



بررسی عصاره یونجه بر ویژگی‌های کیفی ماست کم‌چرب

محمود کهنه پوشی^۱، **الهام آزادفر***^۲، تورج مهدی زاده^۳، دبیر شریفی^۴، نگار پیری^۵

^۱ دانشجوی دکتری تخصصی بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

^۲ دکتری تخصصی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار، سبزوار، ایران

^۳ دانشیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

^۴ دانش آموخته کارشناسی ارشد بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

^۵ دانش آموخته کارشناسی ارشد اپیدمیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، دهگلان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۰۳

چکیده

ماست، یک محصول لبنی پرمصرف در مقیاس جهانی، به دلیل ترکیبات غذایی برجسته، مزایای گوارشی، قابلیت نگهداری طولانی مدت، سرعت هضم و جذب سریع، اهمیت اقتصادی و خواص درمانی بسیار مورد توجه است. تحقیقات کنونی نشان می‌دهد که ماست با مقدار بیشتری از عصاره یونجه باعث افزایش سطح ترکیبات فنلی و قابلیت‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود. در این مطالعه، عصاره یونجه با غلظت‌های مختلف ۲، ۴، ۶ و ۸ درصد وزنی به فرمول ماست اضافه شد. پس از یک دوره ذخیره سازی ۲۰ روزه، ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با اندازه‌گیری مهار رادیکال DPPH انجام شد. علاوه بر این، تجزیه و تحلیل ترکیبات فنلی و ارزیابی ویژگی‌های کیفی ماست از جمله pH، اسیدیته، محتوای آب و ویسکوزیته انجام شد. در ادامه، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار برای اهداف آماری مورد استفاده قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری شامل مقایسه میانگین‌ها در سطح معنی داری ۱ درصد با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹ بود. نتایج نشان داد که وجود عصاره یونجه منجر به افزایش سطح ترکیبات فنلی محلول در آب و همچنین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ماست شد. به طوری که در پایان یک دوره ۱۰ روزه، بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به فرمولاسیون ماست حاوی ۶٪ و ۸٪ عصاره یونجه بود. علاوه بر این، نمونه ماست حاوی ۸ درصد عصاره کمترین میزان آب را نشان داد که از نظر آماری واریانس معنی داری نسبت به نمونه‌های باقی‌مانده ($p \leq 0.05$) داشت. لازم به ذکر است با توجه به تاثیر لبنیات بر سلامت و لزوم افزایش سرانه مصرف لبنیات، باید به تولید محصولات که دارای فواید سلامتی بیشتر و خواص رئولوژیکی بالایی هستند توجه بیشتری شود. از این رو، در این مطالعه نشان داده شد که گنجاندن عصاره یونجه منجر به افزایش ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها می‌شود.

واژه‌های کلیدی: ماست، عصاره یونجه، آب‌اندازی، ویسکوزیته، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

* Elham_az1313@yahoo.com

مقدمه

اسیدهای موجود در پروتئین‌های یونجه عبارت‌اند از لیزین، آرژینین، هیستیدین، آدنین، فنیل‌آلانین، آسپاراژین و سیستین. یونجه دارای اسید فسفریک نیز می‌باشد. یونجه همچنین دارای منیزیم، آهن و مقدار جزئی آرسنیک و سیلیس است؛ بنابراین یونجه از نظر مواد غذایی بسیار غنی بوده و غذای مطلوبی برای انسان و حیوانات است (۵،۶). از طرف دیگر خصوصیات منحصر به فرد ماست آن را به عنوان کاندید مناسبی جهت افزودن ترکیبات مختلف طبیعی با ویژگی‌های عملکردی گوناگون نشان داده است که این افزودنی‌ها همچنین می‌توانند خصوصیات کیفی ماست را نیز بهبود بخشند. مطالعات زیادی برای بهبود ویژگی‌های ماست کم‌چرب انجام گرفته است (۷) که بررسی منابع مختلف نشان داد که تا کنون تحقیقی در خصوص تأثیر عصاره یونجه بر روی ویژگی‌های ماست کم‌چرب صورت نگرفته است. از این رو هدف از این تحقیق، بررسی تأثیر عصاره یونجه بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، بافتی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی ماست در طول دوره نگهداری می‌باشد.

مواد و روش

تهیه مواد لازم

گیاه یونجه از عطاری سبزوار خریداری و خشک و پودر شد، سپس برای انجام آزمایش‌ها به آزمایشگاه منتقل گردید. به منظور کاهش فعالیت‌های تنفسی و بیولوژیکی تا زمان آزمایش در یخچال در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری گردید.

شیر هموژنیزه شده کم‌چرب خریداری شده و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل گردید و در دمای ۴ درجه سلسیوس قرار داده شد. همچنین قبل از شروع آزمایش شیر خریداری شده از لحاظ کیفی مورد بررسی قرار گرفت و فاکتورهایی نظیر pH، اسیدیته و چربی آن اندازه‌گیری شد.

ماست یکی از انواع لبنیات است که از تخمیر شیر توسط نوعی باکتری به نام لاکتوباسیلوس حاصل می‌شود. از هر نوع شیری برای تهیه ماست می‌توان استفاده کرد. ماست از پرمصرف‌ترین فرآورده‌های تخمیری شیر به شمار می‌آید که به دلیل خواص تغذیه‌ای و گوارشی، ماندگاری طولانی و قابلیت هضم و جذب بالا از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و در انواع مختلف ماست‌های قالبی، همزده، منجمد و طعم‌دار مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱). این فرآورده با درصد‌های چربی مختلفی ساخته می‌شود، اما امروزه با توجه به افزایش تمایل جهت مصرف فرآورده‌های کم‌چرب و بدون چربی، خصوصاً در افراد مبتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی و دارای چربی خون بالا، ترجیح داده می‌شود که از شیر بدون چربی جهت تهیه این فرآورده استفاده شود (۲). کیفیت این محصول بالخصوص بافت آن یکی از مهم‌ترین خصوصیات کیفی می‌باشد که تکرار عیوب وابسته به آن، عدم پذیرش محصول توسط مصرف‌کننده را به همراه دارد. از جمله مهم‌ترین این عیوب می‌توان به تغییرات ویسکوزیته، آب‌اندازی، تغییرات خصوصیات بافتی و افزایش توده‌ای شدن در ماست اشاره کرد. به منظور حفظ کیفیت مطلوب و افزایش عمر ماندگاری مواد غذایی، نگهدارنده‌های مصنوعی مانند بوتیل‌هیدروکسی‌آنیزول و بوتیل‌هیدروکسی‌تولونن به مواد غذایی اضافه می‌شوند که اثرات مضر آن‌ها بیشتر از اثرات مفیدشان می‌باشد (۳).

