

## تاثیر دماهای گرمخانه‌گذاری، نگهداری و pH نهایی محصول بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک و خواص حسی در دوغ پروبیوتیک

علی دینی<sup>۱</sup>، سید هادی رضوی<sup>۲\*</sup> و سید محمد علی ابراهیم زاده موسوی<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۹۱/۱/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹۲/۵/۱۴

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد معاونت غذا و داروی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

<sup>۲</sup> استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه تهران

\* مسئول مکاتبه: E-mail: srazavi@ut.ac.ir

### چکیده

در این پژوهش، تاثیر عوامل حرارتی (دماهای گرمخانه‌گذاری و نگهداری) و pH نهایی محصول بر زنده‌مانی باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در تولید دوغ پروبیوتیک طی ۲۱ روز نگهداری بر پایه طرح کاملاً تصادفی و با آزمون‌های فاکتوریل و دانکن مورد مطالعه قرار گرفت. فرایند تخمیر در سه دمای گرمخانه‌گذاری ۳۷، ۴۰ و ۴۴°C انجام شد و تخمیر در سه سطح pH ۴/۶، ۴/۴ و ۴/۰ متوقف گردید و تیمارهایی که بیشترین زنده‌مانی را داشتند مشخص و به مدت ۲۱ روز در سه دمای ۵، ۱۰ و ۱۵°C نگهداری شدند. بهترین نمونه از نظر زنده‌مانی کل باکتری‌های پروبیوتیک نمونه اولیه با دمای گرمخانه‌گذاری ۳۷°C و pH نهایی ۴/۴ و ۴/۶ بودند. دو نمونه اولیه با بیشترین میزان زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک، وارد مرحله نگهداری در سه دمای ۵، ۱۰ و ۱۵°C شدند. در طول نگهداری هر ۷ روز یک بار نمونه‌های کشت داده شده از نظر زنده‌مانی، فاکتورهای شیمیایی و حسی بررسی شدند. بیشترین مرگ و میر *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در هفته اول نگهداری مشاهده شد. به تدریج باکتری به شرایط سخت محیطی سازگار شد. بیشترین زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در  $pH > 4.05 \pm 0.05$  بود بطوریکه در هفته اول نگهداری در نمونه‌ها رشد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* مشاهده شد. نمونه‌های نگهداری شده در دمای ۵°C دارای بیشترین زنده‌مانی و نمونه‌های نگهداری شده در ۱۵°C دارای بهترین طعم، احساس دهانی و پذیرش کلی پس از ۲۱ روز نگهداری بودند.

واژه‌های کلیدی: دوغ پروبیوتیک، *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، خواص حسی، زنده‌مانی

## Effect of incubation and storage temperatures and final pH on the viability of probiotic bacteria and sensory characteristics in probiotic Doogh

A Dini<sup>1</sup>, SH Razavi<sup>2\*</sup> and SM Mousavi<sup>2</sup>

Received: April 19, 2012

Accepted: August 5, 2013

<sup>1</sup> MSc, Department of Food and Drug, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

<sup>2</sup> Professors, respectively, Department of Food Science, Engineering and Technology, Faculty of Biosystem Engineering, Agricultural Campus, University of Tehran, Karaj, Iran

\*Corresponding author: E mail: srazavi@ut.ac.ir

### Abstract

The viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* was monitored during the storage of probiotic Doogh for 21 days as influenced by incubation and storage temperatures and product's final pH value. Samples were fermented at various temperatures (37, 40 and 44°C) till the pH value dropped to 4.6, 4.4 or 4.0. The highest viability of probiotics was achieved at fermentation temperature 37°C and final pH values 4.4 and 4.6. Storage of these two best treatments in various temperatures (5, 10 and 15°C) for 21 days resulted a rapid decrease in *B. lactis* population in the first 7 days after which the bacteria became compatible with the harsh condition. The highest viability occurred for *L. acidophilus* merely at pH lower than  $4.05 \pm 0.05$  and its growth was observed in first week of storage. Samples stored at 5°C showed the highest viability and samples at 15°C had the best sensory properties.

**Keywords:** Probiotic doogh, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, Sensory characteristics, Viability

### مقدمه

باکتری، pH محصول و اسیدیته آن، فرایندهای وابسته به گرما شامل فرآیندهای گرمائی، گرمخانه‌گذاری و دمای نگهداری، افزودنی‌های محرک رشد و نظایر موارد مذکور است.

محصولات پروبیوتیک را می‌توان به محصولات تخمیری و غیرتخمیری تقسیم کرد. دوغ محصولی است تخمیری که امروزه در ایران و کشورهای همسایه مثل ترکیه مصرف کنندگان زیادی دارد. به طوریکه این محصول را نوشیدنی ملی کشورمان می‌دانند (آکین و رایس ۱۹۹۴ و کیانی و همکاران ۲۰۱۰). این نوشیدنی حاوی ۶-۴٪ ماده خشک، ۱/۵-۰٪ چربی، ۰/۵-۰/۲٪ نمک، به همراه ترکیبات طعم دهنده مانند نعناع، پونه، اسانس‌های کاکوتی، خیار و غیره می‌باشد.

بطور کلی قابلیت بقای پروبیوتیک‌ها در فرآورده‌های تخمیری به دلیل پائین بودن pH و بالا بودن اسیدیته

در سه دهه گذشته، تلاش بر این بوده تا با مصرف باکتری‌های پروبیوتیک، به ایجاد توازن در ریز فلور میکروبی روده انسان کمک شود. باکتری‌های مذکور با ممانعت از رشد باکتری‌های نامطلوب در روده و در نتیجه کاهش تولید مواد مضر به وسیله باکتری‌های مضر و سرکوب کردن آنها، کاهش کلسترول خون، کاهش حساسیت به لاکتوز، تحریک و تقویت سیستم ایمنی بدن و خواص پاد عفونتی و افزایش ارزش تغذیه‌ای برای انسان اثرات سلامت بخش دارند (سندرز ۱۹۹۸ و رابرفرود ۱۹۹۶).

خواص مفید ذکر شده در صورتی بروز می‌کند که حداقل  $10^7$  باکتری پروبیوتیک در یک گرم یا میلی‌لیتر ماده غذایی وارد روده شود (تارمرج و شاه ۲۰۰۴). از جمله عوامل موثر بر زنده ماندن این باکتری‌ها عبارت از نوع

باکتری در ابتدا با پروتئوکافت کازئین و فراهم آوردن ازت آلی غیرپروتئینی در دسترس، رشد پروبیوتیک‌ها را تشدید می‌کند اما در ادامه تخمیر با رشد سریع، اسیدسازی شدید، کاهش pH و تولید پراکسید هیدروژن و باکتریسین طی تخمیر و دوره نگهداری بر رشد و قابلیت بقای این باکتری‌ها اثر سوء می‌گذارد (هال و همکاران ۱۹۸۴ و کیلوساتافی و ریکا ۱۹۹۷).

در این تحقیق با توجه به اهمیت مصرف پروبیوتیک‌ها و تلاش جهت استفاده از این باکتری‌ها در محصولات سنتی با مصرف سرانه بالا، تاثیر عوامل حرارتی دمای گرمخانه گذاری و انبار مانی و pH نهایی محصول را بر زنده مانی و خواص حسی دوغ پروبیوتیک در تولید طی نگهداری این محصول در مدت ۲۱ روز انبارمانی مورد بررسی قرار گرفت.

#### مواد و روش‌ها

##### باکتری‌های آغازگر بکاررفته

از کشت‌های آغازگر پروبیوتیک لیوفلیزه شده تجارتي ABY-2 تهیه شده از شرکت کریستین هسن (محتوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (LA-5)، بیفیدو باکتریوم لاکتیس (BB12) و باکتری‌های معمول ماست) با نسبت ۱:۲ و رقیق شده در یک لیتر شیر که هر میلی لیتر حاوی  $10^6 \times 1/8$  باکتری بیفیدو باکتریوم لاکتیس بود، استفاده گردید.

