

## بررسی اثر شیر سویا بر زندگانی باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ارگانولپتیک ماست پروباکریو

\*سمیرا یگانه‌زاد<sup>۱</sup>، مصطفی مظاہری‌تهرانی<sup>۲</sup>، فخری شهیدی<sup>۳</sup> و الهام زایرزاده<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup>دانشجوی دوره دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد، استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد،  
<sup>۲</sup>استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد، <sup>۳</sup>دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد  
تاریخ دریافت: ۸۷/۱/۲۲؛ تاریخ پذیرش: ۸۷/۱۰/۲۳

### چکیده

پری‌باکریو، ترکیبات غذایی غیرقابل هضمی هستند که با تحریک انتخابی رشد یا فعالیت یک یا تعداد محدودی از باکتری‌ها در روده، اثرات مفیدی را در میزان به جای می‌گذارند. فرآورده‌های پروباکریو، در صورتی که در مقدار مناسبی مصرف شوند، با بهبود میکروفلور داخلی بدن به طور مؤثری از نظر تغذیه‌ای و تأمین سلامت بر میزان اثر می‌گذارند. مصرف فرآورده‌های سین‌باکریو (حضور هم‌زمان پروباکریو و پری‌باکریو) اثرات سودمند بیشتری بر سلامت مصرف‌کننده دارد. در این مطالعه، اثر جایگزینی شیر سویا با شیر معمولی (حاوی ترکیبات پری‌باکریو) در ۳ سطح ۰، ۱۰ و ۲۰ درصد (حجمی / حجمی) بر بقای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ارگانولپتیکی ماست پروباکریو در طی ۲۱ روز نگهداری ماست (روزهای ۱، ۷، ۱۴، ۲۱) بررسی گردید. آغازگر پروباکریو مورد استفاده در این پژوهش لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA5 بود. بررسی آماری نتایج نشان داد که جایگزینی شیر سویا باعث کاهش معنی‌دار pH (P<0.05) سینزیس و سفتی، افزایش شمارش کلی باکتری‌های پروباکریو زندگانی و اسیدیته نمونه‌های ماست در مقایسه با نمونه شاهد می‌شود. بهترین طعم مربوط به نمونه‌های بدون شیر سویا بود. به طور کلی، در کلیه نمونه‌ها با گذشت زمان نگهداری، شمارش کلی باکتری‌های پروباکریو زندگانی pH و سینزیس (به جز نمونه‌های حاوی ۲۰ درصد شیر سویا) کاهش، اسیدیته (به جز نمونه حاوی ۲۰ درصد شیر سویا) و سفتی افزایش یافت. از بین کلیه نمونه‌ها، فقط نمونه‌های حاوی ۱۰ و ۲۰ درصد شیر سویا در پایان ۲۱ روز حداقل تعداد باکتری‌های پروباکریو (log CFU/g)، طبق استاندارد FIL/IDF برای محصولات پروباکریو را دارا بودند.

واژه‌های کلیدی: شیر سویا، ماست پروباکریو، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس

به عنوان غذای سالم تلقی می‌کنند. این مطلوبیت و پیشینه ذهنی خوب از ماست باعث شده تا برای تولید فرآورده‌های پروباکریو بیشتر از محصولات غذایی با پایه لبنی و بهویژه ماست استفاده شود. لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA5 با دارا بودن ویژگی‌هایی نظیر ایجاد

### مقدمه

ماست فرآورده‌ای است که در بین عموم مردم از مطلوبیت زیادی برخوردار است و بیشتر افراد آن را

\* - مسئول مکاتبه: [yeganehzad@yahoo.com](mailto:yeganehzad@yahoo.com)

یافته‌اند، الیگوساکاریدهای غیرقابل هضم<sup>۱</sup> (NDOs) مانند: فروکتو الیگوساکاریدها (FOS)؛ گالاكتو الیگوساکاریدها (GOS) والیگوساکاریدهای سویا (SOS) هستند (پلین، ۱۹۹۴).

صرف فرآورده‌های سین بایوتیک (حضور همزمان پروبایوتیک و پریبایوتیک) اثرات سودمند بیشتری بر سلامت مصرف‌کننده دارد، به علاوه این‌که در فرآورده‌های سین بایوتیک بقای باکتری‌های پروبایوتیک در مدت نگهداری فرآورده و نیز عبور آنها از دستگاه گوارش بیشتر می‌شود.

در برخی مطالعات محدود انسانی، گزارش شده است که مصرف الیگوساکاریدهای سویا موجب افزایش بیفیدو باکتری‌ها در مدفع می‌شود (هایاکاوا و همکاران، ۱۹۸۷؛ هارا و همکاران، ۱۹۹۷؛ بنو و همکاران، ۱۹۹۰). گزارش شده است که مصرف ۱۰ گرم از الیگوساکاریدهای دانه سویا در روز به‌طور معنی‌داری جمعیت بیفیدو باکتریوم‌های مدفع را افزایش می‌دهد. حتی مصرف ۱-۲ گرم در روز، سبب تحریک افزایش جمعیت بیفیدو باکتریوم‌ها در مدفع برخی افراد شده است. مصرف ۱۵ گرم رافینوز در روز و به‌مدت ۴ هفته سبب افزایش تعداد بیفیدو باکتری‌ها و کاهش تعداد کلستریدیوم و باکتریودیس‌ها می‌گردد. مارتینز ویاللونگا<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۰۶) بقای لاكتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA5 را در شیر تخمیری حاوی الیگوساکاریدهای خانواده رافینوز مورد بررسی قرار دادند.

