تحقیقات تولیدات دامی

سال نهم/شماره سوم/پاییز ۱۳۹۹ (۱۱۱-۹۹)

Animal Production Research

دانشگاه گیلان

مقاله پژوهشی

استخراج عصاره برەموم و بررسی اثر آن بر کیفیت و ماندگاری دوغ غیرپاستوریزه

سیامک غیبی[1*]، امیر پورفرزاد[1]، علیرضا مهرگان نیکو[1]

۱- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

(تاریخ دریافت: ۹۹/۰۳/۰۲ - تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۶/۰۳)

چکیده

دوغ از نوشیدنی‌های سنتی ویژه ایران است که عامل اصلی فساد آن مخمر است. در این پژوهش از برەموم به عنوان یک محصول فرعی زنبورعسل، جهت جلوگیری از رشد مخمر در دوغ غیرپاستوریزه استفاده شده است. برای شناسایی مخمر عامل فساد (*Kluyveromyces marxianus*) از روش PCR و برای استخراج ترکیبات فنلی از برەموم از حلال‌های آب، گلیسرول و اتانول استفاده شد. با توجه به بازده استخراج، قابلیت مصرف در مواد غذایی و نتایج حاصل از آزمون‌های MIC و MBC، عصاره استخراج شده با حلال گلیسرول جهت بررسی در دوغ، انتخاب شد. تأثیر عصاره گلیسروله در غلظت‌های ۱/۵، ۳، ۴/۵ و ۶ درصد بر pH، اسیدیته قابل تیتراسیون، DPPH، مهار مخمر و خصوصیات حسی دوغ غیرپاستوریزه طی مدت ماندگاری در دو دمای ۵ و ۲۵ درجه سلسیوس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که غلظت ۳ درصد از عصاره گلیسروله برەموم بدون تأثیر منفی بر خصوصیات حسی، توانایی مهار مخمر و در نتیجه جلوگیری از فساد را در دو دمای ۵ و ۲۵ درجه سلسیوس به ترتیب به مدت دو روز و بیش از چهارده روز دارد. همچنین تعداد کل مخمر با افزایش غلظت عصاره برەموم به صورت معنی‌داری کاهش یافت ($P<۰/۰۵$). از طرفی میزان DPPH در طول زمان نگهداری در هر دو دما بدون تغییر باقی ماند. استفاده از عصاره برەموم در دوغ غیرپاستوریزه، علاوه بر جلوگیری از فساد ناشی از مخمر، منجر به تولید یک محصول فراسودمند با محتوای آنتی‌اکسیدانی بالا می‌شود.

واژه‌های کلیدی: ارزیابی حسی، برەموم، دوغ، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

* نویسندۀ مسئول: sgheibe@yahoo.com

doi: 10.22124/ar.2020.17448.1553

مقدمه

دوغ از نوشیدنی‌های سنتی ویژه ایران است. این فرآورده پس از ایران در کشورهای همسایه ایران و به مقدار کمتر در سایر کشورهای خاورمیانه و آسیای مرکزی به مصرف می‌رسد (استاندارد ملی ایران، ۱۰۵۲۸).

طبق تعریف، دوغ ساده، نوشیدنی حاصل از تخمیر لاکتیکی شیر است که ماده خشک آن از راه رقیق کردن ماست یا شیر دوغ‌سازی استاندارد شده است و ویژگی‌های شیمیایی آن شامل pH<۴/۵، ماده خشک بدون چربی بیشتر از ۳/۲٪ و نمک کمتر از ۱٪ است (استاندارد ملی ایران، ۲۴۵۳).

با توجه به ویژگی‌های شیمیایی دوغ، این نوشیدنی محیط مناسبی برای رشد میکروارگانیسم‌هایی همچون مخمر (*Kluyveromyces marxianus*) و کپک است، که باعث فساد دوغ می‌شود. به منظور جلوگیری از فساد، دوغ را قبل از بسته‌بندی پاستوریزه می‌کنند که به این صورت زمان ماندگاری دوغ افزایش می‌یابد. هر چند که این روش سبب افزایش هزینه و کاهش باکتری‌های مفید دوغ می‌شود، در روش سنتی مدت ماندگاری آن به دلیل عدم استفاده از حرارت کاهش می‌یابد، ولی با افزودن موادی همچون پونه و کاکوتی، علاوه بر ایجاد طعم و داشتن خاصیت تغذیه‌ای، می توان از خواص ضدباکتریایی آنها در جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های موجود تا حدودی بهره برد (محمودی و همکاران، ۱۳۸۹). یکی دیگر از موادی که دارای خصوصیات مشابه با موارد ذکر شده در بخش بالا است، برەموم است.

برەموم مخلوطی از مقادیر مختلف واکس و رزین جمع شده به وسیله زنبورعسل است که ترکیب آن بستگی به محیط جمع‌آوری، گل‌های موجود در منطقه و نوع زنبور دارد. زنبور، برەموم را جهت ترمیم محل‌های آسیب‌دیده در کندو، به عنوان عایق و ساختن مناطق سترون در کندو استفاده می‌کند (Mirzoeva *et al*., 1997). فلاونوئیدها، اسیدهای آروماتیک ترکیب‌های فنلی موجود در برەموم، مسئول اصلی فعالیت زیستی برەموم هستند. عصاره برەموم دارای ویژگی‌های زیستی همانند ویژگی ضدباکتریایی، ضدقارچی، ضدویروسی، آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضد توموری است (Huang *et al*., 2014). برەموم در مقادیر معمول برای انسان سمّی نیست و می‌تواند به عنوان نگه‌دارنده در مواد غذایی (آب‌میوه، انواع گوشت‌ها، میوه و لبنیات) استفاده شود. برەموم در مواد غذایی به عنوان عامل ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌شود و می‌تواند جایگزین خوبی برای نگهدارنده‌های شیمیایی باشد (Khezri *et al*., 2008).