##### محیط کشت

از محیط کشت MRS بایل آگار استفاده گردید. محیط کشت MRS آگار از شرکت مرک آلمان تهیه شده و با افزودن ۰/۱۵٪ نمکهای صفاوی خریداری شده از شرکت Sigma-Aldrich, Reyde آمریکا با اثر مانع‌کنندگی بایل بر روی باکتریهای سنتی ماست، محیطی مناسب به منظور شمارش انتخابی<sup>۱</sup> تهیه شد. این محیط توسط ویندرولا و رینهمر در سال ۲۰۰۰ جهت شمارش اختصاصی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ترکیب

نسبتاً اندک است (وارنام و ساترلند ۱۹۹۴ و کیتازاوا و همکاران ۲۰۰۱). اسیدیته بالا و pH پایین فرآورده‌های پروبیوتیک از مهمترین عوامل کاهش قابلیت زیستی این باکتری‌ها می‌باشند به طوریکه قابلیت زیستی در فرآورده‌هایی چون شیر پروبیوتیک شیرین دست کم ۱۰ بار بیشتر از فرآورده‌های تخمیری است (حکمت و مک ماهن ۱۹۹۲ و دیناکار و میستری ۱۹۹۴). انتخاب دمای بهینه گرمخانه‌گذاری با توجه به تفاوت دمای بهینه در باکتری‌های پروبیوتیک بالاخص با باکتری‌های سنتی ماست با توجه به اینکه بر دو شاخص مدت زمان تخمیر و قابلیت زیستی اثر معنی‌داری دارد از اهمیت زیادی برخوردار است (نیفل و همکاران ۱۹۹۳). دمای نگهداری فرآورده‌های پروبیوتیک به طریق مستقیم بر بقای باکتری‌های پروبیوتیک مخصوصاً طی هم کشت کردن با باکتری‌های حامی لاکتیکی و به طور غیر مستقیم از طریق تولید متابولیت‌های پادمیکروبی، تغییرات اسیدیته و پتانسیل احیاء بواسطه ادامه تخمیر طی نگهداری تاثیر بسزایی دارد (شاه ۱۹۹۷ و شاه ۲۰۰۰). هم کشت کردن باکتری‌های پروبیوتیک با باکتری‌های سنتی ماست در مرحله اول به منظور ایجاد ترکیبات مورد نیاز رشد پروبیوتیک‌ها که به شکل قابل دسترس در محیط شیر وجود ندارد یا مقدار آنها اندک است، انجام می‌گیرد. به عبارت دیگر نوعی رابطه زیستی همیاری یک طرفه ایجاد می‌شود به طور مثال گزارش شده است که نژادهایی از بیفیدوباکتریوم که قادر به رشد در شیر نبودند از طریق هم کشت کردن با باکتری‌های حامی، که از قابلیت پروتئین کافتی بالایی برخوردار هستند، توانایی رشد یافتند (نایسونجر و همکاران ۱۹۹۶). با این وجود کشت‌های حامی ممکن است در ابتدا رابطه همیاری زیستی با پروبیوتیک‌ها برقرار کنند. اما به تدریج موجب محدودیت رشد و یا مرگ آنها می‌شود و همیاری زیستی جای خود را به پادیاری زیستی می‌دهد. نمونه بارز چنین رویدادی را می‌توان در رابطه زیستی پروبیوتیک‌ها با باکتری لاکتوباسیلوس بولگاریکوس مشاهده کرد. این

<sup>1</sup> Selective

### آماده سازی دوغ

در ابتدا با استفاده از شیر بازساخته بدون چربی با تنظیم ماده خشک کل ۴٪ و نمک ۰/۵٪ آن را تحت دمای پاستوریزاسیون ۹۵°C در مدت ۱۵ دقیقه قرار داده و نمونه را تا حصول به درجه حرارت اینکوباسیون سرد می‌نماییم. کشت آغازگر به ۱ لیتر شیر استریلیزه در دمای ۵ درجه سانتیگراد اضافه شده و پس از مدت ۴ دقیقه همزدن با استفاده از هم زن مغناطیسی تلقیح با حجم ۴ میلی‌لیتر در لیتر صورت گرفت (۰/۰۴۸٪) و نمونه در سه دمای گرمخانه‌گذاری ۳۷، ۴۰، و ۴۴°C تا حصول به سه سطح pH نهایی ۴/۰، ۴/۴ و ۴/۶ گرمخانه‌گذاری شد.

### بررسی روند افت pH و پتانسیل اکسیداسیون و احیاء

pH و پتانسیل احیاء نمونه‌های دوغ طی تخمیر و دوره نگهداری با استفاده از pH سنج (Mettler, MA 235) و الکتروود پلاتینی متصل به آن اندازه‌گیری شد. روند (سینتیک) افت pH و افزایش پتانسیل اکسیداسیون و احیاء (بر حسب میلی ولت) هر نیم ساعت یکبار طی تخمیر و هر ۷ روز یکبار طی نگهداری یخچالی اندازه‌گیری شد.

### روند افزایش اسیدیته

اسیدیته کل (اسیدیته قابل عیارسنجی) عبارت است از مقدار هیدروکسیدسدیم یک دهم نرمال که بتواند اسیدیته وزن معینی از شیر و فرآورده‌های آن را در حضور فنل‌فتالئین خنثی نماید. اسیدیته کل برحسب اسید لاکتیک در ۱۰۰ گرم نمونه محاسبه گردید. از روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال هر ۳۰ دقیقه یکبار تا پایان تخمیر استفاده شد و اسیدیته براساس درجه درنیک (میلی گرم در ۱۰ میلی لیتر) و بر پایه اسید لاکتیک (اسید غالب در فرآورده‌های تخمیری) گزارش گردید.

### نحوه بررسی آنالیز حسی

تخمیر نمونه‌ها تا سه سطح pH نهایی ۴/۰، ۴/۴ و ۴/۶ متوقف گردید و تا دمای یخچالی به سرعت سرد گردید

کشت‌های ABY در شرایط هوازی مورد استفاده قرار گرفت (اثبات شده است که شمارش ل-اسیدوفیلوس در کشت AY در شرایط هوازی و بی هوازی یکسان است) و در سال ۲۰۰۷ مرتضویان و همکاران با استفاده از روش شمارش تفریقی (SEM<sup>۱</sup>) که براساس کسر کردن تعداد پرگنه‌های تشکیل شده این باکتری و بیفیدوباکتریوم (بی هوازی مطلق و عدم تشکیل پرگنه در شرایط هوازی) در شرایط هوازی از مجموع پرگنه‌های تشکیل شده این باکتری و بیفیدوباکتریوم در شرایط بی هوازی ارائه شده است، موفق به شمارش اختصاصی بیفیدوباکتریوم با این محیط شدند.

### نحوه شمارش باکتریایی

قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها توسط شمارش تفریقی باکتریایی با روش تشکک گذاری<sup>۲</sup> در محیط MRS بایل آگار در دمای ۳۷°C و بمدت ۷۲ ساعت با توجه به عدم اثر پادداری زیستی میان این دو باکتری در محیط کشت یاد شده و امکان شمارش هر دو باکتری در شرایط بی هوازی (مجموع لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس) و قابلیت یکسان پرگنه سازی<sup>۳</sup> لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در هر دو شرایط هوازی و بی هوازی و بی هوازی مطلق بودن بیفیدوباکتریوم لاکتیس، در شرایط هوازی (شمارش لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس) مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور بی‌هوازی کردن محیط از گاز پک تیپ A تهیه شده از شرکت مرک آلمان استفاده به عمل آمد.

