماده‌ای منحصر به فرد تبدیل نموده است. طعم قوی شیر بز به واسطه آزادسازی اسیدهای چرب کوتاه زنجیر است [9]. خواص ضدالتهابی، قابلیت دسترسی زیستی بالا و عدم حضور ترکیبات آلرژی‌زا در مقایسه با شیر گاو از ویژگی‌های شاخص شیر بز می‌باشد [10].

در بین فرآورده‌های تخمیری شیر، ماست شناخته‌شده‌تر از سایر فرآورده‌ها بوده و مقبولیت بیشتری در دنیا دارد. این فرآورده به وسیله تخمیر لاکتیکی توسط دو باکتری آغازگر، لاکتوباسیلوس

دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس<sup>4</sup> و استرپتوکوکوس ترموفیلوس<sup>5</sup> به دست می‌آید [1]. جایگزینی نسبی یا کامل شیر گاو با شیر بز جهت تولید ماست، بر خواص فراسودمند این فرآورده لبنی خواهد افزود. در سال‌های اخیر تلاش‌های زیادی به منظور بهبود کیفیت تغذیه‌ای انواع ماست با کمک ترکیبات ضد میکروبی و اجزاء فراسودمند نظیر آنتی‌اکسیدان‌ها انجام شده است [11]. گیاهان دارویی<sup>6</sup> از منابع بالقوه‌ای هستند که از گذشته‌های بسیار دور، خواص تغذیه‌ای، درمانی و دارویی آنها مورد توجه قرار گرفته است [12]، ضمن اینکه ویژگی‌های ضد میکروبی و ضد اکسیداسیون این گیاهان به اثبات رسیده است [13]. عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی و ترکیباتشان به عنوان متابولیت‌های ثانویه گیاهان می‌باشند و خاصیت ضدباکتریایی آنها مدت‌ها است که شناخته شده است و کاربردهای زیادی به عنوان طعم‌دهنده و نگهدارنده در صنایع غذایی و دارویی دارند [14]. آویشن شیرازی با نام علمی *Zataria multiflora*، گیاهی از تیره نعنائیان و از گیاهان بومی ایران، پاکستان و افغانستان است. این گیاه حاوی ترکیبات مؤثره به ویژه کارواکرول، تیمول، لینالول و پارا-سیمن است [15]. پونه کوهی<sup>7</sup> با نام علمی *Mentha longifolia L.* و در خانواده Laminaceae بوده و به صورت وحشی در مکان‌های مرطوب مانند حاشیه رودخانه‌ها روئیده و در سراسر مناطق معتدله نواحی مرکزی و جنوب اروپا، جنوب غربی آسیا و استرالیا رشد می‌کند [16]. افزودن عصاره گیاهان دارویی به فرمولاسیون انواع ماست به دلیل دارا بودن خواصی که ذکر گردید، به تولید ماست فراسودمند با خواص کیفی مناسب و قابلیت پذیرش مطلوب منجر خواهد شد. در این زمینه، تحقیقاتی انجام شده است که از آن جمله می‌توان به بررسی تأثیر عصاره قاصدک<sup>8</sup> بر زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم طی 21 روز نگهداری ماست [17] و ارزیابی روند تغییرات فیزیکوشیمیایی و میکروبی ماست پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس کازئی در حضور غلظت‌های مختلف عصاره نعناع<sup>9</sup> [18] اشاره نمود که تمام نتایج، بهبود ویژگی‌های کیفی و افزایش زنده‌مانی سویه‌های پروبیوتیک موجود در نمونه‌های ماست را به اثبات رسانده است. هدف از

4. *Lactobacillus delbruckii. ssp. bulgaricus*5. *Streptococcus thermophilus*

6. Medicinal plants

7. Oregano

8. *Taraxacum officinalis*

9. Mentha

1. Functional food

2. Probiotics

3. Prebiotics

گرمخانه‌گذاری شدند. در پایان، ظروف به سردخانه منتقل گردید [20]. جهت تولید ماست پروبیوتیک بعد از تهیه شیر خام گاو و بز، نسبت‌های 90:10، 70:30، 50:50 و صفر: 100 درصد وزنی - وزنی شیر گاو؛ شیر بز تنظیم گردید. سپس مقدار 1/5 درصد وزنی - وزنی شیر خشک بدون چربی با هدف افزایش مواد جامد محصول به شیر اضافه شده و عملیات حرارتی (90 درجه سانتی‌گراد به مدت 15 دقیقه) اعمال گردید. بعد از آن، دمای شیر به 43-42 درجه سانتی‌گراد کاهش یافت و مقادیر عصاره‌های آویشن شیرازی و پونه کوهی به صورت منفرد و مخلوط‌های دوتایی (صفر، 0/03 و 0/05 درصد) مطابق جدول 1 به نمونه‌های شیر اضافه شد. در مرحله بعد، تلقیح همزمان آغازگرهای ماست به میزان 2 درصد وزنی - وزنی به همراه لاکتوباسیلوس پاراکازنی به شیر صورت گرفت. سپس نمونه‌ها در انکوباتور با دمای 40 درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند تا pH آنها به حدود 4/5-4/7 برسد. پس از آن تا 6-4 درجه سانتی‌گراد سرد شده و بعد از مدت کوتاهی در این دما نگهداری شدند. در ادامه، یک روز بعد از تولید، تمام تیمارها مورد ارزیابی حسی توسط ارزیابان حسی قرار گرفتند و تیمارهای نامطلوب از نظر قابلیت پذیرش حذف گردیده و مابقی تیمارهای منتخب مورد آزمون‌های مختلف زیر طی روزهای 7، 14، 21 و 28 قرار گرفتند.

**Table 1** The characteristics of studied treatments.

Treatments	<i>M. longifolia</i> extract	<i>Z. multiflora</i> extract	Goat's : Cow's milk
T1	0	0/03	
T2	0	0/05	
T3	0/03	0	90:10
T4	0/05	0	
T5	0	0/03	
T6	0	0/05	
T7	0/03	0	70:30
T8	0/05	0	
T9	0	0/03	
T10	0	0/05	50:50
T11	0/03	0	
T12	0/05	0	
C1	0/02	0/02	0: 100
C2	0/02	0/02	100:0

پژوهش حاضر، ارزیابی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی ماست پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس پاراکازنی تولیدی از ترکیب شیر گاو - شیر بز در حضور عصاره آویشن شیرازی و پونه کوهی بوده است.

## 2- مواد و روش‌ها

### 2-1- استخراج عصاره‌های آویشن شیرازی و

#### پونه کوهی

پس از تأیید گونه گیاه آویشن شیرازی و پونه کوهی توسط محققین بخش هرباریوم مؤسسه جنگل‌ها و مراتع ایران (استان البرز، کرج)، سرشاخه‌های هوایی گیاه پس از خشک‌شدن در سایه، آسیاب شده و به بخش عصاره‌گیری (آزمایشگاه پارک علم و فناوری دانشگاه تهران، واقع در کرج) انتقال یافت. سپس 100 گرم از پودر هر کدام از دو گیاه به ارلن مایر 2000 میلی-لیتری منتقل گردید و 1000 میلی‌لیتر اتانول 99/7 درصد بر روی پودرها اضافه شده و درب ارلن مایر با پارافیلیم بسته شد. ارلن‌ها به مدت 24 ساعت روی شیکر باقی ماندند و سپس صاف شدند. بر روی تفاله باقی مانده، مجدداً حلال اضافه شد و طی 24 ساعت، عملیات عصاره‌گیری انجام گرفت. تا سه مرتبه حلال اضافه شد که حاصل کار، حدود 2000 میلی‌لیتر محلول صاف سبز رنگ بود. عصاره حاصل به کمک تبخیر کننده چرخان در دمای 40 درجه سانتی‌گراد تغلیظ و تا زمان استفاده در ظروف غیرقابل نفوذ به هوا در دمای یخچال نگهداری شد [19].

