

## تولید ماست بیفیدوس با استفاده از ایزوله ایرانی و بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی آن

\*مرتضی خمیری<sup>۱</sup>، سید علی مرتضوی<sup>۲</sup>، حمید بهادر قدوسی<sup>۲</sup>، علی خامسان<sup>۳</sup> و درخشان احمد<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup>استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، <sup>۲</sup>استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فروضی مشهد،

<sup>۳</sup>استادیار مرکز تحقیقات علوم دامی جهاد کشاورزی کرج، <sup>۴</sup>استاد انسستیتو ملی علوم و تحقیقات کانادا

تاریخ دریافت: ۸۵/۷/۱۶؛ تاریخ پذیرش: ۸۶/۱۲/۲۷

### چکیده

بیفیدوباکتریوم‌ها به دلیل خاصیت پروباکتریک در تولید فرآورده‌های لبنی جایگاه ویژه‌ای دارند. فرآورده‌های لبنی پروباکتریک در بسیاری از کشورها تولید و مصرف می‌شوند اما تولید آنها در ایران هنوز مرسوم نشده است. در این تحقیق توانایی زنده ماندن ۸ ایزوله بیفیدوباکتریوم بومی ایران در ماست پس از ۱، ۲، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز در دمای ۴ درجه سانتی گراد مطالعه و بررسی شد. نتایج نشان داد که ۵ ایزوله از آنها از ماندگاری خوبی در طول نگهداری ماست در یخچال برخوردار بودند و از این نژادهای انتخاب شده همراه با استارتتر معمول، برای تولید ماست ساده استفاده شدند. خصوصیات فیزیکوشیمیایی (pH، اسیدیته و سیترسیس) و حسی فرآورده تولید شده بررسی و آزمایش شد. هیچ اختلاف معنی‌داری بین خصوصیات حسی و فیزیکوشیمیایی نمونه‌های تولید شده با استارتتر کالچر معمول و نمونه‌های حاوی استارتتر معمول به علاوه ایزوله‌های بیفیدوباکتریوم مشاهده نشد. بنابراین ۵ ایزوله ایرانی بیفیدوباکتریوم را می‌توان در تولید فرآورده‌های لبنی استفاده کرد بدون اینکه هیچ تغییر قابل توجهی در خصوصیات حسی و فیزیکوشیمیایی ماست ایجاد نماید.

**واژه‌های کلیدی:** بیفیدوباکتریوم، فرآورده‌های لبنی، ایزوله‌های ایرانی، ماست بیفیدوس

۱۹۹۷؛ کک و همکاران، ۱۹۹۶؛ اوسلویان و کولن، ۱۹۹۸؛ و تمیم و همکاران، ۱۹۹۵). کاربرد این باکتری‌ها در تولید فرآورده‌های لبنی را روشی مؤثر و عملی در افزایش سلامتی عمومی جامعه می‌باشد. نقش پروباکتریک‌ها بر سلامت انسان مورد مطالعه و تحقیق بسیار قرار گرفته است و هر روز ضمن بالا رفتن آگاهی عمومی اطلاعات جدیدی از آنها شناخته و منتشر می‌شود. بخصوص با توجه به پیشرفت تکنولوژی و بروز بیماری‌هایی ناشی از آن، نقش پروباکتریک‌ها در تغذیه پررنگ‌تر می‌گردد. زیرا بیماری‌هایی مانند فشار خون، چربی و کلسترول خون و

### مقدمه

بیفیدوباکتریوم‌ها و برخی از لاکتیک اسید باکتری‌ها (مانند گونه‌هایی از لاکتوپاسیلوس‌ها) به عنوان باکتری‌های "پروباکتریک" شناخته می‌شوند. پروباکتریک کلمه‌ای یونانی و به معنی "برای زندگی" می‌باشد. در چند دهه گذشته تحقیقات گسترده‌ای برای شناسایی خصوصیات کاربردی این گروه از باکتری‌ها صورت گرفته است و با استفاده از آنها فرآورده‌های غذایی مختلفی تهیه و تولید گردیده است (گومز و همکاران، ۱۹۹۹؛ کلانتسوپلاس،

\*- مسئول مکاتبه: mkhomeiri@yahoo.com

ایزوله ایرانی که قبلاً برخی از معیارهای اصلی پروپاکتیکی آنها بررسی شده بود (خُمیری و همکاران، ۲۰۰۵)، انجام شد.

## مواد و روش‌ها

در این پژوهش از ۸ ایزوله بیفیدوپاکتیریوم بومی ایران با شماره کدهای F<sub>۰۳۱۳</sub>, F<sub>۰۵۱۱</sub>, F<sub>۰۶۳۱</sub> و F<sub>۱۷۱۲</sub> گرفته شده از آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان استفاده گردید (خُمیری و همکاران، ۲۰۰۵؛ خُمیری و همکاران، ۲۰۰۶).