یونجه با نام علمی *Medicago sativa* گیاهی پایا و از خانواده باقلائیان است. یونجه سرشار از ویتامین‌های A, C, E, K و همچنین دارای آمیلاز است که آنزیم مخصوص هضم مواد نشاسته‌ای می‌باشد. آنزیم‌های بسیاری در یونجه یافت می‌شود به‌عنوان مثال می‌توان از آنزیم‌های اینورتاز و پکتیناز نام برد. یونجه دارای حدود ۲۰ درصد پروتئین می‌باشد. آمینو

۴ درجه سلسیوس منتقل گردید. نمونه‌ها به مدت ۲۰ روز در یخچال نگهداری شد و در طول نگهداری نمونه‌های ماست مورد آزمایش قرار گرفت.

آزمون‌های کیفی

اندازه‌گیری فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد (DPPH)

فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه ماست به عنوان توانایی عصاره استخراج شده از ماست برای مهار رادیکال‌های آزاد (DPPH) تعیین شد. برای این کار محلول ۰/۱ میلی‌مولار رادیکال (DPPH) در اتانول ۹۵ درصد تهیه شد. ۸۰۰ میکرولیتر از محلول اتانولی (DPPH)، ۰/۲ میلی‌لیتر از نمونه با ۹۵ درصد اتانول به عنوان کنترل مخلوط و به خوبی همزده شد و بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق جذب هر نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنتی-اکسیدانی به عنوان درصد مهار رادیکال‌های آزاد (DPPH) با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (۱۲-۱۰).

$$I\% = (A_{Blank} - A_{Sample} \div A_{Blank}) \times 100$$

در این معادله A_{blank} مقدار جذب خوانده شده نمونه شاهد توسط دستگاه اسپکتروفتومتر، A_{sample} مقدار جذب خوانده شده در نمونه تحت تیمار توسط دستگاه اسپکتروفتومتر

اندازه‌گیری ترکیبات فنولی

ترکیبات فنولیک با استفاده از محلول فولین سیوکالتیو و کربنات سدیم مورد آزمون قرار گرفت. سپس جذب‌های به دست آمده از هر یک از نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر قرائت گردید (۱۳).

آزمون‌های کیفی

تعیین pH و اسیدیته

برای تعیین pH از دستگاه pH متر مدل (Inolab) ساخت کشور آلمان استفاده گردید. این دو فاکتور مطابق با استاندارد ملی به شماره ۲۸۵۲ اندازه‌گیری شدند.

اندازه‌گیری میزان آب‌اندازی

استارتر ماست (Chr. Hansen, Denmark) بانام تجاری لاکتینا و کد تجاری X16. حاوی دو گونه استرپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس دلبروکی تهیه شد و در دمای ۱۸- درجه نگهداری گردید.

عصاره‌گیری

به منظور استخراج عصاره یونجه، یک کیلوگرم پودر یونجه که در سایه خشک و سپس با آسیاب (CG1۰۰) خردشده، بر اساس روش ماسراسیون به‌طور جداگانه با ۲۰۰ میلی‌لیتر حلال متانول (نسبت اختلاط ۱:۱۰) در همزن مغناطیسی (Velpscientific, type ARE) در مدت زمان ۲۴ ساعت و در دمای محیط به وسیله حلال آلی اتانول مورد استخراج قرار گرفت. سپس تحت شرایط خلأ توسط قیف بوخنر با کاغذ واتمن شماره ۱ صاف شده و به‌وسیله دستگاه روتاری اوپراتور در دمای ۳۵ درجه سلسیوس تغلیظ و در آون تحت خلأ در دمای ۴۰ درجه سلسیوس به منظور حذف کامل حلال آلی خشک گردید و در دمای ۴ درجه سلسیوس در یخچال نگهداری شد (۸).

تهیه ماست

شیر اولیه را تا ۸۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه حرارت داده و به آرامی هم‌زده می‌شود. در ادامه شیر را به دمای ۴۵ درجه سلسیوس رسانده و استارتر به میزان ۲ درصد به آن افزوده شد. تهیه نمونه‌های ماست تحت تیمار طبق روش پیشنهادی Tamime and Robinson انجام گرفت (۹). قبل از افزودن به شیر در آب استریل شده حل گردید و سپس به شیر اضافه شد. شیر دارای استارتر به مقدار 10^8 cfu/g در ظروف نیم کیلوگرمی ریخته شد و در مرحله بعد عصاره‌های به‌دست‌آمده با روش‌های مختلف را در سه تکرار با غلظت‌های مختلف ۲، ۴، ۶ و ۸ درصد اضافه گردید و پس از آن ظرف‌ها را تا رسیدن به اسیدیته ۸۵ درجه دورنیک و pH ۴/۶ در گرمخانه با دمای ۴۳ درجه سلسیوس قرار داده شد. در این مدت pH نمونه‌ها به‌طور مداوم هر یک ساعت توسط pH متر بررسی گردید و در مرحله بعد پس از رسیدن - pH نمونه‌ها به مقدار مورد نظر ظرف‌ها را به سردخانه با دمای

آنالیز آماری

برای انجام تحقیق از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و درسه تکرار استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال یک درصد توسط نرم‌افزار SAS نسخه ۹ انجام شد. نمودارها با کمک نرم‌افزار Excel تهیه و آنالیز شدند.

یافته‌ها

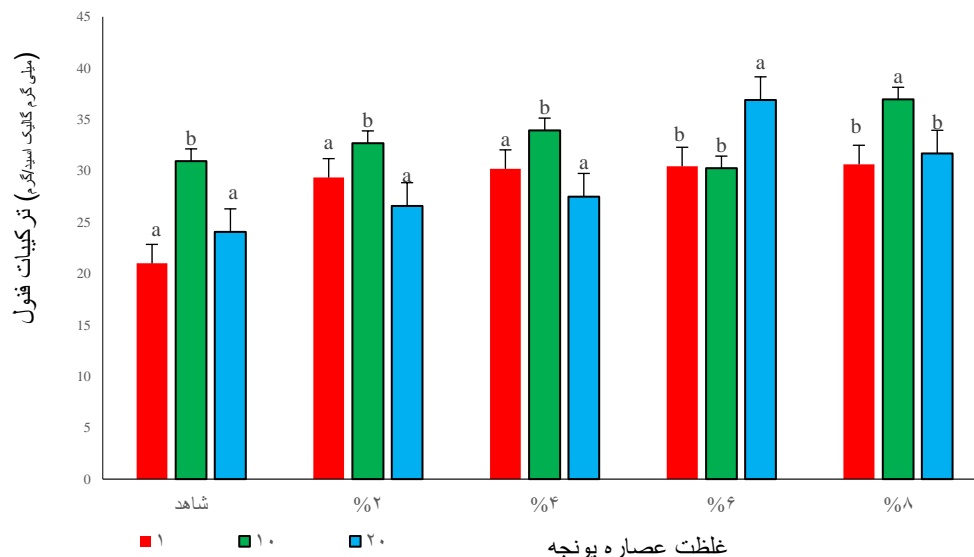
اندازه‌گیری ترکیبات فنولی

همان‌طور که در نمودار ۱ نشان داده شده است ترکیبات فنولی محلول در آب نمونه‌های ماست حاوی عصاره یونجه به طور معنی‌داری بیشتر از ماست ساده هستند و با افزایش غلظت عصاره یونجه در ماست ترکیبات فنولی نیز بیشتر می‌شود در غلظت‌های ۲، ۴ و ۸ درصد بعد از ۱۰ روز نگهداری ماست ترکیبات فنولی به بیشترین مقدار رسیده و بعد از ۲۰ روز ماندگاری ماست به کمترین مقدار رسیده‌اند.

