تغییرات ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی ماست قالبی پروبیوتیک در پاسخ به افزودن عصاره چای سبز

نسرین آذرجم[۱]، علیرضا شهاب لواسانی[۲]*،انوشه شریفان[۳]

۱.گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران ، تهران، ایران
۲.مرکز تحقیقات فناوری های نوین تولید غذای سالم، دانشگاه آزاد اسلامی ، واحد ورامین-پیشوا، ، ورامین، ایران.
۳. دانشیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران.
***نویسنده ی مسئول**: *shahabam20@yahoo.com*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۶/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۸/۰۳

چکیده

در این تحقیق افزودن عصاره چای سبز بر ویژگی‌های زنده‌مانی سویه پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* و برخی از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ارزیابی حسی بررسی شد. تیمارهای T_1، T_2، T_3 و T_4 به ترتیب حاوی صفر (شاهد)، دو، چهار و شش درصد عصاره چای سبز و مقدار تلقیح لاکتوباسیلوس کازئی برای همه تیمارها 10^8 cfu/ml در نظر گرفته شد. هر تیمار دارای سه تکرار و آزمایشات به صورت طرح کاملا تصادفی در طی روزهای یک، هفت و ۱۴ از دوره نگهداری انجام شد. بیش‌ترین اسیدیته (دورنیک) و کمترین pH مربوط به T_4 بود. بیش‌ترین درصد ماده خشک مربوط به تیمار T_1 (شاهد) می‌باشد.از نظردرصد چربی تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($p>0.05$) و مقدار چربی کلیه تیمارها ثابت بود. بیشترین درصد سینرسیس مربوط به تیمار T_4 بود. از نظر ویژگی های آنتی اکسیدانی و ارزیابی فنل کل،کم‌ترین درصد فنل کل و ویژگی‌های آنتی اکسیدانی مربوط به تیمار T_1 (شاهد) و تیمار حاوی عصاره چای سبز بیشتر دارای درصد فنل بیشتری بودند. بیشترین میزان زنده مانی سویه لاکتوباسیلوس کازئی در تیمار حاوی ۶ درصد عصاره چای سبز گزارش شد. ارزیابی حسی نیز نشان داد کلیه تیمارها با گذشت زمان از نظر امتیازات حسی داده شده توسط ارزیابان حسی روند کاهشی نشان دادند با این حال تیمار شاهد (T1) دارای بیش‌ترین امتیاز حسی و نزدیک‌ترین تیمار به تیمار شاهد، تیمار B حاوی دو درصد عصاره چای سبز می‌باشد. افزودن عصاره چای سبز تا سطح دو درصد علاوه بر بهبود قابلیت زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس کازئی* بر ویژگی‌های حسی ماست قالبی تاثیر نامطلوبی ندارد.

کلید واژه ها: سینرسیس، لاکتوباسیلوس کازئی، زنده مانی، فعالیت آنتی اکسیدانی.

مقدمه

ماست به سبب آنکه از تغلیظ و تخمیر شیر به دست می-آید، از ارزش تغذیه‌ای بیشتری نیست به شیر برخوردار است به طوریکه منبعی غنی از پروتئین، کلسیم و سایر املاح نظیر فسفر، منیزیم، روی، ویتامین ها و آنزیم‌های هضم کننده است (Lucey, 2002). امروزه محصولات پروبیوتیک علی الخصوص ماست پروبیوتیک توجهات زیادی را به خود جلب کرده است. پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های زنده و مشخصی هستند که درصورت مصرف در انسان یا حیوان، با اثر بر روی فلورمیکروبی بدن باعث اعمال اثرات مفید بر سلامتی میزبان می‌شوند. اکثر پروبیوتیک‌ها متعلق به گروه بزرگی از باکتری‌های اصلی فلور میکروبی روده انسان بوده و در آنجا زندگی همسفرگی بی‌ضرری دارند. ماست پروبیوتیک با افزودن *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس کازئی* با یا بدون باکتری‌های آغازگر به شیر تولید می‌شود. تولید ماست‌هایی با خواص درمانی بدون حضور باکتری‌های آغازگر کار مشکلی است، زیرا در عدم وجود باکتری‌های آغازگر تولید اسید بوسیله پروبیوتیک ها به کندی صورت می‌گیرد (علیداد و همکاران، ۱۳۹۲). انواع زیادی از ماست‌های پروبیوتیک با خواص درمانی تولید شده است. محمودی و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند ماست پروبیوتیک حاوی سویه لاکتوباسیلوس کازئی و اسانس روغنی گلپوره با غلظت ۶۰ ppm دارای بیشترین قابلیت زنده‌مانی می‌باشد و نمونه‌های حاوی ۴۰ppm اسانس

روغنی گلپوره علاوه بر مطلوبیت قابلیت زنده‌مانی سویه پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* از نظر ارزیابی ویژگی‌های حسی نیز در سطح قابل قبولی توصیف شد و در نهایت نتیجه گیری شد اسانس روغنی گلپوره تاثیر نامطلوبی بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس کازئی* در ماست ندارد و اسانس روغنی گلپوره نه تنها خاصیت سمی ندارد بلکه از نظر سلامت عمومی کاملا ایمن می‌باشد و می‌توان از آن به منظور جایگزین نگهدارنده‌های شیمیایی استفاده نمود (Mahmoudi et al., 2014). اسانس روغنی گلپوره دارای تاثیر بازدارندگی بر روی میکروارگانیسم‌ها خصوصا *سالمونلا* می‌باشد (Mahmoudi et al., 2015). از دیگر ماست‌های با خواص درمانی می‌توان به ماست حاوی اسانس زیره اشاره داشت بیشترین اثر بازدارندگی اسانس روغنی زیره سبز در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ppm مشاهده شد و بیشترین نرخ زنده‌مانی سویه پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* در غلظت ۲۰۰ ppm زیره سبز حاصل شد با این حال نمونه‌های حاوی اسانس روغنی زیره سبز در غلظت ۵۰ ppm از نظر ویژگی‌های حسی طعم و ظاهر بسیار مطلوب ارزیابی شد (Mahmoudi et al., 2013). حداقل غلظت باکتری‌های پروبیوتیک در زمان مصرف می‌بایستی 10^7 cfu/ml باشد (Muniandy et al., 2017). ترکیبات پلی فنولیک موجود در چای، مخصوصاً فلاوونوئیدها دارای خاصیت آنتی اکسیدانی به دلیل توانایی اکسیداسیون و احیایشان می‌باشند. این توانایی باعث می‌شود تا آن‌ها به فرم‌های مختلفی فعالیت آنتی اکسیدانی خود را نشان دهند مانند اهدای هیدروژن، فعالیت احیا کنندگی، خاموش کنندگی اکسیژن و شلاته کردن یون‌های فلزی در محصولات غذایی مختلف (Gramza et al., 2005). چای سبز دارای فعالیت ضد-میکروبی در مقابل زنجیره بزرگی از باکتری‌های بیماری‌زا است و اضافه کردن آن به شیر قبل از تخمیر، محصول نهایی را در مقابل باکتری بیماری زا و ناخواسته محافظت خواهد کرد (Jaziri et al., 2009). مصرف ماست پروبیوتیک بخصوص ماست کم چرب باعث کاهش خطر ابتلاء به چاقی و اضافه وزن می‌شود، کلسیم واسیدهای آمینه ضروری را تامین می‌کند و نیاز به داروهای شیمیایی را کاهش می‌دهد. پروبیوتیک‌ها با تنظیم توازن میکروبی دستگاه گوارش دارای اثرات مثبت وسلامت بخشی بر میزبان خود هستند وعدم تحمل لاکتوز را بهبود می-بخشند(Nikjooy et al., 2019). *لاکتو باسیلوس کازئی* بعنوان یک باکتری پروبیوتیک به ماست اضافه شده و باعث بهبود ویژگی‌های تکنولوژیکی و تغذیه محصول نهایی می‌شود. فعالیت این باکتری بیش از سایرگونه‌های *لاکتو باسیلوس* درفراورده های تخمیری شیری بوده و قادر به تخمیر طیف وسیعی از کربوهیدرات‌های موجود در محیط است. بنابراین باتوجه به ویژگی‌های مطلوب عصاره چای سبز از جمله فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی که با مهار اکسیژن به حفظ و بقای سویه‌های پروبیوتیک کمک می-کند هدف از این تحقیق بررسی اثر افزودن عصاره چای سبز بر ویژگی‌های فیزیکو شیمیایی، حسی و زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس کازئی* در ماست قالبی کم چرب پروبیوتیک مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار

در این مطالعه از دمنوش چای در ماست استفاده شد. بدین منظور ۸۰۰ میلی‌لیتر از آب جوش به ۴۰ گرم از برگ چای سبز افزوه شده و با هم مخلوط گردیدند و این مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه نگه داشته شد. سپس برگ‌ها جدا گردیدند و دمنوش مورد نظر تا دمای محیط سرد گردید و در نسبت‌های مختلف در فرمولاسیون ماست استفاده شد (Najebauer-Lejko et al., 2013). بعد از تهیه عصاره، میزان فعالیت انتی‌اکسیدانی و فنل کل آن نیز به صورت آزاد و همچنین به صورت افزوده شده به ماست اندازه‌گیری شدند. صفات مورد برررسی شامل pH، اسیدیته برحسب دورنیک، جستجو و شمارش *لاکتوباسیلوس کازئی*، میزان فنل کل، فعالیت آنتی-

اکسیدانی، آب اندازی و ارزیابی حسی می‌باشد و تیمارها T_1، T_2، T_3 , T_4 حاوی *لاکتوباسیلوس کازیی* با غلظت 10^8 cfu/ml و درصد عصاره چای سبز به ترتیب (صفر، دو، چهار و شش)درصد می‌باشد. آزمایش به صورت طرح کاملا تصادفی، هر تیمار دارای سه تکرار در فاصله‌های زمانی یک، هفت و ۱۴ انجام شد.