برای تهیه مایه تلقیح به ماست پاستوریزه بعد از فعال‌سازی بیفیدوپاکتیریوم‌های فریزدرای شده، تهیه کشت فعال ۴۸ ساعته در لوله‌های بزرگ ۵۰ سی سی حاوی محیط کشت مایع MRS<sup>۳+</sup> (روی و وارد، ۱۹۹۰)، سانتریفوژ کردن ۵۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه و سوسپانسیونی از رسوبات میکروبی با استفاده از محلول SPC در ۵-۱۰ میلی‌متر تهیه گردید (آذبل و همکاران، ۱۹۹۱). کار تهیه ماست در آزمایشگاه تحقیق و توسعه کارخانه شیر پاستوریزه پگاه گرگان و به روش مرسوم انجام شد (تمیم و راینسون، ۱۹۹۹). در ادامه ماست تولید شده در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه پاستوریزه شد. پس از خنک کردن ماست و تلقیح ۸ ایزوله از بیفیدوپاکتیریوم‌های مورد آزمایش، ماست در ظروف استریل درب دار با حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر تقسیم گردید. در طول نگهداری در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد به طور هفتگی تا مدت ۲۱ روز نمونه‌برداری و تعداد سلول‌های فعال شمارش شد (سان و گریفت، ۲۰۰۰).

برای انجام آزمون‌های فیزیکو شیمیایی ماست مقدار اسیدیته (AOAC) pH (۲۰۰۰)، AOAC (۲۰۰۰) و سینرسیس (فلیگنر و همکاران، ۱۹۸۸) تعیین و مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای بررسی آماری، تعیین سطح معنی‌داری، آنالیز واریانس، به دست آوردن میانگین‌ها و

سرطان روده از جمله مهم‌ترین موارد مربوط به قرن گذشته بوده است که موجب رویکرد گسترشده‌ای به این گروه از باکتری‌ها شده‌اند (راسیک و همکاران، آم، ۱۹۹۴؛ کاتانزارو و گرین، ۱۹۹۶؛ آرونالاام، ۱۹۹۹ و پریرا و گیلسن، ۲۰۰۲).

امروزه در سرتاسر دنیا از چندین نژاد پروپاکتیکی با ویژگی‌های شناخته شده در بسیاری از فرآورده‌های پروپاکتیک استفاده می‌شود. از مهم‌ترین باکتری‌های ایزوله شده از انسان و مورد استفاده در صنایع لبنی دنیا گونه‌های مربوط به بیفیدوپاکتیریوم‌ها و لاکتوپاسیلوس‌ها است (تمیم و همکاران، ۱۹۹۵؛ کانت زوپولوس، ۱۹۹۷). پیشرفت‌هایی که در خصوص روش‌های شناسایی میکروگانیسم‌ها در طول سال‌های اخیر به دست آمد موجب گردید تا تحقیقات گسترشده‌ای در مورد ویژگی‌های ژنتیکی و اثرات اختصاصی هر یک از پروپاکتیک‌ها در حال In vivo انجام شده. با این وجود انتخاب نژادهای مناسب برای انجام تخمیر در فرآورده‌های لبنی و تهیه استارتراز جمله پیشنهادات همیشگی محققین بزرگ در زمینه تولید فرآورده‌های لبنی است (پراساد و همکاران، ۱۹۹۸).

برای اینکه عملایک ارگانیسم به عنوان یک پروپاکتیک پذیرفته شود باید چندین معیار خاص در نظر گرفته شود. مهم‌ترین موارد عبارتند از: بی‌خطر بودن برای میزان، مقاوم بودن به اسیدیته معده و ترشحات لوزالمعده (صفرا) و دارا بودن پایداری مطلوب در شرایط فرایندهای تکنولوژیک و در طول دوره نگهداری محصول پروپاکتیک. مهم‌ترین مکانیسم‌هایی که پروپاکتیک‌ها به وسیله آن می‌توانند موجب ارتقاء سلامتی مصرف‌کننده شوند شامل تولید اسیدهای آلی، پراکسیدها یا باکتریوسین‌ها، رقابت با پاتوژن‌ها برای تصاحب جایگاه‌های اتصالی روی موکوس، رقابت برای جذب سوبسترا و تقویت سیستم ایمنی می‌باشد (آم، ۱۹۹۴؛ کاتانزارو و گرین، ۱۹۹۶؛ کانوی، ۱۹۹۶؛ شاینباخ، ۱۹۹۸). این تحقیق برای تعیین خصوصیات تکنولوژیک چند

اما نتایج حاکی از این است که ۵ ایزوله دارای توانایی زنده ماندن بسیار خوبی می‌باشند و از آنها می‌توان در تولید فرآورده‌های لبنی استفاده کرد. چرا که اکثر محققین یکی از شروط تکنولوژیک برای پذیرش ایزوله‌ای از بیفیدوپاکتریوم‌ها به عنوان استارتتر را دارا بودن توان ماندگاری حدود ۳۰ درصد مقدار اولیه تلقيق می‌دانند (تیم و رابینسون، ۱۹۹۹). بنابراین برای ۵ ایزوله F<sub>۰۳۱۳</sub>, M<sub>۱۵۱۲</sub>, F<sub>۲۰۱۱</sub>, M<sub>۰۵۱۱</sub>, F<sub>۰۳۲۱</sub> صادق است (جدول ۱).