در این روش حدود ۵۰ گرم ماست در لوله‌های سانتریفوژ توزین شد و در دستگاه سانتریفوژ به مدت ۱۰ دقیقه و دمای ۴ درجه سلسیوس و با سرعت ۲۲۲g سانتریفوژ گردید و سپس لایه بالایی جدا و توزین شد. از نسبت وزن آن به وزن ماست اولیه درصد آب اندازی گزارش شد (۱۴).

ویسکوزیته

ویسکوزیته نمونه‌های تولیدی با استفاده از ویسکومتر بروکفیلد (DVII-RV) اندازه‌گیری شد. در این آزمایش پس از آزمون‌های اولیه اسپیندل شماره ۶ به عنوان اسپیندل مناسب جهت اندازه‌گیری ویسکوزیته انتخاب شد (با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده، اسپیندل مناسب جهت اندازه‌گیری ویسکوزیته، اسپیندلی است که در سرعت مورد نظر گشتاوری بالاتر از ۱۰ درصد را نشان دهد). کلیه آزمون‌ها در دمای ۵ درجه سلسیوس و با شرایط یکسان انجام شد به طوری که ویسکوزیته نمونه‌ها در سرعت ۷۰ دور در دقیقه و پس از گذشت ۶۰ ثانیه از چرخش اسپیندل قرائت شد.



نمودار ۱. اندازه‌گیری مقادیر فنل در ماست تولید شده با غلظت‌های مختلف عصاره یونجه در طول دوره نگهداری ۱، ۱۰ و ۲۰ روز

جدول ۱: مقادیر فنل در ماست تولید شده با غلظت‌های مختلف عصاره یونجه در طول دوره نگهداری ۱، ۱۰ و ۲۰ روز

زمان (روز)	نمونه شاهد	نمونه ۲٪	نمونه ۴٪	نمونه ۶٪	نمونه ۸٪
۱	۲۱ cD	۲۹/۳۵ Cb	۳۰/۲ bC	۳۰/۴۵ ^b BAB	۳۰/۶۵ cA

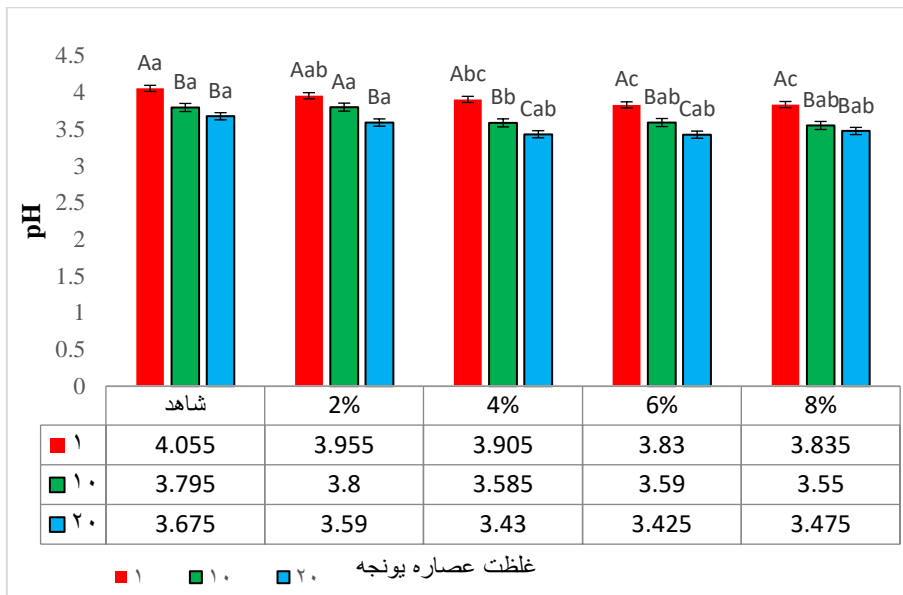
۳۶/۹۵ ^{aA}	۳۰/۲۵ ^{bC}	۳۳/۹۵ ^{Ba}	۳۲/۷ ^{Ba}	۳۰/۹۵ ^{aC}	۱۰
۳۱/۷ ^{Bb}	۳۶/۹ ^{Aa}	۲۷/۵ ^{cC}	۲۶/۶ ^{CDc}	۲۴/۰۵ ^{bD}	۲۰

حروف کوچک اختلاف معنی دار در زمان های مختلف و حروف بزرگ اختلاف معنی دار یا سطوح معنی دار در غلظت های مختلف را نشان می دهد

تعیین pH

داری داشته و کاهش یافته است می توان این گونه استدلال کرد که در زمان های نخست نگهداری با افزایش مقدار عصاره یونجه و به دنبال آن افزایش سوپرسترای در دسترس جهت رشد میکروارگانیسم ها، فعالیت متابولیکی باکتری افزایش یافته و موجب کاهش pH در نمونه های حاوی عصاره با غلظت های بالاتر می شود. از طرفی عصاره یونجه افزوده شده دارای pH در بازه اسیدی می باشد که خود می تواند بر میزان pH نمونه های حاوی عصاره مؤثر باشد.

نتایج اندازه گیری نمونه ها در نمودار ۲ نشان داد در بررسی آماری تاثیر زمان و عصاره بر فاکتور pH مشاهده شد، زمان نیز تاثیر معنی داری بر مقدار pH داشته است ($p < 0.05$) به طوری که در هر ۴ تیمار یونجه با افزایش زمان مقدار pH کاهش یافته است، در نمونه شاهد مقدار pH کاهش قابل توجهی داشت و مقدار آن از ۴/۰۵ به ۳/۶۷ کاهش یافت، مقدار pH نمونه در روز اول در مقایسه با روز های بعد اختلاف معنی



نمودار ۲. اندازه گیری مقادیر pH در ماست تولیدی با غلظت های مختلف عصاره یونجه در طول دوره نگهداری ۱۰ و ۲۰ روز

غلظت ها و حروف بزرگ تعیین سطوح معنی دار در زمان های مورد بررسی می باشد).