با در نظر گرفتن عمل اختصاصی پریبایوتیک‌ها برای تقویت رشد پروبایوتیک‌ها و با توجه به نقش پریبایوتیکی الیگوساکاریدهای سویا در تقویت رشد لاكتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA5 و با توجه به در دسترس بودن شیر سویا و امکان جایگزینی بخشی از شیر مورد استفاده در تولید ماست با شیر سویا و همچنین قیمت مناسب آن نسبت به سایر پریبایوتیک‌ها، در این پژوهش اثر شیر سویا

تعادل در فلور میکروبی روده، افزایش اینمی بدن و محافظت در برابر اسهال مسافرتی، نقش مهمی در ایجاد سلامتی در افراد دارد (فوندن و همکاران، ۲۰۰۰). در یک مطالعه، اثر ماست غنی‌شده با لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA5، بر متابولیت‌های چربی و فلور میکروبی روده در تعداد محدودی از افراد سالم ایرانی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج مطالعات، بیانگر افزایش معنی‌دار تعداد باکتری‌های لاكتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA5 در نمونه‌های فلور میکروبی روده افراد و کاهش کلسترول در آنها بود (نیازمند و همکاران، ۲۰۰۵). اگرچه هنوز توافق کلی روی حداقل تعداد باکتری‌های پروبایوتیک زنده در محصولنهایی وجود ندارد، ولی برخی محققان تعداد  $10^6$ ، برخی  $10^7$  و برخی حداقل  $10^8$  CFU/ml را برای بروز اثرات سلامتی بخش ضروری می‌دانند. این تعداد، بسته به نوع جنس و گونه باکتری متغیر خواهد بود. وجود نارسایی‌هایی حین عملیات تولید، نگهداری و توزیع فرآورده‌ها و همچنین عبور از شرایط نامطلوب دستگاه گوارش (محیط اسیدی معده و وجود نمک‌های صفوایی) از جمله مواردی هستند که باکتری‌های پروبایوتیک باید در مقابل آن حفظ شوند. لازمه بروز آثار مثبت پروبایوتیک‌ها، بقای آنها تا رسیدن به محل فعالیت آنها (روده بزرگ) است. بنابراین باید روش‌هایی برای حفظ پروبایوتیک‌ها اتخاذ گردد، افزودن ریزمخذی‌ها (نظیر پپتیدها و اسیدهای آمینه که زمان تخمیر را کاهش و بقای پروبایوتیک‌ها را افزایش می‌دهند) و پریبایوتیک‌ها از جمله آنهاست. (نیفل و همکاران، ۱۹۹۳؛ هامان و مارت، ۱۹۸۳؛ یانگ و نلسون، ۱۹۷۸).

پریبایوتیک‌ها، ترکیبات غذایی غیرقابل هضمی هستند که با تحریک انتخابی رشد یا فعالیت یک یا تعداد محدودی از باکتری‌ها در روده، اثرات مفیدی را در میزان به‌جای می‌گذارند (بوهم و استال، ۲۰۰۳). کربوهیدرات‌های غیرقابل هضم، برخی پروتئین‌ها و پپتیدها، همچنین برخی لپیدهای خاص در دسته پریبایوتیک‌ها قرار می‌گیرند. برخی از مهم‌ترین پریبایوتیک‌هایی که تاکنون توسعه

1- Non Digestible Oligosaccharides

2- Martinez-Villaluenga

سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه به عنوان شیر سویا مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه ماست پروباپوتیک: مخلوطی از شیر و شیر سویا با سطوح جایگزینی ۱۰، ۲۰ درصد (حجمی / حجمی) آماده شد. مخلوط مذکور تا دمای ۴۲-۴۳ درجه سانتی گراد گرم شده و با آغازگر آماده‌سازی شده در مرحله قبل به میزان ۵ درصد (وزنی / وزنی) تلخیح شد. نمونه‌ها داخل ظروف پلاستیکی ۵۰ و ۱۵۰ گرمی (جهت آزمون بافت) که قبلًاً با آب گرم شسته شده بودند، تقسیم شدند. به‌منظور کاهش اثرات دیواره ظرف در سنجهش دستگاهی بافت، قطر ظرف محتوی ماست بایستی حداقل ۳ برابر بیشتر از قطر پروب باشد (بورن، ۲۰۰۲). از آنجا که قطر پروب مورد استفاده در این پژوهش ۳۵ میلی‌متر بود، ظرفی ۱۵۰ گرمی با قطری حدود ۱۲۰ میلی‌متر (۳/۵) برابر انتخاب شد. سپس نمونه‌ها در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد گرمخانه‌گذاری شدند و به‌محض رسیدن اسیدیته نمونه‌ها به ۹۵/۰ دمای گرمخانه برروی ۴ درجه سانتی گراد تنظیم شده و نمونه‌ها به مدت ۲۱ روز در این دما قرار گرفتند.

تیمارهای مورد بررسی: تیمارهای مورد بررسی شامل جایگزینی شیر سویا با شیر در ۳ سطح ( $P_1=10$ ،  $P_0=20$  درصد) و زمان در ۴ سطح (۱، ۷، ۱۴، ۲۱ روز) بود.