محاسبه تعداد پرگنه بیفیدوباکتریوم لاکتیس از تفریق تعداد پرگنه‌های تشکیل شده در کشت در شرایط بی هوازی از کشت در شرایط هوازی بدست آمد. و محاسبه درصد ضریب تغییر نسبی در مدت زمان نگهداری از فرمول زیر محاسبه شد.

درصد ضریب تغییر نسبی = [ ( جمعیت زنده نهایی -

جمعیت زنده اولیه) / جمعیت زنده اولیه ] \* ۱۰۰

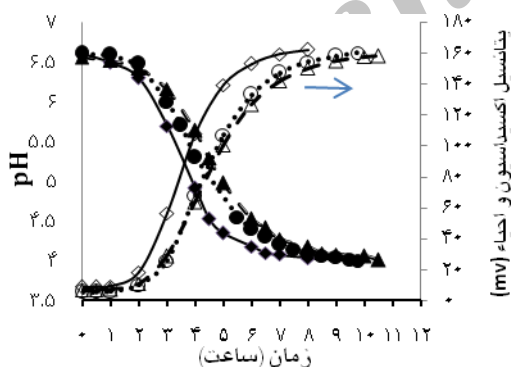
<sup>۱</sup> Subtractive enumeration method

<sup>۲</sup> Plate count agar

<sup>۳</sup> colony forming ability

موثر بر افزایش اسیدیته در محصول دوغ، موجبات تفاوت در زمان گرمخانه گذاری را ایجاد نمود. در زمان نگهداری حتی در دماهای یخچالی فعالیت باکتری‌ها متوقف نشده و تولید متابولیت‌های مانند اسیدهای آلی نیز ادامه یافت و شاهد افزایش اسیدیته در حین نگهداری بودیم. همچنانکه در جدول ۱ نشان داده شده است تفاوت معنی داری در سرعت افت pH و افزایش اسیدیته در دماهای مختلف نگهداری ارزیابی شد. کمترین سرعت تغییرات pH و اسیدیته در دمای نگهداری  $5^{\circ}\text{C}$  و بیشترین سرعت تغییرات در دمای نگهداری  $15^{\circ}\text{C}$  مشاهده شد.

در فرایند تخمیر مقدار پتانسیل اکسیداسیون و احیاء از میزان ۶ میلی ولت تا ۱۶۰ میلی ولت در محصول با pH نهایی ۴ تغییر می‌کند (شکل ۱). همچنین طی نگهداری نمونه‌ها حتی در دماهای یخچالی، افزایش پتانسیل اکسیداسیون و احیاء رخ داده و تفاوت معنی داری در سرعت افزایش پتانسیل اکسیداسیون و احیاء در دماهای نگهداری مشاهده شد (جدول ۱). کمترین سرعت تغییرات در دمای نگهداری  $5^{\circ}\text{C}$  و بیشترین سرعت تغییرات در دمای نگهداری  $15^{\circ}\text{C}$  مشاهده گردید.



شکل ۱- تغییرات pH و پتانسیل اکسیداسیون و احیاء در حین تخمیر در دماهای  $37^{\circ}\text{C}$  و  $40^{\circ}\text{C}$ ،  $44^{\circ}\text{C}$

در کشت همراه باکتری‌های پروبیوتیک با باکتری‌های سنتی ماست مشاهده شد که باکتری لاکتوباسیلوس بولگاریکوس که عامل پس اسیدی‌سازی یا بیش اسیدسازی در ماست می‌باشد در محصول دوغ نیز به

و توسط ۱۰ نفر از افراد آشنا به محصول از لحاظ طعم، بو، بافت، قوام، طعم‌های مشکوک و نامطلوب و قابلیت پذیرش کلی توسط روش هدونیک مورد ارزیابی قرار گرفت. محصول عالی ۷، محصول خیلی خوب ۶، محصول خوب ۵، محصول متوسط (نه خوب نه بد) ۴، محصول ضعیف ۳، محصول بد ۲، محصول خیلی بد ۱، در نظر گرفته شد. این امر در مدت نگهداری یخچالی هر ۷ روز یک بار تکرار شد.

روش ارزیابی آماری تمامی آزمایشات در سه تکرار و اختلاف معنی‌دار میان تیمارها براساس آزمونهای فاکتوریل و دانکن با نرم افزار MSTATC (بر پایه طرح کاملاً تصادفی) انجام شده و جداول توسط نرم افزار Office رسم گردیدند.

## نتایج و بحث

تغییرات اسیدیته، پتانسیل احیاء و pH در زمان تخمیر و نگهداری

نمونه‌های گرمخانه‌گذاری شده در دمای  $44^{\circ}\text{C}$  برای وصول به pHهای ۴-۴/۶ مدت زمان ۸/۲-۴/۳ ساعت بود و در دمای گرمخانه گذاری  $37^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد این زمان به ۱۰/۵-۴/۸۵ ساعت افزایش یافت (شکل ۱). حداکثر تولید متابولیت‌های موثر در کاهش pH و افزایش اسیدیته چون اسید لاکتیک، استیک و ترکیبات دیگر در دمای گرمخانه گذاری  $44^{\circ}\text{C}$  و  $37^{\circ}\text{C}$  به ترتیب در زمان ۲-۴/۵ ساعت و ۳-۶ ساعت رخ می‌دهد. دماهای گرمخانه‌گذاری در فرآورده‌های تخمیری بر شاخص مدت زمان تخمیر تاثیر می‌گذارد. استفاده از دمای گرمخانه‌گذاری  $44^{\circ}\text{C}$  که دمای بهینه رشد باکتری‌های سنتی ماست نسبت به دماهای گرمخانه‌گذاری  $40^{\circ}\text{C}$  (دمای بهینه رشد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس) و  $37^{\circ}\text{C}$  (دمای بهینه رشد بیفیدوباکتریوم لاکتیس) باعث تحریک رشد این باکتری‌ها نسبت به پروبیوتیک‌ها شد و با توجه به بالاتر بودن سرعت متابولیسم و تولید متابولیت‌های

همان صورت عمل می‌کنند به طوریکه بر خلاف استریپتوکوکوس ترموفیلوس که در pH کمتر از ۴/۵ فعالیتش متوقف می‌شود حتی تا pH پائین‌تر از این مقدار (۳-۳/۵) می‌تواند تولید اسید را ادامه دهد (مرتضویان و سهراب وندی ۲۰۰۴). در دوغ نیز این باکتری حتی قادر به کاهش pH به کمتر از ۲/۸ می‌باشد. اسیدهای آلی، پراکسید هیدروژن تولید شده در حین تخمیر و نگهداری همچنین بر پتانسیل اکسیداسیون و احیاء اثر گذاشته و باعث افزایش شاخص یاد شده می‌شوند (دیو و شاه ۱۹۹۸).

بطور کلی می‌توان گفت در زمان تخمیر و نگهداری روند کاهش اسیدیته در محصول حتی تا  $pH < 3/5$  ادامه خواهد یافت و لاکتوباسیلوس بولگاریکوس قادر به بیش اسیدسازی در محصول دوغ نیز همچون ماست می‌باشد. هر چه دمای نگهداری بیشتر باشد سرعت کاهش pH، افزایش پتانسیل اکسیداسیون و احیاء و افزایش اسیدیته به دلیل افزایش فعالیت پروتئولیتیکی و  $\beta$ -گالاکتوزیدازی لاکتوباسیلوس بولگاریکوس افزایش می‌یابد.