برای بررسی و مقایسه روند کاهش تعداد سلول‌ها در خصوص ایزوله‌های مختلف در طول دوره نگهداری در یخچال نمودار logCFU/ml در برابر زمان رسم شده است (شکل ۱). همان‌طور که مشاهده می‌شود ۵ ایزوله F<sub>۰۳۱۳</sub>, M<sub>۱۵۱۲</sub>, F<sub>۲۰۱۱</sub>, M<sub>۰۵۱۱</sub>, F<sub>۰۳۲۱</sub> به ترتیب با سرعت کمتری کاهش می‌یابند و مقادیر نهایی باقی‌مانده نیز از سطح بالاتری برخوردار است. در این نمودار مشاهده می‌شود که تعداد باکتری‌های زنده از ۵ ایزوله مقاومتر مذکور طی ۲۱ روز نگهداری تنها دارای ۲ تا ۳ فاز لگاریتمی کاهش است اما تعداد سلول‌های فعال دو ایزوله F<sub>۰۶۳۱</sub>, F<sub>۱۰۱۱</sub>, هفت تا هشت فاز لگاریتمی کاهش یافته است.

مقایسه آنها از برنامه SASS استفاده شد (لایس و هایمن، ۱۹۹۸، SAS، ۲۰۰۱). ارزیابی حسی نمونه‌های ماست به وسیله ۲۰ نفر از متخصصین آموزش دیده انجام شد. ویژگی‌های حسی مورد ارزیابی عبارت بودند از: بافت و عطر و بو. از آنجایی که ارزیابی داوران به صورت کیفی بود لذا با استفاده از آمون هدونیک ارزیابی‌های کیفی به داده‌های کمی تبدیل شد. برای این منظور فرم‌های تست پانل برای هر نمونه در اختیار داوران قرار گرفت و داوران براساس آزمون حسی ماست در مقیاس پنج نقطه‌ای (بسیار خوب، خوب، متوسط، بد و خیلی بد) پاسخ دادند (لایس و هایمن، ۱۹۹۸).

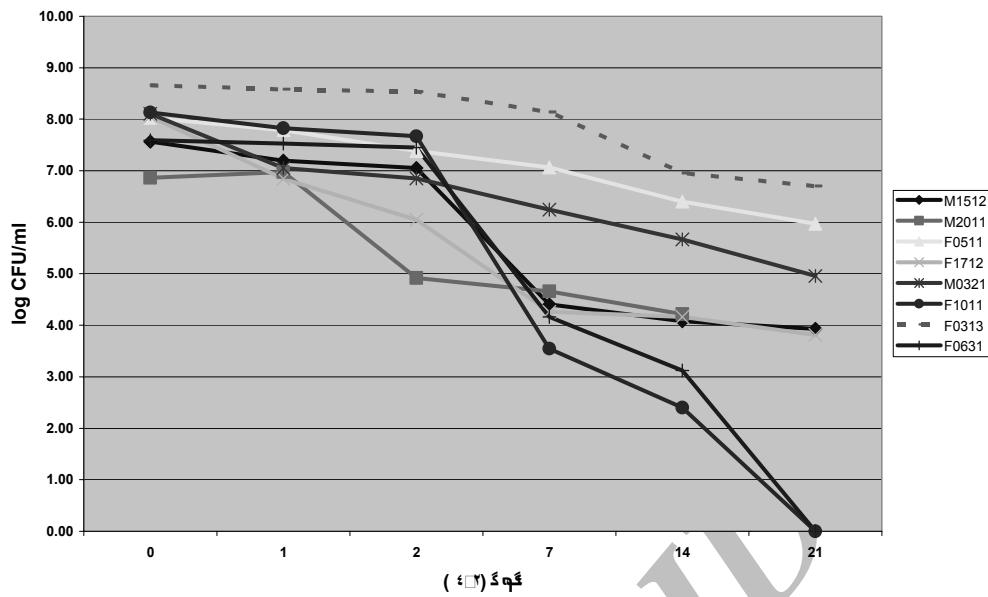
## نتایج و بحث

**بررسی میزان بقاء ایزوله‌های برتر در ماست در طول دوره نگهداری:** نتایج حاصل از بررسی و مقایسه میزان بقاء ۸ ایزوله از بیفیدوپاکتریوم‌های بومی ایران نشان داد که اثر ایزوله، زمان و اثرات متقابل در درصد ماندگاری بین نژادهای مختلف در سطح ۵ درصد معنی‌دار می‌باشد (در جدول نشان داده نشده است). اگرچه اختلاف معنی‌داری بین ایزوله‌ها از نظر توان تحمل شرایط حاکم در ماست در طول دوره نگهداری وجود دارد (جدول ۱)

جدول ۱- مقایسه میانگین درصد ماندگاری ایزوله‌های مورد آزمایش در ماست در طول دوره نگهداری در یخچال

ایزوله	درصد ماندگاری
F <sub>۰۳۱۳</sub>	۴۹/۲۴۸۲*
F <sub>۰۳۲۱</sub>	۴۲/۱۳۶۶
F <sub>۰۵۱۱</sub>	۳۳/۲۲۷۰
M <sub>۱۵۱۲</sub>	۳۱/۸۰۳۰
M <sub>۲۰۱۱</sub>	۳۰/۲۱۹۰
M <sub>۰۳۲۱</sub>	۱۹/۳۶۳۴
F <sub>۱۰۱۱</sub>	۱۸/۴۰۲۴
F <sub>۱۷۱۲</sub>	۱۷/۸۶۱۴

\*حروف مشابه نشان می‌دهد بین میانگین آن نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد وجود ندارد.