آزمون‌ها: نمونه‌های تخمیر شده، در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شده و در روزهای ۱ (پس از یک شب نگهداری)، ۷، ۱۴ و ۲۱ آزمون‌های ذیل در مورد آنها انجام شد.

اندازه‌گیری  $\text{pH}$  و اسیدیته: با استفاده از  $\text{pH}$  متر Metrohm مدل ۶۹۱ ساخت سوئیس و اسیدیته طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۲۸۵۲ انجام گرفت (استاندارد ملی ایران، ۲۸۵۲).

میزان آب اندازی: میزان آب اندازی نمونه‌های ماست با تغییر اندازی در روش پیشنهادی توسط برخی محققان اندازه‌گیری شد (آلکادامانی و همکاران، ۲۰۰۳). برای این منظور مقدار ۱۰ گرم نمونه روی کاغذ واتمن شماره ۲

به عنوان پری‌بایوتیک بر ویژگی‌های میکروبی، فیزیکوشیمیایی و ارگانولپتیکی ماست پروباپوتیک مورد بررسی قرار گرفت. نظر به انجام پژوهش‌های محدود در این زمینه، انجام پژوهش‌هایی از این دست موجب تنوع تولید در محصولات لبنی خواهد شد.

## مواد و روش‌ها

شیر پس چرخ، پاستوریزه، هموژنیزه و میکروفیلتر شده از کارخانه شیر پگاه خراسان با میزان حداقل ۰/۰۹ درصد چربی و مایه کشت لاتکوباسیلوس اسیدوفیلوس LA5<sup>۱</sup>، از نمایندگی شرکت کریستین هانسن تهیه شد. مواد شیمیایی مورد استفاده در آزمایش‌ها شامل محیط کشت MRS آگار و پیتون واتر (ساخت شرکت مرك آلمان) بود. سایر مواد مورد استفاده در آزمون‌ها شامل محلول سود ۱/۰ نرمال و معرف فنل‌فتالین، بافر ۴ و ۷ برای کالیبره کردن  $\text{pH}$  متر بودند.

آماده‌سازی شیر: شیر اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه حرارت داده شد.

آماده‌سازی کشت آغازگر: به‌منظور آماده‌سازی بسته‌های آغازگر برای استفاده در مقیاس کوچک طبق دستورالعمل شرکت سازنده، عمل شد و تا زمان حل شدن کامل گرانول‌های آغازگر در داخل شیر، مخلوط به آرامی به هم زده و به میزان ۵ درصد به شیر مورد نظر برای تهیه ماست اضافه شد.

آماده‌سازی شیر سویا: شیر سویا از بازسازی آرد کامل سویا (هر ۱۰۰ گرم محتوی ۳۵ درصد پروتئین، ۲۲ درصد چربی، ۳۳ درصد کربوهیدرات) خریداری شده از شرکت سویان تهیه گردید، به این ترتیب که مقدار ۵۰ گرم آرد سویا، بسته به رقت مورد نظر با حداقل ۵۰۰ میلی‌لیتر آب رقیق شده و در مخلوطکن با دور متوسط به مدت ۱۰ دقیقه به هم زده شد. مخلوط حاصل سپس صاف شده و قسمت صاف شده پس از پاستوریزاسیون در ۸۵ درجه

میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام گرفت. رسم منحنی‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای Excel و Minitab انجام گرفت.

## نتایج و بحث

اثر شیر سویا بر بقای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس: افزایش شیر سویا موجب افزایش تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس زنده در نمونه‌های ماست، در روز اول می‌شود. این افزایش در ۲۰ درصد شیر سویا بیشتر از ۱۰ درصد است (شکل ۱). به رغم بالاتر بودن میزان اسیدیته در نمونه‌های با میزان شیر سویای بالاتر، بقای باکتری‌ها در این نمونه‌ها بیشتر بوده است. به طوری که در ۲۰ درصد شیر سویا، بیشترین بقا و صفر درصد شیر سویا، کمترین بقای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس مشاهده شد. می‌توان نتیجه گرفت غیر از pH و افزایش اسیدیته عوامل دیگری در کاهش تعداد باکتری‌های زنده در طی نگهداری ماست دخیل‌اند. حضور الیگو ساکاریدهای سویا در شیر سویا یکی از دلایل بقای بیشتر این باکتری‌ها است. در کلیه نمونه‌ها، تعداد باکتری‌های زنده در طی ۲۱ روز کاهش می‌یابد. روند کاهش در تمام نمونه‌ها در طی ۲۱ روز اختلاف معنی‌داری داشته است (شکل ۱) ( $P < 0.05$ ). در تمامی نمونه‌ها در پایان ۱۴ روز و در نمونه‌های ماست حاوی شیر سویا به میزان ۱۰ درصد و ۲۰ درصد، در پایان ۲۱ روز، میزان باکتری‌های زنده بالاتر از استاندارد (IDF/FIL)  $10^5$  بود (وینوروولا و رایمر، ۱۹۹۹). نرخ کاهش تعداد باکتری‌های زنده در طی ۷ روز در نمونه‌های بدون شیر سویا حدود یک سیکل لگاریتمی و در نمونه‌های حاوی شیر سویا کمتر از این مقدار بود. درصد مرگ اسیدوفیلوس در نمونه‌های ماست از ۴۰/۰۲ درصد در ماست بدون شیر سویا تا ۳۰/۴۹ درصد در ماست حاوی ۲۰ درصد شیر سویا کاهش یافت. شیر سویا نه تنها باعث افزایش بقا می‌شود بلکه رشد را نیز تقویت می‌کند. برخی محققان در مطالعات خود به این نتیجه رسیدند که