جدول ۱- تغییرات pH و اسیدیته قابل تیتراژ در زمان نگهداری در مدت ۲۱ روز

تیمارها	دمای انبارمانی	pH ابتدائی و انتهای	اسیدیته ابتدائی و انتهای**	سرعت افت pH (واحد/روز)	سرعت افزایش اسیدیته (درجه درنیک /روز)	سرعت افزایش پتانسیل احیاء (میلی ولت/روز)
نمونه با pH نهایی ۴/۴ (B)	۵°C	۴/۴ - ۴/۰۷	۳۶ - ۴۹/۵	۰/۰۱۵۷۱ <sup>C</sup>	۰/۶۴۲۸ <sup>C</sup>	۱/۶ <sup>C</sup>
	۱۰°C	۴/۴ - ۳/۹۳	۳۶ - ۵۶	۰/۰۲۲ <sup>B</sup>	۰/۹۵ <sup>B</sup>	۱/۹۵ <sup>B</sup>
	۱۵°C	۴/۴ - ۳/۸	۳۶ - ۶۳	۰/۰۲۸۵ <sup>A</sup>	۱/۲۸۵ <sup>A</sup>	۲/۲۲۸ <sup>A</sup>
نمونه با pH نهایی ۴/۶ (A)	۵°C	۴/۶ - ۴/۱۲۵	۳۱ - ۴۵/۵	۲/۰۲۲ <sup>C</sup>	۰/۷ <sup>C</sup>	
	۱۰°C	۴/۶ - ۴/۰۱	۳۱ - ۵۱	۰/۰۲۸ <sup>B</sup>	۰/۹۸ <sup>B</sup>	۲/۱ <sup>B</sup>
	۱۵°C	۴/۶ - ۳/۹	۳۱ - ۵۸	۰/۰۳۳ <sup>A</sup>	۱/۳ <sup>A</sup>	۲/۳۵ <sup>A</sup>

\*معنی داری در سطح ۵٪ و مقایسه‌ها برای هر نمونه بطور جداگانه با حروف بزرگ لاتین و ستونی می‌باشد.

\*\*منظور از انتهای روز ۲۱ نگهداری می‌باشد.

زنده‌مانی باکتری‌های بیفیدوباکتریوم لاکتیس نشان داد. تحقیقات گذشته نشان داده است به دلیل حساسیت بالای این باکتری‌ها نسبت به لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس باعث شده تا مرگ و میر آنها از  $pH < 5$  آغاز گردد (گومزو مالکاتا ۱۹۹۹، ویندرولا و وین هیمر ۲۰۰۰ و اسکورباتی و همکاران ۱۹۹۵). کاهش pH در محدوده قابل قبول و استاندارد دوغ ( $pH < 4/6$ ) باعث مرگ و میر و کاهش زنده‌مانی بیفیدوباکتریوم گردید.

دمای گرمخانه‌گذاری اثر معنی‌داری در سطح ( $p < 0/05$ ) بر زنده‌مانی هر دو باکتری پروبیوتیک دارد. بیشترین و کمترین میزان زنده‌مانی به ترتیب در دمای ۳۷ و ۴۴°C می‌باشد. دماهای بالاتر از ۳۷°C باعث افزایش روابط پایداری بین باکتری‌های سنتی ماست بالاخص

بررسی اثر منفرد دمای گرمخانه‌گذاری و pH نهایی بر

زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک

تاثیر منفرد دمای گرمخانه‌گذاری و pH نهایی بر زنده‌مانی باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس در جدول ۲ نشان داده شده است. اثر معنی‌داری در سطح ( $p < 0/05$ ) در خصوص تاثیر pH بر زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در نمونه‌های تخمیر شده مشاهده نشد. دلیل این موضوع می‌تواند گونه نژادی این باکتری باشد. این نتیجه مطابق است با تحقیقات گذشته که توقف رشد اسیدوفیلوس‌ها را در  $pH = 4$  و اسیدیته بیشتر از ۰/۶٪ (۶۰ درجه درنیک) دانسته‌اند (شاه ۱۹۹۷ و شاه ۲۰۰۰). در حالی که pH نهایی در سطح ( $p < 0/05$ ) اثر معنی‌داری را بر

گرمخانه‌گذاری به دمای بهینه جهت رشد باکتری‌های سنتی ماست نزدیک‌تر باشد، سرعت کاهش pH به زیر حد بهینه رشد باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس یعنی ۵/۵-۶ افزایش می‌یابد (گومز و مالکاتا ۱۹۹۹) و ضمن غالب آمدن این باکتری‌ها بر پروبیوتیک‌ها باعث نزول pH به محدوده خارج از توان تحمل باکتری‌های پروبیوتیک بالاخص بیفیدوباکتریوم ( $pH < 5$ ) می‌گردد (گومز و مالکاتا ۱۹۹۹ و دیو و شاه ۱۹۹۷).

در محصول دوغ پروبیوتیک با استفاده از کشت، مخلوط دمای بهینه رشد پروبیوتیک‌ها  $37^{\circ}C$  می‌باشد. در این دما تاثیر روابط همزیستی در بیشترین حد خود نسبت به روابط پادیراری می‌باشد و در نتیجه زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در این دما در بیشترین مقدار مشاهده می‌شود.

لاکتوباسیلوس دلبروکی گونه بولگاریکوس و باکتری‌های پروبیوتیک می‌گردد. زیرا هر چه به دماهای بهینه رشد باکتری‌های سنتی ماست نزدیک‌تر می‌شویم بر شدت روابط آنتی‌گونیستی، به دلیل افزایش رشد باکتری‌های سنتی ماست و غالب آمدن آنها در محیط، افزوده می‌شود (وارنام و سوترلند ۱۹۹۴). غالب آمدن باکتری‌های سنتی ماست باعث افزایش سرعت تغییرات اسیدیته و تولید پراکسید هیدروژن و باکتریوسین‌ها در محیط می‌گردد (تمیم ۲۰۰۲، شاه ۲۰۰۰، ریکا ۱۹۹۴ و گیلند و اسپک ۱۹۷۷). در محصولات پروبیوتیک حاصل از کشت‌های همراه نوع ABY کاهش میزان باکتری‌های پروبیوتیک، به طور مثال لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، بر اثر تولید پراکسید هیدروژن توسط لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس گزارش شده است (شاه و همکاران ۱۹۹۵ و دیو و شاه ۱۹۹۷) و هر چه شرایط

جدول ۲- بررسی اثر منفرد دمای گرمخانه گذاری، pH نهایی بر زنده‌مانی باکتریهای پروبیوتیک (log cfu/mL)

نوع باکتریهای پروبیوتیک	دمای گرمخانه گذاری $^{\circ}C$			pH نهایی	
	$44^{\circ}C$	$40^{\circ}C$	$37^{\circ}C$	۴	۴/۴
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	۶/۴۶ <sup>c</sup>	۷/۱۲ <sup>b</sup>	۷/۲۵ <sup>a</sup>	۶/۸۳ <sup>a</sup>	۶/۸۴ <sup>a</sup>
بیفیدوباکتریوم لاکتیس	۷/۰۰۵ <sup>c</sup>	۷/۲۷ <sup>b</sup>	۷/۵۴ <sup>a</sup>	۷/۱۱ <sup>c</sup>	۷/۴۶ <sup>b</sup>
مجموع پروبیوتیکها	۷/۱۶ <sup>c</sup>	۷/۴۵ <sup>b</sup>	۷/۷۵ <sup>a</sup>	۷/۳۴ <sup>b</sup>	۷/۵۸ <sup>a</sup>

\*معنی داری در سطح ۵٪ و مقایسه ها بطور ردیفی و تفاوتها با حروف کوچک لاتین نمایش داده شده است

تحقیق کاهش نشان داد و استفاده از دمای گرمخانه گذاری  $37^{\circ}C$  درجه سانتیگراد که دمای بهینه رشد این باکتری می‌باشد بیشترین زنده‌مانی را نتیجه داد (نمودار ۳). اثر متقابل دمای گرمخانه‌گذاری و pH نهایی بر زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس معنی‌دار بوده است.