از آنجا که تاکنون هیچ‌گونه پژوهشی در مورد کاربرد عصاره برەموم در دوغ صورت نگرفته است، لذا هدف از انجام این پژوهش، در ابتدا مشخص‌کردن نوع مخمر عامل فساد در دوغ، بررسی تأثیر حلال‌های مختلف در میزان استخراج ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی برەموم و مقایسه MIC و MBC عصاره‌ها با هم، است و در گام بعدی، تأثیر متغیرهای دما، زمان و سطوح مختلف عصاره برەموم منتخب روی خصوصیات شیمیایی، حسی و میکروبی دوغ غیرپاستوریزه حاوی عصاره برەموم مورد ارزیابی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های دوغ مورد استفاده قبل از اعمال پاستوریزاسیون از کارخانه شیر پاستوریزه تهیه و به صورت سرد به آزمایشگاه انتقال داده شدند. تهیه دوغ در کارخانه از راه رقیق کردن ماست و اضافه نمودن نمک صورت گرفت و ترکیبات آن شامل ماده خشک بدون چربی ۵٪، چربی ۲٪، نمک ۱٪، pH=3.8 و جمعیت میکروبی شامل تعداد مخمر بین ۳۰۰۰ تا ۷۰۰۰ و به طور میانگین ۵۰۰۰ در هر میلی‌لیتر، تعداد کلی فرم ۱۰، اشرشیا کولای صفر و استافیلوکوکوس صفر بود.

جهت جداسازی مخمر *Kluyveromyces marxianus* از دوغ‌های فاسد شده برگشتی به کارخانه و برای شناسایی آن از روش PCR استفاده شد. به این منظور ابتدا دوغ را روی محیط PDA اسیدی به صورت سطحی کشت داده و سپس پلیت کشت داده شده را به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انکوبه کرده و از یکی از کلنی‌های رشد کرده در سطح پلیت به منظور استخراج DNA جهت شناسایی مخمر *Kluyveromyces*

marxianus، به اندازه نوک سوزن، کلنی مخمر را برداشته و داخل میکروتیوب ۱/۵ با ۱۰۰ میکرولیتر آب قرار داده، تیوب را به خوبی (حدود ۷-۶ ثانیه) ورتکس کرده، سپس در ۸۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ جی به مدت یک دقیقه سانتریفیوژ شد. در مرحله بعد، فاز آب را دور ریخته و ۱۰۰ میکرولیتر از بافر استخراج به آن اضافه نموده و سپس تیوب به مدت ۳۰ دقیقه در ۸۵ درجه سلسیوس قرار گرفت. از این محلول به اندازه سه میکرولیتر به عنوان DNA الگو استفاده شد (Zhang *et al*., 2010). پرایمرهای ITS1 (5'– TCCGTAGGTGAACCTGCGG–3') و ITS4 (5'– TCCTCCGCTTATTGATATGC–3') جهت تکثیر و تعیین توالی rDNA استفاده شد (White *et al*., 1990). توالی بدست آمده در بانک ژن (NCBI) مشابهت‌یابی شد. مخمر شناسایی شده، جهت انجام آزمایش‌های بعدی به نسبت مساوی با گلیسرول ۳۰٪ در میکروتیوپ ۱/۵ میلی‌لیتری مخلوط شده و در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد.

برەموم مورد استفاده در این تحقیق از منطقه کوهستانی غرب گیلان تهیه شد و بعد از انتقال به آزمایشگاه تا زمان انجام آزمایش در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. جهت تهیه عصاره برەموم، ابتدا برەموم آسیاب شده و با سه حلال آب، اتانول و گلیسرول به روش خیساندن به صورت جداگانه عصاره‌گیری شد.

در روش خیساندن با آب، ۱۰ گرم پودر برەموم به ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر با دمای ۶۵ درجه سلسیوس اضافه کرده و به مدت ۲ ساعت در آن دما قرار داده شد. در طول این مدت، چندین بار تکان داده شد، عصاره حاصل به دمای اتاق رسانده شد و با سرعت ۱۵۰۰rpm برای مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و در نهایت قسمت رویی جهت آزمایش به ظرف دیگر منتقل شد (Said *et al*., 2006). در روش خیساندن با گلیسرول، ۱۰ گرم برەموم را به ۹۰ میلی‌لیتر گلیسرول ۹۹٪ اضافه کرده و دمای آن در بن ماری به ۴۰ درجه رسانده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در این دما نگه داشته شده و سپس مخلوط حاصل به مدت ۷ روز در دمای اتاق و در فضای تاریک نگهداری شد. در طول این مدت، روزانه چندین بار تکان داده شد. در نهایت آن را با پارچه کتانی صاف کرده و مقدار آن به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد (Juliano *et al*., 2007). در روش خیساندن با اتانول، ۱۰ گرم پودر برەموم را با ۹۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶٪ مخلوط کرده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد و در نهایت با صافی واتمن شماره ۱ صاف شد. عصاره‌های بدست آمده در فضای تاریک در یخچال تا زمان آزمایش نگهداری شدند.

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش DPPH پیشنهاد شده به وسیله Lie *et al*. (2009) و غلظت ترکیبات فنولی موجود در عصاره با روش Folin-Ciocalteu و از راه کالریمتری انجام شد (Singleton and Rossi, 1965).

جهت تعیین حداقل غلظت مهارکننده رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC)، ابتدا یک میلی‌لیتر محیط BHI براث را داخل لوله‌ها ریخته و بعد از اتوکلاو به هر کدام از لوله‌ها، ۱۰۰ میکرولیتر محیط BHI حاوی ۵۰۰۰ مخمر و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره برەموم با غلظت‌های ۱، ۲، ۳ و ۴٪ از هر کدام از عصاره‌ها اضافه شد. این عمل در دو تکرار انجام شد. در ضمن یک لوله حاوی مخمر بدون عصاره به عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انکوبه شدند. سپس به منظور تعیین MIC لوله‌ها از نظر کدورت یا عدم کدورت و برای تعیین MBC، کشت لوله‌های فاقد کدورت از نظر رشد پرگنه مورد بررسی قرار گرفتند.

جهت تهیه سوسپانسیون مخمر، دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر تنظیم شد. سپس به سرم فیزیولوژی، پرگنه‌های مخمر اضافه کرده تا OD جذبی آن به ۰/۱۲ برسد. طبق تعریف، OD بین ۰/۱۵-۰/۱۲ معادل نیم مک فارلند قارچ‌ها است. این سوسپانسیون به میزان ۱/۲۰ رقیق شده تا میزان مخمر موجود در هر میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به صورت ۴۰۰۰۰۰ تا ۵۰۰۰۰۰ cfu/mL بدست آید.