گستردۀ شده و در داخل قیف بوخرن قرار داده شد. میزان آب‌اندازی نمونه‌ها بعد از فیلتر کردن تحت خلاء به مدت ۶ دقیقه در دمای اتاق از رابطه زیر محاسبه شد:

$$(1) \text{ وزن اولیه نمونه} / (\text{وزن اولیه نمونه} - \text{وزن نمونه بعد از فیلتر کردن}) = \text{آب خارج شده} / 100 \text{ گرم}$$

سنجهش بافت: برای سنجهش قدرت شبکه کازئینی، سفتی<sup>۱</sup> نمونه‌های ماست مورد ارزیابی قرار گرفت. به این‌منظور از دستگاه سنجهش بافت کیو. تی. اس. تکسچر آنالایزر<sup>۲</sup>، ساخت شرکت فارنل<sup>۳</sup> کشور امریکا استفاده گردید و نیروی نفوذ پروب استوانه‌ای تا عمق ۱۵ میلی‌متر با سرعت ۱ میلی‌متر/ ثانیه ثبت شد (یازیسی و آگون، ۲۰۰۴).

شمارش باکتری‌های پروپایوتیک: برای شمارش باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس یک میلی‌لیتر از ماست توسط ۹ میلی‌لیتر محلول پیتون واتراستریل (۱ درصد) ۹ بار به طور متوالی ریقیق شده و پس از یکنواخت شدن، ۱ میلی‌لیتر از ۴ رقت آخر در ۲ تکرار به ۲ پلیت دارای محیط کشت MRS آگار به صورت سطوحی اضافه شده و پلیت‌ها در شرایط هوایی در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ روز قرار گرفتند (وینوروولا و رایمر، ۱۹۹۹). پس از ۳ روز گرمخانه‌گذاری شمارش کلی باکتری‌های پروپایوتیک توسط کلنی کانتر صورت گرفت.

ارزیابی حسی: ارزیابی حسی نمونه‌های ماست با استفاده از آزمون هدونیک<sup>۴</sup> امتیازی انجام شد. نمونه‌های ماست در دمای اتاق از نظر ویژگی‌های ارگانولپتیکی طعم و بافت مورد ارزیابی قرار گرفتند.

طرح آماری: کلیه آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار انجام گرفت. تیمارهای مورد بررسی شامل جایگزینی شیر سویا در ۳ سطح و زمان در ۴ سطح بود. در مجموع ۳۶ نمونه مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Mstatc و مقایسه

1- Hardness

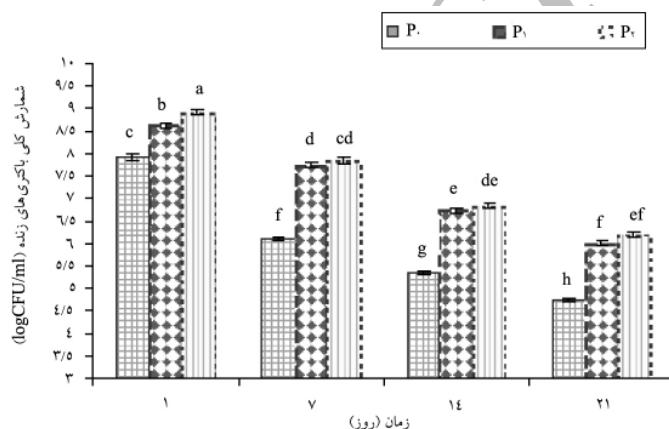
2- Q.T.S Texture Analayser

3- Farnell

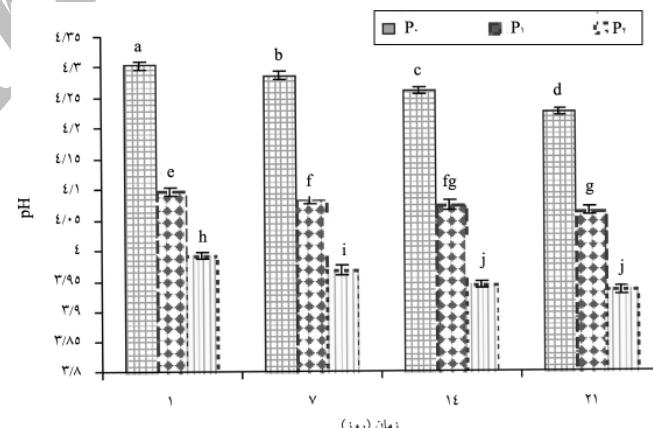
4- Hedonic

کاهش می‌یابد ولی pH در روزهای ۱۴ و ۲۱ اختلاف معنی‌داری ندارد (شکل ۲). علت این امر، فعالیت باکتری‌های آغازگر در طی ۲۱ روز نگهداری ماست. pH نمونه‌های ماست با میزان شیر سویا بالاتر در روز اول (پس از یک شب نگهداری در یخچال) پایین‌تر از بقیه بوده و در طی مدت ۲۱ روز نیز کاهش بیشتری نشان می‌دهد. این امر به‌دلیل وجود تعداد زیاد باکتری‌های زنده در ماست حاوی شیر سویا بالاتر و در نتیجه تولید سریع اسید لакتیک در طی نگهداری و به‌ویژه در روزهای اول می‌باشد.