### 2-2- تولید نمونه‌های ماست پروبیوتیک

برای تهیه کشت اولیه، ابتدا دو لیتر شیر خام (1/5 درصد چربی) تحت فرآیند حرارتی 85-80 درجه سانتی‌گراد به مدت 15-20 دقیقه قرار گرفت. سپس شیر حرارت دیده به دو ارلن مایر یک لیتری انتقال داده شده، کشت ترکیبی ماست با مشخصه YC-x11 حاوی لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس به یک ارلن و بسته 25 گرمی حاوی سویه پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پاراکازنی هر دو به صورت خشک‌شده انجمادی (DVS<sup>3</sup>)، نمایندگی شرکت کریستین هانسن، دانمارک) به ارلن دیگر منتقل گردید. ارلن‌ها به مدت 12 ساعت در دمای 4 درجه سانتی‌گراد

3. Direct vat set

**3-2- روش‌های آزمون****1-3-2- اندازه‌گیری pH**

pH نمونه‌ها با استفاده از pH متر دیجیتال (Metrohm مدل 744، سوئیس) در دمای 25 درجه سانتی‌گراد و بر اساس روش استاندارد ملی ایران شماره 2852 اندازه‌گیری شد [21].

**2-3-2- اندازه‌گیری اسیدیته**

اسیدیته (بر اساس درجه دورنیک) نمونه‌ها با روش تیتراسیون به کمک هیدروکسید سدیم یک - نهم نرمال و در مجاورت معرف فنل‌فتالین و بر اساس روش استاندارد ملی ایران شماره 2852 اندازه‌گیری شد [21].

**3-3-2- اندازه‌گیری میزان آب‌اندازی**

جهت اندازه‌گیری میزان آب‌اندازی<sup>1</sup> نمونه‌های ماست، ابتدا 25 گرم نمونه ماست در لوله‌های مخصوص سانتریفیوژ وزن شد و سپس لوله‌ها در سانتریفیوژ با دور 350G به مدت 30 دقیقه در دمای 10 درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. مایع جدا شده از نمونه که در قسمت بالای لوله جمع شده بود، خارج گردید و لوله‌ها مجدداً وزن شدند. مقدار آب‌اندازی به صورت وزن آب از دست رفته در 100 گرم ماست گزارش گردید [1].

**4-3-2- اندازه‌گیری ویسکوزیته ظاهری**

ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های ماست تولیدی (150 گرمی) به وسیله ویسکومتر بروکفیلد<sup>2</sup> مدل DV-11 و با سرعت برشی 30 دور در دقیقه با اسپیندل 64 و در دمای 10 درجه سانتی‌گراد و طی زمان 60 ثانیه اندازه‌گیری شد. با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده، اسپیندلی مناسب است که درصد گشتاور آن از 10 درصد بالاتر باشد. قبل از اندازه‌گیری ویسکوزیته، نمونه‌ها به مدت یک دقیقه به صورت دستی هم زده شدند [22].

**5-3-2- ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی**

اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های ماست پروبیوتیک توسط محلول 2 و 2 - دی فنیل - 1 - پیکریل هیدرازین (DPPH)<sup>3</sup> (Alorich D913-2، آلمان) با وزن مولکولی 394/32 و متانول انجام شد و در نهایت، جذب هر یک از نمونه‌ها در طول موج 517 نانومتر توسط دستگاه اسپکترومتر قرائت گردید [23].

**2-3-6- شمارش تعداد لاکتوباسیلوس پاراکازئی**

جهت شمارش تعداد لاکتوباسیلوس پاراکازئی طی نگهداری، از یک میلی‌لیتر نمونه، سری رقت تهیه شد و هر باکتری با سه تکرار و به روش پورپلیت بر روی محیط کشت انتخابی MRS-Bile agar کشت گردید. در ادامه، شمارش کلنی‌ها بعد از گرم‌خانه‌گذاری در دمای 37 درجه سانتی‌گراد به مدت 72 ساعت در شرایط هوازی صورت گرفت [24].

**2-3-7- آزمون‌های حسی**

بعد از نگهداری نمونه‌های ماست در یخچال به مدت 24 ساعت، برگزاری آزمون‌های حسی مقدماتی و قرار دادن یک نمونه تکراری در هر بار آزمون، در نهایت از 15 ارزیابی حسی، 12 نفر که از بیشترین دقت در ارزیابی و تشخیص نمونه‌های مشابه برخوردار بودند، انتخاب شدند. 30 گرم از هر نمونه ماست در اختیار ارزیابان حسی قرار گرفت. محل ارزیابی در طول آزمون حسی ثابت بود و زمان آزمون‌های حسی حدود ساعت 10 صبح انتخاب گردید. ارزیابی حسی مطابق روش هدونیک 5 نقطه‌ای (از بسیار مطلوب تا بسیار نامطلوب) انجام گردید و صفات رنگ، طعم، قوام و پذیرش کلی نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفت [25].

**2-4- تجزیه و تحلیل آماری**

آنالیز آماری داده‌ها با نرم افزار SPSS نسخه 24 و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون چنددانه‌ای دانکن در سطح احتمال 5 درصد انجام شد. تمامی نمودارها با نرم افزار Excel 2013 ترسیم گردید. تست نرمال بودن داده‌ها به روش کمولوگروف اسمیرنوف با نرم افزار SPSS نسخه 24 انجام شد و تمام داده‌ها نرمال بود.

**3- بحث و نتایج****3-1- ارزیابی پارامترهای فیزیوشیمیایی (pH،**

اسیدیته، آب‌اندازی، ویسکوزیته، فعالیت

**آنتی‌اکسیدانی)**

بعد از تولید نمونه‌های ماست (جدول 1) و انجام آزمون‌های حسی یک روز بعد از تولید، تیمارهای با شناسه T1، T6، T9، T10، T11، T12 و C1 جهت نگهداری طی 21 روز و انجام آزمون‌های مربوطه انتخاب شدند. مطابق جدول 2، با گذشت زمان نگهداری از مقادیر pH تیمارهای مورد بررسی

1. Syneresis  
2. Viscometre Brookfield  
3. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

کاسته شد. تیمار شیر گاو - شیر بُز (10 : 90%) محتوی 0/03 درصد عصاره آویشن شیرازی در روز بیست و یکم بالاترین pH را داشت و تفاوت آن با سایر تیمارها معنی‌دار بود ( $p < 0/05$ ). کمترین pH مربوط به تیمار شیر گاو : شیر بُز (30 : 70%) حاوی 0/05 درصد عصاره آویشن شیرازی بود که با سایر تیمارها و نمونه کنترل تفاوت معنی‌دار داشت ( $p < 0/05$ ) (جدول 2). افزایش میزان اسیدیته با افزایش زمان نگهداری نمونه‌ها اساساً به دلیل فعالیت آغازگرهای ماست است. این باکتری‌ها طی فرایند تخمیر، قند لاکتوز موجود در شیر را تجزیه کرده و تبدیل به متابولیت‌هایی نظیر اسید لاکتیک می‌کنند. با گذشت زمان، فعالیت تخمیری این باکتری‌ها افزایش یافته و میزان تولید اسید نیز روندی صعودی پیدا می‌کند. Bonczar و همکاران (2002) [26] نیز علت کاهش pH در ماست را طی نگهداری در سرما، فعالیت متابولیکی ثانویه آغازگرهای ماست گزارش دادند. با مصرف مواد قندی و اسیدهای آلی، میکروارگانیزم شروع به استفاده از منابع جایگزین می‌کند. لاکتوباسیلوس پاراکازئی و باکتری‌های آغازگر ماست دارای ویژگی‌های پروتئولیتیکی هستند. طبق مطالعات Girard و Schaffer-Lequart (2007) [27] وقتی میزان اسیدهای آمینه آزاد و پپتیدها کم باشد، باکتری‌های اسید لاکتیک که به سیستم پروتئولیتیک وابسته هستند، با هیدرولیز کافی پروتئین‌های شیر این نیاز را تأمین می‌کنند. این عمل سبب افزایش ناگهانی میکروارگانیزم‌ها شده و در نتیجه، افزایش ناگهانی در رشد باکتریایی موجب افزایش غلظت اسیدها و کاهش میزان pH می‌گردد. یکی از دلایل کاهش pH تیمارها در پژوهش حاضر را می‌توان به افزایش گروه‌های آمینو اسیدی به واسطه فعالیت لاکتوباسیلوس پاراکازئی نسبت داد [28]. تحریک باکتری‌های آغازگر ماست و نیز لاکتوباسیلوس پاراکازئی به واسطه حضور سطوح مختلف عصاره‌ها نیز به نوبه خود به کاهش میزان pH نمونه‌های ماست کمک نمود. از طرفی، عصاره‌های افزوده شده دارای pH اسیدی می‌باشند که خود می‌تواند بر میزان pH نمونه‌های حاوی عصاره مؤثر باشد.