جهت تعیین فعالیت ضدمیکروبی و شیمیایی برەموم در دوغ، ۱۰ بطری حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر دوغ غیرپاستوریزه تهیه شده و بعد از انتقال به آزمایشگاه به هر بطری یک

میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی حاوی ۴۰۰۰۰۰ تا ۵۰۰۰۰۰ مخمر و مقادیر ۱/۵، ۳، ۴/۵ و ۶ میلی‌لیتر عصاره برەموم گلیسروله ۱۰٪ اضافه شد تا تعداد مخمر در هر میلی‌لیتر دوغ داخل بطری، ۴۰۰۰ تا ۵۰۰۰ و غلظت عصاره‌ها ۱/۵، ۳، ۴/۵ و ۶٪ حاصل شود. سپس بطری‌ها در دو دمای ۵ و ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند. این عمل در هر دما در دو تکرار انجام شد. در ضمن یک بطری حاوی مخمر بدون عصاره به عنوان شاهد مثبت برای هر سری در نظر گرفته شد. سپس بطری‌ها در دمای ۵ درجه سلسیوس در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ و برای دمای ۲۵ درجه سلسیوس در روزهای ۰، ۲، ۴ و ۶ مورد ارزیابی میکروبی (استاندارد ملی ایران، ۱۰۱۵۴)، شیمیایی (استاندارد ملی ایران، ۱-۸۹۸۶، ۴۸۵۲، ۲۸۵۲) و ارگانولپتیک قرار گرفتند.

تجزیه حسی نمونه‌های دوغ به وسیله ۱۰ پانلیست آموزش‌دیده شامل کارکنان کارخانه شیر پاستوریزه تنها گیلان و گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان انجام شد. هر نمونه شامل ۵۰ میلی‌لیتر دوغ حاوی مقادیر مختلف عصاره برەموم گلیسروله۱۰٪ بود که در لیوان پلاستیکی شفاف و در دمای اتاق در اختیار پانلیست‌ها قرار گرفت. رنگ، بو، طعم و مقبولیت کلی نمونه‌ها با یک مقیاس چهار امتیازی تجزیه شد. امتیازهای ۱ و ۴ به ترتیب مربوط به نمونه‌های دارای کم‌ترین و بیش‌ترین مطلوبیت بود. سپس میانگین امتیازات حاصل برای هر یک از ویژگی‌های حسی محاسبه شد.

تجزیه داده‌ها جهت بررسی اثر سطوح عصاره و دمای ماندگاری بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ماندگاری دوغ در قالب طرح کاملاً تصادفی و با آزمایش فاکتوریل انجام شد. به منظور بررسی معنی‌دار بودن تفاوت بین میانگین اعداد، پس از تجزیه واریانس، از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. هر آزمایش در دو تکرار و تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار مینی تب (Minitab 15, Minitab Inc., State College, PA, USA) انجام شد.

نتایج و بحث

شکل ۱ تصویر الکتروفورز محصول PCR مخمر *Kluyveromyces marxianus* را نشان می‌دهد. نمونه مورد مطالعه پس از مشابهت‌یابی توالی ناحیه ITS در بانک ژن با گونه *Kluyveromyces marxianus*، ۹۹/۷ درصد شباهت نشان داد. این مخمر از مخمرهای مطرح در صنعت لبنیات است که می‌تواند با تولید اسید و گاز سبب فساد محصولات لبنی شود.

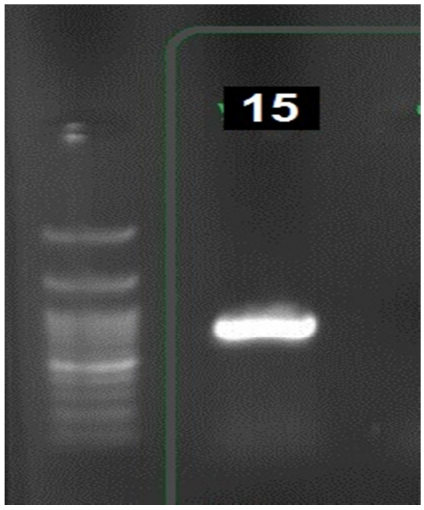

Fig. 1. Electrpphoresis image of PCR product, ITS region (rDNA) of *Kluyveromyces marxianu* yeast

شکل ۱- تصویر الکتروفورز محصول PCR، ناحیه ITS (rDNA) مخمر *Kluyveromyces marxianu*

نتایج جدول ۱ مقادیر ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف آبی، گلیسروله و الکلی به روش خیساندن را نشان می‌دهد. مقدار کل ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره الکلی نسبت به دو عصاره دیگر بالاتر و مقدار آنها به ترتیب ۲±۴۱/۹۳ و ۰/۸۵±۸۷/۸۴ بود. در مقابل، عصاره آبی پایین‌ترین مقدار بازده استخراج را نشان می‌دهد. مقادیر ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی عصاره گلیسروله به عصاره الکلی نزدیک‌تر است، که نشان‌دهنده این است که حلال‌هایی همچون گلیسرول قادر به استخراج ترکیبات فنلی به خوبی حلال‌های الکلی هستند. این موضوع در مطالعات Kubiliene *et al*. (2015) و Juliano *et al*. (2007) گزارش شد. با این وجود، عواملی همچون نوع حلال، درجه حرارت، هم زدن و منشأ بره‌موم بر غلظت ترکیبات فنلی عصاره حاصل مؤثر است. با توجه به مقادیر ترکیبات فنلی، عصاره گلیسروله می‌تواند در مواد غذایی با منع مصرف عصاره‌های الکلی، استفاده شود.