رشد باکتری‌ها به‌ویژه باکتری‌های پروبایوتیک در نمونه‌های حاوی پساب کره به‌عنوان پری‌بایوتیک بیشتر است (شاکری و همکاران، ۲۰۰۶). نتایج مطالعات دیگر نیز بیانگر آن است که بقای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA5 در شیر تخمیری حاوی الیگوساکاریدهای خانوارده رافینوز بیشتر است (مارتینز ویلانگا و همکاران، ۲۰۰۶). اثر شیر سویا بر pH: نتایج اندازه‌گیری pH نمونه‌ها در طی ۲۱ روز نشان داد که به‌جز نمونه حاوی ۲۰ درصد شیر سویا، pH کلیه نمونه‌ها در طی ۲۱ روز به‌طور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) کاهش می‌یابد. در نمونه حاوی ۲۰ درصد شیر سویا، pH در طی ۲۱ روز به‌طور معنی‌داری



شکل ۱- بقای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در نمونه‌هایی با درصد شیر سویا مختلف در طی ۲۱ روز.  
نمونه بدون شیر سویا،  $P_0$ =نمونه حاوی ۱۰ درصد شیر سویا،  $P_1$ =نمونه حاوی ۲۰ درصد شیر سویا.  
حروف مشترک در سطح  $\alpha=0.05$  درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.



شکل ۲- کاهش pH در نمونه‌هایی با درصد شیر سویا مختلف در طی ۲۱ روز.  
نمونه بدون شیر سویا،  $P_0$ =نمونه حاوی ۱۰ درصد شیر سویا،  $P_1$ =نمونه حاوی ۲۰ درصد شیر سویا.  
حروف مشترک در سطح  $\alpha=0.05$  درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

هیچ یک از نمونه‌ها، روند افزایشی یا کاهشی منظمی در میزان آب‌اندازی مشاهده نشد.

اثر شیر سویا بر سفتی: شکل ۵، اثر افزایش شیر سویا را بر سفتی نمونه‌های ماست نشان می‌دهد. با افزایش شیر سویا سفتی نمونه‌های ماست به طور معنی‌داری ( $P<0.05$ ) به حدود نصف کاهش می‌یابد، این امر احتمالاً بدلیل ضعیف شدن ژل کازئینی به علت جایگزینی شیر سویا با شیر معمولی در ماست می‌باشد. نتایج یک مطالعه نشان داد، وقتی که نسبت پروتئین کازئینی به غیرکازئینی برابر ۴/۶۲ باشد، در مقایسه با نسبت ۳/۲-۴/۳ نمونه‌ها سفت تر بودند (شاکر و همکاران، ۲۰۰۲). سفتی نمونه‌های ماست در طی ۲۱ روز به دلیل تقویت ژل کازئینی در اثر اسیدی شدن ثانویه و بازارابی بعدی کازئین در اطراف باکتری‌های آغازگر، با گذشت زمان، افزایش می‌یابد (کیلس پاتی، ۲۰۰۶). این میزان افزایش در نمونه‌های حاوی ۱۰ درصد شیر سویا بیشترین و در نمونه‌های حاوی ۲۰ درصد شیر سویا کمترین بوده است. علت این امر احتمالاً به دلیل حضور مقادیر بالای پروتئین غیرکازئینی در نمونه‌های حاوی ۲۰ درصد شیر سویا است. همبستگی بالایی بین سفتی نمونه‌ها و زمان وجود دارد (جدول ۱).

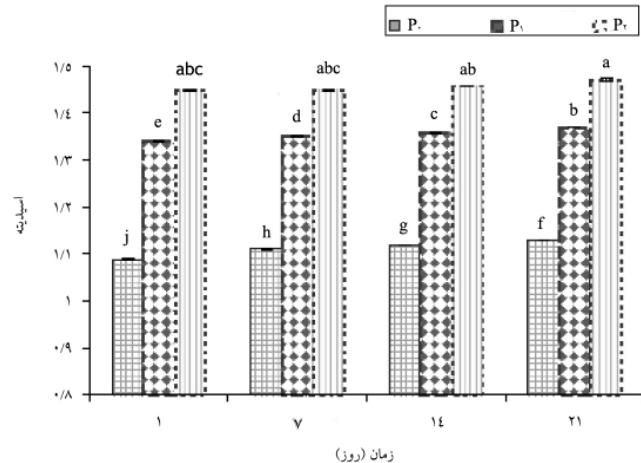
اثر شیر سویا بر طعم و بافت: جدول ۲، میانگین نمره طعم و بافت نمونه‌های ماست دارای درصدهای مختلف شیر سویا را نشان می‌دهد. همان‌گونه که در جدول مشاهده می‌شود، طعم نمونه‌های دارای ۰، ۱۰ و ۲۰ درصد شیر سویا در سطح ( $A=0.05$ ) اختلاف معنی‌داری دارند. با افزایش میزان شیر سویا، میانگین طعم کاهش می‌یابد. تولید ترکیبات حاصل از تخمیر شیر سویا و افزایش میزان اسیدیته نمونه‌ها، باعث کاهش این میانگین طعم می‌شوند. یک راه حل مناسب برای این مسئله افزودن مقدار کمی شکر یا ترکیبات طعم‌دهنده به ماست است. در مجموع کلیه نمونه قابلیت مصرف را داشتند و در طی ۲۱ روز نگهداری ماست اختلاف معنی‌داری در طعم نمونه‌ها به وجود نیامد. بهترین امتیاز بافت مربوط به نمونه‌های حاوی ۱۰ درصد شیر سویا در روز اول نگهداری بود.