پس - اسیدسازی<sup>1</sup> و رشد کم باکتری‌های پروبیوتیک در شیر باعث عدم مقبولیت آنها به عنوان آغازگر می‌گردد.

یکی از بهترین روش‌های توصیه شده برای کوتاه کردن زمان تخمیر و افزایش اسیدسازی، استفاده از یک کشت کمکی مانند آغازگر ماست، در کنار باکتری‌های پروبیوتیک است. مطابق جدول 2، با افزایش زمان ماندگاری نمونه‌های ماست پروبیوتیک، بر میزان اسیدیته افزوده شد. بالاترین میزان اسیدیته مربوط به تیمار مخلوط شیر گاو - شیر (30 : 70%) بز حاوی 0/05 درصد عصاره آویشن شیرازی بود که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها و نمونه کنترل داشت ( $p < 0/05$ ). کمترین میزان اسیدیته مربوط به تیمار با مقدار مساوی شیر گاو - شیر بز حاوی 0/03 درصد عصاره پونه کوهی بود که تفاوت کاملاً معنی‌داری با نمونه کنترل داشت ( $p < 0/05$ ). در روز پایانی، بالاترین اسیدیته متعلق به تیمار حاوی نسبت 30 : 70 درصد شیر گاو - شیر بز محتوی 0/05 درصد عصاره آویشن شیرازی که تفاوت معنی‌داری با نمونه کنترل داشت ( $p < 0/05$ ). تیمارهای حاوی سطوح منفرد عصاره آویشن شیرازی در نسبت‌های مختلف شیر گاو - شیر بز، مقادیر اسیدیته بالاتری را نشان دادند، اگرچه اسیدیته شیر بز در مقایسه با شیر گاو بیشتر بود که از نظر آماری این تفاوت معنی‌دار ارزیابی نگردید.

قابل ذکر است که نوسانات مقادیر اسیدیته تیمارها می‌تواند به دلیل تفاوت در ظرفیت بافری شیر گاو و شیر بز و نیز عصاره‌های مورد استفاده در فرمولاسیون باشد. تخمیر ماست با عصاره‌های گیاهی، منجر به افزایش فعالیت متابولیکی باکتری‌های ماست و افزایش اسیدیته به دلیل تولید اسیدهای آلی می‌گردد [18]. نتایج مطالعات عده‌ای از محققین نیز افزایش معنی‌دار اسیدیته ماست پروبیوتیک طی نگهداری در یخچال را به اثبات رسانده است [29]. در مطالعه‌ای، افزودن عصاره شنگ<sup>2</sup> به فرمولاسیون ماست باعث کنترل اسیدیته ماست شد [30]. آب‌اندازی یکی از معایب مهم طی نگهداری ماست است و به عنوان وجود پروتئین آب‌پنیر روی سطح ژل تعریف می‌شود [31]. آب‌اندازی از پارامترهایی است که ویژگی کیفی محصول را تحت تأثیر قرار می‌دهد و در واقع، حاصل تقابل دو دسته از عوامل است. عواملی که باعث ننگ‌داشتن آب در شبکه می‌شوند و عواملی که جدا شدن آب از شبکه را موجب می‌گردند [32].

2. *Tragopogon graminifolius*

1. Post- acidification

Table 2. Mean comparison of the interaction the treatments and storage time on the physicochemical parameters.

Treatments	pH value			
	Storage time (day)			
	7	14	21	28
T1	4/42± 0/08 <sup>a</sup>	4/20± 0/06 <sup>c</sup>	4/15± 0/1 <sup>d</sup>	4/03± 0/05 <sup>f</sup>
T6	4/43± 0/07 <sup>a</sup>	4/24± 0/07 <sup>bc</sup>	4/12± 0/02 <sup>de</sup>	3/91± 0/08 <sup>i</sup>
T9	4/42± 0/1 <sup>a</sup>	4/22± 0/06 <sup>bc</sup>	4/11± 0/05 <sup>e</sup>	3/98± 0/1 <sup>g</sup>
T10	4/40± 0/02 <sup>a</sup>	4/21± 0/05 <sup>bc</sup>	4/13± 0/06 <sup>de</sup>	3/94± 0/1 <sup>ghi</sup>
T11	4/40± 0/05 <sup>a</sup>	4/21± 0/3 <sup>bc</sup>	4/13± 0/1 <sup>de</sup>	3/96± 0/02 <sup>gh</sup>
T12	4/43± 0/06 <sup>a</sup>	4/24± 0/05 <sup>b</sup>	4/10± 0/05 <sup>e</sup>	3/94± 0/05 <sup>hi</sup>
C1	4/40± 0/1 <sup>a</sup>	4/23± 0/08 <sup>bc</sup>	4/11± 0/05 <sup>e</sup>	4/02± 0/06 <sup>f</sup>
Acidity (°D)				
T1	90/77± 2 <sup>mn</sup>	96/00± 2 <sup>k</sup>	102/33± 1/4 <sup>i</sup>	114/66± 2 <sup>e</sup>
T6	89/33± 2 <sup>n</sup>	95/76± 2 <sup>k</sup>	113/42± 1/2 <sup>e</sup>	130/34± 2/2 <sup>a</sup>
T9	85/10± 2 <sup>p</sup>	91/33± 2 <sup>lm</sup>	107/52± 1/3 <sup>g</sup>	117/51± 1/5 <sup>d</sup>
T10	87/37± 2 <sup>o</sup>	93/00± 2 <sup>m</sup>	110/13± 1/4 <sup>f</sup>	124/66± 1/6 <sup>b</sup>
T11	85/33± 2 <sup>p</sup>	89/66± 2 <sup>mn</sup>	107/00± 1/6 <sup>gh</sup>	116/66± 1/4 <sup>d</sup>
T12	90/33± 2 <sup>mn</sup>	99/33± 2 <sup>j</sup>	108/33± 1/7 <sup>g</sup>	112/28± 1/6 <sup>c</sup>
C1	87/32± 2 <sup>o</sup>	99/86± 2 <sup>j</sup>	105/37± 1/3 <sup>h</sup>	111/27± 1/5 <sup>f</sup>
Syneresis (%)				
T1	18/24± 0/7 <sup>lg</sup>	25/84± 0/35 <sup>cde</sup>	26/46± 0/9 <sup>cde</sup>	34/57± 0/65 <sup>ab</sup>
T6	20/85± 0/8 <sup>efg</sup>	25/52± 0/65 <sup>cde</sup>	26/52± 0/45 <sup>cde</sup>	35/48± 0/75 <sup>a</sup>
T9	16/09± 0/85 <sup>g</sup>	25/96± 0/75 <sup>cde</sup>	27/66± 0/6 <sup>bcd</sup>	28/49± 0/72 <sup>bcd</sup>
T10	23/00± 0/9 <sup>c-g</sup>	24/59± 0/72 <sup>cdef</sup>	26/22± 0/75 <sup>cde</sup>	29/23± 0/65 <sup>a-d</sup>
T11	22/36± 0/45 <sup>d-g</sup>	25/17± 0/70 <sup>cdef</sup>	26/68± 0/7 <sup>cde</sup>	30/00± 0/75 <sup>abc</sup>
T12	23/63± 0/6 <sup>c-f</sup>	24/29± 0/56 <sup>cdef</sup>	25/66± 0/56 <sup>cde</sup>	28/92± 0/72 <sup>a-d</sup>
C1	16/37± 0/75 <sup>g</sup>	26/47± 0/55 <sup>cde</sup>	26/54± 0/55 <sup>cde</sup>	28/13± 0/72 <sup>b-e</sup>
Viscosity (Pa.s)				
T1	4/77± 0/05 <sup>a</sup>	4/19± 0/06 <sup>e</sup>	3/59± 0/02 <sup>i</sup>	3/42± 0/02 <sup>g</sup>
T6	4/80± 0/03 <sup>a</sup>	4/27± 0/05 <sup>d</sup>	4/0± 0/04 <sup>f</sup>	3/36± 0/06 <sup>g</sup>
T9	4/53± 0/04 <sup>c</sup>	4/53± 0/04 <sup>e</sup>	3/60± 0/06 <sup>i</sup>	3/50± 0/01 <sup>g</sup>
T10	4/53± 0/02 <sup>c</sup>	4/03± 0/06 <sup>f</sup>	4/00± 0/01 <sup>f</sup>	3/67± 0/03 <sup>g</sup>
T11	4/56± 0/06 <sup>c</sup>	4/06± 0/03 <sup>f</sup>	3/56± 0/02 <sup>ij</sup>	3/48± 0/04 <sup>g</sup>
T12	4/53± 0/01 <sup>c</sup>	4/00± 0/02 <sup>f</sup>	3/85± 0/03 <sup>g</sup>	3/64± 0/05 <sup>g</sup>
C1	4/66± 0/03 <sup>b</sup>	4/56± 0/05 <sup>e</sup>	4/00± 0/04 <sup>f</sup>	3/71± 0/03 <sup>g</sup>
Antioxidant activity (%)				
T1	66± 0/4 <sup>b</sup>	66/66± 0/32 <sup>b</sup>	61/00± 0/25 <sup>de</sup>	61/00± 0.36 <sup>de</sup>
T6	60/33± 0/5 <sup>de</sup>	58/33± 0/36 <sup>fg</sup>	52/66± 0/42 <sup>j</sup>	53/33± 0.25 <sup>i</sup>
T9	59.66± 0/45 <sup>ef</sup>	56/00± 0/35 <sup>h</sup>	52/66± 0/36 <sup>i</sup>	53/65± 0.24 <sup>i</sup>
T10	63/66± 0/55 <sup>c</sup>	60/32± 0/55 <sup>de</sup>	58/33± 0/25 <sup>fg</sup>	57/33± 0.22 <sup>gh</sup>
T11	71± 0/56 <sup>a</sup>	63/33± 0/69 <sup>c</sup>	50/66± 0/8 <sup>j</sup>	50/33± 0.25 <sup>j</sup>
T12	70/66± 0/35 <sup>a</sup>	61/66± 0/54 <sup>d</sup>	50/33± 0/55 <sup>j</sup>	48/33± 0.45 <sup>k</sup>
C1	8± 0/44 <sup>n</sup>	10/00± 0/47 <sup>m</sup>	12/33± 0/45 <sup>l</sup>	3/0± 0/63 <sup>ol</sup>