شکل ۱- روند تغییرات تعداد سلول‌ها (log cfu/ml) در طول دوره نگهداری در یخچال.

رسیده است به عنوان ایزوله‌های مقاوم و مطلوبی معرفی نمی‌شوند.

مطالعات مختلف (هول و همکاران، ۱۹۸۴؛ شاه و جیلن، ۱۹۹۰؛ شاه و همکاران، ۱۹۹۵) نشان داده است که لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوپاکتریوم بیفیدوم در ماست ناپایدارند. مطالعات انجام شده توسط آنون، (۱۹۹۲) در خصوص چندین محصول تجاری ماست در استرالیا نشان داد که تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوپاکتریوم بیفیدوم در آنها بسیار پائین است. نتایج حاصل در این پژوهش نیز نشان داد که تعداد دو ایزوله از بیفیدوپاکتریوم‌ها در عرض سه هفته نگهداری در یخچال به صفر می‌رسد اما تعداد ایزوله‌های دیگر هنوز در حد فاصل فبلی (بیشتر از  $10^0$  Cells/g) است که مصرف فرآورده حاوی آن می‌تواند اثرات مفید بر مصرف‌کننده به جا گذارد (رابینسون، ۱۹۸۷).

از آنجایی که نتایج بررسی شده در خصوص مقاومت و درصد ماندگاری ایزوله‌ها بیفیدوپاکتریوم مورد آزمایش براساس نتایج حاصل در کل زمان دوره نگهداری است و مقایسه‌های انجام شده زمان خاصی را در بر نمی‌گیرد لذا به این نکته نیز توجه شده و به دلیل اهمیت تعداد باکتری‌ها در آخرین روزهای نگهداری ماست تعداد باکتری‌های (CFU/ml) مورد آزمایش در روزهای چهاردهم و بیست و یکم با هم دیگر مقایسه شده است (شکل ۲).

نتایج جدول‌های ۲ و ۳ نشان می‌دهد که همانند نتایج قبلی ۵ ایزوله اول که دارای بیشترین درصد ماندگاری در طول دوره نگهداری می‌باشند عبارتند از: F0313، M2011، M1512، F0511 و M0321. ضمناً ایزوله‌های F1011 و F0631 به دلیل اینکه تعداد آنها پس از طی دو یا سه هفته از نگهداری به صفر یا خیلی نزدیک به آن

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های درصد ماندگاری سویه‌های مورد آزمایش در ماست پس از ۱۴ روز در یخچال.

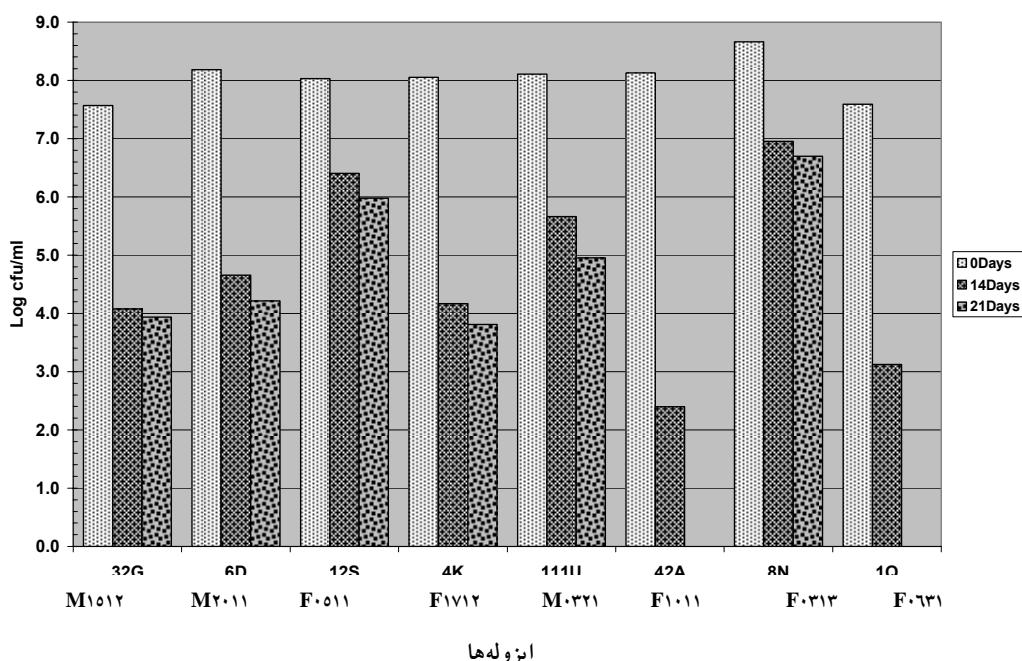
درصد ماندگاری پس از ۱۴ روز	سویه
۲/۲۳۹۰ a *	F۰۵۱۱
۲/۰۱۷۷a	F۰۳۱۳
۰/۳۶۲۷b	M۰۳۲۱
۰/۰۴۴۰C	M۱۵۱۲
۰/۰۳۱۳C	M۲۰۱۱
۰/۰۱۳۱C	F۱۷۱۲
۰/۰۰۳۴C	F۰۶۳۱
۰/۰۰۰۲C	F۱۰۱۱