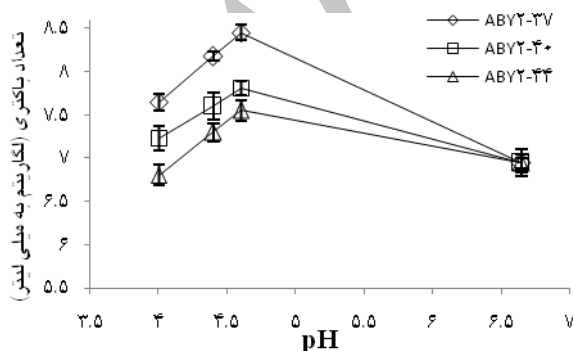
با توجه به اینکه اسیدهای آلی حاصل از متابولیسم باکتریها در محدوده آزمایش اثر کشندگی بر لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بواسطه مقاومت این باکتری تا  $pH > 4$  نشان ندادند اما شیب تغییرات این باکتری در دماهای گرمخانه گذاری  $37^{\circ}C$  درجه سانتیگراد ۶ برابر

اثر مشترک دمای گرمخانه‌گذاری و pH نهایی بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک

در نمودار ۳ و ۲ تغییرات زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس نشان داده شده است. دمای گرمخانه‌گذاری  $37^{\circ}C$  در مقایسه با دو دمای دیگر زنده‌مانی بیشتر هر دو باکتری را نتیجه داده است. زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در محدوده pH آزمایش، با کاهش pH، افزایش یافت و بیشترین کمترین رشد به ترتیب در دمای گرمخانه‌گذاری  $37^{\circ}C$  و  $44^{\circ}C$  مشاهده شد (نمودار ۲). زنده‌مانی بیفیدوباکتریوم لاکتیس در محدوده تغییرات pH در این

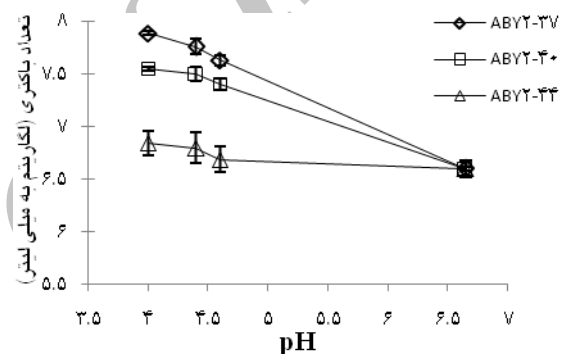
بیشترین زنده‌مانی مجموع باکتری‌های پروبیوتیک در نمونه گرمخانه‌گذاری شده در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  و با pH نهایی  $4/4$  و  $4/6$  مشاهده شد. در تحقیقات گذشته نیز نشان داده شده است که دمای پائین‌تر گرمخانه‌گذاری باعث شده تا بیشتر مواد مغذی در دسترس و استفاده باکتری‌های پروبیوتیک قرار گیرد و از غالب شدن باکتری‌های سنتی ماست ممانعت به عمل آمده است (هیوز و هور ۱۹۹۵). مرتضویان و همکاران در سال ۲۰۰۶ در استفاده از کشتهای ABY در تولید ماست پروبیوتیک گزارش نموده اند که دمای تخمیر  $37^{\circ}\text{C}$  در مقایسه با ۴۰، ۴۴-۴۵ درجه سانتیگراد بیشترین قابلیت زیستی و دمای تخمیر  $45^{\circ}\text{C}$  کمترین قابلیت زیستی را نتیجه داده است.

علیرغم حساسیت کم لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به  $\text{pH} >$  و رشد این باکتری حتی تا  $\text{pH} = 4/0 \pm 0/05$ ، مرگ و میر بیفیدوباکتریوم لاکتیس از  $\text{pH} = 5$  شروع شده و در پی کاهش pH ادامه می یابد. بطوریکه تفاوت معنی‌داری در زنده‌مانی مجموع باکتری‌های پروبیوتیک بین نمونه‌های گرمخانه‌گذاری شده در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  با pH نهایی  $4/4$  و  $4/6$  ایجاد نگردیده و این دو نمونه بیشترین زنده‌مانی مجموع باکتری‌های پروبیوتیک را دارا بودند.



شکل ۳- تغییرات زنده مانى ب-لاکتیس نسبت به تغییرات pH در حین تخمیر

شیب تغییرات رشد این باکتری در دمای گرمخانه‌گذاری  $44^{\circ}\text{C}$  بود. در دمای گرمخانه‌گذاری  $44^{\circ}\text{C}$  رشد باکتری‌های سنتی ماست تحریک شده و با افزایش جمعیت این باکتریها بالاخص لاکتوباسیلوس بولگاریکوس که با تولید بیشتر پراکسید هیدروژن که از مهمترین متابولیت‌های بازدارنده رشد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس می باشد (تمیم و رابینسون ۱۹۹۹)، علاوه بر اینکه بر زنده مانى نهایی این باکتری تاثیر گذاشت، باعث شد تا شیب تغییرات زنده مانى نیز در دماهای گرمخانه‌گذاری متفاوت، تغییر کند.



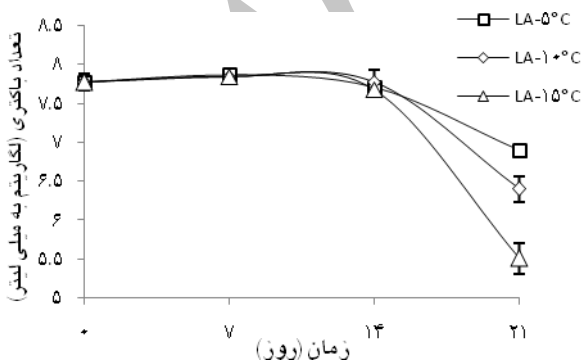
شکل ۲- تغییرات زنده مانى ل-اسیدوفیلوس نسبت به تغییرات pH در حین تخمیر

شیب کاهش لگاریتمی جمعیت بیفیدوباکتریوم لاکتیس در حین تخمیر ثابت بوده و تغییر معنی داری در اثر کشندگی اسیدهای آلی بر این باکتری مشاهده نشد (شکل ۳). تجادا و همکاران در سال ۱۹۹۹ نیز چنین مشاهداتی را گزارش نموده اند. دیو و شاه (۱۹۹۷) در بررسی زنده مانى لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس در ماست تهیه شده از کشتهای تجاری ABY بیان نمودند که اسیدهای آلی، تغییرات اسیدیته و پراکسید هیدروژن عامل اصلی کاهش زنده‌مانى در بیفیدوباکتریومها نمی باشد، بلکه محدودیت دسترسی به مواد مغذی در محیط با افزایش جمعیت باکتری‌های سنتی و اثرات آنتاگونیستی عامل اصلی کاهش زنده مانى این باکتری می باشد.



نمونه A و B از بین رفته بودند. که این مقدار در دماهای نگهداری بالاتر ( $10-15^{\circ}\text{C}$ ) به ۹۸-۹۵٪ افزایش یافت. این موضوع را این گونه می‌توان توضیح داد که تاثیرات آنتاگونیستی لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس بر لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و دیگر پروبیوتیک‌ها در دماهای بالاتر نگهداری با افزایش سرعت رشد و افزایش تولید اسید لاکتیک و پراکسید هیدروژن و افزایش پتانسیل اکسیداسیون و احیاء افزایش می‌یابد (جدول ۱). از این رو به طور کلی با توجه به اینکه در دماهای بالاتر نگهداری، به دلیل سرکش شدن لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و غالب شدن تدریجی این باکتری در محیط و ایجاد پدیده بیش اسید سازی موجبات از دست رفتن لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در هفته‌های دوم نگهداری به بعد باعث ایجاد اختلاف معنی‌داری در زنده‌مانی این باکتری در دماهای نگهداری مختلف شده است.