جدول ۲، نتایج حاصل از آزمون‌های MIC و MBC عصاره‌های آبی، گلیسروله و الکلی را نشان می‌دهد. همان‌طور که نشان داده شده است، بیشترین و کمترین مقدار MIC به ترتیب مربوط به عصاره‌های آبی و الکلی است (P<۰/۰۵). عصاره الکلی و گلیسروله توانستند در غلظت‌های ۰/۶ mg/mL و ۱/۵۶ mg/mL مخمر عامل فساد دوغ را مهار کنند و در مقادیر ۰/۷ mg/mL و ۳/۱۲۵ mg/mL آن را از بین بردند. در صورتی که عصاره آبی در مقادیر ۵۰ mg/mL نیز نتوانست مانع رشد مخمر شود. این نتایج با نتایج حاصل از میزان ترکیبات فنلی حاصل از عصاره‌گیری همخوانی دارد. به عبارت دیگر، هر چه میزان ترکیبات فنلی بالاتر باشد، توانایی عصاره در مهار مخمر افزایش می‌یابد. این نتایج با نتایج بدست آمده به وسیله Silva *et al*. (2017) که میزان MIC عصاره الکلی را برای کاندیدا آلبیکنس بالای ۱ mg/mL برآورد کرده‌اند و با نتایج Al-Ani *et al*. (2018) که MIC عصاره آبی الکلی و الکلی بره‌موم را ۵ mg/mL برآورد کرده‌اند و همچنین Juliano *et al*. (2007)، که MIC و MBC عصاره الکلی بره‌موم را جهت مهار کاندیدا البیکنس بالای ۲/۵ درصد اعلام کرده است، همخوانی ندارد که می‌تواند به دلیل وجود عواملی همچون نوع حلال، درجه حرارت، هم زدن و منبع بره‌موم بر غلظت ترکیبات فنولی عصاره و نوع مخمر باشد. در تحقیقی که به وسیله Kubiliene *et al*. (2015) انجام شد، فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های الکلی، آبی گلیسروله و آبی را در مقابل کاندیدا البیکنس مورد بررسی قرار دادند. بر اساس نتایج بدست آمده در آن پژوهش، قدرت ضدمیکروبی عصاره‌های الکلی و آبی گلیسروله از عصاره آبی بالاتر بود که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد.

جدول ۱- مقایسه بین مقادیر پلی فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های بره‌موم استخراج شده با حلال‌های مختلف

Table 1. Comparison between polyphenolic content and antioxidant activity of propolis extracts of different solvents

Type of propolis extract	Total phenol(g/100g)	Antioxidant activity (%)
Glyceridic	$28.54^{b} \pm 1.1$	$85.86^{b} \pm 0.47$
Alcoholic	$41.93^{a} \pm 2$	$87.84^{a} \pm 0.85$
Watery	$7.53^{c} \pm 0.1$	$33.68^{c} \pm 0.23$

Each observation is a mean ± SD.

[a-c] Different superscript letters within the same column indicate significant differences (P<0.05).

جدول ۲- مقایسه بین MIC و MBC عصاره‌های بره‌موم استخراج شده با حلال‌های مختلف

Table 2. Comparison between MIC and MBC of propolis extracts of different solvents

Type of propolis extract	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)
Watery	$>50^{a}$	-
Glyceridic	$1.56^{b} \pm 0.004$	$3.12^{a} \pm 0.001$
Alcoholic	$0.61^{c} \pm 0.002$	$0.71^{b} \pm 0.005$

Each observation is a mean ± SD.

[a-c] Different superscript letters within the same column indicate significant differences (P<0.05).

ارزیابی حسی در محصولات غذایی برای جلب نظر مشتری حائز اهمیت است. نتایج حاصل از ارزیابی حسی نمونه‌های حاوی عصاره بره‌موم در جداول ۳ تا ۶ نشان داده شده است. همان‌طور که نشان داده شده است، افزایش میزان عصاره بره‌موم بر رنگ نمونه‌های دوغ نگهداری شده در دماهای مختلف تأثیر معنی‌داری نداشته است ($P>۰/۰۵$). بررسی بوی نمونه‌های مختلف نشان داد که افزایش غلظت بره‌موم تنها در نمونه‌هایی که به مدت ۶ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شده‌اند، منجر به افزایش معنی‌دار امتیاز بو شده است ($P<۰/۰۵$).

بررسی طعم نمونه‌های مختلف نشان داد که افزایش غلظت بره‌موم از ۱/۵ به ۳٪ با افزایش زمان نگهداری معنی‌دار می‌شود ($P<۰/۰۵$)، در صورتی که از غلظت ۴/۵٪ به بالا تغییر در طعم به زمان نگهداری بستگی ندارد و از روز اول معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$).

پذیرش کلی عصاره بره‌موم گلیسروله (جدول ۶) نیز با افزایش غلظت از ۱/۵٪ معنی‌دار می‌شود ($P<۰/۰۵$)، با این تفاوت که با افزایش زمان نگهداری بر میزان پذیرش کلی محصول در غلظت ۳٪ در هر دو دما افزوده می‌شود. این می‌تواند به این معنی باشد که افزایش طعم اسیدی در دوغ در طول مدت نگهداری می‌تواند روی پذیرش کلی اثر مثبت داشته باشد. به طور کلی افزایش غلظت بر بو، طعم و پذیرش کلی محصول تأثیر می‌گذارد، به نحوی که غلظت ۶٪ عصاره بره‌موم پایین‌ترین امتیاز را از لحاظ رنگ، بو و طعم دریافت کرده است و از نظر پذیرش کلی نیز نمره مطلوبی بدست نیاورده است. این نتیجه با مطالعه El-Deeb (2017) در شیر مطابقت دارد. افزایش غلظت عصاره کمترین اثر را بر رنگ محصول داشته است، در صورتی که با توجه به وجود ترکیبات فنلی بالا بر طعم و بو اثر بیشتری را نشان داده است.

تغییرات در تعداد کل جمعیت مخمر در نمونه‌های دوغ نگهداری شده در دمای ۵ و ۲۵ درجه سلسیوس با غلظت‌های مختلف عصاره بره‌موم گلیسروله ۱۰٪ در جدول ۷ قابل مشاهده است. همان طور که نتایج نشان می‌دهد، افزایش میزان غلظت عصاره بره‌موم از غلظت ۱/۵٪ به بالا در هر دو دما تأثیر معنی‌داری بر کنترل مخمر در دوغ دارد ($P<۰/۰۵$). تعداد کل مخمرها در نمونه شاهد و غلظت ۱/۵٪ عصاره بره‌موم در طول مدت نگهداری چهار روزه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس از ۳/۵۹ به ۶/۸۸ Log cfu/mL رسید که نشان‌دهنده این است که غلظت عصاره ۱/۵٪ در دمای ۲۵ درجه سلسیوس توانایی کنترل مخمر را در دوغ ندارد. در مقابل هر چقدر به میزان غلظت عصاره افزوده شد، قدرت مهارکنندگی عصاره نیز افزایش یافت؛ به طوری‌که تعداد در غلظت ۶٪ در زمان مشابه از ۳/۵۹ به ۴/۹۳ Log cfu/mL رسیده است.