اثر شیر سویا بر اسیدیته: شکل ۳، مقادیر اسیدیته را برای ۳ سطح شیر سویا نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود میزان اسیدیته نهایی در نمونه‌های با شیر سویای بالاتر بیشترین بوده است. با این‌که کلیه نمونه‌ها در اسیدیته تقریبی ۰/۹۳-۰/۹۵ از گرمخانه خارج شده‌اند، میزان اسیدیته، در روز اول در نمونه‌های با میزان شیر سویای بالاتر، بیشتر است که این خود تأییدی دیگر بر رشد بهتر باکتری‌ها و مصرف لاکتوز و الیگوساکاریدهای سویا در ماست حاوی شیر سویا می‌باشد. روند افزایش اسیدیته در نمونه حاوی ۱۰ درصد سویا کاملاً صعودی است. در خصوص اسیدیته لازم به ذکر است که نتایج محاسبات نشان داده است همبستگی خوبی بین اسیدیته و سفتی، اسیدیته و آب‌اندازی در نمونه‌های بدون شیر سویا و ۱۰ درصد شیر سویا وجود دارد.

اثر شیر سویا بر میزان آب‌اندازی<sup>۱</sup>: مقایسه میزان آب‌اندازی نمونه‌ها در شکل ۴ مشاهده می‌شود. اختلاف معنی‌داری بین میزان آب‌اندازی نمونه‌های با درصدهای مختلف شیر سویا در هر یک از زمان‌های مورد آزمون وجود دارد ( $P<0.05$ ). به طورکلی میزان آب‌اندازی در نمونه‌های حاوی صفر و ۱۰ درصد شیر سویا در طی زمان کاهش یافت ولی در نمونه حاوی ۲۰ درصد شیر سویا به دلیل کاهش شدید pH، افزایش یافت. پدیده آب‌اندازی به طور مستقیم به برخی عوامل دیگر نظیر میزان اختلال فیزیکی، بی‌دقیقی در عمل آوری شیر مانند pH بسیار پایین و کترنل نکردن دما در مدت گرمخانه‌گذاری نیز بستگی دارد که باعث به هم خوردن شبکه میسل‌های پروتئینی می‌شود (شاکری و همکاران، ۲۰۰۶). به طورکلی در بین نمونه‌های تولیدی بیشترین میزان آب‌انداختگی مربوط به نمونه حاوی ۲۰ درصد شیر سویا در روز ۲۱ و کمترین آن مربوط به نمونه حاوی ۱۰ درصد شیر سویا در روز ۲۱ بود. در نمونه بدون شیر سویا در روزهای ۱۴ و ۲۱ و در نمونه‌های حاوی ۲۰ درصد شیر سویا در روزهای ۷ و ۱۴ اختلاف معنی‌داری بین میزان آب‌اندازی وجود نداشت. در

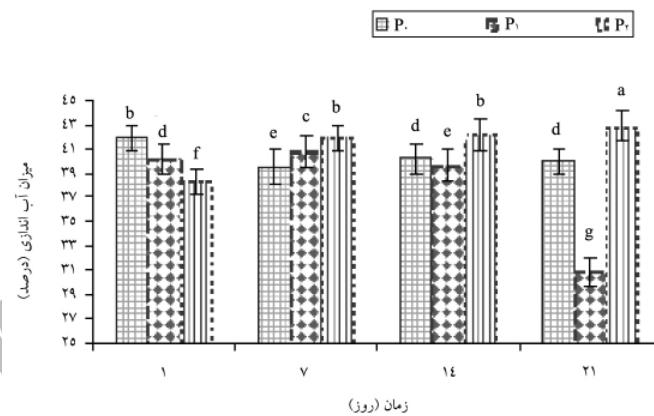
نمونه‌ها نرم‌تر و یکنواخت‌تر بوده و همین امر علت بالا بودن امتیاز بافت آنها محسوب می‌شود.

بافت نمونه بدون شیر سویا در روز هفتم به طور معنی‌داری ( $P<0.05$ ) پایین‌تر از بقیه نمونه‌ها بود. به طور کلی بافت نمونه‌های حاوی شیر سویا نسبت به سایر



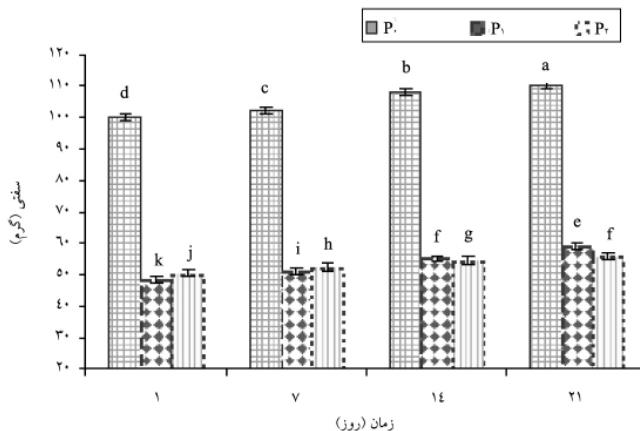
شکل ۳- افزایش اسیدیته در نمونه‌هایی با درصد شیر سویا مختلف در طی ۲۱ روز.