\*\*Stars mean: Statistically significant different at the 5% level of probability (p< 0.05).

بیشترین شیب افزایشی از روز هفتم تا روز پایانی مربوط به تیمار شیر گاو: شیر بز (10:90%) حاوی 0/03 درصد عصاره آویشن شیرازی و نسبت 30:70 درصد حاوی 0/05 درصد از این عصاره بود (جدول 2).

در روز بیست و هشتم، بالاترین میزان جدا شدن سرم نیز به تیمار اخیر تعلق گرفت که دارای تفاوت کاملاً معنی‌داری با سایر تیمارها و نمونه کنترل بود (p<0/05) (جدول 2). به طور کلی با افزایش طول دوره نگهداری ماست معمولی و

میزان چربی شیر، ویژگی‌های باکتری‌های آغازگر، میزان ماده خشک بدون چربی، تولید اگزوپلی‌ساکاریدها<sup>1</sup>، افزودن فیبرها و پایدارکننده‌ها، کیفیت میکروبی شیر پایه، دمای تخمیر و pH فرآورده از مهمترین عوامل مؤثر بر آب‌اندازی ماست می‌باشند [33]. مطابق جدول 2، با افزایش زمان نگهداری، میزان آب‌اندازی نمونه‌های ماست پروبیوتیک افزایش یافت و بالاترین میزان به نمونه‌های روز بیست و هشتم مربوط شد.

#### 1. Exopolysaccharides

شیر گاو: شیر بُر (100:0%) مربوط شد که البته با سایر تیمارها تفاوت معنی داری نداشت ( $p>0/05$ ). کمترین میزان ویسکوزیته نیز به تیمار شیر گاو - شیر بز (30:70%) مربوط شد (جدول 2). یکی از مهمترین دلایل کاهش ویسکوزیته با گذشت زمان، حضور عصاره‌های گیاهی در فرمولاسیون ماست است که می‌تواند بر روی استحکام ژل اثر نامطلوب گذارد. Torre و همکاران (2003) [37] گزارش دادند که با کاهش استحکام ژل ماست طی دوره نگهداری، ویسکوزیته کاهش می‌یابد. ادامه فعالیت میکروارگانیسم‌های موجود در کشت‌های آغازگر و تغییر در ریزساختار ماست نیز دلیلی دیگر در کاهش ویسکوزیته است [38]. Vukic و همکاران (2014) [39] ویژگی‌های رئولوژیکی و ویسکوزیته ژل ماست را به تغییرات pH نسبت دادند. در مقابل، افزایش ویسکوزیته با افزایش زمان نگهداری می‌تواند به علت بازآرایی پروتئین‌ها و تغییرات اتصال پروتئین - پروتئین [40] یا افزایش هیدراسیون [28] باشد.

ترکیبات فنولی متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که به طور گسترده در سراسر بخش‌های گیاه پخش شده‌اند. این ترکیبات خواص آنتی‌اکسیدانی خوبی داشته و غالباً در میوه‌ها، سبزی‌ها و گیاهان دارویی یافت می‌شوند. مهمترین عملکرد این ترکیبات فنولی در ارتباط با اکسیداسیون، غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد و تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی می‌باشد. مدل به دام-اندازی رادیکال آزاد DPPH به طور گسترده برای ارزیابی توانایی به دام‌اندازی رادیکال آزاد در نمونه‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. عصاره‌های گیاهی به علت دارا بودن ترکیبات فنولی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ظرفیت بالای برای اهداء اتم هیدروژن یا الکترون و الکترون آزاد می‌باشد [40]. در پژوهش حاضر، بین تیمارهای مورد بررسی، بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به تیمار 10:90 شیر گاو - شیر بز (0/03 درصد عصاره آویشن شیرازی) مربوط می‌شد که تفاوت معنی داری با سایر تیمارها داشت. روند تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی با گذشت زمان کاهش معنی داری یافت (جدول 2) که این نتیجه نیز امری طبیعی است، زیرا با گذشت زمان، قدرت ترکیبات فنولیک در مهار رادیکال‌های آزاد کاهش می‌یابد، ضمن اینکه بعضی از عوامل خارجی نیز ممکن است بر روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اثرات نامطلوبی گذارند. در تأیید این نتیجه، رضایی و همکاران (1392) [41] با ارزیابی اثر

پروبیوتیک، درصد آب‌اندازی افزایش می‌یابد، اما طبق مطالعات انجام شده، این روند در ماست پروبیوتیک محتوی فیبرهای رژیمی، ترکیبات محرک رشد و پری‌بیوتیک‌ها افزایش کمتری دارد. یکی از دلایل افزایش آب‌اندازی در نمونه‌های ماست به دلیل افزایش اسیدیته و در نتیجه کاهش pH است که این امر باعث تضعیف شبکه پروتئینی تشکیل شده در ماست و در نتیجه، خروج آب از شبکه و افزایش میزان آب‌اندازی در ماست می‌گردد. با گذشت زمان نگهداری، بافت ماست تضعیف شده و آب متصل به پروتئین‌های آن آزاد می‌شود. تغییرات pH در این امر دخیل می‌باشند و موجب تغییر ماهیت<sup>1</sup> ساختمان پروتئین می‌گردند. در واقع، کاهش pH باعث تغییر فرم طبیعی پروتئین شده و در اثر دناتوره شدن پروتئین، آب متصل به آن آزاد شده و میزان آب‌اندازی افزایش می‌یابد که می‌تواند به دلیل افزایش اسیدیته باشد [34]. افزایش میزان آب‌اندازی در نمونه‌های ماست طی زمان نگهداری معمولاً به دلیل نوآرایی شدید ساختمانی شبکه کازئین است که با خروج آب پنیر از بافت و شبکه پروتئینی منجر می‌گردد [35]. بالا بودن میزان آب‌اندازی نمونه‌های حاوی عصاره‌ها در مقایسه با نمونه کنترل دور از انتظار نیست، زیرا با افزودن عصاره، فاز سرمی افزایش می‌یابد و شبکه ژل قادر به نگهداری تمامی فاز سرم نیست. به همین دلیل با افزایش زمان نگهداری، میزان خروج سرم از ژل افزایش می‌یابد. Milanovic و همکاران (2008) [36] نیز بیان کردند که با افزایش عصاره کامبوچا<sup>2</sup>، میزان آب‌اندازی در نمونه‌های نوشیدنی تخمیری شیر حاوی 10، 15 و 20 درصد عصاره افزایش یافت و در نمونه‌های حاوی 15 و 20 درصد عصاره کامبوچا، آب‌اندازی بسیار معنی‌دار بود. همچنین، گزارش شد که افزودن عصاره شنگ به ماست، میزان آب‌اندازی ماست را کاهش می‌دهد [30].