جدول ۳- اثر دما، زمان و سطوح مختلف عصاره بره‌موم گلیسروله بر رنگ نمونه‌های دوغ

Table 3. Effect of temperature, time and different levels of propolis glycerol extract on color of Doogh samples

Treatment		Storage in temperature of 5 °C (days)			
		0	7	14	21
Level (%)	0	3.50	3.50	3.50	4.00
	1.5	4.00	4.00	4.00	3.50
	3	4.00	4.00	4.00	3.50
	4.5	4.00	4.00	4.00	3.50
	6	3.00	3.00	3.00	3.00
Standard error of mean (±)		0.316	0.316	0.316	0.387
Treatment		Storage in temperature of 25 °C (days)			
		0	2	4	6
Level (%)	0	4.00	4.00	4.00	4.00
	1.5	3.50	3.50	3.50	3.50
	3	4.00	4.00	4.00	3.50
	4.5	4.00	4.00	4.00	3.50
	6	3.00	3.00	3.00	3.00
Standard error of mean (±)		0.316	0.316	0.316	0.387

جدول ۴- اثر دما، زمان و سطوح مختلف عصاره برەموم گلیسروله بر بوی نمونه‌های دوغ

Table 4. Effect of temperature, time and different levels of propolis glycerol extract on odor of Doogh samples

Treatment		Storage in temperature of 5 °C (days)			
		0	7	14	21
Level (%)	0	3.50	3.00	3.50	3.50
	1.5	3.50	3.00	3.50	3.50
	3	3.00	2.50	3.00	3.50
	4.5	2.50	2.00	3.00	3.50
	6	2.50	2.00	2.50	3.00
Standard error of mean (±)		0.316	0.316	0.866	0.316
Treatment		Storage in temperature of 25 °C (days)			
		0	2	4	6
Level (%)	0	3.50	3.50	3.50	3.50[a]
	1.5	3.50	3.50	3.50	2.50[ab]
	3	3.00	3.00	3.00	2.00[b]
	4.5	2.50	2.50	2.50	1.50[b]
	6	2.50	2.50	2.50	1.50[b]
Standard error of mean (±)		0.316	0.316	0.316	0.316

[a-b] Values in the same column with different letters are significantly different (P<0.05).

افزایش تعداد کل مخمر در دمای ۵ درجه سلسیوس روند کندتری را نشان داد؛ به طوری‌که تعداد کل مخمر در نمونه شاهد بعد از ۱۴ روز از ۳/۶۳ به ۶/۶۰ Log cfu/mL رسید و در غلظت ۶٪ بعد از گذشت ۲۱ روز از زمان نگهداری دوغ، تعداد کل مخمر از ۳/۵۴ به ۳/۸۶ Log cfu/mL رسید که نشان‌دهنده افزایش زمان نگهداری دوغ با غلظت‌های بالاتر عصاره برەموم در دمای ۵ درجه سلسیوس است. داده‌های بدست آمده از این تحقیق با نتایج El-Deeb (2017) در شیر در ارتباط با مهار مخمر با افزایش غلظت عصاره برەموم در دو دمای مورد استفاده مطابقت دارد، با این تفاوت که در تحقیق حاضر تعداد مخمر در طول زمان نگهداری از میزان اولیه کمتر نشد.

تغییرات pH و اسیدیته قابل تیتراسیون در نمونه‌های دوغ نگهداری شده در دمای ۵ و ۲۵ درجه سلسیوس در حضور غلظت‌های مختلف عصاره گلیسروله برەموم (۲، ۴، ۵ و ۶٪) به عنوان نگهدارنده طبیعی در جداول ۸ و ۹ ارائه شده است. همان طور که نتایج جدول ۸ نشان می‌دهد، افزایش میزان غلظت عصاره برەموم در هر دو دما تأثیر معنی‌داری بر pH دوغ ندارد (P>۰/۰۵)، در صورتی که تأثیر معنی‌داری بر اسیدیته قابل تیتراسیون دوغ دارد (P<۰/۰۵).

pH نمونه شاهد به ترتیب در دمای ۵ و ۲۵ درجه سلسیوس از ۴/۰۹ به ۳/۸۴ در مدت ۴ روز و از ۴/۰۷ به ۳/۸۰ در مدت ۲۱ روز کاهش یافت، در صورتی که pH دوغ‌های حاوی عصاره برەموم با غلظت‌های مختلف نسبت به شاهد، تغییرات pH کمتری را از خود نشان دادند. داده‌های بدست‌آمده از تحقیق در ارتباط با pH، با تحقیق El-Deeb (2017) در شیر مطابقت دارد.

تغییرات اسیدیته دوغ شاهد در دماهای ۵ و ۲۵ درجه سلسیوس در طول مدت نگهداری به ترتیب از ۰/۶۸٪ به ۰/۹۷٪ و از ۰/۶۹٪ به ۰/۹۷٪ افزایش یافت. افزایش اسیدیته در دوغ‌های دارای غلظت‌های مختلف برەموم در روز صفر نسبت به شاهد می‌تواند به دلیل وجود ترکیبات برەموم باشد. همچنین افزایش اسیدیته در طول مدت نگهداری دوغ حاوی غلظت‌های مختلف برەموم در هر دو دما، مشابه شاهد است که با تحقیق El-Deeb (2017) در شیر مطابقت ندارد. در صورتی که این یافته‌ها با نتایج Yerlikaya (2014) که از گرده زنبورعسل جهت نگهداری شیر تخمیر شده استفاده نمود مطابقت دارد و دلیل آن می‌تواند مربوط به ترکیبات موجود در گرده زنبورعسل و تغییراتی که در طول نگهداری در آن ایجاد شده است باشد.