$P_0$ =نمونه بدون شیر سویا،  $P_1$ =نمونه حاوی ۱۰ درصد شیر سویا،  $P_2$ =نمونه حاوی ۲۰ درصد شیر سویا.  
حروف مشترک در سطح  $\alpha=0.05$  درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.



شکل ۴- اثر افزایش شیر سویا بر میزان آب‌اندازی نمونه‌ها.

$P_0$ =نمونه بدون شیر سویا،  $P_1$ =نمونه حاوی ۱۰ درصد شیر سویا،  $P_2$ =نمونه حاوی ۲۰ درصد شیر سویا.  
حروف مشترک در سطح  $\alpha=0.05$  درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.



شکل ۵- اثر افزایش شیر سویا بر سفتی نمونه های ماست در طی زمان.

$P_0$ =نمونه بدون شیر سویا،  $P_1$ =نمونه حاوی ۱۰ درصد شیر سویا،  $P_2$ =نمونه حاوی ۲۰ درصد شیر سویا.  
حروف مشترک در سطح  $\alpha=5$  درصد اختلاف معنی داری ندارند.

جدول ۱- معادلات و ضرایب همبستگی مربوط به سفتی نمونه ها و زمان.

نمونه ها	معادله همبستگی	ضریب همبستگی
$P_0$	$y = 3/567X + 96/33$ (۲)	$R^2 = 0.9624$
$P_1$	$y = 3/7X + 44/33$ (۳)	$R^2 = 0.9956$
$P_2$	$y = 1/799X + 48/665$ (۴)	$R^2 = 0.9917$

زمان بر حسب روز و  $y$ ، میزان سفتی بر حسب گرم است.

جدول ۲- میانگین امتیاز طعم و بافت نمونه ها در طی زمان.

درصد شیر سویا	زمان نگهداری	طعم	بافت
	۱	$4/5 \pm 0/12^a$	$4/06 \pm 0/14^{bc}$
	۷	$4/46 \pm 0/12^a$	$4/03 \pm 0/12^c$
	۱۴	$4/46 \pm 0/14^a$	$4/1 \pm 0/1^{abc}$
	۲۱	$4/5 \pm 0/1^a$	$4/06 \pm 0/1^{bc}$
	۱	$3/26 \pm 0/12^b$	$4/2 \pm 0/13^a$
۱۰	۷	$3/36 \pm 0/1^b$	$4/13 \pm 0/13^{abc}$
	۱۴	$3/4 \pm 0/12^b$	$4/16 \pm 0/13^{ab}$
	۲۱	$3/22 \pm 0/14^b$	$4/16 \pm 0/13^{ab}$
	۱	$2/1 \pm 0/15^c$	$4/13 \pm 0/1^{abc}$
	۷	$2/12 \pm 0/15^c$	$4/1 \pm 0/12^{abc}$
۲۰	۱۴	$2/16 \pm 0/15^c$	$4/16 \pm 0/1^c$
	۲۱	$2/13 \pm 0/15^c$	$4/13 \pm 0/1^{abc}$

حروف مشترک در سطح  $\alpha=5$  درصد اختلاف معنی داری ندارند.

### نتیجه گیری کلی

نتایج کلی این پژوهش نشان داد که جایگزینی شیر سویا باعث کاهش معنی دار ( $P < 0.05$ ) pH، سینزیس و

نمونه‌های حاوی ۱۰ و ۲۰ درصد شیر سویا در پایان ۲۱ روز حداقل تعداد باکتری‌های زنده ( $\log_{10}$  CFU/g) برای محصولات پروبایوتیک، طبق استاندارد FIL/IDF دارا بودند.

$P_1$  و  $P_2$  بود. در کلیه نمونه‌ها با گذشت مدت زمان نگهداری، شمارش کلی باکتری‌های پروبایوتیک زنده،  $pH$  و سینزیس (به جز  $P_2$ ) کاهش، اسیدیته (به جز  $P_2$ ) و سفتی افزایش یافت. از بین کلیه نمونه‌ها، فقط