یکی از فاکتورهای مهم و مؤثر بر کیفیت ماست، ویسکوزیته ظاهری است که ویژگی یک ماده در مقابل تغییر شکل را نشان می‌دهد. ترکیب شیر و میزان ماده خشک در کنار عواملی نظیر دما، زمان حرارت‌دهی، نوع آغازگر مورد استفاده و شرایط نگهداری از عوامل مؤثر بر ویژگی‌های رئولوژیکی ماست است [27]. بر اساس جدول 2، با گذشت زمان نگهداری، میزان ویسکوزیته نمونه‌های ماست پروبیوتیک به طور معنی داری کاهش یافت. در روز پایانی، بالاترین میزان ویسکوزیته به تیمار

1. Denaturation  
2. Kombucha

افزودن عصاره نعناع فلفلی<sup>3</sup> بر روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی ماست پروبیوتیک بدون چربی گزارش کردند که با گذشت زمان و تا پایان دوره نگهداری، خاصیت آنتی‌اکسیدانی کاهش یافت. کاهش فعالیت باکتری‌های لاکتیکی ماست با گذشت زمان نگهداری نیز می‌تواند دلیل دیگر برای کاهش فعالیت رادیکالی نمونه‌های ماست در روزهای پایانی باشد [31]. آنزیم کاتالاز، پروتئین‌های سرمی و اسید لاکتیک موجود در شیر و باکتری‌های لاکتیکی ماست پروبیوتیک فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهند که موجب می‌شود در ماست چنین ویژگی مشاهده شود [42]. غلظت عصاره نیز بر روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های ماست مؤثر است. مطابق جدول 2، عصاره آویشن شیرازی اثر بیشتری نسبت به عصاره پونه کوهی بر روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی داشت، اگرچه غلظت 0/03 درصد از هر دو عصاره، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری در مقایسه با غلظت 0/05 درصد داشت. در تضاد با این نتیجه، گزارش شد که با افزایش غلظت عصاره گیاه قاصدک<sup>4</sup> از 0/02 تا 0/04 درصد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت [17]. نتیجه‌گیری شد که تیمارهای شیر بز در مقایسه با شیر گاو فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر و قوی‌تری داشتند.

### 3-2- شمارش تعداد لاکتوباسیلوس پاراکازنی

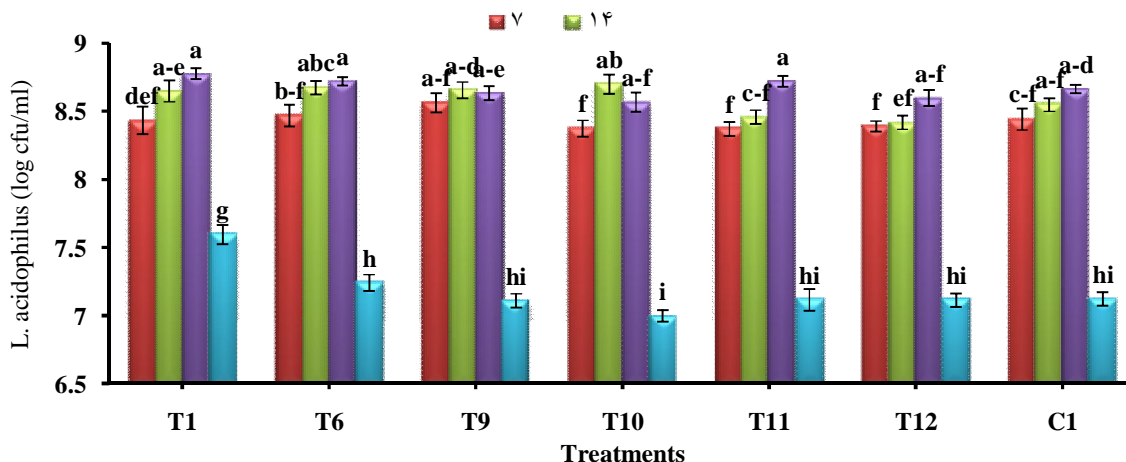
رشد و بقای پروبیوتیک‌ها به علت وجود مواد مغذی بویژه پیتدها در مقادیر ناکافی یا غیر قابل دسترس در شیر و ضعف سیستم آنزیمی این باکتری‌ها در هیدرولیز پروتئین‌های موجود و تفاوت محیط سیستم گوارشی با مواد غذایی که باعث عدم سازگاری این باکتری‌ها با چنین محیطی می‌شود، کند ارزیابی شده است [43]. بقاء باکتری‌های پروبیوتیک در ماست پروبیوتیک وابسته به فاکتورهایی نظیر گونه مورد استفاده، واکنش بین گونه‌های موجود شرایط کشت، ترکیب شیمیایی محیط کشت تخمیری، اسیدیته نهایی، مواد جامد شیر، درجه حرارت و سطوح تلقیح می‌باشد [44]. گزارشات متعدد نشان داده است که حداقل جمعیت پروبیوتیک‌های زنده در زمان مصرف فرآورده پروبیوتیکی باید  $10^6$  واحد تشکیل دهنده کلنی در هر میلی‌لیتر یا گرم<sup>5</sup> باشد [45]. کاهش pH همواره یکی از مهمترین دلایل افت تعداد باکتری‌های پروبیوتیک است، بنابراین استفاده از روش‌های مطلوب نظیر بکارگیری ترکیبات

محرك رشد و فعالیت آغازگرهای ماست و نیز پروبیوتیک‌ها نظیر اسانس یا عصاره گیاهان دارویی و ترکیبات پری‌بیوتیک می‌تواند موجب کاهش افت تعداد باکتری‌های پروبیوتیک شود. لاکتوباسیلوس پاراکازنی مورد استفاده در پژوهش حاضر، یک باکتری گرم مثبت، مزوفیل، میکروآئروفیل، کاتالاز منفی و فاقد اسپور بوده و جز باکتری‌های هتروفرمانتاتیو اختیاری می‌باشد و ظرفیت بالایی در تولید اسید دارد [46]. مطابق شکل 1، با گذشت زمان از روز هفتم تا بیست و یکم، تعداد لاکتوباسیلوس پاراکازنی در کلیه تیمارها روندی صعودی و افزایشی معنی‌دار داشت. این نتیجه می‌تواند تا حدود زیادی به محتوی ترکیبات فنولی موجود در عصاره‌ها مربوط باشد. در این مورد، عصاره برگ زیتون موجب تحریک رشد و فعالیت و افزایش زنده‌مانی بیفیدوباکتریوم اینفنتیس و لاکتوباسیلوس بروی [47] و عصاره زرشک<sup>1</sup> موجب افزایش زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ماست پروبیوتیک طعم‌دار قالبی و همزده [13] شد که در هر دو مورد، محتوی بالای ترکیبات فنولی را عامل اساسی دانستند. با گذشت زمان و استفاده از منابع جایگزین و نیز افزایش رشد باکتری‌های آغازگر و اثر هم‌افزایی آن بر رشد پروبیوتیک‌ها طبق گزارش Samona و همکاران (1994) [48] عدد لاکتوباسیلوس کازنی افزایش یافت. میانگین بیشترین تعداد سویه پروبیوتیک طی زمان مربوط به تیمار شیر گاو - شیر بز (90 : 10 %) حاوی 0/03 درصد عصاره آویشن بود که با سایر تیمارهای مورد بررسی تفاوت کاملاً معنی‌داری داشت ( $p < 0/05$ ). سطوح آویشن شیرازی و سطوح بالاتر شیر بز اثر معنی‌دارتری بر روی زنده‌مانی لاکتوباسیلوس پاراکازنی دارد. در حد فاصل روز بیست و یکم تا بیست و هشتم، تعداد سویه پروبیوتیک کاهش معنی‌داری یافت. کاهش مفادی ترکیبات فنولی، بروز اثرات آنتاگونیستی در محیط، افزایش اسیدیته و کاهش pH تیمارها از دلایل مهم این کاهش می‌باشند. تیمار شیر گاو - شیر بز به نسبت برابر و حاوی 0/05 درصد عصاره آویشن شیرازی، کمترین تعداد پروبیوتیک را در روز پایانی نشان داد و تفاوت آن با سایر تیمارها کاملاً معنی‌دار بود ( $p < 0/05$ )، اما حتی در روز پایانی، تعداد باقیمانده سویه پروبیوتیک بیش از استاندارد تعیین شده پروبیوتیک‌ها در ماست ارزیابی گردید. (شکل 1).