تغییرات pH نمونه هایی با درصدهای بسیار کم، تغییرات قابل توجهی را نشان نداد اما در طول زمان نگهداری تغییرات بیشتر شد (حروف کوچک مقایسه سطوح معنی دار در

جدول ۲: مقادیر پی اچ در ماست تولید شده با غلظت های مختلف عصاره یونجه در طول دوره نگهداری ۱، ۱۰ و ۲۰ روز

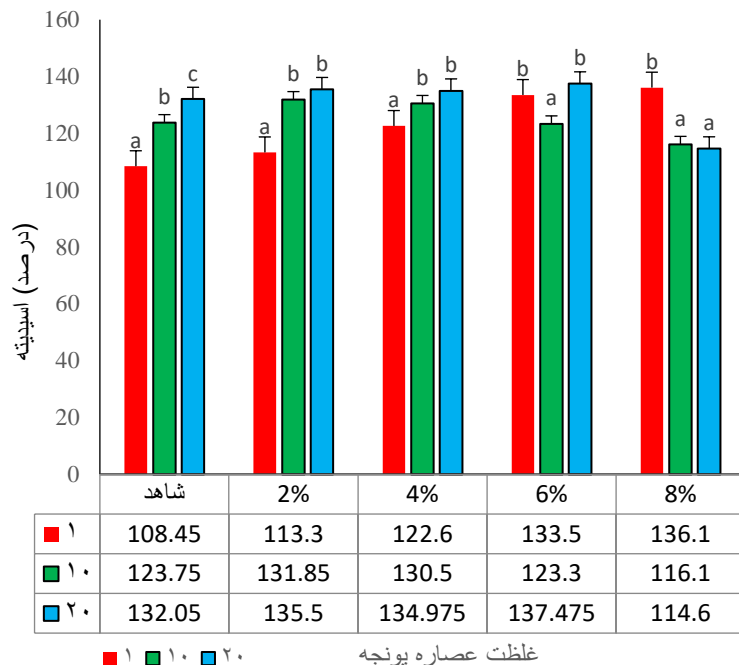
زمان (روز)	نمونه شاهد	نمونه ۲٪	نمونه ۴٪	نمونه ۶٪	نمونه ۸٪
۱	۴/۰۵ ^{aA}	۳/۹۵ ^{Aa}	۳/۹۰ ^{aA}	۳/۸۳ ^{aB}	۳/۸۳ ^{aB}
۱۰	۳/۷۹ ^{bA}	۳/۸ ^{Aa}	۳/۵۸ ^{Bb}	۳/۵۹ ^{bB}	۳/۵۵ ^{bB}
۲۰	۳/۶۷ ^{cA}	۳/۵۹ ^{Ab}	۳/۴۳ ^{cB}	۳/۴۲ ^{Bc}	۳/۴۷ ^{Bb}

حروف کوچک اختلاف معنی دار در زمان های مختلف و حروف بزرگ اختلاف معنی دار یا سطوح معنی دار در غلظت های مختلف را نشان می دهد

تعیین اسیدیته

ولی مقدار اسیدیته در روزهای ۱۰ و ۲۰ نگهداری ماست در غلظت ۸ درصد عصاره یونجه به کمترین مقدار رسیده است که تفاوت آن با سایر نمونه‌ها معنی دار بود ($P < 0.05$).

نتایج اندازه‌گیری اسیدیته نمودار ۳ نشان داد در بیشتر نمونه‌ها با افزایش ماندگاری ماست مقدار اسیدیته بیشتر شده است



نمودار ۳. اندازه‌گیری مقدار اسیدیته در ماست تولید شده با غلظت‌های متفاوت عصاره یونجه در طول مدت نگهداری روز ۲۰، ۱۰، ۱

جدول ۳. مقادیر اسیدیته در ماست تولید شده با غلظت‌های مختلف عصاره یونجه در طول دوره نگهداری ۱، ۱۰ و ۲۰ روز

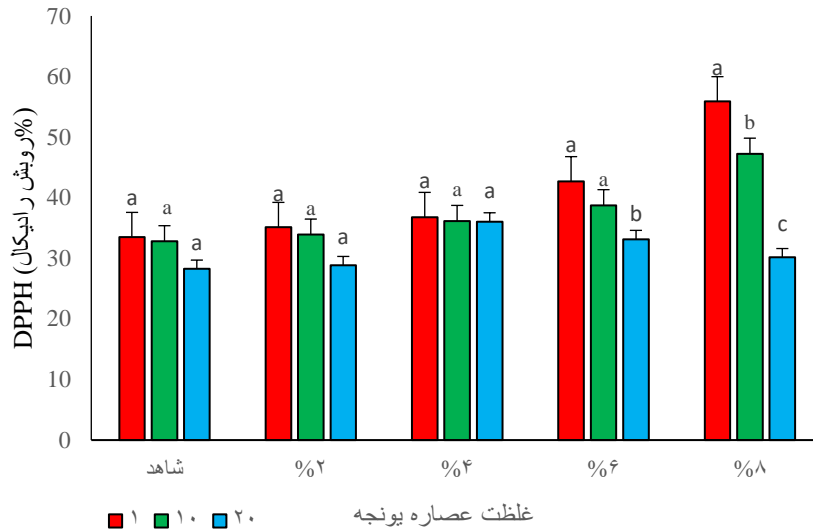
زمان (روز)	نمونه شاهد	نمونه ۲٪	نمونه ۴٪	نمونه ۶٪	نمونه ۸٪
۱	۱۰۸/۴۵ ^{cD}	۱۳۳/۳ ^{Bb}	۱۲۲/۶ ^{cC}	۱۳۶/۱ ^{aA}	۱۳۳/۵ ^{bB}
۱۰	۱۲۳/۷۵ ^{bC}	۱۳۱/۸۵ ^{Ac}	۱۳۰/۵ ^{Bb}	۱۱۶/۱ ^{bD}	۱۲۳/۳ ^{cC}
۲۰	۱۳۲/۰۵ ^{aD}	۱۳۵/۵ ^{Ba}	۱۳۴/۹۷ ^{aC}	۱۱۴/۶ ^{Eb}	۱۳۷/۴۷ ^{Aa}

حروف کوچک اختلاف معنی دار در زمان‌های مختلف و حروف بزرگ اختلاف معنی دار با سطوح معنی دار در غلظت‌های مختلف را نشان می‌دهد

ماست، نمونه‌های ماست با افزایش غلظت عصاره یونجه خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها افزایش یافته است. در ماست حاوی ۸ درصد عصاره یونجه بعد از یک روز و ۱۰ روز نگهداری بیشترین مقدار آنتی‌اکسیدان اندازه‌گیری شد که تفاوت معنی داری با نمونه کنترل و درصدهای کمتر غلظت عصاره داشته است ($p < 0.05$).