جدول ۵- اثر دما، زمان و سطوح مختلف عصاره بره‌موم گلیسروله بر طعم نمونه‌های دوغ

Table 5. Effect of temperature, time and different levels of propolis glycerol extract on taste of Doogh samples

Treatment		Storage in temperature of 5 °C (days)			
		0	7	14	21
Level (%)	0	3.50[a]	4.00[a]	4.00[a]	4.00[a]
	1.5	3.00[ab]	2.50[ab]	2.50[ab]	2.50[ab]
	3	2.00[ab]	1.50[b]	1.50[b]	2.00[b]
	4.5	1.50[b]	1.00[b]	1.00[b]	1.50[b]
	6	1.50[b]	1.00[b]	1.00[b]	1.50[b]
Standard error of mean (±)		0.387	0.387	0.387	0.387
Treatment		Storage in temperature of 25 °C (days)			
		0	2	4	6
Level (%)	0	3.50[a]	3.50[a]	3.50[a]	3.50[a]
	1.5	3.00[ab]	3.00[ab]	3.00[ab]	1.50[b]
	3	2.00[ab]	2.00[ab]	2.00[ab]	1.50[b]
	4.5	1.50[b]	1.50[b]	1.50[b]	1.00[b]
	6	1.50[b]	1.50[b]	1.50[b]	1.00[b]
Standard error of mean (±)		0.387	0.387	0.387	0.387

[a-b] Values in the same column with different letters are significantly different (P<0.05).

جدول ۶- اثر دما، زمان و سطوح مختلف عصاره بره‌موم گلیسروله بر پذیرش کلی نمونه‌های دوغ

Table 6. Effect of temperature, time and different levels of propolis glycerol extract on overall acceptance of Doogh samples

Treatment		Storage in temperature of 5 °C (days)			
		0	7	14	21
Level (%)	0	3.67[a]	3.67[a]	3.83[a]	3.83[a]
	1.5	3.50[a]	3.17[ab]	3.33[ab]	3.00[ab]
	3	3.00[b]	2.67[bc]	2.83[ab]	3.00[ab]
	4.5	2.67[bc]	2.33[bc]	2.67[ab]	2.83[ab]
	6	2.33[c]	2.00[c]	2.17[b]	2.50[b]
Standard error of mean (±)		0.105	0.211	0.357	0.269
Treatment		Storage in temperature of 25 °C (days)			
		0	2	4	6
Level (%)	0	3.67[a]	3.67[a]	3.67[a]	3.50[a]
	1.5	3.50[a]	3.50[a]	3.50[a]	2.50[ab]
	3	3.00[b]	3.00[b]	3.00[b]	2.33[ab]
	4.5	2.67[bc]	2.67[bc]	2.67[bc]	2.00[b]
	6	2.33[c]	2.33[c]	2.33[c]	1.83[b]
Standard error of mean (±)		0.105	0.105	0.105	0.269

[a-c] Values in the same column with different letters are significantly different (P<0.05).

جدول ۷- اثر دما، زمان و غلظت‌های مختلف عصاره برەموم گلیسروله بر تعداد مخمر (Log cfu/mL) در نمونه‌های دوغ

Table 7. Effect of temperature, time and different levels of propolis glycerol extract on total yeast (Log CFU/mL) in Doogh samples

Treatment		Storage in temperature of 5 °C (days)			
		0	7	14	21
Level (%)	0	3.63	4.87[a]	6.60[a]	6.92[a]
	1.5	3.67	4.49[b]	5.33[b]	6.92[a]
	3	3.56	3.85[c]	4.39[bc]	4.68[b]
	4.5	3.59	3.71[d]	4.51[bc]	4.63[b]
	6	3.54	3.62[d]	3.61[c]	3.86[c]
Standard error of mean (±)		0.073	0.032	0.252	0.097
Treatment		Storage in temperature of 25 °C (days)			
		0	2	4	6
Level (%)	0	3.63	4.82[a]	6.91[a]	6.92
	1.5	3.59	4.79[a]	6.88[a]	6.92
	3	3.63	3.88[b]	5.58[b]	6.92
	4.5	3.56	3.63[b]	5.23[c]	6.92
	6	3.59	3.71[b]	4.93[d]	6.89
Standard error of mean (±)		0.038	0.129	0.026	0.019

[a-c] Values in the same column with different letters are significantly different (P<0.05).

جدول ۸- اثر دما، زمان و سطوح مختلف عصاره برەموم گلیسروله بر pH در نمونه‌های دوغ

Table 8. Effect of temperature, time and different levels of propolis glycerol extract on pH in Doogh samples

Treatment		Storage in temperature of 5 °C (days)			
		0	7	14	21
Level (%)	0	4.07	4.01	3.91[b]	3.80[c]
	1.5	4.08	4.02	4.01[a]	3.87[b]
	3	4.07	4.01	4.01[a]	3.90[a]
	4.5	4.08	4.05	4.00[a]	3.91[a]
	6	4.08	4.03	4.01[a]	3.89[ab]
Standard error of mean (±)		0.008	0.017	0.015	0.006
Treatment		Storage in temperature of 25 °C (days)			
		0	2	4	
Level (%)	0	4.09	3.96[b]	3.84[b]	
	1.5	4.08	3.98[ab]	3.96[ab]	
	3	4.08	4.02[ab]	3.97[ab]	
	4.5	4.07	4.02[ab]	3.99[a]	
	6	4.09	4.04[a]	3.98[ab]	
Standard error of mean (±)		0.013	0.015	0.033	

[a-c] Values in the same column with different letters are significantly different (P<0.05).

جدول ۹- اثر دما، زمان و سطوح مختلف عصاره برەموم گلیسرولە بر اسیدیته در نمونه‌های دوغ

Table 9. Effect of temperature, time and different levels of propolis glycerol extract on acidity in Doogh samples

Treatment		Storage in temperature of 5 °C (days)			
		0	7	14	21
Level (%)	0	0.69[b]	0.86[c]	0.86[c]	0.97[c]
	1.5	0.71[ab]	0.88[bc]	0.90[c]	0.96[c]
	3	0.75[a]	0.91[bc]	0.98[b]	1.00[b]
	4.5	0.74[a]	0.95[ab]	1.07[a]	1.09[a]
	6	0.74[a]	0.98[a]	1.09[a]	1.10[a]
Standard error of mean (±)		0.008	0.015	0.012	0.006
Treatment		Storage in temperature of 25 °C (days)			
		0	2	4	
Level (%)	0	0.68[b]	0.93[c]	0.97[b]	
	1.5	0.70[b]	1.02[b]	1.03[b]	
	3	0.75[a]	1.08[a]	1.11[a]	
	4.5	0.74[a]	1.09[a]	1.13[a]	
	6	0.73[a]	1.10[a]	1.15[a]	
Standard error of mean (±)		0.008	0.013	0.015	

[a-c] Values in the same column with different letters are significantly different (P<0.05).