3. Peppermint  
4. *Taraxacum officinalis*  
5. CfU/ml - cfu/mg

1. Barberry





**Fig 1** Mean comparison of the interaction the treatments and storage time on the *L. paracasei* count (log cfu/ml).

معنی داری افزایش یافت، اما بعد از آن، روند تغییرات نزولی بود. افزایش غلظت عصاره آویشن شیرازی و کاهش نسبت شیر بز در مقایسه با شیر گاو، موجب کاهش امتیازات طعم گردید. احتمالاً عصاره‌های مورد بررسی، سازگاری بیشتری با شیر بز و پروفایل طعمی آن داشتند (شکل 2). در عین حال، به علت تولید مقادیر زیاد استالندید، دی‌استیل و سایر ترکیبات فرار مؤثر بر طعم ماست، این ترکیبات تأثیر پوششی بر مشخص شدن طعم عصاره افزوده شده نشان می‌دهند [51]. قوام<sup>1</sup> ماست یکی از ویژگی‌های مهم آن است که تا اندازه زیادی در پذیرش محصول مؤثر است. یکی از عوامل مورد نظر در قوام، باکتری‌های آغازگر و متابولیت‌های تولید شده توسط آنها و نیز واکنش این متابولیت‌ها با سایر اجزاء و ترکیب ماست (نظیر ماتریکس پروتئینی) است [52]. روند تغییرات قوام از روز اول تا هفتم، افزایشی و بعد از آن به طور معنی‌داری به شکل کاهشی بود. کاهش نسبت شیر بز از 90 به 50 درصد در تیمارهای حاوی عصاره آویشن شیرازی به تنهایی، کاهش امتیازات قوام را نتیجه داد. در رابطه با پذیرش کلی، در تیمارهای با نسبت مساوی شیر گاو-شیر بز، کاهش غلظت عصاره آویشن شیرازی، موجب افزایش امتیازات گردید. در هر حال، تیمار 100 درصد شیر گاو بالاترین امتیاز پذیرش کلی را کسب نمود و تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ( $p < 0/05$ ) (شکل 2). در پژوهش Hrnjez و همکاران (2014) [52] پذیرش کلی محصولات لبنی تخمیری حاوی کامبوجا مشابه با محصولات حاصل از آغازگرهای پروبیوتیک و نیز آغازگرهای ماست گزارش شده است.

در این راستا، Gustaw و همکاران، (2011) [49] به این نتیجه رسیدند که زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک پس از چهارده روز نگهداری ماست، کاهش می‌یابد، اما معمولاً به کمتر از  $10^6$  cfu/ml نمی‌رسد. کارگذار و همکاران (1398) [17] گزارش کردند که تعداد لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم طی 21 روز نگهداری ماست حاوی عصاره قاصدک کاهش یافت، اما حتی در روز پایانی نیز بالاتری از حد استاندارد تعیین شده ( $10^6$  cfu/ml) بود. در تحقیقی، علت افزایش تعداد لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس در نمونه‌های ماست حاوی عصاره‌های گیاهی نسبت به نمونه ماست شاهد، توانایی بافری بالاتر ماست‌های غنی شده با عصاره‌های گیاهی گزارش شد [50].

### 3-3- آزمون حسی

شکل 2، میانگین امتیازات پارامترهای حسی تیمارهای مورد بررسی را نشان می‌دهد که مطابق آن، تیمار شیر گاو (100%) حاوی غلظت‌های مشترک (0/02%) عصاره آویشن شیرازی - پونه کوهی بالاترین امتیازات رنگ، طعم، قوام و پذیرش کلی را از نظر ارزیاب‌ها کسب نمود. در مورد رنگ، میانگین امتیازات تیمارهای مورد بررسی از روز اول تا چهاردهم، به طور معنی‌داری افزایش و بعد از آن، کاهش یافت. تیمارهای حاوی غلظت‌های مختلف عصاره پونه کوهی از نظر رنگ، امتیازات بیشتری از تیمارهای حاوی عصاره آویشن شیرازی کسب نمودند. کمترین میانگین امتیاز رنگ مربوط به تیمار شیر گاو - شیر بز (50:50%) حاوی 0/03 درصد عصاره آویشن شیرازی بود (شکل 2). از نظر روند تغییرات امتیازات طعم، از روز اول تا هفتم، امتیازات طعم به طور

1. Consistency

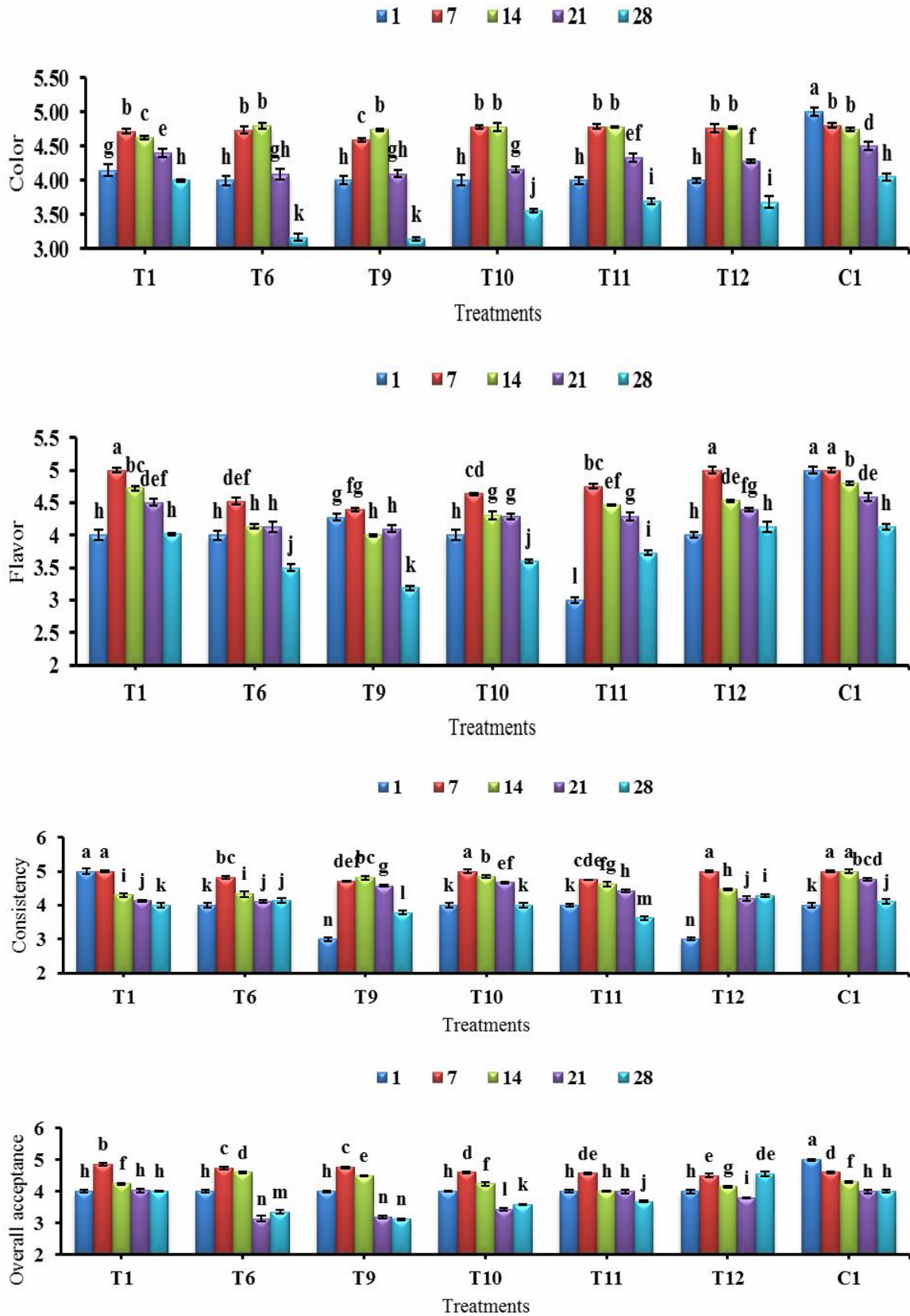


Fig 2 Mean comparison of the interaction the treatments and storage time on sensory parameters.