تهیه نمونه‌های ماست

ابتدا شیرگاو با استاندارد مشخص از نظر ماده خشک بدون چربی تهیه شد که نباید از ۵/۸ درصد کمتر بوده و درصد چربی شیرخام نباید از دو درصد بیشتر باشد(سازمان ملی استاندارد، ۱۳۷۱). نمونه شیر به مدت پنج دقیقه در ۸۵ الی ۹۰ درجه سلسیوس پاستوریزه شده که بعد از سرد شدن آن تا دمای ۴۲-۴۰ درجه سلسیوس ، مقدار۲درصد به آن استارتر شامل *استرپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس بولگاریکوس زیر گونه دلبروکی* (هنسن، دانمارک) زده شد. سپس عصاره چای سبز به مقادیر دو، چهار و شش درصد به آن اضافه گردید. در نهایت محلول پروبیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی*(تک ژن زیست، ایران) منشاء *لبنی* با غلظت 10^8 cfu/ ml افزوده و در ظرف بسته بندی پرنموده و در دمای ۴۲درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری گردیدند تا pH آن به ۴/۷ برسد و سپس در دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری شد تا نمونه‌هایی از هر نوع ماست به ترتیب بعد از یک روز، ۱۱ روز و ۲۱ روز تحت آنالیز قرارگیرد(Mahmoudi et al., 2014).

خصوصیات فیزیکوشیمیایی

اسیدیته و pH بر حسب دورنیک نمونه‌های ماست مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۲۸۵۲ انجام شد (سازمان ملی استاندارد، ۱۳۷۱). میزان ماده خشک نمونه‌های ماست با استفاده از دستگاه کوره الکتریکی (استوآرت[1]، انگلستان) اندازه‌گیری شد. بدین منظور نمونه‌ها در دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس در دستگاه رطوبت سنج قرار گرفته و میزان ماده خشک آن‌ها محاسبه گردید. برای اندازه‌گیری درصد چربی ماست از روش ژربر مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۳۶۶ - استفاده شد(سازمان ملی استاندارد ایران ، ۱۳۷۱).

میزان آب اندازی

جهت اندازه‌گیری میزان آب اندازی ماست، ۲۵ گرم نمونه روی کاغذ صافی واتمن شماره ۴۱ توزین گردید و روی قیف قرار داده می‌شود. میزان آب خارج شده از قیف پس از ۱۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سلسیوس به عنوان آب اندازی بیان گردید(Amiri Ogadaie et al., 2011).

جستجو و شمارش *لاکتوباسیلوس کازئی*

برای جستجو و شمارش *لاکتوباسیلوس کازئی* ازروش رقت سازی متوالی استفاده شد. شمارش تعداد سلول پروبیوتیکی با استفاده از روش رقت سازی نه لوله‌ای وکشت مخلوط انجام گرفت. به این ترتیب که مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه ماست در ۹۰ میلی‌لیتر از آب پپتونه استریل یک درصد رقیق شده و سپس به مدت ۱۰ دقیقه، در دمای اتاق با استفاده از همزن مغناطیسی همزده و بعد از رقت‌سازی متوالی، یک میلی‌لیتر از محلول فوق با رقت-های مختلف داخل پلیت‌های حاوی محیط کشت MRS-agar و ونکومایسین با روش پورپلیت کشت شد این محیط کشت، بعنوان محیط کشت انتخابی برای *لاکتوباسیلوس کازئی* می‌باشد.

سپس پلیت‌ها درانکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس قرار گرفت. شمارش کلنی‌ها بعداز ۷۲ ساعت گرمخانه‌گذاری به وسیله دستگاه شمارش کلنی تعیین شد (Nikjooy and Hashemi, 2015).

تعیین میزان فنول کل نمونه‌های ماست

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های ماست میزان فنول کل در نمونه‌های ماست با روش فولین سیوکالتو اندازه-گیری گردید (Masek et al., 2017). بدین منظور ۰/۵ میلی‌لیتر نمونه ماست حاوی عصاره با ۲/۵ میلی‌لیتر از معرف فولین سیوکالتو ۰/۱ نرمال مخلوط گردیده و سپس به آن دو میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد اضافه شده و در نهایت نمونه‌ها ۳۰ دقیقه در مکان تاریک نگهداری

[1] Stuart

گردیدند. در مرحله بعد جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از یک اسپکتروفوتومتر قرائت گردید.

برای تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های ماست حاوی عصاره از روش مهار رادیکال‌های ازاد DPPH استفاده شد (Najebauer-Lejko et al., 2011). بدین منظور دو میلی‌لیتر از نمونه ماست یا آب مقطر به عنوان کنترل با دو میلی‌لیتر از محلول اتانولی DPPH با غلظت ۰/۰۰۰۴ درصد مخلوط گردیدند. سپس مخلوط‌های حاصل به مدت نیم ساعت در یک مکان تاریک نگهداری شده و جذب آن‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد (Najebauer-Lejko et al., 2011). در نهایت قدرت مهارکنندگی نمونه‌ها با فرمول زیر به دست آمد:

$$\text{درصد بازدارندگی} = \frac{\text{جذب شاهد} - \text{جذب نمونه}}{\text{جذب شاهد}} \times 100$$

ارزیابی حسی نمونه‌های ماست

ارزیابی حسی (رنگ، بافت، طعم، بو) توسط ده نفر ارزیاب آموزش‌دیده براساس روش هدونیک نه نقطه ای انجام گرفت. دراین آزمون، ویژگی‌های حسی از قبیل طعم، بو، رنگ، قوام، قابلیت قاشق برداری و مطلوبیت نهایی به ارزیابان حسی آموزش داده شده و براساس معیار یک تا نه به تیمارهای مختلف امتیاز داده شد که امتیاز یک به منزله ضعیف‌ترین تیمار و امتیاز نه به منزله بهترین تیمار می‌باشد که بعد از هر بار ارزیابی از یک لیوان آب جهت شستشوی دهان و ارزیابی بعدی استفاده گردید و نتایج آن توسط آنالیز آماری مورد تحلیل قرار گرفت (نیک بخت و همکاران، ۱۳۹۳).

تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش به صورت فاکتوریل درقالب طرح آماری کاملا تصادفی بوده است و جهت تشخیص معنی‌دار بودن و یا عدم معنی‌داربودن تیمارها از نظر تجزیه واریانس دوطرفه استفاده شد. مقایسه میانگین بین تیمارها با آزمون دانکن درسطح احتمال پنج درصد انجام شد و رسم نمودار با نرم افزارExcel انجام گرفت.

نتایج

تغییرات pH

جدول ۱،تجزیه واریانس pH ماست تهیه شده حاوی عصاره چای سبز را نشان می‌دهد. همانطور که از جدول مشخص است اثر زمان کاملا معنی‌دار $p\leq0.01$ و اثر تیمار معنی‌دار $p\leq0.05$ می‌باشد و اثر متقابل تیمار × زمان معنی‌دار نمی‌باشد $p>0.05$

کمترین میزان pH مربوط به تیمار T_4 یعنی ماست پروبیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* با شش درصد عصاره چای سبز می‌باشد. نزدیکترین تیمار به تیمار شاهد، تیمار B یعنی ماست پروبیوتیک حاوی دو درصد عصاره چای سبز می‌باشد. pH تمامی تیمارها با گذشت زمان در طی ۱۴ روز روند کاهشی نشان داد (شکل ۱).

جدول ۲، تجزیه واریانس اسیدیته (دورنیک) ماست پروبیوتیک حاوی عصاره چای سبز را نشان می‌دهد. با توجه به جدول اثر تیمار، اثر زمان و اثر متقابل تیمار× زمان کاملا معنی‌دار $p\leq0.01$ می‌باشد.

تغییرات اسیدیته برحسب دورنیک

بیشترین میزان اسیدیته مربوط به روز ۱۴ از دوره نگهداری و کمترین میزان اسیدیته مربوط به روز اول پس از تولید می‌باشد. میزان اسیدیته تمامی تیمارها با گذشت زمان افزایش نشان داد (شکل ۲).

تغییرات درصد ماده خشک

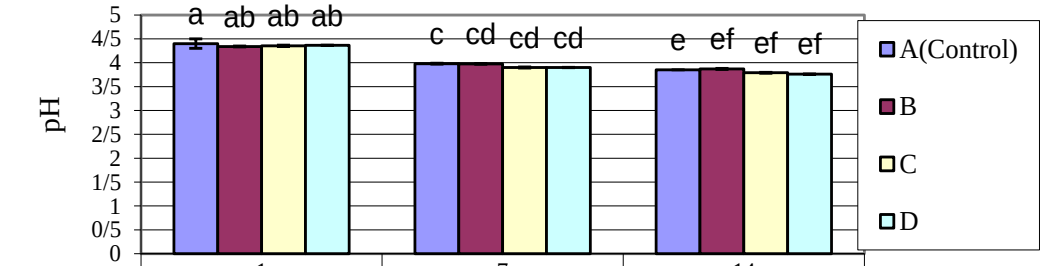
با توجه به تجزیه واریانس درصد ماده خشک (جدول ۳)، اثر تیمار، اثر زمان و اثر متقابل تیمار × زمان کاملا معنی دار $p<0.01$ می‌باشد.

بیشترین درصد ماده خشک مربوط به نمونه شاهد (تیمار A) یعنی ماست پروبیوتیک فاقد عصاره چای سبز و کمترین درصد ماده خشک مربوط به تیمار C یعنی ماست پروبیوتیک حاوی چهار درصد عصاره چای سبز می باشد و نزدیکترین تیمار به تیمار شاهد، تیمار B یعنی ماست پروبیوتیک حاوی دو درصد عصاره چای سبز می باشد (شکل ۳).