بیشترین زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در دمای  $5^{\circ}\text{C}$  در هر دو نمونه A و B طی ۲۱ روز نگهداری مشاهده شد که در این شرایط نگهداری، pH در بالاترین حد خود قرار داشته و دمای نگهداری  $5^{\circ}\text{C}$  بیشترین مقدار زنده‌مانی این باکتری نسبت به دماهای دیگر نگهداری ( $10^{\circ}\text{C}$  و  $15^{\circ}\text{C}$ ) را ایجاد نمود.



شکل ۴- تغییرات زنده‌مانی ل-اسیدوفیلوس در نمونه B در مدت ۲۱ روز انبارمانی

## تأثیر دمای انبارمانی بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک

پس از مشخص شدن بهترین نمونه‌ها از نظر زنده‌مانی، دو نمونه که در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  با دو pH نهایی ۴/۶ (نمونه A) و ۴/۴ (نمونه B) تولید شده بودند. در سه دمای ۵،  $10^{\circ}\text{C}$  و  $15^{\circ}\text{C}$  وارد مرحله انبارمانی به مدت ۲۱ روز شدند.

### بررسی زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس

روند تغییرات زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در مدت ۲۱ روز در فواصل زمانی هفت روزه، در سه دمای نگهداری مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۴). در هفته اول نگهداری اختلاف معنی‌داری در زنده‌مانی باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در سه دمای نگهداری مشاهده نشد. این موضوع به دلیل مقاومت این باکتری به  $\text{pH} > 4$  است و در همه تیمارها در هفته اول نگهداری pH بالای ۴ بوده است. به دلیل مقاومت باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به شرایط اسیدی تا محدوده  $\text{pH} = 4/05 \pm 0/05$  نه تنها مرگ و میر در این باکتری بوقوع نمی‌پیوندد، بلکه در کلیه دماها رشد این باکتری‌ها مشاهده شد (شکل ۴). این نتیجه مطابق است با تحقیقات گذشته که توقف رشد اسیدوفیلوس‌ها را در pH برابر ۴ و اسیدیته بیشتر از ۰/۶٪ (۶۰ درجه درنیک) دانسته‌اند (شاه ۱۹۹۷ و ۲۰۰۰). اما در دوغ به دلیل رقیق شدن محیط نسبت به ماست و کاهش ظرفیت بافری محیط، توقف رشد یا آغاز مرگ و میر لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در اسیدیته کمتری (۵/۵-۴/۸) مشاهده گردید. پس از بیست و یک روز نگهداری در دمای  $5^{\circ}\text{C}$ ، زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در مقایسه با دمای نگهداری  $10^{\circ}\text{C}$  و  $15^{\circ}\text{C}$  اختلاف معنی‌داری را نشان داد. همچنین درصد ضریب تغییر نسبی زنده‌مانی باکتری‌ها در هفته دوم نگهداری به تدریج کاهش یافته و بیشترین کاهش در درصد ضریب تغییر نسبی زنده‌مانی در هفته سوم نگهداری اتفاق افتاد. بطوریکه در پایان ۲۱ روز نگهداری نمونه‌ها در دمای  $5^{\circ}\text{C}$  به ترتیب ۵۹٪ و ۸۶٪ از باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس موجود در

### بررسی زنده‌مانی بیفیدوباکتریوم لاکتیس در انبارمانی

شکل ۵ میزان تغییرات در زنده‌مانی باکتری بیفیدوباکتریوم لاکتیس در طول ۲۱ روز نگهداری در نمونه B در سه دمای ۵، ۱۰ و ۱۵°C را نشان می‌دهد. در مدت ۲۱ روز نگهداری اختلاف معنی‌داری بین دماهای ۵ و ۱۰°C در زنده‌مانی بیفیدوباکتریوم لاکتیس مشاهده نشد. مشخص شده است که بهترین دمای نگهداری برای بیفیدوباکتریوم‌ها ۸°C بوده و دمای کمتر از ۲°C مقاومت این باکتری‌ها را کاهش می‌دهد (کایلاساتی و ربیکا ۱۹۹۷، گومز و مالکاتا ۱۹۹۹ و هیوز و هور ۱۹۹۵). با توجه به این‌که دمای بهینه نگهداری یخچالی این باکتری دمای ۸°C است و در این دما حداقل روابط پایداری<sup>۱</sup> مابین لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس وجود دارد. دماهای یاد شده در محدوده شرایط بهینه نگهداری این باکتری قرار دارند. این در حالی است که در کلیه سیکل‌های زمانی نگهداری نمونه‌ها، اختلاف معنی‌داری بین دمای نگهداری ۵ و ۱۰ با ۱۵°C مشاهده شد و در دمای نگهداری ۱۵°C به واسطه شرایط سخت‌تر محیطی و غلبه باکتری‌های سنتی ماست و عدم دسترسی کافی

این باکتریها به منابع انرژی و رشد، زنده‌مانی کمتر این باکتری مشاهده شد.

بیشترین میزان مرگ و میر این باکتری در هفته اول نگهداری مشاهده شد (جدول ۳). این امر نه تنها به واسطه حساسیت این باکتری نسبت به pH های پائین تر بلکه بدلیل کاهش روابط همیاری باکتریهای سنتی ماست جهت تامین نیازهای انرژی و رشد بیفیدوباکتریوم لاکتیس می‌باشد و میزان مرگ و میر در هفته‌های دوم و سوم نگهداری به تدریج کاهش می‌یابد. این پدیده به علت سازگار شدن تدریجی این باکتری به شرایط و فاکتورهای محیطی سخت می‌باشد. در نتیجه بیشترین زنده‌مانی در دمای ۵°C پس از ۲۱ روز مشاهده شد.

دمای نگهداری در فراورده‌های پروبیوتیک به طور مستقیم از طریق اثرگذاری بر قابلیت بقای سلول‌ها و به طور غیر مستقیم از طریق تغییرات سرعت تولید متابولیت‌های ضد میکروبی به خصوص در کشت‌های پروبیوتیک همراه با باکتری‌های سنتی ماست بر بقای پروبیوتیک‌ها تاثیر گذاشته و دماهای بالای نگهداری می‌تواند به دلیل سرکش شدن لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و ایجاد پدیده بیش اسیدسازی به مرور زمان موجبات از دست رفتن سلول‌های پروبیوتیک را