#### 4- نتیجه گیری کلی

در این پژوهش، عصاره آویشن شیرازی و پونه کوهی در سطوح مختلف در کنار جایگزینی نسبی شیر گاو با شیر بز در فرمولاسیون ماست پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس پاراکازئی به کار رفت، تا علاوه بر خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها، از ویژگی‌های منحصر به فرد شیر بز بهره مند شد. نتایج نشان داد که نسبت‌های مختلف شیر گاو - شیر بز و هر دو عصاره مورد بررسی، تأثیر معنی‌داری بر مقادیر pH، اسیدیته و آب‌اندازی داشتند. بیشترین ویسکوزیته مربوط به تیمار حاوی نسبت برابر شیر گاو - شیر بز و 0/05 درصد عصاره آویشن شیرازی بود. عصاره آویشن شیرازی در مقایسه با پونه کوهی، تأثیر بیشتری بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی تیمارها داشت. تیمار شیر گاو - شیر بز (10:90%) و 0/03 درصد عصاره آویشن شیرازی، بالاترین تعداد باکتری پروبیوتیک را نشان داد. از نظر آزمون حسی، تیمار شیر گاو (100%) حاوی غلظت‌های مشترک (0/02%) دو عصاره، بالاترین امتیازات رنگ، طعم، قوام و پذیرش کلی را از نظر ارزیاب‌ها کسب نمود. به عنوان نتیجه‌گیری می‌توان گفت که برای دستیابی به بهترین کیفیت در مورد ویژگی‌های مختلف مربوط به ماست پروبیوتیک، می‌بایست سطوح مختلفی از عصاره و نسبت‌های بهینه‌ای از شیر بز شیر گاو مورد استفاده قرار گیرد. در هر حال، شیر بز به علت دارا بودن خواص ارزشمند می‌تواند به عنوان جایگزینی مناسب برای شیر گاو در تولید فرآورده‌های لبنی مطرح باشد.

#### 5- منابع

- on Probiotic Yogurt Containing *Lactobacillus casei*. The Journal of Food Technology and Nutrition, 4, 73-82. [in Persian].
- [5] Sarkar, S. (2008). Effect of probiotics on biotechnological characteristics of yoghurt: a review. British food journal, 110(7), 717-740.
- [6] Tilahun, Z., Nejash, A., Tadele, K. & Girma, K. (2014). Review on medicinal and nutritional values of goat milk. Acad. J. Nutri, 3(3), 30-39.
- [7] Park, Y. W., Juarez, M., Ramos, M. & Haenlein, G. F. W. (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. Small Ruminant Research, 68(1-2), 88-113.
- [8] Mourad, G., Bettache, G. & Samir, M. (2014). Composition and nutritional value of raw milk. Bio. Sci. Pharm. Res, 2(10), 115-122.
- [9] Yangilar, F. (2013). As a potentially functional food: Goats' milk and products. J. Food Nutr. Sci, 1(4), 68-81.
- [10] Never, A. (2015). Effects of nutrition on yield and milk composition in sheep and goats. Sci. J. Anim. Sci, 4(1), 1-10.
- [11] Bristone, C., Badau, M.H., Igwebuik, J.U. & Igwegbe, A.O. (2015). Production and evaluation of yoghurt from mixtures of cow milk, milk extract from soybeans and tiger nut, World J. Dairy and Food Sci, 10(2), 159-169.
- [12] Gutierrez, J., Barry-Ryan, C. & Bourke, P. (2009). Antimicrobial activity of plant essential oils using food model media: Efficacy, synergistic potential and interactions with food components. Food Microbiol, 26, 142-150.
- [13] Samsam Shariat, H. (2007). The extraction of active ingredients of medicinal plants and its identification and determination. The Mani Publication, Tehran. [in Persian].
- [14] Palmer, A.S., Stewart, J. & Fyfe, F. (2002). The Potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. Journal of Food Microbiology, 1, 463-470.
- [15] Simbor, M., Azarba, Z., Mojab, F. & Alavi, M. (2008). The comparison of the effect of vaginal cream of *Zataria multiflora* and metronidazole gel on the bacterial vaginosis. The pajoohande journal, 3, 193-202. [in Persian].
- [1] Ozar, B. & Kirmaci, H.A. (2009). Functional milks and dairy beverages. International Dairy journal, 1, 1-15.
- [2] Aghajani, A.R. & Pourahmad, R. (2012). Effect of Lactulose and Inulin on Physicochemical and Microbial Properties of Synbiotic Yogurt. Annals of Biological Research, 3(12), 5692-5696.
- [3] Aghajani, A.R., Pourahmad, R. & Mahdavi Adeli, H.R. (2012). The production and storage of symbiotic yogurt containing *Lactobacillus casei*. The Journal of Food Technology and Nutrition, 10(1), 19-22. [in Persian].
- [4] Aghajani, A.R., Pourahmad, R. & Mahdavi Adeli, H.R. (2011). The Effect of Prebiotics

- thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, bifidobacteria, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus* and Propionibacteria. Journal of Dairy Science, 86, 2288-2296.
- [25] Mahdian, E. & Tehrani, M. M. (2007). Evaluation the effect of milk total solids on the relationship between growth and activity of starter cultures and quality of concentrated yoghurt. American – Eurasian Journal of Agriculture and Enviromental Sciences, 2(5), 587-522.
- [26] Bonczar, G., Wszolek, M. & Siuta, A. (2002). The effects of certain factors on the properties of yoghurt made from ewe's milk. Food Chem, 79, 85-91.
- [27] Girard, M. & Schaffer-Lequart, C. (2007). Gelation of skim milk containing anionic exopolysaccharides and recovery of texture after shearing. Food Hydrocolloids, 21, 1031-1040.
- [28] Donkor, O. N., Nilmini, S. L. I., Stolic, P., Vasiljevic, T. & Shah, N. P. (2007). Survival and activity of selected probiotic organism in set – type yoghurt during cold storage. International Dairy Journal, 17, 92-151.
- [29] Vahcic, N. & Hruskar, M. (2000). Slovenian fermented milk with probiotics, Zootehnika, 76, 41-46.
- [30] Lotfizadeh Dehkordi, S., Shakerian, A. & Mohammadi Nafchi, A. (2013). The effect of *Tragopogon dubius* extract on the sensory properties, shelf life and viscosity of yogurt. The Journal of Herbal Drugs, 4(1), 49-57. [in Persian].
- [31] Aghajani, A.R., Pourahmad, R. & Mahdavi adeli, H.R. (2012). Evaluation of physicochemical changes and survival of probiotic bacteria in synbiotic yogurt. Journal of Food Bioscience & Technology, 2, 13-22.
- [32] Syrbe, A., Baue, R.W.J. & Klostermeyer, H. (1998). Polymer science concept in dairy system – an overview of milk protein and food hydrocolloid interaction. International Dairy Journal, 8, 179-193.
- [33] YeganeZad, S., Mazaheri Tehrani, M., Shahidi, F. & Zayerzadeh, A. (2009). The study of the effect of soymilk on the viability and physicochemical and sensory properties of probiotic yogurt. The Journal of Agriculture Science *L.acidophilus* and Natural Resources, 1, 1-9. [in Persian].
- [34] Tamim, A., Barrantes, E. & Sword, A. (1996). The effects of starch based fat
- [16] Pazhohi, M., Tajik, H., Akhondzadeh, A., Gandomy, H., Ehsani, A. & Shokohi Sabet, F. (2010). The determination of chemical composition and antimicrobial activity of *Origanum vulgare* essence and cumin individually and with nicin. Urmiah Medical Journal, 4, 324-331. [in Persian].
- [17] Kargozar, A., Mortazavi, S.A. & Sharifi, A. (2019). The study of the effect of *Taraxacum officinalis* on the physicochemical and microbial properties of low-calory probiotic yogurt. The Journal of Innovation in Food Processing and Science, 3, 127-135. [in Persian].
- [18] Amirdivani, S. & Salihin Baba, A. (2011). Change in yogurt fermentation characteristic and antioxidant potential and in vivo inhibition of angiotensin-1 converting enzyme upon the inclusion of peppermint, dill and basil. Food Science and Technology, 44, 1458-1464.
- [19] Tabatabaei Yazdi, F., Alizadeh Behbahani, B. & Heidari Sorshjani, M. (2014). The comparison of antimicrobial effect of *Ferulago angulata* extract with care antibiotics in experimental conditions. The Journal of Arak University of Medical Sciences, 3, 35-46. [in Persian].
- [20] Aghajani, A.R., Pourahmad, R. & Mahdavi adeli, H.R. (2014). Effect of oligofructose, lactulose and inulin mixture as prebiotic on physicochemical properties of synbiotic yogurt. Journal of Food Bioscience & Technology, 4(2), 33-40.
- [21] Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Regulations for specifications and test methods for pasteurized milk. ISIRI no 2852. Karaj: ISIRI; 1992 [in Persian].
- [22] Unal, B., Metin, S. & Isikli, N.D. (2003). Use of response surface methodology to describe the combined effect of storage time, locust bean gum and dry matter of milk on the physical properties of low-fat set yogurt. International Dairy Journal, 13, 909-916.
- [23] Zainoldin, K.H. & Baba, A.S. (2009). The effect of *Hylocereus polyrhizus* and *Hylocereus undatus* on physicochemical, proteolysis, and antioxidant activity in yogurt. World Academy of Science, Engineering and Technology, 76, 361-336.
- [24] Tharmaraj, N. & Shah, N.P. (2003). Selective enumeration of *Lactobacillus delbruecki subsp. bulgaricus*, *Streptococcus*