جدول۱- آنالیز واریانس pH

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	Sig.
غلظت عصاره	۳	۰/۰۰۶	۳/۵۸۷	۰/۰۴۷*
زمان	۲	۰/۶۵۸	۳۶۴/۸۷۱	۰/۰۰۰**
تیمار×زمان	۶	۰/۰۰۲	۰/۹۶۳	۰/۴۸۹ns

a. R Squared = 0.984 (Adjusted R Squared = 0.970)



	1	7	14
A(Control)	4/4	3/98	3/85
B	4/34	3/975	3/87
C	4/355	3/9	3/79
D	4/365	3/9	3/76

مدت نگهداری (روز)

شکل ۱- تغییرات pH ماست پروبیوتیک حاوی عصاره چای سبز

جدول۲- آنالیز واریانس اسیدیته بر حسب دورنیک

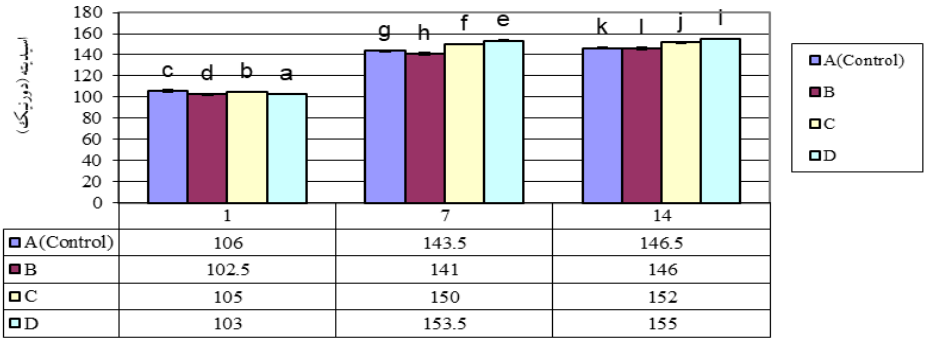
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	Sig.
غلظت عصاره	۳	۶۸/۸۱۹	۹۷/۱۵۷	۰/۰۰۰**
زمان	۲	۵۲۶۹/۰۴۲	۷۴۳۸/۶۴۷	۰/۰۰۰**
تیمار×زمان	۶	۲۱/۳۱۹	۳۰/۰۹۸	۰/۰۰۰**

a. R Squared = 0.999 (Adjusted R Squared = 0.999)

** اختلاف معنی دار در سطح احتمال $p<0.01$

ورنیک ماست پروبیوتیک

سبز



	1	7	14
A(Control)	106	143.5	146.5
B	102.5	141	146
C	105	150	152
D	103	153.5	155

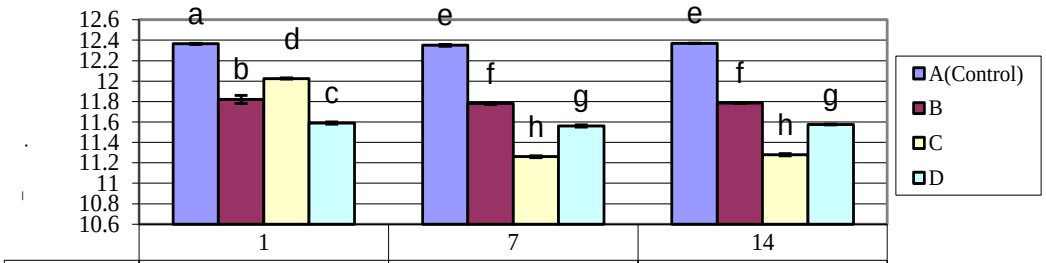
مدت نگهداری (روز)

جدول۳- آنالیز واریانس درصد ماده خشک

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	Sig.
غلظت عصاره	۳	۰/۸۸۶	۲۳۱۰/۶۶۷	۰/۰۰۰**
زمان	۲	۰/۱۱۳	۲۹۳/۵۲۲	۰/۰۰۰**
تیمار×زمان	۶	۰/۰۹۰	۲۳۴/۱۸۸	۰/۰۰۰**

a. R Squared = 0.999 (Adjusted R Squared = 0.997)

** اختلاف معنی دار در سطح احتمال $p<0.01$



	1	7	14
A(Control)	12.365	12.35	12.37
B	11.82	11.78	11.785
C	12.025	11.26	11.28
D	11.59	11.56	11.575

مدت نگهداری (روز)

شکل۳- تغییرات درصد ماده خشک ماست پروبیوتیک حاوی عصاره چای سبز

تغییرات درصد چربی

با توجه به جدول تجزیه واریانس ۴، اثر تیمار، اثر زمان و اثر متقابل تیمار × زمان معنی‌دار نمی‌باشد $p>0.05$.

جدول۴- تجزیه واریانس درصد چربی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	Sig.
غلظت عصاره	۳	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۱/۰۰۰ns
زمان	۲	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۱/۰۰۰ns
تیمار×زمان	۶	۰/۰۰۵	۰/۰۰۰	۱/۰۰۰ns

a. R Squared = 0.000 (Adjusted R Squared =- 0.917)

ns: نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال $p>0.05$

از نظر درصد چربی، تمامی تیمارها دارای درصد چربی یکسان بودند و تغییر محسوسی میان تیمارهای مختلف مشاهده نشد. درصد سینرسیس (آب اندازی) با توجه به جدول تجزیه واریانس (۵)، از نظر سینرسیس، تاثیر تیمار، تاثیر زمان و تاثیر متقابل تیمار × زمان کاملا معنی‌دار $p<0.01$ می‌باشد.

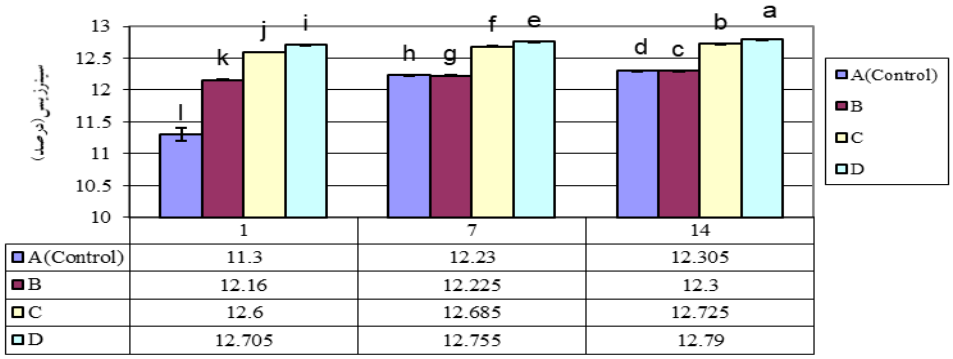
بیشترین میزان درصد سینرسیس مربوط به تیمار D یعنی ماست پروبیوتیک حاوی شش درصد عصاره چای سبز و کمترین درصد سینرسیس مربوط به تیمار A (شاهد) ماست پروبیوتیک فاقد عصاره چای سبز می‌باشد (شکل ۴).

جدول۵- تجزیه واریانس درصد سینرزیس

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	Sig.
غلظت عصاره	۳	۰/۸۶۴	۴۹۱/۲۴۲	۰/۰۰۰**
زمان	۲	۰/۲۶۴	۱۴۹/۹۳۱	۰/۰۰۰**
تیمار×زمان	۶	۰/۱۲۸	۷۲/۹۵۵	۰/۰۰۰**

a. R Squared = 0.995 (Adjusted R Squared =- 0.990)

** اختلاف معنی دار در سطح احتمال $p<0.01$



شکل۴- تغییرات درصد سینرزیس ماست پروبیوتیک حاوی عصاره چای سبز

تغییرات درصد فنل کل (گرم در صد گرم وزن ماده خشک)

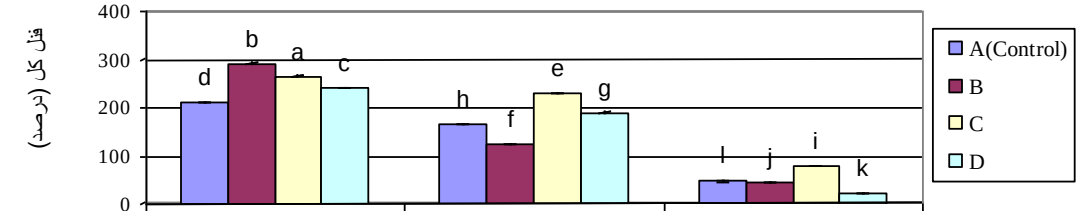
با توجه به جدول تجزیه واریانس (۶)، از نظر فنل کل، اثر تیمار، اثر زمان و اثر متقابل تیمار × زمان کاملا معنی‌دار $p<0.01$ می‌باشد. بیشترین درصد فنل کل مربوط به تیمار C حاوی چهار درصد عصاره چای سبز و کمترین درصد فنل کل مربوط به تیمار A بدون عصاره چای سبز می‌باشد میزان فنل کل تمام تیمارها با گذشت زمان کاهش نشان داد (شکل ۵).