جدول ۳- درصد ضریب تغییر نسبی زنده‌مانی باکتریهای پروبیوتیک در مدت ۲۱ روز نگهداری

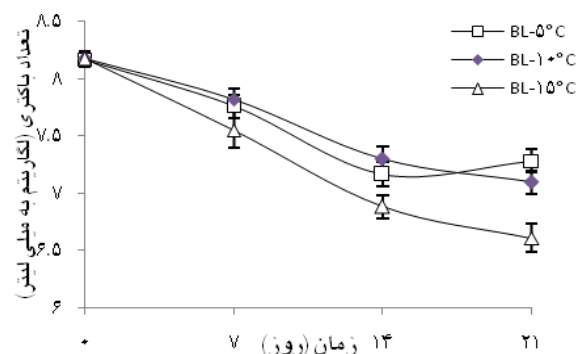
نوع باکتری پروبیوتیک	دمای نگهداری یخچالی (°C)	ضریب تغییر نسبی رشد باکتریها در دوره زمانی نگهداری (هفته)		pH نمونه
		۷ - ۱۴	۱۴ - ۲۱	
ل-اسیدوفیلوس	۵	۴۱/۲۵	-۵۹/۲۶	(A) ۴/۶
	۱۰	۳۱/۸۲	-۹۷/۳	
	۱۵	۳۴/۸۹	-۹۷/۴۲	
	۵	-۶۸/۳۷	-۹۲/۹۲	
	۱۰	-۶۰/۱۸	-۹۳/۶۹	
	۱۵	-۸۰/۰۴	-۹۷/۱۸	
ل-اسیدوفیلوس	۵	۲۸/۸۲	-۸۶/۵۱	(B) ۴/۴
	۱۰	۲۰/۲۲	-۹۵/۷۳	
	۱۵	۱۲/۲۰	-۹۸/۶۵	
	۵	-۶۲/۸۴	-۹۳/۰	
	۱۰	-۶۴/۵۱	-۹۲/۹۲	
	۱۵	-۷۹/۵۸	-۹۷/۷۶	

\*- ضریب تغییر نسبی نشان دهنده درصد افزایش یا کاهش تعداد باکتریها نسبت به مقدار اولیه در نمونه می باشد. SID.ir

\*\* - اعداد منفی نشان دهنده درصد کاهش زنده‌مانی باکتریها می باشد.

فراهم آورد.

لاکتیک هستند و استالدئید تولیدی را توسط آنزیم الکل دهیدروژناز به اتانول احیاء می‌کنند (رابرفورد ۱۹۹۶). کلیه واکنش‌هایی که منجر به تولید مواد موثر بر طعم و بو و تجزیه آنها توسط پروبیوتیک‌ها می‌گردند، پیچیدگی خاصی را ایجاد می‌کنند که انجام آزمون‌های حسی را جهت انتخاب محصول مناسب از نظر خواص حسی امری ضروری می‌نماید. به منظور بررسی خواص کیفی، نمونه با دمای گرمخانه‌گذاری  $37^{\circ}\text{C}$  و pH نهایی  $4/4$  و  $4/6$  در سه دمای نگهداری  $5^{\circ}\text{C}$ ،  $10^{\circ}\text{C}$  و  $15^{\circ}\text{C}$  وارد مرحله انبارمانی شده و از لحاظ طعم (ترشی)، رایحه، احساس دهانی، طعم‌های مشکوک و نامطلوب (به علت تولید اسید استیک در محصولات پروبیوتیک) و قابلیت پذیرش کلی در مدت ۲۱ روز مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین پذیرش کلی مربوط به تیمارهایی است که در دمای  $15^{\circ}\text{C}$  نگهداری و کمترین پذیرش کلی مربوط به نمونه‌هایی است که در دمای  $5^{\circ}\text{C}$  نگهداری شدند (جدول ۴). عامل اساسی و موثرترین عامل اختلاف در سطح ( $p < 0/05$ ) در خصوصیات حسی در دمای نگهداری  $5^{\circ}\text{C}$  به واسطه کاهش روند رشد باکتری‌های سنتی ماست و کاهش تولید دی استیل‌ها و کم بودن مواد طعم دار، رایحه و طعم از دیگر نمونه‌ها که در دمای  $15^{\circ}\text{C}$  نگهداری شده‌اند، می‌باشد اما همان‌گونه که مشاهده می‌شود، طعم نمونه‌های با زنده‌مانی بالای باکتری‌های پروبیوتیک در حد متوسط به بالا ارزیابی شده و با توجه به قابلیت فراسودمند بودن این فراورده می‌تواند مورد مصرف قرار گیرد.



شکل ۵- تغییرات زنده‌مانی ب- لاکتیس در نمونه B در مدت ۲۱ روز انبارمانی

بطور قاعده ای کلی در ماست و دوغ تهیه شده از کشت آغازگر ABY دمای  $5-4^{\circ}\text{C}$  بهترین نتیجه را از نقطه نظر قابلیت زیستی هر دو نوع باکتری پروبیوتیک نتیجه می‌دهد.

#### بررسی خواص حسی

اگر چه ارزش اساسی فرآورده‌های پروبیوتیک خاصیت دارویی (قابلیت زیستی) آنها است، خواص حسی این فرآورده‌ها نیز جایگاه پراهمیتی دارند، به عبارت دیگر، امتیاز مصرف پروبیوتیک‌ها از طریق مواد غذایی و نه به صورت دارو، برخورداری از خواص حسی آنهاست و در میان فرآورده‌های پروبیوتیک، فرآورده‌های تخمیری و به ویژه ماست پروبیوتیک به دلیل خواص حسی کم نظیر از مقبولیت جهانی برخوردار است. بررسی خواص حسی محصولات پروبیوتیک یکی از مهم‌ترین مسایل مورد بررسی است تا یک محصول با در نظر گرفتن بالاترین قابلیت زیستی و خواص حسی مطلوب انتخاب و در اختیار مصرف کنندگان قرار گیرد.

مهمترین عوامل موثر در طعم محصولات لبنی مقادیر استالدئید و دی استیل می‌باشند که در اثر تخمیر در محصولات لبنی ایجاد و بعضی از باکتری‌های سیترات منفی مثل لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس قادر به تجزیه دی استیل به استوئین می‌باشند. باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بیشتر از بیفیدوباکترها قادر به تولید اسید

جدول ۴- بررسی خواص حسی دوغ در ۲۱ روز نگهداری

پذیرش کلی	طعم نامطلوب	رایحه	طعم	احساس دهانی	زمان	دمای انبارمانی
ε <sup>bc</sup>	۱/۲ <sup>a</sup>	۳/۲ <sup>c</sup>	ε <sup>bc</sup>	ε/۶ <sup>ab</sup>	۰	
ε/۱ <sup>c</sup>	۱/۲ <sup>a</sup>	۳/۳ <sup>c</sup>	ε/۲ <sup>b</sup>	ε/۷ <sup>ab</sup>	۷	
ε/۳ <sup>c</sup>	۱/۵ <sup>a</sup>	۳/۵ <sup>c</sup>	ε/۲ <sup>ob</sup>	ε/۵ <sup>ab</sup>	۱۴	۵° C
ε/۸ <sup>c</sup>	۱/۴ <sup>a</sup>	۳/۴ <sup>c</sup>	ε/۴ <sup>b</sup>	ε/۹ <sup>a</sup>	۲۱	
ε/۲ <sup>c</sup>	۱/۱ <sup>a</sup>	ε <sup>b</sup>	ε <sup>b</sup>	ε <sup>a</sup>	۷	
ε/۳ <sup>c</sup>	۱/۳ <sup>a</sup>	ε/۳ <sup>b</sup>	ε/۲ <sup>b</sup>	ε/۲ <sup>a</sup>	۱۴	۱۰° C
ε/۵ <sup>c</sup>	۱/۳ <sup>a</sup>	ε/۱ <sup>b</sup>	۳ <sup>c</sup>	ε <sup>a</sup>	۲۱	
ε/۵ <sup>b</sup>	۱ <sup>a</sup>	ε/۲ <sup>b</sup>	ε/۶ <sup>ab</sup>	ε/۱ <sup>a</sup>	۷	
ε/۸ <sup>ab</sup>	۱/۲ <sup>a</sup>	ε/۷ <sup>a</sup>	ε/۹ <sup>a</sup>	ε/۹ <sup>a</sup>	۱۴	۱۵° C
ε/۳ <sup>a</sup>	۱/۱ <sup>a</sup>	ε/۶ <sup>a</sup>	ε/۱ <sup>a</sup>	ε/۲ <sup>a</sup>	۲۱	

نمونه (B)

معنی داری در سطح ۰.۵٪ و مقایسه ها بصورت ستونی می باشد

## نتیجه‌گیری

بالای باکتریهای پروبیوتیک بصورت بیشتر از حد متوسط ارزیابی شدند که نشان از مقبولیت نسبی این محصول از سوی ارزیابی کنندگان است و با توجه به اینکه زنده مانی در نمونه های نگهداری شده در دمای ۵ و ۱۰ درجه سانتیگراد پس از ۲۱ روز نگهداری در سطح قابل قبولی بود. می توان با رعایت شرایط بهینه تولید و تولید محصول با بالاترین pH قابل قبول و تعریف شده برای این فرآورده (ε/۶) و رعایت زنجیره سرد در توزیع با تولید دوغ که مصرف سرانه بالایی دارد در ارتقاء سلامت جامعه گام برداشت.