\*حروف مشابه نشان می‌دهد بین میانگین آن نمونه‌ها اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد وجود ندارد.

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های درصد ماندگاری ایزوله‌های مورد آزمایش در ماست پس از ۲۱ روز در یخچال.

درصد ماندگاری	ایزوله
۱/۱۱۷۷a*	F۰۳۱۳
۱/۰۵۰۰a	F۰۵۱۱
۰/۰۷۰۷b	M۰۳۲۱
۰/۰۲۹۷b	M۱۵۱۲
۰/۰۱۰۵b	M۲۰۱۱
۰/۰۰۵۷b	F۱۷۱۲
۰/۰۰۱b	F۱۰۱۱
۰/۰۰۱b	F۰۶۳۱

\*حروف مشابه نشان می‌دهد بین میانگین آن نمونه‌ها اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد وجود ندارد.



شکل ۲- مقایسه تعداد باکتری‌های زنده ایزوله‌های مورد آزمایش پس از ۱۴ و ۲۱ روز نگهداری ماست در یخچال.

ارزیابی خواص حسی ماستهای حاوی بیفیدوپاکتریوم: نتایج مربوط به آنالیز واریانس ارزیابی بافت ماستهای حاوی ۱۰ درصد از کشت تراشه از ایزوله‌های بیفیدوپاکتریوم‌های شناسایی شده در این تحقیق نشان داده است که اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌های ماست تهیه شده وجود دارد. اما نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد، بین نمونه شاهد که تنها به‌وسیله استارت‌رهای معمول ماست تهیه شده و ۵ نمونه از ماست حاوی ایزوله‌های میانگین M۱۵۱۲، F۰۵۱۱، M۰۳۲۱، F۰۳۱۳ اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (جدول ۵) و بدین صورت است که همه این نمونه‌های ماست دارای مقبولیت مشابه‌ای با نمونه شاهد می‌باشند. مقایسه میانگین‌ها نیز تائید کرد بین اکثریت نمونه‌های ماست با نمونه شاهد اختلاف معنی‌داری وجود ندارد به‌جز در یک مورد که دارای بالاترین میانگین عطر است و از این جهت با نمونه شاهد دارای اختلاف معنی‌داری است. این نمونه نیز به نوع خود جالب توجه است و استفاده از ایزوله‌های بیفیدوپاکتریوم ایرانی تأثیر نامطلوبی بر خصوصیات ارگانولیپتیک آن به جا نخواهد گذاشت.

تولید ماست با حضور بیفیدوپاکتریوم‌ها و بررسی خواص فیزیکوشیمیایی آن: pH و اسیدیته نهایی ماست می‌تواند بر رشد و توانایی ماندگاری گونه‌های مختلف بیفیدوپاکتریوم به‌طور قابل توجهی اثر گذاشته و آن را کاهش دهد (شاه و جیلن، ۱۹۹۰؛ شاه و همکاران، ۱۹۹۵). بررسی خواص فیزیکوشیمیایی ماست تولید شده با استفاده از استارت‌رهای معمول به‌علاوه ایزوله‌های مورد آزمایش، نشان داد که براساس جداول ANOVA تغییرات pH و اسیدیته در طول دوره نگهداری ماست، اختلاف بین ایزوله‌ها در سطح ۵ درصد معنی‌دار است. در خصوص تغییرات مربوط به سینرسیس در طول زمان نگهداری نیز اختلاف معنی‌داری بین ایزوله‌ها مشاهده نشد. در بررسی مقایسه میانگین‌های pH، اسیدیته و سینرسیس نیز اختلاف معنی‌داری بین نمونه شاهد با دیگر نمونه‌های تولید شده مشاهده نشد. بنابراین نتیجه گرفته می‌شود که افزودن ایزوله‌های حاصل از این تحقیق همراه با استارت‌رهای معمول ماست موجب ایجاد تغییر چندانی در pH و اسیدیته آن نمی‌شود و لذا می‌توان از آنها بدون بروز هیچ اثر نامطلوبی برروی طعم ماست و احیاناً شمارش بیفیدوپاکتریوم‌ها استفاده نمود (جدول ۴).