جدول ۱۰- اثر دما، زمان و سطوح مختلف عصاره برەموم گلیسرولە بر DPPH در نمونه‌های دوغ

Table 10. Effect of temperature, time and different levels of propolis glycerol extract on DPPH in Doogh samples

Treatment		Storage in temperature of 5 °C (days)			
		0	7	14	21
Level (%)	0	1.95[e]	2.20[e]	2.60[e]	2.92[e]
	1.5	9.13[d]	10.00[d]	10.95[d]	11.49[d]
	3	9.47[c]	10.80[c]	11.16[c]	13.87[c]
	4.5	11.11[b]	11.40[b]	14.20[b]	15.50[b]
	6	16.26[a]	16.40[a]	17.24[a]	17.88[a]
Standard error of mean (±)		0.0003	0.0006	0.0003	0.0006
Treatment		Storage in temperature of 25 °C (days)			
		0	2	4	
Level (%)	0	1.95[e]	2.20[e]	2.23[e]	
	1.5	9.13[d]	9.60[d]	11.12[d]	
	3	9.47[c]	11.00[c]	11.56[c]	
	4.5	11.11[b]	13.00[b]	14.80[b]	
	6	16.26[a]	16.80[a]	17.44[a]	
Standard error of mean (±)		0.0003	0.0003	0.0006	

[a-e] Values in the same column with different letters are significantly different (P<0.05).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این مطالعه تأیید می‌کنند که دوغ غیرپاستوریزه حاوی عصاره برەموم گلیسرولە ۱۰٪ به میزان ۳٪ می‌تواند به عنوان یک نگهدارنده طبیعی و بدون تأثیر محسوس بر خصوصیات حسی، به منظور جلوگیری از فساد دوغ غیرپاستوریزه ناشی از مخمر مورد استفاده قرار گیرد. این روش نگهداری می‌تواند مورد استفاده تولیدکنندگان دوغ‌های غیرپاستوریزه سنتی قرار گیرد و با این روش مدت ماندگاری محصول خود را افزایش دهند. از طرفی، با توجه به خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالای این عصاره، می‌توان از آن در تولید یک محصول فراسودمند نیز استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه گیلان که حمایت مالی این طرح پژوهشی با عنوان "استخراج

عصاره بره‌موم و بررسی اثر آن بر کیفیت و ماندگاری دوغ غیرپاستوریزه" به شماره ۲۸۳۶۵/پ۱۵ را تقبل نموده‌اند و همچنین از شرکت لبنیات تنها و آزمایشگاه تخصصی ویرومد که در اجرای طرح همکاری نموده‌اند، قدردانی می‌شود.

فهرست منابع

استاندارد ملی ایران، استاندارد ۲۴۵۳، تجدیدنظر دوم، ویژگی‌ها و روش‌های آزمون.

استاندارد ملی ایران، استاندارد ۱۰۵۲۸، چاپ اول، دوغ – آیین کار تهیه و تولید.

عبادیان ب.، قنادی ع.، پوشنگ باقری ک.، و میریوسفی نژاد نایینی ر. ۱۳۷۸. اثر ضدقارچی و ضدمیکروبی مخلوط ماده بهساز بافت با اسانس اکالیپتوس. مجله دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، ۲۶(۲): ۱۷۸-۱۸۴.

محمودی ر.، احسانی بهرآبادی ع.، تاجیک ح.، آخوندزاده بستی ا.، و خسروشاهی اصل ا. ۱۳۸۹. اثر ضدمیکروبی اسانس پونه کوهی و لاکتوباسیلوس کازئی بر استافیلوکوکوس اورئوس در پنیر سفید ایرانی. پژوهش‌های صنایع غذایی، ۳۲۰(۱): ۱۴۷-۱۶۱.

AL-Ani I., Zimmermann S., Rechling J. and Wink M. 2018. Antimicrobial activities of European propolis collected from various geographic origins alone and in combination with antibiotics. Medicines, 5(1): 2-19.

Apaydin H. and Gumus T. 2018. Inhibitory effect of propolis against *Staphylococcus aureus* bacteria isolated from instant soups. Journal of Tekirdag Agricultural Faculty, 15(1): 67-75.

Atallah A. A. 2016. The production of bio yoghurt with probiotic bacteria, Royal jelly and Bee pollen grains. Journal of Nutrition and Food Sciences, 6(3): 510.

Cavalaro R. I., Cruz R. G., Dupont S., Bell J. M. L. N. M. and Vieira T. M. F. S. 2019. *In vitro* and *in vivo* antioxidant properties of bioactive compounds from green propolis obtained by ultrasounds-assisted extraction. Journal of Food Chemistry X, 4: 100054.

Cottica S. M., Sabik H., Belanger D., Girous H. J., Visentainer J. V. and Britten M. 2015. Use of extracts as antioxidant in dairy beverages enriched with conjugated linoleic acid. Journal of European Food Reaserch and Technology, 241: 543-551.

Cunha I. B. S., Sawaya A. C. H. F., Caetano F. M., Shimizu M. T., Marcucci M. C., Drezza F. T., Povia G. S. and Carvalho P. O. 2004. Factors that influence the yield and composition of Brazilian propolis extracts. Journal of the Brazilian Chemical Society, 15(6): 964-970.

EI-Deeb A. M. 2017. Utilization of propolis extract as a natural preservative in raw milk. Journal of Food and Dairy Science, 8(8): 315-321.

Huang S., Zhang C., Wang K., Li G. Q. and Hu F. 2014. Recent advences in the chemical composition of propolis, Journal of Molecoles. 19: 19610-19632.

Juliano C., Pala C. L. and Cossu M. 2007. Preparation and characterization of polymeric films containing propolis, Journal of Drug Delivery Science and Technology, 17(3): 177-181.