جدول۶-تجزیه واریانس فنل کل

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	Sig.
غلظت عصاره	۳	۲۴۸۳/۲۶۳	۷۷۲۹۰/۰۰۵	۰/۰۰۰**
زمان	۲	۸۲۸۲۸/۸۵۵	۲۵۷۷۹۹۵/۷۶۰	۰/۰۰۰**
تیمار×زمان	۶	۲۲۸۷/۴۱۱	۷۱۱۹۴/۲۲۸	۰/۰۰۰**

a. R Squared = 1.000 (Adjusted R Squared =1.000)

** اختلاف معنی دار در سطح احتمال $p<0.01$



	1	7	14
A(Control)	210.585	167.22	47.51
B	288.775	123.54	45.95
C	265.3	228.72	79.09
D	242.245	188.98	21.74

مدت نگهداری (روز)

شکل ۵-تغییرات فنل کل ماست پروبیوتیک حاوی عصاره چای سبز

لگاریتم جمعیت سلول‌های *لاکتوباسیلوس کازئی* cfu/ml

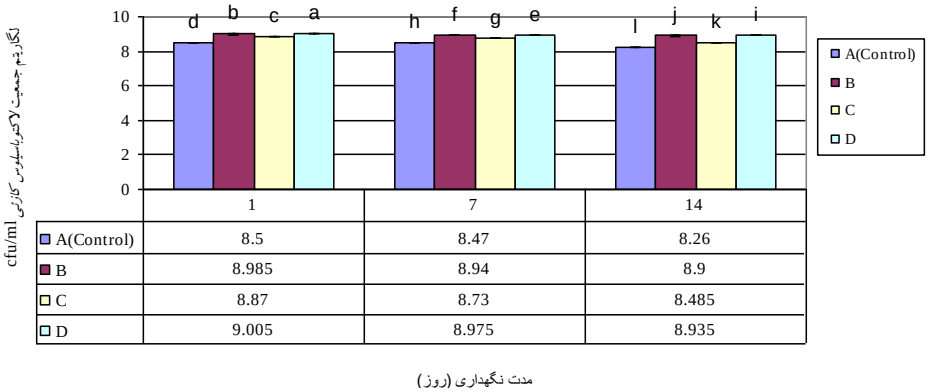
با توجه به جدول تجزیه واریانس (۷)، از نظر لگاریتم جمعیت سلول‌های *لاکتوباسیلوس کازئی*، تاثیر تیمار، تاثیر زمان و تاثیر متقابل تیمار × زمان کاملا معنی‌دار $p<0.01$ می‌باشد. بیشترین میزان زنده‌مانی سلول‌های *لاکتوباسیلوس کازئی* مربوط به تیمار D یعنی ماست پروبیوتیک حاوی شش درصد عصاره چای سبز و کمترین میزان زنده‌مانی سلول‌های *لاکتوباسیلوس کازئی* مربوط به تیمار شاهد یعنی ماست پروبیوتیک فاقد عصاره چای سبز می‌باشد. نرخ زنده‌مانی سویه *لاکتوباسیلوس کازئی* به طور جزئی با گذشت زمان روند کاهشی نشان داد (شکل۶).

جدول۷- تجزیه واریانس لگاریتم جمعیت *لاکتوباسیلوس کازئی*

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	Sig.
غلظت عصاره	۳	۰/۴۰۹	۱۸۵۱/۲۸۹	۰/۰۰۰**
زمان	۲	۰/۰۸۰	۳۶۰/۲۴۵	۰/۰۰۰**
تیمار×زمان	۶	۰/۰۱۲	۵۵/۳۶۵	۰/۰۰۰**

a. R Squared = 0.998 (Adjusted R Squared =0.997)

** اختلاف معنی دار در سطح احتمال $p<0.01$



شکل۶- تغییرات لگاریتم جمعیت لاکتوباسیلوس کازئیcfu/ml

امتیاز حسی طعم

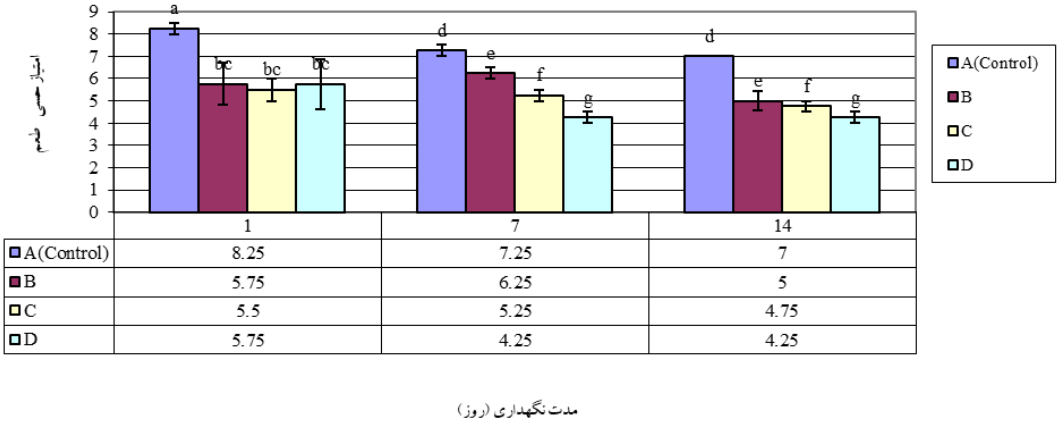
با توجه به جدول تجزیه واریانس ۸، از نظر امتیاز حسی طعم اثر تیمار، اثر زمان کاملا معنی‌دار $p<0.01$ می‌باشد و اثر متقابل تیمار × زمان معنی‌دار $p>0.05$ نمی‌باشد. بیشترین امتیاز حسی طعم مربوط به تیمار A (شاهد) و کمترین امتیاز حسی طعم مربوط به تیمار D (ماست پروبیوتیک حاوی شش درصد عصاره چای سبز) می‌باشد. امتیاز حسی طعم کلیه تیمارها با گذشت زمان روند کاهشی داشت (شکل ۷).

جدول ۸- تجزیه واریانس امتیاز حسی طعم

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	Sig.
غلظت عصاره	۳	۱۷/۶۳۲	۱۷/۷۵۵	۰/۰۰۰**
زمان	۲	۴/۵۲۱	۴/۵۵۲	۰/۰۱۷*
تیمار×زمان	۶	۰/۷۹۹	۰/۸۰۴	۰/۵۷۳ns

a. R Squared = 0.651 (Adjusted R Squared =0.545)

** اختلاف معنی دار در سطح احتمال $p<0.01$؛ * اختلاف معنی دار در سطح احتمال $p<0.05$؛ ns : نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال $p>0.05$



	1	7	14
A(Control)	8.25	7.25	7
B	5.75	6.25	5
C	5.5	5.25	4.75
D	5.75	4.25	4.25

شکل ۷-تغییرات امتیاز حسی طعم ماست پروبیوتیک حاوی عصاره چای سبز

امتیاز حسی بافت

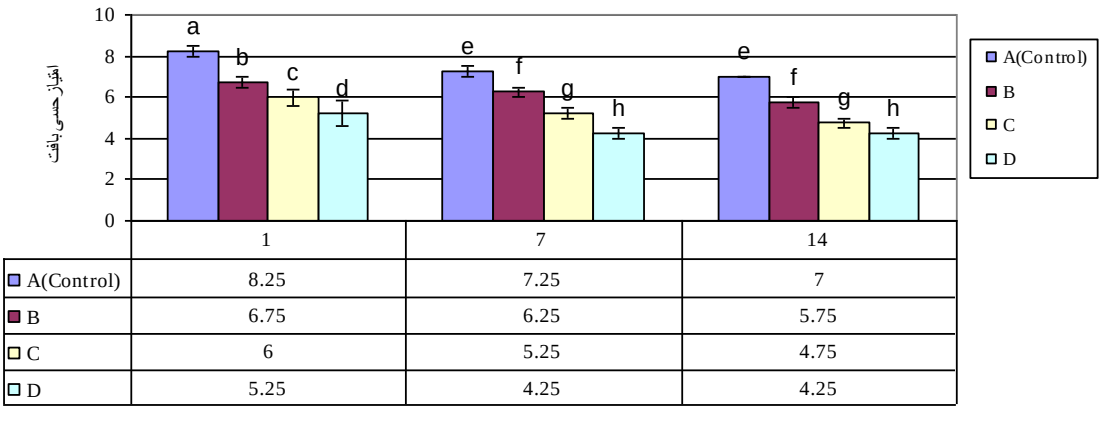
با توجه به جدول تجزیه واریانس۹، از نظر امتیاز حسی بافت اثر تیمار و اثر زمان کاملا معنی‌دار $p<0.01$ می‌باشد و اثر متقابل تیمار × زمان معنی‌دار $p>0.05$ نمی‌باشد. بیشترین امتیاز حسی بافت مربوط به تیمار شاهد و کمترین امتیازحسی بافت مربوط به تیمار D (ماست پروبیوتیک حاوی شش درصد عصاره چای سبز) می‌باشد. امتیاز حسی بافت کلیه تیمارها با گذشت زمان روند کاهشی نشان داد (شکل ۸).