## تشکر و قدردانی

با تشکر و قدردانی از آزمایشگاه مهندسی فرآیندهای بیوتکنولوژی گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشگاه تهران و شرکت زمزم ایران که هزینه و امکانات انجام این پژوهش را تامین نمودند.

نتیجه این پژوهش نشان داد که نمونه‌هایی که شرایط گرمخانه‌گذاری با دمای ۳۷° C بر آنها اعمال شده و تخمیر در pH نهایی ε/ε و ε/۶ متوقف گردید، بیشترین زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک را در استفاده از کشت آغازگر ABY حاصل نمود. دمای گرمخانه‌گذاری و pH نهایی، علیرغم اینکه زنده‌مانی لاکتوباسیلوس /اسیدوفیلوس در pH > ۴ مستقل از فاکتور pH می‌باشد، اثر مشترکی بر زنده‌مانی مجموع باکتریهای پروبیوتیک داشت. نگهداری در دمای ۵° C بیشترین زنده‌مانی را برای هر دو باکتری لاکتوباسیلوس /اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس پس از ۲۱ روز انبارمانی حاصل نمود. علیرغم اینکه بهترین خصوصیات حسی برای نمونه نگهداری شده در ۱۵° C با کمترین pH و بیشترین رشد باکتریهای سنتی ماست حاصل شد. اما نمونه مذکور دارای کمترین زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک می باشد و خصوصیات حسی نمونه‌های با زنده‌مانی

## منابع مورد استفاده

مرتضویان ا.م و سهرابوندی س، ۱۳۸۳. مروری بر خواص حسی ماست. انتشارات ا.تا.

Akin N and Rice P, 1994. Main yoghurt and related products in Turkey. Cultured Dairy Products Journal 29 (3): 23-29.

- Dave R I and Shah N P, 1997. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. *Int Dairy Journal* 7: 31-34.
- Dave R I and Shah N P, 1998. Ingredient Supplementation Effects on Viability of Probiotic Bacteria in Yoghurt. *Journal of Dairy Science* 81: 2804-2816.
- Dinakar P and Mistry V V, 1994. Growth and viability of *Bifidobacterium bifidum* in cheddar cheese. *Journal of Dairy Science* 77: 2854-2864.
- Gilliland SE and Speck M L, 1977. Instability of *Lacidophilus* in yoghurt. *Journal of Dairy Science*, 60:1394-1398
- Gomes A M P and Malcata F X, 1999. *Bifido bacterium spp* and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trend in Food Science and Technology*10: 139 –157.
- Hekmat S and McMahn D J, 1992. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in ice cream for use as a probiotic food. *Journal of Dairy Science* 75: 1415-1422.
- Hughes D B and Hoover D G, 1995. Viability and enzymatic activity of bifidobacteria in milk. *Journal of dairy science* 78: 268-276.
- Hull R R, Roberts A V and Mayes J J, 1984. Survival of *Lactobacillus acidophilus* in yogurt. *The Australian Journal of Dairy Technology* 39 (4): 164-166.
- Kailasapathy K, Rybka S, 1997. *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium spp.* - Their therapeutic potential and survival in yogurt. *Australian Journal of Dairy Technology* 52: 28-33.
- Kiani H, Mousavi M E, Razavi H and Morris E R, 2010. Effect of gellan, alone and in combination with high-methoxy pectin, on the structure and stability of doogh, a yogurt-based Iranian drink. *Food Hydrocolloids* 24: 744-754.
- Kitazawa Y, Ueha S, Itoh S, Watanabe H, Konno K, Kawai Y, Saito T, Itoh T and Yamagouchi T, 2001. At oligonucleotides inducing B lymphocyte activation exist in probiotic *Lactobacillus gasseri*. *International Journal of Food Microbiology* 65: 149-162.
- Kneifel W, Jaros D and Erhard F, 1993. Microflora and acidification properties of yoghurt and yoghurt-related products fermented with commercially available starter cultures. *International Journal of Food Microbiology* 18: 179–189.
- Mortazavian A M, Ehrani M R, Mousavi S M, Reinheimer J A, Emamdjomeh Z, Sohrabvandi S and Rezaei K, 2006. Preliminary investigation of the combined effect of heat treatment and incubation temperature on the viability of the probiotic micro-organisms in freshly made yogurt. *International journal of dairy technology* 59: 8.
- Mortazavian A M, Sohrabvandi S and Reinheimer J A, 2007. MRS-bile agar: Its suitability for the enumeration of mixed Probiotic cultures in cultured dairy products. *Milchwissenschaft* 62: 270-272.
- Nighswonger B D, Brashears M M, Gilliland S E, 1996. Viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in fermented milk products during refrigerated storage. *Journal of Dairy Science* 79 (2): 212-219.
- Roberfrod M B, 1996. Functional effects of food components and the gastrointestinal system: chicory fructooligosaccharides. *Nutrition Reviews* 54: 538-542.
- Rybka S, 1994. The enumeration of *Lactobacillus*, *Streptococcus* and *Bifidobacterium* species in yogurt. B.Sc. dissertation, University of New South Wales, Sydney.
- Sanders M E, 1998. Overview of functional foods- emphasis on probiotic bacteria. *International Dairy Journal*8: 341-349.
- Sgorbati B, Biavati B and Palenzona D, 1995. The genus *Bifidobacterium*. Blackie Academic, London.
- Shah N P, Lankaputhra W E V, Britz M L and Kyle W S A, 1995. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *B. bifidum* in commercial yoghurt during refrigerated storage. *Int. Dairy Journal* 5: 515-521.
- Shah N P, 1997. *Bifidobacteria*: Characteristics and potential for application in fermented milk products. *Milchwissenschaft* 52: 16-21.

- Shah N P, 2000. Symposium: probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Science* 83: 894-907.
- Tamime A Y, 2002. Fermented milks: a historical food with modern applications-a review. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56, Suppl 4, S2-S15.
- Tamime A Y and Robinson R K, 1999. *Yoghurt science and technology*. woodhead publishing Ltd and CRC Press LLC, Cambridge.
- Tharmaraj N and Shah N P, 2004. Survival of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus paracasei subsp.paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium animalis* and *Propionibacterium* in cheese-based dips and the suitability of dips as effective carriers of probiotic bacteria. *International Dairy Journal* 14:1055-1066.
- Tejada-Simon M V and Pestka J J, 1999. Proinflammatory Cytokine and Nitric Oxide Induction in Murine Macrophages by Cell Wall and Cytoplasmic Extracts of Lactic Acid Bacteria. *Journal of Food Protection* 62:1435-1444.
- Varnam A H and Sutherland J P, 1994. *Milk and milk products Technology, Chemistry and Microbiology*. Chapman and Hall, London.
- Vinderola C G, Reinheimer J A, 2000. Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *Lacidophilus*, *Bifidobacteria* and Lactic starter bacteria in fermented dairy products. *International Dairy Journal* 10: 271-275.

Archive of SID