Kalogeropoulos N., Konteles S. J., Troullidou E., Mourtzinos I. and Karathanos V. T. 2009. Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. Journal of Food Chemistry, 116(2): 452-461.

Kashi T. S. J., Kermanshahi R. K., Erfan M., Dastjerdi E. V., Rezaei Y. and Ttabatabaei F. S. 2011. Evaluation the invitro antibacterial effect of Iranian propolis of oral microorganisms. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 10(2): 363-368.

Katircioglu H. and Mercan N. 2016. Antimicrobial activity and chemical compositions of Turkish propolis from different region. African Journal of Biotechnology, 5(11): 1151-1153.

Khezri M., Rostami S., Riseh R. S. and Alizadeh A. 2008. Effect of propolis and clotrimazole on controlling aflatoxin in pistachio. International Journal of Agriculture and Biology, 8(5): 606-608.

Kiani H., Mousavi S. M. A. and Emam-Djomeh Z. 2008. Reological properties of Iranian yoghurt Drink, Doogh. International Journal of Dairy Science, 3(2): 71-78.

Kubiliene L., Laugaliene V., Pavilonis A., Maruska A., Majiene D., Barcauskaite K., Kubilius R., Kasparaviciene G. and Savickas A. 2015. Alternative preparation of propolis extracts:comparison of their composition and biological activities. Complementary and Alternative Medicine, 15: 156.

Kumar S., Stecher G. and Tamura K. 2016. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. Molecular Biology and Evolution, 3: 1870-1874.

Li W., Hydamaka A. W., Lowry L. and Beta T. 2009. Comparison of antioxidant capacity and phenolic compounds of berries, chokecherry and seabuckthorn. Central European Journal of Biology, 4: 499-506.

Mirzoeva O. K., Grishanin R. N. and Colder P. C. 1997. Antimicrobial action of propolis and some of its components. Microbiological Research, 152: 239-246.

Mohammadzadeh S., Sharriatpanahi M., Hamedi M., Amanzadeh Y., Ebrahimi S. E. S. and Ostad S. N. 2007. Antioxidant powder of Iranian propolis extract. Food Chemistry, 103: 729-733.

Pobiega K., Krasniewska K., Derewiaka D. and Gniewosz M. 2019. Comparision of the antimicrobial activity of propolis extracts obtained by means of various extraction methods. Journal of Food Science and Technology, 56(12): 5386-5395.

Said S. A., Khan S. A., Ahmed I. and Ali H. S. 2006. Chemical composition of Egyption and UAE propolis. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 19: 58-61.

Salimi S., Naghavi N. S. and Karbasizadeh V. 2013. Propolis, royal jelly and pollen from beehive have antibacterial effect on aquatic pathogenic bacterial isolates. International Journal of Molecular and Clinical Microbilogy, 1: 218-224.

Silva R. P. D., Machado B. A. S., Barreto G. A., Costa S. S., Andrade L. N., Amaral R. G., Carvalho A. A., Padiha F. F., Barbasa J. D. V. and Guez M. A. U. 2017. Antioxidant, antimicrobial, antiparasitic, and cytotoxic properties of various Brazilian propolis extracts. PLoS One, 12(3): e0172585.

Singleton V. L. and Rossi J. R. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid. American Journal of Enology and Viticulture, 16: 144-158

White T. J., BrunsT. D., Lee S. B. and Taylor J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA sequences for phylogenetics. In: Innis MA, Gelf, DH, Sninsky JJ,White TJ (eds) PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic press, San Diego.

Yang W., Wu Z., Huang Z. Y. and Miao X. 2017. Preservation of orange juice using propolis. Journal of Food Science and Tecnology, 54(11): 3375-3384.

Yerlikaya O. 2014. Effect of bee pollen supplement on antimicrobial, chemical, rheological, sensorial properties and probiotic viability of fermented milk beverages. Journal of Dairy Production and Processing Improvement, 64(4): 268-279.

Zhang Y. J., Zhang S., Liu X. Z., Wen H. A. and Wang M. 2010. A simple method of genomic DNA extraction suitable for analysis of bulk fungal strains. Letters in Applied Microbiology, 51(1): 114-118.

Zia M. A., Mannani R., Mahmood M., Bayat M. and Mohaghegh F. 2009. The effects of alcoholic extract of propolis obtained from Iran bee hives on the growth of trichophyton. Journal of Isfahan Medical School. 27(95): 232-241.

Animal Production Research

Vol. 9, No. 3, 2020 (99-111)

University of Guilan

Research paper

Extraction of propolis extract and investigation of its effect on quality and shelf life of unpasteurized Doogh

S. Gheibi[1*], A. Pourfarzad[1], A. Mehregan Nikoo[1]

1. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

(Received: 22-05-2020 – Accepted: 24-08-2020)

Abstract

Doogh is one of the traditional drinks in Iran and yeast is the original reason of its spoilage. In this research, propolis (a product of bee) was used for preventing the yeast growth in unpasteurized doogh. The polymerase chain reaction (PCR) method was used to diagnose the yeast that caused spoilage (*Kluyveromyces marxianus)*. Water, glycerol and ethanol were used as solvents to extract phenolic compounds of propolis. According to extraction efficiency, capability of usage in food products and results of MIC and MBC tests, glycerol extract has been selected for Doogh examinations. The effect of 1.5, 3, 4.5, 6% of glycerol extract on pH, titratable acidity, DPPH, decreased yeast count and sensory properties of unpasteurized Doogh during storage at temperatures of 5 and 25 °C. Results revealed that 3% glycerol extract of propolis, decreased yeast during storage at both temperatures of 5 and 25 °C without any negative effect on sensory parameters, for two and more than fourteen days, respectively. Also, total yeasts significantly decreased with increasing the glycerol extract of propolis (P<0.05). Furthermore, the DPPH was not affected during storage at both temperatures. Using the propolis extract in unpasteurized Doogh resulted in the prevention of yeast caused spoilage and specially production of a functional food containing high amounts of antioxidants.

Keywords: Sensory evaluation, Propolis, Doogh, Antioxidant activity

[*]Corresponding author: sgheibe@yahoo.com

doi: 10.22124/ar.2020.17448.1553