جدول ۹-تجزیه واریانس امتیاز حسی بافت

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	Sig.
غلظت عصاره	۳	۱۸/۹۴۴	۵۰/۵۱۹	۰/۰۰۰**
زمان	۲	۵/۳۹۶	۱۴/۳۸۹	۰/۰۰۰**
تیمار×زمان	۶	۰/۰۹۰	۰/۲۴۱	۰/۹۶۰ns

a. R Squared = 0.835 (Adjusted R Squared =0.784)

** اختلاف معنی دار در سطح احتمال $p<0.01$ ؛ ns : نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح $p>0.05$



	1	7	14
A(Control)	8.25	7.25	7
B	6.75	6.25	5.75
C	6	5.25	4.75
D	5.25	4.25	4.25

شکل ۸- تغییرات امتیاز حسی بافت ماست پروبیوتیک حاوی عصاره چای سبز

امتیاز حسی رنگ

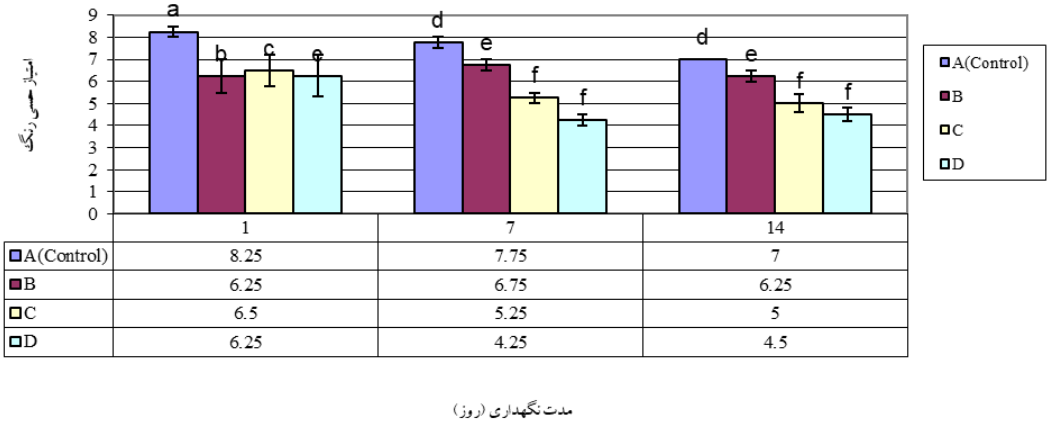
از نظر امتیاز حسی رنگ، با توجه به جدول تجزیه واریانس ۱۰، اثر تیمار و اثر زمان کاملا معنی‌دار $p<0.01$ می‌باشد و اثر متقابل تیمار × زمان معنی‌دار نمی‌باشد $p>0.05$. بیشترین امتیاز حسی رنگ مربوط به تیمار A (شاهد) و کمترین امتیاز حسی رنگ مربوط به تیمار D (ماست پروبیوتیک حاوی شش درصد عصاره چای سبز) می‌باشد. امتیاز حسی رنگ تمامی تیمارها با گذشت زمان کاهش نشان داد (شکل ۹).

جدول ۱۰- تجزیه واریانس امتیاز حسی رنگ

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	Sig.
غلظت عصاره	۳	۱۶/۰۵۶	۱۷/۰۰۰	۰/۰۰۰**
زمان	۲	۵/۳۹۶	۵/۷۱۳	۰/۰۰۷**
تیمار×زمان	۶	۱/۲۸۵	۱/۳۶۰	۰/۲۵۷ns

a. R Squared = 1.000 (Adjusted R Squared =1.000)

** اختلاف معنی دار در سطح احتمال $p<0.01$؛ ns : نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح $p>0.05$



شکل۹-تغییرات امتیاز حسی رنگ ماست پروبیوتیک حاوی عصاره چای سبز

امتیاز حسی پذیرش کلی

با توجه به جدول تجزیه واریانس ۱۱، از نظر امتیاز حسی پذیرش کلی، تاثیر تیمار و تاثیر زمان کاملا معنی‌دار $p<0.01$ می‌باشد و اثر متقابل تیمار × زمان معنی‌دار $p>0.05$ نمی باشد.

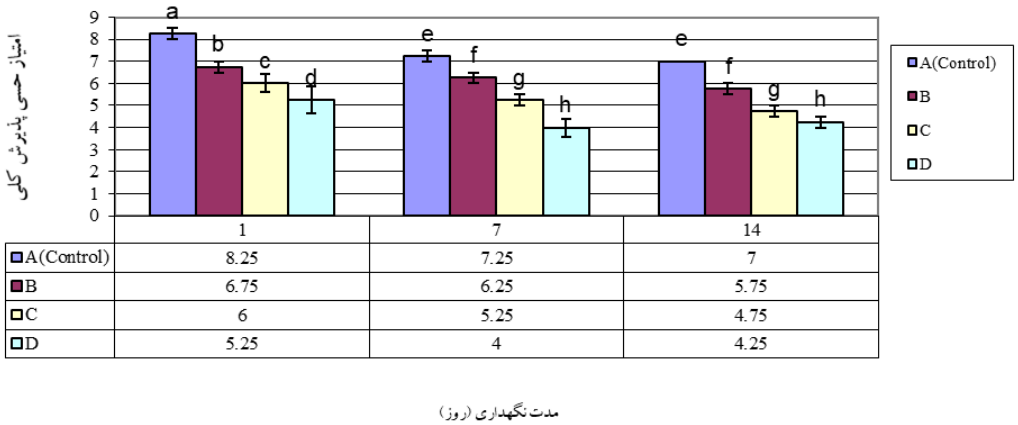
بیشترین امتیاز حسی پذیرش کلی مربوط به تیمار A (شاهد) و کمترین امتیاز حسی پذیرش کلی تیمار D (ماست پروبیوتیک حاوی شش درصد عصاره چای سبز) می‌باشد. امتیاز حسی پذیرش کلی کلیه تیمارها با گذشت زمان روند کاهشی نشان داد (شکل ۱۰).

جدول۱۱- تجزیه واریانس امتیاز حسی پذیرش کلی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	Sig.
غلظت عصاره	۳	۱۹/۸۵۴	۴۸/۴۵۸	۰/۰۰۰**
زمان	۲	۵/۵۸۳	۱۳/۶۲۷	۰/۰۰۰**
تیمار×زمان	۶	۰/۱۶۷	۰/۴۰۷	۰/۸۷۰ns

a. R Squared = 0.829 (Adjusted R Squared =0.777)

** اختلاف معنی دار در سطح احتمال $p<0.01$ ؛ ns : نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح $p>0.05$



	1	7	14
A(Control)	8.25	7.25	7
B	6.75	6.25	5.75
C	6	5.25	4.75
D	5.25	4	4.25

شکل ۱۰- تغییرات امتیاز حسی پذیرش کلی ماست پروبیوتیک حاوی عصاره چای سبز

بحث

تغییرات pH و اسیدیته (دورنیک) ماست تهیه شده حاوی عصاره چای سبز

همان طور که قبلا ذکر شد درصدهای متفاوت عصاره چای سبز به طور معنی‌داری $p<0.01$ اسیدیته (دورنیک) و pH را تغییر داد در حقیقت این تاثیر به دلیل تغییر نسبت *باسیلوس ها* و *کوکسی ها* می باشد بنابراین بالا رفتن تعداد *لاکتوباسیلوس‌ها* موجب طعم اسیدی شدید-تری شده است. زمان نگهداری ماست در یخچال نیز تاثیر به‌سزایی در کاهش pH و افزایش اسیدیته دارد. علت کاهش pH و افزایش اسیدیته فعالیت‌های مفید و مضر میکروارگانیسم‌های استارتر موجود در ماست که منجر به مصرف قندهای ساده و تولید اسیدهای آلی می‌شود، می-باشد. نتیجه این تحقیق با مطالعه انجام شده توسط دیگر محققان بر روی فراورده‌های پروبیوتیک مطابقت داشت (Nikjooy and Hashemi, 2015). محمودی و همکاران (۲۰۱۶) دریافتند اسیدیته ماست پروبیوتیک حاوی عصاره آبی آلوئه‌ورا در طی نگهداری کاهش و به موازات آن pH نمونه‌ها افزایش یافت (Mahmoudi et al., 2016). O'Connelz و Fox در سال (۲۰۰۱) دریافتند که مقدار pH ماست چکیده (حاوی ۱۶ درصد مواد جامد) در پایان ۲۴۰ دقیقه به ۴/۳ می‌رسد و کاهش مقدار pH در ماست حاوی درصد مواد جامد بیشتر به دلیل ظرفیت بافری بالاتر شیر تغلیظ شده، آهسته‌تر می باشد (O'Connell and Fox, 2001). تیمارهایی که حاوی pH پایین‌تر و اسیدیته بالاتری هستند، تیمارهایی هستند که دارای سویه پروبیوتیک و درصد بالاتر ترکیبات فنولیک حاصل از عصاره چای سبز می‌باشند زیرا این ترکیبات فنولیک به عنوان جاذب اکسیژن عمل می‌کنند و

سبب کاهش پتانسیل اکسیداسیون- احیاء محیط رشد باکتری‌ها می شوند در نتیجه سبب رشد بهتر باکتری‌های پروبیوتیک در غیاب اکسیژن و تخمیر شدیدتر و افزایش اسیدیته و کاهش pH می‌گردند (Marhamatizadeh et al., 2013). همچنین با افزودن عصاره چای سبز اسیدیته (دورنیک) افزایش می‌یابد که این پدیده ممکن است حداقل به خاطر ظرفیت بافری جزئی ماست حاوی عصاره چای سبز باشد همین طور عصاره چای سبز رشد باکتری-های استارتر ماست را تحریک نموده که موجب تولید اسید لاکتیک می‌شود. حیاتی نژاد و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه ای اثر عصاره اسفناج بر ماست قالبی را بررسی کرده و مشاهده کردند که تغییرات اسیدیته در طول نگهداری نمونه‌ها روند افزایشی داشته است مطابق با نتایج این تحقیق، ماست تهیه شده با عصاره چای سبز در مقایسه با نمونه های فاقد عصاره اسیدیته بالایی داشته اند (Hayatinejad et al., 2014).