اندازه‌گیری فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد (DPPH)

آنزیم کاتالاز و سوپراکسیداز، کازئین، پروتئین‌های سرمی موجود در شیر و باکتری‌های لاکتیکی ماست، فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهند و موجب می‌شود در ماست نیز چنین ویژگی مشاهده شود. همانطور که در نمودار ۴ مشاهده می‌شود در روز اول و بعد از ۱۰ روز نگهداری



نمودار ۴. اندازه گیری مقدار روبش رادیکال DPPH در ماست تولید شده با غلظت های مختلف عصاره یونجه در زمان های نگهداری ۱، ۱۰ و ۲۰ روز

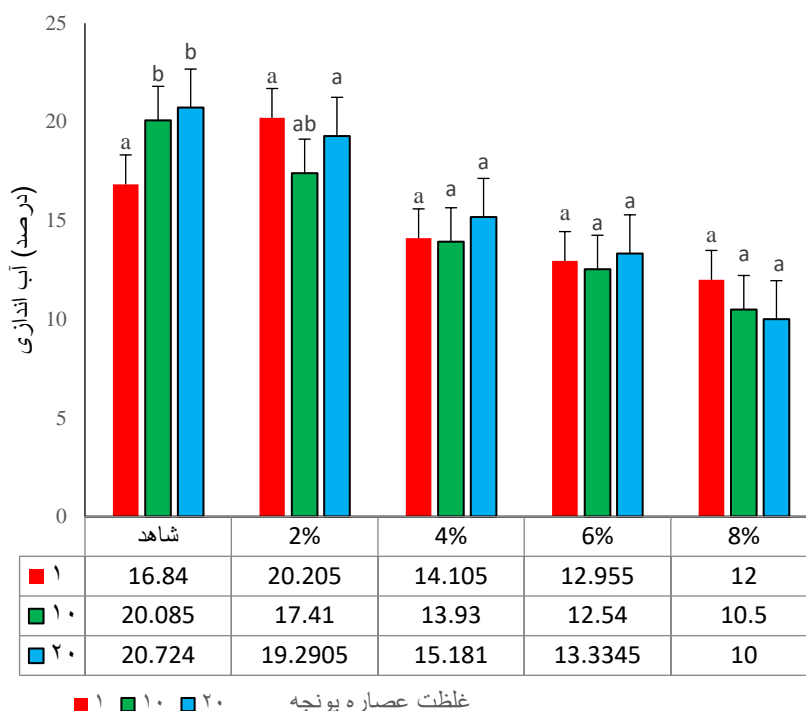
جدول ۴: مقادیر DPPH در ماست تولید شده با غلظت های مختلف عصاره یونجه در طول دوره نگهداری ۱، ۱۰ و ۲۰ روز

زمان (روز)	نمونه شاهد	نمونه ۲٪	نمونه ۴٪	نمونه ۶٪	نمونه ۸٪
۱	۳۳/۵ ^{aE}	۳۵/۱۵ ^{Da}	۳۶/۸ ^{aC}	۴۲/۷ ^{Ba}	۵۵/۹ ^{aA}
۱۰	۳۲/۸ ^{bE}	۳۳/۹ ^{Db}	۳۶/۱۵ ^{Cb}	۳۸/۷۵ ^{bB}	۴۷/۲۵ ^{bA}
۲۰	۲۸/۲۵ ^{cD}	۲۸/۸۵ ^{Dc}	۳۶/۰۵ ^{bA}	۳۳/۱۵ ^{Bc}	۳۰/۱۵ ^{Cc}

حروف کوچک اختلاف معنی دار در زمان های مختلف و حروف بزرگ اختلاف معنی دار یا سطوح معنی دار در غلظت های مختلف را نشان می دهد

اندازه گیری میزان آب اندازی

نمودار ۵ تغییرات میزان آب اندازی ماست تلقیح شده با درصدهای مختلف از عصاره یونجه را در طول دوره نگهداری نشان می دهد.



نمودار ۵. تغییرات درصد آب‌اندازی نمونه‌های ماست تولید شده با غلظت‌های متفاوت عصاره یونجه در زمان‌های نگهداری ۱، ۱۰ و ۲۰ روز

جدول ۵: مقادیر آب‌اندازی در ماست تولید شده با غلظت‌های مختلف عصاره یونجه در طول دوره نگهداری ۱، ۱۰ و ۲۰ روز

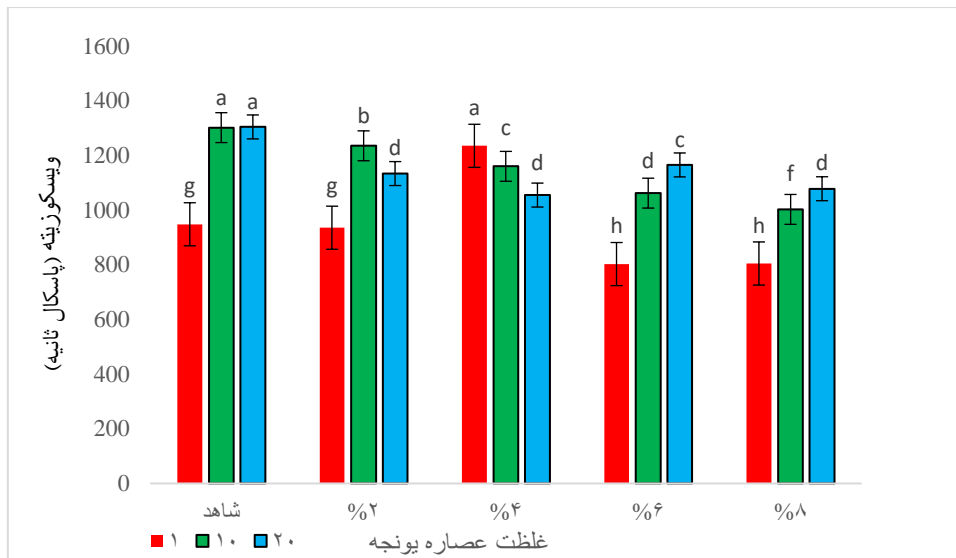
زمان (روز)	نمونه شاهد	نمونه ۲٪	نمونه ۴٪	نمونه ۶٪	نمونه ۸٪
۱	۱۶/۸۴ ^{bB}	۲۰/۲۰ ^{Aa}	۱۴/۱۰ ^{bC}	۱۲/۹۵ ^{bD}	۱۲ ^{aD}
۱۰	۲۰/۰۸ ^{aA}	۱۷/۴۱ ^{Bb}	۱۳/۹۳ ^{Cc}	۱۲/۵۴ ^{cD}	۱۰/۵ ^{bE}
۲۰	۲۰/۷۲ ^{aA}	۱۹/۲۹ ^{Ba}	۱۵/۱۸ ^{aC}	۱۳/۳۳ ^{Da}	۱۰ ^{Eb}

حروف کوچک اختلاف معنی دار در زمان‌های مختلف و حروف بزرگ اختلاف معنی دار یا سطوح معنی دار در غلظت‌های مختلف را نشان می‌دهد

ویسکوزیته

افزایش یافت. نتایج با توجه به نمودار ۶ نشان داد که با افزودن عصاره یونجه ویسکوزیته اختلاف معناداری با کنترل نداشته است. ولی با افزایش زمان روزهای نگهداری ویسکوزیته افزایش یافته است ($p < 0.05$).