جدول ۴- مقایسه میانگین‌های خصوصیات فیزیکوشیمیایی ماستهای بیفیدوس تولید شده در حضور ایزوله‌های ایرانی.

سینرسیس	اسیدیته	pH	ایزوله
۳/۰۵۰a	۹۰/۱۶۷ab	۴/۳۹۷۵۰a	F۱۷۱۲
۳/۲۴۰a	۹۷/۳۳۳ab	۴/۲۶۴۱۷b	F۰۶۳۱
۳/۸۳۰a	۱۰۲/۰۰۰ab	۴/۲۵۱۶۷b	M۲۰۱۱
۴/۵۳۰a *	۱۰۱/۰۸۳ab	۴/۲۳۴۱۷b	F۰۵۱۱
۲/۰۹۰a	۱۰۱/۲۵۰ab	۴/۲۳۰۰b	F۱۰۱۱
۲/۷۳۰a	۱۰۵/۹۱۷a	۴/۲۰۴۱۷b	M۰۳۲۱
۳/۴۳۵a	۱۰۷/۱۶۷a	۴/۱۹۶۶۷b	F۰۳۱۳
۲/۸۴۳a	۱۰۴/۸۳۳a	۴/۱۸۴۱۷b	M۱۵۱۲
۳/۴۴۰a	۱۰۱/۰۸۵ab	۴/۲۱۰۰b	کنترل

\*حروف مشابه در هر ستون نشان می‌دهد بین میانگین آن نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد وجود ندارد.

جدول ۵- مقایسه میانگین مربوط به ارزیابی بافت و عطر در ماستهای تهیه شده در حضور ایزوله‌های ایرانی.

نمره عطر	نمره بافت	ایزوله
۳/۷۵۰۰ab	۴/۲۰a	F۰۳۱۳
۴/۲۰۰۰a	۴/۰۰a	M۰۳۲۱
۳/۹۰۰۰ab	۳/۸۰ab	F۰۵۱۱
۳/۶۰۰۰b	۳/۷۵ab	M۱۵۱۲
۳/۶۵۰۰b	۳/۷۰ab	F۱۷۱۲
۳/۶۵۰۰b	۳/۳۵bc	F۱۰۱۱
۳/۷۰۰۰b	۳/۰۵c	F۰۶۳۱
۳/۵۵۰۰b	۲/۸۰c	M۲۰۱۱
۳/۷۰۰۰b	۳/۷۹ab	کترل

\*حروف مشابه در هر ستون نشان می‌دهد بین میانگین آن نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد وجود ندارد.

است (موتای و همکاران، ۱۹۸۰؛ شاه، ۲۰۰۰) پژوهش حاضر یکی از این نوع پژوهش‌ها می‌باشد. نتایج حاصل نشان داد با در نظر گرفتن همه این شرایط اگر چه ۶ ایزوله انتخاب شده F۰۳۱۳، M۰۳۲۱، F۰۵۱۱، M۱۵۱۲، M۱۷۱۲ و M۲۰۱۱ دارای ویژگی‌ها و توانایی‌های مطلوبی برای استفاده در صنعت می‌باشند. اما از آنجایی که سه ایزوله از این ۶ ایزوله در اکثر موارد از آزمون‌های مربوط به مطالعه خواص تکنولوژیک (جدول‌های ۲ تا ۴ و شکل‌های ۱ و ۲) دارای برتری‌هایی نسبت به سایر ایزوله‌ها بوده‌اند، می‌توان به نتیجه قابل توجه زیر اشاره نمود:

ایزوله‌های F۰۳۱۳، F۰۵۱۱ و M۰۳۲۱ از جمله ایزوله‌هایی هستند که دارای خواص تکنولوژیک منحصر بفردی بوده و می‌توان به عنوان ایزوله‌هایی امیدبخش با پتانسیل فوق العاده در خصوص استفاده در صنایع لبنی و همچنین به عنوان استارت‌آپ از آنها نام برد و برای کارهای بعدی تا مرحله ثبت آنها در دنیا سرمایه‌گذاری کرد.

### سپاسگزاری

بدینوسیله از همه کسانی که در اجرای این پژوهش ما را یاری کردند بخصوص اساتید ارجمند آقای دکتر سلطانی، خانم دکتر شهیدی تشکر و قدردانی می‌شود.