- incubation. The Journal of Food Technology and Nutrition, 4,15-24. [in Persian].
- [44] Hekmat, S. & Reid, G. (2006). Sensory properties of probiotic yogurt is comparable to standard yogurt. Nutrition Research, 26,163-166.
- [45] Moayednia, N., Ehsani, M.R., Emamjome, Z. & Mazaheri, A.F. (2009). The production of acidophilus milk as a probiotic fermented milk drink. The Journal of Food Technology and Nutrition, 7(1),43-57. [in Persian].
- [46] Mishra, V. & Prasad, D.N. (2005). Application of invitro methods for selection of *Lactobacillus casei* strains as potential probiotics. International Journal of Food Microbiology, 103(1), 109-115.
- [47] Haddadian, M. (2010). Effect of olive leaf extracts on the growth and metabolism of two probiotic bacteria of intestinal origin. Pakistan Journal of Nutrition, 9(8), 787-793.
- [48] Samona, A. & Robinson, R. K. (1994). Effect of yogurt cultures on the survival of bifidobacteria in fermented milks. Journal of Society of Dairy Technology, 47, 58-60.
- [49] Gustaw, W., Kordowska-Wiater, M. & Koziol, J. (2011). The influence of selected prebiotics on the growth of lactic acid bacteria for bio-yoghurt production, Acta Sci. Pol. Technol. Aliment, 10, 455-466.
- [50] Halliwell, B., Aeschbach, R., Lolinger, J. & Aruoma, O.A. (1995). The characterization of antioxidant. Food and Chemical Toxicology, 33(7), 601-617.
- [51] Cai, Y., Sun, M. & Croke, H. (1998). Colorant properties and stability of *Amaranthus betacyanin* pigments. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 46, 4491-50.
- [52] Leroy, F. & Vuyst, L.D. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry (Review). Trends in food Science and Technology, 15, 67-78.
- [53] Hrnjez, D., Vastag, Z., Milanovic, S., Vukic, V., Ilicic, M., Popovic, L.J. & Kanuric, K. (2014). The biological activity of fermented dairy products obtained by kombucha and conventional starter cultures during storage. Journal of Functional Foods, 10, 336-345.
- substitutes on the microstructure of set-style yogurt made from reconstituted skimmed milk powder. Journal of The Society of Dairy Technology, 49,1-10.
- [35] Malbasa, R., Vitas, J., Loncar, E. & Milanovic, S. (2012). Physical and textural characteristics of fermented milk products obtained by kombucha inoculums with herbal teas. Acta Periodica Technologica, 43,51-59.
- [36] Milanovic, S.D., Loncar, E.S., Duric, M.S. & Malbasa, R.V. (2008). Low energy Kombucha fermented milk-based beverages, Acta Periodica Technologica, 39, 37-46.
- [37] Torre, L., Tamime, Y.A. & Muir, D.O. (2003). Rheology and sensory profiling of set type fermented milks made with different commercial probiotic and yoghurt starter cultures. International Journal of Dairy Technology, 56(3), 163-170.
- [38] Al-Kadamany, E., Khattar, M., Haddad, T. & Toufeili, I. (2003). Estimation of shelf life of concentrated yoghurt by monitoring selected microbiological and physiological changes during storage. Lebensm-Wiss-Technology, 36, 407-414.
- [39] Vukic, V., Kanuric, K., Milanovic, S., Ilicic, M., Hrnjez, D. & Ranogajec, M. (2014). Correlation of the microstructure with viscosity and textural properties during milk fermentation by kombucha inoculum. Acta Periodica Technologica, 45, 89-98.
- [40] Sahan, N., Yasar, K. & Hayaloglu, A.A. (2008). Physical, chemical and flavor quality of non-fat yogurt as affected by a  $\beta$ -glucan hydrocolloidal composite during storage. Food Hydrocolloids, 22, 1291-1297.
- [41] Rezaei, A., Khosroshahi Asl, A., Zomorodi, Sh. & Maleki Nezhad, H. (2013). The effect of adding the sodium caseinate and Peppermint extract on the *Lactobacillus casei* viability and physicochemical and antioxidant properties of fat-free probiotic yogurt. The Journal of Food Science Researches, 32(2), 423-434. [in Persian].
- [42] Lindmark-Mansson, H. & Akesson, B. (2000). Antioxidant factors in milk. British Journal of Nutrition, 84: 103-110.
- [43] Tahery, P., Ehsani, M.R. & Khosravi Darani, K. (2006). The study of effective parameters on the pH and acidity of probiotic yogurt containing *L. acidophilus La-5* during

## The potential of *Zataria multiflora* and *Mentha longifolia L.* to improve the qualitative characteristics of probiotic yoghurt produced by cow - goat milk

Mahdavi Adeli, H. <sup>1</sup>, Sohrabi, O. <sup>2</sup>, Aghajani, A. <sup>3\*</sup>, Davoudi, M. A. <sup>4</sup>, Amiri, M. <sup>2</sup>

1. Animal Science Research Institute, Karaj, Iran

2. Department of Food Science and Engineering, Mahalat branch, Islamic Azad University, Mahalat, Iran

3. Department of Food Science and Technology, Faculty of Industrial and Mechanical Engineering, Qazvin Branch, Islamic Azad University, Qazvin, Iran

4. Department of Food Science & Technology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran

(Received: 2019/07/04 Accepted:2020/02/22)

Nowadays, due to some problems, such as allergic reactions and high fat content, the partial replacement of cow's milk with milk of other animals, such as goat's milk, is so crucial by proper techniques to improve the quality with the aim of yogurt production. The aim of this study was to evaluate the effect of *Zataria multiflora* and *Mentha longifolia L* extract (0, 0/02, 0/03, 0/05 ) on the qualitative characteristics of probiotic yogurt produced from the cow-goat milk in proportions 10: 90, 30: 70, 50: 50 and 0: 100. After one day of storage by sensory evaluation, superior samples were selected and qualitative tests were performed within 28 days. The results showed that, over time, acidity and syneresis values increased and pH value, viscosity and probiotic count decreased. The highest viscosity was related to the equal ratio of cow - goat milk and 0/05% of *Zataria multiflora* extract. The antioxidant activity (AA) trend was irregular but descending and extracts had a significant effect on AA. The treatment of cow-goat milk (10 : 90%) and 0/03% of *Zataria multiflora* extract had the highest probiotic count. The treatment of cow's milk (100%) containing the equal concentrations of two extract (0/02%), showed the highest color, taste, consistency and overall acceptance scores by panelist. As a conclusion, it can be concluded that in order to achieve the best quality of probiotic yogurt, various concentrations of extracts and optimal ratios of cow-goat milk should be used.

**Keywords:** *Zataria multiflora*, Probiotic, *Mentha longifolia L.*, Goat's milk, Yogurt.

---

\* Corresponding Author E-Mail Address; ab.aghajani@yahoo.com