تغییرات میزان ماده خشک

در تیمارهای با درصد عصاره چای سبز بیشتر کاهش ماده خشک محسوس‌تر است. ماست یک ژل پروتئینی می‌باشد که پروتئین‌های محلول دناتوره شده با ایجاد اتصالات به کازئین، ساختار متخلخل و شبکه مانندی ایجاد می‌کنند که قادر به حفظ آب می‌باشند. اضافه کردن عصاره به ماست منجر به تضعیف این شبکه و کاهش ویسکوزیته می‌گردد. کاهش ویسکوزیته و ماده خشک در طی نگهداری ناشی از افزایش اسیدیته و سست شدن شبکه ژلی می‌باشد از سوی دیگر علت کاهش ماده خشک ناشی از واکنش‌های پروتئولیز و انتقال ترکیبات پروتئینی و پپتیدی از فاز لخته به فاز سرم می‌باشد که شدت این واکنش‌ها در تیمارهای با درصد آب اندازی بالاتر و کاهش ماده خشک شدیدتر می‌باشد زیرا شرایط به دلیل فعالیت آبی بالاتر برای فعالیت میکروارگانیسم‌های آغازگر و پروبیوتیک مطلوب‌تر می‌باشد. نتایج این تحقیق با نتایج بدست آمده توسط دیگر محققان مطابقت داشت (عرب و همکاران، ۱۳۹۲). برخی از محققان کاهش درصد ماده خشک در ماست پروبیوتیک حاوی اسانس روغنی گلپوره را گزارش نموده اند (Mahmoudi et al., 2014).

تغییرات میزان چربی

مقدار چربی تمامی تیمارها تا پایان مدت نگهداری ثابت ماند که نشان دهنده آن است که استفاده از عصاره چای سبز در پروسه تولید ماست، تاثیری در افزایش و یا کاهش مقدار چربی نداشته و عملکرد آن در جهت بهبود قابلیت زنده‌مانی سویه پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* می‌باشد. نتایج این تحقیق با نتایج سایر محققان مطابقت داشت آن‌ها نشان دادند که تغییرات محسوسی در درصد چربی ماست پروبیوتیک حاوی اسانس روغنی گلپوره مشاهده نشد (Mahmoudi et al., 2014).

ترکیبات پلی‌فنل موجود در چای سبز

ترکیبات اصلی فنولیک موجود در چای سبز مسئول اصلی پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بالای آن می‌باشند این ترکیبات عبارتند از کاتچین ها از جمله اپی گالوکاتچین گالات (EGCG) ، اپی گالو کاتچین (EGC) ، اپی کاتچین گالات‌ها (ECG) ، اپی کاتچین و همچنین اسید گالیک. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولیک به تعداد گروه‌های OH و موقعیت آن‌ها بستگی دارد. گروه‌های OH روی موقعیت‌های ′۳، ′۴ و ′۵ حلقه B، فلاونوئیدها، فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات را در مقایسه با فنولیک‌های با یک گروه هیدروکسی افزایش می‌دهد. اپی گالوکاتچین گالات-ها قوی‌ترین آنتی‌اکسیدان چای محسوب می‌شوند و فراوان‌ترین ترکیب فلاوان-۳-ال شناخته شده در چای سبز می‌باشند همچنین شیر دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی ناشی از حضور پپتیدهای بایواکتیو مشتق شده از کازئین-ها و پروتئین‌های محلول، لاکتوفرین، اورات ، اسکوربات، α– توکوفرول، بتاکاروتن کوانزیم Q_{10} و سیستم‌های آنزیمی (سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز) که یک خاصیتی است که در شیرهای تخمیر شده هنگامی که باکتری‌های آغازگر نیز دارای برخی از پتانسیل‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشند می‌تواند بیشتر بهبود یابد. جاذب بودن شدیدتر رادیکال توسط DPPH و

قابلیت‌های احیاکنندگی فریک چای سبز ناشی از افزایش معین خاصیت آنتی اکسیدانی در شیرهای تخمیر شده با افزایش مقادیر مکمل سازی شده با چای سبز می‌باشد. حسنی و همکاران (۱۳۹۲) طی مطالعه‌ای در رابطه با افزودن عصاره زرشک به ماست در طول نگهداری میزان ترکیبات فنل کل را بررسی کرده و بیان کردند که ترکیبات فنلی در ماست‌های طعم‌دار به طور معنی‌داری بیشتر از نمونه شاهد (ماست معمولی) می‌باشد (Hasani et al., 2014). در بررسی الهامی راد و همکاران (۲۰۱۵) روی عصاره انار بر میزان خاصیت فنلی ماست نیز مشاهده شد که افزودن عصاره انار باعث افزایش خاصیت فنلی شده و بیشترین مقدار محتوای فنل کل مربوط به نمونه حاوی بیشترین مقدار عصاره بوده است (Elhami Rad et al., 2015). در پژوهش انجام شده توسط علیرضالو و همکاران (۲۰۱۶) عصاره چغندر قند بیشترین ترکیب فنولیک را دارا بود، در رده-های بعدی عصاره اسفناج و گوجه‌فرنگی ترکیبات فنولیک بیشتری نسبت به نمونه شاهد داشتند. ترکیبات فنلی در ادامه مدت نگهداری در تمام تیمارها کاهش یافت. نتایج مشابهی نیز از کاهش ترکیبات فنلی طی مدت زمان نگهداری در ماست‌های حاوی عصاره‌های گیاهی گزارش شده است و علت کاهش ترکیبات فنلی در ماست به از بین رفتن تدریجی این ترکیبات در نتیجه آنزیم‌های پراکسیداز، بتا گلوکوزیداز و لاکتاز ارتباط داده شده است (Alirezalou et al., 2016).

تغییر لگاریتم جمعیت سلول‌های *لاکتوباسیلوس کازئی*

به منظور ایجاد تاثیرات مفید سلامت بخشی مقدار باکتری‌های پروبیوتیک در محصولات غذایی باید به اندازه کافی بالا و در محدوده10^{6}-10^{8} cfu/mlدر سرتاسر دوره ماندگاری باشد (Ghoddusi and Hassan, 2011). در این مطالعه اثر مثبت تلقیح عصاره چای سبز بر نرخ زنده-مانی سویه پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* به وضوح مشاهده شد. تاثیر عصاره چای سبز بر رشد و زنده‌مانی سویه‌های پروبیوتیک به چند عامل بستگی دارد، نوع چای، ترکیب چای، روش تهیه و آماده‌سازی ماست حاوی عصاره چای و همچنین ترکیب میکروارگانیسم‌های آغازگر مورد استفاده جهت تخمیر. حساسیت باکتری‌های *اسید لاکتیک* و *بیفیدوباکتری‌ها* به ترکیبات فنولیک به جنس و گونه باکتری‌ها، غلظت و ساختار شیمیایی پلی فنل‌ها بستگی دارد. المجانو و همکاران (۲۰۰۸) نشان داد عصاره چای سبز بر از بین بردن بسیاری از پاتوژن‌های عامل عفونت موثر است از جمله *باسیلوس سرئوس*، *میکروکوکوس لوتئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا* ، در حالی که *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در مقابل غلظت‌های متفاوت عصاره مقاومت استثنایی نشان داد. بسیاری از گونه‌های *لاکتوباسیل* دارای توانایی متابولیزه کردن ترکیبات فنولیک هستند. در تحقیق حاضر غلظت‌های بالاتر عصاره چای سبز به دلیل غلظت بالاتر ترکیبات جاذب اکسیژن پتانسیل اکسیداسیون – احیاء محیط را کاهش داده و سبب تقویت رشد و افزایش زنده‌مانی سویه *لاکتوباسیلوس کازئی* در غلظت بالاتر عصاره چای سبز گردید نتیجه این تحقیق با نتایج دیگر محققان مطابقت داشت (Almajano et al., 2008). پلی فنل‌هایی نظیر کاتچین، اپی کاتچین و اسید گالیک به وسیله میکروفلورای دستگاه گوارش متابولیزه می‌شوند و تاثیرات مثبت در جهت قابلیت زنده‌مانی سویه‌های *لاکتوباسیلوس* دارند(Lee, 2006) . ناجگبوئر لژکو و همکاران (۲۰۱۱) دریافت که افزودن ۵ تا ۱۵ درصد چای سبز به ماست منجر به شمارش بیشتر *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیر گونه *بولگاریکوس*[1] در مقایسه با ماست های معمولی می‌شود (Najgebauer-Lejko et al., 2011). یک تحقیق جدید نشان داد که بسیاری از سویه‌های *لاکتوباسیلوس* یک سطح بالایی از سلول های زنده در عصاره چای سبز حفظ کرد (L′opez de Lacey *et al*., 2014) که احتمالا ممکن است به خاطر فعالیت گلوکوزیدازی باکتری‌هایی که قندهای گلیکولیز شده فلاونوئیدها را به عنوان منبع

[1] *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*

انرژی مصرف می‌کردند باشد (Schneider *et al.*, 1999). فلاونوئیدها در چای سبز نظیر روتین[1] و کامفرول-۳-o روتینوزید[2] در ساختارشان حاوی رامنوز می‌باشند (L'opez de Lacey et al., 2014). تحقیق دیگر بهبود پایداری باکتری‌های پروبیوتیک در آب میوه جات ترکیب شده با عصاره چای سبز تصدیق کرد این موضوع به دلیل جذب اکسیژن و آنتی‌اکسیدان‌های چای سبز باشد که یک شرایط بی‌هوازی خوبی برای رشد باکتری‌های پروبیوتیک ایجاد می‌کرد (Shah et al., 2010). کاهش جمعیت سویه‌های پروبیوتیک در طی دوره نگهداری ممکن است مرتبط با اسیدسازی پس از فرایند[3] باشد (Kneifel et al., 1993).