شرایط محیطی را که در فرآورده‌های لبنی مانند ماست حاکم است از جمله pH پائین و شرایط هوایی تولید و بسته‌بندی می‌تواند موجب کاهش تعداد بیفیدوپاکتریوم‌ها تا زیر مقدار مورد نیاز جهت بروز اثرات درمانی آنها در بدن شوند (شاه، ۲۰۰۰؛ ویندروا و همکاران، ۲۰۰۰). یکی از نگرانی‌های اصلی در خصوص توانایی بیفیدوپاکتریوم‌ها، ماندگاری شان در حامل‌های غذایی تا زمان مصرف است (بویل استون و همکاران، ۲۰۰۳) یکی دیگر از محدودیت‌های اصلی تکنولوژیک مصرف بیفیدوپاکتریوم‌ها در ماست pH فرآورده است. زیرا اکثر نژادهای بیفیدوپاکتریوم به pH ۴/۶ حساس می‌باشند. برای مثال کار آزمایشگاهی انجام شده توسط مادرل (۱۹۹۴) نشان داد که جمعیت بیفیدوپاکتریوم در ماستی با pH ۳/۹ تا ۴ در عرض یک هفته از CFU ۱۰<sup>۹</sup> به صفر می‌رسد. از آنجایی که گونه‌های مختلف بیفیدوپاکتریوم از نظر نیازهای غذایی، خصوصیات رشد و فعالیت متابولیکی از همیگر متفاوت می‌باشند بنابراین نه همه گونه‌های بیفیدوپاکتریوم دارای ماندگاری یکسان هستند و نه همه آنها از نظر شرکت در بروز خصوصیات حسی فراورده‌های لبنی مشابه هم عمل می‌کنند (گومز و مالاکات، ۱۹۹۹؛ کاربو و همکاران، ۲۰۰۱). بنابراین برای انتخاب سویه‌های برتر بیفیدوپاکتریوم با منشاء انسانی برای رسیدن به نتایج قابل قبول از نظر ماندگاری، تحقیقات مختلفی انجام شده

## منابع

1. Alm, L. 1994. Lactic acid bacteria as probiotic for Prevention and cure of gastrointestinal diseases in man and animals. Ecotech 94, Paper 49.
2. Anon. 1992. Yoghurt and probiotics. Choice, 11, 32-5.
3. AOAC. 2000. Official methods of Analysis, Association of official analytical Chemists, Washington DC, USA10.
4. Arunachalam, K.D. 1999. Role of bifidobacteria in nutrition, medicine and technology. *Nutrition Research*; 19: 1559-97.
5. Ausubel, F.M. et al., eds. 1991. Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & sons, Inc, New York, USA19.
6. Boylston, T.D., Vinderolab, C.G., Ghoddusi, H.B., and Reinheimer, G.A. 2003, Incorporation of bifidobacteria into cheeses: challenges and rewards, International Dairy Journal
7. Catanzaro, J.A., and Green, L. 1996. Microbial Ecology and probiotics in human Medicine (part II), *Alternative medicine Review*. 2: 8-22.
8. Conway, P. 1996. Selection criteria for Probiotic Microorganisms. *Asia pacific Journal of clinical Nutrition*. 5: 10-15.
9. Corbo, M.R., Albenzio, M., De Angelis, M., Sevi, A., and Gobbetti, M. 2001. Microbiological and biochemical properties of Canestrato Pugliese hard cheese supplemented with bifidobacteria. *Journal of Dairy Science*, 84, 551–561.
10. Fligner, K., Lindam iid, J.B., and Hansen, PMT. 1988. Fortification of low- fat plain yogurt with calcium gluconate. *Cultured Dairy Products Journal*. Feb. 88: 5-9.
11. Gomes, A.M.P., and Malcata, F.X. 1999. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: Biological, biochemical, technological, and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends in Food Science and Technology*, 10, 139–157.
12. Gomes, A.M.P., and Malcata, F.X. 1999. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends in Food Science & Technology*, 10:139-157.
13. Hull, R.R., Roberts, A.V., and Mayes, J.J. 1984. Survival of *Lactobacillus acidophilus* in yoghurt. *Aust. J. Dairy Technol.*, 39, 164-6.
14. Kalantzopoulos, G. 1997. Fermented Products with Probiotic Qualities. *Anaerobe*, 3:185-190.
15. Khomeiri, M., Ghoddusi, H.B., Mortazavi, S.A., Khamessan, A., Ahmad, D., and Shahidi, F. 2005. Isolation, identification and distribution of *Bifidobacterium* spp. in some Iranian subjects, *J. of Agricultural Sciences and Natural Resources*, 12(3): 33-44.
16. Khomeiri, M., Mortazavi, S.A., Ghoddusi, HB., Khamessan, A., Ahmad, D., and Shahidi, F. 2005. Identification of *Bifidobacterium* strains isolated from fecal samples of some Iranian subjects using 16S rRNA gene sequence analysis and gene specific primers, *J. of Kermann University of Medical Sciences*, 12(1): 21-31
17. Khomeiri, M., Mortazavi, S.A., Ghoddusi, H.B., Maghsoodlo, Y., and Soltani, A. 2007. Resistance of *Bifidobacterium* sp. Isolated from Iranian Subjects to Simulated Gastric Juice and Bile Salt, *J. of Kermann University of Medical Sciences*, 13(3): 184-191.
18. Kok, R.G., De Waal, A., Schut, F., Welling, G.W., Weenk, G., and Hellingwerf, K.J. 1996. Specific detection and analysis of a probiotic *Bifidobacterium* strain in infant feces. *Appl. Environ. Microbiol*, 62: 3668-3672.
19. Lawless, H.T., and Hyman, H. 1998. Sensory evaluation of Food: principles and practices, 1<sup>st</sup> ed., Chapman and Hall, New York, NY.
20. Modler, H.W. 1994. Bifidogenic factors, sources, metabolism and application. *International Dairy Journal*, 4, 383–407.
21. Mutai, M., Mada, H., and Shimada, K. 1980. Method for producing food and drinks containing bifidobacteria. US patent #4187321.
22. O'Sullivan, D.J., and Kullen, M.J. 1998. Tracking of probiotic bifidobacteria in the intestine. *Int. Dairy Journal*, 8: 513-525.
23. Pereira D.I., Gibson, G.R. 2002. Cholesterol assimilation by lactic acid bacteria and bifidobacteria isolated from the human gut. *Appl Environ Microbiol*; 68(9): 4689-93.