## منابع

- Al-kadamany, E., khattar, M., Haddad, T., and Toufeili, I. 2003. Estimation of shelf life of concentrated yoghurt by monitoring selected microbiological and physiological changes during storage. LWT-Food Science and Technology, 36: 407-414.
- Benno, Y., Endo, K., Shiragani, K., Sayama, T., and Mitsuoka, T. 1987. Effect of raffinose intake on human fecal microflora. Bifidobacteria Microflora 6: 59-63.
- Boehm, G., and Stahl, B. 2003. Functional dairy products. CRC London. press, 95p.
- Bourne, M.C. 2002. Food texture and viscosity concept and measurement, Florida Academic press. 450p.
- Founden, R., Mogensen, G., Tanaka, R., and Salimen S. 2000. Culture-containing dairy products-effect on intestinal microflora, human nutrition and health-current knowledge and future perspectives. Bulletin of Inte. Dairy Fede., 352: 1-37.
- Hamann, W.T., and Marth, E.H. 1983. Survival of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* in commercial and experimental yogurts. Journal of Food Prot., 47: 10. 781-786.
- Hara, T., Ikeda, N., Hatsumi, K., watabe, J., Iino, H., and Mitsouka, K. 1997. Effect of small amount ingestion of soybean oligosaccharides on bowel habits and fecal flora of volunteers. Japanese Journal of Nutrition, 55: 79-84.
- Hayakawa, K., Mizutain, J., Wada, K., Masai, T., Yoshihara, I., and Mitsuoka, T. 1990. Effect of soybean oligosaccharides on human fecal microflora. Journal of Microbiology Ecology Health Distribution, 3: 293-303.
- Kneifel, W., Jaros, D., and Erhard, F. 1993. Microflora and acidification properties of yogurt and yogurt-related products fermented with commercially available starter cultures. International Journal of Food Micro., 18: 179-189.
- Kailasapathy, K. 2006. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. LWT-Food Science and Technology, 39: 1221-1227.
- Martinez-Villaluenga, C., Frias, J., Gomez, R., and Vidal-Valverde, C. 2006. Influence of addition of raffinose family oligosaccharides on probiotic survival in fermented milk during refrigerated storage. Journal of Inter. Dairy, 16: 768-774.
- Niazmand, R., Arab Pouryani, N., Doaei, A., Niazmand, A., and Sarabi Jamab, M. 2005. Effect of yoghurt enriched with *Bifidobacterium bifidum* or *lactobacillus acidophilus* on fatty metabolites of serum and colonic microflora in healthy subjects. Journal of Iranian Food Science and Tech. Res. 1: 2. 55-64.
- Playne, M. 1994. Probiotic foods. Food Australia. 46: 8. 36-45.
- Shaker, R.R., Obeidat, B., and Abu-Ishmis, M.A. 2002. Influence of coagulum pH at draining on the quality and yield of concentrated yogurt (Labnen). Egyptian Journal of Dairy sci., 30: 1. 27-34.
- Shakeri, M., Shahidi, F., Mortazavi, A., Nassiri Mahallati, M., and Beiraghi Toosi, Sh. 2006. Evaluation of butter milk effect on physical, microbial and organoleptical properties of probiotic yoghurt. Journal of Agricultural Sci. and Tech. 20: 2. 185-195.
- Standard Institute of Iran. 1988. National Iranian Standard No: 2852.
- Vinerola, C.G., and Reinhemir, J.A. 1999. Culture media enumeration of *Bifidobacterium bifum* and *lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria. Journal of Inter. Dairy, 9: 497-505.
- Yazici, F., and Akgun, A. 2004. Effect of some protein based fat replacers on physical, chemical, textural and sensory properties of strained yoghurt. Journal of Food Engin., 62: 245-254.
- Young, C.K., and Nelson, F.E. 1978. Survival of *Lactobacillus acidophilus* in “Sweet Acidophilus Milk” during refrigerated storage. Journal of Food Prote, 41: 4. 248-250.

---

## **Study on the effect of soymilk on survival of lactobacillus acidophilus, physicochemical and organoleptical properties of probiotic yoghurt**

**\*S. Yeganehzad<sup>1</sup>, M. Mazaheri-Tehrani<sup>2</sup>, F. Shahidi<sup>3</sup> and E. Zayerzadeh<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Ph.D. student, Dept. of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, <sup>2</sup>Assistant Prof., Dept. of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, <sup>3</sup>Professor, Dept. of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, <sup>4</sup>Former M.Sc. Student, Dept. of Food Sciences and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

---

### **Abstract**

Prebiotics are defined as non-digestible food ingredients that benefit their hosts by selective stimulation of growth or activity of one or limited number of bacteria in gut. Probiotic products, when administered in adequate amounts, by improving internal microflora of body, confer an effective influence on the host from nutritional and health view. Consuming symbiotic products (simultaneous presence of probiotics and prebiotics) has more beneficial effects on consumer's health. In this project effects of replacing soymilk with milk (as a product containing prebiotics) in 3 levels, 0, 10 and 20% (v/v) and every 7 days (days: 1, 7, 14 and 21) on the survival of *lactobacillus acidophilus*, physicochemical and organoleptical properties of probiotic yoghurt were studied. *Lactobacillus acidophilus* LA5 was the probiotic starter culture used. Statistical analysis showed that replacing soy milk, resulted in significant decrease ( $P<0.05$ ) in pH, syneresis and hardness, increase in total count of live probiotic bacteria and acidity, in comparison to control samples .The best taste was obtained for samples without soymilk. Generally in all samples, during storage period, total count of live probiotic bacteria, pH and syneresis decreased (expect for samples containing 20% soy milk) ,while acidity (expect for samples containing 20% soy milk) and hardness increased. Among all samples only yoghurt samples that contained 10% and 20% soy milk, obtained the least required number of live probiotics according to FIL/IDF standard (6 log CFU/g).

**Keywords:** soymilk; Probiotic yoghurt; *lactobacillus acidophilus*

---

\*- Corresponding Author; Email: [yeganehzad@yahoo.com](mailto:yeganehzad@yahoo.com)