بررسی تغییرات سینرسیس

توانایی ژل پروتئینی تولید شده در حفظ و نگهداری آب، تاثیر بسیار زیادی در قوام و بافت ماست دارد به طوری که در ژل هایی با توانایی پایین در این خصوصیت، جدا شدن آب در طی مدت نگهداری و با اعمال شوک‌های مکانیکی در طی حمل ونقل رویت می‌گردد. توانایی ژل پروتئینی ماست در حفظ آب را می‌توان از طریق میزان آب خارج شده بدون اعمال نیروی خارجی و یا از طریق خارج کردن آب‌های محصور شده در داخل ژل با استفاده از نیروی خارجی محاسبه نمود. سینرسیس خود به خودی در واقع انقباض ژل بدون کاربرد هیچ نیروی خارجی است و مربوط به ثبات شبکه ژلی می‌باشد، که در نتیجه‌ی از دست دادن قابلیت نگهداری سرم می‌باشد. افزایش دناتوراسیون پروتئین‌های آب پنیر باعث بهبود ظرفیت نگهداری آب و در نتیجه کاهش آب اندازی می‌گردد. تمایل به آب اندازی تابع غلظت پروتئین‌های آب پنیر می‌باشد (Abbaszadeh et al., 2014). با افزایش نسبت پروتئین‌های آب پنیر همراه با کاهش میسل‌های کازئین که عامل اصلی در تشکیل ژل می‌باشند، آب اندازی افزایش می‌یابد. دهکردی و همکاران (۲۰۱۴) در تحقیق خود نشان دادند که عصاره گیاه شنگ به دلیل وجود ماده‌ای به نام اینولین باعث کاهش میزان سینرسیس نسبت به نمونه شاهد شد (Dehkordi et al., 2014). الهامی راد و همکاران (۲۰۱۵) نیز بر کاهش میزان سینرسیس با افزایش عصاره انار افزوده شده به ماست اشاره کرده‌اند (Elhami Rad et al., 2015). علیرضالو و همکاران (۲۰۱۶)، در بررسی خود اعلام کردند که افزودن عصاره چغندرقند، اسفناج و گوجه فرنگی باعث کاهش سینرسیس نسبت به نمونه شاهد شد (Alirezalou et al., 2016). عباس زاده و همکاران (۲۰۱۴) به کاهش میزان سینرسیس در طی نگهداری ۲۱ روزه در ماست های حاوی اسانس‌های نعناع فلفلی اشاره کرده‌اند (Abbaszadeh et al., 2014). فلاوانول‌های موجود در عصاره چای سبز خصوصیات مکانیکی ژل‌های شیر اسیدی شده را تحت تاثیر قرار می‌دهد و باعث کاهش الاستیسیته توام با افزایش سینرسیس می گردد و مشاهده شد که مقدار رها سازی آب لخته در ژل های شیری به تدریج با افزایش مقدار فلاوانول‌های عصاره چای سبز افزایش یافته است. محمودی و همکاران(۲۰۱۶)، نشان دادند درصد سینرسیس در ماست پروبیوتیک حاوی عصاره آبی آلوئه‌ورا در طی دوره ماندگاری ۱۰ روزه افزایش یافت که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت.

بررسی ارزیابی حسی تیمارهای مختلف

دمای گرمخانه‌گذاری از عوامل تعیین کننده بر احساس دهانی، طعم و رایحه فراورده نهایی می‌باشد. از این رو که از یک سو به طور گزینشی سبب غالب شدن یک یا چند باکتری آغازگر نسبت به سایر آغازگرها می‌شود و از سوی دیگر بر رایحه سازی تمامی ریززنده های آغازگر اثر می-گذارد. برای مثال تولید استالدئید توسط *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* در ۴۳ درجه سلسیوس بیشتر است. سرعت احیای سیترات به اتانل توسط باکتری یاد شده با افزایش دمای گرمخانه‌گذاری افزایش می‌یابد همچنین در اثر طعم به خصوص عصاره چای سبز در تیمارهای با درصد عصاره

[1] Rutin
[2] Kaempferol-3-o-rutinoside
[3] Post acidification

بیشتر شدت واقعی طعم ماست کاهش یافته و ارزیابان حسی امتیاز پایین تری به تیمارهای حاوی درصد عصاره بالاتر اختصاص داده‌اند. از طرفی میزان استالدئید در ماست تهیه شده با استفاده از روش سنتی بیشتر است و این موضوع به دلیل بالا بودن تعداد *لاکتوباسیلوس‌ها* در این ماست است که مسئول اصلی تولید استالدئید می‌باشد بنابراین نمونه شاهد به دلیل حضور *لاکتوباسیلوس‌های* بیشتر و در نتیجه تولید استالدئید بیشتر دارای طعم مطلوب‌تری در مقایسه با سایر تیمارها بود و از امتیاز حسی بالاتری برخوردار است. نتیجه این تحقیق با نتایج حاصل از سایر محققان مطابقت داشت (عرب و همکاران، ۱۳۹۲). رنگ ماست در نتیجه‌ی پراکندگی نور منعکس شده به وسیله گلبول‌های چربی و ذرات کلوئیدی کازئین و فسفات کلسیم می‌باشد. روشنایی شیر به دلیل حضور ذرات کلوئیدی مثل گلبول‌های چربی و میسل‌های کازئین می‌باشد. اضافه کردن عصاره چای سبز منجر به تغییر در روشنایی نمونه‌های ماست شده است و با افزایش میزان اضافه کردن عصاره چای سبز روند کاهش روشنایی بیشتر شده است. بنابراین ارزیابی حسی رنگ نشان داد با افزودن درصد عصاره کاهش محسوسی در امتیاز حسی رنگ تیمارها مشاهده شده است و این تغییر رنگ با توجه به رنگ اصلی عصاره استخراجی قابل انتظار است. نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج به دست آمده توسط سایر محققان مطابقت داشت (شکر فروش و همکاران، ۱۳۹۲). بافت یکی از ویژگی‌های مهم در بازار پسندی ماست می‌باشد که مربوط به ساختار ماست بوده که حاصل از شاخه‌های کازئین می‌باشد که با یکدیگر و پروتئین‌های سرمی دناتوره شده به خصوص بتا لاکتوگلوبولین متصل شده و گلبول‌های چربی و سرم داخل این شبکه قرار می‌گیرد. برای افزایش قوام و سفتی بافت از روش‌هایی مانند افزودن ترکیبات بدون چربی، هموژنیزاسیون و فرایند حرارتی به منظور دناتوره کردن پروتئین‌های سرمی برای اتصال بستر آنها با کازئین استفاده می‌کنند. حرارت دهی شیر ماست سازی مستقیما بر میزان دناتوره شدن پروتئین‌های آب پنیر موثر است. اگر شیر در دمای ۸۵ درجه سلسیوس به مدت شش دقیقه حرارت داده شود بیش از ۹۰ درصد بتالاکتوگلوبولین‌ها و ۶۰ درصد آلفالاکتالبومین‌ها دناتوره شده و به کازئین اتصال یافته و بافت و قوام مطلوبی در ماست ایجاد می‌شود. کاهش مداوم در pH باعث حل شدن فسفات کلسیم کلوئیدی شده و در نتیجه منجر افزایش اتصال کازئین می‌گردد. تنش ذرات کازئین به هم باعث نازک شدن رشته ها شده و می‌تواند سفتی ژل را کاهش دهد. نتایج این تحقیق با نتایج به دست آمده توسط سایر محققان مطابقت داشت(عرب و همکاران، ۱۳۹۲). افزودن عصاره منجر به تضعیف شبکه ژلی و کاهش سفتی و ویسکوزیته می‌گردد بنابراین تیمارهای حاوی درصد عصاره چای سبز بالاتر دارای کمترین امتیاز حسی بافت بودند.

در مجموع ارزیابی کلیه ویژگی‌های حسی نظیر عطر و طعم، رنگ، بافت و بو می‌توان دریافت تیمارها با درصد عصاره چای سبز بالاتر از مقبولیت ضعیف تری در مقایسه با سایر تیمارها برخوردار می‌باشند و پذیرش کمتری توسط پانلیست‌ها داشته اند و امتیازات ویژگی‌های حسی کلیه تیماره با گذشت زمان روند کاهشی داشته و تیمار شاهد دارای بالاترین امتیاز حسی و نزدیک‌ترین تیمار به تیمار شاهد تیمار ماست پروبیوتیک حاوی دو درصد عصاره چای سبز می‌باشد.

نتیجه گیری کلی

بر مبنای نتایج به دست آمده از آزمون‌های میکروبی، فیزیکوشیمیایی و حسی می‌توان دریافت بیشترین اسیدیته (دورنیک) و کمترین pH مربوط به تیمار حاوی شش درصد عصاره چای سبز به ترتیب ۱۵۵ درجه دورنیک و ۳/۷۶ می باشد. بیشترین درصد ماده خشک مربوط به تیمار شاهد (فاقد عصاره چای سبز) ۱۲/۳۷ درصد می‌باشد. درصد چربی کلیه تیمارها ثابت بود و گذشت زمان تاثیری بر درصد چربی تیمارها نداشت.

بیشترین درصد سینرسیس مربوط به تیمار حاوی شش درصد عصاره چای سبز ۱۱/۵۶ درصد بود. از نظر ویژگی-های آنتی اکسیدانی و ارزیابی فنل کل،کمترین درصد فنل کل و ویژگی‌های آنتی اکسیدانی مربوط به تیمار شاهد (فاقد عصاره چای سبز)۴۷/۵۱ و تیمار حاوی عصاره چای سبز بیشتر دارای درصد فنل بیشتری۲۴۵/۲۴۵ درصد بودند. بیشترین میزان زنده‌مانی سویه *لاکتوباسیلوس کازئی* در تیمار حاوی شش درصد عصاره چای سبز معادل ۸/۹۳۵ cfu/ml گزارش شد. ارزیابی حسی نیز نشان داد کلیه تیمارها با گذشت زمان از نظر امتیازات حسی داده شده توسط ارزیابان حسی روند کاهشی نشان دادند با این حال تیمار شاهد (A) دارای بیشترین امتیاز حسی و نزدیک‌ترین تیمار به تیمار شاهد، تیمار B حاوی دو درصد عصاره چای سبز می‌باشد. در مجموع می‌توان گفت افزودن عصاره چای سبز بر روی میزان سینرسیس و شاخص‌های رنگی و ارزیابی حسی تاثیر منفی و بر روی سایر ویژگی‌ها اثر مثبت داشته است و نزدیک‌ترین تیمار به تیمار شاهد تیمار B یعنی ماست پروبیوتیک حاوی دو درصد عصاره چای سبز می‌باشد.