تغییرات ویسکوزیته اختلاف معناداری با افزودن عصاره نداشت ولی با افزایش زمان روزهای نگهداری ویسکوزیته



نمودار ۶. تغییرات ویسکوزیته نمونه های ماست تولید شده با غلظت های متفاوت عصاره یونجه در زمان های نگهداری ۱، ۱۰ و ۲۰ روز

جدول ۶: مقادیر ویسکوزیته در ماست تولید شده با غلظت های مختلف عصاره یونجه در طول دوره نگهداری ۱، ۱۰ و ۲۰ روز

زمان (روز)	نمونه شاهد	نمونه ۰.۲٪	نمونه ۰.۴٪	نمونه ۰.۶٪	نمونه ۰.۸٪
۱	۹۴۸ ^{bB}	۹۳۵/۵ ^{Bc}	۱۲۳۵ ^{aA}	۸۰۲/۵ ^{cC}	۸۰۴/۵ ^{cC}
۱۰	۱۳۰۱/۵ ^{aA}	۱۲۳۵ ^{Ba}	۱۱۶۰ ^{Cb}	۱۰۶۲ ^{bD}	۱۰۰۲/۵ ^{bE}
۲۰	۱۳۰۴ ^{aA}	۱۱۳۳/۵ ^{Bb}	۱۰۵۵ ^{cC}	۱۱۶۵ ^{Ba}	۱۰۷۸ ^{ab}

حروف کوچک اختلاف معنی دار در زمان های مختلف و حروف بزرگ اختلاف معنی دار یا سطوح معنی دار در غلظت های مختلف را نشان می دهد

نتایج و بحث

از میان فرآورده های زیادی که از تخمیر شیر تولید می شوند، ماست یکی از فرآورده هایی است که به سراسر جهان راه یافته است و ارزش تغذیه ای زیادتری نسبت به شیر دارد، به گونه ای که سرشار از کلسیم، پروتئین، فسفر، منیزیم و ویتامین هایی همچون اسید فولیک است (۱۵). اما مصرف فرآورده های شیری پرچرب در درازمدت موجب ایجاد فشارخون و تنگ شدن رگ های اصلی قلب می شود و اگر مصرف اینگونه چربی ها بدون تحرک و ورزش هم باشد، این خطر بیشتر خواهد بود. به همین دلیل متخصصین تغذیه تاکید بر مصرف لبنیات کم چرب دارند (۱۶). از سال ۱۹۹۰ فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی به دلیل تأثیرات سلامت بخشی

که بر روی بدن دارند بیشتر مورد توجه واقع شده اند. همچنین به دلیل پتانسیل بالای آن ها برای فعالیت آنتی اکسیدانی، با اهدای اتم هیدروژن از فعالیت رادیکال آزاد جلوگیری می کنند (۱۷).

در این مطالعه نیز ماست حاوی عصاره یونجه توانست مقدار آنتی اکسیدان ها را افزایش دهد، که این می تواند بیانگر این باشد که عصاره های گیاهی می توانند این خاصیت را در ماست افزایش دهند. بعلاوه، در یک مطالعه دیگری نشان داده شد که با افزایش مقدار عصاره آلوئه ورا در ماست هم زده پروبیوتیک کم چرب، خاصیت آنتی اکسیدانی نمونه ها را افزایش پیدا کرده است (۳۴).

۲۲). هر چه ترکیبات افزودنی، هماهنگی بیشتری با شبکه ماست داشته باشند و آب بیشتری را در خود محصور کنند، می‌توانند باعث کاهش میزان آب‌اندازی ماست شوند. در مطالعه‌ای که در آن ویژگی‌های فیزیولوژیکی و حسی ماست کم‌چرب پروبیوتیک حاوی نشاسته ذرت و عصاره گیاه چویل انجام دادند، کم‌ترین ویسکوزیته به نمونه ماست حاوی ۰/۲ درصد عصاره چویل مربوط شد (۳۳). اما در تحقیق حاضر، همانطور که در نمودار ۵ مشاهده می‌شود افزودن عصاره یونجه به ماست باعث کاهش میزان آب‌اندازی نمونه‌ها شد و با افزایش غلظت عصاره یونجه در ماست میزان آب‌اندازی نیز روند نزولی داشت که به علت ایجاد شبکه ژلی متراکم‌تر در مقایسه با نمونه‌های کنترل، به دلیل حضور هیدروکلوئیدهایی مانند گالاکتومانان در نمونه و خاصیت جذب آب این هیدروکلوئید است (۲۶). که این نکته با نتایج ساهان و همکاران (۲۰۰۸) مطابقت داشته است. همچنین رزم‌خواه و همکاران بیان کردند که با افزایش غلظت صمغ، میزان آب‌اندازی ماست چکیده در مقایسه با نمونه شاهد کاهش یافت (۲۷؛ ۲۸) و همچنین نتایج مشابهی با تحقیق قلعه موسیانی و همکاران در سال ۹۵ داشت که در مورد میزان آب‌اندازی نمونه‌های ماست حاوی عصاره‌های ریحان و مرزه، مشخص شد که این عصاره‌ها میزان آب‌اندازی را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهند (۲۹).

ویسکوزیته ظاهری ماست در نمودار ۶ تحت تأثیر ترکیبات شیر تیمار حرارتی و مواد افزودنی قرار می‌گیرد (۳۱، ۳۰). به طور کلی ویسکوزیته در محلول‌های پروتئینی به غلظت هیدروژن در محلول‌ها، بستگی به پروتئین‌ها، باندهای کووالانسی و پروتئین‌های آب‌پنیر و میسل‌های کازئین موجود در ژل دارد. ماست با محبوس کردن آب آزاد باعث افزایش گران‌روی می‌شوند (۱۵، ۳۲). آگاهی از مقادیر ویسکوزیته علاوه بر کمک به تعیین مناسب‌ترین فرمولاسیون، در انتخاب پمپ مناسب جهت انتقال و طراحی تجهیزات مورد نیاز حایز اهمیت می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی

باید اضافه کرد که مواد فنولیک متابولیت‌هایی با منشأ گیاهی هستند که قسمتی مهم از رژیم غذایی انسان و حیوان را تشکیل می‌دهند (۱۸). در این پژوهش با توجه به نمودار ۱ افزایش فنل در تمام غلظت‌های ۲ تا ۸ درصد عصاره یونجه در مقایسه با نمونه شاهد معنی‌دار بوده است ($P < 0.05$). زینالدین و بابا (۲۰۰۹)، نیز بیان کردند ترکیبات فنولی محلول در آب ماست حاوی ۱۰ درصد عصاره گونه سفید رنگی از میوه پیتایا از ماست ساده بیشتر بوده است و ضمن بیان معنی‌دار بودن این اختلاف، افزودن عصاره این میوه را موجب بهبود ویژگی‌های فنولی ماست دانستند (۱۹).