- 24.Prasad, J., Gill, H., Smart, J., and Gopal, P.K. 1998. Selection and characterization of Lactobacillus and Bifidobacterium strains for use as probiotics. *Int Dairy Journal*; 8(12): 993-1002.
- 25.Rasic, J.L., Vujicic, I.F., Skrinjar, M., and Vulic, M. 1992. Assimilation of cholesterol by some cultures of lactic acid bacteria and bifidobacteria. *J Biotechnology Letters*; 14: 39-44.
- 26.Robinson, R.K. 1987. Survival of *Lactobacillus acidophilus* in fermented products. Suid Afrikaanse Tydskrif Vir Suiwelkunde, 19: 25-7.
- 27.Roy, D., and Ward, P. 1990. Evaluation of rapid methods for differentiation of *Bifidobacterium* species. *Journal of Applied Bacteriology*, 69:739-749.
- 28.SAS. 2001. SAS user's guide: Statistics. Statistical Analysis System Institute Inc., Cary, NC.
- 29.Scheinbach, S. 1998. Probiotics: functionality and commercial status, *Biotechnology Advances*, 16: 581-608.
- 30.Shah, N.P. 2000. Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Science*, 83, 894–907.
- 31.Shah, N.P. 2000. Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Science*, 83, 894–907.
- 32.Shah, N.P., and Jelen, P. 1990. Survival of lactic acid bacteria and their lactases under acidic conditions. *J. Food Sci.*, 55, 506-9.
- 33.Shah, N.P., Lankaputhra, W.E.V., Britzb, M.L., and Kyle, W.S.A. 1995. Survival of Lactobacillus acidophilus and *Bifidobacterium bifidum* in Commercial Yoghurt During Refrigerated Storage, *Int. Dairy Journal*, 5: 515-521
- 34.Sun, W., and Griffiths, MW. 2000. Survival of bifidobacteria in yogurt and simulated juice following immobilization in gellan – xanthan beads. *International Journal of Food Microbiology*, 61: 17-25.
- 35.Tamime, A.Y., and Robinson, R.K. 1999. Yogurt science and technology, Chapman Hall, London, UK.
- 36.Tamime, A.Y., Marshall, V.M.E., and Robinson, R.K. 1995. Microbiological and technological aspects of milks fermented by bifidobacteria. *Rev. Journal of Dairy Research*, 62:151-187.
- 37.Vinderola, C.G., Bailo, N., and Reinheimer, J.A. 2000. Survival of probiotic microflora in Argentinian yogurts during refrigerated storage. *Food Research International*, 33, 97–102.

## Production of bifidus yoghurt with using Iranian isolates and study of its physicochemical and sensory characteristics

\***M. Khomeiri<sup>1</sup>, H. Bahador Ghoddusi<sup>2</sup>, S.A. Mortazavi<sup>2</sup>, A. Khamessan<sup>3</sup> and A. Darakhshan<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Assistant Prof., Dept. of Food Sciences and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, <sup>2</sup>Prof. Dept. of Food Sciences and Technology, Ferdowsi University, Mashhad, Iran,  
<sup>3</sup>Assistant Prof. Animal Sciences Research Institute, Iran, <sup>4</sup>Prof. Institute National Research Scientific, Canada

---

### Abstract

Due to probiotic properties of Bifidobacteria, they have been considered in dairy industry. Probiotic dairy products are produced and used in some countries, but their production has not been started in Iran yet. In this research 8 Iranian isolates of *Bifidobacterium* were studied for their ability to survive in yoghurt after 1, 2, 7, 14 and 21 days storage at 4°C. Five isolates demonstrated good survival and were used for further studies in bifidus yoghurt. The selected strains from the previous stage, along with a standard yoghurt starter culture, were used to produce plain yoghurt. Physicochemical (*i.e.* pH, acidity and syneresis) and sensory properties of the products were examined. No significant differences ( $P>0.05$ ) were noticed for physicochemical and sensory characteristics of the samples produced with standard yoghurt culture and standard yoghurt culture plus *bifidobacterium* isolates. However, using of the five Iranian bifidobacteria isolates could be used in dairy products without any considerable changes in physicochemical and sensory characteristics of yogurts.

**Keywords:** Bifidobacteria; Iranian isolates; Dairy products; Bifidus yoghurt

---

\*- Corresponding Author; Email: mkhomeiri@yahoo.com