منابع

۱. سازمان ملی استانداردایران. (۱۳۷۱). شیر و فراورده های آن- تعیین اسیدیته و pH . استاندارد شماره ۲۸۵۲.

۲. سازمان ملی استاندارد. (۱۳۷۰). اندازه گیری چربی شیر. استاندارد شماره ۳۸۴.

۳. شکر فروش، شهرام.، اسکندری، محمد هادی.، حنیف پور، محمد امین و امانی، الهه (۱۳۹۲). مقایسه اثر روش های نوین و متداول هموژنیزاسیون و پاستوریزاسیون بر ویژگی های فیزیکوشیمیایی و بافتی ماست. بیست و یکمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی، شیراز، دانشگاه شیراز.

۴. عرب، سیده معصومه.، مرتضویان، سید امیر محمد و علیزاده، لیلا (۱۳۹۲). اثر دما بر ویژگی های بافتی ماست. بیست و یکمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی، شیراز، دانشگاه شیراز.

۵. علیداد، مرسا.، محمدی ثانی، علی و تجلی، فائزه (۱۳۹۲). اثر ضد افلاتوکسینی لاکتوباسیلوس کازئی به عنوان پروبیوتیک در ماست. مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، سال پنجم، شماره ۱، صفحه ۱۰۵-۹۹.

۶. نیک بخت، حمیدرضا.، فدائی نوغانی، وجیهه و خسروی دارانی، کیانوش (۱۳۹۳). بررسی مقایسه ای زنده مانی پروبیوتیک های انتخابی در ماست قالبی کم چرب حاصل از شیر هموژنیزه شده تحت شرایط دمایی و مراحل متفاوت. فصلنامه علوم و فناوری های نوین غذایی، سال اول، شماره ۴، صفحه ۱۱-۳.

7. Abbas Zadeh Sh, Mortazavi A, Sharifi A and Hasani M. 2014. Synersis changes in yogurt containing oil and extract of peppermint during storage. National Conference on Passive Defense in the Agricultural section, Qeshm Island, Iran.

8. Alirezalou K, Hesari J, Sadegi M and Rezaie H. 2016. Investigation of quality and durability properties of ultrasound colored yogurt enriched with sugar beet extract, Spinach and Tomatoes, J Food Indus Res. 25: 283-297.

9. Almajano M. P, Carbo R, Jim′enez J. A. L and Gordon M. H. 2006. Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusion. J Food Chem. 108: 55-63.

10. Amiri Ogadaie S, Alami M and Rezaie R. 2011. Investigation on the effect of the herbicide on the physicochemical and sensory properties of low-fat yogurt. Iran J Nutr. 6: 201-209.

11. Dehkordi S, Shakerian A, Mohammadi A. 2014. The effect of Sheng's extract on the sensory properties, durability and viscosity of yogurt. J Herb med.1: 49-57.

12. Elhami Rad A, Hooshmand M and Armin M. 2015, The production of functional strawberry yoghurt by pomegranate extract and the evaluation of phenolic compounds, viscosity, synergis and organoleptic properties of yogurt produced by the concentration of pomegranate extract and storage time, Second

National Food Security Seminar, savadkooh, Iran.

13. Ghoddusi H. B and Hassan K. 2011. Selective enumeration of Bifidobacteria: a comparative study. J Milch. 66: 149-151.

14. Gramza A, Korczak J and Amarowicz R. 2005. Tea polyphenols-their antioxidant properties and biological activity. Pol J Food Nutr Sci. 14/55(3): 219-235.

15. Hasani M, Mohammadi Sani A and Sharifi A. 2014. Study of the amount of phenolic compounds and sensory properties of probiotic yogurt and spice mixes enriched with barberry extract. National Conference on Passive Defense in the Agricultural section, Qeshm Island, Iran.

16. Hayatinejad J, Mohammadi Sani A and Hojatoleslami M. 2014. Optimization of yogurt formulation Spinaciaoleracea enriched herbal teas and measure its physicochemical, sensory and microbial properties during storage, Second National Conference on Food Science & Technology, Islamic Azad University, Quchan Branch, Iran.

17. Kneifel W, Jaros D and Erhard F. 1993. Microflora and acidification properties of yogurt and yogurt-related products fermented with commercially available starter cultures. Int J Food Microbiol. 18: 179-189.

18. Lee H. C, Jenner A. M, Low C. S and Lee Y. K. 2006. Effect of tea phenolics and their aromatic fecal bacterial metabolites on intestinal microbiota. Res Microbiol. 157: 876-884.

19. L′opez de Lacey A. M. 2012. Diseno, desarrolloy aplicaci′on de envases comestibles potencialmente bioactivos (Design, Development and Applying of Potentially Bioactive Food Packaging) (doctoral thesis).

20. L′opez de Lacey A. M, P′erez-Santin E, L′opez-caballero M. E and Mentero, P. 2014. Survival and metabolic activity of probiotic bacteria in green tea. LWT Food Sci Technol. 55: 314-322.

21. Lucy J. 2002. Foundation scholar award formation and physical properties of milk protein gels, J Dairy Sci. 85: 281294.

22. Masek A, Chrzescijanska E, Latos M, Zaborski M and Podsedek M. 2017. Antioxident and antiradical properties of Green Tea Extract compounds. Int J Electrochem Sci. 12:6600-6610.

23. Mahmoudi R, Zare P, Hassanzadeh P and Nosratpour S. 2014. Effect of teucrium polium Essential oil on the physicochemical and sensory properties of probiotic yogurt: use of the Essential oil in probiotic yoghurt. J Food Preserv. 38: 880-888.

24. Mahmoudi R, Zare P and Nosratpour S. 2015. Application of Teucrium polium Essential oil and Lactobacillus casei in yogurt. J Essen Oil Bear. 18(2): 477-481.

25. Mahmoudi R. 2015. Improvement the hygienic quality and organoleptic properties of bioyoghort using Cuminum cyminum L. essential oil. J. Agroaliment Proc Technol. 19(4): 405-412.

26. Marhamatizadeh M. H, Ehsandoost E and Gholami P. 2013. The influence of Green tea (Camellia Sinesis L.) Extract on characteristic of probiotic bacteria in milk and yogurt during fermentation and refrigerated storage. Int J Farm Allied Sci. 2(17): 599-606.

27. Muniandy P, Shori A. B and Baba A.S. 2017. Comparison of the effect of green, white and black tea on streptococcus thermophilus and Lactobacillus spp. in yogurt during refrigerated storage. J Asso Arab Uni Bas Appl Sci. 22: 26-30.

28. Najgebauer-Lejko D, Zmudzin′ski D, Ptaszek A and Socha R. 2013. Textural properties of yogurts with green tea and pu-erh tea additive. Int J Food Sci Technol. 49: 1149-1158.

29. Nikjooy S and Hashemi S. H. 2015. Study the possibility of producing symbiotic yogurt containing lactobacillus casei and wild thyme extract. Int J Agri Crop Sci. 8(1): 61-67.

30. O·Connell J. E and Fox P. F. 2001. Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: a review. Int Dairy J. 11: 103-120.

31. Schneider H, Schwietz A, Collins M. D and Blaut M. 1999. Anaerobic transformation of quercetin-3-glucoside by bacteria from the human intestinal tract. Arch Microbiol 171: 81-91.

32. Shah N. P, Ding W. K, Fallourd M. J and Leyer G. 2010. Improving the stability of probiotic bacteria in model fruit juices using vitamins and antioxidents. J Food Sci. 75: M278-M282.

The study of addition of green tea extract on some physicochemical and sensory properties of probiotic set yogurt

Azarjam N[1], Shahab Lavasani AR[2*], Sharifan A[1]

1. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Islamic Azad University,Science and Research Branch, Tehran, Iran.

2. Innovative Technologies in Functional Food Production Research Center, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

3.Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Islamic Azad University,Science and Research Branch, Tehran, Iran.

[*]**Corresponding Author:** *shahabam20@yahoo.com*

Received: 25 August 2019 Accepted: 24 November 2019

Abstract

In this study, supplementation of probiotic stirred yogurt by different percentages of green tea extract and measurement of survival rate of *lactobacillus casei* also some physicochemical and sensory properties were studied during storage in refrigerator. Four treatments were made with different percentages of green tea extract as follows: T_1, T_2, T_3 and T_4, which involved (0, 2, 4 and 6%) of green tea extract respectively. T_1 as a control sample and also concentration of *l. casei* for all treatments was regulated about 10^8 cfu/ml. Three replications were determined for each sample and all experiments were done according to Completely Randomized Design (CRD) during (1, 7 and 14) days of storage. The highest content of acidity was attributed to T_4, the highest value for dry matter was attributed to T_1. Fat % of all treatments was constant during storage and total phenol for T_4 was the highest content. The measurement of survival rate of all treatments showed that T_4 had highest value. Synersis% of T_4 was highest value. Sensory evaluations were carried out according to hedonics' test and all sensorial scores decreased by adding tea extract. Totally addition of green tea extract had negatively effects on synersis content according to microbial, physicochemical and sensory evaluations, the best treatments was T_2 among other treatments and had more similarity to T_1 as a control sample. The addition of green tea extracts up to 2% could be improve viability of *L. casei* and also did not undesirable effect on sensory properties of probiotic set yogurt.

Keywords: Synersis, *Lactobacillus casei*, Viability, Antioxidant activity.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited

Copyright © 2021 Shahrekord Branch, Islamic Azad University.