همچنین نتایج حاصل از آزمایشات عصاره‌های گیاهی نشان داده‌اند که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند و در بهبود بیماری‌های ناشی از اختلالات متابولیک می‌تواند موثر باشند (۳۲). در تحقیق حاضر که در نمودار ۲ نشان داده شده است به نظر می‌رسد حضور عصاره یونجه فعالیت متابولیکی باکتری‌های ماست را افزایش داده است و افت pH را افزایش داده است که این به تولید کنندگان کمک می‌کند که بعد از رسیدن به تولید ماست، pH مورد نظر را متوقف می‌کنند (۲۰). در این خصوص، در یک مطالعه‌ای، نمونه ماست حاوی بیشترین غلظت عصاره گیاه چویل (۰/۳ درصد)، تأثیر معنی‌داری در افت pH داشته است که در نهایت باعث افزایش فعالیت متابولیکی باکتری‌های آغازگر ماست مانند لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس شده است (۳۳). جیلارد در سال ۱۹۹۵ بیان نمود وقتی میزان آمینو اسیدهای آزاد و پپتیدها کم باشد، لاکتیک اسید باکتری‌ها که به سیستم پروتئولیک وابسته هستند با هیدرولیز کافی پروتئین‌های شیر این نیاز را تامین می‌کنند. این عمل سبب افزایش ناگهانی میکروارگانیسم‌ها شده و در نتیجه افزایش ناگهانی رشد باکتری‌ها pH کاهش می‌یابد (۲۱).

یکی از معایب عمده ماست کم‌چرب آب‌اندازی است که در واقع به ظهور سرم یا آب‌پنیر در سطح ماست اطلاق می‌شود. آب‌اندازی در ماست به دلیل چروکیدگی ساختار سه‌بعدی شبکه پروتئینی رخ می‌دهد که منجر به کاهش قدرت اتصال پروتئین‌های آب‌پنیر و خروج آن از ماست می‌گردد (۲۵) -

انجام آزمون های میکروبی و ارگانولپتیکی بتوان از این ترکیب مفید در تولید ماست جهت افزایش کیفیت آن استفاده نمود.

تعارض منافع

نویسندگان هیچگونه تعارض منافی برای اعلام ندارند.

در این تحقیق نشان داده شد که با افزودن عصاره یونجه، ضمن تولید محصول فراسودمند ویژگی های کیفی ماست نیز افزایش می یابد. لذا با تحقیقات بیشتر بخصوص بر روی ویژگی های میکروبی و نیز ارزش غذایی آن می توان به تولید محصولات جدید امیدوار بود. پیشنهاد می شود که با مطالعه بیشتر بر روی ترکیبات تشکیل دهنده عصاره یونجه و همچنین

منابع

- 1- Hussain, S., Mohamed, A. A., Alamri, M. S., Saleh, A., Ibraheem, M. A., ABDO QASEM, A. A., & Ababtain, I. A. (2021). Rheological, textural, and sensory properties of non-fat yogurt containing cress (*Lepidium sativum*) seed gum and various starches. *Food Science and Technology*, *42*, e30121.
- 2- Zhao, L., Feng, R., Ren, F., & Mao, X. (2018). Addition of buttermilk improves the flavor and volatile compound profiles of low-fat yogurt. *Lwt*, *98*, 9-17.
- 3- Mizobuchi, M., Ishidoh, K., & Kamemura, N. (2022). A comparison of cell death mechanisms of antioxidants, butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *Drug and Chemical Toxicology*, *45*(4), 1899-1906.
- 4- Rezaeian, M., Tohidi Moghadam, M., Kiaei, M. M., & Mahmud Zadeh, H. (2020). The effect of heavy metals on the nutritional value of Alfalfa: comparison of nutrients and heavy metals of Alfalfa (*Medicago sativa*) in industrial and non-industrial areas. *Toxicological research*, *36*, 183-193.
- 5- Ibarra-Herrera, C. C., Acosta-Estrada, B., Chuck-Hernández, C., Serrano-Sandoval, S. N., Guardado-Félix, D., & Pérez-Carrillo, E. (2020). Nutritional content of edible grasshopper (*Sphenarium purpurascens*) fed on alfalfa (*Medicago sativa*) and maize (*Zea mays*). *CyTA-Journal of Food*, *18*(1), 257-263.
- 6- Amatayakul, T., Sherkat, F., & Shah, N. P. (2006). Physical characteristics of set yoghurt made with altered casein to whey protein ratios and EPS-producing starter cultures at 9 and 14% total solids. *Food hydrocolloids*, *20*(2-3), 314-324.
- 7- MOHAGHEGHI, S. A., Poorazarang, H., Elhamirad, A. H., Dezashibi, Z., & Hematyar, N. (2010). Extraction of phenolic compounds from potato peel (*Ramus* variety) with solvent and ultrasound-assisted methods and evaluation of its antioxidant activity in soybean oil.
- 8- Robinson, R. K., Tamime, A. Y., & Wszolek, M. (2002). Microbiology of fermented milks. *Dairy microbiology handbook: the microbiology of milk and milk products*, 367-430.
- 9- Hematyar, N., Samarin, A. M., Poorazarang, H., & Elhamirad, A. H. (2012). Effect of gums on yogurt characteristics. *World Applied Sciences Journal*, *20*(5), 661-665.
- 10- Paseephol, T., Small, D. M., & Sherkat, F. (2008). Rheology and texture of set yogurt as affected by inulin addition. *Journal of Texture Studies*, *39*(6), 617-634.
- 11- Wang, X., Kristo, E., & LaPointe, G. (2020). Adding apple pomace as a functional ingredient in stirred-type yogurt and yogurt drinks. *Food Hydrocolloids*, *100*, 105453.
- 12- Khalili, M., Kiasalari, Z., Farhadi, E., & Agah, M. (2010). Effects of alcoholic extract of *Zingiber officinalis* rhizome on acute and chronic inflammation and pain in rats.
- 13- Beagloo, I. E., Valilu, M. R., Motiei, M., Rahbar, M., & Hejazi, A. (2019). The antioxidant and hepatoprotective effect of alcoholic extract of ginger against the cisplatin-induced oxidative stress in rats. *Biomed J Sci Tech Res*, *19*(2), 14240-5.
- 14- Tamime, A. Y., Barrantes, E., & Sword, A. M. (1996). The effect of starch based fat substitutes on the microstructure of set-style yogurt made from reconstituted skimmed milk powder. *International Journal of Dairy Technology*, *49*(1), 1-10.
- 15- James, P. T., Rigby, N., Leach, R., & International Obesity Task Force. (2004). The obesity epidemic, metabolic syndrome and future prevention strategies. *European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation*, *11*(1), 3-8.
- 16- Tometri, S. S., Ahmady, M., Ariaii, P., & Soltani, M. S. (2020). Extraction and encapsulation of *Laurus nobilis* leaf extract with nano-liposome and its effect on oxidative, microbial, bacterial and sensory properties of minced beef. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *14*, 3333-3344.
- 17- Shetty, K., Clydesdale, F. M., & Vatter, D. A. (2006). Clonal screening and sprout based bioprocessing of phenolic phytochemicals for functional foods. In *Functional Foods and Biotechnology* (pp. 21-44). CRC Press.

- 18- 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*, 60(3), 361-366.
- 19- Amirdivani, S., & Baba, A. S. (2011). Changes in yogurt fermentation characteristics, and antioxidant potential and in vitro inhibition of angiotensin-1 converting enzyme upon the inclusion of peppermint, dill and basil. *LWT-Food Science and Technology*, 44(6), 1458-1464.
- 20- Miller, J. B., McVeagh, P., McNeil, Y., & Gillard, B. (1995). Human milk oligosaccharides are not digested and absorbed in the small intestine of young infants.
- 21- Ozer, B., Kirmaci, H. A., Oztekin, S., Hayaloglu, A., & Atamer, M. (2007). Incorporation of microbial transglutaminase into non-fat yogurt production. *International dairy journal*, 17(3), 199-207.
- 22- Anand, S., Gaare, M., Saini, P., Beniwal, A., & Grover, C. R. (2018). Synbiotic yogurt supplemented with *Ocimum sanctum* essential oil. *Journal homepage: <http://www.ijcmas.com>*, 7(03).
- 23- Karim, M., Naderi, B., Mirzaei, M., & Sanjabi, N. (2018). Investigation of the physicochemical and sensory characteristics of low-fat yogurt containing long-chain inulin and carboxymethyl cellulose.
- 24- Behnia, A., Karazhiyan, H., Niazmand, R., & Mohammadi Nafchi, A. R. (2014). Effect of Cress seed gum on rheological and textural properties of low-fat yoghurt. *Research and Innovation in Food Science and Technology*, 3(3), 255-266.
- 25- Hellebois, T., Gaiani, C., Fortuin, J., Shaplov, A., & Soukoulis, C. (2021). Cryotropic gel-forming capacity of alfalfa (*Medicago sativa* L.) and fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) seed galactomannans. *Carbohydrate Polymers*, 267, 118190.
- 26- González-Martínez, C., Becerra, M., Cháfer, M., Albors, A., Carot, J. M., & Chiralt, A. (2002). Influence of substituting milk powder for whey powder on yoghurt quality. *Trends in Food Science & Technology*, 13(9-10), 334-340.
- 27- Sahan, N. U. R. A. Y., Yasar, K., & Hayaloglu, A. A. (2008). Physical, chemical and flavour quality of non-fat yogurt as affected by a β -glucan hydrocolloidal composite during storage. *Food hydrocolloids*, 22(7), 1291-1297.
- 28- Mousani, Z. G., Pourahmad, R., & Eshaghi, M. R. (2018). Effect of basil and sour aqueous extract on the *Lactobacillus paracaei* life and physicochemical properties of probiotic yogurt.
- 29- Helal, A., Rashid, N., Dyab, M., Otaibi, M., & Alnemr, T. (2018). Enhanced functional, sensory, microbial and texture properties of low-fat set yogurt supplemented with high-density inulin. *Journal of Food Processing & Beverages*, 6(1), 1-11.
- 30- Gheybi, N., & Ashrafi, R. (2020). The effect of inulin and quince seed gum powder on the physicochemical and qualitative properties of low fat yogurt. *Iranian Journal of Biosystems Engineering*, 50(4), 963-975.
- 31- Aryana, K. J., & McGrew, P. (2007). Quality attributes of yogurt with *Lactobacillus casei* and various prebiotics. *LWT-Food Science and Technology*, 40(10), 1808-1814.
- 32- Soheili, M., Khandan, M. A., & Salami, M. (2017). Evaluation of anti-oxidant activity of *Lavandula angustifolia* using DPPH method. *Journal of Arak University of Medical Sciences*, 19(12), 70-77.
- 33- Aghajani, A., Mirzaei, F., Kermani, M., Asl, M. R. S., & Nia, A. P. (2022). Physicochemical and sensory evaluation of low-fat probiotic yogurt containing corn starch and *Ferulago angulata* (chevil) extract.
- 34- Khodakarami, M., & Karami, M. (2019). Evaluation of the Effects of Aloe vera Extract on Chemical and Microbial Properties of Low Fat Stirred Probiotic Yoghurt.

Investigating the effect of using alfalfa extract on the quality characteristics of low-fat yogurt.

Mahmoud Kohneh Poushi¹, **Elham Azadfar**^{2*}, Toraj Mehdizadeh³, Dabir Sharifi⁴, Negar Piri⁵

¹ Ph.D student in Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

² Ph.D in Food Science and Technology, Islamic Azad University, Sabzevar Branch, Sabzevar, Iran.

³ Associate Professor of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

⁴ MSc, Food hygiene and quality control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

⁵ MSc, Epidemiology, Kurdistan University of Medical Sciences, Dehgolan, Iran

Abstract:

Yogurt, a widely consumed dairy product on a global scale, is highly regarded for its outstanding nutritional composition, gastrointestinal advantages, prolonged storage capability, rapid digestibility and assimilation rates, economic importance, and therapeutic properties. It is shown in this research that yogurt with an increased quantity of alfalfa extract elevates the levels of phenolic compounds and antioxidant capabilities. In this study, alfalfa extract was incorporated into yogurt formulation at varying concentrations of 2, 4, 6, and 8 percent by weight. Following a storage period of 20 days, the assessment of antioxidant activity was conducted by measuring DPPH radical inhibition. Moreover, an analysis of phenolic compounds and an evaluation of yogurt quality attributes including pH, acidity, water content, and viscosity were carried out. Subsequently, a factorial experiment design was employed, utilizing a completely randomized design with three replications for statistical purposes. Statistical analysis involved comparing means at a significance level of 1% using SAS software version 9. The results showed that the presence of alfalfa extract led to an augmentation in the levels of water-soluble phenolic compounds as well as the antioxidant capacity of yogurt. So, after 10 days, the highest antioxidant activity was associated with yogurt formulations incorporating 6% and 8% alfalfa extract. Furthermore, the yogurt sample containing 8% extract exhibited the lowest water content, a statistically significant variance compared to the remaining samples ($p \leq 0.05$). It should be noted that considering the impact of dairy products on health and the need to increase per capita consumption of dairy products, more attention should be paid to the production of products that have more health benefits and high rheological properties. Hence, this study demonstrated that the inclusion of alfalfa extract resulted in an augmentation of the samples' antioxidant characteristics.

Keywords: Yogurt, Alfalfa extract, Syneresis, Viscosity, Antioxidant activity

* Elham_az1313@yahoo.com